

UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU"
IMSP INSTITUTUL ONCOLOGIC

617.017

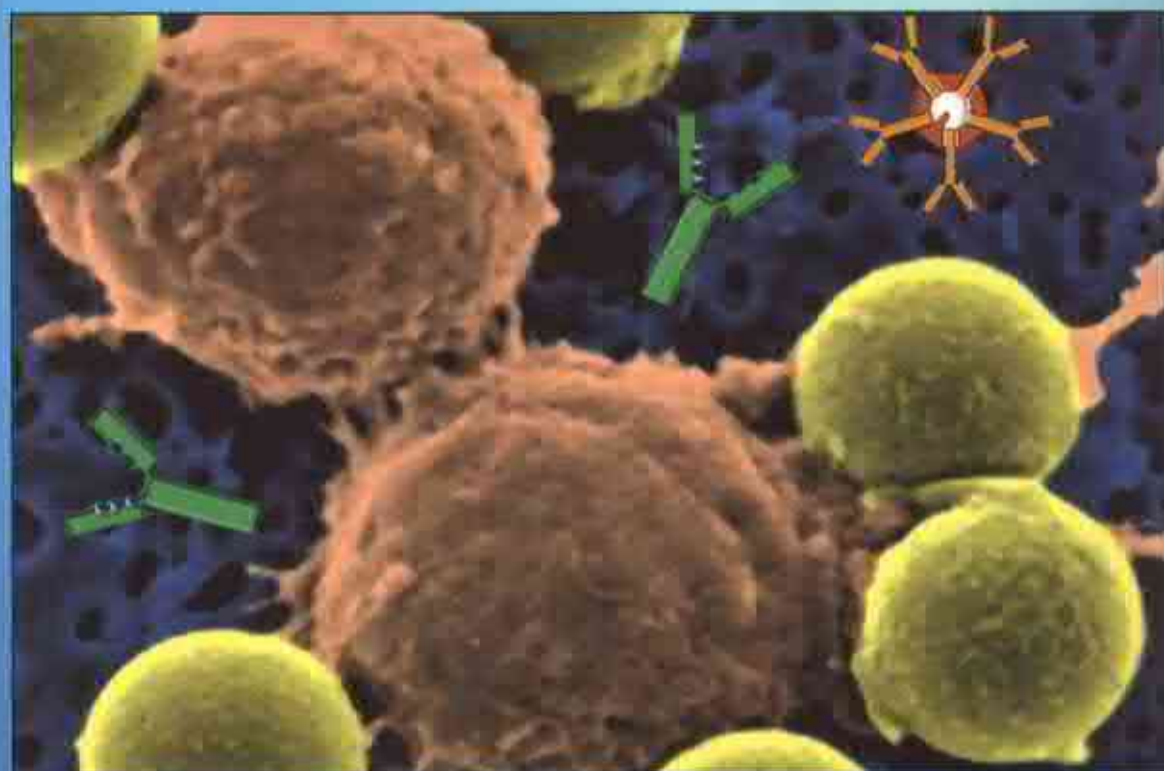
J 48

LUCIA ANDRIEȘ
DOINA BARBA

OLGA CERNEȚCHI
VALENTINA STRATAN

IMUNOLOGIE CLINICĂ

Compendiu



Chișinău * 2014

619.017

] 48

UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU"
IMSP INSTITUTUL ONCOLOGIC

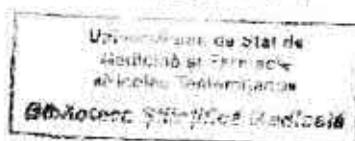
LUCIA ANDRIEȘ
DOINA BARBA

OLGA CERNEȚCHI
VALENTINA STRATAN

IMUNOLOGIE CLINICĂ

Compendiu

727957



SL2

Chișinău • 2014

Aprobat de Consiliul de Experiți Metodic Central al USMF „Nicolae Testemițanu”
Proces-verbal nr. 5 din 15 mai 2014

Autori:

Lucia Andrieș, dr. hab. în medicină, profesor universitar, șefa Laboratorului alergologie și imunologie clinică, profesor Catedra medicină de laborator, USMF „Nicolae Testemițanu”

Olga Cernețchi, dr. hab. în medicină, profesor universitar, șef Catedră obstetrică și ginecologie, USMF „Nicolae Testemițanu”

Doina Barba, dr. în medicină, conferențiar universitar, Departamentul de Medicină Internă, Clinica Medicală nr.6, USMF „Nicolae Testemițanu”

Valentina Stratan, dr. în biologie, conferențiar-cercetător, șefa Laboratorului științific imunologie și imunogenetică, Institutul Oncologic

Redactor: **Lidia Ciobanu**

Referenți:

Liliana Groppa, dr. hab. în medicină, profesor universitar, Departamentul Medicină Internă, șefa Catedrei reumatologie și nefrologie, USMF „Nicolae Testemițanu”

Anatol Vișnevschi, dr. hab. în medicină, profesor universitar, șef Catedră diagnostic de laborator clinic, USMF „Nicolae Testemițanu”

Sergiu Ghinda, dr. hab. în medicină, profesor cercetător, șef Laborator imunologie și imunochimie, Institutul de Ftziopneumologie „Chiril Draganiuc”

Lucrarea dată este consacrată unor aspecte mai puțin mediatizate, dar absolut necesare studenților, rezidenților și medicilor în cunoașterea mecanismelor imune de dezvoltare și apariție a diferitor maladii cu tropism imun, a diagnosticului imunologic contemporan în descifrarea factorilor imunopatogenici, în formațiunea lor clinico-imunologică, precum și a principiilor de imunoterapie utilizate în aceste afecțiuni.

Compendiul prezentat opiniei medicale conține un vast material de cercetare modern ce elucidează postulatele de bază în imunopatogeneza, imunodiagnosticul și imunoterapia diferitor maladii.

Descrierea CIP a Camerei Naționale a Cărții

Andrieș, Lucia

Imunologie clinică : Compendiu / Lucia Andrieș, Doina Barba, Olga Cernețchi, Valentina Stratan. – Chișinău : S. n., 2014 (F.E.-P. "Tipografia Centrală"). – 556 p.

Bibliogr.: p. 514-517. – 300 ex.

ISBN 978-9975-53-383-6.

612.017

Mulțumiri

Complexitatea lucrării, inclusiv a materialului grafic, a necesitat de la decizia publicării și până la realizarea efectivă, un efort colectiv din partea mai multor specialiști din diferite domenii ale medicinei.

Colectivul de autori exprimă cele mai profunde sentimente de grațitudine tuturor celor care au contribuit la elaborarea acestei ediții:

- *Ion Mereuță, dr. hab. în medicină, profesor universitar, șeful Catedrei oncologie, hematologie și radioterapie, USMF "Nicolae Testemițanu"*
- *Eugen Bendelic, dr. hab. în medicină, profesor universitar, șeful Catedrei oftalmologie, USMF "Nicolae Testemițanu"*
- *Nicolae Bacinschi, dr. hab. în medicină, conferențiar universitar, Catedra farmacologie și farmacologie clinică, USMF "Nicolae Testemițanu"*
- *Lorina Vudu, dr. în medicină, conferențiar universitar, șefa Catedrei endocrinologie, USMF "Nicolae Testemițanu"*
- *Mircea Bețiu, dr. în medicină, conferențiar universitar, șeful Catedrei dermatovenerologie, USMF "Nicolae Testemițanu"*
- *Vasile Musteață, dr. în medicină, conferențiar universitar, Catedra oncologie, hematologie și radioterapie, USMF "Nicolae Testemițanu"*
- *Boris Sasu, dr. în medicină, conferențiar universitar, Clinica Medicală nr. 5, USMF "Nicolae Testemițanu"*

*În acest context, menționăm suportul tehnic și aportul deosebit privind selectarea materialelor informative recente
ale dnei Elena Berezovskaia
și dlui Ion Gherman*

CUPRINS

ABREVIERI.....	7
INTRODUCERE.....	9

Compartimentul I.

STRUCTURA ȘI FUNCȚIILE SISTEMULUI IMUN

Capitolul 1. Sistemul imun. Considerații generale	12
Capitolul 2. Sistemul imun congenital	19
Factorii celulari ai imunității congenitale	19
Factorii umorali ai imunității congenitale	30
Capitolul 3. Imunitatea adaptivă specifică	39
Limfocitele T, diferențierea și funcțiile lor	44
Limfocitele B, diferențierea și funcțiile lor	50
Imunoglobulinele și anticorpii (structura și funcțiile)	52
Capitolul 4. Antigenii – inductori ai răspunsului imun	62
Tipuri de antigeni și criteriile lor de clasificare	64
Antigenii bacterieni, virali, ai fungilor, helminților	66
Antigenii celulari, tisulari umani	67
Competiția antigenică	76
Capitolul 5. Răspunsul imun și toleranța	77
Răspunsul imun primar și secundar	81
Reglarea și supresia răspunsului imun	82
Toleranța imunologică	83
Capitolul 6. Ontogenia imunității	85
Relațiile materno-fetale	91
Imunitatea nou-născutului	92
Dezvoltarea sistemului imun la copii	95
Sistemul imun al adulților și persoanelor de vârstă înaintată	96

Compartimentul II.

EVALUAREA IMUNOLOGICĂ ȘI ALERGOLOGICĂ A SISTEMULUI IMUN. TESTAREA STATUSULUI IMUN ÎN PATOLOGIA UMANĂ

Capitolul 7. Evaluarea imunității congenitale	104
Capitolul 8. Evaluarea imunității celulare	111
Capitolul 9. Evaluarea imunității umorale	119

Compartimentul III.

PATOLOGIA IMUNĂ (MECANISME, PROCEDEE DE DIAGNOSTIC ȘI INTERPRETARE CLINICĂ)

Capitolul 10. Mecanisme generale de realizare a patologiei imune	152
Capitolul 11. Imunitatea și infecția	160
Reactivitatea imună în viroze	164
Imunitatea antibacteriană	170
Imunitatea în micoze	176
Imunitatea antiparazitară	177
Imunoprofilaxia și imunoterapia infecțiilor	178
Capitolul 12. Diagnosticul imunologic al maladiilor limfoproliferative și imunoglobulinopatiilor	193
Capitolul 13. Diagnosticul imunologic și imunoterapia tumorilor	202
Răspunsul imun antitumoral	202
Diagnosticul imunologic al tumorilor	206
Imunoterapia tumorilor maligne	215
Capitolul 14. Imunofiziologia și imunopatologia reproducerii	225
Statusul imun al gravidelor, parturientelor și lăuzelor	227
Imunopatologia fecundării și sterilitatea	229
Sterilitatea provocată de compatibilitatea Ag sistemului HLA	231
Imunopatologia gravidității complicate	233
Graviditatea, imunodeficiențele și infecțiile	236
Capitolul 15. Maladii autoimune (imunopatogeneza, diagnosticul și principiile de imunoterapie)	238
Caracteristica generală a maladiilor autoimune	238
Principiile de tratament al maladiilor autoimune	254
Imunopatologia unor maladii autoimune	255
Imunohematologia	255
Imunopatologia maladiilor difuze ale țesutului conjunctiv	270
Maladiile autoimune ale tractului gastrointestinal	294
Imunopatologia renală	306
Maladiile autoimune ale ochiului	310
Imunopatologia sistemelor nervos și neuromuscular	323
Maladiile pielii și procesul autoimun	333
Imunopatologia bronhiilor și pulmonilor însoțită de procese autoimune	336
Imunopatologia sistemului cardiovascular	338
Maladiile autoimune ale glandelor endocrine	340

Capitolul 16. Hipersensibilitatea imunologică, mecanisme de dezvoltare, diagnosticul și terapia specifică	364
Capitolul 17. Imunodeficiențele primare și secundare	386
Imunodeficiențele primare (congenitale)	386
Imunodeficiențele secundare	397
Sindroame imunodeficitare	407
Diagnosticul imunodeficiențelor	431
Capitolul 18. Imunitatea de transplant	436
Transplantul de celule, organe și țesuturi	441

Compartimentul IV.

TERAPIA IMUNĂ, IMUNOCORECȚIA ȘI IMUNOREABILITAREA

Capitolul 19. Caracteristica remediilor cu tropism imun	449
Preparate de origine bacteriană, virală și fungică	450
Preparate sintetice imunotrope	456
Produce de genză fiziologică (biologică)	459
Remedii sangvine și imunoglobuline	461
Remediile imunomodulatoare din măduva osoasă, splină și leucocite	464
Metode extracorporale de imunohemocorecție	469
Enterosorbția	472
Vitamine, microelemente și complexe antioxidante	475
Metode fizioterapeutice	477
Terapia imunosupresivă nespecifică	479
Terapia cu anticorpi monoclonali	487
Imunoterapia care vizează citokinele	489
LEXIC	493
BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ	514
ANEXE	518

ABREVIERI

Ac	– anticorp
AcMo	– anticorp monoclonal
ADCC	– citotoxicitate celulară dependentă de anticorpi (<i>Antibody Dependent Cell Mediated Cytotoxicity</i>)
AFP	– alfa-fetoproteină
Ag	– antigen
APC	– celulă prezentatoare de antigen (<i>Antigen Presenting Cell</i>)
AR	– artrită reumatoidă
ARI	– analiza radioimună
BCR	– receptorul pentru antigen al limfocitelor B
C	– complement
CAM	– moleculă de adeziune celulară (<i>Cell Adhesion Molecules</i>)
CD	– clasă de diferențiere
CDR	– regiune determinantă a complementarității
CI	– complexe imune
CIC	– complexe imune circulante
CMV	– virusul citomegalic
ConA	– concanavalina A
CR	– receptor de complement (<i>Complement Receptor</i>)
CSF	– factorul de stimulare a coloniilor (<i>Colony Stimulating Factor</i>)
DAF	– factorul de accelerare a degradării
dsADN	– ADN dublu catenar
EBV	– virusul Epstein-Barr
ELAM	– moleculă de adeziune endotelio-leucocitară
ELISA	– Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
Fab	– fragment variabil al imunoglobulinelor (<i>Fragment Antigen Binding</i>)
Fc	– fragment constant, cristalizabil al imunoglobulinelor
FITȚ	– fluoresceinizotiocianat
H	– lanțul greu al imunoglobulinelor
HBV	– virusul hepatitei B
HCV	– virusul hepatitei C
HIV	– virusul imunodeficienței umane
HLA	– antigeni leucocitari umani
HSP	– proteine de șoc termic
HTI	– hipersensibilitate de tip imediat
HTÎ	– hipersensibilitate de tip întârziat
ICAM	– moleculă de adeziune intercelulară (<i>Intercellular Adhesion Molecules</i>)
IFN	– interferon
Ig	– imunoglobulină
IIR	– indicele imunoreglator

- IL – interleukine
- IL-R – receptor pentru interleukină
- ITS – imunoterapie specifică
- kDa – kilodalton
- L – lanțul ușor al imunoglobulinelor
- LAK – celulele ucigașe activate de limfocite
- LB – limfocit B
- LECAM-1-L-selectina (*Lectin-Like Cell Adhesion Molecule-1*)
- LES – lupusul eritematos sistemic (diseminat)
- LFA – antigen asociat funcției limfocitare (*Lymphocyte Function-Associated Antigen*)
- LPS – lipopolizaharid
- LT – limfocit T
- MAC – complexul de atac al membranei (*Membrane Attack Complex*)
- MA – maladii autoimune
- MBG – membrana bazală glomerulară
- MHC – complexul major de histocompatibilitate (*Major Histocompatibility Complex*)
- mg – imunoglobulină membranară
- MM – masă moleculară
- NADPH – nicotinamidadeninucleotid fosfat
- NGF – factorul de creștere neurală (*Neural Growth Factor*)
- NK – celulă spontan ucigașă (*Natural Killer*)
- NO – oxid nitric
- PAF – factorul de activare a trombocitelor (*Platelet Activating Factor*)
- PCR – proteina C reactivă (*C-Reactive Protein*)
- RPL – reacția de polimerizare în lanț
- PHA – fitohemaglutinină
- RA – reacția de aglutinare
- RBTL – reacția de transformare blastică a limfocitelor
- RFC – reacția de fixare a complementului
- RHAI – reacția de hemaglutinare indirectă (*pasivă*)
- SI – sistemul imun
- Tc – limfocit T-citotoxic
- TCR – receptorul de antigen al limfocitelor T
- TGF- β – factorul de creștere transformant β (*Transforming Growth β Factor*)
- Th – limfocit T-helper
- TNF – factorul de necroză tumorală (*Tumour Necrosis Factor*)
- Ts – limfocit T-supresor
- VCAM – molecula de adeziune vasculară
- VLA – antigen de activare (*integrină*) care apare târziu (*Very Late Antigen*)
- vWf – factorul von Willebrand de coagulare

INTRODUCERE

Lucrarea dată constituie o încercare de a prezenta într-o formă concisă, coerentă și uniformă problematica majoră a imunologiei în contextul dovezilor tot mai numeroase și mai convingătoare că funcția imună are nu numai rolul clasic de apărare antiinfecțioasă, ci este într-o continuă expansiune a implicării sale, atât în menținerea homeostazei organismului, cât și în numeroase stări patologice.

Succesele imunologiei contemporane au contribuit la rezolvarea unui șir de probleme medicale și au stimulat interesul perpetuu al medicilor față de această știință. Mai mult, intricarea mecanismelor imune în patogenia celor mai diverse maladii argumentează necesitatea instruirii nu numai a imunologilor, dar practic a întregului spectru de specialiști în medicina clinică și diagnostică. Dezvoltarea impetuoasă a imunologiei cu acumularea rapidă a datelor noi impune renovarea în ritm continuu a surselor didactice (după fiecare 2-3 ani) la disciplina dată, iar cursurile de instruire sub acest aspect trebuie să conțină un bloc compact și exhaustiv de noțiuni fundamentale la nivel molecular-genetic, care sunt indispensabile medicului specialist pentru a accesa și a instrumenta adecvat metodele contemporane de diagnostic imunologic, de imunoterapie, imunoreabilitare și imunoprofilaxie.

Imunologia este o știință despre interacțiunea fiziologică a celulelor sistemului imun (SI) cu alte celule și agenți biologici activi în vederea menținerii homeostazei organismului și despre dereglările acestor constante care conduc la apariția patologiei cu substrat imun. Imunologia clinică reprezintă un compartiment al imunologiei fundamentale, având ca obiect de studiu structura și funcțiile SI uman în normă și în patologie, precum și maladiile dependente de afectarea acestuia, diagnosticul, terapia și profilaxia lor. Interacțiunea macromoleculelor biologice circulante cu cele fixate de celule se regăsește la originea diferitor fenomene imune – de la areactivitate la agenții infecțioși până la hipersensibilitate la antigenii de diversă origine.

Prin definiția emisă în Comunicatul experților OMS, SIAI, AIAIC, imunologia clinică se preocupă de investigațiile, diagnosticul și tratamentul pacienților cu maladii sau procese patologice aparente, ca urmare a dereglărilor mecanismelor imune, inclusiv a cazurilor când manoperele imunologice sunt un compartiment important al tratamentului și/sau profilaxiei stărilor patologice.

Starea celulelor sistemului imun reflectă atât statusul de rezistență a organismului, cât și lezarea celulară, inflamația etc. Prin reacția acestora se apreciază eficacitatea, norma și patologia reacției inflamatoare atât la prezența agenților

infecțioși, cât și a celor neinfecțioși. Reacțiile accelerate ale celulelor induc dezvoltarea hipersensibilității (alergia, autoalergia), iar cele atenuate conduc la insuficiența de rezistență și imunitate la diversitățile patogene, cu apariția infecției, adică a stărilor imunodeficitare, deoarece orice infecție nu apare și nu persistă fără o stare de imunodeficit relativ sau absolut.

Au fost elaborate o serie de metode performante de diagnostic, tratament și profilaxie a multor maladii de acest gen. Astfel, după obținerea anticorpilor monoclonali anti-moleculă biologic active – antigeni, mediatori ai reacțiilor imune, receptori, hormoni etc., testarea lor cantitativă în organism a devenit o metodă de largă uzanță diagnostică, iar anticorpii monoclonali se prezintă drept instrument important în medicina contemporană atât în plan diagnostic, cât și în monitoringul terapeutic al multor maladii.

Metodele imunoterapeutice sunt utilizate în diverse maladii. Utilizarea procedeelor genobiotehnologice a condus la sintetiza citokinelor (interleukinelor etc.) – mediatorii reacțiilor imune care permit stimularea, inhibiția și reglarea răspunsului imun în diverse patologii. Sunt cunoscute circa 100 de citokine, multe dintre care sunt utilizate în diagnosticul și terapia diferitor boli. Prin utilizarea citokinelor noi cu funcție de inducție și reglare a diferențierii celulelor stem se anticipă că ar fi potențiale regenerarea și restabilirea diferitor leziuni organice.

Imunocorecția și imunoreabilitarea maladiilor cronice sunt foarte importante, deoarece la originea multora dintre acestea se regăsește procesul imunopatologic – imunodeficiența sau alerggia. Sunt cunoscute multiple remedii cu tropism imun.

În majoritatea cazurilor, patogenia maladiilor umane are drept substrat dezvoltarea diferitor forme imunopatologice cum ar fi: maladiile imunodeficitare congenitale și dobândite – reacții insuficiente ale SI cu manifestări infecțioase, inclusiv SIDA; alerggia și pseudoalerggia – sensibilitatea exagerată la substanțele exogene – maladiile alergice; autoimunitatea (reacțiile autoimune) – dereglarea toleranței la „propriul antigen” cu dezvoltarea maladiilor autoimune, dereglarea reproducției și interrelației „mamă-făt” cu apariția sindromului de întrerupere a sarcinii, infertilității, gestozei etc., dereglarea eliminării celulelor mutante cu dezvoltarea tumorilor maligne etc.

Toate aceste tipuri de imunopatologie sunt, în esența lor, consecințe ale dereglărilor interacțiunii celulelor SI cu alte celule sau substanțe biologice active, în urma cărora apar inflamația, proliferarea patologică sau apoptoza celulelor ca manifestare a procesului patologic. Aceste interdependențe complexe denotă despre faptul că, fără cunoașterea bazelor fundamentale, anatomice și fiziologice ale sistemului imun, este imposibilă perceperea mecanismelor patogenetice ale multor maladii asociate cu disfuncții imune, de

altfel ca și selecția metodelor de testare a statusului imun în scop de diagnostic, prognostic și tratament.

Numai prin utilizarea metodelor imunologice poate fi realizat un diagnostic exact și un tratament eficient al afecțiunilor imunopatologice, dar medicul practician se confruntă habitual cu dificultatea selectării unui bloc minim de investigații imunologice necesare pentru diagnosticul și interpretarea clinică a rezultatelor obținute. Cele relatate au și argumentat necesitatea elaborării acestei ediții.

În compendiul prezentat opiniei medicale am considerat oportună elucidarea obligativă a compartimentelor fundamentale ale sistemului imun, completate cu informații și date recent publicate în literatura de specialitate. Astfel, sunt expuse succesiv: structura și funcția SI, testarea statusului imun, interpretarea clinică a modificărilor parametrilor indicilor imunologici în diverse patologii, principiile de imunoterapie și imunoreabilitare, remediile imunotrope și adoptarea strict individuală a schemelor cunoscute de medicație și observare subcurativă. Considerăm că doar medicul, care a însușit bazele fundamentale ale imunologiei clinice, va reuși să selecteze schema optimă de diagnostic și tratament al pacientului cu maladia concretă.

Lucrarea reprezintă o materializare a eforturilor de actualizare și conectare a domeniului la realitățile științifice ale momentului. Compendiul se adresează tuturor studenților, rezidenților și medicilor ale căror preocupări profesionale, practice sau teoretice interferează cu domeniul imunologic.

COMPARTIMENTUL I.

STRUCTURA ȘI FUNCȚIILE SISTEMULUI IMUN

Capitolul 1. SISTEMUL IMUN. CONSIDERAȚII GENERALE

În literatura modernă de specialitate frecvent se apelează la noțiunea „statusul funcțional al homeostazei imune”, sistemul imun (SI) fiind tratat ca unul dintre cele mai importante și implicat cu funcții fiziologice ce asigură constanta mediului intern al organismului uman. Sistemul imun este evaluat ca un sistem de control, care conferă individualitate și asigură integritatea organismului grație capacității de recunoaștere a structurilor „proprii” și celor „non-proprii”. El se caracterizează prin trei particularități esențiale: este dispersat în tot organismul, celulele lui sunt vehiculate cu torentul sangvin spre toate organele și structurile, tot acesta are capacitatea unică de a produce anticorpi anti-antigeni și limfocite T imune de diversă specificitate.

În sistemul imun al organismului uman sunt prezente și activează toate componentele de apărare, aparente la diferite etape evolutive (factorii congenitali nespecifici și cei dobândiți antigen-specifici). Factorii congenitali de apărare acționează fără participarea mecanismelor de recunoaștere și memorizare a structurilor antigenice străine, prezentând astfel reacții stereotip la orice stimul în cazul invaziei sau lezării. Acești factori includ: celulele pielii și ale mucoaselor respiratorii, cele ale tractului gastrointestinal, urogenital, celulele rezidente ale diferitor organe și țesuturi, celulele sangvine, endoteliocitele, moleculele circulante și secretate (factori umorali). Factorii adaptivi sunt capabili să recunoască și să memoreze particularitățile moleculare de structură a stimulului antigenic și să dezvolte un răspuns imun accelerat la contactul repetat cu acesta din urmă. Componentele specifice ale SI includ limfocitele T și B, anticorpii. Pentru realizarea funcțiilor sale specifice, limfocitele T și B sunt dotate cu receptori multipli de recunoaștere a antigenului, care, interacționând cu „non-propriul”, induc activarea, proliferarea și diferențierea lor. Din interacțiunea directă a antigenului cu receptorii limfocitelor prin intermediul diferitor citokine secretate poate rezulta apariția unei clone antigen-reactive cu dezvoltarea reacțiilor imune. În procesul de realizare a mecanismelor de apărare, factorii nespecifici și cei imuni cooperează și interacționează între ei. Sistemul limfoid care produce factorii imuni specifici realizează imunitatea, cooperând cu alte sisteme ale organismului.

Eficacitatea de protecție a organismului va fi determinată de proprietățile antigenului și de cantitatea lui, de capacitatea de rezistență la mecanismele de apărare, de activitatea factorilor nespecifici și imuni de apărare a organismului. Cu toate acestea, semnificația diferitor factori și mecanisme congenitale și adaptive

de apărare în diverse stări patologice și chiar la diferite etape ale procesului imun pot varia esențial.

Metodele imunologice sunt utilizate la scară largă în practica medicală. Ele au devenit o punte de legătură între multiple discipline medicale implicate în emiterea diagnosticului, în prognosticul și elaborarea procedurilor de tratament al maladiilor umane, asociate cu diverse defecte ale sistemului imun.

Funcțiile sistemului imun sunt reglate de sistemele nervos central și endocrin. Concomitent, celulele imune, prin secreția de substanțe biologice active, influențează funcțiile acestor sisteme. În afară de aceasta, factorii imunității naturale pot fi secretați de diferite celule ale organismului, de ex. proteina C reactivă (PCR) este procreată de către hepatocite, citokinele – de fibroblaști și celulele epiteliale etc.

Organismul uman este înzestrat cu diverse mecanisme de apărare în menținerea homeostazei fenotipice și în eliminarea moleculelor străine. Există mecanisme non-imune ale rezistenței nespecifice (pielea și mucoasele, descuamarea epitelului, mobilitatea cililor, secretele mucoaselor, strănutul, tusea, activitatea bactericidă a acizilor lactic, clorhidric, a acizilor grași, a unui șir de enzime, în special lizozimul).

Imunitatea constituțională, congenitală, este o variantă a rezistenței nespecifice a organismului uman, asigurată genetic de particularitățile metabolismului. Aceasta este în special dependentă de absența condițiilor necesare pentru proliferarea agentului patogen (de ex. organismul uman este non-receptiv la pesta câinilor etc.). Imunitatea congenitală naturală (*innate natural immunity*) include factorii: umorali (anticorpi naturali, sistemul complementului, PCR, lizozimul, interferonii, citokinele etc.) și celulari (monocite, macrofage, leucocite polimorfonucleare etc.).

Astfel, imunitatea congenitală este genetic predestinată, antigen-nespecifică, fără intensificare la pătrunderea repetată a Ag și reprezintă prima linie de apărare a organismului.

Imunitatea adaptivă (*acquired immunity*) include totalitatea reacțiilor sistemului imun care se direcționează spre eliminarea agentului etiologic al maladii. Această variantă a imunității este dependentă de produsele limfocitelor B (anticorpi) și T, care dispun de receptori specifici la antigen. Imunitatea adaptivă este concretă și specifică la un anumit Ag, formează memoria imunologică, se intensifică la contactul repetat cu Ag respectiv. Specificitatea de grad înalt se caracterizează prin complementaritate (afinitate) majoră și legarea intensivă (aviditate) a moleculelor și receptorilor.

Practic, toate interacțiunile moleculelor cu receptorii sunt bazate pe capacitatea de adeziune, care se realizează prin legăturile necovalente ale moleculelor.

Pe suprafața limfocitelor este prezentă o cantitate majoră de diverși receptori (10⁹-10¹⁸), printre care și cel specific Ag respectiv. Celulele și moleculele imunității naturale posedă o diversitate mai mică de locuri pentru legarea

Ag. Imunitatea adaptivă este de geneză clonală: fiecare limfocit T și B exprimă un receptor specific numai la un Ag. Limfocitul „naiv” este precursorul genetic identic al clonei celulare descendente, deoarece interacțiunea lui cu Ag conduce la proliferare.

Imunitatea este un fenomen biologic complex ce rezultă în urma reacțiilor dintre limfocite și factorii umorali. Recunoașterea Ag și răspunsul imun sunt dependente de proprietățile acestuia și se realizează pe diferite căi, dar, de regulă, prin cele care includ reacțiile de interacțiune în lanț molecular-celulare, a căror etapă finală este sinteza de Ac și de limfocite T imune.

Baza celulară și moleculară a imunității este organizată într-un sistem complex, denumit sistemul imun, care are propriile sale centre de instruire, respectiv organele limfoide primare sau centrale și organele limfoide secundare sau periferice, diseminate în tot organismul, la nivelul cărora celulele își desfășoară activitatea lor efectorie. Celulele sistemului imun cooperează între ele prin intermediul unor molecule secretate de limfocite (limfokine) sau macrofage (monokine) cu rol extrem de important în organizarea și controlul reacțiilor imune. Astfel, sistemul imun este alcătuit din organe limfoide, celule și mediatori solubili, respectiv molecule care intervin direct sau indirect în eliminarea agresorului (tab. 1.1).

Tabelul 1.1

Organe, celule și mediatori solubili ai sistemului imun

Organe limfoide		Celule		Mediatori solubili cu funcții de apărare	
<i>Centrale</i>	<i>Periferice</i>	<i>Limfocite</i>	<i>APC</i>		
Timus	Splina	T	Macrofagele și celulele dendritice	Directe	Indirecte
Bursa lui Fabricius (la păsări)	Ganglionii limfatici	B		Imunoglobulinele	Limfokinele
Măduva osoasă	Formațiunile limfoide asociate structurilor organismului	Celulele NK Celulele K		Complementul	Monokinele

Notă: APC – celule prezentatoare de antigen; NK – celule natural killer.

Organele limfoide primare (timusul și bursa lui Fabricius la păsări sau echivalentul bursei la mamifere – măduva osoasă) sunt cele de suport ale hematopoiezei și limfopoiezei, unde celula stem pluripotentă proliferază, iar descendenții

ei sunt dotați cu spectrul specific de receptori de membrană și instruiți în recunoașterea structurilor proprii ale organismului de cele străine lui.

Timusul este primul organ central de limfocitopoieză ce apare în perioada de embriogeneză. Este situat retrosternal și se compune din doi lobi divizați de țesut conjunctiv în mai mulți lobuli, formați, la rândul lor, dintr-o zonă corticală dispusă spre exterior și una medulară – internă. Timusul este populat de celule precursorale ale limfocitelor T (pro-timocite) derivate din celulele stem limfoide, care se maturează sub influența hormonilor timici secretați de celulele epiteliale. Cortexul este bogat în celule limfoide tinere – timocite, iar zona medulară conține un număr mai redus de limfocite. La nivelul rețelei epiteliale din zona medulară sunt celule bogate în antigeni HLA de clasa II, care instruiesc precursorii limfocitari să facă distincție între „propriu” și „străin”. Tot în zona medulară sunt situați „corpusulii Hassal” bogați în celule epiteliale agregate, posibil, cu funcții fagocitare.

Limfocitele instruite în timus constituie clasa celulelor T-dependente sau limfocitele T, cu atribute majore și multiple în apărarea imună. Precursorii limfocitari ajunși în timus proliferază intens în cortex și doar 1-5% dintre aceștia devin celule mature funcționale, restul fiind distruse.

Timusul crește în greutate sub influența hormonilor săi și a celor tiroidieni și scade odată cu vârsta, sub influența hormonilor sexuali, glucocorticosteroizilor etc. Creșterea lui continuă până la 12-15 ani, după care involuează, dar nu dispare complet, menținându-și funcțiile secretorii. Timectomia neonatală sau atimia congenitală este însoțită de grave alterări imune incompatibile cu viața și alterează răspunsul imun față de Ag timodependenți, rejecția grefelor etc., dar nu și față de Ag timoindependenți.

Splina este limitată de o capsulă de colagen, cu fibre de mușchi netede și țesut conjunctiv, care pătrund în parenchim ca niște travee, formând împreună o rețea reticulară ce servește drept suport pentru celulele care o populează. Splina are două țesuturi distincte: pulpa roșie, formată din corzi mărginite de macrofage, unde sunt distruse eritrocitele, și pulpa albă, bogată în țesut limfoid sub forma unor manșoane poziționate în jurul unei arteriole centrale, cu macrofage și limfocite T dispuse periarteriolar (aria timodependentă), și limfocite B dispuse periferic, formând nodulii limfatici sau foliculii splenici (corpusulii Malpighi). În pulpa albă sunt dispuși centrul germinativi bogați în macrofage și celule dendritice, cu zone periferice B-dependente.

În ariile T și B există zone „marginale” la nivelul cărora funcționează macrofage specializate, care, împreună cu celulele dendritice, prezintă antigenul limfocitelor B.

Ganglionii limfatici sunt structuri capsulare, rotunde sau reniforme, ce formează o rețea de aglomerări limfoide dispuse în punctele-cheie ale organismu-

lui. De la nivelul capsulei, pornesc spre interior travee radiale, care, împreună cu fibrele reticulare, alcătuiesc suportul componentelor celulare.

Un ganglion limfatic este format dintr-o *zonă corticală*, în care limfocitele sunt grupate sub formă de noduli sau foliculi, și o *zonă medulară*, în care celulele sunt dispuse sub formă de corzi radiale. Ambele zone alcătuiesc ariile B-dependente ale ganglionilor. La periferia medularei se află zona *paracorticală* T-dependență, unde, în afară de limfocitele T, mai sunt și celule antigen-prezentatoare, bogate în antigeni HLA de clasa II.

După stimularea cu Ag timodependenți, care induc reacții imune mediate celular de genul celor de hipersensibilitate de tip întârziat sau rejecții de grefe, zona paracorticală se hipertrofiază datorită proliferării limfocitelor T, iar în cazul unor anomalii congenitale, cum ar fi atimia congenitală (sindromul Di George), această zonă, din contra, este practic absentă.

Cortexul conține celule B dispuse în foliculi de formă rotundă sau ovală. În absența stimulului antigenic, foliculii nu au un „centru germinativ”, acesta apărând abia după contactul cu Ag. Primii foliculi se numesc „primari”, iar ceilalți – „secundari”, posedă centre germinative bogate în limfocite B imature, limfocite T, macrofage, celule dendritice, celule NK. Ei devin vizibili în ganglionii limfatici stimulați antigenic, fiind similari centrelor germinative din zonele B dependente ale splinei. Funcția primară a acestor centri ar fi cea de sediu pentru celulele B cu memorie cu o mare diversitate de receptori de membrană pentru Ag, receptori imunoglobulinici din clasele IgM și IgD etc. În medulară predomină plasmocitele și celulele fagocitare, dispuse de-a lungul corzilor. Această zonă acționează ca un filtru pentru limfocite. În sindroamele de agamaglobulinemie, ca de ex. sindromul Bruton la copil, zonele medulară și corticală sunt practic depopulate de celulele B, cu absența totală a foliculilor primari și secundari.

Ca organizare structurală, ganglionul limfatic este absolut identic cu splina, în sensul că are arii T și B-dependente și zone medulare, în care se distinge un amestec de astfel de celule și unde se face cooperarea celulară în vederea răspunsului imun.

Țesutul limfoid necapsulat este format din aglomerări difuze de celule limfoide dispersate sub mucoasa tractului digestiv, respirator, urogenital. Aceste aglomerări celulare sunt organizate fie sub formă de noduli cu centri germinativi, fie ca agregate difuze strâns asociate epiteliului regiunii respective. Cele mai reprezentative formațiuni de acest gen sunt amigdalele, formațiunile limfoide perifarangiene, sublinguale, intestinale etc. Țesutul epitelial care le acoperă are permeabilitate particulară pentru Ag și pentru moleculele de IgA. Antigenii pot pătrunde ușor din exterior spre interior, devenind accesibili celulelor limfoide,

iar anticorpii IgA secretați la aceste nivele pot traversa ușor epiteliul din interior spre exterior.

Circulația limfocitelor se realizează în trei modalități diferite: a) circulația precursorilor celulari de la celula stem spre organele limfoide centrale; b) circulația de la organele limfoide centrale spre cele periferice; c) circulația periferică de la nivelul organelor limfoide periferice.

Prima modalitate presupune că precursorii celulari, imaturi funcțional, descendenți din celula stem pleacă prin vase sangvine de la nivelul sacului vitelin sau ficatului embrionar – la fătus, sau de la nivelul măduvei osoase – la adult către timus, sau rămân în măduva osoasă (organele centrale ale imunopoiezei), unde se vor matura funcțional. După ce devin imunocompetente, limfocitele părăsesc organele limfoide primare pentru a ajunge în ariile T sau B-dependente din organele limfoide secundare (periferice), proces care durează câteva luni, pentru ca, în sfârșit, circulația limfocitelor mature cu memorie să se facă la nivelul organelor limfoide periferice și al celorlalte țesuturi și organe. Prin cea de-a treia modalitate, accesul limfocitelor de la un organ limfoid la altul se realizează atât prin vasele limfatice, cât și prin cele sangvine. În ganglioni, limfocitele pătrund prin limfaticele aferente sau vasele postcapilare de la nivelul zonei paracorticale și pleacă prin limfaticele eferente și venulele postcapilare. Traversarea peretelui acestor venule este facilitată de structura lor. Acestea au un lumen îngust și celule endoteliale cu receptori pentru polizaharide. Limfocitele sunt reținute de aceste celule endoteliale în funcție de conținutul membranei lor în polizaharide, dar acestea pot părăsi circulația sangvină pentru a pătrunde în cea limfatică sau invers. După ce părăsesc ganglionii, prin limfaticele eferente, limfocitele ajung în ductul toracic, apoi revin în ganglioni, splină etc., unde se cantonează pentru un anumit timp. Circulația la nivelul splinei se realizează prin venulele și arteriolele ce irigă acest organ – pătrund prin arteriole și pleacă prin venule. Dar splina are sinusuri marginale, o structură anatomică particulară care rezultă din anastomoza capilarelor terminale din pulpa albă. Aici ajung mulți Ag, care vor fi recunoscuți de către macrofage sau alte celule prezentatoare de antigen și vor stimula limfocitele. Acestea vor prolifera în ariile timo- sau bursodependente, transformându-se în celule efectoare, din care majoritatea vor rămâne la nivelul acestui organ.

În mod normal, prin organele limfoide periferice este realizat un trafic activ și continuu. După un stimul antigenic, în primele 24 de ore, viteza acestui trafic scade, ritmul mai lent favorizând contactul celulelor cu antigenul. Această temporizare este absolut firească, dacă ținem cont de faptul că limfocitele au receptori unici pentru Ag, deci sunt monospecifice. Ca atare, numai un număr mic de celule vor recunoaște Ag și pentru a se realiza această recunoaștere, ele

trebuie să treacă lent prin fața lui. După contactul cu Ag, limfocitele proliferază în centrul germinativ din foliculii limfoizi de la nivelul organelor limfoide periferice și se divid în celule efectoare și cu memorie. Celulele cu memorie formează o populație de celule mici, care nu se divid, având o viață lungă, întrucât pot persista în organism până la 20 de ani (dacă nu întâlnesc Ag). Aceste celule patrulază în permanență, trecând din vasele sangvine în cele limfatice și din acestea în organele limfoide secundare, de unde revin iarăși în circulație etc. Limfocitele T circulă prin vase timp de 24-48 de ore, după care vin în ariile T-dependente, iar celulele B – în cele B-dependente (ecotaxie sau *homing* – a veni acasă), unde rămân un timp mai îndelungat, după care își reiau patrularea, până când întâlnesc Ag.

Recirculația limfocitelor asigură supravegherea imună a organismului. Conform unor opinii, în afară de specificitatea pentru ariile T și B-dependente, ar fi și o specificitate pentru anumite organe limfoide necapsulate – unele s-ar îndrepta selectiv spre formațiunile limfoide ale intestinului, altele spre cele ale pulmonilor etc.

Sângele este considerat de către unii autori ca substrat periferic al SI, deoarece în el se găsește practic toate componentele celulare și moleculare ale acestuia: limfocitele T și B, monocitele, granulocitele și chiar celulele stem. Totuși el ar prezenta, de fapt, o rețea de căi de comunicație, care face legătura dintre diferite organe limfoide.

Capitolul 2. SISTEMUL IMUN CONGENITAL

Imunitatea congenitală asigură rezistența nespecifică a organismului la diferiți antigeni infecțioși și neinfecțioși. Ea include factori celulari și umorali, care apreciază starea mecanismelor nespecifice de apărare, în special la etapele primare ale procesului inflamator. Unii dintre ei cooperează cu celulele sistemului imun și, astfel, participă în realizarea răspunsului imun specific (macrofagele, complementul).

Factorii celulari ai imunității congenitale

Se consideră că factorii celulari au rolul principal în apărarea rapidă, inițială față de infecții ca celule efectoare nespecifice care fagocitează și distrug microorganismele. Granulocitele polimorfonucleare, monocitele-macrofage, celulele natural killer și dendritice, trombocitele etc. în majoritatea cazurilor sunt primare în legarea antigenului (Ag). Cu toate că legarea are caracter neimun, receptorii acestor celule și adevăratele posedă elemente de specificitate, interacționând cu anumite grupări chimice native ale antigenului (glicoproteine și glicolipide), pe când limfocitele T reacționează numai la antigenul procesat de celulele antigen-prezentatoare (APC – *Antigen Presenting Cells*). Fiind activate de citokine, ele se implică cu un rol major în apărarea organismului. Receptorii de pe suprafața membranei celulelor imunității congenitale recunosc prioritar structurile microbiene conservative comune mai multor microorganisme – peptidoglicanii, lipopolizaharidele (LPS), acizii lipoteihoici, ADN, ARN dublu catenar al virionilor, mananele fungilor etc. Aceste structuri microbiene au mai fost denumite ca PAMP (*Patogen-Associated Molecular Patterns*), iar receptorii celulelor care le recunosc – ca PRR (*Pattern Recognition Receptors*). Un grup dintre acești receptori, legând patogenul, intensifică endocitoza (receptorii pentru glicoproteine, glucide în prezența manozei, receptorii „gunoieri” – *scavenger*, care interacționează cu LPS, peptidoglicanii, acizii lipoteihoici). După endocitoza patogenului are loc fuzionarea fagozomului cu lizozomul și scindarea lui enzimatică ulterioară. Există și un alt grup de receptori, care la legarea patogenului induc semnale în celulă și activarea celulară – TLR (*Toll-like*) și NOD. Interacțiunea receptorilor „semnalizatori” cu PAMP microbiene induce activarea factorului de transcripție NF- κ B și a genelor cu inițierea sintezei de citokine (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α), de proteine ale fazei acute inflamatoare (PCR etc.) care asigură dezvoltarea rapidă a inflamației – reacția de suport a imunității congenitale.

LPS, care atașează proteina-ligand serică a acesteia, se leagă cu receptorul CD14 al monocitelor-macrofage, astfel activându-le. De altfel, anume superactivarea leucocitelor prin intermediul acestui receptor conduce la dezvoltarea șocului endotoxic, iar blocarea receptorului este utilizată în scop de tratament. Complexul LPS + proteină induce expresia receptorului funcțional activ pentru IL-8 de pe neutrofile și intensifică migrarea lor. LPS și peptidoglicanii bacteriilor sunt legați de receptorii tuturor leucocitelor (TLR 1-11). Leucocitele nou-născutului leagă mai slab LPS, comparativ cu cele ale adulților. LPS este un agent mitogen pentru limfocitele B, dar poate stimula și proliferarea unor limfocite T cu secreția de citokine și enzime, inducând astfel inflamația locală.

Printre celulele imunității congenitale există și subpopulații limfocitare (celule B-1 și T cu receptori TCR $\gamma\delta$). Acestea se deosebesc prin absența rearanjării genelor la interacțiunea cu Ag, iar specificitatea receptorilor lor este restrânsă de un număr mic de „patterne” microbiene.

Granulocitele sau polimorfonuclearele (PMN) asigură „prima” linie de apărare a organismului, având ca forme celulare neutrofile, bazofile și eozinofile (microfage). Ele posedă molecule HLA de clasa I și antigeni organo-specifici caracteristici țesutului mieloid.

Neutrofilele conțin aloantigenii NA, NB, NC, NE, V (az) care pot fi testați în reacția de aglutinare a leucocitelor cu utilizarea izoanticorpilor. Antigenii NA1 și NA2 pot induce sensibilizarea persoanelor care nu posedă acești Ag la transfuzia sângelui (0,12% din cazuri) și reacții posttransfuzionale. Femeile NA-negative multipare la imunizarea cu Ag NA fetală secretă anticorpi care pot induce neutropenia aloimună a nou-născutului. Neutrofilele constituie 60-70% din celulele leucocitare și sunt primele celule care invadează locul inflamației, urmate de monocite și ulterior de limfocite. Ele fagocitează activ atât bacteriile, cât și fragmentele de celule sau țesuturi. Sunt înzestrate cu o capacitate de recepție a stimulilor chemotactici, cu locomotie și abilitate mare de a fagocita particulele non-proprie. Rămân în circulație cca 12 ore, apoi migrează în țesuturi timp de 2-4 zile, după care se expun procesului de apoptoză, fiind substituite cu altele noi. Neutrofilele umane conțin granule azurofile bogate în peroxidaze (glucuronidaza β , catepsine, hidrolaze acide, proteaze acide și neutre, elastază, mieloperoxidază) care sunt implicate în distrugerea bacteriilor și în digestia intracitoplasmatică a materialului fagocitat. Granulele specifice ale neutrofilelor conțin colagenaze, lizozim, lactoferină și o proteină care leagă vitamina B₁₂. Markerii principali ai neutrofilelor sunt HLA-A, -B, -C, CD13 (aminopeptidaza), CD14 (aparentă după activare); ele dispun de receptori pentru componentele complementului C1q, C3b, C5a, pentru hematiile de oaie și cele murine, CD64 (Fc γ R1 – receptor de afinitate înaltă aparent după activare),

CD32 (Fc γ RII) și CD16b (Fc γ RIIIb), care leagă IgG în complexe imune, multiple adevine (CD11/18, selectina CD62L etc.) Posedă receptori pentru IL-6, IFN- γ , un receptor de tip II de afinitate joasă pentru IL-1, receptori histaminici H1 și H2, leucotriene etc. La stimularea neutrofilelor de către diferite citokine, expresia receptorilor se modifică, de ex. apar receptori de afinitate majoră pentru IgG și IgE. În procesul apoptozei, neutrofilele își pierd receptorul Fc γ RIII (CD16). Expresia minoră a acestuia permite diferențierea celulelor vii (cu expresie înaltă a CD16) de cele moarte.

Datorită funcțiilor fagocitare foarte active și posibilităților mari de distrugere prin mecanisme oxigen-dependente și independente ale materialului înglobat, neutrofilele au un rol important în procesele oxidative și de „curățare”, fiind considerate „gunoierii” organismului. Odată ajunse în circulație, aderă la endoteliul peretelui vascular pe care-l traversează datorită posibilității de a se strecura printre celulele endoteliale cu ajutorul pseudopodiilor emise ca urmare a atracției „chemotactice”, exercitată de factorii chemotactici eliberați de către bacterii sau celulele necrozate. În acest proces participă selectinele P și E, chemokinele α , integrinele. Distrugerea bacteriilor fagocitate depinde de activarea NADPH-oxidazei și citocromului B, de eliberarea metaboliților de oxigen toxic cu ardere respiratorie și degranulări (superoxid anionul – O $_2^-$, peroxidul de hidrogen – H $_2$ O $_2$, singlet oxigenul – 1 O $_2$, radicalii hidroxili – OH $^-$, hipocloridul – HClO $^-$ etc.). În procesul bactericid participă și catepsinele, lizozimul, peptidele cationice (defensinele α și β), catelicidinele care induc formarea de canale ionice în membrana microbială. Lactoferina leagă fierul necesar bacteriilor. Caracteristica funcțională a factorilor neutrofilici este elucidată în tab. 2.1.

În procesul de fagocitoză digeră bacteriile Gram-pozitive, Gram-negative, fungii și chiar unele virusuri cu anvelopă, *fără conservarea Ag sau a epitopilor antigenici*. Conținutul granulelor poate fi eliberat extracelular în cazul stimulării, de ex. cu complexe Ag-Ac, ceea ce are efecte nefaste asupra celulelor din jur, fenomen important în patogenia maladiilor cu complexe imune (hipersensibilitatea de tip III).

Prin eliberarea enzimelor și substanțelor membranolitice, neutrofilele distrug celulele vecine și formează focarul necro-purulent care, în urma inflamației, este separat de țesuturile înconjurătoare.

Neutrofilele leagă IgG și IgE prin intermediul receptorilor Fc γ și Fc ϵ , aparenti după activarea lor, și astfel interacționează specific cu Ag și alergeni. Influențate de Ag solubili, neutrofilele degranulează și elimină enzime și mediatori. Ele pot liza celulele acoperite de anticorpi, legându-se prin receptorii săi Fc de fragmentele acestor imunoglobuline (citotoxicitatea anticorpendentă).

Conținutul granulelor citoplasmatiche ale celulelor fagocitare,
în special în neutrofile și macrofage

Produsul din granule	Acțiune
Lizozim (muramidază)	Scindează peretele unor bacterii Gram-pozitive
Proteinaze (catepsine, proteinaza 3)	Hidrolilzează proteinele bacteriilor (digestia bacteriilor)
Colagenaze, elastaze	Degradează colagenul, elastina
Glicozidaze (N-acetil- β -glucozaminidaza, α -glicuronidaza, α -manozidaza)	Degradează glucidele pereților microbieni
pH acid (3,5-4)	Bacteriostatic sau bactericid
Mieloperoxidaza, catalaza, superoxid dismutaza	Generează produse toxice ale O_2 (oxigen singlet $^1O_2^-$, superoxid O_2^- , peroxid de hidrogen H_2O_2 , hipohalide OCl^- etc.)
Oxizi nitrici (NO)	Toxic bacterian
Defensine, proteine cationice	Peptide antimicrobiene
Lactoferina (în granulele secundare)	Chelatează fierul
Fosfataze (acide și alcaline)	Îndepărtează fosfatul din esterii glicerol fosfat

Eozinofilele în normă constituie în sânge 0,5-3% din totalul leucocitelor cu creșterea lor până la 10- 20% în invaziile parazitare și în stările alergice. Granulațiile eozinofilelor conțin fosfatază acidă, glucuronidază, catepsină, ribonuclează, proteina bazică majoră MBP (*Major Basic Protein*), neurotoxine, proteine cationice etc. Sub influența factorilor eozinopoietici, produși de diferite subpopulații de limfocite T, în special de celulele T-supresoare (factorul de creștere a eozinofilelor E-GSF, factorul de stimulare a coloniilor EO-CSF, factorul de diferențiere a eozinofilelor EDF), a IL-1, IL-2, IL-5 are loc proliferarea și maturarea lor. Eozinofilele dispun de receptori de membrană Fc pentru IgG, IgE (CD23), receptori pentru componentele complementului C3a, C3b, C4b și C5a, receptori pentru histamină, pentru factorul de aglutinare a trombocitelor (PAF), pentru factorul chemotactic al anafilaxiei (ECF-A), posedă molecule HLA de clasele I și II. După activare, în special prin IgE, eozinofilele secretă mediatori preformați și metabolizează lipidele de membrană în vederea sintezei de prostaglandine și leucotriene. Prin degranulare eliberează histamină, serotonină, PAF, prostaglandine, leucotriene, heparină, citokinele IL-4, 5, 10, 12, 13, TNF- α , GM-CSF, diverse enzime, în special MBP, ECP

(*eosinophil cationic protein*), EPO (*eosinophil peroxidase*) și EDN (*eosinophil derived neurotoxin*), care au efect citotoxic (cu excepția EDN). Activitatea enzimelor eozinofilice este elucidată în tab. 2.2.

Tabelul 2.2

Caracteristicile unor mediatori secretați de către eozinofile

Enzima din granulă	Funcția
Proteina bazică majoră (MBP)	Toxicitate față de celulele eucariote
Proteina cationică (ECP)	Toxicitate față de procariote și eucariote
Hidrolaze lizozomale	Degradarea macromoleculilor
Lizofosfolipaze	Degradarea fosfolipidelor din membrane
Peroxidaza eozinofilică (EPO)	Generează halide toxice, modulează reacțiile de hipersensibilitate și antiparazitare
Neurotoxina derivată din eozinofile	Activitate ribonucleazică

Eozinofilele pot fi activate și de către complexe imune, în special de cele în care anticorpii (Ac) s-au fixat pe suprafața parazitului. În astfel de situații, ele se fixează cu receptorii Fc la imunoglobuline și eliberează mediatori, care vor ucide parazitul sau vor activa peristaltismul intestinal. Astfel, eozinofilele au un rol major în apărarea față de paraziții mari (helminți, larve).

De asemenea, IgE citofilică, legată la receptorul Fc, poate fi activată de către Ag și, la rândul său, poate activa celula care va induce prin produsele sale de secreție starea de hipersensibilitate.

Bazofilele constituie 0,5-1% din totalul leucocitelor în sânge și au funcții fagocitare reduse, intervenind, în special, în reacțiile alergice de tip imediat. Pe suprafața membranei au dispuși între 6 000 și 60 000 de receptori pentru IgE, care leagă aceste molecule de afinitate înaltă cu degranularea ulterioară a bazofilelor și eliberarea mediatorilor activi (histamină, serotonină, PAF, prostaglandine, leucotriene, factori chemotactici, heparină etc.) Legarea alergenului la receptori este însoțită de aglomerarea lor (legare încrucișată). Acest proces este specific, iar intensitatea eliberării mediatorilor se corelează cu manifestările clinice, fiind folosit ca test *in vitro* pentru diagnosticul alergiilor. Bazofilele pot elimina și IL-3, -4, -5, -6 etc.

Mastocitele posedă proprietăți comune cu bazofilele, sunt cantonate în țesutul conjunctiv și în mucoase. Granulele lor sunt bogate în mediatori ai alergiei. Mastocitele sunt celule efectoare ale reacțiilor alergice, dispunând de receptori pentru IgE (cca 100 000). Ele se găsesc în abundență în țesuturile conjunctiv și limfoid, în timus, în vezica urinară, tapitează traiectele respiratorii și digestive.

Numărul lor crește în maladiile alergice, în inflamațiile cronice ale gingiilor, viscerelor, în boala Crohn, în infecțiile intestinale cu nematode, în leziunile cu proliferare fibroasă (miocardite, artrite reumatoide, tuberculoză, sifilis, schistosomiază, oncocercoză etc.). Deși sunt capabile de mișcări amiboidale și fagocitoză, funcția lor majoră constă în eliberarea mediatorilor chimici cu rol de declanșare a unor procese inflamatoare de hipersensibilitate. Ele sunt primele celule care stimulează afluxul granulocitelor PMN și al monocitelor spre locul inflamației. Stimulate prin IgE, mastocitele eliberează activ o serie de mediatori solubili preformați (histamina, SOD, proteoglicanii, factorii chemotactici neutrofilii și eozinofili ai anafilaxiei, enzimele lizozomale, serotonina, heparina, peroxidazele etc.) sau nou-formați consecutiv stimulului (prostaglandina D₂, tromboxanul, leucotrienele, factorul de activare a trombocitelor etc.). Componentele principale proteice ale granulelor secretorii ale mastocitelor sunt proteazele neutre (triptaza și chimaza). Mastocitele de tip I ale pielii și mucoaselor conțin chimază, condroitinsulfat, iar cele de tip II de pe mucoasele alveolare, bronșice, ale intestinului – triptază și heparină.

În afară de IgE, principalul anticorp sensibilizant, mastocitele mai pot fi degranulate de către IgG4, conconavalina A, dextrani, ACTH, diverși polimeri etc.

Sistemul fagocitar mononuclear include monocitele sangvine și diverse macrofage fixe (celule Kupffer, Langerhans, microgliale, macrofagele peritoneale, alveolare, osteoclastele etc.) și circulante. Pătrunderea macrofagelor în țesuturi este controlată de către receptorii de adeziune, care interacționează cu liganzii caracteristici locului respectiv. Exerciță două funcții importante:

- fagocitarea și procesarea cu rol în eliminarea particulelor de antigen (profesie „fagocitară”);
- prezentarea antigenului limfocitelor cu receptori specifici (APC).

Macrofagele posedă receptori – markeri pe suprafața membranei: CD13 (aminopeptidaza N), CD14, CD17, CD33, CD36, CD64 (Fcγ RI), CD32 (Fcγ RII), CD16 (Fcγ RIII), CD68, CD80, CD65, receptori pentru imunoglobuline, componentele complementului C1q și C3, HLA de clasa I și II. Moleculele CD14 leagă LPS bacteriilor din complexe cu proteina serică. Adezinele, în special integrinele VLA2 și VLA4, -5, asigură interacțiunea cu fibronectina, colagenul și receptorii celulari. Dispun, de asemenea, de receptori pentru citokine și chemokine stimulante ale mobilității. A fost constatat și un grup de receptori TLR (*Toll line receptors*), prezenți pe toate leucocitele care recunosc moleculele străine – Ag microorganismelor și transmit semnale intracelulare, astfel activându-le. Receptorii Toll-4 ai macrofagelor recunosc LPS bacteriilor Gram-negative, proteina șocului termic, virusul sincițial respirator etc.

Grupul de receptori „gunoieri” (scavenger-MSR) asigură înglobarea microbilor, celulelor moarte și transmiterea în celulă a semnalelor de activare. Acești receptori glicoproteici de asemenea leagă LPS și lipoproteinele de densitate joasă.

Pe macrofage există și receptori care leagă componentele activate ale complementului. Receptorul CR3 leagă peptida iC3b – opsonina principală a bacteriilor. În complex cu alți receptori, el poate capta multe bacterii care au determinante glucidice pe suprafață (E. coli, salmonele etc.). Fagocitele posedă un set bogat de enzime în lizozom (enzime hidrolitice, lipaze, lizozim, proteaze, fosfataze etc.).

Macrofagele au următoarele atribute majore: recunoașterea, fagocitoza, procesarea și prezentarea Ag, secreția mediatorilor. Pentru fagocitoză este necesară activarea fagocitelor de către produsele bacteriene, citokine (în special IFN- γ), componentele complementului, adeziunea la celulele non-proprie. Macrofagele recunosc LPS, peptidoglicanii, reziduurile terminale glucide ale glicoproteinelor bacteriene cu receptorii săi – Toll, integrinele, selectinele etc. (recunoașterea preimună specifică pentru imunitatea naturală). Recunoașterea antigenului procesat sub formă de epitopi pe suprafața macrofagelor este asociată cu moleculele HLA (HLA de clasa I pentru virioni și autoproteine și HLA de clasa II – pentru exoantigeni) cu prezentarea acestui complex limfocitelor T-helper (semnalul I). Semnalul II necesar pentru activarea celulelor T-helper este IL-1, secretată de către macrofage. Chemotactismul macrofagelor este influențat de componentele bacteriene, cele ale complementului, de chemokinele β , eliberate de monocite, macrofage, limfocite, endoteliu.

Adeziunea macrofagelor este realizată prin mecanisme imune și non-imune. Fagocitoza non-imună este datorată adeziunii nespecifice a Ag la suprafața macrofagului, pe când cea imună are la bază interacțiunea receptorilor Fc al macrofagelor cu imunoglobulinele. În unele cazuri, macrofagele poartă pe suprafața lor Ac cu ajutorul cărora se atașează la celula-țintă, iar în altele – receptorii Fc adsorb fragmentele Fc ale Ac care s-au legat cu bacteriile. Anticorprii, factorii complementului, PCR, care intensifică fagocitoza, au fost denumiți opsonine.

După recunoașterea Ag non-propriu, atașarea lui pe suprafața membranei celulare, urmată de generarea unor semnale care vor controla emiterea de pseudopode, are loc înglobarea particulei (endocitoza) și formarea fagozomului. Fagozomii fuzionează cu lizozomii care furnizează enzimele necesare degradării materialului ingerat. Acest proces este însoțit de intensificarea metabolismului – arderi respiratorii. În distrucția materialului fagocitat participă enzimele lizozomale, produsele toxice ale activării sistemului oxidativ (superoxid anionul, hidrogenul peroxid, singlet oxigenul etc.), proteinele cationice (catepsina G etc.) cu acțiune asemănătoare antibioticelor, oxidul nitric (NO $^{\cdot}$), a cărui sinteză este intensificată de IL-1 β , TNF- α , IFN- γ , pe când IL-4, IL-10, IL-13 inhibă formarea lui.

Fagocitoza poate fi finisată (catabolismul complet al particulei fagocitate) și nefinisată (celulele microbiene rămân viabile și persistă în organism). Ultima ar fi posibilă atunci când bacteriile stopează fuzionarea fagozomului cu lizozomii (micobacteriile tuberculozei, toxoplasma) sau sunt rezistente la acțiunea enzi-

melor lizozomale (gonococii, stafilococii), sau persistă timp îndelungat în citoplasmă în afara fagolizozomului (ricketsiile, chlamidiile).

Macrofagele, în special cele activate, secretă multiple citokine și mediatori: IL-1, -3, -6, -8, -10, -12, -15, -18, TNF- α , GM-CSF, prostaglandine, leucotriene, IFN, factori ai complementului, enzime. Secreția IL-12 de către macrofage mai frecvent stimulează proliferarea limfocitelor Th1. Mediatorii principali ai macrofagelor IL-1 și TNF sunt secretați la acțiunea endotoxinei – LPS proprii a multor bacterii și induc sinteza proteinelor fazei acute, șocul septic. Proprietatea lor esențială este acțiunea proinflamatorie. Ei stimulează proliferarea celulelor killer cu acțiune anti-antigenică non-proprie, inclusiv pentru celulele tumorale, distrug multiple celule, induc febra etc. TNF- α intensifică producerea IFN, IL-1, IL-2, eliminarea hormonilor hipotalamici. Efectul killer la contactul cu celulele țintă este expresia macrofagelor „armate” care au legat opsoninele cu receptorii săi Fc. Funcția reglatoare a macrofagelor se manifestă prin expresia acțiunii lor asupra Ag sau altor componente ale SI. Astfel, macrofagele fagocitează nonpropriul și îl elimină din organism, anulându-i efectele nocive. Prin digestie moderată intracitoplasmatică creează „stocuri” de epitopi, care realizează un anumit prag de concentrație și permite declanșarea reacțiilor imune (se evită toleranța de „zonă joasă”); prin reținerea Ag la nivelul fagolizozomilor și eliberarea lor treptată, se evită „sufocarea” limfocitelor de către stimulul antigenic în exces (toleranța de „zonă înaltă”). Asupra celorlalte componente a SI acționează prin eliberarea de mediatori solubili, precum și prin intervenția unor subpopulații de macrofage cu funcții supresoare care intervin direct în mecanismele de reglare.

Celulele NK ale imunității congenitale reprezintă o linie importantă și primordială de apărare a organismului, pe care-l ajută să rejeteze celulele modificate sau chiar alogrefele. Eleucid fără restricția MHC, celulele tumorale, în special cele de origine medulară (leucemice), celulele infectate viral sau bacterian și chiar bacteriile izolate. Sunt celule cu viață scurtă, rapid substituie de altele nou-formate, prezente în circulație (5-15% din totalul limfocitelor), ficat, splină etc. Aparțin la o subpopulație limfocitară distinctă, denumită LGL (*Large Granular Lymphocytes* – celule granulare mari), a căror caracteristică morfologică principală este existența granulelor azurofile citoplasmatică. Celulele acestei populații nu aderă la suprafețe, au receptori Fc γ , dar n-au receptori pentru C și Ig de suprafață. Nu toate celulele LGL sunt celule NK, acestea din urmă având caractere antigenice de membrană proprii celor descendente din seria mieloidă (CD11), limfoidă (CD2, CD3, CD8). Populația NK recunoaște și leagă spontan ținta pe care o ucide în câteva ore prin activarea proceselor litice. Existența și nivelul funcțiilor NK sunt determinate de o serie de factori, cum ar fi determinismul genetic, vârsta, unele citokine, medicamente, alimente, boli, stres etc. La oamenii în vârstă, activitatea lor poate fi mai scăzută, comparativ cu cea a adulților. Unii subiecți au o activitate NK constant sporită, alții – constant scăzută, iar alții –

una oscilantă; uneori nivelul acestei funcții este crescut, alteori – scăzut. Acest determinism genetic poate fi influențat de o serie de factori sau de boli, în special de cele neoplazice. Prostaglandina, corticosteroizii, radiația, histamina, teofilina, diverși mediatori care stimulează producția cAMP și a prostaglandinelor inhibă activitatea NK. Alții, ca de exemplu IL-2, IFN, acidul retinoic, diverși imunomodulatori, activează funcțiile citotoxice nespecifice. Recunoașterea țintei ar fi mediată de diverse molecule ca laminina, CD2, CD16. Granulele celulelor NK conțin perforine (acestea induc formarea porilor în celula-țintă) și granzime (esteraze, serine), care induc apoptoza.

IFN- α și IFN- γ , IL-21, PCR induc activarea celulelor NK. IL-2, -12, -5, -6, -7 sunt activatori de intensitate majoră ai celulelor NK, pe când IL-1, -3 și prostaglandina E, le inhibă funcția. Celulele NK mature poartă CD56, CD57, CD94, CD161, de asemenea, adezine comune și altor celule (CD2, CD54, CD58). Nu posedă TCR și Ig. Prin tipul de citokine sintetizate de celulele NK pot orienta tipul de răspuns imun specific – Th1/Th2.

Subpopulația celulară K dispune de CD16 (Fc γ RIII) și induce citotoxicitatea anticorp-dependentă. Posedă receptori speciali (NKRP1 – CD161 care aparțin lectinelor de tip C) și receptori KAR (*Killer Activation Receptor*). Receptorii celulelor NK leagă glicoproteinele și glicolipidele celulelor infectate cu virusuri, celulele tumorale etc., care nu posedă HLA de clasa I. Celulele infectate viral, cele tumorale pierd moleculele HLA-A, B, C. Contactul este intensificat de alte molecule de adeziune (CD16, CD56 etc.). Astfel se realizează diferențierea celulelor proprii de cele non-proprii. Pe trofoblaști antigenii HLA de clasa I sunt absenți, dar există Ag HLA-G care supresează activitatea NK și posibilitatea de alterare celulară a lui.

Pentru liza țintei celula NK elimină o proteină – perforina (asemănătoare componentului complementului C9), care, legându-se de membrană, conduce la formarea canalelor transmembranare, prin care în celula-țintă sunt inoculate granzimele cu activarea ulterioară în ea a proteazelor serine, care, la rândul său, activează endonucleazele cu fragmentarea ADN și apoptoză succesivă. Destrucția celulei-țintă este rezultatul osmolyzei (necrozei) care durează 1-2 ore. Celulele NK activate secretă citokinele IFN- α , - β , - γ , IL-1, IL-2, TNF- α și β (limfotixină), factorii chemotactici, endorfina β , adrenalina. Activitatea lor este inhibată de corticosteroizi, inhibitorii proteazelor etc. Deficitul funcțional al celulelor NK este cauza infecțiilor virale, în special a celor herpetice și, posibil, a dezvoltării tumorilor. Celulele NK sunt activate de IL-2 (CD25), transformându-se în celule LAK (*Lymphokine Activated Killer*) care, ulterior, le distrug pe cele tumorale.

Trombocitele (sângele conține $180-320 \times 10^9/l$) participă în reacțiile imune și alergice. Posedă receptori pentru imunoglobuline (IgG, IgE), componentele complementului (C1q, C3), pentru laminină (CD29, CD46), trombină (CD42d), factorul Willebrand (CD42b), trombospondină (CD36), fibrinogen (CD61, CD51), colagen (CD29, CD49), selectina CD62P etc. Dispun de antigeni HLA și

organo-specifici Zw (P1 A), Ko (Sib), BAK, Yuk (Pen), Br. La contactul cu acești antigeni se pot secreta anticorpi cu apariția reacțiilor posttransfuzionale la indivizii care nu posedă antigenii respectivi. Complexele imune, factorii de activare a complementului și trombocitelor induc agregarea trombocitelor și eliminarea mediatorilor. Granulele lor conțin histamină, serotonină, prostaglandine, leucotriene, lizozim, enzime lizozomale, lizine β , factori de stimulare a fagocitozei și chemotactismului leucocitelor, de activare a sistemului chininic și coagulant etc. Granulele α elimină tromboglobulina β , factorul trombocitar de creștere a mușchilor netezi, inhibitorul activării plasminogenului. Trombocitele au următoarele proprietăți: de adeziune (selectina P, CD62P) la endoteliul alterat și alte celule, de aglutinare, de agregare, de secreție a mediatorilor și factorilor trombocitari. În afară de participarea în coagularea sângelui și în inflamație, mediatorii și factorii trombocitari modifică reacțiile imune. Trombocitele pot fagocita și ucide bacteriile, virionii și participă în citotoxicitatea anticorp-dependentă.

Celulele dendritice (DC) sunt o populație heterogenă de celule mobile prezente în toate țesuturile și în sânge (1% din totalul leucocitelor sangvine), cu diverse proprietăți și expresie a receptorilor. Au formă iregulată, cu proeminențe ascuțite sau „bulbară”. Celulele dendritice mature se deosebesc de cele imature prin expresia marcată a receptorilor pentru virionul rujeolei, poliovirusurilor, posedă HLA-DR, CD80, CD86, CD54 și CD83 și prin capacitatea de a prezenta Ag și a stimula răspunsul imun, pe când cele imature, care au legat antigenul, inhibă reacțiile imune. Numai după migrare în zonele paracortice ale ganglionilor limfatici și după transformarea celulelor imature în celule *interdigitale*, ele obțin capacitatea de activare a limfocitelor T naive.

Celulele dendritice ale pielii (celulele Langerhans) sunt cantonate în epiderm și sunt înalt sensibile la razele ultraviolete. Cele ale mucoaselor sunt identice celulelor Langerhans, dar, spre deosebire de acestea, pot prezenta imediat Ag limfocitelor T. O subpopulație specială a celulelor dendritice sunt cele intrafoliculare (descendente ale fibroblaștilor), poziționate în ganglionii limfatici, care leagă Ag și-l păstrează timp îndelungat, susțin memoria imună, stimulează maturarea limfocitelor B.

Proprietățile de referință ale celulelor dendritice sunt:

- legarea, procesarea și prezentarea Ag proteice și lipoglicoproteice limfocitelor T CD4, CD8 (cele interdigitale) și LB (cele foliculare);
- secreția și eliminarea citokinelor, chemokinelor care mobilizează și activează alte leucocite;
- inducerea autotoleranței limfocitelor T în timus și în organele periferice;
- participarea în reacțiile alergice și autoimune la activarea patologică;
- participarea în imunitatea antitumorală;
- eliminarea celulelor moarte prin legarea lor de receptorul pentru vitronectină.

Celulele endoteliale și epiteliale. Endoteliul capilarelor și venulelor postcapilare poate conține multiple molecule de adeziune, care sunt intens exprimate

după activare: selectinele P și E (recunosc glucidele), receptori pentru integrine ICAM-1 și 3, receptori pentru chemokine, pentru IL-1, -3, -4, -6, TNF- α , IFN- γ , C1q. În răspunsul autoimun și în inflamație, endoteliul elimină citokinele IL-1, -6, -7, TNF- α etc. După infectarea cu virusurile HSV tip I, al gripei, cu citomegalovirus etc. și la acțiunea citokinelor pe endoteliu, apar receptori pentru IgG – Fc γ RII (CD32), componentul complementului C3b (CD35), se intensifică expresia moleculelor HLA de clasele I și II etc. Alterarea endoteliului este accentuată prin legarea imunoglobulinelor și complementului. Endoteliocitele posedă molecule HLA de clasele I și II și pot prezenta Ag limfocitelor T cu memorie, astfel contribuind la realizarea răspunsului imun secundar sau la inducerea toleranței la interacțiunea cu limfocitele T naive. În inflamația imună (reacția de apărare prioritară) are loc migrarea extravasculară a leucocitelor prin endoteliu cu participarea adezinelor. În acest proces participă selectinele, integrinele și moleculele ICAM-1 (CD54) și ICAM-2 (CD102). Citokinele inflamatoare intensifică expresia acestor molecule. ICAM-1 în sânge, în normă constituie până la 200 ng/ml, iar la inflamație atinge valori de 600 ng/ml. Migrația leucocitelor prin endoteliu în procesele inflamatorii se realizează în trei etape: 1) rostogolirea dependentă de interacțiunea selectinelor (selectina P – CD62P, selectina E – CD62E, selectina L – CD62L) cu oligozaharidele membranare leucocitare (*sialil-Luis X*); 2) adeziunea – atașarea leucocitelor la endoteliu cu participarea integrinelor ICAM-1 și 2 (*Intercellular Adhesion Molecule-1 și 2*) și VCAM-1 (*CD106, Vascular Adhesion Molecule*); 3) migrația prin peretele vascular, asigurată de citokinele precedente și PECAM (*CD31, Platelet Endothelial Adhesion Molecule*), IAP (*CD47, Integrin Associated Protein*) cu participarea chemokinelor și a receptorilor pentru acestea. În normă, expresia ligandului Fas pe endoteliu inhibă migrația leucocitelor (limfocitelor) care dispun de receptorul Fas.

Epiteliul pielii și mucoaselor este antrenat activ în reacțiile imune și inflamatorii. În caz de alterare a lui, sunt eliminate chemokinele (RANTES, IL-12, IL-6, IL-8, TNF- α etc.), care mobilizează leucocitele. Concomitent, celulele epiteliale posedă receptori de legare a citokinelor sistemului imun (IL-2, IFN- γ etc.), sub a căror influență pot fi exprimate moleculele HLA de clasa II (HLA-DR) și prin intermediul cărora participă la prezentarea Ag. Celulele epiteliale ale mucoaselor sintetizează moleculele secretorii pentru IgA, care asigură protejarea lor de enzimele secretelor. Alterarea epiteliului (de către virioni etc.) conduce la dereglarea procesului de sinteză a sIgA și la insuficiența imunității locale.

Imunitatea locală a pielii și mucoaselor este influențată de dependențele dintre celulele epiteliale, dendritice, limfoide, macrofage. Saprofii comensali ai mucoaselor tractului gastrointestinal induc toleranță, iar la eliminarea unei cantități minore de LPS activează imunitatea locală mucosală. Tulpinile microbiene ale enterobacteriilor patogene induc activarea epiteliului, eliberarea de citokine și, în final, inflamația.

Fibroblaștii sunt celulele principale ale țesutului conjunctiv. Ele secretă diverse molecule de adeziune, citokine, reacționează la cele eliminate de celulele SI, participă la inflamație, la formarea structurilor intercelulare și a fibrelor de țesut conjunctiv cu fibroza focarului inflamator.

Factorii umorali ai imunității congenitale

Factorii umorali ai imunității congenitale includ proteina C reactivă (PCR), macroglobulina α_2 , lizozimul, IFN, sistemul complementului, lizinele β , fibrinogenul etc. Ei sunt prezenți în sânge, limfă, lichidul articular, lichidul cefalorahidian, precum și în diferite secreții – salivă, lacrimi, lapte, spută etc. și acționează imediat și spontan. Cei mai bine caracterizați și mai importanți factori umorali sunt lizozimul, properdina, sistemul complementului, lizinele β , spermina etc. (tab. 2.3).

Tabelul 2.3

Factorii umorali de apărare de la nivelul epiteliilor

Localizare	Sursa	Substanțe secretate
Cavitatea bucală	Salivă (glandele salivare)	Enzime ale digestiei, lizozim, IgA, IgG, lactoferină
Stomac	Suc gastric	Enzime digestive (pepsina), aciditate gastrică
Piele	Transpirație (glande sudoripare)	Lizozim, acizi grași
Ochi	Glande lacrimale	Lizozim, IgA, IgG
Ureche	Glande sebacee	Secreția de cerumen

Lizozimul este o muramidază capabilă să inducă liza bacteriilor, în special a celor Gram-pozitive, cărora le scindează mucopeptidele de la nivelul peretelui celular. Este prezent în salivă, spută, lacrimi, lapte, plasma sangvină, mucus, organele interne etc. Enzima este produsă de macrofagele, neutrofilele prezente în aproape toate țesuturile și fluidele organismului. Cantități importante de lizozim au fost depistate în varză, ridiche, hrean etc. Lizozimul este termorezistent în mediul acid (80°C), la acțiunea tripsinei și papainei. Concentrația lui se apreciază după liza *Micrococcus lysodeicticus*. El intensifică fagocitoza, anticorpogeneza, potențează acțiunea antibioticelor. Formele farmaceutice ale lizozimului sunt utilizate în tratamentul maladiilor supurative: conjunctivite, rinite, haimorite etc. Lizozimul protejează mucoasele nazală, bucală, conjunctivală și corneea împotriva bacteriilor. Unul din remediile efective este Lisobactul.

Lizinele β sunt proteine serice cationice, termostabile, care posedă activitate bactericidă pentru *B. subtilis* și *B. anthracis*. Sunt secretate de protrombocite. Nivelul lor în serul sanguin este determinat după liza sau reținerea creșterii *B. subtilis*.

Proteina C reactivă (PCR) face parte din proteinele plasmatiche de fază acută. Este secretată de hepatocite și macrofage la acțiunea IL-1, IL-6, TNF- α . Se leagă de receptorii neutrofilelor, macrofagelor și limfocitelor T cu activarea acestora. Acțiunea PCR asupra bacteriilor este asemănătoare cu cea a anticorpilor. Ea constă din 5 lanțuri polipeptidice care formează un pentamer (pentraxin). Prin participarea ionilor de Ca, PCR se leagă specific de bacterii, fungi dacă membrana acestora conține fosforilcolină, fosfatidilcolină, galactani neecrași. Complexul format activează complementul pe cale clasică, ca și complexele Ag-Ac. În consecință, microbii sunt lizați sau opsonizați în urma activării și apariției pe membrana lor a componentelor complementului (C3b etc.), care contribuie la fagocitoză, datorat receptorilor pentru aceste componente ale complementului. În normă PCR este testată în sânge până la 10 mg/l. Majorarea concentrației PCR crește intensiv (de 2-100 de ori) în cursul infecțiilor. Este apreciată în reacțiile de precipitare, de latex-aglutinare, ELISA.

Fibronectina (globulină insolubilă a frigore) este o adezină secretată de macrofage, se leagă de bacterii, colagen și alte structuri celulare și acelulare, de fibrină și heparină. Opsonizează bacteriile, inducând adeziunea lor la leucocite, care dispun de integrine (CD29/CD49). În infecții, nivelul fibronectinei în sânge scade.

Macroglobulina α_2 , poate opsoniza practic toate bacteriile și inhiba activitatea enzimelor. Complexul cu agentul patogen în prezența calciului se leagă cu receptorul CD91 prezent pe macrofage și alte leucocite și, astfel, intensifică fagocitoza și dezvoltarea răspunsului imun.

MBL (Mannan Binding Lectine) este o proteină de fază acută cu funcție de opsonină în urma legării ei de grupările glucidice ale membranelor bacteriene cu activarea C pe cale lectinică. Este produsă în ficat.

Properdina – glicoproteina care participă în activarea C pe cale alternativă cu efecte antibacteriene, antivirale, antifungice, antineoplazice.

Interferonii (IFN) prezintă o grupă heterogenă de molecule proteice secretate de diferite populații celulare (macrofage, fibroblaști, limfocite). În funcție de caracterul celulelor producătoare, IFN se divid în: α -interferon, ω -interferon (leucocitar), β -interferon (fibroblastic), γ -interferon (imun, T-celular). IFN- α și IFN- ω posedă proprietăți antivirale și antiproliferative (antitumorale). IFN- β intensifică expresia Ag HLA pe celule, activează killerii naturali (NK) și fagocitele. IFN- γ este produs, în special, de limfocitele Th1, el intensifică acțiunea antivirală și antiproliferativă a altor IFN, concomitent având și proprietăți imunoreglatoare. IFN- γ intensifică sinteza antigenilor HLA care favorizează procesele de recunoaștere și procesare a Ag, activează celulele NK, limfocitele T și B, anticorpogeneza, adeziunea leucocitelor, fagocitoza.

Interferonii nu lizează virionii, dar blochează replicarea lor în celulă. Ei sunt secretați de celulele infectate cu virusuri și de celulele stimulate cu substanțe interferonogene sau vaccinuri. IFN sunt dotați cu specificitate de specie, astfel că cei de origine animală nu influențează infecția umană. Sunt secretați în cantități majore la stimularea leucocitelor cu Ag virali și alți antigeni. Scenariul exercițiului antiviral dezvoltat de IFN este prezentat în fig. 2.1.

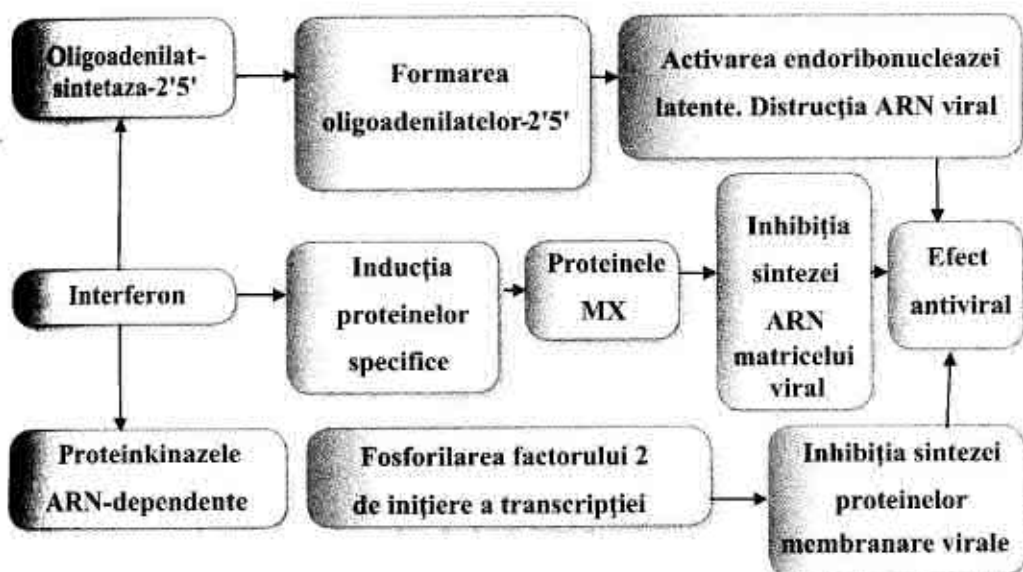


Figura 2.1. Efectul antiviral al interferonilor

Așadar, legarea IFN cu receptorul respectiv induce în celulă trei procese concomitente care finisează cu:

- activarea endoribonucleazei latente care va induce distrucția ARN viral;
- inhibarea sintezei ARN matricelului viral;
- blocarea sintezei de proteine în membrana virală.

Aceste mecanisme realizează un efect antiviral integral cu supresia replicăției virale.

Efectul antiproliferativ (antitumoral) al IFN poate fi explicat prin următoarele mecanisme:

- activarea celulelor citotoxice;
- intensificarea expresiei antigenilor asociați tumorii;
- modularea producției de anticorpi;
- inhibiția factorilor de creștere tumorală;
- inhibiția sintezei ARN și a proteinelor celulei tumorale;

- latentizarea ciclului celular cu trecerea în faza de repaus;
- stimularea celulelor tumorale către maturizare;
- restabilirea capacității de control asupra proliferării;
- frânarea procesului de neovascolarizare a formațiunii tumorale;
- inhibiția procesului de metastazare;
- biomodularea activității citostaticelelor prin modificarea metabolismului și diminuarea clearance-ului;
- modificarea rezistenței medicamentoase din contul inhibiției genelor rezistenței farmaceutice multiple.

Grație tehnologiilor moderne, au fost elaborate numeroase preparate de interferoni destinate pentru tratamentul pacienților cu maladii virale și tumori.

Efectul imunomodulator al IFN este realizat prin următoarele mecanisme: intensificarea expresiei Ag HLA de clasele I și II; reglarea sensibilității la citokine; activarea celulelor citotoxice efectoare.

Activitatea antibacteriană a IFN este mediată de capacitatea lui de a induce activitatea unor enzime în celula alterată:

- inducția indolaminei-2,3-dezoxigenazei conduce la scăderea cantitativă a L-triptofanului intracelular, care, la rândul său, va conduce la moartea celulei bacteriene ca rezultat al dereglărilor metabolice;
- inducția sintetazei NO conduce la producerea oxidului nitric – un factor bactericid puternic, care determină distrucția celulei bacteriene.

Colectinele constituie o familie de proteine asemănătoare colagenului care opsonizează bacteriile prin legarea glucidelor. Factorul reactiv Ra (RaRF) și proteina de legare a manozei (MBR) au fost detectate în serul sangvin al bolnavilor infectați cu bacterii. S-a demonstrat că RaRF induce liza bacteriilor Gram-negative ce posedă LPS de tip Ra în absența anticorpilor și complementului. MBR leagă LPS bacteriilor Gram-negative sau reziduurile de manoză și N-acetilglucosamina drojdiilor, în prezența Ca^{++} pe care le opsonizează, intensifică fagocitoza, poate desfășura calea lectinică de activare a complementului. Această proteină formează complexe cu serin-proteinaza în sânge și se atașează la receptorii celulelor cu CD91 și CR1. Concentrația sangvină a MBR poate atinge nivelul de 870 mg/l.

La familia colectinelor se referă și *proteinele surfactante ale pulmonilor SPA și SPD* care pot opsoniza microbii. Sunt prezente în alveolele pulmonilor, în mucoasa stomacului și în urechea internă. Domeniile lectinice C asigură interacțiunea specifică cu antigenii glucizi și lipizi liberi, cu antigenii-alergenii, inclusiv prezenți pe suprafața virusurilor, bacteriilor, fungilor pe care le opsonizează; ulterior, surfactantele se leagă cu receptorii respectivi (CD91 etc.) de pe macrofage, celulele dendritice, asigurând înglobarea și procesarea Ag pentru răspunsul imun.

Interlectina hIntL este specifică reziduurilor galactofuranozilului. Ea opsonizează microbii care conțin arabingalactană (streptococii, micobacteriile, leishmaniile).

Ficolinele sunt niște peptide oligomere (L, M, H) ale serului sangvin, se leagă specific de N-acetilglucozamina bacteriilor. Opsonizează salmonelele și alte bacterii, activează complementul și intensifică fagocitoza.

Așadar, toți factorii umorali ai imunității congenitale interacționează specific cu anumite structuri microbiene (bacterii, virioni, protozoare), iar complexele formate fie se leagă direct cu receptorii celulelor APC stimulându-le, fie activează suplimentar componentele complementului pe cale clasică sau lectinică, inducând liza patogenelor și stimularea fagocitozei.

Peptidele antimicrobiene ale leucocitelor și epitelului sunt apte să distrugă bacteriile. Peptidele (PR-39, indolicidina, histatina, protegrinele) sunt antrenate în imunitatea naturală. Au fost identificate trei familii de peptide-antibiotice: *defensine*, *catelicidine* și *histatine*. Defensinele α și β sunt proteine cationice din granulele azurofile ale neutrofilelor, ele lizează bacteriile Gram-pozitive și Gram-negative. Defensinele β ale epitelului mucoasei nazale neutralizează rinovirionii. Catelicidinele sunt proteine antimicrobiene (hCAP18, LL37 etc.) și au fost apreciate în granulele peroxidazo-negative ale neutrofilelor. Proteina hCAP18 este prezentă la subpopulațiile limfocitare și monocite, în epiteliile lingual, bucal, esofagal, alveolar, cervical și vaginal, în cheratinocite.

Carența de LL37 în salivă se corelează cu periodontita la pacienții cu maladia Kostmann. Este un agent chemotactic pentru neutrofile, monocite și celulele T. Nivelul normal în sânge al LL37 constituie 1,2-1,8 mg/ml, în maladiile infecțioase concentrația lui crește.

Proteina bacterică de creștere a permeabilității celulelor (BPI) este sintetizată de leucocitele polimorfonucleare. Se leagă cu LPS bacteriană și induce moartea bacteriilor Gram-negative. În plasma nou-născuților și la copiii cu sepsis sau pneumonie, nivelul BPI este crescut esențial. Se consideră că această proteină protejează tractul gastrointestinal și potențează activitatea antibioticelor.

Elafina (SCALP sau inhibitorul specific al elastazei, ESI) inhibă elastaza și proteinaza-3 leucocitară, dezvoltă activitate antibacteriană față de germenii Gram-pozitivi și Gram-negativi. Este sintetizată în diverse tipuri de epitelii. Serul, plasma sangvină conțin 10-50 ng/ml de elafină. În psoriazis se observă o creștere (de 10 ori) a concentrației de preelafină.

Proteina ce leagă lipopolizaharida (LBP) este produsă de hepatocite și enterocite. Se leagă strâns cu LPS și asigură transportul ei la fagocitele mononucleare CD14, prin care va majora activitatea celulară de 100-1000 de ori. Conținutul de LBP în serul sangvin crește în sindromul inflamator sistemic, septicemii, traumatisme. Poate servi drept marker în diagnosticul stărilor inflamatoare de fază acută, în sepsis.

Complementul (C) este un sistem complex de proteine ale serului sanguin (peste 30 la număr) multe dintre care sunt proenzime. Sinteza și secreția lor sunt asigurate de hepatocite și macrofage. Activarea sistemului complementului poate evolua pe cale clasică, lectinică și alternativă, sub formă de reacții în lanț cu reglarea procesului prin 7 proteine responsabile. Produsele scindării se semnifică prin a și b, cele activate – printr-o linie deasupra numărului componentului C. Poședă multiple efecte biologice, dintre care mai importante sunt: opsonizarea, chemotactismul și liza agentului patogen. Prin opsonizare se intensifică fagocitoza acestuia de către celulele fagocitare, prin liză (bacteriană, virală și/sau celulară) are loc distrugerea lor, iar prin unele componente, eliberate în cursul activării, atrage celulele fagocitare la locul reacției – chemotactism (prin care intervine la apărarea antiinfecțioasă, fiind caracterizat drept un sistem biologic de amplificare a răspunsului imun).

Sistemul complementului are, în anumite condiții, și efecte negative:

- se poate fixa pe mastocite, trombocite sau PMN, ceea ce are drept rezultat eliberarea de histamină și creșterea permeabilității vasculare, cu apariția consecutivă a șocului anafilactic;
- poate favoriza precipitarea complexelor Ag-Ac la nivelul peretelui vascular (fenomen Arthus) cu o gamă largă de manifestări grave.

Calea clasică de activare a C (fig. 2.2) este indusă de complexul Ag-Ac în prezența ionilor de Ca^{++} și Mg^{++} , de regulă pe suprafața celulelor-țintă. Activatori ai acestei căi pot fi, de asemenea, lipida A lipopolizaharidă și peptidoglicanii bacteriilor, virionii (ARN), PCR, endotoxina meningococilor, micoplasmele, proteina A stafilococică. Complexul Ag-Ac se leagă cu C1q (domeniile Cu_4 pentru IgM și Cy_2 – pentru IgG). Complexul format activează proteinazele C1r și C1s.

Reglatorul acestei etape este inhibitorul C1 al serinproteazei. Deficiența acestuia conduce la activarea spontană a C, care se manifestă prin edemul angioneurotic. Proteaza C1s activată scindează C4 în C4a (anafilatoxină) și C4b, care se leagă fie de complexul C1, fie de celula-țintă. Ulterior, în prezența ionilor de Mg^{++} , la complexul format se atașează C2a, fragment al scindării C2 de către C1s. Convertaza C4b2a scindează componentul C3 în C3a (anafilatoxină) și C3b, care aderă la membrana celulară a bacteriilor și stimulează formarea fragmentelor noi C3b. Legarea C3b de membrana celulei non-propriei (bacterii etc.) blochează catabolizarea lui de către factorul de intensificare a disociației DAF (*Decay Accelerating Factor* – CD55). În regim normal, în sânge se produce activarea permanentă, spontană a C3b, care, de regulă, este inactivată de DAF. În cantități excesive însă, C3b se atașează la C2a, formând convertaza C5 (C4b2a3b). Acest complex macromolecular activează componentul C5 cu scin-

darea în C5a (anafilatoxină) și C5b. Ultimul leagă C6 și C7 cu formarea complexului (C5b,6,7), care se leagă de membrana celulei și atașează ulterior C8 și C9. Agregatele (C5b,C6-C9) sunt denumite complexe membrano-atacante. Acestea se încorporează în membrana celulei-țintă, formând un canal transmembrantar prin care în celulă pătrund ionii de Na și apă și ies ionii de K, proces ce determină liza celulară. Dacă complexul (C5b,C6,C7) nu s-a legat de membrană, atunci el poate atașa lipoproteide de densitate joasă sau proteina S regulatorie (vitronectina), după care devine incapabil să se lege de celulă și să inducă liza.

Calea lectinică de activare (fără anticorpi) este indusă de colectine, proteinele care leagă manoză. Etapele ulterioare sunt identice celei clasice.

Calea alternativă de activare a complementului (fig. 2.2) este nespecifică, fiind indusă de componenta polizaharidă a LPS peretelui celular al bacteriilor

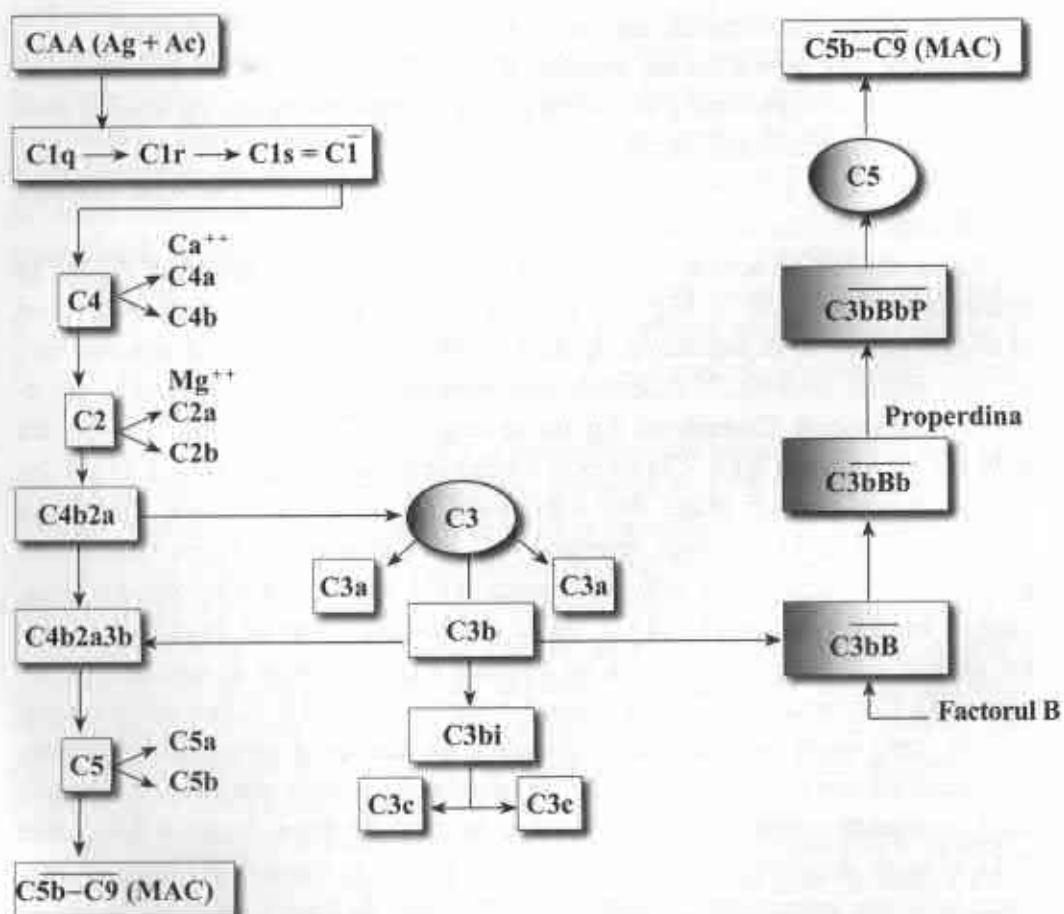


Figura 2.2. Analogia dintre calea clasică și cea alternativă de activare a complementului

(endotoxine), de imunoglobulinele agregate, remediile medicamentoase etc. Ele stimulează scindarea C3 în C3a și C3b. Factorii H și I controlează acest proces, parțial scindând fragmentul C3b format. Componentul C3b, fiind în exces, în prezența ionilor de Mg^{++} , se leagă cu factorul B seric (o protează serină inactivă). Complexul C3bB este scindat de factorul D (proteaza serică activă) în Ba și Bb. Complexul C3bBb este convertaza – pentru C3 a căii alternative de activare, care intensifică scindarea C3. În normă el este instabil, dar poate fi stabilizat de properdină (proteina P), pe care o activează. Convertaza căii alternative scindează componentul C5 în C5a și C5b, etapele ulterioare de activare fiind identice celei clasice. În procesul de activare a complementului se formează fragmente biologic active – C4a, C3a, C5a (anafilatixine), care induc eliberarea mediatorilor de către macrofage, granulocite, degranularea mastocitelor. Clinic, acest proces patologic se manifestă prin reacții alergice, pseudoalergice, inflamație și alterare celulară.

În maladiile însoțite de formarea complexelor imune (bolile autoimune, infecțiile), nivelul complementului scade. Complementul stimulează fagocitoza și scindarea complexelor imune. Componentele complementului activat se leagă cu receptorii respectivi de pe suprafața leucocitelor (C3b, iC3b, C3dg). CR1 (CD35) – receptor de tip I, prezent pe eritrocite și leucocite, leagă C3b, asigură adeziunea imună, intensifică fagocitoza, scindează C3b (asemeni factorului H) și stopează activarea C, care temperează inflamația și alterarea țesuturilor. CR2 (CD21) prezent pe limfocitele B atașează iC3b, C3dg, poate lega virusul Epstein-Barr, activează celulele B. CR3 (CD11b/CD18) leagă iC3b, exprimat pe granulocite, limfocite, participă în fagocitoză. CR4 (CD11c/CD18) este un receptor pentru iC3b și C3dg, fiind prezent pe fagocite. Ca și CR3, se referă la familia integrinelor β_2 leucocitare (molecule de adeziune). C1qR se găsește pe macrofage, pe limfocitele B, pe endoteliu și leagă complexe imune.

Produsele de activare a complementului, interacționând cu acești receptori celulari, stimulează funcțiile leucocitare, induc inflamația și potențează imunitatea antimicrobiană.

Deficiența complementului determină carențe imunitare.

Properdina este o glicoproteină cu efect antibacterian și antifungic, antiviral și antineoplazic, implicată în activarea complementului pe cale alternativă.

Lactoferina și *transferina* sunt proteine care fixează fierul competitiv cu microorganismele, dar și cu celulele active aflate în dezvoltare (de exemplu, celulele embrionare, celulele neoplazice), pentru care fierul este esențial. Posedă activitate antimicrobiană.

Spermina și spermidina sunt proteine cu efect bactericid, în special asupra cocilor Gram-pozitivi și negativi (stafilococ, gonococ), dar și asupra bacilului Koch. Se găsesc în lichidul seminal, în țesutul renal.

Saliva și laptele mamar conțin lactoperoxidază, a cărei acțiune este identică cu mieloperoxidaza.

Prin urmare, factorii celulari și umorali ai imunității nespecifice reprezintă prima linie de apărare a organismului, care apare rapid și este similară în cazul oricărui tip de leziune (infecții, traumatisme, arsuri etc.). Spre deosebire de imunitatea adaptivă, care apare mai lent, rezistența naturală nu prezintă specificitate și memorie. La o nouă agresiune a aceluiași agent patogen, reacționează la fel ca la prima întâlnire cu acesta. Acțiunea factorilor celulari și umorali în organism este interconectată, se influențează și se potențează reciproc.

Capitolul 3. IMUNITATEA ADAPTIVĂ SPECIFICĂ

Menținerea homeostazei organismului, adică a integrității sale structurale și funcționale, deci a individualității sale biologice față de agresiunea străină, se realizează prin sistemul imun specializat în acest sens. Substratul morfologic și funcțional (fiziologic) al acestui sistem este alcătuit din organe și celule limfoide. Principala funcție a celulelor sistemului imun și, în special, a celulelor limfoide imunocompetente este recunoașterea specifică a antigenilor străini de organism (supravegherea imunologică) și dezvoltarea de reacții specifice, prin care să se denatureze, să se elimine acești antigeni.

Componentele sistemului limfoid se găsesc dispersate în tot organismul, ele reprezintă cca 1% din greutatea corporală (0,7-1kg) și sunt alcătuite din măduva osoasă, timus (organe limfoide primare) și plăcile Peyer, apendice, amigdale, ganglionii limfatici, splină, formațiunile limfoide de la nivelul pielii, mucoaselor (organele limfoide secundare). Structural, organele limfoide reprezintă o textură de bază, alcătuită din celule reticulare care se unesc între ele formând o rețea în ochiurile căreia se găsesc limfocitele, celulele dendritice, macrofagele etc. Caracteristica organelor limfoide primare (centrale) și secundare (periferice) este elucidată în tab. 3.1.

Datele prezentate în acest tabel relevă caracteristici particulare ale acestora, care le deosebesc fundamental. În organele limfoide primare, limfocitele suferă o serie de transformări care duc la maturarea lor funcțională, iar organele limfoide secundare sunt populate de către limfocitele instruite în cele primare. La nivelul organelor secundare au loc majoritatea reacțiilor imune.

Celulele care pot realiza potențial un răspuns imun se numesc „celule imunocompetente”, iar cele care au fost stimulate și au capacitatea de a răspunde la un anumit antigen (Ag) se numesc „celule angajate”.

Funcția limfopoietică a organelor limfoide primare este condiționată de popularea lor cu celule tinere, imature, adică cu „progenitori” derivați din celula stem de la nivelul măduvei osoase. Organele secundare sunt populate de celulele educate în timus și în măduva osoasă.

Rolul efector principal în activitatea sistemului imun revine limfocitului, efector al reacțiilor imune mediate celular și umoral, capabil de sinteza unor limfokine, de cooperări și autoreglări funcționale, de memorie imunologică etc. Limfocitele, după proveniență și direcție funcțională, sunt împărțite, conform educației lor în organele limfoide centrale, în două clase mari: clasa limfocitelor timodependente educate în timus, care efectuează reacțiile imune mediate celular și au o participare majoră la controlul și supravegherea funcțiilor specifice de apărare (limfocitele T) și clasa limfocitelor burso-dependente, care sintetizează anticorpi (limfocitele B). Între populațiile T și B există relații de cooperare, de reglare, de supraveghere și control.

Unele caracteristici ale organelor limfoide primare și secundare

Caracteristica	Organul limfoid	
	<i>Primar (central)</i>	<i>Secundar (periferic)</i>
Momentul dezvoltării în embriogeneză	Timpuriu	Tardiv
Proveniența celulelor care populează organul	Din celulele stem	Din celulele instruite în organele primare
Popularea cu elemente limfoide precursorare sau mature	Timpuriu, perinatal	După naștere
Proliferarea celulară are loc la nivelul organului	În absența antigenului	Sub influența antigenului
Activitatea hormonală	Prezentă	Absentă
Simbioza limfoepitelială	Prezentă	Absentă
Existența ariilor de dependență celulară	Absentă	Prezentă
Starea organului pe parcursul vieții	Involuează odată cu înaintarea în vârstă	Se păstrează nemodificat pe tot parcursul vieții
Circulația limfocitelor are loc la nivelul organului	Într-un singur sens. Celulele care părăsesc organul nu mai revin	În dublu sens, celulele putând reveni în organul din care au plecat
Efectul extirpării organului asupra răspunsului imun	Reacțiile imune sunt profund alterate	Reacțiile imune sunt ne semnificativ influențate

Limfocitele sunt celule autonome care circulă încontinuu în organism din organele limfoide în torentul sangvin și limfatic, asigurând supravegherea antigenică a țesuturilor, organelor, celulelor, transferul substanțelor active. Migrația limfocitelor se realizează cu participarea adevizinelor, integrinelor, selectinelor și receptorilor „homing”, care determină cantonarea lor la nivel de mucoase, piele, ganglioni limfatici etc., ce determină diferențele fenotipice necesare pentru funcțiile efectorii în țesuturile respective.

Măduva osoasă este structura principală, unde din celula stem hematopoietică apar toate celulele aflate în circulația sangvină, atât cele cu rol de apărare imună, cât și cele care nu sunt implicate în acest gen de apărare. Ele descind din celula matcă (sau sușă, sau stem) pluripotentă. Diferențierea direcționată a celu-

lei stem este influențată de citokinele secretate local. Celula stem se multiplică în absența stimulilor exogeni, generând progenitori din care, sub influența factorilor de microclimat biologic și al unor mediatori cu funcții similare hormonilor, derivă toate celulele aflate în circulație (fig. 3.1).

În măduva osoasă se găsesc 55-70% de celule mieloide și 10-18% de celule limfoide. Printre ultimele predomină precursorii celulelor B, unele dintre acestea conțin în citoplasmă lanțul μ sau prioritar imunoglobulinele monomere IgM pe suprafață. Pe parcursul a 24 de ore pot apărea 20-40 mil. de celule B, o parte dintre care se expun apoptozei.

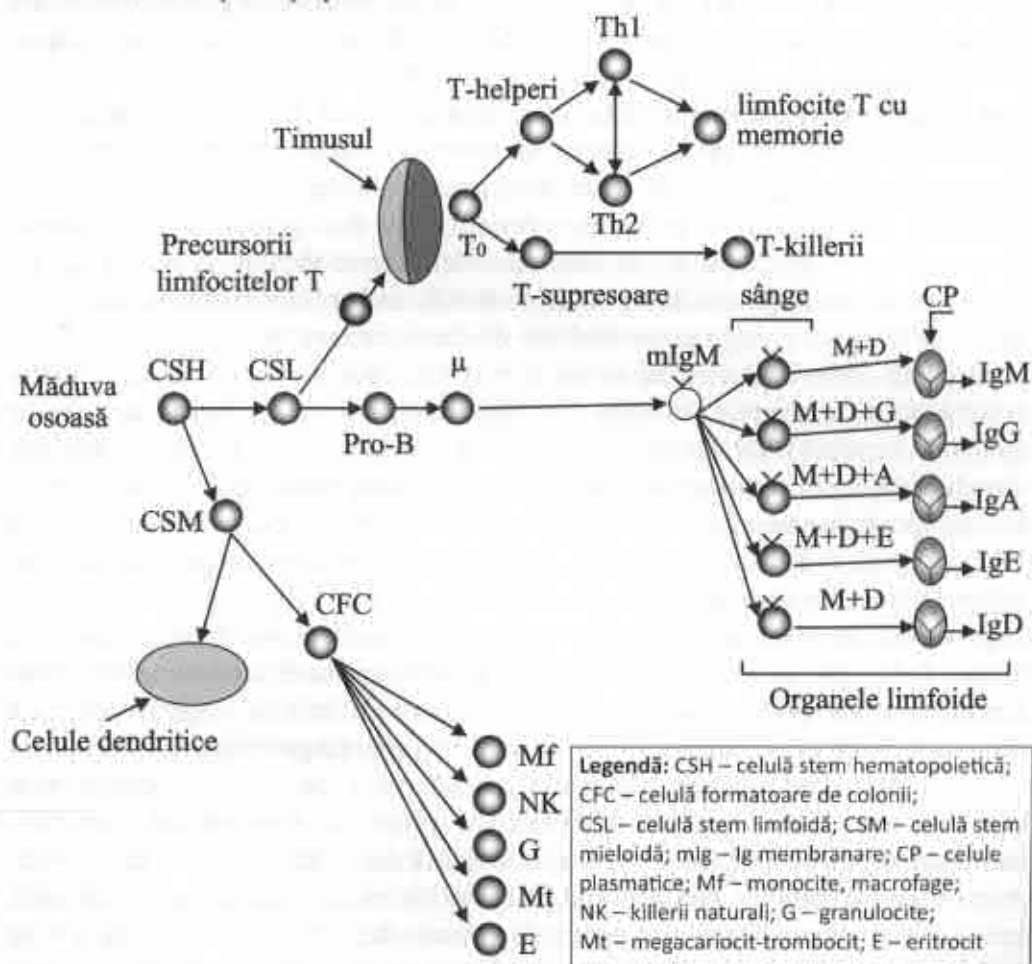


Figura 3.1. Etapele de dezvoltare a celulelor participante în răspunsul imun

Limfocitele T mature (CD3) constituie 3-4% din totalul celulelor măduvei osoase, pătrund din torentul sangvin, dar printre acestea predomină limfocitele citotoxice (CD8⁺) comparativ cu cele T-helper (CD4⁺); ele stimulează sau inhi-

bă maturarea celulelor stem în anumite populații. Hormonii timici circulanți și citokinele locale stimulează apariția precursorilor celulelor T, care migrează în timus, unde se vor transforma în limfocite T mature.

Timusul este un organ limfoepitelial populat de celule precursoare ale limfocitelor T, numite protimocite, derivate din celula stem limfoidă care suferă un proces de diferențiere (maturare în acest organ, se transformă în limfocite cu competență funcțională și migrează apoi în organele limfoide periferice). Dezvoltarea limfocitelor T are loc sub influența hormonilor timici. Activitatea timică este esențială la începutul vieții, când organismul contactează cu numeroși antigeni. Deși scade ca dimensiuni și importanță anatomică după pubertate, timusul asigură în continuare la adulți și la vârstnici necesarul de LT pentru toată viața, dar într-o cantitate mai redusă. Involuția timusului poate apărea și în diferite situații stresante (psihoelementale, ecologice, medicamentoase etc.) la orice vârstă (în special la copii), are caracter reversibil, dar poate conduce la apariția insuficienței imune secundare. Zona corticală este populată de precursorii imaturi (timocite), macrofage, celulele dendritice interdigitale. În regiunea subcorticală se mai găsesc celulele „doică” (nurse cell), care participă la maturarea timocitelor prin secreția de IL-7. Din corticală, timocitele migrează în corticala profundă, unde multe dintre ele vor suferi apoptoză din cauza absenței receptorilor de membrană pentru moleculele proprii HLA (self). Timocitele care au astfel de receptori rămân în viață. În zona medulară timocitele constituie doar 5% din totalul limfocitelor din timus, iar celulele epiteliale exprimă HLA de clasele I și II. Tot aici sunt prezente celule dendritice interdigitale, rare macrofage și granulocite. În această zonă are loc selecția negativă cu apoptoza sau supresia limfocitelor autoreactive, iar cele care recunosc Ag străini (non-self) în contextul Ag HLA proprii vor popula organele limfoide periferice. Diferențierea intratimică implică exprimarea TCR, altor molecule implicate în procesele de selecție și funcțiile caracteristice limfocitelor imunocompetente mature (efectoare și secreția de citokine). Timectomia neonatală sau atimia congenitală este însoțită de grave alterări imune incompatibile cu viața. Ea alterează răspunsul imun față de antigenii timodependenți, rejecția grefelor etc.

Ganglionii limfatici sunt structuri limfoide mici, nodulare, localizate de-a lungul vaselor limfatice și pot fi solitari sau grupați în zone (axilari, cervicali, mediastinali, mezenterici etc.). Capsula fibroasă dezvoltă o serie de travee conjunctive care pătrund în parenchimul ganglionilor cu delimitarea zonei corticale, paracorticale și medulară mai profundă. Limfocitele corticale sunt organizate în foliculi primari și secundari care conțin centri germinativi aparenti în urma stimulării antigenice. Zona corticală conține prioritar LB și celulele dendritice foliculare antigen-prezentatoare care păstrează Ag timp îndelungat. În zona paracorticală, timodependentă sunt concentrate LT, prioritar T-helperii, celulele dendritice interdigitale antigen-prezentatoare. Zona medulară conține LT și LB, alte leucocite și macrofage, iar după stimulul antigenic și plasmocite. Ganglionul

limfatic este locul de suport în dezvoltarea reacțiilor imune. Limfocitele T și macrofagele, celulele dendritice cooperează între ele la pătrunderea Ag și formează răspunsul imun celular T (Th1) și umoral (LB) asociat cu o limfadenită. În cazul răspunsului imun T- celular la Ag se constată hiperplazia zonelor paracorticeale ale ganglionului limfatic, iar în cel umoral – a zonelor B (foliculii limfoizi) cu apariția multor plasmocite.

Splina este organul limfoid secundar cel mai voluminos. Prezintă la periferie o capsulă conjunctivă, care trimite în profunzime ramificații trabeculare ce ajung până în hil. Parenchimul este constituit din pulpa albă și roșie. Splina reprezintă un gen de filtru al sângelui care ar putea conține diferiți Ag fixați de proteine și celule. Pulpa albă este bogată în țesut limfoid, aranjat ca niște manșoane în jurul unor arteriole centrale, cu LT dispuse periarteriolar, formând aria timodependentă, și cele B dispuse periferic, formând nodulii limfatici sau foliculii splenici denumiți și „zone marginale”, la nivelul cărora se găsesc macrofage specializate care, împreună cu celulele dendritice, prezintă Ag limfocitelor T și B. Tot la acest nivel sunt numeroși plasmoblaști și plasmocite. Pulpa roșie este formată din corzi mărginite de macrofage, la nivelul ei fiind distruse eritrocitele îmbătrânite și alterate.

Splina conține 35% de celule T și 65% de celule B. Ea nu are o circulație limfatică, elementele sângelui (inclusiv limfocitele) ajungând aici pe cale sangvină. Pe lângă funcțiile imune, splina distruge celulele îmbătrânite și moarte (în special hematiile), este sediul de depozitare a rezervelor de fier. În splenectomie atribuțiile splenice imune sunt preluate de alte structuri limfoide.

O particularitate distinctă a *țesutului limfoid din mucoase* este asociația mucosolimfoidă, contactul strâns dintre epiteliu, prin care patrund Ag, și care îl prezintă diferitor subpopulații limfocitare.

Amigdalele sunt localizate în foseta tonzilară și reprezintă un organ al inelului limfatic Waldeyer. Ele sunt acoperite de o capsulă fibroasă care trimite spre interior fibre conjunctive ce pătrund în parenchim și formează zone de aglomerări ale foliculilor limfoizi. Participă la menținerea unui echilibru al populațiilor bacteriene din microbiocenoza bucofaringiană și conferă protecție căilor respiratorii superioare.

În epiteliu persistă limfocitele T (CD3⁺CD8⁺) interepiteliale, care interacționează cu apofiza celulelor epiteliale și Ag microbieni din cripte, prin care survine stimularea țesutului limfoid în condiții fiziologice. Printre celulele epiteliale distingem epiteliocite M care leagă și prezintă Ag. În țesutul amigdalelor sunt prezente foliculele primare și secundare (zonele B), și aglomerări interfoliculare de LT. Limfocitele constituie circa 30-50% de celule T și 40-60% de limfocite B. Criptolimfomul asigură proliferarea și diferențierea limfocitelor amigdalelor la Ag microbieni prezenți în cripte. În centrele germinative ale amigdalelor predomină LB, care se transformă în plasmocite secretoare de Ac, inclusiv sIgA.

În *intestine* sunt prezente diverse formațiuni limfoide: plăcile Peyer, foliculele solitare ale intestinului gros, structurile limfoide ale apendicelui, celulele limfoide dispersate difuz în membrana subepitelială. Toate aceste formațiuni sunt legate cu ganglionii limfatici regionali, țesutul limfoid al peritoneului și epiploonului. Mucoasa conține multe limfocite (10-40 la 100 de epiteliocite), predominante fiind limfocitele T-helperi (Th) și T-supresoare (Ts). Epiteliul plăcilor Peyer conține epiteliocite M care leagă Ag și-l prezintă limfocitelor T și B din zonele subepiteliale. Limfocite T, în special Th, conțin receptorul TCR- $\alpha\beta$, circa 5% din ele posedă receptorul $\gamma\delta$. Limfocitele B predomină în plăcile Peyer (până la 70%), iar la maturare în plasmocite secretă IgA și IgE. Printre celulele epiteliale ale mucoasei sunt prezente LT interepiteliale care posedă molecule CD8⁺ (până la 90% sau TCR $\gamma\delta$ și molecule adezive la enterocite (*HML-1 – Human Mucozal Lymphocyte Antigen-1*). Subpopulația limfocitară B-1 este difuz dispersată în lamina proprie a mucoasei și submucoasa subepitelială. În mucoasă există și multe celule non-limfocitare (leucocite, celule dendritice, macrofage) care sunt capabile să prezinte Ag limfocitelor T și să participe în reacțiile imune locale. Inelul limfatic Waldeyer, plăcile Peyer și apendicele sunt reunite sub denumirea de GALT (*Gut-Associated Lymphoid Tissue*). Ele colectează Ag de pe suprafața epitelială a tractului gastrointestinal. În organism, de regulă în zonele expuse agresiunii externe, există și multe aglomerări celulare limfatice, ca de exemplu BALT (*Bronchial Associated Lymphoid Tissue*), MALT (*Mucosal Associated Lymphoid Tissue*), precum și în piele, rinichi, creier, unde microbii ajung prin circulația sangvină, aici formându-se reacții imune de apărare.

În organele limfoide periferice se produce întâlnirea limfocitelor mature, dar „naive” (care nu au mai venit în contact cu Ag), cu celulele prezentatoare de Ag și se realizează activarea și proliferarea LT și LB sub formă de clone de celulele cu receptori de antigen identici. Organele limfoide secundare au un rol extrem de important, deoarece aici se inițiază răspunsul imun specific, adaptiv.

În sinusoidalele *ficatului* sunt prezente celulele Kupffer, o cotă majoră de NK și o serie de subpopulații speciale de celule T.

Cheratinocitele pielii secretă citokine (IL-1, 3, 6, 7, GM-CSF etc.), în special după stimulare și alterare. În piele migrează limfocitele T (CD4) purtătoare de antigen homing al pielii (*CLA-1-Cutaneous Lymphocyte Antigen-1*). În epiderm sunt constant prezente limfocitele T și celulele Langerhans, ultimele leagă și procesează antigenul.

Limfocitele T, diferențierea și funcțiile lor

Limfocitele T derivă din celula stem limfoidă care migrează din măduva osoasă în timus începând cu a 7-a săptămână de dezvoltare intrauterină. Migrația este reglată de expresia și interacțiunea unor chemokine și a unor receptori

pentru chemokine (ex., SDF-1 care se leagă de CXCR4), dar și de moleculele de adeziune (ex., VLA-4 care interacționează cu VCAM-1).

Maturarea timocitelor este influențată de celulele epiteliale și de hormonii timusului (timozinele α și β , timopoietină, factorul timic umoral, timulină etc.) pe măsura deplasării lor din cortex în stratul intern medular.

Limfocitele pro-T (precursorii pluripotenți care au migrat din măduva osoasă în timus) exprimă pe suprafață CD34, CD3, CD4, CD8, dar sunt dublu negative ($CD4^+CD8^-$) și vor începe recombinația genică pentru lanțurile γ , δ și β . Dacă recombinația este încheiată cu succes pentru lanțurile γ și δ , rezultă $LT\gamma\delta$, care rămân dublu negative, părăsesc timusul și populează țesuturile limfoide și epiteliale. Dacă recombinația se încheie cu succes pentru lanțul β , acesta va forma un pre-TCR cu un lanț pre- α . Semnalizarea prin pre-TCR și CD3 va determina recombinația lanțului α și exprimarea CD4 și CD8, rezultând astfel LT dublu pozitive sau limfocite pre-T, care mai dispun de markerii CD5 și CD2. TCR de la suprafața LT dublu pozitive vor interacționa cu Ag prezentat de MHC de la suprafața celulelor epiteliale corticale. În urma acestei interacțiuni, vor fi selectate celulele care vor supraviețui, iar cele care nu interacționează vor muri prin apoptoză. Dacă la suprafața celulelor epiteliale este exprimat MHC de clasa I, LT vor păstra CD8 la suprafață, pierzând CD4, iar dacă la suprafața celulelor epiteliale este exprimat MHC de clasa II, LT vor păstra CD4 la suprafață, rezultând astfel LT simplu pozitive (*selecție pozitivă*). Ulterior, LT simplu pozitive vor migra din corticală în medulară, unde vor interacționa cu APC, care prezintă Ag proprii. Dacă interacțiunea are o afinitate moderată, LT vor supraviețui, dar dacă afinitatea este mare sau mică, LT vor fi înlăturate prin apoptoză (*selecție negativă*). LT care supraviețuiesc, vor fi LT mature naive. Limfocitele T care au păstrat moleculele CD4 sunt T-helperi inductori, iar cele cu CD8 – supresoare/citotoxice. Din timus ele migrează în organele limfoide periferice, unde canteonează în zonele paracorticale timodependente. La periferie LT se pot maturiza suplimentar sub influența timulinei care este activată de ionii zincului.

Markerii prezenți pe suprafața limfocitelor T sunt redați succint în tab. 3.2: CD2 (epitop-receptor pentru eritrocitele de oaie), CD3, CD4 (prezenți la T-helper), CD8 (la limfocitele citotoxice). Subpopulațiile de celule T mature posedă molecule CD5, 6, 7, 27, 43, 45, 58, 63, 73, 76, 122. Celule T cu memorie dispun de CD45RO, iar cele naive (care n-au contactat cu Ag) – de CD45RA (mai rar CD45RB). O parte din celulele T exprimă molecule CD28 transmițătoare ale semnalelor de activare. Pe limfocitele T activate apar receptori pentru IL-2, antigenii HLA de clasa II, receptor pentru transferină (CD71), CD26, iar la unele subpopulații – CD38, CD54, CD69. Limfocitele T constituie 55-75% din populația limfocitară sangvină. Ele sunt heterogene după funcțiile ce le revin: T_0 (nule, timice naive, imature), T-helper, T-supresoare/citotoxice și cu memorie.

Fenotipul (markerii) limfocitelor umane

Structurile limfocitelor	Limfocitele T	Limfocitele B
Receptori pentru antigeni	TCR, tip $\alpha\beta$, TCR tip $\gamma\delta$	Imunoglobulinele claselor M, G, A, D, CD79a (Ig α); CD79b (Ig β)
Markerii CD principali ai limfocitelor	CD2, CD3	CD19; CD20; CD22; CD72; CD40
Antigenii HLA	HLA de clasa I (A, B, C etc.) HLA de clasa II (după activare)	HLA de clasa I (A, B, C etc.); HLA de clasa II (HLA-DR, DP, DQ)
Markerii subpopulațiilor	CD4, CD5; CD7; CD8; CD1a, b, c; CD45RA (naive); CD45 R0 (memorie)	CD5; CD21(CR2); CD1a, b, c
Receptorii mai frecvenți și enzime	CD28; CD26 (dipeptidilpeptidaza IV); CD44 (receptorul homing); CD73; CD90 (Yhy1); CD95; CD99	CD10 (Zn- metaloproteinaza); CD21 (CR2); CD23 (Fc ϵ RII); CD32 (Fc γ RII); CD35(CR1); CD73 (ecto-5-nucleotidaza); CD95
Molecule de adeziune	CD11a/CD18 (LFA-1); CD11c/CD18 (CR4); VLA-2, 4, 5, 6; CD29/CD49; CD54 (ICAM-1), CD58 (LFA-3); CD56 (N-CAM), CD31 (PECAM); CD48, CD50 (ICAM-3); CD62L (selectina L)	CD11a/CD18 (LFA-1); CD11b/CD18 (Mac-1); VLA-2, 3 și 4; CD29/CD49; CD31 (PECAM-1); CD34; CD58 (LFA-3); CD62L (selectina L); CD80 (B7.1); CD86(B7.2); CD102 (ICAM-2)
Markerii activării	CD25; CD69; CD71, CD95 (Fas, APO-1); CD99; HLA-DR, DQ, DP	CD25; CD30; CD40; CD54; CD69; CD70; CD126; CD130; molecule HLA de clasa II
Receptori pentru citokine (pe celulele activate)	CD117 (c-kit, pentru CFC); CD121a (pentru IL-1, tip I); CD25/122/132 (pentru IL-2); CD124/132 (pentru IL-4); CD127/132(pentru IL-7); CD129/132(pentru IL-9)	CD25/122/132 (pentru IL-2; α , β , γ); CD119 (pentru IFN- γ); CD121b (pentru IL-1, tip II); CD124/132 (pentru IL-4); CD125 (pentru IL-5, α/β); CD126/130 (pentru IL-6); CD127/132 (pentru IL-7)

Celulele T-helper (CD4⁺) constituie 34-45% din totalul LT prezente în sânge și sunt celulele reglatoare. Ele stimulează proliferarea și diferențierea limfocitelor T și B, secretă interleukine. Pe suprafața LT-helper sunt prezenți markerii CD2, CD3, CD4 (molecula de adeziune care este receptor pentru virionul HIV) și moleculele HLA de clasa II. T-helperii posedă receptor pentru IgM (FcμR).

Se disting două subpopulații: Th1, care secretă IL-2, IL-12, IFN-γ etc. și asigură imunitatea T celulară, și Th2, care secretă IL-4, -5, -10, -13 și stimulează sinteza de anticorpi (fig. 3.2).

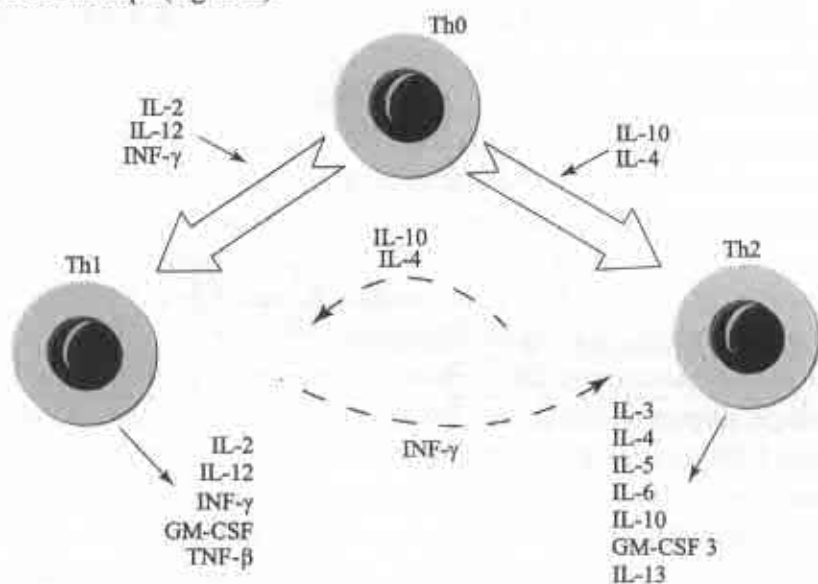


Figura 3.2. Citokinele limfocitelor T-helper de tip 1 și tip 2 și interacțiunea lor

Paradigma clasică Th1-Th2 susține că predominarea răspunsului imun tip Th1 sau tip Th2 influențează rezultatul final al răspunsului imun, iar dezechilibrul balanței dintre cele două subpopulații poate conduce la apariția diferitor maladii.

T-helperii de tip 1 prin secreția de IFN-γ, IL-2, IL-12 stimulează imunitatea antivirală și antibacteriană față de agenții intracelulari, pe când Th2 intensifică secreția de Ac, potențează imunitatea antibacteriană, antitoxică și secreția de IgE. Predominarea activității Th1 față de Th2 la om depinde de secreția de citokine de către celulele din preajmă (macrofage, leucocite, limfocite). Stimularea cu doze optime de Ag contribuie la diferențierea Th1, iar cu doze mici se incită proliferarea Th2.

În diferențierea celulelor T naive participă populațiile celulare prezentatoare de Ag (APC). Dacă Ag este prezentat de macrofage, celulele T naive se transformă în Th1, iar dacă este prezentat de limfocitele B, atunci vor apărea Th2.

Actualmente a fost identificată o familie de gene speciale TIM (*T-cell, immunoglobulin domain, mucin domain*), care codifică glicoproteinele membranare (peptide semnale, domenele asemănătoare imunoglobulinelor și mucinelor) și apreciază diferențierea celulară. Intensificarea activității genei TIM-3 induce diferențierea Th1, iar a TIM-1 – diferențierea Th2. Limfocitele Th1 și Th2 se deosebesc și după receptorii chemokinici din dotare. Th1 dispun de receptorii CCR5 pentru chemokinele β RANTES, MIP1 α , MIP1 β și CXCR3 – pentru chemokinele MIG, JP-10, TAC-1. Th2 posedă receptorii CCR3 pentru chemokinele β TARC și MDC, iar receptorul CCR8 – pentru chemokinele β A3, J-309.

Pe Th1 este exprimat receptorul activ funcțional pentru IL-12 ($\beta_1\beta_2$), iar Th2 au în dotare monomerul inactiv (β_1), receptori activi pentru IFN- γ ($\alpha\beta$) și IL-1.

Subpopulația Th3 este una reglatoare (de fenotipul CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺) și la activare secretă IL-10 și TGF β (factorul de creștere transformant β). Sinteza acestor citokine și a produsului genei Foxp4⁺ – proteina scurfina este asociată cu supresia răspunsului imun. Th3 se atestă frecvent în mucoase și reglează transferul de sinteză a IgM spre IgA de către celulele B, funcțiile Th1 și Th2, participă la menținerea toleranței la antigenii alimentari.

Limfocitele T citotoxice (CD8⁺) constituie o prezență de 18-22% din LT circulante în sânge, dispun de antigenul CD8 și de un receptor pentru IgG (Fc γ). Macromolecula CD8 este receptor pentru Ag HLA de clasa I. Limfocitele T citotoxice (killerii) sunt limfocite efectoare cu rol în recunoașterea celulelor proprii modificate (prin infecții intracelulare, modificare tumorală), determinând eliminarea acestora prin citotoxicitate celulară directă specifică. Acest mecanism este asemănător celui utilizat de celulele NK: eliberarea de granzime (serinesteraze asociate granulelor) și de perforine (proteine formatoare de pori). Prin activare, LT CD8⁺ vor produce proteinele citotoxice pe care le vor elibera la punctul de contact cu celula-țintă (sinapsa imunologică), determinând distrugerea specifică a celulei, fără a deteriora celulele vecine. Celula killer rămâne viabilă și poate distruge până la 20 de celule-țintă.

Celulele T cu memorie imună au markerul CD45 R0, ele sunt celule Th și Tc cu durată de semivie mare, descendente ale celulelor care au contactat Ag și au păstrat receptorii pentru acesta. Sunt celule circulante și, dacă întâlnesc Ag respectiv, vor da naștere LT efectoare. Unii autori consideră existența a două subpopulații de limfocite T cu memorie: centrală și efectorie. Cele cu memorie centrală exprimă CD45 RA, selectina L (CD62L) și CCR7, sunt sechestrate în țesuturile limfoide și la contactul cu Ag specific vor răspunde prin diviziune rapidă, dar cu funcții efectorii minime, pe când cele cu memorie efectorie posedă doar CD45 RA, sunt circulante, asigură supravegherea antigenică periferică și un răspuns efector rapid.

Receptorul T celular (TCR). Pe suprafața limfocitelor T există circa 3×10^4 molecule de TCR față de diverși Ag. Receptorul denumit este un heterodimer

$\alpha\beta$ și, mai rar, $\gamma\delta$. În epitelii intestinale și în piele se găsesc până la 5% de limfocite T cu receptori $\gamma\delta$, care mai dispun de molecule CD2, 3, 5, 7 și nu posedă molecule CD4, CD8. Ele diferențiază în țesuturile de barieră ale mucoaselor și pielii și reacționează cu Ag micobacteriilor, proteina p65 a șocului termic, antigenii nonpeptidici etc. independent de moleculele HLA, iar prezentarea Ag este realizată de moleculele CD1. Spectrul specificității lor este restrâns datorită numărului minor de lanțuri $\gamma\delta$ ale TCR.

TCR se referă la superfamilia receptorilor imunoglobulinici. Structurile variabile ale lanțurilor $\alpha\beta$ asigură recunoașterea Ag (fig. 3.3).

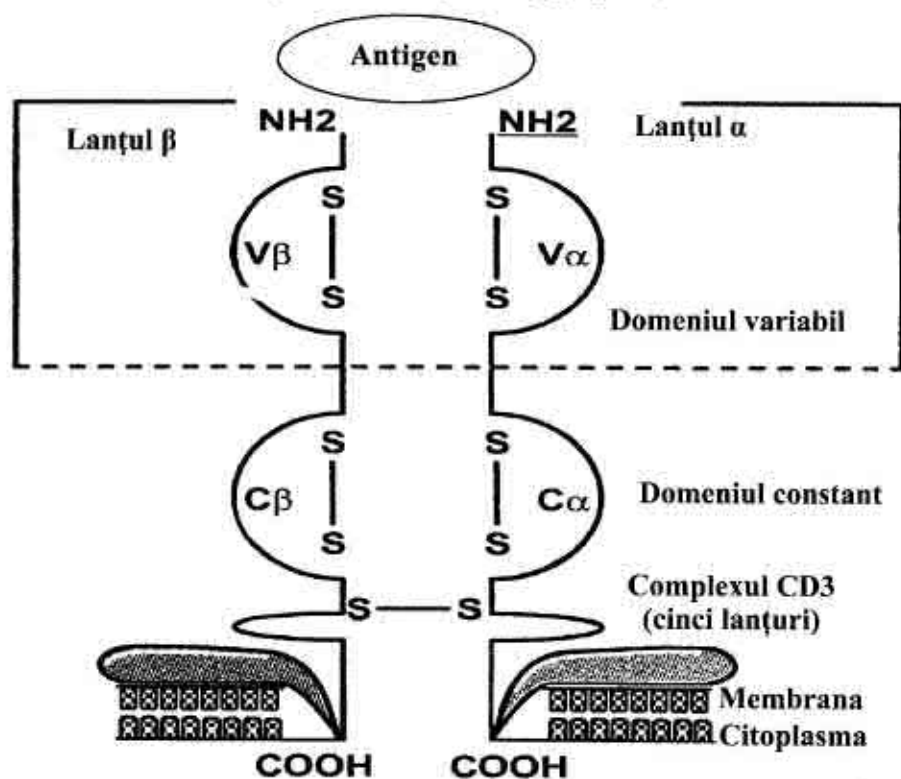


Figura 3.3. Receptorul T-celular (TCR)

Variantele receptorilor TCR specifice pentru fiecare Ag preexistă, iar diversitatea lor este programată genetic (la embrioni există 30-500 de gene care controlează domenele variabile ale lanțurilor). De sinteza lanțurilor α sunt responsabile genele cromozomului 14, iar sinteza lanțului β este datorată locilor minigene V (variabilă), D (diversitate), J (de legătură). Recombinarea genelor lanțurilor asigură apariția cca a 10000 de variante α și a 2800 de variante de lanțuri β . Asociațiile lor diverse generează cca $3,0 \times 10^7$ de receptori antigen-specifiți ai celulelor T. Variantele receptorilor $\gamma\delta$ sunt esențial mai puține. Antigenul se leagă cu receptorii corespunzători, stimulează proliferarea celulară și formarea unei clone. Apariția

clonei asigură răspunsul imun specific. Activarea primară a celulelor T naive de către antigenii peptidici în complex cu moleculele HLA de clasele I și II rezultă din interacțiunea cu receptorul TCR care se găsește numai la o celulă din cele 10^5 . Limfocitele Th și Tc au receptori TCR identici, dar cele helper vor reacționa cu Ag asociat moleculelor HLA de clasa II, iar cele citotoxice recunosc Ag în complex cu HLA de clasa I. Antigenul peptidic este în prealabil procesat de celulele APC și prezentat în formă de peptide cu lungimea de 8-11 aminoacizi pentru Tc și 12-25 pentru Th. TCR nu reacționează cu proteinele, polizaharidele, lipidele native...

În activarea celulară participă moleculele costimulatoare și citokinele, care conduc la expresia CD2, LFA-1, CD45, VLA-4 pe suprafața celulelor T.

Există o subpopulație de limfocite T cu receptor $\alpha\beta$, care au un lanț α invariant ($V\alpha 14$), numite celule NK-T ($CD4^+NK1.1^+$). Ele nu reacționează cu moleculele HLA de clasa II, dar participă în recunoașterea Ag lipidici asociați cu moleculele CD1. Aceste limfocite sunt activate rapid după pătrunderea Ag, ele produc IL-4 în cantități mari și stimulează diferențierea limfocitelor T $CD4^+ \alpha\beta$, naive în Th2.

La activarea celulelor T și recunoașterea Ag TCR se asociază cu complexul CD3 care constă din lanțurile γ , δ , ϵ , ζ și η . Ele transmit semnalul de la receptor intracelular prin tirozinkinaza ZAP-70. Structura TCR-CD3 funcționează ca un complex peptidic. Limfocitele CD4 și CD8 participă și la activarea tirozinkinazei proteice care rezultă cu formarea unei sinapse imune.

Rezumând materialele prezentate, punctăm unele proprietăți de bază ale celulelor T:

- se diferențiază în timus cu apariția a două subpopulații de celule naive (T_0), dotate cu markeri $CD3^+CD4^+$ (helperi) și $CD3^+CD8^+$ (supresoare/citotoxice);
- se cantonează în zonele paracorticale ale organelor limfoide periferice;
- dispun de receptori $TCR\alpha\beta$ sau $\gamma\delta$ genetic programate pentru interacțiunea cu Ag în asociație cu complexul CD3 – transmitător al semnalului în celulă;
- în țesuturi, sub influența citokinelor, se diferențiază: T_0 -helperii în Th1-productori de IL-2 și IFN- γ pentru răspunsul imun celular și Th2 – secretoare de IL-4, IL-5 etc. pentru sinteza de anticorpi; T_0 supresoare/citotoxice în celulele T-killer mature destinate pentru distrugerea celulelor-țintă;
- T-helperii recunosc Ag în complex cu moleculele HLA de clasa II (HLA-DR, DP, DQ), iar T-supresoarele – cu HLA de clasa I (HLA-A, B, C);
- sunt responsabile de imunitatea celulară, sunt celule reglatoare etc.

Limfocitele B, diferențierea și funcțiile lor

Limfocitele B (LB) sunt descendente ale celulei stem hematopoietice, iar diferențierea lor are loc la om în măduva osoasă. La păsări aceste celule se maturizează în bursa lui Fabricius, origine care le-a conferit denumirea de limfocite B. LB sunt responsabile de imunitatea specifică umorală anti-Ag patogenilor extracelulari. Anticorpii neutralizează agenții patogeni și toxinele, facilitează opsonizarea și activează complementul. Sunt cunoscute două subpopulații principale de limfocite B: B-1 și B-2,

iar printre B-1 se disting celule B1a și B1b. Subpopulația B-1 apare din celula stem limfoidă extramedulară și se cantonează în cavitatea peritoneală și pleurală, amigdale și epiploon. Celulele B1a dispun de markerul CD5 și secretă imunoglobulinele de clasa M, G, A – anticorpi de afinitate joasă la polizaharidele, lipidele, proteinele bacteriilor. Posibil, că ele sunt celule ale imunității naturale, iar imunoglobulinele secretate – anticorpi naturali. Limfocitele B-1 pot, de asemenea, produce autoanticorpi în bolile autoimune. Subpopulația B-2 prezintă limfocite cu receptori imunoglobulinici pe suprafața membranei pentru recunoașterea antigenului. La stimularea antigenică, ele se maturizează în plasmocite – secretoare de anticorpi. În procesul limfopoiezei, limfocitele B-2 realizează câteva etape cu maturarea lor sub influența celulelor stromale și citokinelor. Pe celula timpurie pro-B este exprimat receptorul c-kit pentru primul factor de creștere a celulei stem (stem-cell factor). Ulterior, pe suprafața ei apare receptorul pentru IL-7, secretat de celulele stromale. Apar markerii pan-B celulari – dimerii polipeptidici Igα (CD79a) și Igβ (CD79b), și CD19. Procesul de maturare este stimulat de IL-3 și IL-4. În citoplasmă și pe membrana celulelor pre-B apare lanțul greu pentru mIgM, iar pe membrană vor fi exprimați markerii CD20, 21, 72 etc. Apariția celulelor B imature se caracterizează prin formarea receptorului BCR – mIgM în complex cu Igα și Igβ. Monomerul membranal mIgM poate interacționa cu Ag, iar Igα și Igβ transmit semnalul intracelular ce va conduce la apoptoză (moartea celulară programată) sau la autotoleranță. Astfel sunt eliminate celulele B autoreactive și se stabilește toleranța la „propriul” antigen (deleția clonei). Acest proces nu se constată la limfocitele B mature, în special dacă ele au primit semnale suplimentare de la celulele T. Pe limfocitele B sunt exprimate IgD și alți markeri (tab. 3.2).

Limfocitele B mature migrează din măduva osoasă în torrentul sangvin și cantonează prioritar în foliculele organelor limfoide periferice. La stimularea antigenică (diferențiere antigen-specifică – imunopoieza) pe limfocitele B sunt exprimați receptorii imunoglobulinici – IgG (patru subclase), IgA și IgE și ele proliferază în plasmocite secretoare de anticorpi (Ac).

Toate etapele de diferențiere a limfocitelor B sunt asigurate de activarea și reorganizarea genelor respective care controlează sinteza lanțurilor grele și ușoare ale IgM și altor molecule. Rearanjarea genelor apreciază diversitatea acestor molecule.

Există 10^9 - 10^{16} variante de celule B, inițial programate pentru sinteza imunoglobulinelor – anticorpilor de o anumită specificitate. Pe limfocitele B mature există imunoglobuline legate de membrană (mlg), prioritar mIgM și mIgD. Circa 5-15% de limfocite B dispun de IgM, multe din celule suplimentar conțin și mIgD. Numai 0,3-0,7% dispun de mIgG (la ele nu se referă IgG fixate de receptorul Fcγ), rar se întâlnesc mIgA (0,1-0,9%) pe membrana celulară.

Limfocitele B, prin receptorii lor, pot fi stimulate de antigenii timo-independenți (LPS sau polizaharide). Cu ajutorul T-helperilor, limfocitele B reacționează cu alți Ag. Sângele în condiția de normă conține 17-30% celule B din totalul limfocitelor. Limfocitele B cu memorie sunt celule CD27⁺ cu viață lungă, care exprimă IgM

la suprafață, dar nu secretă Ac. La restimulare proliferază, se diferențiază rapid în plasmocite seretoare de Ac.

Imunoglobulinele și anticorpilor (structura și funcțiile)

Imunoglobulinele (Ig) prezintă o grupă de proteine înrudite cu funcții de anticorp (Ac), care există sub formă de molecule libere sau de receptori pe membrana limfocitelor B-efectoare. La electroforeză, Ig migrează în mare parte în zona γ -globulinelor și mai puțin în cea a globulinelor β . Sinteza lor este realizată de către limfocitele B ajunse în faza de maturare finală (plasmocit). Se găsesc în plasmă, în lichidele extravasculare și în diferite secreții exocrine. O parte din molecule se fixează citofil pe receptorul pentru Fc de pe membrana macrofagelor, limfocitelor B, granulocitelor PMN, mastocitelor, bazofilelor etc.

Termenul de imunoglobulină se utilizează pentru semnificația unei proteine structurale tipice, iar termenul anticorp pentru accentuarea funcțiilor – interacțiunii specifice de legare cu epitopul antigenic.

Imunoglobulinele se deosebesc de globulinele serice normale prin capacitatea de reacție specifică cu Ag care le-a determinat sinteza, prin sensibilitate la unele enzime (pepsină, tripsină), prin constanta de sedimentare, viscozitate etc. Moleculele de Ig fixează complementul (C), activează fagocitoza prin mecanisme opsonice și pot străbate diferite bariere ale organismului. Ele se împart în clase, subclase și diferite subtipuri antigenice.

Structural, molecula de Ig monomeră este formată din două lanțuri grele H (*Heavy*) și două lanțuri ușoare L (*Light*), unite prin legături disulfidice și necovalente (fig. 3.4).

Există și punți disulfidice intercatenare și intracatenare, care leagă un lanț H de unul L (L-H), precum și între lanțurile L (L-L), H (H-H). Fiecare lanț este constituit din porțiuni globulare compacte denumite domenii: două pentru lanțul L (V și C) și 4 pentru lanțul H (V, C1, C2 și C3). Există două tipuri de lanțuri ușoare: κ -kappa și λ (lambda). Lanțurile H se deosebesc prin proprietățile sale antigenice și apreciază clasa imunoglobulinelor: μ (miu) pentru IgM, γ (gama) pentru IgG, α (alfa) pentru IgA, ϵ (epsilon) pentru IgE, δ (delta) pentru IgD. Lanțurile H și L conțin regiuni variabile (V_H și V_L) și constante (C_L , C_{H1} , C_{H2} , C_{H3} și C_{H4} pentru IgM și IgE). Enzima papiană scindează molecula Ig în 3 fragmente, dintre care două leagă antigenul – fragmentele Fab (*Fragment Antigen Binding*) și unul care cristalizează – fragmentul Fc (*Fragment Crystallizable*).

Situsul combinativ (SC), situat la extremitatea NH_2 terminală a fragmentelor Fab, este locul prin care molecula Ig recunoaște și leagă specific epitopul Ag. El se compune din ariile variabile și hipervariabile de pe V_H și V_L . Secvența aminoacidică are un grad diferit de variabilitate: cele mai puțin variabile au fost denumite „regiuni cadru” sau FR (*Frame Work* = cadru) și au rol în menținerea stabilității lanțului, iar cele hipervariabile – „regiuni de determinare a complementarității” sau CDR.

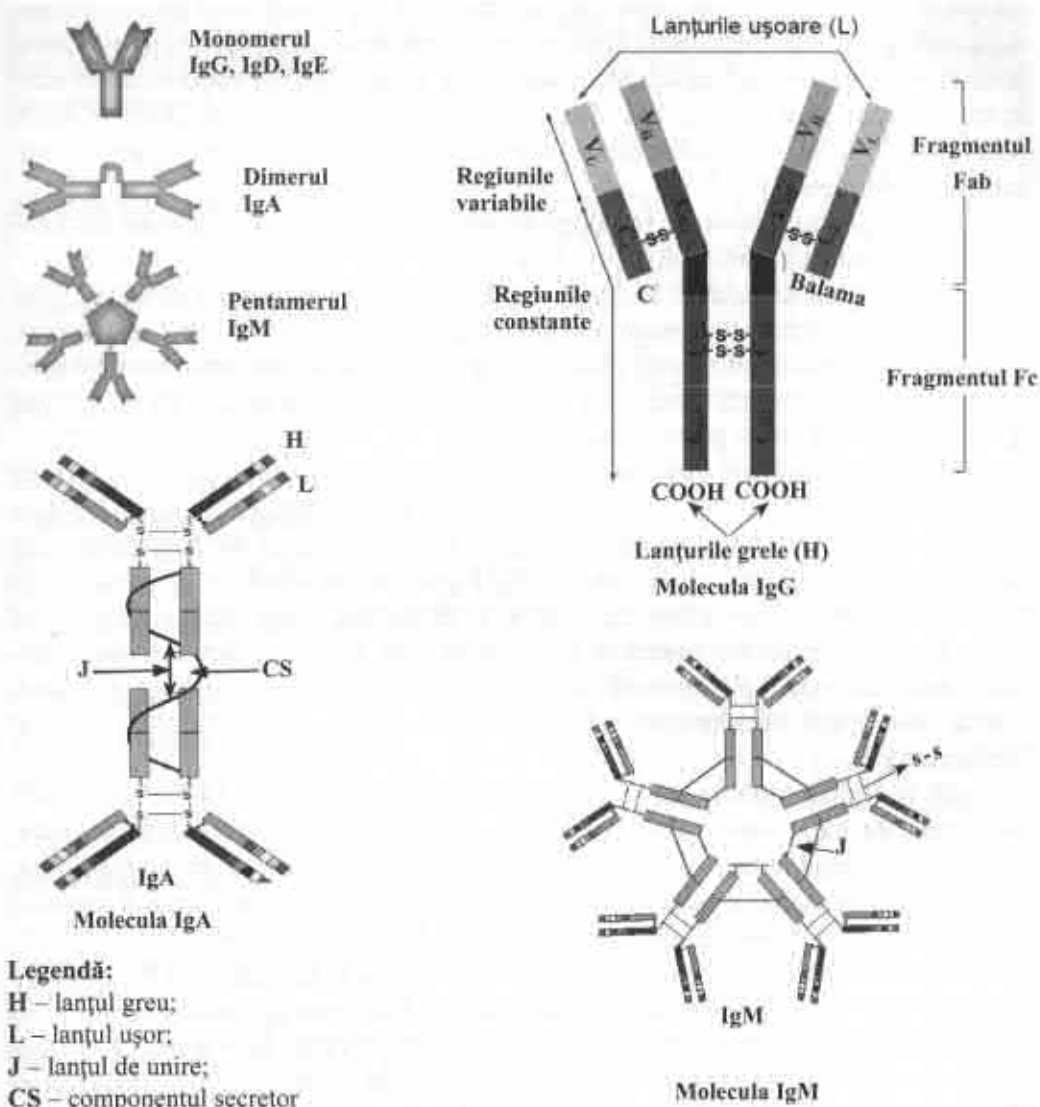


Figura 3.4. Structura moleculelor imunoglobulinice

Legarea situsului combinativ cu epitopul Ag este asigurată de adeziunea structurilor în baza interacțiunilor fizico-chimice. Regiunea „balama” constituie o secvență care unește fragmentele C_{H1} cu C_{H2} ale lanțurilor grele și care conferă rigiditate moleculei, permițând fragmentelor Fab să se orienteze în spațiu în diferite poziții. Când molecula Ig leagă Ag, domeniul C_{H2} al fragmentului Fc leagă complementul, iar domeniul C_{H3} conferă moleculei posibilitatea de a se lega cu receptorii Fc ai leucocitelor etc.

Imunoglobulinele sunt heterogene din punctul de vedere al specificității lor: *izotipice* – prezente la toți indivizii unei specii și exprimate în clase și subclase de Ig; *alotipice* – definesc caracterul antigenic particular al acestora, apărut la un grup de indivizi din cadrul aceleiași specii, ca urmare a unor modificări minore în secvența aminoacizilor de la nivelul regiunilor constante ale lanțurilor H sau L (Gm, Am, InV, ISF etc.) *idiotipice* – exprimă o enormă varietate de specificități secretate de un individ.

Caracteristica claselor de imunoglobuline cu proprietăți funcționale particulare este elucidată în tab. 3.3.

Imunoglobulinele clasei M (IgM) reprezintă cca 5-10% din totalitatea imunoglobulinelor circulante (macroglobulina serică). IgM constă din 5 monomere ($\mu_2\kappa_2$ sau $\mu_2\lambda_2$) unite prin punți disulfidice și un lanț de unire suplimentar J (joining chain), care conferă aspectul de stea sau de masă cu piciorușe, cu 10 situsuri de combinare situate la periferia pentamerului.

Gradul de glicolizare este major. IgM activează pe cale clasică C prin fixarea componentelor C1q la C₁₂, fiind de 100 de ori mai eficientă decât IgG în citoliza celulelor bacteriene. Sunt Ac aglutinanți și neutralizanți ai Ag particulare (de ex. hemaglutininele anti-A și anti-B). IgM este prima clasă de Ig produsă de plasmocite și principala clasă care apare în răspunsul imun primar. Predomină în ser (volumul mare nu-i permite trecerea în spațiile extravasculare sau transplacentar), dar poate fi secretată în mucoase, unde asigură protecția acestora. Forma monomerică membranară a IgM (mIg) constituie receptorul pentru Ag al limfocitelor B.

IgM în forma monomerică se găsește în ser în concentrații foarte mici, care însă cresc în LES, ataxie-teleangiectazie, macroglobulina Waldenström, lues, infecția citomegalovirală, toxoplasmoză etc. Această clasă este responsabilă de activitatea bactericidă a serului, cu referire specială la apărarea imună mediată umoral față de salmonele, de răspunsul imun față de fragmentul Fc al IgG în boala reumatismală (factorul reumatoid) etc. Sinteza ei este puțin influențată de acțiunea unor factori imunodepresori, deși în sindroame de malabsorbție și în infecțiile cronice se înregistrează o scădere a concentrației IgM serice. Concentrația ei crește în artrite reumatoide și în hepatite. În cursul macroglobulinemiei Waldenström, creșterea considerabilă a IgM monoclonale în ser și tendința de polimerizare conduc la instalarea unui „sindrom de hiperviscositate”, care de multe ori poate fi fatal pentru pacienți.

Imunoglobulinele clasei G (IgG) apar în cantități majore în răspunsul imun secundar, constituie 70-85% din totalul imunoglobulinelor și sunt Ac cu rol în neutralizarea toxinelor, virusurilor, bacteriilor, în fagocitoza opsonică, citotoxicitatea anticorp-dependentă. Moleculele de Ac IgG, care apar în cursul stimulului antigenic secundar sau prin comutare după stimulul primar, inhibă sinteza Ac din clasa IgM printr-un proces de *reglare inversă* (sau feedback) concurând cu Ag. Este unicul Ac care traversează placenta și asigură protecția antiinfecțioasă la făt și apărarea la nou-născut. Conține glucide (sunt glicoproteine).

Proprietăți imunobiologice și fizico-chimice ale diferitor clase de imunoglobuline

Proprietăți	Clasa de imunoglobuline				
	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
Lanțul greu este de tip	γ	α	μ	δ	ϵ
Formula moleculară	$\gamma_2 k_2$ sau $\gamma_2 \lambda_2$	$\alpha_2 k_2$ sau $\alpha_2 \lambda_2$ și $(\alpha_2 k_2)_2 + J + CS$ sau $(\alpha_2 \lambda_2)_2 + J + CS$	$(\mu_2 k_2)_5 + J$ sau $(\mu_2 \lambda_2)_5 + J$	$\delta_2 k_2$ sau $\delta_2 \lambda_2$	$\epsilon_3 k_2$ sau $\epsilon_3 \lambda_2$
Concentrația în ser (g/l)	8-12	1,4-4,0	0,5-1, 9	0,03-0,4	0,0001
Greutatea moleculară (kDa)	150-160	170 în ser, 400 în secreții	900	185	190
Concentrația extravasculară (%)	60	60	20	25	50
Coefficient de sedimentare (S)	7	7; 9; 11	19	7	8
Greutatea lanțului H (kDa)	53	56	65	69	72
Numărul domeniilor lanțului H	3	3	4	3	4
Hidrați de carbon (%)	2-5	8-10	10-12	12-15	11-12
Numărul subclaselor	4	2	-	-	-
Numărul situsurilor combinative (valența)	2	2, 4, 6	5 sau 2	2	2
Prezența lanțurilor de unire J	-	+	+	-	-
Prezența componentului secretor (CS)	-	+(secretorii)	-	-	-
Rezistența la temperatura +56°C	+	+	+	-	-
Rezistența la 2-mercaptoetanol	++	+/-	-	++	-
Determinante izotopice (subclase)	1; 2; 3; 4	1; 2	-	-	-
Determinante alotipice:	Gm (H)	+	-	-	-
	InV(L)	+	+	+	-
	Am	-	+	-	-
Sinteza (mg/kg/zi)	30	8-27	6-8	0,4	?
Catabolism (%/zi)	3	12	14	?	2, 5
Perioada de înjumătățire (zile)	21 (la IgG3=7)	7	5, 1	2,8	2, 3
Capacitatea de fixare a complementului (calea clasică)	+	-*	++	-	-
(IgG4 nu)					
Pasajul transplacentar	+	-	-	-	-
Legarea la receptorul Fc de pe	macrofage	+	-	-	-
	mastocite	-	-	-	+
	limfocite	+	+	+	?
Legarea SPA (proteinei A)	+	-	-	-	?

Notă: * IgA activează C pe cale alternativă. CS – componentul secretor; J – lanțul de unire

La om există 4 tipuri de lanțuri γ cu diferențe structurale și funcționale minore, denumite $\gamma_1, \gamma_2, \gamma_3, \gamma_4$, care formează subclasele IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, coraportul procentual al lor fiind de 60:20:15:5. Sinteza diferitor subclase de IgG este condiționată de natura Ag, de ex. cofactorul VIII stimulează sinteza IgG4, polenul – moleculelor IgG4, AgD (Rh) al celor IgG1 și IgG3, iar toxina difterică și tetanică – a celor IgG1. La legarea cu Ag IgG activează C pe calea clasică.

Preparatele de IgG (purificate) sunt utilizate în scop substituent la deficitul lor și în cazul infecțiilor severe. Pe de altă parte, ele sunt utilizate în terapia bolilor alergice și autoimune datorită supresiei răspunsului imun.

Imunoglobulinele clasei A (IgA) constituie 15-20% din totalul Ig din circulația sangvină. Sunt prezente în serul sangvin (în formă monomerică, serică) și în secrețiile mucoaselor (secretorie, în formă de dimer și trimer). Ultimele dispun de lanțul J care unește 2 sau 3 monomere și componentul secretor (SC) într-o moleculă unică. Componentul secretor este o glicoproteină secretată de celulele epiteliale care asigură transportul IgA prin epitelii și rezistența la enzimele proteolitice din diferite secrete. IgA secretorie (sIgA) asigură imunitate locală, blochează adeziunea microorganismelor la epitelii mucoaselor, opsonizează celulele microbiene, neutralizează unele toxine, intensifică fagocitoza, aglutinează microbii (bacterii, fungi). Concomitent sIgA frânează adsorbția și reproducția virionilor în celulele epiteliale.

În diferite secrete ale organismului uman, sIgA se găsește în concentrații diverse (mg%): 28 – în salivă, 151 – în colostru, 7 – în lacrimi, 10-70 – în secrețiile bronșice, 75 – în intestinul subțire, 50 – în vezicula biliară, 25 – în prostată, 6 – în secretele vaginale. Spre deosebire de aceste secrete unde predomină sIgA, în altele (lichidele sinoviale, amniotic, pleural, cefalorahidian etc.) predomină IgG, raportul IgG/IgA fiind de cca 5/1. Ac de clasa IgA nu pot aglutina, precipita sau liza Ag corpusculare. IgA secretorie posedă o capacitate bactericidă mare, fiind de 8 ori mai activă față de *E.coli* decât IgM și de 25 de ori decât IgG. Ele au un mare rol în apărarea locală antivirală. Copiii se nasc fără IgA serică, însă o primesc prin laptele matern, care conține IgA în concentrații majore. Sinteza proprie a IgA începe cam la 30 de zile de la naștere. De aceea, copiii sugari care se alimentează natural cu lapte matern sunt mai puțin expuși la infecțiile intestinale și respiratorii, în comparație cu cei cu rația alimentară mixtă sau artificială. Indivizii cu deficit IgA (cca 1 la 700 de subiecți) sunt susceptibili la boli autoimune, la infecții respiratorii, gastrointestinale etc. În serul acestora, nivelul IgG și IgM se menține în limite normale. Ambele subclase de IgA (IgA1 și IgA2) sunt mult mai rezistente comparativ cu alte Ig la digestia proteolitică, ceea ce le conferă un avantaj considerabil pentru supraviețuirea lor în lichidele biologice și secretele care conțin enzime proteolitice. Complexele Ag-IgA pot activa C pe cale alternativă.

Clasa imunoglobulinelor D (IgD) se găsește în serul sangvin în concentrații foarte reduse (cca 40 mg/l) și constituie 1% din totalul imunoglobulinelor. În plasma sangvină există sub formă de molecule solubile (0,03-0,4 g/l) și sub formă de receptori pentru Ag pe membrana limfocitelor B. Imunoglobulina D nu fixează complementul, nu traversează placentă, nu provoacă degranularea mastocitelor. Concentrația IgD crește în ser de la naștere până la 15 ani, după care rămâne constantă pe parcursul vieții, cu excepția unor stări patologice ca astmul bronșic, boala reumatoidă, maladia Hodgkin, leucemia limfatică cronică, LES, mielomul IgD unde se înregistrează valori mai mari. Pragul IgD seric crește în serul femeilor gravide, mai accentuat în momentul expulziei fătului, precum și în unele infecții la copii. Au fost identificați Ac IgD față de penicilină, insulină, toxina difterică, lactoproteine etc.

Imunoglobulina clasei E (Ac reaginici sau Ac sensibilizanți ai pielii) se găsește în ser în cantități extrem de mici (0-100 UI/ml), în formă monomerică. Concentrația IgE crește semnificativ în alergoze (astmul bronșic, polinoze, urticarie, eczeme atopice etc.) și în invaziile parazitare (ascaridoză, toxocaroză, lamblioza, echinococoza etc.). În colostru concentrația imunoglobulinei E este crescută, de ordinul sutelor de nanograme, dar ulterior în laptele matern scade, rămânând la valori crescute numai la mamele cu maladii alergice. Este termosensibilă (denaturarea la 56°C timp de 30 de minute), se leagă citofil la receptorii FcεRI de pe membrana mastocitelor, bazofilelor, inducând degranularea acestora și eliberarea de amine vasoactive (histamină, serotonină, SRS-A etc.) atunci când sunt legate încrucișat de Ag (alergenii). Este responsabilă de fenomenele inflamatoare din alergii (hipersensibilitate de tip imediat I). Prin intermediul receptorilor FcεRII (CD 23) de pe monocite și macrofage, IgE mediază reacțiile citotoxice față de paraziți și fagocitoza particulelor de către monocite. Complexele imune cu IgE nu activează complementul.

Nou-născutul conține în sânge numai IgG de origine maternă (8-10 g/l), nivelul căruia scade la a 3-a – a 5-a lună de viață (până la 5 g/l), ulterior crește din contul sintezei proprii. Cantitatea de IgM este minoră (0,02-0,1 g/l) cu majorarea ei la 1 an. IgA și IgE sunt absente. La vârsta de 2 ani, nivelul tuturor Ig este apropiat de valorile normale ale adulților, dar concentrațiile anologice maturilor se constată la vârsta de 10 ani.

Concluzionând materialele elucidate asupra Ig (Ac), menționăm faptul utilizării lor în practica medicală. Sunt utilizate ca substituenți imuni în deficiențele congenitale (hipogamaglobulinemia, sindromul de imunodeficiență combinată – SCID, deficit izolat de IgA și/sau IgG), imunodeficiențele secundare (hipogamaglobulinemia tranzitorie a prematurului sau nou-născutului, infecția cu HIV, hipogamaglobulinemia din maladiile limfoproliferative cu risc crescut de infec-

ții, hipogamaglobulinemia datorată unui consum excesiv, infecțiile septice acute după arsuri). În scop profilactic sau terapeutic, sunt utilizate în infecțiile bacteriene (difterie, tetanos), virale (rubeolă, varicelă etc.), contra toxinelor produse prin mușcăături de viperă sau înțepături de insecte etc.

Administrarea unei cantități mari de Ig i.v. se realizează pentru producerea unei imunodepresii în sinteza de autoanticorpi în bolile autoimune (purpura trombocitopenică autoimună, idiopatică, neutropenia autoimună, anemia autoimună, artrita reumatică juvenilă, poliartrita reumatoidă, dermatomiozita, polineuropatia cronică demielinizantă), alergice (IgG4).

Se mai disting anticorpi *naturali* și *imuni*. Cei naturali se găsesc în organism fără imunizare prealabilă (de ex., anticorpii anti-A și anti-B antieritrocitari, cu referire prioritară la IgM). Se întâlnesc Ac naturali cu activitate antimicrobiană – factori ai imunității naturale și de specie. Acești Ac-IgM sunt produse ale subpopulației limfocitare B-1. În cantități minore în sânge există și „Ac normali” capabili să interacționeze cu Ag proprii ai organismului (Ac autologi), care stimulează diferențierea celulară.

Anticorpii imuni apar în serul sangvin după imunizarea cu Ag (bacterii, virusuri, protozoare, fungi, toxine, izoantigeni, autoantigeni etc.). În funcție de temperatura optimă de interacțiune cu Ag, se cunosc Ac *a frigore* și calzi. Anticorpii *a frigore* manifestă activitate citotoxică la temperatura de 3-15°C în prezența complementului. Mai frecvent aparțin IgM cu activitate antieritocitară, antileucocitară. Anticorpii la cald au temperatura de acțiune optimă între 20°C și 37°C.

Anticorpii, care dispun de 2 și mai multe situsuri combinate, sunt numiți *compleți*, iar cei cu un singur centru activ de legare a Ag – *incompleți*.

Mecanismele de acțiune ale Ac sunt diverse și includ: neutralizarea centrelor active ale toxinelor (efect neutralizant); formarea complexelor Ag-Ac cu activarea C și liza ulterioară a celulei (efect lizant); opsonizarea obiectelor de fagocitoză (intensificarea fagocitozei); legarea cu receptorii Fc ale leucocitelor care obțin capacitatea de interacțiune specifică cu Ag (efectul „armant” al Ac); Ac anti-receptori la legarea cu receptorul corespunzător blochează sau stimulează funcția celulei (efect blocant sau stimulator); Ac posedă activitate enzimatică și pot scinda lent unele substraturi (activitate abzimă).

La imunizarea cu Ag, în serul sangvin apare un spectru larg de Ac cu diversă afinitate ca rezultat al stimulării diferitor clone celulare B. Astfel, anticorpii imuni policlonali și serul obținut conțin un amestec de imunoglobuline de diferite clase.

Complexele imune se formează la interacțiunea situsurilor combinate (paratop) ale Ac cu epitopii Ag în mediu neutru (pH 7,2-7,3). La modificarea pH mediului (acid sau bazic), complexe imune disociază în molecule libere de Ag și Ac. Interacțiunea Ag cu Ac induce fenomene de aglutinare, precipitare și liză.

Complexele imune activează C pe cale clasică prin legarea componentului C1q cu fragmentul Fc (domeniul C_{H2}) al IgG sau IgM. Dacă acești Ac au specificitate anti-antigeni membranari, atunci celula va fi lizată. Complexele imune leagă receptorul CR1 al eritrocitelor, fiind utilizate în splină, sau receptorii Fc al leucocitelor (neutrofile, macrofage), fiind fagocitate și scindate. În cazul acumulării lor patologice, apar reacții imune complexe.

Anticorpii monoclonali au fost elaborați în baza tehnologiei hibridome somatice. Au specificitate restrânsă numai față de un singur epitop al Ag. Pentru obținerea lor, șoarecii sunt imunizați cu Ag (celule sau forma solubilă), iar din splina lor este recoltată suspensia celulară (fig. 3.5).

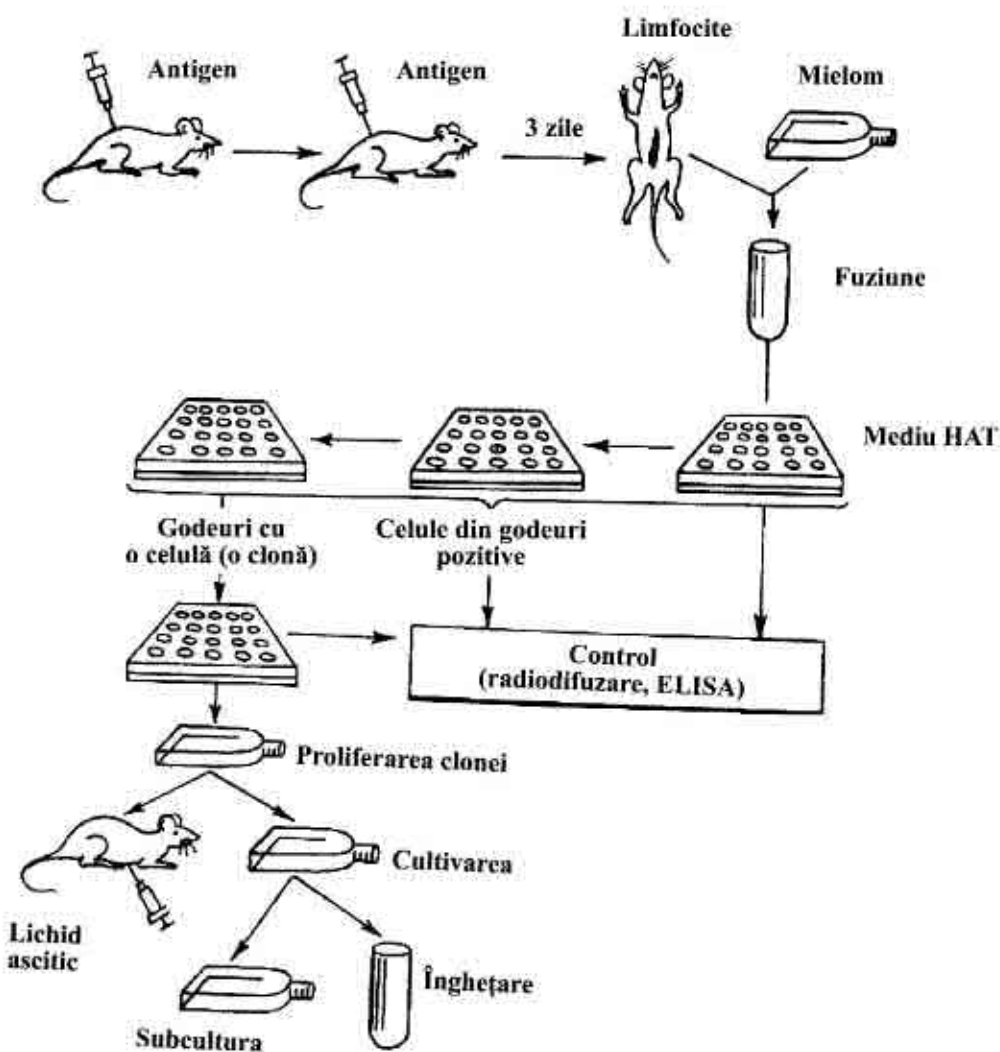


Figura 3.5. Principii producerii anticorpilor monoclonali

Limfocitele B din suspensia obținută au funcția de secreție a anticorpilor. După fuzionarea celulelor B obținute cu celulele neoplazice ale plasmocitomu- lui murin cu capacitate de multiplicare și proliferare intensă se adaugă mediul de cultură HAT (hipoxantină, aminopterină și timină) în care celulele neoplazi- ce vor pieri din cauza deficitului de hipoxantinfosforiboziltransferază. Celulele normale, care n-au capacitatea de multiplicare a celor neoplazice, mor în cursul pasajelor următoare, rămânând viabile doar numai celulele hibride, care au moș- tenit atât capacitatea de proliferare, cât și cea de catabolizare a hipoxantinei. Acestea sunt dispersate în plăci cu godeuri, distribuindu-se câte o singură celulă în fiecare godeu. După timpul necesar proliferării celulei, deci a proliferării unei clone celulare, se determină natura Ac sintetizat și eliberat în mediul de cultură. Se selectează clona dorită care se multiplică *in vitro* în continuare, după care se inoculează intraperitoneal la șoarece, unde va prolifera și va sintetiza Ac de uni- că specificitate (la un epitop al Ag).

Anticorpii monoclonali (AcMo) au oferit un procedeu de diagnostic impor- tant pentru detecția Ag bacteriilor, virionilor, markerilor populațiilor celulare, hormonilor, mediatorilor etc.

Au fost obținute și heterohibridoame (celulă umană formatoare de Ac + celu- la B neoplazică murină) care produc Ac umanizați anti-Ag respectivi.

Cvadroma sunt celule care apar la fuzionarea a 2 hibridoame. Ele secretă Ac bifuncționali cu centre active la diferite Ag.

Anticorpii himerici sunt Ac artificiali în care partea constantă a lanțurilor este sintetizată de genele umane, iar cea variabilă – de genele hibridomului murin.

Mai există molecule de imunoglobuline *omogene* normale și patologice. Este cazul polizaharidelor pneumococice formate din simple unități repetitive, care induc formarea de Ac omogeni în concentrație ridicată, similari celor din prote- inele mielom.

Imunoglobulinele patologice apar în cazul proliferării neoplazice a unei clo- ne de limfocite, care secretă Ac spontan cu o specificitate unică față de un anumit epitop. În multe cazuri de afecțiuni limfoproliferative pot să apară în circulație cantități mari de lanțuri H sau L incomplete ori unite în fragmente anormale, similare prin modul de sinteză a proteinelor mielom. Dintre acestea mai cunos- cute sunt proteinele Bence-Jones și fragmentele de lanțuri α , β , μ identificate în sângele sau urina pacienților cu mielom sau limfoame maligne. Proteinele Bence-Jones sunt dimeri de lanțuri ușoare de tip L κ sau L λ , eliminate în urina bolnavilor cu mielom sau macroglobulinemie. Sunt proteine omogene sintetiza- te de către limfocitele maligne, aparținând unei clone. Dimerul Bence-Jones ar fi o imunoglobulină primitivă cu o funcție biologică, respectiv specificitate de anticorp necunoscută.

Lanțurile grele patologice apar în limfomul malign al intestinului subțire și în patologia asociată cu sinteza proteinelor Bence-Jones. Este cazul absenței domeniului C_{H1}, pe când sinteza lanțurilor L este absolută.

Hiperproducția lanțurilor grele anormale și depozitarea lor în țesuturi poate conduce la amiloidoză. Nivelul lor în sânge este mai mare de 20 g/l. Crioglobulinemia este însoțită de sinteza Ig, care precipitează la temperaturi joase și se constată în mielom, maladiile autoimune, infecții, leucemii etc.

Sinteza imunoglobulinelor are caracteristici particulare și include următoarele etape: sinteza lanțurilor polipeptidice, asamblarea moleculei, adăugarea componentelor glucidice, polimerizarea și eliminarea moleculelor de imunoglobulină, comutarea sintezei moleculelor de Ig.

Toate aceste procese sunt sub controlul genetic atât din punctul de vedere al sintezei lanțurilor, cât și al asamblării moleculelor Ig. După exercitarea funcțiilor biologice, moleculele Ig „îmbătrânesc” și sunt degradate fiind înlocuite cu altele tinere. Catabolismul Ig este exprimat ca „timp de înjumătățire” (T_{1/2}), având durată diversă pentru clasele lor (tab. 3.3). Anabolismul și catabolismul Ig sunt procese interdependente, care realizează menținerea homeostazei în apărarea imună, mediată umoral a organismului.

Aplicațiile anticorpilor. Transferul pasiv de ser imun sau hiperimun a demonstrat o eficacitate bună în seroterapia multor maladii infecțioase cu evoluție severă acută (difterie, tetanos, rabie etc.), care este actualmente utilizat în întreaga lume. Concomitent, anticorpilor sunt folosiți într-o varietate largă de tehnici și metodologii de diagnostic imunologic din ce în ce mai performante și mai complexe (radioimunodozare, imunoradiometrie, dozare enzimatică etc.).

Capitolul 4. ANTIGENII – INDUCTORI AI RĂSPUNSULUI IMUN

Antigenii (Ag) sunt substanțe recunoscute ca străine de organism, capabile să declanșeze reacții imune specifice și să reacționeze cu produsele acestor reacții, respectiv cu anticorpii și celulele T imune. Ei pot proveni din afara organismului (exogeni) sau din interiorul acestuia (endogeni). Indiferent de proveniența lor, odată recunoscuți de către elementele sistemului imun, Ag pot declanșa următoarele reacții imune:

- sinteza anticorpilor cu specificitate de recunoaștere pentru ei;
- activarea proliferării policlonale sau monoclonale a limfocitelor;
- instalarea memoriei imunologice;
- în unele situații pot induce un răspuns imun exagerat (hipersensibilitate) sau pot anula răspunsul imun (toleranța imunologică).

Pentru definirea capacității de inducere a reacțiilor imune se folosesc doi termeni diferiți: *imunogenitate*, care semnifică proprietatea de a declanșa un răspuns imun și *antigenitatea*, adică proprietatea Ag de a se combina cu Ac sau receptorii limfocitului specific. Antigenii pot fi substanțe de origine bacteriană, virală, vegetală, animală care, din punct de vedere structural, pot exista sub formă de molecule, celule sau țesuturi, iar, din punct de vedere chimic, pot fi proteine, glucide, lipide, glicoproteine, glicolipide sau acizi nucleici. Antigenitatea și imunogenitatea sunt influențate de o serie de factori dependenți de molecula de Ag (greutatea moleculară, calitatea de non-propriu, rigiditatea moleculei, izomerismul optic, persistența în organism, compoziția chimică, modul de exprimare a epitopilor), specia de proveniență a Ag, modalitatea de administrare a lor și cele care se referă la organismul-gazdă (maturitatea sistemului imun, vârsta organismului și starea lui fiziologică). În componența moleculei Ag există grupare purtătoare sau „carrier”, care este recunoscută de către limfocitul T și care poartă determinanți antigenici sau epitopi, recunoscuți de receptorii pentru antigen. Gruparea purtătoare este responsabilă de antrenarea populației T în răspuns, iar epitopii – de specificitatea răspunsului imun. Rolul imunologic major revine epitopilor care, de regulă, sunt expuși în locurile cele mai periferice și mai accesibile ale moleculei. Majoritatea Ag compleți în natură sunt, de fapt, „mozaicuri” antigenice cu un număr mare de epitopi, fiecare dintre aceștia fiind recunoscuți de o clonă de limfocite, care are receptori predestinați să-i recunoască.

Specificitatea antigenică este determinată de interacțiunea complementară a Ag numai cu Ac sau receptorii limfocitelor T ale unei clone. Ea este influențată nu numai de compoziția chimică a moleculei, dar și de poziția în spațiu a epitopilor. Specificitatea Ag naturali este multiplă: de specie, de grup, de organ etc.

Specificitatea antigenică *de specie* sau *izoantigenică* se caracterizează prin prezența Ag la toți indivizii unei specii (eritrocite, leucocite, mușchii striati, molecule de albumină, imunoglobulină etc.) și care se deosebesc de cei existenți la nivelul organelor, celulelor sau moleculelor analoage ale altor specii.

Specificitatea *de grup* sau *alotipică* este caracteristică numai unor grupe de indivizi și nu tuturor membrilor unei specii. Acești Ag se numesc aloantigeni și se întâlnesc, în special, la nivelul celulelor sistemului sangvin și pe lanțurile grele ale moleculelor de Ig. La nivelul eritrocitelor umane ar exista cca 236 de antigeni grupați în 29 de sisteme aloantigenice.

Deosebirea antigenică de specie și de grup este cunoscută și la celulele procariote (ex., stafilococi, salmonelle etc.). Specificitățile serologice de tip „serotip” permit să se facă distincție între diferite grupe de germeni.

Specificitatea de organ este caracteristică unor organe sau țesuturi, fără să se țină cont de specie (ficatul, cristalinel etc.). În organe și țesuturi predomină Ag de specie, și nu cei specifici organului, care induc un răspuns imun intensiv.

Specificitatea de „stadiu evolutiv” sau de dezvoltare ontogenetică caracterizează majoritatea celulelor organismului și, în mod special, pe cele care aparțin sistemului limfoid. De exemplu, la nivelul țesuturilor și lichidelor embrionare există AFP, un Ag specific acestui stadiu de dezvoltare timpurie a organismului, care la maturitate practic dispare, reapărând numai în cazuri patologice, de exemplu în distrofiile și neoplaziile hepatice. Limfocitele T și B aflate în stadii timpurii de dezvoltare ontogenetică exprimă unii epitopi care dispar când celulele ajung la maturitate funcțională.

Specificitatea antigenică patologică în mod normal este absentă. Un interes deosebit prezintă antigenii *neoplazici* sau *oncofetali* (CEA, AFP etc.), care la subiecții sănătoși se găsesc în cantități extrem de mici (pg, ng), pentru ca la pacienții cu cancer de colon sau cu leziuni hepatice să fie exprimați abundent în ser și la nivelul unor țesuturi sau organe.

Antigenii heterofili se întâlnesc exprimați la nivelul țesuturilor diferitor specii, uneori foarte îndepărtate filogenetic (antigenii Forssman, Rhesus, cei comuni unor specii de mamifere și bacteriilor – *fenomenul mimicriei antigenice*). Existența heteroantigenilor poate fi utilă în diagnosticul de laborator al unor infecții (antigenul cardiolipin al bovinelor pentru testarea anticorpilor la sifilisul uman; antigenii comuni rickettsiilor și proteusului în tifosul exantematic (reacția Weill-Felix) sau mononucleozei infecțioase (reacția Paul-Bunnell etc.), dar poate crea și multe dificultăți. Astfel, oamenii cu antigen de grupa 0 sau A reacționează mai slab la antigenii unor germeni cum ar fi pasteurile sau virusul variolei vaccinal (înainte de eradicarea ei). Organismele persoanelor, care au epitopi comuni cu cei ai bacteriilor sau virusurilor patogene, pot să nu reacționeze imun, instalându-se toleranța imunologică față de acestea sau, în cazul în care reacționează, anticorpii produși vor distruge, în cele din urmă, și antigenii proprii, comuni cu cei ai anti-

genului invadator, provocând autoagresiune. De exemplu, streptococul hemolitic de grupa A conține Ag cu reactivitate încrucișată (în special, proteina M) comuni antigenilor țesutului conjunctiv și cu mușchii cardiaci (reumatismul, glomerulonefrita poststreptococică).

Valența antigenilor este exprimată prin numărul de epitopi care pot reacționa cu situsurile combinative ale anticorpilor (Ac). Antigenii pot fi monovalenți, bivalenți și polivalenți.

Tipuri de antigeni și criteriile lor de clasificare

Antigeni *compleți* sunt cei care declanșează reacții imune și reacționează *in vivo* și *in vitro* cu producții acestor reacții. Alți Ag pot reacționa *in vitro* cu Ac, dar nu pot induce sinteza lor *in vivo*, deoarece sunt molecule mici, numite *haptene*. La legarea cu moleculele cu masa moleculară mare, haptenele obțin imunogenitate. Remediile medicamentoase, majoritatea substanțelor chimice se referă la haptene. Ele induc răspunsul imun după legarea cu proteinele (ex., albumina) circulante sau cu cele celulare superficiale (eritrocite, leucocite). În urma acestei cuplări, ele induc secreția de anticorpi capabili să reacționeze cu haptena respectivă. La pătrunderea repetată a haptanelor în organism apare un răspuns imun secundar, adeseori în formă de reacție alergică.

Antigenii timo-dependenți necesită pentru declanșarea reacțiilor imune limfocite T, pe când cei *timo-independenți* pot declanșa sinteza anticorpilor de către limfocitele B și în absența celulelor T.

În funcție de origine, Ag se clasifică în: *naturali* (componente ale celulelor umane, animale, vegetale sau microbiene), *artificiali* (obținuți prin combinări artificiale ale unor componente naturale) și *sintetici* (fabricați de „novo” de om în laborator). Antigenii *naturali* sunt proteinele, lipidele, polizaharidele, acizii nucleici sau moleculele cu alcătuire heterogenă de genul glicoproteinelor, glicolipidelor, lipopolizaharidelor etc.

Proteinele naturale sau cele modificate fizic ori chimic sunt, de regulă, buni Ag, care posedă imunogenitate. Au MM mai mare de 10 kDa (minimal 0,45 kDa) cu structură rigidă și sunt polivalente. Proprietăți antigenice au proteinele serice ca albumina, α -, β - și γ -globulinele, hormonii, enzimele, precum și proteinele care intră în componența celulelor și țesuturilor organismului. Unele dintre ele au o importanță practică majoră: *antigenii de histocompatibilitate*, a căror sinteză este sub controlul genelor *MHC* responsabile de conferirea *individualității* antigenice a țesuturilor fiecărui individ, al celor de *grupa sangvină* (sistemele ABO, Rh, Kell-Cellano, MNS etc.), al unor Ag de la nivelul membranei limfocitelor sau macrofagelor, care constituie markeri pentru acestea etc. Gradul de imunogenitate depinde de structura sterică a Ag, de genotipul organismului: unii Ag induc răspunsul imun imens, pe

când alții sunt slab imunogeni, aceasta având importanță practică, în special la vaccinări.

Polizaharidele se găsesc sub formă de poliozide liniare sau ramificate. Lanțul specific lateral conferă specificitate antigenică moleculei. Polizaharidele purificate au putere imunogenă slabă. Dextranii, deși au MM mare, fiind secretați de către *Leuconostoc mesenteroides*, sunt în anumite condiții imunogeni. În combinații moleculare cu lipidele și proteinele, stimulează formarea de anticorpi cu specificitate față de hidrații de carbon.

Lipidele sunt slab antigenice, dar pot avea calități de haptene, mai ales când sunt cuplate cu anumite proteine, situație în care se pot obține Ac anticolesterol, antilectină, anticefalină etc. Mai bine studiate sunt proprietățile antigenice ale cardiolipinei, care este utilizată în diagnosticul imunologic al luesului. Lipidele conferă proprietăți antigenice și funcționale lipopolizaharidelor (LPS), endotoxinelor germenilor Gram-negativi etc.

Acizii nucleici (ADN și ARN) sunt macromolecule slab imunogene în mod obișnuit, dar pot induce sinteza de Ac atunci când formează complexe cu unele polizaharide sau proteine (existența Ac anti ADN mono- sau dublu catenar în LES).

Lipopolizaharidele (LPS) sunt complexe macromoleculare din componența peretelui celular al germenilor Gram-negativi, alcătuite din fosfolipide și polizaharide. Complexul se leagă de structura rigidă a peretelui bacterian prin lipida A. În acest complex, lipida A reprezintă regiunea care conferă proprietăți endotoxice, de stimulator al funcțiilor macrofagelor, activator policlonal al limfocitelor. În doze mici induce pirogenitate datorită activării macrofagelor și eliminării de către ele a IL-1, TNF- α și altor citokine, activarea policlonală timo-independentă a limfocitelor B și sinteza de Ac, degranularea granulocitelor, agregarea trombocitelor. Se poate lega cu diverse celule ale organismului, în special cu macrofagele. În doze mari inhibă fagocitoza, induce toxicoza, dereglări ale funcției cardiovasculare, tromboze, șocul endotoxic. LPS unor bacterii sunt componente imunostimulante (prodighiosan, pirogenal).

Lectinele sunt Ag ubicvitari, prezenți la animale, bacterii și, în special, la plante. Sunt proteine sau glicoproteine care leagă diferite molecule de hidrați de carbon. Exerciță diferite efecte asupra limfocitelor (leucoaglutinare, blastogeneză, stimularea eliberării unor mediatori sau proteine efectoare etc.). Prezența receptorilor de membrană (10^6 - 10^7) pe limfocite și recunoașterea diferențiată a diferitor tipuri de celule permit separarea și studierea unor populații ale sistemului imun (Conconavalina A-ConA, Peanut agglutinin – PNA etc.).

Peptidoglicanele (mureina, mucopeptida) peretelui celular al bacteriilor posedă efecte imense de adjuvanți ai celulelor sistemului imun, intensificând răspunsul nespecific la diferiți Ag. Ele activează macrofagele prin intermediul receptorilor pentru serotonină.

Antigenii bacterieni, virali, ai fungilor, helmintilor

Antigenii bacterieni, virali. Bacteriile și virusurile conțin numeroși Ag care diferă nu numai prin localizarea sau compoziția chimică, dar și prin imunogenitate. În componența lor chimică există proteine, glicoproteine, glicolipide, lipopolizaharide, acizi nucleici care au specificitate de specie sau de grup. Majoritatea virionilor posedă Ag supercapside (proteine și glicoproteine membranare superficiale) și capsidă (membranare și nucleoproteine). După structură sunt variabili chiar la aceeași specie de virusuri. Testarea Ag bacterieni și virali este pe larg utilizată în diagnosticul imunologic al infecțiilor bacteriene și virale. Peptidele protective ale virionilor sunt cele mai imunogene, fiind utilizate în crearea vaccinurilor sintetice.

Antigenii fungilor sunt prezentați de polizaharidele peretelui celular (manan și mananoproteine), proteinele citoplasmice și nucleare, multiple enzime (enolaza, aldolaza, proteinazele etc.). Au fost constatați cca 80 de antigeni care posedă determinante comune și care reacționează încrucișat cu Ac. Pentru testele imunologice sunt utilizate extractele celulare, manana purificată sau proteinele citoplasmice. Antigenii (alergenii) induc reacții de tip imediat (Ac claselor IgM, IgG, IgA, IgE) și întârziat (T-celulare) și sensibilizarea organismului fără manifestări clinice. Anticorpii anti-Ag fungici sunt depistați la multe persoane aparent sănătoase (de ex., până la 30% pentru *Candida albicans*). Antigenii fungici posedă activitate imunostimulatoare, alergică și imunodepresivă.

Antigenii helmintilor și ai altor paraziți conțin o cantitate majoră de Ag proteici și polizaharide. Mozaicismul antigenic este specific pentru fiecare tip de paraziți. Stimulează reacții imune, frecvent induc alergia.

Antigenii protectivi reprezintă totalitatea epitopilor care induc cel mai intens răspuns imun și care conduc la apărarea organismului la reinfecție.

Superantigenii sunt o grupă de antigeni care, în doze esențial mai mici decât mitogenii, induc activarea nespecifică policlonală și proliferarea unui număr major de limfocite T (până la 20%, Ag obișnuiți 0,01%). Acești Ag sunt recunoscuți de T-helperi în asociere cu Ag de histocompatibilitate de clasa II sau de T-supresori cu moleculele HLA de clasa I. Ei posedă tropism înalt la lanțurile β ale unor receptori ai celulelor T și stimulează toate celulele T pe care le posedă independent de specificitatea antigenică. Concomitent, sunt eliberate IL-2 și alte citokine, care induc inflamația și leziuni tisulare. Superantigenii sunt enterotoxine bacteriene, toxine stafilococice și ale holerei, ale unor virusuri (rotavirioni). După activare se observă apoptoza – moartea limfocitelor T și deficitul lor.

Superantigenii pentru celulele B se leagă cu fragmentele Fab ale diferitor imunoglobuline (V_L și V_H), pot activa limfocitele B. Proteina A stafilococică, în afară de interacțiunea cu fragmentele Fc ale IgG, se leagă cu IgM, IgA, IgE (15-50%) prin intermediul fragmentelor Fab. Proteina L peptostreptococică se leagă cu regiunea V_L a imunoglobulinelor.

Mitogenii sunt substanțe care stimulează proliferarea limfocitelor. Fitohe-maglutinina, conconavalina A stimulează prioritar proliferarea limfocitelor T, iar LPS – a limfocitelor B.

Antigenii artificiali și sintetici au fost obținuți prin tehnologii de cuplare cu diverse grupări chimice (reacții de diazotare, dinitrofenilare, iodare) și prin po-limerizarea aminoacizilor (mono- sau heteropolimeri). În primul caz, proteinele își pierd specificitatea de specie, obținând o altă nouă dependență de grupările chimice cuplate. În al doilea caz s-a constatat că monomerii, deși au o greutate moleculară mare, nu sunt imunogeni.

Alergenii sunt antigeni sau haptene care induc reacții alergice la pătrunde-rea lor repetată în organismul uman. Polenul plantelor induce apariția polino-zelor, iar produsele alimentare de origine fitogenă – alergii alimentare. Blana și epidermisul animalelor (pisici, câini, cai, cobai etc.) sunt alergeni puternici pentru om.

Antigenii celulari, tisulari umani

Organismul uman conține un număr foarte mare de Ag care-i determină spe-cificitatea de specie, grupă. Dintre aceștia, mai importanți sunt *antigenii eritro-citari, leucocitari și tisulari*.

Antigenii eritrocitari pot fi împărțiți în 3 grupe mari: a) antigeni heterofili, care, în afară de om, se găsesc și la alte specii; b) antigeni de specie, comuni tuturor oamenilor, și c) antigeni de grupă sau aloantigeni, specifici unor grupe de indivizi și absenți la alte grupe. Dintre Ag eritrocitari, mai importanți sunt cei ai sistemului AB0, Rh, MNS, Kell-Cellano și Lewis.

Antigenii sistemului AB0. Conform acestui sistem antigenic, indivizii pot fi clasificați în 4 grupe sangvine în baza existenței antigenilor pe membrana eritro-citelor și izoaglutininelor anti-antigeni eritrocitari din serul sangvin, și anume: grupa 0 cu aglutinine anti-A și anti-B, dar fără aglutinogeni; grupa A cu aglutino-genul A și aglutininele anti-B; grupa B cu aglutinogenul B și aglutininele anti-A; grupa AB cu aglutinogenii A și B, dar fără aglutinine.

Aglutinogenii sistemului AB0 se transmit ereditar, fiind sub controlul gene-lor A și B cu trei alele (A, B, 0), șase genotipuri (AA, A0, BB, B0, 00 și AB) și patru fenotipuri (A, B, 0, AB). Grupa 0 este întotdeauna homozigotă (00), iar grupa AB heterozigotă (AB), astfel că din părinții 00 se vor naște copii aparținând grupei 0, iar din cei cu grupele A, B sau AB se vor naște descendenți aparținând tuturor celor 4 grupe, prezența variantelor heterozigote A0, B0 sau AB permi-țând și exprimarea fenotipului 0.

La persoanele aparent sănătoase s-a constatat heterogenitatea Ag A. S-a sta-bilit existența a două subclase mai importante: A₁ și A₂, care diferă calitativ și cantitativ. Ag A₁ se înregistrează la 80% dintre indivizii populației europene, iar

A_2 în 20% din cazuri. Hematiile ambelor fenotipuri manifestă reacții cu reagentul anti-A în testele de aglutinare directă.

Diferențele serologice dintre celulele cu A_1 și A_2 pot fi stabilite în testele cu reagentul anti- A_1 preparat din serul uman de grupa B sau cu lectine obținute din boabele *Dolichos biflorus*, care vor aglutina hematiile A_1 , și nu pe cele A_2 .

Anticorpții anti- A_1 sunt prezenți în serul sangvin la 1-8% dintre indivizii cu fenotipul A_2 și la 22-35% – cu A_2B , astfel conducând la dificultăți în testarea sistemului AB0. Au fost descrise și alte variante ale Ag A: A_3 , A_x , A_m , A_{end} etc., care se înregistrează foarte rar și sunt slab imunogene. De regulă, la clasificarea subgrupelor A slabe se ia în considerare intensitatea aglutinării eritrocitelor cu reagenții anti-A, anti- A_1 , anti- A_1B , anti-H (ultimul obținut din *Ulex Europeanus*), prezența sau absența Ac anti- A_1 în ser, prezența substanțelor A și H în saliva secretorilor. Subgrupele B se întâlnesc și mai rar decât subgrupele A, având și o frecvență minoră printre populația europeană (B_3 , B_x , B_w , B_m). Varianta B slab antigenică mai frecvent a fost semnalată la chinezi. Prin utilizarea serurilor standard cu activitate majoră pentru eritrocitele B se poate obține evidența acestor aglutinogeni slabi.

Antigenii sistemului AB0 nu suferă modificări în condiții de normă, menținându-se neschimbați pe toată durata vieții individului, poate doar cu o slabă scădere a aglutininelor către bătrânețe.

La un număr foarte mic de indivizi lipsesc atât aglutinogenii, cât și aglutininele, aceștia aparținând grupului OH sau tipului „Bombay” și fiind expresia fenotipică a represiei genelor care controlează sinteza sistemului antigenic AB0. Descendenții lor se comportă normal din acest punct de vedere, moștenind, probabil, caracterul celuilalt părinte.

Aglutinogenii A și B sunt glicoproteine cu MM 200-1000 kDa, care conțin cca 80% de hidrați de carbon și 15-20% de proteine. Hidrații de carbon sunt bogăți în L-fucoză, D-glucozamină, D-galactozamină, D-galactoză etc., participând la conferirea specificității lor antigenice. În afară de hematii, acești Ag sunt exprimați și pe leucocite, trombocite, spermatozoizi, ca și în diferite țesuturi, cum ar fi, de ex., mucoasa gastrică, dar nu pe piele, placentă, cristalin etc. Se găsesc în lacrimi și în urină, exceptând lichidul cefalorahidian. Antigenii sistemului AB0 nu sunt localizați numai pe suprafața celulelor și țesuturilor, ei se găsesc și sub formă solubilă. Atât cei stabili, cât și cei solubili sunt identici din punct de vedere antigenic, deosebindu-se prin solubilitatea lor. Antigenii din tumori sunt solubili în apă, iar cei stabili sunt solubili în alcool. În tumori a fost semnalată existența unui antigen particular, Ag H, considerându-se că există sistemul AB0 cu aglutinogenii A, B și sistemul ABH în care există aglutinogenul H. Aceste diferențe individuale, probabil, ar fi realizate de către două gene alele (*Se* și *se*), care conferă calitatea de „secretor” (*Se*) și „nesecretor” (*se*) acestor aglutinogeni.

Distribuirea fenotipurilor ABO diferă mult în diverse țări și grupe etnice. Astfel, printre albi, 44% posedă grupa A, 40% – grupa 0; 12% – grupa B și numai 4% aparțin grupei AB. Grupa AB se întâlnește într-un procent relativ mai mare (10%) la chinezi și egipteni.

Sistemul antigenic Rhesus înglobează 48 de antigeni, printre care de importanță clinică majoră se considera Ag D cu proprietăți imunogene esențiale, fiind și cauza maladiei hemolitice a nou-născutului în 95% din cazuri și ale complicațiilor severe posttransfuzionale. Persoanele care posedă Ag D se considera Rh-pozitive, iar cele care nu au acest Ag sunt Rh-negative. Ulterior s-a demonstrat existența a încă 4 Ag: C, E, c, e.

Actualmente s-a constatat existența a două gene care determină sinteza de Ag Rh: *RHD*, care controlează sinteza proteinei transmembranice și determină activitatea D a hematiilor, și *RHCE*, care determină prezența Ag C, c, E, e. Pe hematiile Rh nule Ag Rh sunt absenți. Prezența unui număr major de Ag în sistemul Rhesus se datorează mutațiilor genice. Nu s-a confirmat existența genei *d* și, respectiv, a Ag d, dar acest simbol este utilizat în imunologie la descrierea fenotipului pentru semnificarea absenței lui pe eritrocite. Persoanele Rh-pozitive posedă două gene – *RHD* și *RHCE*, pe când cele Rh-negative au doar gena *RHCE*. Cele mai frecvente combinații ale Ag sistemului Rh sunt CDe (53,2%), CDE (15,85%), cDE (14,58%) și cde (12,36%).

Antigenii sistemului Rhesus sunt proteine amplasate neuniform pe membrana eritrocitelor. Epitopii de pe eritrocitele umane variază cantitativ în funcție de genotip: Ag D – 10000-200000; C – 21500-56500; E – 450-25000; e – 13500-24500; C – 37000-85000 pentru o hematie. Cu cât mai mulți epitopi există pe suprafața eritrocitelor, cu atât mai active ele vor fi aglutinate de Ac și mai ușor depistate.

Pentru Ag sistemului Rhesus este caracteristic un polimorfism marcat prin marea lor diversitate. Sunt descriși peste 36 de epitopi antigenici. Mai frecvent hematiile persoanelor aparent sănătoase exprimă toți epitopii. Mostrele eritrocitare care nu exprimă toți epitopii Ag D au fost notate cu termenul de varianta D (D-parțial), iar cele care denotă o concentrație scăzută a acestuia – ca D-slab (D weak).

Au fost descrise 13 tipuri de variante antigenice parțiale cu o frecvență majoră de înregistrare pentru DII și DIII. Absența unor epitopi face dificilă testarea apartenenței sangvine Rh și pentru diagnosticul lor se utilizează seruri specifice de reagenți (DiaMed, Suedia) care conțin diverse mostre de anticorpi monoclonali.

Antigenul D slab conține de 3-10 ori mai puțini epitopi pe eritrocite și deseori poate genera erori la testarea sangvină. În sistemul Rhesus există și alte variante antigenice: C^w, D^w, E^w, E^l, e^s etc., care asigură mozaicitatea antigenică.

Toate mostrele eritrocitare care posedă Ag D și C conțin și antigenul G, ce trebuie luat în considerare la identificarea specificității Ac la persoanele Rh-pozitive.

tive în prezența variantelor antigenice D. Antigenul G este imunogen și cca 30% dintre serurile anti-D și 100% dintre cele anti-DC conțin suplimentar anticorpi anti-G. Antigenii sistemului Rh sunt moșteniți ereditar.

Sistemul Kell-Cellano este format din factorii K (Kell) și k (Cellano). Ag K are o frecvență extrem de redusă (cca 1,2%), iar cel k – frecvență majoră (cca 97,8%), heterozigoții Kk reprezintă cca 1% din populație. Mai imunogen este Ag K, responsabil de boala hemolitică a nou-născutului.

Pe hematii se mai întâlnesc antigenii M și N: MM – la 28%, MN – la 50% și NN – la 20% dintre oameni, dar reacții la acești Ag se constată rar. Caracteristica altor sisteme eritrocitare vezi compendiuul „Izoimunologia în teoria și practica contemporană” (autor L. Andrieș et al.).

Antigenii granulocitari

Pe granulocitele neutrofile au fost identificate 3 grupe antigenice: NA1 (HNA1a), NA2 (HNA-1b), SH (HNA-1c), de asemenea, NB1, NC1, ND1, NE1, HGA-3a, b, c, d, e. Mai rar sunt identificate GA, GB, GC, GR. În absența antigenilor HNA la mamă și prezența lor la făt (moșteniți de la tată), la ea apar Ac de clasa IgG anti acești Ag, neutropenia aloimună a nou-născutului.

Antigenii leucocitari HLA

Pe limfocite a fost identificat un sistem de molecule antigenice leucocitare HLA (*Human Leucocyte Antigen*) controlate de genele *MHC* (*Major Histocompatibility Complex*). Sunt proteine ale membranei celulare cu specificitate individuală.

Funcțiile principale ale Ag HLA sunt: participarea în recunoașterea Ag exogeni, în cooperările intercelulare și formarea răspunsului imun; aprecierea predispoziției la diferite maladii; markeri ai „propriului”; inducerea reacțiilor de regrefare a Ag incompatibili ai țesuturilor transplantate ale donatorilor incompatibili.

Genele *MHC* apreciază specificitatea și intensitatea răspunsului imun. Moleculele HLA autologe nu sunt antigenice pentru organism și realizează funcția de receptori pentru recunoașterea primară a antigenilor.

Genele *HLA* sunt localizate pe brațul scurt al cromozomului 6 și au un număr foarte mare de gene, dispuse în 3 regiuni. În regiunea *MHC* de clasa I există 3 loci principali: HLA-A, HLA-B și HLA-C, care codifică moleculele HLA de clasa I. Regiunea *MHC* de clasa II sau HLA-D posedă 3 subregiuni principale: DR, DP, DQ. Regiunea *MHC* de clasa III este situată între regiunile *MHC* I și *MHC* II și cuprinde gene care codifică proteinele complementului, factorul B, proteosomele și proteinele șocului termic (HSP70) etc. HLA se caracterizează prin faptul că este un complex multigenic, multialelic (polimorf), strâns legat (gene linkate) și cu o exprimare codominantă.

Moleculele HLA de clasa I sunt glicoproteine membranare heterodimere, conțin un lanț greu α (MM 45kDa) și un lanț ușor (microglobulina β_2). Domeniile α_1 și α_2 ale lanțului greu formează șanțul de legare a antigenului procesat intracelular și concentrat în formă de peptide pe suprafață. Moleculele HLA leagă strict anumite peptide ce asigură specificitatea legării Ag. Antigenii HLA de clasa I sunt prezenți pe toate celulele nucleate: leucocite, iar în cantități mai mici – pe celulele hepatice, pulmonare, renale, rar pe neuroni și mușchii scheletului. Sinteza lor este controlată de genele locilor HLA-A, HLA-B, HLA-C etc. În fiecare locus există multiple alele responsabile de sinteza variantei respective a specificității (epitopului) și semnate prin cifre. O dată cu implementarea reacției de polimerizare în lanț, pentru analiza genelor ADN numărul alelelor identificate s-a majorat: HLA-A – 124 de specificități; HLA-B – 258; HLA-C – 74; HLA-E – 5; HLA-G – 14 specificități, care apreciază heterogenitatea antigenilor HLA la diferite persoane. În nomenclatorul nou, aceștia sunt semnificați astfel: denumirea sistemului HLA, genei (locusului) – de ex., A, numărul specificității antigenice – 2, alelei – 12 (HLA-A0212), HLA-B1531 (locusul B, specificitatea B15, alela 31). Specificitățile antigenice sunt determinate prin utilizarea anticorpilor, iar alelele – prin tipizarea ADN. Genele HLA sunt semnate ca și Ag HLA cu descriere prin cursiv, pe când Ag sunt descriși în mod obișnuit. Serologic cu utilizarea Ac sunt depistate mai puține molecule antigenice HLA: HLA-A-28; HLA-B-59; HLA-C-10 (tab. 4.1).

Pentru testarea serologică a antigenilor HLA de clasa I se utilizează testul limfocitotoxic: în suspensia de limfocite se adaugă anticorpi cu specificitate cunoscută pentru un anumit antigen și complementul. Celulele care posedă acest antigen sunt alterate și se colorează de tripan blue.

Genele maternelle și paternelle sunt codominante: expresia locilor A, B, C câte unu de la mamă și tată, în total 6. Antigenii clasei I ocupă cca 1% din suprafața celulară pe limfocite, sunt practic absenți pe eritrocite și celulele trofoblastului. Ei reglează și interacțiunea T-killerilor cu celulele-țintă.

HLA sunt markeri ai „propriului”. Celulele care posedă aceste molecule nu sunt atacate de limfocitele T-killer proprii întrucât în embriogeneză T-killerii autoreactivi care recunosc structurile proprii suferă apoptoză sau sunt supresați.

Ag HLA de clasa I sunt principalele molecule recunoscute de mecanismele efectoare în cursul reacției imune de apărare față de infecțiile intracelulare (cu virusuri sau alte microorganisme ce se dezvoltă în celule) și de distrugere a grefelor provenite de la alt subiect (rejetare). Distrugerea acestor celule este realizată de limfocitele T-citotoxice, ce poartă marker specific Ag CD8 și a căror receptor (TCR) se leagă de complexul format prin fixarea epitopului străin în șanțul moleculei HLA de clasa I.

A		B				C				DR		DQ		DP	
1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
A1	A*0101	B5		B50	B*5001	Cw1	Cw0101	DR1	DRB1*101	DQ1	DQB1*0301	DPw1	DPB1*0101		
A2	A*0201	B7	B*0701	B51	B*5101	Cw2	Cw0201	DR103		DQ2		DPw2	DPB1*0201		
A203	A*0203	B703		B5102		Cw3	Cw0301	DR2	DRB1*1501	DQ3		DPw3	DPB1*0301		
A210	A*0210	B8	B*0801	B5103		Cw4		DR3	DRB1*0301	DQ4		DPw4	DPB1*0401		
A3	A*0203	B12	B*1201	B52	B*5201	Cw5	Cw0501	DR4	DRB1*0401	DQ5	DPB1*0501	DPw5	DPB1*0501		
A9	A*2401	B13	B*1301	B53	B*5301	Cw6	Cw0601	DR5	DRB1*1101	DQ6	DPB1*0601	DPw6	DPB1*0601		
A10	A*2501	B14	B*1401	B54		Cw7	Cw0701	DR6	DRB1*1301	DQ7	DPB1*0301				
A11	A*1101	B15	B*1501	B55		Cw8		DR7	DRB1*0701	DQ8	DPB1*0302				
A19	A*2901	B16		B56		Cw9		DR8	DRB1*0801	DQ9					
A23		B17		B57	B*5701	Cw10		DR9	DRB1*09012						
A24	A*2401	B18	B*1801	B58	B*5801			DR10	DRB1*1001						
A2403		B21		B59				DR11							
A25	A*2501	B22		B60				DR12							
A26	A*2601	B27	B*2701	B61				DR13							
A28		B35	B*3501	B62	B*1502			DR14							
A29	A*2901	B37	B*3701	B63				DR1403							
A30	A*3001	B38	B*3801	B64				DR1404							
A31	A*3101	B39	B*3802	B65	B*1402			DR15							
A32	A*3201	B3901		B67				DR16							
A33	A*3301	B3902		B70				DR17							
A34		B40	B*4002	B71				DR18							
A36		B4005		B72				DR51							
A43		B41	B*4101	B73				DR52							
A66		B42	B*4202	B75				DR53							
A68		B44	B*4404	B76											
A69		B45		B77											
A74		B46	B*4601	B7801											
A80		B47	B*4701	Bw4											
		B48	B*4901	Bw6											
		B49													

Notă: 1 - nomenclatorul vechi, 2 - nomenclatorul nou (descriere parțială)

Genele HLA de clasa II sunt prezentate de multiple variante. La tipizarea ADN au fost identificate mai mult de 270 de alele ale HLA-DR (serologic sunt apreciate 23). Locii DQ și DR conțin câte 2 perechi de gene *A* și *B*; DQA dispune de 19, iar DQB de 39 de alele (serologic 9). Locusul DP este prezentat de două gene: *DPA1* (38 de alele) și *DPB1* (62 de alele). Sistematically sunt identificate alele noi. La clasa II se referă și locii HLA-DOB, HLA-DNA și HLA-DM (DMA-4 și DMB-50 de alele), care sunt mai puțin studiate.

Nu toți antigenii HLA de clasa II pot fi apreciați serologic și de aceea pentru identificarea lor și aprecierea compatibilității se utilizează cultura mixtă de limfocite: limfocitele stimulante (de la donatori) sunt prelucrate cu un inhibitor al proliferării (mitomicina C) și se amestecă cu cele de la recipient (reactive), cu monitorizarea răspunsului proliferativ.

Moleculele HLA de clasa II constă din două lanțuri polipeptidice: α (MM 34 kDa) și β (MM 28 kDa). Ambele lanțuri au câte două domenii (α_1 , α_2 și β_1 , β_2). Sunt evidențiate pe limfocitele B, celulele dendritice, macrofage, limfocitele T activate. Apar pe celulele endoteliale și epiteliale după stimularea lor cu IFN- γ . Antigenii HLA de clasa II ai celulelor antigen-prezentatoare participă în recunoașterea Ag străini aparenti după scindarea lor. Ei controlează eficient răspunsul imun datorită rolului pe care îl au în cooperarea LT-macrofag, LT-LB, cooperarea dintre Th-Ts și rolul în creșterea sau suprimarea răspunsului imun (prin intermediul LT-supresor).

Antigenii HLA sunt moșteniți codominant. Un individ poate avea nu mai mult de 12 alele (minim câte 2 pentru fiecare locus) ale tuturor locilor. Haplotipul este moștenit integral, iar genele unui locus de la mamă și tată pot fi identice sau diferite. Nu toți epitopii sunt destul de imunogeni (sau sunt slab exprimați) și de aceea nu sunt identificați prin utilizarea anticorpilor.

Anticorpilor identifică esențial mai puține specificități alelice, comparativ cu metoda de tipizare a ADN (mai mult de 900). Există un număr major de variante posibile ale setului antigenic la indivizi (mai mult de 400 mil.), care în consecință, asigură incompatibilitatea la transplantul țesuturilor și organelor. Frecvența de înregistrare a Ag HLA diferă la diferite rase: la europeni sunt frecvenți HLA-A1, A3, B8 etc., la negrozii – A23, A28, DR3; la mongoloizi – A11, A24, DR4.

Ag HLA sunt asociați cu diferite maladii (tab. 4.2), ceea ce are importanță epidemiologică, nosologică, diagnostică, prognostică etc.

Maladiile HLA-dependente

Maladia	Antigenul la care se dezvoltă răspunsul imun	HLA
Celiachia	Gliadin α	DR3, DR7
Sindromul Goodpasture	Colagenul membranei bazale a glomerulelor renale	DR2
Maladia Graves	Receptorul tirotropin	DR3, DR5
Maladia Hashimoto	Tiroglobulina	DR3, DR5
Diabetul zaharat insulinodependent	Decarboxilaza acidului glutamic (DGK-65, DGK-67); receptorul pentru insulină; tirozin-fosfataza IA-2 alfa și IA-2 beta	DR3, DR4
Scleroza diseminată	Proteina de bază a mielinei	DR3, DR4
Miastenia gravis	Receptorul pentru acetilcolină	DR3
Maladia Bechterew	Necunoscut	B27
Sindromul Reiter	Necunoscut	B27
Anemia Addison-Biermer (pernicioasă)	H+/K+ ATP-aza; factorul intern	DR5
Narcolepsia	Necunoscut	DR2 (DRw15)
Sclerodermia sistemică	ADN-topoizomeraza; ARN-polimeraza	DR5
Psoriazisul vulgar	Necunoscut	DR7
Artrita reumatoidă	Fragmentul Fc al Ig; colagenul; calipastatinul	DR7, DR21
Artrita reumatoidă juvenilă	Fragmentul Fc al Ig; colagenul	DR5
Lupusul eritematos sistemic	ADN dublu catenar	DR3, DR2
Vitiligo	Tirozinaza	DR4
Maladia Dühring (dermatita herpetiformă)	Necunoscut	DR3
Pemfigusul vulgar	Complexul antigenic Pe-V	DR4, DRw6

S-a constatat că asocierea maladiilor cu locusul DR este mai frecventă, comparativ cu locii A și B. Pentru explicarea mecanismelor includerii produselor complexului HLA în patogeneza maladiilor au fost elucidate mai multe ipoteze: a mimicrii moleculare, modificării autoantigenilor, prezența receptorilor pentru virusuri etc. Nu este exclus faptul că maladiile asociate cu frecvența majoră a unui Ag HLA au mecanisme comune etiologice și patogenetice de dezvoltare. Acest fapt este confirmat de prezența asocierii maladiilor autoimune cu alelele DR2-DR3-DR4, același fapt se poate menționa și la maladiile însoțite de afectarea articulațiilor (maladia Bechterew, sindromul Reiter, artrita reumatoidă), care au un marker comun genetic – Ag HLA-B27.

În concluzie, menționăm că la persoanele cu un anumit fenotip HLA există predispoziție la o maladie sau alta, sau la o grupă de boli. Nu poate fi afirmat faptul că sistemul HLA este unicul care asigură riscul major de apariție a maladii.

Genele HLA de clasa III codifică componentele complementului, proteosomale (gena *LPM*) etc., participante la transportul intracelular al Ag.

Testarea antigenilor HLA este necesară în diverse situații, în special la tipizarea țesuturilor pentru selectarea donatorului (transplantul de organe, de măduvă osoasă). Succesivitatea transplantării organelor depinde de compatibilitatea donatorului și a recipientului după antigenii HLA-DR, HLA-DQ și HLA-B, HLA-A (secvențe după importanța lor). În transplantul de măduvă osoasă alogenă este necesară compatibilitatea antigenică completă a donatorului și recipientului.

Pentru aprecierea legăturii dintre evidențierea anumitor antigeni și predispoziția la diferite maladii, se utilizează indicele riscului relativ după formula:

$$RR = \frac{f_n (1 - f_k)}{f_k (1 - f_n)}, \text{ unde}$$

f_n – fracția purtătorilor de Ag concret printre bolnavi, exprimată în zecimi de miimi;
 f_k – fracția purtătorilor aceluiași antigen în grupul celor sănătoși, exprimată la fel.
 Valoarea RR mai mare de 2 se consideră semnificativă.

O corelare esențială a fost stabilită pentru HLA-B27 și maladia Bechterew (spondiloartrita anchilozantă): 95% dintre pacienți posedă acest antigen (RR=90-98); predispoziția la alergii și la maladiile autoimune este asociată cu fenotipul concret al sistemului HLA, precum și cu rezistența la infecții.

Antigenii trombocitari

Trombocitele posedă mai mult de 20 de molecule antigenice diferite (HPA-1, -2, -3, -4, -5 etc.), care pot fi identificate prin utilizarea anticorpilor. Ele sunt asociate cu integrinele și pot fi cauza trombocitopeniilor aloimune la nou-născuți și la transfuzia plasmei sangvine (anticorpi) la adulți.

Antigenii endogeni (autologi)

În condiții de normă există autoanticorpi în concentrații mici la autoantigenii organismului uman. În cazul modificării conformaționale a moleculelor proprii, la dereglarea mecanismelor de supresie a reacțiilor autoimune (dereglarea auto-toleranței) sunt secretați anticorpi și celule T imune, care reacționează cu autoantigenii, inducând alterarea tisulară și a organelor care conțin acest Ag. O variantă de autoantigeni sunt cei „patologici” ce apar în urma arsurilor, acțiunii radiației radioactive etc. Antigenii exogeni pot participa la formarea autoantigenilor prin modificarea structurilor macromoleculare ale organismului. Există Ag naturali primari (cristalinul ochiului, țesutul nervos etc.), dobândiți secundari (produsele alterării țesuturilor de către microbi, virusuri sau complexe Ag microbial+Ag tisular, Ag *a frigore*, sau al arsurilor, de iradiere etc.

După apartenența tisulară și celulară, sunt evidențiate următoarele tipuri de substanțe organo-specifice și specifice țesuturilor care pot fi Ag: stromali (Ag fibrelor elastice, colagenului etc.), celulari (membranari, citoplasmatici, nucleari etc.), autoantigenii extracelulari (Ag fluidului intertisular, lichidului intercelular etc.).

Competiția antigenică

Competiția antigenică este o inhibiție a răspunsului imun față de un stimul antigenic, indusă de către alt stimul atunci când un Ag este inoculat în anumite raporturi cu un alt antigen. Competiția poate fi *intramoleculară*, *intermoleculară* sau *secvențială*. În cazul competiției intramoleculare, partea mai imunogenă a moleculei de Ag deprimă răspunsul imun față de cea mai puțin imunogenă. De exemplu, fragmentul Fc al moleculei de Ig este mai imunogen, concurând cu fragmentul Fab. Anticorpii anti-Fab se obțin mai greu decât cei anti-Fc. Competiția intermoleculară se înregistrează la diferite molecule de Ag, una dintre ele depresând răspunsul față de celălalt. De exemplu, globulinele serice sunt mai bune imunogene, concurând cu albumina serică. A treia formă de competiție este cea secvențială, fiind de altfel și cea mai importantă din punct de vedere practic, deoarece se realizează în timpul vaccinărilor. De obicei, primul Ag inoculat concurează cu cei inoculați la anumite intervale de timp după vaccinare. Inhibiția realizată pentru Ag competițional ar putea fi explicată prin prezența moleculelor de Ac cu afinitate mai mare pentru epitopi, prin existența de Ac anti-determinantul antigenic supresat, prin generarea de către primul Ag a proliferării unor limfocite sau monocite supresoare etc.

Cunoașterea mecanismelor care conduc la competiția antigenică are o mare importanță practică, deoarece pe baza acestor noțiuni se pot folosi scheme de vaccinare fundamentate științific, se pot face imunizări multiple pentru obținerea unor seruri imune sau se pot face asociații de vaccinuri polivalente, care să dea mai bune rezultate atunci când sunt inoculate în scop preventiv, pentru vaccinarea populației.

CAPITOLUL 5. RĂSPUNSUL IMUN ȘI TOLERANȚA

Caracteristica majoră a sistemului imun este capacitatea de recunoaștere a antigenilor proprii de cei non-proprii, existența unui număr mare și divers de specificități ale receptorilor celulari și anticorpilor.

Actualmente, se consideră că în organismul uman inițial există clone celulare cu receptori la toți antigenii (Ag) posibili. Antigenii, care au pătruns în organism, se leagă cu receptorii sau anticorpii complementari și, în prezența semnalelor costimulatoare, induc proliferarea și diferențierea clonei, astfel realizând răspunsul imun. Diversitatea moleculelor care leagă Ag rezultă din recombinările și mutațiile genelor. Clonele celulare capabile să reacționeze cu Ag țesuturilor și organelor proprii sunt eliminate (inhibate) în perioada embrionară. Dezvoltarea răspunsului imun este asigurată de celulele ajutătoare, prezentatoare de antigen (APC) și limfocitele T și B. Însă în acest proces, în funcție de caracterul Ag și anumite condiții, pot participa activ și granulocitele, complementul etc. Celulele și moleculele solubile ale sistemului imun (SI) interacționează prin adeziune cu Ag străini. Polimorfismul moleculelor adezive cu capacitatea de recunoaștere a antigenului (HLA de clasele I și II, moleculele CD1, receptorii limfocitelor T și B, celulelor dendritice, factorii complementului etc.) asigură interacțiunea progresivă și dinamică cu diferiți epitopi ai Ag, iar, în consecință, dezvoltarea imunității congenitale, ulterior și a celei adaptive prin inducția selecției moleculelor și celulelor.

Recunoașterea antigenilor este funcția receptorilor care leagă Ag străin (specifici pentru acest antigen). Moleculele HLA-A, HLA-B și HLA-C sunt receptori pentru Ag virali și peptidele endogene autologe, iar cele HLA-DR, -DP, -DQ – pentru Ag peptidici străini procesați de celulele APC (macrofage, celulele dendritice etc.). Aceste peptide pot persista în complex cu structurile HLA timp îndelungat, astfel asigurând *memoria imunologică*. Structura similară a unor epitopi ai moleculelor HLA și antigenilor virali sau bacterieni (mimicria antigenică) va determina absența răspunsului imun la aceștia. Alteori, la interacțiunea cu agenții patogeni, epitopii moleculelor HLA pot să se modifice, încât să fie recunoscuți ca străini cu dezvoltarea unei reacții autoimune.

Receptorii unuversali pentru un șir de Ag, inclusiv cei polizaharidici, sunt imunoglobulinele membranare ale limfocitelor B (mlg). *Anticorpii naturali* (IgM) de asemenea recunosc și leagă Ag formând complexe imune care, ulterior, se leagă cu receptorii Fc μ celulari și induc fagocitoza intensivă a lor de către APC, și, în final, procesarea Ag, și apariția peptidelor care vor stimula celulele T în complex cu moleculele HLA de clasa I sau de clasa II.

Anticorprii (imuni și neimuni) fixați la receptorii Fc ai limfocitelor (Fcγ, Fcμ, Fcα) și ai altor leucocite pot reacționa cu Ag inducând stimularea sau supresia funcțiilor celulelor respective.

Moleculele CDI ale celulelor APC leagă Ag lipidici, iar complexul format va fi prezentat limfocitelor T. Moleculele de adeziune ICAM, NCAM, VLA, factorii complementului, PCR și alte proteine circulante cu funcție de receptor realizează interacțiunile intercelulare, formează și complexe cu unii Ag, care ulterior vor stimula celulele APC ori nemijlocit limfocitele T și/sau B.

Astfel, recunoașterea diferitor structuri antigenice este asigurată de multiple molecule de receptori celulari și liberi, cu formarea complexelor și prezentarea limfocitelor T și/sau B. Receptorii celulelor T (TCR) recunosc numai Ag procesați în complex cu structurile HLA de clasele I și II proprii sau cu moleculele CDI. În urma stimulării lor, apar clone de Th1 și Th2 cu TCR mai specifice. În unele cazuri, limfocitele B pot lega Ag prezentându-l limfocitelor T cu activarea lor, iar în alte cazuri pot fi stimulate selectiv de celulele T. Această stimulare este asigurată de interacțiunile receptor-adezine.

Mecanismul central de dezvoltare a răspunsului imun la Ag peptidici este restricția genetică, care pentru interacțiunile celulelor SI în răspunsul imun necesită prezența pe membrana lor a moleculelor HLA genotipului respectiv (propriu). Căile de recunoaștere a Ag, inducția și dezvoltarea răspunsului imun sunt elucidate în tab. 5.1.

Prezentarea Ag este realizată de celulele APC, care-l prezintă limfocitelor T-helper în formă imunogenă (superantigen), în complex cu HLA-DR (semnalul I). Concomitent, macrofagele activate secretă IL-1 și alte citokine care activează T-helperii (semnalul II). Macrofagele stimulate de bacterii elimină IL-12, care intensifică diferențierea celulelor T-helper în limfocitele Th1. Dacă Ag este prezentat de limfocitele B, va apărea subpopulația Th2.

Principiile de recunoaștere a antigenilor sunt următoarele:

- „Non-propriul” este recunoscut în asociere cu „propriul”, adică Ag în complex cu moleculele HLA de clasele I și II autologe.

- Celulele APC sunt cele dendritice, macrofagele și limfocitele B, dar pot fi și alte celule purtătoare de molecule HLA respective, după activarea lor de către citokine, inclusiv cele epiteliale, endoteliale etc.

- Receptorii antigen-specificali ai limfocitelor T (TCR) și cei membranari ai limfocitelor B sunt predestinați genetic, fiind prezenți până la contactul cu Ag. Diversitatea majoră a acestor receptori permite antigenului de a selecta receptorul de legare respectiv și de a activa celula purtătoare, adică Ag realizează selecția clonei celulare antigen-specifice.

Recunoașterea antigenilor și dezvoltarea răspunsului imun

Antigeni	Celule, receptori, molecule de adeziune la etapa I	Celulele mobilizate, receptorii etapei II	Celulele și receptorii etapei III	Celule și molecule efectoare, etapa finală
Bacterii, celule, corpusculi (peptide intra- și extracelulare)	Fagocite, receptorii Toll a celulelor APC, NK (KAR), HLA de clasele I și II	Th1, Th2, TCR, CD3, CD4, CD8 etc.	Limfocite B	Anticorprii, hipersensibilitatea de tip întârziat, citokine, limfocite T-killeri
Glicolipide	APC, celule B, CD1	Celulele T și T-NK		T-killeri, hipersensibilitatea de tip întârziat, anticorprii
Polizaharide	Celulele B, Ig, BCR	Macrofage ?		Anticorprii
Lipopolizaharide	Macrofage, celulele NK, B, neutrofile	Celulele T etc.	Aceleași și altele	Anticorprii, hipersensibilitatea de tip întârziat
Superantigenii	Celulele APC, HLA de clasa II	Celulele T cu lanțurile V β	-	Limfocitele T și alte celule, citokinele
Mitogenii	Receptorii celulelor T și/sau B	Diverse	Diverse	Celulele T și B activate etc.
Proteina A, produsele bacteriene, lectine	Sistemul complementului C3-C9 (calea alternativă și lectinică)	Receptorii pentru complement pe celulele T, B, NK, macrofage etc.	Activarea diferitor celule	Anafilatoxine, citokine
Produse bacteriene	Proteina care leagă mananele (MBP) și PCR	Macrofagele, complementul	Celulele T etc.	Celulele activate, complementul activat
Diferiți antigeni	Anticorprii naturali, BCR		Celulele B, macrofagele	Anticorprii
Bacterii, virusuri și celule (glucide superficiale)	NK, macrofagele, receptorii Toll, moleculele CD (diferite)			NK, macrofagele (perforine activate)
Toți antigenii	Adeziunile, integrinele, selectinele, citokinele și receptorii lor la toate etapele			

În realizarea răspunsului imun se disting următoarele etape:

1. *Prezentarea antigenului limfocitelor T-helper*, după procesarea lui în fagolizozomele macrofagelor.

2. În faza *inductivă* Th1 și/sau Th2, primind două semnale de la macrofage, elimină citokine care stimulează proliferarea limfocitelor T și B. Vor fi activate celulele B, care dispun de receptorul monomer IgM și care corespund acestui Ag (selecția și stimularea selectivă a limfocitelor B).

3. În faza *efectorie*, LB se transformă în plasmocite secretoare de Ac specifici și în paralel apar și LT antigen-specifice imune. Odată cu dezvoltarea răspunsului imun, vor fi stimulate și celulele T-supresoare, care în normă peste un anumit timp vor stopa reacția imună, iar în organism rămân celulele T și B cu memorie (memoria imunologică).

Limfocitele B pot fi stimulate și direct de către antigenii timo-independenți (LPS germenilor Gram-negativi, polizaharidele pneumococilor, polivinilpirolidonul etc.), unele lipide și mitogeni (PWM-pokeweed mitogen). Ele vor induce sinteza anticorpilor de clasa IgM. Pentru sinteza IgG și a altor izotipuri sunt necesare interleukinele T celulare, de asemenea, ca și pentru formarea celulelor B cu memorie.

Astfel, în dezvoltarea răspunsului imun participă diverse celule și molecule care cooperează și realizează diverse forme imune (fig. 5.1).

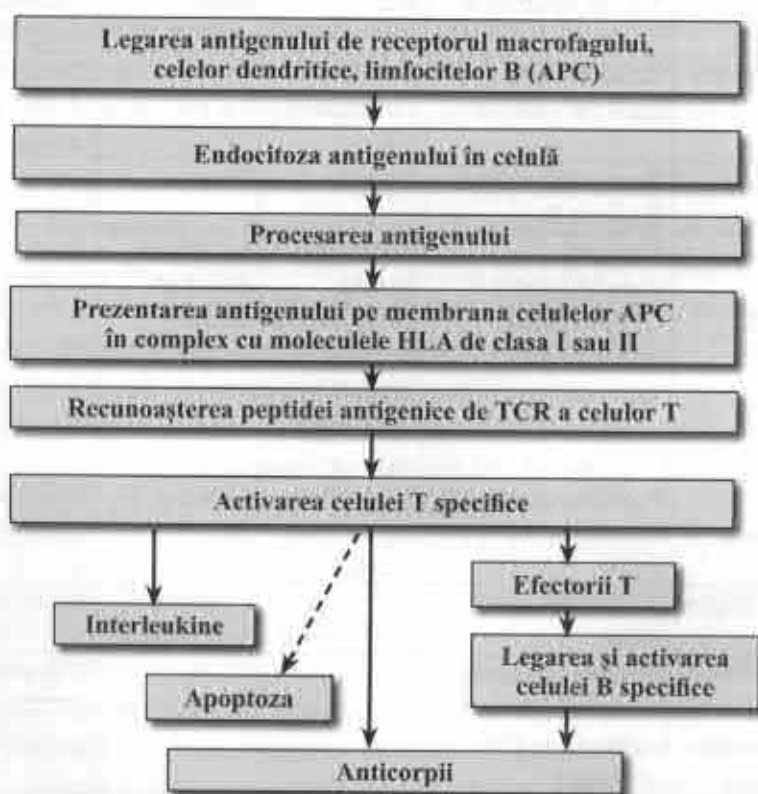


Figura 5.1. Etapele secvențiale ale răspunsului imun T-dependenț la antigenii proteici

Răspunsul imun primar și secundar

Antigenii care au pătruns în organism circulă în torentul sangvin cca 24 de ore, ulterior cantitatea principală depozitându-se în ganglionii limfatici. Răspunsul imun la antigenii infecțioși și neinfecțioși, de regulă, finisează cu acumularea Ac, limfocitelor T imune și stabilirea memoriei imunologice. Însă această reacție poate avea caracter abortiv, incomplet, dacă Ag este slab imunogen sau celulele și factorii umorali ai rezistenței nespecifice (macrofagele, NK, complementul etc.) l-au eliminat rapid.

Stimularea naturală cu Ag germenilor convențional-patogeni persistenți pe piele și mucoase conduce la menținerea de fond a proliferării celulelor SI, iar celulele B pot secreta unele imunoglobuline. Numai stimularea antigenică imensă induce răspunsul imun evident, care include toate etapele de interacțiune a celulelor sistemului imun.

Răspunsul imun primar aparent după 2-3 zile (perioada latentă de recunoaștere a Ag) se manifestă prin secreția IgM (la a 2-a – a 3-a zi), ulterior cu sinteza IgG (maximum la 10-14 zile care în titru mic pot persista pe parcursul vieții). Concomitent se observă o cantitate nu prea mare de IgA, IgE, IgD. Se formează complexe Ag-Ac. La a 3-a zi apar și limfocitele T imune. În funcție de caracterul Ag, predomină fie limfocitele T imune, fie Ac.

Răspunsul imun primar se finisează peste 2-3 săptămâni după stimularea antigenică. Rămân doar limfocitele cu memorie și cantități minore de anticorpi IgG. Limfocitele T cu memorie din zonele paracorticale ale ganglionilor limfatici și mufelor splinei diferă de alte celule T prin prezența CD45R0, asociat cu TCR, numărul major de CD44 (receptor homing), inhibitorul apoptozei Bcl-2 și expresia slabă a selectinei CD62L. După fenotipul lor, sunt dispersate în două subpopulații: CD45R0⁺/CCR7⁻ (limfocitele efectoare cu memorie care conțin perforină, capabile să producă IL-4 și IL-5) și CD45R0⁺/CCR7⁺ (limfocitele T cu memorie centrale – celule efectoare slabe). Clonele limfocitelor T CD8⁺ cu memorie sunt mai numeroase, comparativ cu CD4⁺.

Celulele B cu memorie apar în centrele germinative ale foliculilor secundari sub influența celulelor dendritice foliculare și nu se diferențiază în plasmocite. Au pe membrana lor IgG și IgA, spre deosebire de cele obișnuite, care posedă IgM sau IgM/IgD. La stimularea antigenică, celulele B cu memorie migrează intensiv în măduva osoasă, unde se transformă în plasmocite secretoare de Ac (în special la persoanele de vârstă înaintată). Celulele plasmatiche ale fazei precoce a răspunsului imun se diferențiază în zonele extrafoliculare ale pulpei albe a splinei, secretă Ac de afinitate joasă și persistă câteva zile. În măduva osoasă sunt plasmocite cu perioadă de semiviață lungă, care secretă Ac de o afinitate înaltă.

Răspunsul imun secundar. Clonele limfocitelor T și B cu memorie recirculează în organism, dispun de receptori membranari (TCR pentru celulele T și IgG, mai rar IgA sau IgE pentru celulele B). Anticorpul IgG persistent în titru mic formează complexe imune, opsonizează Ag și contribuie la intensificarea răspunsului imun secundar. Frecvența de înregistrare a celulelor cu memorie, comparativ cu precursorii „naivi”, este de 100 de ori mai mare, iar receptorii au o afinitate evident majoră. Aceasta asigură proliferarea lor rapidă la stimulul antigenic secundar respectiv, fără celulele ajutoare și costimulare suplimentară. Antigenii polivalenți reacționează cu două și mai multe molecule ale receptorilor respectivi de pe celulele cu memorie imună (TCR sau Ig), cu apariția ulterioară a modificărilor proprietății membranei, activarea proteinelor reglatoare și a enzimelor (adenilatciclazei, fosfolipazei C etc.). Apar mediatorii intracelulari secundari (cAMP, cGMP, inozitoltrifosfat, ionii de Ca etc.), ce activează sistemul proteinkinazelor și proteinelor care leagă Ca (calmodulina). Ulterior, semnalul este transmis genomului celulei care va produce rapid o clonă celulară de specificitate înaltă.

În consecință, peste 1-3 zile, celulele cu memorie vor secreta Ac IgG în titru mare și un număr mare de limfocite T imune. O parte din Ac se vor fixa la receptorul Fc al leucocitelor. Nivelul IgM nu se va modifica esențial datorită absenței celulelor B IgM⁺ cu memorie. În mucoase sunt prezente celulele B cu memorie secretoare de Ac IgA, al căror nivel, de asemenea, crește la stimulările repetate.

Celulele T cu memorie activate de Ag se transformă în cele efectoare. Dacă predomină Th2, se intensifică anticorpogeneza, pe când Th1 stimulează reacțiile imune celulare, activează macrofagele prin IFN- γ și dezvoltarea hipersensibilității de tip întârziat. Stimularea celulelor CD8⁺ conduce la dezvoltarea răspunsului citotoxic. Stimulul antigenic secundar poate induce și reacții alergice, cu proliferarea celulelor B IgE⁺ și limfocitelor T alergen-specifice.

Reglarea și supresia răspunsului imun

Prezența Ag și semnalelor costimulatoare la interacțiunea celulelor și citokinelor induce activarea răspunsului imun. Predominarea Ag în complexe imune, opsonizarea lui, intensifică reacțiile imune, precum și prezența Ac IgM în aceste complexe care se leagă cu receptorii Fc μ la Th2 și celulele dendritice ce contribuie la activarea celulară.

Odată ce răspunsul imun a atins nivelul maxim, el este inhibat de diferite mecanisme și factori. Printre factorii supresori un rol important îl au eliminarea Ag sau diminuarea lui cantitativă, legarea de către celulele dendritice etc., includerea unui complex de mecanisme specifice supresoare (celulele cu receptori respectivi și citokinele etc.). Funcția supresoare celulele T CD8⁺ o realizează

dacă dispun de ligandul Fas care leagă receptorul Fas al celulelor activate T și induce apoptoza lor.

Astfel, supresia răspunsului imun este asigurată de diverse mecanisme care includ:

- inducția apoptozei limfocitelor T și B activate, altor leucocite pe diverse căi (mecanismul principal de supresie a răspunsului imun);
- acumularea limfocitelor CD4⁺ care elimină excesiv citokina TGF- β_1 (Th3) ce inhibă imens limfopoieza și activitatea macrofagelor;
- celulele locale, subpopulațiile supresoare NK și NK-similare limfocitelor T ale ficatului, membranei deciduale și, posibil, ale altor țesuturi;
- citokinele IL-4 și IL-13, produse ale mastocitelor și Th2 care inhibă diferențierea Th0 în Th1 și IFN- γ , eliberat de Th1, ce inhibă maturizarea Th2;
- anticorpul clasei IgG care se leagă cu receptorul Fc γ RII (CD32) pe celulele mature B și inhibă maturizarea lor în plasmocite;
- reacția „idiotip-antiidiotip” care se intensifică concomitent cu răspunsul imun.

Sistemele nervos central și endocrin realizează reglarea funcțiilor sistemului imun. Sistemul nervos central influențează funcțiile SI, inclusiv prin stimularea convențional-reflectorie sau prin inhibiția activității lui. Pe celule există receptori pentru hormoni, mediatori, neuropeptide.

Cortisolul, hormonul adrenocorticotrop, adrenalina, androgenii, estrogenii induc apoptoza și inhibă proliferarea limfocitelor și răspunsul imun. Corticosteroizii inhibă prioritar producția citokinelor de către Th1 (mai mult decât a Th2) și intensifică formarea TGF- β care inhibă proliferarea limfocitelor.

Somatotropina, tiroxina, insulina intensifică proliferarea și diferențierea limfocitelor. Efectele acestora însă deseori depind de condițiile concrete și pot fi adverse.

Toleranța imunologică

Toleranța imunologică este caracterizată prin supresia răspunsului imun specific aparentă după inocularea Ag în organism. Există toleranță congenitală și adaptivă. Toleranța congenitală la Ag (tolerogen) apare la contactul Ag cu celulele SI în perioada embrionară. După naștere, organismul va recunoaște acest Ag ca „propriu”, iar răspunsul imun va fi absent datorită faptului că în embriogenează are loc apoptoza sau supresia clonelor precursorare ale limfocitelor T capabile să reacționeze cu acest Ag. Toleranța poate să se dezvolte la orice Ag: celulele alogene, antigenii bacterieni și virali. Ea poate fi completă (absența răspunsului) sau parțială (inhibiția sintezei de Ac a unui izotip sau a răspunsului celular T).

Autotoleranța la celulele și moleculele proprii se referă la cea congenitală. Toleranța de tip special se observă la mamă față de Ag fătului în perioada gravidității.

Toleranța adaptivă poate avea caracter dependent de dozele mari sau foarte mici ale Ag. Pătrunderea în organism a Ag în cantități mari, în special pe fundalul supresiei sistemului imun (radiația, utilizarea imunodepresantelor), induce moartea limfocitelor reactive (*paralizia imunologică*).

În situațiile toleranței la cantitățile mari de Ag poate avea loc deleția clonală (eliminarea, inactivarea) a clonei antigen-reactive în urma apoptozei sau anergiei (blocada receptorilor clonelor specifice T și B). Anergia se constată ca variantă a toleranței induse de doze mari pe fundalul inhibiției răspunsului imun.

Toleranța de „zonă joasă” apare la inocularea dozelor foarte mici de Ag și, ca rezultat, are loc activarea celulelor T și B-supresoare cu inhibiția răspunsului imun.

Asocierea preparatelor imunosupresoare și a Ag în doze mici conduce la instalarea toleranței eficiente. De exemplu, ciclofosfamida are două modalități principale de acțiune: prin scăderea pragului inferior de realizare a toleranței și prin blocarea secvențelor de diferențiere.

Autotoleranța poate fi realizată prin mecanismul „idiotip-antiidiotip”. Primar sunt secretați Ac primei generații cu specificitate față de acest Ag (Ac idiotip). Ulterior sunt secretați Ac generației a II-a – antiidiotip, astfel realizându-se diminuarea răspunsului imun, scăderea posibilităților de dezvoltare a proceselor autoimune.

În general, actualmente, ambele mecanisme de menținere a toleranței (deleția clonelor și supresia lor) se consideră suplimentare.

Toleranța imunologică poate avea și efecte negative – face imposibilă eliminarea substanțelor străine organismului, dar are și efecte pozitive. Unul dintre acestea este însăși toleranța propriilor structuri care, dacă nu s-ar realiza, ar putea duce la autodistrugere prin propriile mijloace de apărare. Uneori este necesară realizarea toleranței imunologice față de anumiți Ag. Este cazul reacțiilor alergice exagerate sau al unor grefe de organe sau țesuturi, a căror respingere imună constituie o piedică în terapia unor deficite fiziologice de importanță vitală pentru existența organismului.

Capitolul 6. ONTOGENIA IMUNITĂȚII

Maturarea organelor și funcțiilor imune începe încă din primele stadii de dezvoltare embrionară și continuă până în perioada perinatală, dobândirea imunocompetenței realizându-se pe două planuri diferite: cel al formării organelor limfoide și cel al maturărilor funcționale. Mai întâi se formează organele limfoide centrale, ulterior – cele periferice. Pot fi considerate organe limfoide specifice vârstei embrionare sacul vitelin și ficatul, la nivelul cărora se formează celulele stem generatoare de diferite linii celulare, inclusiv cea limfoidă. Din celula stem, apoi din hemocitoblastii dezvoltați în sacul vitelin și ulterior în ficatul embrionar, descind celulele care vor evolua pe direcția hematopoietică sau limfopoietică, din ultima derivând limfocitele care se vor matura fie la nivelul timusului, fie la nivelul măduvei osoase. Rezultă două clase de celule a căror maturare ontogenetică, respectiv dobândirea de markeri, de receptori și de competență funcțională, se realizează în trei secvențe diferite: a) în stadiul premergător organului limfoid primar, deci pe parcursul de la celula stem la timus sau în măduva osoasă; b) în interiorul organelor limfoide și c) după ce au părăsit organele limfoide centrale. Există două modalități diferite de maturare a precursorilor: una aflată sub controlul strict genetic, independentă de intervenția stimulului antigenic, și alta – dependentă de acesta (fig. 6. 1).

În cazul limfocitelor B, între faza de control genetic și cea de intervenție a antigenilor, ar exista un stadiu, în care intervin stimuli mitogenici. De exemplu, limfocitul B, odată derivat din hemocitoblast, devine precursor B, care își sintetizează lanțul μ . Acesta nu va fi exprimat la suprafața membranei, ci va rămâne în interiorul celulei. În stadiul următor are loc sinteza lanțului L și exprimarea la nivelul membranei a receptorului IgM. În această fază de dezvoltare, limfocitul este „incompetent” imunologic, domiciliat la nivelul măduvei osoase. Până acum toate fazele evolutive sunt controlate genetic și independent de antigen. Ulterior, sub influența stimulilor mitogenici, pentru care celula își are deja exprimați receptori, apar receptorii pentru antigen din clasa IgD, apoi ai IgG sau IgA. Celula este deja competentă imunologic, dar „virgină”, în sensul că încă nu a avut prilejul să-și exprime competența dobândită. De abia sub influența antigenului și, după caz, a limfocitelor T-helperi, devine plasmocit secretor de IgM, IgG, IgA etc. La vârsta de 9-10 zile, embrionii au în sacul galben progenitorii B care trec în ficatul embrionar, apoi în măduva osoasă. La nivelul osului, progenitorii pre-B se găsesc în regiunea externă a măduvei, în imediata apropiere a peretelui osos, iar celulele B mature, care exprimă deja receptorii IgM/IgD, sunt localizate spre centrul măduvei. Pentru diferențiere, precursorii B foarte timpurii necesită unele condiții „mieloide”, contactul direct cu celulele stromale fiind esențial pentru generarea și maturarea lor.

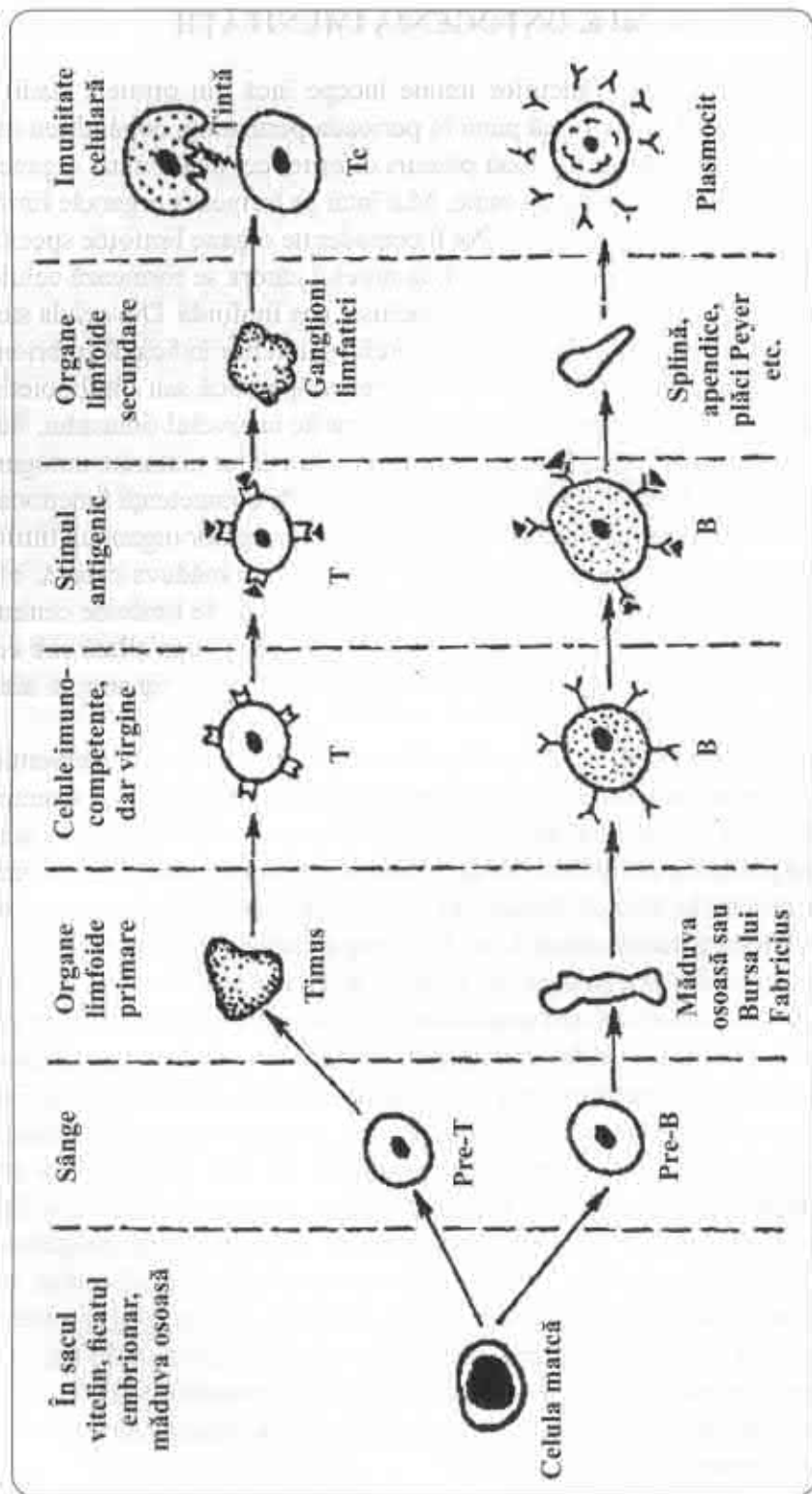


Figura 6.1. Evoluția ontogenetică a limfocitelor T și B, începând cu stadiile de precursori pre-T sau pre-B până la stadiul final de celule efectoare ale imunității mediate umoral sau celular

Markerii antigenici de pe suprafața limfocitelor sunt exprimați în secvențe diferite de timp în cursul evoluției ontogenetice, unul și același marker putând dispărea într-o fază evolutivă și reapărea în alta pentru ca, în final, să persiste numai cei care definesc populația de celule adulte.

Precursorii T sosiți în timus nu au nicio funcție până la maturarea lor, existând mai multe etape în cursul cărora au loc achiziții și pierderi de caractere fenotipice. Aceasta este expresia unor mutații în sinteza proteinelor care afectează secvența aminoacizilor și integritatea funcțională a proteinei. Celula T în cursul dezvoltării exprimă un număr diferit de antigeni pe suprafață, care permit interacțiunea cu microclimatul înconjurător, acesta influențându-i și reglându-i dezvoltarea (fig. 6.3). În nucleul celulelor limfoide imature, ca și în limfocitele din corticala timusului, este prezentă enzima deoxiribonucleotidiltransferaza (TdT), care lipsește la limfocitele T mature. Enzima are rolul de control al inserției nucleotizilor la situsurile de unire a segmentelor de gene în timpul rearanjării genelor care controlează organizarea receptorilor pentru Ag pe suprafața celulei T (fig. 6.2).

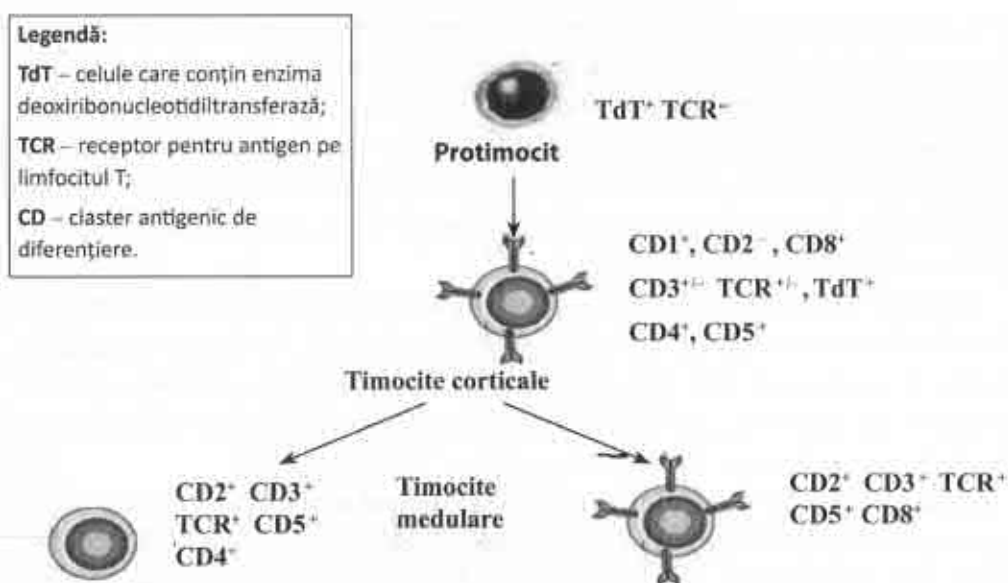


Figura 6.2. Momente evolutive în ontogeneza limfocitului T

Precursorii limfoizi din măduva osoasă exprimă atât HLA-DR, cât și markerul CD34 la care se asociază ulterior CD2 și CD7, care se mențin pe tot timpul maturării limfocitului. Markerul antigenic CD5 este prezent pe timocitele corticale și pe limfocitul T matur, spre deosebire de CD1, care apare la precursorii

din corticala timusului, fiind un marker „comun” pentru timocite. Multe timocite corticale sunt $CD4^+CD8^+$, pe când cele din periferie sunt fie $CD4^+$, fie $CD8^+$.

Complexul CD3-TCR este exprimat pe 60-65% din populația de timocite normale, dintre care numai 0,2-1% exprimă receptorii $T\gamma\delta$. În periferie majoritatea LT (85-95%) exprimă receptorii $\alpha\beta$, iar 2-15% – $\gamma\delta$. Deci receptorii $T\gamma\delta$ se formează practic la nivelul măduvei osoase și nu la nivelul timusului.

Maturizarea limfocitelor T în timus depinde de evitarea a două tipuri de moarte programată: o selecție negativă care constă din eliminarea celulelor a căror TCR reacționează prea eficient cu propriile structuri ale organismului și o selecție pozitivă, prin care sunt eliminate celulele nefuncționale. Susceptibilitatea la aceste 2 modalități de selecție depinde de exprimarea TCR pe timocite, de fenotipul MHC din mediul timic și de specificitatea receptorilor pentru epitopii proprii sau non-proprii. În timus zilnic mor cca 5×10^7 celule, la fiecare 5-6 zile fiind înlocuite cu progenitori noi.

În celulele imature $CD4^+CD8^-$, primul lanț exprimat este polipeptida α a TCR, rearanjările locusului α permițând exprimarea receptorilor α,β numai către sfârșitul proliferării intratimice, după care urmează selecția negativă cu blocarea celulelor $CD4^+$ sau $CD8^+$. Selecția pozitivă ar avea loc ulterior, fiind eliminate toate celulele $CD4^+CD8^+$ rămase impotente reacțional nu numai față de stimulii liganzilor specifici pentru TCR, dar și față de diverși agenți cum ar fi forboles-terii etc. Timocitele din corticala timusului posedă proteinkinaze (de ex., proteinkinaza C) și pot exprima *in vitro* receptori pentru IL-2, deși sunt încă defective în transmiterea semnalelor.

Astfel, în timus protimocitele, precursorii cei mai imaturi, se găsesc în zona subcorticală, cele în curs de maturare – în zona corticală, iar în cea medulară – celulele T competente (fig. 6.2). Evenimentele proliferative au loc în regiunile exterioare ale organului, pe când rearanjările genelor receptorilor și exprimarea proteinelor controlate de ele au loc în cortex.

Așadar, la nivelul timusului, cca 2-6% din celule sunt $CD4^+CD8^-$, reprezentând populația precursoră cea mai imatură, 70-80% din celulele – $CD4^+CD8^+$, dintre care majoritatea vor muri, și 15-20% din celule – $CD4^+CD8^-$ sau $CD4^+CD8^+$ prezente în medulară, dintre care o parte vor muri aici, iar altă parte – la periferie.

Celulele T, care posedă receptorul $TCR\gamma\delta$ și participă în imunitatea congenitală, apar mai timpuriu decât cele purtătoare de $TCR\alpha\beta$, participante ale imunității dobândite. Majoritatea celulelor T ale fătului exprimă markerul naiv CD45RA. În cazul infecțiilor intrauterine, ele se pot diferenția în celule cu molecule CD45R0, ce indică o stimulare antigenică. Celulele T fetale în 9-16% din cazuri au receptor pentru IL-2 (CD25) – marker al activării. Timusul, la

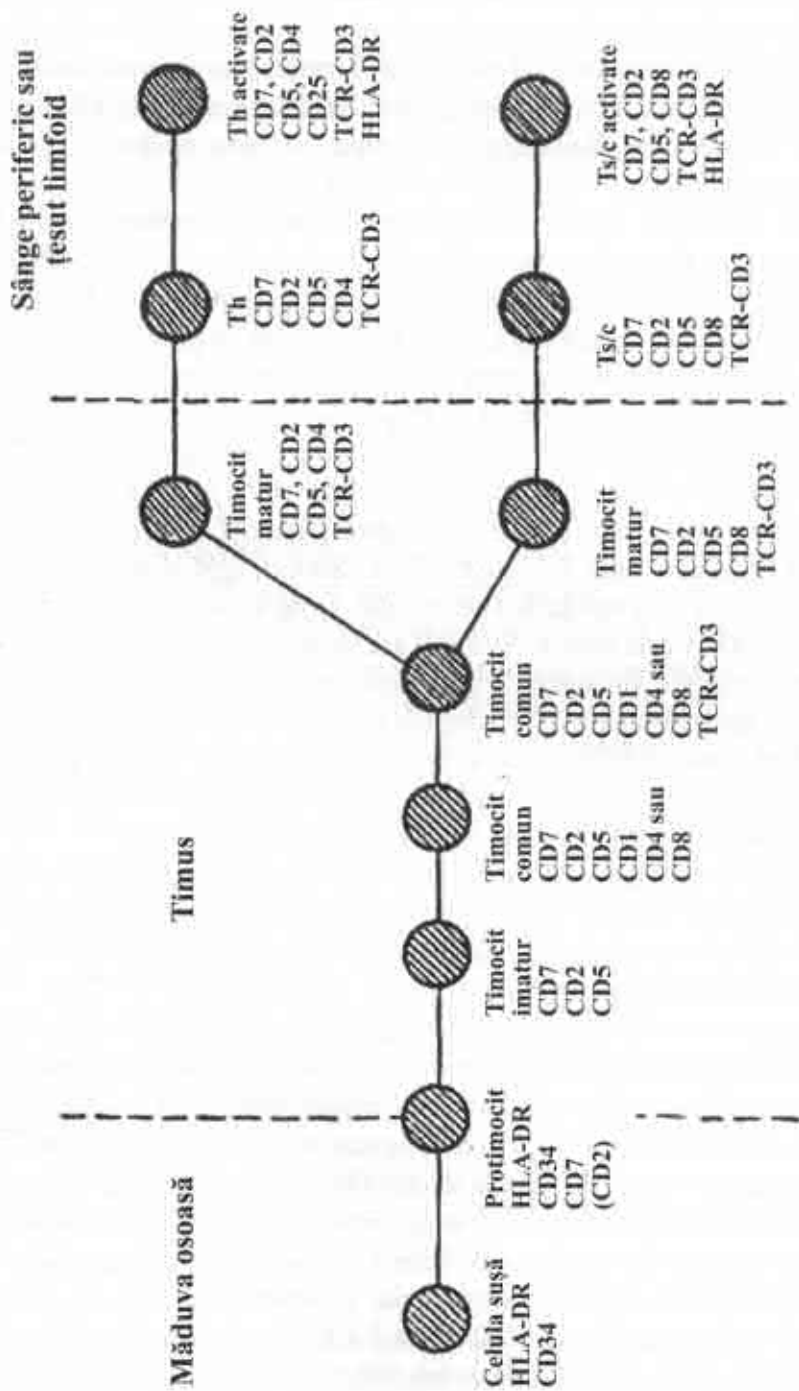


Figura 6.3. Schema diferențierii limfocitelor T umane în evoluția ontogenetică

14 săptămâni de dezvoltare, dispune de două straturi: cortical, cu o cantitate mare de timocite, și medular, din celulele epiteliale secretoare ale hormonilor timici care influențează maturarea timocitelor. Limfocitele T mature au Ag caracteristici de diferențiere CD2, CD3 și CD4 (T-helperii) sau CD8 (T-supresoarele), HLA de clasa I. Antigenii HLA de clasa II și receptorul pentru IL-2 apar pe limfocite doar la activare (fig. 6.3). Limfocitele T-helper prin secreția de IL-2 stimulează maturarea celulelor T și B. În sângele periferic al embrionului, limfocitele apar la a 7-a săptămână de dezvoltare, iar în alte structuri limfoide – la a 13-a – a 25-a săptămână.

Precursorii celulelor B (populația B1) apar în ficat și epiploon la a 8-a – a 10-a săptămână și dispun de antigenul CD5. Limfocitele B mature apar în sângele fătului la a 12-a – a 14-a săptămână cu proprietatea de a forma plasmocite și produce anticorpi. Prezența celulelor plasmatică în organele limfoide ale fătului, de regulă, denotă stimulare antigenică, adică infecție intrauterină. Gradul de maturitate a limfocitelor B se determină prin prezența pe membrana lor a Ig și moleculelor CD, receptorilor pentru complement și LPS. Imunoglobulinele M apar primar pe membrana celulelor B, ulterior IgD, IgG, IgA, și IgE. Sinteza IgM și IgG la făt a fost constatată la a 10-a – a 20-a săptămână de gestație, iar IgA – după 30 de săptămâni. Nivelul înalt de IgG la nou-născut (8-10g/l) are geneză maternă, este transportat transplacentar în ultimele săptămâni de graviditate prin legarea la receptorul Fc γ al trofoblastului cu apariția ulterioară în sângele fătului. Anticorpii IgM, IgA și IgE nu traversează placenta și de aceea organismul nou-născutului rămâne insuficient apărat de infecții, situație existentă până la 3-5 luni de viață. Lichidul amniotic conține IgG ($0,26 \pm 0,1$ g/l) și IgA prioritar secretori ($0,03+0,01$ g/l).

Apărarea fătului de infecții este asigurată de bariera placentară, de membranele fetale, de IgG de origine maternă și anticorpii secretați. Activitatea antibacteriană a lichidului amniotic este dependentă de concentrația de lizozim, de transferină, de lizine β , Ig, peroxidaze.

În serul sangvin al nou-născutului este prezent complementul, nivelul căruia atinge cca 50% din activitatea serului sangvin la adulți. Se consideră că proteinele complementului sunt secretate până la naștere. Componentele C4, C3 și C5 sunt sintetizate în perioada timpurie a ontogenezei, în special în ficat, în intestinul gros etc.

Granulocitele și monocitele apar în ficatul fătului la a doua lună de graviditate, ulterior fiind produse de măduva osoasă. Granulocitele fătului se deosebesc prin capacitatea scăzută de adeziune și chemotactism, fagocitoza este nefinisată din cauza insuficienței de eliberare a enzimelor lizozomale.

Killerii naturali apar în ficatul fătului la a 5-a săptămână, iar la a 18-a săptămână ating nivelul de 15-25% din toate celulele ficatului. Capacitatea de eliminare a celulelor străine, care nu posedă HLA de clasa I, la ei este slabă. Killerii naturali participă activ în formarea spectrului celular hepatic și al altor structuri, cantitatea acestora în sângele ombilical constituind 10-15%.

Citokinele reglează maturarea celulelor sistemului imun fetal. În placentă sunt sintetizate IFN- γ și interleukine, a căror coraport, precum și al receptorilor, apreciază diferențierea celulară și funcțiile lor. În acest proces participă factorii de creștere (factorul de creștere a celulelor stem, factorul de creștere a nervilor etc.). Multe citokine sunt depistate în lichidul amniotic.

Relațiile materno-fetale

Sistemul imun matern manifestă toleranță relativă față de Ag fetalii moșteniți de la tată. Această toleranță este asigurată de bariera placentară (trofoblast). Placenta și fătul produc hormoni și citokine cu activitate imunoreglatoare, selectiv inhibă răspunsul celulelor SI matern prezente în placentă la antigenii fetalii. Expresia receptorilor și liganzilor, moleculelor HLA-G în placentă asigură inhibiția activității celulelor atât fetale, cât și materno, iar, în cazul patologiei, această toleranță este dereglată.

Lucrările ultimelor decenii au stabilit că antigenii HLA sunt exprimați foarte timpuriu pe suprafața celulelor fetale și *in vitro* pot stimula limfocitele materno pe care le recunosc ca străine, reacționând specific față de ele. Faptul că *in vivo* în mod normal aceste reacții nu au loc, s-ar datora existenței barierei placentare care izolează fetusul de mamă astfel încât stimulii antigenici fetalii nu mai sunt accesibili sistemului imun matern. Celulele trofoblastului placentar sunt neantigenice (nu exprimă pe suprafața lor aloantigenii) fiind „privilegiate imunologic” și asigură forța trofoblastică a placentei ca responsabilă de realizarea barierei. În afară de Ac, prin placentă și colostru pot trece macrofagele, limfocitele, granulocitele etc. Dacă placenta nu este o barieră perfectă, intervin factori supresori, care frânează proliferarea și reacțiile limfocitelor materno. Atât mama, cât și fetusul produc factori depresori ai reacțiilor imune. Pe lângă modificările hormonale, care au loc în această perioadă la gravide și care pot controla nespecific aceste reacții, apar o serie de molecule α sau β -globuline cu rol imunoreglator. La fetus predomină limfocitele T-supresoare care inhibă proliferarea limfocitelor materno.

Interacțiunile materno-fetale sunt extrem de complexe și multifuncționale. Pe de o parte, ele conferă protecție organismului în formare, iar, pe de altă parte, îi creează toate condițiile necesare pentru dezvoltare. Protecția vizează atât izolarea față de agresiunea celulelor imunocompetente materno, cât și izolarea față de agresiunea factorilor de mediu care au un acces limitat și controlat la produsul de concepție. El este apărat de Ac materno protectori (IgG), este izolat de stimulii antigenici externi și în prima jumătate a vieții intrauterine nu sintetizează Ac proprii, deși este capabil să o facă. Astfel, multe componente ale SI în stadiul fetal pot recunoaște Ag HLA, bacterieni, virali etc. și reacționa cu ei.

Imunitatea nou-născutului

Nașterea copilului este însoțită de atacul substanțelor străine și de stimulul antigenic al SI care contribuie la formarea ulterioară a mecanismelor adaptogene manifeste prin creșterea cantitativă a celulelor și țesuturilor limfoide.

Fagocitele nou-născutului practic sunt funcționale. Activitatea opsonică a serului este insuficientă tranzitoriu și corelează cu masa corporală. Copiii cu masa normală a corpului (mai mult de 3 kg) au titre suficiente de opsonine, pe când la cei cu distrofie prenatală și prematuri se constată un deficit evident. Cauza acestuia ar fi nivelul scăzut al IgM, IgG și al unor componente ale complementului. Nivelul complementului în serul sangvin al nou-născutului este de 1,5-2 ori mai mic, comparativ cu cel al mamei (deficit fiziologic), ceea ce se reflectă asupra rezistenței antiinfecțioase. Există o corelație între răspunsul inflamator redus al nou-născutului și nivelul scăzut al complementului. Cantitatea properdinei și nivelul C cresc începând cu a 5-a – a 6-a zi de viață a nou-născutului ca la sfârșitul perioadei neonatale să atingă corapoarte fiziologice normale ale componentelor.

Sistemul limfocitar T cantitativ este suficient, dar există o anumită areactivitate față de Ag bacterieni. Printre limfocitele T la nou-născut 50-65% aparțin celulelor T-helper cu molecule CD4, iar 25-30% au fenotipul CD8. Limfocitele T reacționează la Ag infecțioși, dar nivelul producției de citokine este scăzut.

Sistemul limfocitar B al nou-născutului este caracterizat printr-o cantitate scăzută în primele zile, ulterior predomină subpopulațiile imature.

Nivelul limfocitelor B care posedă Ag CD19 și CD22 la nou-născut este ceva mai mare, comparativ cu adulții (tab. 6.1), dar ele secretă prioritar IgM.

Tabelul 6.1

Conținutul limfocitelor T și B în sângele periferic, în funcție de vârsta nou-născutului (%)

Vârsta nou-născutului	Limfocitele T (CD3 ⁺)	Limfocitele B (CD22 ⁺)	Limfocitele B cu Ig de membrană		
			G	M	A
1-2 zile	48 ± 2, 6	32 ± 2, 6	13 ± 1,5	2,9 ± 0,7	-
5-6 zile	49 ± 2, 8	26 ± 1, 8	14 ± 1,7	2,5 ± 0,4	-
12 zile	56 ± 3, 0	25 ± 2, 1	10,4 ± 1,4	3,1 ± 0,8	-
20 de zile	60 ± 3, 2	25 ± 2, 4	9 ± 1,5	4,5 ± 1,0	-
1 lună	60 ± 3, 0	24 ± 1,7	7,8 ± 1,6	5,6 ± 1,1	3 ± 0,5

Cota principală a Ig nou-născutului o constituie cele de origine maternă (IgG), care corelează cu nivelul lor în serul sangvin al mamei (tab. 6.2).

Concentrația imunoglobulinelor în serul sangvin la copii

Vârsta	IgG (g/l)	IgM (g/l)	IgA (g/l)	IgE (UI/l)
1 zi	10±0,42	0,16±0,02	0,02±0,02	0-10
6 zile	9,8±0,36	0,19±0,03	0,08±0,04	0-10
12 zile	9,7±0,34	0,24±0,04	0,08±0,05	0-20
20 de zile	8,9± 0,28	0,27±0,03	0,12±0,04	0-20
1 lună	10±0,35	0,28±0,05	0,16±0,03	0-20
3 luni	5,0±1,2	0,21±0,16	0,32±0,12	0-20
4-6 luni	5,2±1,8	0,36±0,18	0,38±0,14	0-30
7-12 luni	7,5±2,2	0,76±0,27	0,54±0,16	5-50
13-24 de luni	9,5±2,7	0,88±0,36	0,67±0,19	5-70
3-5 ani	11,5±2,4	0,89±0,24	1,2±0,32	20-100
6-8 ani	11,8±2,8	1, 0±0,36	1,5±0,35	20-100

În sângele ombilical, concentrația IgM constituie 0,25-0,3 g/l (1/10 din nivelul matern), IgA este absentă, iar IgE se testează în concentrații foarte mici (10-100 UI/l). Nivelul IgE este majorat la nou-născuții cu predispoziție alergică. IgD, de asemenea, poate fi prezentă în cantitate foarte mică sau chiar absentează.

IgG din serul sangvin al nou-născutului sunt Ac anti-Ag ai microorganismelor cu care a contactat mama până sau în perioada gravidității. Nivelul IgG de origine maternă treptat scade cu creșterea nivelului celor de sinteză proprie care atinge valori normale la 2 ani sau chiar mai târziu.

Nivelul IgM crește din primele zile ca rezultat al sintezei proprii la Ag care pătrund în organism, atingând nivel majorat la 2-3 săptămâni de viață.

IgA apare în torentul sangvin la 2 săptămâni după naștere. Componenta secretorie a sIgA este prezentă în formă liberă înainte de apariția moleculelor complexe care se vor forma mai târziu. Insuficiența imunității umorale locale este compensată de sIgA a colostrului, în care conținutul acesteia depășește de 2 ori nivelul ei la adulți.

Anticorpogeneza la nou-născut este dependentă de microflora organismului și evoluează după tipul răspunsului imun primar, necesită o cantitate mai mare de Ag, iar comutarea de la o clasă de Ig la alta este lentă. Dacă la maturi pentru comutarea sintezei de la IgM la IgG sunt necesare 1-2 săptămâni, apoi la nou-

născut acest termen este de 3-5 săptămâni. Deficitul Ig la copii este cauza cea mai frecventă a situațiilor imunodeficitare.

Perioada neonatală este una critică imunologic, când în organism natural pătrund un număr mare de microorganisme, artificial se efectuează intervenția imunologică cu vaccinurile BCG și HBsAg. La unii copii în această perioadă apare deficitul celular, prioritar cel congenital (T γ δ , NK, B1, fagocitoza), ce conduce la apariția manifestărilor clinice ale stărilor imunodeficitare – maladiile infecțioase bacteriene și virale.

Copiii născuți de mame cu maladii inflamatoare autoimune, alergice dețin un risc esențial de dezvoltare a patologiei analoage asigurate de predispoziția genetică și contactul cu agentul patogen.

O importanță majoră are laptele mamar care asigură dezvoltarea și formarea SI, apărarea de non-propriu. În organismul nou-născutului, împreună cu laptele mamar, pătrund celulele și factorii umorali ai imunității, care favorizează reacțiile adaptive și asigură semnale de diferențiere în dezvoltarea SI. În glandele mamare, sub influența progesteronului, estrogenilor, prolactinei etc. și a citokinelor SI, se formează sistemul imun secretor. Laptele mamar conține leucocite ($1,3-1,5 \times 10^6/\text{ml}$), dintre care 10% aparțin limfocitelor, 85% – macrofagelor și neutrofilelor, funcțional active. Printre limfocite 50-70% sunt cele T și 23-25% – cele B cu mIgA. Macrofagele sunt capabile de fagocitoza bacteriilor, de secreția lizozimului, lactoferinei, componentelor C. Limfocitele proliferază la stimularea cu PPD, Ag virionului rujeolei, dar mai slab reacționează cu PHA și ConA, comparativ cu cele sangvine.

Laptele mamar conține toate clasele de Ig. În colostru acestea constituie 0,1 mg/ml IgM, 0,05 mg/ml IgG și 15-40 mg/ml de sIgA, concentrația ultimei reducându-se până la 1 mg/ml în câteva zile. Printre Ig sunt Ac anti-E. coli, anti-stafilococi, anti-pneumococi, anti-salmonele, anti-streptococi, anti-shigele, anti-C. difterie, anti-tetanos etc. IgA secretorie interacționează cu streptococii, virionii poliomielitei, gripei etc., asigurând imunitatea locală a mucoasei intestinului: opsonizează microbii, blochează fixarea lor pe epiteliu, contribuind la eliminarea din organism.

Leucocitele și Ac laptelui matern asigură imunitatea pasivă a nou-născutului în perioada timpurie, prioritar la infecțiile intestinale. Laptele conține și alți factori bactericizi (lactoferină, lizozimul, C și citokine).

Citokinele laptelui mamar induc formarea structurilor SI al mucoasei intestinale etc., asigurând astfel imunitatea locală. Rația de alimentare artificială practic creează imunodeficiență secundară la copil, deseori se manifestă prin infecții intestinale. Nou-născuții de la mamele cu PPD pozitive pot manifesta reacții pozitive la tuberculină.

Dezvoltarea sistemului imun la copii

Maturarea SI continuă pe parcursul mai multor ani. Limfocitoza relativă și absolută aparentă în prima lună se menține până la 5-6 ani, posibil datorită majorării activității și masei timice cu păstrarea coraportului obișnuit al limfocitelor T și B. În timus are loc maturizarea limfocitelor T cu receptor TCRαβ, care colonizează organele limfoide periferice. În cazul infecției în ganglionii limfatici, în amigdale se constată hiperplazia, de aceea limfoadenopatia la copii este frecvent înregistrată. La vârsta de 1-2 ani, copilul primește multe vaccinuri care induc imunomodulații tranzitorii și persistente. În această perioadă, sunt posibile manifestările unor imunodeficiențe genetice mixte (sindromul Lui-Barr etc.). Limfocitoza este predestinată pentru compensarea verigilor absente sau incomplet manifeste ale SI, pentru realizarea imunității naturale și adaptive. Copiii sunt foarte sensibili la agenții infecțiilor virale respiratorii, bacteria hemofilă etc. La vârsta de 4-6 ani, indicii limfocitelor și granulocitelor se echilibrează, având și valori apropiate celor adulți. La 12-15 ani se constată scăderea masei timusului. Coraportul verigilor imunității celulare și umorale se stabilizează.

Concentrațiile serice ale Ig variază în cadru larg și sunt datorate, într-o anumită măsură, vaccinărilor și revaccinărilor. După vaccinarea primară predomină anticorpii IgM cu creșterea concentrației lor. Răspunsul imun manifest prin sinteza de Ac IgM nu este însoțit de formarea memoriei imunologice. Anume așa situație se observă la vaccinarea contra tetanosului, difteriei, rujeolei, poliomielitei și numai revaccinarea asigură apariția Ac IgG și memoriei imunologice. Dar dacă au rămas prezenți Ac de origine maternă, răspunsul imun la Ag vaccinal poate să fie absent datorită neutralizării ultimului. În această perioadă este majoră sensibilitatea la virionii influenței, parainfluenței, adenovirionilor, virusul respirator sincițial; sunt posibile manifestările imunodeficienței umorale genetice.

Copiii primelor luni de viață dispun de cantități mici de IgA (sau ea absentează), situația fiind compensată în cazul alimentării naturale. Nivelul IgA atinge valorile maturului la 2-4 ani. Concentrația subclaselor IgG atinge valorile adulților în diferite perioade: IgG1 și IgG4 la 8 ani, IgG3 – la 10 și IgG2 – la 12 ani de viață. Deficitul IgG2 și IgG4 în perioada precoce sunt cauzele sensibilității crescute a copiilor la pneumococi, meningococi, bacilul hemofilic. Numai la 7-8 ani sau chiar și la 12 ani, nivelul de Ig se apropie de valorile adulților, iar la 14-18 ani chiar pot fi depășite concentrațiile standard.

Sistemul imun al adulților și al persoanelor de vârstă înaintată

Interacțiunea SI cu agenții patogeni ai mediului ambiant continuă în decursul întregii vieți. Antigenii pot pătrunde în organism prin piele sau mucoase, unde se confruntă cu structurile limfoepiteliale (amigdalele, plăcile Peyer, BALT, SALT etc.), se leagă cu receptorii săi, iar ulterior ajung în ganglionii limfatici unde și se dezvoltă răspunsul imun.

Splina este organul principal în asanarea sângelui de agenții patogeni (macrofage, celule dendritice etc.).

Receptorii celulelor imunității congenitale (macrofagele, celulele dendritice, $\gamma\delta$, limfocitele B1) sunt principali în interacțiunea cu patogenii la care sunt absenți Ac, limfocitele imune aparente după vaccinare sau după contactul prealabil cu Ag.

Multiplele contacte de acest ordin conduc la apariția multor clone de memorie celulară T, B – particularitate de bază și în perioada matură. Prezența lor determină răspunsul imun secundar. Pe de altă parte, apariția acestor clone poate favoriza și hipersensibilitatea la agenții infecțioși și neinfecțioși.

Modulațiile imune induse de factorii ecologici, profesionali, alimentari apreciază dezvoltarea patologiei imune la indivizii cu predispoziție genetică: iminodeficiențe, maladii autoimune, alergice, limfoproliferative. La adulți se înregistrează imunodeficiențele secundare cu manifestări clinice ale infecțiilor recidivante și cronice, provocate de virusuri și microorganismele convențional patogene cu afectarea prioritară a mucoaselor nasului, bronhiilor, ochiului, tractului gastrointestinal etc. În aceste cazuri, de regulă, se înregistrează insuficiența factorilor locali ai imunității congenitale, sIgA etc.

Pe parcursul vieții, SI suportă modificări structurale și modulații ale activității fiziologice ce conduc la variații esențiale ale indicilor cantitativi și funcționali ai statusului imun. Totalitatea acestor indici apreciază starea statusului imun care se utilizează în diagnosticul imunologic al multor maladii.

Perturbările de vârstă ale SI se referă atât la organele centrale și periferice, cât și la populațiile limfocitare, Ig, citokine, celule ajutătoare etc.

Pe fundalul dezvoltării glandelor sexuale și al creșterii nivelului de hormoni secretați are loc involuția timică. Se consideră că timusul rudimentar la adulți asigură funcția completă a SI datorită circulației hormonilor timici în torentul sangvin. Însă în condiții nocive crește probabilitatea de apariție a imunodeficiențelor.

Modulațiile imune de vârstă constituie un proces determinat genetic, însoțit de modificarea tuturor verigilor SI. Acțiunea factorilor mediului ambiant contribuie la diminuarea mecanismelor reglatoare și la apariția mutațiilor cu dezvoltarea reacțiilor autoimune și a tumorilor. Se observă insuficiența cantitativă și

funcțională a precursorilor limfocitelor T și B, componentelor subpopulațiilor limfocitare.

Îmbătrânirea va influența modificările sistemului imun T. Nivelul limfocitelor T în sânge este variabil, dar are tendință de scădere. Dereglări esențiale se constată în spectrul subpopulațiilor limfocitelor T: în sânge apar celule CD4⁺CD8⁺ (dublu pozitive), scade coraportul CD4/CD8, absentază molecula costimulatoare CD28 și markerii de activare CD69, CD25. Activitatea funcțională a limfocitelor este modificată: este inhibat răspunsul imun la mitogeni (PHA, ConA) și Ag, funcția helperilor este scăzută și mai puțin cea supresoare, posibil, din cauza involuției timusului și interrelațiilor neuro-endocrino-timice. La vârstă înaintată crește sensibilitatea limfocitelor T CD4⁺ și CD8⁺ la apoptoza indusă de citokine (TNF- α) și alți factori. Scade expresia moleculelor costimulatoare CD28, care participă la activarea și proliferarea celulelor T, intensificarea secreției de IL-2, TNF- α , IFN- γ și a altor citokine. Îmbătrânirea celulelor T este însoțită de scăderea transcripției genei CD28, de micșorarea cantității CD4 etc. Aceasta conduce la scăderea răspunsului imun la virusuri și intensificarea lui la autoantigeni.

Cantitatea absolută de celule B circulante cu vârsta se micșorează, mutabilitatea genelor V scade. Concomitent se mărește numărul celulelor B cu memorie. Celulele IgD⁻CD27⁻ nu secretă Ac, pe când cele care posedă receptorii de membrană IgD⁺IgM⁺CD27⁺ secretă Ac, dar cu vârsta numărul lor scade. Sinteza IgG la Ag noi scade, acestea având și o afinitate joasă. Nivelul Ac naturali este scăzut, apar autoanticorpi, limfocitotoxine. În sânge nivelul IgA poate fi majorat, pe când în secrete sIgA este scăzut. De aceea la bătrâni este crescută sensibilitatea la infecțiile pulmonare. Nivelul crescut de TNF- α și IL-6 este un criteriu de prognostic al patologiei îmbătrânirii. Referitor la modificările neutrofilelor, macrofagelor etc., datele surselor literare sunt contradictorii (au fost constatate atât inhibiția lor cantitativă și funcțională, cât și niveluri normale). Numărul celulelor NK mai frecvent este majorat, dar activitatea lor citotoxică poate fi scăzută. Secreția citokinelor este normală sau modificată (scăzută sau majorată).

Unele modificări la vârsta înaintată pot fi consecința maladiilor precedente și a stimulației antigenice. Ele pot reprezenta o imunodeficiență particulară sau reflectă etapa ontogenică pentru care sunt caracteristice aceste modificări imune, ca o consecință a reacțiilor compensatorii.

COMPARTIMENTUL II.

EVALUAREA IMUNOLOGICĂ ȘI ALERGOLOGICĂ A SISTEMULUI IMUN. TESTAREA STATUSULUI IMUN ÎN PATOLOGIA IMUNĂ

Patologia imună include maladiile la baza cărora stau dereglările structurale și funcționale ale sistemului imun (SI), iar diagnosticul lor necesită caracteristica cantitativă și funcțională a indicilor SI, adică aprecierea statusului imun.

Indicații pentru diagnosticul imunologic al patologiei imune sunt:

- datele clinice prealabile despre prezența imunodeficienței primare sau secundare;
- maladiile alergice;
- maladiile limfoproliferative;
- tumorile;
- dereglarea reproducerii;
- maladiile autoimune;
- selecția donatorului, monitoringul reacțiilor posttransplant;
- aprecierea eficacității și monitoringul terapiei imunodepresive și imunocorrectoare;
- screening-ul diferitor grupe de populații pentru depistarea patologiei imune.

Controlul secvențial al pacienților cu patologie imună se bazează pe aceleași principii și abordări ca și în alte maladii.

Prima etapă a diagnosticului include anamneza și aprecierea acuzelor pacientului, care, în funcție de tipul patologiei imune, pot fi esențial diverse. În baza acestor date, deja la etapa primară, în majoritatea cazurilor pot fi apreciate direcția și cercetarea ulterioară a pacientului (fig. II.1). La cercetarea anamnezei este necesar de a lua în considerare tipul imunopatologiei (imunodeficiență, alergie, conflictul imunologic dintre mamă și făt, proces autoimun etc.). În imunodeficiențe, de regulă, în anamneză, se constată infecții recidivante, iar caracterul și localizarea lor pot indica tipul deficitului. Procesul alergologic are particularitățile lui și uneori numai în baza anamnezei poate fi constatat diagnosticul corect. În maladiile autoimune, anamneza are semne caracteristice ce permit diferențierea lor cu alte tipuri de patologie. Procesele limfoproliferative și tumorale, de asemenea, posedă criterii specifice. Astfel, fiecare tip de imunopatologie are caractere specifice de grup, care permit deja în baza anamnezei de a forma o impresie despre caracterul maladiei.

Etapă a doua de diagnostic al imunopatologiei constituie examinarea clinică care include datele obiective despre starea pacientului. Astfel, sunt importante înfățișarea bolnavului, masa corporală, starea conștiinței etc. Particularitățile pielii și mucoaselor nasului, cavității bucale, ochilor permit concluzionarea despre alterarea lor în

procesul patologic. În maladiile alergice, criteriile importante sunt erupțiile, pruritul cutanat, în imunodeficiențe – procesele purulente, afecțiunile fungice etc.

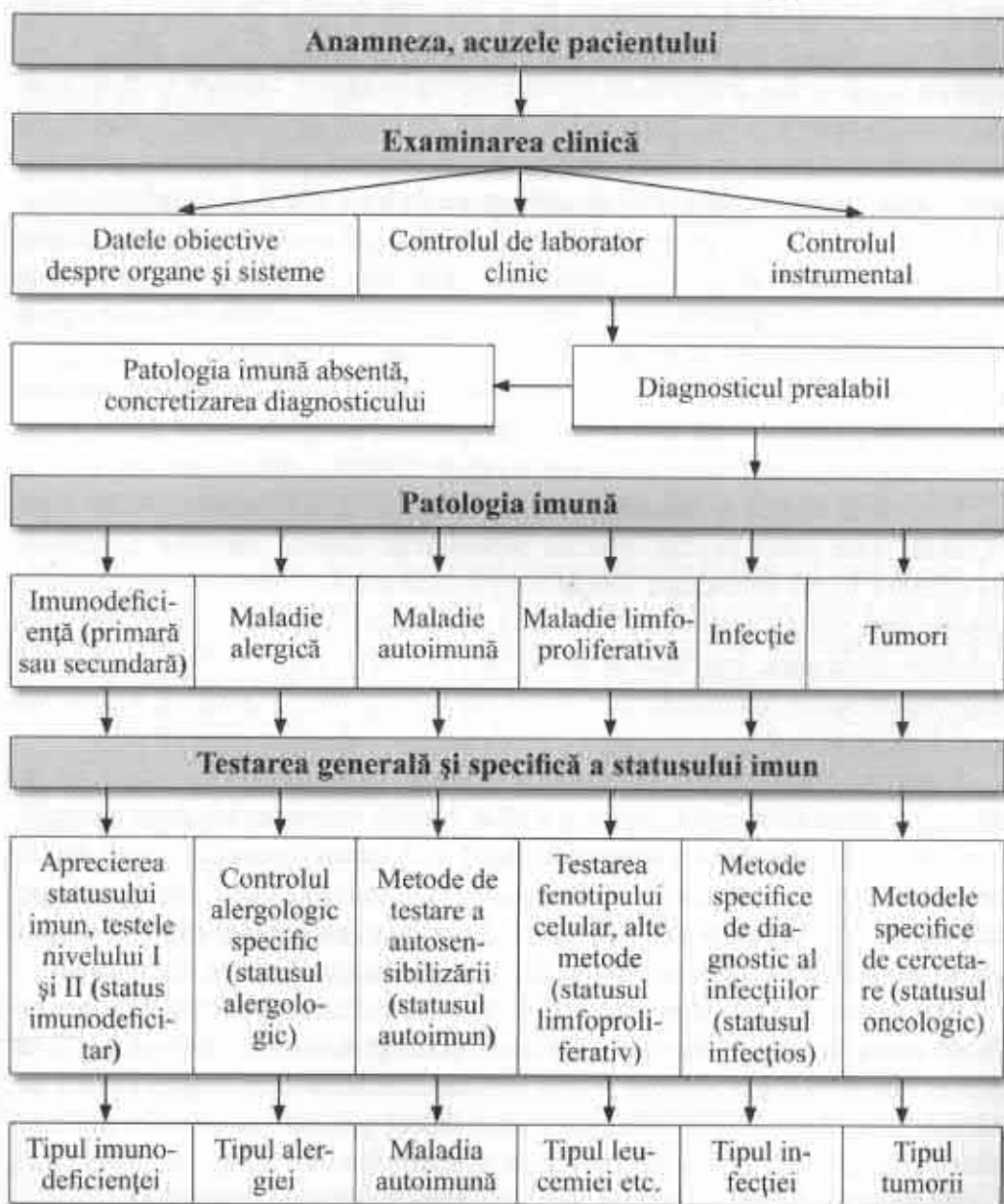


Figura II.1. Etapele secvențiale de diagnostic ale patologiei imune

O importanță majoră are studiul stării organelor imune (ganglionii limfatici, amigdalele, timusul, splina, măduva osoasă, sângele). La controlul primar al organelor și țesuturilor limfoide poate fi constatată hiperplazia sau hipoplazia (aplazia) lor.

Limfadenopatia este un criteriu important al imunopatologiei, cu toate că poate fi constatată în diverse maladii (limfoproliferative, alergice, infecțioase specifice și nespecifice, autoimune etc.). Au importanță consistența, mobilitatea ganglionilor, gradul de majorare, alterarea izolată sau de grup. Biopsia sau puncția ganglionilor limfatici cu studiul particularităților celulare permite concluzionarea despre geneza procesului. De ex., în imunodeficiențele T zonele paracorticale sunt pustii în celule, iar hiperplazia acestora sau a centrelor germinative indică, respectiv, despre un răspuns imun de tip T sau B. Hiperplazia amigdalelor, de regulă, este o consecință a procesului inflamator cronic. Cercetarea citologică și bacteriologică a conținutului lacunelor și exsudatului, a biopsatului amigdalelor sunt importante în stabilirea diagnosticului veridic. Splenomegalia se constată în maladiile purulent-septice, autoimune și tumorale.

În funcție de acuzele bolnavului, controlul organelor și sistemelor deseori are importanță decisivă. Maladiile cronice nespecifice ale pulmonilor deseori sunt consecința deficitului factorilor imuni locali.

Cercetarea clinică de laborator (analiza sângelui, urinei, maselor fecale) a pacientului poate indica geneza maladii. Modificarea formulei sangvine, coraportului diferitor forme leucocitare denotă alergii (eozinofilie), infecții (leucocitoză cu deviere spre stânga, majorarea VSH etc.) sau alte maladii (monocitoză, prezența celulelor plasmatiche, modificarea morfologiei celulelor etc.). Limfopenia poate fi depistată în stările imunodeficitare, în maladiile autoimune și alergice. Limfocitoza se întâlnește în diferite patologii (limfocitemii, inflamația cronică etc.).

Controlul clinic general, de regulă, se finisează cu efectuarea investigațiilor radiologice, ecografice, endoscopice și a altor metode instrumentale după indicație, care contribuie la stabilirea diagnosticului. Astfel, pentru imunodeficiența dependentă de hipoplazia sau aplazia timusului este important examenul roentgenologic. După examenul clinic de laborator și instrumental al pacientului este stabilit diagnosticul prealabil care se concretizează prin utilizarea metodelor suplimentare.

Statusul imun este caracterizat de un complex de indici informativi care reflectă starea diferitor verigi ale sistemului imun la momentul controlului la un proces sau o patologie concretă. El reflectă caracteristica imunologică a acestora. Metodele de diagnostic imunologic includ testări generale *nespecifice* ale diferitor verigi ale SI (leucocite, limfocite, granulocite, macrofage, complement), pentru detecția defectului, și *specifice* (anticorpi, limfocite imune, Ag).

Administrarea metodelor speciale de control imunologic depinde de caracterul patologiei, de tipul ei și de datele obținute în prealabil. Aceasta este a treia etapă de control al pacientului. Unele maladii sunt dependente de participarea în procesul patologic a antigenilor sau alergenilor (antigen-specfici), iar alte imunopatologii pot fi în acest sens antigen-nespecifice. Astfel, în maladiile autoimune stimulii procesului

imunopatologic sunt autoantigenii țesuturilor și organelor. Alergozele sunt provocate de diverși alergeni infecțioși sau neinfecțioși, la eliminarea cărora apare remisiunea. În imunopatologia reproducerii, rolul important le revine antigenilor fetalii, care stimulează răspunsul imun matern, sau antigenilor spermali, în sterilitate. Reacțiile posttransplant se dezvoltă la aloantigenii donatorului. La baza imunopatologiei tumorale stă modulația antigenică a celulelor tumorale care induc un răspuns imun pervertit. În infecțiile sistemului imun (SIDA etc.) antigenii virali alterează celulele imunocompetente. Toate aceste forme de imunopatologii se caracterizează prin prezența antigenilor care induc boala. Depistarea acestor antigeni și/sau a anticorpilor față de aceștia stă la baza diagnosticului. De regulă, în aceste forme malade rolul prioritar le revine metodelor specifice de diagnostic imunologic și alergologic care se bazează pe depistarea anticorpilor și limfocitelor T sensibilizate.

O altă situație se observă în imunodeficiențe și în bolile limfoproliferative. La baza imunodeficiențelor stă inhibiția sau dezvoltarea incompletă a unei verigi a sistemului imun, fapt ce explică apărarea insuficientă și dezvoltarea infecțiilor induse de diferite microorganisme convențional patogene. În diverse forme de imunodeficiență pot fi întâlniți agenți larg răspândiți, care, de asemenea, diferă. Diagnosticul se bazează pe testarea statusului imun al diferitor verigi cu aprecierea indicilor respectivi pentru depistarea verigii defecte. Majoritatea indicilor nespecifici (cantitatea limfocitelor T și B, fagocitoza etc.) ai sistemului imun au un rol decisiv doar pentru aprecierea imunodeficitului, pe când pentru diagnosticul altor imunopatologii este importantă aprecierea reactivității imunologice specifice: anticorpilor, celulelor sensibilizate etc.

În funcție de situația concretă, se administrează testarea statusului imun (cu aprecierea limfocitelor T, B, subpopulațiilor și mediatorilor lor, imunoglobulinelor etc.), de asemenea, starea sistemului mononuclear-fagocitar, factorilor complementului etc.

Maladiile limfoproliferative nu sunt dependente esențial de agenții inductori, deși unele dintre ele sunt induse de virioni. Proliferarea ulterioară a clonelor celulare tumorale deja nu mai depinde de inductor. Un criteriu important al acestor boli este fenotipul celulelor proliferative, inclusiv prezența antigenilor caracteristici de diferențiere. Caracteristica fenotipului este scopul diagnosticului.

Așadar, principiile de diagnostic al bolilor antigen-specifice diferă esențial de cel al bolilor care n-au legătură directă cu antigenii concreți.

Statusul imun general al organismului, de regulă, constituie indicii sanguini, dar informația importantă poate fi obținută la cercetarea biopsiilor țesutului limfoid (ganglionii limfatici, amigdalele etc.). Indicii imunității locale în focarul de localizare a procesului patologic permit identificarea mai veridică a dereglărilor imune concrete ale sistemului imun.

Diferențierea statusului imun în diverse tipuri permite utilizarea unui complex de metode optime în cercetare. Metode de diagnostic al imunodeficiențelor, în care sunt absenți antigenii concreți, sunt testele de screening, și nu reacțiile

antigen-specifice utilizate primar, când se presupune participarea antigenilor concreți în geneza procesului patologic. În cazurile de combinări ale diferitor forme patologice și în prezența criteriilor diferitor variante patologice se indică metodele care caracterizează fiecare tip (tab. II.1).

Tabelul II.1

Interdependența tipurilor de imunopatologie, variantelor statusului imun și metodelor de diagnostic imunologic

Tipul imunopatologiei	Varianta statusului imun	Caracterele principale	Criterii imunologice de laborator etc.
Statusul antigen-specific			
Maladiile alergice	Alergic	Dependența de exoalergeni, remisiunea la eliminarea lor	Depistarea anticorpilor alergen-specificei, celulelor sensibilizate T, teste de provocare alergen-specifice <i>in vivo</i>
Maladiile autoimune	Autoimun	Alterarea specifică a organelor sau sistemică, autoagresia sistemului imun	Depistarea autoanticorpilor și celulelor sensibilizate T la autoantigeni
Imunopatologia reproducției	Reproductiv	Dereglaarea imună dintre mamă-făt, sterilitatea	Depistarea anticorpilor și limfocitelor sensibilizate T la antigenii respectivi
Reacțiile posttransplant	Posttransplant	Gradul incompatibilității după antigenii sistemului HLA	Depistarea izoanticorpilor și celulelor sensibilizate T la aloantigenii donatorului
Imunopatologia tumorilor	Oncologic	Dovada prezenței tumorilor	Antigenii tumorali circulanți în sânge, depistarea anticorpilor și limfocitelor T antitumorale
Infecțiile	Infecțios	Datele epidemiologice și clinice despre infecție	Depistarea agentului din celule alterate, alte substraturi biologice, depistarea Ac și sensibilizării celulare la Ag infecțioși
Statusul antigen-nespecific			
Imunodeficiențele primare și secundare	Imunodeficitar	Criterii de dereglare a statusului imun, maladii purulente septice recidivante, poliinfecție	Depistarea defectului SI prin cercetarea statusului imun
Maladiile limfoproliferative	Limfoproliferativ	Criterii ale maladiilor limfoproliferative	Aprecierea fenotipului celulelor proliferative; produselor (lanțurile Ig) sintetizate de ele

În funcție de scopul cercetării (epidemiologic, diagnosticul maladiei concrete, aprecierea verigii alterate a SI sau controlul eficacității terapiei administrate), se utilizează diverse scheme de testare a statusului imun. Însă cercetarea pacientului întotdeauna debutează cu caracteristica stării clinice a pacientului și ulterior, cu administrarea investigațiilor de laborator.

Principiul de bază în testarea statusului imun în imunodeficiențe include utilizarea secvențială primară a metodelor informative mai simple, iar ulterior a celor mai sofisticate, care vor elucida mecanismele concrete ale imunopatologiei apreciate la prima etapă de cercetare.

Toate metodele de diagnostic imunologic se împart în două grupe:

- metode nespecifice generale, care caracterizează starea diferitor verigi ale sistemului imun – limfocite, granulocite, macrofage, complementul. De regulă, ele se utilizează pentru identificarea defectului SI, adică în imunodeficiențe (nivelul I);

- metode specifice, care permit depistarea anticorpilor, limfocitelor imune, antigenilor în organismul uman sau a antigenilor agentului inductor în mediul ambiant, utilizate în diagnosticul infecțiilor, alergiei, maladiilor autoimune etc. (nivelul II).

Pentru aprecierea statusului imun se utilizează testarea indicilor specifici și nespecifici (cantitativi și funcționali).

Capitolul 7. EVALUAREA IMUNITĂȚII CONGENITALE

Hemoleucograma completă cu formula leucocitară este prima evaluare realizată în diagnosticul de laborator de screening al pacientului. Pentru standardizarea procedurii și excluderea influenței diferiților factori, care pot determina indicii hemoleucogramei (alimentarea, șarja fizică, bioritmul etc.), recoltarea sângelui pentru cercetare se va realiza dimineața pe foame. Modificarea formulei sangvine frecvent indică caracterul reacției inflamatoare. Neutrofilia cu deviere în stânga, în faza acută a procesului, este observată în infecțiile purulente aparente pe fundalul imunodeficienței. Neutropenia deseori este însoțită de procese identice. Limfocitoza și monocitoza se înregistrează în infecțiile virale, afecțiunile cu tropism intracelular al patogenului. Limfopenia prioritar din contul LT caracterizează, de regulă, imunodeficiențele respective. Eozinofilia este caracteristică alergozelor, invaziilor parazitare. Indicii sangvini se modifică în dinamica maladiilor, iar normalizarea lor este caracteristică însănătoșirii.

Polimorfonuclearele (PMN) sunt componente importante ale sângelui și au un rol central în inflamația acută. Capacitatea PMN de a răspunde la o agresiune este rezultatul mai multor fenomene: chemotaxia în focarul infecției, aderența, recunoașterea și fagocitoza agentului infecțios, creșterea metabolismului și distrugerea agentului infecțios fagocitat. Reducerea PMN sub 1500/ μ l determină o creștere a susceptibilității la infecție. Neutropenia sau deficitul funcțional al PMN conduce la morbiditate crescută. În evaluarea sistemului granulocitar se utilizează: aprecierea numărului de leucocite în sânge, coraportul neutrofilelor, bazofilelor, eozinofilelor, monocitelor și aprecierea activității fagocitare (numărul și indicele fagocitar). Pentru testarea ultimelor valori la o picătură de sânge sau suspensie de leucocite se adaugă suspensia de stafilococi (cultură de 24 de ore) sau altele. Se prepară 3 probe după incubarea la 37°C pe parcursul a 45, 60 și 90 de minute. Frotiurile preparate se usucă, se fixează cu etanol și se colorează cu azur-eozin după Romanovski. Numărul fagocitar constituie media microorganismelor fagocitate de o celulă (norma 6-12). Indicele fagocitar este cantitatea fagocitelor care au participat în fagocitoză (norma 60-80%). Aprecierea acestor indici în diferite perioade de timp permite evaluarea dinamicii fagocitozei. În normă, peste 90 min. indicele fagocitar trebuie să fie mai mic, comparativ cu cel la 45 și 60 min. datorită digestiei microbilor. La dereglarea digerației, acest indice nu se va modifica.

Digestia microbiană poate fi apreciată și prin cultivarea lizatelor leucocitare (după incubarea cu microorganisme) pe mediile nutritive solide, cu enumerarea coloniilor aparente.

Digerarea candidelor (killing) se apreciază după cantitatea procentuală a celulelor moarte după 30 și 60 min. de incubație. Se numără cantitatea celulelor colorate cu albastru de metilen la microscop (în normă 23-30%).

Proba Kavețchi *in vivo* cu utilizarea strict intradermică a 0,1 ml soluție de albastru de metilen, evaluarea papulei la inoculare și după 24 de ore cu calcularea indicelui: diametrul papulei peste 24 de ore / diametrul papulei la inoculare (norma 9-16), care reflectă intensitatea fagocitară a sistemului polimorfonuclear.

După recunoașterea și ingestia unui material străin, la nivelul PMN au loc modificări ale metabolismului care conduc la generarea de specii reactive ale oxigenului (metabolismul respirator), care, împreună cu mecanismele non-oxidative, vor determina omorârea agentului infecțios. Importanța metabolismului respirator este evidențiată de morbiditatea și mortalitatea în boala cronică granulomatoasă, asociată defectelor acestuia. Activitatea metabolică poate fi evaluată prin testul de reducere a colorantului nitroblue tetrazoliu (NBT), citometrie de flux și chemiluminiscentă.

Testul NBT implică preluarea NBT de către celule, furnizarea unui stimul de activare și monitorizarea (fotometrică sau microscopică) în vederea obiectivizării reducerii colorantului, care devine astfel albastru. În normă se colorează 15-18% din neutrofile, iar în infecții numărul lor crește până la 40% și mai mult.

Indicii fagocitozei scad în imunodeficiențe și cresc la evoluția favorabilă a infecțiilor.

Citometria de flux se bazează pe reducerea colorantului dihidrorodamina – DHR. Acesta este preluat de PMN, fiind nefluorescent în celulele în repaus, iar când este indus metabolismul respirator, colorantul este redus și devine fluorescent, putând fi detectat de citometru.

Ambele metode pot detecta atât pacienții simptomatici cu boală granulomatoasă cronică, cât și purtătorii asimptomatici.

Fenotiparea prin citometrie de flux poate fi utilizată pentru determinarea nivelului bazal de expresie al integrinelor, iar cu o stimulare adecvată se poate evalua și capacitatea lor de a-și crește expresia la suprafața celulei. Dintre diversele molecule de adeziune de la suprafața PMN, deficitul de $\beta 2$ -integrine (CD18/CD11a-c) este cel mai important, determinând deficite ale adeziunii leucocitare.

Chemiluminiscenta este generarea de lumină prin interacțiunea speciilor reactive ale oxigenului cu organismul ingerat. Prin suplimentarea de agenți de intensificare, lumina generată poate fi detectată de un contor de scintilație. Lumina eliberată este proporțională cu activitatea metabolismului respirator al PMN, fiind redusă la pacienții cu boală granulomatoasă cronică și la purtătorii asimptomatici. Această metodă are o sensibilitate mai mare decât testul NBT.

Printre alte metode utilizate în evaluarea sistemului granolocitar pot fi: aprecierea Ag de diferențiere, activare și adeziune (CD14, CD11, CD18, HLA-DR etc.) cu utilizarea anticorpilor monoclonali, aprecierea receptorilor la compo-

mentul complementului C3, la imunoglobuline etc., aprecierea migrației spontane și direcționate (chemotoxie), capacității secretorii de citokine (IL-1, TNF- α) și nivelul lor în sânge.

Celulele NK au o importanță majoră în sistemul imun congenital datorită capacității de liză a celulelor infectate, celor tumorale. Evaluarea numărului de celule NK se efectuează prin citometrie în flux cu detecția Ag de suprafață CD56 și CD16 care sunt caracteristici lor. Evaluarea funcției celulelor NK se realizează prin abilitatea celulelor mononucleare periferice de a induce liza celulelor tumorale sensibile la acțiunea killerilor naturali într-un test cu eliberarea de crom. Linia celulară K562 este o linie eritroleucemică, sensibilă la acțiunea celulelor NK. Se vor utiliza celulele K562 marcate cu ^{51}Cr radioactiv, care vor fi incubate cu celulele mononucleare periferice izolate din sângele pacientului. Celulele NK funcționale vor liza celulele marcate cu ^{51}Cr , eliberând în supernatant cromul marcat. Cantitatea de ^{51}Cr eliberată este proporțională cu activitatea litică a celulelor NK.

Caracteristica factorilor umorali ai imunității congenitale. Factorii sistemului complementului, lizinele β , interferonii, proteina de legare a mananei, defensinele, proteinele fazei acute inflamatorii (PCR, fibrinogenul, amiloidul seric, macroglobulina α_2) constituie prima linie de apărare de patogene, iar insuficiența lor poate fi cauza infecției.

Complementul (C) este o componentă majoră a imunității congenitale care cooperează și cu sistemul imun. Scăderea nivelului de complement poate fi observată ca stare secundară în maladiile infecțioase ale organelor ORL și bronhiilor. Infecția recidivantă a căilor respiratorii de etiologie pneumococică este dependentă de deficitul componentei C3 a complementului.

Evaluarea funcției complementului poate fi realizată prin utilizarea a două teste de bază: CH50 – complementul hemolitic total (măsoară funcția complementului pe cale clasică) și AH50 (măsoară funcția complementului pe cale alternativă).

Aprecierea activității hemolitice a complementului în reacția de hemoliză cu utilizarea sistemului hemolitic (eritrocite de berbec prelucrate cu ser hemolitic) este bazată pe capacitatea produselor de activare a lui de a induce liza eritrocitelor acoperite cu anticorpi. După gradul de hemoliză se apreciază activitatea hemolitică a complementului. În calitate de unitate de măsură se utilizează unitatea hemolitică CH50 – cantitatea de complement care induce liza a 50% din eritrocite (suspensie de 3%) sensibilizate cu anticorpi la $t\ 37^\circ\text{C}$ timp de 45 min. Se vor titra CH50 unități hemolitice într-un volum concret de ser. Pentru aceasta la diferite doze de ser se adăugă cantitatea standard de eritrocite sensibilizate. Ulterior, utilizând scala de liză a eritrocitelor cu apă distilată, se apreciază cantitatea de unități CH50.

Gradul de hemoliză la titrarea complementului poate fi apreciat fotometric (spectrofotometru, fotocolorimetru, nefelometru) sau vizual prin compararea intensității hemolizei în tuburile cercetate cu scala eritrocitelor lizate.

La pacienții cu un defect total al unui component, hemoliza este absentă, în timp ce la cei cu un defect parțial hemoliza este redusă.

Pentru a confirma defectul unei componente a C, trebuie utilizată o metodă, de dozare a componentelor individuale. *Nefelometria*, similară cu cea utilizată pentru dozarea Ig, este metoda de măsurare a concentrației individuale a componentelor C. În cazul suspiciunii unui deficit funcțional al componentelor C, se pot aprecia produsele de activare ale lui: C4a, C3a, C5a etc. Prezența acestora sugerează activitatea complementului funcțional. Cantitatea componentelor complementului poate fi apreciată prin metoda ELISA. Serul sangvin în normă conține (în mg/l): C1q-190, C1s-120, C2-30, C4-430, C3-1300, C5-75, C6-60, C7-55, C8-60, C9-160, properdin-25, factorul B-240, inhibitorul C1-180.

În biotatul tisular se depistează depunerile de complement în complexe imune cu ajutorul Ac anti-C1q marcați cu fluoresceină. Deficitele componentelor C sunt rare, iar tabloul clinic este important în stabilirea diagnosticului corect.

Caracteristica sistemului trombocitar include:

- enumerarea cantității absolute de trombocite în sânge (180-300 mii în 1 mm^3);
- aprecierea capacității de agregare sub influența factorilor nespecifici (adrenalină) și antigenilor (aprecierea anticorpilor absorbiți pe trombocite);
- testul trombocitopenic, ce se apreciază după inocularea alergenilor în organismul sensibilizat cu monitorizarea numărului de trombocite (minorizarea lui în caz de alergie);
- depistarea mediatorilor eliberați de trombocite;
- depistarea autoanticorpilor antitrombocitari în reacția de aglutinare și imuno-fluorescență în maladiile autoimune.

Aprecierea statusului citokinic. Citokinele sunt produse ale celulelor activate, care realizează reglarea endogenă a interacțiunilor intercelulare ale tuturor verigilor SI, inflamației și interacțiunilor intersistemice, fiind testate prin metoda ELISA.

După activitatea lor biologică, toate citokinele se împart în 3 grupe:

- *reglatoare a proceselor inflamatoare:* IL-8, PF-4 (factorul trombocitar), MIP-1 α (proteina macrofagală inflamatoare), MCP-1 (factorul chemotactic macrofagal), PD-GF (factorul trombocitar de creștere), IL-1, IL-1ra (analogul reactiv al IL-1), IL-6, TNF- α , CSF (G, M, GM), TGF- β (factorul de creștere transformant β);
- *reglatoare a răspunsului imun antigen-specific:* IL-2, IFN- γ , IL-12, TGF- β , IL-10;
- *reglatoare a răspunsului imun antigen-specific umoral:* IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, IL-14, IFN- γ , TGF- β .

IL-1 prezintă un complex din 3 molecule: *IL-1 α* , *IL-1 β* , *IL-1 Ra* (antagonistul receptorului *IL-1*) și doi receptori *IL-1RI* și *IL-1RII*. Deține un rol central în reacțiile inflamatoare, în răspunsul imun la infecțiile bacteriene și alterările tisulare induse de iradierea ultravioletă. Stimulează producția ACTH, prostaglandinelor, intensifică secreția de *IL-2* de către limfocitele T, proliferarea limfocitelor B, sinteza de anticorpi și expresia receptorului imunoglobulinic membranar. Plasma și serul sangvin în normă conțin 0,5 pg/ml de *IL-1*, supernatantul monocitelor activate – 1-10 pg/ml. Majorarea nivelului de *IL-1* până la 200 pg/ml se observă în diferite maladii inflamatoare și autoimune, inclusiv șocul septic, alterarea inflamatoare a intestinului, artrita reumatoidă, diabetul de tip 1.

IL-2 participă în diferențierea și proliferarea limfocitelor T, majorează activitatea litică a celulelor NK, de asemenea, induce activarea celulelor LAK (killerii limfokinactivați); intensifică secreția *IFN- γ* de către limfocitele T. Inhibiția funcțiilor celulelor imunocompetente poate fi dependentă și de scăderea expresiei receptorului la *IL-2* sau evidențierii numai a receptorilor *IL-2* de afinitate joasă. Majorarea nivelului receptorului *IL-2* solubil (*P 55*) este un criteriu diagnostic al hiperproliferării limfocitelor (leucemiile, maladiile autoimune, SIDA etc.). La bolnavii cu SIDA este scăzută capacitatea de expresie a receptorilor pentru *IL-2* (*IL-2 R*) și activitatea celulelor NK, iar în stadiile tardive producția *IL-2* este absentă. Sinteza *IL-2* este scăzută la pacienții care au suportat intervenții chirurgicale majore, arsuri și infecții severe, la nou-născuții prematuri, la îmbătrânire, în multe maladii infecțioase, într-un șir de hepatite, în limfogranulomatoză, în sindromul Sézary și la bolnavii după chimio-, radio- și corticoterapie. Producția *IL-2* este majorată în limfoamele T celulare periferice. Nivelul receptorului *IL-2* solubil este majorat în leucemiile T induse de HTLV-1 (până la 100 000 Un/ml), limfomul non-Hodgkin la copii.

IL-4 este produsul celulelor Th2, induce diferențierea limfocitelor T și B, monocitelor/macrofagelor etc. Concomitent este cofactorul proliferării limfocitelor B în repaus, de asemenea, induce sinteza IgE și IgG (IgG4) în aceste celule.

IL-6 contribuie la maturarea limfocitelor B în celule producătoare de anticorpi, de inducere a proteinelor fazei acute.

TNF- α este produsul celulelor sistemului monocitar-macrofagal la acțiunea endotoxinelor bacteriene. Concentrația *TNF- α* circulant este mică (< 5 pg/ml), dar crește rapid (maximal în 90 min.) după inocularea LPS cu normalizarea pe parcursul a 4 ore. Niveluri înalte de *TNF- α* (> 300 pg/ml) se constată în șocul septicemic. Menținerea nivelurilor înalte indică posibilitatea apariției complicațiilor.

Nivelul *TNF- α* și *IL-6* este majorat în SIDA, în diverse reacții atopice. În lichidul sinovial al pacienților cu artrită reumatoid, nivelul *TNF- α* atinge 100 000 U/ml.

Infecțiile oportuniste la bolnavii cu SIDA conduc la producția suplimentară a *TNF- α* și *IL-1*, inducând proliferarea celulelor care conțin HIV.

IL-8 este produsă sub acțiunea endotoxinelor bacteriene și a citokinelor (în special, TNF și *IL-1*), induce activarea neutrofilelor, eozinofilelor, bazofilelor cu chemotactismul lor în focarul inflamator. Nivelul *IL-8* crește în maladiile inflamatoare acute și cronice și corelează cu infiltrația tisulară a neutrofilelor în artrita reumatoidă, cu sindromul disfuncției respiratorii la adulți, cu colita ulcerosă.

Interferonii (IFN) posedă activitate antivirală și imunomodulatorie. Statusul interferonic în normă include aprecierea interferonilor serici și activitatea interferonproductivă a leucocitelor. Ultima scade în infecțiile virale și în alte maladii și frecvent este cauza imunodeficienței. Nivelul interferonilor se apreciază prin utilizarea metodelor imunofermentative sau virusologice după inhibiția acțiunii citopatogene a virionului-test (virusul stomatitei veziculare etc.). Leucocitele donatorilor după stimulare elimină 32-128 Un/ml de IFN, la unii producția lor este scăzută (< 16 Un/ml).

IFN- γ posedă un spectru major de acțiuni antivirale, antitumorale, antiparazitare, de asemenea, efecte imunomodulante, inclusiv stimularea expresiei antigenilor HLA de clasele I și II. Scăderea producției de IFN- γ s-a constatat în sindromul Sézary, limfoleucemia acută, limfoamele non-Hodgkin, limfoleucemia cronică, de asemenea, în plasma pacienților cu infecție citomegalovirală severă, în maladiile sistemului nervos central, în scleroza multiplă.

Activitatea IFN- γ este de 10-300 de ori mai mare, comparativ cu activitatea IFN- α și IFN- β . La testarea statusului interferonic este necesar de a aprecia producția IFN în serul sangvin și secreția lui de către leucocite (tab. 7.1).

Tabelul 7.1

Nivelul citokinelor în normă

Citokine	Producția citokinelor de către mononucleare		Concentrația în serul sangvin
	Spontană	Indusă	
IFN- α (pg/ml)	30-50	1000-5000	0 – 50
IFN-1 β (pg/ml)	30-50	1000-5000	0 – 50
IL-2 (U/ml)	0-0,5	10-25	
IL-4 (pg/ml)	30-50	1000-5000	0 – 50
IL-6 (pg/ml)	30-50	1000-3000	0 – 50
IL-8 (pg/ml)	30-100	1000-5000	0 – 50
TNF- α (pg/ml)	30-50	500-3000	0 – 50

Testarea citokinelor în serul sangvin poate indica inflamație (în cazul cu citokinele proinflamatoare – TNF- α , IL-1 β , -6, -8) sau pătrunderea masivă a Ag (IL-1 β , -6, -8, -2, -4, IFN- α , TNF- α). Prezența producției spontane a citokinelor de către mononucleare *in vitro* poate indica o preactivare antigenică a celulelor SI.

Răspunsul *in vitro* la un inductor reflectă capacitatea limfocitelor/monocitelor de a răspunde la stimularea antigenică. Pentru aceasta la sângele proaspăt heparinizat se adaugă soluția de inductor a sintezei citokinelor (PHA pentru IL-2, IL-4, IL-6 și LPS sau preparatele care o conțin, prodighiozan etc. pentru IL-1, TNF- α , IL-8, IFN- α). Cultivarea se efectuează în incubator cu CO₂ pe parcursul a 24 de ore după ce atent se recoltează supernatantul și se cercetează prezența citokinelor.

Actualmente, seturile pentru aprecierea citokinelor dau posibilitate de a testa fracția totală și liberă a fiecărei citokine. Frația totală include aprecierea nivelului de citokine în formă nativă și recombinantă, cu măsurarea nivelului lor în prezența receptorilor, autoanticorpilor liganzi de proteine. Pentru toate seturile este comună sensibilitatea de 0,195 ng/ml pentru fracția totală și mai puțin de 1 pg/ml pentru aprecierea fracției libere cu un diapazon al standardelor de 0-200 ng/ml și durata de incubație 240 min.

Pentru corectitudinea aprecierii citokinelor prin metoda ELISA este necesară încălzirea mostrelor pentru eliberarea citokinelor de moleculele „mascante”.

Test-sistemele pe principii de concurență permit aprecierea totală a citokinelor (libere și legate). Au fost elaborate metode fluorocitometrice polifuncționale pentru aprecierea citokinelor intracelulare, expresia receptorilor la citokine și testarea cantitativă a citokinelor secretate de celulele T activate *in vitro*.

Seturile de diagnostic prin utilizarea citometriei de flux în dozarea citokinelor includ particule paramagnetice acoperite cu anticorpi pentru legarea citokinelor, anticorpi monoclonali conjugați cu PE sau CY5/PE, standarde de citokine.

Testarea citokinelor în clinică este indicată pentru concretizarea diagnosticului imunologic și pentru prognosticul terapiei imunocorectoare. În cercetările științifice, aprecierea citokinelor permite descifrarea mecanismelor de acțiune a remediilor imunomodulatoare, aprecierea variantelor evolutive ale patologiei etc.

Capitolul 8. EVALUAREA IMUNITĂȚII CELULARE

Testarea imunității celulare are o importanță majoră în diagnosticul deficitelor imune asociate cu infecții severe la nivelul tractului respirator, intestinal, al pielii etc. Infecțiile cele mai frecvente sunt induse de microorganisme cu tropism intracelular, în special virusuri, fungi, bacterii. Deficitele imunității celulare devin manifeste din primele luni de viață și pot asocia deficit de creștere. Transferul transplacentar al anticorpilor materni nu întârzie apariția manifestărilor acestor deficite.

La evaluarea imunității celulare, primar se utilizează *hemoleucograma completă cu formula leucocitară*. Conținutul total al limfocitelor la naștere constituie 20-28% cu o creștere până la 40-45% la a 5-a – a 6-a zi de viață. La vârsta de 2-3 luni, cantitatea lor atinge 55-65%, menținându-se la acest nivel până la 5-6 ani cu o scădere ulterioară; valoarea relativă a limfocitelor la copiii de vârsta 6-15 ani și la adulți constituie 22-30% (cca 1500-2500 celule/mm³). Majorarea cantitativă a limfocitelor (limfocitoza) este caracteristică pentru un șir de maladii infecțioase, de asemenea, pentru maladiile cronice, recidivante ale organelor ORL și sistemului bronhopulmonar. Limfopenia poate fi constatată în cazurile de deficit imun sever. În anumite tipuri de deficite, nivelul limfocitelor poate fi normal și necesită o analiză a subpopulațiilor limfocitare și a caracteristicilor fenotipice și funcționale ale acestora.

Separarea populațiilor celulare se realizează prin centrifugarea sângelui anticoagulat cu Ficoll-Hypaque, metodă care se bazează pe diferența de densitate dintre diverse componente ale sângelui. Substanța Ficoll are o densitate de 1,077g/l, iar după centrifugare, celulele cu densitate redusă (limfocite, monocite) vor forma un inel la interfața dintre plasmă și celelalte celule care vor sedimenta la fundul tubului. Celulele mononucleare vor fi recuperate cu o pipetă, iar prin incubarea lor într-un flacon de cultură celulară, monocitele vor adera la peretele de plastic, în timp ce limfocitele vor rămâne mobile, putând fi astfel izolate.

Limfocitele T exprimă pe suprafața lor molecule de adeziune (CD2) care interacționează cu CD58 (LFA-3) de la suprafața eritrocitelor de oaie (fenomenul de formare a rozetelor).

Fenotiparea limfocitelor actualmente se realizează prin utilizarea anticorpilor monoclonali anti-antigenii CD în citometria de flux sau reacția de imunofluorescență cu controlul rezultatelor la un microscop luminiscent.

Cuplarea Ac cu bilele feromagnetice permite izolarea unor celule care exprimă un Ag (CD4, CD8 etc.). Cu ajutorul unui magnet, celulele vor fi izolate din amestec. Această metodă este utilă în izolarea unor celule aflate în concentrații

foarte mici în amestec (de ex., izolarea unei celule tumorale dintre miile de celule normale).

Separarea populațiilor celulare cu ajutorul citometriei de flux se bazează pe utilizarea Ac monoclonali, care sunt marcați cu fluorocromi diferiți. Aparatele de ultimă generație pot măsura fluorescența de la patru sau și mai mulți fluorocromi simultan, ceea ce permite identificarea specifică a unor populații celulare din amestecuri complexe (sângele uman). Ac monoclonali care se leagă specific de structurile de suprafață sau de Ag intracelulari pot fi utilizați pentru a defini stadiul de maturitate, activare și capacitatea funcțională a tipurilor celulare specifice.

Spre deosebire de citometrul clasic, un citometru care permite separarea subpopulațiilor celulare conține un aparat de triaj celular activat de fluorescență (FACS – *Fluorescence Activated Cell Sorter*), care poate încărea electric o picătură în funcție de fluoresceina sa: picătura cu o celulă fluorescentă va fi încărcată pozitiv, iar cea fără celula fluorescentă va fi încărcată negativ. Fluxul celular trece apoi printre două plăci electrice de deviere, celulele pozitive și negative fiind deviate în sensuri opuse, putând astfel fi colectate separat. Această metodă permite obținerea unor populații celulare cu puritate de 99%. În imunofenotiparea prin citometrie de flux, setul de bază utilizat pentru evaluarea raportului dintre diverse subpopulații celulare este format din anticorpii anti-CD3, Ac anti-CD4, Ac anti-CD8 pentru identificarea LT, limfocitelor T-helperi și celor T-citotoxice. Această metodă poate fi utilizată și pentru identificarea prezenței sau absenței anumitor Ag de suprafață sau intracelulari importanți pentru funcționarea sistemului imun celular, cum ar fi CD154 sau CD40L la suprafața LT, care este deficient în sindromul hiper-IgM. Citometria în flux va fi utilizată și pentru monitorizarea răspunsului imun la tratamentul pacienților cu deficit imun.

Numărul total de limfocite T (celulele CD2⁺, CD3⁺) se apreciază cu AcMo anti-Ag CD2, CD3. La nou-născuți el constituie 40-48%, în perioada infantilă precoce – 50-60%, iar la adulți 55-70% (1000-1500 celule/mm³). În maladiile infecțioase este caracteristică scăderea LT CD3⁺ până la 40-50% care poate să se mențină și în perioada de convalescență, dar nu necesită terapie imunocorectoare. Dacă în sânge numărul LT este mai mic de 40% sau după boală pe parcursul unei luni nu se normalizează cantitatea de LT CD3⁺, această stare este apreciată ca imunodeficiență celulară T, care necesită imunocorecție sau imunoterapie cu monitoringul imunogramei.

Nivelul limfocitelor T-helper și T-citotoxice se testează cu AcMo anti-CD4 (Th) și anti-CD8 (Tc). În normă se conțin 36-45% de LT CD4⁺ și 19-28% de LT CD8⁺, iar coraportul Th/Tc (indicele imunoreglator-IIR) are valoarea de 1,5-1,8.

În maladiile infecțioase recidivante, IIR scade până la 1,2-1,5 din contul LT CD4⁺ (26-32%), pe când în maladiile autoimune și alergice IIR este mai mare de 2,0.

Pentru detecția fazei precoce de activare a limfocitelor se testează receptorul pentru IL-2 (CD25), iar pentru detecția fazei tardive – HLA-DR și CD71 (receptor pentru transferină). În normă limfocitele CD25⁺ constituie 6-12%. În infecțiile virale și bacteriene nivelul lor poate avea valoarea de 20-30% în perioada acută, prioritar din contul LT. Menținerea de lungă durată a nivelului înalt de CD25⁺ în perioada de remisiune, după dispariția manifestărilor clinice, indică hiperactivitate caracteristică pentru maladiile recidivante și cronice. Ag HLA-DR în normă este exprimat de LB și monocite (12-18%), dar la activare apare și pe LT (3-6%).

Capacitatea de proliferare celulară este deseori utilizată ca un parametru funcțional al LT – test de stimulare limfocitară, test de transformare blastică. LT sunt activate și stimulate pentru proliferare la contactul cu Ag specific, dar doar o foarte mică fracțiune din LT circulante vor recunoaște un anumit Ag și datorită acestui fapt, se utilizează activatori policlonali ai LT pentru evaluarea *in vitro* a funcției LT (concanavilina A, PHA).

Limfocitele, după ce primesc semnale de la antigenii sau lectinele pentru care au receptori de membrană, intră în ciclul de diviziune celulară, proces caracterizat printr-o activitate metabolică complexă și modificări morfologice cunoscute sub denumirea de „transformare blastică” sau de „diferențiere blastică”. Imediat după primirea semnalului stimulator, la nivelul membranei au loc modificări de sarcini electrice, urmate de activarea proceselor metabolice și de creșterea densității celulare. În stadiile următoare, celula își mărește volumul devenind „blast” cu nucleul mare, bogat în cromatină fină, cu unul sau mai mulți nucleoli și o zonă perinucleară clară, cu citoplasmă intens bazofilă, bogată în poliribozomi, dar cu reticul endoplasmic slab dezvoltat. Activarea sintezei ADN precede diviziunea celulară.

Intensitatea stimulării limfocitelor poate fi evaluată fie prin determinarea procentuală a blaștilor din populație, procedeu cunoscut sub denumirea de metodă morfologică de evaluare a transformării blastice, fie prin măsurarea cantitativă a izotopilor încorporați în ADN-ul nou sintetizat, cu referire specială la timidina tritiată (³H-T), procedeu cunoscut sub denumirea de metodă izotopică, rezultatele fiind exprimate valoric ca număr de dezintegrări/minut (c.p.m.-counts per minut). Transformarea blastică a limfocitelor, în special a celor T, poate fi indusă de:

a) lectine (stimuli mitogenici), dintre care cele mai frecvent utilizate sunt fitohemaglutinina (PHA), concanavalina A (Con A) – mitogeni pentru limfocitele T;

b) antigeni de origine virală, bacteriană, animală etc.;

c) aloantigeni, adică antigeni celulari aparținând aceleiași specii ca și limfocitele stimulate, dar diferiți sub raportul complexului major de histocompatibilitate (MHC).

În toate aceste trei posibilități majore de stimulare, tehnica de lucru și evenimentele care au loc la nivelul celular sunt practic aceleași, deosebirile majore referindu-se doar la natura stimulului aplicat celulelor *in vitro*, care, la rândul său, condiționează durata de cultivare și numărul celulelor transformate blastic. De ex., practic toate limfocitele T au receptor pentru PHA, în timp ce pentru un determinant antigenic unic au receptori numai celulele unei singure clone. Din această cauză, un mitogen activează una din cca 300 de limfocite, în timp ce un Ag activează una din cca 10 000 de celule. Evident că, în atare condiții, transformarea blastică la stimulii lectinici este mai rapidă și mai ușor poate fi detectată decât cea declanșată de stimulii antigenici sau alogenici.

Răspunsul mitotic *in vitro* coreleză cu cel *in vivo*. De ex., limfocitele unui subiect care reacționează pozitiv la intradermoreacția cu PPD (testul Mantoux pozitiv) se vor transforma blastic *in vitro* în prezența PPD mult mai intens, comparativ cu cele provenite de la un subiect sănătos, nestimulat cu M. tuberculosis. Cele recoltate de la subiecții anergici *in vivo* nu vor reacționa nici *in vitro* la semnalele primite de la PPD. Și în cazul lectinelor, ca și în cel al Ag, există o corelație între răspunsul limfocitelor stimulate mitogenic și statusul imun al persoanei respective. Ca sursă de limfocite poate servi sângele periferic; limfocitele sangvine pot fi cultivate fie ca populații purificate prin separare în gradient de densitate Ficoll-Verografin, urmată eventual de aderența la sticlă sau la fibre de nailon, în vederea îndepărtării monocitelor și a unor subpopulații limfocitare, fie în cultură de „sânge total” în prezența sau absența factorilor plasmatici. Mai există posibilitatea ca limfocitele purificate să fie cultivate în prezența unor concentrații mari, nefiziologice, de IL-2. Ele se transformă în celule citotoxice „activate de limfokine” sau LAK (*Lymphokine Activated Killer*) capabile să lizeze tumorile autologe.

În toate aceste situații durata de cultivare este scurtă, de cca 3-8 zile. În tab. 8.1 și 8.2 sunt redată succint diferite posibilități de cultivare a limfocitelor *in vitro*.

Există și posibilitatea menținerii lor *in vitro* timp îndelungat, luni de zile, cu condiția ca, pe lângă stimulul mitogenic administrat, periodic să se suplimenteze mediul și cu unele limfokine cum ar fi, de ex., IL-2 în cazul limfocitelor T.

Diferite modalități de cultivare a limfocitelor *in vitro*

Populația celulară	Alte populații	Populații celulare și moleculare prezente în vasul de cultură
Separarea prin centrifugare în gradient de densitate	Fără aderare la sticlă	Limfocite, monocite
	Cu aderare la sticlă	Limfocite
Neseparată în gradient de densitate (sânge total)	Fără spălare	Toate elementele sângelui, inclusiv plasma
	Cu spălare	Toate elementele sângelui, exclusiv plasma

Tabelul 8.2

Corelația dintre stimul și durata de cultivare a limfocitelor *in vitro*

Durata cultivării	Stimulul antigenic
2-3 zile	mitogenic (lectine)
5-6 zile	antigenic, alogenic
7-8 zile	IL-2
luni de zile	mitogenic + IL-2

Ac specifici pentru complexul CD3 asociat TCR pot induce formarea de complexe de molecule CD3 și stimula astfel recunoașterea fiziologică a Ag, stimulând în acest fel majoritatea LT. Activarea LT este ulterior evaluată prin măsurarea citokinelor (IL-2, IL-4, IFN- γ , GM-CSF) din supernatantul culturilor. Indicele optimal în testele *in vitro* pentru evaluarea activării LT este aprecierea IL-2 care este eliminată de LT activate și în normă susține proliferarea prolongată. Poate fi determinată creșterea concentrației de Ca citosolic, precum și majorarea exprimării CD69, CD71, CD25 sau, specific pentru LT, creșterea exprimării HLA-DR3 la 1-3 zile de la activare. Proliferarea LT mai poate fi calculată prin măsurarea încorporării $^3\text{H-T}$ în ADN.

Funcția LT in vivo poate fi apreciată prin injectarea intradermică a unor Ag la care individul a fost expus anterior cu măsurarea reacției cutanate la 48-72 de ore (BCG, Candida), care relevă o reacție de hipersensibilitate tardivă. Un diametru al îndurației de 2 mm este considerat pozitiv.

ELISPOT IFN- γ este o metoda imunoenzimatică utilizată pentru a determina numărul de LT specifice pentru un Ag. Ultimul este pus în contact cu APC

și LT în adânciturile din placa de microtitrare, acoperite cu Ac anti-citokină (ex., anti-IFN- γ), apoi LT sunt incubate timp de 24-28 de ore. LT stimulate de Ag vor produce IFN- γ , care va fi fixat de Ac de la suprafața plăcii. La sfârșitul incubăției, celulele vor fi înlăturate prin spălare, iar placa va fi incubată cu un Ac anti-IFN- γ marcat cu biotină, ulterior se va adăuga streptavidină marcată cu o enzimă, care va transforma substratul într-un compus colorat sub forme de puncte (spoturi) în locul unde a existat anterior un LT activat secretor de IFN- γ . Numărul de puncte din 100 000 de celule va reflecta frecvența LT specifice Ag.

Detecția citokinelor intracelulare permite identificarea subtipurii celulare care produce citokina. După stimulare cu Ag, celulele vor fi incubate cu brefeldina A, care împiedică exteriorizarea citokinelor secretate, astfel încât o cantitate importantă de citokine va fi depozitată intracelular. Markerii de suprafață ai celulelor vor fi colorați cu fluorocromi care vor emite un spectru roșu, dar cu lungimi de undă diferite (ex., proteina clorofiliană peridina pentru CD4 și alofococianina pentru CD8), după care se vor permeabiliza celule cu saponină, ceea ce va permite Ac anti-citokină să pătrundă în celulă și să se fixeze pe aceasta. Prin utilizarea unei combinații de Ac marcați (ex., Ac anti-IFN- γ marcat cu FITC și Ac anti-IL-4 marcat cu PE), putem distinge celulele în funcție de tipul de citokină sintetizată. Aparatul va detecta simultan mai multe culori, permițând caracterizarea secreției de citokine în funcție de subtipul celular.

Dozarea citokinelor secretate se bazează pe utilizarea Ac bispecifici care vor capta citokinele secretate de LT activate, direct la suprafața LT. Ac se fixează, pe de o parte, de CD45, un Ag de suprafață prezent la om, iar, pe de altă parte, de citokina secretată care se cercetează. Un Ac secundar anti-citokină, marcat cu un fluorocrom, se va fixa pe aceasta. Celulele pot fi triate cu ajutorul unui citometru de flux sau cu ajutorul unui câmp magnetic, dacă Ac sunt cuplați cu Fe. Comparativ cu tehnica de dozare a citokinelor intracelulare, această tehnică permite păstrarea LT integre, putând astfel fi asociată unor teste funcționale.

Colorarea cu ajutorul tetramerilor este destinată pentru detecția celulelor specifice unui Ag. Inițial se produc tetrameri de HLA de clasa I (ex., HLA-A2) care sunt asamblați în jurul unui fluorocrom. Locul de prezentare a Ag de la toate moleculele de HLA va avea fixat același peptid sintetic. Reactivii rezultați vor colora doar LT CD8⁺, care vor recunoaște doar Ag prezentat de HLA-A2. Celulele astfel marcate pot fi separate cu un citometru de flux pentru a produce linii celulare specifice unui Ag.

Testul limfocitoxic se utilizează mai frecvent pentru detecția Ag HLA pe limfocite. La legarea Ac serului anti-HLA cu Ag pe suprafața celulei se formează un complex imun care activează complementul suplimentat și induce liza celulei. Aceasta se apreciază prin enumerarea celulelor colorate cu tripan

albastru. Se calculează procentul celulelor colorate care reflectă cantitatea de LT sau LB.

Reacția de inhibiție a migrației leucocitelor poate fi utilizată pentru diagnosticul diferențial al maladiilor cronice, în care apar mediatorii hipersensibilității de tip întârziat ce inhibă migrația leucocitelor.

Semnalele primite de la antigen (Ag) activează limfocitele care vor sintetiza mediatori solubili cu multiple implicații biofuncționale, cum ar fi, de ex., recrutarea și atragerea unor celule la locul agresiunii. *In vivo* inițial este antrenat un număr mic de celule antigen-reactive care secretă limfokine ce vor stimula și atrage un număr tot mai mare de limfocite, macrofage, granulocite PMN etc. Unele dintre aceste limfokine inhibă migrarea macrofagelor sau PMN, reținându-le la locul infecției – factorul de inhibiție a macrofagelor (MIF), a leucocitelor (LIF) secretate de către limfocitele T. Inhibiția migrării poate fi realizată și *in vitro*, intensitatea ei corelând cu testul cutanat al hipersensibilității de tip întârziat, motiv pentru care și-a găsit aplicarea în evaluarea reacției organismului-gazdă față de transplantul de organe, în reacții autoimune, de hipersensibilitate de tip întârziat etc.

Macrofagele, atunci când sunt incubate *in vitro*, au tendință să plece, să se răspândească în diferite direcții. Migrarea lor poate fi inhibată, dacă în vasul de cultură există limfocite și Ag care au stimulat *in vivo* limfocitele. Acestea, venind din nou în contact cu Ag, eliberează MIF și LIF care n-au specificitate de specie, inhibiția migrării putând fi efectuată atât cu celulele aceleiași specii, cât și cu cele ale altor specii. În prima situație se aplică așa-zisa „metoda directă”, care constă din cultivarea limfocitelor și macrofagelor în prezența Ag, iar MIF, eliberat de către limfocite, inhibă migrarea macrofagelor. În cea de a doua situație se folosește o „metodă indirectă”, care constă din cultivarea limfocitelor umane în prezența Ag și folosirea mediului de cultură în care acestea au eliberat MIF, pentru inhibiția celulelor din exsudatul peritoneal de cobai. Metodele directe și indirecte de inhibiție a migrării macrofagelor sunt utilizate în scop diagnostic, dar necesită un număr mare de celule. Din sângele periferic recoltat se separă celulele prin centrifugare în gradient de densitate Ficoll-Verografin sau prin sedimentare în soluție de 5% dextran. Sedimentul celular este spălat de 3 ori în mediu de cultură rece cu enumerarea lor ulterioară. În final, sunt suspensionate în mediul suplimentat cu 5-10% de ser fetal de vițel la concentrația de cca 1×10^7 celule/ml de mediu. Capilarele se umplu cu suspensia de celule, o extremitate a cărora este închisă, fiind centrifugate 3-4 min. la 115-130 g, apoi secționare cu lungimea de 0,5 cm. După aceasta capilarele (câte unul) se instalează în camera de migrare cu fixarea lor la peretele ei cu o picătură de parafină. Camera se umple cu mediu de cultură suplimentat cu ser fetal de vițel, care conține Ag

(sau nu conține – martor) în diverse concentrații. Incubarea se realizează la 37°C timp de 24 de ore. După migrare fiecare arie este proiectată pe o suprafață plană, măsurându-se conturul cu ajutorul unui planimetru. Aria de migrare este proiectată pe o hârtie de calc cu grosime uniformă. Cu foarfecle se decupează suprafața marcată și se cântărește la o balanță analitică, greutatea fiind exprimată în mg. Se calculează indicii de inhibiție a migrării după formula: IIM = valoarea ariei de migrare cu Ag / valoarea ariei de migrare fără Ag. Rezultatul se înmulțește cu 100, reacția fiind considerată pozitivă atunci când IIM este sub valoarea 75, ce denotă sensibilizarea celulelor imune la antigenul respectiv.

Particularitățile fenotipului limfocitelor în normă și în patologie. Indicii testării LT și subpopulațiilor cu AcMo în normă în literatura de specialitate diferă esențial. Acest fapt este datorat utilizării diferitor metode și dinamismului înalt al acestora în sânge. Indivizii aparent sănătoși în 6-10% din cazuri manifestă indici care deviază esențial de la normativele medii: la 9% cantitatea limfocitelor este mai mică de 19%, la 6% – LT < 150 celule/ μ l, la 8% – Th > 42% etc. Nivelul subpopulațiilor limfocitare se modifică la stres, șarja fizică, în toate maladiile, sub influența terapiei cu diverse remedii. La copiii de vârstă precoce se testează limfocitoza fiziologică și, respectiv, componența subpopulațiilor limfocitare. Dar, de regulă, dinamica subpopulațiilor limfocitare la bolnavi reflectă severitatea maladiei și după componența lor poate fi prognozată evoluția bolii. În majoritatea maladiilor scade nivelul limfocitelor CD3⁺ și CD4⁺. Frecvent în maladiile cronice crește nivelul LT CD25⁺ ce indică activarea lor. Diminuarea acestora și creșterea subpopulației HLA-DR indică o dinamică favorabilă a procesului. În infecțiile herpetice și în alte afecțiuni virale scade nivelul limfocitelor, Th și Ts, se instalează sindromul imunodeficitar limfocitopenic.

Reducerea nivelului de LT și Th se constată și în infecțiile bacteriene, iar Th sunt mai sensibili la toxinele bacteriene, comparativ cu LB. Nivelul celulelor CD8⁺-killeri poate fi crescut.

Inflamația acută este însoțită de creșterea CD3⁺, CD4⁺ sau CD8⁺, alături de majorarea CD25⁺, CD69⁺, CD16⁺. În infecțiile bacteriene predomină Th2 (dezvoltarea răspunsului imun umoral), iar la unii indivizi – Th1 cu dezvoltarea HTÎ. Evoluția favorabilă subacută sau inflamația trenantă se caracterizează prin normalizarea indicilor statusului imun.

Răspunsul imun celular cu predominarea Th1 se caracterizează prin apariția T-killerilor, care pot fi LT CD8⁺ sau descendenți ai celulelor CD4⁺.

Prognosticul procesului patologic poate fi efectuat în baza modificării fenotipului celulelor și a altor indici ai statusului imun.

Capitolul 9. EVALUAREA IMUNITĂȚII UMORALE

Testarea imunității umorale se va realiza primar printr-o *hemoleucogramă completă cu formula leucocitară*. În cazul unui deficit al imunității umorale, numărul de limfocite poate fi ușor scăzut, dar și normal. Separarea LB se efectuează prin centrifugarea sângelui cu heparină într-un gradient de Ficoll-Hypaque (1,077g/l) cu spălarea și concentrarea lor ulterioară. Metodele utilizate pentru aprecierea cantitativă a LB sunt identice cu cele de testare a LT, dar cu utilizarea AcMo specifici LB: anti-CD19, anti-CD20, anti-CD21, anti-CD22, anti-CD72. În normă, LB constituie 20-30% din totalul limfocitelor (600-800 celule/mm³). Activarea LB poate fi analizată prin aprecierea cantitativă a Ig în serul sangvin. Utilizarea citometriei în flux face posibilă analiza și expresia moleculelor de activare la suprafața celulară, precum și creșterea concentrației citosolice a Ca cu ajutorul reactivilor colorați, cum ar fi INDO-1 (legarea acestora de Ca determină modificarea fluorescenței emise, care poate fi cuantificată).

După activare prin legarea încrucișată a Ig de suprafață, LB necesită al doilea stimul pentru a prolifera, cum ar fi citokinele IL-2, IL-6, IL-14 sau receptorii solubili: fragmente solubile de CD23 sau legarea CD40 de către CD40L. Pentru testarea cantitativă a proliferației LB se măsoară încorporarea timidinei marcate cu tritiu (³H-T) la 72 de ore. După o incubare *in vitro* de 5-7 zile, LB se pot diferenția în plasmocite secretoare de Ac, cuantificarea ultimilor din supernatant fiind realizată prin ELISA sau ARI. Aceste tehnici nu vor putea cuantifica numărul de celule plasmatiche producătoare de Ac. Numărul acestora poate fi determinat prin teste de formare a plajelor de liză celulară (PFC – *Plaque Forming Cell*). Testul PFC al hemolizei inverse utilizează eritrocite de oaie încărcate cu Ig anti-umane, obținute de la caprine sau de la iepuri. Aceste eritrocite sunt incubate cu LB pe un strat de agaroză. Plasmocitele sintetizează Ig care pătrund în agaroză prin difuziune și formează complexe imune cu Ig anti-umane de la suprafața eritrocitelor de oaie. După adăugarea de complement, eritrocitele aflate în jurul unui LB producător de Ac vor fi lizate, iar numărul plajelor de liză reprezintă numărul LB producătoare de Ac. Prin acest test se pot analiza subpopulațiile de LB: eritrocitele încărcate cu Ig anti-IgM umane vor detecta doar LB producătoare de IgM, în timp ce LB producătoare de Ac specifici pentru un anumit Ag vor fi identificate prin încărcarea eritrocitelor cu un Ag cunoscut.

Testul ELISPOT (Enzyme-Linked Immunosorbent Spot Assay) utilizează LB etalate în plăci de cultură celulară acoperite cu Ag. După fixarea Ac produși

pe Ag din cultură, se elimină supernatantul care conține Ac nefixați și celulele, apoi se adaugă Ac anti-Ig cuplați cu o enzimă, și ulterior un gel cu cromogenul corespunzător. Reacția enzimatică apare acolo unde Ac specifici produși de LB au fost fixați, rezultând pete colorate, producătoare de Ac specifici.

Produsele funcționale ale limfocitelor B – imunoglobulinele claselor M, G, A, E și subclasselor lor – se apreciază în serul sangvin și în alte substraturi biologice prin utilizarea reacțiilor de imunodifuzie radială în gel după Mancini, imunoenzimatică, a metodelor de nefelometrie și turbodimetrie. Metoda clasică (imunodifuzia radială simplă) a fost standardul utilizat timp îndelungat, dar actualmente majoritatea laboratoarelor folosesc nefelometria.

Nefelometria reprezintă o modificare a reacției de precipitare. Rezultatul se va exprima în unități de densitate optică, ce vor fi transformate în mg/dl utilizând o curbă standard. Reacția de precipitare are loc în prezența Ac în exces, de aceea creșterea cantității de Ag va determina accentuarea dispersiei luminii. Metodele nefelometrice automate utilizate în prezent dau rezultate înalt reproductibile pentru cuantificarea Ig în ser și alte fluide. Concentrația Ig poate fi măsurată și prin utilizarea metodei ELISA.

Nivelul imunoglobulinelor scade în imunodeficite, iar la stimularea sistemului imun și în inflamații crește. Conținutul imunoglobulinelor în normă este elucidat în tab. 9.1.

Tabelul 9.1

Nivelul imunoglobulinelor în serul sangvin și salivă în normă

Vârsta	IgG (g/l)	IgM (g/l)	IgA (g/l)	sIgA (g/100ml în salivă	IgE(UI/l)
1-2 săptămâni	8 – 12	0,1 – 0,35	0,1 – 0,5	1,5 – 4,1	0 – 20
Perioada infantilă precoce	5 – 12	0,5 – 1,2	0,5 – 1,0	2,5 – 9,0	5 – 20
6-14 ani	7 – 12,5	0,8 – 1,3	1,2 – 2,6	13,0 – 20,0	20 – 100
Adulți	8 – 13	0,9 – 1,3	1,3 – 3,1	18,0 – 22,0	20 – 100

În infecțiile recidivante o importanță majoră are aprecierea subclasselor IgG. Coraportul lor fiziologic este următorul: IgG1 – 60-66%, IgG2 – 20-30%, IgG3 – 5-8%, IgG4 – 4-5% din totalul imunoglobulinelor G (tab. 9.2).

Concentrația subclaselor IgG (g/l) în serul sangvin în normă

Vârsta	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
Perioada infantilă precoce	3 - 7,2	0,9 - 3,8	0,25 - 1,0	0,05 - 0,3
6-14 ani	3,6 - 8,9	1,2 - 4,4	0,3 - 1,2	0,1 - 0,8
Adulți	5 - 9	1,8 - 4,5	0,5 - 1,5	0,2 - 0,8

Un șir de patologii respiratorii, inclusiv bronșitele, pneumoniile recidivante, bronșiectaziile, sinuzitele etc. se asociază cu deficiența subclasei IgG1. Deficitul IgG3, care poate evolua concomitent cu deficiența IgG1, se asociază cu maladiile pulmonare obstructive. Infecțiile respiratorii recidivante de origine bacteriană (*Bacilul hemofilic*, pneumococ) sunt dependente de deficitul asociat al IgG2 și IgA.

În cazul când concentrația Ig serice este anormal de mare la un pacient cu infecții repetate, în special la adulți, se va indica efectuarea unei electroforeze a proteinelor serice pentru a evalua prezența unei paraproteine, sugestivă pentru o boală malignă limfocitară.

Măsurarea izohemaglutininelor în ser anti-A, anti-B este posibilă la pacienții cu grupa sangvină 0, A sau B. Izohemaglutininele sunt Ac predominant de tip IgM. Dacă izoaglutininele sunt detectate în ser, pacientul este capabil să sintetizeze Ac față de Ag de grupa sangvină. Absența lor la un pacient care nu are grupa sangvină AB sau concentrația redusă a izoaglutininelor va indica sinteza redusă de IgM și va sugera necesitatea continuării investigațiilor.

Pentru testarea Ac specifici se utilizează un șir de metode imunoserologice: reacțiile de aglutinare, precipitare, neutralizare, fixare a complementului și cele cu utilizarea diferitor markeri (luminiscentă, imunoenzimatică, radioimună). Aceste reacții sunt utilizate atât pentru testarea Ag, cât și a Ac.

Reacția dintre un Ag și un Ac se bazează pe legarea epitopului Ag de situsul combinativ al Ac. Această legare, dependentă de complementaritatea sterică dintre Ag și Ac, are loc cu participarea unor forțe de legătură necovalente (forțe electrostatice, legături de hidrogen și legături hidrofobe), care asigură într-un anumit grad stabilitatea complexului Ag-Ac. O caracteristică majoră a reacției Ag-Ac reprezintă specificitatea ei. Gradul de sensibilitate al reacțiilor Ag-Ac este prezentat în tab. 9.3. Sensibilitatea și specificitatea înaltă a reacțiilor serologice au facilitat implementarea lor pe larg în medicină și biologie.

Reacția dintre Ag și Ac decurge în două faze: 1) *specifică*, în care situsul combinativ al anticorpilor se leagă complementar de epitopii antigenului pe parcursul

a câtorva secunde sau minute, și 2) *nespecifică*, în care se manifestă complexe imune formate cu durată de la câteva minute până la câteva ore. Manifestările reacțiilor sunt dependente de proprietățile Ag (mărimea corpusculilor, densitatea epitopilor, starea fizică), clasa și tipul anticorpilor (compleți și incompleți) și de condițiile realizării (pH, temperatură, concentrația de săruri etc.). Polivalența Ag și Ac asigură apariția agregatelor vizibile în urma formării complexelor Ag-Ac, la care se atașează alte molecule de Ag și Ac fixându-se la determinatele și antide-determinatele libere. Caracterul și intensitatea reacției depind de raportul cantitativ al Ag și Ac cu manifestare optimă la conținutul lor echivalent. Complexele imune Ag-Ac se formează în cazul participării în reacție a Ac compleți.

Tabelul 9.3

Sensibilitatea reacțiilor Ag-Ac

Testul	Cantitatea minimă de proteine (mg/l anticorpi)
Precipitare, proba inelară în gel	20-30
Aglutinare cantitativă	0,12-60
Hemaglutinarea pasivă	0,02-0,05
Reacția de fixare a complementului	0,1
Imunofluorescența directă	0,2-0,4
indirectă	0,05-0,1
ELISA și ARI (analiza radioimună)	0,05-0,01

Anticorpii monovalenți (incompleți) nu induc formarea agregatelor și pentru depistarea lor se utilizează metode speciale bazate pe folosirea antiimunoglobulinelor (testul Coombs). Există și anticorpi care aglutinează numai la rece (+4°C), identificarea cărora necesită condiții speciale de realizare. Pentru depistarea complexelor Ag-Ac se mai utilizează diverși markeri (fluorocromi, enzime, substanțe radioactive).

Reacțiile serologice se folosesc pentru depistarea și aprecierea cantitativă a Ac și Ag. Pentru depistarea Ag necunoscuți (microorganisme, proteine etc.) se utilizează seruri imune de diagnostic, obținute prin imunizarea multiplă a animalelor cu Ag respectivi sau Ac monoclonali de o anumită specificitate. Pentru testarea Ac se folosesc diagnostice imune (deseori suspenzie de microorganisme inactivate și Ag specifici recombinanți etc.). Pentru extragerea diferitor Ag din celulă se utilizează diverse metode: prelucrarea cu enzime, diferiți detergenți, centrifugarea etc.

Reacția de aglutinare

Antigenii corpusculari aflați în suspensie în mediul lichid sunt recunoscuți de Ac respectivi și datorită forțelor de atracție alipesc particulelor între ele (aglutinarea lor). Datorită specificității sale, reacția este utilizată pe larg în diagnosticul imunologic al maladiilor infecțioase (febra tifoidă, dizenteria, holera, bruceleloza, tularemia etc.) și neinfecțioase (identificarea diferitor Ag celulari, tisulari și de organe) sau al anticorpilor din sânge, țesuturi etc. Reacția are loc în 2 faze: în prima fază Ac se fixează la Ag membranei celulare, iar în a doua – are loc agregarea lor. Pentru faza finală e nevoie de electrolit (soluție fiziologică). Sunt cunoscute mai multe variante ale acestei reacții – aglutinarea microbilor, hemaglutinarea, latex-aglutinarea, hemaglutinarea pasivă Boyden etc. Pentru diagnosticul maladiilor infecțioase reacția de aglutinare se utilizează în 2 variante: aprecierea microorganismului izolat de la bolnav cu seruri imune și testarea Ac în serul pacientului cu standarde microbiene. Aglutinarea directă (aglutinarea simplă, clasică) este o aglutinare a antigenilor naturali ai unor particule de către anticorpii specifici (determinarea grupelor sangvine, aglutinarea bacteriană). Sensibilitatea acestui tip de aglutinare poate fi crescută prin tratarea celulelor cu enzime sau prin executarea reacției în mediu cu vâscozitate majoră.

Reacția de aglutinare a microbilor

Principiul reacției este bazat pe aglutinarea Ag corpusculari de către anticorpi specifici. În această reacție pot fi identificate atât microorganismele, cât și anticorpii antimicrobieni. În primul caz vor fi utilizate serurile diagnostice aglutinabile standard, iar în al doilea caz – diagnostice microbiene standard. După caracterul aglutinatelor se disting aglutinarea în formă de grăuncioare observată la microorganismele care conțin antigenul O sau aglutinarea în formă de fulgi (bacteriile care conțin antigenul flagelic H).

Pentru testarea speciei microbiene se utilizează serurile aglutinabile diagnostice standard preparate prin hiperimunizarea animalelor cu suspensie de microbi respectivi. Titrul serului obținut se consideră diluția majoră în care se constată aglutinarea bine delimitată a Ag corespunzător.

Tehnica de lucru depinde de varianta reacției. Una dintre cele mai răspândite este realizarea *metodei în eprubete* sau în plăci cu godeuri pentru testarea Ac. În stativ se instalează un șir de tuburi (numărul depinde de titrul serului) care sunt notate conform numărului și titrului diluției. În fiecare din ele se introduce câte 0,5 ml soluție fiziologică, serul cercetat realizând diluțiile serului de la 1:25 până la 1:1600 (din ultima eprubetă se elimină 0,5 ml). În fiecare eprubetă se adaugă câte 0,5 ml de Ag conform standardului. Diluția serului în

eprubete se va dubla. De fiecare dată, în reacție se face controlul Ag (0,5 ml Ag + 0,5 ml sol. fiziologică) și serului (0,5 ml ser + 0,5 ml sol. fiziologică). După aceasta stativul se agită energic și se incubează două ore la t 37°C. Controlul preliminar are loc la două ore, iar cel definitiv – la 18-20 de ore de păstrare la t camerei cu ochiul liber, iar în cazuri dificile – cu ajutorul aglutinoscopului. Reacția pozitivă se manifestă printr-un sediment grunjos, care acoperă fundul eprubetei sub formă de umbrelă. În funcție de intensitatea reacției, lichidul devine transparent total sau parțial. În cazul reacției negative, sedimentul are formă de ghem la mijlocul eprubetei, iar supernatantul este difuz opalescent. Dacă la controlul Ag sau al serului apare aglutinarea spontană, nespecifică, reacția nu poate fi luată în considerare. Intensitatea reacției de aglutinare se marchează prin plus: ++++ aglutinare completă – sediment mare, lichidul supernatant e absolut limpede; +++ aglutinare incompletă – sedimentul e același, lichidul supernatant nu e limpede; ++ aglutinare slabă – sediment mic, supernatantul nu e limpede; + urme de aglutinare, sediment foarte mic, supernatantul nu e limpede; reacția negativă se marchează prin: absența sedimentului și suspensia rămâne difuz turbure.

Reacția de aglutinare pe lame de sticlă se practică în scop de diagnostic rapid în maladiile infecțioase. Pentru majorarea vizibilității se pot folosi bacterii colorate cu gențian violet. Lama de sticlă degresată este împărțită în 6 pătrate orizontal (3x3 cm), pe care se picură serul de cercetare în doze de 0,08, 0,04; 0,02; 0,01 și 0,02 ml (tab. 9.4).

Tabelul 9.4

Schema realizării reacției de aglutinare pe lamă

Reagenți	Pătratele				Controlul	
	1	2	3	4	serului	Ag
Serul nativ (ml)	0,08	0,04	0,02	0,01	0,02	-
Antigenul	0,03	0,03	0,03	0,03	-	0,03
Soluția fiziologică	-	-	-	-	0,03	0,03

La aceste pătrate se adaugă câte 0,03 ml de bacterii (cu o concentrație de 20×10^9 microbi/ml), se amestecă cu o baghetă de sticlă începând cu doza cea mai mică; lama se încălzește timp de 1-2 min. la t 45°C. Controlul reacției se efectuează după 5-8 min., în unele cazuri după 8-10 min. În cazuri pozitive după 1-2 min. apar grăunțioare de aglutinat și picătura se limpezește. Intensitatea reacției de aglutinare se marchează prin +: ++++ aglutinare completă, fulgi mari

și grăuncioare mici, limpezire deplină a lichidului; +++ aglutinare incompletă – fulgi mari unici, lichidul este mai puțin limpede; ++ grăuncioare mici de aglutinat, abia observabile, lichidul e tulbure; reacția negativă se marchează prin -, absența aglutinatului, lichidul e difuz tulbure ca și la control. Ca rezultat pozitiv este considerată aglutinarea cu ++.

Există și alte variante ale reacției de aglutinare, cum ar fi cea de aglutinare cu centrifugare, de aglutinare în capilare, inelară (în lapte), cu sânge hemolizat etc., dar care se utilizează mult mai rar.

Reacția de hemaglutinare specifică

Cercetarea Ag eritrocitari, realizată cu Ac anti-A și anti-B, a primit denumirea de testare directă sau eritrocitară. Utilizarea reagenților eritrocitari A₁ și B pentru detecția Ac anti-A și anti-B în ser se numește testare serică. Testarea standard include testarea hematiilor și a serului, de altfel, fiecare dintre aceste teste servește ca martor pentru celălalt (tab. 9.5).

Tabelul 9.5

Testarea AB0 standard

Reacția eritrocitelor testate cu anticorpi		Reacția serului testat cu hematii standard			Grupa sangvină dedusă
Anti-A	Anti-B	A ₁	B	0	
0	0	+	+	0	0
+	0	0	+	0	A
0	+	+	0	0	B
+	+	0	0	0	AB

Notă: + aglutinare prezentă; 0 – absența aglutinării

Pentru confirmarea apartenenței după sistemul AB0 a donatorilor, pentru care deja s-a efectuat tipizarea, la fel și pentru examinarea copiilor de sub 4 luni, se permite numai testarea Ag A, B pe hematii. Metodologia și tehnica de realizare a testării sistemului AB0 sunt elucidate în Anexa 3. Unii reagenți folosiți pentru tipizarea AB0 a hematiilor sunt preparați din serurile persoanelor stimulate cu substanțe sangvine de grupele A și B pentru obținerea unui titru înalt de Ac. Alți reagenți sunt preparați în baza Ac monoclonali. Ambele tipuri de reagenți aglutinează majoritatea hematiilor antigen- pozitive la interacțiune dezvoltată direct, chiar fără centrifugare.

Evaluarea rezultatelor obținute cu serurile și eritrocitele standard trebuie să corespundă, adică aglutinogenii și aglutininele constatate la cercetare aparțin aceleiași grupe de sânge. Pot fi posibile 4 variante:

1. Reacția pozitivă a serului cercetat cu eritrocitele standard ale grupelor A și B indică prezența aglutininelor anti-A și anti-B, absența aglutinogenilor este marcată prin reacția negativă cu serurile standard izohemaglutinante sau anticorpii monoclonali respectivi. Aceste fenomene sunt caracteristice grupei de sânge 0.

2. În cazurile când eritrocitele standard ale grupei B sunt aglutinate de serul cercetat, iar eritrocitele pacientului – de serurile standard ale grupelor 0 și B sau de AcMo anti-A, grupa nativă de sânge este A.

3. Dacă cu ajutorul eritrocitelor standard se identifică aglutinina anti-A, iar cu serurile standard – aglutinogenul B, putem afirma că sângele cercetat aparține grupei B.

4. În caz că serul cercetat nu aglutinează eritrocitele standard ale celor trei grupe, iar cu ajutorul serurilor standard constatăm prezența aglutinogenilor A și B pe eritrocitele individului, atunci se prezumă prezența grupei de sânge AB. Pentru excluderea aglutinării nespecifice se utilizează serul de control al grupei AB. În cazul dat reacția va fi negativă.

În cazul prezenței variantelor antigenice eritrocitare este necesar de a utiliza seruri umane și lectină anti- A_1 (fig.9.1)

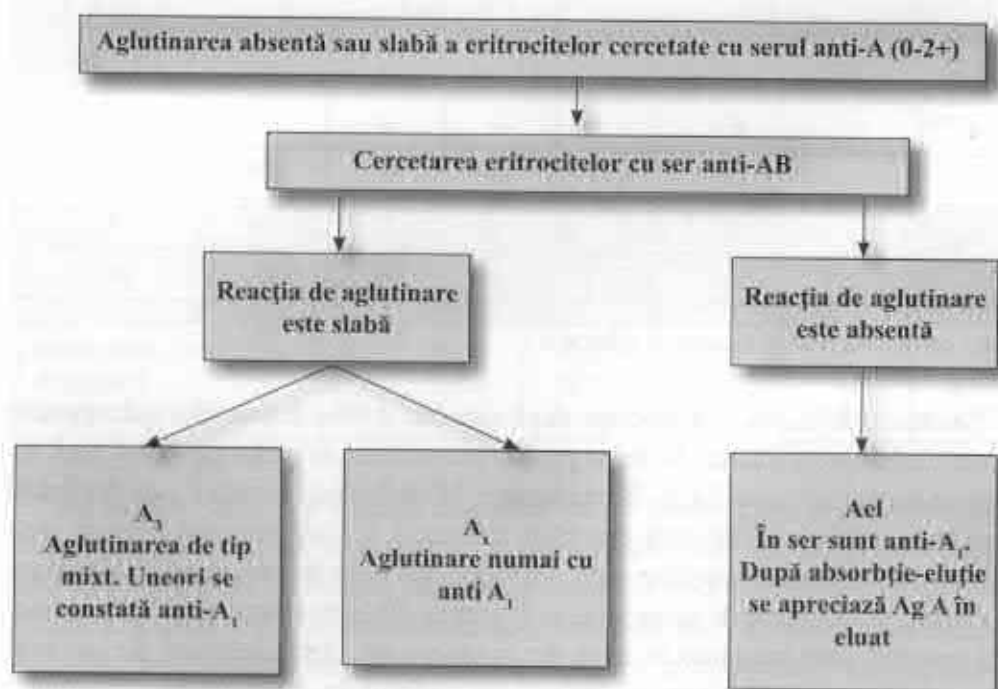


Figura. 9.1. Algoritm de testare a variantelor antigenice A cu serurile sangvine anti-A și anti-AB umane

Varianta eritocitară tip Bombay (fenotipul Oh) se caracterizează prin absența Ag H și AB0. Hematiile acestora nu se aglutinează cu serurile anti-A, anti-B, anti-h, anti-0. Serul acestor indivizi conține Ac anti-A, anti-B și anti-H. Pacienților cu fenotipul Oh li se transfuzează numai sângele Oh, datorită faptului că Ac acestora vor hemoliza celulele cu Ag A, B și AB. La prezența fenotipului Oh va indica absența reacției la interacțiunea celulelor cu lectina anti-H.

Divergențele de tipizare a grupeii sangvine apar, atunci când rezultatele testelor eritocitare nu corespund cu cele serice. Cauza rezultatelor discordante pot fi dependența de seruri, eritrocite, dificultăți apărute la cercetare, erorile tehnice etc.

Rezultatele fals-negative pot apărea în urma erorilor la: realizarea unui raport incorect dintre ser (reagent) și eritrocite, efectuarea reacției la t mai mare de 25°C, readucerea timpului de monitorizare a reacției, utilizarea reagenților cu termen expirat de valabilitate, înregistrarea și interpretarea incorectă a rezultatelor testului etc.

Rezultatele fals-pozitive pot fi datorate centrifugării îndelungate a tuburilor; identificarea hemolizei ca rezultat pozitiv; utilizării reagenților contaminați, utilizării sticlăriei murdare, înregistrărilor și interpretării incorecte a rezultatelor testării.

Dificultăți de testare a hematiilor dependente de mostră

La tipizarea hematiilor se pot manifesta rezultate neașteptate din cauza:

- diminuării expresiei Ag eritocitari (în graviditate, la utilizarea remediilor hormonale, la pacienții cu leucemie și alte tumori maligne), posibil, ca rezultat al dereglării sintezei transferazelor responsabile de sinteza determinantelor antigenice A și B;

- modificării structurale a membranei eritocitare în maladiile infecțioase virale și bacteriene (aparitia Ag B asemănător și Ag T). Antigenul B adoptiv apare în urma eliminării de către microorganisme a enzimei acetilaza, care desprinde N-acetilgalactozamina de la Ag A și ca rezultat Ag A devine similar Ag B. Activitatea Ag B adoptiv este esențial mai minoră, comparativ cu Ag B obișnuit, asigurând apariția slabă și de lungă durată a aglutinării eritrocitelor cu serul anti-B. Particularitatea Ag B adoptiv este incapacitatea lui de a se aglutina cu Ac anti-B proprii prezenți în ser. Prezența pe eritrocite a Ag T conduce la poliaglutinare cu toate mostrele de ser izoaglutinabil și creează dificultăți în testarea grupeii sangvine;

- pacienții cu autoaglutinine *a frigore* pot conține eritrocite acoperite masiv cu Ac, ceea ce conduce la aglutinarea lor spontană în prezența diluantului, indiferent de specificitatea Ac reagentului;

- serul poate conține Ac care interacționează cu coloranții utilizați pentru colorarea reagenților anti-A și anti-B. Dacă pentru testare se utilizează hematiile suspendate în ser sau plasmă, acești Ac pot manifesta o aglutinare fals-positivă;

- concentrațiile majore de substanță de grupă sangvină A sau B în ser pot reacționa cu Ac reagentului și îl neutralizează, iar aceasta poate conduce la

rezultate negative ale reacției cu eritrocitele suspendate în ser sau în plasma sangvină;

- concentrațiile anormale de proteine serice, prezența în ser a macromoleculilor sau în proba de sânge ombilical a gelului Warton (Warton's jelly) pot genera agregarea nespecifică a celulelor suspendate în ser, care poate fi interpretată eronat ca aglutinare;

- în sângele pacientului cu multiple transfuzii sau cu transplant medular pot circula eritrocite aparținente concomitent la câteva grupe sangvine după AB0 (himeră transfuzională sau de transplant).

Dificultăți la testarea serului dependente de mostră

Și la tipizarea serului pot apărea rezultate false dependente de mai mulți factori:

- coagularea incompletă a sângelui (coagulele mici de fibrină din plasmă sau ser pot fi interpretate ca aglutinate);

- concentrațiile anormale de proteine sau modificarea coraportului proteinelor serice, substanțele de contrast administrate i.v., substituției de plasmă înalt moleculari pot induce agregarea nespecifică a eritrocitelor, care uneori se diferențiază greu de aglutinarea reală;

- Ac diferiți de cei anti-A și anti-B în mostra testată, pot aglutina hematii reagentului A₁ sau B, dacă acestea posedă Ag respectivi;

- Ac anti-componentele diluentului, utilizați pentru păstrarea reagenților eritrocitari A₁ și B, pot aglutina celulele independent de Ag și Ac sistemului AB0;

- la pacienții cu imunodeficiență dependentă de maladiile sau terapia administrată, nivelul Ig în unele cazuri poate fi mic, încât activitatea aglutininelor AB0 este diminuată sau total absentă. Mostrele sangvine ale pacienților la care conținutul Ac s-a redus cu vârsta sau cele ale pacienților la care concentrația Ac s-a micșorat evident în urma procedurilor de substituire a plasmei pot releva de asemenea aglutinine slabe;

- reacțiile negative sau slab manifeste se observă și la testarea serului copiilor de până la 4-6 luni de viață. Serul nou-născutului, de regulă, *nu se testează*, deoarece Ac prezenți în el sunt de origine maternă;

- titrul foarte înalt de Ac anti-A și anti-B fixatori ai complementului induce legarea intensivă a moleculelor componentului complementului la suprafața eritrocitelor și conduce la blocarea Ag membranari și aglutinarea nu se manifestă (fenomen descris la testarea serului cu utilizarea suspensiei eritrocitare în diluant fără EDTA);

- transfuzia recentă de componente plasmatici care conțin aglutinine AB0 poate induce reacții neașteptate;

- dacă pacientului i s-a transplantat măduvă osoasă compatibilă, dar nu identică după grupa AB0, atunci Ac serici nu vor corespunde Ag eritrocitari. De ex.,

la transplantul măduvei osoase de grupa 0 unui individ de grupa A, la acesta din urmă vor circula hematiile 0, iar în ser se vor secreta numai Ac anti-B.

Soluționarea contradicțiilor de testare a sistemului ABO

Dacă primar la testarea grupei sangvine s-a utilizat suspensia de eritrocite în plasmă sau ser, atunci la cercetarea repetată se recomandă utilizarea suspensiei de celule spălate cu soluție fiziologică. În cazul când divergențele persistă, se efectuează următoarele procedee:

- recoltarea unei mostre sangvine noi, care se testează și astfel contradicțiile dependente de contaminarea probelor sau marcarea incorectă dispar;
- spălarea celulelor testate și a celulelor reagentului pentru excluderea tuturor componentelor serice și chimice capabile să inducă reacții pozitive neașteptate;

- testarea eritrocitelor cu Ac anti-A, anti-B, anti-A₁ sau anti-H în funcție de caz;
- dacă se presupune prezența Ac anti-A₁, serul se testează cu utilizarea câtorva mostre eritrocitare A₂;

- screening-ul repetat al Ac cu utilizarea eritrocitelor de grupa 0 pentru detecția efectelor nespecifice ale aloanticorpilor *a frigore*;

- pentru detecția Ag slabi sau Ac reacția se efectuează la t camerei timp de minimum 30 min. Incubația poate fi efectuată și la o temperatură mai joasă, dar cu realizarea testelor în paralel cu celulele grupei 0 și autologe pentru evidențierea interferenței aglutininelor cu spectru larg, cum ar fi anti-I sau anti-H, care reacționează cu hematiile tuturor adulților.

Detecția Ag slab exprimați pe eritrocite

În detecția Ag slab exprimați pe eritrocite se pot utiliza următoarele procedee:

1. Incubarea celulelor spălate cu anti-A sau anti-B la t camerei timp de 30 min. pentru a intensifica interacțiunea dintre Ac și Ag insuficient cantitativ. Incubarea la t +4°C favorizează și mai mult legarea, dar testarea la t dată trebuie controlată cu hematiile de grupa 0 și cu celulele autogene. Aceasta permite confirmarea că reacțiile observate sunt rezultatul interacțiunii cu anti-A și anti-B, dar nu cu careva alte aglutinine *a frigore*.

2. Prelucrarea eritrocitelor pacientului cu enzime proteolitice (fișină, papaină, bromelină), care contribuie la intensificarea interacțiunii Ag-Ac cu anti-A sau anti-B. Reacția de legare a Ac cu eritrocitele ce au Ag exprimați corespunzător în unele cazuri va avea loc în primele 30 min. la t camerei, dacă hematiile au fost prelucrate în prealabil cu enzime. Pentru confirmarea specificității reacțiilor ABO este necesară testarea în paralel a eritrocitelor de grupa 0 prelucrate cu enzime.

3. Incubarea alicivotei eritrocitare la t camerei sau la +4°C cu Ac umani anti-A sau anti-B pentru absorbția Ac cu Ag eritrocitari corespunzători. Pentru absorbție/eluție nu se recomandă utilizarea lectinei anti-A₁ sau a reagenților

monoclonali. În calitate de martor la absorbție/eluție este necesar de a utiliza eritrocite de grupa 0. După incubare hematiile trebuie minuțios spălate, apoi se prepară eluatul. Ultimul se testează cu celulele de grupa A₁, B sau 0. Dacă eritrocitele posedă Ag A, atunci eluatul va aglutina A₁, dar nu și hematiile cu Ag B sau 0. Eluatele preparate din hematiile de grupa B aglutinează cu exclusivitate alte celule ale grupei B. Eluatul din eritrocitele de grupa 0 trebuie să fie areactiv. Activitatea eluatului din celulele martor de grupa 0 anulează rezultatele obținute cu eritrocitele pacientului și poate însemna, că serul anti-A sau anti-B conține alți Ac sau că procedura absorbție/eluție a fost efectuată incorect.

4. Testarea salivei la prezența substanței H, A sau B este utilă pentru clarificarea discordanțelor doar în cazurile când pacientul este secretor, dar acest detaliu poate să rămână necunoscut până la finalizarea cercetării.

Testarea Ag B adoptiv

Pentru confirmarea prezenței Ag B adoptiv pe suprafața eritrocitelor grupei A este necesar:

1. Să se concretizeze diagnosticul pacientului. De regulă, Ag B adoptiv se înregistrează în stările care favorizează pătrunderea bacteriilor intestinale în fluxul sangvin, deși uneori el poate fi depistat și pe suprafața eritrocitelor donatorilor.

2. Să se testeze serul pacientului cu eritrocitele proprii. Ac anti-B ai acestui individ nu aglutinează hematiile cu Ag B adoptiv al propriilor lui celule.

3. Să se testeze eritrocitele cu reagenți monoclonali anti-B. Spre deosebire de serurile umane, unii Ac monoclonali nu reacționează cu celulele de fenotip B adoptiv.

4. Să se testeze eritrocitele cu serul anti-B uman cu pH 6,0. Ac anti-B umani în mediul acid nu interacionează cu Ag B adoptiv.

5. Dacă pacientul este secretor, se va testa saliva acestuia la prezența Ag A și B. Secretorii, eritrocitele cărora posedă Ag B adoptiv, conțin în salivă substanța A și nu conțin substanța B.

6. Să se prelucreze eritrocitele cu anhidridă acetică care reacționează moleculele superficiale ale celulelor și diminuează esențial reactivitatea hematiilor cu Ag B adoptiv. Anhidrida acetică nu influențează reactivitatea Ag obișnuit de grupa B.

Antigenii A identici adoptivi

Discordanțele după sistemul AB0 pot fi observate și în cazurile de poliaglutinare Tn, când este dereglată sinteza oligozaharidelor prezente în normă pe moleculele sialoglicoproteinelor, ceea ce conduce la apariția pe suprafața eritrocitelor a structurilor antigenice aberante (criptantigeni). Restul glucidic neprotejat terminal prezintă GalNAc (monozaharidă) care apreciază specificitatea Ag A. Unele mutații somatice ale celulelor stem duc la formarea unei populații stabile de celule – așa-numitele Tn-activate. Celulele Tn-activate de grupele 0 și B se manifestă

asemenea celor purtătoare de Ag A, capabile să reacționeze cu reagenții anti-A monoclonali sau cu cei umani. Ag A identic al hematiilor Tn-activate poate fi diferențiat de Ag A produs de transferaza genei A dacă până la testare eritrocitele vor fi prelucrate cu enzime proteolitice. Ultimele scindează moleculele purtătoare de criptoantigeni, făcând imposibilă capacitatea lor de a reacționa cu anti-A.

Aglutinarea „mixed-field”

Uneori se întâlnesc mostre sangvine care conțin două populații diferite de hematii. De regulă, acest fapt denotă despre o transfuzie recentă cu hematii de grupa 0, aplicată recipientului cu o altă grupă sangvină, sau despre transplantarea măduvei osoase care diferă de cea a recipientului după sistemul AB0. Himerismul grupelor sangvine la schimbul de țesuturi eritrocitare între gemenii heterozigoți sau în prezența mozaicismului conduce, de asemenea, la apariția unui amestec eritrocitar. În toate aceste cazuri la testarea eritrocitelor după sistemul AB0 poate fi observată aglutinarea „mixed-field”. La transfuzie aceasta se va observa pe tot parcursul perioadei de viața a hematiilor.

După transplantul medular, reacția va dispărea odată ce la pacient s-a inițiat sinteza de eritrocite proprii, iar la unii recipienți pot fi înregistrate populații „mixed-field” constante. În cazul himerismului sangvin, reacția se manifestă pe parcursul întregii vieți. Aglutinarea tip „mixed-field” este caracteristică pentru hematiile A₃ și reagentul anti-A. Dacă se elimină celulele aglutinate, iar eritrocitele rămase se testează din nou cu anti-A, se va observa aglutinarea hematiilor rămase care n-au fost aglutinate anterior.

Eritrocitele acoperite cu anticorpi. Hematiile copiilor cu boala hemolitică a nou-născutului și cele ale adulților cu maladii autoimune și aloimune uneori poartă pe suprafața lor molecule de IgG și manifestă aglutinare spontană în prezența diluanților de reagenți care conțin proteine în concentrații majore (18-22%). Aceste concentrații de proteine sunt caracteristice pentru unii reagenți anti-D. Uneori eritrocitele sensibilizate pot manifesta aglutinare la utilizarea reagenților AB0 cu concentrația proteinelor de 6-12%. Majoritatea Ac se pot detașa de pe suprafața eritrocitelor cu ajutorul eluției ușoare la +45°C, după care aceste celule pot fi utilizate pentru testarea cu anti-A și anti-B. Hematiile mostrelor care conțin autoaglutinine *a frigore* IgM pot să se aglutineze spontan în testele cu soluție fiziologică. Acești Ac pot fi extrași prin incubarea suspensiei celulare la t +37°C, urmând spălarea lor repetată cu soluții saline încălzite până la t +37°C. Dacă aglutinarea nu dispare, atunci eritrocitele necesită prelucrare cu ditiotreitol (DTT).

Soluționarea divergențelor dependente de reacțiile neprevăzute ale serului

Erорile testărilor serologice pot fi dependente de unele fenomene ca:

1. Concentrația de Ac anti-A și anti-B la pacienții cu imunodeficiențe poate fi sub limita de sensibilitate a metodei de detecție utilizată. Acești Ac pot fi absenți

în serul nou-născutului sau în concentrații minore la persoanele aparent sănătoase de vârstă înaintată.

2. Concentrațiile majore anormale de Ac anti-A și anti-B pot fi cauza *zoneni proaglutinante*, care va genera rezultate fals-negative. În aceste cazuri grupa sangvină poate fi determinată după diluarea serului sau după prelucrarea acestuia cu EDTA (2,5%).

3. Ac anti A_1 din serul persoanelor cu A_2 , A_2B sau altă subgrupă sangvină aglutinează hematiile reagentului A_1 . Pentru confirmarea cauzei generatoare de asemenea contradicții este necesar de a testa serul dat cu mostre eritrocitare sangvine A_1 , A_2 și 0 (preferabil câte 3 mostre de celule de fiecare grupă); Ac pot fi specificați ca anti- A_1 numai în cazul când ei vor aglutina hematiile celor 3 probe de grupa A_1 și nici una din grupele A_2 sau 0. Concomitent se utilizează lectina din *Dolichos biflorus* și serul sangvin uman de grupa B, în calitate de reagent anti- A_1 pentru a confirma că celulele persoanei date nu aparțin la subgrupa A_1 . Majoritatea mostrelor anti- A_1 reacționează doar la t sub $+30^\circ\text{C}$ și nu au valoare clinică, cu toate că unele reacționează la 37°C și sunt de semnificație clinică. Pentru transfuzie în cazul dat se permite utilizarea numai a eritrocitelor A_2 sau 0.

4. Autoaglutininele *a frigore* anti-I și anti-H cu activitate majoră pot aglutina eritrocitele adulților, inclusiv pe cele autologe și reagente. Cu mici excepții, autoaglutininele *a frigore* induc o reacție mai puțin expresivă decât anti-A și anti-B. Când reactivitatea dată face dificilă interpretarea testelor, se procedează în modul următor:

a) înainte de testarea serului și a eritrocitelor acestea se încălzesc până la 37°C . Dacă este necesar, se poate utiliza testul antiglobulinic. Mostrele serice slab reactogene anti-A sau anti-B nu se depistează la utilizarea metodei date, deoarece t optimă pentru activitatea Ac este sub 37°C . La persoanele cu grupele sangvine A sau B Ac AB0 sunt prezenți în special sub formă de IgM, care nu pot fi apreciate la testarea antiglobulinică standard cu utilizarea reagenților anti-IgG. Mostrele anti-A și anti-B cu concentrații minime sau chiar absente de IgG pot să nu fie detectate;

b) este necesar să se extragă autoaglutininele *a frigore* din ser prin metoda de autoabsorbție la rece. Serul absorbit se testează ulterior cu eritrocitele reagenților A_1 și B;

c) serul se va prelucra cu DTT, după care se poate utiliza în testarea de grupă reversă. DTT induce pierderea capacității Ac IgM de aglutinare, aceste teste necesitând realizare în faza antiglobulinică pentru detecția IgG. Deoarece multe persoane de grupa sangvină A sau B nu secretă cantități majore de IgG cu activitate anti-A sau anti-B, interpretarea rezultatelor negative trebuie efectuată cu prudență.

5. Aloanticorpii anti- P_1 sau anti-M activi la t camerei pot aglutina eritrocitele utilizate la testarea serologică, dacă ultimele conțin Ag respectivi. De obicei,

celulele reagentului utilizat pentru detecția Ac vor aglutina la t camerei. Testarea corectă a serului AB0 care conține alți aloanticorpi *a frigore* include: a) amestecul serului și celulelor la $t+30-37^{\circ}\text{C}$, contradicțiile fiind evitate, dacă t optimă de interacțiune a aloanticorpilor este mai joasă decât t la care reacționează anti-A și anti-B; b) identificarea aloanticorpilor cu posibila detecție ulterioară a Ag respectivi pe eritrocitele reagenților A_1 sau B. Utilizarea pentru testarea serului a eritrocitelor A_1 și B, pe care este absent Ag dat; c) în cazul probei negative, cercetarea serului pentru detecția Ac se va efectua prin utilizarea câtorva mostre eritrocitare A_1 și B. Serul poate conține Ac anti-Ag rar înregistrați sau absenți pe majoritatea eritrocitelor A_1 și B spontan colectate pentru testare.

6. Concentrațiile anormale de proteine în ser, dereglarea coraportului lor sau utilizarea reagenților înalt moleculari, a substituenților de plasmă pot conduce la agregarea eritrocitelor și imita aglutinarea. În unele cazuri apar agregate de tip „stâlpușori numulari”, vizibile la microscop, dar mai frecvent agregatele au formă diversă și sunt foarte asemănătoare aglutinatelor induse de Ac. În aceste cazuri pentru a obține rezultate plauzibile, serul poate fi diluat cu soluție salină în raport 1:3, pentru a exclude astfel proprietățile agregante.

Sistemul antigenic eritocitar Rhesus

Sistemul antigenic eritocitar Rhesus înglobează 48 Ag, dar numai 5 (D, C, E, c, e) dintre aceștia și Ac lor respectivi sunt responsabili de manifestările clinice (99% din cazuri) relaționate cu sistemul Rh. De importanță clinică majoră se consideră Ag D, care posedă proprietăți imunogene evidente și este cauza maldiei hemolitice a nou-născutului în 95% din cazurile de incompatibilitate dintre mamă și făt, precum și a complicațiilor severe posttransfuzionale. Pentru Ag sistemului Rhesus este caracteristic un polimorfism marcat prin diversitate mare.

Factorul D este un aglutinogen eritocitar care se pune în evidență prin fenomenul de aglutinare, dacă eritrocitele sunt puse în contact cu un ser ce conține anticorpi homologi lui, anticorpi anti-D. Tipizarea Rh obișnuită include numai aprecierea Ag D, iar testarea de expresie a Ag D de nivel scăzut se utilizează numai pentru sângele donatorilor. Testele pentru alți Ag Rhesus se efectuează în identificarea Ac anti-Rh neprevăzuți, obținerea sângelui compatibil pentru pacienții cu Ac anti-Rh, la stabilirea paternității, în selectarea panelului de celule pentru fenotipizarea sau pentru aprecierea individului dacă acesta este homozigot sau heterozigot după Ag D.

Pentru selectarea sângelui compatibil pentru transfuzie unui pacient posesor de Ac anti-Rh slabi, testele cu reagenți de activitate elevată demonstrează mai exact absența Ag decât rezultatele „cross-mutch” la compatibilitate. Aprecierea fenotipului pacientului poate confirma specificitatea Ac și probabilitatea altor Ac anti-Rh.

Testarea standard a Ag D

Pentru identificarea Ag D în testele pe lamă, microplășe sau în tuburi se utilizează reagenți policlonali anti-D ce conțin în cantități majore proteine umane. Actualmente sunt larg utilizați în acest scop Ac monoclonali anti-D, iar în cercetare pot fi utilizate eritrocitele suspendate în mediu salin, ser sau plasmă, condițiile de efectuare a testului fiind în concordanță cu indicațiile producătorului (ele pot fi diferite).

Condițiile *sine qua non* pentru aprecierea veridică a apartenenței Rh este calitatea reagenților folosiți pentru tipizare (specificitatea strictă și activitatea înaltă) și respectarea instrucțiunii de realizare a testului. Reagenții standard destinați pentru o metodă nu pot fi utilizați în alte teste. Despre calitatea insuficientă a reagenților utilizați denotă reacția slab-pozitivă a mostrelor de control cu apartenență Rh-pozitivă. Instrucția pentru aprecierea apartenenței sangvine Rhesus prevede martori pentru fiecare serie de cercetare (verificarea zilnică a calității).

Dacă în reagent sunt urme de Ac de altă specificitate, aceasta conduce la erori în aprecierea apartenenței Rhesus. Astfel, sângele Rhesus-negativ poate fi apreciat ca Rh-pozitiv, dacă în reagentul de tipizare anti-D sunt mixați Ac de altă specificitate, de ex, anti-K, anti-E, anti-C și dacă eritrocitele cercetate conțin Ag respectivi.

Instrucțiunile de tipizare a Ag și Ac sistemului Rhesus sunt elucidate în Anexa 6.

Mai dificilă pentru aprecierea apartenenței Rhesus rămâne interpretarea rezultatelor reacțiilor slab pozitive, când aglutinarea eritrocitelor cercetate cu serul anti-D este apreciată ca fiind pozitivă și apare sub aspect de aglutinate mici. În cazul dat reacțiile slab pozitive pot fi generate de:

- prezența pe eritrocitele cercetate a autoanticorpilor care induc reacție slab-pozitivă prin legarea cu componentele reagentului anti-Rhesus (poliglucina, gelatina, albumina). Descifrarea acestor reacții fals-pozitive este posibilă prin realizarea testelor control pentru fiecare cercetare. Controlul presupune cercetarea mostrei sangvine cu 33% poliglucină sau gelatină ori prin efectuarea cercetării cu reagent special pentru control fără Ac anti-D;
- scăderea activității Ag sistemului Rhesus generat de unele maladii. În cazurile date la unul și același individ se observă divergențe cu rezultatele precedente de apreciere a apartenenței Rhesus.

În toate cazurile dubioase pentru cercetarea sistemului Rhesus este necesară utilizarea testului antiglobulinic (proba Coombs). Se recomandă efectuarea testului antiglobulinic nu numai cu serul antiglobulinic standard, dar și cu reagent monospecific anti-IgG. Aceasta oferă posibilitatea excluderii reacțiilor de aglutinare nespecifice, care pot fi generate de interacțiunea dintre componentii complementului absorbiți pe suprafața eritrocitelor cercetate și Ac anticomplementari conținuți în serul antiglobulinic. În cazurile complicate, concluzia despre prezența Ag D se va emite numai în baza testului antiglobulinic. Cercetarea trebuie să fie însoțită de control la specificitatea reacției: eritrocitele cercetate sunt spălate și sensibilizate

cu serul AB fără Ac și cu reagentul anti-IgG. Absența aglutinării în control denotă veracitatea rezultatului obținut. Prezența aglutinării în control anunță absorbția autoanticorpilor pe eritrocite și deci nu permite concluzia corectă despre apartenența Rhesus a mostrei cercetate. Dacă recipientului nu i se poate aprecia apartenența sangvină Rhesus, atunci i se transfuzionează hematii Rh-negative. Algoritmul de apreciere a apartenenței Rhesus în cazurile dificile este redat în fig. 9.2.

Rezultatele fals-negative pot fi dependente de particularitățile individuale ale mostrei: prezența Ag D parțial sau D slab, diminuarea Ag în diferite maladii sau pe fond de graviditate, absorbția pe eritrocitele cercetate a unui număr major de Ac care împiedică interacțiunea Ag D cu Ac anti-D ai reagentului care determină absența aglutinării. Controlul în cazul dat poate fi atât pozitiv, cât și negativ. La prezența autoanticorpilor pe eritrocitele cercetate mai eficientă este metoda de aglutinare în gel (mai rar, dar se poate observa reacția pozitivă și în mostrele de control).

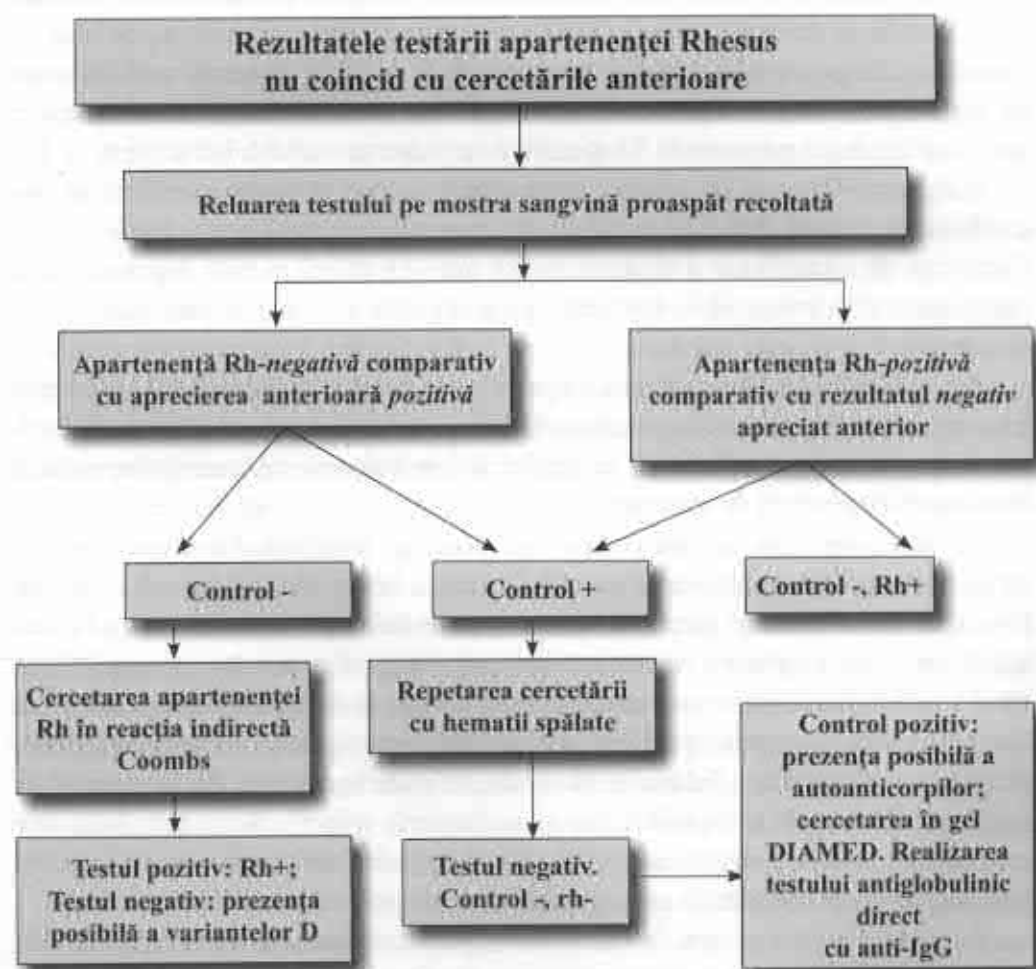


Figura 9.2. Algoritmul cercetării apartenenței Rhesus în cazurile dificile de diagnostic

Caracterul aglutinării este dependent de cantitatea epitopilor pe eritrocite. Mostrele eritrocitare cu număr major de epitopi manifestă aglutinare cu 4+, pe când variantele antigenice slabe denotă aglutinare în diapazon de 3+ până la +. În cazul aglutinării în control, cercetarea se repetă cu eritrocite spălate și suplimentar se cercetează prezența autoanticorpilor calzi și *a frigore*. Dacă au fost apreciați autoanticorpii, tipizarea Ag eritrocitari se realizează după autoabsorbție și eluția autoanticorpilor.

În sistemul antigenic Rh se întâlnesc cazuri când eritrocitele nu conțin unii Ag sau pot fi absenți toți Ag acestui sistem (fenomenul „*hematii Rh-nule*” – tipul Bombay). Cauza apariției acestui fenotip poate fi interacțiunea genică care conduce la supresia formării substanței predecesoare din care apar Ag CDE. Hematiile care nu posedă Ag Rh au alterări de structură membranară, care reduc viabilitatea acestora. La indivizii cu hematii Rh-nule au fost testați Ac „naturali” anti-Rhesus.

A mai fost descris și Ag G în mostrele eritrocitare care conțin Ag D și C. Posedă imunogenitate și 30% din serurile anti-D și 100% de seruri anti-DC conțin suplimentar Ac anti-G. Acest fapt trebuie luat în considerație la identificarea specificității Ac la persoanele Rh-pozitive în prezența variantelor antigenice D.

Anticorpii-Rh sunt de origine imunogenă și apar în urma transfuziilor sau conflictului „mamă-făt”. Mai frecvent sunt prezentați de IgG, active la t 37-48°C. Frecvența de identificare a aloanticorpilor anti-Ag diferă și este dependentă de imunogenitatea antigenilor, frecvența de înregistrare a lor. Imunogenitatea Ag sistemului Rhesus este următoarea: $D > c > E > C > e$.

Ac IgG anti-Ag Rh eritrocitare aparțin subclaselor IgG1 și IgG3, care mai frecvent induc complicațiile posttransfuzionale și boala hemolitică a nou-născutului. Autoanticorpii anti-E, -D se depistează la bolnavii cu anemie hemolitică autoimună dependent de anticorpii calzi.

Testul Coombs (testul antiglobulinic) pune în evidență Ac antieritrocitari, fixați pe suprafața eritrocitelor (testul direct) și liberi din ser (testul indirect). Principiul testului direct (testul eritrocitar) se bazează pe capacitatea serului antiglobulinic de a aglutina eritrocitele ce au pe suprafața lor Ac incompleți, pe când testul indirect (seric) se bazează pe evidențierea Ac incompleți nefixați din ser după fixarea lor pe eritrocitele normale de grupa 0, care sunt apoi aglutinate de serul antiglobulinic. Tehnicile date sunt utilizate în testarea Ac incompleți în conflictul Rhesus, în maladiile autoimune, în unele infecții. Serul antiglobulinic este obținut prin imunizarea iepurilor cu imunoglobuline umane. Acest ser conține Ac compleți (bivalenți) anti-Ig umani care și asigură vizualizarea reacției.

În testul Coombs direct la eritrocitele spălate ale pacientului (2 picături de suspensie 5% eritrocite pentru cercetare) se adaugă ser antiglobulinic (prima picătură) și soluție izotonică de NaCl (a doua picătură – primul martor). Reacția

este însoțită de al doilea martor (o picătură de 5% eritrocite ale donatorului de sânge de aceeași grupă ca și eritrocitele cercetate și o picătură de ser antiglobulinic). Conținutul picăturilor este amestecat separat cu o baghetă de sticlă, iar lama este agitată periodic prin înclinarea ei cu monitorizarea reacției timp de 10 minute. La reacția pozitivă se observă formarea aglutinatelor și limpezirea picăturii, și absența ei la martori. În cazul rezultatului negativ, picătura rămâne de culoare roșie omogenă. Rezultatul pozitiv denotă sensibilizarea eritrocitelor cu Ac incompleți. Testul este folosit în scop diagnostic pentru identificarea Ac imuni blocanți de orice origine, a factorului D, pentru selecționarea sângelui compatibil al donatorului în cazul sensibilizării organismului recipientului cu diverși factori în hemotransfuziile precedente.

Testul Coombs indirect denotă prezența Ac liberi antieritrocitari în serul sangvin al pacientului. La serul pacientului se adaugă eritrocite spălate ale donatorului de grupa 0 și se incubează la $t + 37^{\circ}\text{C}$ timp de 30 min., apoi eritrocitele sunt spălate. Ulterior la ele se suplimentează serul antiglobulinic. Reacția este însoțită de martorii respectivi (eritrocite Rh^+ , Rh^-). Aglutinarea eritrocitelor are loc în decursul a 30-60 sec., dar la un titru mic de Ac poate apărea mult mai târziu. Prezența aglutinării denotă că în serul pacientului sunt Ac incompleți antieritrocitari, iar absența cu toate tipurile de hematii indică lipsa Ac anti-Rh în serul cercetat.

Fenomenul de prozonă apare în cazul concentrației mari de Ac. Pentru excluderea acestuia serul trebuie diluat 1:8 sau 1:16, iar uneori și mai mult. În aceste diluții Ac anti-Rh devin activi și aglutinează eritrocitele Rh^+ . Uneori pot fi rezultate fals-negative datorate spălării insuficiente a eritrocitelor, coraportului necorespunzător dintre ser și hematii, neglijării perioadei de incubație, păstrării îndelungate a eritrocitelor spălate etc.

În realizarea testului pot apărea erori la prezența Ac compleți în ser (aglutinarea va fi manifestă în proba martor), infectarea serului, prezența sărurilor de siliciu (după frecarea intensivă a suprafețelor de sticlă), prelucrarea insuficientă a tuburilor, contaminarea soluției fiziologice cu ioni de metale grele etc. Testul Coombs indirect este folosit pentru decelarea Ac incompleți serici și în alte lichide ale organismului, pentru identificarea Ac compleți într-un titru subaglutinabil, pentru selecția sângelui la transfuzie bolnavilor sensibilizați, mai ales la gravide izoimunizate în diferite sisteme de grupă sangvină, la politransfuzii sau în cazul unor infecții (bruceloză, febra Q, febra tiroidă etc.).

Printre *alte sisteme antigenice eritrocitare* Ag Kell posedă imunogenitate majoră și este de importanță clinică la transfuziile sangvine. Pe eritrocitele fetale Ag sistemului Kell se afișează precoce, în primele luni de sarcină. Anticorpii anti-Kell sunt frecvent înregistrați în serul pacienților care urmează transfuzii

sangvine, aparțin clasei IgG, manifestă activitate, mai ales în testul TAG. Testarea Ag K se realizează pe lamă cu utilizarea AcMo respectivi.

Caracteristica detaliată a altor sisteme eritrocitare vezi „Izoimunologie în teoria și practica medicală” (autor L. Andrieș et al.).

Aprecierea concomitentă a grupei sangvine după sistemul AB0 și apartenența Rhesus cu tipizarea Ag eritrocitare poate fi realizată prin utilizarea cartelelor de identificare ID-Diamed, Bio-Rad (5 tuburi cu un amestec de gel și antiseruri diverse și 1 tub de control cu gel neutru fără Ac, încorporați într-o placină de plastic). Marcajul tuburilor indică Ag testați (fig. 9.3).

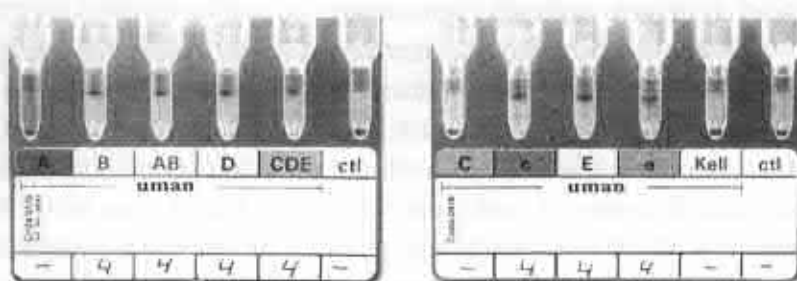


Figura 9.3. Elucidarea schematică a cartelelor de identificare a Ag eritrocitari ai sistemelor sangvine AB0 și Rh

Notă: A, B, AB, D CDE, C, c, E, e, Kell – antigeni eritrocitari testați; ctl-control, +/- prezența sau absența aglutinării.

La suplimentarea eritrocitelor cercetate (0,01ml) în tuburile plastinei, în cazul prezenței Ag și Ac respectivi, are loc aglutinarea hematiilor care este intensificată la centrifugarea ulterioară. Aglutinatele formate vor rămâne în partea superioară a tubului, datorită mărimii mari ele nu traversează gelul (rezultat pozitiv). La absența antigenului în mostra eritocitară cercetată aglutinatele nu se formează, iar hematiile la centrifugare sedimentează la fundul tubului (rezultat negativ). Specificitatea cercetării este confirmată de rezultatul negativ al controlului.

Reacția de aglutinare a leucocitelor

Acest tip de reacție este bazat pe capacitatea anticorpilor antileucocitari de a aglutina celulele leucocitare care conțin antigeni specifici amplasați pe suprafață și în citoplasmă. Rolul patogenetic al Ac antileucocitari a fost constatat în apariția leucopeniei posttransfuzionale, agranulocitozei medicamentoase, în incompatibilitatea la homotransplant. În caz de iradiere a organismului, la utilizarea unui șir de remedii farmaceutice, acțiunii produselor toxice, transplantarea țesutului homolog, transfuzii sangvine repetate incompatibile, leucemii, în sânge

pot apărea leucoaglutinine imune care reacționează cu leucocitele non-proprie (izoanticorpii) sau proprii (autoanticorpii).

Aglutinarea în mediul salin permite identificarea Ac leucoaglutinanți compleți. Serul cercetat se amestecă cu o suspensie de leucocite. Obținerea suspensiei leucocitare prezintă dificultăți datorită perioadei minore de viabilitate (nu mai mult de 6 ore) a acestor celule. De aceea prepararea ei se efectuează *ex tempore* (cu o prezență minoră a hematiilor) prin suplimentarea la sânge a unui amestec din 100 ml sol. 0,85% clorură de sodiu, 2,5 g gelatină, 3 g citrat de sodiu și 3 g zaharoză în coraport de 10:3, timp de 30 min. la *t* camerei. Hematiile sedimentează, iar supernatantul conține leucocite și trombocite. La centrifugarea lui la 800 rot./min. timp de 4 min. leucocitele sedimentează, supernatantul cu trombocite este eliminat. Sedimentul leucocitar este spălat de 2 ori cu sol. fiziologică cu prepararea concentrației necesare (3000-5000 cel./mm³). Serul de cercetat este încălzit la *t* 56°C timp de 10-20 min. înainte de realizarea reacției, deoarece serul nativ conține un sistem termolabil care inhibă leucoaglutinarea.

La 0,1 ml de ser pentru cercetare în diverse diluții se adaugă 0,05 ml suspensie leucocitară. Reacția se realizează în mediul salin (sol. fiziologică) mai favorabil pentru leucoaglutinare, comparativ cu cel seric. Reacția poate fi realizată în tuburi sau pe o lamă cu godeuri, cu incubarea acesteia într-o „cameră umedă” la *t* 37°C, după ce în fiecare eprubetă se adaugă câte o picătură de 3% acid acetic pentru hemoliza eritrocitelor restante. Din tuburi se transferă câte o picătură pe o lamă (sau se cercetează lama cu godeuri) cu microscopia (x100) celulară. La absența aglutinării leucocitele sunt dispersate uniform în câmpul de vedere, iar la un rezultat pozitiv se constată aglomerate leucocitare de diverse mărimi. Intensitatea aglutinării este apreciată după mărimea aglutinelor: ++++ leucocitele sunt aglutinate complet cu absența celulelor libere; +++ aglomerări mari de leucocite, celule unice libere; + predominarea leucocitelor libere pe fundal minor de celule aglutinate; – leucocitele sunt difuz dispersate. Reacția este însoțită de martor: ser normal compatibil care nu conține Ac antileucocitari și suspensia leucocitară. În cazul reacției pozitive în tubul martor reacția nu fa vi valorificată. Acest fenomen este caracteristic leucocitelor gravidelor, proceselor inflamatorii cronice și nu apare la realizarea reacției într-o soluție de 2% clorură de sodiu.

Reacția de aglutinare a trombocitelor

Testarea anticorpilor care aglutinează trombocitele are importanță în diagnosticul mecanismelor unor tipuri de trombocitopenii și este un criteriu diagnostic în transfuziologie, în ciroza hepatică, în unele colagenoze. Trombocitele posedă diverși Ag pe suprafața membranei și pot fi aglutinate de Ac. Anticorpii

antitrombocitari pot interacționa cu trombocitele non-proprie (izoanticorpi) și proprie (autoanticorpi) în regim cald și rece (în funcție de metoda utilizată pentru obținerea celulelor și realizarea reacției). Mai importante sunt cele care reacționează la t de 37°C . Pentru realizarea reacției în mediul salin o importanță majoră are pregătirea sticlăriei de laborator, deoarece trombocitele posedă capacitate de adsorbție la suprafețele umede cu formarea aglutinatelor. Vesela este prelucrată în aburi de silicon sau prin scufundarea ei într-o soluție de cloroform, eter etc.

Pentru prepararea suspensiei trombocitare la 9 volume de sânge se adaugă un volum de trilion B, amestecul obținut se centrifughează la 1000 rot./min. timp de 10 min. Supernatantul obținut (plasma cu trombocite) se transferă în alt tub și din nou este centrifugat la 2000 rot./min. timp de 30 min. după ce plasma este eliminată, iar la sedimentul trombocitar se adaugă sol. fiziologică pentru spălarea celulelor (3-5 ori). Ulterior, din sedimentul trombocitar se prepară o suspensie ($150\ 000\text{-}250\ 000$ celule/ mm^3) în soluție fiziologică, care se lasă la t camerei timp de 30 min.

În condiții normale, serul conține factori capabili de agregare a trombocitelor și pentru excluderea lor poate fi utilizată prelucrarea serului prin suplimentarea heparinei, citratului de sodiu etc.

Serul cercetat (diluții diverse) și suspensia trombocitară în volume egale se amestecă și se incubează la t 37°C cu microscopia ulterioară pentru identificarea aglutinării trombocitelor. Intensitatea aglutinării este apreciată prin plusuri: – absentă; + aglutinare slabă; ++ aglutinare moderată; +++ aglutinare intensivă.

Varianta reacției la rece este realizată prin incubare la t $+4^{\circ}\text{C}$ timp de 16-18 ore. În cazul când anticorpii antitrombocitari au caracter incomplet și doar se fixează pe suprafața celulelor fără aglutinare vizibilă, poate fi utilizată metoda directă și indirectă de adsorbție (epuizare) cu ser antiglobulinic.

Latex-aglutinarea

Latex-aglutinarea este o metodă de identificare a Ac din serul pacienților. Ag este legat de latex, iar dacă serul testat conține Ac ce recunosc Ag, va avea loc aglutinarea particulelor de latex. Se utilizează pentru identificarea PCR, ASLO, FR. Astfel, în cazul identificării FR din serul pacientului, IgG sunt fixate pe latex și vor reacționa cu factorul reumatoid, particulele de latex vor fi aglutinate, reacția fiind considerată pozitivă.

Reacția de hemaglutinare indirectă (pasivă)

Hematiile umane de grupa 0 sau ale berbecului, păsărilor prelucrate cu acid tanic (glutaraldehidă sau alte substanțe tanante) pot adsorbi pe membrana lor diferiți Ag (proteine, polizaharide etc.) sau anticorpi, care ulterior sunt aglutinați la interacțiunea cu Ac sau, respectiv, cu Ag omolog.

Eritrocitele sunt folosite ca adsorbant universal atât pentru diferiți Ag microbieni, tisulari etc., cât și pentru Ac. Actualmente, fabricile biologice produc teste-antigen și teste-anticorp pe hematii de oaie (sau păsări). Pentru identificarea Ac în unele maladii infecțioase și neinfecțioase în serul bolnavilor sunt utilizate hematiile încărcate cu Ag specific, iar pentru identificarea Ag din substratul patologic de la bolnavi sau a diferitor factori din mediul ambiant, pentru identificarea proteinelor de diferite specii în medicina legală sunt utilizate testele cu Ac.

Reacția se realizează în plăci cu godeuri, în tuburi, pe sticlă, în capilare etc. Cea mai utilizată variantă a reacției este efectuarea ei în plăci cu godeuri.

Pentru *identificarea Ac* în serul bolnavilor se folosesc hemotest-antigeni. În godeurile plăcii, începând cu al doilea, se introduc câte 0,5 ml soluție 1% de ser normal de iepure. În primul și al doilea godeu se introduc câte 0,5 ml ser de cercetat diluat 1:10. Amestecul din al doilea godeu se agită prin pipetare (2-3 ori), apoi 0,5 ml este transferat în al treilea godeu ș. a. m. d. până la ultimul, din care 0,5 ml este eliminat. În toate godeurile se introduc câte 0,05 ml de antigen-hemotest. Reacția este însoțită de martori ai ingredientelor reacției: a) controlul negativ al eritrocitelor sensibilizate (0,05 ml antigen-hemotest + 0,5 ml 1% sol. de ser de iepure diluant; b) controlul negativ al serului de cercetat (0,05 ml de ser cercetat 1:10 și 0,05 ml suspensie de eritrocite normale). Suspensia se agită și se incubează la t 37°C timp de 2-3 ore sau la t camerei până la a doua zi, când se controlează rezultatele reacției.

Pentru *identificarea Ag* se folosesc anticorpi-hemotest. În godeuri se introduc câte 0,5 ml de soluție diluant 1%. În primul godeu se introduc 0,5 ml material de cercetat (Ag), se agită prin pipetare, după care 0,5 ml se transferă în al doilea, după agitare în al treilea godeu ș. a. m. d., până la ultimul, din care se elimină 0,5 ml. În asemenea mod se realizează o diluție necesară a materialului (Ag) de cercetat. Apoi în godeuri se introduc câte 0,05 ml de Ac-hemotest cu agitarea conținutului godeurilor prin înclinări repetate și incubare la t 37°C timp de 2-3 ore sau la t camerei pentru 18-22 de ore. Reacția este însoțită de martori: a) controlul eritrocitelor normale (0,05 ml eritrocite prelucrate cu acid tanic + 0,5 ml 1% sol. de ser de iepure); b) controlul eritrocitelor sensibilizate (0,05 ml eritrocite sensibilizate + 0,5 ml soluție diluant; c) controlul materialului de cercetat (0,5 ml material de cercetat + 0,05 ml eritrocite normale). Reacția poate fi efectuată și în microtitratorul Tacaci. În godeuri se introduc câte 0,025 ml material pentru cercetare în diluțiile corespunzătoare și câte 0,025 ml 1% suspensie de eritrocite sensibilizate cu Ac. Probele sunt incubate la t 37°C timp de 2 ore, după care se controlează rezul-

tatele. Controlul rezultatelor reacției se efectuează preliminar după 2-3 ore de incubație la termostat sau 5-7 ore la t camerei. Este apreciat sedimentul eritrocitelor în probele martor și de cercetare după scala de plusuri: ++++ reacție intens pozitivă (sedimentul eritrocitelor este uniform pe fundul godeului, în strat în formă de umbrelă răsturnată cu marginile înfășurate înăuntru); +++ reacție evident pozitivă (eritrocitele sedimentează pe fundul godeului în strat uniform, uneori marginile lui fiind conturate neuniform); ++ reacție pozitivă (sedimentul eritocitar are un diametru mai mic, la fundul godeului se constată un cerculeț mic de eritrocite sedimentate mai compact); + și +/- reacție slab pozitivă (eritrocitele sunt sedimentate în formă de inel sau cerculeț compact cu o margine grăunțoasă); – reacție negativă (sedimentul eritrocitelor are formă de inel compact cu margini conturate). Concoment, în probele martor se constată reacție negativă.

Reacția de precipitare

Reacția de precipitare se încadrează în metodele serologice simple de diagnostic rapid, fiind înalt sensibile și specifice. Se folosește pentru diagnosticul maladiilor infecțioase, în medicina legală pentru identificarea originii petelor de sânge etc.

Principiul reacției este bazat pe precipitarea antigenului (Ag) molecular de către anticorpii (Ac) din serul imun cu formarea complexelor imune. Complexele precipită atunci când cei doi reactanți se găsesc în anumite proporții, excesul unuia dintre ei determinând uneori inhibiția reacției.

Reacția se efectuează în mai multe variante, cel mai des utilizate fiind următoarele: reacția de floculare la amestecul diferitor diluții de Ag și ser; reacția de precipitare inelară la stratificarea pe serul cercetat a diferitor diluții de Ag; turbidimetria; nefelometria; imunodifuzia radială simplă; difuziunea radială dublă (Ouchterlony), migrarea electroforetică în sens opus; imunoelectroforeza; electroforeza în gel ce conține Ac. Pentru realizarea primei variante se amestecă cantități egale de ser nativ (sau diluat 1:2) cu diferite diluții de Ag, se agită, apoi se incubează la t 37°C timp de 2 ore, după ce tuburile sunt lăsate 18-20 de ore la temperatura camerei. În cazul reacției pozitive la fundul tubului apar fulgi de precipitat. Reacția este controlată cu ochiul liber sau cu ajutorul lupei.

Pentru realizarea reacției de precipitare în formă de inel în tuburi înguste (10x100 mm) se introduce serul nativ, apoi diluția de antigen se prelinge lent pe peretele tubului cu o pipetă Pasteur (tab. 9.8) în așa fel, încât în tub să se formeze 2 straturi. La stratificarea corectă se vede limita dintre Ag și ser. Tuburile se incubează la t 37°C timp de 30 min. sau sunt lăsate la t camerei timp de o oră. În cazul reacției pozitive între cele 2 straturi lichide se formează un inel alb.

La controlul reacției de precipitare, titrul serului se consideră diluția maximă a Ag cu care s-a format inelul de precipitare.

Controlul definitiv al rezultatelor reacției se efectuează după 6-12 ore, sau după 18-24 de ore, acestea fiind exprimate prin: depunere, depunere ușoară, depunere puțin observabilă, sedimentare completă etc.

Tabelul 9.8

Schema reacției de precipitare inelară (după Ascoli)

Reagenți	Tuburi							
	Experi- ment	Martori*						
		1	2	3	4	5	6	7
Anticorpi (ser precipitant)	0,3	0,3	0,3	0,3	-	-	-	-
Serul normal al speciei date de animale (Ac sigur negativ)	-	-	-	-	0,3	0,3	0,3	0,3
Antigen – extractul de cercetat	0,3	-	-	-	0,3	-	-	-
Extract neinfestat (martor negativ)	-	0,3	-	-	-	0,3	-	-
Ag standard (specific standardizat, martor pozitiv)	-	-	0,3	-	-	-	0,3	-
Soluție izotonică NaCl	-	-	-	0,3	-	-	-	0,3
Rezultat	?	-	+	-	-	-	-	-

Notă: *Acest număr de martori este necesar la cercetarea primară a serului de precipitare obținut. După stabilirea specificității și stabilității fracțiilor proteice ale serului, numărul martorilor devine minim (se exclud martorii 3, 4, 6, 7, 8).

Controlul rezultatelor la reacția de precipitare inelară se efectuează după 30-60 min., când se poate vedea inelul de precipitare de la limita celor două lichide. Reacția intens pozitivă este notată cu 4 plusuri: ++++ inel manifestat dens, cu sedimentarea rapidă a precipitatului la fundul tubului; +++ inel dens, fără sedimentarea rapidă a precipitatului; ++ inel vizibil; + inel discret, puțin manifest (vizibil); – absența inelului (reacție negativă). Reacția se consideră pozitivă în cazurile în care martorii negativi dau reacții negative, iar inelul de precipitare se formează în decurs de o oră după stratificarea Ag și se sedimentează lent, nestratificându-se în inele separate.

Imunodifuzia radială în gel după Mancini și Carbonara (imunodifuzia radială simplă)

Principiul metodei este bazat pe interacțiunea imunoglobulinelor (Ig) materialului cercetat cu antiserul specific difuzat în mediul semisolid de agar. Ig, în funcție de antigen (Ag), difuzează radial din godeuri în gelul care conține anticorpi (Ac) și formează un precipitat în formă de cerc. Apar complexe imune solubile și insolubile; cantitățile noi de Ag liber pătrund din godeuri, dizolvă precipitatul marginal, deplasându-l în continuare centrifug. Diametrul cercurilor crește până când tot Ag va fi fixat de Ac din gel, fiind direct proporțional cu cantitatea Ag din godeu. La rândul său, între concentrația Ag cercetat și suprafața precipitatului există o dependență liniară. Aceasta se stabilește după încetarea imunodifuziei, care are loc în diferite perioade și depinde de greutatea moleculară a Ag (în cazul dat a Ig). Cea mai accesibilă perioadă de incubare s-a dovedit a fi de 24 și 48 de ore (realizarea reacției vezi „Tehnici imunologice”, autori A. Olinescu, L. Andrieș).

Turbidimetria este o tehnică de precipitare în faza lichidă. Eșantionul ce conține Ag este pus în contact cu Ac specifici în exces, formându-se astfel complexe imune solubile care vor modifica absorbția soluției, ce se măsoară prin fotometrie.

Nefelometria măsoară formarea complexelor imune prin interacțiunea Ag din eșantion cu Ac specifici. Complexele imune formate vor dispersa razele laser, iar un fotodetector va măsura lumina dispersată, determinându-se astfel concentrația Ag în funcție de o curbă de calibrare.

Difuziunea radială dublă (Ouchterlony) este o metodă în care Ag și Ac difuzează într-un gel de agaroză. La nivelul zonei de reacție între Ag și Ac se formează arcuri de precipitare, care pot fi colorate. Această metodă este utilizată pentru determinarea Ag necunoscuți, bazându-se pe simetria profilelor de precipitare. În caz de similaritate a doi Ag, arcurile de precipitare fuzionează, în caz de similaritate parțială se formează un pinten, iar pentru Ag diferiți arcurile de precipitare se vor intersecta.

Migrarea electroforetică în sens opus. La un pH dat, Ag și Ac au încărcătură electrică diferită și migrează în sens opus într-un câmp electric. Dacă serul pacientului conține Ac contra Ag studiat, se vor forma arcuri de precipitare la punctul de întâlnire, care vor putea fi evidențiate prin colorare.

Imunoelectroforeza este o combinație între electroforeză și imunoprecipitare. În prima fază, atât eșantionul de studiat, cât și un standard de referință sunt separate prin electroforeză. În faza următoare se va realiza difuzia unui antiser perpendicular pe separarea electroforetică. În zona de echivalență se vor forma complexe imune, care duc la apariția liniilor de precipitare precise. Intensitatea, forma și

locul de formare a liniilor de precipitare vor servi la identificarea proteinelor. Imunoelectroforeza proteinelor este efectuată în caz de suspiciune de gamapatie monoclonală, când Ig vor forma un vârf ascuțit în fracțiunea γ -globulinelor, sau policlonală – Ig vor fi distribuite uniform în regiunea γ -globulinelor.

Electroforeza în gel ce conține Ac este o metodă prin care Ag va migra într-un gel ce conține Ac, și vom observa formarea de precipitate alungite, încurbate „în rachetă”. În paralel se va realiza precipitarea unui Ag de referință, putând astfel să determinăm concentrația Ag din eșantionul analizat.

Aceste metode sunt utilizate atât pentru elucidarea Ag, cât și a Ac (descrierea detaliată a metodologiei de testare vezi „Tehnici imunologice”, autori A. Olinescu, L. Andrieș). Mai frecvent utilizate în doagnosticul imunologic sunt nefelometria, turbidimetria, imunodifuzia radială în gel pentru testarea concentrației Ig diferitor clase. Ele s-au dovedit a fi utile în diagnosticul imunodeficiențelor primare și secundare, la testarea statusului imun în diverse patologii. Aprecierea concentrației de Ig în urină oferă informații despre activitatea și intensitatea procesului inflamator în glomerulii rinichilor, iar în lichidul alveolar – despre schimbările morfologice ale membranei alveolare etc. În fiecare caz motivul creșterii nivelului Ig trebuie evaluat în asociere cu tabloul clinic al maladiei și cu alți indici imunologici.

IgM este primul Ac care apare la pătrunderea Ag în organism, include Ac „naturali” ca: izohemaglutininele (anti-A, anti-B, anticorpii reactivi la rece), Ac antibacterieni, factorul reumatoid, Ac heterofili etc. În mod normal pot fi constatate cantități mici de monomeri IgM, pe când cele mărite se întâlnesc la proteinele mielomului (IgM) și ale altor boli (LES etc.).

Concentrația IgM crește în toxoplasmoză, rujeolă, citomegalovirus, herpes, sifilis, malarie, mononucleoza infecțioasă, micoplasmoză, endocardita septică subacută etc.; indicii înalți ai IgM sunt caracteristici pentru maladiile ficatului (hepatită virală, ciroză biliară); artrita reumatoidă, mai ales în perioada inițială; recidiva LES. Creșterea nivelului de IgM monoclonale se observă în macroglobulinemia Waldenström, gamapatia monoclonală, prezența crioaglutinelor. Scăderea nivelului IgM poate fi determinată de sinteza minimă în imunodeficiențele congenitale și dobândite (imunodeficiențe mixte, sindromul Wiskott-Aldrich, deficitul selectiv IgM, agamaglobulinemia Bruton, unele tumori ale sistemului limfoid), de pierderea majoră a IgM în gastroenteropatie, arsuri, de catabolismul crescut în prezența Ac anti-Ig (crioglobuline mixte). Reducerea nivelului IgM se constată, de asemenea, în terapia imunodepresivă, graviditate, gamapatii monoclonale (non-IgM). Apariția IgM în urină se observă rar, în cazurile grave de nefropatie lupică și amiloidoză.

IgG are activitate de Ac-antibacterii, -fungi, -toxine etc. În caz de concentrații minore de IgG, se observă frecvent o sensibilitate ridicată la infecțiile provo-

cate de microflora Gram-pozitivă. Nivelul IgG serice variază în intervale mari la diferite maladii. Creșterea ei deseori însoțește procesul activ, maladiile cronice ale ficatului (hepatită virală, ciroză portală, hepatită lupoidă), infecțiile cronice și subacute (tuberculoză, endocardită bacteriană subacută, mononucleoză infecțioasă, infecție stafilococică), disfuncțiile autoimune (LES), mielomul IgG, gama-patia monoclonală IgG inaparentă, alte maladii.

Nivelul IgG scade în imunodeficiențele congenitale și dobândite, deficitel selective ale subclaselor IgG (hipogamaglobulinemia tranzitorie la copii, agamaglobulinemia Bruton), în hipoplazii și în unele tumori ale sistemului imun, la pierderea crescută a IgG (gastroenteropatie cu pierderea proteinei, sindromul nefrotic, arsuri cu pierderea proteinelor prin piele), catabolismul crescut al IgG (sindromul Wiskott-Aldrich, mio-tonia distrofică, prezența crescută a Ac anti-IgG etc.), terapia imunodepresivă, perioadele tardive ale gravidității, gamapatiile monoclonale (non-Ig). Nivelul ridicat de IgG în bilă permite diferențierea maladiilor inflamatorii ale căilor biliare.

Nivelul IgA serice crește în infecțiile perinatale, maladiile cronice ale ficatului (îndeosebi de etiologie alcoolică), în ciroza portală, hepatita virală, colita ulceroasă nespecifică, infecțiile subacute și cronice (tuberculoză, afecțiuni fungice), în maladiile autoimune (LES, artrită reumatoidă) etc. IgA monoclonală crește în mielomul IgA și în hipergamaglobulinemia A.

Scăderea nivelului IgA poate fi rezultatul secreției scăzute a IgA în imunodeficiențele congenitale și dobândite (imunodeficiențe mixte, hipo- și agamaglobulinemie, ataxie-teleangiectazie, boala Bruton, deficitul IgA, unele tumori ale sistemului limfoid), pierderea crescută a IgA (gastroenteropatie, arsuri, de asemenea, pierderea proteinelor prin rinichi), metabolismul crescut al IgA (la prezența Ac anti-Ig), în terapia imunodepresivă, graviditate (stadiile tardive), gamapatie (non-IgA).

Deficitul selectiv al IgA este mai frecvent înregistrat ca rezultat al sintezei Ac anti-IgA care pot induce o reacție anafilactoidă la transfuzia sângelui.

Scăderea IgA secretorii (sIgA) în salivă, laptele matern, secrețiile căilor respiratorii și intestinale, lacrimi denotă un deficit al imunității locale și este însoțit de diverse afecțiuni.

Reacția de precipitare cu soluție de 3,75% PEG pentru detecția complexelor imune circulante

Principiul metodei este bazat pe capacitatea polimerilor cu greutate moleculară mare (de ex., polietilenglicolul – PEG) să precipite complexe imune circulante (CIC). Modificarea densității optice a soluției este înregistrată la spectrofotometru la o lungime de undă de 450 nm. Diferite concentrații de PEG (2,5;

3,5; 7 și 10%) induc precipitarea complexelor imune care diferă după greutatea moleculară și mărimea lor. Concentrațiile mici de PEG sedimentează complexe imune mari, iar concentrațiile mari, dimpotrivă precipită structurile moleculare mici. Concentrația de 3,75% PEG floculează complexele „intermediare” de mărimi medii.

În două eprubete se introduc câte 0,1 ml ser de cercetat, apoi în prima se adaugă 2,9 ml tampon borat (proba martor), iar în a doua – 2,9 ml soluție de 3,75% PEG. Conținutul eprubetelor se amestecă și se păstrează peste noapte la $t +4^{\circ}\text{C}$.

Citirea rezultatelor se efectuează la spectrofotometru la o lungime de undă de 450 nm în cuva de 1 cm. Rezultatul constituie diferența dintre indicii extincției probei și extincției martorului, înmulțită la 1000. Este exprimat în unități de densitate optică (norma 0-80 unități).

Determinarea CIC se face în scop de diagnostic (în cazul suspectării bolii mediate prin CIC), pentru monitorizarea terapiei, stabilirea prognosticului, precum și pentru studiul patogenezei unor maladii.

Prezența complexelor imune circulante a fost semnalată în multiple maladii: autoimune (LES, poliartrită reumatoidă, spondilită anchilozantă etc.), renale (glomerulonefrită acută, nefropatia IgA, rejecția de transplant renal etc.), dermatologice (urticarie, pemfigus, dermatită herpetiformă etc.), neoplazice și hematologice (leucemii limfoblastice acute, mieloblastice, boala Hodgkin, tumori pulmonare, osoase, testiculare, mamare, melanoame, anemii hemolitice autoimune, trombocitopenii), infecțioase (hepatite cronice și acute, mononucleoză infecțioasă, malarie, toxoplasmoză, infecții cu stafilococi, pneumococi, Klebsiella, Treponema etc.), neurologice (panencefalită sclerozantă subacută, scleroză laterală amiotrofică), ale tractului digestiv (boala Crohn, colita ulceroasă etc.).

Reacția de fixare a complementului

Principiul metodei este bazat pe participarea în reacție a două sisteme și a complementului (C). Primul sistem constituie substratul de cercetat (Ag sau Ac necunoscuți), serul imun sau Ag cunoscut, al doilea – eritrocite de berbec și ser hemolitic anti-eritrocite de berbec. La interacțiunea Ag cu Ac omologi din primul sistem cu formarea complexului specific Ag-Ac, care fixează complementul, și la suplimentarea ingredientelor sistemului indicator hemolitic este constatată absența lizei eritrocitelor sensibilizate din sistemul al doilea (reacție pozitivă). Dacă Ag și Ac din primul sistem au specificitate diferită, complexul imun nu se formează, complementul rămâne liber și este fixat de antigenul indicator (eritrocitele sensibilizate) care este hemolizat (reacție negativă).

Reacția de fixare a complementului este folosită pentru depistarea Ac în serul bolnavilor sau a Ag în diferite maladii infecțioase, autoimune etc.

Dozarea complementului prin metoda hemolizei 50%

Se bazează pe constatarea cantității minime de ser (complement) necesară lizei a 50% din eritrocitele conținute în 1 ml sistem hemolitic la 37°C în decurs de o oră.

Serul indivizilor sănătoși conține 40-80 CH50. Nivelul complementului la femei este mai scăzut decât la bărbați aproximativ cu 10%. La nou-născuți și gravide nivelul complementului este scăzut cu 30%.

Imunofluorescența

Principiul metodei se bazează pe utilizarea Ag sau Ac marcați cu substanțe fluorescente, de ex., izotiocianatul de fluoresceină sau tetrametilrodaminizotiocianat care produce o strălucire caracteristică la examenul microscopic în lumina ultravioletă. Imunofluorescența poate fi realizată prin varianta directă sau indirectă.

Metoda directă Coons permite identificarea Ag specifice în preparate cu utilizarea Ac marcați cu fluorocrom (FITC), care produce o strălucire verde, sau, tetrametilizotiocianat – iluminare oranj-roșie. Pe frotiurile de celule fixate care conțin Ag se aplică serul diagnostic cu Ac marcați, apoi ele se incubează, se spală și se usucă. Rezultatele se controlează la un microscop luminiscent și se apreciază fluorescența.

Imunofluorescența indirectă se bazează pe evidențierea Ac fixați la Ag prin prelucrarea ulterioară a preparatului cu ser fluorescent de specificitate față de imunoglobulinele speciei cercetate. Testul poate fi folosit atât pentru determinarea Ag necunoscut cu ser imun cunoscut, cât și pentru depistarea Ac necunoscuți cu Ag cunoscut. În ambele cazuri pentru Ac serului folosit se utilizează ser antiglobulinic fluorescent. Reacția este însoțită de martori pozitivi și negativi.

Metoda fluorescenței imune este utilizată pentru identificarea bacteriilor, virionilor, receptorilor și Ag celulelor umane și animaliere. Aprecierea cantitativă a populațiilor și subpopulațiilor limfocitare poate fi efectuată prin metoda imunofluorescenței indirecte cu anticorpi monoclonali anti-CD3, anti-CD4, anti-CD8, anti-CD16, anti-CD19 etc. Principiul metodei este bazat pe identificarea Ag CD al membranei celulare care reacționează cu AcMo anti-CD de anumită specificitate. Suspensia de limfocite se prepară din sângele hepari-

nizat prin utilizarea amestecului de ficoll-verografin ($1,077\text{g/cm}^3$); celulele se spală, se standardizează la concentrația de $3\text{-}4 \times 10^6$ celule/ml și se inoculează în godeurile lamei cu aplicarea AcMo anti-CD de specificitatea respectivă. Lama se incubează timp de 30 min., în „camera umedă”, după care godeurile sunt spălate. Ulterior, în godeuri se introduc Ac fluorescenți antiglobuline de șoarece cu incubarea lamei timp de 30 min., apoi acestea vor fi din nou spălate. Controlul reacției se efectuează la un microscop luminiscent care dispune și de contrast de fază. Primar, la microscopia în contrast de fază se apreciază numărul total de limfocite în câmp, apoi se determină numărul celulelor, care luminesc la razele ultraviolete (strălucire inelară sau în formă de puncte). Procentul limfocitelor T, B și subpopulațiilor lor este apreciat prin numărarea a 200-300 de celule în preparat.

Analiza imunoenzimatică (ELISA)

Principiul metodei este bazat pe interacțiunea Ag cu Ac, unul dintre ei fiind marcat cu o enzimă. Formarea complexului este identificată prin reacția de culoare care apare la suplimentarea substratului corespunzător.

Enzimele curent utilizate sunt peroxidaza (substratul fiind în acest caz apa oxigenată, iar cromogenul este prezentat de tetrametilbenzidin – TMB), fosfataza alcalină (ce poate avea ca substrat specific paranitrofenilfosfatul) etc. Tehnica este folosită atât pentru evidențierea anticorpilor, cât și a Ag. Se folosește în diagnosticul imunologic de laborator al maladiilor bacteriene, virale, rickettsioze, protozoare etc., pentru identificarea alergenilor și Ac la alergoze, Ag celulari tisulari, tumorali, de histocompatibilitate, pentru diagnosticul SIDA, studiul factorilor celulari și umorali ai imunității. Schema metodei e prezentată în fig. 9.3.

Reacția se realizează în plăci imunologice (polisterol sau polivinil) sau bile pe care sunt absorbiți Ag sau Ac. Pentru identificarea Ac prin ELISA clasică, antigenul cunoscut este absorbit în godeurile plăcii, în care ulterior se adaugă produsul biologic în care dorim să identificăm prezența Ac. După incubarea plăcii godeurile sunt minușios spălate pentru eliminarea proteinelor care nu s-au fixat și se inoculează Ac anti-imunoglobulină marcați cu o enzimă. După incubarea și spălarea godeurilor se va adăuga un substrat incolor (H_2O_2 și cromogen), care va fi transformat într-o substanță colorată de către enzimă. Prezența și cantitatea Ac este manifestă prin colorarea lichidului de diversă intensitate.

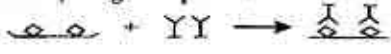
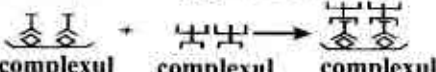

PRINCIPIUL	PROCEDURA
<p>I. Reacția Ag-Ac specifică</p>  <p>Ag pe faza solidă + Ac din probă → Complex Ag-Ac specific</p>	<ul style="list-style-type: none"> - pipetare proba - incubare - spălare
<p>II. Reacția cu conjugatul Ac-enzimă</p>  <p>complex Ag-Ac specific + complex Ac + enzima → complex Ag-Ac + conjugat</p>	<ul style="list-style-type: none"> - pipetare conjugat - incubare - spălare
<p>III. Reacția cu substratul enzimei</p>  <p>complex Ag-Ac + conjugat + substrat cromogen → culoare</p>	<ul style="list-style-type: none"> - pipetare substrat - incubare - stoparea reacției enzimatică

Figura 9.3. Schema realizării metodei ELISA

Determinarea concentrației de Ac în funcție de concentrația substratului colorat se va efectua cu ajutorul unei curbe de etalonare (reagenți standard).

Identificarea Ag prin ELISA sandwich se realizează prin fixarea pe placă a Ac specific pentru Ag căutat, apoi se adaugă produsul biologic în care dorim să identificăm Ag, ulterior al doilea Ac marcat cu o enzimă, formându-se astfel un „sandwich”. În continuare, principiul este același ca și pentru ELISA clasică.

Metoda ELISA posedă sensibilitate și specificitate înaltă și este utilizată pe larg în diagnosticul imunologic al afecțiunilor infecțioase și neinfecțioase.

Radio-imunofixarea clasică (RIA-radio-immunoassay) se bazează pe identificarea complexului Ag-Ac în care unul din reactanții imuni este marcat radioactiv (^{125}I sau ^{131}I). Ag este fixat pe un suport solid, apoi se adaugă produsul biologic cercetat pentru identificarea Ac specifici și Ac specifici pentru Ag radiomarcate. Ac din substratul biologic și cei marcați radioactiv intră în competiție pentru Ag disponibil, apoi Ac în exces sunt înlăturați prin spălare. Cu cât concentrația Ac din substratul biologic este mai mare, cu atât mai puțini Ac radiomarcați se vor fixa pe Ag. Astfel, concentrația Ac din substratul biologic este invers proporțională cu intensitatea semnalului radioactiv. Metoda este de o sensibilitate mare, dar necesită condiții speciale de realizare, transportul și inactivarea deșeurilor etc.

Western Blot (imuno-blot) este o electroforeză în gel de poliacrilamidă în prezența SDS (SDS-PAGE), care permite separarea proteinelor în funcție de

masa moleculară. În prezența SDS, toate proteinele au o încărcătură electrică negativă, iar la adăugarea 2-mercaptoetanolului se reduc punțile disulfurice din interiorul proteinelor și structura acestora nu va influența migrarea electroforetică, iar separarea proteinelor are lor exclusiv pe baza masei moleculare a acestora. Ulterior, proteinele sunt transferate (blotting) pe o membrană de nitroceluloză. Proteinele astfel imobilizate pot reacționa cu Ac specifici prezenți în materialul biologic de cercetare.

Această tehnică are avantajul de a permite identificarea Ag recunoscuți de Ac, ceea ce este posibil datorită separării electroforetice a proteinelor. Metoda este utilizată în diagnosticul maladiilor infecțioase (infecția HIV, lues, boala Lyme etc.).

Așadar, testele de evaluare a imunității umorale sunt multiple, diferă după sensibilitate și specificitate, tehnica de realizare etc., iar selecția lor pentru diagnosticul maladiei va fi confruntată cu manifestările clinice ale pacientului, fiind dependente de dotarea laboratorului cu echipamentul necesar.

COMPARTIMENTUL III.

PATOLOGIA IMUNĂ (MECANISME, PROCEDEE DE DIAGNOSTIC ȘI INTERPRETARE CLINICĂ)

Capitolul 10. MECANISME GENERALE DE REALIZARE A PATOLOGIEI IMUNE

Noțiunea de imunopatologie include maladiile, care, deși posedă anumite particularități, au la bază diverse dereglări de diferențiere și funcționare a celulelor imunocompetente. Pentru majoritatea acestora este caracteristică predispoziția genetică realizată prin intermediul receptorilor și funcției celulelor.

Statusul imun se modifică permanent în ontogeneză (copil, adult, persoane de vârstă înaintată), la acțiuni obișnuite (după alimentare, șarjă fizică, stres etc.). Variațiile indicilor statusului imun în aceste cazuri manifestă devieri de 1,5-2 sigme și se încadrează în valorile normale în regiunea dată.

Patogeneza maladiilor în majoritatea cazurilor este bazată pe dezvoltarea diferitor tipuri de patologie imună:

- imunodeficiențe – insuficiența reacțiilor sistemului imun cu manifestări infecțioase;
- alergii și pseudoalergie – sensibilitate majorată la substanțele exogene și factorii nespecifici;
- reacții autoimune – dereglarea toleranței la „propriu”;
- dereglarea reproducerii și corelației dintre mamă-făt;
- dereglarea eliminării celulelor mutante – tumorile maligne.

Aceste tipuri de imunopatologie sunt consecința dereglărilor interacțiunii celulelor sistemului imun cu alte celule sau substanțe biologice active cu dezvoltarea inflamației, proliferarea patologică sau apoptoza celulară.

Dezvoltarea reacțiilor imunopatologice este dependentă de un șir de factori exogeni și endogeni. Sistemul imun este sensibil la factorii ecologici nocivi prezenți în apă, aer, alimente etc. Xenobioticele, de regulă, posedă tropism înalt la celulele sistemului imun. Există câteva grupe de substanțe nocive imunotrope:

- produsele arderii complete și incomplete a substanțelor organice, în special cele ale carburanților (radicalii toxici, oxidanții etc.);
- substanțele chimice (formaldehida, fenolul, benzolul, produsele de sinteză a plasticului, cauciucului, coloranților, remediile cosmetice, pesticidele, erbicidele etc.);
- metalele și sărurile nichelului, cobaltului, mercurului, plumbului etc.;
- praful organic și neorganic și aerosolii lor;
- remediile medicamentoase;
- antigenii și alergenii polenici, menajeri, fungici, bacterieni, virali.

Factorii endogeni sunt predispoziția ereditară și maladiile suportate. Sub influența factorilor nocivi în organismul cu predispoziție ereditară apar modulații imune tranzitorii, care la acțiunea diferitor antigeni pot deveni stabile. În organismele cu hiperreactivitate, ele pot conduce la dezvoltarea alergiei (circa 40% din cazuri), autoimunității (cca 25% din cazuri), iar în cele cu reactivitate scăzută – la apariția imunodeficiențelor (circa 25%) și tumorilor sistemului imun (10%).

Imunopatologia include toate maladiile la baza cărora stau dereglările sistemului imun care controlează homeostaza fenotipică a organismului, iar indirect și cele ale sistemului genetic. Depistarea în sânge a genelor diferitor bacterii și virusuri în multiple maladii cu tabloul clinic atipic al infecției concrete impune prezumpția participării altor mecanisme de interacțiune microorganism-macroorganism. O parte dintre genele bacteriilor și virusurilor, fiind scindate de nucleaze, pot persista mult timp în celulele organismului sub formă de plasmidii sau fiind integrate în genom, la fel ca provirusurile. Unele gene și produsele lor pot modifica activitatea funcțională a celulelor prin formarea produselor specifice cu influență asupra activității genelor învecinate celulare. Acest mecanism este posibil, în special pentru bacteriile intracelulare (micobacterii, chlamidii, salmonele etc.). Chiar în organismul aparent sănătos există un pul de gene ale bacteriilor persistente și scindate, o parte din care induc efecte directe și mediate asupra activității funcționale a genomului diferitor celule, dar prioritar asupra celulelor sistemului imun care participă în distrucția celulelor purtătoare de genom exogen. Celulele sistemului imun permanent sunt „infectate” cu gene străine, le utilizează sau le neutralizează și își modifică activitatea funcțională (secreția de citokine, expresia receptorilor și modulația structurală). Integrarea pro- sau genică este modificarea funcțiilor celulare ale organismului în urma intervenției temporare sau constante a fragmentelor genelor bacteriilor și virusurilor în celulă fără inducția infecțiilor tipice, caracteristice microorganismelor cu genom integru. Manifestări clinice ale acestor integrații genice sunt toate tipurile de imunopatologie: imunodeficiențele, alergია, maladiile autoimune, limfo- și mieloleucemiile.

Imunodeficiențele primare pot apărea în urma acțiunii „fragmentului sau genei integrate” asupra celulelor hematopoietice embrionale, iar cele secundare sunt consecința distrugerii virale a celulelor SI, ca în infecția HIV, dar mai frecvent constituie rezultatul modificării funcției celulelor sistemului imun.

Imunitatea antibacteriană obișnuită are caracter antifenotip, adică este direcționată contra fenotipului antigenilor bacterieni și nu realizează apărarea față de genomul lor. Genele agresive ale bacteriilor, posibil, sunt responsabile de patogenitatea bacteriilor la pătrunderea în celulele eucariote ale macroorganismului, inducând mutații sau modificări (intensificarea – inhibiția) ale funcției genelor

vecine (ex., citokine) cu inducția inflamației sau cronicizării procesului. Terapia antibacteriană conduce la moartea multor bacterii (patogene și saprofite), asigură interacțiunea diferitor genomi și atacul lor asupra celulelor eucariote, menținut ulterior de activarea citokinelor.

Inflamația este mecanismul de bază în imunopatologia aparentă la agenții care dereglează homeostaza și se dezvoltă cu participarea celulelor sistemului imun (leucocite, celule stromale ale parenchimului, endoteliul, epiteliul) fiind însoțită de alterarea și regenerarea tisulară, proliferarea celulară. Se disting *inflamația aseptică* la alterarea țesuturilor fără infectare (după intervențiile chirurgicale etc.), *inflamația în infecții* (microorganismele cu virulență înaltă), *inflamația pe fundalul imunodeficiențelor* asociate cu microflora convențional patogenă și *inflamația imună aseptică* ca rezultat al hipersensibilității la Ag (alergeni). În aceste tipuri de inflamație participă leucocitele, dar componența lor diferă: în cea alergică predomină eozinofilele, în varianta de tip întârziat – mononuclearele, în cele purulente – neutrofilele. Inflamația cronică se deosebește de cea acută prin infiltrația limfocitelor și monocitelor, iar uneori și prin formarea de granulome cu prezența celulelor gigante (tuberculoza, luesul etc.). Alterarea este importantă în primele trei tipuri de inflamație când leziunea celulelor (mecanică, toxică etc.) induce eliminarea de citokine, alți mediatori cu apariția procesului inflamator. Inflamația imună este asigurată de celulele sistemului imun (de ex., Th1 și Th2), care elimină o cantitate majoră și spectru divers de citokine.

Activarea nespecifică și specifică a leucocitelor de către Ag microbilor și virusurilor induce inflamația care distruge agenții etiologici. Macrofagele elimină citokine (TNF- α , IL-1, -4, -6, -8 etc.) în procesul fagocitozei și stimulează limfocitele T-helper, leucocitele, celulele endoteliale ale vaselor și expresia adezinelor. Adezinele P și E (ICAM-1 etc.) ale endoteliului interacționează cu LFA-1 a leucocitelor care încetinesc migrația lor, iar ulterior nu se mai deplasează în capilare. Legarea adezinelor leucocitare și endoteliale asigură faza primară de migrație prin peretele vascular în țesuturi (diapedeza). Acest proces este intensificat de produsele de activare a complementului (migrația neutrofilelor), chemokinelor α și β (migrația monocitelor). În focarul inflamator se acumulează toate tipurile de leucocite care distrug nu numai patogenul, dar și țesuturile proprii. Febra, leucocitoza, alterarea tisulară indusă de enzime, mediatori și citokine sunt criteriile inflamației care, de regulă, însoțesc toate tipurile de inflamație.

Inflamația imună este indusă de Ac și limfocitele imune aparente la agenții infecțioși și neinfecțioși. În acest proces participă și reacțiile nespecifice ale imunității congenitale (degranularea granulocitelor, activarea macrofagelor, eliminarea citokinelor). Reacțiile inflamației imune pot avea caracter normergic, hiperergic (alergie) sau anergic (imunodeficiențe sau toleranță). La majoritatea

indivizilor răspunsul imun are caracter normergic: sinteza de Ac și limfocite T și B imune, activarea sistemului imun congenital. În urma activării sistemelor supresoare, răspunsul imun după cca două săptămâni încetează cu formarea imunității (memoria imună). Reacțiile imune la pătrunderea repetată a Ag se dezvoltă intensiv cu creșterea rapidă a nivelului de Ac, limfocitelor T și B specifice, conducând la eliminarea patogenului. Inflamația pe fundalul imunodeficienței deseori are caracter purulent. Inflamația hiperergică imună apare pe fundalul unei reacții intensive și se notifică ca alergică. Specificitatea reacțiilor alergice depinde de apariția în organism a IgE sau IgG, limfocitelor T imune (Th2 sau Th1) la alergenul respectiv. Acești factori apar după primul contact cu Ag și nivelul lor crește la pătrunderea repetată a acestuia. Perioada de sensibilizare evoluează de la câteva zile (nu mai puțin de 7 zile) până la câteva luni, dar datorită particularităților răspunsului imun apar Ac IgE și LT sensibilizate. La pătrunderea repetată a alergenului în reacția alergică sunt eliminate o cantitate majoră de substanțe biologice active (mediatori și citokine), care alterează țesuturile cu apariția manifestărilor clinice ale alergiei. În acest proces contribuie și infecțiile virale, aerosolii toxici, tabagismul etc.

Predispoziția ereditară apreciază dezvoltarea alergiei la un alergen concret. Genele responsabile de alergie sunt localizate în cromozomii 5 și 11. Ele controlează sinteza IL-4 și a altor citokine participante în reacțiile alergice. La indivizii alergici activitatea genelor „proalergice” este majorată, conducând la producția excesivă de citokine inflamatorii.

Reacțiile alergice pot fi induse de alergenii infecțioși și neinfecțioși. Alergenii induc sensibilizarea în doze mici (doza sumară a polenului care a pătruns în organismul pacientului în perioada de înflorire constituie circa 1 μg). Reacțiile alergice pot avea caracter de tip imediat (HTI) și întârziat (HTÎ) ca rezultat al inflamației imune alergice. Cele de tip imediat se dezvoltă rapid (de la câteva secunde până la 12 ore, dar mai frecvent 30 min.) și sunt dependente de prezența anticorpilor la alergenul dat. Acestea sunt reacțiile anafilactice, citotoxice sau induse de complexe imune, precum și cele anti-receptori, mediate de granulocite și trombocite.

Reacțiile de tip întârziat se dezvoltă peste 24-72 de ore și sunt asigurate de interacțiunea alergenului cu limfocitele T imune sensibilizate.

În evoluția reacțiilor alergice se disting câteva etape de dezvoltare: stadiul imunologic (interacțiunea Ac și LT cu alergenul), patochimic (eliberarea mediatorilor), patofiziologic (dereglarea funcției țesuturilor și organelor) și clinic (manifestarea alergiei).

Reacțiile anafilactice sunt dependente de concentrația IgE (în normă serul sangvin conține până la 100 kU/l) care crește în reacțiile alergice și în helminto-

ze (până la 1000 kU/l și mai mult). Testarea IgE total și IgE-alergenspecifice are importanță diagnostică, prognostică în maladiile alergice.

Producția IgE este reglată de diverse citokine (IL-4, IL-25 și IL-10 secretate de Th2 stimulează, iar IFN- γ și IL-2 eliberate de Th1 inhibă sinteza IgE). La etapa sensibilizării organismului IgE induse de alergeni se leagă cu receptorii Fc ϵ -RI α de pe membrana bazofilelor și mastocitelor. Legarea încrucișată a IgE de către alergenul care a pătruns din nou în organism conduce la degranulare și eliberarea de substanțe biologice active (histamină, leucotriene, prostaglandine, factorul chemotactic al eozinofilelor și factorul de activare a trombocitelor, IL-4, 5, 6, 8, triptaza, serotonina etc). Aceste substanțe conduc la contracția mușchilor netezi, intensificarea secreției mucusului bronhial, creșterea permeabilității vasculare și manifestările tabloului clinic. Deși mecanismul de dezvoltare a reacției atopice este considerat de bază, în reacție pot participa Ac subclasei IgG4. Faza tardivă a reacției alergice (peste 4-12 ore) se caracterizează prin mobilizarea în proces a eozinofilelor, neutrofilelor, macrofagelor care se atașează la endoteliu și migrează extravascular cu creșterea expresiei moleculelor de adeziune (ICAM-1, ICAM-2, CD11/CD18, selectina E etc.). Acest tip de reacție poate fi manifest în șocul anafilactic, accesele de astm bronșic, rinita și conjunctivita alergică, urticarie etc.

Reacțiile alergen-specifice mediate de granulocite și trombocite, posibil, sunt intermediare și la atopicii cu predispoziție ereditară, și/sau sub influența citokinelor este modificată și intensificată expresia receptorilor Fc (Fc γ R1-CD64 pentru IgG și Fc ϵ RI pentru IgE). Dacă Ac IgG și IgE care s-au legat cu granulocite sunt Ac anti-alergeni, atunci la interacțiunea cu alergenul vor induce alterarea membranei și eliminarea granulelor, enzimelor, mediatorilor cu alterarea țesuturilor. Trombocitele participă identic în patogeneza reacțiilor alergice. La legarea receptorilor Fc cu IgG sau/și IgE la acțiunea alergenilor ele se activează, elimină mediatorii ai alergiei, inclusiv factorul de activare a trombocitelor. Neuronii și terminațiile nervoase care vor lega Ac prin intermediul receptorilor Fc γ vor reacționa la alergeni, fiind cauza dezvoltării fulminante a șocului anafilactic, în timp ce eliminarea histaminei este un proces de mai lungă durată.

Reacțiile citotoxice se dezvoltă la interacțiunea Ac de clasa IgG sau IgM cu Ag sau haptena legată pe membrana celulară și activarea C, formarea complexului membranoatacant care distruge celula-țintă. Antigeni-alergeni pot fi remediile medicamentoase, substanțele chimice, Ag virali, bacterieni, autoantigenii care au fost absorbiți pe membrana celulei. Liza celulelor acoperite cu Ac poate fi indusă de celulele K care dispun de receptori Fc respectivi. Ele pot fagocita fragmentele nucleare cu formarea celulelor lupice (LES).

Reacția citotoxică poate fi constatată în alterarea celulelor sangvine (transfuzii sangvine incompatibile). În cazul alergiei medicamentoase de tip citotoxic, se constată trombocitopenie, leucocitopenie.

Reacțiile induse de complexe imune. Formarea complexelor imune Ac-Ag se constată și în cazul răspunsului imun normal. Pe eritrocite există receptori C3b (CR1) care leagă complexe imune cu activarea componentei C3b a complementului. Hematiile le transportă în splină, ficat unde ele vor fi fagocitate. În cazul formării mai multor complexe de mărime mică în condiții de insuficiență a componentei C3b sau activării intensive a C, fagocitoza este dereglată. Complexele care conțin IgG și IgM activează complementul pe cale clasică, iar cele cu IgA – pe cale alternativă. Produsele activării C – anafilatoxinele (C3a, C5a) induc dilatația vaselor sangvine, creșterea permeabilității, expresiei pe endoteliu a moleculelor de adeziune pentru leucocite. În proces sunt mobilizate granulocitele și macrofagele care elimină mediatorii secundari și alterează țesuturile.

Complexele imune circulante care n-au fost fagocitate se depozitează în țesuturi, induc inflamație (vasculite). Prioritar sunt alterate organele bogate în capilare (pulmonii, rinichii, pielea).

Boala serică se manifestă prin activarea C de către complexe imune cu alterarea vasculară a diferitor țesuturi și organe. Complexele imune au un rol important și în patogeneza maladiilor autoimune și în unele tipuri de alergii inhalatorii (inhalatia Ag care induce Ac precipitanți).

Reacțiile anti-receptor apar în cazul secreției Ac de clasa IgG anti-receptorii celulelor proprii cu modificarea funcției acestora (intensificare sau inhibare). Posibil, în cazul dat are loc blocada diferitor receptori cu internalizarea lor intracelulară sau debarasarea lor de pe suprafața celulei ce conduce la diminuarea numărului de receptori și stabilirea hiporeactivității. Poate avea loc și distrucția directă a receptorilor de Ac determinată de activitatea fermentativă, proteolitică. Ca exemplu al acestei reacții autoimune este gușa toxică difuză. În patogeneza acestei maladii rolul principal revine Ac anti-receptorul tirotoxic de pe tirocite, are loc hiperproducția de tiroxină și triiodtironină. Este dereglată funcția secretorie a acestui hormon. Tabloul clinic se manifestă prin boala Graves. Blocada receptorilor cu dereglarea interacțiunii celulare cu hormonii sau mediatorii are loc în miastenia gravis. Dar Ac pot avea și caracter anti-substanțe biologice active, de ex., anti-hormoni care vor facilita reacțiile imunopatologice.

Hipersensibilitatea de tip întârziat se observă în multe maladii alergice, autoimune, în reacțiile de rejecție al transplantului și în infecții. Rolul principal în dezvoltarea lor le revine LT cu memorie care dispun de receptori specifici la Ag, Th1 și/sau celulele killer CD8⁺. Ele apar după reacția primară. Limfocitele Th1 sensibilizate imune la interacțiunea secundară cu Ag se transformă în limfoblaști T care secretă interleukine (TNF-β – limfotoxin, factorul chemotactic, IFN-γ, factorul de inhibiție a migrației leucocitelor) cu mobilizarea și activarea macrofagelor și granulocitelor, în inflamație. Eliberarea citokinelor poate conduce și

la proliferarea și diferențierea celulelor killer ($CD8^+$), care distrug celulele infectate viral, țesuturile. Inflamația aparentă este infiltrată de mononucleare, alte leucocite cu formarea granulomului timp de 24-72 de ore.

Se disting următoarele reacții alergice de tip întârziat: *de contact, tuberculinică și granulomatoasă*. În HTI de contact, Ag (de regulă, haptena) pătrunde în epidermul pielii (sau mucoasei) și le leagă cu proteine, iar ulterior cu celulele Langerhans. Ele transferă Ag în nodulul regional limfatic, unde se acumulează LT $CD4^+$ cu receptor antigen-specific și receptor homing (CLA), și migrează ulterior în piele. La pătrunderea repetată a alergenului (peste 7-14 zile și mai mult după contactul primar) apare dermatita de contact. Cheratinocitele și celulele endoteliului la alterare elimină citokine (IL-1, 3, 6, 8, TNF- α), iar după activarea de citokinele eliberate de LT exprimă la suprafață moleculele HLA de clasa II și pot prezenta alergenul și intensifica inflamația din contul eliminării altor citokine. Pe endoteliu se constată expresia moleculelor de adeziune (ICAM-1, selectina E etc.) ce contribuie la migrația leucocitelor în focarul inflamator. Cheratinocitele și macrofagele, prin secreția de prostaglandină E și TGF- β , inhibă faza tardivă a reacției (peste 48-72 de ore) și la expresia HLA de clasa II deja activează LTh-1.

În unele variante ale hipersensibilității de contact (la proteinele xenobiotice), se observă infiltrația focarului cu bazofile (hipersensibilitatea de tip bazofil).

Varianta tuberculinică a HTI se dezvoltă la Ag microbieni (micobacterii, agenții leprei, Leishmanii, brucele etc.). Citokinele eliberate de LT sensibilizate la interacțiunea cu alergenul mobilizează monocitele (80% din toate celulele infiltratului), Th1, LT $CD8^+$ în focarul inflamator.

Indivizii vaccinați cu BCG posedă HTI la tuberculină (PPD) și la inocularea acesteia i.c. se dezvoltă un infiltrat. Reacția intensivă indică posibilitatea tuberculozei, cea de intensitate minoră – HTI și imunitate, iar absența ei – anergie și posibilitatea maladiei.

Varianta granulomatoasă a HTI se dezvoltă la persistența Ag-alergenului. Dacă în macrofage și în alte celule persistă M.tuberculosis, leprei, Tr.pallidum etc., în urma stimulării de lungă durată de către citokine se formează focare inflamatorii mari cu macrofage, limfocite, celulele epitelioidale, fibroblaști etc. ce se observă în tuberculoza progresivă.

Reacțiile pseudoalergice sunt reacții nespecifice și se manifestă în absența Ac și LT imune. Ele sunt consecința eliminării mediatorilor (histamină, leucotriene, serotonină etc.) de către leucocite sub influența diferitor factori nespecifici fizici (sarja fizică, temperatura scăzută), produselor bacteriene, toxinelor, substanțelor chimice și toxice, factorilor psihoemoționali. Reacții identice pot apărea și la activarea complementului pe calea alternativă în cazul administrării repetate a substituenților sangvini, unor remedii medicamentoase. În cazul activării nespecifice intensive a LT de către mitogeni și superantigeni pot apărea reacții pseudoalergice de tip întârziat.

Apoptoza și rolul ei în imunopatologie

Interacțiunea receptorilor celulelor cu liganzii altor celule, proteinele reglatoare, Ag și Ac, hormonii induc fie activarea și proliferarea celulară, fie apoptoza – moartea lor programată.

Activarea patologică a celulelor SI, rezistența lor la apoptoză poate conduce la dezvoltarea alergiei și autoimunității, iar apoptoza indusă de acțiunile nocive este cauza imunodeficienței. Morfologic, apoptoza se manifestă prin condensarea, agregarea cromatinei, fragmentarea nucleului, condensarea citoplasmei, apariția corpusculilor acidofili, care sunt fagocitați de macrofage fără dezvoltarea inflamației caracteristică necrozei. Interacțiunea receptorilor, care lansează apoptoza, și liganzilor respectivi induce activarea proteazelor cisteine (caspaze) legate cu sfigomielinaze care generează ganglioziide și ceramide și modifică structura membranei celulare și a nucleului. Endonucleazele activate fragmentează ADN. Apoptoza este inhibată de proteinele genelor *Bcl-2* și *Bcl-x* și intensificată de produsele genelor *Bax*, *Bak* etc.

Apoptoza este mecanismul principal de dezvoltare și funcționare a celulelor SI. În embriogeneză maturarea, selecția și diferențierea LT în timus este reglată prin apoptoză. Acest mecanism se constată și la moartea limfocitelor sub influența corticosteroidilor.

Sistemul receptor Fas (APO-1 sau CD95) și FasL (TNF- α , limfotoxina, liganzii CD30, CD40, CD27), la interacțiune, induc apoptoza celulei. Expresia Fas pe limfocite crește sub influența IL-2 și IFN- γ , iar a ligandului Fas – după stimularea cu Ag. De obicei, LT-killer, Th1 dispun de FasL și distrug celulele purtătoare de receptorul Fas. Granzimele T-killerilor pot pătrunde în celulă și induce apoptoza.

Celulele glandei tiroide, ochiului, testiculului exprimă FasL și în condiție de normă la pătrunderea limfocitelor purtătoare de Fas sunt distruse prin apoptoză, preîntâmpinând alterarea organului și autoimunizarea.

LT CD8⁺ după activare posedă FasL și induc apoptoza Th1 care dispun de receptorul Fas. Astfel, printre celulele T există autoreglarea influențată de citokinele care modifică expresia receptorilor apoptozei. IL-2 și IL-12 pot induce apoptoza celulelor NK, pe când IL-4 și IL-10 – a monocitelor și LT. Însă alte citokine pot inhiba apoptoza: IL-2, IL-3, IL-6, IL-9 pentru LT și LB.

Receptorii pentru TNF și citokinele TNF, receptorii TRAIL (liganzii inductori ai apoptozei), CD30-CD30L pe diferite celule pot, de asemenea, induce apoptoza.

Așadar, apoptoza stă la baza morții reglatoare a celulelor SI: inducția ei de către patogene poate fi cauza imunodeficienței, iar absența conduce la dezvoltarea maladiilor alergice și autoalergice.

Capitolul 11. IMUNITATEA ȘI INFECȚIA

Maladiile infecțioase sunt cauza principală a morbidității și mortalității globale. Conform datelor OMS, numai în Africa suferă de malarie cca 100 mil. de locuitori. Interesul crescend față de maladiile infecțioase în ultimii ani este determinat de identificarea unor noi agenți patogeni (sindromul imunodeficienței dobândite, boala legionarilor), majorarea numărului de bolnavi cu imunodeficiențe secundare, stabilirea faptului că răspunsul imun la microorganismele într-un șir de cazuri conduce la dezvoltarea patologiei autoimune, migrația intensivă a populației diferitor țări cu creșterea posibilității de infectare în zonele endemice etc. În marea lor parte, maladiile infecțioase se manifestă cu frecvența cea mai ridicată sub formă clinică medie. Principalul factor care stă la baza acestei exprimări este reactivitatea mecanismelor nespecifice și specifice ale gazdei. Există însă unele situații în care dinamica infecției determinată de diferiți agenți îmbracă unele aspecte deosebite, ca de ex., evoluție durabilă, undulantă, recidivantă sau severă, complicații diverse, vindecare nesterilă cu sechele sau cronicizare. În această evoluție sunt implicați o multitudine de factori, inclusiv, patogenitatea, virulența și toxigenitatea germenului în cauză, care joacă un rol important. Alteori însă, pe primul plan se situează răspunsul neadecvat al sistemului imun, răspuns care poate fi deficitar (imunodepresie, imunosupresie) sau, dimpotrivă, de intensitate mare (hiperergie, imunoagresiune). Prezența acestor reacții asigură infecții cu manifestări disimune, care pot fi determinate de autoanticorpii ce reacționează încrucișat cu celulele gazdei, de complexe imune agresive, de citotoxicitatea mediată de LB și LT, de reacțiile de hipersensibilitate etc. Răspunsul disimun poate fi generat de efectele inductoare directe ale agentului patogen, de reactivitatea individuală a organismului-gazdă, de predispoziția ereditară sau de mediul ambiant (mediu contaminat, intervenții terapeutice invazive etc.). În procesul evolutiv s-au stabilit câteva forme de interacțiune a organismului uman cu microorganismele care pot avea caracter antagonist și sinergic. Interacțiunea antagonistă conduce la dezvoltarea procesului infecțios, pe când cea sinergică este manifestată prin existența în organismul uman (intestine, piele, căile respiratorii) a florei convenționale patogene. Dar, în cazul scăderii rezistenței organismului sau la infectarea cu doze mari de agenți convenționali patogeni, poate apărea infecția. Un factor important de interacțiune a macroorganismului cu microorganismul îl constituie cooperarea cu microflora normală și formarea rezistenței la colonizarea acesteia. Microflora normală umană include zeci și sute de specii, în special bacteriile anaerobe care formează microbiocenoza pe piele, mucoase și preîntâmpină colonizarea acestora de microbii patogeni. Numărul reprezentanților microflorei normale atinge 10^{14} , în timp ce numărul total de celule ale organismului este de cca 10^{13} , adică unei celule a gazdei îi revin 10 unități ale microflorei normale. Spectrul microbiocenozei la om este determinat de particularitățile lui metabolice, componența biochimică,

antigenică a țesuturilor, starea sistemelor imun, nervos, endocrin. Concomitent, microflora normală influențează morfogeneza țesuturilor, metabolismul glucidelor, lipidelor, hormonilor, formarea mutagenilor și antimutagenilor în organismul gazdei. Factorii principali care apreciază dezvoltarea maladiei infecțioase sunt cei ai rezistenței congenitale nespecifice și cei specifici imuni. Factorii congenitali nespecfici de apărare prezintă compuși activi biologici care asigură proprietățile de barieră ale epitelului, mucoaselor, pielii (substanțe bactericide, imunoglobuline secretorii, enzime etc.). O verigă importantă în eliminarea agenților patogeni sunt celulele sistemului fagocitar (monocitele, granulocitele, macrofagele). Ele elimină non-propriul prin intermediul sistemelor enzimatice intracelulare, generând metaboliți activi ai oxigenului. Aceste celule își realizează funcția fără participarea mecanismelor imune, dar unele dintre ele (macrofagele) pot iniția răspunsul imun specific prin procesarea și prezentarea antigenilor bacteriilor, virionilor și altor microorganisme celulelor imunocompetente. Este posibilă persistența unor microorganisme în macrofage (de ex., *M. tuberculosis*) ce va influența esențial evoluția procesului infecțios. Citokinele produse de fagocite prezintă factori importanți în realizarea apărării nespecifice antiinfecțioase. De ex., IL-1 este capabilă să intensifice producția IFN, IL-2, receptorilor pentru IL-2, să activeze celulele NK, astfel majorând rezistența antiinfecțioasă. Fagocitele produc leucotriene, componentele complementului care posedă acțiune chemotactică și intensifică inflamația, de asemenea, elimină un șir de enzime cu efect bactericid. Factorii coagulanți și fibrinolitici, kininele, proteinele fazei acute, amiloidele A și B sunt componente ale inflamației. Imunoglobulinele nespecifice circulante în sânge constituie fondul natural umoral al rezistenței nespecifice. Ele participă în opsonizarea agenților patogeni ce sunt ulterior fagocitați.

Multe microorganisme produc factori care diminuează sensibilitatea lor la factorii bactericizi ai sistemului fagocitar (toxinele, produsele care contribuie la formarea capsulei, factorii cu proprietăți antioxidante, care conduc la scăderea acțiunii alterante a metaboliților oxigenului asupra microorganismelor).

După fagocitoza activă însoțită de internalizarea receptorilor, fagocitul pierde pe un timp capacitatea de recunoaștere și legare a altor microbi (inactivarea fagocitelor). Perioada refractară la neutrofile poate să se mențină până la 24 de ore, asigurând areactivitatea lor temporară și contribuind la dezvoltarea stărilor areactive în organism.

Hiperactivitatea celulelor sistemului fagocitar în procesul infecțios poate fi dependentă de particularitățile stimulării antigenice și de starea sistemelor de reglare a macroorganismului. Reacția celulelor sistemului fagocitar la hiperstimulare evită controlul reglator. Intensiv crește producția diferitor citokine capabile de intensificarea inflamației (IL-1, TNF etc.) și de dezvoltarea reacțiilor alergice (leucotriene, histamină, serotonină). Se majorează sinteza metaboliților activi ai oxigenului, apar reacțiile de lipoperoxidare ce conduc la alterarea membranei celulare și a țesuturilor. Se consideră, că sfârșitul letal în multe maladii infecțio-

oase însoțite de hiperactivitatea fagocitelor ar fi consecința acțiunii alterante a țesuturilor de către radicalii liberi. Concomitent, se indică importanța hiperactivării fagocitelor în inhibiția ulterioară a dezvoltării reacțiilor imune specifice.

Celulele NK sunt un factor important al rezistenței naturale în infecțiile virale, bacteriene, fungice și cu protozoare. Ele realizează funcțiile de apărare în perioada timpurie după infectare prin liza diferitor celule. Sunt activate de IL-2 și IFN- γ .

Agenții maladiilor infecțioase și toxinele lor contribuie la sinteza în organism a diferitor citokine, compușilor biologic activi și a altor factori care participă la sporirea rezistenței nespecifice și specifice. IL-1 și TNF sunt limfokine polifuncționale, sintetizate la pătrunderea în organism a infectului. Ele stimulează chemotactismul neutrofililor, contribuie la sinteza leucotrienelor, proteinelor fazei acute, participă în reglarea fazei inductive a răspunsului imun specific, modulează activitatea killerilor naturali, intensifică producția de IFN- γ . IL-6 induce producția proteinelor fazei acute, activează celulele NK, stimulează sinteza anticorpilor specifici.

Există o secvențialitate anumită în producția citokinelor la dezvoltarea reacției inflamatoare în organism. Primar, în faza acută timpurie, vor apărea IL-1, TNF, IFN- γ etc. Ulterior, la scăderea concentrației acestora este observată creșterea nivelului factorilor coloniestimulanți, iar în faza tardivă a procesului inflamator apar fibrina, amiloidul seric, proteina C reactivă care contribuie la activarea chemotactismului și la opsonizarea bacteriilor.

Actualmente, un rol esențial în dezvoltarea inflamației li se atribuie prostaglandinelor și leucotrienelor, metaboliților ciclului ciclooxigenazic și lipooxigenazic de metabolizare a acizilor grași, în special a arahidonatului. Acești produși intensifică inflamația, induc vasodilatarea, activează chemotactismul fagocitelor, modifică nivelul cAMP în celulele imunocompetente și producția de citokine.

În cazul ineficienței factorilor rezistenței nespecifice, în procesul de apărare a organismului se includ cei specifici imuni. În dezvoltarea imunității antiinfecțioase specifice sunt constatate patru stadii: *inductivă* (aferentă), *imunoreglatorie* (proliferativă), *efectoare* (productivă) și *de formare a memoriei imunologice*.

Stadiul inductiv este apreciat din momentul pătrunderii microorganismului până la procesarea și prezentarea antigenului de către fagocite limfocitelor T pentru recunoaștere. Rolul prioritar le revine celulelor prezentatoare de antigen (macrofagele, celulele dendritice, Langerhans, limfocitele B etc.).

În *stadiul imunoreglator* are loc interacțiunea celulelor antigenprezentatoare (APC) și a limfocitelor T, recunoașterea peptidelor agentului infecțios de către limfocitele T-helper, diferențierea lor în tipul 1 sau 2, care în final apreciază dezvoltarea răspunsului imun specific celular sau umoral.

Stadiul efector se caracterizează prin producția de anticorpi specifici, formarea de clone ale limfocitelor T sensibilizate și prin sinteza diferitor mediatori care vor asigura evoluția procesului infecțios. Răspunsul imun poate avea caracter normoimun și disimun (tab. 11.1).

Reacțiile normoimune și disimune în maladiile infecțioase

Tipul răspunsului imun	Efectorii imuni implicați, mediatorii și factorii cooperanți	Efecte ale răspunsului normoimun	Efecte ale răspunsului patoimun
B-dependent (umoral)	IgG neutralizante	Inactivarea exotoxinelor (tetanică, difterică, carbunoasă, botulinică)	Inactivarea unor molecule biologice active sau a unor receptori de suprafață, rezultând afecțiuni ca: hipertiroidismul, miastenia gravis etc.
	IgM, IgG+C, macrofagele (efect citotoxic-citofilic)	Acțiune bactericidă	Liza celulară sau fagocitarea de celule endogene (în anemii hemolitice, eritroblastoză fetală, purpura vasculară, agranulocitoză)
	IgG+C+PMN (imunocomplexe)	Mobilizarea fagocitelor în focarul inflamator	Leziuni prin complexe imune agresive și sub influența enzimelor lizozomale din PMN (vasculite, boala reumatoidă, fenomenul Arthus, glomerulonefrita acută)
	IgE+Mastocite+ mediatorii (hipersensibilitate)	Eliberarea de substanțe care favorizează eliminarea agentului patogen (în helmintiaze)	Anafilaxie, reacții atopice, astm postinfecțios, reacții la mușcături de artropode
T-dependent (celular)	Limfocitele T-killer + macrofage + limfokine	Omorârea agentului patogen (micobacterii, fungi, metazoare)	Lezarea celulelor-țintă infectate (în erupții virale, în hepatită virală B, boli autoimune T-dependente, demielinizări în encefalite)
	Limfocitele T +macrofagele + celulele epitelioide	Izolarea agentului infecțios (autolimitare) în tuberculoză, lepră, bruceloză etc.	Înlocuirea țesutului parenchimos normal prin reacția granulomatoasă (în tuberculoză, sarcoidoză)

Răspunsul imun specific la diferiți agenți patogeni poate fi însoțit predominant de reacții umorale (tetanosul, difteria, botulismul, infecția cu *Clostridium perfringens*, infecția streptococică, unele enterobacterioze și enteroviroze) sau celulare (majoritatea virozelor, tuberculoza, lepra, tularemia, metazoarele).

Stadiul final al imunității antiinfecțioase este formarea *memoriei imunologice* de tip celular și umoral la antigenul dat. Durata și intensitatea imunității sunt dependente de proprietățile antigenice și imunogenice ale microorganismului și de reactivitatea imunologică a pacientului. Observațiile clinice denotă că la gripă, tifosul recurent, dizenterie imunitatea este de scurtă durată, iar în poliomielită, rujeolă, pertussis, antrax este de lungă durată. Dezvoltarea reacțiilor imune specifice de tip celular și umoral la diferiți agenți infecțioși (virusuri, bacterii, fungi, helminți, protozoare) are particularitățile sale.

Reactivitatea imună în viroze

Modalitatea răspunsului imun în infecțiile virale depinde esențial de mecanismele care au rolul principal în fiecare etapă a infecției. Cu abstracție de unele particularități etiologice și de structură antigenică, în viroze se pot delimita trei stadii: invazia virală, viremia și infecția celulară cu particularități distincte.

Stadiul *invaziei virale* este influențat de multipli factori ai rezistenței nespecifice și sistemului imun, de starea inițială a organismului, contactul precedent cu antigenii virali etc. Rolul prioritar în acest stadiu le revine interferonilor (IFN) și anticorpilor (Ac) de clasa IgA secretorii. Pielea este o barieră mecanică de apărare pentru majoritatea virusurilor și acestea pot pătrunde în organism doar la alterarea ei. Mucusul mucoaselor conține factori virocizi (defensine β , enzime etc.) care distrug mulți virioni. Pe epiteliul mucoaselor se găsesc fagocite (macrofage și neutrofile) care pot neutraliza virusurile, deși în stare de repaus ele pot deveni ținta lor. Defensinele epiteliului și neutrofilelor distrug mulți virioni.

Celulele NK neutralizează virionii, în special cele activate de IFN, care apar, de regulă, peste 2 zile după pătrunderea virusului. Ele distrug celulele alterate de virus, care pierd antigenii HLA de clasa I și devin străini. Complementul activat de virioni pe calea clasică sau alternativă poate altera supercapsida lor. Acest proces este mai eficace în cazul când membrana virală este acoperită de anticorpi și complementul este activat de complexe Ag-Ac.

Interferonii, care pot exista în cantități esențiale în secrete, stimulează rezistența celulelor la virioni. Ei activează celulele NK, macrofagele, astfel intensificând posibilitatea de distrucție a virionilor. La stimularea leucocitelor cu Ag virali, ei sunt secretați în cantități mari.

Imunoglobulinele de clasa IgA secretorii ale mucoaselor sunt un factor specific esențial de apărare virală. Ele se leagă cu receptorii virali și blochează ca-

pacitatea virionilor de absorbție pe celulă. Dar acești anticorpi apar numai la prezența memoriei imunologice la antigenii virionului dat.

Celulele T cu receptori $\gamma\delta$ ai mucoaselor posedă specificitate la mulți Ag virali. Limfocitele B CD5⁺ secretă anticorpi naturali care constituie o barieră relativ specifică timpurie pentru virioni.

Dacă virionii traversează bariera pielii și mucoaselor și nimeresc în sânge, ei pot fi neutralizați de anticorpii IgM, IgG și complement în cazul când aceștia sunt prezenți în plasma sangvină sau limfă ca urmare a unei infecții suportate sau vaccinării.

Astfel, rezistența și imunitatea antivirală sunt dependente de starea inițială a organismului, de activarea nespecifică și specifică prealabilă a celulelor sistemului imun. Momentul critic în dezvoltarea infecției este legarea structurilor virale de suprafață cu membrana celulei-țintă în care participă proteinele speciale și receptorii glicoproteici sau moleculele de adeziune. Dacă însă virionul a pătruns în celulă, ea dispune de mecanisme de apărare – blocada replicării virale dacă este activată de IFN.

Interferonii sunt secretați de celulele infectate cu virusuri sau după stimulare cu remedii interferonogene ori vaccinuri. IFN posedă specificitate de specie, iar blocada lor de către Ac inhibă imunitatea antivirală. La acțiunea IFN celula secretă două enzime: *2'5'-oligoadenilat sintetaza*, produsul căreia (oligoadenilat) activează ribonucleaza intracelulară cu distrugerea ARN viral, și *proteinkinaza*, care se activează în prezența ARN dublu catenar, catalizează fosforilarea (inactivarea) factorului eIF2 α necesar pentru inițierea sintezei proteinelor virale. ARN viral este un inductor puternic al IFN. Dacă virusul este degradat parțial de către factorii rezistenței nespecifice până la pătrunderea lui în celulă, ARN viral, poate induce sinteza IFN și respectiv rezistența celulei la virus. IFN activează macrofagele și celulele NK.

La pătrunderea în celulă, virionii pot ucide celula prin diverse modalități. Unii virioni, ca poliovirusurile, adenovirusurile sau produsele lor, pot bloca enzimele necesare proceselor metabolice sau replicării, pe când altele pot distruge structurile intracelulare, cum ar fi lizozomii cu eliberarea fermenților. Unele proteine virale la pătrunderea în membrana celulară pot modifica integritatea ei: de ex., virusul rujeolei posedă activitate de fuzionare și induce formarea de sinciții. Alți virioni pot schimba funcția specializată a celulei fără a o distruge. De obicei, astfel de celule aparțin sistemelor nervos central și endocrin.

Ag virali sunt proteine și glicoproteine ale supercapsidei, capsidei, proteine-enzime interne și nucleoproteine. Fiecare moleculă antigenică posedă mulți epitopi, iar Ac secretați vor avea diversă specificitate. Structura antigenică a multor virioni poate să se modifice, frânând dezvoltarea imunității. Proprie-

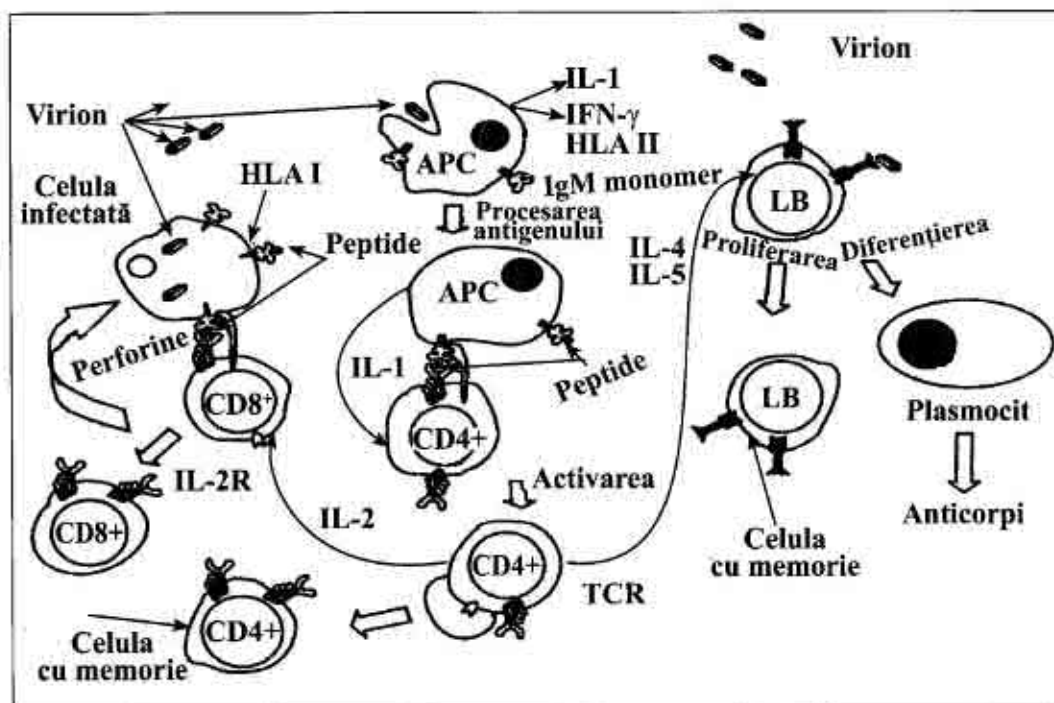
tăți protective posedă Ag virali superficiali și membranari. Virionii, prin modificarea proprietăților antigenice, evită eliminarea de către celulele sistemului imun. Modificarea antigenică este bine ilustrată în infecția cu virusul gripei A: ARN viral este învelit de membrana proteică pe care sunt prezente două proteine virale—hemaglutinina și neuraminidaza. Majoritatea Ac neutralizanți sunt direcționați contra acestor determinante. Virusul poate evita acțiunea Ac prin modificarea structurii hemaglutininei și neuraminidazei prin două modalități: shift-ul și dreif-ul antigenic. Mutațiile punctiforme induc schimbări structurale neesențiale (dreif-ul antigenic) cu modificarea locului Ag pe hemaglutinină. Astfel de modificări, posibil, sunt responsabile de epidemiile gripei nu prea mari, ce apar iarna. Shift-ul antigenic reprezintă modificarea esențială a structurii hemaglutininei sau neuraminidazei, care au fost documentate în epidemiile mari de gripă din Spania, în unele țări din Asia, inclusiv Hong-Kongul, în fosta Uniune Sovietică.

Persistența virală este caracteristică unor infecții (de ex., hepatita B). Starea latentă a virusului este asigurată de faptul că virionul, încadrându-se în genomul celulei, nu-și exprimă pe membrana celulei Ag săi. De ex., virusul herpes la om poate rămâne în stare latentă, cu perioade de activare și replicare.

Celulele infectate viral își concentrează pe suprafața lor antigenii virali, deoarece membrana virală deseori se formează din membrana celulei-gază. Ag virali pe suprafața celulelor sunt recunoscuți de sistemul imun cu sinteza de anticorpi și limfocite T-killer specifice pentru diferiți epitopi ai unui antigen. Într-un șir de infecții Ac sunt ineficienți contra virusurilor și frânează dezvoltarea imunității celulare. Imunitatea apare dacă sunt distruși virionii liberi sau/și celulele infectate. Toți Ag virali sunt T-dependenți. Celulele antigen-prezentatoare prezintă unii Ag virali asociați cu HLA de clasa I limfocitelor T CD8⁺, din care apar T-killerii imuni. Alți antigeni sunt prezentați în complex cu HLA de clasa II T-helperilor CD4⁺, care induc sinteza Ac antivirali inițial IgM, ulterior IgG. Anticorpii anti-Ag virali, chiar în concentrații mici, neutralizează virionii prin blocarea receptorilor lor și a pătrunderii lor în sânge. Concomitent, Ac se fixează pe celulele-țintă (IgG, IgM), asigurând citotoxicitatea anticorpdendentă.

Anticorpii în cantități suficiente pot neutraliza virionii liberi, în special când ei se găsesc în sânge extracelular. Dar anticorpii numai blochează virionii, liza acestora fiind realizată de complement. Distrugerea virionilor acoperiți cu Ac poate fi realizată prin mecanisme de citotoxicitate anticorpdendentă de celulele K (granulocite, macrofage). Anticorpii asigură apărarea imună și în cazul infectării repetate. Sunt eficienți, de exemplu, în rujeolă, poliomielită, oreion, rubeolă, gripă (la un serotip concret) etc. În aceste infecții, nivelul anticorpilor reflectă intensitatea imunității. Însă Ac nu întotdeauna sunt eficienți contra viru-

surilor, mai ales în cazul când ei au pătruns în celulă. Apariția Ac la pacienți nu conduce la eradicarea infecției HIV, hepatitelor etc. Pentru aceasta, suplimentar, este necesară participarea mai multor factori: macrofagelor activate, T-killerilor, activarea de către IFN a rezistenței antivirale a celulelor-țintă. În unele cazuri, răspunsul imun umoral (Ac) frânează dezvoltarea răspunsului efectiv celular T (concuranța activității Th1 și Th2). Mai mult ca atât, anticorpii acoperind virionul fără alterarea lui pot intensifica pătrunderea acestuia intracelulară prin legarea fragmentelor Fc la receptorii Fc celulari. Mecanismele posibile de dezvoltare a imunității antivirale sunt elucidate în fig. 11.1.



Notă: APC – celula prezentatoare de antigen; TCR – receptorul celulei T

Figura 11.1. Mecanismele imunității antivirale (schematic)

Complementul realizează neutralizarea unor virioni acoperiți cu Ac. Fără Ac, el are capacitatea de inactivare a virionilor care posedă receptori pentru componentul C1q (retrovirusurile etc.), prin legarea acestora fiind inițiată calea clasică de activare a lui.

Virionii care au pătruns în celulele vecine fără a contacta Ac sunt distruși prin mecanisme celulare. Macrofagele fagocitează virionii, pe mulți dintre ei distrugându-i. Fagocitoza se intensifică dacă virionul este opsonizat de Ac. Unele virusuri, precum HIV, activează intensiv macrofagele, care elimină excesiv citokine (IL-1, TNF- α) cu alterarea altor celule, dar nu a virionilor.

Un factor important al imunității antivirale reprezintă T-killerii virusospecifiți. După stimularea limfocitelor T de către Ag, ei devin anergici dacă nu primesc al doilea semnal de la moleculele costimulatoare. Acest proces este dependent de cantitatea, repartiția, procesarea și cinetica antigenului atât în celulele APC, cât și în organele limfoide regionale și țesuturi.

În majoritatea infecțiilor virale, celulele T elimină virusul sau îl inhibă, conducând la persistența infecției. Virusul HIV însă, infectând celulele principale ale sistemului imun – CD4⁺, dezorganizează reacțiile imune. Celulele infectate exprimă Ag virali de suprafață peste puțin timp după pătrunderea virionului în celulă. Distrugerea rapidă a acestor celule de către limfocitele T citotoxice preîntâmpină replicarea virală (fig. 11.2), iar T-helperii de tip 1 prin eliminarea IFN- γ inhibă replicarea virală în celulele sănătoase.

Limfocitele T virusospecifice sunt apreciate atât la formarea imunității, cât și în infecțiile persistente, dar pentru stabilirea imunității este necesară cantitatea lor suficientă.

Hepatitele cronice virale sunt însoțite de creșterea nivelului interleukinelor, în special TNF- α și IL-4, ce nu contribuie la formarea imunității. Cronicizarea hepatitei C este legată de predominarea funcției Th2.

Rezultatul reacțiilor imune la pătrunderea virionilor poate fi divers: distrugerea sau inactivarea virusului fără alterarea celulelor infectate viral, distrugerea și eliminarea celulelor gazdei modificate viral cu alterarea organelor și țesuturilor, eliminarea virionului și alterarea organelor și țesuturilor, absența reacției la persistența latentă virală. Unii virioni parazitează în celulele sistemului imun și, prin alterarea lor, induc imunodeficiență nu numai la Ag acestora, dar și la alți agenți (CMV, HIV etc.).

Dacă infecția afectează organele nelimfoide (pielea, ovarele, rinichii etc.), anticorpilor și celulele T nu pot asigura neutralizarea virionilor. Numai LT activate la migrarea lor în organe vor asigura apărarea imună.

Durata imunității antivirale active constituie de la câteva luni până la mulți ani (pe parcursul vieții – la virusul rujeolei, poliomielitei etc.). Ea este dependentă de prezența subpopulațiilor limfocitare T și B cu memorie și durată lungă de semi-viață. La prezența celulelor cu memorie, ele rapid vor fi activate de Ag virali și eliminând citokine și Ac vor activa alte leucocite asigurând apărarea de infecție.

Imunitatea artificială pasivă indusă prin inocularea imunoglobulinelor se va menține câteva săptămâni.

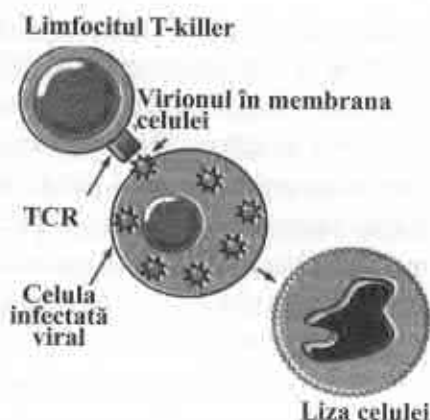


Figura 11.2. Liza celulelor infectate viral de către LT-killer

Virionii pot induce și diverse procese imunopatologice. Proteinele virale pot avea structuri comune cu cele celulare ale gazdei (mimicria antigenică), ceea ce împiedică recunoașterea Ag virali non-proprii și conduce la apariția reacțiilor autoimune. Unele proteine produse de virusuri au proprietăți de citokine și induc imunomodularea. De ex., una din proteinele virusului Epstein-Barr posedă proprietățile IL-10 și astfel inhibă activitatea Th1 transferând răspunsul la Th2 și sinteza de Ac neeficienți în eliminarea virusului. CMV inhibă expresia moleculelor HLA de clasa II la macrofage, endoteliu și fibroblaști prin inhibiția transmiterii semnalului de la IFN- γ și scăderea activității *janus-kinazei* (*JAK*) datorată degradății acesteia. Aceasta ar fi explicația capacității CMV de a evita eliminarea imună și persistența lui latentă.

Virusul rujeolei poate bloca secreția IL-12 de către monocite. Unii virioni formează fragmente mici de ARN care supresează activitatea IFN și proteinkinazi.

În același timp, proliferarea virală și acumularea virionilor depășește formarea mai lentă a factorilor imuni. Altă cale de evitare a imunității este apariția provirionilor, când Ag nu se formează, dar se păstrează informația virală genetică până la perioada favorabilă de replicare.

Modificarea răspunsului imun de către virusuri este baza intensificării sau inhibiției altor virioni sau bacterii. Efectul modulației răspunsului imun de către virusuri este divers: modificarea proprietăților și a activității funcționale a subpopulațiilor limfocitare, inhibiția chemotactismului și a fagocitozei leucocitare, inhibiția proliferării T-killerilor imuni la virionul dat, majorarea sensibilității organismului la alți agenți infecțioși etc.

Inhibiția reactivității organismului în infecțiile virale acute este tranzitorie (7-22 de zile). Însă în unele cazuri, imunodeficiența poate să se mențină pe parcursul vieții, în special la făt sau la nou-născut. Infecțiile virale, de regulă, se asociază cu defectele celulelor T. În infecțiile herpetice este scăzut nivelul sIgA. Multipli virioni (CMV, HIV, HSV etc.) induc imunodeficiența sau contribuie la formarea ei în prezența patologiei generalizate. Infecția citomegalovirală la nou-născut conduce la disimunoglobulinemie, limfopenie T, modificarea componenței subpopulațiilor limfocitare care se păstrează mai mult de 8 luni. Acest fundal favorizează dezvoltarea infecțiilor provocate de bacterii convențional patogene. Imunosupresia virală la unii agenți poate fi însoțită de hiperactivitatea la alți Ag infecțioși sau alergeni neinfecțioși ce constituie cauza apariției alergiei. După infecția gripală și adenovirală frecvent apar astmul bronșic și maladiile alergice ale căilor respiratorii superioare. Virionii induc secreția histaminei de mastocite.

Așadar, mecanismele perturbărilor imune în infecțiile virale pot fi provocate de:

- proliferarea virală și distrucția celulară (virionii limfotropi – EBV transformă limfocitele B, iar HIV alterează limfocitele CD4⁺; virionii rujeolei, varicelei, herpesului, poliomielitei inhibă proliferarea limfocitelor T);

- activarea macrofagelor cu eliminarea de citokine, care modifică reactivitatea (HIV etc.), inhibiția expresiei Ag HLA-DR pe APC, dereglarea adeziei, cooperării celulare în răspunsul imun (HIV, virionii hepatitelor, gripei etc.);
- apoptoza indusă viral a unor subpopulații celulare, în special a T-helperilor; stimularea dezechilibrului Th1/Th2, conduce la imunodeficiență sau alergii (virusul gripei, rujeolei, adenovirusurile etc.);
- acțiunile peptidelor virale, asemănătoare citokinelor, care contribuie la legarea citokinelor de către proteinele virale, reducerea sintezei lor (CMV, virusurile herpetice etc.);
- inhibiția bactericidității neutrofilelor (virusul rujeolei, gripei);
- activarea policlonală a limfocitelor T și B de către superantigenii virali care conduc la inhibiția răspunsului imun antiviral specific și la dezvoltarea reacțiilor autoimune.

Virionii induc procese imunopatologice. Complexele „Ag viral - Ac” alterează vasele și induc vasculite observate în multe infecții virale. Mai frecvent apar glomerulonefritele, induse de complexe imune (hepatita B etc.), sinovite și artrite. T-killerii viruso-specifici lizează hepatocitele infectate și alte celule chiar dacă ele nu sunt distruse de virus.

Hipersensibilitatea de tip întârziat indusă de virioni poate altera țesuturile învecinate și induce procese inflamatoare.

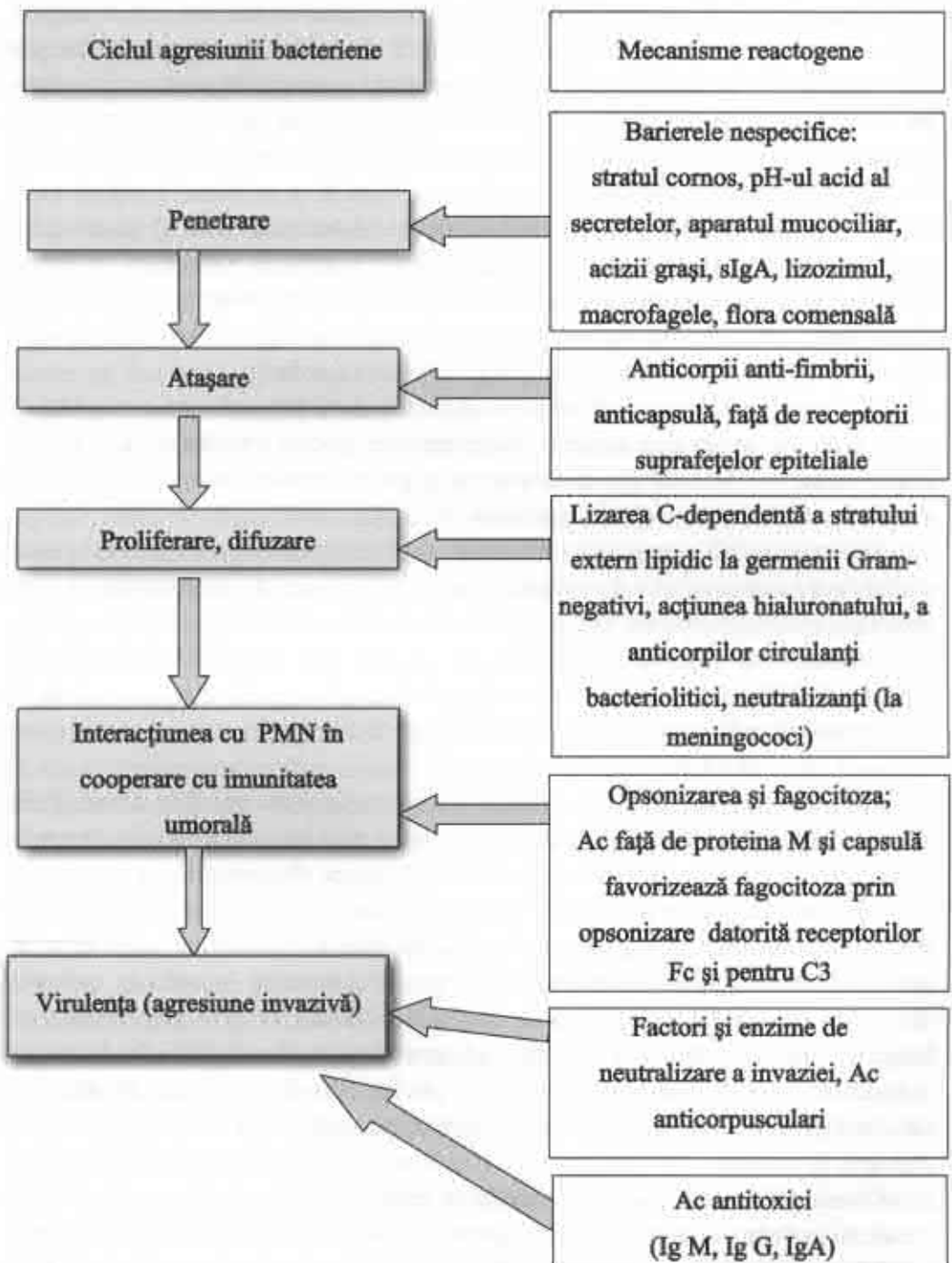
Mimicria antigenică conduce la apariția reacțiilor și maladiilor autoimune. Pacienții cu hepatită C, care au Ac la Ag tiroidei, pancreasului, posedă risc de dezvoltare a hipotirozei și diabetului zaharat.

Genele virale integrate în genomul celulelor sistemului imun prin modularea activității genelor vecine pot fi cauza activității majorate sau minore și ca urmare pot stimula dezvoltarea imunodeficienței, alergiei, reacțiilor autoimune.

Imunitatea antibacteriană

În infecțiile bacteriene în majoritatea cazurilor se constată o serie de etape de mare regularitate, ce se exprimă prin paralelismul existent între relațiile dinamice ale agentului patogen cu macroorganismul și evoluția ciclică a maladiei. Aceste etape și mecanisme reactogene sunt elucidate în tab. 11.2. Factorii care apreciază forma și severitatea evolutivă a procesului infecțios sunt dependenți de microorganism (doza, patogenitatea, virulența etc.) și de starea macroorganismului (vârsta, statusul imun, starea generală etc.). Interacțiunea microbului cu macroorganismul poate rezulta cu *imunitate nesterilă*, când factorii de patogenitate și imunitatea se găsesc în echilibru, cu *imunitate sterilă*, cu eliminarea agentului patogen, și cu *infecție*, când are loc proliferarea microbului virulent.

Principalele mecanisme reactogene (etapizate) în bacterioze



În stadiul de penetrare a agenților bacterieni, prin barierele mucoaselor și prin cele tegumentare sunt mobilzate un mare număr de mecanisme legate îndeosebi de particularitățile structurale, metabólico-secretorii, funcționale locale.

Agenții patogeni pătrund în organism prin mucoasele nasului, căilor respiratorii, ochilor, căilor urogenitale și ale tractului intestinal, în special la alterarea acestora. Pielea se consideră o barieră mecanică invincibilă pentru microorganisme și posedă proprietăți bactericide esențiale dependente de eliminarea acizilor grași și lactic, enzimelor, de secretul glandelor sebacee etc.

Secretele mucoaselor, glandelor salivare și digestive nu numai spală microbii de pe suprafața mucoaselor, dar au și acțiune bactericidă datorită lizozimului, diferitor enzime, pH-ului acid al sucului gastric și acțiunii microflorei normale. Flora bacteriană normală a mucoaselor, în special a intestinului, pielii, împiedică dezvoltarea microorganismelor patogene. Dereglarea microbiocenozei la antibioterapie conduce la disbacterioză (dismicrobism) și infecții.

Apărarea nespecifică a organismului într-o mare măsură este controlată de mecanisme genetice care asigură imunitatea de specie. Există date despre receptivitatea congenitală genetică a unor populații umane la un șir de infecții (malaria, tuberculoză, rujeolă, poliomielită etc.).

Evoluția severă a procesului infecțios sau fatală pentru gazdă poate fi observată la scăderea nivelului de apărare nespecifică și a reactivității imune, la doza mare și virulența majoră a agentului infecțios etc.

Cronicizarea procesului infecțios, de regulă, este rezultatul inconsistenței răspunsului imun la agentul patogen. Sensibilitatea la meningococi este crescută la deficitul complementului, iar evoluția severă a infecției meningococice este asociată cu receptorul alotip FcRIIa.

Complexul de factori ai imunității congenitale naturale (lizozimul, PCR, complementul, transferina, proteina de legare a mananei, neutrofilele, macrofagele) pot elimina microorganismele fără dezvoltarea răspunsului imun specific.

Anticorpii limfocitelor B-1 ale mucoaselor sunt un factor important al imunității naturale. IgM și sIgA secretate de aceste celule realizează imunitatea antibacteriană congenitală în primul rând față de bacteriile intestinale, microbii formatori de capsulă (pneumococii, bacilul hemofilic). Ac IgM asigură citotoxicitatea dependentă de complement, sIgA opsonizează până la 90% din bacteriile intestinale împiedicând adeziunea lor la epiteliu. Acești Ac primari au specificitate la Ag răspândiți ai bacteriilor: fosforilcolina, polizaharidele și lipopolizaharidele.

Celulele $\gamma\delta$ care prezintă imunitatea congenitală celulară apreciază rezistența la unele microorganisme (*M. tuberculosis*). În unele situații, microbii persistă în organism fără un răspuns imun evident pe fundalul areactivității utile

a acestuia. Însă există mecanisme care rețin proliferarea lor. Astfel de situație poate fi constatată la purtătorii de germeni.

Factorii imunității naturale reprezintă etapa primară de apărare, ulterior se includ mecanismele adaptive imune. Celulele sistemului imun (SI) sunt răspândite în piele și mucoase (limfocitele T și B, macrofagele, celulele dendritice). Macrofagele, mastocitele, granulocitele se găsesc pe epiteliul criptelor amigdalelor, plăcilor Peyer, țesutului limfoid asociat bronhiilor. La acest nivel are loc primul contact dintre Ag microbieni și celulele SI, iar răspunsul imun are caracter local. De-a lungul glandelor, în epiteliu sunt concentrate celulele B producătoare de IgA, care migrează prin celula epitelială și obțin componentul secretor, astfel devenind sIgA. Ele opsonizează microbii, împiedică fixarea lor pe epiteliu și proliferarea, dar nu leagă complementul. Lanțurile grele care conțin manane ale sIgA pot nespecific lega fimbriile unor bacterii, intensificând astfel efectul antibacterian. Secretele mucoaselor conțin IgM și sIgA, leucocite.

Răspunsul imun specific se dezvoltă în organismul gazdei față de Ag agentului patogen, toxinele lui, ale altor produse microbiene, precum și față de antigenii vaccinurilor și anatoxinelor. La interacțiunea celulelor SI, primar a macrofagelor, celulelor dendritice cu Ag, ele recunosc non-propriul în locul de penetrare și realizează răspunsul imun. Se intensifică expresia celulară a adenzinelor și integrinelor. Intensitatea și specificitatea răspunsului imun este dependentă de genele sistemului HLA. În recunoașterea Ag lipidici (M. tuberculosis) participă moleculele CD1.

Fiecare agent patogen dispune de particularitățile și condițiile sale de dezvoltare a infecției, patogenității dependente de virulență, calea de pătrundere și altele. Penetrarea multor microbi în organism este însoțită de bacteriemie și antigenemie (tifosul abdominal, salmonelozele etc.) cu manifestări clinice în urma distrucției bacteriene, iar endotoxinele lor (LPS) induc inflamația (febra etc.).

În funcție de natura Ag, localizarea lor intra- sau extracelulară și a altor factori, răspunsul imun poate fi manifest cu predominarea imunității T sau B celulare, cu sinteza primară a Ac IgM, ulterior IgG și IgA. După eliminarea agentului, clonele celulelor efectoare sub influența factorilor supresivi se reduc și rămân celulele cu memorie și durată de semivie lungă care asigură imunitatea.

La pătrunderea repetată a microorganismului, chiar cantitățile minore de Ac și proliferarea rapidă a limfocitelor T și B cu memorie sunt capabile să neutralizeze agentul patogen. Fenomenul de stabilire a memoriei imune după contactul primar cu Ag este baza imunității adaptive, iar intensificarea memoriei imunologice la contactul repetat cu Ag este utilizată la revaccinare.

Imunitatea specifică la indivizii unui colectiv este considerată *colectivă*. Pentru întreruperea procesului epidemic este necesar de a vaccina 95% din numărul populației. Controlul nivelului imunității individuale și colective se efectuează prin aprecierea titrului de Ac protectivi în sânge. Capacitatea de a realiza răspunsul imun se modifică cu vârsta. În organismul nou-născutului funcționează toate mecanismele SI, dar copiii primelor luni și chiar ani de viață reacționează în alt mod la Ag, comparativ cu adulții. Apărarea nou-născutului de microbi este realizată de IgG, sIgA, lizozim și celulele imunocompetente care au pătruns transplacentar sau cu laptele matern. La indivizii de vârstă înaintată se observă scăderea reactivității imune și creșterea sensibilității la infecții.

Imunitatea dobândită la infecțiile bacteriene diferă după mecanisme în funcție de factorii patogeni ai agentului. În unele cazuri, când bacteriile elimină toxine sau sunt sensibile la Ac, imunitatea este efectivă, în alte cazuri ea este ineficace, de ex., la inducția Ac față de bacteriile intracelulare, iar la eliminarea excesivă a citokinelor produsele răspunsului imun alterează țesuturile proprii.

Infecțiile bacteriene care sunt dependente de producția exotoxinelor (difterie, tetanos, botulism etc.) induc imunitatea antitoxică. Rolul prioritar în neutralizarea toxinelor le revine Ac IgM și IgG. Primar, peste 48 de ore apar IgM care ating niveluri maxime la 7-10 zile, ulterior predomină Ac IgG. Molecula de Ac se leagă de situsul combinativ al toxinei și blochează legarea ei cu receptorul. În complex cu Ac toxinele pierd capacitatea de difuzie în țesuturi și pot fi fagocitate.

Mecanismul principal al apărării antibacteriene este fagocitoza, care crește esențial la opsonizarea bacteriilor de către IgM și IgG specifice; acestea se leagă prin fragmentele Fab cu Ag pe suprafața bacteriilor și concomitent cu receptorul Fc al membranei fagocitelor. Aceasta conduce la activarea sistemelor bactericide ale celulelor fagocitare.

Activarea sistemului complementului de către complexe Ag-Ac induce distrucția membranelor lipoproteice ale bacteriilor Gram-negative și eliberarea anafilatoxinelor care stimulează afluxul altor factori umorali din plasma sanguină și induc chemotactismul leucocitelor polimorfonucleare care realizează fagocitoza.

IgA secretorie prin legarea bacteriilor preîntâmpină adeziunea lor pe suprafața epiteliului, astfel asigurând imunitatea locală a mucoaselor. IgE legate cu mastocitele mucoaselor pot stimula inflamația alergică cu participarea leucocitelor.

Imunitatea antibacteriană dobândită, în special cu Ac anti-Ag polizaharide, de regulă este tipo-specifică și de scurtă durată. Acest fapt explică frecvența repetată a infecțiilor bacteriene și necesitatea revaccinărilor frecvente la utilizarea vaccinurilor bacteriene în scop profilactic, formarea imunității nesterile sau ineficacitatea vaccinărilor în unele infecții bacteriene.

Lipopolizaharidele bacteriilor induc sinteza de Ac la determinantele lipopolizaharide care nu sunt întotdeauna imunodominante și astfel de Ac nu asigură imunitatea, fapt ce se observă la bruceloză, tuberculoză etc. În același timp, acești Ac sunt eficienți față de *E. coli*, leptospire și alte bacterii.

Bacteriile cu parazitism intracelular (*M. tuberculosis*, brucelele, salmonelele, rickettsiile, chlamidiile, micoplasmele etc.) manifestă rezistență majoră la factorii de apărare. Fiind fagocitate, ele supresează fuzionarea fagosomilor cu lizozomii prin formarea unei membrane externe sau prin migrare din fagosomă în citoplasmă. Aceste bacterii sunt distruse prin mecanisme imune T-celulare.

T-helperii specifici producători de citokine la contactul cu macrofagele infectate elimină IFN- γ , care activează celulele NK și macrofagele și ele devin ulterior mai eficiente. Dar totuși, mecanismul cel mai important este inducerea activității T-killerilor care distrug celulele infectate și contribuie ca bacteriile să devină accesibile pentru alți factori bactericizi, inclusiv pentru macrofagele activate. De aceea, intensitatea imunității antibacteriene în infecțiile intracelulare este determinată nu de imunitatea umorală, ci de cea celulară T. Printre efectorii citotoxici, unii vor distruge celulele infectate prin apoptoză și eliminarea de citokine, iar alții (CD8⁻) – însuși bacteriile. Intensitatea imunității se apreciază prin probele cutanate cu PPD și testele care determină imunitatea celulară T *in vitro*. Există corelare între intensitatea probelor cutanate la PPD și sinteza IFN- γ .

În general, apărarea în infecțiile intracelulare are caracter combinat cu participarea fagocitelor activate care înglobează microbii opsonizați.

În majoritatea cazurilor, pentru aprecierea nivelului imunității antibacteriene sunt utilizate diverse metode de testare a Ac în serul sangvin, chiar dacă nivelul lor nu apreciază întotdeauna intensitatea imunității antibacteriene. Pentru diagnosticul serologic se utilizează fenomenul creșterii titrului anticorpilor circulanți în dinamica maladiei infecțioase (testul serurilor pare) sau testarea Ac IgM timpurii în faza acută a maladiei. Ac IgG apar ceva mai târziu, în perioada de reconvalescență și pot circula pe parcursul vieții în titre mai mici atât după maladia suportată, cât și după vaccinare.

Așadar, imunitatea antibacteriană se formează în urma interacțiunii continue a SI cu microbii, care-și modifică proprietățile sale. Viabilitatea microbilor este asigurată de formarea capsulei microbiene, de secreția exotoxinelor care inhibă fagocitoza și reacțiile imune. Anticorpii asigură imunitatea umorală, neutralizarea toxinelor, activarea complementului pe suprafața bacteriilor evitând proprietățile antifagocitare ale capsulei, opsonizarea ei prin IgG și C3b. Efectul insuficient al Ac poate fi compensat de T-killeri.

Acțiunea patologică a bacteriilor nu se limitează doar la activitatea toxinelor și chiar după distrucție lasă urme imunopatologice. Produsele distrucției bacteriilor

(LPS) induce sinteza citokinelor (IL-1, TNF- α etc.), care participă în dezvoltarea șocului endotoxic și sepsisului „amicrobian”. Aceste citokine în anumite condiții pot să se producă mult timp fără stimulări ulterioare sau secreția lor se intensifică la apariția LPS din bacteriile saprofite distruse de antibiotice în terapia neargumentată. Eliminarea durabilă a citokinelor conduce la inflamația cronică și dezvoltarea reacțiilor autoimune datorate atât mimicrii antigenice dintre bacteriile distruse și țesuturile organismului, cât și alterărilor nespecifice ale ultimilor și la inițierea mecanismelor de apoptoză. Pe de altă parte, citokinele pot intensifica creșterea bacteriilor. Astfel, interacțiunea dintre bacterii și SI poate conduce la formarea imunității protective, imunosupresie și alterarea țesuturilor.

Imunitatea în micoze

Antigenii fungilor sunt localizați în sporii lor (conidii), în peretele celular (polizaharide, glicopeptide) și în citoplasmă. Au fost depistați peste 80 de antigeni diferiți. Sporii fungilor apatogeni și convențional patogeni se găsesc în aer pe parcursul întregului an (în special, primăvara și toamna) și pot fi cauza alergiei respiratorii (rinite, astmul bronșic), în care se testează Ac IgE față de alergenii sporilor fungici.

Infecțiile induse de fungi pot altera pielea (dermatomicoze), țesutul adipos, celulele subcutanate și profunde (micozele profunde). Unele infecții – candidozele pielii și mucoaselor – se dezvoltă doar pe fundalul imunodeficienței. Fiecare formă se manifestă cu particularități ale reacțiilor sistemului imun, dar, de regulă, se observă reacții complexe.

Mecanismele imune aparente la fungii patogeni sunt identice celor întâlnite în imunitatea antibacteriană. Imunitatea congenitală naturală este asigurată de neutrofile și macrofage prin fagocitoză și acțiunea defensinelor, mecanismelor citolitice oxigen-dependente. Fungii pot activa C pe cale alternativă.

Predispoziția la infecțiile fungice este rezultatul insuficienței imune, factorii celulari (Th1) fiind inhibați de activarea prioritară de către Ag a Th2 și citokinelor lor (IL-4, IL-10). Baza imunității specifice o constituie Th1 care prin eliminarea de IFN- γ activează macrofagele care fagocitează fungii și manifestă efect fungicid. Participarea T-killerilor se exprimă prin acțiune directă fungicidă. În micozele respiratorii, răspunsul T-celular este similar cu cel din micobacterioze – hipersensibilitatea de tip întârziat. Limfocitele T produc limfokine cu activarea macrofagelor, care participă la distrugerea fungilor în cooperare cu fagocitoza realizată de polimorfonucleare. Efectul protectiv al Ac poate fi manifest prin opsonizarea celulelor fungice, fagocitoză, iar unele pot fi sensibile și la liza complementului. Ac de clasă IgG la unii fungi convențional patogeni (*Candida albicans*) deseori se întâlnesc la persoanele sănătoase, dar majorarea titrului de Ac IgM indică o infecție. Ac IgE se înregistrează în reacțiile alergice

care deseori însoțesc infecțiile fungice sau se dezvoltă la alergenii fungilor apatogeni. Detecția anticorpilor și antigenilor (manane) în sângele bolnavilor este utilizată în diagnosticul infecțiilor fungice. La acești pacienți, probele cutanate cu alergenii fungici sunt pozitive.

Imunitatea antiparazitară

În bolile parazitare, răspunsul imun este dependent de un număr mare de factori (tab. 11.3). Protozoarele au multipli antigeni și induc infecții de lungă durată. În invaziile parazitare, când agentul patogen se găsește în sânge (malaria, tripanosomiazele), intensitatea imunității este apreciată de factorii umorali, iar când parazitul se multiplică în țesuturi – de factorii celulari. Nematodele care se găsesc pe suprafața mucoaselor (Amoeba, Giardia, Trichomonas) induc răspunsul imun, dar el este insuficient pentru eliminarea lor, deoarece contactul dintre Ag parazitului și celulele sistemului imun este restrâns.

În invaziile protozoice, de regulă, se observă persistența paraziților însoțită de reacții imune și alergice. Este intensificată sinteza IgE ce poate conduce la afluxul eozinofilelor indus de mastocite în focarul infecțios.

Tabelul 11.3

Particularitățile imunoreactive în parazitoze

Particularități	Consecințe imunologice
Structura antigenică complexă, variabilă în funcție de stadiul ciclului de dezvoltare	Răspunsuri imune multiple, concomitente, variabile în timp, subeficiente ca mecanisme de apărare
Localizare	Imunitatea celulară și umorală sangvină
Etiologie	IgM: tripanosomiază, malarie IgG: malarie, leishmanioză IgE: nematode
Gazdă	Răspunsuri dependente de starea imună, relații bilaterale complexe
Evoluție frecvent cronică	Antigeni circulanți persistenți cu riscul apariției complexelor imune agresive
Caracterul policlonal al stimulării	Splenomegalie

Schistosomele, acoperite cu IgG sau IgE, sunt distruse de eozinofile și alte leucocite atașate la ele (citotoxicitatea anticorpdendentă). Eozinofilele sunt efectorii principali ai imunității antiparazitare. Prin intermediul receptorilor

Fce de afinitate joasă (Fce II sau CD23) ele se atașează la Ac IgE legați pe helminți, degranulează și elimină citokine (IL-1, -3, -4, -5, -6, -8 etc.), proteina bazică majoră, proteina cationică, peroxidaza, anionii superoxizi care lizează cuticula helmintului. Citokinele mobilizează alte celule, apar infiltrate de tipul fazei tardive a alergiei, de tip imediat cu acumularea de eozinofile, mastocite, neutrofile, Th2, care elimină un șir de citokine noi și enzime, care în final distrug parazitul.

Apărarea față de paraziții intracelulari este asigurată de Th1 care elimină IFN- γ și activează macrofagele. Mulți paraziți, însă, care induc răspunsul imun, sunt destul de rezistenți la factorii efectori și pot persista în organism timp îndelungat.

Persistența cronică a Ag parazitului rezistent la răspunsul imun poate induce alterarea țesuturilor în urma reacțiilor imunopatologice ale complexelor imune, cum ar fi sindromul nefrototoxic, granulomatoza ficatului și maladiile autoimune ale cordului. Starea imunosupresivă indusă de paraziți conduce la sensibilitatea crescândă la infecțiile bacteriene și virale.

În parazitoze răspunsul imun poate fi T-dependent și B-dependent (tab. 11.4), având caracteristici normoimune și disimune.

Variabilitatea antigenică pe parcursul ciclului de dezvoltare a parazitului, activitatea protectivă minoră a Ac și mecanismelor efectoare specifice celulare de eliminare a protozoarelor n-au facilitat crearea vaccinurilor efective contra lor (este în studiu vaccinul contra malariei).

Pentru diagnosticul multor invazii protozoare se utilizează testele intracutane sau cele de testare a imunității celulare. În ultimii ani se utilizează pe larg aprecierea Ac IgM și IgG în testele imunoenzimatiche. O particularitate a imunității antiparazitare este biosinteza unei cantități mari de Ac IgE.

Așadar, mecanismele imunității antiparazitare sunt diverse și dependente de tipul infectului, proprietățile, doza lui și de starea reactivității imune a organismului.

Imunoprolaxia și imunoterapia infecțiilor

Imunizarea populației în scopul creării imunității antiinfecțioase active prin utilizarea vaccinurilor, anatoxinelor este un sistem de măsuri realizate pentru prevenirea, diminuarea răspândirii și lichidarea maladiilor infecțioase. Pentru crearea imunității pasive sunt utilizate serurile imune și imunoglobulinele cu activitate specifică antiantigenii infecțioși.

Prin implementarea programelor de vaccinare, aprobate și promovate de OMS, în majoritatea covârșitoare a țărilor se realizează programe statale de vaccinare, la nivel global fiind obținute succese remarcabile în prevenirea unor boli contagioase.

Răspunsul T- și B-dependent în parazitoze

Normoimune	Disimune
T-dependent	
<p>Imunitatea celulară realizează controlul parazităriei și reduce proliferarea parazitului. Limfocitele T activate specific eliberează limfokinele care:</p> <ul style="list-style-type: none"> - activează șuntul hexozomonofosfaților și unii metaboliți reactivi ai oxigenului (eliberarea de peroxizi și superoxid de hidrogen); - fac macrofagele mai toxice pentru paraziți (T. cruzi, Toxoplasma, filarii, plasmodii, schistosome) 	<p>Consecințe ale deficitului imunocelular (prin hipofuncție tamică, imunodepresie medicamentoasă sau prin iradiere):</p> <ul style="list-style-type: none"> - scăderea rezistenței față de tripanosome, plasmodii; - persistența parazitului (în țesuturi, limfă); - reacții autoimune T cross-reactive în tripanosomiază față de celulele cardiace
<p>Imunitatea celulară întârziată duce la formarea de granuloame, iar factorii fibrogeni eliberați de macrofage duc la încapsulări fibroase, cu reducerea consecutivă a agresivității parazitului</p>	<p>Granuloame mari, multiple pot induce scăderea celulelor parenchimotoase active. Invers, în caz de deficit T, nu se mai produc granuloame, scăzând protecția imună, produsele toxice parazitare difuzează și produc leziuni</p>
B-dependent	
<p>Antigenii acționează policlonal față de limfocitele B (hipergamaglobulinemie, dar parțial cu Ac specifici slab eficienți). Efectul se exercită asupra paraziților extracelulari și în prevenirea reinvăziei</p> <p>Mecanisme de acțiune a Ac:</p> <ul style="list-style-type: none"> - prin blocarea receptorilor specifici (situsurile de legătură): plasmodii (în stadiile de sporozit și mezozit), T. cruzi, Toxoplasma; - prin legarea directă ca urmare a activării C pe cale alternativă: plasmodii, tripanosome; - prin fagocitoza C3b-dependentă și prin macrofage: plasmodii, tripanosome; - prin stimularea citotoxicității Ac-dependentă: schistosome, Trichinella, filarii 	<p>Eficiența răspunsului este mediocră în parazitozele extracelulare care evită efectul Ac (plasmodii în stadii intracelulare, tripanosome, leishmanioze).</p> <p>Paraziții acoperiți cu Ac specifici nu mai pot fi distruși de PMN, deoarece nu se mai poate produce fuzionarea vacuolei fagocitice cu lizozomul. Formarea de complexe imune agresive se poate produce în multe parazitoze, cu depunerea:</p> <ul style="list-style-type: none"> - în rinichi (glomerulonefrită din malarie cvarta); - în sistemul nervos (în malarie cerebrală); - în mușchi (în tripanosomiază); - în plexurile coroide (în malarie)

Prin vaccinare a fost lichidată variola. Vaccinarea rămâne unicul mijloc de prevenire a rabiei, maladie care în toate cazurile se finalizează cu deces. Către anul 2009, vaccinările contra tuberculozei, poliomielitei, difteriei, tusei convulsive, tetanosului, rujeolei la nivel global au atins 89-93%, contribuind la reducerea incidenței prin aceste maladii.

În Republica Moldova, datorită vaccinărilor, a fost lichidată variola, eliminată poliomielite. Comparativ cu etapa prevaccinală, în ultimii ani s-a redus esențial numărul de cazuri înregistrate de tetanos, difterie, pertussis, rujeolă, oreion, rubeolă, hepatită B etc. Realizarea programelor naționale de imunizări a contribuit la fortificarea și menținerea stabilă la nivel înalt de 95-99% a acoperirii vaccinale, extinderea listei vaccinurilor garantate de stat și a contingentelor de populație beneficiare, ameliorarea calității serviciilor de imunizare.

Vaccinurile vii atenuate (BCG, antirabic, antipestos, antitularemie, antiantrax, antigripal, antipoliomielitic, antimorбилos etc.) creează imunitate activă identică cu cea postinfecțioasă naturală. *Vaccinurile inactivate* (antipertussis, antileptospiroză, antiencefalită acariană etc.) necesită revaccinări multiple pentru majorarea eficacității lor. Vaccinurile atenuate și inactivate conțin multiple determinante antigenice, dar cele protective sunt puține. De aceea extracția din microorganisme a Ag protectivi, denumiți *vaccinuri chimice*, este utilizată în crearea imunității contra holerei, gripei etc., fiind și mai puțin reactogene. Pentru sporirea imunogenității ele sunt suplimentate cu adjuvanți și imunomodulatori (de ex., gripol).

Anatoxinele sunt imunogene în crearea imunității antitoxice în difterie, tetanos și în alte infecții în care se elimină exotoxine.

Toxoides pot fi utilizate în locul anatoxinelor. Sunt produse ale genelor mutante ale exotoxinelor care și-au pierdut toxicitatea. De ex., enterotoxina E. coli și toxina holerei conțin subunitățile A și B. Subunitatea A este responsabilă de toxicitate. La mutația genei ea dispare, dar se păstrează subunitatea B imunogenă, care poate fi utilizată pentru obținerea Ac antitoxici. Au fost obținute anatoxine recombinante în pertussis și difterie.

Conjugarea epitopilor cu proteinele naturale sau polielectroliții sintetici au contribuit la crearea vaccinurilor artificiale.

Vaccinurile geno-inginerice se obțin prin transferarea genelor, care controlează determinantele antigenice respective în genomul altor microorganisme și sintetizează antigenii respectivi (vaccinul anti-HBV).

Vaccinurile fitogene sunt obținute prin inocularea în genomul plantelor a genelor microorganismelor care formează Ag necesari și pot induce imunitatea la utilizarea în rație a legumelor acestor plante (tomate sau cartofi cu Ag virusului hepatitei B).

Vaccinurile ADN prezintă acidul nucleic al patogenului care la inoculare în

organism induce sinteza proteinelor și răspunsul imun. Vaccinul ADN pe baza genei *NP*, care codifică nucleoproteina virusului gripei inoculată murinelor, induce apărarea lor la infectarea cu acest virion.

Vaccinurile noi prezintă celule dendritice purtătoare ale antigenului imunizant (CD-Ag), sunt stimulatori puternici ai imunității și au fost obținute prin sorbția Ag sau prin inocularea ADN/ARN în celulele dendritice. A fost demonstrată eficacitatea imună a CD-Ag la animale în chlamidioze, toxoplasmoze și stimularea formării T-killerilor cu activitate antitumorală. Tot în condiții experimentale a fost demonstrată crearea vaccinurilor în baza anticorpilor anti-idiotipici.

Principiile noi în crearea vaccinurilor includ tehnologiile genomice cu obținerea unui complex de peptide-Ag protectivi ai agenților câtorva infecții la care sunt suplimentate structurile moleculare patogen-asociate în calitate de adjuvant.

După componența lor se disting mono-, di- și polivaccinuri. Ribomunilul este un polivaccin din ribosomii și peptidoglicanii microbilor persistenți în căile respiratorii superioare.

Indicațiile pentru vaccinare sunt diverse. Unele vaccinuri sunt utilizate pentru vaccinarea obligatorie a copiilor (BCG, vaccinurile poliomielitei, oreionului, rujeolei, rubeolei, DTP, VHB). Alte vaccinuri sunt utilizate la risc de îmbolnăvire a unor grupe profesionale (contra zoonozelor) sau locuitorilor zonelor endemice (contra encefalitei acariene). Există și indicații epidemiologice (de ex., gripa). Eficacitatea vaccinării este dependentă de crearea unei pături imune a populației (imunitate colectivă) ce determină necesitatea vaccinării a 95% din numărul populației.

Vaccinurile trebuie să posede imunogenitate înaltă, să inducă un răspuns imun de lungă durată și stabil, să fie areactogene. Toate vaccinurile cu acțiune imunomodulatorie, majorând reactivitatea contra unor microorganisme, pot conduce la scăderea acesteia față de alți microbi. Multe vaccinuri, stimulând reactivitatea, inițiază reacții alergice și autoimune (mai ales la bolnavii cu maladii alergice). Contraindicațiile la vaccinări sunt strict reglementate (tab. 11.5).

În scop *imunoterapic*, vaccinurile sunt utilizate în infecțiile cronice trenante (antistafilococic, antibrucelozic, antigonococic).

Căile de inoculare a vaccinurilor sunt multiple: cutanat (antitularemie), intracutan (BCG), subcutanat (DTP), peroral (anti-poliomielită), intranasal (anti-gripal), intramuscular (anti-hepatita B). A fost elaborată și metoda transcutană cu utilizarea unui fascicul de gel. Ag pe corpuscule de aur este unoculat în piele și se leagă de cheratinocite, celulele Langerhans, care îl transportă în ganglionii limfatici regionali, unde se realizează răspunsul imun.

Contraindicațiile medicale la vaccinare

Vaccinul	Contraindicațiile
Toate vaccinurile	Reacție intensivă sau complicație la inocularea precedentă a vaccinurilor
Toate vaccinurile vii	Imunodeficiențele primare. Imunosupresia, tumorile, graviditatea
BCG	Masa corporală a nou-născutului mai mică de 2 kg, cicatrice cheloidă la BCG, limfadenită, abces, tuberculoză în anamneză
DTP	Maladii progresive ale sistemului nervos, convulsii afebrile în anamneză
Vaccinurile vii antirujeolic, antioreion, anti-rubeolic, di- și trivaccinurile (rujeolă-oreion, rujeolă-rubeolă-oreion)	Formele severe de reacții alergice la aminoglicozide. Reacțiile anafilactogene la albușul de ou pentru vaccinurile antirujeolă și antioreion
Vaccinul anti-hepatita B	Reacții alergice la drojii și vaccin

Notă: maladiile infecțioase acute și cele neinfecțioase sunt contraindicații temporare.

Procedeul perspectiv de inoculare a vaccinurilor este utilizarea liposomilor (bule microscopice cu membrană dublă fosfolipidă). Ag vaccinului poate fi inoculat în componența membranei de suprafață sau în liposomi.

Vaccinurile, în special cele atenuate, necesită regim special de păstrare și transportare (incontinuu la rece – „lanțul rece”).

Calendarul național de vaccinare declară termenele vaccinărilor și revaccinărilor pentru fiecare vaccin, indicațiile și contraindicațiile. În tab. 11.6 este elucidat calendarul vaccinărilor obligatorii în Republica Moldova pentru anii 2011-2015. El prevede administrarea remediilor vaccinale la vârsta: 24 de ore – contra hepatitei B (Hep B-0); 2-5 zile – BCG1; 2, 4, 6 luni concomitent în aceeași zi – Hep B, DTP+Hib și PC i.m. cu diferite seringi și în diferite locuri anatomice, VPO și RV enteral; 12 luni – ROR-1; 22-24 de luni – VPO-4 și DTP-4 concomitent peste 16-18 luni după vaccinare; 6-7 ani – VPO-5 și DT – concomitent primăvara, ROR-2 și BCG-2 – toamna (în clasa I). Copiii expuși

Calendarul vaccinărilor obligatorii în Republica Moldova pentru anii 2011-2015

Vârsta efectuării vaccinării	Imunizarea împotriva										Note
	Hepatitei virale B HepB-0*	Tuberculozei BCG 1	Polio-mielitei VPO	Infecției cu rotavirus RV	Infecției Hib Hib	Infecției cu pneumococi PC	Difteriei, tetanosului și tusei convulsive DTP	Difteriei, tetanosului DT/Td	Rujeolei, oreionului, rujeolei ROR		
24 ore	HepB-0*	BCG 1	VPO	RV	Hib	PC	DTP	DT/Td	ROR		În maternitate
2-5 zile											În maternitate
2 luni	HepB-1		VPO-1	RV-1**	Hib-1	PC-1***	DTP-1				Concomitent în aceeași zi: injectabil intramuscular HepB+DTP+Hib
4 luni	HepB-2		VPO-2	RV-2**	Hib-2	PC-1***	DTP-2				în componența vaccinului pentavalent și PC separat cu diferite seringi și în diferite locuri anatomice;
6 luni	HepB-3		VPO-3	RV-3**	Hib-3	PC-1***	DTP-3				VPO și RV picături în gură
12 luni									ROR-1		
22-24 luni			VPO-4				DTP-4				Concomitent, peste 16-18 luni după vaccinare
6-7 ani		BCG 2	VPO-5					DT	ROR-2		VPO-5 și DT – concomitent primăvara, până la admiterea copiilor la școală; ROR2 și BCG-2 – toamna (în clasa I). Copiii expuși unui risc sporit de infectare se testează Mantoux cu 2 UI PPD și în cazul unei reacții 0-9 mm (filtrat, hiperemie) sunt vaccinați
15-16 ani			VPO-6*					Td	ROR-3**		ROR-3 toamna, VPO și Td primăvara, până la absolvirea școlii medii incomplete (clasa a IX-a)
Adulții: la 20, 25, 30, 35, 40, 50 și 60 ani								Td			Imunizarea este efectuată la atingerea vârstei indicate

Note:

1. Vaccinările împotriva altor boli infecțioase (rabia, gripa, hepatită virală A, infecția meningococică, varicela, infecția cu virusul papilomei umane, holera, antrax, leptospiroza, tularemia, febra tifoidă, bruceleza etc.) va fi efectuată grupelor de populație cu risc sporit de infectare, în funcție de situația epidemiologică și în conformitate cu deciziile Ministerului Sănătății, precum și în mod individual, inclusiv contra plată.

2. Imunizarea împotriva febrei galbene, encefalitei acariene, pestei va fi aplicată în regiunile endemice în mod individual, inclusiv contra plată.

* – din anul 2011; ** – din anul 2012; *** – din anul 2013, în cazul acceptării cofinanțării externe de Alianța Globală pentru vaccinuri și imunizări.

unui risc sporit de infectare se testează prin proba Mantoux cu 2 Un. PPD și în cazul unei reacții de 0-9 mm (cu infiltrat și hiperemie) sunt vaccinați; 15-16 ani – VPO-6 și Td – primăvara, ROR-3 – toamna (clasa a IX-a); adulții la 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60 de ani-TD la atingerea vârstei respective. Este necesar de a menționa faptul că realizarea calendarului de vaccinări este însoțit de controlul serologic al păturii imune, supravegherea epidemiologică etc. Actualmente se prognozează că, calendarul vaccinărilor populației din diferite țări va fi suplimentat cu vaccinuri noi și va include mai mult de 25 de vaccinuri pentru copii: contra hepatitei A, B, C, virusului respirator sincițial, paragripei de tip 1-3, adenovirusurilor 1, 2, 5-7, M. tuberculosis, difteriei, tetanosului, meningococilor A, B, C, pneumococilor, poliomielitei, infecției hemofile, retrovirionilor, rujeolei, oreionului, rubeolei, varicelei, maladiei Lyme, CMV, VEB, papilomei umane, HSV₁₁, parvovirusului. Unele dintre aceste vaccinuri se utilizează, altele sunt utilizate numai în unele țări, iar altele sunt în stare de elaborare.

Particularitățile vaccinărilor la copii

Nou-născutul este apărut de infecții datorită Ac IgG, care au traversat placenta (în special IgG1 și IgG4), și al anticorpilor secretorii IgA și IgM din laptele matern. Imunizarea femeilor (cu vaccinuri inactivate, anatoxine) până la concepție și în timpul gravidității a condus la creșterea nivelului de Ac la nou-născut. Pentru țările în curs de dezvoltare a fost elaborat un program internațional de imunizare a gravidelor contra tetanosului. Vaccinările planificate copiilor sunt elucidate în tab. 11.6. Ele vor fi efectuate numai copiilor aparent sănătoși de vârsta respectivă. În unele cazuri se admite vaccinarea copiilor cu stări limitrofe după un calendar individual cu modificarea termenelor și a consecutivității realizării lui. Trebuie menționat și faptul că unii copii după vaccinare nu secretă Ac (seronegativitatea în rujeolă este de 6,4% din cazuri, în oreion – 12,7%, în rubeolă – 4,9%). Maladiile alergice (astmul bronșic, dermatitele etc.) nu sunt contraindicații pentru vaccinare dacă ele n-au apărut în urma imunizării cu un anumit vaccin. Vaccinarea acestora se realizează în perioada de remisiune.

Vaccinarea contra tifosului abdominal, holerei, pestei, tularemiei, brucelozei, antraxului, leptospirozei, encefalitei acariene, febrei Q și a altor infecții se realizează după indicații epidemiologice.

La organizarea și realizarea vaccinărilor este strict necesară respectarea instrucțiunilor de utilizare a preparatelor cu un control medical prealabil în

cadrul instituțiilor medicale și preșcolare și realizate de personalul medical instruit, inclusiv acordarea asistenței medicale de urgență cu utilizarea remediilor terapeutice antișoc.

Răspunsul imun la inocularea vaccinurilor depinde de tipul acestora (atenuat, inactivat sau anatoxină), vârsta celui vaccinat (nou-născut, adult) și administrarea primară sau repetată.

Răspunsul imun primar se manifestă prin perioada latentă (câteva zile) la finisarea căreia apar Ac în cantități minime, ulterior se constată creșterea nivelului de Ac la unele vaccinuri mai rapid (3-4 zile la vaccinarea antirujeolă), la altele mai lent (2-3 săptămâni la vaccinul antidifretic, pertussis). Primar vor apărea Ac IgM, ulterior, după 7 zile, crește cantitatea IgG (cu excepția nou-născuților și copiilor de vârstă precoce). Mai târziu se observă creșterea concentrației de Ac IgA (la 14-21 de zile). Inocularea repetată a vaccinurilor induce sinteza rapidă de Ac IgG.

Mecanismele specifice ale imunității celulare (T-killerii, limfocitele B) în asociere cu celulele imunității congenitale (macrofagele, celulele NK, granulocitele) apreciază apariția imunității practice la toate infecțiile, inclusiv cele „anticorp-dependente”, dar participarea lor la investigarea standardă a vaccinațiilor, de regulă, nu se ia în considerare cu toate că rolul acestora este predominant în formarea imunității. Memoria imunologică este baza păstrării imunității, care apare după sinteza de Ac IgG. De aceea, la copiii de vârstă preșcolară, la care predomină răspunsul imun de tip IgM și este practic absentă sinteza de Ac IgG, memoria imunologică la vaccin este absentă. Limfocitele T și B cu durată de semiviață lungă induc răspunsul imun secundar și asigură imunitatea la agentul respectiv cu o durată variabilă.

Vaccinurile terapeutice

După vaccinare este stimulată atât imunitatea specifică, cât și cea nespecifică. Datorită acestui fapt, multe vaccinuri sunt utilizate în scop curativ ca imunomodulatori ai răspunsului imun.

Anatoxina stafilococică purificată fluidă se utilizează în terapia specifică a pacienților cu infecții stafilococice acute și cronice. Induce sinteza Ac specifici antitoxină stafilococică și posedă proprietăți imunomodulatoare. Un mililitru de preparat conține 12 ± 2 US (unități stafilococice) de anatoxină stafilococică; cura terapeutică include 5-7 injecții subcutane cu interval de 2 zile: 0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 0,9; 1,2 și 1,5 ml.

Vaccinul stafilococic fluid este indicat pentru terapia piodermitelor de genă stafilococică (furuncul, carbuncul, hidradenită, piodermie etc.). Prezintă un complex de Ag solubili, termostabili obținuți dintr-o suspensie de stafilococi încălziți la 100°C timp de o oră. Se administrează 9 injecții s.c. zilnic: 0,1-0,2 ml (copiilor după 7 ani și adulților) cu majorarea ulterioară a dozei cu 0,1 ml în diferite locuri.

Vaccinul stafilococic liofilizat este utilizat în terapia pacienților cu infecții cronice trenante de origine stafilococică sau la asocierea acestora cu infecții de altă etiologie. Prezintă un complex de Ag solubili extrași din 4 tulpini de *Staphylococcus aureus* cu proprietăți înalt imunogene, virulență joasă și slab sensibilizante. Posedă activitate antigen-specifică (induce sinteza de Ac), proprietăți imunostimulatoare (stimulează rezistența nespecifică). Se administrează s.c. 5 injecții cu interval de 3-4 zile în doze de 0,1 ml (1 injecție) și 0,2 ml cele ulterioare. În cazul efectului slab, administrarea vaccinului poate fi majorată până la 8-10 inoculări. Utilizarea vaccinului induce sinteza evidentă de Ac antistafilococi, creșterea nivelului IgA seric, scăderea eozinofilelor, majorarea capacității fagocitare a neutrofilelor.

Vaccinul brucelozic terapeutic este utilizat în tratamentul brucelozei acute, subacute și cronice în stadiile de subcompensare și decompensare. Într-un mililitru de vaccin se conține un miliard de brucele inactivate prin încălzirea *Br. abortus* și *Br. melitensis* în coraport de 2:1. Acest vaccin stimulează reacțiile specifice imune asigurând efect curativ. Se administrează numai în staționar i.c. sau i.v. lent, în doze crescende. La utilizarea metodei i.c. în diferite locuri se inoculează 0,1 ml (200 mii – 300 mil. de microbi). În cazul reacțiilor normoergice, se introduc 1, 5, 10, 15, 20, 25 și 50 mil. de microbi cu interval de 3-5 zile, iar la apariția hiperreactivității intervalul dintre inoculări se majorează. Utilizarea i.v. va conține 200 mii – 250 mil. de microbi. Efectul favorabil va apărea după 4-5 injecții, manifestându-se prin ameliorarea stării generale, intoxicației, alergiilor.

Vaccinul gonococic este utilizat în cazul eficacității insuficiente la antibioterapia gonoreei, în recidivele trenante, formele cronice etc. la bărbații cu complicații și la femeile cu gonoree ascendentă (la remisiunea procesului acut), în practica ginecologică la terapia proceselor inflamatoare. Mai este utilizat și ca test provocator în diagnosticul patologiei (0,5 ml sau până la 2 ml dacă vaccinul a fost utilizat în tratament). Prezintă o suspensie de gonococi inactivați la 56°C. Este stimulator al imunității active în infecțiile gonococice. Se administrează i.m. sau s.c. în doze de 0,2-0,4 ml, în funcție de forma clinică și de scopul utilizării.

SolcoTrihovac este indicat în profilaxia și tratamentul vaginozei bacteriene nespecifice recidivante și tricomoniazii la femei. Prezintă un liofilizat al lactobacteriilor inactivate (*L. rhamnosus*, *L. vaginalis*, *L. fermentum*, *L. salivaris*). Induce creșterea titrului de Ac nespecifici sIgA în secretele vaginale, intensifică mecanismele de apărare, asigură apărarea de reinfecție și recidive. Se administrează în doze de 0,5 ml i.m. de 3 ori cu interval de 2 săptămâni și o revaccinare peste 2 ani. Este eficace în cazurile ineficienței tratamentului obișnuit. Conduce la scăderea frecvenței, duratei și severității recidivelor și reinfecției în profilaxia și terapia maladiilor recidivante ale vaginitei de etiologie bacteriană.

SolcoUrovac este indicat pentru profilaxia și terapia maladiilor infecțioase recidivante ale căilor urinare de origine bacteriană la adulți. Prezintă un liofilizat al bacteriilor inactivate (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Proteus morgani*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus faecalis*). Induce creșterea titrului de Ac specifici în ser și IgA în sistemul urinar, asigură apărarea de recidive și reinfecții. Se administrează în doze de 0,5 ml i.m. de 3 ori cu interval de 1-2 săptămâni, revaccinarea o dată, peste un an. Vaccinul este eficace în cazurile rezistenței la terapia obișnuită. În perioada acută se administrează concomitent cu antibioterapia.

Vaccinul policomponent BII-4 Imunovac este utilizat pentru imunoterapia adulților și copiilor de la 3 ani cu maladii cronice inflamatorii și obstructive ale organelor respiratorii: abcesul pulmonar, bronșita cronică (obstructivă și neobstructivă), pneumonia cronică, astmul bronșic. Este indicat și pentru profilaxia infecțiilor respiratorii acute la adulți și copii. Prezintă un complex de antigeni liofilizați ai *Staphylococilor aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*. Sporește rezistența nespecifică a organismului, corijează cantitatea limfocitelor T, intensifică sinteză IgA și IgG în sânge, sIgA în salivă, intensifică acțiunea IL-2 și IFN. Vaccinoterapia este realizată pe fundalul terapiei medicamentoase cu administrare adulților intranasal, subcutanat sau naso-peroral, iar copiilor numai naso-peroral. Efectul clinic la pacienții cu astm bronșic mixt care au beneficiat de vaccinoterapie constituie 71,1%. Concomitent utilizarea acestui vaccin a contribuit la scăderea de 2,9 ori a morbidității prin infecții acute respiratorii virale, de 3,5 ori – a bronșitei și pneumoniei. Se observă normalizarea conținutului de limfocite CD72, CD3, CD16, CD4, CD7 și creșterea titrului de Ac în salivă la componentele vaccinului, nivelului sIgA.

Serurile imune și imunoglobulinele sunt utilizate în multe maladii infecțioase atât pentru imunoprofilaxia urgentă, cât și pentru imunoterapie.

Serurile imune xenogene sunt obținute prin imunizarea animalelor și pot avea caracter antimicrobian și antitoxic. Mai frecvent sunt utilizate serurile imune antitoxice contra difteriei, tetanosului, botulismului, gangrenei, stafilococului.

Utilizarea lor este indicată cât mai timpuriu, pentru ca anticorpul să neutralizeze toxina până la absorbția ei pe celulele-țintă. Inițial se apreciază sensibilitatea organismului la proteina de cal, deoarece ea poate induce șocul anafilactic și maldadia serică, în special la utilizarea repetată. Primar se inoculează i.c. serul de cal în doză de 0,1 ml diluat 1:100. Controlul rezultatelor se face peste 20-30 min. În absența reacției cutanate evidente (mai puțin de 1 cm în diametru), se introduce s.c. 0,1 ml de ser nativ și în absența reacției se utilizează doză restantă.

Serul de cal antitetanos purificat este indicat pentru profilaxia și terapia tetanosului. În scop profilactic, el este utilizat în traumatisme cu alterarea pielii și mucoaselor. Se administrează 3000 UI de ser s.c. Indivizii care au fost imunizați cu anatoxină tetanos în perioada precedentă până la 2 ani nu sunt supuși imunoprofilaxiei cu ser antitetanos. Administrarea serului este contraindicată persoanelor cu alergii la proteinele de cal sau celor care au utilizat anterior acest ser; în aceste cazuri se va administra imunoglobulină antitetanos obținută de la donatori. În scop curativ, serul antitetanos se utilizează la primele manifestări ale tetanosului în doze de 100-200 mii UI, i.v. și 5-10 mii UI i.m. în țesuturile care înconjoară rana.

Serul de cal antidifteric purificat este utilizat în scop curativ în conformitate cu indicațiile medicale după proba i.c. În formele clinice severe, serul este administrat în doze de 30-150 mii UI s.c., i.m. sau i.v.

Serurile antibotulinice de tip A, B, E purificate, concentrate fluide sunt utilizate în scop curativ, iar în unele cazuri pentru profilaxia botulismului. Ca și în cazurile precedente, se efectuează proba cutanată (0,1 ml cu diluția serului 1:100) și până la identificarea tipului agentului patogen se utilizează serul polivalent de tip A, B, E în doză de 10 mii UI diluat în 200 ml soluție de 0,9% NaCl i.v. încălzit. Doza este majorată în formele severe. În scop profilactic, persoanelor care au folosit alimentul ce a indus maldadia, se utilizează serul antibotulinic de tip A, B, E în doză de 5 mii UI i.m. o singură dată.

Serul antitoxic antigangrenos polivalent purificat, concentrat fluid prezintă un remediu polivalent față de toxinele *Clostridium perfringens*, *Clostridium novyi*, *Clostridium septicum*. În scop profilactic, serul se utilizează în diferite traumatisme însoțite de alterări majore ale mușchilor, în fracturile deschise complicate, la impurificarea cu sol a rănilor în doze de 30 mii UI (câte 10 mii UI de fiecare tip). Pentru terapia pacienților cu gangrenă gazoasă sunt utilizate doze mai mari (nu mai puțin de 150 mii UI (câte 50 mii UI de ser monovalent) care se administrează i.v.: 1 ml timp de 5 min., apoi 1 ml/min. după testarea cutanată a sensibilității la proteina de cal.

Imunoglobulina antiptiocianică se prepară din serul ovinelor și se utilizează în infecțiile severe ptocianice.

Imunoglobulina antirabică din serul de cal, fluidă se prepară din serul sanguin al cailor imunizați cu vaccin antirabic. Se utilizează imediat în combinație cu vaccinul antirabic în caz de boală sau la mușcătura animalelor suspecte ori bolnave de rabie, câte 40 UI/kg în jurul rănii și i.m. în locurile unde n-a fost inoculat vaccinul.

Imunoglobulina antiencefalita acariană din serul cailor, fluidă este destinată pentru profilaxia encefalitei acariene în cazul adeziunii acarinelor în focarele de encefalită acariană. Se inoculează o dată în doza de vârstă respectivă. Primar se testează sensibilitatea la proteina de cal prin inocularea i.c. a imunoglobulinei diluate.

Imunoglobulina antileptospirozică din serul bovinelor hiperimunizate cu Ag leptospirelor este indicată în perioada acută din prima zi de boală, în special în formele severe de leptospiroză. Se administrează i.m. adulților și copiilor de la 14 ani câte 5-10 ml, copiilor de vârstă 8-13 ani – 3 ml. Primar se testează sensibilitatea la imunoglobulina antileptospirozică cu preparatul diluat 1:100. Doza totală pentru adulți și copiii de la 14 ani nu trebuie să depășească 20-30 ml, iar pentru copiii de 8-13 ani – 10 ml.

Globulina antiantrax de cal, fluidă conține Ac față de agentul antraxului. Primar se apreciază sensibilitatea la preparat prin testarea cutanată (0,1 ml 1:100). În scop profilactic, remediul se administrează i.m. o singură dată cât mai timpuriu după suspectarea infectării în doză de 20-25 ml adulților, 12 ml – adolescenților și 5-8 ml copiilor de până la 14 ani. În cazul evoluției severe, în scop curativ se administrează 30-50 ml și 75 -100 ml în sepsis.

Lactoglobulina anticoli proteică de origine bovină pentru utilizarea perorală, sicum prezintă o formațiune purificată globulinică a molozei bovinelor imunizate. Conține Ac față de E. coli serogrupurile O₂₆, O₅₅, O₁₁₁, O₁₁₉, Proteus vulgaris serogrupa O₄₃ și Proteus mirabilis serogrupa O₃₅. Se utilizează până la alimentarea copiilor. Conținutul flaconului este diluat cu apă fiartă (temperatura camerei), 10 ml la o doză de preparat. Este administrat copiilor până la 6 luni câte 2 doze de 2 ori pe zi pe parcursul a 7-14 zile; în cazuri severe preparatul poate fi utilizat de 3 ori pe zi timp de 21 de zile.

Lactoglobulina bovină antibacterii convențional patogene și salmonelle (sicum) este destinată pentru utilizarea perorală și conține Ac anti-Salmonella typhimurium, enteritidis, dublin, mirabilis, vulgaris, Klebsiella pneumoniae și Pseudomonas aeruginosa, care posedă proprietăți evidente antibacteriene și antitoxice. Conținutul flaconului este diluat în apă fiartă (t° camerei), 10 ml la o doză de preparat. Se utilizează cu 20-30 min. înainte de alimentarea copilului. Este administrat copiilor cu maladii diareice și disbacterioză câte 2 doze de 2 ori/zi celor de vârstă până la 6 luni timp de 7-14 zile, în cazuri severe până la 21 de zile.

Imunoglobulinele obținute din serul normal sau imun uman actualmente sunt pe larg utilizate în practica medicală. Imunoglobulina normală de la donatori sau cea placentară conține mulți Ac de diversă specificitate față de agenții patogeni ai infecțiilor suportate de donator sau sintetizate în urma vaccinării. De regulă, aceste imunoglobuline sunt utilizate în terapia imună a infecțiilor trenante. Imunoglobulinele de o anumită specificitate sunt obținute din serul donatorilor imunizați sau din serul sangvin al donatorilor cu nivel înalt de anticorpi. Aceste remedii conțin un titru înalt de Ac față de agenții respectivi. Ele sunt utilizate în imunoterapia urgentă și în imunoprofilaxia tetanosului, gripei, encefalitei acariene, infecțiilor stafilococice.

Imunoglobulina antitetanos de la donatori este utilizată în profilaxia urgentă a tetanosului la indivizii cu hipersensibilitate la proteina de cal.

Imunoglobulina antiencefalită acariană este obținută din serul sangvin al persoanelor care locuiesc în focarele endemice de encefalită acariană și au un titru înalt de Ac specifici antivirali. Preparatul se inoculează în cazul fixării acarienilor pe corpul uman.

Fracțiile imunoglobulinice ale serului sangvin uman sunt obținute din serurile reconvalescenților, donatorilor special imunizați și din preparatele de plasmă cu conținut înalt de Ac specifici după imunizarea populației la apariția focarelor de infecție sau la indicație epidemiologică (gripă). Ele conțin Ac antistafilococici, antigripali etc. Toate preparatele imunoglobulinice din serurile umane obținute sunt controlate la absența Ag virusului hepatitei B și infecției HIV.

Există preparate imunoglobulinice standard polivalente (prioritar IgG) și suplimentate cu IgM sau IgA, și hiperimune suplimentate cu Ac IgG față de anumiți agenți patogeni.

Imunoglobulina pentru administrare i.v. este indicată pentru tratamentul substitutiv în imunodeficiențele primare (agamaglobulinemia), în maladiile severe purulente septice. Doza curativă 400 mg/kg se administrează i.v., câte 1 ml/kg/oră celor prematuri și 4-5 ml/kg/oră celor născuți la termen. Copiilor prematuri cu masa de 1,5 kg și nivelul IgG de 3 g/l și mai puțin imunoglobulina pentru administrarea intravenoasă se utilizează pentru prevenirea infecțiilor. În cazurile imunodeficiențelor cu nivel minor de IgG în sânge, ea se utilizează până la atingerea concentrației nu mai mică de 4-6 g/l. În cazurile severe de maladii purulent-septice, ea se inoculează zilnic (3-5 injecții) sau peste o zi câte 1-2,5 g/kg de preparat (în funcție de originea acesteia).

Pentaglobina este îmbogățită cu IgM. Anticorpii IgM față de germenii Gram-negativi etc. opsonizează eficient bacteriile și conduc la liza lor complement-dependentă.

Imunoglobulina normală umană este utilizată în profilaxia rujeolei, hepatitei infecțioase, pertussis, infecțiilor meningococice, poliomielitei datorită conținutului de Ac față de acești agenți. Se produce în formă de 10% soluție a fracției proteice active imunologic.

Imunoglobulina umană antigripală este preparată din serurile donatorilor și este destinată pentru terapia formelor toxice ale gripei și prevenirea complicațiilor. Preparatele comerciale conțin titre esențiale de Ac față de virionii gripali de diverse tipuri, adenovirusuri. Concentrația Ac depinde de sezonul anului și de epidemia precedentă obținerii preparatului.

Imunoglobulina antistafilococică umană este obținută din plasma donatorilor imunizați cu anatoxină stafilococică sau prin selecția materialului placentar cu titru înalt de Ac antitoxici antistafilococici. Ambele preparate sunt produse în fiole a câte 5 ml și conțin câte 100 UI de antitoxină stafilococică. Indicații pentru utilizare sunt maladiile induse de stafilococii patogeni și rezistenți la terapia cu antibiotice și chimioterapie.

Imunoglobulina antitetanos din plasma donatorilor este obținută din serul donatorilor imunizați cu anatoxină tetanică. Este necesar de a menționa faptul că doar 50% din cei imunizați au cantitatea necesară de anatoxine (12-14 UI/ml).

Imunoglobulina pentru profilaxia și tratamentul encefalitei acariene este preparată din serul sangvin al donatorilor imunizați cu titre înalte de Ac față de virionul encefalitei acariene. În cazul fixării acarienilor, copiilor până la 12 ani li se administrează i.m. 1 ml soluție de 10%, de la 16 ani și mai mult – 3 ml. Curele terapice se administrează câte 3 ml i.m. peste 10-12 ore în primele 3 zile.

Imunoglobulina specifică anticitomegalovirală (citotect) se utilizează în infecțiile acute CMV la nou-născuții prematuri și sugari; după indicație copiilor cu imunodeficiențe primare și secundare; pentru terapia infecției CMV la recipientii cu transplant medular sau al altor organe și țesuturi. Se administrează i.v. în doză de 2-4 ml/kg/24 ore (50UI/kg) cu interval de 1-3 zile, în total 3-5 injecții.

Imunoglobulina specifică anti-hepatita B se utilizează în profilaxia hepatitei B la nou-născuți de către mamele purtătoare de HBsAg. Se administrează nou-născuților câte 14-20 UI. La titrul anticorpilor anti-HBsAg mai mare de 10 UI/ml, preparatul nu se utilizează.

Imunoglobulina antirotavirală umană obținută de la donatori se utilizează peroral copiilor până la 3 ani.

Imunoglobulina antivirionul Varicella-Zoster se utilizează pacienților cu imunodeficiențe după terapia imunosupresivă, la transplantul măduvei osoase.

Imunoglobulina antivirionul respirator sincițial se administrează i.v. copiilor născuți prematur și celor cu displazii bronho-pulmonare.

Serul moloziv uman purificat, fluid se administrează copiilor în infecțiile respiratorii câte 3 picături în fiecare meat nazal de 3 ori pe zi timp de 5-10 zile; câte o picătură în ochi în conjunctivite; pentru prelucrarea cavității bucale în stomatite.

Au fost elaborate preparate de anticorpi de generația a treia în baza anticorpilor monoclonali obținuți din celulele hibride formatoare de Ac de origine animală și umană. Implementarea acestora va permite rezolvarea multor probleme terapeutice și profilactice ale maladiilor infecțioase. Utilizarea lor va conduce la inhibiția agentului patogen sau la modificarea răspunsului imun. De ex., au fost obținuți Ac față de virusul respirator sincițial; TNF- α – pentru supresia inflamației în sepsis etc.

Capitolul 12. DIAGNOSTICUL IMUNOLOGIC AL MALADIILOR LIMFOPROLIFERATIVE ȘI IMUNOGLOBULINOPATIILOR

Celulele limfoide derivă dintr-un progenitor hematopoietic comun – celula stem pluripotentă care dă naștere liniei limfoide, mieloide, eritroide, monocitare și megacariocitare. Prin activarea ordonată și secvențială a unei serii de factori de transcripție, celula se angajează inițial în linia limfoidă, iar ulterior dă naștere celulelor B și T. În procesul de diferențiere, limfocitele exprimă diferite molecule, receptori și enzime, care în ansamblu constituie fenotipul celulei. Acesta se modifică nu numai la diferențierea celulelor, dar și la transformarea tumorală care reflectă mutațiile genetice. O celulă se angajează în diferențierea unei celule B, care începe să-și rearanjeze genele pentru imunoglobuline, iar alta care migrează în timus – spre o celulă T, care își rearanjează gena receptorului pentru Ag a celulei T.

Procesele limfoproliferative sunt rezultatul proliferării monoclonale a limfocitelor. În baza aprecierii caracteristicilor morfologice, markerilor moleculari și produselor umorale celulare antrenate în procesul limfoproliferativ, este posibilă corelarea acestor celule cu anumite stadii și linii de dezvoltare a limfocitelor. Deși această confruntare

a limfocitelor tumorale cu analogii normali are caracter convențional, ea poate fi admisă. LB mai frecvent sunt antrenate în procesul limfoproliferativ comparativ cu LT. Celula transformată poate corespunde practic oricărei stadii de dezvoltare a celulei B – de la pro-limfocit B până la plasmocit (fig. 12.1).

Aceste procese sunt caracteristice și pentru procesele celulare T (fig. 12.2).

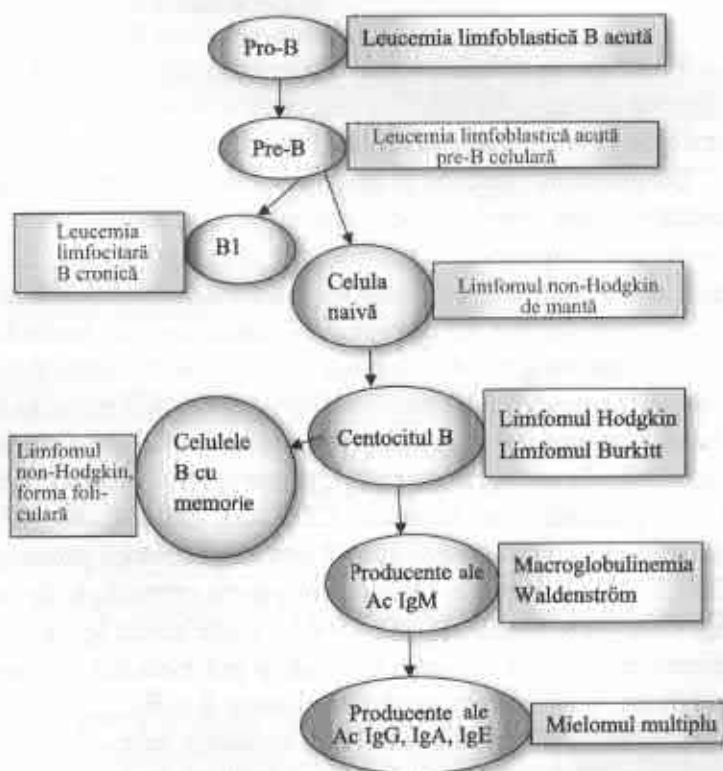


Figura 12.1. Corelarea dintre stadiile de dezvoltare a LB și celulele maladiilor limfoproliferative

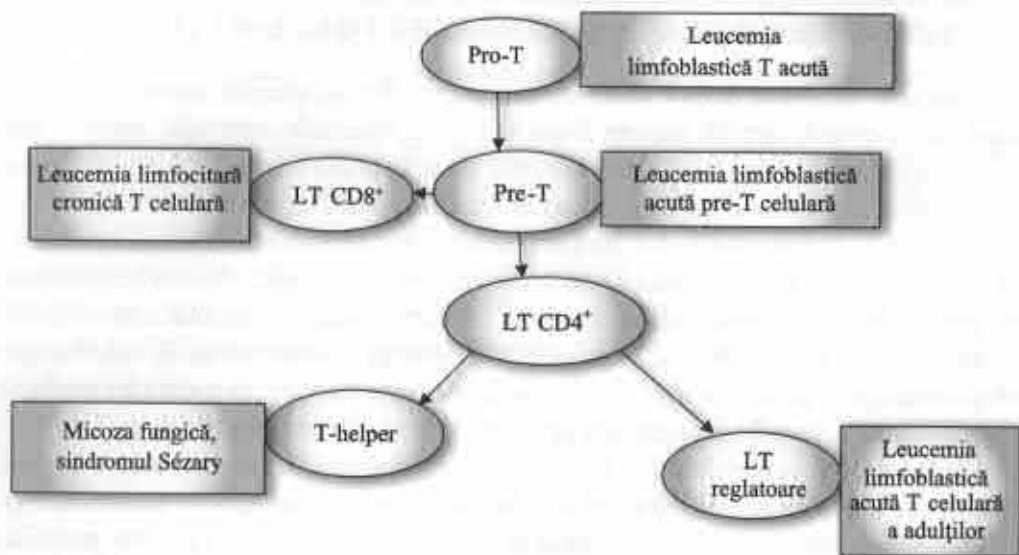


Figura 12.2. Celulele maladiilor limfoproliferative și corelarea lor anumitor stadii de dezvoltare a LT

Fenotiparea celulelor leucemice constituie metoda de bază în diagnosticul diferitor forme și variante de leucemii. Aproximativ 75% din totalul leucemiilor limfoide și 90% – al limfoamelor își au originea în celulele B.

Diagnosticul prealabil al leucemiilor și limfoamelor maligne se stabilește în baza caracteristicilor morfologice și citologice ale celulelor mostrelor sangvine, măduvei osoase sau biopstatelor. O importanță diagnostică majoră în aceste maladii revine caracteristicii fenotipului celulelor proliferative, aprecierii activității lor funcționale și testării produselor lor patologice – markerilor (Ig, lanțurilor lor etc.). Celula stem limfoidă are antigeni (Ag) comuni cu celula stem mieloidă (CD34, HLA-DR, CD7). Pentru clasarea celulelor proliferative la sistemul B mai importanți sunt Ag HLA-DR (dar ei sunt prezenți și pe celulele activate T), CD10, CD19-22, de asemenea imunoglobulinele membranare (mIg), lanțurile lor și receptorii pentru hematiile murine; Ag CD prezenți și pe alte celule: CD9, -23, -24, -37, -40, -72, -77, -79, -80, -82, -86, -126. Pentru celulele sistemului T este caracteristică prezența Ag CD2, CD3, CD5, CD7, CD4, CD8 etc., a receptorilor pentru eritrocitele de oaie și suplimentar altor Ag: CD27, 28, 38, 39, 45 R0, 45 RA. Multe celule leucemice nu reflectă stadiul de diferențiere a celor analoage normale și pot avea Ag neobișnuiți sau combinații ale lor (de ex., concomitent markerii celulelor T și B).

Utilizarea citometriei de flux a celulelor este cel mai eficace procedeu în fenotiparea celulelor leucemice, care permite aprecierea proliferării monoclonale cu exactitate de până la 1%.

Diferențierea fenotipului celulelor leucemice de cele normale după moleculele CD se utilizează pentru diagnosticul și clasificarea leucemiilor. La baza

clasificării imunologice contemporane a leucemiilor limfoblastice acute și a leucemiilor mieloblastice acute stă principiul stadiilor de diferențiere a limfocitelor T, B și celulelor mioide normale, care în mare parte sunt bazate pe rezultatele cercetării fenotipului leucemic.

În procesul de diferențiere celula exprimă diferiți markeri clasificați în două grupe: antigeni asociați liniei de diferențiere celulară (CD2, CD5, CD7, CD3, CD19, CD22, CD79a, CD13, CD33, CDw65) și neasociați (CD45, CD10, HLA-DR etc.).

Markerii asociați liniei de diferențiere au specificitate înaltă de expresie pe populațiile celulare normale și tumorale. Unii dintre ei (CD2, CD7) uneori sunt exprimați și pe celulele hematopoietice tumorale ale altor linii de diferențiere. Printre Ag neasociați liniei de diferențiere sunt markerii exprimați în stadiile precoce de diferențiere hematopoietică – markerii celulelor hematopoietice imature (CD34, TdT).

Pentru diagnosticul imunologic al leucemiilor acute, o importanță majoră au Ag pan-celulari (pan-B, pan-T, pan-mieloizi), care se apreciază pe majoritatea celulelor liniilor respective de diferențiere (tab. 12.1).

Tabelul 12.1

Antigenii frecvent utilizați în fenotiparea imună a leucemiilor

Antigenii asociați liniei de diferențiere	
Antigenii pan-mieloizi	CD13, CD33, CDw65, MPO
Antigenii pan-B celulari	cyCD22*, CD19, cyCD79a*
Antigenii pan-T celulari	cyCD31, CD2, CD7, CD5
Markerii celulelor imature și activate	
	TdT, CD34, HLA-DR
Antigenii stadiospecifici	
Celulele mioide	CD14, CD15, Glycoforina A, CD41, CD61
Celulele B	CD10, CD20, CD23, FMC7, cyIgM*, mIg*
Celulele T	CD 1a, mCD3**, CD4, CD8, TCRαβ, TCR γδ

Notă: * cy-expresia citoplasmatică a Ag; ** m-expresia Ag pe suprafața celulei; TdT-enzima deoxiribonucleotidiltransferaza; MPO-mieloperoxidaza

Expresia Ag specifici anumitor stadii de diferențiere celulară este necesară în cercetare pentru testarea diferitor variante imunocitologice – a leucemiei limfoblastice acute B, leucemiei limfoblastice acute T, leucemiei mieloblastice acute.

În leucemia limfoblastică acută (LLA), celulele proliferative sunt heterogene după componența lor. De regulă, se întâlnesc precursorii timici (pre-T) și

precursorii medulari (pre-B). Dar există și subtipurile acestora. Prin utilizarea Ac monoclonali (AcMo) au fost caracterizate multe variante ale leucemiei limfoblastice acute. Evaluarea completă a LLA include de obicei: hemoleucograma, investigații biochimice vizând funcțiile principalelor organe, biopsia de măduvă osoasă, investigații genetice și imunologice, puncția lombară care este necesară pentru a exclude afectarea sistemului nervos central.

Leucemia limfoblastică acută a liniei B (LLA-B) constituie cca 85% din totalul LLA și are exprimați Ag CD19 sau CD22. Mai comună este manifestarea Ag CD19 testat în 95% din cazuri. După gradul de diferențiere celulară, se definesc șase grupe fenotipice imune (tab. 12.2).

Secvența de expresie a Ag, în funcție de stadiul de diferențiere a celulelor B, este următoarea: HLA-DR→CD19, CD22 în citoplasmă, CD79a în citoplasmă→CD10, CD20, CD22 pe membrană→IgM în citoplasmă→CD21, IgM pe membrana→CD23.

Tabelul 12.2

Fenotipul celulelor B leucemice și gradul lor de diferențiere

	HLA-DR	CD34	CD19	CD22	CD10	CD20	cyIg	sIg
Grupa I nediferențiată	+	+	-	-	-	-	-	-
Grupa II (LLA-B precoce)	+	+	+	+	-	-	-	-
Grupa III (LLA-B precoce)	+	+/-	+	+	+	-	-	-
Grupa IV (LLA-B precoce)	+	+/-	+	+	+	+	-	-
Grupa V (LLA-B)	+	-	+	+	+	+	+	-
Grupa VI (LLA-B matură)	+	-	+	+	+/-	+	-	+

Notă: + prezent; - absent; +/- prezent sau absent

Antigenii pan-B celulari sunt exprimați în toate stadiile de diferențiere celulară B – CD19, CD22, CD79a cu exprimarea Ag CD19 pe membrana celulei în toate stadiile de diferențiere; CD22 apare în citoplasmă în stadiile precoce, iar ulterior pe membrană, CD79a are exprimare citoplasmatică în toate stadiile.

Pentru LLA-B este caracteristică manifestarea pe limfoblaști a nu mai puțin de 2 din cei 3 Ag pan-B celulari. Fenotipurile timpurii în majoritatea cazurilor conțin TdT⁺ și HLA-DR⁺, pe când formele mature ale LLA-B nu conțin TdT și au exprimate lanțurile k sau λ a Ig în citoplasmă sau pe membrană.

Grupa VI a LLA-B este asociată limfomului non-Hodgkin. CD45 se constată în 80% din cazuri de LLA-B. Markerul celulelor stem timpurii – CD34 este exprimat în 70% din cazuri a LLA-B la copii. Un prognostic mai favorabil posedă fenotipurile precoce ale LLA (grupa I-II).

Leucemia limfoblastică acută T la adulți este indusă de retrovirusul de tip C și se manifestă prin afecțiuni viscerale și cutanate. În serul sangvin al pacienților sunt prezenți Ac antivirionii HTLV (tip I și II). Predomină celulele cu fenotip T-hepler (CD4), frecvent se testează concomitent și Ag CD8 ce indică apariția lor din precursorul limfoid bipotent. Sunt posibile variante de conținut celular al Ag etapelor precoce de diferențiere a celulelor hematopoietice sau limfocitelor B. La copii se întâlnesc leucemiile celulare T cu exprimarea antigenilor T, receptorilor pentru hematitele de oaie și pre-T celulare (fără receptor pentru eritrocitele de oaie) cu evoluție nefavorabilă.

Pentru caracteristica variantelor leucemice se utilizează și metodele citochimice. În cazul LLA-T este majorată activitatea adenozindezaminazei și fosfatazei acide. În serul sangvin este crescut nivelul receptorilor pentru IL-2. Pentru prognosticul și controlul tratamentului este importantă aprecierea masei țesutului neoplazic și indicelui gradului de alterare a măduvei osoase.

Leucemia limfoblastică acută a liniei T (LLA-T) constituie 15-25% din totalul leucemiilor limfoblastice acute și se caracterizează prin exprimarea Ag CD7, care poate fi constatat și în unele tipuri de leucemie mieloidă, în leucemiile bifenotipice sau în cele acute nediferențiate. Pentru diagnosticul LLA-T este caracteristică expresia concomitentă a Ag CD7 și CD5 (sensibilitatea 100% și specificitatea 94%). Toate variantele LLA-T exprimă în citoplasmă sau pe membrană Ag CD3. Varianta citoplasmatică a CD3 (cyCD3) este manifestată mai precoce decât cea membranară (mCD3), fapt utilizat în clasificarea LLA-T în conformitate cu diferențierea timocitelor (tab. 12.3).

Tabelul 12.3

Fenotipul celulelor T leucemice și gradul lor de diferențiere

Stadii	TdT	cyCD3	mCD3	CD7	CD5	CD2	CD4	CD8	CD1a
Stadiul I (timocite precoce)	+	+	-	+	+	+	-	-	-
Stadiul II (timocite intermediare)	+	+	-	+	+	+	+	+	+
Stadiul III (timocite intermediare)	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Stadiul IV (celule T mature)	-	+	+	+	+	+	+/-	+/-	-

Notă: cy – expresie citoplasmatică; m – expresie pe suprafața celulei; TdT – enzima deoxiribonucleotidiltransferaza

Prezența enzimei TdT în celulele blastice corelează cu fenotipul imatur al LLA-T. Precursorii limfocitelor T, de regulă, nu conțin CD34, manifestarea acestui antigen în LLA-T se observă doar în 5% din cazuri. Varianta T-IV se caracterizează prin apariția membranelor a Ag CD3 și receptorului celular T (TCR) în absența antigenului CD1a. Sunt distincte 2 variante ale LLA-T mature (a și b) în funcție de exprimarea pe membrană a receptorului TCR: $\alpha\beta^+$ și $\gamma\delta^+$.

Leucemia mieloblastică acută (LMA) este stabilită în baza manifestării Ag mioelozii (CD33, CD13 sau CD14), în special în stadiul M0 morfologic și citochimic nediferențiat. În stadiile M4 și M5 se observă manifestarea Ag monocitar CD14, iar în M7 – exprimarea Ag trombocitar CD 41 (tab. 12.4).

Tabelul 12.4

Variantele și antigenii leucemiei mieloblastice acute

Varianta	HLA-DR	MPO	CD13	CD14	CD33	CD41/61	Glycophorin A
M0	+	+/-	+	-	+	-	+
M1/M2	+	+	+	-	++	-	-
M3	-	+	+	-	+	-	-
M4/M5	++	+/-	++	++	++	-	-
M6	-	-/+	-	-	+	-	++
M7	+	-	+/-	-	+	++	-

Notă: M0 – leucemia nediferențiată, nulă; M1 – leucemia mieloblastică acută fără maturizare; M2 – leucemia mieloblastică acută cu maturizare; M3 – leucemia promielocitară acută; M4 – leucemia mielomonoblastică acută; M5 – leucemia monoblastică acută; M6 – eritroleucemia acută; M7 – leucemia megacarioblastică acută

Expresia Ag CD34 este determinată de nediferențierea morfologică (stadiile M0 sau M1) sau a leucemiei secundare. Pacienții cu LMA care dispun de fenotipul CD7⁺ au un prognostic mai defavorabil, comparativ cu cei care nu posedă acest antigen (CD7⁻). Pentru leucemia promielocitară acută (M3) este caracteristic fenotipul HLA-DR⁺, CD34⁺, CD11c⁻, CD15⁻, CD9⁺, CD33⁺, CD13⁺. În varianta microgranulară, de regulă, este exprimat antigenul CD2 T-celular.

Criteriul de bază în diagnosticul LMA (cu excepția M6, M7 și a unor cazuri de M5) este aprecierea mieloperoxidazei (MPO) cu utilizarea metodei imunologice sau celei citochimice. Ulterior, diagnosticul LMA este confirmat prin prezența expresiei markerilor CD13, CD33 și CDw65. În unele cazuri de LMA CD13 nu se manifestă pe suprafața celulei ci doar numai în citoplasmă. Expresia markerului

CD34 sau CD7 aparent uneori în LMA denotă despre imaturitatea blastilor. Expresia concomitentă a altor markeri se observă rar (CD2) sau foarte rar (CD10, CD19 și CD20), dar ea nu poate fi criteriu al leucemiei bifenotipice.

Expresia altor markeri mieloizi este caracteristică diferitor subclase de LMA (tab.12.4). Diagnosticul M0 se stabilește la aprecierea MPO prin metoda imunologică sau prin microscopia electronică în absența reacției citochimice a proenzimei neactivate. De asemenea, trebuie să fie exprimați CD13 și/sau CD33 și alți markeri mieloizi în absența expresiei markerilor limfoizi (cu excepția CD7 și TdT). Pentru M3 este caracteristică absența manifestării HLA-DR. Variantele M4 și M5 au exprimate concomitent CD14 și CD64, iar variantele M6 și M7-manifestarea antigenilor eritroizi sau megacariocitari, pe când expresia unor Ag pan-mieloizi uneori poate fi absentă.

Leucemia limfocitară cronică (LLC) se caracterizează prin acumularea treptată a limfocitelor monoclonale mici cu semiviață lungă în sânge, măduva osoasă, splină, ganglionii limfatici și alte țesuturi. În majoritatea cazurilor ele sunt limfocite B pe suprafața cărora se găsesc imunoglobuline monoclonale (de obicei IgM sau IgM și IgD). Aceste limfocite B formează rozete cu eritrocitele murine și se testează în sângele pacienților în 60% din cazuri, test, posibil de a fi utilizat în diagnostic. Deseori se întâlnește Ig monoclonală serică, în special IgM, iar la unii bolnavi imunoglobulinele pe limfocite practic nu se evidențiază. Acestea ar fi celule imature și în cazul predominării lor prognosticul este cel mai nefavorabil. În funcție de manifestarea Ig citoplasmatică și membranară, au fost constatate cca 10 variante ale LLC forma B, care se deosebesc după gradul de maturitate a limfocitelor B: pre-B, B timpurii, intermediare, mature, secretoare etc. Pentru formele pre-B, variantele imature este caracteristică absența Ig pe membrană și prezența lanțului λ în citoplasmă. În variantele timpurii sunt prezente mIg fără lanțul δ , care apar în variantele intermediare. Limfocitele bolnavilor cu această variantă conțin cristale de Ig în citoplasmă. Pacienții cu variante mai mature dispun de Ig citoplasmatică și membranară pe limfocite. În LLC pre-B nu se constată secreția lanțurilor grele ale Ig, fiind prezente doar cele ușoare, acesta fiind un criteriu caracteristic LLC. Aproximativ la 50% dintre bolnavi în urină se testează dimerii lanțurilor ușoare ale Ig (proteinele Bence-Jones). Se modifică manifestarea altor markeri; crește exprimarea receptorului CR2, dar dispare receptorul CR1 pentru componentul complementului C1. Fenotiparea cu AcMo denotă expresia pronunțată a moleculelor CD5 caracteristică pentru subpopulația limfocitelor T și celulelor B autoreactive, de asemenea, diverse variante de exprimare a markerilor CD19, CD20 pe celulele B.

În LLC celulele au o cale de dezvoltare anormală care slab reflectă stadiile de diferențiere a limfocitelor B normale. Pe aceste celule pot fi întâlnite combinații de

receptori și markeri care nu sunt caracteristice celulelor normale B și T și reflectă individualitatea și specificul fenotipului suprafeței celulare în procesul leucemic. La 2% dintre pacienți se întâlnesc forme celulare T, iar la unii predomină celulele cu markeri celulari T și B. În multe cazuri se dezvoltă insuficiența totală a imunoglobulinelor policlonale circulante, scade reacția Ac la Ag, transformarea blastică a limfocitelor la mitogenii policlonali este redusă. Concomitent, uneori poate fi observată creșterea relativă a reacției spontane de transformare blastică a limfocitelor ce dispare la remisiunea procesului. La acești pacienți apar infecții recidivante ce se explică atât prin insuficiența imunității mediate celular, cât și a anticorpilor.

Leucemia mieloidă cronică (LMC) – maladie mieloproliferativă în care celulele medulare ce se formează în urma translocației reciproce a materialului genetic dintre cromozomul 9 și 22, sunt purtători ai cromozomului Ph (Philadelphia). Crizele blastice în LMC sunt însoțite de apariția celulelor care diferă după fenotip și morfologie de cele precedente. Aproximativ în 30% din cazuri, aceștia sunt blaștii precursorilor celulari B, iar în 30% ei posedă markerii mieloblaștilor, uneori eritroblaștilor, megacarioblaștilor sau ai precursorilor mai timpurii.

Limfogranulomatoza. Diagnosticul maladiei este bazat pe rezultatele biopsiei ganglionilor limfatici hiperplaziați (subaxilari, submandibulari etc.). Procesul debutează într-un ganglion limfatic, ulterior sunt antrenate și alte grupe de ganglioni, splina. Sunt caracteristice proliferarea difuză a țesutului conjunctiv, celulele mononucleare Hodgkin și cele polinucleare Reed-Sternberg care posedă markerii CD15 și CD30. Imunitatea mediată celular la stimularea cu mitogeni, sinteza primară și secundară a anticorpilor sunt scăzute și nu corelează cu stadiile malade, dar se restabilesc la remisiune. Nivelul complementului este de asemenea scăzut cu normalizare în remisiune. În afară de anticorpii anti-limfocitari, se apreciază factorul seric care reduce numărul total de limfocite T și blastogeneza limfocitelor normale indusă de mitogenii policlonali. Nivelul complexelor imune circulante (CIC) este crescut indiferent de stadiul procesului, dar mai frecvent la pacienții cu intoxicație.

Mielomul multiplu se caracterizează prin proliferarea necontrolată monoclonală a celulelor plasmatică secretoare de Ig sau a fragmentelor lor. În organismul bolnavilor apare o cantitate mare de paraproteină (componentul M la electroforeză) capabilă de crioprecipitare și prezentată de IgG (55-65%), IgA (20-25%), IgM (12%). Mielomul cu secreția IgD și IgE se întâlnește foarte rar. Concomitent cu moleculele întregi de Ig, apar și diverse fragmente ale lor. La 86-99% dintre pacienți se constată proteina Bence-Jones (dimeri ai lanțurilor ușoare κ sau λ) care este eliminată cu urina. Cantitatea majoră de paraproteine inhibă sinteza anticorpilor, contribuie la apariția infecțiilor recidivante, poate conduce la disfuncția canaliculelor și la insuficiența renală. Prezența aglomerațiilor de

celule plasmatiche proliferative în oase induce anemia, osteoporoza, fracturi ale oaselor, inhibă hematopoieza medulară. Au fost depistate un șir de alte paraproteinemii în care se observă producerea patologică de Ig și a fragmentelor lor. Paraproteinemiile frecvent sunt însoțite de amiloidoză. Celulele mielom exprimă CD138 în asociere cu C38 în absența markerilor CD19.

Diagnosticul este bazat pe datele clinice, radiologice (afectarea oaselor) și cercetările imunologice ale serului și urinei cu antiseruri monospecifice anti-lanțuri grele și ușoare ale Ig în reacțiile de imunoelectroforeză și imunoenzimatică. În condiții de normă, cu urina se elimină 2-8 $\mu\text{g}/24$ de ore de proteine ale lanțurilor, pe când în mielom până la 2000 $\mu\text{g}/\text{l}$. În mielomul G nivelul imunoglobulinelor sangvine crește (mai mult 20 g/l). În măduva osoasă, celulele plasmatiche constituie 30% și mai mult. Pentru tratament se utilizează polichimioterapia în combinație cu transplantul medular.

Macroglobulinemia Waldenström (limfomul limfoplasmocitar) se caracterizează prin proliferarea clonei de celule plasmatiche care secretă IgM (în sânge adesea 5 g/l și mai mult) și distribuția anormală a proteinelor în zona gama-globulinelor la electroforeză. Frecvent, aceste IgM sunt crioglobuline. În urină se testează lanțurile ușoare k (proteina Bence-Jones). Celulele tumorale exprimă Ag CD19, CD20, CD22, CD40, CD52, IgM, proteina core MUC-1 etc. Clinic, patologia se manifestă prin slăbiciune, hemogenie, hiperplazia ganglionilor limfatici, ficatului, splinei, apariția sindromului Raynaud, urticarie *a frigore*. Manifestarea clinică principală a maladiei este sindromul de hipervâscozitate. Se utilizează plasmafereza, imunodepresante și glucocorticosteroizi.

Maladia lanțurilor grele este însoțită de hiperproducția lanțurilor grele anormale și depozitarea lor în țesuturi, ce poate conduce la amiloidoză. Lanțurile grele α , γ , μ , ϵ și δ nu posedă domeniul CH_1 . Nivelul lor în sânge este mai mare de 20 g/l . Se observă hiperplazia ganglionilor limfatici, proliferarea celulelor plasmatiche în măduva osoasă, splenomegalia.

Crioglobulinemia este însoțită de sinteza Ig care precipitează la temperatură scăzută. Pentru detecția lor se recoltează sângele într-o seringă încălzită la 37°C și se incubează la 37°C pentru coagulare. Serul pacientului și cel de control (al donatorului) se incubează la 4°C și peste 2 zile se apreciază concentrația proteinei în precipitat. După aspirația supernatantului cu o seringă răcită, el este diluat cu soluție fiziologică până la volumul inițial. În normă, serul conține nu mai mult de 80 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de crioglobuline, pe când la pacienți se constată 500 - 5000 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Poate fi măsurată și înălțimea precipitatului de crioglobuline peste 24 de ore pentru care serul se introduce într-un tub îngust sau capilar și se compară cu controlul. Crioglobulinemia se observă în mielom, maladiile autoimune, infecții (hepatite), leucemii etc. Tratamentul se adresează maladiei de bază.

Capitolul 13. DIAGNOSTICUL IMUNOLOGIC ȘI IMUNOTERAPIA TUMORILOR

La baza transformării tumorale stau modificările survenite în urma mutațiilor multiple la nivelul genomului celulelor normale. Cauza acestor transformări pot fi virionii, factorii fizici și substanțele chimice cancerigene. Celula tumorală se deosebește de cea normală prin capacitatea de proliferare continuă necontrolată, imortalitatea, alterarea funcțiilor normale, infiltrarea țesuturilor învecinate, pătrunderea în circulația sangvină, cea limfatică și metastazarea în alte țesuturi și organe. Atât virionii, cât și agenții cancerigeni induc mutații ale genelor normale cu activarea oncogenelor. La baza transformării tumorale se află inactivarea sau alterarea anti-oncogenelor (gene tumoral-supresoare) prin diferite tipuri de mutații (punctiforme, poliploide, aneuploide, ruperea unei catene ADN, dereglarea exprimării etc.) însoțite de anomalii ale mecanismelor de reparare a ADN-ului. În urma transformării tumorale se modifică proprietățile antigenice ale celulei. Unii Ag dispar, în special cei specifici țesuturilor și organelor, apar neoantigenii sau crește concentrația celor care în condiție de normă sunt în cantități mici. Reversia antigenică se manifestă prin sinteza proteinelor specifice perioadei embrionare de dezvoltare în cantități necaracteristice etapei ontogenice date (AFP, CEA etc.). Divergența antigenică a celulelor tumorale se manifestă prin apariția Ag caracteristici altor țesuturi (de ex., apariția în hepatom a Ag caracteristice renalelor etc.). Astfel, celula tumorală posedă un fenotip antigenic unic cu caracter mozaic.

Răspunsul imun antitumoral

Imunogenitatea tumorilor pentru gazdă este foarte variabilă și a condus la formarea conceptului de supraveghere imună, în concordanță cu care SI elimină celulele potențial tumorale care apar în cursul vieții. Conform acestui concept, cancerul în stadiul manifestărilor clinice este consecința evitării celulelor maligne de acțiunea mecanismelor de apărare. Factorii care interferează cu reactivitatea imunologică predispun la malignitate. În concepția actuală, malignizarea este rezultatul activării oncogenelor sau pierderii funcției genelor supresoare ale anti-oncogenelor.

Teoria supravegherii imune afirmă, că sistemul imun monitorizează încontinuu organismul în apariția celulelor tumorale și că majoritatea acestora sunt lizate, în special cele imunogene. Dispariția spontană a tumorilor și recuperarea completă a pacientului cu cancer diseminat este rară, dar este explicată prin insuficiența vascularizării, prin diferențierea celulelor tumorale, modificarea raportului dintre creșterea tumorii și răspunsul imun antitumoral în favoarea ultimului etc.

Există dovezi care sugerează că organismul uman răspunde la prezența tumorii prin mecanisme imune:

- regresia spontană a unor cancere sugerează posibilitatea stabilirii unui răspuns imun antitumoral eficient;
- tumorile frecvent sunt infiltrate cu limfocite, celule NK, macrofage, monocite și plasmocite (ultimele mai puține), iar în ganglionii limfatici se produce o proliferare limfocitară, ceea ce sugerează stimularea imunității de către tumoră;
- unele tumori evoluează latent datorită echilibrului dintre tumoră și SI;
- carcinoamele asociate cu reacție inflamatoare evoluează mai lent decât cele care nu manifestă un răspuns inflamator;
- tumorile se înregistrează mai frecvent la indivizii cu imaturitatea SI sau la cei vârstnici (senescența SI);
- unele tumori (cancerul de piele cu papiloma virus, limfoamele maligne pozitive pentru Ag EBV) au o incidență crescută la pacienții cu transplant, supuși imunosupresiei. Imunosupresia de lungă durată este asociată cu creșterea incidenței tumorilor de origine virală, iar supravegherea antitumorală este relativ inefficientă.

Reactivitatea antitumorală este realizată de factorii congenitali și adaptivi specifici, iar mecanismele de dezvoltare au unele particularități. Antigenii tumorilor sunt slab imunogene. Proliferarea celulelor tumorale este însoțită de eliminarea dozelor crescânde de Ag de imunogenitate scăzută.

Celulele NK sunt importanți efectori ai imunității antitumorale, își exercită efectul prin contact direct, nu necesită prezentarea Ag de APC. Activitatea celulelor NK se modifică cu vârsta: are nivel scăzut la naștere, atinge maximum la pubertate și scade gradat cu vârsta. Cantitatea celulelor NK constituie 2-6% în sângele uman, cca 1% în ganglionii limfatici. Ele recunosc celulele tumorale cu receptorii care se leagă la glicoproteinele membranei și induc efectul killer în absența moleculelor HLA de clasa I.

Celulele K interacționează cu celula-țintă prin intermediul receptorilor pentru Fc γ . Celula tumorală tapetată cu IgG este astfel recunoscută de celulele K, care se activează și lizează celula-țintă prin fenomenul ADCC. Activitatea celulelor NK și K din sânge, testată *in vitro*, scade odată cu progresarea tumorii. La contactul cu celula malignă, direct sau mediat de Ac, celula efectoare eliberează factori citotoxici solubili: perforină, proteaze, TNF- α , limfotoxină (TNF- β). Celulele NK, activate *in vitro* de IFN- γ și de IL-2, se numesc LAK (celule killer activate de limfocite). Activarea celulelor NK și K nu produce memorie imună și nu există diferențe între răspunsul imun primar și cel secundar.

Macrofagele activate disting celulele tumorale de cele normale. Activitatea lor citotoxică este independentă de moleculele HLA, dar este dependentă de factorii

genetici. Macrofagele se activează dacă se leagă prin receptorul pentru Fc cu Ig fixate pe epitopii celulei tumorale sau complexe Ig+Ag tumoral solubil, sub acțiunea IFN- γ eliberat de LT sensibilizate, endotoxinelor bacteriene etc. Are loc intensificarea proceselor metabolice și macrofagele devin killeri potențiali ai celulelor tumorale. Ele secretă diferite molecule antitumorale: enzime hidrolitice, IFN- α , care activează celulele NK, TNF- α cu efect stimulator asupra altor celule, care eliberează IL, produc H_2O_2 , oxidul nitric și alte toxice pentru celulele tumorale.

Reacțiile imune specifice la Ag tumorală sunt asigurate de apariția LT CD8⁺ și Ac. Imunitatea antitumorală mediată de celulele T este analoagă răspunsului imun față de alți Ag T-dependenți. Ag tumorală stimulează proliferarea tuturor subpopulațiilor limfocitare (Th, Ts, Tc). Funcțiile efectoare ale limfocitelor sunt stimulate de limfokine și monokine (IL-1 și TNF- α sintetizate și secretate de macrofage). IL-1 stimulează proliferarea celulelor B, T și NK. Ea produce și febra în reacția inflamatoare, iar TNF- α determină necroza celulelor tumorale. Limfocitele T CD4 (și NK) secretă IL-2 cu efect stimulator asupra celulelor care o secretă. IFN- γ este secretat de LT CD4, are efect antitumoral direct, dar este și imunomodulator. Activează macrofagele și celulele NK.

Limfocitele T citotoxice au rol important în liza celulelor tumorale, dacă acestea exprimă HLA de clasa I. Limfotoxina produsă de LTc are efect litic direct asupra celulelor tumorale.

Celula tumorală expune pe suprafața ei Ag asociați cu HLA de clasa I, dar elimină și molecule solubile care sunt preluate de APC și prezentate LTh, care secretă IL-2 (activatoare pentru toate tipurile de celule cu funcție imună).

Astfel, reacția imună față de celulele tumorale se dezvoltă primar prin activarea celulelor efectoare nespecifice (macrofage, celule NK etc.) cu producerea unei reacții inflamatoare locale, care facilitează reacția imună specifică (creșterea nivelului de prezentare a Ag tumorală, modularea exprimării moleculelor HLA etc.). În faza ulterioară, LTc asigură protecția imună față de creșterea tumorii.

Anticorpilor specifici de cele mai multe ori nu au eficiență antitumorală. Mai frecvent, celulele tumorale supraviețuiesc la acțiunile factorilor umorali și se multiplică. Anticorpilor sunt eficienți față de celulele maligne de origine limfoidă (leucemii, limfoame). După activarea complementului, se produce liza celulei-țintă.

Astfel, imunitatea antitumorală este realizată de următoarele celule și mecanisme.

Imunitatea nespecifică naturală:

- killerii naturali (NK);
- macrofagele activate și granulocitele;
- TNF- α , INF- γ și alte citokine cu efect citotoxic și antiproliferativ;
- trombocite (mediatori și citotoxine).

Imunitatea dobândită specifică:

- liza celulelor tumorale de către LT-killer specifice tumorii;
- liza tumorii prin mecanisme de citotoxicitate anticorpdependentă (ADCC) cu participarea complementului;
- acțiunea antiproliferativă a LB specifice tumorii.

Elucidarea mecanismelor de evitare a celulelor tumorale de efectorii SI nu este satisfăcătoare. Explicația acestui fapt ar avea la bază mai mulți factori. De cele mai multe ori *tumora este slab imunogenă*, datorită faptului că celulele tumorale nu sunt eficiente în prezentarea Ag. Cel mai bine studiat mecanism de evitare a răspunsului imun este *modularea antigenică* (capacitatea tumorii de a masca sau de a pierde Ag) în prezența factorilor imuni (detașarea spontană a Ag, apariția Ac blocați și/sau a complexelor imune blocante, dezvoltarea lor în zonele privilegiate etc.). *Imunoselecția* se manifestă prin selecția celulelor care au suferit modificarea antigenică și au devenit rezistente la acțiunea factorilor imuni. Ag exprimați pe suprafața celulelor tumorale activează răspunsul imun mediat celular, iar Ag solubili stimulează sinteza Ac. Unele celule tumorale, ca rezultat al instabilității genetice, pierd Ag inițiali și astfel evită acțiunea efectorilor imuni specifici, devenind dominante în masa tumorii. Variantele noi antigenice induc răspunsul imun, dar fenomenul se repetă și astfel tumora își modifică spectrul antigenic, iar SI nu realizează un potențial eficient de distrucție celulară tumorală.

Diminuarea imunității mediate celular ar fi și consecința activării prioritare a LT supresoare de către Ag tumoralii, fapt confirmat prin cantitatea majoră a Ts comparativ cu Th.

Citokinele cu acțiune imunosupresoare (IL-10, TGF- β etc.) secretate de celulele tumorale inhibă expresia moleculelor HLA de clasa II pe suprafața monocitelor, macrofagelor și diminuează reactivitatea imună prin efecte multiple.

Mascarea Ag tumoralii de sialomucina abundantă pe suprafața unor celule tumorale conduce la inaccesibilitatea recunoașterii imune a Ag și respectiv a acțiunii efectorilor imuni. Diminuarea reactivității imune se poate datora și *inundării organismului cu Ag tumoralii*. Ag eliberați se complexează cu Ac specifici sau cu receptorii specifici ai LT, făcându-i ineficienți în recunoașterea altor celule maligne. Efectul imunosupresor al Ag tumoralii este proporțional cu dimensiunile tumorii și dependent de existența metastazelor.

Creșterea tumorii poate fi stimulată prin fenomenul de *enhancement imun* manifest prin creșterea tumorii în prezența Ac specifici. Acești Ac formează complexe Ag-Ac pe suprafața celulei și blochează atașarea efectorilor imuni celulari.

Toleranța imună este și ea un mecanism de evitare a celulelor tumorale de acțiunea efectorilor imuni. Apariția ei ar fi datorată stimulării repetate cu canti-

tăți mici de Ag și raportului dintre limfocitele Th și Ts. Unele prostaglandine pot favoriza instalarea toleranței imune prin diminuarea exprimării moleculelor HLA de clasa II pe suprafața celulelor APC, suprimând activitatea celulelor NK. Astfel, tumorile continuă să crească datorită eficienței scăzute a răspunsului imun antitumoral *in vivo*.

Diagnosticul imunologic al tumorilor

Diagnosticul imunologic al tumorilor se bazează pe aprecierea Ag tumorali în scop diagnostic și pe testarea statusului imun pentru controlul terapiei administrate. În scop diagnostic se utilizează diverse metode și procedee:

- aprecierea markerilor tumorali prin utilizarea AcMo etc.;
- utilizarea AcMo marcați cu izotopi pentru identificarea localizării tumorii și AcMo marcați cu fluorocromi pentru caracteristica morfologică;
- aprecierea reacțiilor mediate celular la Ag asociați tumorii;
- aprecierea reactivității cutanate la epitopii Ag tumorali;
- testarea Ac care reacționează cu celulele tumorale și Ag purificați;
- testarea statusului imun pentru prognosticul maladiei, controlul terapiei imunodepresive în chimioterapie și imunoterapie.

Se disting câteva grupe de Ag asociați tumorilor umane, identificarea căreia în cantități majore are importanță diagnostică: Ag monoclonali (Ig, lanțurile ușoare produse de plasmocitom), Ag asociați transformării maligne a celulelor (Ag tumorilor virale, Ag grupelor sangvine) care nu sunt caracteristici pacientului dat, Ag specifici tumorilor, Ag oncofetal, Ag de diferențiere celulară utilizați în clasificarea leucemiilor și markerii fiziologici caracteristici țesuturilor normale. Actualmente sunt cunoscuți cca 200 de oncomarkeri.

Testarea oncomarkerilor permite identificarea tumorii în stadiile precoce, monitorizarea eficacității terapiei administrate și stabilirea prognosticului procesului tumoral. Majorarea nivelului oncomarkerilor indică despre progresarea maladiei, inclusiv metastazarea. La testarea regulată a nivelului oncomarkerilor poate fi apreciată metastazarea cu 4-6 luni până la manifestarea lor clinică. OMS recomandă testarea oncomarkerilor o dată în lună în primul an după terapie și o dată în 2 luni în al 2-lea an, o dată în 3 luni în al 3-lea an de monitorizare. Importantă este dinamica modificării concentrației și nu valorile absolute. Testarea concomitentă a câtorva markeri cu utilizarea metodelor sensibile și specifice conduce la creșterea veracității diagnosticului.

Ag oncofetal (de diferențiere) se găsesc pe suprafața celulelor unor tumori, dar sunt prezenți și în timpul unei faze de diferențiere embrionară (CEA, AFP, TPA). Ei sunt absenți în celulele adulților sau se găsesc în cantități minore.

Ag carcinoembrionar (CEA) este o glicoproteină localizată pe membrana ce-

lulelor normale ale tractului digestiv la făt (până la 6 luni de dezvoltare). CEA prezintă un grup foarte heterogen de molecule, conține 45% de glucide: acid sialic, fructoză, galactoză, manoză etc. Posedă MM de 180 kDa. Imunogenitatea moleculei este datorată componentei proteice. La adulți CEA se găsește în cantități mici (până la 2,5 pg/ml) pe mucoasa colonului, în plămâni, în țesutul mamar, dar apare în cantități mari pe celulele maligne ale tractului digestiv uman (intestinul subțire, pancreas, ficat, stomac, colon, rect). El poate trece în sângele pacienților (60-80% în cancerul de colon) și ulterior în ficat. De aceea cele mai mari concentrații de CEA apar la neoplazicii cu insuficiență hepatică (ciroze, metastaze hepatice).

CEA este un Ag nespecific, deoarece poate să apară la 80-90% dintre pacienți cu cancer nu numai al tractului gastrointestinal, dar și al altor localizări și în 30% din cazuri la pacienții cu ciroză alcoolică, pancreatite, insuficiență renală. Leziunile de orice genă ale mucoasei tractului gastrointestinal sunt însoțite de creșterea sintezei și secreției CEA, care trece în sânge (maladia inflamatoare a intestinului, colita ulcerasă, polipi ai tractului digestiv etc.).

Printre pacienții cu maladii necanceroase ale tractului digestiv 27,2% au valori majorate de CEA, iar în tumorile maligne cu aceeași localizare CEA se constată în 43,4% din cazuri, în cancerul cu altă localizare – în 18,3% din cazuri. Concentrațiile care depășesc 20 ng/ml și indică prezența tumorii se înregistrează doar la 1,2% dintre bolnavii cu tumori benigne și la 16% dintre pacienții cu tumori maligne. Nivelul CEA foarte crescut reflectă o evoluție rapidă a tumorii. În sursele bibliografice sunt descriși cca 12 Ag înrudiți cu CEA (ccA III, CE-X, NGP-glicoproteina normală), care reacționează încrucișat cu Ac anti-CEA.

Determinarea CEA în lichidul cefalorahidian poate fi utilă în diagnosticul unor tumori primare și secundare ale sistemului nervos central, iar dozarea lui în lichidul pleural este informativă în diagnosticul pleureziilor paraneoplazice din carcinoamele pulmonare, mamare, digestive și ovariene (în asociere cu CA125). Metoda de testare a CEA este ELISA și ECLIA.

Alfa-fetoproteina (AFP) este un Ag specific perioadei embrionale, fiind sintetizat de hepatocite și alte celule (gastrointestinale). Prezintă o globulină (α_1) normală a serului, lichidului amniotic, cerebrospinal, urinei fetale etc. Cantități minore de AFP (500 ng/ml) străbat placenta și se apreciază în serul gravidelor cu o concentrație majoră la 32-36 de săptămâni de graviditate. După naștere, nivelul AFP scade progresiv, dar cu fluctuații mari, atingând valorile similare adultului normal după 10 luni. Serul sangvin al persoanelor aparent sănătoase conține 1-2 ng/ml de AFP cu variații de 6-15 ng/ml în funcție de metoda utilizată în cercetare. Sinteza AFP este activată în celulele de hepatom, teratoblastom sau în metastazele lor. Utilizarea metodelor performante (ELISA, chemiluminescența) a demonstrat prezența AFP nu numai în cancer (78%), dar și într-un

șir de afecțiuni benigne (hepatitele acute și cronice, în 30-40% din cazurile de regenerare hepatică, în boala Crohn, în colita ulcerativă etc.). Testarea AFP este indicată la suspiciunea de carcinom hepatocelular, tumori germinative non-seminomatoase de origine testiculară, ovariană sau extragonadală (când se constată niveluri crescute), pentru monitorizarea terapiei și în prognosticul evolutiv. Este utilă aprecierea AFP în monitorizarea pacienților cu ciroză hepatică pentru depistarea precoce a cancerului hepatic, celor cu risc major de tumori germinative (criptorhidism). În cazul tumorilor germinative, AFP se testează concomitent cu HCG total. Acești markeri sunt evaluați înainte de orhiectomie, apoi măsurați după intervenția chirurgicală (testări lunare pe parcursul primului an și la 2 luni în următorii 2 ani). Determinarea AFP pentru screening-ul prenatal este utilă în depistarea afecțiunilor de tip anencefalie, spina bifida, boala Down, trisomia 21, 18 etc. Serul matern poate fi recoltat între 14 și 19 săptămâni de sarcină și dacă se constată nivel crescut, determinarea se repetă peste o săptămână. După amniocenteză valoarea obținută pentru AFP nu corespunde nivelului real. Niveluri crescute de AFP mai pot fi înregistrate și în tumorile gastrointestinale, pancreatice, pulmonare, ataxie-teleangiectazie, tirozinemia ereditară etc.

Utilizarea concomitentă a testării AFP cu scanarea și angiografia ficatului conduce la sporirea veracității diagnosticului.

TPA (antigen polipeptidic tisular) – Ag al proliferării de origine cheratinoidă cu MM de 22 kDa care se constată în majoritatea celulelor epiteliale ale tumorilor, în lichidele biologice (ser sangvin, salivă, lavajul bronhoalveolar, urină etc.). Este un Ag asociat tumorilor indiferent de localizarea acestora. Nivel crescut de TPA se observă în carcinomul vezicii urinare, glandei mamare, bronhiilor, intestinului și uterului. El relevă modificările survenite în procesul malign, fiind util atât pentru monitorizarea terapiei, cât și în depistarea metastazelor. TPA crește frecvent în unele maladii benigne ale ficatului, pulmonilor, tractului urogenital. Se testează prin utilizarea metodei radioimune.

TPS (antigen polipeptid specific tisular) este un component de bază al TPA și se găsește în majoritatea celulelor epiteliale, în membrana celulelor tumorale, în serul sangvin. Nivel crescut se testează în carcinomul vezicii urinare, glandei mamare, bronhiilor.

Antigenul specific prostatei (PSA) este o glicoproteină cu activitate proteolitică asupra gelului seminal, pe care-l hidrolizează. Este produsă de celulele acinare ale prostatei, are MM de 32 kDa. În ser PSA este legat cu α_1 -antichimotripsina, influențând valorile furnizate de determinarea ei cantitativă. Formarea complexelor stabile cu inhibitorii proteazelor α_2 -macroglobulina (α_2 M) conduce la încapsularea PSA și de aceea complexul PSA- α_2 M nu se apreciază prin metoda ELISA. Cota majoră de PSA (90%) testată prin metoda imunoenzimatică este prezentă în ser în formă de complexe cu α_1 -chimotripsină și numai o fracție mică

de PSA se găsește în ser în formă liberă (frec PSA < 1 $\mu\text{g/l}$ în normă). În normă nivelul PSA total în serul sangvin este de până la 4 $\mu\text{g/l}$, iar creșterea concentrației lui indică despre patologia prostatei. La majoritatea pacienților cu cancer al prostatei se constată creșterea concentrației PSA mai mult de 10 $\mu\text{g/l}$, dar crește și în hipertrofia prostatică benignă. De aceea controlul bărbaților de vârstă mai mare de 40 de ani este recomandat pentru testarea prezenței acestui marker. Concentrația PSA corelează cu volumul prostatei, cu cancerul prostatic, cu răspunsul la terapie. Coraportul dintre fracția liberă și PSA total este foarte variabil (norma 0,25). Cercetările realizate demonstrează că în afecțiunile benigne, comparativ cu cancerul prostatei, nivelul PSA free este mai mare și coraportul PSA liber/PSA total este utilizat pentru diagnosticul diferențial al hiperplaziei benigne cu cancerul prostatic. Molecula de PSA conține 9 grupe de epitopi, care se leagă cu AcMo. Determinantele antigenice ale grupelor AI – AVII se vor lega cu anticorpii monoclonali ai PSA free și PSA total, pe când cele ale grupelor BI – BII se vor lega cu AcMo numai cu PSA liber.

S-a constatat că, dacă după prostatectomie nivelul PSA este mai mare de 0,4 ng/ml atunci se dezvoltă o recidivă și metastazare. Screening-ul la cancerul prostatic prin testarea PSA denotă o frecvență de 1-2% a acestuia la bărbați cu vârsta de 50-60 de ani. Pentru testare se utilizează metoda ELISA.

Glicoproteinele mucinoase sunt Ag de suprafață celulară cu greutate moleculară mare. Sunt formați dintr-o axă polipeptidică de care se atașează numeroase catene oligozaharidice. Glucidele reprezintă 60-80% din MM a lor. Sinteza glicoproteinelor mucinoase este consecința pierderii controlului metabolismului celulei neoplazice. Uneori, celula malignă pierde capacitatea de sinteză a unor glicoproteine de suprafață, ca de ex. Ag de grupa sangvină A, sintetizează molecule absente în celulele normale. Glicoproteinele mucinoase se exprimă pe suprafața celulelor epiteliale și se detectează în ser, salivă sau sunt adsorbite pe eritrocite. Modificarea cantitativă a glucidelor membranare poate modifica malignitatea influențând potențialul de metastazare.

Antigenul MUC-1 (CA15-3) este prezent în celulele epiteliale normale și tumorale ale glandei mamare, pulmonilor, ovarelor, pancreasului. Este apreciat în serul și în plasma sangvină la pătrunderea lui în circulația sangvină prin metoda imunoenzimatică. Testarea antigenului CA15-3 este utilă în monitorizarea pacientelor cu cancer mamar. Majorarea sau reducerea nivelului acestuia indică despre dinamica maladiei. În perioada preoperatorie, nivelul înalt al CA15-3 denotă prezența tumorii cu metastaze, iar în perioada postoperatorie concentrația acestuia indică despre eficacitatea terapiei administrate și prognosticul viabilității. Prognosticul favorabil al maladiei este asociat cu nivelul scăzut de CA15-3 și invers. Pentru screening-ul și diagnosticul precoce al cancerului mamar testarea CA15-3 nu se utilizează, deoarece nivelul majorat al acestui marker se con-

stată și la pacienții cu ciroză, hepatite, maladii autoimune, procese benigne ale glandei mamare, tumori pulmonare, ovariene și ale tractului digestiv. La gravide în trimestrul III și în ciroza hepatică se constată până la 50 Un/ml de CA15-3. În normă se conține până la 28 un/ml și se testează prin metoda ELISA.

CA125 este o glicoproteină cu MM mare de tip mucinic, prezentă pe celulele epiteliale tumorale ale ovarelor și pe alte celule normale și patologice cu origine din ductul Müller. Creșterea nivelului de CA125 se constată la pacientele cu cancer ovarian (concentrații majore), dar și în alte maladii benigne și tumorale, inclusiv în endometrioza, precum și în graviditate, și în ciclul menstrual. Norma CA125 este de 35-65 Un/ml. În cancerul ovarian, concentrații majore de CA125 se constată în 82% din cazuri, în tumorile benigne – în 24% din cazuri, în cancerul cu altă localizare – în 46% din cazuri. Nivelul lui crește la recidiva și metastazarea tumorii.

CA19-9 conține un epitop oligozaharid asemănător substanței Lewis^a a grupei sangvine (SLe^a-Sialyl Lewis^a). Este o componentă a glicoproteinei mucinoase care se găsește în serul bolnavilor cu cancer. CA19-9 este prezent în celulele tumorale de diversă histogeneză, dar mai evident se constată în celulele tractului gastrointestinal (pancreas, intestinul gros), precum și în celulele analoage normale. Majorarea concentrației de CA19-9 a fost constatată în 79% din cazuri la pacienții cu cancer pancreatic, în 69% din cazuri la cei cu tumori ale sistemului hepatobiliar, 49% din cazuri în hepatom și în 7-58% din cazuri în cancerul intestinului gros în diverse stadii. Nivelul mai mare de 100 Un/ml indică prezența metastazelor. În cazul cancerului pulmonar și mamar nivelul majorat de CA19-9 a fost observat în 12 și 10%, respectiv. Alte maladii (pancreatite, afecțiuni autoimune, inflamatoare) sunt însoțite de creșterea CA19-9 în 15,3% din cazuri. În ciroză valori crescute se constată în 19% din cazuri, în hepatita activă cronică – până la 33% din cazuri, în necroza masivă a ficatului – până la 58% din cazuri. La donatori creșterea concentrației prag a acestui marker (37 Un/ml) se observă în 0,4% din cazuri. Testarea concomitentă a CEA și CA19-9 contribuie la stabilirea unui diagnostic mai precis.

CA 242 este un oncomarker exprimat pe aceeași mucină apoproteică ca și CA 19-9-Sialyl Lewis (SLe^a), dar posedă o specificitate mai mare în diagnosticul diferențial al tumorilor benigne și maligne, având o expresie majoră în ultimele ce contribuie la diminuarea rezultatelor fals-pozitive. Acest fapt a fost demonstrat în diagnosticul afecțiunilor biliare, pancreatice și ale tractului gastrointestinal. În diagnosticul cancerului intestinului gros și rectal CA 242 este, de asemenea, un marker mai sensibil, comparativ cu alți oncomarkeri. Posedă o sensibilitate de 40% și specificitate de 90%, pe când sensibilitatea CA 19-9 și CA 50 constituie 23%. Utilizarea testărilor concomitente a CA 242 și CA 19-9 nu conduce la majorarea sensibilității. CEA, de asemenea, este utilizat în monitorizarea maladiei

și eficacității terapiei la pacienții cu cancer al intestinului gros și rectal, dar folosirea lui în diagnosticul precoce este limitată de specificitatea minoră.

Utilizarea concomitentă a markerilor CA 242 și CEA conduce la creșterea sensibilității testării cu 25-40%. În normă CA 242 are valoarea de 20-35 Un/ml și se apreciază prin metoda ELISA.

CA 72-4 prezintă o glicoproteină asemănătoare mucinei, nivelul căreia crește în serul sangvin în cancerul gastric și al ovarelor. În normă constituie 2-4 Un/ml.

CA 549 este o glicoproteină asemănătoare mucinei, concentrația căreia crește în cancerul mamar. În normă constituie cca 11 Un/ml.

CA 195 este analog markerului CA 19-9.

MCA este un Ag asociat carcinomului, asemănător mucinei, iar testarea lui se utilizează pentru monitorizarea carcinomului glandei mamare și în depistarea recidivelor. În normă constituie până la 11 Un/ml. Nivel majorat de MCA se constată la gravide (începând cu a 4-a lună) și în 20% din cazuri în maladiile benigne ale ficatului, în mastopatii.

NSE este o enzimă glicolitică prezentă în câteva izoforme (α , β , γ). Izoenzima care conține subunitatea γ a fost denumită enolaza neuron-specifică (NSE). Nivelul NSE în serul sangvin constituie în normă până la 13 Un/ml și rar 20 Un/ml. Creșterea concentrației ei se observă în cancerul pulmonar microcelular, în tumorile de genă neuroectodermală și neuroendocrină. Este prezentă în eritrocite și în trombocite și în cazul hemolizei nivelul ei este majorat.

SCC este o glicoproteină, a cărei concentrație crește (mai mult de 2 ng/ml) în carcinoamele pavimentoase (cancerul colului uterin, rinofaringeal, pulmonar etc.).

CA-50 – oncomarker utilizat în monitorizarea maladiei și a eficacității terapiei în carcinomul pancreasului. În normă constituie până la 23 Un/ml. Nivelul majorat de CA 50 (până la 100 Un/ml și mai mult) se constată în ciroza hepatică și în maladiile pancreasului.

CYFRA 21-1 (fragment al citocheratinei 19) are valoarea de 2,3 ng/ml în normă. Nivel crescut se constată în carcinomul pulmonilor amicrocelular, pavimentos, în carcinomul invaziv muscular al vezicii urinare. Creșterea concentrației CYFRA 21-1 până la 10 ng/ml se observă în maladiile benigne ale ficatului, în insuficiența renală.

Astfel, tumorile se caracterizează printr-o heterogenitate antigenică ce argumentează utilizarea testărilor concomitente în diverse afecțiuni (tab. 13.1), care facilitează creșterea corectitudinii și veridicității diagnosticului.

Anticorpii monoclonali cu specificitate la oncoantigeni și marcați cu izotopi, posibil, pot fi utilizați pentru identificarea localizării tumorii, deoarece ei se depozitează selectiv în ea în concentrație de 0,003-0,01% din totalul celor inoculați. Dar la ora actuală AcMo de origine murină pot induce reacții alergice, iar obținerea celor de origine umană este dificilă din cauza secreției minore și instabile a hibridoamelor obținute.

Importanța clinică a markerilor tumorali

Localizarea tumorii	Tipul histologic	Markerul tumoral	Importanța clinică pentru			
			diag- nostic	sta- diu	prog- nostic	monitori- zare
Glanda mamară	Adenocarcinom	CEA	+	++	++	+++
		MCA	+	+	+++	+++
		CA15-3	+	+	++	+++
Pulmoni	Cancer microce- lular pulmonar	NSE	++	++	+++	+++
	Adenocarcinom și carcinom celu- lar mic	CEA	+	+	++	+++
		CEA+CA 19-9	+	+	+	+++
Intestinul gros și rectul	Adenocarcinom	CEA	++	++	+++	+++
Ficat	Carcinom hepa- tocelular	AFP	+++	-	-	+++
	Metastaze din tumora primară	CEA	++	-	+	+++
Stomac	Adenocarcinom	CA 19-9	++	-	-	+++
		CEA	-	-	-	++
Pancreas	Adenocarcinom	CA 19-9	+++	-	-	+++
		CEA	+	-	+	++
Testicul	Neseminom	AFP și/ sau HCG	+++	++	+++	+++
	Seminom	HCG	+++	++	+++	+++
Uter	Adenocarcinom	CEA	-	-	-	++
	Coriocarcinom	HCG	+++	+++	+++	+++
Ovar	Tumorile mucoase	CEA	-	-	-	+++
	Tumorile epite- liale cu excepția celor mucoase	CA-125	-	++	-	+++
	Cancerul celular embrional	AFP și/ sau HCG	+++	-	-	+++
Glanda tiroidă	Carcinom me- dular	CEA + calcitonina	+++	++	++	+++
Prostată	Adenocarcinom	PSA + fosfataza acidă	++	+++	+++	+++

Notă: + util; ++ important; +++ foarte important.

Fenotipul celulei tumorale se caracterizează nu numai prin profilul antigenic specific, dar și prin particularitățile markerilor și receptorilor prezenți pe membrana celulară. Celulele tumorale practic dispun de aceiași receptori și Ag CD ca și celulele normale, dar caracteristicile cantitative și calitative ale acestor structuri, de asemenea, se deosebesc de cele ale celulelor normale.

Pentru caracteristica morfologică a materialului obținut prin biopsie se utilizează AcMo anti-antigenii tumorali marcați cu fluorocromi. Așa, pentru cancerul bazocelular și pavimentos sunt caracteristice prezența *cheratinelor*, care sunt identificate pe secțiuni cu ajutorul AcMo marcați. Pentru identificarea *immunohistochimică a tumorilor* pe secțiuni se utilizează sistemul streptavidin-biotinic de vizualizare. Secțiunile primar sunt prelucrate cu AcMo specifici anti-Ag testat, iar legarea acestora este identificată cu Ac biotiniilați, ulterior evidențiați cu streptavidină marcată cu peroxidaza hreanului. Localizarea activității peroxidazei este apreciată cu substratul cromogen.

Adenocarcinomul este identificat după prezența Ag specific epitelial (absența lui indică mezoteliom). Pentru tumorile neuroendocrine sunt caracteristice NSE, sinaptofizina, cromogranina, hormonii; pentru tumorile glandei mamare și celor genitale – receptorii pentru progesteron, estrogen; tumorile prostatei au PSA și fosfataza acidă prostatică; cele endocrine – tiroglobulina, calcitonina; tumorile membranare ale nervilor – proteina S100; tumorile sistemului vascular – markerii celulelor endoteliale (CD 34 etc.), factorul Villebrand; tumorile sistemului muscular – actina etc. Selecția markerilor tumorali depinde de tabloul clinic al afecțiunii respective.

Reacțiile imune antitumorale și importanța lor diagnostică

Reacțiile antitumorale cu participarea diferitor populații și subpopulații limfocitare, granulocitelor, macrofagelor sunt heterogene. Numai apreciind toți parametrii reactivității antitumorale poate fi posibilă aprecierea rolului sistemului imun, care fie inhibă, fie stimulează creșterea tumorii.

Testele care caracterizează efectul killer specific al limfocitelor CD8 după marcarea celulelor tumorale cu izotopi (crom 51 etc.) permite depistarea reacției la Ag tumorii, dar cu condiția că va fi nu mai puțin de 1:1000 de celule reactante la Ag. O variantă nouă a acestei reacții pentru testarea limfocitelor T-antigen-specifice este testul ELISPOT, care permite aprecierea eliminării de către celule sau chiar de o celulă a IFN- γ și TNF- α după stimularea lor cu Ag sau celule tumorale pe parcursul a 6-48 de ore. Testul este bazat pe analiza imunoenzimatică cu utilizarea godeurilor acoperite cu Ac anticitokine produse de limfocitul T (IFN- γ , IL-2, TNF- α) la stimularea cu oncoantigenul.

Depistarea anticorpilor antitumorali este o altă etapă în caracteristica reacțiilor imune antitumorale. Ei pot intensifica creșterea tumorii sau exerci-

ta acțiune citotoxică asupra tumorii. Nivelul minor al acestora și fixarea lor cu Ag tumorali, precum și absența antigenilor tumorali purificați necesari pentru reacție fac imposibilă posibilitatea utilizării lor în practică.

La pacienții cu cancer se constată o *imunodeficiență combinată* provocată de tumoare și indusă de alte cauze și metode de tratament. În consecință, se stabilește o imunodeficiență secundară manifestă prin infecții provocate de bacteriile convențional patogene, virusuri și fungi, intensificarea creșterii tumorii și metastazarea ei. Cauzele imunodeficienței secundare sunt tumoarea crescândă, trauma operatorie și anestezia, iradierea cu raze Roentgen și substanțe radioactive, chimioterapia cu citostatice, maladiile concomitente, stresul și acțiunea psihogenă, vârsta înaintată. În majoritatea cazurilor, are loc combinarea acestor cauze cu apariția sindromului sistemic variabil al imunodeficienței și o evoluție severă sau medie-severă. Tumoarea progresantă elimină multe citokine, modulând răspunsul imun, modificând imunoreactivitatea locală și sistemică. Este cunoscut faptul că ea elimină factori care blochează reacțiile leucocitelor (factorul MIF). În serul sangvin al pacienților cu cancer au fost depistați factori (anticorpi, citokine, interleukine) care blocau reacția limfocitelor la Ag și mitogeni.

Celulele tumorale pot fi purtătoare ale diferitor virusuri-însoțitori, care induc în ele sau în celulele imunocompetente (limfocite, macrofage) ce infiltrează tumoarea, sinteza de interleukine care inhibă sau modifică răspunsul imun normal la tumoare, astfel că în consecință apar citokine stimulative ale creșterii tumorii (IL-6, IL-8, IL-10). Anume la pacienții cu cașexie tumorală a fost apreciată citoxina-cașectina, denumită TNF- α , care alterează unele celule tumorale, dar este ineficace în inhibiția creșterii tumorii și este o citokină proinflamatoare secretată de macrofagele, leucocitele activate și celulele tumorale.

Practic, orice tumoare produce un număr mare de antigeni-markeri, deseori cu specificitate embrională care pot induce toleranță celulelor SI, bloca, inhiba reacțiile imune.

Trauma operatorie și anestezia deseori sunt inductori esențiali ai insuficienței imune modificând indicii statusului imun: scăderea nivelului de limfocite T, T-helperi, disimunoglobulinemia, inhibă fagocitoza.

Chimioterapia citostatică, iradierea ionizantă inhibă hematopoieza, suprесеază formarea normală a celulelor imunocompetente, deseori induc neutropenia ce contribuie la inhibiția imensă a fagocitozei.

Vârsta înaintată frecvent este însoțită de maladii asociate care în ansamblu creează un status imunodeficiar după mulți indici.

Stresul psihogen, de asemenea, contribuie la instalarea statusului imunodeficiar prin depresii ale funcțiilor imune.

Astfel, tumoarea crescândă induce imunodeficiența, iar metodele de tratament, stresul și maladiile asociate sporesc intensitatea acestei stări.

Testarea imunodeficienței secundare la pacienții cu cancer se realizează prin utilizarea testelor nivelului I și II cu o caracteristică cantitativă și funcțională a indicilor. În baza datelor obținute se face prognosticul evolutiv al maladiei, se administrează remediile imunomodulatoare și se apreciază eficacitatea lor. Nivelul înalt a limfocitelor cu CD45⁺ și CD50⁺ este un criteriu al prognosticului favorabil în cancerul gastric. Concentrația Ig în serul sangvin este un criteriu prognostic al viabilității pacienților cu cancer gastric inoperabil. Dacă una dintre Ig claselor M, G, A era mai mare decât în normă, viabilitatea s-a dovedit a fi mai mare.

Indicatorii principali de testare a SI la pacienții neoplazici sunt: caracteristica preoperatorie a stării SI pentru selecția metodelor preoperatorii imunoterapice și controlul ulterior asupra stării bolnavului; controlul și corecția statusului imun în procesul de realizare a procedurilor terapice, chimioterapiei; controlul și prognosticul terapiei imune în perioada postoperatorie.

Frecvența controlului SI al pacientului depinde de indicii statusului imun și, de obicei, în staționar trebuie realizată o dată în săptămână, iar în condiții de ambulatoriu – 1-2 de ori în lună.

Chimioterapia și iradierea tumorilor, de regulă, induc inhibiția hematopoiezei și maturarea celulelor SI. Mai frecvent apare leucopenia de diferit grad: I – nu mai puțin de 1×10^9 /celule; II – $0,5-1 \times 10^9$ /l, III – $0,1-0,5 \times 10^9$ /l, IV – $< 0,1 \times 10^9$ /l. Infecțiile sistemice apar la leucopeniile de gradul III-IV. Pentru prevenirea lor sunt recomandate măsuri de preîntâmpinare a infectării pacienților (izolarea în saloane curate, filtrarea aerului, preîntâmpinarea infectării de către personalul medical). Pentru reducerea activării autoflorei până la administrarea chimioterapiei sunt utilizate probiotice și imunomodulatoare (preparatele timusului, licopid, polioxidoniu etc.). Mai eficiente în neutropenii sunt citokinele – preparatele G-CSF (neupogen, granocit) și GM-CSF (leukin). Ele reduc durata neutropeniilor, reducând riscul de dezvoltare a infecțiilor severe. Rezultate bune au fost obținute și la utilizarea leukinei β .

Imunoterapia tumorilor maligne

Există premise ale imunoterapiei pacienților cu cancer: prezența reacției imune a organismului la tumoră; alterarea progresivă a competenței imune pe parcursul progresării cancerului (scăderea indicilor statusului imun) cu stabilirea imunodeficienței secundare, creșterea susceptibilității la infecțiile virale, bacteriene, micotice, parazitare; tratamentul clasic (intervenția chirurgicală, iradierea, citostaticele) inhibă reactivitatea imunologică, agravând imunodeficiența preexistentă cu facilitarea infecțiilor.

Modalitățile imunoterapeutice sunt diverse și includ următoarele grupe:

- imunoterapia nespecifică activă (imunizarea cu diverse vaccinuri și utilizarea imunomodulatorilor pentru stimularea reacțiilor imune);
- imunoterapia specifică activă (imunizarea cu Ag tumorali) și pasivă (utilizarea Ac antitumorali);
- imunoterapia combinată cu utilizarea imunomodulatorilor specifice și nespecifice. Aceste metode imunoterapice sunt direcționate atât pentru stimularea imunității antitumorale, cât și a celei antiinfecțioase.

Imunoterapia activă nespecifică

Imunoterapia activă nespecifică include utilizarea agenților microbieni vii atenuați sau inactivați, a produselor ori extractelor bacteriene sau a diverselor substanțe naturale ori de sinteză (vaccinul BCG, OK-432 (picibanil), Tuftsin, hormonii timici, Levamisol etc.). Majoritatea acestor remedii induc activarea macrofagelor, inclusiv capacitatea lor de a distruge celulele tumorale. Rezultatele clinice obținute la imunoterapia cu produse microbiene au fost modeste și ineficiente. Însă tratamentul local cu BCG în carcinoamele vezicii urinare și în melanoame a demonstrat o eficacitate în funcție de momentul administrării, de imunocompetența bolnavului, doza și metoda de inoculare. Optimală s-a dovedit a fi doza de 2 ml (75 mg/ml) utilizată de 2 ori în săptămână, apoi o singură dată prin scarificare la nivelul ganglionului limfatic regional. La utilizarea dozelor mai mari apare imunodepresia, iar la utilizarea dozelor mai mici – toleranța.

Imuronul este destinat pentru terapia și profilaxia recidivelor cancerului vezicii urinare după extirparea tumorii. Conține 100-120 mg de micobacterii BCG și este administrat în vizeca urinară o dată în săptămână timp de 6 săptămâni. După indicație, cura terapeutică poate fi repetată peste 3-4 săptămâni. Pot fi observate efecte secundare: cistită, microhematurie, febră, artralgiile etc. Au fost aprobate și imunostimulatoarele obținute din bacterii (anatoxină stafilococică, prodighiosan, pirogenal etc.). Vaccinurile stimulează, în special, imunitatea antimicrobiană și nu pe cea antitumorală, iar uneori pot induce chiar și creșterea tumorii.

Remediile imunomodulatoare se utilizează pentru stimularea nespecifică a imunității antitumorale și terapia imunodeficienței care dirijază procesul tumoral și se manifestă prin complicații infecțioase. De regulă, imunocorecția se combină cu chimio-, radioterapia și se administrează 5-7 zile în perioada preoperatorie și 3-4 săptămâni în cea postoperatorie. Cura de imunocorecție este recomandată de 2-3 ori pe an, iar la indicație și mai frecvent.

Tactivina a fost utilizată în terapia tumorilor cu diversă localizare. Remediu, de regulă, nu posedă efecte secundare chiar în doze mari – 60 mg/m² de 2 ori pe

săptămână timp de 6 săptămâni. Ea optimizează indicii statusului imun la chimioterapie, îmbunătățește calitatea vieții și longevitatea pacienților.

Levamisolul posedă activitate imunomodulatoare asemănătoare remediilor timice. Actualmente se utilizează rar în doza de 75 mg/24 de ore cu cure de 3-5 zile datorită leucopeniei aparente la administrarea de lungă durată.

Lentinanul (polizaharidă obținută din fungile *Lentinus edodes*) este utilizat în Japonia în terapia cancerului gastric, pulmonar, mamar câte 2-10 mg în săptămână. Induce creșterea numerică a LT hepler, secreția de IFN- γ , TFN- α , în special la combinarea cu remediul OK-432 (picibanil). Ultimul este obținut din cultura de streptococi și posedă acțiune citotoxică asupra celulelor tumorale, intensifică activitatea antitumorală a limfocitelor, celulelor NK, sinteza de IL-1, IL-2 și IL-6. În combinație cu alte remedii antitumorale, mărește viabilitatea pacienților și durata remisiei.

AS-101 intensifică expresia receptorilor pentru IL-2, sinteza IL-2, IFN- γ , TNF etc. Este utilizat în imunoterapia postoperatorie.

Licopidul (se referă la muramilpeptide) conduce la restabilirea numărului de neutrofile la pacienții cu inhibiția hematopoiezei indusă de chimio- și radioterapie, optimizează indicii statusului imun.

Polioxidoniul – imunomodulator sintetic cu activitate antioxidantă, imunocorectoare și detoxicantă. Este recomandat pentru corecția statusului antioxidant și imun al pacienților la chimio- și radioterapie. Stimulează fagocitoza, conduce la creșterea rezistenței naturale la infecții.

Leacadina este utilizată în terapia combinată a tumorilor și sarcomului Kaposi i.v. câte 100-300 mg/m² zilnic timp de 10-15 zile. Induce leucopenie, trombocitopenie.

Bestatina (Ubenimex) este o dipeptidă obținută din *St. Olivoreticuli* și activează celulele NK, macrofagale, sinteza IL-2. Este administrată câte o capsulă (0,03g) zilnic timp de 5-7 zile.

Leucogena-2 este utilizată în leucopeniile aparente la chimio- și radioterapia tumorilor maligne, alte leucopenii. Se administrează adulților în doza de 0,02 g 3-4 ori/zi, doza diurnă a copiilor până la 6 luni – 0,01 g, de la 6 luni până la un an – 0,02 g, până la 7 ani – 0,04 g. Este contraindicată în hemoblastoze.

Batilolul stimulează leuco- și eritropoieza la iradiere. Este utilizat pentru profilaxia și terapia bolii actinice, leucopeniei. Cura administrării remediului este de 4-6 săptămâni a câte 2 comprimate/zi pentru profilaxie și de 3-4 ori/zi în scop terapeutic.

Suspensia de zimiozan (polizaharidă din drojzii) stimulează leucopoieza la chimio- și radioterapia tumorilor. Se administrează i.m. câte 1-2 ml peste o zi – 5-10 injecții.

Vobemugos E este un complex de enzime (chimotripsină, tripsină, papaină) care posedă acțiune imunomodulatoare (reduc nivelul complexelor imune), antiinflamatoare, fibrinolitică. Potențează efectele chimioterapiei, crește calitatea vieții.

Vobenzima este un complex de enzime, utilizată în terapia maladiilor tumorale. Se administrează câte 3-5-10 tablete de 3 ori pe zi până la masă timp de 5 zile, ulterior câte 3-5 tablete timp de 10 zile.

Bactoterapia este utilizată pe larg în oncologie datorită faptului că terapia citostatică, iradierea, utilizarea antibioticelor induce dereglarea biocenozei mucoaselor, în special a intestinului, apar dismicrobisme care necesită utilizarea remediilor obținute din microflora naturală.

Vitaminele sunt necesare în terapia neoplaziilor, deoarece stimulează metabolismul celulelor sistemului imun. Retinolul (vit. A) frânează dezvoltarea tumorilor, stimulează reacțiile imune celulare. Se administrează carotina β în doze de 250 mg timp de 10 zile, deoarece retinoidele sunt toxice. Efectul terapeutic se intensifică la suplimentarea vitaminei C.

Fitopreparatele antitumorale (vinblastina, vincristina, colhamin, befunghina etc.) sunt remedii adaptogene ce sporesc rezistența antitumorală prin efecte imunomodulatoare (imunostimulante). Ele inhibă proliferarea celulară, dar, de regulă, induc și inhibiția hematopoiezei (leucopenii) și, astfel, supresează imunitatea. Sunt administrate în limfogranulomatoză (stadiile III și IV), mielom, corionepiteliom, cancerul mamar, pulmonar etc.

Imunoterapia fotosensibilizantă este bazată pe faptul că celulele tumorale, datorită metabolismului majorat, pot acumula fotosensibilizatori mai intensiv comparativ cu celulele normale și de aceea la iradiere ele sunt distruse prin efectul fototoxic. Distrucția celulară este însoțită de infiltrația leucocitară și imunizarea cu Ag tumorali.

Fotofrina a fost obținută din derivatul hematoporfirinei, se administrează câte 1,5-2,5 mg/kg i.v. pentru sensibilizarea celulelor tumorale cu diversă localizare în care ea se acumulează. Pe parcursul a 2-3 zile tumoarea este iradiată cu laser roșu. Din celulele normale remediu este eliminat timp de 1 oră.

Ftalocianinele sunt fotosensibilizatori mai specifici și activi. Zinc-ftalocianina se utilizează câte 0,1-0,3 mg/kg în cancerul esofagului și pielii.

Acidul aminolevulinic induce în organism formarea protoporfirinei IX, care se acumulează în mitocondriile celulelor tumorale. Se utilizează în cancerul pielii în formă de cremă. Rezultate satisfăcătoare au fost obținute în terapia cancerului pielii, în particular a carcinomului bazocelular. În tumorile regiunii orofaringiene, în cancerul de vezică urinară, al bronhiilor, esofagului, regresia tumorii a fost observată în 30-67% din cazuri.

Imunoterapia adoptivă cu citokine

Citokinele stimulează proliferarea celulară, diferențierea lor, activitatea funcțională și apoptoza. Funcțiile reglatoare ale citokinelor sunt consecința interacțiunilor cu receptorii celulelor și apariția unui semnal, care prin intermediul sistemului intracelular de enzime și mediatori este transmis în nucleu, fiind activate genele respective. Produsele acestor gene asigură reglarea sistemului imun. Citokinele apar la stimulul antigenic, sunt active în concentrații foarte mici (10-100 pg/l), posedă activitate mediatorie și hormonală autocrină (asupra celulei producătoare), paracrină (asupra celulelor vecine) și endocrină (la distanță). Sunt factori de creștere și diferențiere celulară, formează o rețea citokinică reglatoare cu funcții sinergice sau antagoniste în răspunsul imun. Posedă activitate poli-funcțională la distanță mică și capacitate de inducere a proceselor imunopatologice locale și sistemice la hipersinteza lor.

În conformitate cu proprietățile predominante, se disting citokine:

- *reglatoare ale inflamației*: IL-1 α , IL-1 β (analogul reactiv al IL-1), IL-6, TNF- α , IL-8, PF-4 (factorul trombocitar), MIP-1 α (proteina macrofagală a inflamației), MCP-1 (proteina macrofagală chemotactică), PD-GF (factorul de creștere trombocitar), CSF (G, M, GM), factorul de creștere transformant TGF- β , chemokine;
- *reglatoare ale răspunsului imun celular T*: IL-2, IFN- γ , IL-12, TGF- β , IL-10, IL-15, IL-18;
- *reglatoare ale imunității celulare B*: IL-4, IL-6, IL-10, IL-13, IL-14, IL-16, TGF- β ;
- *reglatoare ale hemopoiezei*: IL-3, GM-CSF, IL-5, IL-7, IL-11.

Cea mai utilizată terapie continuă să fie cea cu interferoni, în special de tip α recombinant, care s-a dovedit eficientă în anumite forme și stadii ale tumorilor solide și, mai ales în leucemii.

Alfaferonul se utilizează în terapia leucemiilor, melanomului, condiloamelor acuminat, hepatitelor virale B, C, D. Se administrează i.m. sau s.c. câte 3-12 mil. UI.

Valferonul este interferonul α -n1 purificat limfoblastic uman, care stimulează celulele NK, macrofagele, imunitatea antitumorală. Se administrează i.m. sau s.c. câte 1-15 mil. UI.

Roferonul-A este un interferon recombinant α 2a, care se administrează i.m. sau s.c. în funcție de tipul tumorii: în leucemia cu celule păroase – 3 mil. UI/zilnic timp de 16-24 de săptămâni; în mielom – 3 mil. UI de 3 ori pe săptămână; în sarcomul Kaposi și în carcinomul renal – 18-36 mil. UI/zilnic. La pacienții cu melanom efectul clinic s-a observat în 15% din cazuri (remisiune completă în 3-4% din cazuri) cu durata remisiunii până la 4 luni. Un efect optimal a fost constatat la administrarea a 3-6 mil. UI zilnic sau peste o zi. Majorarea dozei n-a condus la îmbunătățirea rezultatelor.

Realderonul – interferon recombinant 2b, ce se utilizează în leucemii (câte 3-9 mil. UI de 3 ori pe săptămână, în cancerul renal, gastric, intestinal cu cura terapeutică de 180 mil. UI).

Reaferonul – interferon recombinant $\alpha 2b$, ce se utilizează în terapia tumorilor (melanom, cancerul ovarian, vezicii urinare, renal). Administrarea acestui remediu conduce la creșterea expresiei markerilor de activare (CD25, CD38 etc.) pe limfocite, optimizarea IIR (CD4⁺/CD8⁺), apariția CD95 (markerul apoptozei). Posibil, IFN intensifică apoptoza celulelor tumorale. Terapia cu doze mari de IFN- $\alpha 2b$ contribuie la creșterea viabilității pacienților, duratei și frecvenței remisiunilor. Eficacitatea acestui remediu a fost constatată la copii cu melanom și hemoblastoze (viabilitatea pacienților mai mult de 5 ani a fost obținută în 94,1% din cazuri).

Utilizarea IFN în combinație cu citostatice s-a dovedit a fi una de perspectivă, deoarece ele intensifică acțiunea ultimelor. IFN- α intensifică acțiunea dacarbazinei, cisplatinei în melanom, cancerul ovarian, pancreatic. Efecte pozitive au fost constatate la combinarea INF cu bestatina. Interferonii s-au dovedit de o eficacitate înaltă în terapia complexă a hemoblastozelor la copii.

În oncologie sunt utilizate și *preparatele recombinante ale interleukinelor* (vezi compartimentul IV).

Betaleukina (IL-1 β recombinantă) stimulează leucopoieza în leucopeniile induse de citostatice și iradiere, diferențierea celulelor imunocompetente, induce sinteza factorilor coloniestimulanți. Se utilizează în complicațiile postoperatorii, în procesele purulente și în alte infecții, în transplantul medular. Se administrează i.v. în doza de 5 ng/kg pentru imunostimulare, 10-20 ng/kg/24 de ore – pentru stimularea leucopoiezei și trombocitopoiezei cu o cură de 5 infuzii.

IL-2 recombinantă (Roncoleukina) s-a dovedit mai eficace în cancerul renal, al prostatei, în gliome, melanom, în special la administrarea concomitentă cu IFN. Induce majorarea numărului de LT CD4, activitatea fagocitară, restaurează reactivitatea imună. În cazul cancerului vezicii urinare, remisiunea persistentă a fost obținută la utilizarea ei cu doze minore de vaccin BCG inoculate întravezicular. La pacienții cu cancer renal și metastaze în pulmonii inhalarea IL-2 induce diminuarea focarelor tumorale pulmonare și stabilizarea procesului în 30% din cazuri. Dozele utilizate în terapie variază în funcție de tipul tumorii, de stadiu etc.

TFN- α este secretat de macrofage și induce liza celulelor tumorale sensibile la el. Posedă toxicitate înaltă. Se utilizează local în doză de până la 0,2 mg/24 de ore, induce regresia tumorii.

IL-12 induce sinteza IFN- γ , IL-15, IL-18. Remediu recombinant contribuie la regresia Imfoamelor cutanate celulare T, potențează citotoxicitatea LT. Preparatul induce citopenie și este hepatotoxic.

Factorul CSF-G reduce mielosupresia indusă de chimiopreparate, durata neutropeniilor și posibilitatea apariției infecției.

Incubarea limfocitelor pacientului cu IL-2 intensifică reactivitatea imună și ele obțin capacitatea de distrucție a celulelor tumorale. Limfocitele bolnavului activate *in vitro* cu IL-2 au primit denumirea de celule LAK. A fost demonstrată eficacitatea acestui procedeu în melanom și cancerul renal. În ultimii ani se utilizează limfocitele pacientului cultivate *in vitro* timp de 2-6 zile cu IL-2.

Pentru imunoterapia cancerului poate fi utilizat și supernatantul limfocitelor proprii cultivate cu celule tumorale autologe iradiate (conține HLA-DR, IgG și Ag tumoral) ce conduce la creșterea viabilității pacienților.

Metodele extracorporale de imuno-hemocorecție sunt pe larg utilizate în oncologie (vezi compartimentul IV).

Principiile terapiei nespecifice imunostimulante în oncologie sunt următoarele:

- imunostimularea este recomandată în perioada preoperatorie sau concomitent cu debutul chimioterapiei;
- sunt recomandate pentru utilizare remediile cele mai aprobate (tactivina, timalin, mielopide, licopid, polioxidoniu etc.);
- în chimioterapie este mai eficientă utilizarea citostaticelor care inhibă într-o măsură mai mare răspunsul imun umoral comparativ cu cel T-celular (proprietați ale 5-fluoruracilului și ciclofosfamidei);
- imunoreabilitarea cu imunomodulatori nespecfici este utilă în perioada postoperatorie;
- imunoterapia locală trebuie să fie asociată cu cea sistemică.

Imunoterapia activă specifică

Inducerea unei imunități active specifice se poate realiza, teoretic, prin vaccinare cu celule tumorale sau cu Ag izolați din acestea. În general, vaccinurile cu celule vii sunt mult mai imunogene decât cele cu celule moarte. Din acest motiv, s-a încercat inducerea unui răspuns imun specific prin injectarea celulelor tumorale (autologe sau alogene din linii celulare de același tip), în prealabil γ -iradiate (pentru a preveni multiplicarea lor) în asociere cu adjuvanții microbieni (BCG, adjuvantul Freund detoxicat), care să favorizeze activitatea limfocitelor. Dar rezultatele obținute în clinică, spre deosebire de cele experimentale, n-au fost satisfăcătoare.

Recent, se încearcă vaccinarea cu celule modificate genetic pentru a crește imunogenitatea acestora. Prin inginerie genetică au fost introduse în celulele tumorale gene care codifică moleculele costimulatoare (B7-1 sau B7-2) sau citokine (IL-2, TNF- α , GM-CSF, IL-6).

Alternativ se încearcă imunizarea cu ajutorul genelor care codifică Ag tumoral (recunoscuți de LT) care sunt introduși în genomul unui virus (virus recom-

binant). Prin infectarea virală a celulelor este indusă sinteza Ag tumorali care sunt captați și prezentați apoi LT de către APC.

Într-o măsură oarecare, vaccinurile tumorale sunt mai eficiente în combinație cu chimioterapia. Au fost obținuți unii Ag tumoral (proteina 100 kDa, Ag peptid-decameri etc.), care, în perspectivă, posibil, vor fi utilizați ca preparate pentru vaccinuri.

Vaccinurile antitumorale în baza celulelor dendritice fac posibilă crearea unor preparate mai eficiente datorită faptului că acestea posedă capacitatea de prezentare a Ag (HLA), moleculelor CD1 și costimulatoarelor pentru LT (CD80, CD86, CD40, moleculelor de adeziune – CD 11a, c, LFA3, ICAM-1). Celulele dendritice secretă IL-12 care stimulează Th1 și răspunsul citotoxic. Tumorile inhibă maturizarea celulelor dendritice prin secreția IL-10. Cultivarea celulelor dendritice cu IL-4 și GM-CSF și utilizarea lor în prepararea vaccinurilor prin prelucrarea cu epitopi ai CEA, Ag melano-specifici (MAGE-1, -3 BAGE, GAGE-1, 2 etc.) se consideră de perspectivă. Utilizarea transcriptazei reverse – Ag universal al tumorilor, care este activ în celulele tumorale și nu în cele normale, de asemenea, este considerată utilă pentru imunoterapie. Pentru inocularea Ag în DC se utilizează incubarea cu ele, inocularea ARN sau ADN care codifică epitopul necesar al Ag prin virionii-vectori. Au fost obținute rezultate pozitive la imunizarea pacienților u DC care au legat Ag PSA membranar.

Imunoterapia specifică pasivă primar a fost realizată prin inocularea serurilor antitumorale obținute de la animale, serurilor reconvalescenților cu unele efecte pozitive în leucemii și corionepiteliom, care ulterior au fost abandonate datorită efectelor blocante a Ac antitumorali.

O nouă perspectivă este utilizarea AcMo secretați de hibridoamele murine. Au fost obținuți AcMo anti-Ag tumorali și Ag de diferențiere celulară – CD utilizați în diagnostic și terapie. Pentru terapie sunt utilizați AcMo antitumorali cuplați în complexe cu toxine, citostatice. Acești AcMo pot induce liza dependentă de complement prin fixarea C. La fixarea pe celula-țintă, ei induc citotoxicitatea ACCD a celulelor NK și leucocitelor prin intermediul receptorilor Fc. Intensifică fagocitoza celulelor tumorale prin opsonizarea lor. Au fost descrise metode de utilizare prin marcarea AcMo cu izotopi emițători de radiații α sau β pentru terapia „țintită” a celulelor maligne purtătoare de Ag tumorali. Efecte similare se pot obține prin cuplarea de Ac antitumorali cu substanțe citostatice sau cu toxine (ricină, toxina difterică) sub formă de imunotoxine, care a demonstrat rezultate încurajatoare.

Heteroconjugatele pot fi realizate prin cuplarea unui Ac anti-CD3 cu unul anti-Ag tumoral sau prin crearea a unor anticorpi bispecifici care se leagă cu un fragment de molecula CD3, iar cu celălalt de celula canceroasă, facilitând astfel liza acesteia de către celulele citotoxice efectoare.

Au fost elaborați AcMo umanizați (doar centrele active sunt de origine murină), care au demonstrat activitate în limfoame și rar induc reacții adverse. Există comunicări despre imunoterapia cu succes a leucemiilor mieloide cu AcMo umanizați anti-proteina CD33.

Rituximab (Mabthera) – AcMo himergic (murina/umană) cu specificitate pentru CD20 prezent pe limfocitele pre-B și B mature, dar absent pe plasmocite etc. El este exprimat în 95% din cazuri pe LB în limfoamele non-Hodgkin. AcMo anti-CD20 induce liza dependentă de C, ACCD și apoptoza LB purtătoare de Ag CD20. Se utilizează în limfoamele maligne celulare B CD20⁺ recidivante, chimiorezistente cu grad de malignitate minor sau în cele foliculare câte 375 mg/m² i.v. diluat în soluție de NaCl. La pacienții cu limfoame de subtip histologic B, C, D frecvența remisiunilor este mai mare (58%) comparativ cu subtipul A (12%). Posedă reacții adverse (febră, edem angioneurotic, urticarie, bronhospasm etc.). Leucopenia, anemia, trombocitopenia, hipertensia sau hipotonia etc. se înregistrează rar.

Herceptina – AcMo antioncogenul HER-2neu legat cu receptorul factorului de creștere epidermal, a cărui expresie este majorată în unele tumori. Utilizarea acestui AcMo în combinație cu chimioterapia în cancerul mamar sporește eficacitatea terapiei.

Conjugatele AcMo cu izotopi, toxine și chimiopreparate sunt utilizate pentru vizualizarea tumorii, sporirea efectului antitumoral. AcMo realizează funcția de transport a izotopilor și toxinelor. Ac marcați cu izotopii ¹³¹I, ¹²⁵I, ³²P, ¹⁸⁶Re etc. sunt utilizați pentru vizualizarea tumorii și terapia lor. Mai eficienți s-au dovedit AcMo marcați cu ¹³¹I anti-CD20 în leucemii și limfoamele B. A fost demonstrată prioritatea iradierii α care alterează mai intensiv celulele tumorale comparativ cu γ -iradierea care distruge și celulele învecinate normale.

Toxinele (ricina, endotoxina Pseudomonas A – PE, saponina, toxina difterică etc.) sunt fixate la AcMo și sunt utilizate în limfoamele B, în cancerul pulmonar microcelular și în alte tumori.

Remediile antitumorale legate cu AcMo au acțiune citotoxică țintită asupra celulelor tumorale. Una din variantele acestora este încorporarea chimiopreparatelor în combinație cu toxine în liposomii acoperiți cu AcMo, ce asigură o specificitate mai mare și efecte citotoxice distructive mai evidente.

Anticorpii pentru purificarea medulară. În leucemii, limfoame și metastaze tumorale în măduva osoasă se utilizează iradierea totală și chimioterapia masivă, care distruge nu numai celulele tumorale, dar și pe cele stem hematopoietice. Pentru recompensarea lor se utilizează măduvă osoasă autologă, în prealabil preparată și purificată de celulele tumorale cu ajutorul AcMo conjugați cu toxine (ricină etc.) care distruge celulele tumorale. Prin utilizarea AcMo WT1 anti-glicoproteina specifică a blaștilor T în limfocemiile T celulare s-a reușit eliminarea celulelor

tumorale din măduva osoasă. Rezultatele au fost dependente de expresia Ag pe celulele tumorale.

În general, metode imunoterapice trebuie să fie utilizate în combinație cu chimioterapia și extirparea chirurgicală a tumorii.

Terapia genică a tumorilor

Pentru obținerea vaccinurilor, celulele tumorale sunt modificate de genele care codifică moleculele (B7, HLA, genele citokinelor) LT necesare pentru recunoaștere și distrucție. Multe citokine (IFN, IL) modifică expresia Ag pe celulele tumorale și intensifică întru-un șir de cazuri imunogenitatea lor. Pentru inocularea în celulele tumorale a genelor necesare se utilizează diferiți vectori-transportatori: adenovirusuri inactivate, substanțe chimice etc. S-a demonstrat că celulele tumorale „infectate” cu genomul IL-2, IL-4, IFN- γ induc un răspuns imun mai intensiv ca rezultat al producției de către tumoră a citokinelor care stimulează imunitatea. Activarea enzimelor celulelor tumorale participante în sinteza substanțelor toxice prin inocularea unor gene (gena timidinkinaza a virionului herpesului simplu) conduce la distrucția tumorii.

Altă direcție de perspectivă este inducția apoptozei celulelor tumorale prin intensificarea activității genelor responsabile de apoptoză și sensibilității lor la inductorii apoptozei (Ac, diverse preparate).

În concluzie, terapia combinată în cancer este una de perspectivă, demonstrată atât în imunoterapia specifică, cât și în cea nespecifică. Extirparea chirurgicală a tumorii asociată cu imunostimularea pre- și postoperatorie conduce la obținerea rezultatelor mai optime. Schematic, terapia pacienților cu cancer trebuie să includă:

1. Plasmaleucofereza (eliminarea plasmei, preincubarea la 4°C a leucocitelor și/sau activarea lor – celulele LAK).
2. Activarea nespecifică preoperatorie cu imunomodulatori și citokine (prechimică, preiradiere, recoltarea leucocitelor autologe sau a măduvei osoase, activarea lor și păstrarea).
3. Terapia de bază (extirparea tumorii, chimio- și radioterapia), obținerea mostrelor tumorale pentru autovaccinare.
4. Restaurarea reactivității imune (plasmafereza, administrarea plasmei donatorului, inocularea leucocitelor activate preparate, imunostimularea nespecifică substituentă cu factorii timici, citokine, imunoglobuline).
5. Imunoterapia activă specifică cu vaccinuri autologe în combinație cu citokine, factori timici și costimulatori medulari.

În funcție de caz și condiții, aceste etape pot fi modificate și suplimentate cu alte procedee.

Capitolul 14. IMUNOFIZIOLOGIA ȘI IMUNOPATOLOGIA REPRODUCERII

Fătul reprezintă un alotransplantat specific în organismul matern datorită antigenilor (Ag) incompatibili moșteniți de la tată. Toleranța organismului matern la antigenii fetali este asigurată de mulți factori specifici și nespecifici, care asigură viabilitatea fătului: organizarea particulară a țesuturilor dintre mamă și făt (trofoblast, membranele deciduale etc.); activitatea protectivă a anticorpilor (Ac) secretați față de Ag specifici ai fătului; acțiunea blocantă a complexelor Ag-Ac; acțiunea supresivă totală a proteinelor placentare, hormonilor steroizi și proteinelor aparente în graviditate asupra celulelor imune, acțiunea supresivă a limfocitelor fătului și anticorpilor blocanți ai gravidelor anti-Ag HLA-DR.

Fătul se dezvoltă normal sub influența izoanticorpilor, limfocitelor T și NK materne care intervin în placentă cu sinteza de citokine stimulante a creșterii și diferențierii țesuturilor fetale. Modificările imunologice aparente la acțiunea diferitor factori pot conduce la diverse variante patologice de dezvoltare. Cauza acestora poate fi predispoziția genetică care asigură variante deosebite de incompatibilitate (antigenii Rh etc.), agenții care induc scăderea sau majorarea cantitativă a Ag fetali și care pătrund prin bariera placentară sau, dimpotrivă, factorii care induc creșterea concentrației Ac în serul sangvin matern al anumitor anti-idiotipuri și pătrunderea lor la făt. Este posibilă combinarea unor cauze și factori. Restabilirea dezvoltării normale a fătului poate fi observată după imunizarea cu limfocitele paterne ce indică o imunogenitate insuficientă a Ag fetali.

Imunodepresia relativă la graviditate este influențată de factorii hormonal și nespecifici. Un șir de indici imunologici pe parcursul gravidității sunt modificați (subpopulațiile celulelor T, imunoglobulinele, reacțiile la antigeni și mitogeni). Modificări mai esențiale ale imunoreactivității sunt depistate în diverse patologii ale gravidității.

Statusul imun de start al femeilor sănătoase, inclusiv și pe parcursul perioadelor ciclului menstrual nu se deosebește esențial de cel al bărbaților. Indicii fagocitozei (procentul fagocitelor care au înglobat stafilococi este de $70 \pm 21\%$, numărul fagocitar – de $3,7 \pm 0,6\%$) nu diferă de cei ai bărbaților de vârsta respectivă, iar nivelul complementului poate fi puțin majorat. Cantitatea limfocitelor T în sânge ($65-75\%$), Th ($35-42\%$), Tc ($18-31\%$), reacțiile la mitogeni (procentul celulelor blaste la PHA $58 \pm 2,0$), de asemenea, nu diferă de grupele comparative ale bărbaților cu toate că variațiile individuale pot fi esențiale.

Nivelul imunoglobulinelor sangvine unor persoane variază de la valori minime (IgG – 8g/l, IgM – 0,5g/l, IgA – 0,9g/l, IgE – 10 UI/ml) până la cele majorate (IgG – 18g/l, IgM – 1,7g/l, IgA – 3,5g/l, IgE – 100 UI/ml).

Imunitatea antibacteriană, antivirală, antifungică locală a mucoasei tractului genital este asigurată de factorii bactericizi și bacteriostatici ai mucusului și celulelor țesutului limfoid asociat acestor organe.

Leucocitele (neutrofilele, macrofagele) fagocitează și scindează majoritatea microorganismelor patogene. Imunoglobulinele clasei A secretorii opsonizează microbii, blochează formarea coloniilor pe mucoase. Mucoasa conține cca 70% de plasmocite IgA pozitive; estrogenii majorează nivelul sIgA. În faza secretorie în mucoase este majorat numărul celulelor T activate, în endometru sunt frecvent limfocitele CD8⁺, în stroma lui – limfocitele CD2⁺, CD56⁺, dar mai puține sunt celulele CD16⁺, deoarece NK au fenotip imatur.

Mucusul cervical al femeilor sănătoase conține IgA în faza proliferativă (0,74±0,06 g/l), ovulatorie (0,43±0,06 g/l) și secretorie (0,81±0,12 g/l), iar nivelul componentului secretor (SC) al celulelor epiteliale este mai înalt (1,11±0,16; 0,63±0,08 și 1,71±0,21 g/l, respectiv fazelor). Nivelul IgG nu diferă după aceste faze (1,07±0,11 – 1,10±0,11 g/l), iar IgM este absent în cazurile fără infecție. Dinamica sIgA are o importanță majoră în asigurarea imunității locale a mucoaselor. Scăderea concentrației acesteia în faza ovulatorie contribuie, posibil, la concepție, iar valorile maxime în perioadele pre- și postmenstruale asigură apărarea mucoaselor de agenții infecțioși. Lactobacteriile persistă pe mucoasă și creează un pH acid (4-6), care stopează dezvoltarea florei patogene.

Dereglările biocenozei locale, lezarea epiteliului de către virusuri, inhibarea factorilor locali al imunității stau la baza apariției imunodeficiențelor locale și dezvoltării infecției.

Imunitatea locală a mucoasei vaginale depinde de factorii imunității congenitale, de componența microflorei, care se modifică pe parcursul fazelor ciclului menstrual, gravidității și în perioada după naștere. În vagin predomină *Lactobacillus* spp. (95-98%) – microaerofili sau anaerobi. Mai frecvent sunt întâlniți *L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. jensenii*, *L. casei* etc. În afară de aceștia, în normă mai frecvent sunt prezente corinebacteriile apatogene și stafilococii coagulazonegativi, uneori bacterioizii în titre joase. Microcenoza este dependentă de nivelul hormonilor sexuali în sânge. La începutul menstruației pH mediului crește, iar ulterior scade (de la 6,6 până la 4,1), fapt dependent de apariția elementelor sangvine, distrucția celulară a endoteliului. Cantitatea lactobacililor scade, dar crește nivelul altor bacterii. După finisarea ciclului menstrual, populația lactobacililor crește până la nivelul inițial. Astfel, rezistența locală a vaginului la infecții este scăzută în faza proliferativă a ciclului menstrual.

Statusul imun al gravidelor, parturientelor și lăuzelor

Interacțiunea materno-fetală, modificarea statusului hormonal, microbial, biochimic, imun al femeilor se constată în toată perioada de graviditate. Sub influența hormonilor corpului galben, mucoasa vaginului hiperplazată favorizează creșterea cantitativă a lactobacililor (trimestrul I). Dar durata lungă de menținere a pH scăzut (3,8-4,2) contribuie la apariția micoplasmelor și fungilor, care pe fundalul unei imunități locale scăzute pot induce infecțiile respective. Enterobacteriile sunt apreciate în 20% din cazuri, streptococii – în 53% din cazuri, anaerobii – la 83% dintre gravide. În trimestrul II scade cantitatea enterobacteriilor și crește nivelul lactobacililor. La a 37-a – a 38-a săptămână (trimestrul III) numărul enterobacteriilor scade încontinuu, dar se majorează frecvența și cantitatea candidelor. Se consideră, că fătul tolerează microflora normală maternă.

La gravide se observă inhibiția unor indici ai sistemului imun (SI) și majorarea altora. S-a constatat inhibiția funcției fagocitare, chemotactismului leucocitelor, activității bactericide la bacteriile Gram-negative, scăderea indicelui testului NBT. La gravide este scăzut răspunsul la Ag HLA, în special a celor fetali, dar nu și la alți Ag și mitogeni (PHA). N-au fost constatate diferențe veridice ale nivelului limfocitelor T și B la gravide și femeile negravide cu toate că sunt posibile anumite imunomodulații (scăderea – majorarea) în diverse perioade ale gravidității. Ca rezultat al inhibiției unor indici imuni, gravidele sunt mai sensibile la infecțiile virale.

Indicele imunomodulator este scăzut din contul unei minorizări a limfocitelor Th și majorării Tc.

În plasma sangvină a gravidelor, nivelul proteinei totale se găsește la un nivel de 65-75 g/l. La a 11-a – a 14-a săptămână în sânge apare AFP, nivelul căreia crește (1/10 din cantitatea fetală) cu o descreștere rapidă după naștere (prima săptămână). Cantitatea AFP se majorează în avort și în moartea fătului. Prezența cantităților majorate de AFP în sânge este unul dintre factorii care asigură toleranța la Ag fetalii prin blocarea transformării blastice a limfocitelor și interacțiunea lor. Factorii imunității nespecifice (lizozimul, complementul etc.) pot fi în cantități normale sau majorate, în special în mucusul colului.

Cantitatea IgG serice la gravide crește la a 36-a săptămână cu reducerea ulterioară la valorile normale la a 40-a săptămână, datorată transportului activ la făt prin placentă.

Nivelul IgA și IgM în sângele gravidelor nu se modifică, pe când nivelul IgD crește la momentul nașterii, uneori se constată majorarea IgE.

În mucusul cervical al gravidelor s-au constatat modificări ale concentrației IgG și IgA. Nivelul IgG scade în perioada de formare a placentei (a 13-a – a 16-a săptămână) cu o creștere ulterioară la a 29-a – a 32-a săptămână, după ce

descrește după naștere, fapt constatat și în serul sangvin. În colostru la gravide conținutul de IgM și IgG nu se modifică, dar cantitatea IgA se majorează la a 28-a și a 40-a săptămână ce asigură conținutul ei înalt în lapte și, ulterior, apărarea mucoaselor intestinului nou-născutului.

Pentru IgA în mucusul cervical s-a evidențiat o creștere la a 29-a – a 32-a săptămână și diminuarea ei la a 37-a – a 40-a săptămână.

Lichidul amniotic este obișnuit steril în normă și conține lizozim și substanțe bactericide, care sunt sintetizate de celulele amnionului și placentei. El conține IgG ($0,3 \pm 0,15$ g/l) și IgA ($0,03 \pm 0,005$ g/l), precum și anticorpi ai antitoxinei stafilococice, virionului gripei, poliomielitei, de origine maternă etc.

Rolul placentei în interrelația materno-fetală. Există un mecanism unic de interacțiune dintre celulele fetale și materne. Pe de o parte, celulele fetale care contactează cu trofoblastul matern nu posedă aloantigeni paterni și materni (HLA clasa I și II), dar au moleculele HLA-G, HLA-E, care inhibă activitatea celulelor NK materne.

Modificarea expresivității moleculelor HLA de clasele I și II pe citotrofoblast sub acțiunea virionilor și a altor agenți patogeni poate conduce la dezvoltarea reacțiilor imune cu tromboza vaselor placentare și în consecință – la avort. Ultimul poate fi inițiat de procesele inflamatoare acute și cronice infecțioase în miometru și în alte țesuturi.

Trofoblastul este bariera fiziologică selectivă dintre făt și mamă, fiind permeabil pentru proteine, anticorpii IgG și alte substanțe materne, și care elimină factori imunosupresivi.

Fătul este incompatibil cu organismul matern după aloantigenii formați din contul genelor haplotipului patern și acești Ag și celulele fetale pot pătrunde în organismul mamei prin placentă, inducând un răspuns imun. La evoluția unei gravidități normale, anticorpii aparenti sunt de o afinitate joasă, monovalenți cu funcție blocantă.

Funcția placentei este diversă (de barieră, imunoreglatoare etc.). Împiedicarea amestecului direct al celulelor fetale și materne, permeabilitatea pentru substanțele nutritive, IgG sunt doar unele aspecte ale funcției de barieră. Concomitent, unele celule materne pot pătrunde în organismul fătului, transportând informația imună. Funcția imunoreglatoare este realizată de celulele trofoblastului ce exprimă moleculele HLA-G, care leagă cu receptorii Fc IgG materne și anticorpii blocanți, inactivează convertaza C3 a căii clasice de activare a complementului. Organismul matern sintetizează hormoni, citokine, mediatori (PGE_1 , HCG, glicoproteina $\beta 1$ trofoblastică) cu activitate imunosupresivă specifică.

Toleranța imunologică a mamei la aloantigenii fetalii este asigurată de mulți factori, cum ar fi proteina fazei precoce a gravidității, AFP, antigenul TLX, moleculele HLA-G ale trofoblastului în absența HLA de clasele I și II, glicoproteina $\beta 1$ a trofoblastului, gonadotropina corionică, lactogenul placentar, PGE_1 ,

factorul de inducție a progesteronului (inhibă celulele NK), celulele supresoare granulare asociate deciduale (DGL), dezechilibrul citokinic în favoarea Th₁, indus de structurile fetoplacentare.

Imunopatologia fecundării și sterilitatea

În majoritatea cazurilor (până la 72%), se constată sterilitatea masculină indusă de anomalii de dezvoltare, intoxicații, infecții. Pe spermatozoizi și în plasma seminală sunt prezente cca 30 de molecule specifice diverse, care pot fi autoantigene. Unele dintre ele sunt caracteristice spermatozoizilor, altele sunt absorbite din lichidul seminal. Suprafața spermatozoizilor este acoperită de antigenul SCA (scafferin), a cărui structură este apropiată componentelor mucusului cervical și vaginal al femeilor. El maschează antigenii specifici (acrozina acrozomul, glicoproteinele și citochromele colului spermatozoizilor) de recunoaștere. Pe suprafața spermatozoizilor în 50% din cazuri se înregistrează Ag sistemului AB0 sangvin, moleculele HLA de clasele I și II absorbite din plasma seminală.

Autoimunitatea la spermă conduce la sterilitatea masculină. Autoanticorpii pot fi citotoxici cu alterarea precoce a spermatozoizilor sau blocanți ai mobilității (anti-flageline). În plasma seminală apar IgG și IgA, iar IgM numai în sânge. La titrul autoanticorpilor de 1:64 spermatozoizii aglutinează coadă la coadă și pot fi depistați în RIF indirecte.

Fecundarea este bazată pe fenomenul de adeziune a moleculelor. Pe acrosoma spermatozoizilor există o moleculă specială – antigenul MA-1, iar pe membrana lucidă a ovulelor – un receptor specific pentru el. Alte molecule de adeziune intensifică contactul și în consecință, penetrarea spermatozoidului în ovul. Expresivitatea Ag MA-1 este majorată de hormoni și scade sub influența factorilor blocanți, anticorpilor, enzimelor.

Toleranța la Ag spermatozoizilor este asigurată de acțiunea substanțelor imunosupresive ale lichidului seminal și de particularitățile imunității locale a mucoasei uterine, în special de prezența limfocitelor T γ δ , direcționate primar la un complex restrâns al Ag microbieni și nu la aloantigeni. Dar în procesul sexual Ag lichidului seminal și leucocitele prezente în el, de asemenea, spermatozoizii purtători de molecule HLA absorbite pot induce secreția de Ac la femei și nu numai IgG, dar și IgE cu reacții alergice.

Izosensibilizarea femeilor poate fi indusă de antigenul trofoblastolimfocitar heterogen TLX prezent în spermă și care posedă epitopi ai moleculelor HLA și trofoblastului.

Zigotul nu dispune de molecule HLA de clasele I și II și nu induce răspuns la aloantigeni cu toate că poate evidenția moleculele HLA-G care inhibă celulele NK materne. Implantarea lui este favorizată de fondul hormonal: estrogeni și gestageni, progesteron, factorul care contribuie la implantare, blastoxenin, pro-

teina fazei precoce a gravidității care asigură toleranța la formarea trofoblastului.

Limfocitele prezente în locul implantării și formării placentei elimină citokine imunomodulatoare (IL-10, TRF- β etc.), iar granulocitele secretă factorul coloniestimulant granulo-macrophagal (GM-CSF).

Concomitent cu alte cauze ale sterilității feminine (aplazia ovarelor, obturarea trompelor uterine etc.), există și cele de genезă imună, care sunt răspândite mai frecvent fără a fi diagnosticate. Cauzele apariției ei sunt imunodeficiențele cu manifestări clinice ale maladiilor inflamatoare infecțioase ale organelor sexuale, anticorpii antispermali, limfocitele imune și anticorpii antiovarari, anti-aloantigenii gametului și fătului, compatibilitatea de grad înalt după sistemul HLA al cuplului.

Antigenii fetalii sunt secretați în procesul de dezvoltare a fătului (AFP, fetoproteina γ universală etc.). AFP apare în serul sangvin la a 4-a săptămână, cu nivel maximal (2-4 g/l) la a 12-a – a 16-a săptămână. La nou-născut, nivelul ei variază (0,002-0,02 g/l) și scade la o lună (0,2 mg/l).

La femeile negravidе, APF în sânge constituie -0,002-0,2 mg/l, la graviditate crește și la a 30-a – a 34-a săptămână atinge 0,2-0,5 mg/l, cu o scădere ulterioară rapidă. Nivelul ei este foarte ridicat în ancefalia fetală și spina bifida congenitală. Este un factor imunosupresiv care inhibă răspunsul imun.

Aloanticorpii antispermali IgG au proprietăți spermaglutinante, spermoblocante și spermotoxice cu activitate antiantigenică la componentele specifice celulare ale spermatozoizilor, la moleculele HLA etc. Ei pot apărea uneori în mucusul vaginului înainte de a fi prezenți în sânge. Aglutinează spermatozoizii cap la cap. Activitate blocantă majoră manifestă sIgA secretate local în mucoasă cu acumularea lor în mucusul colului uterin. Anticorpii antispermali sunt testați în ziua ovulării cu utilizarea testelor Friberg, Izodjima etc.

În testul de microaglutinare Friberg, la o picătură de suspensie de spermatozoizi recoltați (ejaculatul care conține nu mai puțin de 40mil./ml de spermatozoizi se diluează cu soluție fiziologică 1:100) se adaugă 0,1 ml ser sangvin inactivat (56°C timp de 30 min.) al femeilor în diluțiile 1:8–1:128 cu incubația ulterioară la 37°C timp de o oră. Testul este pozitiv la aglutinarea spermatozoizilor coadă la coadă de serul diluat în titrul 1:32 și mai mult. În calitate de control este utilizat serul sangvin al donatorilor.

O reacție analogică se efectuează și cu secretul colului uterin (titru pozitiv 1:16, aglutinare cap la cap), cu plasma seminală (titru 1:64) cu aglutinare coadă la coadă.

În testul de imobilizare a spermatozoizilor, Izodjima ejaculatul (40mil./ml, mobilitate > 70%) este diluat 1:100 cu soluție fiziologică și la 0,1 ml se adaugă volum egal de ser sangvin al femeii inactivat la 56°C timp de 30 min. și se incubează la 37°C timp de 30 min. Ulterior, se adaugă 0,2 ml de complement al co-

bailor diluat 1:10, cu incubajie la 37°C timp de 30 min. În calitate de control se utilizează serul donatorilor și cel imun. Rezultatele sunt apreciate după numărul spermatozoizilor mobili exprimat în procente în coraport cu controlul negativ.

Alergia la spermă se dezvoltă la femei după coitus și este rezultatul reacției la Ag organo-specifici ai lichidului seminal și spermatozoizilor. Dar reacția poate fi și la Ag alogeni, atunci ea este absentă la sperma altui partener. Sunt evidențiați Ac IgE la proteinele lichidului seminal și probe pozitive cutanate. Sensibilizarea crește la inflamația mucoasei uterine. Clinic se constată, de obicei, reacții generale anafilactice (urticarie, edem Quincke, bronhospasm, scăderea tensiunii arteriale etc.). Pentru profilaxia lor sunt utilizate prezervativele, iar pentru inhibiție pot fi utilizate remediile antihistaminice și corticosteroizii.

Atât la bărbați, cât și la femei sunt posibile reacții alergice la alergenii prezervativelor (alergia la latex).

Utilizarea prezervativelor conduce la scăderea nivelului de anticorpi anti-spermali, dar peste un an ei pot dispărea, ceea ce corelează cu apariția gravidității. Dacă titrul anticorpilor scade lent, administrarea corticosteroizilor accelerează dispariția lor.

Reacții autoimune la ovule se dezvoltă la femei în urma imunizării cu antigenii acestora. Mai frecvent sunt depistați Ac la Ag zonei transparente a zigotului care sunt una din cauzele sterilității absolute, iar în titre mici conduc la avort habitual. Cauzele apariției autoanticorpilor sunt alterarea ovarelor de către virioni, bacterii care dispun de Ag heterogeni etc. Pentru depistarea lor se utilizează metoda ELISA. Pentru inhibiția reacțiilor autoimune se utilizează remedii imunosupresive.

Sterilitatea provocată de compatibilitatea Ag sistemului HLA

În condiții de normă, la indivizi se întâlnesc 1-2 Ag HLA de clasa I identici. Posibil, că o importanță mai mare au Ag HLA de clasa II omologi.

În serul sangvin al femeilor cu multiple sarcini sunt prezenți Ac cu specificitate pentru Ag HLA ai soțului ce denotă imunizarea gravidelor cu Ag fetali moșteniți patern. De regulă, acești Ac nu induc alterarea celulelor și țesuturilor fetale, deși pot induce aglutinarea leucocitelor nou-născutului și soțului dependentă de complement. Acest paradox este explicabil prin evidențierea slabă a Ag respectivi pe celulele fetale, mascarea lor de alte molecule, fixarea lor de membranele fetale la un titru mic al complementului etc.

Atât prezența, cât și absența Ac anti-HLA poate fi observată în patologia gravidității.

Gradul înalt de compatibilitate după Ag HLA dintre făt (adică soț) și gravidă conduce la nede dezvoltarea fătului și se observă la formele severe de preeclampsie. Ac anti-HLA în acest caz sunt absenți. Frecvența preeclampsiei (gestozei) este majoră la cuplurile înrudite. Incompatibilitatea moleculelor HLA dintre făt și mamă

este o condiție necesară pentru dezvoltarea normală a fătului. Acești Ac leagă Ag fetal, inhibă răspunsul imun care ar putea provoca alterarea structurilor fetale. Concomitent serul sangvin al gravidelor conține hormoni, Ag fetal care inhibă răspunsul imun al limfocitelor la stimularea antigenică și mitogenică. Concentrația inhibitorilor crește la sfârșitul gravidității, ea este majorată și la gestozele tardive.

Necesitatea incompatibilității după sistemul HLA al fătului (din contul haplotipului patern) și mamei pentru dezvoltarea normală este un fenomen incert, deși se fac încercări de explicare. Se presupune că incompatibilitatea este necesară pentru sinteza Ac IgG cu activitatea blocantă pentru Ag TLX trofoblastolimfocitar heterogen. Deja la etapa fecundării, în pofida efectului imunosupresiv al lichidului seminal, are loc sensibilizarea gravidelor cu Ag HLA a soțului. De aceea efectul blocant al Ac anti-TLX și anti-HLA reprezintă fenomene diferite. Evoluția normală a gravidității este posibilă doar la prezența Ac cu acțiune blocantă și a factorilor materni cu destinație de apărare a fătului în reacțiile imune de regrefare. Creșterea trofoblastului placentar, drept consecință, a fătului este asigurată de citokinele materne (factorul coloniestimulant – CSF), GMF și IL-3. În cazul avortului habitual, organismul matern nu secretă Ac blocanți sau factori și nu apără fătul de reacțiile imune de regrefare. La ele este majorată cantitatea de celule NK (CD56⁺/16⁺NK).

Unii presupun că Ac IgG anti-Ag HLA de origine paternă sunt stimulatori ai proliferării celulelor purtătoare de acești Ag în condițiile insuficienței sau blocadei activității complementului de către proteinele fetale. Este stabilit faptul că aloanticorpii intensifică proliferarea celulară (în absența complementului). Stimularea celulelor fetale preîntâmpină apoptoza lor, care apare la absența Ac. Aceasta-i esența principală a Ac IgG anti-HLA.

Gradul de compatibilitate după sistemul HLA este apreciat prin fenotiparea limfocitelor în testul microlimfocitopenic cu utilizarea panelului de antiseruri anti-Ag HLA de clasa I. Indicele histocompatibilității este exprimat în procente. La un Ag HLA identic, el are valoarea de 25 %, la 2 Ag – 50%, la 3 – 75%. Se iau în considerare și Ag cu reactivitate încrucișată: după locusul HLA-A: A3-A11, A2-A24, A30-A31, A10-A34, A25-A26; după locusul HLA-B: B5-B35, B7-B27-B22, B40-B41, B8-B14, B13-B40, B38-B39, B12-B21.

Ag cu reactivitate încrucișată majoră conduc la majorarea histocompatibilității cu 20%, iar cei cu activitate medie – cu 10%. Ca exemplu de cuplu steril poate servi: fenotipul soției A1, A2, B5, B15, C2, C3, iar al soțului – A1, A3, B15, B35, C2, C4. Indicele histocompatibilității – 70% (A1 și B15 = 50% + 20% din contul Ag B15 și B35 cu activitate încrucișată). În acest caz se recurge la imunizarea soției cu limfocitele soțului sau la transplantului unui lambou cutanat de el. În cazul avortului habitual au fost raportate date despre imunizarea pasivă cu imunoglobuline de la donatori prin inocularea i.v. cu o eficiență de 82-86%.

Imunopatologia gravidității complicate

Cea mai frecventă formă patologică este maladia hemolitică a fătului și nou-născutului, care are la bază conflictul aparent la prezența Ag D eritocitar la făt și absența lui la mamă. În normă, în torrentul sangvin matern nimereste circa 0,1 ml sânge fetal. Ac apar peste 8 săptămâni – 6 luni după pătrunderea eritrocitelor fetale. Pentru răspunsul imun primar sunt necesari 50-70 ml de sânge fetal, pentru cel secundar – 0,1 ml (următoarea graviditate). Izosensibilizarea maternă cu eritrocitele fetale mai frecvent are loc în timpul nașterii, când ele nimeresc în organism în cantități esențiale, și în avort, cezariană, în dezlipirea manuală a placentei. Ac IgG secretați după aceasta în organismul matern la graviditatea ulterioară pot pătrunde prin placenta și induce liza eritrocitelor fetale, alterarea unor organe și avort. Datorită prezenței Ac incompleți pe suprafața eritrocitelor nou-născutului metoda de bază a diagnosticului în această perioadă este proba Coombs indirectă pentru identificarea Ac în serul sangvin matern. Dar trebuie menționat faptul că nu la toate femeile Rhesus-negative cu graviditate Rh-positivă fetală se constată titre majore de Ac anti-D. Aprecierea severității maladii hemolitice este posibilă prin spectrofotometria lichidului amniotic la unda 450 nm care reflectă nivelul bilirubinei: la indicii majori de densitate (mai mult de 0,3 la a 28-a săptămână; 0,2 – la a 30-a săptămână ; 0,1 – la a 36-a săptămână) ea este considerată ca severă. Maladia hemolitică se dezvoltă la gravide de 20-25 de ori mai rar, comparativ cu frecvența gravidității incompatibile după sistemul Rhesus. Chiar la imunizarea bărbaților Rh-negativi cu hematiile Rh-pozitive, anticorpii sunt absenți la cca 50% dintre ei.

Incompatibilitatea feto-maternă după Ag sistemului sangvin ABO într-o anumită măsură preîntâmpină sensibilizarea mamelor Rh-negative, deoarece eritrocitele fetale care pătrund prin placenta sunt eliminate de izoanticorpi.

Pentru profilaxia conflictului Rhesus, se utilizează administrarea imunoglobulinei anti-D pentru inocularea i.v., care este administrată în doză de 1500 un. (300 mg) la a 28-a săptămână de sarcină sau imediat după nașterea nou-născutului Rh-positiv. Administrarea imunoglobulinei anti-D pentru inocularea i.m. se efectuează la a 26-a – a 28-a săptămână (câte 300 mg) de graviditate sau pe parcursul a 72 de ore după naștere ori în cazul gravidității extrauterine. Această doză neutralizează 15 ml de sânge fetal. Imunoglobulina anti-D este preparată din sângele femeilor Rh-negative cu multiple sarcini sau prin imunizarea bărbaților (titru 1:256 – 1:8000).

Uneori, maladia hemolitică apare la întreruperea sarcinii cu făt de grupa sangvină A sau B de mama purtătoare de grupa 0. La acești Ag (A, B) la mamă apar Ac IgG care traversează placenta și apar la făt. Imunoglobulinele IgM naturale nu trec prin placenta. În cazuri rare, maladia hemolitică poate apărea la incompatibilitatea după alți Ag eritocitari.

Imunopatologia avorturilor spontane

Cauzele sarcinilor întrerupte și ale avorturilor sunt diverse: imunogenitatea insuficientă a fătului (compatibilitate majoră cu mama), infecțiile, reacțiile alergice și autoimune, prezența genelor recesive semiletale asociate cu genele HLA, imunitatea protectivă congenitală sau dobândită a mamei.

Răspunsul imun congenital la Ag fetalii poate să se dezvolte pe contul activității sporite a celulelor NK, macrofagelor, celulelor dendritice, limfocitelor B1 și $T\gamma\delta$, care insuficient sunt blocate în procesul de dezvoltare a gravidității. Activitatea celulelor NK este crescută la femeile cu avort spontan.

Imunitatea dobândită maternă la Ag fetalii este realizată de Ac și limfocitele T-killer în absența supresiei lor. La pericolul de avort se depistează Ac anti-Ag fetalii și placentari. Unii dintre ei se leagă de Ag corionului. Riscul de întrerupere a sarcinii la 8-12 săptămâni este însoțit de creșterea nivelului IgA și scăderea IgG.

Citokinele și avortul

Infecția care induce avortul lansează acest proces printr-o cascadă de citokine proinflamatoare eliminate de placentă.

Primul semnal poate fi IL-1 care stimulează producția prostaglandinelor de către amnion și membranele deciduale. Nivelul ei crește în special la nașterile premature. TNF- α acționează sinergic cu IL-1. Nivelul receptorului solubil pentru TNF- α (sTNFR1) scade în procesul de graviditate și crește rapid în avort și în nașterile premature. El se leagă de TNF- α , formând un complex. Nivelul IL-6 în lichidul amniotic crește în inflamațiile acute ale placentei și în nașterile premature. În avort și, la naștere, în lichidul amniotic este majorat nivelul IL-8 care induce chemotactismul leucocitelor.

La sarcina normală, citokinele cu activitate inhibantă supresează acțiunea citokinelor proinflamatoare. Antagonistul receptorului pentru IL-1 (IL-1Ra) se leagă cu IL-1, blochează efectul ei, reduce inducția de sinteză a PGE_2 ce poate preîntâmpina nașterea prematură. Factorul de creștere a trombocitelor (TGF β) stopează activitatea citokinelor proinflamatoare, producția prostaglandinelor de către amnion ca răspuns la acțiunea IL-1 și TNF- α . Nivelul lui este scăzut la femeile cu avort. Maturizarea colului uterin înainte de naștere este dependentă de citokine (IL-1, IL-6), care induc metabolismul glucozaminoglicanilor.

Toxicozele (gestozele) tardive sunt asigurate de mecanisme imune. S-a constatat sensibilizarea leucocitelor gravidelor la Ag fătului și membranele fetale. Concomitent, întreruperea sarcinii poate fi influențată și de un șir de dereglări în

sistemul „mamă-făt”: incompatibilitatea slab manifestă, permeabilitatea sporită a placentei, reacția majoră a mamei la aloantigenii fetalii moșteniți de la tată (în asociație cu reacțiile la spermă) etc.

Aprecierea complexelor imune circulante (CIC) în toxicoza tardivă a demonstrat că ele pot fi apreciate atât în graviditatea normală, cât și în gestoze. Dar în toxicoze, ele erau prezente în cantități mai mari și sistematic, ceea ce poate fi cauza alterării organelor și țesuturilor. În preeclampsie, în ficat, rinichi, vase, piele a fost depistată depunerea CIC, care pot stimula eliminarea citokinelor de către leucocite. După naștere, cantitatea CIC în serul sangvin al parturientei care a suportat toxicoză era mai mare și se depistau un timp mai îndelungat, comparativ cu serul sangvin al parturientelor sănătoase. Acest fapt are importanță prognostică și indică posibilitatea de dezvoltare la femeile care au suportat toxicoza diferitor imunopatologii. S-au depistat Ac și sensibilizarea limfocitelor T la Ag fetalii. La majoritatea gravidelor se constată majorarea nivelului IgA în serul sangvin și scăderea IgG, în special în nefropatiile severe. Posibil, o parte din IgA în formă de complexe imune pot fi depozitate în rinichi, așa cum se observă în nefropatiile IgA autoimune.

Sindromul antifosfolipid

Se caracterizează prin trombozele arterelor și venelor și printr-un șir de complicații ale gravidității: reținerea creșterii, moartea fătului și preeclampsia. Rolul major în patogeniza lor le revine Ac IgG și/sau IgM antifosfolipide (Ac anti-cardiolipin, anticoagulantul lupic). Există și Ac anti-fosfatidilserină, anti-fosfatidilinozitol. Legarea acestor Ac cu endoteliul, cu trombocite induce eliminarea factorului de activare a trombocitelor și tromboză. Anticoagulantul lupic se determină la cca 1% dintre gravide.

Pentru detecția Ac la Ag cardiolipinic se utilizează analiza imunoenzimatică, titrul este mic și ei sunt depistați la 2,2% dintre gravide într-un titru mic. Ac anti-Ag cardiolipin se leagă cu fosfolipidele membranei celulelor endoteliale, scade sinteza prostacilinei și cu trombocitele, conducând la agregarea lor cu eliminarea tromboxanului ce majorează riscul trombozelor.

Avortul în termenele precoce ale gravidității în 10-20% din cazuri este de genă imună. În cazul a două și mai multe avorturi spontane în trimestrul I al gravidității sau în cazul morții fătului în trimestrul II și III este necesar de a exclude sindromul antifosfolipid.

La 15-20% dintre gravidele cu preeclampsie sunt depistați Ac la Ag cardiolipin. La reținerea creșterii fătului, acești Ac sunt identificați în 25% din cazuri.

Graviditatea, imunodeficiențele și infecțiile

Maladiile infecțioase la gravide, aparente pe fundalul imunodeficienței, prezintă pericol pentru făt. LPS bacteriană are o toxicitate înaltă pentru făt, iar citokinele induse de ea lansează avortul. De aceea este important de a aprecia Ac IgM în serul sangvin, sIgA în mucus și depistarea virionilor, bacteriilor, fungilor și Ag lor. Concomitent se testează și autoanticorpii anti-fosfolipide, la cardiolipin și indicii statusului imun.

Infectarea latentă a fătului de la mamă, deseori este cauza morții lui. Prezența IgM, creșterea nivelului IgG și Ac respectivi în lichidul amniotic poate indica despre infectarea fătului. La nou-născuții care au supraviețuit se constată imunodeficiențe secundare. Apariția Ac antivirali, antibacterieni și antifungici se observă la 30-50% dintre femei în perioada după naștere.

În vaginul femeilor sănătoase sunt multe microorganisme, dar prezența lor nu întotdeauna indică o infecție. Mai frecvent se înregistrează *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Bacteroides fragilis* care în cazul imunodeficiențelor mai frecvent provoacă infecții. Mai pot fi întâlniți *Lactobacillus* spp., *Corynebacterium* spp., *Fusobacterium* spp., *Veillonella* spp., *Peptococcus* spp. și *Peptostreptococcus* spp. Mai rar se înregistrează *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp., *Clostridium perfringens*, *Candida* spp., *Escherichia coli*, *Proteus* spp., *Klebsiella* spp., *Gardnerella vaginalis*, *Actinomyces* spp. și *Mobiluncus* spp., care conduc la dezvoltarea maladiei infecțioase. Printre agenții patogeni se înregistrează *Pseudomonas* spp., *Streptococcus pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Ureaplasma urealyticum* și *Haemophilus aphrophilus*.

Infecțiile virale (hepatita A și B, gripa etc.) la gravide evoluează destul de sever. Este crescut riscul de infectare primară a organelor sexuale cu virusul herpetic, citomegalovirus și virusul Epstein-Barr.

La gravide este constatat riscul majorat de infectare cu salmonelle, gonococcus, *Listeria monocytogenes* și *Streptococcus pneumoniae*. Amibiaza, lamblioza și toxoplasma la gravide au o evoluție severă.

Cauza apariției proceselor inflamatoare ale mucoaselor organelor sexuale este deficitul local sau, mai rar, cel total ce conduce la colonizarea microflorei convențional patogene și, în consecință, la maladia imunodeficitară variabilă. Deficitele imune au caracter și geneză diversă: dereglarea regenerării epitelului pe fundalul proceselor dishormonale, avitaminozei, stresului, avorturilor etc. ce conduce la scăderea cantitativă a defensinelor epiteliale, componentului secretor al IgA, la inhibiția fagocitozei, activității chemotactice a leucocitelor, la dezechilibrul citokinilor etc.

Predomină formele acute, subacute și cronice ale vaginitelor, cervicitelor, parametritelor, pelveoperitonitelor, piosalpingitelor induse de stafilococi sau agenții anaerobi rezistenți la antibioterapie. Infecțiile virale (herpesul genital, citomegalovirusul, virusul Epstein-Barr, gripa etc.) prin alterarea epiteliului servesc ca bază de dezvoltare a deficienței fagocitare, lizozomale, sIgA cu asocierea infecțiilor bacteriene (stafilococ, E. coli etc.). Crește nivelul IgG, apare IgM, de regulă, absentă în mucusul cervical. Dar aceste imunoglobuline ușor sunt scindate de proteazele leucocitare și bacteriene și nu asigură imunitatea. IgA secretorie denotă indici minori. De aceea infecțiile purulente asociate cu flora bacteriană și fungică convențional patogenă, de regulă, se dezvoltă pe fundalul deficitului factorilor locali ai imunității. Are loc creșterea frecvenței de înregistrare a maladiilor infecțioase recidivante a mucoasei vaginului și segmentelor superioare ale organelor genitale induse de bacteriile convențional patogene și fungi. Se constată persistența diferitor virusuri, dar predomină vaginoza bacteriană, chlamidioza urogenitală și intrauterină, micoplasmoza și candidoza. Apariția acestor infecții este dependentă de dereglările statusului imun local și sistemic, microbiocenozei mucoaselor. La gravide, aceste procese se acutizează. În urma alterărilor virale ale celulelor, apar sau crește nivelul autoanticorpilor la Ag ovarelor, trompelor uterine care sunt factori suplimentari de cronicizare a procesului. Nivelul citokinelor inflamatoare (IL-1 β , TNF- α) în sânge și mucus are importanță prognostică.

Diagnosticul patologiei este bazat pe prezența Ac, analiza componenței microflorei, aprecierea statusului imun, inclusiv factorii imunității locale.

Terapia infecțiilor este adresată remediilor antibacterine, antivirale (cu referire la sensibilitatea la agentul patogen), imunomodulatoare (neovir, licopid, mielopide, polioxidoniu etc.).

Capitolul 15. MALADII AUTOIMUNE (IMUNOPATOGENEZA, DIAGNOSTICUL ȘI PRINCIPIILE DE IMUNOTERAPIE)

Caracteristica generală a maladiilor autoimune

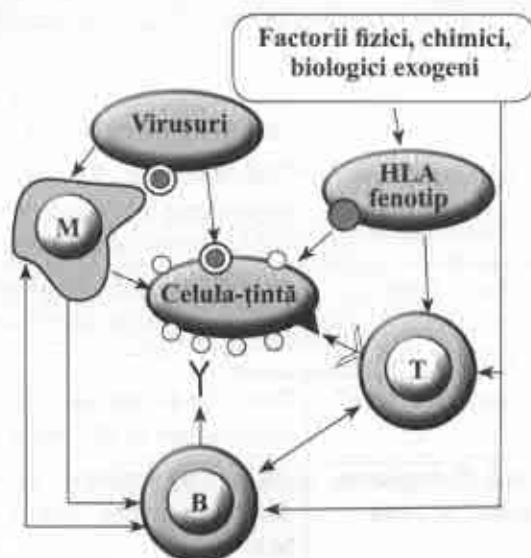
Distincția dintre propriu și non-propriu fundamentează întregul eșafodaj de apărare imună, în sensul că efectoarele sistemului imun (SI) reacționează discriminativ numai față de componentele străine și le acceptă pe cele proprii. Această acceptare ar fi expresia unei inactivări totale a clonei de limfocite („toleranța centrală”) sau doar a inhibării funcționale a ei („toleranță specifică”). Abilitatea de a reacționa față de structurile străine este strâns legată cu cea de recunoaștere și de acceptare a celor proprii. Dintre populațiile celulare ale SI, rolul major revine LT care recunosc peptidele antigenice în asociere cu moleculele HLA. Ag HLA de clasa I de pe suprafața tuturor celulelor nucleate prezintă epitopii antigenilor fragmentați *endogeni* LT citotoxici, pe când cei de clasa II de pe suprafața APC prezintă epitopii Ag *exogeni* procesați LT-helper. Limfocitele T în normă reacționează la peptidele străine asociate cu HLA propriu și sunt areactogene la peptidele proprii asociate cu HLA propriu cu blocarea funcțională a SI (toleranță, anergie). Toleranța imună conduce la deleția sau inactivarea LT și LB autoreactive (toleranța centrală, anergia clonală, activarea mecanismelor supresoare). În unele cazuri, „condiția de normă” se modifică, fapt care facilitează dezvoltarea de reacții imune specifice față de unii epitopi proprii. În urma acestui fapt sunt generate procese de autoagresiune sau de autoimunitate, care „țintesc” Ag celulari, tisulari, ai organelor proprii. Este necesar de a menționa faptul că nu întotdeauna o reacție de autoagresiune trebuie să fie urmată de apariția unei maladii. Este cazul eliminării autoantigenilor eliberați la distrugerea celulară sau tisulară, contribuind astfel la reglarea reacțiilor imune (anticorpii anti-idiotip, unele subpopulații de limfocite T etc.). Autoimunitatea patogenă este responsabilă de provocarea unor boli, uneori foarte grave, rezultate ca urmare a unor agresiuni autoreactive cu sinteza de autoanticorpi și/sau celule citotoxice.

Factorii predispozanți și determinanți ai maladiilor autoimune. Cauzele și mecanismele de dezvoltare a maladiilor autoimune (MA) sunt diverse. După geneza lor, se disting MA primare, determinate genetic, și secundare, aparente în urma inducției de virioni, acțiunii medicamentelor și altor factori.

Pentru apariția maladiilor autoimune sunt necesare un șir de condiții (fig.15.1):

- predispoziția ereditară asociată cu genele sistemului HLA și fenotipul respectiv, realizată prin interacțiunea celulelor SI (receptori și citokine), celulelor-țintă și agenților cu tropism la ele (virusuri, bacterii etc.);
- prezența factorilor nocivi fizici, chimici și biologici care stimulează autoimunitatea;
- acțiunea agenților cu tropism la celulele-țintă (de ex., virionii cu epitopi comuni cu moleculele autologe organo-specifice – hormonii, enzimele, citokinele etc.);

- prezența lanțurilor variabile afine (și centrelor active) ale receptorilor pe limfocitele T și B (genetic determinate) la moleculele organo-specifice care asigură capacitatea potențială a limfocitelor de a forma clone celulare autoreactive.



Notă: M – macrofag; B – limfocitul B; T – limfocitul T; γ – anticorpi; ∇ – receptor; ○▲ – molecule organo-specifice – autoantigeni pentru LT și LB; ⊙ – mimicria antigenică a virionilor și celulelor-țintă; ● – antigenii HLA.

Figura 15.1. Condițiile de dezvoltare și factori participanți în procesul autoimun

Combinarea acestor condiții asigură dezvoltarea maladiilor autoimune. Determinismul genetic al MA este elucidat în multiple experimente pe unele linii de animale și păsări și în observările clinice. MA umane sunt asociate cu anumite haplotipuri de HLA, în special cu moleculele HLA de clasă II și deseori au caracter familial. Maladia Hashimoto, Graves-Basedow, mixedemul primar sunt asociate cu alelele HLA-DR3 (riscul relativ 3,2; 3,7; 5,7 respectiv). Diabetul insulino-dependent este asociat cu HLA-DR3, DR4, DQ8, DQ2 (riscul 20), sindromul Goodpasture – cu DR2 (15,9), sindromul Reiter cu HLA-B27 (37,0), LES cu HLA-DR3 (15), psoriazisul vulgar cu HLA-DR4 (14) etc. În artritele reactive, în special în spondiloartrita anchilozantă frecvent se înregistrează HLA-B27 (risc 87,4%). MA frecvent survin la persoanele vârstnice datorită reglării imune mai puțin riguroasă cu înaintarea vârstei, dar colagenozele pot să apară și la persoanele tinere. Femeile prezintă un risc crescut comparativ cu bărbații (coraportul F/B în LES este de 10 : 1, în boala Basedow – de 7 : 1). Spondilita anchilozantă, însă, apare mai des la bărbați.

La descrierea mecanismelor de dezvoltare a MA sunt elucidate mai multe cauze și mecanisme (tab. 15.1).

Cauzele principale și mecanismele de dezvoltare a maladiilor autoimune

Cauza și mecanisme	Dovezile principale și exemple de maladii
Modificarea antigenilor proprii	Apariția MA oculare, endocrine etc. în urma acțiunilor fizice, chimice, biologice care au modificat autoantigenii
Dereglarea barierelor fiziologice ale antigenilor sechestrați	Capacitatea Ag „fiziologic izolați” la pătrunderea în sânge de a induce dezvoltarea MA (a organelor endocrine, ochiului etc.)
Mimicria antigenică a microbilor, virionilor, alergenilor neinfecțioși care reacționează încrucișat cu Ag autologi	Prezența epitopilor comuni la microorganisme, alergeni și Ag tisulari
Clonele celulelor limfoide „interzise”	Dovezile de activare a clonelor limfocitare autoreactive în diferite MA
Pierderea autotoleranței. Dereglarea recunoașterii „propriului” și „non-propriului”	Datele experimentale și observările clinice asupra „pierderii” autotoleranței în diverse MA
- inducția expresiei Ag HLA de clasa II pe celulele care nu dispuneau de ei	- evidența expresiei Ag HLA pe celulele epiteliale etc.
- minorizarea funcției supresive a răspunsului imun (T-supresoarele, moleculele CTLA-4, citokinele)	- testarea defectelor cantitative și funcționale ale T-supresoarelor
- activarea policlonală a limfocitelor B	- prezența autoanticorpilor de diversă specificitate
- dereglarea rețelei imunologice idiotip-anti-idiotip	- evidențierea și rolul anticorpilor anti-idiotip
- inducția de către virusuri și alți agenți ai mutației activității autogenilor-oncogeni cu funcția de reglare a producerii de citokine și receptori pentru ele	- modificarea producției de citokine și a receptorilor lor
- scăderea apoptozei T-helperilor, care activează limfocitele B și manifestă activitate citotoxică	- diminuarea producției proteinei Fas ca rezultat al mutației genei; scăderea sensibilității la apoptoză datorată activării
Intensificarea apoptozei celulelor-țintă ale organelor și țesuturilor	Apoptoza celulelor indusă de limfocitele T-antigen-specifice
Inducția sintezei autoanticorpilor cu activitate enzimatică antireceptorii celulelor-țintă și structurilor lor	Testarea autoanticorpilor cu activitate enzimatică în MA

Infecțiile cu unii agenți patogeni, Ag cărora "mimează" Ag proprii (virusul Epstein-Barr, Mycoplasma spp., streptococii, Klebsiella spp., Borrelia burgdorferi) pot genera reacții încrucișate cu ruperea toleranței și apariția MA. Mimicria antigenică dintre Ag agenților infecțioși și autostructurile organismului rezultă cu dezvoltarea reacțiilor imune la Ag heterogeni (tab. 15.2).

Tabelul 15.2

Rolul posibil al mimicrii antigenice în apariția anticorpilor și limfocitelor T cu activitate încrucișată

Antigenul imunizator	Antigenii heterogeni ai organismului cu reactivitate încrucișată cu anticorpilor și limfocitele T	Maladiile autoimune induse
Ag xenogeni organo-specifci: -hormonii (tiroglobulina, insulina, hipofizari etc.)	Hormonii autologi respectivi	MA ale glandelor endocrine etc.
-alte molecule organo-specifice (creierului etc.)	Moleculele autologe respective	MA ale organului respectiv (scleroza multiplă, miastenia gravis)
Proteinele E.coli 014 și 086	Antigenii mucoasei intestinelui gros	Colite
Streptococul hemolitic de tip 12	Antigenii glomerulelor renale	Nefrite
Proteina M streptococică	Subsarcolema mușchilor cardiaci	Reumocardita
ADN virionilor, ADN bacteriilor	ADN uman	LES și alte MA
Determinantele virionilor și bacteriilor care au structuri comune cu Ac idiotipici și receptorii limfocitelor	Ac idiotip și receptorii limfocitelor	Hipertiroza
Nucleoproteina (EBNA-1) virionului Epstein-Barr	Proteinele umane	AR, LES și alte MA
Y. enterocolitică, proteina etc.	Receptorii hormonului tiro-trop	Neuropatii
Trypanosoma cruzi	Ag miocardului și neuronilor	Diverse MA
Sm 1 al drojdiilor	Nucleoproteidele nucleare mici	Diverse MA
Proteinele 60X și 70X ale șocului termic	Proteinele hsp 60X și 70X ale șocului termic	Diverse MA

Micoplasma	Receptorii oligozaharizi ai celulelor pentru micoplasmă	Aglutininele <i>a frigore</i> (anemii etc.)
Proteina HEP-175 a virusului Herpes simplex tip I	Peptida citocromului P450x2D6 (CYP2D6) al hepatocitelor	Hepatita cronică autoimună
Ag capsidei virionului Epstein-Barr	Transaminaza oligodendrocitelor creierului	Scleroza multiplă ?
Determinantele LPS a Neisseriilor	Glicosfingolipide	Diverse MA
Peptidele E.coli și Rickettsia prowazekii	Subunitatea E2 a complexului piruvatdehidrogenazei mitocondriilor hepatocitelor	Ciroza biliară primară

Acumularea clonelor limfocitare T și B autoreactive de specificitate înaltă la stimularea (virus + autoantigeni) unor celule autospecifice persistente stă la baza dezvoltării reacției autoimune. Astfel de limfocite T, purtătoare de receptori cu specificitate minoră, există în condiție de normă. Dar, dacă acestea pătrund și contactează cu celulele, de ex. ale organelor endocrine, ele suportă apoptoză (moarte programată celulară). Celulele organelor „sechestrare” (epiteliul glandelor) poartă pe suprafața lor LCD95 (ligand pentru receptorul Fas CD95), care la interacțiunea cu receptorul CD95 al limfocitelor T induce apoptoza lor. Dacă celulele organelor endocrine din careva cauze (posibil, în urma modulației imune virale) pierd LCD95 (fapt observat în tiroidita Hashimoto), atunci ele pot fi distruse de limfocitele T autoreactive. La stimularea suplimentară a limfocitelor T de către Ag virali, bacterieni sau substanțele chimice, remediile medicamentoase, ele proliferază și pot influența apoptoza celulelor epiteliale. De aceea, mimicria antigenică a autoantigenului și antigenului stimulator, pe de o parte, și rezistența la apoptoză a limfocitelor T la stimularea suplimentară sau majorarea sensibilității la apoptoză a celulelor-țintă, pe de altă parte, sunt condițiile sumare de distrucție a lor.

O altă cauză (sau consecință) a MA poate fi *modificarea coraportului Th1 și Th2*. Funcția uneia dintre aceste subpopulații concurente poate fi inhibată din contul apoptozei sau, dimpotrivă, să fie activată în urma acțiunii antigenice externe (inclusiv virusuri). Activarea Th1 conduce la apariția IFN- γ cu intensificarea funcției celulelor NK, macrofagelor și expresia Ag HLA-DR, de exemplu pe celulele glandelor (celulele β ale pancreasului, tirocite etc.), care devin antigenprezentatoare, ce și stimulează răspunsul la autoantigeni. Pe de altă parte, aceleași limfocite Th1 elimină factorul de creștere transformant β cu inhibiția inflamației autoimune. Inducția expresiei Ag HLA pe celulele-țintă în MA este rezultatul influenței citokinelor, IFN- γ etc., eliberate de celulele SI și de aceea, mai posibil, are caracter secundar.

Toleranța în condiție de normă uneori este menținută de doza minimă a Ag potențial după cum se observă în cazul tiroglobulinei glandei tiroide. Această toleranță de „zonă joasă” este asigurată de un complex de mecanisme supresoare, inclusiv de prezența anticorpilor anti-idiotip și anti-receptori direcționați către unele celule potențial autoreactive T și B. Toleranța este, de asemenea, determinată de corelațiile concurente ale Th1 și Th2, citokinelor și receptorilor liganzi la interacțiunea diferitor populații celulare ale SI.

Reacțiile autoimune frecvent apar pe fundalul deficitelor imune evidente sau latente. Agenții infecțioși (virusurile, bacteriile) pot induce apoptoza unei subpopulații limfocitare Th1 sau Th2 și, ca rezultat subpopulația intactă obține prioritate și este hiperstimulată policlonal de Ag cu realizarea predominantă a reacțiilor umorale (Th2) sau celulare (Th1), și, în consecință, de inflamația cu mobilizarea altor leucocite. Limfocitele T care infiltrază membrana sinovială în artrita reumatoidă sunt rezistente la apoptoză, posibil în urma stimulării cu Ag modificați de virioni. A fost descris defectul în gena receptorului Fas ce conduce la sindromul limfoproliferativ cu reacții autoimune.

Răspunsul antigen-specific în MA poate să se extindă la diferiți epitopi ai unei proteine sau la determinantele antigenice ale proteinelor înrudite ori la epitopii aprotici – glicolipide, glicopolizaharide. Macrofagele în stadiile precoce ale răspunsului imun la stimularea antigenică secretă IL-1 și TNF- α care induc inflamația. Activitatea lor crește intensiv la etapa ulterioară a răspunsului imun când limfocitele T elimină citokine de activare a macrofagelor, iar ultimele produc diferite molecule efectoare (oxid nitric, peroxid de hidrogen, oxigen singlet, ioni de clor etc.) care alterează membrana celulară.

În etapele primare de dezvoltare a MA, o importanță majoră are caracterul modificat al „homing-ului” limfocitelor T: pierderea unora și obținerea altor molecule de adeziune (infecțiile induse de virusuri), apariția receptorilor la chemokinele celulelor-țintă, de ex., la membrana sinovială în MA ale articulațiilor. Migrația și adeziunea la elementele ei creează un infiltrat în care sunt activate leucocitele și se acumulează clona celulară T specifică la elementele sinoviale.

Alergenii neinfecțioși exogeni pot induce autoalergia. A fost depistată structura comună a alergenilor exogeni și a automoleculilor. Alergenul recombinant – profilina mesteacănului, prezent în multe fructe și legume, are fragmente omoloage cu proteina profilina care este componenta citoscheletului celulei umane și frânează polimerizarea actinei. Superoxid dismutaza magneziului – enzimă-alergen, prezentă în *Aspergillus fumigatus*, reacționează încrucișat cu Ac și celulele T specifice fermentului respectiv uman. Calmodulina (proteina care leagă calciul) plantelor este omoloagă structurilor proteice identice umane. Tropomiozinele acarinelor (*D. farinae* etc.), diferitor insecte sunt alergeni comuni puternici și structural ase-

mănătoare proteinelor respective umane. Astfel, alergenii exogeni neinfecțioși, ca și cei infecțioși pot induce reacții alergice încrucișate la moleculele omoloage umane, adică procesul autoimun.

Alterarea organelor și țesuturilor poate apărea în urma reacțiilor la alergenii exogeni neinfecțioși (medicamente, substanțele chimice, suplimentele alimentare etc.) și la alergenii infecțioși, care la legarea de suprafața celulei pot induce procesul imun cu liza celulelor-țintă sau apoptoza lor. Remediile medicamentoase, substanțele chimice și alte haptene, care se leagă cu proteinele umane, modifică structura acestora și, astfel, pot induce la prima etapă reacții alergice anti-haptene, iar ulterior dezvoltarea MA la determinantele neoantigenice combinate „propriu-non-propriu”.

În afară de apariția neoantigenilor, datorată combinării epitopilor autologi cu moleculele străine și inducția de secreție a anticorpilor, substanțele exogene pot reacționa direct cu leucocitele și alte celule ale organismului prin intermediul Ac fixați în prealabil la receptorii Fc al acestor celule, prin intermediul moleculelor de adeziune și al receptorilor identici lectinelor. Acest proces la etapa primară nu este autoimun, dar deseori este indus ca rezultat al apoptozei celulare. De fapt, acest proces disimunoregulator se dezvoltă în organismul cu predispoziție ereditară genetică la interacțiunea moleculelor receptorilor cu substanțele exogene care nu au mecanism autoalergic, dar se dezvoltă ca rezultat al stimulării patologice a celulelor SI, endoteliului, epiteliului de diverse substanțe care s-au legat de receptorii lor. Astfel de stimulare finisează cu activarea celulelor SI și cu apariția inflamației.

Posibil, există și alte tipuri de interacțiune a virionilor cu genomul celulelor SI, când provirionii sau unele gene ale lor induc activarea nespecifică a limfocitelor T și B și/sau macrofagelor cu realizarea proceselor autoimune. Această activare conduce la inflamație în țesutul sau organul unde este realizată. Țesuturile sunt alterate, apar Ac și limfocite T cu specificitate pentru țesuturile sau organele respective, procesul se intensifică și are deja caracter organo-specific. De ex., în artrita reumatoidă provirusul activează celulele asemănătoare fibroblaștilor sau macrofagelor în țesutul sinovial, având, drept consecință, apariția crescândă a Ac – factorul reumatoid IgM anti-IgG și sinovita. În LES are loc activarea fagocitelor, celulelor citotoxice cu distrucția celulară, imunizarea cu nucleoproteide și apariția anticorpilor anti-ADN. În maladia Graves sunt activate identice clonele celulare anti-tiroglobulina, anti-peroxidaza tiroidiană și receptorii TSH. În acest proces, activarea celulară nespecifică primară de către genomul provirusului cu secreția de citokine și inducerea inflamației, alterării celulare sau tisulare ar avea o importanță mai mare. Apariția ulterioară a anticorpilor este consecința „imunizării” cu autoantigenii aparenti.

Astfel, virusurile, bacteriile (toxinele lor), substanțele chimice nocive și alți agenți pot induce MA pe diferite căi:

- prin alterarea celulară și pătrunderea Ag „sechestrați” în limfă și în sânge cu inducția stimulării directe a reacțiilor autoimune;
- prin activarea limfocitelor T și B, receptorii cărora reacționează încrucișat cu celulele țesuturilor și organelor purtătoare de epitopi comuni cu agenții infecțioși (mimicria antigenică);
- toxinele bacteriene acționând ca superantigeni induc activarea policlonală a limfocitelor, adică prin legarea cu lanțul V β al receptorilor celulari T și activarea până la 30% de limfocite T, care elimină citokine inflamatoare;
- prin activarea limfocitelor T și B de către Ag infecțioși cu secreția de Ac de diversă specificitate și spectru major de citokine care induc inflamația și/sau conduc la imunomodularea persistentă (IFN- γ indus de virusuri conduce la apariția pe celulele β ale pancreasului a Ag HLA de clasa II);
- inducția mutațiilor și/sau activarea genelor pentru citokine, participante în inflamație și alterarea celulară;
- inducția modificărilor homing-ului limfocitelor T datorată supresiei sau stimulării moleculelor de adeziune și receptorilor chemokinici;
- inducția sau inhibiția apoptozei anumitor subpopulații celulare ale SI și/sau celulelor-țintă;
- dereglarea rețelei reglatoare „idiotip-antiidiotip”;
- stimularea secreției de Ac cu activitate fermentativă (abzime) de către limfocitele B și alterarea ulterioară a membranei celulare.

Multe dintre mecanismele elucidate pot fi realizate prin inducția apoptozei celulelor parenchimotoase ale organelor ce conduce la pătrunderea Ag organo-specifici în limfă și sânge. Necroza lor mai frecvent apare ca rezultat al hipoxiei diverse, care rezultă cu inflamație autoimună în țesutul alterat.

Ipotezele genezei MA au un șir de dovezi în favoarea uneia sau alteia, dar dereglările răspunsului imun, insuficiența celulelor supresoare sau activitatea majorată a efectorilor, dezechilibrul dintre diferite verigi ale reactivității imune indică despre posibilitatea polivalentă de realizare a MA cu predominarea unui anumit factor. Indiscutabil este faptul prezenței fondului genetic favorabil – predispoziția ereditară, care fenotipic este realizată la nivelul celulelor imunoreglatoare (reducerea funcției supresoare, majorarea celei efectorie) sau la nivelul factorilor care reglează reactivitatea imună. În patogeneza MA sunt distincte dereglări ale sistemului limfoid, macrofagal, granulocitar, ale complementului.

Așadar, cauzele MA sunt variate și polifactoriale, una și aceeași patologie poate fi rezultatul dereglărilor în diferite verigi ale reactivității imune.

Reacția autoimună poate avea caracter anti-Ag localizați într-un organ sau diseminați în diferite organe. În conformitate cu răspândirea procesului autoimun se disting MA organo-specifice, sistemice și intermediare. Anemia pernicioasă, tiroidita Hashimoto, maladia Addison sunt exemple ale MA organo-specifice. La cele sistemice se referă colagenozele cu localizarea procesului în țesutul conjunctiv al diferitor organe. Maladii autoimune cu caracter intermediar sunt miastenia gravis (alterarea mușchilor – caracter sistemic și secreția autoanticorpilor anti-receptorii acetilcolinici – particularitate organo-specifică), sindromul Goodpasture (autoanticorpi anti-membrană bazală a epitelului – caracter sistemic și procesul patologic în plămâni sau rinichi – particularitate organo-specifică).

Diagnosticul MA este bazat pe manifestările clinice și rezultatele de laborator. Pentru MA sunt caracteristice următoarele particularități imunologice:

- anticorpii serului sangvin și ai fluidelor obținute de la suprafața celulelor țesutului alterat sunt capabili în prezența C de distrucție a celulelor-țintă sau de inducție a eliberării substanțelor biologice active și enzimelor din leucocite în prezența Ag țesutului respectiv;
- depistarea limfocitelor sensibilizate la Ag tisulari în focarul procesului autoimun, capacitatea acestor limfocite de a elimina mediatori, de a prolifera la acțiunea Ag respectivi și de a manifesta activitate citotoxică asupra celulelor-țintă *in vitro*;
- prezența în serul sangvin sau în focarul autoimun a complexelor imune, corelarea concentrației lor cu dinamica tabloului clinic;
- circulația în sânge a Ag țesuturilor alterate, prezența lor în complexe imune;
- manifestările imunomorfologice ale reacțiilor de hipersensibilitate de tip imediat și întârziat în organele alterate (infiltrația mononucleară, complexe imune, Ac, limfocite sensibilizate, monocite etc.);
- prezența mediatorilor liberi ai hipersensibilității de tip imediat și întârziat în sânge sau în focarele alterate, apariția lor în sânge la administrarea intracutană a Ag respectiv;
- efectul clinic pozitiv la tratamentul cu remedii imunomodulatoare și imunosupresoare;
- posibilitatea de inducere a procesului analog la animale prin utilizarea anticorpilor sau limfocitelor T imune;
- apariția maladiilor autoimune analoage la animale în urma mutațiilor genelor celulelor imunocompetente.

Nu toate criteriile se evidențiază cu precizie în MA. Unul dintre criteriile caracteristice MA se consideră prezența în sânge a Ac anti-autoantigenii respectivi. Dar numai în unele maladii (anemia hemolitică autoimună, leucopenia etc.) rolul lor patogenetic este confirmat în mare măsură. Analizând componența, tipul, MM și clasa Ac depistați în MA, este necesar de a constata faptul heterogenității lor

după toți indicii: practic se apreciază Ac de diversă specificitate, diferite clase, subclase de imunoglobuline (tab. 15.3).

În MA au fost testați Ac care reacționau cu Ag diferiți: unii aveau caracter organo- și tisular-specific unui sau altui organ (de ex., cu Ag celulelor glandei tiroide în tiroidita autoimună), iar alții erau direcționați la Ag celulelor și structurilor prezente în diferite organe (de ex., Ac anti-Ag țesutului conjunctiv în unele colagenoze). Altă grupă de Ac au activitate antieritrocitară, antileucocitară, antitrombocitară și însoțesc MA sangvine, dar uneori pot fi înregistrați și în colagenoze (LES etc.). Specificitatea Ac este foarte diversă: anti-Ag membranei celulare, nucleului, citoplasmei și diferitor organoide (microzomi, mitocondrii etc.).

Autoanticorpii *anti-Ag de suprafață a celulelor* pot induce efecte citotoxice în prezența complementului sau leucocitelor (citotoxicitate anticorp-dependentă), stimula eliminarea mediatorilor, enzimelor, imunoglobulinelor etc. și proliferarea celulară. Ac care interacționează cu organoidele celulei, posibil, pot inhiba sau stimula funcția lor.

Tabelul 15.3

Tipuri de autoanticorpi și importanța lor diagnostică în diferite maladii autoimune

Anticorpii anti-autoantigeni	Maladii	Metode de testare a anticorpilor
I. Membranei celulare:		
eritrocitare	Anemiile hemolitice	Proba Coombs, aglutinarea la 4°C, testele hemolitice
leucocitare	Leuco- și neutropeniile, vasculitele sistemice, infecțiile, granulomatoza Wegener	Leucoaglutinarea, imunofluorescența, testul microcitotoxic
limfocitare și supresoarelor T	Limfocitopeniile T și B	Testul microlimfocitotoxic, inhibiția celulelor formatoare de rozete cu eritrocitele de oaie (E-CFR) imunofluorescența, inhibiția reacției limfocitare mixte
trombocitare	Trombocitopeniile	Reacțiile de aglutinare, liză a trombocitelor, reacția de fixare a complementului (RFC), ELISA
mușchilor netezi	Ciroza biliară primitivă, sclerodermia, hepatita cronică autoimună	Imunofluorescența
epiteliului glandelor	Sindromul Sjögren	Imunofluorescența

2. Receptorilor celulari și Ag de diferențiere (Ac antireceptori):

tirotropinici	Tirotoxicoza	Blocada legării hormonului tirotrop marcat
insulinici	Diabetul zaharat insulino-dependent	Blocada (50%) legării insulinei marcate
adrenergici β_2	Astmul bronșic (autoimun)	Blocada legării agoniștilor β_2 marcați
dofaminici	Maladia Parkinson	Blocada legării liganzilor marcați
receptorilor acetilcolinici, pentru factorul intern	Miastenia gravis, anemia	Blocada legării liganzilor marcați
androgeni	Lupusul eritematos sistemic (LES)	Blocada legării liganzilor marcați
lipoproteinei de densitate joasă (CP ₁)	Hiperlipoproteinemia, LES	Blocada legării liganzilor marcați
receptorilor Fc γ	LES etc.	Blocada receptorilor Fc a neutrofilelor și limfocitelor
receptorilor Fc ϵ de tipul I	Urticaria idiopatică	Legarea cu receptorii Fc ϵ a bazofilelor
receptorilor ACTH ai celulelor cortexului suprarenalelor	Maladia Addison	Legarea cu receptorii ACTH
antigenul membranar hepatic	Hepatita cronică autoimună	ELISA, reacția de hemaglutinare pasivă, precipitare etc.

3. Citoplasmatici:

ARN ribozomal	LES și alte maladii autoimune	Imunofluorescența, reacția de precipitare etc.
mitochondriali	Ciroza biliară primitivă	Imunofluorescența, RFC cu omogenatul ficatului și rinichilor șobolanilor, precipitarea
microsomali	LES și alte MA, sindromul Sjögren	Imunofluorescența, RFC, precipitarea, reacția pasivă de hemaglutinare etc.
centromeri	Sclerodermia sistemică	Imunofluorescența, RFC, precipitarea, reacția de hemaglutinare pasivă etc.
citoscheletului	Hepatita cronică autoimună, LES	Imunofluorescența, RFC, precipitarea, reacția de hemaglutinare pasivă etc.

4. Nucleici:

nucleoproteidei	LES, artrita reumatoidă etc.	Imunofluorescența (omogenă, în formă de pete, periferică); prezența celulelor LE, reacția de hemaglutinare pasivă, latex-aglutinarea, RFC, metodele radioimune, imunoenzimatice, imuno blot etc.
ADN nativ	LES	Aceleași și tehnica Farra
ADN denaturat, histonelor	LES și alte MA, hepatita cronică autoimună, lupusul medicamentos, sclerodermia	Aceleași metode
antigenului Sm	LES	Aceleași metode
RNP: Ro/SS-A, La/SS-B	LES și alte MA	Aceleași metode
Po/La	LES, sindromul Sjögren	Aceleași metode

5. Ag stromali și extracelulari ai membranelor bazale:

membranelor bazale ale pulmonilor și glomerulelor renale	Sindromul Goodpasture, pemfigus, pemfigoidul bulos	Imunofluorescența directă și indirectă (țesutul mamiferelor, mucoasa esofagului etc.), detecția componentelor C1, C3 și C4 a complementului
epiteliului pielii	Pemfigus, dermatita herpetiformă	Aceleași metode
la structurile intercelulare (caderinele epitelului pielii)	Pemfigus	Aceleași metode
fibrelor	Enteropatia glutenică, dermatita herpetiformă Dühring	Imunofluorescența
colagenului de tip II	Artrita reumatoidă, policondrita recidivantă	Imunofluorescența după eliminarea proteinglicanului din cartilaj, RHA1
proteoglicanilor	Policondrita	Aceleași metode
proteinei principale a mielei	Scleroza multiplă etc.	ELISA, RFC, RHA1 etc.
gangliozidelor	Polineuropatii	Aceleași metode

6. Imunoglobulinele și fragmentele lor:		
fragmentul Fc al Ig (FR)	Artrita reumatoidă, sindromul Sjögren și alte MA	Testele de aglutinare, ELISA, imunofluorescența, metode radioimune etc.
fragmentul Fab ₂	MA	Aceleași teste
IgG denaturată	Artrita reumatoidă și alte MA	Aceleași metode
7. Alți antigeni solubili (proteine, enzime, mediatori, hormoni):		
proteinele șocului termic hsp 65, 60X	Ateroscleroza, diabetul zaharat	Teste imunoenzimatică, radioimune
tiroglobulina	Tiroidita Hashimoto, mixedemul primar, tirotxicoza, sindromul Sjögren	Reacția de precipitare, hemaglutinarea indirectă, imunofluorescența, ELISA, metode radioimune
mieloperoxidaza	Neutropenii	Aceleași metode
tirozinfosfataza	Diabetul zaharat	ELISA
hormonii glandei tiroide, T3, T4	Tirotxicoza	ELISA, RIA etc.
miozina, actina	Polimiozita, hepatita cronică autoimună	Aceleași metode
fosfolipide	LES și alte MA	Aceleași metode
protromina	LES și alte MA	Aceleași metode
tromboplastina	LES și alte MA	Aceleași metode
heparina	Hiperlipidemia	ELISA etc.
transferina	Hipersideroza	ELISA etc.
gastrina	Aciditatea scăzută	ELISA etc.
factorul intrinsec	Anemia pernicioasă (Addison-Biermer)	ELISA, RIF
8. Antigenii interspeciilor:		
cardiolipin	LES și alte MA	ELISA, RMP etc.

Cele care sunt direcționate contra anumitor proteine, acizilor nucleici, glico- și lipoproteidelor, enzimelor influențează participarea lor în metabolismul substanțelor și, posibil, îndeplinesc rolul de catalizatori, intensificând (stimulând) sau blocând (inhibând) procesul metabolic. Autoanticorpii pot acționa lent ca abzyme cu alterarea diferitor structuri.

Autoanticorpul *anti-receptorii* celulelor care leagă hormonii și alte molecule biologice active - regulatoare sunt importanți în patogeneza MA, pot esențial intensifica sau inhiba funcția anumitor celule, influențând producția factorilor respectivi. În așa mod reacționează anticorpii tirostimulanți.

Cauza imunopatologiei pot fi *autoanticorpii cu specificitate față de diferite componente biologice active*: mediatori, enzime, vitamine, hormoni, citokine. Legând substanța respectivă, ei inhibă activitatea lor fiziologică. Anticorpii anti-enzime blochează sau catalizează activitatea enzimelor. Pe de altă parte, Ac pot avea proprietăți enzimice (abzime), adică de scindare a substratului respectiv (LES, maladiile glandei tiroide etc.). În LES și alte MA sunt depistați autoanticorpii anti-cardiolipină, care la mamifere sunt localizați prioritar în mitocondrii. Frecvent se înregistrează Ac cu altă activitate anti-fosfolipidă ce argumentează manifestarea sindromului antifosfolipid autoimun. Acest sindrom este însoțit de tromboze datorită stimulării de către Ac a activității trombogene a endoteliului vascular.

Pentru testarea autoanticorpilor anti-Ag tisulari este utilizată imunofluorescența indirectă. Metoda include prelucrarea secțiunilor țesuturilor umane sau animaliere cu serul sangvin al pacientului care conține Ac și care se leagă cu Ag tisulari. Ac fixați sunt depistați cu ser antiglobulinic marcat cu fluorocromi (sau enzime). Este obligatorie spălarea minuțioasă după prelucrarea cu seruri și controlul specificității reacției.

Autoanticorpii anti-țesuturile glandei tiroide sunt apreciați după prelucrarea cu serurile sangvine a secțiunilor congelate ale organului uman. Se disting 2 tipuri de autoanticorpi: anti-lipoproteida microzomală (luminiscentă intensivă a epiteliului) și anti-coloidul pe secțiunile fixate cu metanol. Anticorpii anti-mitocondrii sunt depistați după legarea lor pe secțiunile renale, iar cei anti-mușchii netezi pe secțiunile gastrice ale șobolanilor.

Anticorpii antinucleari sunt testați prin prelucrarea secțiunilor ficatului și rinichilor șobolanilor, uneori a leucocitelor umane cu serul sangvin al pacienților. Colorarea difuză a nucleilor demonstrează prezența Ac anti-ADN nativ, măsluită a Ac anti-Ag solubil Sm, iar colorarea nucleolilor a Ac anti-ARN.

Autoanticorpii anti-Ag nucleari sunt apreciați în testul FANA (*Fluorescent Antinuclear Antibody*) și în testele pentru componentele separate (autoanticorpii antinucleari la Ag nucleari obținuți prin extragere). Sunt utilizate 4 metode de apreciere a Ac antinucleari: imunofluorescența, analiza imunoenzimatică, metodele Dot Blot și Western Blot. Pentru testul imunofluorescent se utilizează celulele liniei Hep-2. Caracterul luminiscentei indică o anumită maladie autoimună (tab. 15.4).

Anticorpii antinucleari sunt depistați în LES, artrita reumatoidă, sclerodermie, colagenozele mixte, hepatite, ciroze, mononucleoze și alte infecții virale, în 4,3% din cazuri la indivizii sănătoși și la 30% dintre femeile cu proteză de silicon a glandei mamare. Rezultat pozitiv a fost observat la LES în 88-91% din cazuri.

Aprecierea rezultatelor testărilor FANA

Caracterul luminiscentei	Asociația cu maladia	Antigenul testat
Periferic	LES	ADN bicatenar nativ
Difuz	LES, LES indus de medicamente	Histone, dezoxiribonucleoproteine
Speckled (în formă de pete)	LES, sindromul Sjögren, maladia mixtă a țesutului conjunctiv, sclerodermia sistemică	Proteine non-histone, ribonucleoproteine nucleare etc.
Nucleolic	Sclerodermia sistemică, LES, dermatomiozita, AR	Ribonucleoproteine nucleare

Toate mostrele FANA-pozitive trebuie să fie controlate cu utilizarea testelor pentru identificarea Ac la componentele separate: anticorpii la Ag Sm (*soluble macroglobulin*), la RNP (ribonucleoproteină), la ADN nativ dublu catenar (*double stranded DNA antibodies – dsDNA*), la ADN denaturat (*single stranded DNA – ssDNA*), anticorpii Ro/SS-A, La/SS-B. În acest scop se utilizează analiza imunoenzimatică, radioimunisorbentă și testele de imunodifuzie. Prezența autoanticorpilor la anumiți Ag are importanță diagnostică. Anticorpii anti-Sm sunt specifici numai pentru LES și se testează la 7-30% dintre pacienți. Anticorpii anti-RNP (ribonucleoproteină) sunt depistați în LES, artrita reumatoidă, sclerodermie și maladiile mixte ale țesutului conjunctiv. Anticorpii anti-nucleoproteina U1 a nucleului sunt apreciați în LES și în 90% din cazuri în maladiile mixte ale țesutului conjunctiv. Anticorpii anti-dsADN sunt caracteristici pentru LES (în titrul 1:160 în LES acut); ei sunt evidențiați, de asemenea, în sindromul Sjögren, sclerodermie și în maladiile mixte ale țesutului conjunctiv. Anticorpii anti-ssADN sunt testați în 90% din cazuri în LES, dar sunt mai puțin specifici decât anticorpii anti-dsADN; sunt apreciați într-un șir de cazuri în sclerodermie, artrita reumatoidă, dermatomiozite, hepatita cronică activă, la terapia medicamentoasă. *Anticorpi anti-Scl-70 (scleroderma antibody)* au fost testați la 3-75% dintre bolnavii cu sclerodermie sistemică, iar în 2% din cazuri și în alte patologii autoimune. *Anticorpii anti-Ro/SS-A* se testează în 60% din cazuri în serurile pacienților cu sindrom Sjögren, în 27-30% din cazuri în LES și 1% din cazuri în serul sangvin normal. *Anticorpii La/SS-B* au fost apreciați la pacienții cu sindrom Sjögren primar, întotdeauna în asociație cu anticorpii anti-Ro/SS-A. *Anticorpii anti-Jo-1 (histidyl – tRNA synthetase)* sunt apreciați în serul sangvin la 30-45%

dintre bolnavii cu polimiozită și dermatomiozită. Anticorpul anti-histone se înregistrează la 52% dintre pacienții cu LES primar și LES indus de remediile medicamentoase. Anticorpul antimitocondrial, inclusiv la piruvatdehidrogenază, sunt un criteriu diagnostic al cirozei biliare primitive (titru > 1:40) și se înregistrează în 89,4% din cazuri. Alți Ac antimitocondriali care reacționează cu cardiolipina (Ac M1) au fost testați în alte maladii. Anticorpul IgG/IgM la cardiolipină în titre majorate se înregistrează în artrita reumatoidă (40-50%), în infecțiile HIV, CMV și în mononucleoze. În LES prezența anticorpilor anti-cardiolipină poate indica riscul trombozelor.

Anticorpul anti-mușchii netezi ai vaselor se înregistrează în titru înalt în hepatita virală C (65% din cazuri), în tumori (titru 1 : 600 și mai mult), în hepatita cronică autoimună activă (63%), dar nu și la alterarea autoimună a ficatului în LES.

Factorul reumatoid (anticorpul IgA, IgM, IgG, IgD anti-IgG) în titru mai mare de 1:80 este caracteristic pentru artrita reumatoidă. A fost depistat la 4-20% dintre persoanele sănătoase, în maladiile acute inflamatoare, infecțiile virale, tuberculoză, endocardita bacteriană subacută, hepatitele virale, sarcoidoză, macroglobulinemie, în LES.

Anticorpul anti-mușchi striati au fost identificați la indivizii sănătoși în titru mai mic de 1 : 30 (mai frecvent la femeile care aveau proteze de silicon ale glandei mamare), la pacienții cu dermatomiozită și alte maladii ale țesutului conjunctiv în titru mai mare de 1 : 60.

Anticorpul anti-tiroglobulină se depistează la majoritatea bolnavilor cu tiroidită autoimună, hipertiroidism primar (maladia Graves), artrita reumatoidă și cu cancer al glandei tiroide.

Anticorpul anti-tiroperoxidază sunt testați în toate cazurile tiroiditei autoimune, uneori în sarcoidoză.

Anticorpul IgA anti-reticulină sunt evidențiați în 60% din cazuri la bolnavii cu celiachie, într-un șir de cazuri în maladia Crohn și sindromul Sjögren.

Testarea anticorpilor antinucleari și anti-Ag Sm este necesară pentru diagnosticul LES și maladiilor mixte ale țesutului conjunctiv, hepatitei cronice active. Mai informative sunt titrele majore de anticorpi. Depistarea autoanticorpilor anti-Ag ai glandei tiroide este utilă în diagnosticul tiroiditei cronice și mixedemului spontan la adulți. Anticorpul antimitocondrial, de obicei, sunt prezenți în ciroza biliară primitivă, dar pot fi depistați și în alte maladii.

Anticorpul anti-proteinele șocului termic hsp60/65 se depistează în LES, artrita reumatoidă, diabetul zaharat, iar Ac anti-hsp65 și anti-malondialdehidă (produse ale oxidării lipoproteidelor de densitate joasă) în ateroscleroză.

Autoanticorpii anti-componentele complementului activat (C1,C3,C4b etc.), conglutinatele imune sunt testați în reacția de aglutinare a eritrocitelor acoperite cu complement. Au fost raportate date că la indivizii cu MA în 100% din cazuri sunt evidențiați anticorpii anti-IFN- γ .

Anticorpii anti-idiotip joacă un rol major în reglarea funcțiilor SI. Acești Ac specific interacționează cu centrele active ale Ac antigen-specifici. Majorarea concentrației anticorpilor, precum și a spectrului lor în MA, reflectă dereglările regulatorii idiotip-anti-idiotip.

Reacțiile imune celulare sunt utilizate pentru testarea sensibilizării limfocitelor T în patologia autoimună cu utilizarea testelor respective. Informația diagnostică a acestor teste este în mare măsură dependentă de caracterul antigenului utilizat. Optimală este utilizarea Ag purificați din țesutul autolog. Extrasele din țesuturile alogene în calitate de Ag sunt de utilitate slabă, deoarece pot stimula limfocitele incompatibile. Pentru controlul reactivității limfocitelor la aloantigeni este necesară utilizarea concomitentă a Ag din alt țesut al aceluiași individ. Dacă sensibilizarea la Ag de control este absentă, iar la cel testat se apreciază rezultat pozitiv, numai în acest caz se poate concluziona despre specificitatea tisulară.

Principiile de tratament al maladiilor autoimune

Pentru terapia MA se utilizează remediile antiinflamatoare nesteroidice, mecanismul de acțiune fiind inhibiția enzimelor participante în sinteza prostaglandinelor – ciclooxinazelor. În cazurile severe, terapia este suplimentată cu glucocorticosteroizi și remedii imunodepresante (azatioprin, ciclofosfamid, metotrexat și ciclosporina A sau preparatul FK-506). Ciclosporina A se leagă cu ciclofilina intracelulară, iar complexul format blochează calciunevrina care asigură translocția în nucleu a factorului nuclear de activare a LT – (NF-A), în absența căruia este inhibată producția de IL-2, IL-3, IL-4, TNF- α , IFN- γ . Eficacitatea ciclosporinei A a fost stabilită în LES, AR, psoriazis, diabetul zaharat autoimun, miastenia gravis etc.

În MA se utilizează și preparatele imunoglobulinei cu inoculare i.v. (sandglobulina, intraglobulina, octagamul, pentaglobulina etc.), în special indicate la asocierea cu infecții. Rezultate terapeutice eficiente au fost obținute în trombocitopenii, vasculitele sistemice, anemia hemolitică, dermatomiozite, miastenia gravis etc. În studiu sunt AcMo anti-TNF- α , anti-citokine, anti-moleculele de adeziune și alte metode de corecție a SI.

Imunopatologia unor maladii autoimune

Imunohematologia

Maladiile autoimune hematologice includ anemiile hemolitice autoimune dobândite (AHA) cu autoanticorpi la cald și *a frigore*, trombocitopeniile autoimune, leucopeniile autoimune și agranulocitoza. Este necesară diferențierea lor de anemiile aparente în alerggia medicamentoasă și alimentară și liza eritrocitară cauzată de anticorpii alogeni în incompatibilitatea indusă de toxine și medicamente, în defectele metabolice ale membranelor celulare (genetic dependente).

În patogeneza maladiilor hematologice, o importanță majoră o au anticorpii IgG și IgM și reacțiile de tipurile II și III ale hipersensibilității de tip imediat.

Anemiile hemolitice autoimune (AHAI) sunt afecțiuni dobândite caracterizate prin scăderea duratei de viață a eritrocitelor din cauza prezenței pe hematii și/sau în plasma bolnavului a autoanticorpilor (AAc) antieritrocitari. Conform datelor statistice, AHAI au o frecvență de 1:38 000-1:80 000 de persoane. Pot fi întâlnite la toate vârstele, dar cu o frecvență mai mare până la 4 ani (predomină formele acute tranzitorii) și după 50 de ani (cu predominarea formelor cronice). La copii este observată o predominanță masculină, iar la adulți sunt afectate mai frecvent femeile. Unele studii subliniază existența unei predispoziții genetice în apariția AHAI. Criteriul clinic principal al AHAI este anemia cu alternarea acutizărilor și remisiunilor, la baza căreia stă aglutinarea și liza hematiilor prioritar în splină (hemoliza extravasculară). Cauza acestui proces sunt AAc antieritrocitari aparenti idiopatic sau în infecții și pe fundalul utilizării medicamentelor (anemiile hemolitice dobândite heterogene). AAc antieritrocitari au specificitate pentru antigenii (Ag) membranei eritrocitare prezenți la indivizii normali și comuni reprezentanților din aceeași specie (Ag de mare frecvență, izotipici). Pe parcursul evoluției bolii se pot constata multipli AAc anti-hematii a căror natură și specificitate poate varia, subliniind multiplicitatea clonelor care le dau naștere. Ei se pot găsi asociați cu alți autoanticorpi (aloanticorpi, heteroanticorpi, anticorpi antinucleari, antiplachetari, factorul reumatoid) ca o mărturie a perturbării imune centrale.

Diagnosticul de laborator al AHAI se bazează pe două elemente principale: evidențierea hemolizei și a autoanticorpilor antieritrocitari. Markerii generali ai hemolizei sunt de două tipuri: indicatorii biochimici al catabolismului protoporfirinei eliberate din eritrocite (hiperbilirubinemia indirectă și hiperurobilinogenuria) și reacția citologică compensatorie secundară hipoxiei anemice (hiperreticulocitoza și hiperplazia eritroidă a măduvei osoase). În hemolizele intravasculare se mai adaugă elemente specifice care sunt rezultatul descărcării directe a

hemoglobinei în plasmă: hemoglobinemia (care poate produce culoarea în roz a plasmei), blocarea masivă a haptoglobinei și eventual a hemopexinei plasmatice (cu prăbușirea titrurilor respective), hemosiderinuria și hemoglobinuria).

Demonstrarea naturii autoimune a unei anemii hemolitice are la bază aprecierea prezenței autoanticorpilor antieritrocitari și se realizează printr-un ansamblu de teste imunoematologice care evidențiază autoanticorpul fixați *in vivo* pe Ag eritrocitari și/sau anticorpul liberi în ser.

Testul Coombs direct (TCD) cu antiglobulina umană atestă în majoritatea cazurilor originea autoimună a AHAI. Acest test demonstrează prin aglutinare directă prezența imunoglobulinelor și/sau a complementului la suprafața eritrocitelor bolnavului (debarasate prin spălare de proteinele plasmei). Reactivul antiglobulină umană polispecific conține anticorpi anti-IgG, anti-IgA, anti-IgM, anti-C3 și anti-C4. La obținerea unui test Coombs direct pozitiv cu reactiv polispecific este necesară precizarea naturii proteinei responsabile de sensibilizarea eritrocitelor. Pentru aceasta se recurge la repetarea TCD cu utilizarea antiserurilor monospecifice anti-IgG, anti-IgM, anti-IgA, anti-C3, anti-C4. Rezultatul pozitiv al TCD constituie un element important de diagnostic, dar el singur nu semnifică întotdeauna existența autoanticorpilor antieritrocitari. El poate fi pozitiv și în prezența unui aloanticorp, a unui Ac anti-medicament sau după fixarea componentului C3 a complementului din complexe imune circulante la receptorii C3b ai eritrocitelor. Negativitatea testului standard semnifică în mod obligatoriu absența autoanticorpilor. Există o corelație între cantitatea imunoglobulinelor fixate pe hematii și severitatea maladiei.

Responsabile de hemoliză sunt subclasele IgG1 și IgG3, rar IgG2 și nicidecum IgG4. Autoanticorpul IgA izolați sunt foarte rar întâlniți. Autoanticorpul IgM există frecvent, dar detecția lor pe suprafața eritrocitelor prin TCD este foarte dificilă, deoarece ei se detașează ușor de pe eritrocite, în timpul spărilor prealabile. Serul pacientului poate conține Ac neabsorbiți în totalitate pe eritrocite care sunt decelabile prin alte metode (testul Coombs indirect). După componența lor *in vivo*, acești Ac sunt: *aglutinine la rece*, care provoacă aglutinarea hematiilor în mediul salin și un TCD pozitiv de tip complement; *hemolizine bifazice* (Donath-Landsteiner), care se evidențiază cu un test specific și care dau un TCD pozitiv de tip complement; *hemolizine calde*, care provoacă hemoliza și un TCD pozitiv de tip complement; *anticorpi incompleți*, care se evidențiază prin testul Coombs indirect sau utilizând eritrocite tratate cu proteaze. În toate cazurile sunt obligatorii verificarea prin confruntare cu eluatul și fenotipul eritrocitar al pacientului, dacă există mai mulți Ac de specificitate diferită sau un aloanticorp asociat de importanță transfuzională și urmărirea

evoluției tabloului hematologic și serologic. Investigațiile eritrocitare și serice ale bolnavilor au permis gruparea AAC și AHAI în patru categorii principale întâlnite în practica curentă: AAC IgG calzi, AAC IgM reci, AAC IgM calzi și AAC IgG bifazici. Este posibilă asociația mai multor tipuri de AAC, ca și modificarea clasei AAC pe parcursul evoluției bolii. Autoanticorpii de clasa IgG calzi au optim termic 37°C și sunt observați la aproape 50% din cazurile de AHAI. Sunt Ac incompleți (neaglutinanți), detectabili pe eritrocite și/sau în ser (când sunt în cantitate mai mare, mărturie a gravității bolii). Pe hematii ei sunt detectați prin testul Coombs direct, iar în ser – prin testul Coombs indirect și/sau prin tratarea hematiilor cu proteaze.

IgG active la cald nu fixează, de obicei, complementul (C). În consecință, TCD este pozitiv cu ser anti-IgG. În cazuri rare, IgG pot fixa C și atunci TCD este de tip IgG+C3. AAC IgG calzi sunt în general policlonali și se întâlnesc atât în AHAI idiopatice (~50%), cât și în formele secundare (~50%). Specificitatea AAC de clasa IgG activi la 37°C este față de unul sau mai mulți Ag de mare frecvență (izotipici) din sistemul Rhesus. Aceștia sunt Ag normal exprimați pe eritrocitele donatorilor sănătoși și lipsesc excepțional pe hematiile indivizilor cu fenotipul Rh nul. În acest caz, AAC au specificitate față de alți Ag decât cei din sistemul Rh, de ex., AAC anti-K, JKa, Xga, Wra și Ena. Posibilitatea existenței simultane a mai multor tipuri de AAC pe de o parte, prezența AAC cu specificitate față de Ag de mare frecvență explică incompatibilitatea transfuziei sangvine. Variația în timp a specificității acestor AAC la același bolnav este o constatare frecventă, care subliniază multiplicitatea în timp și spațiu a clonelor celulare ce le dau naștere.

Autoanticorpii IgM reci au o frecvență mai mică, comparativ cu cei IgG calzi, fiind prezenți în cca 20-30% din cazurile de AHAI. Ei reacționează la temperatură mai mică decât cea a organismului. Aproape toate serurile umane normale prezintă AAC reci în titruri slabe, mai mici de 1:16 în mediul salin la 4°C. Numai AAC IgM constant fixează C. Potențialul patogenic este exprimat prin aglutinarea hematiilor la periferia organismului și prin activarea C. Acești AAC se atașează pe eritrocite – urmare a expunerii la temperatură scăzută, dar la 37°C se desprind de pe acestea, lăsând pe loc moleculele de C. De aceea TCD este pozitiv numai cu seruri anti-C3 și anti-C4. Temperatura până la care AAC IgM reci rămân atașați pe eritrocite desemnează un prag denumit „*amplitudine termică*”. În general, acest prag este mai mic de 22°C și atunci Ac sunt clinic silențioși. Alteori sunt activi până la 35°C, conferind hemolizei un caracter sezonier, prin accentuarea ei la expunere la frig. În cazuri rare, AAC IgM sunt activi și la 37°C, realizând un sindrom hemolitic permanent (chiar și în sezonul cald). Prezența lor este evocată deseori prin autoaglutinabilitatea hematiilor la tempe-

ratura ambiantă în prelevatul sangvin fără ca acest fenomen să fie dat exclusiv de AAc IgM. O particularitate a aglutininelor la rece este specificitatea lor față de Ag la suprafața hematiilor grupate în sistemul antigenic Ii. Specificitățile anti-I și anti-IH sunt mai frecvente, comparativ cu specificitățile anti-i, anti-A, anti-B, anti-N, anti-M și cele mixte (anti-Hi, anti-Ai, anti-Bi). Antigenul I este un Ag de mare frecvență, este absent la un adult din 5000 și se exprimă doar tranzitoriu la nou-născut. Variația în timp a specificității acestor AAc este, de asemenea, posibilă la același bolnav. Ea pare mai puțin frecventă decât AAc IgG calzi și subliniază participarea simultană sau alternativă a mai multor clone celulare în producerea AAc.

În AHAI cu aglutinine la rece eritrocitele sunt hemolizate în ficat, nu în splină și, în consecință, splenomegalia este rar întâlnită. Din punct de vedere etiologic, AHAI la rece se poate clasifica în forme primare (idiopatice) și forme secundare (infecții, boli limfoproliferative, colagenoze, neoplasme, medicamente). Formele idiopatice se întâlnesc mai ales la persoanele în vârstă (incidența maximă în jurul vârstei de 70 de ani). Bărbații sunt afectați mai frecvent decât femeile. AAc sunt mai frecvent de clasa IgM monoclonali cu lanțuri ușoare k și specificitate anti-I (cca 90% din cazuri). Au fost descrise și AHAI la rece de tip IgG cu forme acute sau subacute care evoluează cu splenomegalie.

Aglutininele la rece pot fi secundare unor infecții ca gripa, mononucleoza, malaria, parotidita epidemică, sifilisul (1% din cazurile prezente de AHAI), *Mycoplasma pneumoniae* (80% din cazuri prezintă AHAI). Ele apar după 8-25 de zile, sunt de clasa IgM, policlonale, anti-I. Uneori, în mononucleoza infecțioasă se pot observa AAc IgG anti-i și prezența factorului reumatoid IgM anti-IgG.

În majoritatea acestor cazuri, titrul AAc este scăzut (<1:100) și fără importanță clinică. Un număr mic de pacienți prezintă titruri ridicate de aglutinine la rece (1:100-1:10000) cu hemoliză severă. Fenomenul este tranzitoriu și transfuziile sunt necesare foarte rar.

Aglutininele la rece, secundare sindroamelor limfoproliferative, sunt IgM monoclonale de tip λ cu specificitate anti-i sau anti-P, produse de celulele tumorale. Aceste forme cronice sunt secundare limfoamelor non-Hodgkin, bolii Waldenström, leucemiei limfatice cronice, sarcomului Kaposi. Au fost descrise aglutinine la rece la hemofilicii HIV-pozitivi.

Aglutininele la rece mai pot fi secundare folosirii medicamentelor (penicilina, unele analgezice, α -metildopa etc.). Maladiile asociate anemiei hemolitice autoimune sunt elucidate în tab. 15.5.

Principalele boli asociate AHAI

Autoanticorpi la cald	Autoanticorpi la rece
<p>AHAI idiopatică (50%) AHAI secundară (50%) Boli autoimune: Lupusul eritematos sistemic Dermatomiozita Periarterita nodoasă Sclerodermia Poliartita reumatoidă Sindromul Sjögren Miastenia Rectocolita hemoragică Sarcoidoza Boala Basedow Hipotiroidite Anemia Biermer Hemopatii limfoide: Leucemia limfatică cronică Limfoamele non-Hodgkin Mielomul multiplu Boala Hodgkin Infecții virale: Hepatitele Citomegalovirusul Mononucleoza infecțioasă Oreionul Varicela Gripa Tumori benigne sau maligne: Chistul dermatoid de ovar Teratomul sau carcinomul de ovar Teratomul mediastinal Chistul mezenteric Tumorile renale Cancerul de cec Histiocitomul Medicamente: Alfametildopa L-dopa Acidul mefenamic</p>	<p>AHAI idiopatică (10%) AHAI secundară (90%) Hemopatii maligne: Leucemia limfatică cronică Boala Waldenström Limfoamele maligne non-Hodgkin Ciroza hepatică Infecțiile: Mycoplasma pneumoniae Mononucleoza infecțioasă Influenza Trypanosoma Oreionul Malaria Gripa HIV Hemoglobinuria paroxistică a frigore: Idiopatică Infecțioasă (sifilis, virus) Colagenoze: Lupusul eritematos sistemic Neoplasme: Ovar, pulmon, colon, sarcoma Kaposi Medicamente: Penicilina Para-aminosalicilic Analgezice</p>

La toți pacienții cu AHAI cronică la rece trebuie căutată și exclusă o boală limfoproliferativă.

Autoanticorpii IgM calzi au optim termic la 37°C și sunt frecvenți în cca 20% din cazuri. Sunt detectați în serul bolnavilor și excepțional în eluatul eritocitar. IgM calzi fixează constant C la suprafața hematiilor, TCD apare de tip complement. *In vitro* acești AAc hemolizează eritrocitele tratate cu proteaze la 37°C (hemolizine calde). Titrul activității este slab, iar detecția acestor hemolizine este realizată mai bine cu utilizarea eritrocitelor bolnavilor cu hemoglobinurie paroxistică nocturnă, care se caracterizează prin hipersensibilitate la liză prin C. În unele dintre aceste cazuri, AAc au specificitate anti-I sau anti-i. În alte cazuri sunt caracterizați prin caracterul hemolitic *in vitro* la pH 7,3. Semnificația clinică a acestor AAc este diferită. Deseori survin în cursul hemolizei severe, alteori sunt descoperiți întâmplător la un donator de sânge sănătos.

Autoanticorpii IgG bifazici sunt responsabili de hemoglobinuria paroxistică *a frigore*. Se întâlnesc cu o frecvență de 1% din cazurile de AHAI. Acești AAc au fost numiți „hemolizine bifazice” datorită comportamentului lor specific „în doi timpi”: autoanticorpii și C se fixează pe eritrocite în general la o temperatură mai mică de 20°C (dar în anumite cazuri amplitudinea termică de fixare poate depăși 25°C). Ac la 37°C se desprind de pe eritrocite, pe care rămâne fixat în continuare C care se activează până la C9, antrenând hemoliza hematiilor. Din această cauză, TCD la 37°C este de tip C3 izolat. Executat la 4°C, TCD este pozitiv de tip IgG. Specificitatea AAc IgG bifazici este frecvență față de Ag eritocitar P, prezent la indivizii P₁ sau mai rar Ii și p.

Hemoglobinuria paroxistică *a frigore* poate fi idiopatică sau secundară sifilisului cronic la adulți și infecțiilor virale la copii.

La distrugerea hematiilor *in vivo* participă mai mulți factori care influențează procesul: concentrația AAc antieritrocitari, optimul termic și afinitatea acestora pentru Ag eritrocitari, natura și clasa Ig implicate, capacitatea lor de a fixa sau nu C, numărul și topochimia situsurilor antigenice pe eritocite, capacitatea de epurare a sistemului reticuloendotelial. Fiziopatologia hemolizei autoimune comportă două aspecte importante: mecanismul de apariție a AAc antieritrocitari și mecanisme de distrugere (liză) a hematiilor *in vivo* acoperite cu AAc antieritrocitari.

Diversitatea AAc antieritrocitari, mono- sau policlonali, variația în timp a specificității antigenice, perturbările imune asociate, contextul clinic și evolutiv în care survin acestea, conduc la concluzia că mecanismele apariției AAc

antieritrocitari sunt multiple (alterarea membranei eritrocitelor, reactivitate încrucișată, perturbările SI etc.).

Inducerea apariției Ag criptici T sau Tn (numite de „poliaglutinabilitate”) sub efectul unor enzime bacteriene va conduce la secreția de Ac anti-T sau anti-Tn și distrugerea prematură a hematiilor cu Ag modificați (fenomenul Huebener-Thomson-Friedenreich). Alterarea Ag eritrocitari pare aplicabilă în unele AHAI acute, tranzitorii, care survin într-un context infecțios cu evoluție regresivă sau recăderea ducând la apariția infecției și a AAC antieritrocitari concomitent.

Asemănarea dintre structura Ag membranei eritrocitare și cea a microorganismelor agresoare (mimicria antigenică) este o altă ipoteză de apariție a AAC. La om AAC anti-I asociați cu *Mycoplasma pneumoniae* au putut fi inhibați printr-un lipopolizaharid extras din acest germene, iar hemolizinele bifazice anti-P reacționează nu numai cu globozidul P, ci și cu glicolipidul Forssman a cărui structură chimică este foarte asemănătoare. Se cunosc aloanticorpi apăruți ca urmare a contactului cu anumite structuri polizaharidice (anti-A, anti-B, anumite bacterii Gram-negative-anti-Kell, paraziți-anti-P). Acești aloanticorpi reacționează cu extractele microorganismelor. Ipoteza Ag crossreactanți poate interveni în cursul infecțiilor acute tranzitorii ca urmare a unei stimulări exogene decelabile.

Ipoteza disfuncției imune centrale în apariția AAC antieritrocitari în AHAI cronice se bazează pe frecvența și multiplicitatea dereglărilor imune asociate cu Ac antitrombocitari (sindromul Evans), anticorpii antinucleari, factorul reumatoid, deficite cantitative de Ig, prezența Ac cu specificitate față de Ag privați de grupa sangvină pe care bolnavul nu le posedă și nu le-a întâlnit în mediul înconjurător, dezechilibrul diferitor subpopulații limfocitare, existența concomitentă a AAC anti-hemati de tip IgG și IgM care recunosc Ag eritrocitari multipli, variația naturii și specificității AAC care survine în cursul evoluției maladiei etc.

Mecanismele hemolizei autoimune comportă două etape: sensibilizarea eritrocitelor cu AAC cu specificitate pentru Ag corespunzători și distrugerea lor. Hemoliza imună poate avea loc *intratisular sau extravascular* și este mediată de sistemul macrofagal (aderența opsonică prin AAC IgG nefixatori de C, imunoaderența prin AAC fixatori de C – IgG calzi și IgM reci și eritrofagocitoza prin alterarea elasticității membranei eritrocitelor datorită autoaglutinării *in vivo*). Splina este sediul preferențial al distrugerii eritrocitelor de către macrofage mai ales când hematiile sunt sensibili-

zate de AAc IgG sau IgA nefixatori de C. Ficatul este sediul preferențial al distrugerii eritrocitelor sensibilizate prin IgG sau IgM fixatori de C sau în absența splinei.

Hemoliza intravasculară este întâlnită mai rar în AHAI și este produsă de AAc hemolizanți IgM reci, IgM calzi, IgG bifazici care provoacă fixarea și activarea complementului sau ca urmare a lizei mediată celular anticorp-dependentă. Leucocitele și macrofagele splinei pot liza eritrocitele acoperite cu anticorpi prin legarea receptorului Fc cu imunoglobulinele atașate pe hematii. Caracteristicile acestui proces sunt febra, algiile, icterul, splenomegalia, anemia normocromă, normocitară, policromazia, eritrocitele nucleate, sferocitele, în urină – hemoglobina, urobilinogenul.

În AHAI cu Ac calzi testul Coombs direct este intensiv pozitiv (aglutinarea eritrocitelor pacienților acoperite cu autoanticorpi IgG incompleți în prezența serului antiimunoglobulinic în diluții mari) și indică prezența Ac fixați pe hematii. În cazul prezenței autoanticorpilor antieritrocitari în serul pacienților, testul Coombs indirect va fi pozitiv cu aglutinarea eritrocitelor donatorului prelucrate cu serul pacientului. În această formă de anemie vor fi prezente și modificările statusului imun: limfopenia cu scăderea prioritară a nivelului limfocitelor T și subpopulației T-helper, reducerea coraportului Th/Ts.

Tratamentul include prednisolon, la ineficiență – splenectomia. În cazul absenței ameliorării situației pe fundalul dozelor moderate de prednisolon, sunt suplimentar utilizate imunodepresantele (ciclofosfamida sau azotioprina, danosolul). Este indicată plasmafereza, în anemiile grave – masa eritocitară. În cazul acutizării, se administrează i.v. imunoglobulina. Acidul folic se administrează la hemoliza cronică.

Anemiile hemolitice autoimune cu autoanticorpi reci aparente pe fundalul infecțiilor virale etc. sunt însoțite de sinteza autoanticorpilor IgM și mai rar a celor IgA care reacționează cu hematiile la temperatura sub 37°C cu participarea complementului. Tabloul clinic al afecțiunii este caracterizat prin apariția deseori a sindromului Raynaud (acrocianoza degetelor, nasului și urechilor) dependent de autoaglutinarea hematiilor. Uneori se observă varianta hemoglobinurică *a frigore*. Reacția de testare a AAc se efectuează la temperaturile de 4°C, 22°C și 37°C pentru comparație. Procedura de recoltare a sângelui și serului pacientului se realizează la 37°C pentru prevenirea aglutinării eritrocitelor și hemolizei la scăderea temperaturii.

Anticorprii reci pot fi cauza insuficienței reactivității imunologice și pot conduce la diferite maladii. Bolnavii trebuie să evite răcirea. Corticosteroidii și splenectomia sunt inefficiente. Se administrează clorambutil, plasmafereza.

Hemoglobinura paroxistică a frigore este indusă de Ac bifazici. Apare cu precădere la copii, sub formă de accese de hemoglobinurie declanșate după expunerea la frig și care încetează spontan după încălzirea pacientului. A fost descrisă la subiecții cu sifilis secundar și terțiar. În prezent se observă cu precădere după boli virale, ca mononucleoza infecțioasă, oreionul, rujeola. Evoluază sub formă de accese la acțiunea frigului. Apare pirexia cu majorarea temperaturii corpului. Urina este de culoare cafenie închisă (hemoglobină, methemoglobină). Anemia este de scurtă durată.

Testul de screening constă din provocarea hemolizei sângelui bolnavului (recoltarea pe anticoagulant la 37°C) după o expunere de 1 oră la gheață urmată de reîncălzirea la 37°C). Datele esențiale pentru diagnostic sunt crizele de hemoglobinurie după expunerea la frig și testul pentru anticorprii bifazici pozitiv.

Tratamentul se adresează bolii de bază, prin încălzirea pacientului, transfuzii de eritrocite spălate (pentru a evita introducerea de complement) și încălzite.

Trombocitopeniile autoimune sunt caracterizate prin apariția hemoragiilor repetate nazale, gastrice, hematuriei, trombocitopeniei, uneori eozinofiliei. Există forme acute și cronice.

În patogeneza purperei trombocitopenice idiopatice și a trombocitopeniilor alergice induse de medicamente, posibil, un anumit rol are autoalergia. În sângele pacienților cu trombocitopenie idiopatică au fost evidențiați factorul umoral de distrucție a trombocitelor, autoanticorprii anti-trombocitari, anti-receptorii pentru fibrinogen, glicoproteina-integrina Gr IIb/IIIa, 1b/IX, sensibilizarea limfocitelor în testul de inhibiție a migrației, complexe imune circulante (CIC). Pentru testarea anticorpilor antitrombocitari se utilizează aprecierea Ig pe trombocite prin imunofluorescența directă și indirectă, metoda de alterare imună cu anticorpi cu aprecierea eliberării factorului 3 trombocitar sau serotoninei, reacția de migrare a trombocitelor etc.

La 59% dintre pacienții cu trombocitopenie idiopatică în faza activă și la 27% dintre cei în faza de remisiune au fost apreciați anticorpi pe trombocite și megacariocite prin utilizarea metodei imunofluorescente. Dar pe ele n-a

fost apreciat componentul C3 al complementului, iar IgG asociate cu membrana trombocitelor au fost testate și în alte maladii. Astfel, rolul anticorpilor în patogenza trombocitopeniei idiopatice rămâne neclar. Posibil, în distrucția trombocitelor un rol important îl are insuficiența calitativă (congenitală sau adaptivă) a lor, iar anticorpilor și sensibilizarea trombocitelor sunt consecința acestui proces.

Purpura trombocitopenică autoimună (PTAI) include trei entități: *purpura trombocitopenică imunologică acută* (postinfecțioasă) – forma predominantă la copii, *purpura trombocitopenică idiopatică cronică* – boală autoimună primară predominantă la adulți și *purpura trombocitopenică autoimună secundară* unor afecțiuni imunoproliferative diverse. Elementul comun al acestora este trombocitopenia, corelată cu prezența autoanticorpilor antitrombocitari (testată pe suprafața trombocitelor și/sau în ser). În diverse situații clinice patologice, anticorpilor pot acționa la două nivele: periferic – provoacă eliminarea rapidă din circulație a trombocitelor sensibilizate, și central – diminuează producția trombocitelor în măduva osoasă. *Purpura trombocitopenică imunologică acută (postinfecțioasă)* prezintă două aspecte caracteristice: instalarea bruscă a sindromului purpuric la 7-21 de zile după debutul unei infecții și remisiune spontană în decurs de 15-60 de zile. Cele mai frecvente infecții provocatoare sunt virozele respiratorii banale, varicela și rușea. Manifestările hemoragice și trombocitopenia se instalează după eliminarea virusului din circulație, ceea ce ar exclude o acțiune directă a virusului asupra trombocitelor și ar susține ipoteza răsfrângerii asupra trombocitelor a consecințelor răspunsului imun antiviral (sinteza eronată de Ac antitrombocitari, sinteza de Ac antivirali care reacționează încrucișat și cu Ag trombocitari sau formarea de complexe imune cu Ag virali care se atașează pe receptorii Fcγ al trombocitelor și promovează îndepărtarea acestora din circulație). Purpura trombocitopenică imunologică acută poate fi observată la orice vârstă, dar, de regulă, este o boală a copilăriei care apare mai frecvent în sezonul rece, când incidența infecțiilor cauzale este majorată. Manifestările obișnuite sunt purpura, prezența de bule hemoragice pe mucoasa bucală și epistaxis. Hemoragia intracraniană poate fi observată la 1% din cazuri, fiind însoțită de sângerări digestive sau urinare. Diagnosticul serologic este dificil pentru evidențierea anticorpilor serici. În schimb, studiul trombocitelor demonstrează adesea IgG legate pe suprafață. Prognosticul este favorabil în 80% din cazuri. Cele mai rapide răspunsuri se înregistrează după corticote-

rapie sau după administrarea i.v. de gamaglobuline. Transfuzia cu trombocite este necesară numai în cazurile complicate cu hemoragii cu risc vital. În majoritatea cazurilor remisiunea este permanentă. Infecțiile virale ulterioare, vaccinările sau alte cauze pot induce uneori recăderi. O minoritate de cazuri, fără răspuns după 2-6 luni de la debut, pot fi considerate ca purpură trombocitopenică imunologică cronică.

Purpura trombocitopenică idiopatică cronică se deosebește de cea acută prin următoarele caracteristici: apare cu maximum de incidență la adulți (20-40 de ani), predomină la femei (F/B=3/1), debutul este insidios, fără legătură aparentă cu infecții sau alte boli cunoscute de a se însoți cu trombocitopenie, iar evoluția este cronică, autoîntreținută, fără tendință la remisiuni spontane.

Purpura trombocitopenică cronică se poate instala ca atare de la început sau poate fi urmare a unei forme acute, neremise după mai mult de 6 luni de evoluție. Este provocată de autoanticorpi circulanți și nu de complexe imune sau de mecanisme de tip celular. Studiile de imunofluorescență au demonstrat în peste 90% din cazuri fixarea pe trombocite a autoanticorpilor (cel mai frecvent IgG1 și IgG3). Evidențierea complementului (C3, C4) pe trombocite este o excepție. Aceste constatări sprijină ideea că mecanismul principal de sustragere din circulație a trombocitelor sensibilizate este imunoaderența la macrofage, mediată de receptorii Fc γ ai acestora. În majoritatea cazurilor, examenul histologic evidențiază fagocitarea trombocitelor de către macrofagele splenice, însă la pacienții cu boală severă asocierea unui fenomen de clearance hepatic este posibilă.

Liza trombocitelor, mediată de complement fără participarea macrofagelor, ar putea fi și ea o cauză de trombocitopenie în acea minoritate de cazuri la care s-a demonstrat prezența C3c pe membranele trombocitare. Ținta de predilecție a autoanticorpilor antitrombocitari este complexul GP IIb IIIa (62% din cazuri). Mai rar specificitățile decelate au fost anti-GPIb, anti-GPV, anti-fosfolipide, anti-receptori pentru colagen.

Anticorpilor se pot fixa pe diferiți epitopi ai acestor molecule funcționale și în funcție de aceasta pot determina, pe lângă trombocitopenie, încă 3 tipuri de efecte care au fost testate în diverse cazuri *in vivo* sau/și *in vitro*: 1) atașare pe megacariocite cu inhibarea trombocitoformării sau alteori chiar cu distrugerea megacariocitelor (situație rară în care la analiza frotiurilor apare amegacariocitoză în locul tabloului obișnuit de hiperplazie megacariocitară); 2) alterarea unor funcții ale trombocitelor cu inducerea unui profil biologic de tipul tromboasteniei sau al sindromului Bernard-Soulier (explică prezența unui sindrom

hemoragic activ la pacienții la care numărul trombocitelor circulante este mult deasupra pragului de siguranță, de 50×10^9); de menționat în acest context și descrierea unei trombocitopenii autoimune, fără trombocitopenie; 3) un efect posibil asupra endoteliilor vasculare (care exprimă și ele citoadezine, compuse cu lanțul β de tip GPIIIa) ilustrat prin eliberarea unor molecule de factor von Willebrand cu migrare rapidă.

Semnele clinice nu sunt specifice. Pacientul relevă manifestări hemoragice ușoare, purpură, echimoze, gingivoragii, menoragii. Prezența bulilor hemoragice pe mucoasa buco-linguală sau a hemoragiilor retiniene sugerează un risc major pentru instalarea hemoragiei intracraniene. Depistarea unei splenomegalii la debutul aparent al maladiei sugerează o purpură trombocitopenică idiopatică secundară unui proces limfoproliferativ sau o altă boală. Datele hematologice demonstrează triada: trombocitopenie, prezența de macrotrombocite pe frotiul de sânge și hiperplazie megacariocitară în măduva osoasă. Confirmarea diagnosticului se realizează prin evidențierea anticorpilor fixați pe trombocite prin teste de imunofluorescență.

Pentru creșterea rapidă a numărului de trombocite este recomandată corticoterapia cu administrarea i.v. de gamaglobuline. În absența efectului este indicată splenectomia. Se presupune că splina inhibă trombocitopoieza și în ea sunt distruse trombocitele sensibilizate cu anticorpi. La indicație poate fi administrată vincristina sau vinblastina.

O situație specială este purpura trombocitopenică idiopatică la gravide, asupra fătului (autoanticorpii străbat placentă) și impactul terapiilor asupra ambilor. Rezultatele numărării trombocitelor fătului pot orienta opțiunile terapeutice care în principiu se bazează pe administrarea de prednison și gamaglobuline i.v. la mamă. Întrucât în aceste situații trombocitopenia nou-născutului este un fenomen pasiv și autolimitat (durează până la catabolizarea completă a IgG provenite de la mamă), tratamentul postnatal constă în administrarea i.v. de imunoglobuline, cu sau fără prednison.

Purpura trombocitopenică autoimună secundară este asociată lupusului eritematos sistemic, maladiilor limfoproliferative cronice (leucemia limfatică cronică, boala Waldenström, limfoamele maligne, mielomul multiplu), infecției cu HIV, mononucleozei infecțioase, paravirozelor, rujeolei etc.

Purpura trombocitopenică autoimună secundară poate reprezenta prima manifestare a LES și bolilor limfoproliferative (3-13% din cazuri) sau poate surveni oricând pe parcursul evoluției acestor maladii. Unul dintre semnele care sugerează o astfel de asociere este prezența splenomegaliei. O parte din-

tre bolnavi pot dezvolta autoanticorpi cu diverse specificități (antieritrocitari, antinucleari, anti-fosfolipide, factorul reumatoid).

Infecția cu HIV se poate asocia cu trombocitopenie în toate fazele evoluției sale indiferent de sexul și vârsta pacientului și calea de infectare. Trombocitopenia ar fi mediată de atașarea pe trombocite a unor complexe imune circulante și/sau a unor Ac antitrombocitari IgG. Complexele imune sunt generate de Ac anti-HIV care se combină cu determinanții idiotipici din Fab-urile unor molecule normale de Ig. Anticorpilor antitrombocitari au specificități diverse: dipeptidul IIbIIIa etc. Într-un număr de cazuri Ac eluați de pe trombocite au reacționat cu GPIIbIIIa și cu proteina gp 120 a anvelopei virale, sugerând existența unor analogii între aceste două structuri și posibilitatea unor reacții încruciate.

Tratamentul include corticosteroizi și splenectomie. În trombocitopenia post HIV se evită curele lungi de prednison, preferându-se în formele cu răspunsuri nesatisfăcătoare splenectomia precoce, dozele mari de imunoglobuline i.v., vincristina, azidotimidina sau IFN- α .

Trombocitopeniile autoimune induse de medicamente

În general, se admite implicarea aceluiași tipuri de mecanisme în dezvoltarea acestei afecțiuni ca și în cazul hemolizei autoimune: formarea complexelor imune, adsorbția medicamentului pe trombocite sau o reacție autoimună reală. Majoritatea cazurilor (>60%) sunt secundare tratamentelor cu chinidină, heparină, sulfonamide, trimetoprim și săruri de aur. Chinidina și chinina ar acționa prin intermediul unor metaboliți. Atașarea acestora pe moleculele-țintă membranare provoacă expunerea unor „neoantigeni” care ar fi trigger-ul producerii anticorpilor. Acestea sunt IgG specifice pentru complexul GP IbVIX (sau mai rar pentru GPIIbIIIa). O predispoziție pentru trombocitopenia autoimună indusă de săruri de aur a fost notată la purtătorii Ag HLA-DR3. Alte medicamente care pot induce autoanticorpi antitrombocitari sunt alfa-metildopa, levodopa, chinidina, valproatul de sodiu. Formarea anticorpilor la heparinoterapie ar putea fi indusă de „neoantigeni”.

Stoparea imediată a tratamentului trombocitopenizant este obligatorie. În cazurile cu risc crescut, se recurge la proceduri cu răspuns rapid (de ex. imunoglobuline i.v.) în asociere cu corticoterapie.

Neutropenia autoimună (NAI) poate fi primară și secundară, ultimele sunt de 2,5 ori mai rare decât primele. Neutropeniile autoimune primare idiopatice apar cu maximum de incidență la copiii sub vârsta de 3 ani cu predominanță (54%) pentru sexul feminin.

Tulburările clinice sunt dominate de infecții severe (pneumonii, meningite, septicemii) sau mai frecvent (80% din cazuri) de cele ușoare/medii (otite, faringite, traheobronșite etc.). Uneori se asociază cu o splenomegalie discretă. Factorii care contribuie la instalarea NAI primare la copii nu sunt cunoscuți. Se semnifică participarea factorului ereditar (asocierea frecventă a fenotipului HLA-DR2 cu producerea autoanticorpilor anti-NAI), imaturitatea sistemului T-supresor inerentă la nou-născut (favorizarea apariției autoanticorpilor) etc.

În majoritatea cazurilor, autoanticorpii sunt IgG (subclasele IgG1 și IgG3). Severitatea maladiei este proporțională cu reducerea numărului de granulocite circulante, la care se adaugă și deprimarea lor funcțională. Granulocitopenia ar fi efectul unor mecanisme periferice (sechestrarea și fagocitoza în splină, ficat, pulmon) și combinate uneori cu mecanisme centrale (inhibiția celulelor stem granulocitare formatoare de colonii, ilustrată prin hipoplazia compartimentului granulocitar din măduva osoasă). În majoritatea cazurilor la care s-a putut determina specificitatea autoanticorpilor, aceasta a fost îndreptată împotriva Ag NAI care sunt localizați pe receptorii FcγIII al neutrofilelor. În alte cazuri, țintele autoanticorpilor au fost complexe moleculare CD11b/CD18 (Mac1, o specie de glicoproteine ale membranei care fac parte din familia proteinelor de adeziune – integrine). S-au descris și cazuri în care speciile de autoanticorpi antigranulocitari pot provoca numai deprimarea unor funcții ale acestora fără a induce și neutropenie.

Investigația pacienților cu NAI include detecția anticorpilor legați pe suprafața membranei (test de imunofluorescență sau de radiomarcare) și evidențierea efectelor anticorpilor (leucoaglutinarea, opsonizarea, citotoxicitatea, activarea complementului).

Tratamentul acestor pacienți include combaterea infecțiilor actuale și profilaxia infecțiilor recurente. La copiii mici cu boala autolimitată alte intervenții terapeutice pot să nu fie necesare. În formele severe se pot administra corticosteroizi, doze mari de gamaglobuline administrate i.v., factori hematopoietici, imunomodulatoare, plasmafereze.

O formă cronică de neutropenie idiopatică a adultului a fost descrisă în cadrul neutropeniilor. S-au înregistrat unele cazuri asimptomatice și altele care au prezentat infecții recurente ușoare (predominant cutanate și respiratorii). Bolnavii mai vârstnici asociază adesea anemie și/sau trombocitopenie, pot prezenta o ușoară mărire a splinei (84% din cazuri), iar în serurile lor se testează relativ frecvent autoanticorpi cu potențial de fixare a complementului pe granulocite. Tabloul măduvei osoase este tipic: ușoară hiperplazie combinată cu o inhibiție a maturării granulocitelor în stadiile de mielocit și metamielocit.

Neutropeniile autoimune secundare se întâlnesc mai frecvent la vârstnici în contextul unor boli autoimune, al unor limfoproliferări maligne cronice sau al unor forme de boală reumatică.

Tratamentul formelor secundare se adresează la bolile de bază și se aseamănă în principiu cu cel al NAI primare. Specificitatea autoanticorpilor din NAI secundare nu este bine cunoscută. În sindromul Felty s-au descris însă sporadic Ac antiactină, alții care alterează ciclul respirator al granulocitelor ca și asocierea unui mecanism citotoxic dependent de anticorpi și mediat de limfocite.

Proliferarea limfocitelor mari granulare poate fi însoțită de o varietate de tulburări autoimune (artrită reumatoidă, eritroblastopenie, trombocitopenie, neutropenie). Limfocitele mari granulare sau NK exprimă markeri de celule T (CD3,CD8), markeri de macrofage (OKM1) și receptori Fc γ prin intermediul cărora captează celulele-țintă învelite cu anticorpi și desfășoară *in vivo* activități citotoxice anticorp-dependente. Circa 80% din proliferările T sunt însoțite de neutropenie, care adesea este ciclică. Serurile acestor neutropenici prezintă frecvent anticorpi antigranulocitari de tip IgG fixatori de complement, atașați pe suprafața granulocitelor.

Agranulocitoza autoimună (AA) este caracterizată prin absența totală sau aproape totală în sânge a granulocitelor (nu mai mult de 0,75mil./l). Se observă neutropenii selective și panleucopenii. Au fost apreciate două variante ale AA: exogen și endogen. Primul este aparent la utilizarea medicamentelor și prezintă manifestarea alergiei. Posibil, anticorpii prin legarea cu haptenele medicamentoase fixate pe suprafața granulocitelor activează complementul care alterează granulocitele. În agranulocitoza endogenă, autoanticorpii de clasa IgG sau IgM au specificitate față de Ag membranari ai tuturor granulocitelor (anti-NA1, NA4, NB), citoplasmei și mieloperoxidazei. Clinic se manifestă prin infecții, splenomegalie. Pentru testarea anticorpilor de clasa IgG și IgM antileucocitari se utilizează reacțiile citotoxice și testul imunofluorescent. În cultura celulară a măduvei osoase se apreciază mononuclearele și factorii serici ai pacientului care inhibă creșterea coloniilor granulocitare.

Neutropenia ca o complicație se observă și în alte MA. Sindromul Felty prezintă asocierea neutropeniei, artritei reumatoide și splenomegaliei. Leucocitele leagă imens IgG și, astfel, contribuie la eliminarea lor rapidă din torentul sangvin. Pe de altă parte, în sângele pacienților au fost evidențiate mononucleare (limfocite și monocite) și factori serici care supresează maturizarea granulocitelor în măduva osoasă. În sindromul Vegener, ei sunt direcționați către serinproteazele granulelor azurofile; în artrita reumatoidă, colangite – către lactoferină; în glomerulonefrita

idiopatică, LES, vasculite – către mieloperoxidază. Clinic, neutropeniile se manifestă prin infecții ca rezultat al imunodeficienței și splenomegalie.

Limfopeniile autoimune reprezintă o complicație a infecțiilor virale, alergiilor medicamentoase și altor maladii. Autolimfocitotoxinele pot reacționa selectiv cu limfocitele T sau B. Uneori se constată anticorpi *a frigore*.

Pentru identificarea anticorpilor IgG și IgM antileucocitari sunt utilizate reacțiile citotoxice și testele imunofluorescente. În cultura celulară medulară normală se apreciază mononuclearele și factorii serici ai pacientului, care inhibă creșterea coloniilor granulocitare. Terapia se bazează pe utilizarea imunodepresantelor (glucocorticosteroidii). În cazurile severe, rezultate mai eficiente pot fi obținute la administrarea granulocitelor obținute de la un donator compatibil.

Imunopatologia maladiilor difuze ale țesutului conjunctiv

Această grupă de maladii este caracterizată de procese imunopatologice identice cu alterarea țesutului conjunctiv al diferitor organe, dar cu diverse manifestări clinice. În acest țesut se dezvoltă procesul autoimun cu alterarea patului microcirculator, dezorganizarea (tumefacția mucoidă, fibrinoidă) sistemică sau de organ. Alterarea vasculară, de regulă, este indusă de complexe imune care se leagă de endoteliu prin receptorii Fc pentru imunoglobuline cu activarea complementului ce conduce la modificarea permeabilității vasculare, plasmoragie, infiltrație perivasculară. Vasculitele au un rol major în patogenizarea acestor maladii. Comunitatea patogenică este evidentă și în manifestările clinice – febră, poliartrite, poliserozite, diverse leziuni viscerale (mioendocardite, hepatite, glomerulonefrite, limfadenopatii etc.). Sunt dereglate esențial diferite verigi ale reactivității imune: inhibiția T-supresoarelor, activarea Th1 și/sau Th2 și a limfocitelor B (sinteza imunoglobulinelor), prezența autoanticorpilor de diversă specificitate, scăderea nivelului complementului, sensibilizarea limfocitelor la autoantigeni, activarea sistemului fagocitar mononuclear, sinteza citokinelor proinflamatoare etc. Concomitent, fiecare maladie manifestă și criterii imunologice caracteristice formei nosologice concrete ce permite utilizarea lor în diagnostic. În terapia patologiei predomină remediile imunodepresante și antiinflamatoare.

Lupusul eritematos sistemic (LES)

LES este o maladie autoimună multisistemică de etiologie necunoscută, care se caracterizează prin alterarea difuză a țesutului conjunctiv și vaselor; se referă la grupa colagenozelor majore. În geneza modificării reactivității imune participă mai mulți factori: virali, genetici, hormonalii etc. Majoritatea cazurilor apar la femei (90%) cu vârsta cuprinsă între 20 și 30 de ani, în perioada ovariană activă.

LES are o prevalență cuprinsă între 15-50/100.000 de persoane și un spectru larg de manifestări de la forme limitate la piele până la afecțiuni grave, sistemice. Dezvoltarea LES este dependentă de acțiunea factorilor genetici și a celor ai mediului ambiant, care conduc la dereglări imune, modificarea autoantigenilor, pierderea toleranței și formarea răspunsului autoimun (fig. 15.2).

Predispoziția genetică este sugerată de corelația dintre anumite gene HLA de clasele II și III cu maladia clinică și anumiți autoanticorpi, constatată mai frecvent la monoziгоți, comparativ cu cei dizigoți, la bolnavii care au mai mult de un membru al familiei afectat. Deficiențele complementului și ale IgA selective se asociază frecvent cu LES. Haplotipul B8.DR3.DQw2.C4AQO predispozează la LES în populația nord europeană. Predispoziția genetică pentru lupusul indus medicamentos este dependentă de acetilarea medicamentului.

Factorii de mediu – radiațiile ultraviolete (28-37% dintre pacienți sunt fotosensibili), medicamentele (hidralazina, isoniazida, D-penicilamina, metildopa, IFN- α , contraceptivele orale etc.), agenții infecțioși (virusurile, bacteriile) pot produce exacerbări ale LES. Expunerea la razele ultraviolete (UV) constituie un factor precipitant al manifestărilor cutanate eruptive și sistemice din LES (30% dintre pacienți). Iradierea cu UV a ADN poate determina fototransformarea acestuia într-o moleculă imunogenică (UV-ADN). Prin imunofluorescență a fost evidențiată fixarea fracțiunilor imunoglobulinice și ale complementului în zonele dermice și epidermice iradiate ca fiind similară cu imunofluorescența leziunilor lupice. Multe dintre remediile medicamentoase implicate în provocarea maladii (procainamida, hidralazina) au în structura lor amine aromatice sau hidrazine. Ambele grupări se găsesc în unele toxice industriale și agricole, fiind produse intermediare în sinteza de mase plastice, anticorozive, erbicide, pesticide, material fotografic, fibre textile etc. Hidrazina se găsește în tutun și fumul de țigară. Aminele aromatice sunt prezente în alimente și în coloranții pentru păr (de unde pot fi absorbiți prin pielea scalpului). Acești factori declanșează boala mai probabil la persoanele cu predispoziție genetică. Studiul rolului factorilor alimentari în LES a demonstrat că aceștia nu au rol cauzal, dar pot modifica cursul bolii.

Alimentația hiperlipidică influențează imunitatea umorală (sinteza autoanticorpilor citotoxici de tip IgM și autoanticorpilor anti-ADN de tip IgG) și celulară (efect imunosupresor asupra celulelor NK, reducerea funcțiilor fagocitare a macrofagelor). Este posibil ca intervenția lipidelor alimentare să se facă prin intermediul acidului lipoleic, precursor al acidului arahidonic din care se sintetizează prostaglandinele și leucotrienele, importanți mediatori ai reacțiilor inflamatoare. Manipularea dietetică cu reducerea în întregime a aportului caloric induce ame-

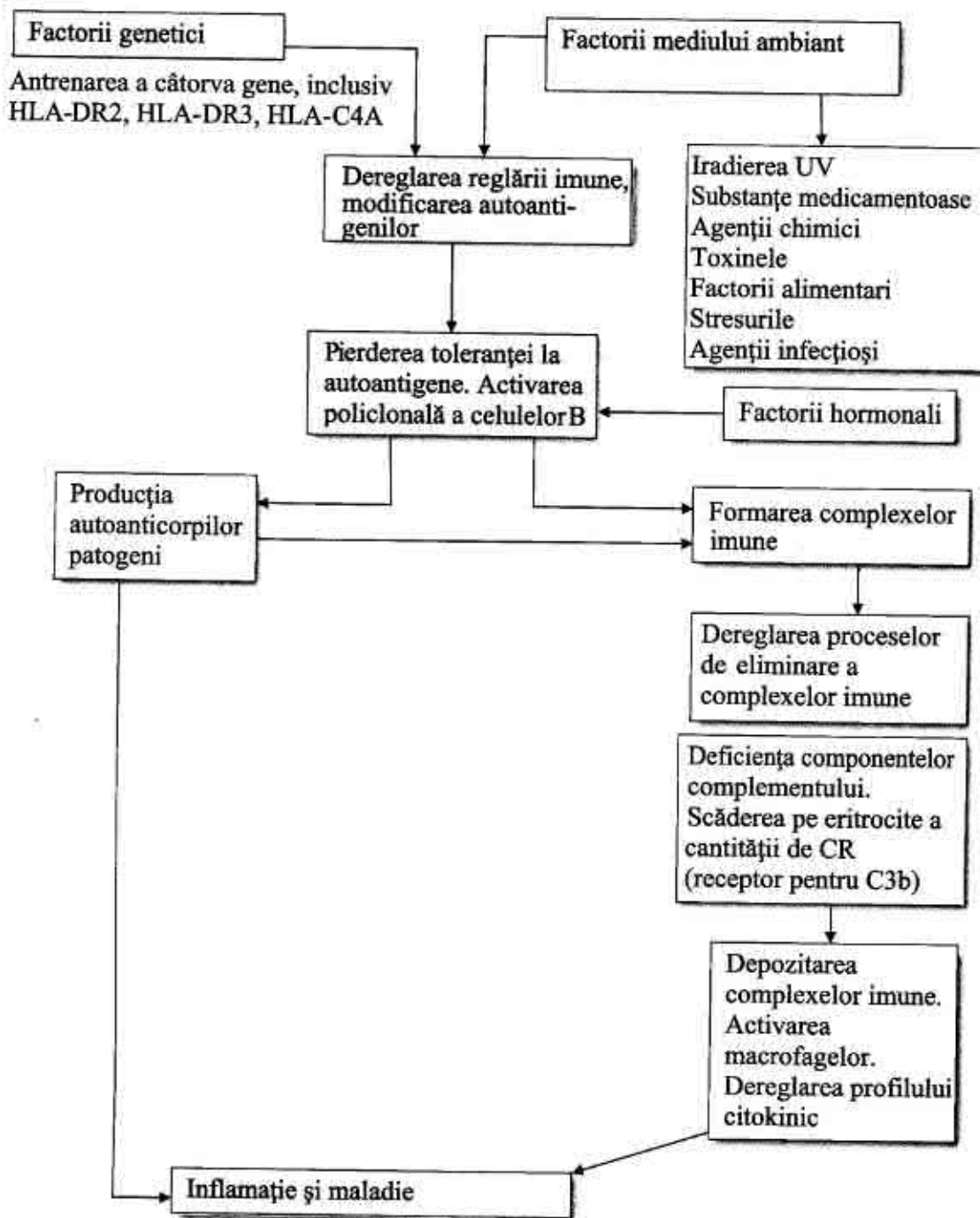


Figura 15.2. Imunopatogeneza LES (schematic)

liorări clinice ale bolii și determină normalizarea răspunsului limfocitar la mitogeni, activitate inițial diminuată. Această evoluție a fost atribuită unei reduceri a activității prostaglandinei E_2 .

Unii autori consideră că una din cauzele maladiei, posibil, ar fi integrarea genomului diferitor virusuri în ADN-ul celulelor bolnavului cu modificarea producției de citokine. În LES au fost evidențiate incluziuni tubuloreticulare în citoplasma leucocitelor și celulelor epiteliale, creșterea titrului de Ac antivirali. Titrele anticorpilor anti-virusul Epstein-Barr, influenza A și B, rujeolei, rubeolei etc. în LES sunt mai crescute, comparativ cu alte maladii. Majorarea titrului de Ac antivirali deseori este însoțită de hipergamaglobulinemie. Dereglarea controlului imunologic al „propriului” este influențată de virioni. În acest proces participă reacțiile încrucișate la Ag comuni celulelor organismului-gază, agenților bacterieni și virali.

Factorii hormonal se manifestă prin metabolismul anormal al hormonilor sexuali la bolnavii cu LES, iar estrogenii se pot lega de receptorul limfocitelor T CD8⁺ cu acțiune inhibantă. Rolul factorilor hormonal este confirmat prin prezența mai mare a LES la femeile aflate la vârste fertile. Dozările hormonale la femei cu LES evidențiază o constelație hormonală modificată, comparativ cu femeile fără boală. S-au constatat cazuri de LES agravate de sarcină (mai ales cele cu nefropatie activă) și de tratamentul estrogenic. Ansamblul acestor modificări ar fi hiperestrogenemia relativă cu hipoandrogenemia, ambele susceptibile să stimuleze limfocitele T inductoare și să slăbească funcțiile celor T-supresoare. Studiul factorilor hormonal deschide perspective terapeutice interesante, dar în același timp consolidează părerea că hormonii nu joacă un rol determinant în producerea LES, dar că aceștia pot fi un factor de agravare și de întreținere a bolii.

Factorii imunologici joacă un rol important în dereglarea statusului imun (atât indicii celulari, cât și cei umorali), care au caracter divers în diferite forme malade, având caracteristici plurifactoriale și multifuncționale.

Tabloul clinic al LES este caracterizat prin polimorfismul simptomelor de alterare sistemică a țesutului conjunctiv și a vasculitelor cu localizare organică diversă (articulații, pielea, ficatul, rinichii, tractul gastrointestinal, sistemul cardiovascular, membranele mucoaselor etc.). Diagnosticul LES este bazat pe depistarea a cel puțin 4 criterii elaborate de Asociația Americană a Reumatologilor: eritemul facial în formă de fluturaș în șanțul nazo-labial (40-64% dintre bolnavi), lupusul discoid (17-32% dintre pacienți cu eritem, hiperkeratoză, atrofie), sindromul Raynaud (17-44%), alopecia (40-72% dintre pacienți), sensibilitatea majoră la razele UV (28-37%), ulcerarea mucoaselor cavității bucale sau a celei nazofaringiene (15-43%), artrita fără deformații (84-94%), prezența celulelor LE (72-92% dintre pacienți),

reacția pozitivă la Ag cardiolipin pe parcursul a 6 luni, proteinuria pronunțată (mai mult de 3,5 g/l) la 16-30% dintre bolnavi, cilindriuria (16-48%), pleurita sau pericardita (47-60% dintre pacienți), psihoze sau crize convulsive (8-20%), anemia hemolitică (16%), leucopenia mai mică de $4 \times 10^9/l$ (40%) sau trombocitopenia mai joasă de $100 \times 10^9/l$ (11%) și limfopenia. Un criteriu important este titrul înalt al factorului antinuclear: anticorpilor anti-structuri ale nucleului celular, anti-ADN nativ, antigenul Sm. De regulă, sunt prezente proteinele fazei acute (PCR etc.). Scăderea activității hemolitice a complementului la un nivel normal al C3 indică despre deficitul altor factori ai complementului.

Dezorganizarea țesutului conjunctiv și vasculitele sunt consecința inflamației imune care apare în urma acțiunii citokinelor eliberate la interacțiunea autoanticorpilor și limfocitelor sensibilizate cu autoantigenii (ADN, nucleoproteide, histone, proteine nucleare acide, Ag microsomiali, mitocondriali și alte componente celulare). În LES sunt observate reacțiile citotoxice, ale complexelor imune, autoimune de tip întârziat cu *evoluție mixtă*. Neutrofilele participă și ele în reacțiile imune manifeste prin prezența celulelor lupice (celulele LE), care apar în urma fagocitozei patologice de către neutrofile și monocite a materialului nucleic al limfocitelor și altor leucocite alterate. Celulele lupice conțin blocuri amorfe de material nucleic (ADN) în citoplasmă (până la 10-20 dintre 1000 de neutrofile). Adeseori procesul patologic este însoțit de leucopenie, limfopenie, uneori anemie ce indică dereglarea hematopoiezei.

În LES sunt constatate diverse modificări ale reactivității imunologice (tab. 15.6). Este dereglat echilibrul funcțiilor limfocitelor Th și Ts, activitatea celulelor NK. Se constată deficit în producția unor citokine, a limfocitelor și macrofagelor. În perioada activă a maladiei scade brusc cantitatea absolută de limfocite T care reacționează cu anticorpilor monoclonali anti-CD3 și anti-CD4, comparativ cu numărul lor în perioada neactivă, când concentrația acestora poate fi normală sau majorată. Însă scăderea cantitativă a limfocitelor CD8⁺ (T-supresoare) este mai evidentă decât a CD4⁺ (T-helperi), iar indicele CD4⁺/CD8⁺ crește până la $3 \pm 1,2$ (la norma de $2,4 \pm 0,5$). În LES este majorat nivelul celulelor T activate (CD25⁺ și HLA-DR⁺). Nivelul receptorului solubil Fas (sFas) și a unui șir de citokine este majorat și corelează cu tabloul clinic al maladiei. Este crescută expresia CD40L pe limfocitele Th2, de care depinde sinteza autoanticorpilor, cu toate că secreția Ac la nucleozome (ADN-histone) este controlată de Th1.

Concomitent cu disfuncția limfocitelor T (predominarea activității Th2 asupra Th1), are loc și activarea policlonală a limfocitelor B, secreția autoanticorpilor în exces. Modificările macrofagale sunt manifeste în LES prin majorarea de 10 ori a receptorilor Fc, comparativ cu cei sănătoși. Ele se acumulează pe mem-

branele bazale și mezangiu și, posibil, aceste macrofage și complexe imune circulante activează limfocitele T. Sinteza IL-1 de către macrofage și IL-2 de către limfocitele T este scăzută, în special în LES activ. Răspunsul celulelor T la IL-1, de asemenea, este minor (aprecierea după proliferare în cultura mixtă a limfocitelor). Este inhibată expresia receptorului pentru IL-2 pe limfocitele T-helper. Hipocomplementemia (C4, C2) reflectă activitatea LES asigurată de fixarea complementului la complexe imune. Concomitent, un șir de sindroame în LES apar în urma deficienței unor componente ale complementului.

Tabelul 15.6

Perturbările imune în LES activ

Antigen-nespecifice	Antigen-specifice
Reducerea numărului de limfocite, LT, NK la pacienții cu boala activă	Anticorpii de diversă specificitate: anti-nucleari, anti-ADN, anti-nucleoproteide, anti-IgG, antilimfocitari, antimonocitari, antigranulocitari, antitrombocitari, antieritrocitari, anticardiolipină, antilipoproteină, antivirali, testați prin utilizarea reacțiilor imunoenzimatică, radioimune, imunofluorescență, de aglutinare, citotoxice, de fixare a complementului, precipitare.
Majorarea indicelui Th/Ts și a numărului de celule T activate	Sensibilizarea limfocitelor la antigenii nucleari și ADN, testată prin utilizarea reacțiilor de inhibiție a migrației, blasttransformației, prin stimularea IL-2R.
Inhibiția sintezei IL-1, IL-2, TNF- α	Efectul citotoxic al limfocitelor pacientului asupra fibroblaștilor.
Coloniile producătoare de LB crescute în măduva osoasă	Reducerea răspunsului imun al LT la antigenii solubili și Ag HLA de clasa II.
Activarea policlonală a LB, secreția de Ac în exces	Scăderea răspunsului cutanat la PPD, streptokinază și alți antigeni.
LB hiperreactive la factorii de creștere sintetizați de LT	Reacția pozitivă intradermică la autolimfocite.
Prezența celulelor LE (fagocitoza patologică)	Complexe imune (ADN-anti-ADN etc.).
Scăderea nivelului complementului, componentelor C2, C4, C3	Depunerea complexelor imune în capilarele renale și piele.
Creșterea producției spontane de citokine (IL-1, IL-2, IL-6, IFN- γ)	
Majorarea transformării blastice spontane a limfocitelor	
Scăderea răspunsului imun la mitogeni (PHA, ConA etc. și CML)	
Inhibiția transformării blastice de către serul sangvin al pacientului	
Inhibiția citotoxicității leucocitelor anti-corp-dependentă	

Rolul factorilor imuni este confirmat prin multitudinea defectelor imune testate în LES. Practic, fiecare compartiment al SI suferă diferite modificări în această maladie. Studiul imunității umorale și celulare la pacienții cu LES a demonstrat diferențe în diverse perioade evolutive ale titrului de autoanticorpi, numărului de limfocite T și B circulante sau funcției acestora. Este cert că producția de imunoglobuline este crescută la toți pacienții cu o gamă largă de autoanticorpi.

Cele mai multe anomalii constatate la bolnavii lupici interesează relațiile interlimfocitare. Reacția limfocitelor în LES activ este aproape întotdeauna deficientă, în timp ce pacienții cu boala inactivă au răspuns aproape de normă. Răspunsul defectuos în boala activă este datorat reducerii populațiilor LT. Pentru funcțiile limfocitelor B există multe elemente care pledează pentru rolul hiperactivității limfocitelor B (LB) în patogeneza LES. Multe limfocite din sângele periferic au pe membrana celulară fenotipuri indicatoare ale unei maturări sau activări anormale. Limfocitele B CD5⁺ sunt crescute, ele semnificând mai ales celule imature secretoare de autoanticorpi anti-ADN polispecifici de tip IgM. Hiperreactivitatea poate interesa și celulele mature care secretă autoanticorpi anti-ADN specifici de tip IgG. Numărul LB producătoare de imunoglobuline este crescut. Mulți dintre anticorpii sintetizați spontan de către LB din lupus sunt produse policlonale ale unor gene ce codifică sinteza imunoglobulinelor, unele reacționând cu structurile proprii (autoanticorpi), altele acționând împotriva structurilor străine (virale, medicamentoase, radiante) specifice și excesive. Posibil, că atât activarea antigen-specifică, cât și cea policlonală apar și intervin în egală măsură în LES. Această activare pare a fi determinată și strâns legată de tulburări ale funcției LT, cu eliberare de IL-5. Limfocitele B, la rândul lor, secretă numeroase citokine care activează ca factori de creștere pentru alte LB, asigurând întreținerea procesului.

Activitatea celulelor NK este diminuată, ele nu răspund sau reacționează insuficient la acțiunea activatoare a limfocitelor (IFN, IL-2 etc.). Bolnavii lupici posedă un număr normal de celule NK inactive, dar un număr mult mai redus de celule NK active, citotoxice (CD16⁺). Unele studii sugerează, că expunerea prelungită la IFN- α reduce funcția NK și că pacienții cu LES au nivel constant crescut al IFN- α .

Dereglările statusului imun în LES corelează cu manifestările clinice. Nivelul limfocitelor T după valorile lor în gradul I al maladii nu scade, în gradele II și III al maladii modificările sunt evidente (45,2 \pm 1,7% și 39,21 \pm 2,5% respectiv, comparativ cu norma 54,67 \pm 2,33%). Este crescută expresia moleculelor de adeziune pe celule. La pacienții cu LES și alterări viscerale cu predominarea sindromului articular și a manifestărilor dermice, indicii statusului imun se modifică variabil.

Anticorpul limfocitotoxic au fost evidențiați în serul a 60-88% dintre pacienții cu LES și reacționează atât cu limfocitele autologe, cât și cu limfocitele donatorilor sănătoși. Multe dintre anomaliile funcțiilor limfocitare existente în LES pot fi reproduse prin incubarea Ac antilimfocitari cu limfocitele normale. Serul majorității bolnavilor cu lupus conține un amestec de anticorpi anti-LT-specfici și anti-LB-specfici, ca și Ac cu reactivitate încrucișată împotriva unor structuri prezente atât pe suprafața LT, cât și pe suprafața LB. Ac antilimfocitari pot perturba SI pe mai multe căi, atât prin îndepărtarea celulelor-țintă (deci a limfocitelor) din circulație, cât și prin legarea de suprafața lor cu influențarea funcțiilor acestora. Acești Ac, ce acționează asupra celulelor activate, pot inhiba expansiunea clonală fie prin acțiunea asupra interleukinelor, fie asupra unor structuri moleculare de pe suprafața celulară, fapt care perturbă semnificativ SI.

Antigenii limfocitari de pe suprafața celulelor sunt primele structuri recunoscute de Ac antilimfocitari (HLA-A, -B, -C, β 2-microglobulina, unele structuri non-HLA). S-au evidențiat și reacții încrucișate, astfel încât unii Ac antilimfocitari reacționează și cu diverși constituenți ai nucleului celular, și cu unele structuri de suprafață ale sistemului nervos central. Aceștia din urmă sunt importanți în patogeneza manifestărilor neurologice în LES. Alterarea limfocitelor conduce la eliberarea materialului nucleic și ADN.

Anticorpul antinuclear. Markerii serologici ai LES sunt Ac îndreptați împotriva unei varietăți largi de componente nucleare – Ac antinucleari (AAN). Studiile imunoelectronomicroscopice au demonstrat că epitopii se găsesc în cromatina organizată în nucleosomi, în matricea nucleară și în nucleoli. Anticorpul anti-nucleohistone (complexe nucleoproteice formate între ADN și histone) au fost primii autoanticorpi descoperiți la pacienții cu LES și s-a demonstrat că răspund de fenomenul lupic. Ulterior s-au evidențiat o multitudine de Ag nucleari și perinucleari care induc sinteza de autoanticorpi.

Semnificația patogenică a multora dintre acești Ag este încă discutabilă, dar Ac anti-ADN joacă sigur un rol în leziunile determinate de complexe imune (tab. 15.7).

Ac anti-ADN se pot lega și de structuri non-ADN, ca fosfolipide, proteoglicani, IgG, diverse proteine nucleare, elemente ale citoscheletului și diverși antigeni celulari de suprafață; posibil că Ac anti-ADN reprezintă răspunsul la un imunogen care este altul decât ADN-ul în sine. Anticorpul anti-ADN pot fi patogeni prin interacțiunea lor cu alți Ag, de exemplu prin legarea de membranele bazale sau prin formarea de complexe imune cu material non-ADN.

Anticorpul anti-ADN dublu catenar (dsADN) sunt întâlniți cu predilecție în sângele bolnavilor cu LES, iar cei monocatenari (ssADN) sunt adesea înregistrați și în alte maladii autoimune.

Autoanticorpii în LES

Antigen	Frecvența	Alte boli	Asocieri clinice	Asocieri și reacții încrucișate
ADN nativ (dsADN)	> 80%	Rar, caracteristic LES	Boala renală și a sistemului nervos central	Trombocite
ADN denaturat (ss-ADN)	90 %	Frecvent în bolile reumatologice		Heparin sulfat, proteoglicanii, trombocite, histone
IgG (factor reumatoid)	30%	Poliartrită reumatoidă		Ro-SS-A La-SS-B
Ro-SS-A	30-50%	Sindromul Sjögren Lupusul neonatal Lupusul cutanat subacut Bloc atrioventricular complet congenital	Boala renală, cutanată, pulmonară; defect C2	Factor reumatoid
La-SS-B	15%	Sindromul Sjögren		Ro-SS-A
Sm	35%			UIRNP
UIRNP	50%		Boala sistemului nervos central	
Histone	70%	Lupusul medicamentos		
Lipide (cardiolipin)			Accident vascular cerebral, avorturi, coree	Fosfolipide, ADN
Hematii	10-50%	Anemia hemolitică autoimună	Anemie	ADN
Trombocite	60%	Purpura trombotică trombocitopenică	Hemoragii	
Limfocite (în special LT)	50%		Limfopenie	
Proteina P ribozomală			Psihoze, depresii	
Celule neuronale	40%		Boala neurologică	
Leucocite			Leucopenie	
Fosfolipide	30-40%		Tromboze, avorturi recidivante	

Atât timp cât Ac anti-ADN au o acțiune antilimfocitară, antineuronală și anticardiolipinică, se pare că răspunsul imun în LES este mult mai monomorf decât s-a crezut, deși prezența acestor Ac în serul bolnavilor cu LES,

obligatorie și extrem de caracteristică pentru boală, nu este suficientă pentru a pune acești Ac în centrul patogenezei lupusului. Au fost identificate mai mult de 20 de idiotipuri de Ac anti-ADN, deși consecințele clinice ale lor rămân elucidate incomplet. Studiile seriale asupra unor Ac anti-nucleoproteine evidențiază relații clare între concentrația lor serică și activitatea bolii. Titrul Ac anti-dsADN se corelează cel mai bine cu hipocomplementemia și nefrita activă. Acești Ac pot fi atât IgG, cât și IgM. Există și alte diferențe de ordin calitativ între acești autoanticorpi, în așa fel încât cei care precipită și leagă ADN-ul au șanse mai mari să producă nefrită, decât Ac care numai precipită ADN-ul dar nu formează complexe imune solubile. De asemenea, Ac anti-ADN care determină mai frecvent nefrita sunt mai ales din categoria celor fixatori de complement.

La testarea imunofluorescentă după prelucrarea nucleului celulelor cu serul sangvin al pacienților cu LES acut activ sunt observate 5 tipuri de fluorescență: *periferică inelară*, în regiunea membranei nucleului, indusă de Ac anti-ADN la pacienții cu LES acut activ; *omogenă*, frecvent înregistrată și indusă de Ac anti-nucleoproteide; în formă *de pete grosolane*, caracteristică LES, iar *pete mai mici* – pentru sclerodermie și sindromul Sharp; prioritar în *regiunea nucleozilor*, constatată în LES, sclerodermie, mai rar în dermatomiozite, limfosarcoame (Ac anti-ARN); *extranucleare*, observată uneori în prezența Ac anti-ADN. Anticorpul care leagă ADN sunt înregistrați la 46-100% dintre bolnavii cu LES în funcție de metoda și preparatul ADN. Mai importanți pentru diagnostic sunt Ac anti-ADN dublu catenar și cea nativă. Ei fixează complementul și sunt caracteristici pentru formele active ale LES (46-96% din cazuri), în formele neactive sunt apreciați în 36% din cazuri. La bolnavii cu LES în 91-94% din cazuri sunt apreciați anticorpii la ADN denaturat, caracteristici nefritei lupice. Dar acești Ac pot fi înregistrați și la persoanele aparent sănătoase.

Deși metoda imunofluorescenței indirecte este foarte sensibilă, ea posedă specificitate minoră, fiind utilizată în cercetări de screening.

Autoanticorpii anti-ADN se înregistrează mai frecvent la pacienții cu LES (anti-dsADN și anti-ssADN). Pentru testarea lor sunt utilizate metodele imunoenzimatică, radioimune și imunofluorescente. Autoanticorpii anti-ssADN sunt testați în diverse maladii inflamatoare și autoimune, de aceea aprecierea lor are informație diagnostică minoră, pe când titrele înalte de autoanticorpi anti-dsADN sunt specifice (98%) pentru LES și frecvent reflectă activitatea procesului malativ. Dar anticorpii sunt testați doar în 60% din cazuri la pacienții cu LES. Autoanticorpilor anti-dsADN le revine rolul patologic în dezvoltarea LES, iar prezența lor deseori este asociată cu antrenarea timpurie a

rinichilor în procesul patologic. Testarea lor este indicată pentru monitorizarea evoluției maladiei și eficacitatea terapiei.

Autoanticorpii anti-Sm (10-30% din cazuri) și anti-U1-RNP (40-50% din cazuri), ultimii fiind evidențiați la pacienții cu LES asociat cu sindromul Raynaud și miozită sau sclerodermie și polimiozită. De regulă, la pacienții cu autoanticorpi anti-U1-RNP nu se apreciază Ac anti-dsADN, maladia de bază are o evoluție ușoară, alterarea renală se înregistrează rar.

Altă grupă de ribonucleoproteine nucleare mici (Ro-SS-A și La-SS-B) sunt legate cu ARN-polimeraza III. Antigenul Ro-SS-A este o proteină care se asociază cu unul din cele 5 nucleoproteine citoplasmatică; antigenul La-SS-B primar a fost testat în citoplasma pacienților cu LES asociat cu sindromul Sjögren. Expresia acestor Ag variază în funcție de stadiul ciclului celular, iar localizarea lor poate fi în citoplasmă sau nucleu. Producția autoanticorpilor anti-Ro-SS-A și La-SS-B este asociată cu prezența anumitor Ag în locusul HLA-DQ. Anticorpii anti-Ro-SS-A și anti-La-SS-B se testează în LES în 25-40% și 10% din cazuri, respectiv. Ac anti-Ro-SS-A pot fi testați în absența celor anti-La-SS-B, pe când ultimii pot fi înregistrați numai împreună cu Ac anti-Ro-SS-A. Pacienții care posedă Ac anti-Ro-SS-A mai frecvent au fotosensibilitate, simptome manifeste ale sindromului Sjögren, factorul reumatoid și hipergamaglobulinemie. Ac anti-Ro-SS-A pot fi testați la persoanele sănătoase (3%) și la rudele pacienților cu MA.

Interpretarea diagnostică a titrelor anticorpilor antinucleari este dificilă, deoarece în diferite laboratoare diluția serului cercetat variază, iar la recalcularea ulterioară se obțin diverse rezultate. Este utilă următoarea interpretare pentru aprecierea informației diagnostice: dacă titrul Ac în serul sangvin al pacientului depășește nivelul seric al persoanelor sănătoase (de control), rezultatele vor fi considerate dubioase (de exemplu, titrul Ac serici în mostra de control este 1:16, iar cel în proba cercetată 1:32 și chiar 1:64). Informația diagnostică a acestora pentru diagnosticul maladiei va crește odată cu majorarea titrului. Cca 2% din populația sănătoasă posedă acești Ac în titre minore.

Diagnosticul poate fi ușor stabilit în cazul când pacientul are cel puțin 4 simptome tipice, cum ar fi erupția caracteristică, trombocitopenia, serozita sau nefrita, Ac anti-nucleari. În cazurile dificile frecvent întâlnite în practică cu manifestări de artralgie, manifestări neurologice slabe, erupții cutanate sau fenomenul Raynaud în anamneză și testul slab pozitiv la Ac antinucleari este necesară monitorizarea clinică și paraclinică a pacientului. Ca criteriu suplimentar imunogenic pentru verificarea diagnosticului în unele cazuri se utilizează testarea fenotipului HLA. Este constatat faptul că producția unor anticorpi la pacienții cu LES este asociată cu anumiți Ag HLA (tab. 15.8).

În cazul LES medicamentos, autoanticorpii au unele particularități: Ac antinucleari, dacă sunt depistați, denotă o luminiscentă omogenă la cercetările imunofluorescente; de regulă, nu se apreciază Ac antihistone, Ac anti-dsADN.

Anticorpii antifosfolipidici sunt înregistrați în LES în 30% din cazuri, fiind cauza complicațiilor tromboembolice (ictus, tromboza venei portale, tromboflebită, embolia arterei pulmonare etc.).

Tabelul 15.8

Asocierea autoanticorpilor serici și a markerilor imunogenetici în LES

Anticorpii	Antigenii HLA
Anti-dsADN	DR2, DQB1
Anti-Sm	DR2, DQw6
Anti-RNP	DR4, DQw8
Anti-Ro și La	DR3, DQw2.1

Prezența autoanticorpilor serici la pacienții cu LES în mare măsură apreciază evoluția maladiei. Riscul apariției complicațiilor tromboembolice este mai mare în cazurile când concomitent cu Ac antifosfolipidici se apreciază dereglări funcționale în sistemul de coagulare sangvină. Prezența Ac antifosfolipidici poate fi cauza reacției pozitive la Ag cardiolipin. Dacă se constată rezultatul pozitiv al acestei reacții fără cauză evidentă, trebuie suspectată prezența Ac antifosfolipidici ca criteriu timpuriu al LES.

Prezența Ac antifosfolipidici la femei (inclusiv, fără LES) poate fi cauza avorturilor spontane. Dacă în anamneza femeii se constată avorturi repetate în trimestrul II de graviditate este necesară testarea acestor Ac.

Titrul *crioglobulinelor* în ser este strâns legat cu activitatea LES și cu hipocomplementemia. Aceste crioglobuline conțin IgG, IgM, fragmente ale complementului (C1q, C4, C3). IgM au activitate de factor reumatoid, iar crioproteinele izolate fixează complementul *in vitro*. În crioglobulinele din LES s-au evidențiat Ac diverși: anti-ADN dublu catenar (dsADN), monocatenar (ssADN), antiribonucleoproteine (n-RNP). Unele crioprecipitate conțin Ac anti-ADN legați de alți autoanticorpi și, probabil, reprezintă complexe imune de tip izotip-antiizotip.

În patogeneza LES, o importanță majoră au diferite complexe de Ag-Ac, în special ADN-anti-ADN. Ele sunt prezente permanent în sângele pacienților în formele active ale LES și reacționează atât cu leucocitele, cât și cu membranele bazale ale epitelului și endoteliului vaselor, inducând leziuni tisulare.

Mărimea și solubilitatea acestora, concentrația și abilitatea de a lega și activa complementul sunt caracteristici importante. Depășirea capacității de clearance a sistemului macrofagal conduce la depunerea lor tisulară. Rata clearance-lui este mai prelungită la pacienții cu LES activ. Pe de altă parte, pacienții cu defect genetic C2 și C4 dezvoltă adesea boli prin depozitarea complexelor imune, deoarece defectul de sinteză a C2b duce la alterarea eliminării complexelor. Cei mai implicați în clearance-ul CIC sunt receptorul C3b/4b sau de tipul 1. Mastocitele, celulele podocitare glomerulare și majoritatea celulelor circulante (mai ales hematiile) au receptori C3b. Celulele bolnavilor cu LES au o reducere importantă a numărului și funcției receptorilor, fie determinată genetic, fie dobândită. Imposibilitatea acestor celule de a lega complexe imune poate determina o creștere a acestora în circulație, a afluxului către ficat și splină cu supraîncărcarea și disfuncția sistemului mononuclear-fagocitar.

Complexele imune se leagă cu celulele inflamatoare și stimulează secreția de citokine și mediatori vasoactivi (histamină, serotonină) care cresc permeabilitatea vasculară și favorizează depunerea complexelor în pereții vasculari prin lărgirea spațiilor interendoteliale.

Pacienții cu LES au risc major de apariție a complicațiilor infectoase, mai frecvent la cei cu alterări renale și neurologice favorizate de leucopenie, disfuncția granulocitelor, scăderea nivelului complementului.

În concluzie, atât factorii genetici, cât și cei de mediu sunt implicați în patogeneză LES, determinând alterări imune complexe. Chiar dacă hiperreactivitatea LB este constantă determinând hipergamaglobulinemia și sinteza de autoanticorpi, debutul modificărilor pare a fi mai degrabă la nivelul LT cu pierderea memoriei reglării șelf, fapt ce determină proliferarea de clone LT-helper și de LB ce sintetizează autoanticorpii. Odată aceste elemente apărute, distorsiunea mecanismelor homeostatice susține și întreține hiperreactivitatea LB. Lezarea propriu-zisă se realizează prin intermediul complexelor imune circulante și a autoanticorpilor.

Diagnosticul de laborator al LES include testarea diferitor indici cu diverse semnificații diagnostice. Investigațiile de laborator ale pacientului cu LES denotă diverse perturbări hematologice (anemie hemolitică, leucopenie, limfopenie), imunologice (celulele LE, Ac anti-dsADN, anti-Sm, anti-cardiolipin, Ac antinucleari în titre crescute etc.) și biochimice (proteinurie etc.) care sunt consecința directă a maladiei sau sunt rezultatul terapiei. Multe teste (de exemplu, nivelul imunoglobulinelor, complementului, prezența autoanticorpilor) nu au informație diagnostică de sine stătătoare și necesită interpretare în context cu tabloul clinic individual. Prezența autoanticorpilor circulanți în sânge se consideră un criteriu imunologic caracteristic LES, care în mare măsură apreciază particularitățile cli-

nice ale maladiei, având fie un rol distructiv direct asupra celulei, fie prin inducția disregulatorie imună care conduce la dezvoltarea maladiei.

Anticorpii antinucleari reacționează cu Ag nucleari, se testează la 95% dintre bolnavi. Mai eficient ei sunt depistați prin utilizarea metodei imunofluorescente indirecte cu folosirea în calitate de substrat a diferitor celule (HEP₂ etc.). În acest caz este important de a aprecia caracterul fluorescenței (omogen, inelar sau granular). Luminiscență omogenă induc autoanticorpii anti-dsADN, anti-histonele și anti-dezoxiribonucleoproteinele, iar luminiscență granulară – autoanticorpii anti-Sm, U1-RNP, Scl-70, Ro-SS-A, LA-SS-B etc. Luminiscența inelară este identificată la un număr minor de pacienți cu LES complicat cu hepatite, citopenii, vasculite.

Imunoterapia specifică nu este elaborată. În stadiile de debut se utilizează remediile antiinflamatoare nesteroidiene (salicilate, brufen, indometacin etc.), dar în formele severe metoda de bază terapeutică este utilizarea de lungă durată a glucocorticosteroizilor. În cazurile de ineficiență se administrează imunodepresante (ciclofosfamida, azotioprina sau ciclosporina A). Eficacitate imunodepresivă majoră posedă Mofetil Micofenolat. Au fost obținute rezultate pozitive după cura de terapie cu administrarea imunoglobulinei i.v.

Prognosticul este bun la pacienții cu lupus indus medicamentos și nefavorabil la afectarea renală și cu leziuni la nivelul sistemului nervos central. Profilaxia maladiei este nespecifică, fiind direcționată la depistarea precoce a bolii și prevenirea acutizărilor. Bolnavilor li se recomandă evitarea factorilor provocatori (vaccinarea, seroterapia, iradierea UV etc.) și respectarea terapiei administrate.

Sclerodermia (scleroza sistemică – SSc) este caracterizată prin fibroza generalizată ca o consecință a dezorganizării țesutului conjunctiv. Maladia se întâlnește de 3 ori mai frecvent la femei, iar în etiologia ei se presupune participarea virusurilor și rolul factorilor ereditari (asocierea cu HLA-A9, -B8, -B27, -DR5, -DR8, -DR11, -DR52). O importanță majoră are dereglarea biosintezei colagenului. Boala are caracter cronic, cu manifestări clinice care interesează pielea (sclerodermia, pierderea elasticității, aspectul imobil al feței etc.) și alte viscere (artralгии, mialгии, afecțiuni esofagiene, hepatice, pulmonare, cardiace).

Chiar în ariile pielii sănătoase, lângă focarele de scleroză se constată infiltrația perivasculară cu limfocite, prioritar CD4⁺ și macrofage. În sânge nivelul IL-2, IL-4, IL-6, receptorilor pentru IL-2 și adenoindezaminază este majorat, ceea ce indică activarea Th și progresarea procesului. De asemenea, este crescut nivelul TNF- α , IL-1, moleculelor libere de adeziune (ICAM-1, selectina P). Citokinele activează fibroblaștii, care la rândul lor le și secretă. Crește sinteza colagenului, fibronectinei, glicozaminoglicanilor de către fibroblaști.

O dată cu formarea colagenului de tip I, tip III există fibroblaști cu collagen de tip VI, tip VII, ultimul fiind componentul fibrelor care asigură legătura dintre

epidermă și dermă și conduc la indurația pielii și la fibroză. Apar trombovasculite, sindromul Raynaud, afectarea pielii și a organelor interne. O variantă a patologiei este sindromului CREST care include calcinoză, sindromul Raynaud, esofagita, sclerodermia, teleangiectazia.

Modificările imunologice sunt cele autoimune. Sunt depistați autoanticorpii antinucleari (80% din cazuri), antifosfolipide, anticorpi anti-Scl-70 (70% din cazuri), anti-ARN polimeraze (I, II, III), anti-colagenul tip I, IV, factorul reumatoid inclusiv anti-IgE, Ac anti-centromeră (sindromul CREST), limfocitotoxine, hipergamaglobulinemia policlonală, complexe imune. Mai specifici sunt Ac anti-ribonucleoproteina U₃ (fibrilarina). Scade nivelul limfocitelor T, răspunsul imun la PHA, ConA, numărul de celule NK, dar perturbările imune nu corelează cu tabloul clinic al maladiei.

Dermatomiozita este manifestă prin inflamația mușchilor striati și a pielii, mialgie, slăbiciune musculară, febră, dermatită eritematoasă, erupții de culoare violetă periorbital și pe suprafețele articulațiilor interfalangiene, anemie, majorarea VSH și PCR, majorarea nivelului de enzime musculare (creatininfosfokinazei, aspartataminotransferazei etc.). În biopsatul țesutului muscular sunt infiltrate de limfocite și neutrofile, perivascular – infiltrate de limfocite B, fibrilele musculare degenerază.

Modificările imunologice au același caracter ca și în alte maladii autoimune, dar sunt mai puțin manifeste. În 75% din cazuri se depistează anticorpi anti-mioglobulină, de asemenea celulele LE, anti-Scl-70, factorul reumatoid (FR), hipergamaglobulinemia, sensibilizarea limfocitelor la Ag fibroblaștilor și celulelor musculare etc. Scade nivelul complementului. Terapia include corticosteroizi, imunodepresante și imunoglobuline i.v.

Sindromul Sjögren este o exocrinopatie disimună, lent progresivă, caracterizată prin infiltrarea limfocitară a glandelor exocrine. Se înregistrează mai frecvent la femei în jurul vârstei de 50 ani (F/B 9:1). Include simptomatologii tipice: keratoconjunctivită (sindrom sicca) și xerostomie (uscăciune în gură), artrită reumatoidă și se manifestă prin parotidite, uscăciunea mucoaselor, infiltrarea glandelor lacrimale, salivare, mucoaselor cu limfocite, artralgie și artrite. Este asociată cu HLA-B8, -DR3, -B18, -DQ2. Mecanismul patogenetic rezidă din 2 fenomene autoimune principale: infiltrarea cu limfocite a glandelor exocrine și hiperreactivitatea LB. Este scăzută secreția lichidului lacrimal (fișa hârtiei de filtru inoculată în sacul conjunctival inferior se îmbibă doar până la 5 mm, în norma de 10-15 mm), se micșorează cantitatea salivei, se observă eroziunea corneei (colorare cu bengal roz). În sânge se constată leucopenie, hiperimunoglobulinemie, crioglobuline, FR (75-90% din cazuri), factorii antinucleari, anti-Ro/SS-A, anti La/SS-B (50-75%), Ac anti-duct salivare (50%), antitiroglobulină, mucoasa gastrică, sensibilizarea limfocitelor T la Ag glandelor salivare. Prezența anticorpilor Ro/SS-A și La/SS-B

se asociază cu un prognostic nefavorabil, acești Ac având legătură cu un debut mai precoce, o durată mai lungă a maladiei și manifestări extraglandulare (limfadenopatie, purpură, vasculită). În jurul celulelor epiteliale care suportă apoptoza sunt limfocite CD8⁺ cu molecule de integrine CD-103, de asemenea, aglomerate de perforine și granzime – molecule ale citolizei. Este scăzută cantitatea de celule T și coraportul CD4/CD8. Diagnosticul se bazează pe manifestările clinice (keratoconjunctivita sicca, xerostomie, artrita reumatoidă), examenul histopatologic al glandelor salivare minore din mucoasa labială și datele imunologice. Terapia include administrarea corticosteroizilor, remediilor imunodepresive, stimulatoare ale secreției etc.

Periarteriita nodoasă este una dintre manifestările vasculitelor însoțită de febră, scădere ponderală, cefalee, mialgie. Simptomul caracteristic pentru această patologie este vasculita sistemică necrozantă a arterelor mici și medii, în special a organelor interne (rinichii etc.). Se întâlnește varianta maladiivă micropoliangeita.

Pentru diagnostic o importanță majoră au manifestările clinice, datele angiografiei, biopsiei nodulilor și mușchilor; sunt apreciate infiltrate neutrofile ale peretelui vascular, depuneri de complexe imune cu HBsAg, Ac anti-C3 ai complementului, leucocitoză, hipergamaglobulinemia, Ac antinucleari, FR, Ac anti-cardiolipină, anti-citoplasma neutrofilelor; la 30% dintre bolnavi se testează HBsAg în sânge și Ac anti-HBsAg. Terapia este adresată corticosteroizilor și imunodepresantelor.

Sindromul Churg-Strauss (angeita eozinofilică) este o vasculită sistemică cu alterarea prioritară a arterelor mici pulmonare, eozinofilie, asociată deseori cu astmul bronșic, infiltrate pulmonare fugace. Frecvent este afectată pielea (erupții), cordul, rinichii, tractul gastrointestinal, nervii. Sunt testați Ac la mieloperoxidază. Tratamentul este adresat corticosteroizilor și imunodepresantelor.

Granulomatoza Wegener este caracterizată prin vasculită granulomatoasă necrozantă a arterelor și venelor mici ale pulmonilor, sinusurilor paranazale, nazofaringelui, asociată cu glomerulonefrită focală sau extracapilară progresantă. În 52% din cazuri se constată afectarea oftalmică, în 46% – a pielii. Biopsia pulmonilor, rinichilor stă la baza confirmării diagnosticului. Sunt apreciate complexe imine, anticorpi la proteinaza-3 a neutrofilelor, este majorat nivelul IgA, FR. Terapia include imunodepresante.

Maladia Kawasaki, observată la copii, se manifestă prin febră, limfadenită cervicală, alterarea pielii, edem, hiperemia mucoaselor. În 25% din cazuri apar anevrismele arterelor coronare pe fundalul arteritelor. Reacția imună alterează endoteliul. În terapia patologiei se utilizează aspirina, IgG intravenos.

Maladia mixtă a țesutului conjunctiv (sindromul Sharp) include simptome ale sclerodermiei, polimiozitei și altor maladii autoimune. La toți bolnavii

vii se constată titre înalte de anticorpi anti-ribonucleoproteina U1 (complexul proteinei cu ARN nuclear U1), care au analogie antigenică cu unele retrovirusuri și anticorpi anti-ENA (Ag nuclear extractibil). În sclerodermia sistemică, acești Ac se întâlnesc rar (5-10%). Clinic se manifestă prin edemul mâinilor, sinovită, miozită, fenomenul Raynaud etc.

Maladia Behçet se caracterizează prin afectarea diferitor organe (piele, ochi, mucoase, sistem nervos, sinovială, rinichi etc.). Mai frecvent se înregistrează stomatită aftoasă recidivantă, alterarea mucoasei oftalmice și a organelor sexuale. Este asociată cu HLA-B5 și HLA-DR5. Mucoasele ulcerate sunt consecința vasculitelor. Se înregistrează iridociclita, corioidita, nevrita nervilor optici, tromboza vaselor retinei și a unor vene superficiale și profunde. În proces pot fi antrenate articulațiile talocrurale, geniculare, sistemul nervos central. Pe piele apar erupții, edeme nodoase, foliculite, se constată sensibilitatea majorată la iritanți. În sânge se atestă leucocitoza, crește VSH, PCR, CIC, sunt testați anticorpi la epiteliul mucoaselor cavității bucale. Terapia include corticosteroizi, imunodepresante.

Imunopatologia artritei reumatoide (AR)

Artrita reumatoidă este o maladie inflamatorie cronică autoimună caracterizată prin alterarea prioritară a articulațiilor și dezvoltarea visceropatiilor. Este una dintre cele mai răspândite maladii cu alterarea articulațiilor (0,3-2% din populația globală). Mai frecvent se înregistrează la vârsta de 35-45 de ani, predominant la femei (3:1). Susceptibilitatea genetică a bolii este argumentată de agregarea familială a maladii și de corelarea semnificativă cu un anumit tip HLA, care diferă în funcție de zona geografică și de rasă (incidența maximă a HLA-DR4 la populația caucaziană – 60-70% și HLA-DR1 la israelieni). Maladia este cauza invalidizării timpurii și a mortalității. Se caracterizează prin sinovită inițial exsudativă, ulterior proliferativă nesupurativă cu localizare periferică.

Manifestările clinice caracteristice AR sunt alterarea simetrică a articulațiilor mici ale mâinilor și picioarelor exprimată prin algii, edem și redoare matinală. Pentru stabilirea diagnosticului, Asociația Americană a Reumatologilor a elaborat următoarele criterii:

1. Redoare matinală cu durată de o oră și mai mult cel puțin 6 săptămâni.
2. Tumefierea a minimum 3 articulații de cel puțin 6 săptămâni.
3. Tumefierea articulațiilor mâinii (interfalangiene proximale, metacarpofalangiene, carpiene) de minim 6 săptămâni.
4. Tumefierea simetrică a articulațiilor.
5. Noduli reumatoizi (subcutanați) pe suprafețele extensoare.
6. Modificări radiologice (eroziuni, osteoporoză).
7. Prezența factorului reumatoid.

Diagnosticul de AR necesită prezența minimum a 4 criterii. AR se caracterizează și prin simptome extraarticulare frecvente, care complică evoluția maladiei (hematologice – anemie, neutropenie, hipergamaglobulinemie; dermice – vasculite, ulcerări; oftalmice – sclerită, episclerită, uveită, cataractă etc.; neurologice – motorie periferică, mononeuritis multiplex etc.; pulmonare, ale cordului, rinichilor etc.).

Etiologia AR este necunoscută. Cu mare probabilitate în acțiune de triggeri sunt implicați mai mulți antigeni (virali, în particular virusul Epstein-Barr, micoplasmele, streptococii, chlamidiile etc.). Dintre acești factori infecțioși virusul Epstein-Barr (VEB) este mai mult studiat cu demonstrarea existenței în serul pacienților în 86% din cazuri a unor anticorpi anti-antigeni nucleari ai celulelor infectate cu VEB, care s-au dovedit similari cu Ac anti-EBNA; virusul este un activator policlonal al limfocitelor B cu stimularea producției de imunoglobuline (inclusiv factorul reumatoid). Acești bolnavi au un număr crescut de limfocite B circulante infectate viral și păstrează mult timp virusul în căile respiratoare; limfocitele B au pe membrana lor receptori pentru VEB. Există ipoteze conform cărora agenții infecțioși mai frecvent înregistrați în AR posedă epitopi de antigenitate încrucișată cu Ag membranei sinoviale a gazdei (mimicria antigenică). Depunerea complexelor imune în membranele sinoviale induce producția factorilor proinflamatori care inițiază și mențin inflamația articulară (complement, kinine, sistemul coagulant și fibrinolitic, enzimele lizozomale, produsele metabolice ale acidului arahidonic).

Imunopatogenia AR. Studiul aspectelor de patogeneză este strâns legat de modificările suferite de membrana sinovială. Trecerea acesteia de la stadiul inflamator exsudativ la cel proliferativ-infiltrativ presupune participarea unui număr mare de celule și sisteme biologice a căror linie de acțiune unterferează (fig. 15.3).

Referitor la inițierea procesului imunopatologic s-au conturat anumite ipoteze, care:

- incriminează un agent infecțios exogen ca antigen primar (direct sau prin antigenitate încrucișată)

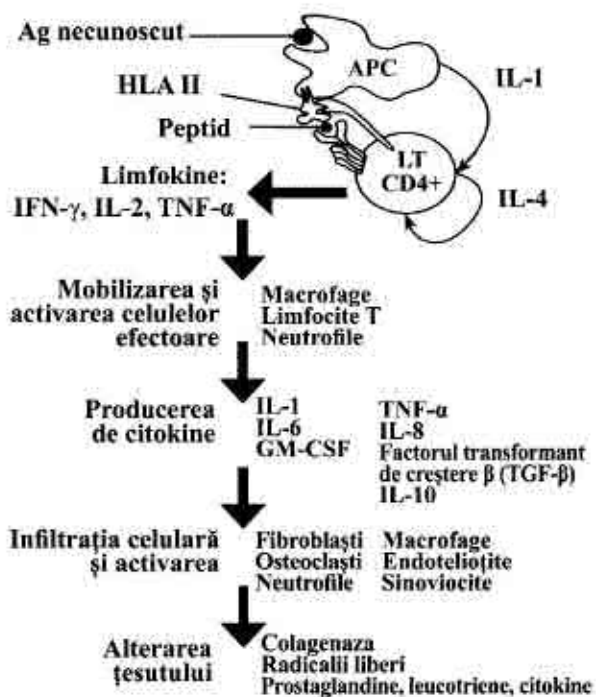


Figura 15.3. Patogeneza imună a artritei reumatolde

asociat unui teren genetic particular;

- propun ca antigen inițial IgG anormală;
- presupun, ca factor inițiator, perturbarea mecanismelor de reglare a proceselor imune (dezechilibrul activității helper/supresor, rezultat din alterarea transcriptazei structurilor nucleare ale populației limfocitare).

Actualmente este acceptată ipoteza, conform căreia etapele primare de dezvoltare a AR sunt legate de răspunsul imun al limfocitelor T la antigenul primar exogen. Antigenul inițiator este procesat de celulele antigen-prezentatoare (macrofage, celulele dendritice, limfocitele B și chiar condrocite) și prezentat limfocitelor T-helper ($CD4^+$) în complex cu moleculele HLA. După recunoașterea Ag, limfocitele T activate produc limfokine (IL-2, IFN- γ , TNF- α) care, la rândul lor, stimulează alte celule limfoide și monocitar-macrofagale. Acestea, prin eliberarea unei cantități majore de citokine și factori de creștere, activează fibroblaștii, osteoclaștii, neutrofilele, macrofagele, proliferarea celulelor endoteliale. Toate acestea asigură inflamația cronică a membranei sinoviale, distrucția cartilajului și oaselor și generalizarea ulterioară a sinovitei.

Astfel, modificările timpurii aparente în AR sub influența citokinelor includ proliferarea celulelor membranei sinoviale, formarea vaselor noi în stratul subsinovial.

Limfocitele T ($CD4^+$) dețin rolul central în dezvoltarea inflamației reumatoide, fapt argumentat de:

- predominarea celulelor T ($CD4^+$) în membrana sinovială reumatoidă, care în condiție de normă sunt absente în acest substrat;
- artrita experimentală, care poate fi indusă animalelor prin inocularea T-helperilor de la individul bolnav;
- în artritele reactive umane (de ex., în infecțiile chlamidiene) în articulații au fost apreciate celule T specifice la antigenul chlamidian;
- ameliorarea clinică a pacienților cu AR postterapeutică cu scăderea cantitativă a limfocitelor T (drenarea ductului limfatic toracic, limfocitofereza, iradierea totală limfoidă).

Cercetările realizate la pacienții cu AR au demonstrat că limfocitele T ($CD4^+$) care infiltrază membrana sinovială sunt purtătoare ale markerilor de activare (Ag HLA-DR și receptori pentru IL-2), produc citokine (IL-2, IFN- γ , TNF- α) ce semnifică apartenența lor la subpopulația limfocitelor T-helperi de tip 1. În lichidul sinovial au fost testate atât citokinele proinflamatoare (IL-1, TNF, IL-2, IL-6), cât și cele antiinflamatoare (IL-10, TGF- β).

TNF- α posedă activitate majoră și poate induce sinteza altor citokine, interacționând sinergic cu ele asupra endoteliului condrocitelor, osteoclastelor și celulelor fagocitare. Prezența IL-6 și IL-10 contribuie la activarea și diferenț-

erea limfocitelor B în plasmocite cu sinteza ulterioară a unei cantități mari de anticorpi (FR).

Factorul reumatoid (FR) prezintă anticorpi (IgM, IgG și IgA) cu activitate anti-fragmentul Fc al IgG. În cercetările de rutină este apreciat FR care se referă la clasa de IgM. El nu este criteriul specific al AR, prezența lui fiind înregistrată și în alte maladii cronice și autoimune (de ex., LES). Uneori FR se înregistrează și la persoanele sănătoase, dar persistența FR poate fi un criteriu timpuriu de dezvoltare a AR. Concomitent, prezența FR se consideră ca criteriu de prognostic nefavorabil.

La pacienții cu AR pot fi depistați și alți anticorpi, de ex. factorul antiperinuclear, anticheratin, care sunt mai specifici pentru AR decât FR, apar precoce și denotă asociere cu evoluție mai gravă și prognostic defavorabil. În lichidul sinovial al articulațiilor alterate se apreciază un nivel înalt de complexe imune, în componența cărora se găsește FR. Aceste complexe imune activează sistemul complementului ce conduce la mobilizarea neutrofilelor în focarul inflamator, activarea fagocitozei, eliberarea enzimelor proteolitice, prostaglandinelor, radicalilor liberi ai oxigenului, leucotrienelor. În final, are loc distrucția cartilajului susținută de autosensibilizarea la colagen, iar sinteza FR – de autosensibilizarea la IgG proprie. În consecință, atacul permanent imun al țesuturilor articulare conduce la distrucția articulației, deformarea lor și invalidizarea pacientului.

Cea mai precoce manifestare a AR este vasculita (inflamația vaselor sangvine mici ale țesuturilor articulare) însoțită de majorarea permeabilității vasculare, dezvoltarea edemului membranei sinoviale, infiltrația celulară (primar – de leucocitele polimorfonucleare, iar ulterior – de limfocitele T și celulele plasmatică). Membrana sinovială este transformată prin proliferare într-o masă hipertrofică, amplu vascularizată (panus), intensiv infiltrată cu limfocite și macrofage. Enzimele eliberate local de macrofage și neutrofile conduc la eroziunea cartilajului și osului. Celulele limfoide care infiltrază membranele sinoviale uneori formează aglomerări (foliculi de limfoide).

Pentru AR este caracteristică prezența în sânge în titru mare (mai mult de 1:64) a factorului reumatoid (cca 70% din cazuri) cu toate că el poate fi testat și în alte maladii cronice chiar la persoanele aparent sănătoase (4% din cazuri). În baza prezenței FR în serul sangvin, AR poate fi seropozitivă și seronegativă. Pozitivitatea serică este un argument în favoarea evoluției severe a AR. Factorii reumatoizi (FR) sunt Ac de clasa IgM produși de celulele B (CD5⁺) cu activitate anti-fragmentul Fc (C_γ2 și C_γ3) al IgG care dispune de constituenți anormali de oligozaharide. Ei mai activ vor reacționa cu moleculele agregate de IgG din complexe cu antigeni decât cu IgG nativă. Mai rar se întâlnesc FR (antiimunoglobuline) de clasa IgG, IgA și IgD cu specificitate față de IgG. FR de clasa IgE este capabil să inducă

degranularea bazofilelor. În salivă și lichidul lacrimal al pacienților cu AR a fost depistat FR – IgA secretorie. Depistarea FR are importanță diagnostică. Utilizarea concomitentă a reacției Waaler-Roze și a particulelor de latex sau a hematiilor de oaie acoperite cu IgG umană conduce la majorarea frecvenței de testare a FR. În testul Waaler-Roze sunt utilizate hematiile de berbec prelucrate cu anticorpi de iepure într-un titru subaglutinant. În prealabil, serul de iepure este încălzit la 56°C timp de 30 min. pentru inactivarea complementului, altfel eritrocitele vor fi lizate. Pentru eliminarea heteroaglutininelor din mostrele sangvine cercetate serul este inactivat la același regim și absorbit cu hematii de oaie. Ulterior, în serul pacientului se adaugă hematii de berbec acoperite cu Ac de iepure. La prezența FR are loc aglutinarea hematiilor (titru nu mai mic de 1:16).

Pentru testul latex sunt utilizate particule de latex ($d = 0,8 \mu\text{m}$) pe care se sedimentează fracția globulinică γ . La suplimentarea serului sangvin cu FR (diluție 1:20), la suspensia de latex prelucrată cu γ globuline apare aglutinarea. Această metodă ca și cea precedentă depistează FR de clasa IgM.

Sensibilitate majoră în testarea FR manifestă imunofluorescența indirectă când hematiile de oaie prelucrate cu IgG ale iepurelui sunt incubate cu serul sangvin al pacientului (în diluția 1:20 și mai mult) și ulterior se suplimentează cu Ac anti-IgG, anti-IgA sau anti-IgM marcați cu fluoresceină. Reacția este pozitivă în 50-92% din cazuri în AR și deseori în cazul reacției de aglutinare negativă. Actualmente pentru detecția AR sunt utilizate metodele imunoenzimatică și radioimune care permit evidențierea FR în cazurile negative ale testelor precedente.

Mai dificilă este testarea FR de clasa IgG. Pentru identificarea lui sunt utilizate metodele imunosorbente, nefelometria. De regulă, FR are specificitate față de determinantele alotipice ale fragmentului Fc al lanțului γ IgG. Ele sunt heterogene chiar la unul și același bolnav, iar în componența lor pot fi atât lanțurile ușoare de tip k, cât și de tip λ . Numai la unii pacienți cu evoluție de lungă durată a AR sau cu mielom poate fi testată antiimunoglobulina monoclonală.

Complexele formate din FR și IgG sunt legate de receptorii Fc al granulocitelor și pot induce eliminarea enzimelor lizozomale și a altor mediatori. Cauzele apariției antiimunoglobulinemiei nu sunt clare fiind generate de aceleași mecanisme aparente și în alte reacții autoimune. Se presupune că au loc unele modificări în sistemul de autorecunoaștere a IgG. Există date că apariția FR este o reacție obișnuită la IgG legată cu antigenul specific și că acest factor mai poate avea rol protectiv. Posibil, IgG agregat la interacțiunea cu Ag stimulează intensiv formarea FR în condițiile dereglării reactivității imune. Aceste dereglări posibil preced formarea de FR, ce ar explica existența AR seronegative (20% din cazuri de bolnavi). Factorii reumatoizi mai degrabă sunt consecința și nu cauza procesului patologic, dar participând în formarea complexelor imune ei conduc la majorarea severității și la

agravarea procesului. La pacienții cu AR, concomitent cu FR în sânge se testează și alte antiglobuline – homoreactante care reacționează cu fragmentele Fab și sunt scindate de enzime. Majorarea titrului lor corelează cu activitatea procesului la unii bolnavi, chiar într-o măsură mai mare decât titrul FR. Se presupune, că complexul fragmentului Fab-homoreactant poate avea un rol important în dezvoltarea stadiilor primare ale artritei, iar factorii reumatoizi sunt antrenați mai târziu.

La pacienții cu AR sunt testați și alți Ac asemănători celor din LES: antinucleari și componentele lor, ARN, ADN, histone. Dar titrul Ac anti-ADN, în special, la cea nativă este mai mic decât în LES și mai frecvent se referă la clasa IgM și nu la IgG. Anticorpilor anti-mitocondriali mai des se înregistrează în AR asociată cu ciroza biliară primitivă. Autoanticorpilor anti-limfocite, colagen, antigenii celulari ai țesutului conjunctiv indică predispoziție de activare policlonală a limfocitelor B. Despre intensificarea activității funcționale a lor indică și majorarea concentrației sanguine a Ig nespecifice de clasele G, M și A. Majorarea nivelului IgA, de regulă, corelează cu creșterea esențială a VSH și cu activitatea procesului. Se constată și majorarea nivelului anticorpilor cu specificitate la virionii rubolei, hepatitei B. Anticorpilor IgG la colagenul de tip II reflectă activitatea procesului și corelează cu nivelul IL-6 și TNF- α .

Anticorpilor anti-peptida citrulinat (anti-CCP) sunt specifici pentru AR (96%). Aceste proteine apar în urma conversiei metabolice a L-argininei în L-citrulină influențată de enzimele peptidilarginindezaminazelor (PADI). În AR este activă enzima PADI-4, evidențiată în macrofagele, limfocitele, neutrofilele, endoteliul activat. Proteinele citrulate – filagrina, fibronectina, vimentina induc sinteza autoanticorpilor. Sinteza factorilor reumatoizi și a autoanticorpilor conduce la formarea de complexe imune circulante și, îndeosebi, a celor intraarticulare. În prezența unui moderat exces de antigen (IgG), complexe imune sinoviale sau circulante intermediare sunt cele mai activatoare de complement. Rolul acestora este apreciat ca fiind important în fenomenele inflamatoare exsudative și în prezența vasculitei reumatoide. Prin fixarea complementului, complexe imune devin mai vulnerabile în fagocitoză. În acest proces intervin polimorfonuclearele, macrofagele, celulele care posedă receptori pentru fragmentul Fc al Ig, C3b, C3d. Astfel se explică scăderea complementului în lichidul sinovial și apariția ragocitelor (granulocite cu incluziuni).

Pe lângă participarea fracțiunilor activate ale complementului, inflamația acută sinovială include eliberarea enzimelor litice lizozomale, formarea produselor de oxidare (îndeosebi radicalii toxici ai oxigenului), activarea sistemului derivaților acidului arahidonic, prostaglandina E₂, tromboxanul, leucotrienele.

Complexele imune se găsesc și în cartilajul hialin, unde se formează prin fixarea anticorpilor de componenții matricei cartilajinoase (colagen tip II). Acestea

ar putea activa local complementul, iar polinuclearele din lichidul sinovial prin eliberarea de enzime lizozomale contribuie la distrucția cartilajului.

Complicațiile majore ale AR (vasculite, noduli reumatoizi, afecțiuni viscerale) se datorează în mare măsură complexelor imune circulante, unele rezultând din complexarea unor Ac cu activitate de crioglobuline. În AR seropozitivă, complexe imune se întâlnesc mai frecvent, comparativ cu forma seronegativă. Ele apar în stadiile timpurii de dezvoltare a maladiei și pot avea semnificație diagnostică și prognostică. Se presupune că formarea intensivă de autoanticorpi și complexe imune este datorată dereglărilor statusului imun, în special modificării coraportului subpopulațiilor reglatoare ale limfocitelor T și B.

În sângele pacienților cu AR este majorată cantitatea celulelor CD3⁺, CD16⁺, CD56⁺, CD57⁺, CD8⁺, CD25⁺ cu reducerea subpopulației CD8⁺CD28⁺, iar în lichidul sinovial nivelul ultimei este crescut.

În AR activă s-a constatat creșterea numărului de limfocite T CD4⁺ și scăderea celor CD8⁺ cu majorarea indicelui imunoregulator. Nivelul limfocitelor cu markeri de activare (HLA-DR⁺, CD25⁺) și receptor al apoptozei (CD95⁺) este crescut; la gradele II și III de activitate a procesului, fagocitoza este scăzută cu majorarea cantității de complexe imune circulante.

Nivelul citokinelor IL-2 și IFN- γ în sânge este scăzut, pe când pentru IL-1 β și IL-6 este majorat, în special la gradul I de activitate. Se constată și o corelare pozitivă între nivelul IL-6, VSH, PCR și evoluția clinică a procesului. La pacienți se mai testează majorarea concentrației de IL-17, receptorilor TNF și IL-2, cantității de neopterină. Nivelul IL-16 în serul sangvin și LT CD4⁺, CD8⁺ este mai mare comparativ cu osteoartritele.

T-helperii pacienților într-o măsură mai mare stimulează limfocitele B, comparativ cu cei sănătoși care nu este anulată de T-supresorii pacientului sau a persoanelor sănătoase.

Neutrofilele bolnavilor cu AR exprimă receptorul de afinitate joasă pentru IgE (Fc ϵ II/23) cu intensificarea inflamației.

Activitatea funcțională nespecifică a limfocitelor T și B în AR testată în reacția de transformare blastică a limfocitelor și de cultură mixtă de limfocite la mitogeni și alogeni, de regulă, este scăzută, pe când cea spontană este majorată.

Dereglarea mecanismelor de recunoaștere a propriului, posibil, se referă și la antigenii HLA. La pacienții cu AR, nivelul microglobulinei β 2 (lanțul ușor al Ag HLA) în serul sangvin este mai mare, comparativ cu cel al persoanelor sănătoase (1,3-16,8 mg/l și 0,8-2,9 mg/l respectiv) și reflectă activitatea maladiei.

Perturbările imunopatologice locale în articulații sunt importante pentru patogeniza AR. În lichidul sinovial a fost depistat parvovirusul B19, iar în țesuturile sinoviale persistă o proteină cu MM 60-62 kDa care manifestă reacție încrucișată cu EBNA-1 (nucleoproteina VEB). Majorarea procentului de celule CD4⁺ secretoare

de IFN- γ și a nivelului total de limfocite CD8⁺, creșterea concentrației de IL-6, IL-8, PGE₂, factorului formator de colonii granulocitar-monocitar sunt caracteristice pentru lichidul sinovial al pacienților. Pe neutrofilele lichidului sinovial sunt evidențiate antigenii HLA de clasa II, care pot prezenta Ag limfocitelor T.

În patogeneza AR un rol important îi revine IL-15 secretată local, care activează limfocitele T sinoviale, intensifică sinteza TNF- α și altor citokine proinflamatoare.

Procesul debutează cu vasculită, în apariția căreia, posibil, participă complexe imune și complementul. Afluxul leucocitelor, datorat creșterii permeabilității vasculare sub influența complexelor imune, contribuie la eliberarea enzimelor lizozomale cu distrucția cartilajului. În acest proces distructiv al articulațiilor participă TNF- β , care este de 100 de ori mai activ decât TNF- α , inhibă sinteza proteoglicanilor de către condrocite, distruge matricele cartilajului. Concomitent, el activează proteazele cu activitate distructivă (colagenaza, stromelizina). Nivelul IL-1, TNF- α în AR este crescut atât în plasmă, cât și în lichidul sinovial. Citokinele IL-6, IL-10, IL-12, IL-15, IL-16, TNF, IFN lansează dezvoltarea artritei. Creșterea nivelului CD23 liber în lichidul sinovial corelează cu alterarea erozivă a articulațiilor în AR. Acest proces este sporit de proliferarea și creșterea panusului (țesutul granular) bogat în leucocite (mononucleare, macrofage și celule plasmatiche). În dezvoltarea panusului participă angiogeneza patologică (factorul de creștere fibroblastic endotelial, producția căruia este intensificată de citokine). Predominarea limfocitelor T (Th1) în populația celulară a infiltratelor membranei sinoviale se constată atât în AR, cât și în alte artrite. În aceste focare sunt puține limfocte B, cu evidențierea în special a plasmocitelor și sedimentarea esențială a IgG și IgM. Imunoglobulina G, care se conține în multe celule plasmatiche, este FR, adică ele sunt secretoarele acestuia.

Lichidul sinovial în AR conține ragocite (granulocite cu incluziuni), proteină (până la 50 g/l), inclusiv crioprecipitine și o cantitate nesemnificativă de complement, posibil utilizat de complexe imune. În acest substrat se găsesc autoantigeni, nucleoproteine și diferiți mediatori, inclusiv citokine și prostaglandine.

Astfel, mecanismele imune generate în AR sunt multiple, polifactoriale și de diversă activitate.

Principiile terapeutice în AR includ remedii antiinflamatoare nesteroidice, corticosteroizi, imunodepresanți cu monitorizarea procesului pentru corecția schemelor terapeutice.

Antiinflamatoare nesteroidiene (indometacin, diclofenac, ibuprofen, aspirina, nimesulid), COX₂ – inhibitorii celecoxib, rofecoxib) sunt utile, dar nu suficiente în terapia AR. Au acțiune pur simptomatică, fără efect asupra prevenirii distrugerii articulare.

Corticoterapia (prednisom, prednisolon, dexametazon), tot ameliorează simptomatologia, posedă proprietăți imunosupresoare și antiinflamatoare, efectul

imunosupresor, obținându-se în doze mari. Medicația remisivă (hidroxiclorochina, sulfasalizina, metotrexatul, săruri de aur, azothioprina, leflunomida, ciclosporina) contribuie la prevenirea și reducerea alterărilor morfologice articulare.

Terapia biologică are la bază faptul că procesul inflamator distructiv din AR, inițiat imunologic, este mediat de celule și citokine. Astfel, au apărut terapiile cu anticorpi monoclonali: anti-TNF α (Infliximab), antireceptor de anti-TNF α (Entanercept); anti-IL-1 (anakira). Această terapie este superioară grupei de medicație remisivă. Uneori terapiile sunt asociate în scopul obținerii remisiei complete.

Monitorizarea procesului în AR este necesară în scopul corecției terapiei la necesitate.

Spondilita anchilozantă (maladia Bechterew) este o boală cronică și progresivă care interesează în principal articulațiile sacroiliace și ale coloanei vertebrale cu evoluție spre anchiloză vertebrală. Se înregistrează îndeosebi la bărbații (90%) tineri (20-40 de ani).

Cauza maladiei este necunoscută. S-au incriminat infecțiile streptococice, gonococice, tuberculoase, enteritice. În prezent se discută despre rolul fosfatazelor acide prostatice în mobilizarea calciului osos. Există relații cu traumatismele, psoriazisul, enterita regională etc. Au fost identificate semne ale mimicrii antigenice a moleculelor HLA-B27 și unele enterobacterii ce pot indica stimularea reacțiilor autoimune. Leziunea inițială apare la nivelul articulațiilor sacroiliace sub forma unei artrite, de obicei, unilateral, iar mai târziu bilateral. Spațiul articular dispare printr-un proces de condensare articulară și nu de osteoporoză. La examenul radiologic al coloanei vertebrale, prezența sindesmofilelor, care în primele stadii pot fi observate la nivelul joncțiunii dorsolombare și au caracter fin și simetric. Clinic se manifestă prin dureri lombare sau redoare în timp de cel puțin 3 luni, limitarea mișcărilor coloanei vertebrale (lombare), limitarea expansiunii toracice.

La pacienții cu spondilită anchilozantă se determină majorarea nivelului de IgA și a anticorpilor la enterobacterii, *Klebsiella pneumoniae*. Factorul reumatoid nu se depistează.

Maladiile autoimune ale tractului gastrointestinal

Hepatita cronică autoimună (HCA) reprezintă o afecțiune inflamatoare hepatică progresivă, cauzată de atacul imun necontrolat asupra hepatocitelor și ca o consecință a pierderii toleranței imune pentru antigenii hepatici proprii, caracterizată prin inflamația periportală și infiltrat plasmocitar la examenul histologic și prin semne clinice hepatice și extrahepatice.

Frecvența de înregistrare a HCA variază între 11 și 23% printre afecțiunile hepatice cronice, preponderent în grupele etnice nord-europene și caucaziene, la femei (70-80%) cu incidența maximă la vârsta de 10-30 și 40-50 de ani. Au fost

semnalate și cazuri de afectare a copiilor mici și persoanelor de vârstă înaintată. Clinic se manifestă ca și hepatita acută, cronică sau ca ciroza hepatică și este însoțită de un nivel majorat al VSH, anemie, leucopenie, trombocitopenie, creșterea concentrației bilirubinei directe, transaminazelor (de 2-10 ori), uneori a fosfatazei alcaline, hipergamaglobulinemie.

Maladia se asociază cu HLA-DR3, HLA-DR4, HLA-B8 (de tip I), cu HLA-B14, HLA-DR3, HLA-DQ2 (de tip II) și cu persistența virionilor hepatitei, B, C, HSV, EBV etc. Proteina IEP-175 a virusului Herpes simplex de tip I este identică cu peptida componentă a epitopului citocromului P4502D6 (CYP2D6). Posibil, că acesta ar fi autoantigenul principal în hepatita cronică autoimună. Enzimele familiei CYP și uridindifosfatglucouroniltransferaza (UDGT-aza), care participă în metabolismul medicamentelor, pot fi și ele ținta reacțiilor autoimune. Hepatitele virale (în special HVB) sunt considerate maladii în care modificările patologice sunt asigurate prioritar de reacțiile imune la Ag virali.

În HVB se constată mecanisme de autoagresie direcționate contra Ag pe hepatocite cu participarea Th1 și LT CD8⁺, citoliza sau apoptoza hepatocitelor datorată expresiei majorate pe ele a receptorului Fas. A fost demonstrată legătura infecției cu HCV și hepatitei autoimune de tip II, însoțite de sinteza Ac anti-LKM-1 (antimicrosomi ficatului și rinichilor). În hepatita HVD au fost depistați Ac identici. În inițierea procesului autoimun a fost stabilit rolul Ag COR care dispune de structuri antigenice identice cu peptidele membranare ale hepatocitelor.

În hepatita cronică autoimună au fost constatate dereglări esențiale ale statutului imun. Scade numărul limfocitelor T, uneori și al LB, răspunsul la mitogeni. Este inhibată activitatea funcțională supresivă a LT. Posibil, în acest proces participă și complexe imune, în infiltratele hepatice predomină limfocitele secretoare de IFN- γ și IL-4 (adică Th1 și Th2).

Cantitatea maximă de LT și LB în țesutul ficatului corelează cu alterarea progresivă a hepatocitelor. În hepatita cronică autoimună, distrucția hepatocitelor, posibil, este datorată citotoxicității mediate celular. Reacțiile de hipersensibilitate de tip întârziat specifice la Ag hepatici au fost constatate *in vitro* (testele de transformare blastică și de inhibiție a migrației limfocitelor).

Apariția autoanticorpilor anti-Ag nucleari, mitocondriali, mușchilor netezi, microzomali hepato-renali în serul sangvin al pacienților denotă despre rolul lor esențial în patogeniza maladii.

Anticorpilor antinucleari (ANA) sunt markeri caracteristici maladii și reacționează cu diverși Ag nucleari (ribonucleoproteine, antigeni centromerici), iar apariția lor poate fi izolată (13%) sau asociată cu Ac antifibromusculari netezi ASMA (54%).

Anticorpilor anti-citoplasmă neutrofilică (p-ANCA) sunt nespecifici, au rol în diagnosticul HCA de tip I.

Anticorpilor antimicrozomali hepato-renali (LKM-1) reacționează specific cu epitopul CYP2D6 (P450IID6) și se apreciază în 4-20% din cazuri în absența

Ac ANA sau ASMA. Pot fi testați și în infecția cu HCV datorită omologiei dintre CYP2D6 și genomul virusului hepatic C.

Anticorpul ASMA reprezintă markeri ai HCA care reacționează cu proteinele citoscheletului (actină, tubulină, desmină, scheletină etc.), fiind testați în 87% din cazuri separat sau în asocieră cu ANA.

Anticorpul antisialoglicoprotein-receptor (ASGPR) se determină în 80-85% din cazuri și se asociază cu gradul de activitate hepatică. Receptorul asialoglicoproteinei hepatice este un component al lipoproteinei hepatice și a fost identificat ca Ag „șintă” implicat în apariția autoanticorpilor corespunzători.

Anticorpul anti-SLA/LP (anti-antigen solubil hepato-pancreatic) se înregistrează până la 30% din cazuri și reacționează cu citocheratina și o proteină cu funcție necunoscută. Anti-LP sunt direcționați contra proteinelor de geneză necunoscută cu MM de 52 și 48 kDa.

Anticorpul anticitozol de tip I (anti-LC1) reacționează cu un Ag citozolic solubil al celulei hepatice și sunt frecvent asociați cu Ac anti-LKM-1 (60-70% din cazuri).

Anticorpul antifosfolipidici (AFL) prezintă imunoglobuline diverse care reacționează specific cu epitopii fosfolipidelor membranelor trombocitelor, celulelor endoteliale, ale țesutului nervos, ale componentelor sistemului de coagulare.

Anticorpul antimitocondriali (AMA) au fost testați în 35% din cazuri și reacționează cu lipoproteina de pe membrana internă mitocondrială. Sunt specifici cirozei biliare primitive.

În baza prezenței anticorpilor, se disting 3 tipuri de hepatite cronice autoimune: I, II și III.

HCA de tip I este acompaniată de autoanticorpul ASMA, ANA, anti-actină și/ sau anticorpul p-ANCA. Nivelul crescut al acestor Ac și sensibilizarea limfocitelor T la ASGP-R (receptor asialoglicoproteina) corelează cu activitatea maladiei.

HCA de tip II se caracterizează prin prezența Ac anti-LKM-1 la 100% dintre pacienți, uneori fiind prezenți și Ac anti-LRV-3 (epitop aridindifosfat-glucouronil-transferaza I) și Ac anti-LC-1 (antigen hepato-citozolic). A fost demonstrată sensibilizarea LT la CYP2D6.

Pentru HCA de tip III este caracteristică prezența Ac anti-SLA (Ag solubil hepatic), Ac anti-LP (Ag hepato-pancreatic), de asemenea anti-ANA și anti-SMA. În HCA concomitent sunt apreciați și Ac antieritrocitari, antitrombocitari, anti-subunitatea β a etanoldehidrogenazei etc. Prezența Ac de diversă specificitate favorizează apariția complexelor imune. Hipergamaglobulinemia este un criteriu caracteristic HCA cu majorarea IgM, IgG, IgA, iar uneori și a IgE (hiperreactivitatea răspunsului imun).

Investigațiile clinice de laborator denotă majorarea VSH, anemie, leuco- și trombocitopenie, creșterea nivelului de bilirubină directă, transaminaze (de 2-10 ori), uneori a fosfatazei alcaline.

Așadar, diagnosticul hepatitei cronice autoimune include un număr major de investigații imunologice, clinice, biochimice etc. pentru evaluarea severității și stabilirea conduitei terapeutice bazată pe utilizarea remediilor imunosupresive. Diagnosticul diferenciat se realizează cu hepatitele virale și boala hepatică alcoolică.

Ciroza biliară primitivă (CBP) prezintă o afecțiune cronică colestatică însoțită de Ac antimitocondriali și frecvent asociată cu alte maladii autoimune (scleroderma, LES, dermatomiozita, poliartrita reumatoidă, tiroidita autoimună etc.).

Etiologia bolii este necunoscută, având ca factori declanșatori enterobacteriile, virionii hepatotropi sau alți Ag. Dezvoltarea bolii este condiționată de factorii de mediu, asociați cu cei genetici (HLA-DR2, HLA-DR3, HLA-DR4).

În CBP se constată nivel majorat al fosfatazei alcaline (de 3 ori și mai mult), GGTP, S-nucleotidazei, al imunoglobulinelor, în special al IgM, Ac anti-AMA, ANA, ASMA și crioglobulinelor. Criteriul de bază al patologiei revine anticorpilor antimitocondriali în titrul 1:40 și mai mult anti-Ag membranei interne M2, și anume subunității E2 a complexelor piruvatdehidrogenazelor, α -ketoglutaratdehidrogenazelor și dehidrogenazelor α -ketoacizilor. Subunitatea principală E2 prezintă dihidrolipoamidacetiltransferază. Posibil, sinteza Ac poate fi indusă de stimularea antigenică a E.coli sau rickettsiilor provacek, care dispun de peptide analoge epitopului E2 sau expresiei majorate a Ag HLA de clasa II și receptorilor Fas pe epiteliul ductelor sub influența virionilor. În focarele inflamatoare se acumulează limfocitele Th1 și CD8⁺ care acționează citotoxic față de celulele epiteliale ale ductelor biliare și induc apoptoza datorită expresiei pe ele a receptorilor Fas (CD95).

În terapia acestei patologii se utilizează remediul ursosan, care stabilizează membrana celulei, reduce prezența moleculelor HLA de clasa I pe hepatocite și HLA de clasa II pe colangiocite, diminuează producția de citokine proinflamatoare (IL-1, IL-6), de asemenea se folosesc imunodepresante, transplantul de ficat în cazurile severe. Utilizarea corticosteroizilor nu este eficace.

Colangita sclerozantă primară este o boală colestatică manifestă prin inflamația ductelor biliare intra- și extrahepatice ce conduce la dezvoltarea sclerozei biliare secundare. Manifestările imunologice caracteristice sunt hiper-gamaglobulinemia (IgM), autoanticorpii ANA, ASMA și, în special, pANCA, prezența complexelor imune, activarea complementului. În 80% din cazuri Ac anti-pANCA se deosebesc de Ac în granulomatoza Vegener prin luminarea perinucleară atipică. Posibil, acești Ac au specificitate pentru epitopii catepsinei G, proteinei neutrofilelor care leagă LPS.

Imunograma pacienților denotă nivelul majorat al IIR (CD4⁺/CD8⁺), al LB, moleculelor circulante ICAM-1, LTγδ. Pe celulele epiteliului biliar este crescută expresia Ag HLA de clasa II. În cazul asocierii colangitei sclerozante primare cu colita ulceroasă se constată autoanticorpi antinucleari neutrofilici care infiltrază pereții ductelor biliare, iar în serul sangvin al pacienților (84%) se apreciază titre majore (1:1000-1:500000). Această formă frecvent este asociată cu haplotipul HLA-B8/DR3. În terapia bolnavilor se adminstrează imunodepresante și ursosan.

Gastrita cronică autoimună

Gastrita cronică este o maladie polifactorială caracterizată prin infiltrarea excesivă a laminei propria adiacente epiteliului de suprafață și glandelor gastrice cu limfocite și plasmocite. Gastrita cronică și anemia pernicioasă sunt maladii care au, posibil, în patogeneză lor mecanism autoimun. În gastrita fundală este posibilă dezvoltarea anemiei pernicioase datorate insuficienței vit. B₁₂. Se manifestă prin anemie hipercromă megaloblastică cu aclorhidrie, rezistență la histamină cu dereglări neurologice. Mucoasa este infiltrată cu LB, plasmocite și eozinofile. Este scăzută secreția de acid, pepsină și factorul intern Castle.

Gastrita cronică atrofică este întâlnită la vârstnici care adesea au anemie pernicioasă cu fenomene autoimune (gastrită atrofică idiopatică) și la cei cu anemie pernicioasă la care sunt argumentate reacțiile imunologice anti-Ag gastrici din mucoasa stomacului (corporal difuză, gastrită de tip A autoimun).

Gastrita cronică atrofică are 3 caracteristici esențiale:

- pierderea parțială sau completă a glandelor gastrice, în special la nivelul corpului și fundului stomacului, celulele parietale sunt reduse ca număr sau lipsesc complet, iar celulele principale sunt înlocuite de celule care secretă mucus sau de celule asemănătoare celor intestinale;
- infiltratul inflamator, format din limfocite, plasmocite și ocazional eozinofile și neutrofile, este distribuit în lamina propria a mucoasei atrofice;
- celulele epiteliale de suprafață prezintă modificări ale mărimii, formei și funcției, însoțite uneori de majorarea și atipiile nucleare (risc crescut pentru dezvoltarea carcinomului gastric).

Gastrita cronică autoimună tip A este o maladie în care sunt testați Ac anti-constituenți proprii: factorul intrinsec Castle, celulele parietale gastrice și receptorul gastrinei. Gastrita cronică caracterizată prin pierderea celulelor parietale ale mucoasei gastrice și infiltrarea laminei proprii cu celulele inflamatoare mononucleare este principala leziune morfologică a anemiei pernicioase. Nu se cunoaște cu exactitate care este cauza inițială a evenimentului primar, dar este posibil ca fenomenele inflamatoare să stea la baza declanșării răspunsului imun.

Anticorpul antifactor intrinsec Castle pot fi de 2 tipuri: blocanți și legați de celulă. Anticorpul blocanți se combină cu factorul intrinsec la nivelul locului de legare a vitaminei B₁₂ și nu se formează complexul factorul intrinsec-vitamina B₁₂. Ei aparțin IgG sau IgA și se întâlnesc la 65-70% dintre bolnavii cu anemie pernicioasă și foarte rar la cei fără anemie Biermer.

Anticorpul antifactorul intrinsec Castle de legare apar la 30% dintre pacienții cu anemie pernicioasă și sunt prezenți împreună cu Ac blocanți în titre mari. Aparțin clasei IgG și se combină cu factorul Castle la distanță de locul de legare cu vit. B₁₂ și nu inhibă formarea complexului factorul intrinsec-vit. B₁₂. Ei pot inhiba absorbția vit. B₁₂ de locul ideal al fixării pe factorul Castle.

Anticorpul antifactorul Castle blocanți (tip I) și de fixare (tip II) apar mai frecvent în sucul gastric, în serul bolnavilor cu anemie pernicioasă, uneori fiind întâlniți numai în sucul gastric. Formarea Ac antifactorul Castle este favorizată de aclorhidrie și pH aproape neutru. Malabsorbția vit. B₁₂, cantitativ este mai mare atunci când Ac antifactorul Castle sunt prezenți în sucul gastric și mult mai mică dacă sucul gastric nu conține Ac antifactorul intrinsec. Acești Ac pot fi detectați și în salivă.

Anticorpul anti-celulă parietală pot fi prezenți în serul sangvin și în sucul gastric în 80-90% din cazuri la pacienții cu anemie pernicioasă și în 30% din cazuri la rudele lor. Acest tip de anticorpi aparțin clasei IgG și sunt direcționați împotriva componentelor citoplasmatică. Ei nu sunt specifici anemiei pernicioase, fiind raportați la 20-30% dintre pacienții cu alte boli autoimune (tiroidită, boala Addison, diabet zaharat, sindromul Sjögren).

Prezența Ac anti-celulă parietală în ser se corelează cu prezența gastritei atrofiice, dar nu și cu prezența malabsorbției vit B₁₂, gastrita produsă de medicamente, suferințe gastrice postgastrectomie și cu gastrita asociată adenocarcinomului gastric.

Incriminarea specifică a autoanticorpilor anti-celulă parietală în apariția gastritei cronice autoimune a fost demonstrată în studiile experimentale pe animale și denotă că mecanismele imune umorale pot avea loc și la oameni – în producerea atrofiei mucoasei gastrice și aclorhidriei.

Anticorpul anti-receptor gastrinic aparțin IgG și inhibă legarea gastrinei de celulele mucoasei gastrice cu o concomitentă scădere a secreției de acid determinată de gastrină.

Studiul *in vitro* al imunității celulare la bolnavii cu gastrită autoimună a demonstrat că limfocitare din sângele periferic sunt sensibilizate la diverși Ag tisulari gastrici și la factorul intrinsec. Analiza populațiilor limfocitare ale mucoasei gastrice provenită de la pacienții cu anemie pernicioasă și gastrită atrofică a demonstrat creșterea tuturor subpopulațiilor de limfocite T.

Prin imunofluorescența indirectă s-a demonstrat că serul bolnavilor cu anemie pernicioasă conține Ac de clasa IgG care reacționează cu suprafața membranelor celulelor parietale gastrice, având toxicitatea dependentă de complement.

Gastrita cronică de tip B (antrală, exogenă, asociată cu *H. pylori*) se înregistrează mai frecvent (la 78% dintre persoanele cu vârsta mai mare de 50 de ani). Atașarea *H. pylori* de mucoasa gastrică este mediată de antigenul de grupă sanguină Lewis, iar pentru populația nord-americană – de fenotipuri de grupă sanguină A și B. Comparativ cu cea de grupa 0, disponibilitatea în receptori pentru această bacterie este redusă.

Stomacul, spre deosebire de intestin, nu este un organ limfoid, la naștere și în copilărie fiind sărac în limfocite și plasmocite. Cu înaintarea în vârstă, se poate dezvolta o inflamație cronică, limfocitele acumulându-se în submucoasă și crescând progresiv în profunzimea epitelului. Infecția cu *H. pylori* produce inflamația cronică, în cazul în care nu a fost eradicată. Apariția țesutului limfoid în stomac ar fi patognomică infecției cu *H. pylori*.

Prin producerea de urează, *H. pylori* generează inflamație cu eliberarea de azot. Progresia de la gastrită superficială indusă de *H. pylori* la gastrită atrofică poate fi influențată și de alți factori alimentari, secretori gastrici și genetici fără legătură cu supresia imună. *H. pylori* inițiază un proces inflamator în antru și corpul gastric, care evoluează spre gastrită cronică atrofică.

Combinarea metodelor de determinare a infecției cu *H. pylori* a condus la creșterea incidenței infecției la bolnavii cu anemie pernicioasă de la 3,5% prin examen histologic la 28,5% prin metoda serologică, iar în gastrita cronică tip A – de la 33% până la 86%, respectiv. Seropozitivitatea pentru Ac anti *H. pylori* crește cu vârsta (19% la vârsta de 14-20 de ani și 74% după vârsta de 70 de ani).

Sunt cunoscute mai multe mecanisme prin care *H. pylori* reacționează cu epitelul gastric în generarea leziunilor patologice ale gastritei cronice:

- activitatea ureazică cu generarea de amoniac, care are efect citotoxic direct prin inhibarea $H^+/K^+ - ATP$ -azei din celulele epiteliale; amoniacul induce retrodifuzia H^+ și în consecință hiperclorhidrie;
- sinteza de factori citotoxici (proteină cu MM 130 kDa) cu apariția de vacuole intracelulare care sunt în legătură cu membrana celulară. Factorul citotoxic produce hemoliză, explicată prin interacțiunea fosfolipazei A a bacteriei cu fosfolipidele membranei celulare și eliberarea de lizolectină;
- *H. pylori* produce disfuncția structurilor intercelulare;
- eliberarea de radicali liberi ai oxigenului și peroxidarea lipidelor din membrana celulelor epiteliale.

H. pylori produce răspuns inflamator intens la nivelul mucoasei gastrice, direct prin proteinele lui de suprafață, care au activitate chemotactică pentru leucocite și au fost identificate pe mucoasa gastrică, sau prin activare directă, independentă de lipopolizaharidele lui de suprafață, a monocitelor/macrofagelor. *H. pylori* se asociază cu fenomene autoimune și poate induce hiperplazia limfoidă a laminei propria a mucoasei gastrice.

H. pylori perturbă procesele imunologice normale ale stomacului (răspunsul imun celular la pacienții infectați este inefficient) și stabilește un mediu în care pot apărea proliferarea celulară și liza oxidativă a ADN celulelor epiteliale și celulelor hematopoietice. Această perturbare se poate manifesta divers la pacienți și se poate enumera în variația riscului bolilor legate de infecția cu H. pylori. Atenția trebuie să se focalizeze pe diferențele individuale ale răspunsului inflamator la infecția cu H. pylori și la fenomenele autoimune asociate.

Ulcerul gastric și duodenal, conform criteriilor acceptate, nu este o maladie autoimună. Însă participarea H. pylori în patogeniza și inițierea unui complex de mecanisme imunopatologice apreciază evoluția lor.

Insuficiența factorilor locali imuni este cauza principală de diseminare și persistență în mucoasa gastrică a H. pylori – bacterie care elimină factori patogeni și stimulează dezvoltarea gastritei și ulcerului gastric și duodenal. Factorii de virulență ai acestei bacterii sunt ureaza și citotoxina vacuolizantă VacA cu MM 120000 kDa. Serul sangvin conține anticorpi de clasa IgG și IgA anti-H. pylori.

Disponând de epitopi antigenici comuni cu mucoasa stomacului H. pylori induce reacții imune. La persistența acestuia apar autoanticorpi și limfocite T anti-H⁺K⁺-adenozintrifosfataza care pot avea importanță în dezvoltarea gastritei și ulcerului. De regulă, în aceste cazuri se observă predominarea activității Th1, sinteza IL-12 și IFN- γ .

Factorii exogeni care dereglează interrelația naturală dintre agenții alteranți (acidul clorhidric, enzimele, mediatorii) și sistemul de apărare (mucusul, imunitatea locală) contribuie la apariția maladiilor. Imunodeficiența locală, alergica la Ag H. pylori și autoantigeni sunt componentele principale ale imunopatogenezei ulcerului. La majoritatea purtătorilor de H. pylori, el nu se dezvoltă, iar dependența apariției lui de această bacterie este exagerată.

A fost constatat un șir de dereglări ale reactivității imunologice care pot agrava sau întreține procesul patologic. Mecanismul lor, posibil, este secundar și necesită referire la imunodeficiențele secundare sau la modificările răspunsului imun, indus de stimulul antigenic asigurat de infecție și de defectul ulceros. În unele cazuri, celulele epiteliale care înconjoară ulcerul pot fi sursa de autoantigeni. În boala ulcerosoasă, ca și în gastrită, s-au constatat Ac la Ag mucoasei stomacului.

Boala celiacă (boala Gee-Herter-Heubner, enteropatia sensibilă la gluten, sprue celiac) este definită ca o maladie cronică a intestinului subțire, datorată intoleranței la gluten. Se înregistrează mai frecvent la persoanele de sex feminin (70% din cazuri). Clinic se manifestă prin sindromul de malabsorbție, diaree persistentă, steatoree, polifecalie. Toxicoză induce demență, dereglări psihice, uneori se asociază cu dermatita herpetiformă.

În pofida demonstrării cu certitudine a interacțiunii glutenului cu mucoasa intestinală, care este lezată, defectul primar care produce boala celiacă rămâne necunoscut. În explicația patogenezei maladiei celiace sunt recunoscute 4 teorii:

1. Teoria deficienței enzimatice la nivelul enterocitelor, care ar determina digestia incompletă a glutenului și acumularea unei peptide toxice, care la rândul ei poate leza mucoasa.

2. Teoria glicozilării anormale a glicoproteinelor membranelor apicale, prin care s-ar facilita interacțiunea glutenului cu celulele dotate cu capacitatea de absorbție a intestinului subțire.

3. Teoria genetică în care factorii genetici pot predispuce unele persoane la răspuns imun care induce lezarea mucoasei jejunale.

4. Teoria imunologică, care presupune că alți factori, în afara expunerii la produse provenite din cereale, pot declanșa răspuns imun.

Impunerea teoriei imunologice în explicația patogenezei maladiei celiace a pornit de la premisa că bolnavii au determinism genetic și, posibil, al factorilor de mediu, răspunsuri imune față de gliadină și prolaminele înrudite. Concomitent, au fost acumulate multiple date privind anomalii imunologice umorale și celulare întâlnite la bolnavi, iar progresele imunopatologiei au reușit o mai bună evaluare a leziunilor intestinale.

La scindarea glutenului apare peptide gliadine care sunt factorii principali în patogeneza maladiei. Insuficiența peptidazelor (N-glutaminil-peptidaza) conduce la acumularea gliadinei și la apariția reacțiilor alergice și toxice (asupra creierului). Complexul peptide glutenice-gliadine, aparente după dezaminarea acidului glutamic, are asemănare înaltă cu antigenii HLA-Q2 și HLA-Q8, ce asigură dezvoltarea reacției alergice. De aceea, celiachia este asociată cu HLA-Q2 și HLA-Q8, la care este majoră asemănarea peptidelor glutenice capabile de inducția răspunsului imun celular T CD4⁺.

Mucoasa intestinală este infiltrată de limfocite, macrofage, eozinofile, neutrofile. Vilozitățile se micșorează, iar epiteliul suferă acțiune distructivă. Probele cutanate la gliadină (dar nu gluten) sunt pozitive, se dezvoltă peste 6-8 ore.

În imunopatogeneza celiachiei se constată modificări ale imunității umorale și celulare atât locale (în intestinul subțire), cât și sistemice (în sângele periferic). Imunocitele producătoare de IgA, IgM și IgG din lamina propria a intestinului sunt crescute până la 6 ori la pacienții cu celiachie, comparativ cu martorii sănătoși. Pacienții netratați conțin în suculele intestinale cantități mari de anticorpi antigliadină de clasa IgA și IgM, care în contrast cu Ac serici rămân în titruri mari și după vindecarea enteropatiei sub dietă fără gluten. Au fost identificați și Ac asemănători celiachiei (antioalbumină de tip IgM și anti-beta-lactoglobuli-

nă IgM). Anticorpul față de fibrele reticulare se înregistrează la 30-100% dintre pacienți și are importanță diagnostică. S-au testat și Ac de clasa IgA și IgG față de transglutaminaza tisulară amplasată în endomiziu. Este de valoare diagnostică și deficitul IgA secretorie.

Serul majorității pacienților conține anticorpi anti-gliadină de tip IgA și IgG, care ar leza mucoasa prin inducerea unei reacții citotoxice cu mediere celulară îndreptată împotriva celulelor absorbitive ale mucoasei intestinale. Anticorpul pot forma complexe imune cu peptidele gliadinei și activa complementul, care, la rândul lui, stimulează celulele inflamatoare din lamina propria, inclusiv mastocitele și eozinofilele în producerea de mediatori toxici (proteina cationică a eozinofilelor, histamina și metaboliții acidului arahidonic). Complexele imune sedimentează în regiunea membranelor bazale, nivelul lor în sânge este crescut. Cu toate acestea, Ac anti-gliadină nu au fost identificați la toți pacienții cu celiachie și au fost prezenți și la bolnavii cu alte boli ale mucoasei intestinale și chiar la persoanele sănătoase.

Răspunsul imun celular la pacienții cu celiachie este perturbat. În lamina propria a mucoasei intestinului subțire normal, majoritatea celulelor prezente sunt de tip T, în principal printre limfocitele dispuse între celulele epiteliale. La bolnavii cu celiachie s-a constatat creșterea densității limfocitelor interepiteliale și activarea lor funcțională, de asemenea, s-a constatat majorarea de 2-6 ori a celulelor T CD8⁺ (20-50%). Hiperproducția de citokine de către limfocitele T ale mucoasei, în special din partea limfocitelor intraepiteliale, poate contribui și ea la lezarea celulelor epiteliale ale intestinului subțire.

Astfel, leziunile mucoasei intestinale în boala celiacă sunt inițiate în lamina propria și se datorează macrofagelor activate care exprimă molecule HLA de clasa II și prezintă Ag limfocitelor CD4⁺. Acestea produc nivele mari de receptori ai IL-2 specifice gliadinei. Mai multe dintre modificările inflamatoare din lamina propria sunt inițiate, probabil, de către limfocitele producătoare de citokine inflamatoare. Au fost identificate reacții CD8⁺ citotoxice și anticorpendepente față de epiteliu.

Perturbările imune umorale întrețin procesul patologic în această maladie. Pentru confirmarea diagnosticului și pentru tratament sunt utilizate dietele aglutenice cu excluderea produselor din grâu, secară, ovăz și orz. Se recomandă utilizarea orezului, porumbului. După indicație sunt administrați corticosteroizi.

Boala inflamatoare a colonului (BIC)

Maladiile inflamatoare idiopatice ale colonului (colonopatiile cronice inflamatoare) prezintă un grup de boli ce se definesc prin prezența inflamației cronice a intestinului gros și rectal care nu este datorată unui germen specific.

Boala inflamatoare a colonului poate evolua sub 2 forme: colita ulcerativă (rectocolita ulcero-hemoragică) și boala Crohn. Deși prezintă diferențe evidente,

ambele au în comun unele manifestări clinice și trăsături anatomopatologice, reprezentate de procesul inflamator distructiv al peretelui intestinal.

Colita ulcerativă este limitată la colon, debutul fiind, de obicei, la nivelul rectului, de unde se extinde ascendent. Se caracterizează prin ulcerare, inflamație și când are durată îndelungată, devine extensivă și poate apărea transformarea neoplazică a celulelor epiteliale ale colonului.

Boala Crohn poate fi localizată în orice parte a intestinului (enterita regională), caracteristică fiind incriminarea ileonului terminal și a colonului ascendent. Leziunea are caracter transmural cu granuloame, care adeseori produc sindromul ocluziv. Se presupune participarea virusurilor și bacteriilor în dezvoltarea maladiei Crohn. În această formă malativă se constată anticorpi față de *Saccharomyces cerevisial*, alergii alimentare (lapte, ouă etc.), autoimunizarea. Predispoziția este legată de genomul *NOD2* al cromozomului 12. În maladia Crohn este majorată rezistența Th1 la apoptoză. IL-15 este secretată local și servește ca activator al celulelor T în secreția citokinelor. În intestin, la maladia Crohn se intensifică expresia moleculelor de adeziune ICAM-3, în colita ulcero-necrozivă – a selectinei P etc. Ambele forme maladive nu au o etiologie specifică cunoscută, actualmente fiind acceptată etiologia polifactorială în care sunt incriminați factorii de mediu, genetici, imuni și cei microbieni. Indiferent de cauza procesului inflamator distructiv al peretelui intestinal, calea finală a lezării tisulare este mediată de un răspuns imun la nivelul mucoasei intestinale. Boala inflamatoare a colonului se asociază frecvent cu o serie de maladii imune extraintestinale: cutanate (eritem nodos, piodermie gangrenoasă), oculare (irite, episclerită), hepatobiliare (hepatită cronică activă, ciroză, colangită sclerozantă) și hematologice (anemie hemolitică, vasculite).

Studiul imunopatologic al leziunilor bolii inflamatoare a colonului, realizat după apariția metodelor pentru izolarea limfocitelor viabile și funcționale intraepiteliale și din lamina propria a intestinului subțire și gros, practicat mai ales în boala Crohn, a arătat că există un amestec de celule, dintre care limfocitele B reprezintă majoritatea absolută. Cercetarea subpopulațiilor de limfocite T din lamina propria la bolnavii cu colită ulcerativă și boala Crohn a demonstrat scăderea LT supresoare, raportul CD4⁺/CD8⁺ fiind de 2:1. Concomitent are loc o creștere semnificativă a numărului de celule B. În mucoasa intestinală a pacienților cu BIC s-a confirmat existența creșterii proporționale mai mari a celulelor B decât T, de asemenea, infiltrarea ei cu multiple macrofage, neutrofile și eozinofile.

Limfocitele laminei propria provenite de la pacienții cu BIC produc o cantitate foarte mică de IL-2, comparativ cu limfocitele provenite de la subiecții sănătoși, dar care nu rezultă din epuizarea imunologică a limfocitelor T. Prosta-

noizii, printre care PGE_2 sunt sintetizați în cantitate mare în BIC și sunt dotați cu capacitate blocantă sau inhibitorie asupra IL-2; blocarea PGE_2 în BIC cu indometacin nu a restaurat activitatea IL-2 a celulelor mononucleare. Actualmente se consideră că celulele mononucleare ale laminei propria din BIC au răspuns afectat la IL-2 și IL-4 și ar fi consecința unei stări modificate de activare sau diferențiere a celulelor mucoasei (modificări funcționale).

În colita ulcerativă au fost testați anticorpi anti-celulă epitelială a intestinului cu reactivitate încrucișată cu antigenii bacterieni, în special cu un lipopolizaharid asociat antigenului *E. coli* enterice, denumit antigenul enterobacterian comun al lui Kunin. În consecință, apar anticorpii care reacționează încrucișat cu constituenții proprii ai mucoasei. Prezența anticorpilor anticelulă epitelială colonică la rudele de gradul I de sex feminin a pacienților cu colită ulcerativă sugerează că acești Ac nu sunt capabili de producerea bolii în întregime. Anticorpii anticolon circulanți sunt testați în 20-71% din cazuri la bolnavii cu colită ulcerativă și mult mai rar în boala Crohn.

Autoanticorpii anti-citoplasmă a neutrofilelor (ANCA, dintre care p-ANCA) sunt prezenți în serurile pacienților cu BIC, în special la bolnavii cu colită ulcerativă în 23-88% din cazuri, iar în boala Crohn – în 28% din cazuri. Țintele moleculare ale ANCA sunt enzimele care au activitate tisulară: elastolitică, generatoare de metaboliți toxici ai oxigenului etc. După activarea polinuclearelor neutrofile, în principal de către citokine, antigenii-țintă sunt detectați la suprafața neutrofilelor și sunt accesibili ANCA. Interacțiunile membranare ANCA-Ag-țintă pot facilita eliberarea mediatorilor toxici ai polinuclearelor neutrofile și activarea metabolismului oxidativ. ANCA acționează și pe expresia membrară a moleculelor de adeziune și favorizează contactele dintre neutrofile și celulele endoteliale. Fixându-se pe enzimele-țintă, stabilizează locul lor activ sau pot prelungi activitatea lor, interferând cu antiproteazele. Evidențierea autoreactivității celulelor T față de acești Ag-țintă pune accentul pe probabila participare a mecanismelor efectoare celulare.

Sensibilizarea limfocitelor pacientului la antigenii intestinului gros a fost demonstrată în reacțiile de transformare blastică a limfocitelor și de inhibiție a migrației leucocitelor. A fost apreciat și efectul citopatogen al limfocitelor bolnavilor asupra celulelor epiteliale ale intestinului gros atât mediat de celulele T, cât și anticorpendent.

Perturbările statusului imun sunt identice celor din alte maladii autoimune. În serul sangvin este scăzut nivelul complementului, lizozimul, activitatea fagocitară a neutrofilelor. În procesul activ sunt apreciate complexe imune circulante. În colita ulcerativă, cantitatea IgG și IgA, în special a celei secretorii, este majorată. Unii autori din contra au constatat scăderea ei, considerând că deficiența IgA, în special în mucoasă, ar fi una din cauzele maladiei. Posibil, există diferite

variante imunologice ale colitei ulcerose. Ultima, de regulă, este însoțită de scăderea nivelului de limfocite T și a subpopulației supresoare. În biopsatul mucoasei intestinale, în BIC au fost depistate o cantitate majorată de celule secretoare de IgE și IgD, de asemenea, eozinofile.

Pentru colita ulcerasă sunt caracteristici Ac anti-neutrofile (70-75%), anti-celule calciforme (30-50%), pe când în maladia Crohn se constată Ac anti-Saccharomyces cerevisial (ASCA) în 60-65% din cazuri, anti-ductul pancreasului în 30-40% din cazuri.

Testul calprotectinei în fecale. Calprotectina este produsul granulocitelor neutrofile și detecția ei în fecale indică inflamația peretelui intestinal. La aceste proteine se referă lactoferina, lizozimul, elastaza, mieloperoxidaza și calprotectina. Printre acestea mai stabile sunt lactoferina și calprotectina, degradează lent sub influența proteazelor microbilor, ce permite testarea concentrației lor. Datorită acestui fapt, ele sunt referite la biomarkerii „inflamației fecale”. Calprotectina este o proteină cu MM de 36 kDa care conține calciu și zinc. Constituie 60% din proteinele conținute în citoplasmă neutrofilelor. Concentrații majore ale calprotectinei fecale se apreciază la mai mult de 90% dintre bolnavii cu procese inflamatoare intestinale, iar concentrația ei în fecale corelează cu activitatea maladiei. Depistarea calprotectinei fecale permite diferențierea pacienților cu maladii inflamatoare intestinale de cei cu sindromul intestinului gros iritat și maladiile mucoaselor (celiachia, gastrita autoimună), dar concentrațiile sporite se constată în majoritatea infecțiilor bacteriene ale tractului gastrointestinal, în diverticule și maladii tumorale. În normă, concentrația calprotectinei este mai mică de 50 μg/g fecale, în infecții – 50-100 μg/g, în maladiile inflamatoare ale intestinului – mai mult de 100 μg/g.

Pancreatita autoimună

Alterările nespecifice ale pancreasului (alcool, virusuri) ușor induc autoimunizarea. În pancreatitele cronice, autoanticorpii, limfocitele sensibilizante la Ag pancreasului, dereglări ale statusului imun se constată în aceeași măsură ca și în maladiile gastrointestinale. Posibil, modificările imunologice au un rol în cronicizarea procesului inflamator și autoimunizare.

Imunopatologia renală

Procesele imunologice joacă un rol extrem de important în multiple forme de leziuni renale. Primar, rolul reacțiilor imune în patologia renală a fost demonstrat la iepuri și șobolani prin inocularea anticorpilor xenogeni anti-membrana bazală a glomerulelor (glomerulonefrita Masugi). Autoanticorpii, complexe imune aparente participau în dezvoltarea patologiei. Se consideră că toate formele de glomerulonefrite obținute experimental pot fi observate și la om în formă de boală.

Structura capilarelor glomerulului predispune la dezvoltarea procesului patologic imun. Peretele capilarelor conține o membrană bazală (MBG) care constă

din 3 straturi: centrală (lamina densa) încorporată între zona internă (lamina rara internă) și cea externă (lamina rara externă).

Stratul intern este acoperit de endoteliu, care conține pori, iar cel extern se mărginește cu epiteliul (podocite). Peretele capilar are încărcătură negativă, iar permeabilitatea filtrelor glomerulare depinde de mărimea ei și de pori. Anionii cu MM 70 kDa sunt excluși din filtrație, iar cationii (încărcați pozitiv) chiar cu MM mai mare de 500 kDa penetrează membrana. Mezangiul este o zonă pericapilară în regiunea axei ansei capilare, care comunică prin porii endoteliului cu cavitatea capilarelor (membrana bazală este absentă). Datorită acestui fapt, macromoleculele nimeresc în mezangiul unde sunt macrofage unice.

În patologia bolilor renale mediate imun au fost descrise două categorii de antigeni: locali, fixați sau insolubili (Ag membranei bazale glomerulare – MBG și tubulare – TBM) și circulanți solubili (Ag din complexe imune de origine exogenă – bacteriene, virale și endogene – ARN, ADN, crioglobuline etc.). S-a demonstrat prezența tipurilor I și II de colagen în celulele mezangiului nefrogen. Studiile cu Ac monoclonali au identificat antigeni specifici MBG și Ag comuni cu membranele bazale din majoritatea țesuturilor.

Un antigen cu etape diferite de exprimare este *fibronectina*. După perioada de maturare, fibronectina nu mai poate fi detectată pe secțiunile de rinichi. Ea înconjoară celulele epiteliale primitive după invazia capilarelor glomerulare.

Anticorpii care sunt mai frecvent implicați în patogenia renală aparțin claselor IgG, IgM, IgA și au specificitate față de membrana bazală și alți Ag. Complexele imune aparente în exces au capacitatea de a declanșa mecanisme proinflamatoare locale. Complementul activat distruge membranele celulare, astfel participând în patogeniza glomerulonefritei membrano-proliferative, nefropatiei IgA, nefropatiei membranoase și nefropatiei lupice.

În glomerulonefritele umane sunt acceptate două tipuri de mecanisme lezionale glomerulare: mediate prin Ac anti-membrana bazală și asociate cu depuneri imune.

Depozitele de Ac față de Ag membranei bazale conduc la modelul liniar de depunere și sunt cele mai puține cazuri de afectare glomerulară, pe când cele granulare și discontinuie sunt mai numeroase. Depozitele de acest fel pot fi observate la nivelul a 3 sedii principale: în mezangiul (în nefropatia IgA, purpura Henoch-Schönlein și nefrita lupică precoce), de-a lungul suprafeței subendoteliale (în lupusul nefritic sever și în tipul I de glomerulonefrită membrano-proliferativă), pe peretele subepitelial al capilarului (în nefropatia membranoasă și în așa-zisele glomerulonefrite „humps”, poststreptococice). Formele de depozite cu complexe imune se pot produce după legarea Ac de Ag în circulație (formarea CIC) sau la nivel local.

Glomerulonefritele se deosebesc după etiopatogeneză, manifestările clinice și morfoimunopatologie. Biopsia renală permite stabilirea tipului, variantei și severității alterării rinichilor.

Cercetarea imunohistologică fluorescentă a secțiunilor criostatate obținute la biopsia renală permite stabilirea tipului, forma glomerulonefritei. Depunerile liniare ale Ig, de regulă, indică Ac anti-membrana bazală, iar cele granulare – complexe imune sau alte depozite. Pentru caracteristica lor este recomandată utilizarea anticorurilor anti-IgG, -IgA, -IgM, -C3, -C1q, -fibrinei/fibronogenului.

Anticorpii anti-membrana bazală au specificitate la glicoproteină și se observă în glomerulonefrita proliferativă extracapilară și sindromul Goodpasture. Depozitele granulare subepiteliale pe suprafața externă a membranei bazale sunt caracteristice pentru complexe imune și glomerulonefrita membranoasă însoțită de proteinurie. Depuneri analoage, dar intermitente, grosolane se întâlnesc în nefritele postinfecțioase. Depozitele granulare confluențe subepiteliale pe suprafața internă a capilarilor glomerulului se observă în nefritele secundare. Inflamația proliferativă exsudativă intensifică permeabilitatea capilarelor (proteinurie, hematurie) și conduc la obliterare progresivă.

Pentru diverse forme de nefrite și nefropatia IgA sunt caracteristice depozitele mezangiale ale Ig și complexelor imune (tab. 15.9). În serul sangvin al pacienților Ac anti-membrana bazală sunt testați prin metoda ELISA și imunofluorescența indirectă.

Glomerulonefrita cronică este cea mai frecventă și confirmată patologie renală în dezvoltarea căreia rolul major le revine mecanismelor imune, în special reacțiilor induse de complexe imune. Dar există și un șir de alte mecanisme de dezvoltare a patologiei rinichilor.

Anticorpii clasei IgG, mai rar IgA și IgM anti-membrana bazală a glomerulelor și anti-epiteliul renal participă în patogeniza sindromului Goodpasture. Acești Ac manifestă reacții încrucișate cu membrana bazală a alveolelor pulmonare. Cauza apariției lor nu este clară, dar ele se întâlnesc în complicațiile altor maladii cu glomerulonefrite (infecția streptococică, diabet zaharat, lupusul etc.). La majoritatea pacienților se observă depunerea Ac pe membrana bazală a glomerulelor și canalelor care pot fi apreciate prin imunofluorescență.

Complexele imune prezintă un alt factor imunologic patogen în glomerulonefrite. Ele pot apărea după fixarea Ac pe membrana bazală a renalelor, adică local sau după formarea lor în sânge cu depozitarea în rinichi. Cauza apariției lor pot fi infecțiile, procesele autoalergice. Interacționând cu receptorii Fc și C3 (la fixarea complementului) ai leucocitelor în rinichi induc sinteza locală de mediatori ai inflamației. Complexele imune pot, de asemenea, să se lege direct cu endoteliul capilarelor și epiteliul canalelor și conduc la creșterea permeabilității cu participarea complementului.

Pentru nefropatia IgA (maladia Berger) este caracteristică hematuria, în special la copii; se observă depuneri de IgA1, IgG și C3 în mezangiu și piele. Aceste depozite pot fi anomalii ale Ig sau pot fi consecința pătrunderii Ag în mezangiu cu legarea ulterioară a Ac. Complexele imune pot fi localizate subepitelial, subendotelial, mezangial cu diverse consecințe morfologice.

Caracteristici imunopatologice în glomerulonefritele umane

Maladie	Asociere cu MHC	Imunologie	Imunohisto-chimie	Patogeneză	Terapie imună
Boli anti-MBG	DR2, DR4	Ac anti-MBG	Depozite liniare de IgG±C3 pe MBG	Autoanticorpi anti-MBG	Plasmafereza, imunodepresante
Nefropatie membranoasă	DR3, DR2	Complexe imune variabil	Depozite fine granulare subepiteliale IgG±C3	Autoanticorpi față de celulele epiteliale; Ag plantați ?	Imunodepresante
Glomerulonefrită mezangiocapilară tip I	-	Complexe imune variabil, C3 scăzut	Depozite granulare IgG + C3 (±IgM)	Boală prin complexe imune sub-endoteliale	
Glomerulonefrită mezangiocapilară tip II	DR7 ?	NeF, C3 scăzut	Depozite granulare cu C3 pe MBG	Autoanticorpi față de C3bBb	
Nefropatia IgA	DR4, DQw7	IgA crescut variabil ± complexe imune cu IgA	Depuneri mezangiale IgA+C3 (±IgG)	Boală prin complexe imune. Autoanticorpi anti-celule mezangiale	Imunodepresante
Glomerulonefrita poststreptococică	DR4 ?, DR1	Ac anti-streptococi, Ig crescute variabil + complexe imune, C3 scăzut ±C4	Depozite granulare grosolane subepiteliale	Ag plantați ?	
Lupusul eritematos sistemic	DR3	Ac-anti-ADN, Ac anti-Sm, creșterea policlonală a Ig ± complexe imune	Depuneri subepiteliale, subendoteliale, mezangiale de IgG + IgA + C3	Ac anti-structuri ai glomerulului Ag plantați ? Boala prin complexe imune	Imunodepresante, plasmafereză
Crioglobulinemia mixtă esențială II	-	Crioglobuline, paraproteina M, IgM, complexe imune + factorul reumatoid	Depuneri granulare de IgM subendotelial + IgG + C3	Boală prin complexe imune	Plasmafereză, imunodepresante
Nefropatie cu modificări minime	DR7, DR8	Creștere variabilă (uneori) a IgM	Depozite de IgM mezangial	Rol T ?	Imunodepresante
Glomerulonefrita necrozantă focală	DR2 ?, DQw7	Ac anti-Ag neutrofilic citoplasmatic, creștere variabilă a IgG + complexe imune	Depozite variabile, IgG±IgM±C3	Autoimun ?	Imunodepresante

Testarea complexelor imune nu are importanță diagnostică, deoarece ele se întâlnesc și în alte maladii. Cantitatea lor nu corelează cu tabloul clinic. Reacțiile imune de tipul IgE pot induce alterarea rinichilor în alergია medicamentoasă etc.

Este majorată activitatea T-helperilor, producția de IL-1, IL-2, TNF- α cu scăderea activității Ts. În serul sangvin și în salivă sunt majorate nivelul IgA, IgA1 polimerizate, CIC cu IgA. Este crescută expresia CD1,1b cu scăderea moleculelor de adeziune ICAM-1. În urină se constată nivel înalt de IL-6.

În amigdalele pacienților se apreciază o cantitate majoră de celule B1 (CD5⁺), care secretă IgA1 cu depozitarea ulterioară în formă de complexe cu un Ag necunoscut în rinichi.

Un rol important în patogeneza glomerulonefritei revine complementului. După legarea cu complexe imune el se depozitează în rinichi, apare hipocomplementemia care contribuie la formarea rapidă a complexelor imune insolubile. Complementul poate fi activat de factorul nefritic C3 (C3NeF).

Infiltrația glomerulelor cu mononucleare creează „hipercelularitate” și poate fi consecința apariției complexelor imune ale reacțiilor de hipersensibilitate de tip întârziat la Ag renali. Se constată sensibilizarea limfocitelor la Ag membranei bazale glomerulare. Posibil, în glomerulonefrita cu infiltrație limfocitară aceste celule pot altera parenchimul renal direct sau prin citotoxicitate anticorpendentă.

Maladiile autoimune ale ochiului

Dereglările SI al organismului influențează evoluția, practic, a tuturor formelor nosologice malade ale ochiului. Rolul perturbărilor imune poate avea caracter divers: etiopatogenic (adică ele sunt cauza principală în dezvoltarea patologiei oculare, de ex. uveita autoimună, oftalmia simpatică), tergiversă (agravarea evoluției procesului patologic ocular indusă de infecții, traume) și concomitent, care nu influențează esențial maladia oculară, dar sunt capabile să reducă rezultatele tratamentului (de ex., cataracta posttraumatică, dezlipirea retinei, miopia complicată).

Conjunctiva ochiului uman, inclusiv limbul, sistemul de drenare și glanda lacrimală conțin țesut limfoid mucozoasociat – MALT, care prezintă o componentă a SI legat de membranele mucoase. În acestea sunt prezente toate componentele necesare pentru realizarea răspunsului imun umoral (limfocite, celule plasmatiche, aglomerări foliculare ale limfocitelor B). Unii consideră că MALT este întotdeauna prezent în conjunctiva normală, pe când alții remarcă faptul formării lor pe parcursul vieții doar la unele persoane. În condiție de normă, mastocitele, limfocitele și granulocitele sunt prezente doar în stroma conjunctivei subepiteliale. În cazul inflamației aceste celule pot apărea și în epiteliu. Conjunctiva este bogată în vase limfatice, pe când în membranele globului ocular ele sunt absente. Conjunctiva și

filmul lacrimal sunt primele bariere în calea infecției, alergenilor polenici, compușilor organici și neorganici.

Membrana externă a globului ocular, sclera, se găsește sub conjunctivă și constă din fibre colagene, de regulă, fiind alterate în maladiile autoimune. Membrana mediană, vasculară asigură secreția și refluxul umorii apoase. Alterarea membranei vasculare mai frecvent este indusă de reacțiile complexelor imune și de cele de hipersensibilitate de tip întârziat. Membrana internă – retina constă din elemente neurale și prezintă compartimentul periferic al analizatorului optic.

Membrana vasculară și derivatele ei – irisul și corpul ciliar, conțin o rețea densă de vase. Corpul ciliar produce umoarea apoasă care este un filtrat al plasmei.

Cercetările imunologice în oftalmologie au ca scop studiul mecanismelor patogenetice ale maladiei, diagnosticul imunologic, prognosticul evoluției procesului patologic ocular, complicațiile posibile, controlul tratamentului administrat și aprecierea indicațiilor pentru utilizarea remediilor imunotrope.

La cercetarea imunologică a pacienților cu oftalmopatii sunt utilizate testele pentru aprecierea imunității naturale (nespecifice) și adaptive (specifice, aparente la acțiunea antigenilor concreți). De regulă, factorii rezistenței naturale (fagocitoza, killerii naturali, sistemul complementului, proteinele fazei acute) sunt mai puțin utilizați în controlul pacienților comparativ cu răspunsul imun adaptiv. Pe larg sunt utilizate testările imunității celulare, anticorpogeneza, imunitatea asociată MALT:

- indicii imunității celulare T cu utilizarea citometriei de flux, imunofluorescenței cu anticorpi monoclonali: cantitatea limfocitelor T (CD3), subpopulația CD4⁺ (helperei), CD8⁺ (citotoxice – supresoare) și indicelui imunoregulator CD4/CD8;
- indicii imunității celulare B (responsabil de sinteza anticorpilor): concentrația imunoglobulinelor de clasa G, A și M (nefelometrie, ELISA, ARI, imunodifuzia radială în gel) și IgE (ELISA, ARI);
- concentrația și mărimea complexelor imune circulante – CIC (spectrofotometrie, nefelometrie);
- statusul autoimun organo-specific (indus de componentele țesuturilor ochiului) sau interorganic (indus de antigenii cu determinante comune țesuturilor oculare și altor organe). În acest caz se apreciază sensibilizarea celulară a limfocitelor T prin utilizarea reacției de transformare blastică a limfocitelor, reacției de inhibiție a migrației leucocitelor și autoanticorpilor (ELISA sau RHA), mai rar sunt identificate CIC specifice care conțin autoantigeni concreți și anticorpi anti-aceste Ag (după dezintegrarea prealabilă prin procedee chimice sau cu ultrasunet);
- producția și testarea citokinelor produse în ochi de keratocite, celulele glandei lacrimale, iris și corpul ciliar, epiteliul pigmentar al retinei, epiteliul cristalinului, endoteliul vascular este realizată prin ELISA.

În laboratoarele clinico-imunologice, mostrele biologice pentru testarea pacienților sunt celulele și serul sangvin; analiza modificărilor celulare și a factorilor umorali permite aprecierea statusului imun al bolnavului. Cercetarea sângelui este necesară și în maladiile oculare, deoarece multe forme oftalmopatologice prezintă manifestări ale maladiilor sistemice imunodependente și se asociază cu alterarea altor organe (uveitele în sindroamele Behçet, Vogh-Koyanagi-Harada), uveitele reumatoide, retinopatia diabetică).

Uneori, patologia oftalmică poate fi prima manifestare clinică a maladiei. Frecvent alterarea ochiului este consecința infecțiilor acute, cronice sau latente, agenții cărora persistă timp îndelungat în organism. În patogeneza acestor maladii, dereglările imune sistemice (spontane, induse, adaptive) joacă un rol major (oftalmoherpesul, oftalmotoxoplasmoza, uveita tuberculoasă, modificările în membranele oculare în hepatita virală B). Chiar în cazurile când alterarea (trauma, infecția exogenă) apare la indivizii cu statusul imun normal, reacția imună aparentă are caracter sistemic. Concomitent, în oftalmologie un rol important le revine reacțiilor imune locale la nivelul ochiului. În contextul concepțiilor contemporane, ochiul este considerat ca organ „privilegiat”. Esența „privilegiului imun” constă în asigurarea apărării de efectorii imuni care alterează țesuturile. Formarea și întreținerea stării de imunoprivilegiu sunt datorate factorilor pasivi și activi. Factorii pasivi includ particularitățile morfologice și arhitectonica imună a ochiului. Bariera hematooftalmică care include vasele irisului și epiteliul corpului ciliar, epiteliul pigmentar și vasele retinei esențial (dar nu complet) frânează pătrunderea moleculelor și celulelor. Absența unui sistem limfatic de drenaj în segmentele interne ale ochiului, de asemenea, limitează posibilitatea intraorganică de sensibilizare a limfocitelor. De regulă, informațiunea antigenică se prelinge cu lichidele intraoculare prin rețeaua trabeculară și canalul Schlemm (sinusul venos al sclerei) în circulația venoasă. Celulele stromale ale ochiului rar exprimă (sau nu exprimă deloc) antigenii HLA de clasele I și II necesari limfocitelor T pentru recunoașterea substanțelor antigenice. În final, acești factori pasivi limitează dezvoltarea reacțiilor imune, în mare măsură reducând manifestările inflamației locale.

În calitate de factori activi sunt considerate expresia constituțională pe suprafața moleculelor celulare intraoculare a Fas-liganzilor, inhibitorilor membranari ai componentelor de activare a complementului ce preîntâmpină liza celulară imunodependentă. Legarea ligandului Fas cu coreceptorul său Fas pe celulele T activate induce apoptoza. Se presupune că acest mecanism poate fi cauza mimicrii limfocitelor T sensibilizate la contactul intraocular cu antigenul. Concomitent, mediile fluide intraoculare (umoarea apoasă) conțin un șir de factori care supresează și reglează funcția celulelor imune (factorul de creștere transformant – TGF- β 2, hormonul melanocitostimulant α , polipeptida vasoactivă intestinală, peptida de legare

a calcitoninei, cortisolul liber, receptorul antagonist IL-1). Aceasta asigură capacitatea umoarei apoase de supresie a manifestărilor active ale imunității, în special efectele capabile de inducție a inflamației imense.

O altă manifestare a privilegiului imun al ochiului o constituie particularitățile răspunsului imun sistemic la antigenii prezenți intraocular sau la cei care părăsesc ochiul. Rolul principal îl joacă fenomenul ACAID (*anterior chamber associated immune deviation*), care specifică deviația imună legată de camera anterioară. Esența acestui fenomen constă în faptul că materialul antigenic care a nimerit (sau a fost inoculat) în camera anterioară a ochiului induce răspunsul imun generalizat (activarea celulelor T-citotoxice, de asemenea, a celulelor B producătoare de anticorpi care nu fixează complementul), în care nu participă celulele T inductoare a hipersensibilității de tip întârziat și celulele B secretoare de anticorpi fixatori ai complementului, ce permite evitarea dezvoltării unei reacții inflamatoare intensive. Acest fenomen este identic unui tip de „toleranță imunologică parțială” descrisă în imunologia experimentală. Au fost descrise diverse căi de transmitere a semnalului ACAID, care sunt dependente de natura antigenului. Antigenii corpusculari (virionul Herpes simplex, celulele tumorale) care au pătruns în camera anterioară a ochiului induc un răspuns local al celulelor T, producția mediatorului solubil care la pătrunderea în sânge provoacă supresia sistemică a hipersensibilității de tip întârziat caracteristică pentru ACAID. Antigenii proteici solubili (antigenul S al retinei etc.) induc semnalul ACAID celular asociat. S-a demonstrat că celulele T, în particular cele infiltrate, sunt capabile de modificarea semnalului ACAID. Au fost obținute date că mediatorul imun principal – realizator al acestor reacții – este inhibitorul activării T celulare-TGF- β și factorul de necroză a tumorilor.

Așadar, „privilegiul imun” asigură reglarea activă a reacțiilor la antigenii care pătrund (sau sunt inoculați) intraocular și a celor care părăsesc ochiul, de asemenea, reglarea manifestărilor imune în cavitatea ochiului. Dereglarea acestui mecanism de apărare este legată de dezvoltarea imunopatologiei și de alterarea imuno-genă a structurilor ochiului, de apariția maladiei oftalmice.

A fost constatat că țesuturile intraoculare imunologic neactive în normă pot fi activate de limfokine și interferoni, în special IFN- γ . Cauza creșterii producției acestor mediatori imuni pot fi deversii factori exogeni și endogeni. La astfel de zone potențial imunocompetente ale ochiului se referă periferia și centrul corneei, endoteliul ei, corpul ciliar, irisul trabecular, epiteliul pigmentar al retinei.

În condițiile dereglării barierei hematooftalmice (cauzele pot fi diverse) și infiltrației structurilor intraoculare cu celule din torrentul sangvin, dezvoltarea reacțiilor imunopatologice locale poate fi asigurată și de zonele „imunocompetente” ale ochiului, și de celulele care au infiltrat organul sau de factorii umorali. Importanța studiului reacțiilor imune la nivelul ochiului este determinată de particularitățile

răspunsului imun local care nu întotdeauna corelează cu modificările imune sistemice.

Mai accesibil pentru studiul imunității locale este lichidul lacrimal care conține lizozim, IgA, IgG, componentele complementului, citokine. La pacienții cu intervenții chirurgicale oculare sunt posibile recoltarea și cercetarea fluidelor intraoculare – umorii apoase, vitrosului, lichidului subretinal. La cercetarea acestora, de regulă se testează imunoglobulinele, citokinele, anticorpii și mai rar CIC, celulele sunt rar întâlnite.

Cercetarea concomitentă a sângelui, fluidelor lacrimale și intraoculare permite concluzionarea mai veridică a modificărilor statusului imun la nivelul ochiului și organismului.

Indicațiile pentru cercetarea imunologică a pacientului cu oftalmopatie sunt: stabilirea sau concretizarea etiologiei maladiei oculare, prognosticul evoluției procesului patologic în ochi, excluderea sau confirmarea riscului de dezvoltare a complicațiilor, controlul terapiei conservative administrate și stabilirea cauzelor ineficienței ei, excluderea (sau stabilirea) contraindicațiilor pentru intervenția chirurgicală la ochi, aprecierea riscului de dezvoltare a complicațiilor postoperatorii, aprecierea indicațiilor pentru administrarea și selecția remediilor imunocorectoare.

La interpretarea imunogramei, la acești pacienți este necesar de a lua în considerare diagnosticul clinic, localizarea și caracterul modificărilor în diferite structuri ale ochiului, durata maladiei oculare (recidivei) sau traumei chirurgicale ori habituale, stadiul și activitatea procesului, prezența maladiilor asociate, vârsta pacientului, tratamentul precedent controlului imunologic, efectuarea vaccinărilor profilactice sau curative, probelor diagnostice intracutanate.

Necesitatea analizei minuțioase a tabloului clinic al maladiei este determinată de legitățile reactivității imune. De exemplu, rezultatele negative ale cercetărilor imunologice (absența diferențelor comparativ cu norma) pot demonstra o bună stare, ce natural trebuie să corespundă tabloului clinic evolutiv (remisiune persistentă, însănătoșire) sau dimpotrivă o stare de imunodeficiență, ce frecvent se observă în formele severe de maladii oculare. Rezultatele negative pot fi și rezultatul terapiei active imunosupresive cu utilizarea citostaticelor, corticosteroizilor. Informația diagnostică a testărilor imunologice în aceste cazuri scade esențial. Utilizarea unor preparate, de ex., inductori ai interferonului, vitamina E și C sau efectuarea vaccinărilor, probelor diagnostice intracutanate (de ex., cu tuberculina) poate induce stimularea artificială a rezultatelor imune și să manifeste reacții fals-pozitive.

La interpretarea imunogramei și a unor parametri imunologici este necesar de a lua în considerare și factorul de timp. De ex., intensificarea răspunsului imun în primele zile (rar săptămâni) ale maladiei, de regulă, reflectă activarea factorilor de apărare a organismului și este un moment patogenic favorabil. Dacă hiperreacti-

vitatea imună sau semnele de imunodeficiență se păstrează pe parcursul a câtorva săptămâni sau luni, atunci este necesar de a presupune apariția patologiei imune.

Cercetarea complexă multifactorială asigură informația clară despre prezența și caracterul modificărilor în SI. Dar, în practica cotidiană, obținerea unei imunograme complete nu întotdeauna este realizabilă. Luând în considerare scopul investigației și faptul că caracterul manifestărilor imunopatologice (dereglarea unei sau altei forme imune), profunzimea lor (gradul de deviație de la normă) și localizarea dominantă (locală, sistemică, combinată) în maladiile oculare de diversă genă au un șir de particularități, iar din diapazonul major de parametri imunologici se pot selecta cele mai caracteristice pentru diverse forme nosologice ale oftalmopatologiei.

În diagnosticul etiologic al maladiilor oculare, cercetările imunologice realizate, de regulă, cuprind afecțiunile infecțioase, autoimune sau mixte (infecțio-autoimune) ale formelor oftalmopatologice.

Diagnosticul imunologic al maladiilor infecțioase oculare induse de virusuri, bacterii, protozoare, de regulă, include depistarea antigenilor agentului infecției virale (virionul Herpes simplex, citomegalovirusul, virusul gripei, adenovirusurile și enterovirusurile) în raclatul din conjunctivă cu utilizarea metodei imunofluorescente cu anticorpi. În serul sangvin și în lichidul lacrimal sunt testați anticorpii specifici antiinfecțioși prin utilizarea metodei ELISA, imunofluorescenței cu anticorpi, reacției de hemaglutinare indirectă pentru identificarea IgG (indicator al infecției cronice) și IgM (indicator al infectării primare sau activizării infecțiilor latente). Se testează sensibilizarea specifică a limfocitelor sângelui periferic și se apreciază intensitatea răspunsului imun celular la antigenii inactivați ai agentului infecțios *in vitro* în reacțiile de transformare blastică a limfocitelor, inhibiție a migrației leucocitelor. Utilizarea pe larg a ultimelor este dificilă datorită metodelor complicate, de lungă durată și frecvent a absenței posibilității de cercetare virusologică pentru evidențierea agentului infecțios în culturi celulare sau la animale.

Diagnosticul imunologic al maladiilor autoimune ale ochiului sau ale componentului autoimun în alte maladii de altă genă se bazează pe testarea sensibilizării celulare (reacția de transformare blastică a limfocitelor, de inhibiție a migrației leucocitelor), a autoanticorpilor (ELISA, RHAI), concentrației CIC. Este necesar de a lua în considerare că, în normă, autoanticorpii și autosensibilizarea nu sunt prezenți (nivelul lor este mai jos decât sensibilitatea metodelor de laborator). În calitate de preparate antigenice, în reacțiile *in vitro* frecvent sunt utilizate fracțiunile tisulare purificate obținute din țesuturile ochiului (retină, cornee, cristalin) sau ale altor organe (ficat, rinichi, colagene, ADN etc.) a bovinelor sau suinelor. Ideală este utilizarea polipeptidelor sintetizate artificial – analoge ale autoantige-

nilor umani, ce permit evitarea erorilor diagnostice dependente de specificitatea de specie a proteinelor tisulare.

La antigenii specifici tisulari ai ochiului se referă un șir de proteine ale retinei: antigenul S (solubil al fotoreceptorilor cu masa moleculară 48-52 kDa), IRBP (interfotoreceptor cu masa moleculară 140 kDa), RBP (proteina de legare a retinei cu masa moleculară 13 kDa) etc., cristalinele (subclasele α , β , γ); autoantigenii corneei (cu masa moleculară 64 și 54-55 kDa – așa-numita pereche principală de cheratine). Rolul major al acestor antigeni în dezvoltarea alterărilor autoimune ale stucturilor respective ale ochiului a fost stabilit în așa maladie ca uveita autoimună experimentală, oftalmia simpatică, ulcerul cornean (Moorent), uveitele facogene, keratitele periferice.

Ochiul conține, de asemenea, un șir de antigeni cu activitate încrucișată atât intraoculari, cât și interorgane. Prima poziție este importantă pentru explicația mecanismelor posibile de generalizare a procesului patologic în ochi, al doilea – pentru descifrarea cauzelor dezvoltării oftalmopatologiei pe fundalul maladiilor somatice concomitente. Ca exemplu pot servi prezența epitopilor identici în structurile corneei și sclerei, de asemenea, în epiteliul pigmentar al retinei. Proteina S a fost testată în celulele corpului ciliar și în trabeculele animalelor.

Unicul organ extraocular care conține antigenul S (și IRBP) este epifiza, fapt determinat de embriogeneza comună a ochiului și epifizei. În cristalin există antigeni cu determinante comune ale altor țesuturi oculare (corneea, irisul, epiteliul pigmentar al retinei, corpul ciliar și vitrosul) și, de asemenea, cu țesuturile altor organe (membrana bazală a glomerulelor renale, țesutul sinovial al articulațiilor și tendoanelor, mușchii, pielea, ficatul, splina, glandele salivare și endoteliul vascular). Epitopii cu activitate încrucișată au fost evidențiați în membrana vasculară a globului ocular și în ficat.

Unii antigeni tisulari ai ochiului posedă determinante cu activitate încrucișată cu componentele unor microorganisme ce poate servi ca premisă pentru dezvoltarea oftalmopatologiei la persoanele infectate (de ex., peptida M a antigenului S al retinei și ADN virusului hepatitei B, de asemenea, virionii leucemiei și sarcomului; antigenul IRBP și proteina cu MM 86 kDa extrasă din *E. coli*). Este important că reacțiile organo-specifice pot să se dezvolte nu numai în formele autoimune „veridice” oftalmopatologiei. Aceste reacții sunt și componenta răspunsului imun în traume, infecții, modificările vasculare și alte alterări într-un șir de maladii oculare de geneză non-autoimună. Majoritatea MA a diferitelor organe și țesuturi pot fi însoțite de procese imunopatologice ale țesuturilor oculare.

Răspunsul imun manifest și intensiv de lungă durată la antigenii țesuturilor modificate denotă despre dereglarea autoimunității organo-specifice. Patologia oculară denotă posibilitatea dezvoltării MA după traume și arsuri, ca rezultat al pă-

trunderii autoantigenilor nativi și denaturați, care, în condiții de normă sunt parțial sau complet izolați de celulele SI. În aceste cazuri, reacțiile autoimune pot deveni factori patogenetici-cheie sau dominanți în procesele oftalmopatologice. Controlul oftalmologic și imunologic asigură diagnosticul MA și alterărilor alergice ale ochiului, limfadenita ganglionilor limfatici submandibulari și parotidiani indică la geneza infecțioasă a alterărilor oculare. Prognosticul clinico-imunologic a evoluției maladiei oculare și aprecierea indicațiilor pentru administrarea remediilor imunitrope este bazată pe cunoașterea particularităților reactivității pacientului și rolul factorilor imunopatologici în diverse forme malade.

Keratitele și keratouveitele

În procesele inflamatoare ale corneei este importantă cercetarea lichidului lacrimal, prioritar pentru testarea cantitativă a imunoglobulinelor claselor M, G, A. În lichidul lacrimal în normă sunt prezente IgA (5-20 mg%), parțial legate cu componentul secretor; IgG este apreciată rar (la cca 30% din populație), în concentrații minore (până la 10 mg%). IgM, de regulă, este absentă sau ca și IgG este prezentă în cantități minore (urme). Creșterea concentrației de imunoglobuline în lichidul lacrimal denotă despre activarea imunității locale (mediate de MALT). Majorarea nivelului de IgA și, în special, testarea IgM mai frecvent este consecința dezvoltării procesului infecțios acut în cornee, iar prezența IgG – al infecției cronice sau a dezvoltării componentului autoimun. Majorarea moderată a secreției IgA mai frecvent are caracter compensator și rar se asociază cu prognosticul nefavorabil al maladiei.

Un criteriu nefavorabil patogenetic este deficitul IgA în lichidul lacrimal care reflectă insuficiența imunității locale. A fost constatat că în oftalmoherpes scăderea esențială a nivelului IgA în ochiul afectat (comparativ cu conținutul ei în ochiul par, clinic intact) poate servi ca criteriu prognostic de ulcerare a corneei și este un indicator al necesității de realizare a terapiei locale cu gamaglobuline și contraindicație pentru corticoterapie.

Hiperproducția de IgA (concentrația în lichidul lacrimal a ochiului afectat este de 2-3 ori mai mare decât în cel par) se constată prioritar în keratita discoidă fără ulcerare. În cazurile creșterii concomitente a nivelului IgA în lichidul lacrimal (până la 60 mg% și mai mult) și în serul sangvin (mai mult de 50 mg%), este argumentată administrarea terapiei cu corticosteroizi în asociație cu remedii antivirale.

În keratitele virale, un factor important de apărare imună este secreția interferonului. La bolnavii cu oftalmoherpes IFN- α în lichidul lacrimal se apreciază rar (nu mai mult de 20% din cazuri), iar în ser poate fi apreciat în până la 80% din cazuri. Scăderea capacității de producție a IFN- α este în concordanță cu evoluția severă și cu recidivele frecvente ale keratitelor și keratouveitelor de geneză virală. Prin

acest fapt este explicabilă eficacitatea terapeutică înaltă a administrării interferonului. Mai rațională este utilizarea remediilor de inducție a sintezei IFN (poludan, actipol) care stimulează secreția citokinei endogene. Administrarea interferonului exogen (forma medicamentosă) poate conduce la diminuarea interferonogenezei și, respectiv, la scăderea efectului curativ.

Concomitent cu deficiența de sinteză a INF, în keratite poate fi observată intensificarea esențială a producției de TNF- α în serul sangvin (până la 700-1000 pg/ml) și în lichidul lacrimal (până la 70-100 pg/ml), de ex. la asocierea procesului inflamator în corneea cu hepatita cronică B. Se presupune că hiperproducția acestei proteine proinflamatoare, concomitent cu acțiunea distructivă a virusului, poate contribui la apariția componentului autoimun și la dezvoltarea patologiei stromale severe a corneei. Au fost constatate criteriile care permit prognozarea evoluției keratitelor în baza aprecierii nivelului de anticorpi anti-cornee în RHA1. Titrele de anticorpi în lichidul lacrimal 1:32-1:128 în absența autoanticorpilor în sânge și sensibilizarea slabă celulară sunt considerate ca reacție normală și se asociază cu un final favorabil al maladiei. Hiperproducția de anticorpi în lichidul lacrimal (titru mai mare de 1:512), în asociere cu reacțiile autoimune sistemice, frecvent sunt însoțite de ulcerarea corneei. Absența sau nivelurile joase ale anticorpilor anti-cornee în lichidul lacrimal și ser (mai mic de 1:8 - 1:16), asociat unui tablou clinic sever al keratitei stromale, denotă o reducere a imunității locale neadecvate (ca și în deficiența IgA în lichidul lacrimal) și/sau formarea CIC patologice care contribuie la formarea reacției postinflamatoare.

În keratitele induse viral, precum și în keratouveite și uveite, unul dintre factorii patogenetici principali este imunitatea specifică anti-uveitoinfecțioasă. A fost demonstrată reducerea esențială a imunității celulare la bolnavii cu keratite stromale recidivante și ulcer al corneei, la care atacul oftalmoherpesului alternează cu manifestările extraoculare ale infecției (herpes labial etc.) sau îl însoțesc. Imunitatea umorală, de regulă, este păstrată (anticorpii de clasa IgG și IgM, anticorpii la proteinele virale nestructurale timpurii). Titrurile anticorpilor virus-neutralizanți ating niveluri de 1:260-1:320, dar ele n-au capacitate protectivă în infecție, ceea ce confirmă importanța majoră a imunității celulare în infecția herpetică. În același timp, în keratouveite și uveite frecvent recidivante, supresia imunității celulare specifice este observată rar (25% dintre bolnavi); la majoritatea pacienților cu această afecțiune se constată hiperreactivitatea indusă de antigeni, în special la debutul recidivei, ce denotă intensificarea a transformării blastice a limfocitelor *in vitro* la virionul inactivat. De regulă, ea se asociază cu titruri minore de anticorpi antivirali și detecția rară a antigenului viral în conjunctivă, ce permite de a presupune predominarea componentului imunopatologic. Pentru pacienții cu astfel de forme de keratouveite și uveite este caracteristică polisensibilizarea la antige-

nii agenților patogeni cu tropism oftalmic (virionii Herpes simplex, toxoplasmin etc.). Starea imunodeficientă în oftalmoherpes poate fi indusă pe mai multe căi. Au fost obținute date că în perioada reactivării infecției se observă un deficit al producerii IL-1, IL-2 (mediatori necesari pentru răspunsul imunoproliferativ normal) și scăderea capacității limfocitelor de a răspunde la aceste citokine *in vitro*, ceea ce, de fapt, asigură dereglarea etapelor imunoreactogene dependente de interleukine.

Infecția herpetică cu imunodeficiență este caracteristică și pentru perioada dintre recidive. Dar în această perioadă rolul major îl au dereglările rezistenței naturale, imunitatea secretorie locală, citotoxicitatea anticorp-dependentă și naturală, probabil, dependentă de defectele genetice ale sistemului imun. Optimizarea tratamentului în acest caz se obține prin utilizarea remediilor imunostimulante și imunocorectoare (tactivin, timalin, poludan, actipol, imunofan, polivaccinul herpetic).

Patologia imună este un factor esențial patogenetic al maladiilor inflamatoare a membranei vasculare și retinei. Este cunoscut că dezvoltarea uveitelor endogene deseori este determinată de infecțiile acute și cronice pentru care sunt caracteristice perturbări ale tuturor etapelor de apărare naturală și adaptivă: tuberculoza, toxoplasmoza, Herpesul simplex, citomegalovirusul, gripa; în ultimii ani a fost stabilită acțiunea oftalmotropă a enterovirusurilor și virionului hepatitei B. Dereglările imune pot fi atât premisa dezvoltării, cât și consecința procesului infecțios. În uveite se observă stimularea producției locale și/sau sistemice, dereglarea echilibrului citokinelor pro- și antiinflamatoare, defecte în sistemul interferoanelor (deficit sau, dimpotrivă, hiperproducția IFN- α și/sau INF- γ), diminuarea imunității celulare T, în special a T-helperilor, disimunoglobulinemia (în ser și în lichidul lacrimal), majorarea concentrației CIC etc. A fost constatată asocierea uveitelor cu HLA-B27, HLA-B5, HLA-D5 și alte molecule. Uveitele frecvent se înregistrează în spondilita anchilozantă, sindromul Reiter, care tot sunt asociate cu HLA-B27. În artrita juvenilă reumatoidă poate fi observată uveita cronică cu anticorpi antinucleari și corpusculi Rassel (depuneri în formă de cristale a Ig în iris). Sarcoidoza, invaziile parazitare pot fi cauza uveitelor.

În uveitele autoimune LT CD4⁺ infiltrază membrana iriană și suferă apoptoză. Cauza acestui proces pot fi infecțiile virale. Se constată sensibilizarea la Ag membranei vasculare (Ag S).

Mediatorii principali ai inflamației în uveite sunt TNF- α și IL-1R. Experimental pe animale a fost constatat că injecțiile intraoculare ale acestor citokine induc apariția uveitei, iar administrarea ulterioară a anticorpilor anti-TNF sau a antagonistului receptorului IL-1R supresează inflamația. Tot experimental a fost demonstrat efectul uveitogenic al IL-8, citokinei, care posedă activitate esențială chemotactică pentru leucocite, astfel participând în dezvoltarea procesului inflamator. Alte citokine IL-6, IL-10, factorul de creștere transformator (TGF), IL-4,

IFN- α , IFN- γ manifestă efecte dependente de doză, în diferite condiții intensificând sau, dimpotrivă, supresând inflamația intraoculară. A fost demonstrat, de exemplu, că inocularea primară a IL-6 în vitros induce dezvoltarea uveitei la șobolani, dar la injecțiile ulterioare se formează rezistența la maladie. Explicația acestui fapt ar fi proprietățile particulare ale IL-6: fiind o citokină tipică a inflamației, ea limitează producția altor citokine proinflamatoare ce și apreciază rolul ei patogenetic contradictoriu. În patogeneza uveitelor endogene, componentul autoimun are o importanță majoră. Dezvoltarea reacțiilor autoimune este legată de scăderea T-supresoarelor și de modificarea coraportului subpopulațiilor imunoreglatoare ale celulelor T. Ca indice indirect al procesului autoimun este creșterea valorii CD4/CD8, pe când în uveitele pur infecțioase acesta frecvent este mai mic, comparativ cu norma.

Răspunsul imun celular și anticorpilor anti-țesuturile ochiului sunt elementele principale ale autoimunizării. O activitate majoră în inducerea uveitei manifestă antigenul S al retinei. S-a constatat că reacțiile autoimune induse de această proteină sunt observate numai la prezența modificărilor în fundul ochiului. Acest fapt este luat în considerare în diagnosticul imunologic al procesului patologic cu implicarea retinei la pacienții cu opalescență a maladiilor ochiului în cazurile când oftalmoscopia nu poate fi efectuată.

Răspunsul imun la antigenul S se dezvoltă în uveoretinite de diversă etiologie: herpetice, toxoplasmatice, tuberculoase, asociate cu sindromul Behçet, Vogt-Koyanagi-Harada, hepatita B sau C, de asemenea, cu uveite de genă neclară. Mai rar autoimunizarea la antigenul S se testează în uveitele reumatice și practic nu se apreciază în sindromul Fuchs, în maladia Still, uveitele induse de vaccinul BCG.

În baza studiilor uveoretinitelor herpetice și tuberculoase, a fost demonstrat că procesele cronice torpide se caracterizează prin intensificarea răspunsului imun la agentul infecțios și antigenul S. În tuberculoza ochilor, infecția „pură” este diagnosticată doar în 30% din cazurile cu recidivarea rară a uveitei și în 5% din cazurile cu reactivare frecventă. Rolul patogenetic al componentului autoimun se confirmă prin depistarea reacțiilor focale (acutizarea uveitei la inocularea i.c. a tuberculinei) pe fundalul sensibilizării mixte la tuberculină și antigenul S în 100% din cazuri. La pacienții care nu manifestă semne de autoimunizare, indiferent de intensitatea răspunsului antiinfecțios, reacțiile focale sunt observate mult mai rar. Printre uveitele exogene sunt evidențiate formele autoimune: inflamația facogenă în tractul vascular al ochiului, uveitele asociate cu sindroamele Behçet, Vogt-Koyanagi-Harada, unele forme de uveite periferice. În aceste maladii predomină reacțiile autoimune (specifice țesuturilor, uneori intraorganice), este majorată concentrația CIC de mărime mică (cele mai patogene). Dar și în aceste grupe rolul infecției ca factor declanșator nu poate fi exclus complet.

Reacțiile imunopatologice sunt factorii principali în mecanismele de alterare a ochiului congener la pacienții cu uveită unilaterală. S-a constatat că rolul esențial în acest proces le revine dereglărilor sistemice ale imunității. Indicatorii riscului de dezvoltare a maladiei ochiului pot fi persistența durabilă a răspunsului imun celular (în RTBL) la antigenul S sau alți autoantigeni ai retinei, depistarea concomitență a imunoglobulinelor IgG și IgM față de Ag S și anticorpii anti-ADN (la copii): creșterea serică a concentrației IgG și CIC, inclusiv a celor specifice cu conținut de Ag S și Ac anti-Ag S.

În condițiile dereglării barierei hematooftalmice a ochiului alterat, în torentul sangvin pătrund antigenii specifici tisulari, apar limfocitele sensibilizate și anticorpii. La minorizarea funcției celulelor T-supresoare și la acțiunea infecției, vaccinurilor etc. are loc intensificarea reacțiilor autoimune sistemice ce în final conduce la alterarea ochiului par după tipul uveitei clasice autoimune experimentale. Rolul major în acest proces îl au citokinele proinflamatoare. Se cunoaște că INF- α și IL-1R manifestă efecte la distanță și sunt capabile să inducă modificări în endoteliul vaselor barierei hematooftalmice, majorând permeabilitatea ei, activând moleculele de adeziune celulară și astfel contribuind la migrarea celulelor inflamatoare în ochiul par.

Perturbările imune locale care influențează esențial evoluția procesului patologic în ochiul bolnav, în bilateralizarea uveitei au un rol nesemnificativ. Nu este încă clar mecanismul de dezvoltare a reacției imune concomitente care este identificată la cercetarea lichidului lacrimal al ochiului par (în el este dereglată secreția imunoglobulinelor și a unor citokine, se constată anticorpi). Se presupune că acest fenomen reflectă modificările subclinice în structurile ochiului par, transferul cărora în forma clinică este asociat cu activarea reacțiilor imunopatologice la nivelul întregului organism.

Necesitatea utilizării remediilor imunotrope în tratamentul uveitelor nu induce dubii. La selecția preparatelor este necesar de a lua în considerare particularitățile statusului imun al pacientului. Pentru supresia reacțiilor autoimune este necesar de a utiliza imunosupresoare (corticosteroizii, citostatice, ciclosporina A, FK-506). Dar utilizarea lor în cazurile neargumentate, de ex., a dexametazonei în uveite la bolnavii cu indici minori ai imunității locale (nivele scăzute de IgA și absența anticorpilor antitissulari specifici în lichidul lacrimal în faza activă a maladiei), crește riscul dezvoltării complicațiilor postuveale, în particular a distrofiei corioretinale.

În unele cazuri, pentru ameliorarea stărilor imunodeficitare este necesar de a utiliza imunostimulante (interferon, tactivin etc.). Trebuie de luat în considerare faptul că stimularea imună intensivă sau citokinoterapia substitutivă tot pot induce complicații. Au fost acumulate date multiple care denotă despre modificarea structurilor oculare (hemoragia intraoculară, retinopatia și retinita, neuropatia,

glaucomul neovascular etc.) în urma utilizării preparatului interferon la bolnavii cu hepatite și alte maladii somatice. Optimală ar fi utilizarea remediilor imunocorectoare care permit normalizarea parametrilor imuni dereglați primar (reducerea hiperreactivității și majorarea indicilor scăzuți fără influență la cei normali). La această grupă de preparate se referă mielopida, imunofanul. Un efect imunocorrector pot manifesta tactivinul, poludanul, metodele extracorporale (plasmafereza, hemosorbția) în complex cu doze mici de corticosteroizi.

Oftalmia simpatică se dezvoltă după trauma unui ochi fiind însoțită de uveită. Sunt testați Ac anti-Ag S, anti-membrana vasculară. Uveita facogenă se constată după alterarea cristalinului sau în cataractă cu manifestarea iridociclitei. Se apreciază autoanticorpi și HTÎ la Ag cristaline α .

Retinopatia diabetică se referă la maladiile proliferative ale ochiului. Este cunoscut că la baza diabetului zaharat insulino-dependent (DZID) stau reacțiile autoimune mediate T celular, care conduc la distrucția celulelor β insulare ale pancreasului și la dereglarea producției de insulină. Pentru DZID sunt caracteristice dereglările diferitor verigi ale SI. Există informații atât despre inhibarea, cât și despre activarea unor subpopulații limfocitare T și B, disimunoglobulinemie, reducerea funcției fagocitare a neutrofilelor, creșterea nivelului de CIC. A fost stabilită legătura dintre DZID cu anumiți Ag HLA. La prezența unui Ag HLA (DR3 sau DR4; B8 sau B15) probabilitatea dezvoltării maladiei crește de 2-4 ori, iar la prezența a 2 Ag – de 10-12 ori. Antigenii HLA-B7, -A3, -Dw2 și -DRw2 sunt considerați ca protecivi, adică de reducerea riscului de dezvoltare a DZID. Frecvent apariția DZID este precedată de infecțiile virale: citomegalovirale, enterovirale, parotidita epidemică, rubeola, rujeola, hepatita, infecția Cocksackie, asociate în majoritatea cazurilor cu insuficiența imună secundară. Actualmente, toate complicațiile diabetului sunt evaluate sub aspectul dereglărilor metabolice care se dezvoltă pe fundalul modificărilor reactivității imunologice. Una dintre cele mai severe forme de complicații este retinopatia diabetică. În patogeneza ei participă citokinele, care influențează activ dezvoltarea și reglarea răspunsului imun antigen-specific, inclusiv cel autoimun (TNF- α , IL-1, IL-6, IFN- γ etc.), dereglarea proceselor proliferative (IFN- α , TGF- β 1) și angiogeneza (TNF- α , IL-8, TGF- β 1), de asemenea, cu proprietăți citotoxice (TNF- α) și antivirale (IFN- α , IFN- γ). Multe dintre citokinele enumerate posedă efecte încrucișate.

Pentru pacienții cu DZID este caracteristică dereglarea sistemului citokinic atât sistemic (dependent de dezvoltarea maladiei de bază), cât și local (în ochi), aparente până la dezvoltarea manifestărilor clinice ale retinopatiei diabetice. În toate fazele maladiei, începând cu cea subclinică și până la cea terminală, se constată hipersecreția TNF- α – factor cu rol-cheie în patogeneza DZID. Funcțiile polipotente ale TNF- α , în particular activarea celulelor endoteliale vasculare și, respectiv,

stimularea angiogenezei, stimularea limfocitelor T și B și a reacțiilor autoimune, acțiunea citotoxică directă asupra celulelor-țintă sunt concludente pentru aprecierea că producția majoră persistentă a acestora este un factor nefavorabil care contribuie la dezvoltarea și progresarea retinopatiei diabetice. Majorarea intensității perturbărilor statusului citokinic se asociază cu faza terminală proliferativă a retinopatiei diabetice. Sunt apreciați și markerii prognostici ai acestui stadiu: în lichidul lacrimal – nivel crescut esențial al IFN- γ (până la 25 000-30 000 pg/ml la norma de 8 000-10 000 pg/ml) cu hiperproducția căruia sunt intensificate reacțiile imunopatologice; în ser – surplus de TGF- β (factor principal de reglare a proceselor proliferative cu MM 40 000-60 000 pg/ml la norma de 2 ori mai mică).

Despre rolul antigenului S al retinei în geneza retinopatiei diabetice denotă dependența manifestării ei cu concentrația maximă a anticorpilor IgM și/sau IgG în serul sangvin (100%) și în lichidul lacrimal (80%). Retinopatia diabetică proliferativă se asociază cu acumularea Ac (prioritar IgG) în fluidele intraoculare în prezența serică a anticorpilor de ambele clase (sau dispariției lor datorită formării de CIC de mărime mică).

S-a constatat rolul decisiv al infecției citomegalovirale cronice, acutizarea căreia (pe fundalul reducerii statusului interferonic) se consideră unul din factorii inductori, posibili ai reacțiilor imune la antigenii retinei.

Statusul imun al pacientului influențează eficacitatea tratamentului retinopatiei diabetice prin utilizarea coagulării cu laser a retinei. Laser-coagularea induce modificări în producția de citokine atât la nivelul ochiului, cât și în organism. Efectul pozitiv al terapiei se asociază cu tendința de normalizare a producției de citokine. În cazurile de progresare a retinopatiei diabetice (efect defavorabil) se constată creșterea modificărilor în sistemul citokinic și a imunității specifice anti-țesuturile retinei, comparativ cu cei fără intervenție chirurgicală și cei operați cu succes.

Depistarea nivelurilor majore de IFN- α în lacrimi și/sau în serul sangvin înainte de laser-coagulare se asociază cu riscul de dezvoltare a complicațiilor postoperatorii și se consideră contraindicație pentru efectuarea ei.

Imunopatologia sistemelor nervos și neuromuscular

Scleroza multiplă (SM) este o afecțiune neurologică cronică autoimună, frecvent invalidizantă, a adulților tineri, caracterizată prin dereglări progresive ale funcțiilor neurologice, determinate de demielinizarea sistemului nervos central (SNC). Există o susceptibilitate genetică a pacienților de a dezvolta afecțiunea legată de sistemul HLA, cu preponderența tipurilor HLA-A2, -B7, -DR2, -DQB1 și -DQA1 și afectarea prioritară a femeilor tinere.

Etiologia maladiei este necunoscută, având un caracter heterogen. Studiile epidemiologice au demonstrat intervenția unor virusuri, în special al rujeolei, ru-

beolei, Epstein-Barr, Herpes simplex de tip 6, retrovirusului ERV-9 (retrovirusul sclerozei multiple – MSRV) etc.

În imunopatogeneza maladiei participă factorii imuni celulari și umorali cu realizarea unui răspuns autoimun anti-antigenul proteinei bazice mielinice (PBM). În favoarea acestei viziuni a patogenezei pledează următoarele date:

- în organismul pacienților sunt testați autoanticorpii și limfocitele T (LT) sensibilizate la PBM;
- inocularea PBM animalelor induce dezvoltarea encefalomielitei alergice experimentale (EAE) asemănătoare prin manifestările clinico-morfologice cu SM;
- s-a constatat interconexiunea veridică între particularitățile imunogenetice ale organismului după sistemul HLA și predispoziția la SM;
- s-a elucidat efectul pozitiv al imunoterapiei pacienților cu SM.

Țimp îndelungat SNC era considerat ca organ privilegiat al organismului, datorită barierei hematoencefalice (BHE). Actualmente, este cunoscut faptul că celulele endoteliale ale capilarelor creierului (baza barierei hematoencefalice) diferă de alte sisteme capilare (sunt bogate în mitocondrii, uneori au vezicule pinocitare și posedă capacitatea de contact strâns între ele, asigurând rezistența electrică). Concomitent, aceste celule contactează cu astrocitele capabile de reglarea permeabilității celulelor endoteliale. Bariera hematoencefalică este o membrană reglatoare bidirecțională dintre sânge și creier. Celulele endoteliale selectiv permit transportul substanțelor nutritive (aminoacizi, zaharide) în țesutul cerebral, apără celulele creierului de deviațiile majorate ale concentrațiilor factorilor neurotransmisivi și de creștere. Capacitatea de contact strâns a celulelor endoteliale blochează pătrunderea leucocitelor în SNC. Diversi factori, inclusiv în procesele autoimune, dereglează această capacitate a celulelor endoteliale (de ex., la inflamație are loc infiltrarea leucocitară și intensificarea permeabilității vasculare). Un rol important în descifrarea concepției imunopatogenezei SM a avut elaborarea modelului experimental al maladiei EAE.

Actualmente se consideră că la etapa primară de dezvoltare a maladiei, limfocitele T traversează BHE cu permeabilitate crescută. Aceste limfocite T dispun de markerul respectiv și de molecule de adeziune din familia integrinelor. Prin intermediul moleculelor de adeziune, limfocitele T se fixează la receptorul respectiv al celulelor endoteliale și pătrund din capilare în țesutul creierului. Bariera hematoencefalică poate fi traversată de orice celulă activată și nu este obligatoriu ca celula T activată să dispună specificitate la proteina bazică mielinică (PBM).

Membrana mielinică are câțiva Ag encefalitogeni, răspunsul imun la care poate fi cauza demielinizării (PBM, M_2 și proteolipida PLM). Rolul major

în declanșarea SM revine PBM, fapt confirmat în studiile imunologice. Ea posedă antigenitate majoră dispunând de câțiva epitopi. Următoarea etapă o reprezintă interacțiunea limfocitelor T cu astrocitele care prezintă antigenii (APC). Markerii activării limfocitare sunt factori solubili serici cu acțiune locală (limfokinele) de tipul IFN- γ , care determină amplificarea interacțiunii endoteliului vascular cu limfocitele T-reactive față de Ag mielinici prin apariția Ag la nivelul membranei celulare. Ca și macrofagele, celulele endoteliale secretă IL-1, proces urmat de creșterea adhezivității leucocitare și a activității procoagulante, care precede migrarea leucocitelor în spațiul perivascular.

La nivelul SNC, astrocitele proliferate, având caracteristicile morfofuncționale ale macrofagului, prezintă antigenii limfocitelor T (rol de APC) și eliberează IL-1, care activează limfocitele T din vecinătatea astrocitului stimulat.

Astfel, răspunsul imun mediat prin celulele T-helper purtătoare de receptori pentru IL-1, având drept consecință secreția de IL-2, factor de creștere a limfocitelor, element ce definește activarea limfocitară maximă.

Cea de-a doua etapă a răspunsului inflamator identificat în bolile demielinizante este reprezentată de apariția edemului inflamator, fenomen corelat cu apariția semnelor clinice. Astrocitele activate eliberează IL-3 care acționează la nivelul SNC, determinând multiplicarea celulelor microgliale și a monocitelor invadante în parenchimul cerebral. La nivelul regiunii demielinizante, atât macrofagele, cât și astrocitele activate, produc prostaglandina E₂ (PGE₂), realizându-se astfel reacția de tip inflamator față de constituenții mielinici. Aceasta se amplifică odată cu activarea complementului în ariile de demielinizare, ceea ce prezintă, printre alte efecte, și inducția secreției de către macrofage a radicalilor liberi de oxigen, care la rândul lor realizează lanțul imunopatologic nespecific al SM. La nivelul zonelor demielinizante, în afara macrofagelor și astrocitelor, au fost identificate și numeroase limfocite, aparținând ambelor subpopulații celulare, dar predominant de tip T, și anume celulele CD4⁺. Concluziile multiplelor studii privind activarea limfocitară în SM, atât la nivelul limfocitelor T, cât și B, sunt unanime, aceasta fiind considerată consecința foarte probabilă a unei dereglări a mecanismelor ce controlează sectoarele date. Aproximativ la 60-70% dintre bolnavii cu SM în faza acută a fost evidențiată scăderea semnificativ statistică a valorilor limfocitelor CD8⁺ în sângele periferic cu reducerea funcției supresoare.

Atât studiile imunologice, cât și datele furnizate de rezonanța magnetică nucleară (RMN) cu substanță de contrast, au relevat migrări limfocitare predominant a celor de tip Ts/Tc din circulația periferică în focarele lezionale din

SNC, explicându-se astfel diminuarea acestor subpopulații limfocitare din sângele periferic.

Oligodendrocitele sunt implicate în patogenia bolii, probabil prin incapacitatea lor de a reface teaca de mielină a neuronului afectat, disfuncție secundară unui defect metabolic cu posibil determinism genetic. Ele pot interveni și în prima fază a declanșării procesului demielinizant, întrucât sunt celule specializate purtătoare de receptori pentru fragmentul Fc al imunoglobulinelor și pentru proliferarea limfocitelor T.

În tab. 15.10 sunt redată modificările imune în SM care nu sunt observate la toți pacienții în diverse stadii.

Tabelul 15.10

Modificări imune în scleroza multiplă

Indici	Caracter
Funcția limfocitelor CD4 ⁺	Majorată
Funcția limfocitelor CD8 ⁺	Scăzută
Indicele imunoreglator CD4 ⁺ /CD8 ⁺	Modificat
Producerea citokinelor TNF- α , IL-2, IFN- γ	Majorată
Nivelul limfocitelor B în sânge și LCR	Majorată
Ac anti-PBM, antivirurile rujeolei, rubeolei, herpes simplex	Titru majorat
Concentrația CIC	Majorată
Funcția killerilor naturali	Scăzută
Depuneri de IgG în jurul plăcilor	Prezente
Limfocite sensibilizate la PBM	Prezente

Celulele NK secretă o gamă largă de limfokine, inclusiv IFN- γ , inițiind astfel lanțul imunopatologic al procesului de demielinizare. Ele pot fi activate atât de factorii exogeni (virusuri), cât și de factorii endogeni (IL-2, IgG cu funcție de anticorpi sau celule-ținte cu anticorpi) implicați în procesul autoimun din SM.

Fără a fi preponderent, răspunsul imun umoral joacă un rol important în patogenia maladiei. S-a observat creșterea nivelului IgG în LCR a bolnavilor, element caracteristic numai fazelor active ale bolii, sintetizate local. Dintre subclasele IgG pare să aibă valoare mai semnificativă IgG1. De asemenea, s-a evidențiat prezența lanțurilor uşoare k în LCR, aspect în mare parte specific pentru SM. Studiile recente au legat sinteza de IgG în LCR de genotipul Gm și de fenotipul HLA-DR2 sau HLA-DR7. S-a remarcat scăderea IgG în LCR postcorticoterapie

și prezența benzilor de IgG monoclonale la nivelul plăcilor de demielinizare. Anticorpii claselor IgE și IgG anti-PBM au fost testați la toți pacienții în serul sangvin. Anticorpi identici au fost evidențiați și la indivizii sănătoși, dar în titre mici. Creșterea concomitentă a limfocitelor B din sânge cu cele din LCR pledează, de asemenea, pentru implicarea imunității umorale. Limfocitele B din LCR la bolnavii cu SM sunt mai reactive la răspunsurile mitogene decât cele din sângele periferic, această anomalie intrinsecă putând fi responsabilă de proliferarea lor și de sinteza exagerată de IgG în LCR. Prezența Ac anti-proteina bazică mielinică, anti-MAG (mielina asociată unei glicoproteine), antioligodendritice, antirujeolici, antirubeolici, antivaccinali, antiherpetici, antiinfluenza, antiparainfluenza denotă despre rolul important al imunității umorale în SM. Infecțiile virale ale căilor respiratorii măresc riscul îmbolnăvirii de 2-3 ori. Ele ar declanșa procesul inflamator și demielinizarea prin stimularea producerii de citokine (IFN- γ , TNF).

Unele studii au demonstrat existența unor corelații între prevalența pacienților cu SM care prezintă valori crescute ale complexelor imune circulante (CIC) atât în ser, cât și în LCR, și stadiul clinic al maladiei și tratamentul administrat, precum și faptul că minorizarea nivelurilor serice ale C3, C1 corelează cu nivelurile crescute ale CIC, și poate fi considerată ca marker al severității SM. În plus, componentele complementului (ex., C3d) se pot observa la nivelul leziunilor demielinizante.

Cercetări privind rolul stresului emoțional în declanșarea puseelor de SM au evidențiat legături reciproce între SNC și cel imun. În calitate de antigeni poate fi cristalinul $\alpha\beta$, proteina stresului indusă de virusul Epstein-Barr, HSV de tip 6 etc. Limfocitele se acoperă cu un număr neașteptat de mare de receptori β . TNF și interleukinele acționează asupra neuronilor; astfel, IL-1 determină creșterea concentrației substanței P intracelulară și stimulează neuronii din centrii termici ai hipotalamusului.

În LCR la mai mult de 90% dintre bolnavi, se conțin limfocite prezentate de celulele T și T-helperi, este majorată secreția IL-2, sunt prezente citokinele MIF, IL-1 și TNF.

În ultimii ani, teoria mimicrii antigenice și a activării LT și LB autoreactive este una populară, care explică pierderea toleranței și apariția SM. În normă există LT și LB autoreactive care pot fi activate atât de autoantigenii nespecifici, cât și de stimulii nespecifici cu păstrarea specificității autoreactive. Astfel de LT activate obțin fenotipul celulelor cu memorie, proliferază și cresc cantitativ, fiind capabile să dezvolte răspuns autoimun. Peptidele diferitor agenți infecțioși posedă omologie cu epitopii imunodominanți PBM, amplasați în regiunea 85-99 a secvențelor aminoacide. Identitatea dată permite peptidelor microbiene să activeze LT autoreactive. Cu o frecvență veridică majoră acest proces se întâlnește în cazul când fenotipul HLA conține Ag DR2. S-a constatat că indivizii

pozitivi HLA-DR2, limfocitele autoreactive la PBM pot fi activate de peptidele microbiene: din polimeraza ADN VEB, hemaglutinina virusului gripei tip A, din polimeraza ADN HSV.

Din cele expuse, devine clară situația dezvoltării frecvente a SM după infecțiile cu aceste virusuri. La indivizii purtători de alți Ag HLA, de ex. HLA-DQ1, limfocitele T-autoreactive vor fi activate de alte peptide microbiene. Cca 40% din cazurile de SM apar după maladiile virale. Există date că structura CD3 a TCR are identitate cu anumite secvențe ale PMB. La secreția Ac anti-PMB, ei se leagă cu structurile CD3, activează LT, care, la rândul lor, lizează PMB și alterează țesutul cerebral.

Dezvoltarea maladiei, de regulă, este dependentă de infecțiile suportate, reacțiile alergice postvaccinale, traume, supradozare psihoemoțională; uneori, SM apare fără cauză vizibilă. Simptomele caracteristice ale maladiei sunt nevrita nervului oftalmic, nevrita retrobulbară, vorbirea scandată și dereglări motorice, tremor, nistagm, absența sau scăderea reflexelor peretelui abdominal anterior, parestezie prioritar a segmentelor distale ale membrilor, dereglarea urinării. Frecvent aceste simptome se asociază cu dereglări psihice.

Morfologic, pentru SM este caracteristică formarea focarelor dense demielinizante cu dimensiuni uneori până la câțiva centimetri. De regulă, focarele demielinizante sunt depistate la periferia ventriculelor cerebrale, în zona subcorticală a substanței albe, în cerebel, în segmentele cervicale și lombare ale măduvei spinării. Sistemul nervos periferic, de regulă, nu este afectat. În cazurile precoce, perivascular se constată infiltrația caracteristică inflamatoare cu limfocite, plasmocite și celule microgliale.

La pacienții cu SM au fost constatate perturbări ale statusului imun care pot fi utilizate ca criterii în *diagnosticul maladiei*: majorarea funcției limfocitelor T-helperi (CD4⁺), reducerea funcției limfocitelor T-supresoare (CD8⁺), modificarea indicelui imunoregulator, intensificarea producției TNF- α , IL-2, IFN- γ , creșterea titrului de anticorpi anti-PMB, anti-virusuri diverse (rujeolă, rubeolă, Herpes simplex etc.), majorarea nivelului de CIC, apariția limfocitelor sensibilizate la PMB.

A fost constatat rolul factorilor imunogenetici în dezvoltarea SM (asocierea predispoziției la maladie cu fenotipul HLA-DR2, DQA1, DQB1). Evoluția remitentă se explică prin capacitatea lor de a lega și prezenta pentru recunoaștere epitopii encefalitogeni ai PMB. Terapia SM include corticosteroizi, hemosorbție, plasmafereză etc.

Miastenia gravis este o maladie autoimună cronică recidivantă care se manifestă prin slăbiciune musculară și fatigabilitate pronunțată. Miastenia are la bază sinteza de anticorpi direcționați contra receptorului de acetilcolină, situat pe membrana fibrei musculare striate și care participă la contracția musculară. Miastenia gravis este o maladie relativ rară (0,5-14,2 cazuri la 100 000 populație) și poate debuta la orice

vârstă. Femeile sunt afectate puțin mai frecvent decât bărbații cu un raport de 6:4. Incidența mai mare a miasteniei la femei se observă în jurul vârstei de 30 de ani, în timp ce incidența maximă la bărbați este atinsă la vârsta de 50-60 de ani.

Cauza miasteniei gravis este necunoscută. Posibil, că inducția sintezei de Ac ar fi modificarea structurală a receptorului pentru acetilcolină (ACh) provocată de virioni și/sau dereglarea reglării imune și ca rezultat apariția autoanticorpilor la receptorul intact (nemodificat). Unii autori consideră că penicilamina ar declanșa diferite tulburări autoimune, printre care și miastenia gravis.

Pentru a înțelege patogenia miasteniei gravis este necesar de a cunoaște mecanismul de generare a contracției musculare. Fibra musculară striată își primește inervația prin intermediul joncțiunii neuromusculare. Această joncțiune este alcătuită din membrana presinaptică, care este butonul terminal al axonului neuronului motor periferic, membrana postsinaptică, care este membrana fibrei musculare și fanta sinaptică. Pe membrana presinaptică se situează veziculele cu acetilcolină, iar pe membrana postsinaptică – receptorii acetilcolinei. La propagarea unui impuls spre membrana presinaptică are loc eliberarea veziculelor în fanta presinaptică și acetilcolina difuzează spre receptorii Ach, provocând deschiderea canalelor ionice și generarea potențialului de acțiune musculară. După realizarea acțiunii sale, acetilcolina este hidrolizată de acetilcolinesterază (fig. 15.4).

Baza morfofiziologică a maladii este diminuarea cantitativă a receptorilor ACh în sinapsa neuromusculară aparentă sub influența autoanticorpilor. Gradul de diminuare a receptorilor ACh corelează cu severitatea maladii.

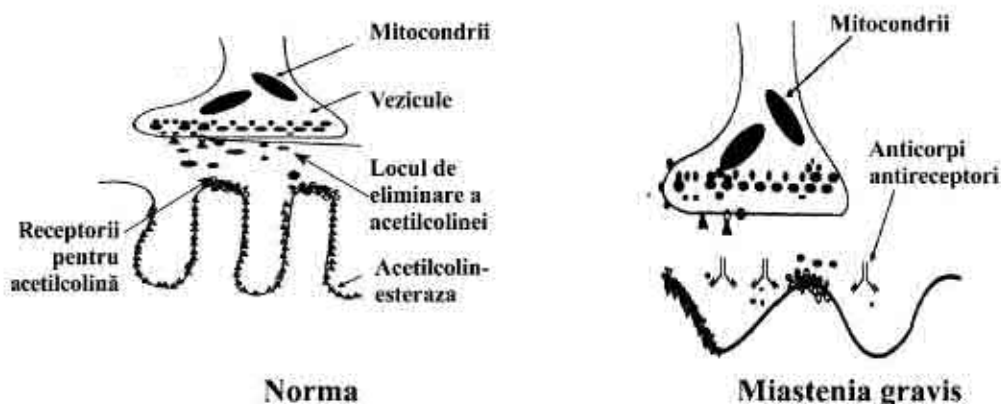


Figura 15.4. Sinapsa neuromusculară în normă și în miastenia gravis

Alterarea receptorilor ACh are mecanism anticorp-dependent și poate fi realizată pe 3 căi:

1. Legarea autoanticorpilor cu receptorii ACh intensifică degradarea receptorilor și favorizează fagocitoza de către celulele sistemului monocitar-macrofagal.
2. Formarea complexelor autoanticorpi-receptorii ACh conduce la activarea sistemului complementului cu alterarea ulterioară a receptorilor.
3. La legarea autoanticorpilor cu receptorii ACh(AChR) are loc blocada acestora și dereglarea funcției lor. În acest caz, autoanticorpii, posibil, se leagă nu cu site-urile specifice ale receptorului care fixează acetilcolina, ci cu regiunile imunogene localizate alături. Ulterior, în urma modificărilor sterice, este blocată capacitatea receptorilor ACh de a se lega cu acetilcolina. Efectul blocant s-a observat la 50-80% dintre pacienți. Concentrația autoanticorpilor anti-receptorii ACh în sânge nu întotdeauna corelează cu gravitatea miasteniei gravis, posibil datorită „utilizării” lor. S-a constatat faptul că Ac antiacetilcolină la diferiți pacienți posedă proprietăți diverse: la unii mai manifest este efectul intensificării degrației, la alții – efectul blocant, ceea ce este explicabil prin heterogenitatea și specificitatea anticorpilor. Pacienții cu miastenia gravis fără anticorpi anti-AChR (cca 10-20% dintre pacienți) sunt cunoscuți ca seronegativi (miastenia gravis seronegativă), dar serul acestora este capabil să influențeze funcția AChR în culturi celulare (posibil, serul lor nu conține cantitatea necesară de Ac detectabili, deoarece ei sunt legați). La o bună parte din acești pacienți însă se depistează alți anticorpi, cum ar fi anticorpii anti-tirozinkinaza (anti-MuSK) sau Ac anti-AchR care sunt în titre detectabile.

Actualmente se consideră că rolul major în răspunsul autoimun la miastenia gravis le revine limfocitelor T (LT). Din sângele periferic și timus au fost obținute LT autoreactive la receptorul acetilcolinic, adică în dezvoltarea răspunsului umoral (Ac) LT joacă un rol-cheie, dar ele înseși nu participă în distrucția receptorilor acetilcolinici, pe care o realizează celulele inflamatoare – macrofagele, neutrofilele. Este confirmat faptul că limfocitele T-helper (CD4⁺) ale pacienților sunt capabile să recunoască peptidele receptorilor acetilcolinici și moleculele HLA de clasa II a APC. Numărul acestor peptide ar fi de cca 30, de aici și diversitatea autoanticorpilor după proprietățile de modificare a funcțiilor receptorilor acetilcolinici.

Se presupune că Ag inductori ai răspunsului autoimun în miastenia gravis sunt amplasați în timus, deoarece la majoritatea pacienților se constată patologia acestuia. În timus există celule mioide pe suprafața cărora sunt receptori pentru acetilcolină. Aceste celule pot induce răspunsul autoimun fie din contul distrucției lor și prezentării receptorilor acetilcolinici, fie în urma dereglărilor imunoreglatoare și a pierderii toleranței. Discutabil este rolul virionilor în alterarea timică în calitate de „trigger”. Un alt mecanism de dezvoltare a maladiei ar fi mimicria antigenică – răspunsul imun la agenții infecțioși care dispun de epitopi identici cu receptorul pentru acetilcolină. De ex., la 40% dintre pacienți Ac anti-receptorul acetilcolină se leagă cu Herpes Virus Simplex (HSV) datorită omologiei înalte a HSV și recep-

torului pentru acetilcolină. Un rol important îl au factorii imunogenetici. Miastenia gravis este asociată cu HLA-B8, DR3 și alți Ag HLA. Natura autoimună a miasteniei este confirmată și prin observațiile unei asocieri frecvente dintre miastenie și alte maladii autoimune (tiroidita autoimună, lupusul eritematos sistemic, artrita reumatoidă, vitiligo etc.).

În tabloul clinic, principala manifestare a miasteniei gravis este slăbiciunea musculară care poate afecta toate grupurile musculare (miastenia gravis generalizată). În cazul formei oculare a miasteniei, slăbiciunea este limitată doar la musculatura oculară extrinsecă. Musculatura bulbară este afectată, în special în formele seronegative ale miasteniei. Slăbiciunea în membre are un caracter idiopatic, fiind mai pronunțată în segmentele proximale. Variabilitatea slăbiciunii este o trăsătură a miasteniei, fiind mai pronunțată seara și poate lipsi în orele dimineții. Slăbiciunea musculaturii faciale este prezentă practic în toate cazurile și determină o expresie facială de mască. Implicarea mușchilor extraoculari va determina ptoza și diplopia. Frecvent, pacientul își încrețește fruntea pentru a compensa ptoza palpebrală. Slăbiciunea musculaturii palatului moale va determina un aspect nazonat al vocii și un risc de regurgitații și aspirații pulmonare. Procesul de masticatie de asemenea poate fi îngreunat, uneori pacienții fiind nevoiți să-și sprijine mandibula cu mâna.

Ca regulă, progresia maladiei are loc la un interval de săptămâni sau luni. Dacă maladia se prezintă inițial cu simptome oculare, slăbiciunea progresează ulterior distal, implicând musculatura facială, bulbară, tronculară și a membrilor inferioare. Mai rar, slăbiciunea se poate limita la musculatura oculară pentru perioade de luni sau ani de zile.

O importanță majoră în miastenie are afectarea musculaturii respiratoare care poate fi letală în caz de exacerbări. Criza miastenică poate fi precipitată de infecții intercurrente sau de unele medicamente (antibioticele aminoglicozide, ciprofloxacina, aminazina, eritromicina, ampicilina; β -adrenoblocantele – propanolol, ocprenol; procainamidă, verapamil, clorachină; prednisolon; timolol-beta-blocant utilizat pentru tratamentul glaucomului; anticolinergice etc.). Remisiunile spontane sunt, de regulă, rare.

În baza simptomatologiei clinico-paraclinice a maladiei, bolnavii pot fi repartizați în 4 grupe ce confirmă polipatologia maladiei:

- grupa I (40-50% dintre pacienți) o constituie femeile tinere cu hiperplazia timusului și titru înalt de Ac anti-receptori ACh cu acuze de slăbiciune generală și fenotip HLA-A1, -B8, -DR3;

- grupa a II-a (15-30% dintre pacienți) o constituie bărbații de vârstă înaintată cu atrofia timusului, titru minor de Ac anti-receptori acetilcolinici, acuze de slăbiciune generală cu manifestări de ptoză, diplopie și fenotip HLA-B7, -DR2;

- grupa a III-a (15-20% dintre bolnavi) include pacienți cu timomă, acuze de slăbiciune generală, fără asociație cu Ag HLA. Anticorpi anti-receptorii acetilcolinici se testează iregular;

- grupa a IV-a (15% dintre bolnavi) o constituie pacienții fără Ac la receptorii acetilcolinici și asociație cu Ag HLA, care prezintă acuze de ptoză, diplopie, slăbiciune musculară generală.

Diagnosticul imunologic. Depistarea anticorpilor în serul pacienților cu miastenie gravis este o metodă de diagnostic valoroasă, dat fiind prezența acestor anticorpi la 80-90% dintre pacienți. Testul anticorpilor anti-receptorul de acetilcolină este pozitiv la 74% dintre pacienți, mai frecvent aceștia sunt depistați la pacienții cu miastenie generalizată (80%) și doar la 50% dintre pacienții cu forma oculară pură. Rezultate fals-pozitive pot fi obținute în caz de sindrom Lambert-Eaton, timom fără miastenie, cancer pulmonar cu celule mici, artrită reumatoidă tratată cu penicilamină, cât și la 1-3% din populația de peste 70 de ani.

Anticorpii contra fibrei striate sunt prezenți la 84% dintre pacienții cu timom mai tineri de 40 de ani și mai rar la pacienții fără timom. Anticorpii contra tirozinkinazei musculare (anti-MuSK) sunt testați în 50% din cazuri la pacienții seronegativi (fara Ac anti-AChR). Acești pacienți cu anti-MuSK pozitivi tind a avea simptome bulbare mai severe asociate cu atrofia facială și a limbii. A fost constatată sensibilizarea LT la Ag mușchilor și receptorul ACh care stimulează sinteza IL-1 β , IL-2, IL-6. Activitatea supresorie a LT este scăzută moderat, de asemenea funcția citotoxică a LT activate cu PHA, majorată sinteza Ig de către LB stimulate cu PWM (mitogen policlonal) care facilitează sinteza de autoanticorpi.

În diagnosticul miasteniei gravis se mai utilizează tomografia computerizată a mediastinului pentru identificarea timomului, în special la bătrâni, la care radiografia simplă poate fi negativă. RMN cerebrală și orbitală nu este recomandată spre a fi efectuată de rutină, ea fiind necesară doar în cazurile neclare, pentru excluderea unor formațiuni de volum orbitale sau tronculare ori a sclerozei multiple.

Examenul electrofiziologic (electromiografia) poate detecta defectul de transmitere la nivelul jonctiunii musculare prin stimularea nervoasă repetitivă și prin electromiografia de fibră unică, care se consideră a fi mai sensibilă.

Testul cu edrofoniu (Tensilon) se utilizează în diagnosticul miasteniei gravis. Edrofoniu este un inhibitor al acetilcolinesterazei cu acțiune scurtă, care ameliorază forța musculară la pacienții cu miastenie gravis. Acesta este motivul pentru care se utilizează ca metodă de diagnostic în miastenie. Pentru realizarea testului este necesar de a aprecia forța musculară (strângerea mâinii sau ptoza) înainte și după administrarea edrofonului. Se utilizează 1 ml soluție de edrofoniu (10 mg/ml). Inițial se administrează 0,1 ml din doză și, dacă nu survin reacții adverse, se administrea-

ză restul de 0,9 ml. Dat fiind riscul de bradicardie sinusală, este necesar a avea la dispoziție o fiolă de atropină.

În tratamentul pacienților se utilizează preparatele anticolinesteraze (neostigmin și piridostigmin), în special la debutul maladiei. Timectomia se consideră utilă la pacienții cu forme progresive începând cu perioada pubertară și până la 60 de ani în scopul inducerii remisiunii. Efectul se observă peste 1-12 luni (la 35% dintre pacienți remisiune și la 50% – ameliorare). Cantitatea anticorpilor la receptorii acetilcolinici după operație diminuează. Dintre remediile imunosupresive se administrează corticosteroizii, azatioprina, ciclosporina A. Rezultate satisfăcătoare au fost obținute la utilizarea plasmaferezei pentru eliminarea autoanticorpilor, după care, de regulă, se instalează remisiunea. Sursele literare denotă eficacitatea administrării imunoglobulinei normale umane.

În *sindromul Guillain-Barré* sunt alterați nervii motori și sensibili și se apreciază anticorpi antigangliozida QG1, care reacționează încrucișat cu antigenii campilobacteriilor. Terapia sindromului se adresează corticosteroizilor, imunodepresantelor, transplantului auto- și alomedular. Remediile IFN- β (betaferon, avanex, rebif etc.) conduc la diminuarea activității procesului.

Encefalomielitea alergică poate fi indusă experimental prin imunizarea animalelor cu extracte ale substanței albe a creierului sau cu proteina bazică mielinică purificată. Se caracterizează prin reacții alergice de tip celular la mielină. Toleranța poate fi obținută prin administrarea perorală murinelor a dozelor mari de mielină. Encefalomielitea clinic identică apare după unele infecții sau vaccinare.

În polineuropatiile demielizante progresive, autoanticorpii sunt direcționați contra antigenului timpuriu endosomal (EEA1).

Maladia Chagos apare la stimularea sintezei autoanticorpilor de către *Trypanosoma cruzi* și influențează receptorii legați cu proteina G.

Maladiile pielii și procesul autoimun

Simplitatea elegantă a pielii umane camuflează o bogată complexitate, precum și funcții multiple. Pielea este organul cel mai mare al corpului uman în care există o varietate enormă de celule specializate și organizate în structuri intricate și subsisteme. Pielea constituie un element integral și activ în sistemul imun, realizând interfața corpului cu mediul exterior, fiind ușor vulnerabilă, pentru că este supusă unui bombardament continuu cu antigeni, cum ar fi cei infecțioși, chimici, pneumalergeni etc.

Sistemul imun cutanat conține două diviziuni funcționale: naturală (nespecifică) și adaptivă (specifică). Prima acționează ca o primă linie de apărare împotriva agenților infecțioși. Dacă aceste mecanisme sunt depășite, este activat sistemul imun adaptiv, care va produce o reacție specifică pentru fiecare antigen, cu stabilirea unei memorii imunologice. Ambele sisteme constau dintr-o varietate de

molecule și celule distribuite larg. Cele mai importante sunt leucocitele (monocite, polimorfonucleare, macrofage, limfocite, mastocite etc.), celule Langerhans. După activarea clonală indusă de Ag, limfocitele T produc limfokine care stimulează fagocitele, iar macrofagele transportă Ag din periferie spre ganglionii limfatici etc. Ag este prezentat limfocitelor în forma pe care ele o pot recunoaște (superantigen). Anticorpii produși de limfocite ajută fagocitele să-și recunoască ținta.

Și alte sisteme (de coagulare, fibrinolitice și ale kininelor) sunt implicate în medierea inflamației și în rezoluția bolii tisulare. Evenimentele imunologice pot interacționa și prin complexul complementului, fracțiunile căruia (C3a, C5a etc.) acționează direct vascularizarea locală. Sistemul imun poate, de asemenea, interacționa direct cu mastocitele datorită IgE, care se leagă de receptorii Fc de pe mastocite.

Toate cele 4 tipuri clasice de reacții alergice pot evolua prin manifestări cutanate, iar caracterul leziunii este determinat în multe dintre ele de afectarea vaselor cutanate.

Astfel, prezența în piele a unui număr major de celule imunocompetente, particularitățile ei structurale și microcirculația asigură condiții pentru dezvoltarea reacțiilor imune active. Majoritatea maladiilor autoimune sistemice sunt concomitent însoțite de diverse alterări ale pielii. În LES și lupusul eritematos discoid (LED) se constată depozite de complexe imune care conțin IgG, IgM, IgA, antigeni nucleoproteide, ADN, alți Ag nucleari și complement, care pot fi depistați în stratul dermo-epidermal prin imunofluorescență directă.

Pemfigusul vulgar (PV) se caracterizează prin apariția bulelor cu conținut seros pe piele și mucoase (gură, buze etc.). În derma adiacentă se constată infiltrație leucocitară, iar în vezicule – exsudat seros cu cheratinocite ovale (celule Tuanca), neutrofile, eozinofile, limfocite. Boala este asociată cu moleculele HLA-DR4, prezente pe celulele APC, care realizează prezentarea peptidului desmogleina-1 limfocitelor T-helper. Acestea induc sinteza de către LB a anticorpilor IgG4 cu specificitate pentru această peptidă (caderină), care este o moleculă de adeziune celulară ce mediază legarea intercelulară și care joacă un rol important în menținerea integrității epiteliale. Astfel, acești anticorpi dereglează adeziunea celulară. Autoanticorpii pemfigus obținuți de la diferiți pacienți recunosc epitopuri diferite ale antigenului, boala se manifestă prin alterarea buloasă a pielii datorată acantolizei și formării veziculelor intraepiteliale. În serul sanguin și în conținutul bulelor se apreciază Ac IgG4, mai rar IgM și IgA la peptida desmoasă (caderină), care induc pierderea legăturii dintre celulele stratului malpighian. Titrul anticorpilor se corelează cu activitatea bolii și poate fi utilizat pentru monitorizarea evoluției maladei și a răspunsului imun la tratament. Anticorpii și componentele C se apreciază prin imunofluorescența directă în regiunea membranei bazale celulare a pielii, substanței intercelulare a epidermei.

Persoanele cu boala activă au depozite de IgG în 100% din cazuri în zona lezională și în pielea perilezională clinic normală, iar depozitele de C3 se constată la 50% dintre pacienți. Terapia maladiei include corticosteroizi și imunodepresante.

Pemfigusul foliaceu este o afecțiune însoțită de acantoliza straturilor superficiale ale epidermei. Anticorpul apar la desmogleina-1 (MM 160 kDa) și se apreciază pe suprafața cheratinocitelor și în serul sangvin. Uneori, pemfigusul apare pe fundalul utilizării medicamentelor și are o evoluție mai benignă. Mucoasele sunt rar afectate.

Pemfigoidul bulos se caracterizează prin formarea bulelor subepiteliale pe pielea eritematoasă. Veziculele conțin exsudat cu eozinofile și limfocite. În sânge se apreciază anticorpi anti-membrana bazală a epidermei, care se testează pe secțiunile pielii umane. Anticorpul claselor IgG, mai rar IgA, IgM și IgD fixați pe membrană și depozite de componente ale complementului, sunt apreciate în reacția imunofluorescenței directe. Anticorpul au specificitate pentru glicoproteina cu MM 230 kDa și proteina cu MM 180 kDa, componente ale hemidesmosomei. Terapia include corticosteroizi și imunodepresante.

Dermatita herpetiformă Duhring se caracterizează prin alterarea polimorfă a pielii cu prezența pruritului, veziculelor, eritemului, papulelor localizate simetric pe suprafețele extensore ale extremităților, umerilor și gluteului. Veziculele subepidermale conțin neutrofile, eozinofile și limfocite. Membrana bazală a epitelului este purpurie și dezintegrată. Pe papulele dermei, chiar în fragmentele nemodificate ale pielii, se determină aglomerări de IgA în formă granulară sau liniară de-a lungul membranei bazale care se fixează de microfibrilele fibrelor elastice. Immunoglobulinele claselor G și M se depistează mai rar. În 20% din cazuri se testează anticorpi anti-gliadină și anti-fibre reticulare. Maladia se asociază cu moleculele HLA-B8-DQ2, DR3 și celiachie. Se administrează o dietă cu excluderea din rație a sărurilor de iod, pâinii de secară și grâu, terciurilor, crupelor (cu excepția orezului, porumbului, amidonului), imunodepresante, dapson, diuțifon.

Vitiligo este o acromie dobândită, ce prezintă plăci albe-sidefii, bine delimitate, neregulate, care apar pe pielea anterior normală, la periferie sunt hiperpigmentate. Este observat frecvent la copii. Are caracter eruptiv și evoluție rapidă. Leziunile sunt localizate la nivelul feței, pe extremități, periorbital, organe genitale. Fenomenele se datorează anticorpilor anti-melanocite.

Psoriazisul este o maladie inflamatoare cronică a pielii, de geneză necunoscută, cu mecanisme autoimune de dezvoltare. Este asociat cu HLA-B13, -B17, -B37, -DR7. Este posibilă activarea limfocitelor T CD4⁺ de către superantigenii proteiciei M5 ai streptococilor, reducerea supresiei și sensibilității cheratinocitelor la IFN- γ și alte citokine antiproliferative, sinteza de către limfocite și cheratinocite a citokinelor proliferative. Se apreciază titre înalte de antistreptolizine cu recoltarea streptococilor din focarele cronice de infecție. În sânge este majorat nivelul IgA, CIC

(cu IgA), activitatea chemotactică a neutrofilelor, angiogeneza. Infiltratele dermale și epidermale conțin prioritar limfocitele CD4⁺ și CD8⁺, care secretă factori de creștere a cheratinocitelor ce proliferază intensiv.

În psoriazis au fost depistați anticorpi față de antigenii stratului cornos al epidermei; depozite de complexe imune și complement se înregistrează în zona dermoepidermală a plăcilor psoriazice. Sensibilizarea LT se constată atât la antigenii pielii, cât și la Ag acestor plăcuțe. Statusul imun al pacienților se caracterizează prin minorizarea LT, subpopulației de Ts, scăderea moderată a LB (sau nivel normal), disimunoglobulenemie. Este scăzută proliferarea limfocitelor la ConA (nu la PHA), cantitatea IL-1 α în piele cu creșterea IL-8, receptorilor la TGF- β . Activitatea fagocitară și bactericidă a monocitelor este intensivă, iar neutrofilele sunt activate cu expresia adeziunii.

Ciclosporina A, FK-506 inhibă inflamația, activitatea LT, producția de citokine (IL-2, IL-4, IL-6, IFN- γ). Sunt eficienți IL-10, anticorpii monoclonali anti-CD3 și anti-CD4. Cicloferona restaurează statusul interferonic. Iradierea cu raze ultraviolete la unda de 312 nm induce apoptoza LT în zonele alterate de psoriazis.

Urticaria cronică idiopatică se manifestă prin erupții recidivante. Se testează Ac anti-receptorii Fce ai bazofilelor. Se administrează remedii antihistaminice, combinarea lor cu blocantele H2.

Imunopatologia bronhiilor și pulmonilor însoțită de procese autoimune

Imunopatologia pulmonilor este strâns legată de pătrunderea în organism prin căile respiratoare a patogenilor și antigenilor. Bacteriile, virusurile, sporii fungilor, aerosolii substanțelor chimice toxice, alergenii polenici, menajeri, ai blâniei animalelor etc. pot induce atât alterarea directă a celulelor bronhiilor și pulmonilor, cât și reacții alergice și autoimune care sunt asociate, de regulă, cu imunodeficiente locale.

O altă particularitate a imunopatologiei pulmonare este dependența ei frecventă de patologia nasului, faringelui și urechii medii. Maladiile alergice și imunodeficiente acestora antrenează în proces bronhiile și pulmonii. Alterarea pulmonară frecvent apare și în alte maladii autoimune (LES, AR, tiroidite, glomerulonefrite și, în special, în vasculitele generalizate).

Tabagismul induce modificări imunopatologice în bronhii și pulmonii: inhibă fagocitoza, secreția sIgA, induce hiperscreția mucusului cu conținut scăzut de lizozim, Ig, care contribuie la infectarea lor și, în final, conduce la remodelarea structurii pereților bronhiilor, dezvoltarea autoalergiei și bronșitei cronice obstructive. În pulmonii sunt prezente toate celulele limfoide, macrofagele etc. O importanță majoră protectivă revine sIgA, macrofagelor alveolare, țesutului limfoid asociat bronhiilor (BALT). Lavajul bronhial conține LT, LB, macrofage, polimorfonucleare, numărul cărora crește în inflamație, iar în cazul alergiilor apar multiple eozinofile.

Maladiile principale ale pulmonilor (astmul bronșic, alveolitele, bronșitele) au la bază reacții alergice induse de alergenii exogeni pe fundalul predispoziției genetice. Caracterul endogen autoimun al alterărilor pulmonare mai frecvent este de tip secundar și se dezvoltă ca rezultat al reacției alergice exogene sau al altui proces patologic.

Unele variante ale astmului bronșic infecto-alergic sunt însoțite de reacții de hipersensibilitate de tip imediat și întârziat cu alterarea parenchiului pulmonilor și bronhiilor și manifestări morfologice sub formă de infiltrate limfocitare peribronhiale și perivascularare.

Sindromul Goodpasture evoluează după tipul pneumoniei hemoragice cu afectarea prioritară a pulmonilor și rinichilor. Este însoțit de prezența autoanticorpilor față de membrana bazală a epitelului pulmonar și renal, care au structură comună. În reacție participă și complementul.

Alveolita fibrozantă idiopatică (maladia Hammen-Rich) se caracterizează prin fibroza alveolelor precedată de un exsudat inflamator cu limfocite și plasmocite (bronhoalveolită). Se constată disimunoglobulinemie, autoanticorpi anti-ADN, anti-pulmonari specifici, factorul reumatoid etc. Sunt prezente depozite de complement.

Maladiile cronice nespecifice ale pulmonilor (pneumonia cronică, bronșita cronică) sunt, posibil, mai frecvent consecința imunodeficienței, dar procesul autoalergic le însoțește. Un factor important etiopatogenetic al maladiilor cronice nespecifice a pulmonilor este asociația bacteriovirală și apariția reacțiilor alergice de tip imediat și întârziat. Reacțiile alergice celulare deseori predomină, de regulă, în patogeniza patologiei. În procesele cronice bronhopulmonare se constată prezența în sângele pacienților a autoanticorpilor față de parenchimul pulmonilor. Frecvent se testează și Ag pulmonari circulanți. Complexele imune prezente în sânge pot fi consecința legăturii acestora sau și a Ag bacterieni cu anticorpii respectivi. Frecvența de înregistrare a lor corelează cu severitatea maladiiei.

În genere, maladiile cronice nespecifice ale pulmonilor se caracterizează prin prezența alergiei la Ag bacterieni, pulmonari și la alți autoantigeni, de asemenea, la remediile medicamentoase. Sensibilizarea se menține și după însănătoșire, rolul ei patogenetic fiind necunoscut. În maladiile cronice nespecifice ale pulmonilor se constată modificări esențiale ale statusului imun cu insuficiența unor indici și reactivitatea crescută a altora. Numărul LT și LB în sângele pacienților cu pneumonie cronică și acută, bronșite nu diferă esențial de parametrii normali sau sunt scăzuți moderat. Dar, la unii pacienți, și în special la copii, pot fi înregistrate și deviații evidente ca rezultat al imunodeficiențelor primare sau secundare. Valorile relative ale LT și LB în secretele bronhiale sunt scăzute, comparativ cu indicii sangvini. În lavajul bronhial și în spută, în procesele alergice este majorată cantitatea cozinofililor, iar în infecții se apreciază multe neutrofile și microorganisme ($>10^6/\text{ml}$).

Maladiile pulmonare frecvent sunt însoțite de disimunoglobulinemie, deseori cu majorarea cantitativă a IgG, deficit al complementului, fagocitozei. Activitatea supresoarelor este scăzută în astmul bronșic și în bronșita cronică, cu o creștere a indicilor în pneumonia cronică. Insuficiența limfocitelor T-helper și IgG se constată în bronșita cronică. Activitatea celulelor NK scade în pneumoniile trenante de genă virală și bacteriană.

Defectele genetice (de ex., antitripsina α) conduc la insuficiența factorilor reglatori și de protecție. Activitatea acestui inhibitor al proteazei este controlată de sistemul genic *Pi*. Proteazele eliminate de leucocite la insuficiența α -antipresinei pot altera celulele, iar autoantigenii eliberați stimulează dezvoltarea autoalergiei.

Imunodeficiența aparentă în maladiile cronice nespecifice ale pulmonilor este influențată de factorii stresanți, deficitul de vitamine, microelemente. Factorii stresanți influențează nivelul hormonilor și pot induce modificări esențiale ale reactivității imunologice. Insuficiența de vitamine conduce la scăderea indicilor statusului imun și dereglarea funcțiilor. Vitamina E inhibă prostaglandinele, iar vit. C în normă activează șuntul hexozomonofosfat – sursa de energie a leucocitelor.

Astfel, în patologia pulmonară există modificări în diverse verigi ale imunității (LT, LB, fagocite, PMN, complement). În consecință, apare un dezechilibru persistent în sistemul imun care nu se normalizează în procesul terapiei antibacteriene, iar pe acest fundal poate apărea alergia medicamentoasă și reacții autoimune.

În pneumoniile acute frecvent pot fi observate modificări ale statusului imun asemănătoare celor din patologia pulmonară cronică: inhibiția activității funcționale a LT, LB, scăderea funcțiilor celulelor NK, fagocitozei și citotoxicității anticorp-depedentă. Aparența în sângele pacienților a factorului de inhibiție a leucocitelor poate fi un criteriu de diagnostic și prognostic al stabilirii pneumoniei trenante. Pneumonia cronică se caracterizează prin disfuncția sistemului imun cu diverse variante de reactivitate imună.

Imunopatologia sistemului cardiovascular

Cordul frecvent este alterat în maladiile autoimune ale țesutului conjunctiv și vaselor (LES, dermatomiozită, vasculită), cu prezența autoanticorpilor de diversă specificitate (anti-ADN, anti-antigenii cordului).

Imunopatologia aterosclerozei și maladiei ischemice a cordului

Modificările aterosclerotice ale vaselor pot fi obținute experimental prin utilizarea complexelor imune. Există date despre rolul infecțiilor chlamidiene, micoplasmatică și virale în ateroscleroză. Dezvoltarea ei este asociată hipercolesterolemiei. Ipoteza autoimună a aterosclerozei presupune apariția la lipoproteide a proprietăților autoantigenice, sinteza de anticorpi, formarea și sedimentarea com-

plexelor imune pe endoteliu, majorarea permeabilității lui, activarea macrofagelor, transformarea lor și ateromatoza.

Posibil, că rolul esențial în dezvoltarea aterosclerozei este modificarea exprimării moleculelor de adeziune, receptorilor Toll și altor receptori de legare a patogenelor pe endoteliu, probabil influențați de genele virale și bacteriene, și a citokinelor induse de ele.

Colesterolul și lipoproteinele de densitate joasă pot avea rol de imunomodulatori endogeni în funcție de componentă și concentrație, suprimând sau intensificând activitatea proliferativă a limfocitelor. Nivelul scăzut de colesterol corelează cu diminuarea limfocitelor T CD3 și CD4, cu răspunsul imun slab și infecții frecvente. Hipercolesterolemia moderată (6,0-6,5 mmol/l) contribuie la un răspuns imun mai eficient.

Dereglarea viscozității membranelor celulare poate modifica mobilitatea receptorilor superficiali, permeabilitatea membranei, activitatea enzimatică ce conduce la dereglarea funcției SI. Concomitent cu progresarea aterosclerozei, crește nivelul IgG și IgM nespecifice.

Prin utilizarea metodelor imunochimice s-au demonstrat diferențe ale beta-lipoproteinelor serului sanguin al pacienților și indivizilor sănătoși cu testarea anticorpilor la ele în ateroscleroză. Intensitatea aterosclerozei este dependentă de frecvența depistării anticorpilor.

În peretele vascular au fost depistate depuneri de complexe Ag-Ac, care au pătruns din sânge sau au apărut local cu activarea ulterioară a complementului și intensificarea permeabilității vasculare.

În ateroscleroză frecvent sunt evidențiați autoanticorpi față de proteinele șocului termic hsp60, care sunt induse de proteinele analoage ale bacteriilor și virusurilor. Acești Ac alterează endoteliul. Sunt prezenți Ac anti-dialdehida malonică – produs al oxidării lipoproteinelor de densitate joasă.

La alterarea cordului se întâlnesc diverși autoanticorpi: anti-sarcoleamă (ASA), -miolemă (AMLA), -actină (AACA), -miozină (AMA), anti-structurile plastinei Z (AZA), -bandelor lucide (AIDA), -mitocondrii (antigenul M7), anti-antigenii sistemului conductor.

Actualmente se relevă că în patogeneza *maladiei ischemice a cordului* participă reacțiile imune. Anticorpii anti-antigenii mușchiului cardiac în infarctul miocardului au fost identificați prin metoda imunofluorescentă. Aceștia erau prezenți în bioptatul mușchiului cardiac la a 3-a săptămână, iar după intervenția chirurgicală la cord – la o săptămână. Mai frecvent, anticorpii erau testați în infarctul miocardului cu complicații după tipul sindromului Dressler. În stenocardie, anticorpii anticardiaci se înregistrează mai rar și în titre mai joase. Antigenii specifici pot fi apreciați în sângele pacienților din prima și până în a 12-a zi a infarctului miocardic.

În infarctul miocardului se evidențiază Ac la Ag miocardului prin imunofluorescență (localizate în sarcolemă) și Ac la mioglobulină (ELISA), care sunt criteriile diagnostice. Titrul lor este majorat în sindromul postinfarct și postcardiotom. Acești Ac, spre deosebire de Ac, în cardita reumatismală nu interacționează cu Ag streptococici, dar reacționează cu Ag solubili și insolubili ai miocardului și nu rareori apar până la acutizarea clinică a maladiei, iar majorarea titrului lor corelează cu acutizarea ei.

Sensibilizarea limfocitelor cu Ag cordului și aortei în ateroscleroză a fost demonstrată prin inhibiția migrației leucocitelor, corelată cu intensitatea procesului patologic. Gradul de sensibilizare la Ag membranelor celulare în infarctul miocardic macro- și microfocal este inițial mai înalt decât în stenocardiile complicate și în cardioscleroza postinfarct. În insuficiența coronară cronică cu stenocardie instabilă inhibiția majoră a migrației leucocitelor (85,6% din cazuri) era observată la Ag aortei aterosclerozate. A fost demonstrată dependența apariției complexelor imune de dinamica infarctului miocardic, de gradul de alterare a miocardului.

Miocarditele, endocarditele și cardiomiopatiile sunt însoțite de creșterea titrului de Ac antivirali, antibacterieni, VSH, leucocitoză, autoanticorpi antimitocondrii, anti-actină și miozină. Pot fi complexe imune cu depuneri ale IgG și C în sarcolemă. În terapia miocarditelor sunt eficiente corticosteroizii și imunodepresantele.

Reumatismul se caracterizează prin prezența Ac (ASO, antistreptokinaza, antistreptohialuronidaza, anti-ADN-aza B) la Ag streptococilor și unele viruși. Sunt majorate VSH, PCR, titrul Ac anti-streptolizina O. Stimularea cu Ag streptococului, posibil, conduce la dezvoltarea reacțiilor umorale și celulare autoimune. Imunograma pacienților denotă scăderea LT, inhibiția T-supresoarelor, disimunoglobulinemie dependente de gradul de activitate a procesului reumatismal și fazei recidive.

Maladiile autoimune ale glandelor endocrine

Perioada acută a manifestărilor clinice ale autoimunității glandelor endocrine poate fi însoțită de modificări hematologice (leucocitoză, majorarea VSH, creșterea PCR) caracteristice tuturor proceselor inflamatoare, în funcție de severitatea lor. Prezența febrei depinde de secreția celulară a IL-1 și TNF- α , ca rezultat al activării sistemului mononuclear fagocitar de către endotoxinele bacteriilor și detritusul celulelor alterate.

Diabetul zaharat autoimun

La baza mecanismelor imune ale diabetului zaharat autoimun de tip I (DZ 1) stau distrucția celulelor β ale pancreasului și insuficiența insulinică de divers grad,

ceea ce conduce la dereglarea metabolismului glucidic, proteic, lipidic etc., în toate organele și țesuturile. Apariția maladiei este dependentă de un complex de factori genetici, infecțioși (virali), imunopatologici, dismetabolici și hormonal, precum și de acțiunea factorilor mediului ambiant (fig. 15.5). Există diferențe în participarea factorilor autoimuni în diverse variante de dezvoltare a diabetului zaharat de tip I. În unele variante, mai posibilă ar fi participarea virionilor.

Pentru DZ de tip I în asociere cu sindromul poliglandular, sunt caracteristici anticorpii anti-celulele β , anti-insulină, anti-ADN, anti-tiroidă, anti-suprarenale, anti-gastrale, hipergamaglobulinemia, prezența alopeciei și artralgiei, majorarea glandelor salivare.

Diabetul zaharat de tip I idiopatic n-are semne de maladie autoimună, dar este însoțit de distrucția celulelor β .

Există legătură evidentă între apariția DZ de tip I și fenotipul HLA (pacienții rasei albe dispun de HLA-DR3, HLA-DQ2, HLA-DR4, HLA-DQ8, de asemenea HLA-DQA1 și HLA-DQB1). Gradul de concordanță în apariția DZ de tip I la gemenii monoziгоți este de 36%. Riscul pentru acest tip de diabet este de 0,4% în plan global, de 6% pentru cei cu frate diabetic, de 8% pentru cei cu tată diabetic și de 3% pentru cei cu mamă diabetică. Cu toate acestea, la cca 85% dintre bolnavii cu DZ de acest tip nu se pot identifica antecedente familiale. Predispoziția la diabet este poligenică, fiind dependentă de fenotip, inclusiv de prezența antigenilor HLA-B8, HLA-B15. Este importantă asociația acestor gene ale sistemului HLA cu alelele genice diabetogene, responsabile de regenerarea slabă a celulelor β și genei care codifică sinteza slabă a insulinei (cromozomul 15). Există legătură și cu influența toxinelor chimice, de ex., pesticidul Vacor. Posibilitatea dezvoltării diabetului crește brusc, dacă concomitent este scăzută imunitatea locală antivirală la virionii pancreotropi (Coxsackie B4, rubeolei, parotiditei epidemice), citomegalovirus, VEB, retrovirusuri, virionul encefalomielitei. Tropismul virionilor la epiteliul glandei este dependent și de prezența unor alele genice ale lanțului variabil al receptorului celular T (TCR) și genei fragmentului variabil al lanțului greu IgG.

Virionii stimulează, de asemenea, sinteza anticorpilor care reacționează încrucișat cu Ag organo-specifici, în particular cu glutamatdecarboxilaza din conținutul epitopilor comuni (mimicria antigenică). În final, celulele T și imunoglobulinele induc dezvoltarea reacției specifice autoimune la celulele β pancreatice datorată analogiei comune a epitopilor virali și autoantigenului și nu manifestă apărare antivirală. Pe celulele β sub influența IFN- γ eliberat de limfocitele T la acțiunea unor virioni apar antigenii HLA-DR și celulele β devin antigen-prezentatoare cu lansarea reacției imune față de moleculele organo-specifice proprii. Pe de altă parte, IFN- γ activează killerii naturali care alterează celulele β . Indicato-

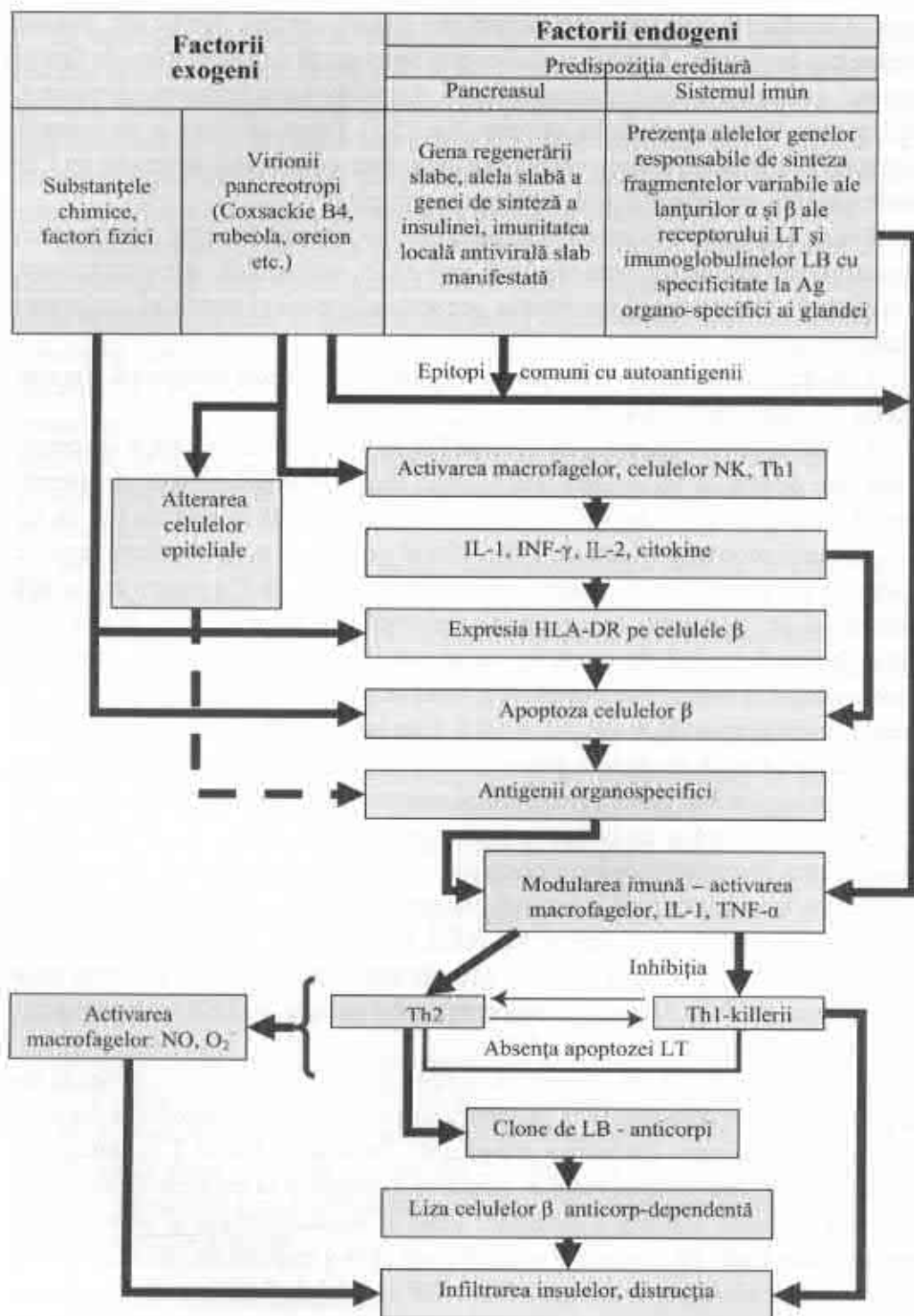


Figura 15.5. Imunopatogeneza diabetului zaharat autoimun

rii rolului virionilor în geneza maladiei sunt infecțiile caracteristice suportate și creșterea nivelului de anticorpi în dinamica bolii.

Virionii, anticorpii cu activitate anti-Ag organo-specifici care activează complementul sau leagă celulele K, limfocitele citotoxice CD8⁺ alterează direct celulele β. Macrofagele activate de citokinele eliberate de limfocitele T secretă IL-1α, TNF-α, oxidul nitric (NO) și peroxide și distrug celulele β. IL-1 intensifică sinteza NO în celulele β ce contribuie la apoptoza lor. Se observă infiltrația limfo- și monocitară a insulelor Langerhans, distrucția lor, scăderea secreției de insulină, apare insulita ce coincide cu simptomele principale ale maladiei. Insulita umană poate fi apreciată ca o reacție de tip întârziat în care participă Th1 și Th2 (fig. 15.5). IFN-γ produs de Th1 are acțiune citotoxică directă asupra celulelor β după mecanismul de apoptoză, pe când la el sunt rezistente limfocitele autoreactive.

Cantitatea de limfocite T și B în sângele pacienților cu DZ de tip I esențial nu se modifică, dar este majorat coraportul Th/Ts. Predomină Th1 și citokinele lor (IFN-γ, IL-2). Importanță diagnostică are aprecierea fenotipului HLA, anticorpilor anti-celula Langerhans și anti-receptorii insuliniци celulari, de asemenea, sensibilizarea leucocitelor. Autoanticorpii au specificitate la Ag citoplasmatici și superficiali ai acestor celule și sunt organo-specifici (tab. 15.11). Ei se leagă de toate aceste tipuri de celule și nu numai de celulele β producătoare de insulină. Anticorpii anticitoplasmatici ai celulelor insulare sunt identificați prin utilizarea imunofluorescenței indirecte pe secțiunile pancreasului uman și de șobolani, având ca standard unitatea JDF (Juvenile Diabetes Foundation).

Tabelul 15.11

Spectrul autoanticorpilor în diabetul zaharat insulino-dependent

Antigenii	Localizarea antigenilor	Metode de testare a anticorpilor	Frecvența autoanticorpilor (%) și aparența lor în evoluția maladiei
Celulelor insulare (GAD, IA -2 etc.)	Toate celulele insulare	Imunofluorescența indirectă pe criosecțiunile pancreasului uman	70 – 80% (în stadiul inițial)
Insulina	Celulele β	Imunoprecipitarea ¹²⁵ I etc.	40 – 50% (stadiul preclinic și copiii)
Decarboxilaza acidului glutamic (GAD)	Toate celulele insulare	ELISA cu enzima recombinată	70 – 80% (stadiul I)
Fragmentele tirozinfosfatazei (IA -2α), 37kDa/40kDa	Toate celulele insulare	Imunoprecipitarea IA -2 marcat	70 – 80% (prediabet și copiii cu formă progresivă)

Are loc legarea cu antigenii sumari citoplasmatici (GAD, IA-2 α etc.). Mai frecvent, acești Ac sunt depistați în DZ de tip 1 și la copiii cu dereglări ale metabolismului glucidic și tiroidită autoimună.

În DZ de tip 1 există anticorpi anti-enzima dehidrogenază a acidului glutamic (GAD), care catalizează transformarea glutamatului în acidul gama-aminobuteric. Enzima dată are epitopi comuni cu virusul Cocksackie și este inhibitorul neurotransmițător al sistemului nervos central, iar în pancreas este factor paracrin. Nivelul anticorpilor față de acest factor este majorat în dereglarea severă neurologică – sindromul stiff-man, manifest prin contracția musculară de lungă durată și nu rareori asociat cu DZ de tip 1.

Anticorpii anti-GAD65 sunt prezenți la 80% dintre pacienții cu debut al diabetului și apar înaintea manifestărilor clinice.

IA-2 și omologul JA-2 β (fogrina) – tirozin-fosfataza transmembranară este autoantigenul principal al granulelor celulelor β insulare în DZ. Anticorpii la acest Ag sunt testați în stadiul preclinic și la 70% dintre pacienții cu debut al diabetului, inclusiv în absența lor la GAD. Ac anti-celulele insulare, antiglutamatcarboxilaza, anti-IA-2 se apreciază și la 10% dintre rudele pacienților. Ei apar în stadiile precoce ale maladiei și sunt criterii diagnostice pentru identificarea prediabetului. Apariția anticorpilor la insulină este markerul riscului de dezvoltare a imunodependenței (se testează la 35-40% dintre bolnavi).

Anticorpi anti-proteinele: ADN – topoizomeraza, Glima 38, hsp70 etc. sunt întâlniți la un șir de pacienți.

Anticorpii anti-receptor pentru insulină prezenți pe suprafața celulelor (ficatului, leucocitelor etc.), blochează receptorii și induc sindromul rezistenței la insulină. Acest rol poate fi realizat și de Ac antiidiotipici față de Ac antiinsulinici. Pentru detecția acestor Ac IgG, limfocitele sau monocitele donatorului sunt incubate cu serul sangvin al pacientului și cu ser martor la 22°C timp de 1-3 ore. După spălare se apreciază gradul de legare a insulinei marcate cu ¹²⁵I de aceeași cantitate de celule în proba cu serul pacientului și în proba martor. Scăderea legării insulinei marcate cu 20% și mai mult denotă despre prezența anticorpilor blocați ai receptorilor. Titrul Ac la inhibiția legării de 50% a insulinei constituie de la 1:4 până la 1:400 și corelează cu manifestările clinice. În 83% din cazuri, în DZ se testează Ac anti-ADN de tipul 1, cu toate că ei n-au informație diagnostică.

A fost constată sensibilizarea limfocitelor pacienților la Ag organo-specifici ai celulelor Langerhans insulare (RTBL, reacția de inhibiție a migrației leucocitelor). Însă răspunsul mononuclearelor sangvine ale pacienților la insulină, de obicei, este slab și se înregistrează în 50% din cazuri. Limfocitele T reacționează mai intensiv la proinsulină. Au fost constatate coraporturi controversate dintre răspunsul celulelor T și prezența Ac anti-GAD65, ce apreciază dezvoltarea formelor preclinice ale diabetului. Predominarea răspunsului Th2 (cu Ac IgG2 și IgG4) sau Th1 (cu Ac IgG1 și IgG3) poate aprecia fie absența progresării prediabetului în diabet

(predomină Th2 și citokinele lor) sau debutul lui (predomină Th1 și citokinele lor). Prin punctia biopsică au fost constatate infiltrația celulelor T CD8⁺ și expresia majorată a moleculelor HLA de clasa I pe celulele insulare.

Dovezile sumare ale reacțiilor autoimune în diabet sunt: infiltrarea mononucleară a insulelor Langerhans la om și animale, asociația dezvoltării diabetului cu sistemul HLA, remisiunea la pacienții cu formele inițiale de diabet după terapia imunosupresivă (ciclosporină, azatioprin, corticosteroizi), prezența Ac anti-Ag pancreasului și corelarea lor cu clinica maladiei (Ac anti-Ag membranari β – alteranți ai celulelor), Ac anti-Ag citoplasmatici ai tuturor celulelor insulare, Ac anti-glutamatdecarboxilază, Ac anti-insulină, Ac anti-receptor pentru insulină, Ac anti-IA-2-(tirozin-fosfataza transmembranară), prezența celulelor T activate de Ag celulelor β și limfocitelor citotoxice, inhibiția diabetului la murine prin crearea toleranței la autoantigenii pancreasului, transferul adoptiv al diabetului cu celulele T la șoareci și șobolani, inhibiția dezvoltării diabetului experimental cu anticorpi monoclonali anti-CD4⁺ și CD8⁺ și imunodepresante – ciclosporina A.

În dezvoltarea DZ se evidențiază câteva etape clinico-imunologice:

stadiul I – prediabet, predispoziția genofenotipică și prezența factorilor necesari pentru realizarea ei (virusuri, factori exogeni), autoanticorpi naturali și clonele autoreactive ale limfocitelor T;

stadiul II – inducția procesului autoimun cu participarea factorilor exogeni, virusurilor, activarea primară a macrofagelor, Th1, apariția citokinelor și antigenilor HLA de clasa II pe celulele β, apoptoza lor, eliminarea Ag organo-specifici;

stadiul III – imunomodularea și activarea răspunsului la Ag organo-specifici, proliferarea clonelor limfocitare T și B cu tropism înalt la Ag organo-specifici și apariția Ac de diversă specificitate (inclusiv la insulină), infiltrația mononucleară a insulelor, dezvoltarea insulitei și scăderea secreției de insulină la stimularea cu glucoză;

stadiul IV – progresarea procesului autoimun, distrucția celulelor β, insulelor, intensificarea scăderii de secreție a insulinei la stimularea cu glucoză, apariția primelor semne de diabet;

stadiul V – insulită progresivă, distrucția a 85-90% de celule β, diabetul clinic manifest.

Maladia imunodeficitară dismetabolică

În DZ de tip I sunt manifeste semnele de imunodeficiență secundară cu apariția frecventă a infecțiilor tractului urinar, deseori în asociere cu alterarea tractului gastrointestinal.

Datorită dereglărilor metabolismului glucidic, ulterior și a altor tipuri metabolice, în formele medii și severe sunt inhibitate diferite verigi ale SI, celulele cărui încontinuu proliferază, se diferențiază și au un nivel înalt metabolic. La

leucocitele pacienților cu DZ de tip 1 sunt dereglate adeziunea, chemotactismul, fagocitoza și alte funcții.

Dismetabolismul indus de insuficiența de insulină și hiperglicemie provoacă eliberarea din celule (endoteliu, leucocite, trombocite) a substanțelor biologice active (endotelina, factorul trombocitar de creștere, citokinele leucocitare), care induc etapa primară de alterare vasculară. Microangiopatia însoțește permanent diabetul, conduce la dereglarea microcirculației, hipoxie și contribuie la scăderea imunității locale, concomitent provocând accidente respiratoare în neutrofile cu eliminarea enzimelor și mediatorilor, radicalilor membranoactivi, oxidului nitric care alterează celulele, activează complementul și ca rezultat inflamația nespecifică și alterarea tisulară. Datorită permeabilității vasculare crescute, majorării adeziunii endoteliului, leucocitele infiltrază peretele vascular intensificând vasculita aparentă. Distrucția endoteliului și a altor celule contribuie la formarea trombuștilor și la dezvoltarea reacției autoimune. Limfocitele B activate secretă Ac care se leagă cu diferite structuri – trombocite, fragmente ale endoteliului alterat, lipoproteide de densitate joasă etc. Complexele imune aparente activează complementul, produsele căruia (C3a, C5a etc.) intensifică și mai mult inflamația, pătrund și se depun pe intimă. Macrofagele și limfocitele activate elimină citokine care stimulează hiperplazia celulelor musculaturii netede și mezangiale la care contribuie și Ac, în final majorând matricele. Procese analoage apar în toate organele bogat vascularizate. În rinichi, aceasta conduce la alterarea glomerulelor, la sedimentarea pe membrana bazală a Ig, componentelor C, complexelor imune ce intensifică alterările primare, induc distrucția glomerulelor.

Pe de altă parte, hiperglicemia intensifică glicozilarea proteinelor, inclusiv a Ig, în special a IgG, ceea ce modifică proprietățile lor, scade funcția de apărare a acestora.

Demielinizarea fibrelor nervoase și dereglările metabolice ale neuronilor induc apariția Ac anti-fosfolipide, anti-factorul de creștere a fibrelor nervoase.

Dereglările SI în diabet se manifestă clinic prin sensibilitatea sporită a pacienților la tuberculoză cu evoluție severă, ce este dependentă de insuficiența activității macrofagelor și limfocitelor T-killer – efectorii principali ai imunității antimicrobacteriene cu parazitism intracelular.

Prezența disimunoglobulinemiei, sinteza de Ac, scăderea funcției limfocitelor T, inhibiția fagocitozei, activității complementului, interferonului conduce la o sensibilitate sporită la flora diversă bacteriană a mucoaselor sistemelor urogenital, intestinal, respirator, cu dezvoltarea infecțiilor. Scăderea imunității, rezistenței nespecifice sunt cauzele dezvoltării frecvente a florei purulente a pielii, stratului adipos subcutanat, țesutului osos, ceea ce conduce la creșterea nivelului de citokine inflamatoare (IL-1, TNF- α). La pacienții cu focare purulente este scăzut nivelul limfocitelor T CD4⁺, activitatea timică serică; IgM, IgG1, IgA sunt majorate, este inhibat răspunsul la PHA în serul autolog.

Astfel, în DZ de tip 1 se dezvoltă maladia dismetabolică imunodeficientă. La apariția complicațiilor infecțioase se administrează remedii antibacteriene și imunostimulatoare (tactivin, timalină, mielopide, polioxidoniu, licopid etc.).

Alergia la insulină

Preparatele de insulină xenogene induc sinteza de Ac IgG și IgE anti-determinantele de specie. Aprecierea sensibilității la insulină se realizează cu ajutorul probelor cutanate și a metodelor de laborator (ELISA, precipitare, RHA1 etc.). Concomitent cu xenoanticorpii (antiinsulină de origine animalieră), pot apărea și Ac antiinsulinici veridici, la care au fost identificați Ac antiidiotipici cu specificitate la receptorul pentru insulină.

Reacțiile la injecțiile de insulină obișnuită și prolongată pot fi locale și generalizate, mai frecvent apar la insulina de origine porcină, comparativ cu insulina recombinantă umană.

Reacții minore se observă la 40% dintre bolnavi. În locul injecției pot apărea edem, erupții, hiperemie, mai frecvent după 15 min. – 4 ore. Uneori reacțiile au caracter bifazic: precoce – după o oră și tardive de tipul Arthus – după 4-6 ore. În majoritatea cazurilor aceste reacții se dezvoltă peste 1-4 săptămâni după insulinoterapie și dispar spontan sau pe fundalul terapiei antialergice. Dar reacțiile locale pot evalua în cele generalizate. Întreruperea terapiei la apariția simptomelor locale sporește riscul reacției generalizate la utilizarea ulterioară (urticarie, bronhospasm, hipotonie). Mai severe sunt șocul anafilactic și toxicodermiile severe, care pot fi asociate cu rezistență la insulină datorită prezenței Ac antiinsulinici.

Alergia la insulina bovină și porcină, de regulă, este asigurată de Ac IgG și IgE cu specificitate față de determinantele xenogene. Prezența Ac IgG constituie o informație nesemnificativă pentru diagnosticul alergiei și nu corelează cu clinica maladiei, pot fi blocante împiedicând sinteza IgE la insulină. Dar Ac IgG antiinsulină la legare sunt capabili să inhibe activitatea fiziologică a hormonului, conducând la insulinorezistență. Ultima este observată la niveluri înalte de Ac IgG, de regulă, la bolnavii de vârstă mai mare de 40 de ani în primul an de terapie. Pentru anularea ei se administrează corticosteroizi. Efectul apare peste 2 săptămâni, dar tratamentul cu doze mici se prelungește cu 6-12 luni.

Alt mecanism al insulinorezistenței imune este dependent de prezența Ac anti-receptor pentru insulină pe celule. Insulinorezistența antireceptor este însoțită de hiperglicemia majoră, care este dificilă în tratamentul chiar cu doze mari de insulină (mii de unități). Nivelul anticorpilor poate fi major (1:4000). Uneori sunt eficiente imunodepresantele, plasmafereza. Apariția remediilor insulinice umane monocomponente de purificare înaltă a condus la micșorarea reacțiilor secundare. Cu toate acestea, deoarece remediile insulinice umane au fost obținute recombi-

nant (inocularea genei insulinei umane în ADN plasmidei *E. coli* etc.), ele pot avea urme de Ag ai microorganismelor care le-a sintetizat și care induc reacții alergice. Pe de altă parte, aceste preparate pot fi imunogene din contul modificării structurii terțiare. Au fost descrise reacții de tip întârziat la insulina semisintetică care apăreau peste 24-72 de ore după inocularea s.c. a preparatului de genază umană și animalieră. Și reacția limfocitelor la insulină (RBTL, RIML) era pozitivă la suplimentarea culturii celulare cu 0,25 un./ml de preparat.

La pacienții cu diabet se întâlnesc reacții la insulină ca hormon. În acest caz, reacțiile alergice pot avea loc la preparatele de orice origine. Este recomandată selectarea preparatului cu alergenitate minoră prin testarea de laborator și utilizarea probelor cutanate. Ultimele, de regulă, sunt pozitive la jumătate din bolnavii care au utilizat insulină animalieră.

Utilizarea metodelor de laborator include aprecierea Ac de clasa IgE și IgG în serul sangvin la preparatele de diferită genază, sensibilizarea bazofilelor, granulocitelor și limfocitelor T. Preparatele, care n-au indus reacții pozitive sau au demonstrat reacții minimale, sunt utilizate pentru testarea standard cutanată. Pentru testul prick, în funcție de rezultatele controlului de laborator, poate fi utilizată concentrația insulinei de la 1 până la 10 un./ml (reacții slabe) sau testarea insulinei intacte (reacții negative). Pentru probele i.c. primar se utilizează 1-5 un./ml și la un rezultat negativ peste o oră se testează următoarea diluție. În ultima probă se utilizează insulina integră (nediluată). În cazul reacțiilor alergice la toate preparatele și necesitatea de administrare a insulinei, pacientului i se administrează 60 mg de prednisolon și remedii antihistaminice. Injecțiile nu se suspendează dacă insulina a fost inoculată pe parcursul a 24 de ore. De regulă, se inoculează 1/3 din doza care a demonstrat reacție și pe parcursul a 24 de ore se majorează cu 2-5 unități până la atingerea dozei curative. După 24 de ore din momentul reacției generale se realizează desensibilizarea cu insulina reactogenă minor. Protocolul desensibilizării cu insulină include 6 injecții i.c. cu 0,00001; 0,0001; 0,001; 0,01; 0,1; 1 un., și 7 injecții s.c. cu 2; 4; 8; 12; 16; 20; 25 un., care se efectuează la ora 7³⁰, 12⁰⁰, 16³⁰ în primele 3 zile, la a 4-a zi – la orele 7³⁰, 12⁰⁰, la a 5-a și a 6-a zile – la ora 7³⁰. Ulterior se mărește doza cu 5 un. pe zi până la atingerea dozei terapeutice. În cetoacidoză dozele sunt inoculate peste 15-30 min. în funcție de toleranța la insulină.

Imunoterapia și imunocorecția a DZ de tip 1

Inhibiția reacției autoimune cu imunodepresante și corticosteroizi este mai eficace în perioada timpurie când sunt utilizate preparatele tabletizate. În 50% din cazuri, cura cu ciclosporină A în perioada debutului diabetului nu mai târziu de 8 săptămâni din momentul diagnosticului îmbunătățește starea bolnavilor. După suspendarea preparatului, starea poate să se înrăutățească rapid. Adminis-

trarea i.v. a imunoglobulinei inhibă sinteza autoanticorpilor. Curele se repetă peste 15 zile, 1 lună, 6 luni. După curele de imunoglobulină se majorează secreția de insulină autologă.

Iradieră ultravioletă a sângelui îmbunătățește metabolismul, activează leucocitele, inhibă autoalergia.

Fitoimunostimulatoarele, care posedă și efect hipoglicemic, sunt indicate în special în primul an al maladiei (tinctura jensen, extractul Eleuterococa fluid Arfazetin etc.). Utile sunt plasmafereza (4 cure pe parcursul a 2 săptămâni, nicotinamidă, vit. D (8-12 săptămâni i.m. 100000 Un.), infuziile i.v. ale insulinei.

Transplantul pancreasului și celulelor β . Transplantul alogen induce reacții imune de rejet datorită incompatibilității după sistemul antigenic HLA. În prealabil este necesară tiparea lor la donator și recipient pentru selecția celei mai compatibile perechi. Reacția aparentă la Ag incompatibili este supresată cu ciclosporina A și glucocorticosteroizi.

Au fost întreprinse transplantări ale celulelor β de origine porcină sau embrionilor umani în mușchii anteriori ai abdomenului. Dar fără terapia imuno-depresivă, ei funcționau nu mai mult de 3-4 luni. O perspectivă mai mare are transplantarea lor în camere de difuzie din care poate difunda insulina și nu pot pătrunde celulele imune.

Sindromul autoimun insulinic se caracterizează printr-un titru înalt de Ac antiinsulină, hiperinsulinemie și sindroamele recidivante hipoglicemice. Predispoziția genetică este asociată cu Ag HLA-DR4, HLA-B17 etc. Cauzele acestui sindrom ar fi formarea insulinei modificate, terapia tirotoxicozei difuze cu tiamazol care stimulează producția de Ac antiinsulinici, terapia cu penicilamine, glutation, procainamidă, hidralazină și alte preparate care pot induce efect analog, combinația diferitor factori care stimulează sinteza Ac antiinsulinici. În sângele pacienților cu sindrom autoimun insulinic, o parte din insulină este legată cu Ac, iar alta se găsește în formă liberă, concentrația ei scade la pătrunderea glucozei. Complexele imune disociază, este eliberată insulina, iar pătrunderea unei cote noi de insulină din celulele glandei induce sindromul hipoglicemic.

Pentru diagnosticul patologiei se apreciază nivelul Ac antiinsulinici, insulina legată cu Ac și cea liberă, de asemenea, autoanticorpii la Ag altor glande.

Maladiile autoimune ale glandei tiroide

Reacțiile imune celulare și umorale în maladiile glandei tiroide sunt direcționate contra antigenilor organo-specifici: tiroglobulina (antigenul coloidal 1), Ag coloidalul – CA 2, antigenii citoplasmatici ai celulelor foliculare (microsomal, peroxidaza), Ag de suprafață celulară a epiteliului glandei (receptorul hormonului tirotop, Ag membranari), hormonii T3 și T4.

Tiroglobulina (TG) este o substanță cu MM 660 kDa, care posedă mai mult de 50 de determinante de specie, dar numai 6 dintre acestea induc sinteza de autoanticorpi. În caz de patologie este posibilă apariția variantelor atipice de TG. De regulă, în sânge pătrunde tiroxina eliberată din tiroglobulină sub influența proteinazelor, pe când TG se găsește în concentrații minore (120 mg/l). În gușa nodulară, concentrația TG poate fi majorată ca rezultat al dereglării structurii glandei. Autoimunizarea va fi asociată în acest caz cu eliberarea determinantelor sechestrate, anormale și cu mecanisme generale de autoalergie. Anticorpii anti-tiroglobulină pot fi indentificați în ELISA, ARI cu ¹³¹I, aglutinare pasivă cu particule de latex acoperite cu TG etc. La pacienții cu diverse maladii și după vaccinare în ELISA pot fi testate până la 20 Un/l de anticorpi (1Un = 100 ng Ac IgG), iar în hipertiroze și tiroidite până la 10000 Un/l.

Unele limfocite ale indivizilor sănătoși (0,2-0,9 la 10000) leagă TG marcată cu ¹³¹I, ce indică despre prezența celulelor autoreactive în normă. În imunofluorescență indirectă, Ac anti-TG se fixează cu Ag secțiunilor congelate ale glandei tiroide în regiunile foliculare.

Anticorpii anti-Ag coloidal 2 (tiroalbumina sau proteaza) sunt testați în multe maladii ale glandei tiroide, în special în tiroidita Hashimoto.

Antigenul microsomal (iodidperoxidaza) al glandei tiroide este prezent în partea apicală a tirocitelor. Anticorpii față de acest Ag sunt caracteristici pentru tiroidita Hashimoto și pot fi apreciați în ELISA, RHA1. Limfocitele T interacționează cu cele 3 regiuni ale lui (pozițiile aminoacide 415-432, 439-457, 463-481). Aceste regiuni peptidice stimulează limfocitele sangvine ale bolnavilor cu tiroidită și gușa difuză toxică în 23-27% din cazuri. Anticorpii anti-peroxidază sunt prezenți în titre înalte în mixedemul primar și tiroidita Hashimoto, pe când în tirotxicoză ei sunt în titre minore. Pot fi identificați și la 8% dintre donatori.

Anticorpii anti-T3 și anti-T4 se înregistrează la 10-40% dintre bolnavii cu tiroidită Hashimoto și până la 16% dintre cei cu mixedem și hipertiroze.

Imunopatologia tiroiditelor

În tiroidita cronică autoimună Hashimoto se constată inflamația autoimună a glandei tiroide cu infiltrarea limfocitară a țesuturilor, uneori cu identificarea foli-culilor limfoizi cu centre germinative. Este mai frecventă la femei, comparativ cu bărbații. În starea clinică manifestă pot fi creșcuți VSH, PCR, se constată modificări sangvine caracteristice sindromului inflamator. În perioada de debut a maladi-ei se observă hiperplazia glandei, iar ulterior se constată fibrozarea și indurația ei.

Predispoziția genetică a tiroiditei Hashimoto este asociată cu HLA-DR3, HLA-DR5, HLA-B8. Pe un fond genetic preexistent, un factor declanșator (stres, sarcină, naștere, avort, aport excesiv de iod alimentar, spirulină, vitamine ce conțin iod, substanțe de contrast, interferon) determină debutul bolii. Cauza primară de dezvoltare a patologiei poate fi alterarea celulelor epiteliale de către virionii care induc sinteza

IFN- γ cu imunomodularea ulterioară și expresia anormală a Ag HLA pe celulele epitelului și recunoașterea lor de limfocitele T ca non-proprie și efect killer. Pe de altă parte, pierderea unor molecule pe epitelium, în special CD95L, care induce apoptoza limfocitelor T activate (CD95⁺), are efect benign. Altă cauză a tiroiditei Hashimoto ar fi reacția imună încrucișată la Ag virali și celulari. Acumularea iodului radioactiv în glanda tiroidă, tratamentul cu preparatele litiului (care modifică tiroglobulina și alte automolecule și facilitează antigenitatea lor), alte substanțe chimice care pătrund în organism cu apa și alimentele contribuie la dezvoltarea tiroiditei. Iradierea intensifică formarea de autoanticorpi la Ag glandei tiroide.

Reacția inflamatorie este indusă de macrofagele activate care elimină IL-1 și TNF- α , de asemenea, de Th1 și Th2. Ultimii stimulează celulele B care se transformă în plasmocite secretoare de Ac în glandă. În acest proces sunt antrenate și celulele B-epiteliale (Askanazy-Hürtle) care conțin serotonină și alte amine și induc edem și creșterea permeabilității vasculare. Expresia majorată a moleculelor de adeziune (ICAM, IECAM, VLA etc.) pe endoteliul capilarelor contribuie la aflusul leucocitelor din sânge în focarul inflamator. Se constată infiltrarea glandei cu limfocite T și B, plasmocite, mononucleare, eozinofile etc., ce conduce la distrucția foli-culelor, proliferarea fibroblaștilor și fibroza difuză sau focală a glandei cu scăderea funcției ei și, în final, apariția mixedemului. Pe acest fundal pot apărea tumorile glandei tiroide, dar autoanticorpii în ele absentează sau sunt prezenți în titre minore.

Autoanticorpii serului sanguin al pacienților cu tiroidită au specificitate față de un șir de Ag. Anticorpii anti-TG în titru 1 : 32 se înregistrează la 60-99% dintre bolnavi și au importanță diagnostică. Ei pot fi identificați și în mixedemul primar (63-82% din cazuri), tirotxicoză de genă autoimună (33-86%), cancer (28-65%) și în 8% din cazuri la indivizii sănătoși. Ei aparțin subclasei IgG1 și, mai rar, IgA. Pentru identificarea lor se utilizează ELISA, ARI, reacțiile de aglutinare cu particule de latex acoperite cu TG, hemaglutinarea pasivă, precipitarea, imunofluorescența etc.

Anticorpii anti-Ag microsomiali (tiroperoxidaza epitelului glandei tiroide) cu titrul până la 1 : 6400 (în ELISA) și a coloidului CA2 sunt testați la 80-95% dintre bolnavi. Pentru identificarea ultimilor se utilizează imunofluorescența indirectă etc. De o specificitate înaltă pentru tiroidita autoimună se consideră prezența Ac anti-proteina principală a microtubilor tubulinei. Anticorpii citotoxici anti-Ag de suprafață a celulelor epiteliale au fost identificați în serul sanguin la 98% dintre pacienții cu tiroidită autoimună și la 78% dintre bolnavii cu tirotxicoză. Unii Ac anti-TG și anti-alți Ag au fost depistați în testul citotoxic anticorp-dependent (în prezența limfocitelor normale în calitate de killer și hematiile acoperite cu Ag și Ac a sângelui, ca „ținte”).

Reacția de inhibiție a leucocitelor se manifestă mai specific la Ag microsomiali în tiroidita Hashimoto. Este crescută concentrația citokinelor produse de Th1 (IL-2, IFN- γ) și Th2 (IL-4, IL-5, IL-10) care participă la dezvoltarea inflamației în glandă. Coraportul dintre CD4/CD8 este majorat neesențial.

Tiroidita subacută (tip Quervain) este indusă de virionii rujeolei, parotiditei, gripei, Coxsackie, de adenovirusuri, posibil și de enterovirusuri. De regulă, este identificată legătura cu alterările tipice caracteristice pentru acești virioni și tiroidită ca o complicație a acestora, apărută peste 1-5 săptămâni după maladia de bază. Titrul anticorpilor (în prima săptămână – IgM) la virionul respectiv crește în dinamica maladii. Predispoziția genetică la infecția virală a glandei este asociată cu prezența Ag HLA-DR35.

În procesul inflamator infecțios al glandei are loc distrucția epiteliului cu infiltrarea leucocitară a foliculilor și apariția posibilă a granuloamelor și microabceselor. Peste 2-4 săptămâni în sânge apar Ac anti-TG, antimicrosomiali, anti-Ag coloidal și anti-hormonii tiroidieni. Titrul lor descrește la minorizarea inflamației. În locul inflamator apare țesutul fibros. În tiroiditele cu diminuarea funcției glandei tiroide se administrează hormonii tiroizi. Administrarea locală a dimexidului inhibă inflamația care, concomitent, posedă și proprietăți imunomodulatoare. După indicație se realizează 4-5 cure de plasmafereză (o dată pe săptămână) cu eliminarea complexelor imune și citotoxinelor inflamatoare.

Maladia Graves (gușa difuză toxică) este o maladie autoimună însoțită de hiperfuncția glandei tiroide și eliminarea excesivă a hormonilor T3 și T4 ce conduce la modificări toxice în diverse organe și sisteme. Se înregistrează mai frecvent la femei cu vârsta de 30-40 de ani, comparativ cu bărbații (7:1). Este asociată cu Ag HLA-B8 și HLA-DR3. Frecvența la caucazieni este mai mare de 4 ori. Dezvoltarea maladii este influențată de un șir de factori exogeni și endogeni (fig. 15.5). Nivelul înalt de iod contribuie la dezvoltarea maladii. Administrarea IFN- α , IL-2 și GM-CFS reduce frecvența tirotoxicozei.

Asocierea factorilor mediului ambiant, inclusiv virusurile pe fundalul predispoziției genetice, conduce la imunomodularea locală cu eliminarea Ag organo-specifici care activează limfocitele T și B cu receptori disponibili persistenti natural într-o cantitate minoră. Interacțiunea receptorilor celulelor T cu tirocitele conduce la stimularea proliferării tirocitelor și hiperplazia foliculară (fig. 15.6).

Țesutul glandei și foliculele sunt infiltrate de limfocite și macrofage care nu distrug epiteliul, rar se întâlnesc foliculi limfoizi. În maladia Graves o importanță majoră au Ac IgG, care stimulează hiperplazia epiteliului. Ei sunt direcționați contra receptorilor pentru TSH de pe suprafața tirocitelor și induc proliferarea acestora. Sunt cunoscute câteva imunoglobuline cu astfel de activitate. Stimulatorul de lungă durată al glandei tiroide (*LATS – Long Acting Thyroid Stimulator*), de obicei, este Ac IgG, mai rar IgM și IgE. Activitatea stimulatorului slab corelează cu funcția glandei și se testează numai la 60% dintre pacienți. Au fost identificați și Ac specifici de specie, care stimulează acumularea coloidului și cAMP în glanda tiroidă cu activitate inhibantă a legării tirotropinei cu receptorul membranar al celulelor epiteliale ale glandei.

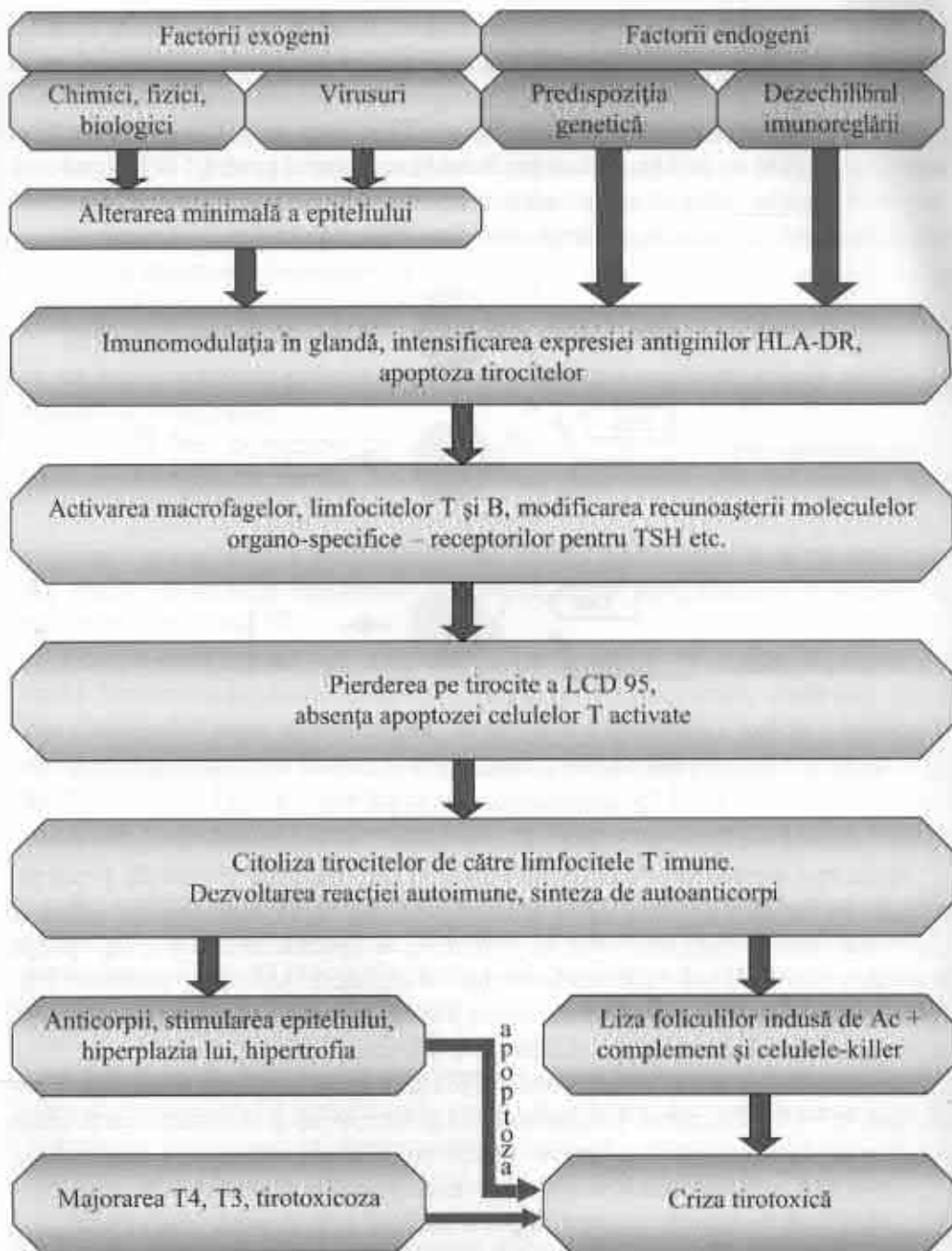


Figura 15.6. Imunopatogeneza maladiei Graves

Receptorul pentru TSH se găsește pe tirocite, mastocite și dispune de lanțul α care apreciază legarea TSH cu lanțul β (ganglioizid) ce activează adenilatciclaza în celulă (fig. 15.7).

Legarea Ac cu lanțul α împiedică fixarea TSH, ceea ce a fost demonstrat cu hormonul marcat cu izotop. Anticorprii fixați la receptorul pentru TSH stimulează încontinuu celula epitelială pentru sinteza hormonilor, care nu răspunde la semnalele reglatoare, inclusiv la scăderea nivelului TSH (fig. 15.7).

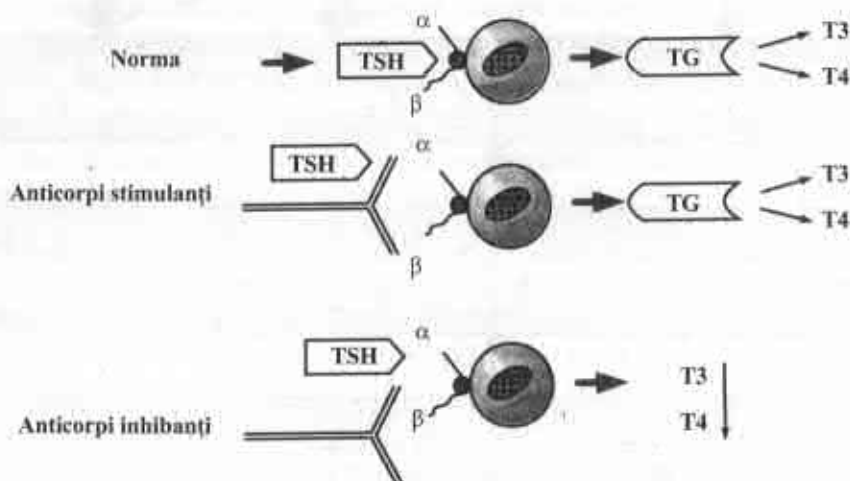


Figura 15.7. Anticorprii stimulanți și inhibanți, anti-lanțurile α și β ale receptorului pentru hormonul tirotop (TSH)

Anticorprii stimulatori de clasa IgG pătrund prin placenta la gravide și pot induce pe parcursul a 2-3 luni (până la scindare) hipertiroza la nou-născut (până la 12,5% din cazuri). În hipotiroidismul primar, Ac au specificitate față de alți epitopi ai receptorului TSH și îl blochează, dar nu-l stimulează. Anticorprii inhibitori blochează interacțiunea tirotopinei cu lanțul β al receptorului tirocitelor și participă în patogeneza mixedemului, producția T3 și T4 scade.

Anticorprii stimulatori ai receptorului TSH sunt specifici pentru tirotoxicoză autoimună în 100% din cazuri, pe când alții pot fi înregistrați și la bolnavii cu tiroidita Hashimoto. Testarea anticorpilor anti-receptorul TSH are importanță diagnostică.

Anticorprii anti-Ag microsomiali și anti-iodidperoxidază sunt caracteristici pentru gușa difuză tirotoxică, cu toate că pot fi întâlniți și în tiroidita Hashimoto.

Anticorprii anti-TG se înregistrează la 33-86% dintre pacienți. Sunt heterogeni, posedă specificitate la diferiți epitopi și reacționează încrucișat cu acetilcolinesteraza, componentele țesutului conjunctiv retroorbital și mușchii ochiului, aceasta fiind una din cauzele oftalmopatiei tirotoxice datorită faptului că acești Ac induc inflamația în locurile de legare prin activarea leucocitelor și complementului. În acest proces participă și limfocitele T, care dispun de receptori analogi anticor-

pilor. Ei infiltrază mușchii ochiului, țesutului glandei tiroide, elimină citokine care activează procesul imun, de asemenea, manifestă acțiune citotoxică pentru tirocite care dispun de Ag organo-specifici. Pe piele apare edemul, ca rezultat al hiperproducției de glucozaminoglicani și mucopolizaharide. Au fost identificați și Ac anti-HLA DR3 care reacționau încrucișat cu virusul Coxsackie cu modificarea recunoașterii autoantigenilor, astfel participând în patogeniza maladiilor.

Concomitent, a fost apreciată antigenitatea încrucișată dintre *Yersinia enterocolitica* și structurile membranare ale tirocitelor și de aceea aceste bacterii pot stimula sinteza Ac care leagă tirocitele.

În tirototoxică, de regulă, sunt identificați autoanticorpii de diversă specificitate, ce indică activarea policlonală a limfocitelor și mecanisme imune comune ale maladiilor autoimune.

Complexele imune sunt prezente în serul sangvin al bolnavilor și chiar în parenchimul glandei tiroide, fiind un criteriu caracteristic alterării acestui organ.

Prin utilizarea reacțiilor de transformare blastică a limfocitelor și inhibiția de migrare a leucocitelor a fost demonstrată reacția limfocitelor T de tip întârziat la Ag glandei în tiroidita Hashimoto și tirototoxică *in vitro*, confirmată și prin reacțiile cutanate *in vivo*.

Cu ajutorul metodei radioimune cu TG, marcată cu 125 I au fost identificate mai multe limfocite care fixau acești Ag, comparativ cu persoanele sănătoase. La testarea statusului imun al pacienților, în sânge s-a constatat o scădere moderată a numărului de limfocite T cu majorarea cantitativă a helperilor CD45RA cu receptor pentru IL-2. În maladia Graves se înregistrează scăderea numărului de limfocite CD8⁺ (supresoare) și majorarea indicelui imunoregulator CD4/CD8. Valoarea acestuia nu corelează cu nivelul Ac și hormonilor tiroidieni.

Administrarea tirostaticelor inhibă sinteza hormonilor tiroizi, leucopoieza și acționează ca imunomodulatori. Utilizarea lor (mercazolil, metamazol, tiamazol, propiltiouracil) inhibă procesul autoimun în glanda tiroidă, scade nivelul Ac și celulelor T activate. Același efect poate induce tiroxina în combinație cu corticosteroizii în tiroidită. Terapia cu iod radioactiv poate conduce la hipotiroză.

Carbonatul de litiu posedă activitate inhibantă tiotropinică și proprietăți imunomodulatoare, inhibă sinteza anticorpilor stimulatori, dar posedă efecte adverse. În maladia Graves sunt eficiente curele cu timalină (i.m. câte 10-30 mg/24 de ore pe parcursul a 15-20 de zile), tactivină (s.c. câte 100 μg timp de 5 zile și, ulterior, 10 zile peste o zi).

Imunodepresantul ciclosporina A se utilizează pentru inhibiția sintezei de Ac stimulatori (câte 5-10 mg/24 de ore timp de 2-3 luni cu controlul indicilor sangvini și ai urinei). Azotioprina este mai toxică și mai puțin eficientă.

Glucocorticosteroizii sunt indicați în evoluția severă și în criza tirotoxică, în ineficacitatea altor metode terapeutice. Se administrează prednisolon enteral, câte 10-30 mg/24 de ore până la efectul clinic, ulterior doza este redusă treptat.

În cazurile de exoftalmie severă se administrează glucocorticosteroizi, ciclofosamidă și ciclosporina A. În tirotoxicoză este răspândită extirparea chirurgicală a unei părți de glandă, dar aceasta nu întotdeauna conduce la rezultatele scontate.

Criza tirotoxică se dezvoltă la pătrunderea în sânge a unei cantități mari de hormoni tiroizi, constituind, probabil, rezultatul citolizei autoimune imense a tirocitelor, distrucției foliculilor cu participarea Ac și T-killerilor. Procesul distructiv poate să se intensifice la apoptoza unei părți epiteliale intensiv hipertrofiate. Această situație este confirmată prin faptul că la alterarea mecanică, chirurgicală a glandei în tirotoxicoză este prezent sindromul analog. În perioada precedentă crizei crește nivelul anticorpilor și T-killerilor autoreactivi, care infiltrază glanda. Este posibilă, de asemenea, distrucția foliculilor cu apoptoza tirocitelor indusă de agenții neimuni (medicamente, virioni, stres etc.).

Gușa endemică și mixedemul

Gușa endemică – hiperplazia compensatorie a glandei tiroide la insuficiența iodului, de obicei, este însoțită de reacții autoimune secundare. Poate apărea ca o consecință a mai multor cauze:

- insuficiența iodului conduce la apariția hormonilor tiroizi anomali, cantitatea cărora este majorată compensatoriu; ei sunt capabili să activeze celulele SI;
- dereglarea locală (în epiteliul glandei) a metabolismului substanțelor induse de insuficiența iodului poate conduce la pierderea ligandului CD95, care participă în apărarea lui de celulele T CD95⁺ autoreactive (ligandul induce apoptoza lui) și, în finalul acestui proces, la activarea celulelor T, apariția T-killerilor care distrug epiteliul;
- hiperplazia epiteliului glandei este însoțită de eliminarea suplimentară a moleculelor organo-specifice (hormonilor etc.), care activează celulele responsabile de supravegherea autologică; celulele activate ale SI elimină citokine care induc inflamația și sunt cauza proceselor degenerative în glanda modificată la ce contribuie și alterarea rețelei capilarelor îmbogățită cu molecule de adeziune.

Ca rezultat, indiferent de hiperplazia epiteliului, se dezvoltă hipotiroza. Hipotiroza și mixedemul pot fi rezultatul:

- distrucției celulelor glandei tiroide indusă de reacția autoimună în tiroidită (în perioada timpurie sunt prezenți autoanticorpii, iar mai târziu aceștia pot fi absenți, în special, după terapia substituentă timp îndelungat cu hormoni);
- alterării autoimune ai hipofizei și scăderii nivelului de tirotropină;
- secreției Ac inhibitorii ai receptorului pentru tirotropină;
- nivelului înalt de tirotropină și blocadei lui de autoanticorpi;
- dereglării procesului de utilizare a hormonilor tiroizi blocați de autoanticorpi;
- prezenței T-killerilor care alterează tirocitele.

Pentru identificarea cauzelor concrete este necesară aprecierea autoanticorpilor anti-tirotropină și hormonilor tiroidieni. În hipotirozita primară, autoanticorpii, în-

clusiv la tireoperoxidază, sunt apreciați în 80% din cazuri și mai mult. Ei blochează receptorul pentru TSH și funcția epitelului glandei tiroide. La biopsie este vizibilă infiltrarea țesutului cu limfocite T CD4⁺, CD8⁺, macrofage, plasmocite și formarea foliculilor limfoizi.

Imunopatologia glandelor paratiroide

Hormonul paratiroidian (PTH) menține nivelul constant al calciului ionizat și reglează, împreună cu vitamina D₃ și calcitonina metabolismul fosforului și magneziului. Aceste efecte ale metabolismului mineral controlează metabolismul celulelor SI, deoarece ionii de calciu ocupă un loc central în activarea proteinazelor și în dezvoltarea cascadei metabolice de activare celulară, iar legarea fosforului asigură energetică lui. În sânge hormonul circulă sub formă de 3 variante: obișnuit cu MM 9,5 kDa, inactiv cu MM 7,5 kDa și fragmentat cu MM 4 kDa. Fragmentele cu masa moleculară minoră pot avea rol de haptene. Sub denumirea de hipoparatiroidism, sunt cuprinse afecțiunile caracterizate prin deficitul secreției (postchirurgical, postradioiod, idiopatic sporadic) sau acțiunii periferice (rezistență la PTH, hipomagneziemie, hipocalcemie etc.) a hormonului paratiroidian. Tabloul clinic este dominat de creșterea excitabilității neuromusculare până la criza de tetanie hipocalcemică. Diferite forme de hipoPTH sunt caracterizate prin simptome datorate hipocalcemiei cronice. Diagnosticul de hipoPTH este sugerat de prezența hipocalcemiei și hiperfosfatemiei în condițiile unei funcții renale normale și în absența excesului endogen sau exogen de fosfați.

Insuficiența congenitală ereditară a glandelor paratiroide se observă la copiii cu sindromul imunodeficientar Di George, manifest prin aplazia (hipoplazia) timusului, dezvoltarea incompletă a mandibulei și arcului aortei. Copiii mor în vârstă precoce.

Alterarea autoimună a glandelor paratiroide este observată în sindromul auto-somal-recesiv MEDAC (*Multiple Endocrine Deficiency Autoimmune Candidiasis*) – insuficiența endocrină autoimună cu candidoză. Concomitent, au loc insuficiența cortexului suprarenalelor, alterarea fungică a pielii și mucoaselor (imunodeficiența celulară T) și keratoconjunctivita.

Pseudohipoparatiroidismul ereditar Elbright, însoțit de creșterea sangvină a nivelului hormonului PTH, se manifestă prin rezistența țesuturilor la acțiunea lui și este rezultatul deficitului receptorilor tisulari.

Este posibilă și alterarea autoimună izolată a acestei glande cu apariția anticorpilor față de hormonul PTH și țesutul glandular. Prezența acestora în absența maldiilor altor glande indică hipoparatiroidismul idiopatic autoimun. Ca argumente în favoarea acestuia pledează infiltrația limfocitară a glandelor sau atrofia lor cu inocularea cu țesut adipos, prezența Ac antiparatiroidieni în serul sangvin (38% cazuri), deficitul celulelor T (reducerea LT supresoare), defectul de IgA, asocierea cu alte maladii autoimune.

În hiperparatiroidism n-au fost depistate mecanisme imunopatologice evidente, cu toate că nu este exclusă posibilitatea stimulării funcției glandelor de anticorpi ca și în gușa difuză toxică (maladia Graves).

Imunopatologia suprarenalelor

Corticosuprarenalita autoimună (maladia Addison) – insuficiența cortexului suprarenalelor idiopatică se consideră consecință a procesului autoimun la excluderea altor cauze de distrucție. Dovada mecanismelor imune umorale și celular-mediat direcționate către cortexul suprarenal, inclusiv infiltrarea limfocitară a glandelor suprarenale este găsită în asocierea cu distrucția autoimună a altor glande endocrine. Este asociată cu Ag HLA-B8 și HLA-DR3, HLA-DR4 și se corelează cu frecvența Ac la țesutul suprarenalelor. Predomină la bărbați (71%) în primele două decade ale vieții. Clinica maladiei este asigurată de insuficiența sintezei glucocorticosteroizilor și aldosteronului manifestă prin slăbiciune crescândă, lentizarea vorbirii, scăderea masei corporale, hiperpigmentație legată de excesul de sinteză a ACTH și hormonului melanostimulant β . Frecvent se înregistrează hipotonia (reducerea nivelului de cortizol și mineralocorticoizi), hipoglicemia și alte dereglări ale metabolismului glucidic și hidrosalin care apar la distrucția a 95% din cortexul suprarenalei. Deseori maladia se combină cu alte MA ale glandelor endocrine (tiroida, paratiroida, ovarele, diabetul zaharat etc.). În sânge se constată leucopenie, limfocitoză și eozinofilie, majorarea VSH cu scăderea nivelului de corticosteroizi (17OKC și 17 KC). Cortexul suprarenalelor este infiltrat cu limfocite, plasmocite, iar în locurile distrucției parenchimului apare țesutul conjunctiv. La etapele inițiale se testează autoanticorpii IgM anti-celule ai cortexului suprarenalelor. Testarea autoanticorpilor de clasa IgG denotă o frecvență de 40-90% cu specificitate la Ag citoplasmatici ai cortexului și la receptorii lor pentru ACTH. Mai caracteristici ar fi Ac anti-Ag microsomiali, anti-17 α hidrolaze, în special 21-hidrolaze, care se înregistrează în 80% din cazuri.

În maladia Addison frecvent se testează autoanticorpi la un șir de Ag tisulari (tiroglobulină, factorul intern Castle al corpului galben al ovarelor, trofoblastul placentei etc.), ceea ce denotă despre interdependența alterărilor autoimune ale glandelor endocrine. Numărul LT și Ts este scăzut moderat, iar LB sunt majorate. Cauza insuficienței cortexului suprarenalelor poate fi tuberculoza primară sau secundară, sifilisul, bruceleza cu alterarea suprarenalelor. Terapia maladiei este adresată corticosteroizilor, imunomodulatorilor. Xenotransplantul celulelor cortexului de la suine se utilizează în formele maladive severe (durata funcției – 5-6 luni), permițând minorizarea dozelor remediilor substituente.

Imunopatologia hipofizei

Hipofizită limfocitară poate fi înregistrată la vârsta cuprinsă între 22 și 73 de ani, la orice sex, cu semne de panhipopituitarism, asociată cu tiroidită sau cu

insuficiență selectivă. Formele instalate post partum, precum și intra partum reprezintă cca 60% din cazuri. Au fost detectați autoanticorpi la toate celulele producătoare de hormoni hipofizari, mai frecvent înregistrați în poliendocrinopatie.

Ac anti-hormonul tiotrop, secretat de lobul anterior al hipofizei, blochează activitatea lui și poate fi cauza mixedemului. Anticorpii anti-somatotropină corelează cu manifestările clinice și datele biochimice care confirmă defectul acestui hormon. Au fost apreciați Ac anti-prolactină, oxitocină, vasopresină în poliendocrinopatii, hipoparatiroze și panhipopituitarism. Celulele producătoare de ACTH dispun de receptori Fc pentru IgG și îl leagă nespecific. Analiza populației limfocitare periferice a demonstrat un procent majorat de celule B comparativ cu subiecții normali. ACTH de origine porcină poate fi cauza șocului la inocularea repetată. Crearea hormonilor sintetici, care conțin doar fragmentele bioactive, a condus la minorizarea reacțiilor alergice.

Imunopatologia glandelor sexuale

Imunopatologia testiculului

Actualmente este acceptată concepția conform căreia individul poate dezvolta anticorpi antitesticulari. Au fost identificate leziuni inflamatoare sub forma unui infiltrat celular perivascular în epididim, cu extensie în testicul, care duc la distrugerea tubilor seminiferi și a celulelor germinative. Modificări imune în orbita umană (torsiune de testicul), infiltrate în leucemia limfoblastică acută la copii. S-a demonstrat că limfocitele T monoclonale de la pacienții cu orbită autoimună exprimă CD4⁺ responsabile de reacția imună cu scăderea Ts. Leziunile sunt determinate, posibil, de depozitele de complexe imune la nivelul vaselor. În membrana bazală a tubilor seminiferi apar depozite de C3, iar în circulație se constată IgG și IgM cu rol antiacrosom spermic. Spermatozoizii umani au o dublă antigenitate, una proprie, de origine testiculară, și alta preluată din antigenii plasmatici cu care vin în contact. Au fost izolate peste 30 de tipuri de Ag spermatici, dintre care 27 atribuite spermatozoizilor și 4 secretate de prostată (tab. 15.12).

Nu se cunoaște cu precizie în ce fază a gametogenezei spermatozoizii dobândesc proprietăți antigenice. Creșterea puterii antigenice a spermatozoizilor este explicată prin transformările biochimice ce se produc la nivelul celulelor sexuale, ca urmare a convertirii nucleohistonei în protamină. În urma contactului cu secrețiile glandelor anexe, spermatozoizii asimilează la suprafața lor un înveliș antigenic, denumit SCA (*Sperma Coating Antigen*). Cea mai mare parte a antigenilor este concentrată la nivelul acrozomului spermatozoidului, unde se găsește și sursa principală de hialuronidază. Se consideră că sunt antigenice și dehidrogenazele din celula germinativă diferențiată.

Plasma seminală dispune de componenți cu o pronunțată activitate antigenică, conferiți de către glandele anexe ale aparatului genital și în special de veziculele seminale.

Tipuri de antigeni spermatici

Denumirea Ag	Funcție și localizare
A-1	Facilitează penetrarea în ovul, este eliminat în mediu
41, 43, 45, 25	Implicarea în infertilitate specifică fiecărui pacient
34/36, 46, 68, 97, 105, 115, 120, 130, 190	
Lamină	Se găsește pe celulele germinale
FA-1	Antigen de fertilitate
GA-1	Antigen al liniei germinale
Protamină	Antigen nuclear
20, 28, 43, 63, 86	Apar după vasectomie în diferite momente ale spermatogenezei
15, 25	SCA (<i>Sperma Coating Antigen</i>)

Spermatozoizii fac parte din categoria constituenților organismului care devin autoantigeni în starea lor nativă, nealterată numai prin simpla modificare a stărilor fiziologice de antigeni sechestrați. În anumite situații, spermatozoizii determină apariția anticorpilor fie în organismul propriu (autoanticorpi antispermali sau izoanticorpi), fie în organismul femeii în care sunt heteroanticorpi antispermatici. Se consideră că acțiunea proinfertilă a anticorpilor antispermie ar fi directă (aglutinarea, blocarea Ag importanți pentru cuplarea cu ovulul sau ca determinant al reținerii la nivelul colului uterin) sau indirectă (prin activarea unor mecanisme litice în tractul genital masculin, prostată și vezicule sau proinflamatoare în uter, cu expulzia ovulară a oului).

Anticorpii antispermali sunt de tipul IgG în majoritatea cazurilor. Ei stopează mobilitatea spermatozoizilor prin aglutinare (cap-cap, col-col, coadă-coadă, cap-col etc.). S-a remarcat creșterea titrului anticorpilor anti-ADN denaturat la toți bărbații cu azoospermie și oligospermie. Spermatozoizii aglutinanți sunt incapabili să străbată mucusul cervical: conglomeratele prelevate din vagin pot conține spermă vie, pe când în mucusul cervical nu se observă spermatozoizii. Ca factori favorizanți se consideră maladiile infecțioase, intervențiile chirurgicale sau traumatismele accidentale în sfera genitală.

Este unanim admis că sterilitatea masculină imunologică apare ca rezultat al acțiunii directe a autoanticorpilor asupra spermatozoizilor și, ca urmare, în

timp se instalează azoospermia prin imunizare, iar boala capătă caracter de afecțiune autoimună. Alteori, apar heteroaglutininele, fie ca urmare a pătrunderii Ag spermatic printr-o soluție de continuitate în sângele partenerei, fie a incompatibilității dintre spermatozoizi și mucusul cervical care conține anticorpi. Anticorpii izolați în glera cervicală produc aglutinarea spermatozoidilor cu pierderea mobilității și capacității lor fecundante, deși examenul spermei este inițial normal.

Modificările limfocitelor T au caracter de creștere a subpopulației $CD4^+$ și majorarea indicelui $CD4^+/CD8^+$. Atât plasma seminală, cât și spermatozoidii conțin Ag comune cu alte organe (rinichi, splină, ficat etc.). Astfel s-a sugerat posibilitatea apariției Ac antispermatici în contextul unei afecțiuni imunologice la nivelul altor organe. Atât la femei, cât și la bărbați sunt posibile reacții alergice la alergenii prezervativelor (alergie la latex).

Imunopatologia ovarului

Maturizarea celulelor ovulare în foliculii ovarieni este controlată de hormonii gonadotropi (LH și FSH) cu participarea celor steroizi (estrogen, progesteron). Dereglarea producerii acestora conduce la patologia reproducerii.

Pe suprafața celulelor ovulare se găsesc moleculele HLA de clasa I, antigenii specifici ai zonei pellucida și receptorii specifici de specie pentru interacțiunea cu spermatozoidii.

Funcția ovarelor se dereglează în multiple maladii endocrine și corelează cu prezența autoanticorpilor la antigenii lor. Au fost testați anticorpi anticelule *Theca interna*, anti-receptori ai zonei pellucida care blochează receptorii ce leagă spermatidele și poate fi, în final, cauza sterilității (25-30% din cazuri). În patologia poliendocrină apar autoanticorpi anti-celule foliculare ovariene și anti-corpul galben (diabetul zaharat, maladia Addison, tiroidita Hashimoto). Sindromul autoimun poliendocrinopatic tip I este însoțit de disfuncții ovariene și autoanticorpi anti-antigeni ovarieni.

Este posibilă autoalergia la progesteron manifestă prin urticarie, dermatite, uneori artrite și avort cu detecția anticorpilor IgE și probe pozitive cutanate și provocatoare (injecție i.m. a 20 mg de progesteron).

În unele infecții (parotidita epidemică, tuberculoza) uneori sunt afectate glandele sexuale.

Insuficiența ovariană prematură (IOP) se estimează în 4-10% din cazuri prin încetarea menstruelor spontane înainte de 40 de ani. Cauzele patofiziologice posibile ale acesteia sunt:

- maladii autoimune (poliendocrinopatie, insuficiența ovariană izolată, insuficiența ovariană ocultă);

- defectul de receptori/postreceptori la nivelul celulelor gonadice (sindrom de ovare rezistente, defecte de subunități α sau β);
- secreția de gonadotropi anormali (forme inactive biologic, sindromul Savage);
- tulburări enzimatică (deficitul 17- α -hidroxilază);
- cauze fizice (iradiere, agenți chimioterapici, virusuri, extirparea chirurgicală);
- anomalii cromozomiale (disgenezia gonadică – sindromul Turner, disgenezie gonadică pură 46 XX sau 46 XY, disgenezie gonadică mixtă, trisomia X cu sau fără mozaicism);
- aplazia congenitală idiopatică a timusului.

Clinic, boala se manifestă prin amenoree primară sau secundară și simptome de menopauză. Este posibil ca în stadiile precoce aspectul realizat să fie de infertilitate cu menstrule regulate. Hormonal, se evidențiază FSH plasmatic crescut (peste 40 UI/ml) și concentrații plasmatică scăzute ale estradiolului.

Predispoziția genetică a fost demonstrată la pacientele respective cu susceptibilitate genetică prin asocierea cu markerii HLA-B8 și HLA-DR3.

Studiile de imunofluorescență în țesutul ovarian au relevat prezența autoanticorpilor anticelulă granuloasă și antitecală. Aceste imunoglobuline pot bloca funcția FSH-dependentă a celulelor granuloase. Autoanticorpii antigonadă apar mult mai frecvent la pacientele care asociază și alte boli imune, ca de ex. boala Addison. S-a demonstrat că prezența de Ac-anticelule steroide la femei conduce la insuficiență gonadică în primul rând, în timp ce acești anticorpi la bărbat generează boala Addison.

Anticorpii circulanți au fost găsiți și la femeile cu funcție gonadică (și corticosuprarenală) normală. Cu toate acestea, prezența de anticorpi are o puternică valoare predictivă în apariția disfuncțiilor clinice ale gonadelor respective.

Patologia poliendocrină

Poliendocrinopatia este manifestată prin alterarea multor glande endocrine (ex., sindromul Schmidt cu insuficiența suprarenalelor, hipotiroza, diabetul zaharat, gastrita seropozitivă). Autoanticorpii sunt direcționați la Ag organo-specifici ale acestora. Este posibil ca Ac să fie induși de virionii care dispun de Ag comuni și tropism față de epiteliul glandelor. Se mai înregistrează sindromul APECID – endocrinopatia poliglandulară autoimună cu candidoză și displazie ectodermală (insuficiența suprarenalelor, hipoparatiroidism, tiroidită, atrofia gonadelor, gastrita atrofică). Acestea pot fi însoțite de candidoza mucocutanată, hepatită, kerato-conjunctivite etc. Modificările imune, de regulă, sunt manifestate printr-o imunodeficiență celulară, sensibilizarea la Ag candidiei, minorizarea LT CD3⁺ și CD4⁺, apariția autoanticorpilor anti-decarboxilaza acidului glutamic, citocromului P450, tirozin-hidroxilaze, enzimelor cortexului suprarenalelor etc.

Principiile de corecție imună în imunopatologia endocrină

Direcția principală în terapia patologiei este inhibarea procesului inflamator. Participarea în acest proces a diferitor mecanisme are loc chiar și când corticosteroizii sunt de eficacitate minoră.

Au fost aprobate remediile imunodepresante ciclosporina A și FK-506 în stadiile precoce ale procesului. Combinarea lor cu corticosteroizii este indicată în formele cele mai autoagresive ale patologiei. Indicația principală pentru terapia imunodepresivă este procesul rapid progresiv, nivelul major de autoanticorpi și sensibilizarea limfocitelor T pe fundalul relativ normal al componentelor sangvine și statusului imun.

Utilizarea imunomodulatoarelor (cu efect stimulator) este indicată în maladiile însoțite de inhibiția sistemului imun, în special în complicațiile inflamatoare purulente ale diabetului zaharat, tiroidita Hashimoto și în alte maladii.

În funcție de modificările statusului imun, pot fi administrate remedii stimulative ale limfocitelor T (tactivin, timalin), celulelor B (mielopide), fagocitozei (licopid) și stimulante ale mai multor verigi ale sistemului imun (diuțifon, ronleukină, polioxidoniu etc.) care reduc autoalergia.

Plasmafereza permite eliminarea temporară a anticorpilor și complexelor imune circulante. A fost demonstrat că, peste 7-12 zile, nivelul acestora atinge valorile inițiale sau chiar le depășește. În prezența nivelurilor înalte de autoanticorpi și în sensibilizarea LT, concomitent, se utilizează imunodepresante și corticosteroizi.

În insuficiența organelor endocrine, metoda terapeutică de bază este inocularea substituentă a hormonilor. Direcția de perspectivă în terapia acestor maladii include remedii imunoreglatoare specifice: citokine, epitopii Ag, peptidele HLA, Ac monoclonali cu specificitate la anumite molecule.

Capitolul 16. HIPERSENSIBILITATEA IMUNOLOGICĂ, MECANISME DE DEZVOLTARE, DIAGNOSTICUL ȘI TERAPIA SPECIFICĂ

Răspunsul imun al organismului la diverși antigeni poate devia de la limitele normale cu dezvoltarea reacțiilor mai intensive sau mai slabe decât în mod obișnuit. Reacțiile imune violente, cunoscute sub termenul generic de alergii, definesc o „hipersensibilitate” la antigenii străini de organism. Spre deosebire de răspunsul imun normal, hipersensibilitatea se instalează după contacte repetate cu antigenul (alergenul) și are un caracter individual. Mecanismele care stau la baza reacțiilor de hipersensibilitate nu diferă fundamental de cele care definesc răspunsul imun normal; deosebirile constau doar în intensitatea manifestării și tipul de celule care este responsabil de declanșarea lor. Principiul declanșării acestora este similar reacțiilor Ag-Ac normale, deosebindu-se doar clasa de Ig implicată (IgE, IgG).

Există mai multe clasificări ale reacțiilor de hipersensibilitate având la bază diverse criterii: natura efectorului (*reacții mediate de anticorpi sau de celule*), timpul de declanșare a lor după contactul cu Ag (*de tip imediat sau de tip întârziat*) etc. Cea mai acceptată clasificare a hipersensibilității a fost elaborată de P.G.H.Gell și R.R.A.Coombs în baza mecanismelor de declanșare și a vitezei de manifestare a reacțiilor:

1. Hipersensibilitatea de tip I, anafilactică sau reagică.
2. Hipersensibilitatea de tip II, citotoxic-citolitică, mediată prin Ac.
3. Hipersensibilitatea de tip III mediată de complexe imune.
4. Hipersensibilitatea de tip IV sau de „tip întârziat”.

Primele 3 tipuri sunt mediate de Ac, iar ultimul – de limfocitele T, la care pot contribui și macrofagele.

Hipersensibilitatea imediată de tip I, anafilactică este realizată de anticorpii clasei IgE (reagine), caracteristica ei majoră fiind apariția rapidă a leziunilor (minute) după expunerea la alergen, ca urmare a legării încrucișate a IgE pe membrana mastocitelor și bazofilelor. La un nou stimul cu același Ag, acesta se va fixa la situsul combinativ al moleculelor IgE, atașate prin fragmentul Fc la receptorii pentru Fcε de pe celulele mediatore, fixare ce declanșează un influx de Ca²⁺, activarea fosfolipazei A₂ (PLA₂), degranularea, rezultată din fuzionarea granulelor mastocitelor cu membrana plasmocitară și eliberarea de amine vasoactive, spasmogene, care vor induce manifestările clinice (urticarie, astm bronsic, polinoze, șoc anafilactic etc.). De fapt, eliberarea aminelor vasoactive din mastocite (bazofile) poate fi declanșată în orice situație care realizează legarea încrucișată a receptorilor Fcε de pe celule și care induc atât degranularea, cât și activarea PLA₂, care, la rândul ei, va activa metabolismul acidului arahidonic. Schematic, dezvoltarea reacției alergice de tip imediat (anafilactică) este prezentat în fig.16.1

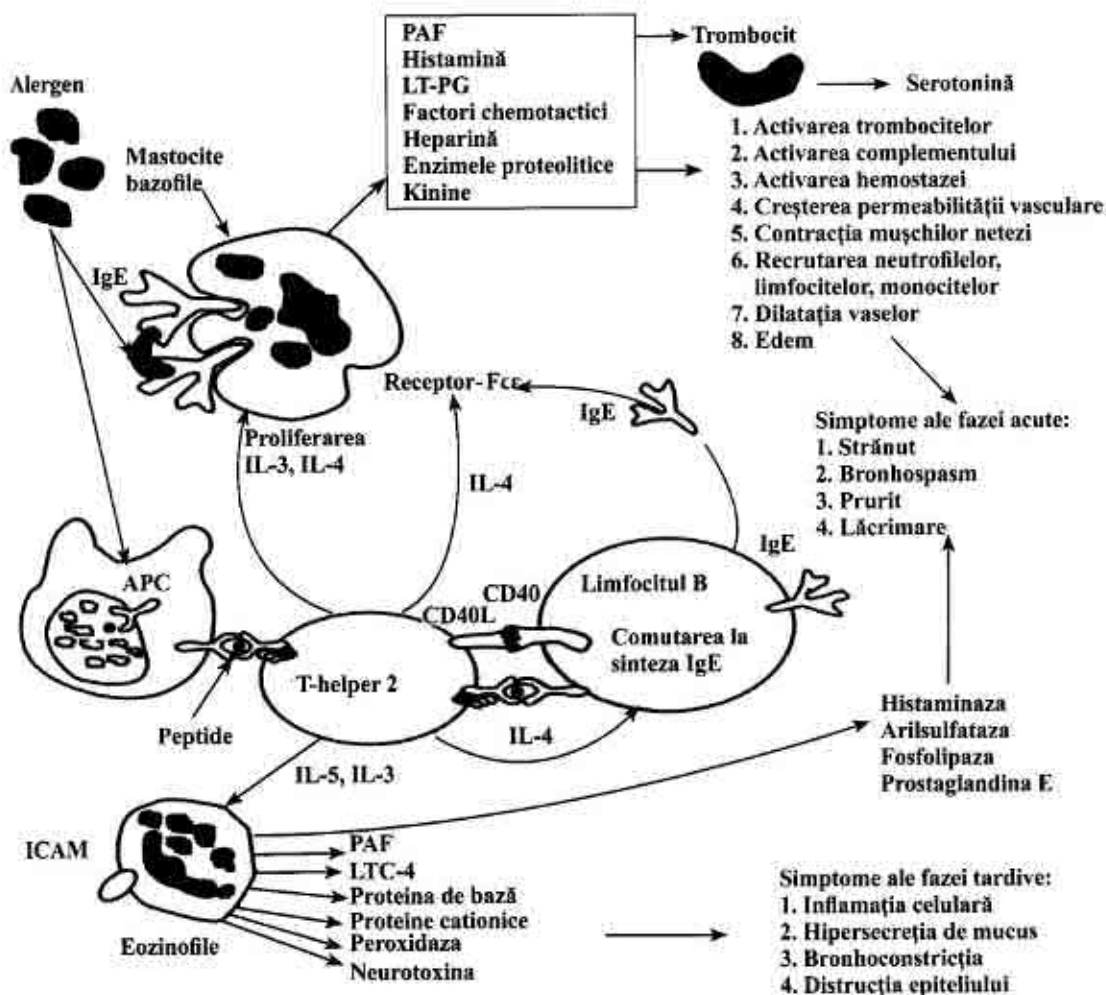


Figura 16.1. Modul de instalare a reacțiilor alergice de tip I imediat

Procesarea alergenului la pătrunderea primară în organism de către APC (macrofage, celulele dendritice, limfocitele B) rezultă cu formarea peptidelor care sunt încorporate în moleculele HLA, ulterior transportate pe suprafața celulelor APC și prezentate pentru recunoașterea limfocitelor T-helper. Peptidele alergice sunt recunoscute de T-helperii de tip 2 (Th2), care se activează și produc IL-3, IL-4, IL-5 etc. Limfocitele B influențate de IL-4 cu condiția prezenței stimulului costimulator (contactul dintre CD40L și CD40) se transformă în celulă plasmatică, care secretă prioritar IgE. Sub influența IL-4, IL-3 se intensifică proliferarea mastocitelor și bazofilelor cu majorarea cantitativă a receptorilor pentru fragmentul Fc al IgE. Crește cantitatea IgE alergen-specifice și fixarea lor pe bazofilele și mastocite. Eozinofilele influențate de IL-5, IL-3 migrează intensiv,

produc substanțe biologice active. Pe suprafața eozinofilelor apar un număr major de molecule de adeziune (ICAM) cu cantonarea lor la epitelii.

Eliberarea mediatorilor la degranulare conduce la activarea trombocitelor cu eliberarea serotoninei, activarea complementului și apariția anafilatoxinelor C3a și C5a, eliberarea de histamină cu creșterea permeabilității vasculare, intensificarea contracției mușchilor netezi indusă de leucotriene și prostaglandine (PGF-2 α). Aceste fenomene asigură manifestările clinice ale fazei acute a reacțiilor alergice (strănut, bronhospasm, prurit, lăcrimare etc.).

Mediatorii eliberați în reacția alergică de tip I sunt divizați în preformați, adică deja prezenți în granulele mastocitelor (histamină, triptază, chimază, heparină etc.), și mediatori apăruți *de novo*, în urma scindării acidului arahidonic de către fosfolipaza A₂ (prostaglandine și leucotriene). Eozinofilele elimină proteine cationice, peroxidază, neurotoxină, proteina de bază a eozinofilelor, factorul de activare a trombocitelor, leucotriene etc., care induc dezvoltarea simptomelor fazei tardive a inflamației celulare, distrucția epitelului, hipersecreția de mucus, bronhoconstricția. Concomitent, ele produc un șir de substanțe care inhibă reacția alergică, minorizează consecințele alterante: histaminaza (distrugă histamina), arilsulfataza (inactivează leucotrienele), fosfolipaza D (neutralizează factorul de activare a trombocitelor), iar PGE2 diminuează eliberarea histaminei. Gradul de manifestare clinică depinde de coraportul acestor mecanisme.

După localizarea lor, reacțiile anafilactice sunt de două tipuri: *locale*, situație în care reacția antigen-anticorp este limitată la nivelul pielii (urticaria, eczemele), bronhiilor (astmul, spasmul bronșic), și *sistemice*, când interesează toate funcțiile organismului (șocul anafilactic).

Acest tip de hipersensibilitate de tip reagenic are un rol important și în protecția organismului față de unele infecții parazitare, blocând penetrarea sau existența paraziților la nivelul mucoasei intestinale. Moleculele de IgE cu funcție de Ac față de unii determinanți antigenici parazitari se fixează prin fragmentul lor Fc la receptorii Fc ϵ de pe mastocite, bazofile etc. La un nou contact cu parazitul vor stimula eliberarea de mediatori, care vor atrage granulocitele neutrofile, eozinofile etc., ce vor interveni în apărarea locală și vor acționa asupra vaselor și mușchilor netezi. Constricția acestora, vasodilatația și umectarea excesivă a mucoaselor prin stimularea secreției de mucus accelerează eliminarea parazitului.

Hipersensibilitatea de tip II, mediată prin anticorpi (citotoxic-citolitică) este datorată legării Ac de clasa IgM sau IgG (cu excepția IgG4) la unii Ag exprimați pe suprafața celulelor propriului organism cu distrugerea acestora și generarea leziunilor. Ea poate fi realizată prin 3 mecanisme diferite: prin activarea sistemului C, prin opsonizare și prin citotoxicitate mediată celular anticorp-dependentă (ADCC). Anticorpii care s-au fixat specific pe suprafața celulei acti-

vează complementul cu formarea complexului de atac $C5b,6,7,8,9$, care va perfora membrana plasmatică, provocând citoliza. Complexele imune vor activa și favoriza funcția fagocitară a macrofagelor și granulocitelor, atât prin anticorpi, cât și prin atașarea componentelor complementului ($C3b$ și $C3d$) la membrană, care vor fi recunoscute de către receptorii pentru Fc sau pentru complement de pe membrana celulelor fagocitare.

De asemenea, diverse componente ale C acționează chemotactic asupra granulocitelor sau macrofagelor, atrăgându-le la locul inflamației, activându-le aderența, eliberarea radicalilor de oxigen etc., fenomene care amplifică procesele lezionale.

A treia posibilitate de lezare a celulelor este activarea funcțiilor citotoxice ale efectoarelor ADCC, care prin receptorul pentru Fc se atașează la fragmentul Fc al moleculelor de Ac fixate pe celula-țintă. Atașarea declanșează eliberarea de către celule-efectoare a semnalelor citolitice care vor ucide ținta. Celulele efectoare ale citotoxicității mediate celular anticorp-dependentă au o capacitate diferită de liză a celulelor-țintă, condiționată, în special, de proveniența acestora.

Dintre reacțiile de hipersensibilitate de tip II mai importante sunt hemoliza posttransfuzională, reacțiile alergice la medicamente, anemia hemolitică autoimună, trombocitopeniile, sterilitatea prin Ac anti-spermali și maladia hemolitică a nou-născutului, provocată de către incompatibilitatea după factorul Rh. În cazul hemolizei posttransfuzionale, subiecții care primesc hematii străine au Ac naturali față de acestea, care, fixându-se pe ele, vor provoca liza dependentă de C. Specifică omului este incompatibilitatea Rh responsabilă de maladia hemolitică a nou-născutului. În cazul incompatibilității dintre mamă și făt după factorul Rhesus, la prima graviditate după naștere în serul ei vor apărea Ac anti-D, care pot provoca hemoliza și grave tulburări următorului produs de concepție D⁺. În asemenea situație se administrează profilactic Ac anti-D care vor liza celulele D⁺, evitând astfel sensibilizarea mamei.

Anemia hemolitică autoimună este generată de apariția unor autoanticorpi anti-hematiile proprii („aglutinine calde și aglutinine reci”), care se fixează pe eritrocitele din circulația periferică lizându-le la temperatura respectivă.

Tot acestui tip de hipersensibilitate îi aparține și sindromul Goodpasture, a cărui caracteristică majoră este disfuncția respiratorie și cea urinară consecutiv lezării membranei bazale a pulmonului și rinichiului de către autoanticorpii care recunosc unii Ag exprimați pe suprafața celulelor acestor organe.

Hipersensibilitatea de tip III mediată de complexe imune. Antigenii solubili ajunși în circulație formează cu Ac complexe imune care sunt eliminate prin fagocitoză sau prin filtrare la nivelul rinichilor. În unele cazuri însă, complexe se fixează pe diverse țesuturi și la nivelul endoteliilor vaselor sangvine, ce conduce la activarea trombocitelor și bazofilelor cu eliminarea aminelor vasoactive. Acestea vor provoca

creșterea permeabilității vasculare și intensificarea depunerii în continuare a complexelor. Concomitent sunt activate componentele C și sinteza factorilor chemotactici pentru PMN, care vor agrava leziunile instalate. Leziunile devin evidente clinic în decurs de 3-6 ore de la contactul cu Ag, de unde și denumirea de „intermediară”, care se dă acestui tip de hipersensibilitate, dat fiind că durata de timp necesară exprimării clinice a fenomenului este intermediară hipersensibilităților de tip imediat și întârziat. Acest tip de hipersensibilitate este rezultatul unor infecții persistente sau al inhalării masive a unor alergeni care provoacă aglomerarea locală de Ac. Această înaltă încărcare cu Ag este asociată cu un răspuns inefficient în Ac. Imunoglobulinele de clasa M și IgG participante în această reacție sunt circulante, precipită Ag și declanșează procese de coagulare, de extravazare leucocitară și apariția edemelor. Eliminarea lor din circulație este condiționată de dimensiunile lor, de valențele Ag, de clasa și afinitatea Ac, care intră în componența complexelor, precum și de cantitatea complexelor aflate în circulație. Raportul dintre Ag circulant și cel de Ac determină fie circulația complexelor, fie reținerea lor la nivelul țesuturilor sau organelor. În exces de Ag, complexe sunt solubile și circulante. Inițial, ele sunt în număr mic, nu se fixează, nu sunt fagocitate, fiind eliminate prin glomerulul renal. Pe măsură ce titrul Ac crește, complexe devin tot mai numeroase. În momentul în care se ajunge la un echilibru relativ între Ac și Ag cu menținerea unui exces moderat de Ag, complexe încep să se depună pe pereții vaselor sangvine. Ele activează eliberarea de histamină din mastocite și bazofile, iar acțiunea chemotactică a C3a și C5a atrage neutrofilele care vor elimina enzimele lizozomale. Acestea, asociate aminelor vasoactive, eliberate de bazofile și mastocite, vor amplifica leziunea locală și vor mări permeabilitatea vaselor. Încep să fie antrenate și trombocitele care aglutinează, formând trombusuri, ce vor ocluziona capilarele, le vor mări permeabilitatea și vor contribui la agravarea necrozei tisulare.

Locurile de elecție pentru depozitarea complexelor sunt rinichii, articulațiile și joncțiunea dintre dermă și epidermă de la nivelul pielii. În situația în care Ac precipitanți sunt în exces, complexe se formează rapid, pe parcursul a 3-6 ore se dezvoltă o reacție inflamatoare intensă locală, cu infiltrare celulară și activare a componentelor complementului. Ca exemplu tipic al acestei hipersensibilități este boala serului, care apare ca o complicație a seroterapiei. Inocularea unor doze mari de ser imun favorizează formarea de complexe imune consecutiv legării Ag liber și depunerea lor la nivelul membranei bazale a glomerulului renal și pe pereții vaselor, creșterea permeabilității vasculare și, în final, activarea proceselor inflamatoare, care clinic se manifestă ca nefrite sau artrite. Fenomenul Arthus este o reacție de hipersensibilitate locală, care se dezvoltă în exces de Ac, din care cauză procesul reacțional este situat la locul de pătrundere a Ag. Indivizii hiperimunizați, deci cu exces de IgG, dezvoltă,

atunci când sunt inoculați s.c. sau i.d. cu același Ag, o reacție locală caracterizată prin edeme și leziuni hemoragice. Acestea sunt consecința formării rapide de complexe Ag-Ac, a depunerii lor pe pereții vaselor și a declanșării infiltrațiilor cu neutrofile, bazofile, agregării trombocitelor, activării sistemului complement etc. În generarea acestor reacții are importanță clasa Ac, mărirea complexelor. Astfel, complexe mici sunt eliminate la nivelul rinichilor, cele formate de IgG sunt mai persistente, comparativ cu cele formate cu IgM. Clinic se manifestă prin artrite reumatoide, poliartrite, polimiozite, vasculite cutanate, observabile frecvent în LES etc.

Hipersensibilitatea de tip întârziat sau de tip IV se caracterizează prin apariția fenomenelor reacționale clinice tardiv (după 24-48 de ore de la contactul cu Ag), iar leziunile sunt situate local (în locul inoculării Ag), fiind rezultatul acțiunii limfocitelor T. Aceste limfocite la un nou contact cu același Ag eliberează citokine care vor recruta la locul de reacție alte tipuri de celule, în special, macrofage. Modificările locale constau din alterarea inițială a permeabilității vasculare, dilatarea vaselor, urmate de infiltrarea zonei respective cu celule mononucleare.

Există mai multe tipuri de hipersensibilitate de tip întârziat (tab. 16.1) cu diferențe mai mult sau mai puțin semnificative între ele.

Tabelul 16.1

Tipurile de hipersensibilitate întârziată și caracteristicile lor principale

Tipul reacției	Jones-Mote	Contact	Tuberculinic	Granulomatos
Timpul de apariție	24 de ore	24-48 de ore	24-48 de ore	4 săptămâni
Aspectul clinic	Tumefacția pielii	Eczemă	Indurația locală, febră	Indurația pielii
Aspectul histologic	Infiltrații cu bazofile, limfocite, mononucleare	Edem, epidermite, infiltrații cu mononucleare	Infiltrații cu limfocite și mononucleare	Granuloame cu celule epitelioide, celule gigante, macrofage, Fibroză, necroză
Antigenul și calea de administrare a lui	Intradermică	Epidermică	PPD etc. Dermică	Persistența antigenului sau a complexelor Ag-Ac în macrofage

Reacțiile Jones-Mote sau hipersensibilitatea cutanată „bazofilică” apare la 24 de ore după contactul cu alergenul, locul fiind infiltrat, în special cu bazofile, care sunt reglate de către limfocitele T supresoare.

Hipersensibilitatea de contact este o reacție a epidermei, caracterizată prin eczeme locale determinate de prezența Ag, care dispar la eliminarea acestuia. În acest tip, Ag pot fi molecule mari sau haptene cu greutatea moleculară mică, care se cuplează cu proteinele organismului, modificându-le astfel, încât sunt recunoscute ca străine. Este cazul dinitroclorbenzenului sau dinitrofluorbenzenului (DNCB, DNFB), al ionilor de nichel, recunoscuți atunci când sunt cuplați cu proteinele, de către celulele Langerhans, care le captează și le prezintă limfocitelor T.

Hipersensibilitatea de „tip tuberculinic” se instalează după inocularea intradermică la persoanele bolnave de tuberculoză a proteinelor derivate din micobacterii. De asemenea, este întâlnită în infecțiile cu *Maleomyces malei* (morva) și cu *Schistosoma mansoni*. După 24-48 de ore în locul de inoculare a tuberculinei, PPD, maleinei etc. apare o tumefacție dură și microvezicule în epidermă, provocate de infiltrațiile cu limfocite, monocite și granulocite PMN. De regulă, reacția dispare după 72 de ore, dar uneori persistă timp îndelungat ca hipersensibilitate de „tip granulomatos” realizată la nivel subcutan. Testul se utilizează în screening-ul populației pentru depistarea persoanelor bolnave de tuberculoză (prin testul de „intradermoreacție” sau testul Mantoux).

Hipersensibilitatea granulomatoasă este consecința persistenței agentului patogen în macrofage, ca urmare a imposibilității acestor celule de a-l distruge. Ca rezultat se formează granuloame cu celule epitelioide. Agenții cauzali sunt substanțe imunogene de origine bacteriană sau de alte proveniențe. În granulom macrofagele fagocitează sau înconjoară agentul inductor, la rândul lor fiind înconjurate de limfocite. Din fuzionarea macrofagelor cu fibroblaștii amplasați periferic rezultă celule gigante, mari, cu mai multe nuclee, cu vezicule citoplasmice, cu reticul endoplasmatic sărac, cu mitocondrii și lizozomi degenerați.

Unii autori consideră că există și *tipul V de hipersensibilitate*, denumit și „tipul stimulator”, în care intervin autoanticorpi care stimulează funcțional unele țesuturi proprii ca, de exemplu, stimularea tiroidei de către autoanticorpi care mimează hormonii tiroidieni, legându-se la receptorii pentru aceștia.

Este important că în mecanismele de dezvoltare a formelor nosologice ale acestei patologii participă, de regulă, câteva tipuri de reacții de hipersensibilitate.

Alergenii care induc dezvoltarea reacțiilor de hipersensibilitate se divizează în 2 grupe mari: endoalergeni (celule alterate de agenții infecțioși, factorii fizici, chimici etc.) și exoalergeni (de origine infecțioasă și non-infecțioasă). Alergenii neinfecțioși includ alergenii alimentari, polenici, menajeri, epidermali, insectelor, medicamentoși, industriali. Alergenii infecțioși pot avea origine bacteriană, virală, fungică și parazitară.

Alergenii alimentari sunt cei mai numeroși, dar activitate alergenică evidentă posedă produsele de origine animalieră sau fitogenă. Lipidele, glucidele, micro-

elementele mai frecvent induc reacții alergice fals-pozitive. Mai frecvent sunt înregistrate ca alergeni alimentari ouăle, carnea animalelor și păsărilor, peștele, icrele, crabii, laptele, telemeaua, morcovul, sfecla, tomatele, citricele, căpșuna, zmeura, cacao, cafeaua, ciocolata, hrișca, porumbul, nucile grecești, merele etc. Laptele de vacă posedă proprietăți alergice pronunțate. Alergia poate apărea și de la produsele alimentare care conțin lapte (produsele de cofetărie, pastele etc.). Monoalergia la lapte se observă rar. Datele despre reacțiile alergice încrucișate la laptele de vacă și capră sunt contradictorii.

Ouăle frecvent sunt înregistrate drept cauză a alergiei și induc, de regulă, manifestări clinice severe. Alergenitatea acestora, prioritar a celor de găină, este determinată de ovalbumină, ovomucoidă, conalbumină. Reacțiile alergice pot apărea și la produsele care conțin ouă (sosurile, produsele de cofetărie etc.), de asemenea, la vaccinarea cu vaccinul anti-febra galbenă, anti-encefalita acariană etc. care conțin resturi de țesut al embrionului de găină.

Peștele și produsele din el induc reacții alergice frecvent, atât locale, cât și sistemice. El conține mulți Ag cu alergenitate evidentă, termostabili ce conduc la apariția alergiei și la peștele fiert sau prăjit. Frecvent reacția la pește se combină cu sensibilitatea majoră la raci, crabi, creveți etc. Mai frecvent se înregistrează alergia la batog, care conține Ag termostabili și rezistenți la enzime. A fost identificat antigenul M în distilatul de aburi la prelucrarea termică a peștelui, iar reacția alergică apare și la inhalarea aburilor la prepararea peștelui.

Carnea de porc, vită, pasăre este înregistrată mai rar ca o cauză a alergiei, comparativ cu peștele. Sunt posibile reacții încrucișate la carnea de diversă origine cu preparatele serice obținute de la aceste animale și utilizate în terapie și diagnostic (serul bovin, de cal etc.).

Produsele graminee sunt alergeni alimentari fitogeni, alergenitatea cărora este datorată glutenului, prolaminei etc. Din făină de grâu au fost testați circa 40 de alergeni capabili să inducă alergia (albumina, globulina, gliadina etc.).

Legumele și fructele pot induce reacții alergice încrucișate. Așa, la pacienții cu polinoză (alergia la polenul plantelor) este posibilă apariția reacției alergice la fructele care posedă structuri alergice comune cu acestea. Alergia la fructe poate fi monovalentă și polivalentă. Alergia la legume poate fi manifestată de sine stătător sau poate fi asociată cu alte maladii alergice. La pacienții cu polinoză frecvent se înregistrează hipersensibilitatea la morcov. Este posibilă și alergia la câteva tipuri de legume. Majoritatea alergenilor care sunt componente ale legumelor și fructelor sunt termolabili și își pierd activitatea alergică la fierbere.

Nucile și păstăioasele (mazărea, fasolca, soia etc.) pot fi alergene. Utilizarea lor crescândă a favorizat frecvența acestora ca factor cauzal al alergiei. Proprietăți

alergenice evidente posedă ciupercile, nucile. Reacții alergice severe pot apărea și în cazul când nucile sunt în cantități minore (uleiul de nuci, remediile cosmetice care conțin derivați ai nucilor). De menționat că în cazul alergiei imune la cafea și cacao sunt posibile reacții încrucișate cu alte păstăioase (fasole, mazăre etc.).

Alergenii menajeri sunt praful de casă, penele pernelor, praful de bibliotecă, Dafnia. Alergenii prafului de casă sunt heterogeni după componența lor, includ substanțe de genă animalieră, fitogenă, fungică, de insecte, bacterii. Componentul principal al prafului de casă sunt acarina *Dermatophagoides pteronyssinus* și *Dermatophagoides farinae*, care posedă o activitate activă în înmulțire, în special, în martie-aprilie și octombrie. Pătrund în organism pe cale inhalatorie.

În ultimii ani a fost dovedit și rolul gândacilor în dezvoltarea reacțiilor alergice, fragmentele corpului lor, ouăle și produsele lor sunt componente ale prafului de casă și posedă activitate sensibilizantă.

Alergenii epidermali sunt componente ale prafului și au importanță de sine stătătoare în dezvoltarea tabloului clinic al maladiilor alergice. La ele se referă mătreața umană, de cal, porc, blana câinelui, pisicii, iepurelui, cobailor, oilor, caprei etc. Este importantă alergia la alergenii epidermali, în special, pentru indivizii care contactează în permanență cu animalele și păsările (veterinarii, laboranții, cercetătorii științifici, lucrătorii vivariilor etc.). Mai frecvent se înregistrează hipersensibilitatea la blana câinilor și pisicilor, concomitent menționăm activitatea alergizantă majoră și a salivei acestora.

Alergenii epidermali nimeresc în organism prin contact (la mângâieri), inhalator etc. Dezvoltarea reacțiilor alergice la alergenii epidermali apare și la contactul cu diverse articole confecționate din blana animalelor și păsărilor (plapume din puf și pene, haine din blană etc.).

Alergenii de insecte se găsesc în saliva, veninul și corpul diferitor insecte. Reacțiile alergice apar la înțepătura himenopterelor, dipterelor, ploșnițelor și la contactul cu excrementele și fragmentele corpului insectelor sau la inhalarea acestor corpuscule. Cele mai severe forme apar la înțepătura himenopterelor, care conțin în veninul lor melitină, fosfolipaza A, hialuronidază, fosfatază acidă, apamină. Veninul furnicilor roșcate, de asemenea, conține fosfolipaza A, hialuronidază care posedă activitate alergizantă. Reacțiile toxice apar la înțepăturile multiple, în special, a feței și gâtului. Înțepăturile țânțarilor evoluează sever, fiind manifeste prin urticarie, edem Quinke, spasm al bronhiilor, rinită și conjunctivităergică.

Alergenii medicamentoși sunt prezența de remediile chimice, enzimele și produsele sintezei fungilor și devin alergeni la conjugarea cu proteinele umane.

Alergenii industriali sunt metalele și sărurile lor, pesticidele, polimerii sintetici. Ei induc maladiile alergice profesionale.

Alergenii infecțioși sunt produse ale bacteriilor, virionilor, fungilor, protozoarelor și helminților. Mai frecvent apar reacțiile alergice la contactul cu agenți convențional-patogeni. Testarea sensibilității la acest tip de alergie se efectuează prin teste *in vivo* și *in vitro*.

Factorii favorizanți ai dezvoltării alergiei

Printre aceștia rolul prioritar revine *predispoziției ereditare*, fapt argumentat prin frecvența majoră de înregistrare a MA printre descendenții părinților cu atopie. Predispoziția familială are caracter poligenic. Genele responsabile de alergie sunt localizate în cromozomii 5 și 11. Ele controlează sinteza Il-4 și a altor citokine participante în reacțiile alergice. La bolnavii cu MA activitatea genelor „proalergice” este sporită, conducând la producția excesivă de citokine inflamatoare. Expresia clinică a terenului atopic este însă mult influențată de expunerea la factorii de mediu.

Factorii mediului ambiant au un rol extrem de important în dezvoltarea alergiei (cantitatea și natura alergenilor, condițiile climato-geografice, situația ecologică etc.). Sursele bibliografice denotă că frecvența MA este dependentă de spectrul antigenic al alergenilor în diverse regiuni geografice, de cantitatea lor în atmosferă, de poluarea mediului ambiant (NO₂ și SO₂ etc.), de influența poluanților la sinteza și secreția citokinelor proinflamatoare, de alterarea epitelului etc.

În ultimii ani a fost demonstrată influența factorilor care contribuie la dezvoltarea predispoziției la alergie la gravide (tabagismul, utilizarea alcoolului, drogurilor, remediilor medicamentoase, infecțiilor, unor produse alimentare, stresul psiho-emoțional etc.) și aparența condițiilor care favorizează predispoziția copilului la alergie.

Particularitățile rației alimentare în perioada infantilă (alimentarea artificială sau mixtă), dereglarea regimului de alimentare la adulți, maladiile concomitente etc. sunt, de asemenea, factori care influențează dezvoltarea alergiei.

Diagnosticul maladiilor alergice poate fi divizat în 5 etape: interogatoriul anamnezei alergologice; efectuarea investigațiilor clinice de laborator; testarea cutanată cu utilizarea alergenilor; testele de provocare; controlul imunologic al pacientului.

Anamneza alergologică a pacientului în mare măsură contribuie la stabilirea diagnosticului și include următoarele sarcini: stabilirea genezei alergologice a maladii, formei nosologice și aprecierea prealabilă a factorului etiologic (alergenului cauzal).

O importanță majoră are aprecierea factorilor de risc care au favorizat dezvoltarea MA (predispoziția ereditară, factorii mediului ambiant, patologia asociată, prezența altor maladii alergice, influența factorilor menajeri, stabilirea dependenței acutizării de alte boli digestive, endocrine, a sistemului nervos central etc., influ-

ența factorilor profesionali nocivi, stabilirea dependenței maladiei de factorii alimentari, aprecierea efectului clinic la utilizarea remediilor antihistaminice și/sau eliminarea alergenului.

Cercetarea clinică și de laborator include controlul obiectiv al pacientului cu administrarea hemoleucogramei, urogramei, cercetarea secreției nazale, sputei, Rn-grafia toracelui, sinusurilor nazale, aprecierea prezenței și gradului de obstrucție a căilor respiratoare. La această etapă poate fi stabilită localizarea procesului (nas, ochi, piele, bronhii, tractul gastrointestinal), forma nosologică (polinoză, astmul bronșic, dermatită etc.) și faza maladiei (acută sau remisiune).

Testele cutanate alergice pot fi efectuate prin aplicare pe piele, scarificare, prick-test, intracutan. Selecția testului cutanat depinde de etiologia presupusă a maladiei, gradul de sensibilizare a pacientului. Testarea cutanată este contraindicată la prezența leziunilor pielii, în sarcină și la alimentarea naturală a copilului, primele 2-3 zile ale ciclului menstrual, copiilor cu vârsta până la 3 ani, faza acută a maladiei alergice și acutizarea bolilor cronice concomitente, stările decompensate în maladiile cardiace, hepatice, renale, bolile sistemice severe, în perioada de administrare a remediilor antihistaminice și membrano-stabilizante, a hormonilor, bronhospasmodicelor, prezența în anamneză a șocului anafilactic, sindromului Lyell și Stevens-Johnson. Substanțele utilizate pentru teste trebuie să fie standardizate. Testele cutanate prick se efectuează preferabil pe fața internă a antebrațului. Distanța dintre 2 teste trebuie să fie minimum 2 cm, iar citirea se va efectua la 20 min. și se va evalua atât eritemul, cât și papula.

Testele cutanate și de provocare vor fi efectuate doar de persoane instruite, care să aibă la îndemână trusa de urgență (seringi, garou, materiale de perfuzie, adrenalină, antihistaminice, corticoizi, β -mimetice, teofilină, tensiometru etc.).

Pacientul va fi supravegheat după terminarea testului pentru evidențierea reacțiilor anafilactice. În funcție de tipul hipersensibilității suspectate, se selectează teste *in vivo* sau *in vitro*:

- hipersensibilitatea de tip I – teste cutanate prick, dozaj IgE alergen-specific;
- hipersensibilitatea de tip II – test Coombs, agregarea leucocitară;
- hipersensibilitatea de tip III – dozaj Ig, complexe imune, imunohistologie;
- hipersensibilitate de tip IV – teste de transformare limfocitară, imunohistologie, intradermoreacție.

Rezultatele testelor pot fi influențate de: *medicamente* (antihistaminice, corticoizi, anumite psihotrope), iar intervalul după terapie fiind variabil în funcție de $T\frac{1}{2}$ al remediei, *modificarea organului-țintă* (răspunsul diminuat în caz de rinită atrofică, papule exagerate în caz de dermografism), diferiți cofactori (stres, efort fizic, boli infecțioase, radiațiile UV, statusul hormonal, mastocitoză, intervalul de la ultima reacție alergică, starea psihică).

Testele cutanate prick actualmente sunt cele mai utilizate în explorarea reacțiilor de tip imediat la alergenii polenici, trofalergei, latex etc. Înainte de efectuarea testelor, se vor căuta prin interogatoriu factorii ce pot modifica reactivitatea cutanată și se va dezinfecta și degresa pielea. Se aplică picături de extract alergenice la suprafața pielii, la distanța de 2 cm dintre ele, iar apoi se înțeapă pielea perpendicular prin aceste picături cu acul unui dispozitiv special la o adâncime de cca 1 mm. Trebuie de avut grijă să nu inducem sângerare. Se vor utiliza în mod obligatoriu controlul pozitiv (histamina) și controlul negativ (sol. 0,9% NaCl). Reacțiile vor fi citite la cca 20 min. și vor evolua prin papulă și eritem. Pentru măsurare se vor utiliza diametrul cel mai mare și cel perpendicular pe acesta, iar media aritmetică a acestora va fi considerată ca diametru al reacției cutanate.

Evaluarea testelor cutanate prick: 0 (fără papulă, eritem < 3 mm); + (papulă 3 mm, eritem 3-5 mm); ++ (papulă 4-5 mm, eritem 6-10 mm); +++ (papulă 6-7 mm, eritem 11-20 mm); ++++ (papulă > 7 mm cu pseudopode, eritem > 20 mm). Ca rezultat pozitiv va fi considerată apariția unei papule cu cel puțin 5 mm și mai mare decât papula martorului negativ și cel puțin jumătate din papula martorului pozitiv.

Reacția imediată este cunoscută sub numele de triada Lewis și cuprinde edemul sub formă de papulă, eritemul care va depăși în diametru papula și pruritul asociat celor două.

Reacțiile fals-negative pot apărea în caz de anergie cutanată, tehnică necorespunzătoare, extracte alergene inadecvate, iar reacțiile fals-pozitive pot apărea în caz de dermografism sau de inducere a sângerării în timpul testării cutanate.

Actualmente există extracte alergene standardizate pentru alergeni inhalatori implicați în rinite, conjunctivite, astm. Se utilizează o serie de pneumoalergeni care conțin acarieni, păr de animale, mușegaiuri și polen de arbori, graminee, ierburi.

Extractele alergene alimentare standardizate sunt pe larg utilizate în diagnosticul alergiei alimentare.

Testele cutanate intradermice mai frecvent sunt utilizate pentru testările cu alergeni de origine infecțioasă (bacterii, funghi etc.). Ele vor fi utilizate și cu alergenii neinfecțioși atunci când testele prin aplicare sau scarificare sunt negative sau dubioase, iar anamneza este una pozitivă. Se vor injecta 0,02 ml de alergen copiilor și 0,1 ml adulților în pielea antebrațului prelucrată în prealabil cu etanol (70°), la care se va produce o papulă de cca 3 mm. Reacțiile se vor citi la 20 min. pentru reacțiile imediate și la 24-48 de ore pentru reacțiile tardive. Evaluarea probelor intradermice este elucidată în tab. 16.2.

Aprecierea rezultatelor testelor intradermice

Rezultatul reacției	Reacția locală a pielii la 20 min.	Reacția de tip întârziat la 24-48 ore
Negativ	Corespunde controlului negativ	Corespunde controlului negativ
Dubios	Reținerea resorbției papulei	Eritem slab pronunțat fără infiltrare
Slab pozitiv	Papulă 4-8 mm înconjurată de hiperemie	Hiperemie, infiltrat 5-10 mm
Pozitiv moderat	Papulă 9-15 mm înconjurată de hiperemie	Hiperemie, infiltrat 11-15 mm
Pozitiv intensiv	Papulă 16-20 mm cu pseudo-podii înconjurată de hiperemie	Hiperemie, infiltrat 16-20 mm
Pozitiv foarte intensiv	Papulă mai mare de 20 mm cu pseudopode, limfadenită și vezicule	Hiperemie, infiltrat mai mare de 20 mm; posibil vezicule

Și în cazul dat este necesar de a ține cont de factorii care influențează reactivitatea cutanată, precum și de reacțiile fals-pozitive (injectarea unei cantități prea mare de lichid, injectarea intravasculară, dermatografism) sau fals-negative (anergie cutanată, injectare subcutanată etc.). Riscul de apariție a reacțiilor anafilactice este mai important în cazul efectuării testelor intradermice, comparativ cu testul prick, iar numărul alergenilor pentru testare nu va depăși 4-5 reagenți. Testele epicutanate (patch) sunt standardizate, indicate în evaluarea reacțiilor tardive de tip dermatitic, eczematiform. Se vor aplica inițial substanțe de testat în camere prevăzute cu un pansament special (camera Finn), care vor fi aplicate apoi pe spatelul pacientului timp de 48 de ore. Citirea rezultatelor se va face după înlăturarea testelor și uneori la a 3-a, a 4-a, a 7-a zi de la aplicarea testelor. Evaluarea rezultatelor epicutanate: iritație – eritem bine delimitat, descrescător; + eritem și infiltrat; ++ eritem și papule; +++ eritem, papule, vezicule; ++++ eritem, vezicule, eroziuni.

Substanțele utilizate pentru testare în acest caz pot fi în soluții apoase sau în vaselină. Seria europeană standard conține metale (nichel, cobalt, crom), parfumuri și arome, vopsele cosmetice etc. Selecția substanțelor care vor fi testate depinde de tabloul clinic al dermatitei: periorbital (compuși ai cosmeticelor, remedii oculare), dermatita mâinilor (substanțe de îngrijire a pielii, substanțe conținute în mănuși, substanțe profesionale, bijuterii etc.). Pot fi reacții fals-negative în cazul utilizării unor concentrații prea reduse, citirea precoce a rezultatelor, erori de tehnică etc.

Dermografismul poate fi declanșat pe partea superioară a spatelui prin frecare sau scriere cu un obiect bont. Reacția normală constă în apariția unui eritem în câteva minute – *dermografism roșu*. *Dermografismul urticarian* constă în apariția

unui eritem infiltrat care poate fi sau nu pruriginos. Acesta este constituțional sau poate fi asociat stresului sau secundar unor boli, în special infecțioase. *Dermografismul alb* este legat de o vasoconstrucție locală exagerată, fiind o reacție relativ specifică pentru pacienții atopici, în special pentru cei cu dermatită atopică.

Testul la presiune este utilizat pentru a stabili diagnosticul de urticarie la presiune. Se suspendă o centură de 10 cm lățime, cu 2 greutatea a câte 5 kg la nivelul umărului timp de 10-20 min. O altă metodă constă în aplicarea unui cilindru metalic de cca 5 cm diametru pe fața anterioară a coapsei timp de 10-20 min. Se va urmări apariția urticariei la 20 min. și la 2-4 ore de la debutul testului.

Testul la cald se realizează prin introducerea antebrațului în apă caldă de 38-42° C timp de 3-5 min., maxim 10 min. sau prin aplicarea unui cilindru metalic încălzit în apă la 38-42°C. Testul va fi considerat pozitiv dacă apar papule urticariene locale; se va interpreta testul și la 2 ore, în cazul unui istoric de reacții tardive.

Testul la rece se realizează prin introducerea antebrațului în apă rece de 15°C timp de 10 min. sau prin aplicarea unui cub de gheață pe pielea antebrațului. Testul este considerat pozitiv în caz de apariție a unei papule sau a unui angioedem în momentul reîncălzirii extremității.

Testul la transpirație este indicat în cazul unei suspiciuni de urticarie colinergică, ce se manifestă prin papule mici pruriginose apărute în caz de transpirație la efort, la temperaturi înalte sau la stres. Testul poate fi efectuat printr-o baie în apă caldă (40-41°C timp de 10 min.), prin urcarea scărilor sau muncă în haine calde.

Testele de provocare sunt utilizate pentru explorarea bolilor alergice produse de alimente, medicamente, pneumoalergeni în tentativa de a reproduce manifestări clinice, atunci când cercetarea alergologică inițială este negativă, pentru explorarea unei patologii profesionale etc. În funcție de tipul alergenului și procedeele de inoculare în organism, distingem testele de provocare: nazală, conjunctivală, sublinguală, orală, inhalator etc. Pentru a efectua testele de provocare este necesar consimțământul informat al pacientului și colaborarea acestuia, întreruperea tratamentului ce poate interfera cu rezultatele testelor (antihistaminice, corticosteroizi locali sau sistemici, bronhodilatatoare, remedii antileucotriene etc.). Este necesară prezența unui medic care poate trata șocul anafilactic.

Intervalul de întrerupere a tratamentului înainte de efectuarea testului variază în funcție de medicamentul utilizat.

Obiectivele testelor de provocare pot fi diagnostice, de confirmare a toleranței la un medicament, de înlocuire în cazul alergiilor medicamentoase sau de a determina exact doza ce declanșează simptomele, putând astfel adopta mai ușor regimul de restricție în cazul alergiilor alimentare.

Contraindicațiile testelor de provocare sunt: antecedente de reacții severe anafilactice cu manifestări respiratoare și/sau cardiovasculare; manifestări non-IgE

mediate severe pentru medicamente – boli buloase, manifestări sistemice; tratament cu β -blocante; astm instabil sau VEMS < 70 % din valoarea precisă; cardiopatie și/sau HTA severe sau necontrolate.

Testele de provocare orală pot fi efectuate în explorarea alergiilor alimentare sau a reacțiilor la medicamente. Indicațiile unui test de provocare orală la medicamente sunt încadrate în 4 grupuri: excluderea hipersensibilității în cazul unei anamneze non-sugestive și la pacienții cu simptome nespecifice; propunerea unei alternative terapeutice sigure în cazul unei hipersensibilități dovedite la un medicament; excluderea reacțiilor încrucișate la medicamentele înrudite, în cazul unei hipersensibilități dovedite; stabilirea unui diagnostic ferm în cazul unui istoric sugestiv pentru o hipersensibilitate la medicamente, dar cu teste alergologice negative, neconcludente sau nedisponibile.

Testele de provocare orală la medicamente se vor utiliza doar dacă medicamentul este indispensabil și/sau frecvent prescris ori dacă alternativele terapeutice sunt puțin numeroase.

Testul de provocare orală la alimente are mai multe indicații: la pacienții cu istoric de reacții de alimente; stabilirea sau excluderea diagnosticului de alergie sau intoleranță la alimente; determinarea pragului de sensibilizare; estimarea toleranței, în cazul în care se suspectează că alerggia a devenit asimptomatică în special la copii; la pacienții fără un istoric specific de reacții la alimente; dacă un simptom cronic este suspectat de pacient sau medic că ar fi datorat unui aliment; dacă pacientul urmează un regim de eliminare necorespunzător, fără istoric de reacții la alimente, iar alimentul trebuie reintrodus, dar sunt motive de a suspecta o posibilă reacție adversă; dacă este diagnosticată o sensibilizare la un aliment, dar nu se cunoaște toleranța clinică la acest aliment.

Testele vor fi placebo-controlate și preferabil dublu-orb sau cel puțin simplu-orb.

Alergenul se aplică pe mucoasa sublinguală (în cazul alergiei alimentare se utilizează produsele naturale în diluție 1:10, iar la cea medicamentoasă $\frac{1}{8}$ – $\frac{1}{4}$ din doza unitară utilizată a substanței dizolvate). Testul se consideră pozitiv la apariția în zona sublinguală a hiperemiei, edemului, pruritului, de asemenea, la accelerarea pulsului, apariția erupțiilor pe piele, strănut, tuse.

Testul nazal se efectuează cu alergeni menajeri, epidermali, polenici, bacterieni pentru diagnosticul rinosinuzitelor, traheitelor, bronșitelor alergice, astmului bronșic în stadiu de remisiune.

Testul inhalator se utilizează la pacienții cu astm bronșic pentru: depistarea alergenului cauzal; aprecierea eficacității terapiei medicamentoase; aprecierea factorilor nespecifici care induc bronhospasm; determinarea valabilității profesionale a pacientului (aprecierea bronhospasmului latent). Sunt efectuate cu alergeni menajeri, epidermali, polenici, bacterieni de la vârsta de 4-5 ani

în cazul rezultatelor negative în testul nazal sau la necorespunderea datelor anamnezei și rezultatelor testărilor cutanate. Cercetarea se va face în faza de remisiune în staționar. Primar se efectuează spirometria cu aprecierea VEMS (în normă 70-80%) cu calcularea ei în prima secundă, de asemenea, coeficientul Tiffno (raportul VEMS la capacitatea vitală). Ulterior, pacientul va inhala soluția de alergen începând cu doza minimă până la cea care va manifesta reacție evidentă. Dacă VEMS și coeficientul Tiffno scade cu 20%, testul se consideră pozitiv.

Testul de eliminare se utilizează pentru diagnosticul alergiei alimentare. Cu 2-3 zile înainte de efectuarea testului, din rația pacientului se exclude produsul cercetat. Ulterior, din nou se utilizează acest produs cu aprecierea statusului general și starea organului de șoc. Testul se consideră pozitiv la apariția reacției în organul de șoc pe parcursul unei ore.

Testul leucocitopenic se utilizează în diagnosticul alergiei alimentare, iar uneori și în cel al alergiei medicamentoase. În condiția unei diete eliminatorii, pe parcursul unei ore se apreciază de 2 ori cantitatea leucocitelor. Ulterior se administrează alergenul, după care peste 30, 60 și 90 min. se enumeră cantitatea leucocitelor. În cazul reducerii cantitative a leucocitelor mai mult de $1 \times 10^9/l$, testul se consideră pozitiv.

Testele de provocare cu alergeni (în special cei inhalatori) pot fi utilizate numai în cazurile de diagnostic complicat cu o pregătire prealabilă pentru asistență medicală în cazul dezvoltării complicațiilor anafilactice, despre posibila apariție a cărora pacientul trebuie să fie informat.

Testarea imunologică in vitro actualmente se utilizează pe larg în diagnosticul alergiei datorită unor priorități: posibilitatea de cercetare în perioada infantilă precoce (până la 2-3 ani), în perioada de acutizare a maladiei, la pacienții cu grad înalt de sensibilizare, testarea sensibilizării polivalente, la modificarea reactivității pielii etc. În acest caz vor fi examinate sângele sau secrețiile nazale. Aceste investigații vor fi utilizate ca metode de depistare a unui teren atopic sau ca și metode complementare în diagnosticul maladiilor alergice. Metodele *in vitro* vor putea fi utilizate în locul testelor cutanate în cazul contraindicațiilor pentru efectuarea testelor cutanate: pacienții cu boli ale pielii la locul testării; cei cu risc crescut de reacții anafilactice la testele cutanate; alergeni exotici pentru care nu sunt disponibile extracte alergice standardizate sau când nu este cunoscută puterea alergenului; pacienții care nu pot întrerupe tratamentul antihistaminic etc.

Toate testele *in vitro* au un dezavantaj că nu se corelează cu severitatea manifestărilor clinice, chiar dacă se vor realiza dozaje precise.

Testarea IgE totale este realizată prin metoda ELISA și va fi exprimată în UI/l, unde $1 \text{ UI} = 2,4 \text{ ng}$ proteină. Concentrația serică a IgE totale este dependentă de

vârștă, crescând progresiv până la vârșta de 10–15 ani cu diminuarea ei în decada a 2-a—a 8-a de viață. Concentrația crescută a IgE totale are o valoare orientativă. O valoare mai mare de 100 UI/l susține un diagnostic de alergie. Valori de 10 000 UI/l pot fi atinse la unii pacienți alergici. Există și alte maladii non-alergice cu valori majorate de IgE totale, cum ar fi parazitazele, deficitul imune congenital, imunosupresia (boala „grefă contra gazdă”), SIDA sau arsuri grave. Cercetările de screening realizate în diverse zone ecologice ale Moldovei au demonstrat valori crescute ale IgE totale la indivizii aparent sănătoși în regiunile cu utilizare intensivă și de lungă durată a pesticidelor (L. Andrieș, 1994).

Multitestele sunt utilizate în general în screening și sunt sisteme care conțin mai mulți alergeni frecvent implicați în patologia alergică, fixați pe bandeleț sau pe plăci (sistemul CAP sau amestecuri lichide de alergeni). Un test negativ va exclude în general necesitatea unor investigații suplimentare (teste cutanate, dozaj IgE specifice), pe când un test pozitiv nu va confirma o alergie concretă. Sistemele de bandeleț sunt mai puțin precise.

IgE alergen-specifice se vor doza prin ELISA. Metoda permite dozarea pentru mai mult de 500 de alergeni, iar pentru fiecare dozaj este necesar doar 50 μl de ser sau de alte secreții. Ca valori de referință, există seruri standardizate atât pentru a stabili valoarea IgE, cât și pentru controlul de calitate a metodelor. Valoarea IgE specifice nu se corelează în general cu severitatea simptomelor.

Triptaza este eliberată în momentul degranulării mastocitelor, cum ar fi în reacțiile de hipersensibilitate de tip I. Funcția triptazei este neclară, fiind probabil implicată în punerea la dispoziție a bradikininei, dar este mai ușor de dozat decât histamina, care este foarte instabilă. Triptaza poate fi dozată în diverse fluide, permițând evaluarea activității mastocitelor. Valoarea normală a triptazei serice la indivizii sănătoși variază între 1–10 ng/ml. Concentrația crescută a triptazei mai mult de 20 ng/ml este utilă în diagnosticul mastocitozei, iar valoarea majorată în cazul unei reacții sistemice va confirma caracterul anafilactic al acesteia. Pentru dozarea triptazei în cazul unei reacții sistemice se vor recolta 10 ml de sânge în tub sec sau cu EDTA, în primele 2 ore de la debutul acestei reacții. Proba va fi păstrată la 4°C maxim 12 ore până la utilizarea în laborator. Interesul dozării triptazei, în special, în reacțiile perianestezice, este, în primul rând, medico-legal, triptaza fiind un marker specific al degranulării mastocitare.

Proteina cationică a eozinofilelor (ECP) este eliberată de eozinofile prin degranulare, având un efect citotoxic și neurotoxic și nu se găsește în sânge în formă liberă. ECP este dozată după coagularea sângelui *in vitro* și corespunde cantității de substanță care a fost eliberată de eozinofile. Valoarea medie prag este de 105 ng/ml, dar nivelele pot fi foarte variabile și nu sunt crescute în general, în caz de rinită alergică. Ea este majorată în invaziile parazitare, în rinita non-alergică cu eozino-

filie și în polipoza nazală. Dozarea ECP este utilă în monitorizarea răspunsului la tratament. Scăderea valorii ECP va indica un răspuns eficient al terapiei.

Testarea populațiilor și subpopulațiilor limfocitare T și B cu cuantificarea lor, aprecierea funcțiilor lor, precum și concentrația complexelor imune etc., se realizează în conformitate cu metodele elucidate în compartimentul al II-lea.

Principii de imunoterapie în maladiile alergice

Imunoterapia specifică (ITS) sau imunoterapia alergen-specifică prezintă o modalitate de tratament, utilizată pe larg în MA și face parte din terapiile de modificare a răspunsului imun (anterior denumite și ca desensibilizare, hiposensibilizare). Se consideră ca o „vaccinare” cu alergen și are o înaltă specificitate, fiind singura modalitate terapeutică care modifică evoluția bolilor alergice. Conform definiției EAACI, imunoterapia cu alergen reprezintă administrarea gradată a unor cantități dintr-un vaccin alergen la un individ alergic pentru a atinge o doză care ameliorează simptomele asociate expunerii la alergenul sensibilizant.

OMS recomandă utilizarea termenului de vaccin/vaccinare atunci când se revine la o soluție de alergen utilizată pentru efectuarea ITS. Mecanismele ITS sunt destul de complicate și încă neelucidate definitiv. A fost demonstrat că vaccinurile produc modificări imune și sunt clasificate în grupa remediilor imunomodulatoare. Sub influența ITS, în organism au loc următoarele modificări:

- crește concentrația Ac alergen-specifici cu acțiune blocantă de clasa IgG1 și IgG4;
- scade nivelul IgE alergen-specifice în serul sangvin timp de câțiva ani;
- scade eliberarea de histamină din mastocite și bazofile;
- crește activitatea celulelor supresoare (LTCD8⁺);
- scade concentrația factorilor monocitari care contribuie la eliberarea histaminei;
- se majorează cantitatea celulelor producătoare de IL-12;
- se intensifică funcția limfocitelor T-helper de tipul 1 cu sinteza IL-2, IFN- γ ;
- scade funcția limfocitelor T-helper de tipul 2 și sinteza de IL-4, IL-5;
- raportul IgE/IgG4 scade semnificativ în cursul ITS;
- nivelul IgE total nu scade în cursul ITS, dar titrul IgE specifice se reduce, aceasta fiind explicația reducerii eliberării de mediatori.

Astfel, ITS influențează toate verigile patogenetice ale procesului alergologic, are acțiune de frânare asupra componentei celulare și a mediatorilor etc. S-a constatat, că ITS conduce la reducerea răspunsului imun și a inflamației în faza precoce și tardivă la alergenul specific la nivelul pielii, conjunctivei, mucoasei nazale și bronșice, de asemenea, scade răspunsul nespecific la histamină (până la suprimare). Dispariția simptomatologiei este obținută în unele cazuri, însă de cele

mai multe ori bolnavul continuă să manifeste simptome, care sunt mult mai reduse ca severitate și frecvență, comparativ cu perioada anterioară ITS. Concomitent are loc reducerea medicației pentru controlul maladiei, creșterea calității vieții.

Efectul profilactic constă în prevenirea apariției astmului bronșic la copiii tratați cu ITS pentru rinită alergică cu reducerea semnificativă a hipersensibilității bronșice.

Vaccinurile alergice pot fi în formă de soluții apoase sau precipitate stabilizate cu aluminiu, standardizate după conținutul de azot proteic (PNU) etc. Dozele optime pentru administrare în cursul perioadei de întreținere sunt variabile în funcție de alergen, toleranța ficcării individ, deoarece nivelul sensibilizării pacienților este diferit. Alergenii utilizați pentru vaccinuri pot fi nemodificați (preparate apoase) sau modificați fizic prin absorbție sau chimic – cu obținerea produselor denumite *alergoizi*. Absorbția pe diferite substanțe conduce la o eliminare prelungită a vaccinului de la locul injectării. Aceste preparate conțin alergeni cu alergenitate redusă și conduc la majorarea imunogenității (amplificarea eficienței terapeutice). Este preferabilă monoimunoterapia (alergenul cel mai implicat în simptomatologia maladiei), dar pot fi administrați și 2-3 alergeni concomitent (opinia europeană). În SUA se practică ITS cu mai multe vaccinuri alergice. În ultimul timp au fost obținuți oligomeri sau alergeni recombinanți (rBet v1 din polenul de mesteacăn recombinant pe *E. coli*). Vaccinurile cu alergeni modificați genetic produc un număr mic de reacții adverse datorită puterii alergice diminuate cu menținerea imunogenității.

Lipozomii (vezicule mici de fosfolipide netoxice) au fost folosiți ca particule purtătoare pentru alergen (ex., *Dermatophagoides pteronyssinus*) în ITS la bolnavii astmatici cu ameliorarea clinică și a reactivității bronșice, reducerea răspunsului cutanat la testarea prick și creșterea IgG4.

Modalitățile de administrare a ITS sunt diverse (subcutanat, intracutanat, oral, sublingual, intranasal, conjunctival, inhalatoriu). Se realizează sub supravegherea medicului în subdiviziunile specializate alergologice (pentru a acționa imediat în cazul apariției șocului anafilactic). Bolnavul este supravegheat după vaccinare timp de 30-60 min. sau chiar mai mult la pacienții extrem de sensibili sau la cei care au prezentat reacții alergice severe anterior. Administrarea profilactică a unui antihistaminic H1 nu influențează negativ efectul imunologic al ITS, dar reduce mult reacțiile adverse și/sau scade severitatea acestora. În cazul ITS prin administrare topică (nazală, sublinguală), ea se realizează la domiciliu de către pacient sau de părinții copilului și nu necesită supravegherea personalului medical.

În funcție de durata curei, ITS poate fi anuală, presezonieră și sezonieră, fiind determinată de etiologia MA. ITS anuală se efectuează pacienților cu alergie menajeră. Injectarea alergenului menajer, de regulă, se face de 2 ori în săptămână până la obținerea dozei optime, iar ulterior se administrează terapia de întreținere în care alergenul este utilizat o dată în 10-14 zile pe parcursul a 3-5 ani.

ITS presezonieră se utilizează prioritar în polinoze și întotdeauna în reacțiile alergice la înțepăturile insectelor. Administrarea anuală a alergenilor polenici (cu reducerea dozei alergenului utilizat în perioada de polenizare) manifestă efect clinic mai pronunțat.

Pentru fiecare pacient se selectează o schemă individuală de terapie. Metoda clasică include administrarea subcutanată a alergenului în perioada de remisiune care conține într-un ml 10 000-20 000 PNU. Doza inițială se selectează prin titrarea alergometrică. Alergenul în diluția de la 10^{-6} până la 10^{-1} se inoculează în dozele de 0,1-0,2-0,4-0,8 ml zilnic sau peste o zi. Ulterior urmează diluția de 10^{-3} și 10^{-1} în doze de 0,1-0,2-0,3-0,4-0,5-0,6-0,7-0,8-0,9 ml cu intervale de 7-10 zile și administrarea ulterioară a dozei de întreținere (de regulă, ea constituie 1000-1500 Un).

Există și metode accelerate de ITS care se efectuează în staționar: imunoterapia de scurtă durată; ITS accelerată cu inocularea alergenului de 2-3 ori/zi subcutan; alte metode (fulminante) cu inocularea dozei alergenului pe parcursul a 3 zile, s.c., peste 3 ore (doze egale) cu adrenalină etc., care în Moldova nu se utilizează.

ITS poate fi combinată cu terapia de bază și simptomatică a MA (remedii anti-histaminice, corticosteroizi inhalatorii, β_2 -antagoniste, colinolitice etc.). Pentru minorizarea șarjei antigenice în perioada ITS sunt necesare realizarea măsurilor de eliminare a alergenilor, excluderea acțiunii iritanților (tabagismul activ și pasiv, mirosuri iritante etc.).

Persoanele care au administrat ITS pot fi vaccinate după indicații epidemiologice cu preparatele ADT-M, ADM și anti-poliomielită peste 2-4 săptămâni după doza respectivă a alergenului și realizarea ulterioară a ITS peste 4-5 săptămâni, după vaccinarea cu preparate antiinfecțioase, în doza precedentă vaccinării.

Testele cutanate cu alergenii pot fi efectuate la 10-15 zile până la vaccinare și după 1,5-2 luni de la efectuarea acesteia.

Indicații pentru ITS sunt: imposibilitatea excluderii contactului cu alergen; confirmarea rolului alergenului în geneza maladiei (polenul plantelor, arborilor etc., alergenii menajeri, acarinele prafului de casă, veninul himenopterelor, fungii, bacteriile); confirmarea mecanismului de sensibilizare IgE-dependent; spectrul redus (nu mai mult de 3) al alergenilor cauzali; vârsta de la 5 până la 50 de ani. ITS se realizează în polinoze, în astmul bronșic atopic, în rinita și conjunctivita alergică, alergia la veninul insectelor în faza de remisiune.

În alergia medicamentoasă, ITS se administrează extrem de rar și numai în cazul când preparatul este vital necesar (de ex., insulina în diabetul zaharat). În alergia alimentară se administrează dacă excluderea alergenului conduce la consecințe grave (ex., laptele la copii). În alergia epidermală, ITS se realizează în cazul când contactul cu animalele necesită schimbarea profesiei (veterinarii, zootehnicienii, laboranții etc.).

Contraindicațiile absolute pentru ITS sunt următoarele: existența unor boli severe – neoplazii, hepatită, ciroză, boli renale, maladii cardiovasculare etc.; prezența unor maladii autoimune; prezența unei imunodeficiențe; existența unor boli cu risc crescut pentru reacții grave la administrarea adrenalinei sau la pacienții care utilizează curent beta-blocante; pacienții aflați sub tratament cu inhibitori ai enzimii de conversie; astmul instabil; reacții severe repetate, apărute și la reducerea dozei de vaccin în cursul ITS; în cazul când pacientul poate fi atopie cu sensibilizare prezentă, dar simptomele nu sunt induse de expunerea la alergen; refuzul pacientului, lipsa cooperării acestuia.

Contraindicații relative sunt: vârsta sub 5 ani pentru ITS subcutanată și 2 ani pentru ITS sublinguală; vârsta peste 50 de ani, în special dacă are și boli cardiovasculare; graviditatea și alăptarea copilului; pacienții cu terapie cronică cu beta-blocante pot fi comutați pe o altă clasă de antihipertensive sau antiaritmice. Dacă acestea sunt eficiente și bine tolerate de către pacient, ITS se poate utiliza ulterior.

Pe parcursul ITS pot apărea *reacții adverse locale și sistemice*. Aceste efecte se pot datora utilizării vaccinurilor cu potențial alergizant mare, tehnicii eronate de administrare, realizării terapiei de către personalul necalificat, utilizării unei doze necorespunzătoare (mai mare decât cea necesară), efectuării procedurii pe fundalul unei infecții intercurrente nediate diagnosticate, absenței controlului pacientului înainte de vaccinare. Reacțiile adverse se dezvoltă peste 10-30 min. după injectarea alergenului și se manifestă prin simptome de diversă severitate. Un număr redus de efecte adverse apar pe parcursul a 30-120 min. și mult mai puține după 2 ore. Cele mai frecvente reacții apar în perioada de inițiere a ITS, la creșterea dozelor, la pacienții cu astm instabil și la cei cu reacții sistemice (șoc anafilactic) în antecedente.

Reacțiile locale sunt manifeste prin edem în locul injectării alergenului, uneori major, prin prurit moderat, hiperemie. De obicei, ele nu prezintă pericol pentru pacient și dispar la utilizarea remediilor antihistaminice și/sau glucocorticoizilor locali pe parcursul a câteva ore. În cazul intensității lor se poate reduce doza pentru următoarele administrări până la dispariția/diminuarea lor.

Reacțiile adverse de sindrom sunt manifeste prin apariția simptomatologiei nazale și/sau bronșice. Sunt mai severe și necesită un tratament specific bolii și la reducerea semnificativă a dozelor pentru următoarele cure de ITS. Dacă aceste reacții se mențin, pot impune întreruperea ITS.

Reacțiile alergice sistemice sunt manifeste prin șoc anafilactic, urticarii generalizate, crize severe de astm, angioedem sever (laringian). Șocul anafilactic este relativ rar, dar poate avea o evoluție fatală. Tratamentul acestuia se face urgent prin efectuarea următoarelor măsuri: pacientul va fi poziționat orizontal cu capul mai jos de picioare; montarea unui garou mai sus de locul injectării (se reduce doza de

vaccin absorbit) care peste 15 min. se va slăbi; administrarea adrenalinei în locul inoculării alergenului (adulților 0,2 ml în diluția 1:1000, iar copiilor 0,01 ml/kg masă corporală); monitorizarea tensiunii arteriale, stării generale; administrarea dozei duble de remediu antihistaminic; este posibilă utilizarea s.c. la alt braț a adrenalinei (adulților 0,3 ml în diluția de 1:1000, copiilor – 0,01 ml/kg masă corporală); administrarea soluțiilor macromoleculare (reumplerea patului vascular).

Dacă utilizarea soluției cu adrenalină nu a condus la normalizarea tensiunii arteriale, se administrează cu precauție remedii vasopresive, apoi antihistaminice și glucocorticosteroizi. În cazul bronhospasmului se administrează i.v. 10 ml de soluție 2,4% de eufilină sau teofilină. Pacienții cu reacții adverse severe sunt monitorizați în staționar timp de 24 de ore după normalizarea stării generale.

După orice reacție generalizată, doza nouă a alergenului trebuie redusă până la 1/3-1/4 din doza precedentă, iar majorarea ulterioară a dozei se face cu intervalul de 0,03-0,05 ml.

Eficacitatea ITS poate fi extrem de variabilă și depinde de: tipul sensibilizării, calitatea vaccinului; numărul de alergeni administrați; calea de administrare a alergenului; numărul curelor terapeutice și durata lor; vârsta pacientului, particularitățile individuale; forma nosologică a maladiei atopice. Eficacitatea majoră în ITS a fost demonstrată la sensibilizarea cu veninul heminopterelelor (până la 95% de rezultate bune), în polinoze (90-80%), în alergია menajeră (80-70%) și cea fungică (60-70%). Cele mai eficiente rezultate au fost demonstrate după 3 cure de ITS, în administrarea anuală a vaccinului. Remisiunea după finisarea ITS se menține timp îndelungat (ani).

Efectul profilactic al ITS a fost demonstrat prin reducerea apariției astmului bronșic pe o perioadă de 10 ani la copiii care au urmat ITS pentru rinită. Astmul este mult mai rar înregistrat (24%) la copiii cu rinită moderat-severă, care au făcut ITS, comparativ cu cei care nu au utilizat ITS (45%).

ITS poate conduce la obținerea ameliorării sau chiar la vindecare. Au fost raportate reducerea simptomatologiei alergice până la dispariția ei, reducerea necesarului de medicație, creșterea calității vieții pacienților alergici, ameliorarea parametrilor funcționali și reducerea costurilor inerente bolii (directe). ITS modifică evoluția naturală a alergiilor, polisensibilizării etc. În perspectivă, elaborarea de vaccinuri prin ingineria genetică sau utilizarea de noi adjuvanți (lipozomi, terapia cu anticorpi monoclonali anti-IgE, vaccinuri cu peptide derivate din alergeni care pot influența limfocitele T) vor contribui la performanța imunoterapiei în maladiile alergice.

Capitolul 17. IMUNODEFICIENȚELE PRIMARE ȘI SECUNDARE

Deficitul imun apare și se instalează atunci când una sau mai multe componente ale sistemului imun prezintă disfuncții morfologice sau funcționale. El poate fi *primar* (congenital) și *secundar* (dobândit), *parțial* și *total*. Deficitele primare sunt consecința unui defect genetic al oricăreia dintre componentele sistemului imun (SI), care apar, de regulă, la copii, dar pot fi manifeste și în alte perioade ale vieții. Imunodeficiențele secundare prezintă sindroame clinico-imunologice aparente pe fundalul funcției normale anterioare a SI cu minorizarea persistentă a indicilor cantitativi și funcționali ai factorilor specifici și/sau nespecifici induși de diverse cauze (infecții cronice, neoplazii, stări de malnutriție, după radio- sau chimioterapie etc.). Deficitul imun parțial interesează doar anumite populații celulare, factori umorali, mediatori solubili etc., pe când cel total afectează concomitent răspunsul imun celular și cel umoral. Sindromul infecțios cu diversă localizare este markerul principal clinic al deficitului imun.

Imunodeficiențele primare (congenitale)

Imunodeficiențele primare (congenitale) prezintă o grupă heterogenă de de-reglări, cauza cărora sunt mutațiile genelor specifice cu defecte ale unui sau ale câtorva componente ale SI. Clasificarea internațională a maladiilor imunodeficientare include 36 de forme nosologice ale imunodeficiențelor primare, deși sursele bibliografice denotă mai multe entități (80) confirmate prin stabilirea defectelor molecular-genetice. Conform ultimelor clasificări acceptate de OMS, imunodeficiențele primare includ următoarele grupe principale:

1. Deficitul imun umoral

- hipogamaglobulinemia (agamaglobulinemia) Bruton legată de cromozomul X;
- hipogamaglobulinemia comună de expresie variabilă (*CVID – Common Variable Immunodeficiency*);
- hipogamaglobulinemia tranzitorie la nou-născuți;
- disgamaglobulinemiile – hipogamaglobulinemiile.

2. Deficitul imun celular

- sindromul Di George (hipo-, aplazia timusului);
- candidoza mucocutanată cronică.

3. Imunodeficiențele celulare combinate (T și B)

- sindromul de imunodeficiență combinată severă (legată de cromozomul X și autozomal-recesivă);
- ataxia-teleangiectazia (sindromul Louis-Bar);
- sindromul Wiskott-Aldrich;
- imunodeficiența cu hiperimmunoglobulinemie M (legată de cromozomul X);
- imunodeficiența cu nanism.

4. Deficitul sistemului fagocitar

- granulomatoza cronică;

- sindromul Chediak-Higashi;
- sindromul hiperimunoglobulinemiei E (sindromul Job);
- deficitul expresiei moleculelor de adeziune.

5. Deficit al sistemului complementului.

Majoritatea afecțiunilor au, de regulă, caracter mixt datorită interacțiunilor complexe dintre LT, LB, macrofage etc. În toate aceste cazuri, clinic apar o serie de manifestări considerate patognomonice, care orientează atenția specialistului spre un diagnostic corect (frecvența crescută a infecțiilor, în special a celor induse de agenții oportuniști, severitatea și durata lor, apariția complicațiilor, remisiuni de scurtă durată după tratament etc.).

Deficitul imun predominant umoral constituie 50-70% din totalul imunodeficiențelor primare și include hipogamaglobulinemia legată de cromozomul X, hipogamaglobulinemia non-familială, imunodeficiența de IgG și IgA cu hiperproducție de IgM, hipogamaglobulinemia tranzitorie a nou-născutului, deficitul selectiv de IgG, deficitul selectiv al subclaselor de IgG, deficite combinate ale unor clase/subclase de imunoglobuline.

Hipogamaglobulinemia, agamaglobulinemia ereditară de tip elvețian are caracter autozomal-recesiv cu alterarea totală sau parțială a sistemului imun T și B. La baza patologiei stă defectul maturizării celulelor stem hematopoietice și limfoide. La testarea statusului imun se apreciază limfopenie, scăderea marcată a Ig tuturor claselor în sânge (< de 2 g/l: IgG < 2 g/l; IgA, IgM < 0,02 g/l), reducerea cantitativă sangvină a LB CD19⁺, CD20⁺, CD21⁺, CD22⁺, CD72⁺ și LB purtătoare de receptori imunoglobulinici (<1%).

Vaccinarea cu BCG a acestor pacienți induce o diseminare și generalizare a procesului vaccinal cu sfârșit letal. Clinic, patologia se manifestă la copiii de 2-3 luni de viață cu o evoluție malignă. Se constată reținerea creșterii și dezvoltării copilului, apariția infecțiilor severe recidivante, prioritar cu afectarea sistemului bronhopulmonar și tractului digestiv, dermatitei (eritrodermia Leiner, exfoliantă Ritter), sepsisului. Morfologic, se evidențiază necroza multiplă a pielii cu infiltrație inflamatoare, displazia timusului și a altor țesuturi limfoide, deficiența limfocitelor mature cu predominarea cantitativă a limfocitelor imature, asemănătoare limfoblaștilor, absența plasmocitelor, splina este micșorată de 5-10 ori.

Agama (hipogamaglobulinemia) congenitală Bruton, legată de cromozomul X (de la X – *linked agamaglobulinemia*) cu deficit hormonal de creștere, are la bază un defect genetic al celulelor B care se opresc din dezvoltare în faza de limfocite pre-B (defect al tirozinkinazei citoplasmatică care este transductorul semnalului în nucleul celulelor B pentru activare și transformare în plasmocit). Defectul este localizat în cromozomul Xq 21.3 – 22 (b+k). Absentează celulele B, plasmocitele, se constată absența sau niveluri minore de IgG. Clinic, boala Bruton se caracterizează prin infecții piogene recidivante ale pulmonilor, sinusurilor paranazale, urechii medii etc., provocate de Streptococcus, Haemophilus, Staphylococcus,

Pseudomonas etc. Se manifestă la a 5-a-a 6-a lună de viață, când cantitatea IgG de origine maternă nu mai realizează apărarea copilului. Afectează numai băieții (1 caz la 50 000 – 100 000 de nașteri). Este importantă stabilirea în anamneza familială a afecțiunilor identice la indivizii de sex masculin. Evoluția maladiei este severă, cu recidive frecvente. Un criteriu diagnostic important este absența reacției inflamatoare a ganglionilor limfatici, ficatului, splinei. Este posibilă apariția artritelor torpide, maladiilor neurologice progresive, limfoamelor maligne.

La testarea statusului clinico-imunologic se constată absența LB circulante, niveluri minore ale IgG, IgM, IgA, IgE, absența centrelor germinative și plasmocitelor în ganglionii limfatici, absența sau hipoplazia amigdalelor, funcția păstrată a LT.

Terapia acestei maladii este substitutivă, se administrează imunoglobuline prin inocularea i.v. sau i.m. și antibiotice la indicație. Controlul eficacității se realizează prin testarea IgG (nu mai puțin de 4 g/l). Vaccinarea este contraindicată.

Hipogamaglobulinemia comună de expresie variabilă (CVID – Common Variable Immunodeficiency) este caracterizată prin scăderea concentrației IgM, IgG, IgA, pe când numărul LB poate fi scăzut sau normal. Este un deficit al anticorogenezei. Frecvent se înregistrează defecte ale funcției LT. Defectul este localizat în cromozomul 6p21.3.

Clinic se manifestă similar cu boala Bruton, dar apare mai târziu, la 15-30 de ani. Sunt afectați atât bărbații, cât și femeile. Testarea imunologică denotă nivel normal sau puțin scăzut al LB circulante, scăderea sintezei și/sau secreției Ig (se manifestă prin niveluri joase de Ig serice), uneori diminuarea valorilor LT-helper și creșterea LT-supresoare. În 25-30% din cazuri se constată malabsorbția, lamblioză, intoleranța lactozei etc. La acești pacienți frecvent se dezvoltă patologia autoimună. Tratamentul este simptomatic. Se administrează imunoglobuline, remedii antibacteriene. Au fost raportate date despre eficiența utilizării mielopidelor.

Hipogamaglobulinemia tranzitorie la nou-născut mai frecvent se înregistrează la prematuri și se caracterizează prin nivelul scăzut al Ig datorat catalizării IgG materne și sintezei insuficiente a celor proprii. Copilul este predispus la infecții bacteriene, localizate în special la nivelul tractului respirator. Se înregistrează la 5-8% dintre copii și, de regulă, dispare la 1,5-4 ani. Testarea statusului imun denotă un procent normal de LT și LB, nivel scăzut de Ig. Este caracteristică prezența ganglionilor limfatici și a amigdalelor nemodificate.

Evoluția este favorabilă și nu necesită administrări de gamaglobulină. În cazuri severe se obțin rezultate bune prin terapia combinată de antibiotice cu spectru larg, administrarea imunoglobulinei după indicație.

Disgamaglobulinemiile pot fi selective sau asociate și apar atunci când există un deficit al uneia sau alteia din clasele de imunoglobuline (rareori a două clase), determinat de sinteza sau producerea unei Ig nefuncționale. Sunt cunoscute deficiențele izotipurilor IgA, IgM, IgG, ale subclasselor IgG și ale lanțului k, dar cele mai frecvente sunt deficiențele selective de IgA și de IgG.

Deficitul selectiv de IgA se caracterizează prin nivele scăzute de IgA1 și IgA2 serice și absența IgA secretorie, dar cu un număr normal de LB. Se datorează absenței diferențierii terminale pentru IgA a LB. Deficitul este asociat cu HLA-DR-DQ. Frecvența înregistrării este de 1:800. Afecțiunea este adesea asimptomatică, dar uneori poate determina infecții respiratoare și intestinale. Este caracteristică creșterea incidenței bolilor alergice, autoimune, cutanate, gastrointestinale, a carcinoamelor. La testarea imunologică se constată urme de IgA (50-70 mg/dl), nivel normal sau scăzut de IgG, concentrație normală sau majorată de IgM în serul sangvin. Nivelul LB este în limitele valorilor normale, iar la unii pacienți se constată scăderea cantitativă a T-helperilor și T-supresoarelor. Aproximativ 50% dintre bolnavi au anticorpi anti-IgA și din acest motiv terapia cu gamaglobuline este contraindicată (la transfuzii și/sau administrarea de derivați sangvini poate să producă șoc). Se administrează antibiotice, remedii care nu conțin IgA. Au fost raportate date despre eficacitatea mielopidelor. Insuficiența selectivă a componentului secretor IgA poate fi cauza absenței sIgA în secrete și se manifestă prin infecții ale mucoaselor (rinite, bronșite, diaree cronică).

Deficitul selectiv de IgG apare rar și se evidențiază prin scăderea sau absența uneia ori a mai multor subclase în condițiile unor nivele normale ale IgG total. Mai sever evoluează deficiența de IgG2. Nivelul IgM și IgA poate fi majorat. La deficitele IgG2 și IgG4 se constată infecții bronhopulmonare, otite provocate de H. influenza, pneumococi. Deseori se constată asocierea cu deficitul IgA. Deficiența IgG4 este asimptomatică. Deficitul selectiv al anticorpilor IgG1 este cauza sensibilității la virusul respirator sincițial și dezvoltarea alveolitei la copii, iar cel al IgG3 – a susceptibilității la Moraxella catarrhalis care poate conduce la apariția haimoritelor cronice și sinuzitelor.

Deficiența primară a anticorpilor poate fi asociată cu diverse patologii: sinuzite recidivante, bronșiectazie, enteropatie, colite, anemie, artropatie cronică etc.

Deficitul selectiv al IgM se manifestă prin scăderea concentrației de IgM cu o variație a indicilor imunității celulare (scăzuți sau normali). Se constată infecții recidivante (piodermia stafilococică, septicemia meningococică, colita ulcerativă cu diaree). Criteriul diagnostic de bază este concentrația IgM serice. Tratamentul este substitutiv, se administrează imunoterapia cu IgM după indicație.

Deficitul selectiv de IgG și IgA, asociat cu creșterea IgM (sindromul hiper IgM legat de cromozomul X), se manifestă prin cantități majorate de IgM policlonale cu absența IgG și IgA. Afecțiunea este însoțită de o susceptibilitate crescută la infecțiile bacteriene, Pneumocystis carinii și la alte infecții oportuniste. Clinic se constată hepatosplenomegalie, diaree și o incidență crescută a bolilor autoimune (neutropenie, trombocitopenie, anemie autoimună) determinate de autoanticorpii de izotip IgM. Testarea imunologică denotă absența sau concentrații minore de IgA (< 0,05 g/l) și IgG (< 2g/l), creșterea cantitativă a IgM (3-14g/l), scăderea ac-

tivității Th și fagocitozei, prezența autoanticorpilor antieritrocitari, -trombocitari, -mușchilor netezi. Maladia este cauzată de mutații punctiforme la nivelul genei ce codifică ligandul CD40 (CD40L/gp39), a cărei urmare este un defect în comutarea Ig. Terapia este substitutivă cu gamaglobuline la necesitate.

Hiperimunoglobulinemia D, ca sindrom de sine stătător, se manifestă prin febră periodică (39°C), majorarea TNF- α , IL-1 β , IL-6 în sânge și a neopterinei în urină.

Deficitul imun celular (primar LT) constituie 5-10% din totalul imunodeficiențelor primare. Deficitele imune celulare T se datorează unui defect primar al activării și funcției LT ce conduce la afectarea esențială a reacțiilor imune mediate celular și susceptibilitatea crescută la infecțiile virale, bacteriile intracelulare, fungi și protozoare. Infecțiile respective sunt severe și nu răspund la terapie, fiind adesea fatale.

Sindromul Di George (hipoplazia, aplazia timică congenitală) este un defect specific disemбриogenezei și se caracterizează prin dereglarea dezvoltării timusului, glandelor tiroide și paratiroide. În imunograma pacienților se constată scăderea numărului de LT sangvine și activitatea lor funcțională deficitară (nu răspund la activatorii policlonali – PHA, ConA sau aloantigeni). Numărul LB este majorat, precum și nivelul IgE. Este scăzută capacitatea de sinteză a Ac datorită absenței cooperării LT-helper cu LB la Ag timodependenți. Defectul este localizat în cromozomul 22q11.2. Clinic se manifestă prin infecții virale, parazitare, micotice, unele infecții bacteriene (micobacterii) cu evoluție recidivantă. La acești pacienți apar crize de tetanie din cauza hipocalcemiei, iar în cazuri severe – scăderea concentrației de Ac. Caracteristică este înfățișarea pacientului – dismorfismul feței. La astfel de pacienți frecvent se înregistrează și alte anomalii de dezvoltare: a cordului și aortei (defecte ale septului, tetrada Fallot), atrezia esofagului, insuficiența dezvoltării rinichilor, căilor urinare etc. Pot fi dereglări psihice. Acești copii pot manifesta reacții neobișnuite la vaccinarea cu vaccinuri vii atenuate (BCG, rujeolă, poliomielită etc.).

Testarea statusului imun denotă limfopenie, scăderea cantitativă și a activității proliferative a LT, diminuarea sau absența reacțiilor de hipersensibilitate de tip întârziat la Ag ubicvitari (candida, BCG etc.), cantitate normală de LB și diminuarea capacității de sinteză a Ac la unii Ag. Terapia maladiei presupune efectuarea unui transplant de timus fetal, administrarea hormonilor timici, remediilor simptomatice.

Deficitele de dezvoltare și maturare a LT apar, de obicei, din cauza absenței de expresie a unor molecule implicate în activarea și funcția LT (T-helper și T-citotoxice/supresoare). Se manifestă prin infecții virale și bacteriene.

Candidoza mucocutanată cronică este o maladie autozomal recesivă caracterizată prin deficitul prioritar al LT la Ag candidiei. La testarea statusului imun se constată un nivel scăzut de LT, de secreție a MIF, răspunsul slab manifestat la Ag și mitogeni. Răspunsul imun umoral nu este dereglat. Unii autori consideră că în acest proces se constată și deficitul monocitelor și PMN. Se caracterizează prin alterarea cronică recidivantă a pielii, unghiilor, mucoaselor etc. provocate de

Candida albicans. Pe fundalul cantității scăzute de LT și răspunsului lor proliferativ la PHA se constată scăderea capacității de a produce limfokine în prezența Ag *Candidei albicans*. Testele cutanate la Ag *candidei* sunt negative. Maladia se asociază cu afecțiunile endocrine (de regulă, autoimune ca diabetul zaharat, anemia pernicioasă, boala Addison, disfuncții ale gonadelor). Complicațiile cele mai grave sunt insuficiența hepatică și renală. Terapia include remedii antifungice și administrarea de hormoni timici. Au fost raportate date despre transplantul de timus, dar rezultatele sunt mai mult decât modeste.

Imunodeficiențele celulare combinate se înregistrează cu o frecvență de 10-25% din totalul imunodeficiențelor primare. Prezintă un grup heterogen de afecțiuni caracterizate printr-o combinație dintre deficitul limfocitar T și B.

Sindromul de imunodeficiență combinată severă (SCID-Severe Combined Immunodeficiency Disease) înglobează un grup heterogen de anomalii congenitale, caracterizat printr-o diferențiere și funcție deficitară a limfocitelor T și B, limfopenie marcată, scăderea imunității celulare și umorale. Boala se manifestă din primele zile după naștere prin infecții bacteriene, virale și fungice grave cu caracter cronic și recidivant. Supraviețuirea până la un an este foarte rară. Au fost descrise 2 variante: una care apare numai la băieți și este legată de o genă unică de pe cromozomul X (60% din cazuri) și alta (40% din cazuri) de o genă autozomal recesivă purtată de alt cromozom (Xq 13-21.1). Varianta legată de cromozomul X are la bază dereglarea diferențierii celulei stem în LT și LB, defect al lanțului γ a IL-2R pe LT. Varianta autozomal recesivă are la bază mutația genei tirozinkinazei ZAP-70 (transductor al semnalului în LT necesar pentru proliferare). În sângele periferic sunt absente LT CD8⁺. Clinic se manifestă prin infecții recidivante (bacteriene, virale, fungice) grave cu evoluție cronică. Este caracteristică limfopenia și hipoplazia timusului. La testarea statusului imun se constată scăderea cantitativă și funcțională a LT, minorizarea LB, hipogamaglobulinemia, scăderea sintezei de Ac etc. Maladia este fatală ca rezultat al infecției. Terapia presupune transplantul medular, administrarea antibioticelor, imunoglobulinelor etc.

Există și alte variante de SCID: disgenezia reticulară (defect al celulelor stem), agranulocitoză (număr scăzut de LT și LB), deficitul precursorilor limfocitelor T (LT – scăzute, LB – normale), deficit de adenzin dezaminază (ADA) sau purin nucleotid fosforilază (PNP). Acestea au evoluție severă, fatală. Imunodeficiențele funcționale înrudite cu SCID se caracterizează prin defecte ale adeziunii limfocitelor, deficit de HLA de clasa I, de clasa II, de producere a IL și receptorilor pentru interleukine (IL-2R, IL-1R), deficit de TCR-CD3 etc.

Ataxia teleangiectazia (sindromul Lui-Barr) are la bază dereglarea funcției LT și LB, reducerea nivelului de LT CD3⁺, CD4⁺, scăderea răspunsului imun la PHA, Ag bacteriene, concentrații minore de IgA, IgG2, IgE, hipoplazia timusului, splinei, ganglionilor limfatici și a amigdalelor, localizarea defectului în cromozomul

11q 22.3 (mutația genei ATM, care codifică fosfatidilinozitolkinaza responsabilă de proliferarea celulară și transmiterea semnalului de activare). Defectul acestei gene conduce la dereglarea maturării și funcției LT și LB. Maladia apare la vârsta de 2-3 ani și debutează prin manifestări neurologice (ataxia), teleangiectazia pielii și ochiului, infecții virale și bacteriene ale sinusurilor nazale și pulmonilor etc. Moartea survine din cauza complicațiilor infecțioase și a neoplaziilor cutanate.

Terapia este bazată pe antibiotice cu spectru larg de acțiune, asociate cu administrare de gamaglobulină, hormoni timici etc.

Sindromul Wiskott-Aldrich (legat de cromozomul X) se caracterizează prin dereglarea activării LT CD4⁺ și CD8⁺, alterarea producției de IgM la bacteriile cu capsulă (pneumococ), nivel majorat de IgA și IgE cu concentrație normală de IgG și LB. Izohematoglutinele sunt scăzute sau absente. Localizarea defectului – în cromozomul Xp.11-11.3(WASP). Clinic se caracterizează prin eczeme, purpură trombocitară și susceptibilitate la infecții. Primele manifestări sunt posibile la vârsta de 1,5 luni prin trombocitopenie, diaree sangvinolentă și, în final, prin infecții piogene care favorizează apariția eczemelor. Ulterior se dezvoltă maladii autoimune, neoplazii, sindromul hemoragic. Starea pacientului poate să se stabilizeze cu vârsta, dar cu menținerea trombocitopeniei. Cele mai bune rezultate terapeutice au fost obținute prin transplante medulare HLA identice. Remisiuni parțiale apar după splenectomie (dispariția hemoragiilor) asociată cu terapie de imunoglobuline i.v.

Sindromul Nezelof (displazia timică) se caracterizează prin limfopenie, scăderea numărului de LT și LB, diminuarea țesutului limfoid, arhitectura anormală a timusului și nivele serice normale sau crescute ale Ig. Clinic se manifestă prin hepatosplenomegalie și adenopatii generalizate, infecții virale, bacteriene, fungice și cu protozoare (Pneumocystis carinii). Terapia presupune transplante medulare și de timus, asociate cu administrarea de gamaglobuline.

Sindromul Job (hipergamaglobulinemia E asociată cu infecții recidivante). Defectul specific al sindromului este scăderea producției de IFN- γ de către LT-helper de tip 1; se manifestă printr-un înalt nivel de IgE cu o eozinofilie marcată, scăderea sIgA. Numărul și funcția LT sunt reduse. Clinic se caracterizează prin infecții stafilococice recidivante (abcese cutanate, pulmonare, articulare, bucale) și fungice.

Terapia afecțiunii include administrarea de antibiotice cu spectru larg de acțiune și antifungice, în asociere cu remedii imunomodulatoare.

Sindromul limfoproliferativ Duncan, legat de cromozomul X se manifestă prin scăderea până la dispariție a celulelor T, de regulă, după o inflamație anterioară cu virusul Epstein-Barr. În cursul evoluției maladiei pot să apară, drept consecințe ale agresiunii virale, aplazia medulară, limfoame, hepatite. Aceste manifestări ar fi expresia activității limfocitelor T-supresoare (diminuare sau hiperactivitate).

Deficite ale sistemului fagocitar. Se înregistrează cu o frecvență de 10-12% din totalul imunodeficiențelor primare. Se manifestă prin boala granulomatoasă cronică,

sindromul Chédiak-Higashi, deficit al funcției de adeziune celulară, al mieloperoxidazei, gluco-6-fosfodehidrogenazei cu susceptibilitate la infecții bacteriene.

Boala granulomatoasă cronică (CGD – *Chronic Granulomatous Disease*) este o afecțiune rară și se manifestă printr-un deficit al activității bactericide a neutrofilelor și macrofagelor datorat dereglărilor metabolice oxigen-dependente; fagocitele pierd capacitatea de a produce anionul de superoxid (reactant microbicid) din cauza alterării unor gene, care codifică complexul enzimatic implicat în reducerea oxigenului, defect legat de cromozomul Xp 21.1.

Clinic se manifestă prin infecții provocate de diverse microorganisme Gram-negative (*Escherichia*, *Klebsiella*, *Serratia*) și Gram-pozitive (*Staphylococcus aureus* etc.). Nu se înregistrează afecțiuni induse de streptococi, pneumococi, deoarece ei produc propriul lor peroxid de hidrogen. Bacteriile cu implicare intracelulară nu sunt distruse, având ca rezultat formarea de granuloame compuse din aglomerate de macrofage activate datorate incapacității neutrofilelor și macrofagelor de digestie a microbilor inglobați. Bolnavii prezintă infecții cronice, supurative ale ganglionilor limfatici, pielii, organelor viscerale, hepato- și splenomegalie. Mai frecvent se înregistrează alterarea pulmonară indusă de *Aspergillus fumigatus* cu dezvoltarea unui proces purulent. Testarea statusului imun denotă hipergamaglobulinemie și rezultate pozitive în testul NBT. Funcția LT, LB, nivelul complementului au valori normale. Terapia include antibiotice, ținând cont de sensibilitatea microorganismelor la acestea. A fost demonstrată eficacitatea utilizării IFN- γ în tratamentul granulomatozei cronice (stimulează producerea de superoxid de către neutrofile).

Sindromul Chédiak-Higashi se caracterizează prin incapacitatea neutrofilelor de a elibera enzimele lizozomale, prin dereglări ale chemotactismului. Clinic se manifestă printr-o incidență crescută a infecțiilor piogene, a septicemiilor, induse prioritar de streptococi și stafilococi, albinism oculocutanat (deficit congenital al pigmentului de la nivelul ochilor, firelor de păr sau al pielii). Are loc infiltrarea limfocitară a diferitor organe (splenomegalie frecventă, hepatosplenomegalie, adenopatie etc.). Testarea imunologică denotă dereglări ale chemotactismului și fagocitozei neutrofilelor pe fundalul funcției normale a LT, LB și nivelului complementului. Se constată deficit al celulelor NK. Terapia maladiei include antibiotice, având un prognostic nefavorabil.

Deficitele expresiei moleculelor de adeziune sunt rezultatul diminuării expresiei LFA-1, Mo-1, p150, 95 dependente de cromozomul 21q 22.3. Dereglarea expresiei moleculelor de adeziune poate avea caracter genetic, dar poate fi și rezultatul utilizării salicilatelor, corticoizilor, adrenalinei, etanolului. Afecțiunea poate fi observată și la pacienții cu diabet zaharat, distrofie miotonică, arsuri masive, la nou-născuți. Clinic se manifestă prin abcese recidivante cutanate, pneumonie, afectarea stomacului și intestinului. Testarea clinică de laborator denotă leucocitoză ($15-20 \times 10^6/l$), spectru major de microorganisme cauzale. Terapia este cea antibacteriană, simptomatică.

Deficiențe ale sistemului complementului. Deficiențele primare ale sistemului complementului (C) se înregistrează mai rar (cca 1% din totalul imunodeficiențelor primare). Deficiențele genetice au fost descrise pentru majoritatea componentelor complementului (C1q, C1r, C1s, C2, C4, C3, C5, C6, C7, C8 și C9). Toate au o modalitate de transmitere autozomal-recesivă, cu excepția deficitului inhibitorului C1 (C1-INH), care se transmite autozomal-dominant. Mai frecvent în populația umană se constată deficitul C1r (1/100). Manifestările clinice ale deficitului diferitor componente ale complementului sunt elucidate în tab. 17.1.

Tabelul 17.1

Boli produse prin deficitul componentetelor sistemului complementului

Componentul deficitar	Manifestări clinice/boli asociate
C1q, C1r, C1s	Infecții piogene, boli autoimune (sindroame lupice, glomerulonefrite)
C2	Infecții piogene, sindroame lupice, vasculite, polimiozite, glomerulonefrite, purpura Henoch-Schönlein
C3	Infecții piogene grave (coci Gram negativi), glomerulonefrite, boli ale complexelor imune
C4	Sindroame lupice, glomerulonefrite
C5	Infecții gonococice recidivante, incidență înaltă a LES
C6	Infecții cu Neisseria, sindroame lupice, sindromul Sjögren
C7	Infecții cu Neisseria, sclerodermie, spondilita anchilozantă
C8	Infecții recidivante cu Neisseria
C9	Evoluează asimptomatic
Properdina, factorul D	Infecții piogene, infecții cu Neisseria, sinuzite, bronșite
Factorul H	Infecții piogene, glomerulonefrite
Factorul I (C3b inactivator)	Infecții piogene recidivante, boli cu complexe imune
C1 INH	Edem angioneurotic ereditar
DAF și CD59	Hemoglobinuria paroxistică nocturnă

Testarea asociației clinico-imunologice a componentelor complementului în diverse patologii indică rolul acestuia în eliminarea și/sau distrucția complexelor

imune, în mecanismele de opsonizare, în apărarea antibacteriană. Unele gene ale sistemului C sunt localizate în cromozomul 6 și sunt asociate cu genele sistemului HLA. Deficitul C1q se manifestă prin hipogamaglobulinemie, sindromul LES, vasculite sistemice, maladia Raynaud, infecții recidivante (septicemie, meningită), iar C1r prin infecții, glomerulonefrită cu depozite de IgM și C3b în rinichi, necroza pielii, sindromul LES.

Deficitul componentului C4 se înregistrează mai frecvent la fete, poate fi și asimptomatic. Se manifestă ca și sindromul LES, dar fără celule LE și anticorpi anti-ADN. Este posibilă apariția diabetului insulino-dependent, se constată hiperkeratoza pielii palmei și labei piciorului.

Deficitul C2 este însoțit de maladii autoimune, sindromul LES (fără Ac anti-ADN și celule lupice), fotosensibilitate crescută, vasculite, pneumonii, meningite, septicemii.

Deficitul C3 conduce la insuficiența opsoninelor. Este asociat cu sindromul LES, artralgi, dermatite, glomerulonefrite, maladii autoimune. Frecvent se înregistrează pneumonii, meningite, peritonite, induse de pneumococi, Neisseria, stafilococi.

Deficitul C5 induce insuficiența factorului chemotactic C5a și conduce la apariția infecțiilor meningococice, dezvoltarea LES.

Deficitul C6 conduce la dezvoltarea infecțiilor gonococice și meningococice, LES, sindromului Sjögren.

Deficitul C7-C9 este asociat cu LES și infecțiile recidivante induse de Neisseria.

Dereglaarea funcției complementului care participă în agregarea și solubilizarea complexelor imune poate fi cauza dezvoltării patologiei complexelor imune. Defectele sistemului complementului predispun la dezvoltarea nefritelor, LES, sindroamelor LES, vasculitelor. O dependență evidentă se constată între deficitul componentelor căii clasice de activare și maladiile complexelor imune (indivizii cu deficit de C1 și C4).

Scăderea activității hemolitice (CH50) poate fi observată ca o stare secundară în diferite maladii infecțioase și autoimune însoțite de formarea complexelor imune, dar ea poate indica și deficitul unui factor. În sânge pot apărea și produsele activării sistemului complementului care caracterizează procesul inflamator (anafilatoxine C4a, C3a, C5a, fragmente C4d, Ba, C3dg, complexe de atac membranar C5-C9 etc.). Aprecierea lor are importanță diagnostică.

Deficitul inhibitorului esterazei C1 (C1-INH) se caracterizează prin scăderea nivelului inhibitorului componentului C1 al sistemului complementului; nivelul LT și LB este apropiat de valorile normale. Sunt descrise 2 tipuri de defecte: tipul

I, în care este afectată gena și nu se formează ARN-transcriptaza inhibitorului C1, și tipul II, când se formează inhibitorul defect. Clinic, deficitul inhibitorului C1 (α_2 -neuroaminoglicoproteina) conduce la apariția edemului angioneurotic recidivant, care trebuie diferențiat de cel alergic. Are caracter familial. Gradul de manifestare a patologiei este divers. În absența completă a inhibitorului, apar edeme mai frecvent cu evoluție severă. Este posibilă insuficiența lui structurală și funcțională la un nivel normal. Sub influența efortului fizic, stresului etc., se activează factorul Hageman (factorul XII de coagulare a sângelui) care transformă plasminogenul în plasmină și care în absența C1-INH induce calea clasică de activare a complementului cu formarea peptidelor biologic active și creșterea permeabilității vasculare, apariția edemului. Apare edemul faringelui, intestinului, stratului adipos subcutan al membrelor, buzelor. Diagnosticul acestui deficit se bazează pe prezența edemelor recidivante independente de alergii, insuficiența C1-INH, activarea majorată nespecifică a C, scăderea completă a nivelului C4 în timpul edemului.

Terapia în perioada acută se realizează prin utilizarea C1-INH purificat, adrenalinei, corticosteroizilor, plasmei congelate, acidului ϵ -aminocaproic și androgenilor, metiltestosteronului, stanazolului.

Receptorii de legare a complementului. La testarea nivelului C și a componentelor lui, concomitent este utilă aprecierea receptorilor leucocitari de legare a C: pe LB – C1q, CR1 (pentru C3b), CR2 (pentru C3a); pe fagocite – CR3 (pentru C3b), CR4 (pentru C3a), C1q; pe eritrocite-CR1. Această determinare permite aprecierea mai veridică a rolului C în patologie. Deficitul congenital al receptorului CR1 pe eritrocite poate fi cauza LES, iar absența CR1 pe glomerule predispozează la dereglarea clearance-ului complexelor imune și la dezvoltarea glomerulonefritei proliferative.

Deficitele opsoninelor (complementului, proteinei de legare a manozei, anticorpilor) pot fi cauza insuficienței fagocitozei. Defectul congenital al genelor proteinei de legare a manozei sangvine (norma 0,1-0,5 mg/ml) conduce la dereglarea înglobării bacteriilor și fungilor (candida etc.), care conțin manoză și facilitează dezvoltarea infecțiilor recidivante.

Deficitul interferonilor (α , β , γ) primar și secundar este una din cauzele principale ale infecțiilor virale. Scăderea nivelului de IFN- γ se constată în multiple deficite genetice ale receptorului pentru IFN- γ , subunității p40 lanțului β 1 și a IL-12, factorului de transcripție STAT, receptorului IL-23. Este afectată diferențierea LT-helper 1, iar bolnavii sunt susceptibili la infecțiile induse de agenții intracelulari: micobacterii, salmonelle, chlamidii, virioni. Răspunsul Th2 și sinteza de Ac la ei sunt majorate.

Deficitul lizozimului și cel al lactoferinei au fost apreciate în perioada acută a multor maladii, dar nu este clar dacă are caracter primar sau secundar. Nivelul lizozimului și cel al lactoferinei sunt scăzute în lavajul bronșic la copiii cu maladii nespecifice ale tractului respirator, care se normalizează la însănătoșire.

Numărul imunodeficiențelor identificate crește încontinuu. Sunt cunoscute defecte ale genelor responsabile de sinteza citokinelor, receptorilor de legare, sistemelor care transmit semnalele intracelular de la receptori. Ele pot fi dependente de polimorfismul genelor receptorilor imunității congenitale (TLR etc.), ale citokinelor diferitor indivizi, aparente în urma substituirii nucleotidelor care conduc la scăderea sau majorarea producției de receptori respectivi și de citokine. Acțiunea diferitor agenți în aceste situații conduce la majorarea sau scăderea nivelului lor. Nivelul scăzut de producție a citokinelor, ca și cel majorat la acțiunea LPS (endotoxinei), poate fi cauza dezvoltării sepsisului. Infecția BCG diseminată este asociată la copii cu defectul producției de TNF- α de către macrofage la stimularea cu IFN- γ ; a fost identificat defectul receptorului IFN-rR1 și mutația genei cromozomului 6q22-q23. Au fost descrise defecte ale IL-2 și receptorului IL-2, ale chemokinelor, integrinelor etc. cu dereglarea proceselor de cooperare.

Imunodeficiențele sunt asociate atât cu leucopenii, cât și cu leucocitoză. Neutrofilele sunt sensibile la acțiunea diferitor agenți infecțioși și neinfecțioși care frecvent conduc la creșterea nivelului și la activarea lor. Neutrofilia fiziologică se constată la efortul fizic, alimentare, graviditate fără modificarea proprietăților. Neutrofilia patologică se constată în procesele inflamatoare și reflectă severitatea lor. După dinamica nivelului de neutrofile, poate fi prognozată evoluția maladiei. Apariția în sânge a celulelor tinere (absente în normă) indică un proces sever. Deviația formulei leucocitare în stânga este un criteriu nefavorabil care poate fi caracterizat după coraportul nesegmentatelor la cele segmentate (în normă 1:15-1:30). Apariția granulelor patologice, de asemenea, este un criteriu nefavorabil.

Imunodeficiențele secundare

Conform clasificării internaționale a maladiilor (revizia 10), imunodeficiențele secundare (IDS) sunt apreciate ca dereglări imune aparente în urma maladiilor somatice și a altor boli, de asemenea a diferitor factori. Apreciind noțiunea de imunodeficiență secundară, este necesar de a menționa că acest sindrom clinico-imunologic a apărut pe fundalul funcției normale anterioa-

re a sistemului imun și se caracterizează prin scăderea persistentă a indicilor cantitativi și/sau funcționali ai factorilor specifici și/sau nespecifici ai rezistenței imune și prezintă un risc în dezvoltarea bolilor infecțioase cronice, patologiei autoimune, bolilor alergice, creșterii neoplazice. Imunodeficiențele secundare sunt mult mai frecvente, comparativ cu cele primare, totodată, mai puțin severe. Există numeroase clasificări ale imunodeficiențelor secundare care încearcă să epuizeze o gamă cât mai largă de mecanisme: după timpul de dezvoltare, nivelul alterării, extinderii, gradului de severitate etc. O clasificare unică a acestei patologii nu există.

Cauzele de dezvoltare care conduc la instalarea imunodeficienței secundare, conform datelor experților OMS, cu unele completări, sunt elucidate în tab. 17.2.

Tabelul 17.2

Cauzele dezvoltării imunodeficiențelor dobândite

Secundare / consecință a altor boli	
Infecțiile virale acute, persistente:	Rujeola, rubeola, gripa, parotidita epidemică, vari-cela, hepatitele, herpesul, infecția cu HIV, complexul TORCH etc.
Infecțiile bacteriene: cronice și/sau acute sistemice	Infecțiile stafilococice, pneumococice, meningococice, tuberculoza, leptospiroza, rickettsiozele, febra Q, bruceloza, lepra etc.
Invaziile protozoare și helmintiazele	Malaria, toxoplasmoza, leishmanioza, trichineloză, ascaridoza, toxocaroză, lamblioza etc.
Dereglarea alimentării	Subnutriția proteică, alimentația unilaterală sau de altă natură, pierderile proteice în arsuri, enteropatii, patologiile renale, catabolismul crescut, cașexia, deficiența microelementelor (Zn, Cu, Fe), vitaminelor (A, C, E, acidul folic etc.), obezitatea
Tumorile maligne	Bolile limfoproliferative – leucemiile acute și cronice, limfoamele, mieloamele, boala Hodgkin, metastazele osoase ale tumorilor solide, canceretele avansate, metastazele diseminate
Maladiile autoimune	LES, AR, glomerulonefritele etc.
Stările care conduc la pierderea celulelor imunocompetente și a imunoglobulinelor	Hemoragiile, limforeea, arsurile, nefritele etc.

Iatrogene	
Imunosupresia medicamentoasă	Corticosteroizii, alkilanții (ciclofosfamida, clorambucilul), antagoniștii purinelor (azatioprina, 6-mercaptopurina), ciclosporina A, FK 506, ser/gamaglobulinele antilinfocitare, anticorpi monoclonali anti-LT, anti-subpopulațiile T, anti-moleculele de adeziune etc.
Alotransplantul măduvei osoase	Reacția transplant contra organismului gazdei
Iradieră în doze mari	Raze X, emițătoare α , β , γ (pacienții cu cancer)
După plasmafereză/dializă	În bolile renale cronice
Șocul operator traumatic	Inclusiv după anestezie (dar de scurtă durată), splenectomie
Alte cauze	
Imunodeficiențele „naturale”	Imaturitatea copilului, imunosenescența, graviditatea
Substanțele imunotoxice endogene și exogene	Intoxicațiile cu substanțe chimice, pesticide, metale grele, tirotoxicoza, diabetul zaharat decompensat etc.
Toxicomania	Mai ales la drogurile utilizate i.v.
Depresiile, șocul psihic	Inclusiv epuizarea fizică sau psihică (intelectuală, nervoasă etc.).
Dereglarea neurohormonală	Stările stresante fizice și psihice
Hipo/hipertermia	Imunodeficiența europenilor aflați la poli sau tropice

Manifestările clinice și indicii de laborator ai imunodeficiențelor primare și secundare sunt asemănătoare, inclusiv existența interdependenței caracterului dereglărilor imune cu agentul etiologic. Diferența principală este cauza care stă la baza perturbărilor imune: în cele primare – defectul congenital, iar în cele secundare cel dobândit. Atât imunodeficiențele primare, cât și cele secundare pot fi condiționate de dereglarea unei sau câtorva verigi ale SI: umorală (sistemul B), celulară (sistemul T), fagocitară, a sistemului complementului.

Criteriile principale ale imunodeficienței secundare sunt:

- prezența sindromului clinic asociat cu infecție;
- absența determinismului congenital și genetic;
- aparența pe fundalul reactivității normale în legătură cu maladii, acțiunea factorilor nocivi, fizici și biologici, a procedeeelor și remediilor terapeutice;

- persistența imunodeficienței (la evoluția cronică) după tratamentul eficace al maladiei de bază și excluderea factorilor care l-au indus;
- absența normalizării spontane a statusului imun;
- recidivarea imunodeficienței secundare pe fundalul terapiei obișnuite.

Patogeneza IDS este heterogenă, iar aprecierea verigii defecte este dificilă, uneori chiar imposibilă și de aceea mai frecvent se constată dezechilibrul diferitor indici ai SI (tab. 17.3).

Tabelul 17.3

Caracteristica indicilor imunologici în imunodeficiențele secundare

Indicii principali	Inductorii imunodeficiențelor secundare			
	Infecția virală	Infecția bacteriană	Maladiile cronice nespecifice	Stresul (traumatismul, intervenția chirurgicală, efortul fizic etc.)
Limfocite	↓	↑/↓ sau ↓	↑/↓	↓
Limfocite T (cantitatea)	↓	↓	↓	↓
CD 4(Th)	↓	↑/↓ sau ↑	↓/↑	↓
CD 8 (Tc/s)	↑/↓	↑	↑	↑
RTBL-T(PHA)	↓	↓	↓	↓
Limfocitele B	↑	↑	↑	↑/↓
B-Ig	↓/↑	↑/↓	↑/↓	↑/↓
Anticorpii	↓	↑	↑/↓	↓
Ig serice	Dlg	Dlg	Dlg	Dlg
HTI	↑/↓	↑/↓	↑/↓	↓
HTÎ	↑/↓	↑/↓	↑/↓	↓
Celule NK	↓	↑/↓	↑/↓	↓
Neutrofile - receptorii - fagocitoza	↑/↓ ↑/↓ ↓	↑ ↓/↑ ↓/↑	↑/↓ ↓/↑ ↓/↑	↑ ↑/↓ ↑/↓ ↑/↓
Interferonii	↓	↑	↑/↓	↑/↓
Probele cutanate cu Ag specifici	↓	↑mai rar ↓	↑	↓
Cu alți Ag	↑/↓	↓	↑/↓	↓

Notă: ↑ – majorate; ↓ – diminuare; ↑/↓ – variația indicelui; Dlg – disimunoglobulinemie;

HTI – hipersensibilitate de tip imediat; HTÎ – hipersensibilitate de tip întârziat.

Limfocitopeniile secundare apar după terapia imunodepresivă cu citostatice, iradierea ionizantă, infecțiile virale, maladiile autoimune etc. Mai bine studiate

sunt dereglările celulelor imunoreglatoare. Deficitele secundare cu scăderea sau majorarea activității celulelor supresoare sau Th1 și Th2 pot fi cauza apoptozei unor subpopulații indusă de diferiți agenți. Inhibiția sau majorarea funcției unei subpopulații limfocitare T conduce la dezechilibrul imun (modificarea corapurului lor) în urma căruia se dezvoltă dereglări ale altor verigi ale SI. Se modifică activitatea LT, sinteza Ig, are loc dereglarea funcției macrofagelor în activitatea fagocitară și de producție a citokinelor însoțită de insuficiența sau hiperproducția imunoglobulinelor. În proces sunt antrenați atât factorii sistemici, cât și cei locali cu modificarea indicilor statusului imun (adică imunodeficiența). Frecvent se înregistrează dezechilibrul dintre Th1 și Th2, caracteristic multor infecții intracelulare (tuberculoza, chlamidioza, rickettsioza etc.), invaziilor cu protozoare (leișmanioza etc.). Inducția activității majore a Th2 și anticorpilor în aceste infecții nu contribuie la stabilirea imunității dependentă de Th1. O situație identică apare în infecțiile virale, în special în infecția HIV.

Inhibiția activității bactericide a granulocitelor, chemotactismului, minorizarea concentrației receptorilor lor poate induce modificarea esențială a altor verigi ale SI. Scăderea activității fagocitare poate fi determinată de dereglările opsonizării (diminuarea nivelului de taftsină la splenectomie, nivelului de complement în LES, ciroza hepatică), de utilizarea glucocorticosteroidilor, scăderea concentrației de IgG/IgM în mielomul multiplu, agamaglobulinemie, insuficiența alimentară; reducerea fibronectinei, nivelului de IgG2 în sindromul Sjögren, infecțiile pneumococice; deficitul selectiv al subclaselor IgG etc.), dereglarea fixării C1 și IgG la bacterii sub influența factorului reumatoid, sindromului hiperimunoglobulinemiei A, hiperglicemiei (dereglarea funcției de fixare la agentul patogen), sindromului disfuncției actinei, hipofosfatemiei etc. Defectele adaptive ale chemotactismului pot fi rezultatul dereglării producției de chemoatractanți (scăderea nivelului de C5a influențată de factorii inactivanți – maladia Hodgkin, ciroza hepatică, uremia; hipercatabolismul – LES, glomerulonefrita acută, maladia complexelor imune; acțiunea corticosteroidilor; distrucția locală a C de produsele bacteriene, de ex., elastaza de *Pseudomonas aeruginosa*, dereglarea metabolismului acidului arahidonic influențat de indometacin, salicilate și alte remedii antiinflamatoare nesteroidice care blochează producția de prostaglandine și leucotriene. Scăderea activității fagocitare poate fi rezultatul dereglării funcției de înglobare a particulelor (leucemia acută, anemia aplastică), formării granulelor și degranulării granulelor azurofile și specifice (leucemia limfoblastică, mieloleucemia acută), dereglării metabolismului intracelular (iradierea, granulomatoza cronică, AR), structurii membranei și diminuării cantitative a diferitor receptori și molecule de adeziune (sepsisul, procesele purulente etc.). Inhibiția activității bactericide se observă la acțiunea toxinelor (granulația toxică), în infecțiile virale și bacteriene severe, arsuri, leucemii etc.

Neutropenia secundară poate fi constatată după terapia imunodepresivă cu citostatice, în infecțiile virale (mononucleoza infecțioasă, hepatita B, rujeolă etc.), la prezența autoanticorpilor anti-neutrofile (sindromul Felti, LES etc.), în maladiile mieloproliferative, unele infecții (tuberculoză, bruceloză, tularemie, malarie, rickettsioze etc.), deficite ale vitaminelor, Fe și în utilizarea unui șir de remedii medicamentoase (chloramfenicol, preparatele sulfului, penicilina semisintetică, fenindion, meprobamat, anticonvulsive etc.).

Neutropenia tranzitorie se dezvoltă în hemodializă datorită activității C1 și fixării neutrofilelor în pulmoni.

Complementul participă în diverse faze ale răspunsului imun. Surplusul de complexe imune în infecții și maladiile autoimune induce hipocomplementemia, apariția în sânge a produselor de activare a C pe cale clasică (C2, C4 etc.). Este posibilă depozitarea C fixat de complexe imune subendotelial (vasculite) și subepitelial (cu alterarea epitelului).

Remediile radioopace care conțin iod, administrate i.v. activează C și pot induce șocul anafilactic. Autoanticorpii IgG anticomplementul C3, factorul nefritic (NF) stabilizează C3-convertaza, activează calea alternativă și depozitarea complementului sub membrana glomerulelor renale cu apariția glomerulonefritei membranoproliferative cronice. După arsuri, formarea chemotoxinelor C3a, C5a la activarea C conduce la acumularea neutrofilelor în pulmoni și la dezvoltarea „pulmonului de șoc”.

Astfel, modificările induse în sistemele enumerate pot conduce la apariția imunodeficiențelor secundare. Clasificarea IDS, de regulă, se bazează pe etiologia lor. Dar trebuie menționat faptul că la una și aceeași cauză frecvent apar imunodeficiente diverse la diferiți pacienți.

Clasificația și caracteristica imunodeficiențelor secundare

Imunodeficiența secundară combinată

Sindromul panleucemic se manifestă prin reducerea cantitativă a tuturor leucocitelor, pustiirea măduvei osoase, inhibiția formării de colonii. Există diferite variante: toxic, autoimun, infecțios, radioactiv. Clinic se constată infecții severe, sepsis. Varianta aloimună posttransplant se constată prin reacții transplant contra gazdei.

Sindromul leucopenic se manifestă prin diminuarea sangvină a cantității relative și absolute a neutrofilelor, altor granulocite, limfocitelor. Leucopenia se constată în maladiile autoimune, intoxicații (benzol etc.), infecțiile virale (HIV etc.), terapia citostatică, iradierea cu razele Rn, raze X, în deficiența vitaminelor (B₁₂ etc.) și microelementelor, leucemii (forme aplastice), infecții severe (sepsis etc.).

Sindromul limfocitopenic total se caracterizează prin limfocitopenie T și B (reducere cu 15% și mai mult). Sunt cunoscute variante autoimune cu anticorpi antilimfocitari, limfocitopenică ca rezultat al distrucției limfocitelor indusă de fac-

torii exogeni, limfocitolitică virală. Este posibilă hipoplazia ganglionilor limfatici, amigdalelor, altor formațiuni limfoide. Clinic se constată infecții locale și generalizate virale, bacteriene recidivante, uneori splenomegalia.

Sindromul activării policlonale a limfocitelor se caracterizează prin apariția în sânge a anticorpilor de diversă specificitate (la autoantigeni, creșterea titrului lor la alți Ag), hiperplazia foliculelor ganglionilor limfatici, creșterea nivelului IgG și a altor imunoglobuline, scăderea cantității LT-supresoare și majorarea T-helperilor, LB, la un nivel apropiat de normă a LT totale. Este însoțit de hiperactivarea altor verigi ale SI (macrofagelor etc.). Manifestările clinice sunt maladiile infecțioase, autoimune, alergice.

Sindromul limfadenopatiei (localizat și generalizat) se stabilește la prezența hiperplaziei ganglionilor limfatici cu nivel normal de limfocite în sânge sau cu limfocitopenie T. Clinic se constată subfebrilitate de lungă durată, disfuncții vegetative (distonice, algii cardiace etc.).

Sindromul hipertrofiei și hiperplaziei amigdalelor și adenoizilor. Se constată disfuncții cantitative și funcționale ale leucocitelor și citokinelor, iar clinic – tonzilită cronică, adenoizi. Este o variantă a imunodeficienței secundare totale.

Sindromul posttonzilectomie se caracterizează prin scăderea moderată a LT, dezechilibrul subpopulațiilor limfocitare T, disimunoglobulinemii, minorizarea nivelului de IgM (scăderea LB-1). Clinic se manifestă prin infecții recidivante nazofaringiene și ale căilor respiratoare superioare. Se constată hiperplazia țesutului limfoid pe peretele posterior al nazofaringelui și în regiunea arcurilor amigdalelor.

Sindromul postsplenectomie. Asplenia dobândită. Este inhibată producția de anticorpi la antigenii T-independenți (streptococi etc.), posibil limfopenia T celulară, scăderea răspunsului imun primar, nivelului LT CD4⁺CD45RA⁺ (naive), concentrației IgM și opsoninelor.

Statusul predispune la infecții bacteriene, virale și fungice. După splenectomie crește riscul dezvoltării infecțiilor pneumococice pulmonare, adeseori sepsisul cu participarea H. influenzae, Neisseria, Staphylococcus. Printre pacienții cu splenectomie letalitatea în sepsis se constată de 200 ori mai frecvent, comparativ cu populația obișnuită. Pot fi înregistrate malaria, bruceleza etc.

Hiperplazia persistentă a timusului. Sindromul timico-limfatic. Se caracterizează prin timomegalie, insuficiența suprarenalelor și activității funcționale a limfocitelor. Clinic se constată adinamia, pielea palidă marmorie, dispnee, microlimfadenopatie, sindromul morții subite a copiilor.

Sindromul patologiei complexelor imune asociat cu maladiile infecțioase, autoimune și alergice se caracterizează prin nivele înalte de complexe imune în sânge, depozitarea lor în țesuturi, scăderea activității fagocitelor, inhibiția activității receptorilor Fc a limfocitelor, hepatosplenomegalie, teleangiectazie, vasculite în maladiile autoimune, alergice, infecțioase.

Imunodeficiența secundară dismetabolică se constată în:

- deficitul microelementelor – Zn (atrofia țesutului limfoid, inhibiția funcției T-helperilor și neutrofilelor, acrodermatita enteropatică) și cu Mg (neutropenia, dereglarea funcției fagocitelor și LT);
- imunodeficiența asociată cu nivelul înalt al Fe;
- imunodeficiența asociată cu hipovitaminoza C – dereglarea funcției fagocitelor, inhibiția sintezei de anticorpi etc.;
- imunodeficit la insuficiența proteinelor (alimentară etc.), dislipoproteinemii și dereglarea metabolismului glucidic.

Imunodeficiența secundară celulară de tip T

Sindromul limfocitopenic T se constată la scăderea temporară (10-20%) a valorilor relative și absolute ale LT în sânge după stres, traume, efortul fizic și chiar la vaccinare. Cantitatea LB este normală sau majorată moderat. Această limfopenie T tranzitorie, de regulă, dispare după eliminarea cauzelor care au indus-o. Majoritatea maladiilor inflamatoare de asemenea conduc la reducerea nivelului LT. Scăderea LT în stresul acut și inflamație este însoțită de creșterea cantitativă în sânge a LB (CD19⁺, CD20⁺, CD22⁺, CD72⁺), ca rezultat al intensificării recirculației, activării și sintezei imunoglobulinelor. Componenta LT și LB se normalizează după întreruperea „sindromului de încordare”.

Sindromul limfocitopenic T este constatat și la scăderea esențială a nivelului LT chiar și în perioada de remisiune confirmată la cercetarea repetată a statusului imun. Cauzele acestei stări sunt multiple: prezența Ac anti-LT (autoimun), stresul, acțiunea toxică a remediilor farmaceutice, virionii, procesele dismetabolice, în sarcoidoză, limfogranulomatoză, leucemia T etc. Clinic, patologia este manifestată prin infecții virale recidivante cu evoluție de lungă durată în asociere cu cele bacteriene, purulente.

Imunodeficiența comună variabilă cu predominarea dereglărilor limfocitelor imunoreglatoare se caracterizează prin indice imunoreglator (CD4/CD8) mai mic de 1,4. Cu cât valoarea acestui indice este mai mică, cu atât imunodeficiența este mai exprimată.

Majorarea activității Th2 este asociată cu alergii, unele maladii autoimune (LES etc.), ineficacitatea imunității în infecțiile bacteriene intracelulare (microbacterii, chlamidii etc.), virale (HIV, hepatite, herpes etc.). Diagnosticul se stabilește la depistarea și confirmarea acestor dereglări la acutizarea maladiilor și în perioada de remisiune. Clinic sunt manifeste maladiile alergice, autoimune, infecțiile recidivante cu diversă localizare.

Limfocitopenia CD4 idiopatică cu nivel scăzut (20% din totalul limfocitelor) de LT CD4 se evidențiază în absența infecțiilor virale, factorilor nocivi, terapeutici. Dinamica poate fi benignă, dar uneori se dezvoltă infecții oportuniste, dacă concomitent se observă hipogamaglobulinemie și nivel scăzut de LB.

Sindromul deficitar al citokinelor și receptorilor lor. Sunt cunoscute defecte ale sintezei IL-2, receptorilor pentru IL-2, factorului de inhibiție a macrofagelor (MIF), IFN- γ , TNF- β etc. Se constată la confirmarea multiplă a defectului.

Imunodeficiența secundară celulară B

Sindromul imunodeficienței secundare se constată în tumorile celulare B (plasmocitoma, maladia Waldenström, limfocelulemiile B și limfoamele).

Panhipogamaglobulinemia se caracterizează prin hipoplazia foliculelor limfoidice, atrofia ganglionilor limfatici, reducerea concentrației gamaglobulinelor serice, scăderea nivelului de anticorpi naturali și imuni, absența sau prezența agenților toxici, concentrația scăzută a IgG, IgM, IgA în ser, salivă, alte secrețe la un nivel normal sau scăzut moderat al LT și activității funcționale a lor. Clinic predomină infecțiile bacteriene recidivante ale căilor respiratoare, pulmonilor, altor organe, meningitele, sepsisul.

Disimunoglobulinemiile secundare apar deseori după infecțiile virale, efortul fizic major, insuficiența vitaminelor și microelementelor. Se constată modificarea coraportului imunoglobulinelor cu scăderea obligatorie a concentrației unei clase pe fundalul normal sau majorat al nivelului celorlalte. Pot fi disimunoglobulinemii: gAM, GaM, GAm, de asemenea, combinate – scăderea nivelului a 2 imunoglobuline: Gam, gaM (tab. 17.5). Clinic se constată infecții bacteriene recidivante.

În tipul I (Gam) sunt absente sau scăzute nivelul IgA și IgM cu dezvoltarea la adulți a enteropatiei gastrointestinale, iar la copii se constată limfadenopatii frecvente, otite, bronșite, pneumonii.

Tipul II (gaM) este însoțit de nivele minime ale IgG și IgA la concentrația maximă a IgM. Se constată piodermie, pneumonie care conduce la bronșiectazie.

Tabelul 17.5

Clasificația disimunoglobulinemiilor

Sistemul european de marcare, tip	Sistemul american de marcare, tip	Concentrația imunoglobulinelor		
		G	A	M
I	II	G (N)	a (↓)	m (↓)
II	I	g (↓)	a (↓)	M (↑)
III	IV	g (↓)	A (N)	M (N)
IV	III	G (N)	a (↓)	M (N)
V	V	G (N)	A (N)	m (↓)
VI	VI	G (N)	A (N)	M (N)
VII	VII	g (↓)	A (↑)	m (↓)

Notă: G, M, A – concentrație normală sau majorată de imunoglobuline serice sangvine; g, a, m – absența sau scăderea esențială a concentrațiilor: ↓ – minorizare; ↑ – majorare; N – nivel normal.

Tipul III (gAM) cu nivel scăzut de IgG (sau absență) este manifest prin colenterite și enteropatii asemănătoare celiachiei. Deficiența de IgG1, IgG2 la copii, uneori de IgG3 se asociază cu deficitul de IgA manifestat prin infecții bacteriene.

Tipul IV (GaM) se caracterizează prin deficit de IgA, adeseori însoțit de apariția autoanticorpilor anti-IgA (asemănători FR) în asociere cu autoanticorpi anti-nucleari etc. și manifestări de LES, AR etc. În salivă, în secretele traheobronhiale, intestinale este absentă sIgA (sau este scăzută esențial). Deficitul secretoriu de IgA frecvent se combină cu deficitul IgA seric și se înregistrează în diaree, în sindromul malabsorbției. Insuficiența sIgA poate evolua și asimptomatic. Clinic se înregistrează bronșite cronice, parodontite, tonsilite, otite, diaree, infecții urogenitale etc.

Tipul V (GAm) este manifest prin scăderea sau absența IgM și izohemaglutininelor, anticorpilor anti-bacteriile Gram-negative. Poate fi însoțit de sindromul atopic sau nefrotic. Este posibilă legătura cu sindromul posttonzilectomie și micșorarea populației LB-1.

Tipul VI al disimunoglobulinemiilor se caracterizează prin absența Ac antigenii microbieni recoltați la infecții (de ex., streptococi, H. influenzae etc.) pe fundalul nivelurilor normale de imunoglobuline. Este înregistrat în infecțiile recidivante, inclusiv rinosinuzite și otite.

Sindromul hiper-IgA pe fundalul scăderii concentrației IgG și IgM (tipul VII) este asociat bronșitelor și pneumoniilor frecvente. La copii sunt posibile haimorite, mastoidite, meningite.

Defecte ale killerilor naturali sunt apreciate la scăderea lor cantitativă și a funcției lor. Se constată în infecțiile virale, bacteriene, în tumori.

Deficitele dobândite ale macrofagelor și granulocitelor se constată în mieloleucemii. Sindromul *hiperactivării macrofagelor – monocitelor* se manifestă prin monocitoză, majorarea IL-1, TNF- α , altor citokine proinflamatoare, artrite, infecții virale și bacteriene etc.

Pangranulocitopenia, agranulocitoza se manifestă prin scăderea esențială în sânge a cantității granulocitelor sau neutrofilelor. Există variante autoimune, alergice, toxice, infecțioase. Clinic se constată maladii purulente, sepsis, eroziuni ale mucoaselor.

Sindromul eozinofilic cu majorarea cantității de eozinofile în sânge, secrețe, țesuturi se observă în maladiile alergice, autoimune, în invaziile parazitare.

Deregările funcționale ale PMN includ un grup heterogen de imunodeficiențe dependente de defecte ale unor funcții ale leucocitelor.

Deficitul receptorilor neutrofilelor și moleculelor de adeziune se manifestă prin scăderea sau absența neutrofilelor cu receptori corespunzători, prin reducerea adeziunii lor la celule. Se manifestă în infecțiile purulente.

Deficiența activității chemotactice a neutrofilelor este manifestată prin scăderea mobilității spontane și induse în infecțiile bacteriene.

Deficiențele activității metabolice se constată la scăderea indicilor testului NBT, activității mieloperoxidazei, altor enzime și se manifestă în mieloleucemie.

Deficiența activității de înglobare a neutrofilelor se caracterizează prin reducerea numărului și a indicelui fagocitar manifest în mieloleucemii.

Deficiența activității digestive a neutrofilelor se constată prin absența sau scăderea digestiei microorganismelor manifestă în procesele recidivante ale pielii, mai rar ale altor țesuturi și organe.

Sindromul hipocomplementemiei cu scăderea activității hemolitice a complementului în sânge, prezența esențială a CIC este observat în maladiile autoimune, alergice și infecțioase. Pot fi constatate și deficite ale unor factori ai C, properdinei etc.

Deficitele în sistemul interferonilor (α , β , γ) sunt asociate infecțiilor virale, frecvent însoțite de cele bacteriene, în special ale mucoaselor.

Deficitele factorilor umorali ai imunității naturale și opsonimelor (lizozim, PCR etc.) sunt manifeste prin dereglarea opsonimizării bacteriilor și candidiei, prin apariția infecțiilor, inhibiția fagocitozei.

Deficitele sistemului trombocitar se manifestă prin sindromul trombocitopenic cu prezența Ac antitrombocitari (în maladiile autoimune, alergice, toxice, infecțioase) și dereglarea adeziunii și funcției trombocitelor. Clinic se constată purpura trombocitopenică.

Evoluția imunodeficienței secundare poate avea caracter acut, subacut sau cronic. Forma acută a IDS se observă la iradierea cu doze mari, la utilizarea dozelor majore de corticosteroizi, imunodepresante, la infectarea cu doze mari de microorganisme cu virulență majoră. În cazul terapiei fără suplimentare cu remedii imunocorectoare, forma acută evoluează în formă torpidă, ulterior în cea cronică. În IDS de gradul I se constată scăderea indicilor statusului imun cu 15-30%, de gradul II – cu 31-55% și de gradul III – cu 65% și mai mult.

Sindroame imunodeficitare

Imunodeficiența variabilă comună la adulți poate fi observată în infecțiile virale, la acțiunea factorilor ecologici nocivi, unor procedee și metode terapeutice, factorilor profesionali etc. Manifestările clinice heterogene sunt însoțite de dezechilibrul indicilor SI (insuficiența cantitativă și funcțională a LT, LB, subpopulațiilor limfocitare, disimunoglobulinemii, dereglări ale PMN, complementului etc.). Mai frecvent criteriile imunologice ale imunodeficienței variabile la adulți sunt limfocitopenia T (scăderea cantitativă a LT CD3⁺ cu 15% și mai mult), reducerea IIR (CD4/CD8 < 1,3), majorarea expresiei markerilor

de activare pe limfocite (CD25, CD71, HLA-DR etc.), disimunoglobulinemia (ca deficit al unei sau a 2 subclase pe fundalul hiperproducției altor clase etc.), dereglarea activității fagocitelor, predominarea activității Th1 sau Th2 cu producția citokinelor respective, dereglarea statusului interferonic, hipocomplementemia, scăderea nivelului sau absența Ac naturali și imuni anti-microbieni, anti-toxine etc. Aceste modificări ale statusului imun sunt asociate cu leucocitoză sau leucopenie, hipo- sau hipergamaglobulinemie, majorarea VSH, PCR, posibil, monocitoză, eozinofilie. Microflora din focare include un spectru larg de bacterii convențional patogene (stafilococi, streptococi, E. coli, Neisseria, Klebsiella, H. influenzae, micoplasme, chlamidii etc.) și fungii Candida albicans. Frecvent se constată virusuri, Ac anti-virali și Ag lor (herpes, CMV, virus Epstein-Barr, hepatotropi etc.).

Formele clinice ale imunodeficienței variabile la adulți sunt dependente de geneza lor și de predominarea insuficienței verigii concrete a SI. De regulă, ele includ infecțiile virale, bacteriene, fungice ale organelor ORL, bronhopulmonare, ale tractului digestiv, urogenital, limfadenopatie și splenomegalie. Frecvent sunt alterate mucoasele cu testarea insuficienței sIgA, lizozimului etc., manifeste prin haimorite cronice purulente, sinuzite, otite, bronșite cu ineficacitate la terapia antibacteriană. Uneori predomină alterarea pulmonilor cu pneumonii recidivante asociate cu bronșite, fibroză care conduc la bronșiectazie, emfizem. Alterarea tractului gastrointestinal este manifestă prin gastrite și duodenite recidivante asociate cu H. pylori. Enterocolitele cronice pot conduce la apariția sindromului de malabsorbție. Terapia antibacteriană insistentă intensifică disbacterioza intestinală. Asocierea posibilă a infecțiilor micotice conduce la candidoză mucocutanată. Pielonefritele cronice și alterarea sistemului urogenital pot fi induse de chlamidii, micoplasme etc.

Insuficiența imunității frecvent conduce la apariția sindroamelor autoimune. Anemia hemolitică, neutropenia, trombocitopenia, tiroiditele autoimune, neoplaziile limforeticulare pot fi însoțite de imunodeficiență secundară. Stimularea persistentă a celulelor SI poate conduce la dezvoltarea sindroamelor limfoproliferative, la apariția limfoamelor, limfosarcoamelor.

Mai frecvent se întâlnesc limfadenopatiile cu majorarea amigdalelor, ganglionilor limfatici de diversă localizare. Terapia imunodeficienței secundare la adulți include remedii antibacteriene, substitutive, imunostimulante, vitamine etc.

Sindromul oboselii cronice (SOC) este caracterizat prin oboseala debilitantă la care se asociază o serie de simptome fizice, constituționale și psihologice. În trecut, o serie de persoane etichetate cu diferite diagnostice, ca neurostenia, sindromul de efort și de oboseală postvirală, neuromiastenia epidemică etc., sufereau, probabil, de SOC, așa cum este definit de Centrul SUA pentru Controlul și Preven-

ția bolilor (CDC). În clasificarea maladiilor a fost evidențiat ca formă nosologică (F48) maladivă.

Ca maladie de sine stătătoare, asociată cu disfuncția sistemului imun (*CFIDS – Chronic Fatigue Immune Dysfunction Syndrome*), a fost descrisă în 1988, în SUA. Prevalența la femei este de 2-3 ori mai mare, comparativ cu bărbații, cu afectarea predominantă a vârstei între 25 și 45 de ani, deși se descriu cazuri și în copilărie sau la vârsta a treia.

Există numeroase teorii și ipoteze referitoare la cauzele posibile ale acestuia. Au fost incriminate virusurile, datorită faptului că sindromul urmează adesea după o serie de infecții acute. Mai frecvent participă în dezvoltarea SOC virusurile Epstein-Barr, Herpes 1, 2, 6, 7, Cocksackie A și B, CMV, enterovirionii, posibil, chlamidiile etc. La pacienții cu SOC s-au raportat numeroase perturbări imune subtile manifeste prin leucocitoză, limfopenie, reducerea concentrației de imunoglobuline (clase, subclase), majorarea IgE, markerilor inflamatori (PCR, C3, neopterină), dezechilibrul CD4⁺/CD8⁺, citokinelor, scăderea activității celulelor NK, majorarea nivelului de IFN etc. Ele nu sunt specifice acestui sindrom și nici nu se întâlnesc la toți pacienții. Unii autori consideră că SOC este o maladie la indivizii predispuși genetic și se manifestă prin dereglări polifuncționale dependente de alterarea regiunii tempo-limbice a SNC și SI, cu prezența acuzelor bolnavilor și absența criteriilor clinice.

Anomaliile neuroendocrine pot contribui la afectarea stării energetice. La 2/3 dintre pacienți se constată o depresie ușoară spre medie. Simptomele apar brusc, la indivizii anterior activi – după o afecțiune de tip gripal sau stres acut, se remarcă adesea ca evenimente trigger, urmate de o epuizare insuportabilă. Apar și alte simptome ca: cefalee, dureri în gât, mialgii și dureri articulare, adenopatii sensibile și stare febrilă. În câteva săptămâni, devin evidente și alte trăsături ale sindromului – tulburările somnului, concentrarea dificilă și depresia. Principalele criterii de diagnostic ale SOC sunt: *oboseala severă persistentă* cu reducerea la jumătate a activității la indivizii anterior sănătoși timp de 6 luni și mai mult independente de supradozarea fizică și mintală, care nu dispar la odihnă, și *absența maladiilor somatice* și a altor cauze ce pot produce oboseala severă.

Criteriile secundare ale SOC sunt: febră moderată sau frison, inflamație faringiană, ușoare dureri ganglionare, slăbiciune musculară generală, dureri musculare, epuizare după eforturi efectuate altă dată fără probleme, cefalee difuză, dureri articulare fără modificări locale, tulburări neuropsihice cu iritabilitate și depresie, tulburări de somn insuficient sau nevoie crescută. Pot exista și alte simptome ca răceli și micoze repetate, alergii cu alergeni mai greu de apreciat. Pentru diagnostic sunt necesare 2 criterii principale și 6 sau mai mult secundare. Paraclinic, se con-

stată Ac pentru HSV tip 6 sau virusul Epstein-Barr. La fiecare bolnav, simptomele se pot asocia în mod diferit.

Diagnosticul diferențial se va face cu hipotiroza, narcolepsia, intoxicațiile cu alcool, droguri etc., infecțiile virale, tumori, maladii psihice etc. Nu există un tratament specific al sindromului, iar soluțiile propuse vizează calmarea simptomelor.

Terapia este adresată unui regim igienico-dietetic de viață, reabilitării funcționale, psihoterapiei, fizioterapiei, reflexoterapiei etc. Sunt utile efortul fizic dozat, normalizarea SI (administrarea fitoimunomodulatorilor, T-mimeticilor etc.). În prealabil se efectuează o cură de plasmafereză sau hemosorbție.

Sindromul hipotermiei apare la expunerea organismului la frig cu dezvoltarea diferitor infecții (rinite, bronșite, pneumonii etc.) care conduc la dezvoltarea imunosupresiei și la activarea bacteriilor, virusurilor, fungilor endogeni și exogeni. Hipotermia inhibă fagocitoza, activitatea celulelor dendritice ale pielii și mucoaselor, sinteza Ac, interacțiunile celulare. Eliminarea suplimentară a cortisolului indusă de stres intensifică imunosupresia.

Reacțiile imune se dezvoltă la temperatura de 37°C, pe când agenții patogeni se multiplică la temperaturi mai mici (33°C), ce favorizează dezvoltarea infecției. De regulă, virionii sunt primii care afectează mucoasa căilor respiratoare superioare (rinovirusurile, coronavirusurile, adenovirusurile, virusul respirator sincițial, paragripei, gripei, herpesului etc.). Probabil, acestea sunt rezultatul inhibiției rezistenței naturale (prioritar, defensinelor β , interferonilor, celulelor NK) aparentă la acțiunea frigului. Rinovirionii 2, 9, 14 se leagă de moleculele de adeziune ICAM-1 (prezente pe epiteliocite și alte celule), având funcția de receptori. Celulele infectate cu virioni elimină IL-1, TNF- α etc., care induc inflamație. În urma alterării epiteliului de către virioni și a descuamării lui este inhibată secreția Ac secretori IgA și IgM care opsonizează bacteriile, cu dezvoltarea infecțiilor bacteriene ale mucoaselor.

Sensibilitatea majoră la hipotermie poate fi dependentă de prezența autoanticorpilor *a frigore*, care în aceste condiții se leagă cu celulele, inclusiv endoteliul, și prin activarea C le alterează, induc inflamația. După hipotermia terapeutică (scăderea t rectale până la 34,5°C la pacienți), scade cantitatea limfocitelor în sânge și activitatea celulelor NK, apar pneumonii, acutizarea infecțiilor. În stresul hipotermic sunt inhibitate fagocitoza și expresia receptorilor pentru C pe limfocitele B.

La pacienții cu intervenții chirurgicale pe cord se constată activarea autoanticorpilor *a frigore* la hipotermie, care pot altera diferite celule. La copiii cu edem al creierului, după hipotermia terapeutică se dezvoltă diverse infecții

(pneumonia, sepsisul etc.), scade activitatea metabolică a neutrofilelor cu disfuncția lor.

Astfel, răcirea organismului induce inhibiția indicilor imunității congenitale și adaptive, adică contribuie la stabilirea imunodeficienței *a frigore* care se manifestă prin infecții. Superinfecția bacteriană pe fundalul celei virale intensifică imunodeficiența și conduce la dezvoltarea sinuzitelor, otitelor, bronșitelor. Terapia este adresată remediilor antibacteriene la indicație. Sunt administrate remediile interferonogene, antihistaminice etc.

Imunodeficiențele asociate primar cu infecții. Virionii (CMV, adenovirusurile, VEB etc.) frecvent persistă în organismul uman fără manifestări clinice (purători de virioni). La scăderea nivelului și deficiența de IFN, ei sunt capabili să inducă o nouă imunodeficiență prin transformarea genomului celulelor SI, distrugerea celulelor imunocompetente, inducerea apoptozei, modificarea activității celulare, eliberarea de citokine. Unii virioni posedă capacitatea de replicare în celulele imunocompetente (tropismul VEB în LB, HIV în LT CD4), alții (rejeolei, rubeolei, gripei, parotiditei epidemice, herpesului) induc anergia tranzitorie la alți Ag. Persistența virionilor hepatici poate conduce la imunomodularea, supresia LT.

Virionii care pătrund la făt transplacentar (CMV, virusul rubeolei) distrug diverse țesuturi și alterează celulele SI (absența imunității celulare și umorale la Ag, imunodeficiența IgA din cauza blocării dezvoltării celulei în stadiile intermediare de diferențiere). Imunodepresia în infecția activă citomegalovirală la copii se manifestă prin scăderea cantitativă a LT CD3⁺, CD4⁺, inhibiția fagocitozei etc. În infecțiile herpetice se constată dereglări ale componentei LT și B cu majorarea numărului de LT-activate pe fundalul limfocitopeniei T și B și reducerea expresiei de molecule HLA. Persistența cronică a virusului herpes în leucocite și în ganglionii nervilor conduce la dezvoltarea imunodeficienței. Infecția virală poate induce imunodeficiența secundară pe fundalul căreia poate să se manifeste superinfecția care este cauza intensificării IDS și a apariției stărilor severe.

Mulți virioni (Herpes, CMV, EBV, rinovirionii, enterovirusurile) persistă în celulele organismului și periodic se activează, inducând manifestări clinice în urma scăderii nivelului de IFN la acțiunea diferitor factori nocivi sau la minorizarea activității enzimatică a celulelor respective. De exemplu, virionii HSV tip 8 persistă în LT, VEB – în celulele B etc., CMV – în macrofage, leucocite, celulele epiteliale, virionii herpesului de tip 1-4 – în ganglionii neurali cu alterarea țesuturilor respective. Virionii pot induce modificarea activității genelor celulelor SI care stă la baza multor mecanisme imunopatologice.

Infecția HIV este o maladie fatală caracterizată prin lezarea predominantă a subpopulației limfocitare T CD4 și clinic prin evoluția cronică, progresivă, cu infecții „oportuniste” și producerea anumitor tipuri de tumori. Agentul etiologic este un retrovirus limfotrop – HIV (Human Immunodeficiency Virus) cu structură morfologică și componență chimică complicată. Genomul viral este prezentat de ARN asociat cu enzima transcriptaza reversă (TR). Proteinele interne de bază sunt p24, care formează membrana capsidă, proteina matricelui-p18 amplasată între nucleocapsidă și membrana externă a virionului. Precursorul acestor proteine în celulă este proteina p55. Proteinele membranare sunt asociate cu membrana glicoproteică (gp41 și gp120), având ca precursor gp160. Proteinele enzimatice sunt p52 și p68 – două fracțiuni ale TR și p34-endonuclează. La acești Ag se produc Ac, depistarea cărora stă la baza diagnosticului imunologic umoral al infecției HIV. Structura antigenică a HIV-2 diferă de cea a HIV-1, având gp105 și gp36, comparativ cu gp120 și gp41. Virusul HIV posedă o înaltă variabilitate antigenică (până la 30% în decurs de 4-5 ani) ce constituie un moment-cheie în patogenia SIDA, deoarece conduce la evitarea acțiunii Ac specifici și factorilor celulari, de către virus, astfel contribuind la cronizarea infecției. Variabilitatea înaltă a HIV se manifestă prin existența mai multor serotipuri ale virusului, descrise în ultimii ani. Serotiparea virionului HIV are o însemnătate majoră în diagnosticul imunologic al infecției datorită faptului, că la infectarea cu unele subtipuri, testele de screening utilizate pot da rezultate fals-negative. Răspândirea infecției HIV are caracter global, de pandemie. În Moldova, ca și în întreaga lume, numărul *de facto* al celor infectați e cu mult mai mare, decât cel înregistrat. Luând în considerare creșterea numărului de consumatori de droguri, răspândirea prostituției, migrația populației, creșterea șomajului, emigrarea la lucru peste hotare, inclusiv în țările endemice la SIDA, se poate prognoștica menținerea tendinței de răspândire intensă a infecției HIV în țară.

Cauzele scăderii subpopulației CD4 sunt consecințele directe și indirecte ale infecției cu HIV. Efectele citopatice directe ale HIV asupra LT CD4 sunt datorate exprimării gp41 care conduce la creșterea permeabilității membranei celulare (apoptoza LT CD4 prin liza osmotică), formarea sincițiilor, în urma fuziunii membranelor celulelor T (interacțiunii gp120 cu CD4) etc. Cele indirecte sunt rezultatul distrugerii celulelor infectate de către LT CD8⁺, inhibiției maturării limfocitelor în timus, apoptozei generate de legarea încrucișată a moleculelor CD4 de către gp120 solubil.

La baza patogeniei infecției HIV stau dereglările severe ale SI pe fundalul cărora se dezvoltă maladii grave și fatale, provocate de microflora patogenă și convențional-patogenă. În urma alterării LT CD4 are loc apariția unui deficit

imun care facilitează dezvoltarea infecțiilor oportuniste. În imunograma pacienților se constată limfopenie, scăderea numărului de T-helperi, reducerea indicelui imunoreglator (Th/Ts). Este dereglată sinteza Ac, manifestă prin activarea policlonală nespecifică și secreția majoră de IgG, IgA, datorită influenței antigenice de lungă durată a microflorei activate de HIV, de tulburările funcției reglatoare a LT CD8. La bolnavii cu SIDA se constată valori majorate de CIC, activitatea sporită a C, scăderea activității granulocitelor, IFN- γ . Scăderea sintezei de IL-2 conduce la minorizarea maturizării LT, reducerea activității celulelor NK și macrofagelor. Astfel, în infecția HIV se constată alterarea tuturor verigilor SI.

Manifestările clinice ale infecției HIV/SIDA sunt extrem de polimorfe și dependente de asocierea diferitor maladii infecțioase, tumori. Virusul HIV nu produce anumite manifestări clinice caracteristice.

Manifestările digestive sunt cele mai frecvente și mai importante, având și o triadă caracteristică (diaree cronică, disfagie, icter colestatic). Pneumoniile și bronhopneumoniile în SIDA sunt induse de *Pneumocystis carinii*, *Toxoplasma gondii*, CMV, HSV_{I,II}, VEB etc. Afecțiunile cutanate cuprind o gamă largă de alterări cum ar fi dermatitele și eczema, vitiligo etc. Afecțiunile neurologice în SIDA au ca manifestări clinice sindroame meningiene, de demenție, encefalită subacută, sindroame medulare, neuropatii ale sistemului nervos periferic. Manifestările psihice se constată prin tulburări de comportament, tentative de suicid, psihoze etc.

Diagnosticul imunologic al infecției HIV include o gamă largă de investigații (teste de screening și de confirmare, teste mediate celular etc.). *Testele de screening* se bazează pe vizualizarea reacției dintre proteinele virale (p24, gp120, gp41), fixate pe un suport solid și anticorpii din serul subiectului investigat cu ajutorul Ac anti-IgG umane marcați cu o enzimă (peroxidaza). Pentru diagnosticul de infecție cu HIV este *obligatoriu* să se efectueze 2 tehnici bazate pe principii diferite de acțiune, urmate de confirmarea prin Western Blot.

Analiza imunoenzimatică este cea mai utilizabilă metodă de screening, având o sensibilitate și specificitate înaltă. Algoritmul testării serului mostrei de cercetare în reacția ELISA la etapa de screening este elucidat în fig. 17.1. Ca și alte teste imunologice, și în cazul dat pot fi obținute rezultate fals-negative și fals-pozitive. Primele pot apărea în cazul donatorului de sânge, țesuturi, organe infectate recent, dar fără anticorpi anti-Ag- HIV sau în stările terminale. Rezultate fals-pozitive pot fi obținute la examinarea pacienților cu maladii cronice infecțioase, autoimune, tumorale, la gravide, după hemotransfuzii, posibil, ca urmare a reacției încrucișate a Ac anti-HLA.

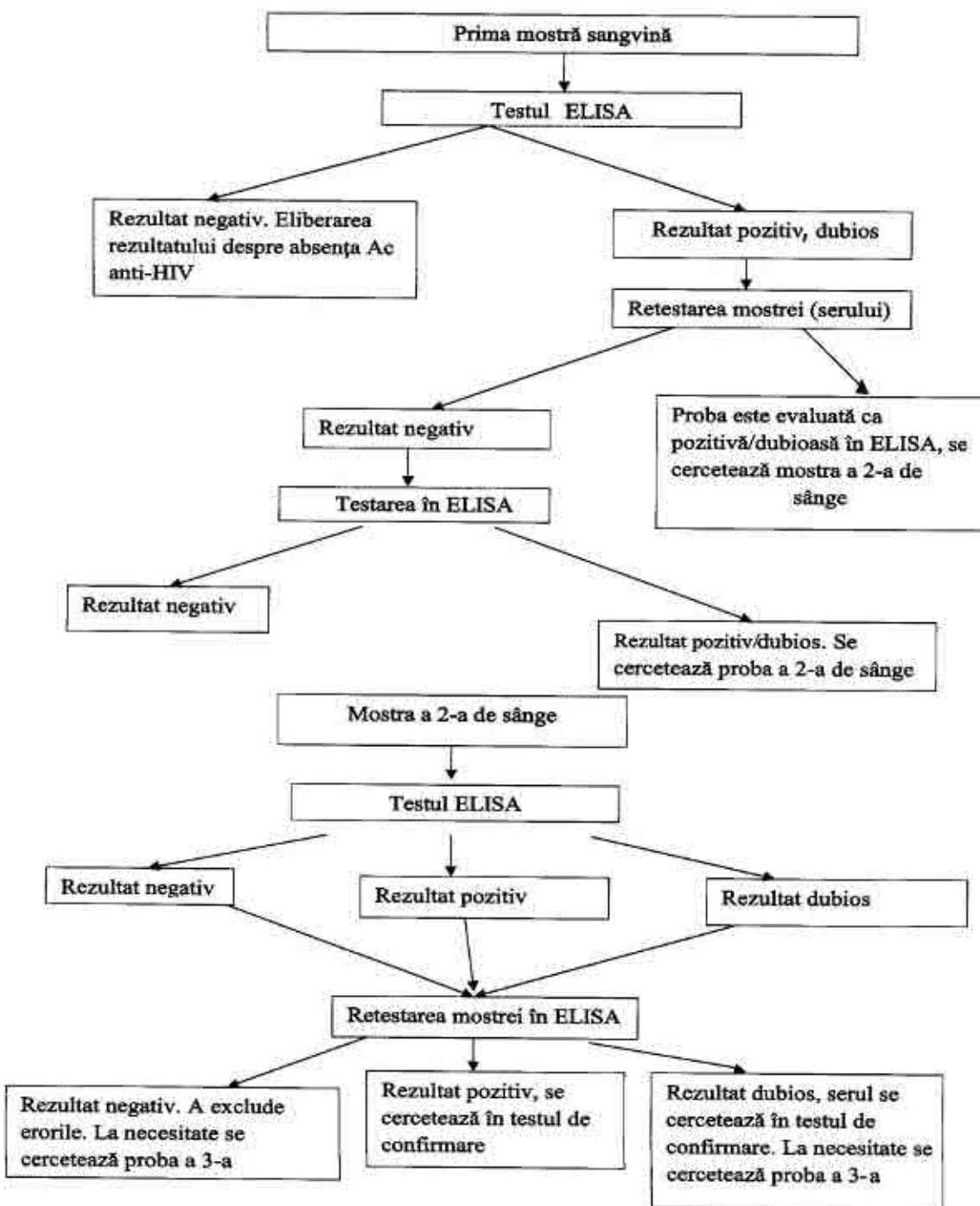


Figura 17.1. Schema testării sângelui la Ac anti-HIV la etapa de screening

Testele de aglutinare în diagnosticul infecției HIV sunt simple și bazate pe utilizarea corpusculilor de gelatină sau latex, pe care sunt atașați Ag purificați ai HIV (lizați sau recombinanți). Ele permit identificarea Ac anti-HIV atât calitativ, cât și cantitativ.

Testele de confirmare, imuno blot. Toate probele pozitive la Ac anti HIV sunt cercetate în testul de confirmare pentru depistarea anticorpilor la proteinele structurale Ag. În funcție de MM, aceștia sunt amplasați pe benzi de nitroceluloză și care la incubarea cu serul cercetat produc niște benzi colorate la locul proteinei prezente. Diagnosticul este pozitiv, dacă apar cel puțin două benzi, dintre care una să corespundă unei proteine din anvelopă.

Mai rar se folosesc, în calitate de test de confirmare, metoda de radioimunoprecipitare și cea de imunofluorescență indirectă.

Ag virali sunt prezenți în primele 3 luni de la infecție, apoi dispar din ser, reapar mai târziu, când este manifestată boala SIDA. Decelarea acestora, în special p24 se realizează prin ELISA. Atunci când alte teste sunt negative, evidențierea genomului viral în celule și lichide biologice se face prin metoda polimerizării în lanț, tehnică de amplificare *in vitro* a fragmentelor genomice (ADN). Cultivarea *in vitro* a virionului în culturi de celule, de limfocite infectate cu HIV, este o tehnică dificilă și se utilizează foarte rar.

Imunograma pacienților infectați cu HIV denotă scăderea marcată a LT CD4⁺ circulante și de activare a LT CD8⁺, diminuarea IIR (1,0-0,5) cu stabilirea unei imunodeficiențe. Pentru testarea populațiilor și subpopulațiilor limfocitare se utilizează citometria de flux cu anticorpi monoclonali respectivi. Sunt folosite și testarea neopterinei, IFN- α , microglobulinei β_2 , valorile cărora cresc în stadiile timpurii ale infecției, în perioada seronegativității. Terapia antivirală este adresată inhibitorilor revers-transcriptazei, proteazelor virale și celei simptomatice.

Imunodeficiențele asociate cu infecții bacteriene

Cauza principală a patologiei severe bacteriene, de regulă, este hiperactivarea „defectă” excesivă a leucocitelor, în special a macrofagelor, care elimină IL-1 α , TNF- α , peroxizi și alți factori ce induc alterarea celulară și inflamația.

Endotoxina bacteriană LPS este un activator puternic al macrofagelor, neutrofilelor și limfocitelor, se leagă cu receptorii LT și LB și le activează. Exotoxinele bacteriene sunt superantigeni și activează policlonal LT care secretă citokine. Sindromul hiperactivării leucocitelor de către agenții patogeni este mecanismul principal în realizarea inflamației și patologiei răspunsului imun. Normalizarea acestui răspuns stă la baza terapiei pacientului.

Sepsisul și șocul septic sunt exemple ale hiperactivației (și apoptozei) celulelor SI induse de toxine, LPS și superantigenii bacteriilor pe fundalul diferitor variante de imunodeficiență combinată. Activarea proinflamatoare intensivă a celulelor SI (macrofagelor, neutrofilelor, Th) induce majorarea nivelului de citokine proinflamatoare (IL-1, IL-6, TNF- α etc.) pe fundalul scăderii IL-10, activează C și, astfel, asigură alterarea endoteliului vascular, celulelor sistemelor nervos și endo-

crin și conduce la insuficiență poliorganică și imunodepresie severă. Sepsisul este caracterizat ca sindrom al răspunsului inflamator sistemic, unde rolul bacteriilor devine minimal și ele pot să nu fie depistate în sânge la manifestările clinice ale septicemiei (frisoane 38°C și mai mult sau hipotermia mai joasă de 36°C , tahicardie, taxipnoe, leucocitoză $>12 \times 10^9/\text{l}$ sau leucopenie $<4 \times 10^9/\text{l}$, deviația în stânga a formulei leucocitare mai mult de 10% etc.). Heterogenitatea tabloului clinic este determinată de predominarea complexului de citokine și gradului de alterare a organelor și sistemelor. Pentru diagnosticul și prognosticul dezvoltării sepsisului la bolnavi are importanță aprecierea nivelului endotoxinelor în sânge (testul LAL), anticorpilor IgM și expresia receptorilor Tool pe limfocite la LPS bacteriene. Analiza mecanismelor de dezvoltare a IDS în infecțiile purulente septice la copii denotă caracterul polivalent al infecției manifest prin modularea diferitor verigi ale răspunsului imun: dereglarea diferențierii normale a limfocitelor și funcțiilor lor, majorarea cantitativă a limfocitelor nule, scăderea cantității totale de LT, majorarea numărului de LB, modificarea coraportului LT/LB și subpopulațiilor Th/Ts, disimunoglobulinemia gAM, scăderea nivelului de Ac naturali și antistafilococi, insuficiența receptorilor Fc γ și C3 ai neutrofilelor. În perioada însănătoșirii clinice după sepsis, se normalizează doar nivelul Ig serice și nu componenta populațiilor și subpopulațiilor limfocitare T și B, fiind necesară imunoreabilitatea.

Un rol important în dezvoltarea IDS indusă de virioni și microbii convențional patogeni are *alergia*. Alergizarea înaltă poate indica la insuficiența mecanismelor reglatoare și sensibilitatea majorată a LT antigen-specifice activate la apoptoză. Anume aceste mecanisme s-au dovedit a fi cele mai sensibile la acțiunea alterantă a factorilor patogeni ai microbilor (toxine, proteina A stafilococică) care selectiv dereglează interacțiunile celulare sau neutralizează mediatorii imunității necesari pentru dezvoltarea reacției imune eficace. Unele microorganisme cu activitate proteazică induc imunodeficiența prin scindarea IgA (agenții meningitei).

Dereglarea funcției imune poate fi înalt specifică și evidențiată numai la un anumit microb. Este cunoscut imunodeficitul selectiv la stafilococ, când serul bolnavului posedă activitate scăzută de neutralizare a stafilococilor și sunt absenți Ac anti-leucocidină, anti-Ag peretelui celular și ai altor produse ale stafilococului. Acest imunodeficit se corigează prin administrarea serului sau plasmei indivizilor sănătoși.

Poate fi observată deficiența unei subclase de IgG cu modificarea sensibilității la un anumit microb. În deficitul de IgG2 este scăzut răspunsul imun la polizaharidele pneumococului, H. Influenzae, iar în insuficiențe de IgG4 – la anatoxina tetanosului cu sensibilitate crescută la infecțiile pulmonare și piogene. Deseori se modifică caracterul izotipic al Ac – predomină Ac IgM, IgA și nu IgG în recidivele infecțiilor (bronșita cronică la copii indusă de pneumococ).

Astfel, microbul și factorii lui patogenici induc în organismul sensibil inhibiția unor și stimularea altor (supresoare) verigi ale reacției imune. La această modulare a reactivității contribuie sensibilitatea unor verigi ale reacției imune în organismul cu predispoziție, care sunt alterate.

Imunodeficiențele secundare identice au fost stabilite și în infecțiile chirurgicale – atât în sistemul limfocitar, cât și în cel granulocitar. Scade nivelul limfocitelor cu receptori pentru LPS agresivă. Coraportul Th2 și Th1 poate să se modifice în funcție de specia microbului: majorarea activității Th2 la infecțiile induse de agenții intracelulari poate stimula sinteza Ac ineficienți. Poate fi inhibată activitatea bactericidă a fagocitelor, capacitatea de înglobare datorată afinității minore a Ac anti-determinantele comune ale peptidoglicanilor bacteriilor.

La acțiunea exotoxinelor (stafilococ, difterie etc.), rolul decisiv le revine Ac neutralizanti, insuficiența cărora conduce la acțiunea negativă asupra receptorilor celulari și la dezechilibrul imunoreglării.

IgA secretorie apără mucoasele de adeziunea microorganismelor. Insuficiența sintezei componentului secretor la alterarea epiteliului (factorii nocivi profesionali, tabagismul) conduce la apariția infecțiilor recidivante ale mucoaselor căilor respiratoare, intestinului etc.

Bacteriile cu parazitare intracelulară (micobacteriile, brucelele, salmonellele, rickettsiile, chlamidiile, micoplasmele) sunt rezistente la imunitatea mediată umoral.

Concluzionând datele elucidate, putem constata următoarele:

1. Infecția bacteriană indusă de microbii convențional-patogeni este consecința imunodeficitului și contribuie la apariția defectului altor verigi ale SI, posibil, prin mecanisme de apoptoză a unor subpopulații limfocitare și a altor leucocite, de asemenea, prin stimularea hiperproducției și dezechilibrul citokinelor. Sepsisul este manifestarea IDS severe generalizate, însoțită de activarea secvențială a citokinelor – sindromul hiperactivației leucocitelor.

2. În infecțiile bacteriene IDS este consecința imunodeficitului combinat – dereglarea sistemului fagocitar, LT, LB și C. Gradul dereglărilor acestor sisteme variază în diferite cazuri.

3. Imunodeficitul în infecțiile bacteriene frecvent se dezvoltă pe fundalul și în combinație cu alergia bacteriană care are importanță esențială în patogeneză. Există combinații ale reacțiilor majorate la unele produse bacteriene cu scăderea rezistenței totale specifice (la un agent concret) și nespecifice. Manifestarea alergiei bacteriene poate fi însoțită de apoptoza clonelor celulare antigen-specifice.

4. Pentru diagnosticul IDS bacteriene sunt necesare metode specifice și nespecifice: detecția agentului și Ag lui în sânge și extrase, aprecierea răspunsului imun la agentul dat (prezența Ac și sensibilizarea celulară), testarea statusului imun (funcția LT, LB, fagocitoza, citokinele).

5. Terapia necesită administrarea remediilor antibacteriene, imunocorectoare și antiinflamatoare.

Imunodeficiențele mucoaselor

Mucoasa posedă un spectru major de factori ai rezistenței naturale (mucus, mediul acid sau bazic, enzime, macrofage, granulocite, celule NK etc.). Mai importante sunt peptidele antimicrobiene *defensinele* β produse de celulele epiteliale și macrofage la acțiunea virionilor, bacteriilor, citokinelor. De ex., rinovirionii intensifică formarea defensinelor β în celulele epiteliale ale bronhiilor, mucoasei nasului, iar insuficiența lor conduce la imunodeficit. Ele stimulează degranularea, chemotactismul monocitelor și maturizarea celulelor dendritice imature. *Inhibitorul secretor proteic al proteazelor leucocitare* blochează proteazele serine, elastaza, catepsina G ale neutrofilelor, posedă activitate antimicrobiană. Saliva conține inhibitorii proteazelor – *citostatine*, care inhibă activitatea enzimelor bacteriene și care pot distruge sIgA.

În substratul subepitelial se află țesutul limfoid asociat cu mucoasa, care conține cantități esențiale de celule T cu receptori $\gamma\delta$, limfocite B-1 prezente în foliculele și aglomerările celulare. În mucoasa nazală și a căilor respiratoare superioare, ele posedă fenotip CD4⁺, iar în intestine – CD8⁺. Aceste limfocite interacționează cu celulele epiteliale, care pot fi antigen-prezentatoare (posedă molecule HLA-I), iar la infectare cu virioni, inducția IFN- γ și la stimulare pot exprima și HLA-II).

Principalele celule antigen-prezentatoare sunt cele locale – macrofagele, celulele dendritice sau epitelioците M specializate. Moleculele de adeziune ICAM, VCAM, selectinele, integrinele, a căror acțiune se intensifică sub influența citokinelor, participă activ în interacțiunea epitelului, leucocitelor și endoteliului la toate etapele de dezvoltare a inflamației infecțioase și alergice.

Structurile limfoide (amigdalele, plăcile Peyer, apendicele) produc Ac sIgA, IgG, IgM și LT, LB imune specifice la Ag. Mai eficace sunt sIgA (prioritar IgA1) și IgM, care frânează adeziunea bacteriilor la epiteliu, opsonizându-le. Acești Ac sunt secretați de plasmocitele mucoaselor sau amigdalelor, plăcilor Peyer.

Pentru proliferarea microorganismelor convențional-patogene este necesară alterarea epitelului de către factorii toxici din mediul ambiant (compușii sulfului, formaldehida, aerosolii acizilor, bazelor, substanțele toxice ale alimentelor, conservanții, coloranții, metalele grele etc.). Alterarea epitelului mucoaselor căilor respiratoare poate fi indusă de virionii gripei, paragripei, de adenovirusuri, rinovirusuri, coronavirusuri, iar la copii și de virusul respirator sincițial. Infecția bacteriană (streptococii, stafilococii, *Moraxella*, *H.influenzae* etc.), de regulă, se dezvoltă pe fundalul insuficienței barierelor de apărare indusă de virioni și frecvent

evoluează în asociere cu ea. Eliberarea de exo- și endotoxine intensifică insuficiența imună. Toți agenții nocivi induc descuamarea sau apoptoza celulelor epiteliale, dereglează producția mucusului, intensifică secreția mediatorilor proinflamatori de către epitelii. Astfel, infectarea bacteriană a mucoaselor, de regulă, se dezvoltă pe fundalul dereglării barierelor nespecifice și specifice imune. Imunodeficiența este baza de dezvoltare a recidivelor și de cronicizare a proceselor.

Clinic se manifestă prin infecții cronice recidivante ale nasului, sinusurilor, faringelui, traheii și bronhiilor.

Insuficiența factorilor nespecifici – lizozimului, lactoferinei, histatinelor (proteine cationice) în salivă și în secretele mucoasei este un criteriu frecvent al acestei patologii. Administrarea lizozimului ameliorează starea clinică a pacienților.

Creșterea nivelului de IgA în secretele mucoaselor în inflamație este însoțită de exudația IgG din plasma sangvină. Aceste IgG sunt slab eficace ca factori locali ai imunității datorită scindării lor de către enzime. Creșterea nivelului de lanțuri α în secretele poate fi constatată pe fundalul insuficienței componentului secretor ca rezultat al distrucției epitelului de către virioni și inflamație. Defectul IgA nu poate fi un factor de apărare. Unii microbi (streptococii, neisseriile etc.) produc proteaze care scindează sIgA în fragmente ce agravează deficitul lui.

Insuficiența factorilor locali, în special a activității digestive, este o cauză importantă a deficitului, imunității locale a mucoaselor.

Imunodeficiențe în patologia organelor ORL

Rinitele sunt cele mai răspândite patologii imune (suferă circa 20% din populație), printre care se disting cele alergice, pseudoalergice (nespecifice) și infecțioase, forme imunodeficitare. Rinitele infecțioase, de regulă, sunt dependente de factorul de răcire, hipotermie. Rinita acută în prezența deficienței factorilor locali ai imunității, de regulă, devine recidivantă și cronică. Această situație este favorizată de infecțiile virale repetate, de prezența polipilor și de deviația de sept nazal.

Rinita imunodeficitară (infecțioasă) se caracterizează prin eliminări mucopurulente, prezența unui număr mare de neutrofile și diferiți microbi (stafilococi, streptococi, *H. influenzae*, *Moraxella* etc.), virioni (rinovirusuri, adenovirusuri, virionii paragripei etc.) și fungi în secretele. Dereglările statusului imun, care și sunt cauza cronicizării rinitelor, sunt diverse, frecvent se constată variantele combinate ale imunodeficienței umorale și celulare.

Simuzitele sunt induse de aceleași microorganisme ca și rinitele. În formele imunodeficitare ale highmoritelor, frontitelor, etmoiditelor se constată combinații ale florei virale, bacteriene și fungice. În secretele sinusurilor predomină neutrofilele alterate (corpusulii purulenți). De regulă, se constată variantele combinate ale insuficienței imune, scăderea indicilor interferonilor, inhibiția fagocitozei, reduce-

rea T-helperilor, celulelor NK, lizozimului, lactoferinei, disimunoglobulinemii de tip divers, uneori cu majorarea sIgA în salivă, intensificarea expresiei moleculelor de adeziune, nivelului citokinelor proinflamatoare (IL-1, TNF- α).

Otitele. Inflamația urechii medii deseori apare ca o complicație a infecțiilor acute respiratoare sau pe fundalul patologiei persistente a nazofarigelui și sinusurilor, favorizată de particularitățile structurale ale trompei Eustachio la copii. Otita medie acută în acest caz este consecința imunodeficitului relativ, când un număr major de virusuri și bacterii pătrund prin aceste trompe. Terapia incorectă și insuficientă doar cu remedii antibacteriene conduce la dezvoltarea imunodeficienței cronice purulente. Otitele sunt însoțite de inflamație cu neutrofile, bacterii și virusuri. Dereglările statusului imun sunt diverse: disimunoglobulinemie de divers tip (scăderea sau majorarea IgA și IgG etc.), reducerea nivelului limfocitelor CD3⁺, CD4⁺, majorarea concentrației de molecule inflamatoare în sânge (adezinelor ICAM-1, VCAM-1), deficiența killing-ului microbilor la fagocite, majorarea citokinelor proinflamatoare, prostaglandinei F2 α în eliminările din ureche.

Faringita și laringita. Inflamația acută, de regulă, este rezultatul imunodeficienței relative provocate de infecții. Formele cronice sunt consecința deficitului imunității locale: lizozimului, IFN, celulelor NK, dezechilibrului citokinelor cu majorarea compensatorie a sIgA. Se înregistrează imunodeficiente totale ale izotipurilor IgA1, IgG1, IgG3. Varianta atrofică a faringo-laringitelor poate să apară în urma acțiunii nocive a factorilor profesionali (faringitele laboranților și indivizilor care contactează cu aerosolii bazelor și acizilor etc.). Faringita granuloasă este însoțită de hiperplazia nodulilor limfatici pe peretele posterior al faringelui, aparenți frecvent după tonzilectomie ca rezultat al stimulării limfocitelor. Infecția nazofaringelui poate induce tuse, traheită, bronșită și chiar astmul bronșic.

Terapia imunodeficientelor secundare ale mucoaselor nasului și căilor respiratoare superioare include remedii antibacteriene, antivirale, imunocorectoare locale și sistemice.

Tonzilita, angina. În țesutul limfoid al amigdalelor se diferențiază și funcționează LT ale mucoaselor cu receptori celulari $\alpha\beta$ și $\gamma\delta$, limfocitele B-1 specializate în producția de sIgA, IgM și IgE. Interacțiunea LT și LB, care migrează prin epiteliu, cu Ag microbilor se realizează în cripte. Printre LT ale amigdalelor, comparativ cu cele sangvine, sunt mai multe celule CD4⁺, CD5⁺, CD7⁺, CD8⁺ (50% și mai mult), CD10⁺, CD11b⁺, CD28 (receptor pentru CD80/86), CD30. Este majorat numărul de celule T cu receptorii CD25, CD27 (costimulator pentru CD70) și expresia CD95 (ligandul Fas) ce indică proliferarea și diferențierea lor. În același timp, pe celulele T ale amigdalelor sunt absenți markerii CD16 (FcR III), CD40, CD62L. Pe LB sunt exprimați markerii și receptorii CD49d, CD52, CD70, CD72, CD74, CD75, CD79a și b. În folicule sunt multe LB care secretă IgA.

Dereglarea interacțiunii limfocitelor cu microbii în cripte este cauza dezvoltării tonzilitelor la indivizi predispuși genetic. Circa 15% dintre adulți și 30% dintre copii suferă de tonzilită cronice – imunodeficiență tonzilară.

Cauzele tonzilitelor, pe lângă predispoziția genetică și dependența de statusul imun, pot fi:

- mimicria antigenică a antigenului M streptococic și a peptidelor membranelor sinoviale ale articulațiilor, endomiocardului – varianta anginei streptococice autoimune;
- inhibiția apoptozei limfocitelor amigdalelor indusă de infecțiile virale etc. – varianta hiperplastică a anginei și adenoiditelor (la copii);
- sensibilitatea majorată a limfocitelor amigdalelor la alergenii bacterieni – varianta alergo-infecțioasă a tonzilită;
- imunodeficiența relativă (difteria) sau absolută (streptococi, stafilococi) cu manifestări ale anginei toxico-necrozante.

Tonzilită cronică se înregistrează la 3-15% dintre copii și la 4-10% dintre adulți. Modificările statusului imun sunt dependente de variantele imunologice ale tonzilitelor. Se constată scăderea cantitativă a $CD3^+$, $CD4^+$, creșterea nivelului de limfocite $CD8^+$, CIC, disimunoglobulinemie cu scăderea sau majorarea sIgA, deficit de lizozim, dezechilibrul citokinelor cu majorarea IL-1, TNF- α , activarea neutrofilelor și macrofagelor. Aceste perturbări ale statusului imun sunt caracteristice imunodeficiențelor secundare și denotă heterogenitatea mecanismelor de dezvoltare și diversitatea variantelor clinice. Criteriul principal al disfuncțiilor imune este insuficiența imunoreglatorie în regiunea limfoepitelială a amigdalelor. Limfocitele sangvine și ale amigdalelor sunt sensibilizate la multipli Ag bacterieni. Se consideră că alergica și dereglarea imunoreglatorie constituie veriga principală în patogeniza tonzilitelor cronice.

Tonzilectomia poate conduce la diverse complicații (traheobronșite, rinosinuzite, astm bronșic). La acești pacienți se constată proliferarea compensatorie a țesutului limfoid în formă de noduli pe peretele posterior al faringelui și arcurilor amigdalelor.

Terapia tonzilitelor include remedii antibacteriene sistemice și locale, care inhibă agenții patogeni, inflamația, acțiunea moleculelor ICAM-1 pe celule, sinteza citokinelor proinflamatoare (TNF- α , IL-1 β , IL-6). Remediile antialergice sunt administrate în variantele alergice de tonzilită. Imunomodulatoarele sunt indicate în formele recidivante.

Imunodeficiențele în patologia bronhiilor și pulmonilor

Mucoasa tractului respirator participă în realizarea reacțiilor de apărare locale nespecifice prin drenajul mucociliar și reacțiile celulare. Funcția epiteliului mucoa-

selor depinde de activitatea cililor. În sindromul cililor afuncionali (Kartagener-Ziverta), la bolnavi frecvent se înregistrează infecțiile căilor respiratoare. Mucusul conține mucine, proteine plasmatică sanguine, fragmente ale celulelor epiteliale, leucocite, imunoglobuline, enzime proteolitice și inhibitorii lor (α_1 -antitripsină), mediatorii ai alergiei și citokine. Cota majoră a secretelor revine sialomucinelor, sulfomucinelor (acide) și fucomucinelor (neutre).

La acțiunea diferitor factori nocivi (toxice, substanțe chimice, tabagism, temperatură scăzută etc.) este dereglată funcția epiteliului ciliar, permeabilitatea mucoasei. Modificări identice induc și reacția alergică, mediatorii eliberați în acest caz.

Aglomerări ale celulelor limfoide sau formațiuni limfoide specializate sunt constatate pe mucoasa căilor respiratoare. Leucocitele T și B sunt amplasate sub membrana bazală a epiteliului, unele dintre ele migrează în epitelium cu cantonare pe suprafața lui.

În lavajul bronhiilor se evidențiază LT (47%), prioritar Th2, LB (19%) și celule nule (34%). Componenta celulară poate să se modifice în reacțiile alergice (crește cantitatea eozinofilelor), în imunodeficiențe (predomină neutrofilele).

Epiteliul bronhiilor și pulmonilor, leucocitele (macrofagele, mastocitele, bazofilele, neutrofilele), aglomerările limfocitare asigură apărarea căilor respiratoare de pătrunderea agenților patogeni infecțioși și neinfecțioși (formațiunile limfoide BALT).

Limfocitele B și plasmocitele secretă IgA la stimularea cu Ag, care obțin componentul secretor în celulele epiteliale și, astfel, ea devine rezistentă la proteoliză. IgA secretorie inhibă fixarea microbilor și virusurilor la epitelium, contribuie la opsonizarea și fagocitoza lor. În segmentele inferioare ale căilor respiratoare predomină IgG, pe când IgE crește esențial în atopie și nu întotdeauna corelează cu concentrația celei sanguine. Interleukinele secretate de limfocite induc activarea și reglează funcția epiteliului, celulelor mucoasei, printre care sunt prezente leucocitele. În reacțiile alergice prioritar participă mastocitele, bazofilele, eozinofilele. Ele dispun de receptori pentru IgE, mediatori (histaminici H2 etc.) și IgG4. Sunt sursa principală de mediatori în HTI și citokine care sunt eliberate local la degranularea lor. Prin eliberarea factorului cozinofilic chemotactic, bazofilele contribuie la acumularea eozinofilelor în focarul reacției alergice.

Macrofagele alveolare realizează fagocitoza particulelor inhalate, le elimină sau le catabolizează și le prezintă ca Ag limfocitelor T. După stimulare, ele elimină diverse substanțe biologice active cu acțiune locală (IL-1, IL-3, 4, 5, 6, TNF- α , leucotriene, prostaglandine, collagenază, hidrolaze, componente ale C etc.). Inhibiția activității acestora se constată la acțiunea diferitor factori nocivi.

Neutrofilele se acumulează, în special, în procesele imunodeficitare infecțioase. Bactericiditatea lor este datorată proteinelor cationice nefermentative, mielope-

roxidazei, lizozimului, de asemenea, superoxid anionului și peroxidului de hidrogen. Ultimii pot stimula hiperreactivitatea bronhiilor cu degranulara mastocitelor.

Structurile limfoide BALT asigură apărarea de agenții patogeni. Suprafața epitelială mucoasei conține LT, printre care predomină Th. Migrația leucocitelor prin epiteliu se intensifică la inflamație.

Citokinele sunt eliminate la alterarea epitelului și sub influența interleukinelor leucocitare. Secreția lor este stimulată de bacterii și virioni. Factorii nocivi, hipotermia dereglează funcția epitelului și a mucoasei bronhiilor. Parenchimul pulmonilor conține limfocite interstițiale și celule NK, care elimină citokine și participă atât în inflamație, cât și în fibroză.

Frecvența majoră a imunodeficienței bronhiilor și pulmonilor este asigurată de acțiunea permanentă a patogenilor aerogeni asupra mucoasei. Unii induc reacții alergice, iar alții alterează celulele epiteliale cu inhibiția sintezei sIgA (rinovirusurile, adenovirusurile, virusurile gripei, paragripei, VEB, coronavirusurile, virusul respirator sincițial, micoplasmele etc.). Poluarea aerului cu substanțe chimice, praf, fum de tutun, oxid nitric, factori profesionali, industriali etc. induce alterarea epitelului, inhibă transportul mucociliar și, în final, imunitatea locală. Pe acest fundal apare sau se intensifică hiperactivitatea bronhiilor care poate conduce la dezvoltarea astmului bronșic sau a bronșitelor cronice. Bacteriile (pneumococii, H. Influenzae, Moraxella catarrhalis etc.), ca o cauză a inflamației, acționează secundar după instalarea deficienței sistemice și locale, dar pot intensifica imunodeficiența aparentă.

Maladiile cronice nespecifice ale pulmonilor sunt exemple ale imunodeficienței locale și sistemice pe fundalul căreia se dezvoltă infecțiile virale și bacteriene. În aceste cazuri se constată disimunoglobulinemie, deficit al C, lizozimului, fagocitozei. Insuficiența T-helperilor se manifestă în bronșitele cronice. În pneumoniile trenante și cronice se constată scăderea activității celulelor NK, T, B. În apariția maladiilor pulmonare, un rol important revine insuficienței diferitor factori reglatori și de adaptare, de ex., inhibitorul antitripsinei $\alpha 1$. Activitatea lui este controlată de gena *Pi*. În cazul genei defecte, nivelul inhibitorului este scăzut și proteazele eliminate de leucocite și bacterii pot altera epitelul și fagocitele ce contribuie la infecție și imunodeficiență locală. Cantitatea LT, LB, fagocitelor în secretul bronhial scade, dar nivelul citokinelor proinflamatoare este majorat. Terapia acestor afecțiuni necesită suplimentarea cu remedii imunocorectoare.

Imunodeficiențele în clinica pneumoniilor și bronșitelor. Imunodeficiențele primare și secundare în multiple cazuri se manifestă clinic prin pneumonie. Cele mai severe forme se înregistrează în imunodeficiențele combinate severe, SIDA, sindroamele leucopenic, neutropenic etc. Modificările statusului imun sunt diverse: inhibiția activității funcționale a LT, LB, reducerea funcției celulelor NK, cito-

toxicității anticorp-dependente, dereglarea funcției fagocitelor, deficitul factorilor umorali.

Pneumoniile virale apar în urma alterării epiteliului alveolelor de către viruși (deficit de IFN, defensine), care produce excesiv secrețe proteice, apare edemul și simptomul „precipitației” – unul din manifestările precoce ale pneumoniei. Secretul este un mediu favorabil pentru dezvoltarea bacteriilor, iar citokinele lui induc inflamația mononucleară. Bronhiolitele aparente în pneumoniile virale sunt consecința permeabilității crescute a arteriolelor și rețelei capilare, datorată activării complementului. Complexele Ag-Ac-C pot induce hiperreactivitatea celulară; dezechilibrul imunoreglator al citokinelor proinflamatoare este cauza stabilirii procesului cronic.

Pneumoniile nosocomiale aparente frecvent în secțiile de reanimare și terapie intensivă sunt rezultatul aspirației în căile respiratoare a secretelor infectate. Etiologic sunt provocate de diverse microorganisme (prezente la bolnav sau în secție): *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*. În cazurile de transplant frecvent se înregistrează *L. pneumophila*. Rolul virionilor în dezvoltarea pneumoniilor nosocomiale este minor. Posibil, în aceste cazuri deficiența imună este dependentă de insuficiența fagocitozei, Ac. Pentru profilaxia acestei afecțiuni este necesară monitorizarea statusului imun al pacientului la toate etapele terapeutice cu administrarea remediilor imunocorectoare. În tratamentul pacienților sunt indicate remediile antibacteriene reieșind din flora recoltată, imunostimulante și imunosubstitutive.

Bronșita cronică este însoțită de modificări variabile ale statusului imun: insuficiența Ac sIgA, IFN- α , fagocitozei etc. Pe fundalul inflamației se observă metaplazia epiteliului ce contribuie la dereglarea imunității locale, sintezei sIgA.

Recidivele bronșitei intensifică insuficiența mucociliară, secreția mucusului, inhibă producția IFN, sIgA, fagocitozei etc. Descuamarea epitelială intensifică adeziunea microbială și colonizarea lor în stratul subepitelial al mucoasei. Toxinele bacteriene induc intensificarea inflamației, apariția secretelor purulente. Sputa pacienților conține neutrofile, macrofage, celule epiteliale, bacterii, fungi.

Bronșita cronică obstructivă este asociată de diverse dereglări ale statusului imun: insuficiența activității bactericide a leucocitelor, majorarea sintezei citokinelor proinflamatoare (IL-1, TNF- α , IL-8), scăderea activității Th1, celulelor NK pe fundalul activității majore a elastazei neutrofile cu creșterea PGF2 α și scăderea nivelului sIgA. Prostaglandina F2 α secretată de macrofagele activate inhibă imunitatea celulară, intensifică apoptoza LT.

Pe fundalul inflamației și influenței citokinelor, leucotrienelor, histaminei se observă modificarea structurală a bronhiilor: hipertrofia și hiperplazia celulelor glandulare bronhiale, majorarea și modificarea componentei mucusului. Se instalează mucostaza – mediu favorabil pentru dezvoltarea bacteriilor. Infiltrarea leu-

cocitară inflamatoare cu eliberarea enzimelor și mediatorilor induce edemul mucoasei, obstrucția bronhiilor și modificarea structurală a peretelui lor, activarea fibroblaștilor și fibroză, în care participă factorul de creștere trombocitar (PDGF) și cel de creștere transformant β (TGF- β). Modificările statusului imun au caracter divers și sunt dependente de forma malativă, de spectrul agenților patogeni, de imunodeficiența factorilor imuni locali și sistemici.

Astmul bronșic – varianta imunodeficitară, se caracterizează prin diverse dereglări ale SI: disimunoglobulinemie, deficit al sIgA, unor subclase IgG, limfocitopenie, dezechilibrul Th/Ts, deficit al fagocitozei, hipocomplementemie etc. Agenții convențional-patogeni (stafilococii, pneumococii, Klebsiella, Aspergilele, candidale, micoplasmele) sunt inductorii afecțiunii pe fundalul imunodeficienței. Produsele metabolismului lor sunt factorii nespecifici astmogeni. Hiperreactivitatea bronhiilor, posibil, este indusă de mediatorii cu acțiune prelungită (leucotriene, citokine etc.).

Imunodeficiența în maladiile tractului gastrointestinal poate fi consecința dereglărilor imune locale și sistemice. Tractul gastrointestinal conține un complex major de factori ai rezistenței nespecifice (fagocite, lizozim, complement, enzime digestive, microfloră bacteriană normală etc.). Enterocitele exprimă moleculele HLA de clasa II și pot prezenta Ag, secretă IL-6 și TGF- β , participă în diferențierea LT. Factorii imunității locale (sIgA etc.) sunt secretați de celulele imunocompetente ale mucoasei și țesutului conjunctiv al submucoasei. În intestine sunt multiple formațiuni limfoide, aglomerări limfocitare, LB, plasmocite, macrofage. Limfocitele T și B antigen-specifice migrează prin vasele limfatice în diverse regiuni ale intestinului și ale altor organe, exprimă integrina $\alpha\beta 7$, care asigură legarea lor cu caderina E a celulelor epiteliale și localizarea lor în lamina propria. Aici se găsesc LB, plasmocite secretoare de IgA, LT, prioritar CD4⁺, macrofage, eozinofile, mastocite. Limfocitele B-1 (CD5⁺) secretă IgA, care răspund la stimulul lipozaharidelor bacteriilor intestinale. Printre celulele interepiteliale sunt cantonate limfocite interepiteliale – precursori (CD7⁺) ai CD8⁺, celulele T $\gamma\delta$ și NK. Aceste limfocite CD8⁺ participă în stabilirea toleranței la Ag, iar cele imune sunt killeri. LT cu receptori $\gamma\delta$ participă în recunoașterea unor Ag, răspund la superantigeni, pot elimina celulele epiteliale infectate. Sinteza locală a IgE frecvent este dependentă de intoleranța unor produse alimentare (lapte, ouă, pește etc.). Alergenii exogeni induc sinteza Ac, formarea complexelor imune, sunt eliberați mediatorii hipersensibilității de tip imediat și întârziat. Maladiile alergice în tractul gastrointestinal pot apărea și ca o consecință a disbacteriozei și alergiei microbiene.

La dereglarea imunității locale (sinteza IgA etc.) și disbacteriozei tractului gastrointestinal se dezvoltă imunodeficiențe cu diaree, sindromul malabsorbției. Ast-

fel MA și imunodeficiențele frecvent sunt asociate în imunopatologia stomacului și intestinului.

Enteritele și enterocolitele cronice cu sindromul dereglării absorbției intestinale frecvent sunt manifestări clinice ale imunodeficienței: hipogamaglobulinemia variabilă, deficitul selectiv de IgA și IgM, candidoza mucocutanată cronică, enteropatia alergică etc. În unele cazuri se manifestă evident deficitul imun cu sindrom infecțios, în altele – reacțiile alergice și autoimune.

Modificările structurale și funcționale ale TGI sunt însoțite de diaree, steatoree, sindromul malabsorbției, hepatosplenomegalie, infecții virale și bacteriene.

Deficitul IgA și hipogamaglobulinemia conduc la hiperplazia ganglionilor limfatici intestinali, la intoleranță alimentară. Predomină LB care conțin IgM. Frecvent se înregistrează lamblioza, infecțiile bacteriene, sindromul dereglării absorbției.

Ulcerul gastric și intestinal. Cauza principală de dezvoltare a acestor afecțiuni este insuficiența factorilor locali imuni și persistența în mucoasa stomacului a *Helicobacter pylori*, care elimină factori patogeni și stimulează dezvoltarea gastritelor, ulcerului gastric și duodenal, duodenitelor.

H. pylori are epitopi comuni cu mucoasa stomacului și induce reacții autoimune. Au fost decelați autoanticorpi și LT anti-H⁺K⁻-adenozintrifosfatază care pot avea un rol în dezvoltarea gastritelor și ulcerului. În acest caz, de regulă, predomină activitatea Th1, sinteza IL-12 și IFN- γ . Persistența *H. pylori* în mucoasă este posibilă numai la insuficiența imunității locale. Acest microb posedă imunogenitate locală relativ joasă și induce secreția Ac care nu asigură rezistență și eliminarea bacteriilor. Prin eliminarea ureazei, LPS, factorului de activare a trombocitelor, neutrofilelor, ea frânează formarea imunității celulare.

Epiteliul și macrofagele răspund la LPS *H. pylori* prin secreția IL-1 β , TNF- α , IL-8. Ultima mobilizează neutrofilele, intensifică expresia adezinelor și, în final, cu alte citokine induc eliminarea enzimelor lizozomale, oxidului nitric, peroxizilor cu alterarea mucoasei. IL-1 β , IL-8 stimulează eliminarea gastrinei de către celulele G și majorează producția acidă. TNF- α și ureaza stimulează apoptoza celulelor epiteliale ale stomacului. În cazul inflamației cronice are loc infiltrația limfomononucleară a mucoasei cu acumularea Th1, cu eliminarea IL-12. Citokinele (IL-2, IFN- γ) eliberate de Th1 activează macrofagele, neutrofilele, celulele killer cu alterarea epiteliului. Ureaza intensifică expresia receptorilor pentru IL-2 pe limfocite.

La cronicizarea ulterioară a procesului are loc activarea Th2 și sinteza Ac IgG de către LB, dar ea este scindată de enzime și nu asigură eliminarea bacteriei. În unele cazuri, celulele care înconjoară ulcerul pot fi sursa de autoantigeni cu sinteza de Ac anti-Ag mucoasei stomacului. Modificările statusului imun sunt mai evidente în ulcerul intestinal: limfopenia T, reducerea indicelui limfocitelor T/B de la 7,5 până la 3,2, scăderea cantitativă a IgA etc. Terapia este eficace la administrarea remediilor anti-*H.pylori*, antiacide și imunocorecție.

Imunodeficiențe induse de alte cauze

Insuficiența alimentară este asociată sintezei lente de proteine și proliferare celulară. Foametea și infecțiile asociate ei conduc la atrofia timico-limfatică. Insuficiența alimentară poate apărea secundar ca o consecință a dereglării absorbției intestinale (sindromul malabsorbției) în diverse maladii ale tractului gastrointestinal.

Dereglarea absorbției conduce la pierderea efectorilor imuni, în special a imunoglobulinelor, iar în limfangioectazie și a celulelor imunocompetente. Diareea este una din cauzele dezvoltării imunodeficienței (dereglarea funcției fagocitelor, minorizarea cantitativă a LT, activității hemolitice a C).

Insuficiența vitaminelor, microelementelor rezultă cu creșterea sensibilității la infecții, acutizarea maladiilor autoimune etc. Fe, I, Zn, Cu, Co, Se, Mg sunt cofactori ai diferitor enzime necesare SI, iar insuficiența lor poate fi cauza imunodeficienței. Deficitul de Zn, Se, Mg contribuie la producerea reacțiilor pseudoalergice. Zn intră în componența a cca 200 de enzime (aldolaza, fosfataza bazică, carboxipeptidaza etc.). Organismul uman conține 1,5-2,3 g de Zn. Deficiența Zn la copii conduce la hipoplazia timusului (el este component al hormonilor timusului) și deficiența T-celulară, la inhibiția proliferării celulelor B, scăderea producției IL-2 și Ac, dezvoltarea dermatitei enteropatice cu hipoplazia țesutului limfoid.

În SIDA nivelul Zn în serul sangvin, de regulă, este mai mic de 0,9 mg/l. Administrarea i.v. a sărurilor de zinc (2 mg/zi timp de 3 săptămâni) are acțiune antivirală. În infecții nivelul Zn scade.

Biomoleculele care conțin Fe realizează unele funcții importante: participă în transportul electronilor (citocromi etc.), în formarea centrelor active ale enzimelor (oxidaze, superoxid dismutază), în transportul și depozitarea Fe (transferina, hemosiderina). Mieloperoxidaza, catalaza sunt enzime ale fagocitelor, lactoferina posedă activitate bactericidă. Deficiența de Fe (hiposideroză) se înregistrează frecvent. Fierul este necesar pentru multiplicarea bacteriilor, iar creșterea concentrației lui sau depozitarea (anemiile hemolitice, hemosiderozele) pot contribui la apariția infecției, adică a imunodeficienței. Deficitul Fe conduce la insuficiența imunității celulare, fagocitozei, predispuie la infecții.

Organismul uman conține 1,57-3,14 mmol de cupru, iar cu alimentele pătrund 2-5 mg de cupru. Scăderea acestui nivel conduce la deficiența lui. În ficat Cu se leagă cu metalotioneina, ulterior se inoculează în ceruloplasmină și enzime (tirozinază, galactozoxidază, aminooxidază, citocrom-c-oxidază). Ceruloplasmin-mul-tioxidaza participă în inflamație, este un antioxidant. Deficiența de cupru conduce la dereglarea structurii colagenului, țesutului conjunctiv, la cheratinizare și hipomielinizarea creierului. Sursă de cupru sunt boboasele, nucile etc.

Seleniul intră în componența multor enzime (citocrom-c, glicinreductază, glutathionperoxidaza etc.). La insuficiența lui apar infecții, miocardiopatie, insuficiența

cardiacă, fibroza pancreasului, hepatoza. Excesul microelementelor induce dereglarea imunității celulare, inhibiția funcției macrofagelor, imunodeficiențe postnatale.

Imunodeficiențele ca o consecință a metodelor terapeutice

Remediile terapeutice contemporane posedă acțiuni imunomodulatoare directă sau mediată și frecvent inhibă unii și stimulează alți indici ai statusului imun. Unele dintre ele sunt imunosupresoare. Administrarea de lungă durată a dozelor mari de corticosteroizi, citostatice conduce la reducerea valorilor imunității celulare și umorale. Imunodepresantele (azatioprin, ciclofosfamid, metotrexat, vincristin etc.) inhibă mielopoieza, reacțiile imune celulare și umorale. Penicilmina, sulfasalazina, preparatele aurului induc deficitul selectiv al IgA, inhibă chemotactismul și fagocitoza. Ciclosporina posedă acțiune imunosupresivă selectivă, inhibă sinteza IL-2 și răspunsul imun T-celular.

Remediile anestetice (ftorotan, eter, barbiturate etc.) modifică componența sangvină, induc leucocitoza, inhibă funcția LT, anticorpogeneza. Antibioticele, în funcție de doză, tipul microbului, induc diverse perturbări imune, caracterul cărora depinde și de acțiunea LPS bacteriilor distruse. Unele antibiotice (rifampicina, tetraciclina, penicilina, cefalosporinele) inhibă chemotactismul neutrofilelor, sulfanilamidele și trimetoprimul inhibă killing-ul din contul scăderii H_2O_2 . Antibioticele, fenotiazinele, remediile nesteroidice antiinflamatoare pot induce neutropeniile autoimune și nespecifice. Remediile terapeutice biologice (preparatele antilinfocitare, vaccinurile, anatoxinele etc.) pot fi cauza imunodeficiențelor în urma inducției modificărilor componenței și activității funcționale a populațiilor și subpopulațiilor limfocitare și fagocitelor, de asemenea, a activării complementului.

Printre factorii fizici terapeutici, inductorul cel mai puternic al imunodeficienței este terapia cu razele Roentgen. Chiar iradierea locală cu aceste raze în cazul cancerului colului uterin induce perturbări evidente și persistente ale componenței subpopulațiilor limfocitare. Majoritatea metodelor imunodepresive induc imunodeficiența comună variabilă, care este dependentă de doza imunodepresantului, schema și durata administrării. Cele mai severe forme de imunodeficiență comună variabilă apar la pacienții cu tumori maligne, după intervenția chirurgicală și administrarea terapiei citostatice imunosupresive. Apariția sindromului de imunodeficiență comună variabilă în multe maladii severe autoimune este constatată după utilizarea imunodepresantelor. Dereglări esențiale ale imunității se constată în tumorile maligne. Tumoarea crescândă elimină citokine, modulează răspunsul imun, inhibă SI, scade nivelul LT $CD3^+$, $CD4^+$, modifică profilul citokinelor secretate. Macrofagele activate elimină cantități majore de $TNF-\alpha$, IL-1, alți mediatori care acționează toxic asupra celulelor autologe și induc sindromul de cașexie. Tumorile țesuturilor limfoide sunt însoțite de inhibiția puternică a anticorpogenezei.

În mielomul multiplu și în limfocelucemia cronică se majorează producția de Ac monoclonali și se dezvoltă insuficiența celor policlonali.

Trauma chirurgicală este însoțită din primele zile de modificări ale statusului imun: scade numărul LT, răspunsul la mitogeni, migrația leucocitelor, activitatea bactericidă a serului sangvin. În sânge crește coraportul Th2/Th1, nivelul corticosteroidilor, catecolaminelor, endorfinei etc. Macrofagele activate elimină IL-1, TNF- α și PGE₂, care inhibă proliferarea LT și LB, sinteza IL-2. Nivelul major al IL-6 și TNF- α în prima zi postoperatorie indică riscul dezvoltării sindromului *de detresă respiratorie acută*.

În cazul *traumelor severe*, peste 2 ore se constată creșterea numărului de celule NK, scăderea cantitativă a LB, LT CD4⁺, inhibarea sintezei IL-1, IL-2 și IFN- γ pe fundalul majorării producției PGE α și expresiei moleculelor de adeziune ICAM-1 pe monocite. Răspunsul proinflamator pe fundalul stresului conduce și la minorizarea indicilor imunității naturale. Microorganismele microflorei normale (stafilococii, E. coli etc.) se activează.

Imunodeficiență severă se înregistrează la pacienții cu *arsuri* ca rezultat al pierderii esențiale de proteine, scăderea nivelului de IgG, LT CD3, CD4, activității fagocitare, complementului.

Uremia se asociază cu limfopenia, inhibiția fagocitozei și sintezei de Ac. Răspunsul scăzut la agenții chemotactici, adeziunea și capacitatea de înglobare a neutrofilelor se înregistrează în diabetul zaharat, LES, uremie etc.

Stresul în diverse stări extreme poate induce imunodeficiență. Perturbări ale indicilor statusului imun se constată la efortul fizic intensiv. La sportivi, după efortul fizic, în perioada precoce, are loc reducerea cantitativă a LT și răspunsul la PHA, crește numărul celulelor nule, care ulterior se normalizează. La efortul fizic intensiv se modifică și alți indici: scade activitatea funcțională a neutrofilelor, nivelul anticorpilor, iar uneori sunt absente unele clase de Ig în serul sangvin și secrete. Nivelul IgM, IgG, celulelor NK este scăzut după 3 luni de antrenament intensiv, iar cantitatea LT și LB este majorată. Scade nivelul sIgA în salivă, răspunsul proliferativ al limfocitelor la PHA, crește nivelul citokinelor și chemokinelor, care ulterior se normalizează. Astfel, modificările statusului imun la sportivi au caracter divers și tranzitoriu.

Imunodeficiența este dependentă și de *vârsta* individului. La nou-născuți, pe fundalul leucocitozei, limfocitozei fiziologice și al neutrofilozei, este scăzut moderat nivelul relativ al LT CD3, activitatea citotoxică a limfocitelor, expresia markerilor de activare (CD25, HLA-DR), dar cu un număr majorat de LB. Absența anticorpilor IgM la nou-născut este compensată de prezența IgG materne. Această stare a reactivității imune asigură sensibilitatea majorată la infecțiile bacteriene și este o etapă ontogenetică de dezvoltare. Imunodeficiențe diverse pot fi înregistrate

la nou-născuții prematuri din cauza imaturității structurale și funcționale a SI și a prezenței infecției intrauterine. La ei se constată sensibilitate majoră la flora bacteriană purulentă și insuficiența anticorpilor IgG materni.

Sindromul imunodeficienței la persoanele de vârstă înaintată se manifestă prin diminuarea indicilor rezistenței naturale și celor imuni, ca rezultat al patologiei polimorbide în această perioadă. La ei frecvent se înregistrează infecțiile virale, bacteriene, fungice. Totodată, trebuie menționat faptul că la îmbătrânirea normală, indiferent de modularea indicilor statusului imun, este păstrată capacitatea de a dezvolta un răspuns imun la agenții patogeni etc. Concomitent, maladiile cronice la majoritatea indivizilor bătrâni influențează starea sistemului imun.

Factorii nocivi profesionali induc imunomodulații tranzitorii, iar ulterior și persistente cu alterarea mucoasei nasului, căilor respiratoare, ochilor. De regulă, imunodeficiența aparentă este dependentă de intensitatea acțiunii factorilor nocivi, durata acțiunii lor, tropismul imun etc. Pesticidele, erbicidele, fungicidele etc. posedă proprietăți imunotoxice și induc scăderea cantității de LT-helper, celulelor NK, inhibă fagocitoza, nivelul anticorpilor, favorizând astfel sensibilitatea crescândă la infecții. Compușii organici ai fosforului utilizați în agricultură și în condiții menajere (carbofos, diclofos etc.) induc anemie, trombocitopenie, leucocitopenie, inhibă sinteza de Ac, activitatea bactericidă a sângelui și pielii.

Sistemul imun este sensibil la acțiunea diferitor factori nocivi antropogeni care sunt baza perturbărilor ecologice ale mediului ambiant. Compușii metalelor grele din mediul înconjurător pătrund în organismul uman cu apa, alimentele, aerul poluat și chiar în concentrații mici acționează toxic asupra celulelor proliferative ale SI. Produsele arderii incomplete a combustibilului, în special a celui de automobile (benzopirenenul, dibenzantracenele), stimulează dezvoltarea tumorilor. Sensibilitate majoră la acestea manifestă purtătorii de molecule HLA-B5 și HLA-DR5.

La utilizarea apei cu conținut de nitrați 81,5-176 mg/l apare limfopenia T, disimunoglobulinemia. Inducția modulațiilor imune patologice asupra organismului cu predispoziție genetică sub influența factorilor nocivi ai mediului este mecanismul principal de dezvoltare a imunodeficienței secundare cu apariția ulterioară a imunopatologiei (maladii alergice, autoimune etc.).

Factorii naturali (iradierea UV) pot influența statusul imun. Iradierea ultravioletă cu lungimi de undă medie și lungă poate inhiba celulele NK, fiind un factor cancerigen la iradierea pielii. Ea inhibă capacitatea celulelor Langerhans de a prezenta antigenul Th1, scade rezistența la virusuri. După iradiere, cheratinocitele secretă TNF- α , IL-10 care induc inflamația.

Toxicitatea imună a agenților nocivi poate să se manifeste printr-o simptomată polimorfă de tipul sindromului oboselii cronice.

Imunomodularea postradioactivă este manifestă prin alterarea măduvei osoase, timusului, altor organe limfoide. Se constată leuco-, limfopenia, sunt inhibați indicii statusului imun cu dezvoltarea imunodeficienței panleucocitare.

La populația din preajma Cernobîlului și la lichidatorii consecinței avariei de la stația atomică au fost constatate un șir de perturbări persistente ale statusului imun manifeste prin sindromul imunodeficienței comune variabile: scăderea nivelului de LT, CD4, dezechilibrul Th/Ts, scăderea nivelului de timulină în sânge, IgG, producției de IFN, majorarea proteinelor fazei acute, transferinei, frecvenței autoimunității, alergiei, aberației cromozomiale, majorarea cantitativă a LT cu markeri de activare etc. Alterarea glandei tiroide cu izotopi ai iodului (^{125}I , ^{131}I) și iradierea cristalinelor conduc la formarea autoanticorpilor la Ag acestora.

Diagnosticul imunodeficiențelor

Diagnosticul imunodeficiențelor este bazat pe utilizarea unui complex de metode clinice și de laborator, care include anamneza, controlul clinic și teste imunologice. În anamneza pacienților este importantă stabilirea imunodeficienței la rudele apropiate, indicațiilor la maladii cronice recidivante induse de agenții convențional-patogeni sau infecto-alergici. Criteriul principal al imunodeficienței este prezența și particularitățile clinice evolutive ale sindromului infecțios (infecții bacteriene, virale, fungice, parazitare). Imunodeficiențele primare și secundare clinic se manifestă prin:

- maladii acute, cronice sau recidivante ale căilor respiratoare superioare și pulmonilor (rinosinuzite, laringotraheite, bronșite, pneumonii etc.) de origine virală, bacteriană etc.;
- focare infecțioase cu diversă localizare (piodermite, otite, conjunctivite, abcese, furunculoză, pielonefrite etc.);
- maladii purulente recidivante cu sau fără asociere cu invazii parazitare;
- herpes recidivant al pielii și mucoaselor, hepatită virală;
- gastroenteropatii cronice și diaree de geneză necunoscută, sindromul malabsorbției;
- subfebrilitate de lungă durată și febră de geneză necunoscută;
- infecții fungice recidivante ale mucoaselor;
- limfadenopatie, limfadenite, tonsilită cronică etc.;
- timomegalie, hiperplazie și hipoplazie timusului la copii;
- dermatită atopică cu piodermie, urticarie recidivantă, edem Quincke, maladii alergice asociate cu infecții;
- hepatomegalie, splenomegalie;
- maladii autoimune;
- maladii limfo- și mieloproliferative, tumorile maligne.

Imunodeficiența poate să se manifeste printr-un proces infecțios acut, iar evoluția cronică recidivantă denotă persistența ei. Imunodeficiența secundară la adulți poate fi indusă de: factorii nocivi profesionali, stres, traume, terapia imunosupresivă, infecții

virale, sindromul oboșelii cronice. Ea frecvent este predecesoare infecției HIV, herpice, CMV, VEB, rujeolei, rubeolei, hepatice etc. Testările clinice de laborator denotă scăderea numărului de leucocite, uneori leucocitoză, eozinofilie, monocitoză, scăderea nivelului de C, hipogamaglobulinemie etc. Testările imunologice vor fi realizate cu utilizarea metodelor nivelului I și II după indicație:

- aprecierea cantitativă a LT cu utilizarea anticorpilor monoclonali anti-CD2, CD3, CD4, CD8, CD25, IIR;
- aprecierea LB CD19, CD20, CD21, CD22, CD72;
- aprecierea cantitativă a concentrației IgM, IgG, IgA, IgE în serul sangvin și sIgA în salivă (coraportul G/M/A);
- testarea activității fagocitare a neutrofilelor sangvine (numărul și indicele fagocitar);
- testul NBT;
- testarea factorilor umorali ai rezistenței nespecifice (lizozim, proteina C reactivă etc.), receptori leucocitari de legare a LPS;
- testarea complexelor imune circulante;
- aprecierea anticorpilor anti-Ag bacterieni și virali (după indicație);
- testarea activității hemolitice a complementului și/sau a componentelor lui;
- teste cutanate cu Ag (tuberculină, antigeni bacterieni, fungici etc.);
- aprecierea statusului interferonic (concentrația IFN în serul sangvin, nivelul IFN- α și IFN- γ în cultura limfocitelor sangvine după stimularea cu enterotoxină stafilococică și virionul Newcastle);
- tiparea moleculelor HLA (după indicație);
- testarea citokinelor (după indicație) în sânge prin metoda ELISA și în celulele SI prin metoda citometriei de flux.

Toți indicii statusului imun sunt interpretați în context cu anamneza și tabloul clinic al pacientului. Manifestările clinice dau o informație orientativă referitor la defectul posibil al SI. Deficitul celular T mai frecvent se înregistrează în infecțiile virale, candidoza orală după chimioterapie, antibioterapie (persistența mai mult de 6 luni), candidoza mucocutanată, reacția transplant contra gazdei cu alopecie, eritrodermie după transplantul medular sau transfuzia de sânge ori a suspensiei de leucocite etc.

Defectele celulare B sunt posibile în infecțiile piogene recidivante induse de stafilococi, streptococi, H. influenzae, în sepsis, hiperplazia persistentă a ganglionilor limfatici intestinali, incapacitatea de a răspunde la polizaharidele bacteriene etc.

Defectele fagocitelor pot fi stabilite în abcesele recidivante, în infecțiile bacteriene locale etc. Insuficiența complementului se constată în dermatita seboreică (C5), infecțiile purulente recidivante (C3 etc.).

Imunodeficiențele se instalează, de regulă, când are loc combinarea câtorva criterii clinice și de laborator cu perturbări persistente ale SI. Pentru imunodeficiențele secundare este caracteristic dezechilibrul diferitor factori și indici (cora-

portul diferitor populații și subpopulații limfocitare, disimunoglobulinemie etc.). Datorită acestui fapt, diagnosticul imunologic al imunodeficiențelor secundare trebuie să se bazeze nu numai pe valoarea indicilor sistemului imun, dar și pe coraportul lor, care permite stabilirea coeficienților cu valoare diagnostică ce vor caracteriza imunodeficiența concretă. Cercetarea de laborator nu permite în toate cazurile stabilirea concretă a defectului imun datorită numărului restrâns de teste și localizarea defectului în diferite gene participante în sinteza moleculelor, receptorilor și citokinelor SI. Necesitatea compensării defectului induce modificarea altor indici ai SI ce se manifestă prin dezechilibrul indicilor și servește ca criterii ale imunodeficienței. Diagnosticul imunodeficienței secundare poate fi de bază sau suplimentar la maladia principală și se stabilește în baza etiologiei, sindroamelor clinice predominante, defectului SI. Terapia imunodeficiențelor include eradicarea simptomelor clinice, inclusiv cel infecțios, corecția defectului imun, profilaxia recidivelor și complicațiilor. Aceste direcții necesită utilizarea anumitor procedee și metode care includ un complex de măsuri medicamentoase și nemedicamentoase (eliminarea factorilor etiologici, terapia antimicrobiană, imunoterapia substitutivă, profilaxia infectării, terapia imunocorectoare, de imunoreabilitare etc.).

În scopul profilaxiei infectării pacienților se utilizează izolarea pacienților în saloane separate cu asanarea aerului (filtrarea), măsuri de preîntâmpinare a infectării de către personalul medical (halate, măști, mănuși etc.). Condițiile gnotobiologice se utilizează, în special, în imunodeficiențele primare (imunodeficiența comună severă, sindromul Wiskott-Aldrich, maladia granulomatoasă cronică etc.), dacă pacientului nu i se efectuează transplantul medular. La majoritatea pacienților cu imunodeficiențe primare, transplantul medular nu este indicat și se utilizează diverse forme de apărare individualizate.

Izolarea pacientului este asociată cu decontaminarea intestinală și a pielii prin utilizarea remediilor antibacteriene și antiseptice. Orice procedeu de decontaminare este ineficace contra virionilor endogeni (herpes, CMV etc.).

Eliminarea factorului etiologic se referă în special la imunodeficiențele secundare când este cunoscută cauza (terapia imunodepresivă, agenții profesionali nocivi etc.).

Terapia complicațiilor infecțioase are un rol esențial. Selecția preparatului depinde de microflora testată și particularitățile imunodeficitului. Frecvent este necesară terapia combinată determinată de prezența asocierii microbilor. Remediile antibacteriene distrug bacteriile cu eliminarea structurilor care sunt recunoscute de factorii celulari și umorali ai imunității congenitale, cu formarea imunității adaptive. Terapia antibacteriană include cure raționale de antibiotice cu spectru larg de acțiune, frecvent combinate. Schemele terapice sunt individualizate pentru fiecare pacient. Remediile antifungice la acești pacienți se utilizează în scop terapeutic și profilactic. Mai frecvent, infecțiile fungice ale mucoasei și pielii sunt provocate de *Candida*, *Aspergillus*, dar pot fi constatate și forme severe induse de *Histoplasma*

capsulatum, *Coccidioides immitis*, în special în SIDA și cancer. Mai rar sunt înregistrate *Curelaria* spp., *Alternaria* spp., *Rhizopus* spp., *Mucor* spp, *Fuzarium* spp. etc. Utilizarea enterală a remediilor este asociată cu cea locală.

Terapia antivirală este indicată în imunodeficiențele celulare T și cele ale interferonilor cu utilizarea remediilor antivirale și IFN după indicație. Terapia antiparazitară include remedii în doze acceptate. În cazuri de agamaglobulinemie, deficit de anticorp și hipogamaglobulinemie secundară, se utilizează preparatele plasmei sangvine și imunoglobuline i.v.

Imunizarea profilactică cu vaccinuri vii este contraindicată pacienților cu insuficiență imună severă: imunodeficiență combinată, agamaglobulinemie, limfoame, leucemii, alte maladii tumorale ale SI, în cazul terapiei cu imunodepresante și iradiere. Mai cunoscute sunt infecțiile generalizate induse de vaccinul BCG la bolnavii cu IDS combinată, granulomatoză cronică, poliomielită paralytică, în agamaglobulinemie. Eficacitatea vaccinărilor la copiii cu IDS este minoră. Imunizarea cu anatoxine nu prezintă pericol.

Imunoterapia reconstructivă a pacienților cu defecte genetice include transplantul celulelor stem sau terapia genică. Ca material pentru transplantare pot fi utilizate celulele stem hematopoietice sangvine, ale măduvei osoase sau ficatului embrional, timusului fetal sau epiteliului timusului. Transplantul organelor sistemului imun (timusul etc.) se utilizează rar. Terapia genică se realizează prin transferul genei normale cu ajutorul unui vector în celula bolnavului.

În unele cazuri, utilizarea imunomodulatorilor în imunodeficiențele primare poate fi utilă cu remedii compensatoare ale SI. Au fost raportate date despre eficacitatea mielopidelor în agamaglobulinemie, a polioxidoniului în insuficiența comună variabilă.

Terapia imunodeficiențelor secundare include eliminarea cauzelor care au provocat-o, remedii antibacteriene (după indicații), imunocorectoare, metode tradiționale terapeutice ale sindroamelor clinice. Tipul imunocorecției (sistemic și local) și metoda concretă sunt determinate de geneza deficitului, diagnosticului (fig. 17.2). Protocolul terapiei imunodeficienței secundare include 2 etape principale: imunocorecția în perioada acută și imunoreabilitarea în remisiune. Prima etapă în IDS T-celulare include remedii antivirale (aciclovir), IFN (α, γ , leukiniferon), T-mimetice (tactivină, timalină etc.), citokine T (IL-2-ronkoleukină etc.); în ID celulare B asociate cu infecții bacteriene – remedii antibacteriene (antifungice), imunoglobuline i.v., B-mimetice (mielopid etc.), imunocorectoare cu spectru larg de acțiune, citokine; în ID fagocitare – remedii antibacteriene (antifungice), imunostimulatoare, citokine, IFN, vit.C, microelemente.

Imunoreabilitarea în remisiune include administrarea adaptogenilor (eleuterococ, echinacee), imunostimulatoarelor fitogene (imungan etc.), procedee fizioterapeutice, vaccinuri imunostimulatoare (licopid, ribomunil, anatoxină stafilococică etc.).

Sunt delimitate 3 grupe de pacienți cu ID stabilite după criteriile clinice și de laborator: pacienții cu manifestări clinice ale dereglărilor imune în asociere cu modificările statusului imun, cei care au numai manifestări clinice (fără date de laborator) și cei cu deviații ale indicilor SI, dar fără manifestări clinice. Imunomodulatele sunt recomandate doar pacienților cu manifestări clinice și ale statusului imun. Corecția deviațiilor imunologice care posibil are caracter compensatoriu nu este recomandabilă.

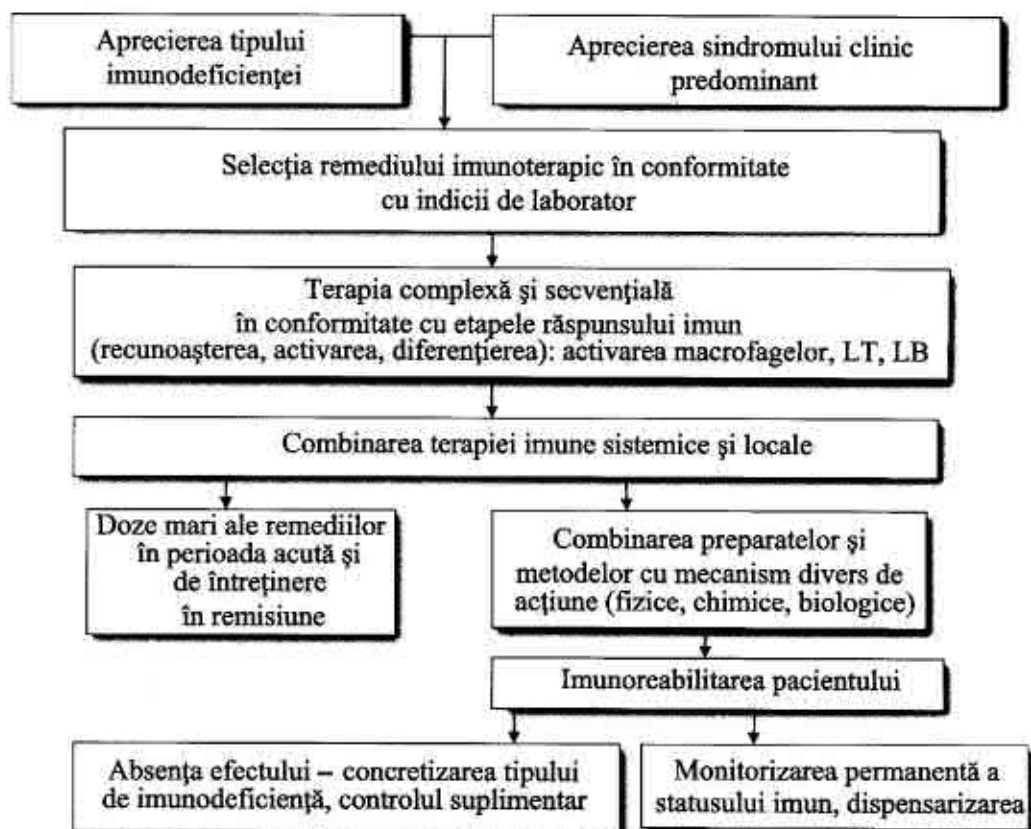


Figura.17.2. Principiile imunoterapiei și imunoreabilitării în Imunodeficiențe

Profilaxia imunodeficiențelor primare este bazată pe aceleași principii ca și alte anomalii genetice de dezvoltare (consultația medico-genetică până la nașterea copilului în cazul prezenței în familie a pacientului cu ID), utilizarea remediilor antirecursive (identice celor terapeutice) cu monitoring-ul imunologic al pacientului.

Profilaxia ID secundare include terapia eficace a maladiilor cauzale, diagnosticul precoce al dezechilibrului SI și corecția lui.

Capitolul 18. IMUNITATEA DE TRANSPLANT

Chirurgia transplantului a depășit dificultățile de ordin tehnic, iar reușita lui depinde exclusiv de reactivitatea imună, care declanșează un răspuns de respingere. În descrierea diferitor tipuri de transplant se folosește o terminologie specifică. În cazul când se recoltează un organ de la un donator și se implantează la un recipient cu restabilirea continuității vasculare (rinichi, cord, ficat etc.), se folosește denumirea de „transplant”, iar în cazul când este vorba de un țesut în care nu se fac anastomoze vasculare (cornee, măduvă osoasă etc.) se utilizează termenul „grefă”, dar această regulă nu este absolută.

Există și terminologie care diferențiază tipul transplantului după relația dintre donator și recipient.

Autogrefa – donatorul și receptorul este aceeași persoană (de ex., pielea). Ea se practică cu o frecvență mare în caz de arsuri, intervenții chirurgicale estetice, când pielea dintr-o regiune a corpului este implantată într-o zonă compromisă. Ea se prinde dacă este asigurată vascularizarea ei. Referitor la alte particularități ale țesutului transplantat, grefele homovitale se fac pentru asigurarea viabilității țesutului transplantat, iar cele homostatice sunt cele în care țesutul grefat are rolul numai de suport structural, pe care se dezvoltă țesutul gazdei pentru restabilirea arhitecturii inițiale. Astfel de grefe sunt lipsite de orice urmă de țesut antigenic și se practică pentru a înlocui un fragment de vas sau de os.

Singrefa este antigen-identică și se referă la liniile „inbreeding” de animale, iar la om – la gemenii univitelini.

Alogrefa este homoloagă, țesutul provine de la indivizii aceleiași specii, dar cu variante antigenice diferite. Alotransplantele sunt regrefate din cauza incompatibilității antigenice dintre donator și recipient.

Xenogrefa este heterologă, iar țesutul antigenic aparține reprezentanților diferitor specii cu regrefarea transplantului de către anticorpii naturali, Ac citotoxici secretați, componentele C activat.

Reacția imună va fi absentă în cazul autogrefelor și singrefelor, cu o creștere evidentă de la alo- la xenogrefe. Fiecare persoană (cu excepția mozigotilor) posedă un mozaic de antigeni individuali, practic irepetabil. Antigenii de transplantare sunt de grupă sangvină (AB0, Rh etc.), de histocompatibilitate majoră și minoră. Antigenii de grupă sangvină AB0 pot fi considerați Ag de transplantare, deoarece sunt prezenți nu numai pe hematii, ci și pe membranele tuturor celulelor nucleate. Sunt molecule oligozaharide terminale foarte antigenice, care există atât pe celulele fixe ale grefonului, cât și pe celulele sangvine. Incompatibilitatea AB0 poate să determine o scădere a șanselor de prindere a

grefelor. De exemplu, o grefă renală, provenită de la un donator din grupele A, B sau AB, suferă un proces de „respingere hiperacută” dacă este transplantată la o persoană de grupa 0 (care posedă izoanticorpi anti-A și anti-B). Testarea apartenenței Rhesus se efectuează prin utilizarea Ac monoclonali anti-D, testului Coombs. Celelalte grupe sangvine (Kell, Ii, Duffy, Kidd etc.) nu au impact clinic la supraviețuirea transplantelor de organe, cu excepția antigenilor Lewis (Le) și/sau N față de care pot să existe anticorpi naturali. Testarea Ag eritrocitare A, B, D cu Ac monoclonali sau seruri standarde izohemaglutinante, precum și testarea izohemaglutininelor anti-A și anti-B ale serului sangvin prin utilizarea hematiilor standard sunt elucidate în anexele 3 și 4. Concomitent se va efectua proba pentru compatibilitatea individuală a donatorului și recipientului cu testarea serului recipientului cu hematiile donatorului. Această apreciere permite identificarea Ac în serul recipientului cu activitate anti-Ag eritrocitare ale donatorului.

Testarea proteinelor antigenice ale plasmei sangvine (Gm, Inv etc.) se efectuează în reacția de inhibiție a aglutinării în sistemul Rhesus (hematii Rh-pozitive și Ac incompleți anti-Gm+ sau anti-Inv+). La suplimentarea Ac anti-Gm sau anti-Inv+ eritrocitele sensibilizate de Ac vor aglutina. Sensibilizarea la Ag Gm poate apărea în graviditățile repetate și poate conduce la reacții posttransfuzionale. Sistemul Inv dispune de diferențe antigenice ale lanțurilor L. Pentru lanțurile H IgA se determină diferențele antigenice Am.

Antigenii majori de histocompatibilitate sunt produsele genelor complexului major de histocompatibilitate (MHC), care a fost identificat ca principala regiune ce determină rejețul sau acceptarea grefelor tisulare între indivizi. Primul Ag uman al MHC a fost denumit HLA (*Human Leucocyte Antigen*), semnificând faptul că moleculele au fost detectate pe leucocite, ulterior sistemul de histocompatibilitate la om a fost notat prin simbolul HLA (vezi cap. 4). Ag sistemului HLA prezenți pe majoritatea celulelor participă în reacțiile imune de transplant. Dacă compatibilitatea AB0 este asigurată, produsele genelor MHC sunt acelea care conduc la rejețarea rapidă a grefelor (de unde și termenul de Ag „majori” de histocompatibilitate). Ag HLA-DR sunt mai imunogeni decât HLA-B și, respectiv, decât HLA-A. Compatibilitatea HLA între 2 persoane există doar la gemenii monoziagoți care au genotipuri identice sau un frate (soră) cu HLA genotipic identic. Compatibilitatea parțială se referă la faptul că numai majoritatea genelor HLA sunt identice. Ea este mult mai frecventă între membrii unei familii, în special la rudele de gradul I (un singur haplotip din cele două, identic). Șansa de a găsi un donator cu același HLA la populația neînrudită este foarte mică.

Antigenii minori de histocompatibilitate (mHA) de la „minor Histocompatibility Antigen” sunt tot Ag polimorfi prezenți pe membranele celulelor nucleate, dar codificați de alte locusuri, în afara MHC (gene non-MHC). Deosebirea esențială constă în faptul că răspunsul imun la acești Ag este mai slab și întârziat (60-120 de zile la grefele cutanate). Cel mai cunoscut set de proteine mHAg, care induc răspunsul de respingere, este codificat de genele situate pe cromozomul Y, specific pentru bărbați, și sunt denumite H-Y. Deoarece femeile nu exprimă acești Ag, ele vor dezvolta o reacție imună față de H-Y, determinând rejctarea transplantului, chiar dacă acesta are genotip MHC identic. Postulatul de bază la transplantare este că grefa se prinde dacă nu diferă după Ag de recipient și este eliminată dacă aceștia sunt prezenți. În cazul incompatibilității antigenice se dezvoltă reacții posttransplant. Se disting reacții de regrefare a transplantului și reacții „transplant contra gazdei”. Ultimele apar când limfocitele incompatibile sunt inoculate recipientului incapabil de eliminarea lor (organisme cu sistem imun imatur sau inhibat de imunodepresanți).

Respingerea alogrefelor este un proces complex în care intervin limfocitele T-citotoxice aloreactive, producerea de citokine și aloanticorpi. Rolul principal le revine LT. Pentru realizarea răspunsului imun la grefa alogenă este necesară pătrunderea și recunoașterea Ag străini de către celulele imunocompetente ale recipientului care se va realiza la vascularizarea transplantului. În cazul când transplantele interesează zone lipsite de vascularizare, grefele pot supraviețui chiar dacă sunt HLA incompatibile (zone „privilegiate”, de exemplu corneea, oasele compacte, unele porțiuni intraoculare etc.).

În faza de recunoaștere (sau sensibilizare) rolul esențial îl joacă LT – helper CD4⁺ ale recipientului, ale căror receptori specifici pentru Ag (TCR) recunosc aloantigenii HLA de clasa II. În mod fiziologic aceste celule în număr mic recunosc Ag străini prezentați de molecule proprii HLA de clasa II sub formă de epitopi fixați în cavitățile acestor molecule. Recunoașterea alogenă se face de un număr mare de LT (1-5% din totalul lor) datorită reacției încrucișate cu mai multe tipuri de molecule HLA alogene pe care le „confundă” cu complexul HLA propriu + peptida străină. Moleculele HLA alogene diferă de cele proprii prin resturi de aminoacizi, care vor fi recunoscuți de o clonă cross-reactivă a LT. Fenomenul de recunoaștere a moleculelor fără prelucrarea prealabilă a Ag este denumit prezentarea directă a aloantigenului, iar cea după procesarea Ag – prezentare indirectă a aloantigenului. Datorită faptului că HLA alogene sunt structural diferite de cele proprii, ele pot fi fagocitate, procesate și prezentate de APC ca orice proteină străină (prezentare indirectă). Prezentarea se face după prelucrarea prealabilă de către APC a MHC alogene (fig 18.1).

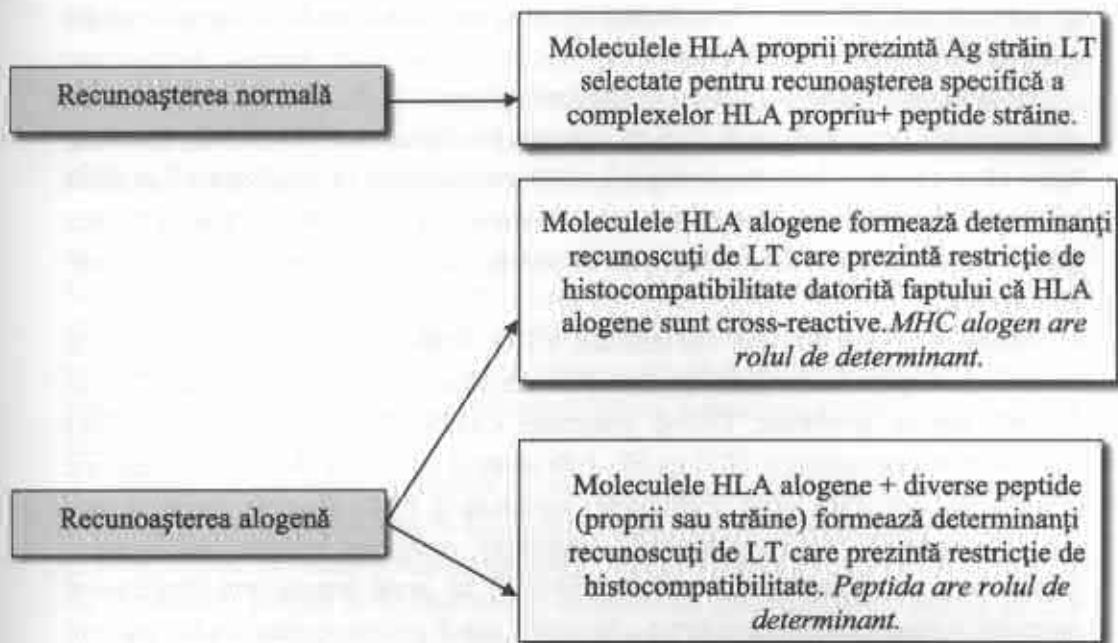


Figura 18.1. TCR specific pentru peptidele străine legate de HLA proprii reacționează încrucișat cu moleculele MHC alogene sau cu complexul MHC-peptidă (proprie sau străină)

Celulele prezentatoare de Ag (APC) pot activa și iniția expansiunea clonală a LT, deoarece posedă HLA de clasa II și molecule costimulatoare (în absența ultimelor are loc anergia LT). A fost demonstrat că celulele responsabile de sensibilizarea LT a recipientului sunt celulele dendritice (DC) ale donatorului prezente în țesutul grefat, care posedă pe suprafața lor concentrații mari de aloantigeni HLA de clasa II, prezentându-le LT CD4 aloreactive ale recipientului, având și costimulatori necesari activării acestora. Mai bogate în celule dendritice și respectiv cu o imunogenitate mai evidentă sunt măduva osoasă hematogenă, pielea, insulele Langerhans din pancreas, cordul, rinichii și ficatul.

Celulele dendritice (DC) părăsesc grefonul și migrează în ganglionii limfatici regionali, unde se întâlnesc cu LT aloreactive pe care le stimulează. În cazul migrației în sânge, ele se întâlnesc în splină. Eficiența prezentării aloantigenilor este mai mare dacă APC sunt viabile.

Dacă DC din grefon sunt îndepărtate, răspunsul imun va fi mai slab și va fi generat de aloantigenii solubili desprinși de pe suprafața celulelor donatorului, care sunt fagocitate de DC sau macrofagele recipientului și prelucrate în fragmente peptidice mici imunogene (epitopi). A doua cale de sensibilizare este indirectă când APC proprii prezintă epitopii străini în contextul HLA de clasa II proprii. Tot

în așa mod este generată și reacția față de antigenii mHA. Va fi declanșată reacția efectoare de tip inflamator (Th1).

În urma interacțiunii TCR cu aloantigenii prezentați de APC proprii și străine se realizează activarea limfocitelor, apariția limfoblaștilor, IL-2R, IL-2, recrutarea altor celule indusă de multiplele citokine secretate cu realizarea funcțiilor efectoare ale acestora. Faza efectoare a răspunsului imun va depinde de natura greței, raporturile ei cu circulația, de existența sau de absența sensibilizării anterioare etc.

Efactorii principali sunt cei celulari. LT-citotoxice CD8⁺ interacționează cu celulele-țintă prin intermediul legării TCR de aloantigenii HLA de clasa I, producând citoliza (perforine, TNF-β, granzime, CD95). LT CD4 aloreactive (Th1) activate prin interacțiunea TCR cu HLA de clasa II produc și eliberează limfokine proinflamatoare, care atrag limfocitele, monocitele, PMN (factori chemotactici) și le mențin local (factori de inhibiție a migrării), activează celulele mobilizate și produc lezarea celulară prin limfokine (TNF-β). În acest proces sunt implicate și monocitele/macrofagele care devin „furioase”, atacă și distrug celulele din jur prin eliberarea de TNF-α, prin citotoxicitatea anticorp-dependentă (ADCC). Celulele NK distrug celulele-țintă prin ADCC (direct atacă doar celulele lipsite de HLA de clasa I).

Anticorpii aloreactivi au specificitate anti-HLA de clasa I și distrug celulele prin ADCC sau prin citotoxicitatea dependentă de complement. Eliberarea factorului PAF produce aglutinarea și activarea trombocitelor cu formarea de trombusuri și ischemia țesuturilor.

Tipizarea Ag HLA se efectuează la donator și recipient prin metode serologice, celulare, tehnici biochimice și genetice, după care se selectează perechea cea mai compatibilă (vezi compartimentul II). La prezența incompatibilității antigenice se dezvoltă reacții posttransplant (reacția de regrefare a transplantului sau reacția „transplant contra gazdei”). Ultima se dezvoltă în cazul când recipientului incapabil de reacție de regrefare i se inoculează limfocite incompatibile. Reacția de regrefare poate avea caracter divers și depinde de gradul diferenței genetice dintre donator și recipient, de presensibilizarea anterioară la Ag HLA ai donatorului, de existența infecțiilor, de ineficiența terapiei imunosupresive etc.

Ca surse de grefe (rinichi, cord, ficat, cornee etc.) pot fi utilizați donatorii în viață sau cadavrele.

Din cauza polimorfismului Ag HLA șansele de a găsi un donator compatibil sunt reduse. Bolnavilor candidați la grefare li se stabilesc grupele sangvine ABO și HLA, după care ei sunt incluși în listele de așteptare ale organizațiilor medicale de

transplantare. Selecția donatorilor și recipientului se face prin aprecierea celei mai compatibile variante după sistemul HLA. Datorită existenței diferențelor antigenice, compatibilitatea va fi, de regulă, parțială, cu apariția posibilă a diferitor reacții posttransplant. Monitorizarea recipientului se realizează prin urmărirea evoluției clinice, imunologice a pacientului și, mai ales, prin biopsii.

Reacția hiperacută apare în câteva ore (sau minute) după stabilirea circulației și pătrunderea sângelui recipientului în organul greșit. Cauza acestui tip de rejecție sunt Ac citotoxici preexistenți în organismul recipientului față de Ag HLA al donatorului exprimați pe endoteliul transplantului. La legarea cu acestea induc activarea C, alterarea endoteliului, eliberarea de citokine și mediatori cu dereglarea circulației sangvine. Rejecția hiperacută nu răspunde la tratament, iar organul greșit este compromis.

Reacția acută apare în decurs de câteva săptămâni (de obicei, la a doua săptămână) și are la bază acțiunea LT și Ac produși cu particularități de manifestare și sensibilitate la terapia imunosupresivă. Antigenii donatorului pot fi prezenți LT de celulele proprii și de leucocitele donatorului, care intensifică reacția imună. În destrucția alotransplantului participă Th1, Th2 și killerii CD8 imuni care induc killing-ul direct al celulelor donatorului. Citokinele eliberate de LT-helper induc inflamația și alterarea vasculară a transplantului. Acesta este infiltrat de mononucleare. În afara LT în proces pot participa enzimele (PLA a limfocitelor activate alterează fosfolipidele membranei celulare.)

Reacția cronică se dezvoltă după luni sau ani în urma acțiunii LT și Ac cu alterarea progresivă și ireversibilă a funcției transplantului.

Transplantul de celule, organe și țesuturi

Transfuzia sangvină a fost primar utilizată în transplantare, cu testarea antigenilor eritrocitari. Diferențele antigenice leucocitare și serice creează posibilitatea de sensibilizare a recipientului, și ulterior pot fi cauza reacțiilor anafilactice. Datorită acestui fapt actualmente, la necesitate, se utilizează componentele sangvine (de ex., masa eritocitară etc.). Dacă este necesară transfuzia leucocitelor, atunci se va efectua selecția după Ag HLA. Transfuzia sângelui integră are indicații restrânse. Actualmente a apărut o direcție nouă, de perspectivă – transplantul celulelor stem obținute din sânge. Celulele stem, în prezența moleculelor biologice active, citokinelor, chemokinelor, hormonilor, enzimelor și factorilor de creștere sunt capabile de transformare în diverse celule în funcție de condițiile microclimatului corespunzător.

Markerii celulei pluripotente stem umane sunt: SSEA-3 și SEA-4 (antigenii 3 și 4 stadio-specifici embrionari), TRA-1-60 (Ag care inhibă tumoarea 1-60), TRA-1-81 (Ag care inhibă tumoarea 1-81), fosfataza alcalină, factorul de transcripție 1. În măduva osoasă, o celulă stem revine la 10 000-15 000 de celule, pe când în

sânge – 1 la 100 000 de celule. În circulația sangvină celulele stem se găsesc timp scurt, apoi migrează în țesuturi unde găsesc condițiile necesare pentru diferențiere. Pentru utilizarea clinică se folosesc celulele stem autologe și alogene. Cele alogene sunt obținute din sângele cordonului ombilical sau din cel periferic și din măduva osoasă a donatorului. Reacția imună la recipient nu se dezvoltă, deoarece celulele stem sunt capabile să inducă toleranța. Mai frecvent ele sunt utilizate în anemii, tumorile sistemului hematopoietic și în insuficiența genetică a hematopoiezei. Au fost descrise rezultate clinice pozitive în terapia sclerozei multiple, infarctului miocardului, cirozei hepatice etc. cu utilizarea celulelor stem autologe și alogene.

Transplantarea celulelor alogene ale glandelor endocrine. Principiul de bază în acest caz constă în izolarea celulelor glandulare obținute de la donator de celulele SI al recipientului pentru care se utilizează camere de difuzie, microcapsule etc. Transplantul celulelor Langerhans îmbunătățește starea clinică a pacientului cu diabet zaharat. Inocularea celulelor transplantate (în cavitatea abdominală, i.m. etc.) nu influențează esențial rezultatele, iar în ochi, testicul, creier, transplantele alogene supraviețuiesc timp mai îndelungat.

Transplantul măduvei osoase se efectuează recipientilor cu un spectru larg de maladii prin utilizarea diferitor scheme. De regulă, recipientii sunt pacienți cu forme severe de hemoblastoze rezistente la chimioterapie sau persoanele cu iradiere în doze mari. La transplantarea măduvei osoase alogene este necesară compatibilitatea antigenică completă, deoarece în acest caz poate să se dezvolte reacția „grefa contra gazdei”. Mecanismele imune care stau la baza acestei reacții sunt recunoașterea de către limfocitele CD4⁺ ale donatorului a Ag recipientului. În urma activării, ele vor induce un răspuns imun de distrugere a celulelor gazdei prin citotoxicitate directă și indirectă (mediată de limfokine). Țintele cele mai frecvente ale reacției anti-gazdă sunt celulele din piele, ficat, tractul intestinal și sistemul imun. Clinic, boala poate fi acută sau cronică, iar formele manifeste variază de la ușoare la severe, în funcție de gradul de diferență al Ag de transplantare. Alterarea sistemului imun conduce la infecții grave bacteriene și fungice (candida), adeseori provocate de germenii oportuniști și reprezintă complicația cea mai periculoasă. Sunt frecvente reactivările unor infecții virale latente, în special cele herpetice, citomegalovirale etc. Pot apărea pneumonii virale interstițiale fatale sau hepatite.

Identificarea unui donator al măduvei osoase compatibil în populație neînru-dită este foarte dificilă datorită faptului că indivizii cu HLA-A,- B, -C, -D se întâlnesc cu o frecvență de 1:20 000 și este necesară tipizarea cca a 10 mil. de donatori pentru aprecierea unui compatibil cu recipientul dat. Actualmente se elaborează diverse metode de purificare a medularei de limfocitele T. În acest scop se utilizează AcMo anti-CD3⁺ în prezența complementului sau separarea magnetică. În

cazurile severe, recipientii sunt iradiați total, iar la transplantare se înregistrează cele mai multe complicații de reacții „transplant contra gazdei” cu administrarea citostaticeilor.

Indicații pentru transplantarea măduvei osoase sunt diverse variante ale imunodeficienței combinate severe, sindromul Wiscott-Aldrich, neutropeniile severe, maladia granulomatoasă cronică a copiilor, agranulocitoza severă, anemiile aplastice, mieloleucemiile acute și cronice, limfocitemia acută recidivantă etc. Tehnica transplantării medulare nu este complicată. De la donator se obține prin multiple aspirații măduva osoasă din stern și ilion în volum de 300-500 ml, care se colectează într-un flacon cu heparină, cu filtrarea ei ulterioară pentru eliminarea fragmentelor de oase și a particulelor de grăsime. Recipientului i se inoculează $3-5 \times 10^9$ celule mononucleare la 1 kg de masă corporală. Pentru inhibiția reacției „transplant contra gazdei” se utilizează imunodepresante: metotrexat, gamaglobulină antilimfocitară, corticosteroizi etc.

Transplantul organelor. Mai frecvent se utilizează transplantarea rinichiului alogen (de la donator și cadavru) și a cordului. Au fost elaborate metode de transplantare a lobului, segmentelor și ficatului integru, a pulmonilor, pancreasului, intestinului subțire etc.

Selecția donatorului compatibil se efectuează prin tipizarea grupei sangvine, Ag HLA-A, HLA-B, HLA-DR, HLA-DQ cu utilizarea diferitor metode (vezi cap. 4), testarea la recipient a Ac anti-Ag HLA, testul la compatibilitatea individuală etc. Inhibiția reacției de regrefare se realizează prin administrarea imunodepresantelor. În cazul grefelor renale s-a constatat că rețetarea este de 2-3 ori mai mare dacă interesează locusurile HLA-A sau HLA-B (în special HLA-B) și de 5 ori mai mare dacă există la nivelul HLA-DR. Importanța compatibilității HLA pentru alte organe grefate este mai mică.

La transplante hepatice rețetul hiperacut este absent, iar episoadele de respingere sunt mai ușoare și necesită mai puțină imunosupresie. În mod normal, hepatocitele exprimă HLA de clasa I foarte slab sau absentează.

Situația grefelor cardiace este intermediară cu cele renale și hepatice. Compatibilitatea la nivelul HLA de clasa II prelungește semnificativ supraviețuirea inimii transplantate (la 3 ani 90% la HLA-DR compatibil față de 65% incompatibili). Antigenii HLA de clasa I sunt slab exprimați la nivelul celulelor miocardului. Alogrefele de piele HLA compatibile sunt mai bine tolerate decât cele incompatibile, dar în practica uzuală nu se face în prealabil tipizarea HLA din 2 motive: transplantele cutanate se utilizează doar pentru a se acoperi suprafețele care au suferit arsuri grave, fiind deci cu imunodepresie accentuată tolerează tegumentele alogene, iar scopul transplantelor este doar de protejare temporară la infecții. În cazul când se dorește obținerea unor transplante de lungă durată, se folosesc autogrefele (din altă zonă). Compatibilitatea HLA între donatori și

recipient nu este absolut necesară în cazul primei grefe de cornee (se face într-o zonă privilegiată).

Tratamentele imunosupresive sunt aplicate pe larg pentru prelungirea supraviețuirii grefelor. Imunosupresia este indicată tuturor pacienților grefați (cu excepția monozișoților), deoarece chiar în cazul fraților/surorilor HLA identici se poate produce rejecția prin diferențe la nivelul locilor de histocompatibilitate minoră.

Terapia imunosupresivă înainte de transplantare vizează reducerea sau eliminarea LT imunocompetente și poate fi realizată prin drenarea ductului toracic, iradierea corporală totală cu raze X sau prin tratamentul medicamentos cu utilizarea remediilor care împiedică sinteza acizilor nucleici (adică proliferarea celulelor) ca azathioprina (analog de purină) și ciclofosfamidele (alkilante).

Terapia după transplantare vizează instalarea unei stări de imunosupresie pentru prevenirea respingerii grefei. Inițial se administrează o terapie imunosupresivă puternică urmată de una de susținere (cu doze mici), iar în final se face un tratament minimal sau se administrează imunosupresoare la momentul depistării primelor semne de rejecție în cursul monitorizării transplantului. Se administrează ciclosporină, azathioprină, ciclofosamidă, corticosteroizi și Ac (ser antilimfocitar, AcMo). Schemele terapice variază. Toate remediile imunosupresive sunt nespecifice, conduc la reducerea indicilor statusului imun, sporesc riscul apariției infecțiilor etc. Selectarea unei imunosupresii adecvate este dificil de realizat, dar monitorizarea clinică și paraclinică garantează atingerea acestui scop.

Toate remediile imunosupresive acționează asupra tuturor celulelor implicate în răspunsul imun, iar pacienții sunt expuși riscurilor de dezvoltare al infecțiilor. Doar echilibrul, obținut printr-o imunosupresie adecvată, monitorizarea clinică și paraclinică vor asigura succesul transplantării.

COMPARTIMENTUL IV.

TERAPIA IMUNĂ, IMUNOCORECȚIA ȘI IMUNOREABILITAREA

Funcțiile sistemului imun (SI) pot fi modificate (majorate sau inhibitate) sub influența diferitor factori endogeni sau exogeni. Cercetările experimentale și observațiile clinice denotă că, în afară de reacțiile specifice care antrenează o clonă limfocitară unică sau un număr restrâns de clone, ele pot fi activate și nespecific sau „policlonal”, situație în care sunt implicate aproape toate clonele celulare. Astfel activate, ele devin mai eficiente în protejarea organismului față de un șir de agresori. Acest proces, în care sunt antrenate nespecific un mare număr de clone celulare ce ating parametri optimi de funcționare, a primit denumirea de modulare nespecifică a răspunsului imun sau *imunomodulare*, iar agenții care îl generează sunt cunoscuți cu termeni sinonimi de *imunomodulatori*, *imunorestauratori*, *modificatori ai răspunsului biologic* sau BRM (*Biological Response Modifiers*). Ca rezultat, a apărut o nouă clasă de remedii farmacologice – preparate imunotrope care sunt substanțe naturale, sintetice, biotehnologice capabile să influențeze diferite verigi ale SI și, astfel, să modifice puterea, caracterul și direcția reacțiilor imune. Spectrul acestor remedii crește încontinuu. Deseori, astfel de proprietăți se constată la preparatele utilizate pentru terapia unor maladii. Acest fapt denotă că SI posedă tropism înalt la diferite substanțe, în special xenobiotice. Aceste substanțe sau produsele biotransformării lor interacționează cu receptorii celulelor sau factorii extracelulari și induc modificarea indicilor reactivității imunologice.

În conformitate cu efectele principale, terapia și profilaxia imunotropă se divizează în: imunostimulatoare, imunosupresoare și imunomodulatoare.

Imunostimularea este un procedeu de activare a imunității. Există stimulare specifică și nespecifică, care activează o clonă distinctă a celulelor imunocompetente sau intensifică răspunsul imun generalizat al organismului. Utilizarea remediilor imunostimulatoare în medicină este acceptată ca oportună în imunodeficiențele primare și secundare, însoțite de infecții virale și bacteriene recidivante ale sistemelor respirator, digestiv, urogenital, ale pielii etc., în tratamentul complex al pacienților cu oncopatologii.

Imunosupresia prezintă o acțiune direcționată spre inhibiția sau eliminarea anticorilor și/sau a limfocitelor care specific reacționează cu alo- sau autoantigenii. Se utilizează preponderent în terapia maladiilor autoimune și limfoproliferative, în transplantul organelor și țesuturilor.

În ultimii ani a apărut o nouă noțiune – *imunoreabilitatea*, care include un complex de măsuri imunologice, imunocorectoare, imunoprofilactice, sociale, ecologice, biomedicale, direcționate spre restabilirea reactivității imunologice modificate, reversia statusului imun la starea inițială echilibrată.

BRM modifică răspunsul imun prin creșterea și/sau restaurarea mecanismelor efectoare sau a mediatorilor implicați în apărarea organismului; minorizarea unor

componente ale reacției organismului care produc leziuni tisulare; înlocuirea mediatorilor sau a mecanismelor efectoare deficitare cu produse biologice naturale sau sintetice; creșterea răspunsului organismului la vaccinuri ori la agenții chimioterapeutici; majorarea capacității organismului de a tolera efectele dăunătoare ale manifestărilor citotoxice; scăderea transformării și/sau creșterea diferențierii celulelor tumorale (reversie). Există mai multe clasificări a preparatelor cu tropism imun: după origine (endogene, exogene, sintetice), efectul clinico-imunologic realizat (prioriar asupra rezistenței nespecifice, imunității celulare, umorale, celulare și umorale, fagocitozei, statusului interferonic etc.). Ținând cont de particularitățile imunoterapiei și imunoprofilaxiei diferitor maladii, este necesar de a evidenția următoarele grupe:

- imunoterapia maladiilor cu reactivitate majorată (bolile alergice și autoimune);
- imunocorecția deficitelor primare și secundare ale SI;
- imunoterapia tumorilor și maladiilor limfoproliferative;
- imunoterapia reacțiilor posttransplant;
- imunocorecția dereglărilor reproducerii.

În acest scop sunt utilizate remedii specifice și nespecifice. Pentru selecția optimă a metodei de imunoterapie este necesar de a stabili diagnosticul clinic și imunologic al maladii. Diagnosticul imunologic include aprecierea indicațiilor și tipul de realizare, permite monitorizarea eficacității, aprecierea necesității de imunoreabilitare etc. Primar este necesar de a testa statusul imun al pacientului cu aprecierea verigii afectate a SI, care a condus la apariția maladii sau la recidivarea ei.

Remedii selective cu țintă asupra unor verigi concrete sunt puține la număr și, deși se cunoaște că unele dintre ele acționează direcționat asupra limfocitelor T și B, macrofagelor *in vitro* sau în condiții de experiment la animale, aceasta nu semnifică că efectul terapeutic la pacient va fi identic. Selecția medicamentelor imunoterapice se bazează pe studiul caracterului perturbărilor imune în baza diagnosticului clinic de laborator și celui imunologic. Este necesar de a studia în prealabil influența remediilor care urmează a fi administrate asupra leucocitelor prin probele cutanate la pacient și testele imunologice *in vitro*. Testarea dată facilitează într-un șir de cazuri prognozarea eficacității preparatului și evitarea complicațiilor posibile. A fost demonstrat că influența remediilor asupra receptorilor leucocitelor la bolnavi diferă. Multiple preparate (timalinul, tactivinul, levamisolul etc.) în doze terapeutice manifestă efect reglator: ele intensifică expresia scăzută a receptorilor limfocitelor T și B la bolnavi și, dimpotrivă, o minorizează în cazul indicilor relativ majorați. Concomitent, efectul preparatelor nu este identic la diferiți indivizi: atât la donatori, cât și la bolnavi. Preparatul manifestă, asupra leucocitelor unor pacienți, efect stimulant, iar la alții – deprimant. Efectul acțiunii unui complex de remedii diferă de rezultatele acțiunii lor separate. Astfel, este necesară selecția remediilor imunotrope ce vor fi administrate pacientului concret, pentru a aprecia influența lor asupra receptorilor și activitatea funcțională a leucocitelor, producția de imunoglobuline, citokine, metabolismul.

Ameliorarea clinică și chiar însănătoșirea nu sunt însoțite întotdeauna de normalizarea statusului imun. Deviațiile acestuia de la normă, în special în imunodeficiențe, persistă timp îndelungat și necesită realizarea măsurilor de imunoreabilitare. Practic, în imunodeficiențele primare și în multe forme secundare, terapia substitutivă este indicată timp îndelungat, uneori toată viața din cauza efectului clinic instabil.

Indicațiile clinice principale pentru imunoterapie, imunomodulare și imunoreabilitare

Imunostimularea este administrată în imunodeficiențele cu tabloul clinic torpid al proceselor patologice însoțite de indicii scăzuți ai leucocitelor, limfocitelor T și B, monocitelor-macrofagelor sau granulocitelor și complementului. Ea este indicată, de asemenea, și în tratamentul îndelungat cu remedii imunodepresante.

Metodele imunodepresive sunt utilizate, în special, în maladiile autoimune și alergice, pentru prevenirea reacțiilor imune la transplantarea organelor (țesuturilor) și diminuarea reactivității cu majorarea nivelului de anticorpi respectivi și sensibilizarea înaltă a celulelor T.

Deși numărul de preparate cu efect stimulant pozitiv asupra indicilor statusului imun al pacientului este mare, selecția lor pentru administrare, indicațiile concrete pentru bolnav, eficacitatea clinică și profilactică în majoritatea cazurilor se bazează pe abordări empirice și adeseori pe asociații incidentale. Uneori, unele preparate structural diverse, potențial antagoniste funcțional, induc efecte pozitive clinice de laborator identice.

Diversitatea efectelor clinice ale imunomoduloarelor poate fi explicată prin prezența mecanismelor comune ale maladiilor imunodeficitare, indiferent de diversitatea manifestărilor clinice și a efectelor pleiotrope ale acestora, mediate de participarea diferitor verigi ale SI.

Principiile generale de administrare a remediilor imunocorectoare sunt: argumentarea clinico-imunologică minuțioasă a administrării pacientului concret; excluderea efectelor secundare posibile (toxice, alergice, infecțioase etc.); securitatea procedurilor și căilor de inoculare; însănătoșirea sau îmbunătățirea calității vieții pacientului după utilizarea lor, adică eficacitatea suficientă; economicitatea farmacologică esențială a curei de tratament cu remediul dat sau cu o combinație de preparate, comparativ cu alte remedii terapeutice.

Este important de a aprecia corelația tipului de imunoterapie cu fazele principale ale răspunsului imun: inductiv, proliferativ, efector. Deoarece imunoterapia, de regulă, se utilizează în perioada precoce sau manifestă a maladiei, ea acționează mai rar în faza efectorie a răspunsului imun, comparativ cu cele două precedente. Acest fapt trebuie luat în considerare atunci când unul din preparate influențează prioritar faza proliferativă celulară, iar altele – secreția mediatorilor, interacțiunea ultimilor cu celulele-țintă.

Mai eficace sunt remediile și procedeele care influențează faza imunologică de interacțiune a alergenului cu celula (eliminarea alergenului, hiposensibilizarea specifică). Preparatele (steroidii) care inhibă eliminarea mediatorilor (faza a 2-a a reacției), de asemenea, au eficacitate bună, dar ele nu exclud prima fază a reacției. Remediile bronholitice, antihistaminice întrerup faza a 3-a a reacției (patofiziologică) și sunt eficace, de regulă, temporar, deoarece nu preîntâmpină cele 2 faze ale reacției.

Complicațiile imunoterapiei și imunoprofilaxiei

În procesele de imunoterapie și imunoprofilaxie pot apărea diverse complicații și maladii care rezultă din reactivitatea majorată a organismului și dezvoltarea reacțiilor alergice și pseudoalergice, scăderea reactivității cu dezvoltarea imunodeficiențelor, dereglărilor metabolice și inducției fermentopatiilor (complicațiile postvaccinale, șocul anafilactic, maladia serică, reacții imunopatologice la imunomodulatoare etc.). Pentru profilaxia acestor complicații este necesar studiul minuțios al anamnezei, controlul prealabil al reactivității organismului *in vivo* și *in vitro* etc.

Patologia imunomodulației (sindromul imunodepresiv și cel imunostimulator) apare în cazul utilizării neadecvate și incorecte a remediilor imunotrope. Administrarea imunomodulatoarelor întotdeauna presupune inhibiția unor verigi și stimularea altora, necesitând și o monitorizare clinică și paraclinică. Imunodepresia este primejdioasă prin posibilitatea apariției infecțiilor virale, bacteriene, fungice. Sindromul imunostimulației clinic se manifestă prin maladii alergice și autoimune (alergia la remedii medicamentoase de tip imediat și întârziat, LES, anemiile hemolitice, leucopeniile etc.). Imunostimularea poate fi cauza dezvoltării sindromului limfoproliferativ (limfoame, limfoleucemii etc.).

Complicațiile toxice și metabolice, de regulă, sunt consecința acțiunii directe a remediilor imunotrope la țesutul respectiv. Citostaticele inhibă proliferarea celulelor, hematopoieza; glucocorticosteroidii modifică metabolismul și pot apărea un șir de complicații; imunomodulatorul decaris inhibă leucopoieza până la agranulocitoză și induce erupții cutanate etc.

Multe din efectele negative ale imunomodulatoarelor sunt dependente de tropismul selectiv insuficient asupra SI, influența asupra altor organe și sisteme. Preparatele recombinante (IFN, interleukinele), de regulă, induc frisoane, disconfort, leucopenie sau leucocitoză etc. Pentru profilaxia dezvoltării complicațiilor în toate cazurile sunt necesare argumentarea măsurilor preconizate pentru realizare, prezența indicațiilor respective și aprecierea contraindicațiilor. Terapia imună activă, de regulă, este contraindicată în majoritatea maladiilor acute severe.

Analiza minuțioasă a efectului pozitiv al remediei preconizate pentru utilizare și posibilitatea apariției complicațiilor sunt elemente esențiale în abordarea preparatului concret la individul cu o anumită maladie.

Capitolul 19. CARACTERISTICA REMEDIILOR CU TROPISM IMUN

Proprietatea principală a remediilor imunoterapice este tropismul înalt și afinitatea la celulele sistemului imun care se manifestă prin legarea specifică a acestora cu receptorii sau mediatorii celulelor imunocompetente cu modificarea funcțiilor lor. Antigenii, alergenii și anticorpii posedă efect specific de modulare a răspunsului imun.

Remediile imunoterapice, după geneza lor, se împart în trei grupe principale:

- biologice, din celulele și țesuturile organismelor vii (de origine animalieră, umană, microbială, fitogenă);
- chimice (naturale și sintetice);
- fizice (energia radiantă, ultrasunet, câmpul magnetic etc.).

La prima grupă se referă bacteriile, funghi și produsele lor: lizate celulare, unele componente (LPS, peptidoglicanii, ribozomii, acizii nucleici și fragmentele biologic active ale peretelui bacterian, citoplasmei etc.). Acestea reacționează primar cu receptorii celulelor imunității congenitale ($T\gamma\delta$, LB-1, macrofagelor, granulocitelor, celulelor dendritice), recunoscând structurile moleculare patogen-asociate (PAMP). În urma activării acestora sunt eliminate IL-1, TNF- α etc., care stimulează celulele SI și antrenează limfocitele în răspunsul imun. Exo- și endotoxinele bacteriilor induc activarea SI, modifică nespecific răspunsul imun prin secreția de mediatorii, activarea complementului, modificarea coraportului subpopulațiilor LT.

Hormonii timusului, glucocorticosteroizii, estrogenii etc. pot regla maturizarea și activarea LT, celulelor NK etc.

Interleukinele, citokinele etc. sunt remedii imunotrope cu efect major asupra celulelor SI.

Preparatele medicamentoase chimice posedă tropism înalt la celulele SI. Factorii fizici (grupa trei) pot stimula sau inhiba nespecific funcția SI, având efect dependent de doză.

Toate remediile imunotrope sunt imunomodulatoare, având atât capacitatea de intensificare, cât și de inhibiție a unor funcții ale sistemului imun. Terapia imunomodulatoare (imunocorectoare) este indicată în diverse stări imunopatologice: maladii infecțioase inflamatoare cronice, când se presupune prezența imunodeficienței; recidive ale infecțiilor mixte datorate imunodeficienței; maladii autoimune cu insuficiență imună.

Imunomodulatoarele sunt ineficiente la pacienții cu imunodeficiențe primare genetic determinate, pe când în cele secundare pot fi metoda cea mai optimă de restabilire a funcțiilor și de imunoreabilitare. Indicațiile pentru terapia imunomodulatoare sunt stabilite nu numai în baza tabloului clinic al pacientului, ci și a pertur-

bărilor indicilor imuni. Pentru multiple preparate imunomodulatoare s-a constatat că, în funcție de doză, de procedeul de utilizare și de starea clinică a pacientului, ele pot avea efecte adverse – majorarea sau inhibiția funcțiilor SI.

Preparate de origine bacteriană, virală și fungică

Bacteriile și fungii conțin diferiți antigeni și structuri „patogenasociate” recunoscute de celulele sistemului congenital. Sunt activatori puternici ai SI. Imunomodulatoare sunt celulele bacteriene (vaccinul BCG, stafilococic etc.), lizatele lor monobacteriene (Ruzam etc.) și polibacteriene (Broncho-Munal, Imunovac, IRS-19 etc.), diverse structuri microbiene – LPS (Pyrogenal, Prodighiozan etc.), peptidoglicani (Ribomunyl etc.), ribozomi (Ribomunyl), acizii nucleici (Ridostin, Nucleinatul de sodiu), fragmente active – glucozaminmuramilpeptide (GMDP, Licopid etc.), CpG-oligonucleotide (Promun, Vaximun etc.).

Multe vaccinuri obținute din bacteriile convențional patogene au nu numai capacitatea de majorare a rezistenței la microorganismul concret, ci și posedă efect major de imunomodulare nespecifică, mai frecvent imunostimulator datorat prezenței LPS, proteinelor A, M etc. care sunt activatori puternici și acționează ca adjuvanți.

Broncho-Munalul este un lizat al bacteriilor mai frecvent înregistrate ca agenți ai inflamației căilor respiratoare (Str. pneumoniae, H. influenzae, Str. viridans, Str. pyogenes, Moraxella catarrhalis, St. aureus, Kl. pneumoniae și Kl. ozaenae). Induce majorarea cantității de LT (CD4⁺), IgG, IgM, sIgA, IL-2, TNF- α , IFN- γ . O particularitate a remediului dat este capacitatea lui de activare a reacțiilor imune locale, creșterea esențială a concentrației de IgA secretorie pe mucoasa căilor respiratoare superioare, bronhiilor și pulmonilor, ce conduce la micșorarea frecvenței de recidive a infecțiilor, reducerea utilizării antibioticelor și a altor medicamente. În bronșita cronică, Broncho-Munalul micșorează durata evolutivă totală și frecvența fiecărui episod de acutizare. Este recomandat ca adjuvant în terapia maladiilor infecțioase ale căilor respiratoare superioare (inite, bronșite, tonzilită). Este administrat dimineața pe foame, câte o capsulă (0,007 g bacterii liofilizate) timp de 10 zile în lună pe parcursul a 3 luni. La copiii sub 12 ani este utilizat Broncho-Munal P (0,0035 g bacterii în capsulă) cu aceeași durată și regim de administrare. Efectele secundare prin dereglarea digestiei (dispepsie, diaree, algiu în regiunea gastrică) se observă rar. Nu se recomandă în primele 3 luni de sarcină și este contraindicat la hipersensibilitatea la preparat.

IRS 19 este un hidrolizat al streptococilor, stafilococilor, Neisseria, Klebsiella, Moraxella, H. influenzae, Moraxella, Enterococcus etc. implicate în afecțiunile căilor respiratorii superioare și inferioare. Se administrează pentru profilaxia și tratamentul atât al infecțiilor bacteriene acute, cât și cronice ale căilor respiratoare superioare, rinitelor, sinuzitelor, otitei, laringitei, traheitei, bronșitei, astmului bronșic, în

formă de aerosol intranasal. Majorează rezistența naturală prin creșterea conținutului de lizozim, stimularea fagocitozei și sintezei IFN endogeni. Acțiunea specifică profilactică a remediei este datorată creșterii IgA secretorii. În scop profilactic sunt indicate 2 doze pe zi în fiecare meat nazal, timp de 2 săptămâni, iar în scop terapeutic – de 2-5 ori până la dispariția simptomelor infecției. Nu au fost stabilite contraindicații. La debutul tratamentului sunt posibile rinoreea și strănutul.

Imudonul este un amestec de lizate a 14 microorganisme (lactobacterii, streptococi, enterococi, stafilococi, Klebsiella, Corynebacterii pseudodiphtherie, bacterii fuziforme, Candida albicans). Mecanismul de acțiune se realizează prin stimularea reacțiilor de apărare a mucoasei cavității bucale și include majorarea activității fagocitare a macrofagelor, creșterea concentrației de lizozim în salivă, stimularea și majorarea cantitativă a anticorpogenezei, IgA secretorii, proliferarea și acumularea celulelor imunocompetente. Este indicat în procesele inflamatoare și infecțioase acute și cronice bucofaringiene, inclusiv în gingivita eritematoasă și ulceroasă, în paradontită, stomatită, glosită, în ulcerarea indusă de protezele dentare, perioada pre- și postoperatorie în amigdalectomie și extracție dentară. Se administrează peroral câte 8 pastile pe zi timp de 10 zile în procesele acute și câte 6 tablete pe zi timp de 20 de zile și mai mult în cele cronice. Este contraindicat în cazul hipersensibilității la preparat.

Paspatul conține lizate ale St. aureus, St. albus, Str. viridans, Str. hemolitic, pneumococ, Neisseria, Candida albicans. Activează imunitatea și este recomandat în terapia bronșitelor cronice, otitei, sinuzitei. Se administrează i.c. în regiunea anterioară a femurului sau prin scarificare. Efectele secundare pot fi manifeste prin oboseală, greață, hipertermie, disconfort. Este contraindicat în graviditate, în perioada acută a maladiilor cronice hepatice, în endocardite, maladiile miocardului.

Ribomunilul conține substanțe imunomodulatoare prezentate de ribozomii bacterieni ai Klebsiella pneumoniae, Streptococcus pneumoniae, Streptococcus pyogenes, H. influenzae și proteoglicanii membranei K. pneumoniae. Este mai puțin reactogen, comparativ cu lizatele sau extrasele bacteriene. Componentul proteoglicanic activează macrofagele și sinteza de IL-1, IL-6, IFN cu stimularea ulterioară a LT, LB și celulelor NK, sinteza de anticorpi, în special IgA secretorie. El contribuie la formarea imunității stabile față de agenții infecțioși și asigură remisiuni de lungă durată în bronșitele, rinitele, tonsilitele și otitele cronice. Este compatibil cu antibioticele și poate fi utilizat în scop terapeutic și profilactic. Se administrează câte 3 tablete pe zi pe foame: în prima lună 4 zile în săptămână timp de 3 săptămâni, iar în cele 5 luni ulterioare – 4 zile la începutul fiecărei luni.

Imunovacul prezintă complexe antigenice obținute din stafilococi, Proteus, Klebsiella pneumoniae și E. coli K-100. Induce sinteza de Ac la acești agenți. Concomitent preparatul stimulează rezistența nespecifică, astfel majorând rezistența organismului la bacteriile convențional patogene. Corelează nivelul LT, intensifică sinteza IgA, IgG în sânge și sIgA în salivă, stimulează secreția de IL-2 și IFN.

Este recomandat pentru imunoterapia bolnavilor (vârsta de 16-55 de ani) cu maladii cronice inflamatoare și obstructive ale organelor respiratorii (bronșita cronică, astmul bronșic). Se administrează intranasal: prima zi – o picătură într-un meaz nazal; a 2-a zi – câte o picătură în ambele nări; a 3-a zi – câte 2 picături în fiecare nară. Începând cu a 4-a zi după debutul imunoterapiei, preparatul se administrează s.c. în regiunea omoplatului de 5 ori cu un interval de 3-5 zile în diferite locuri de inoculare: prima injecție – 0,05 ml, a 2-a – 0,1 ml, a 3-a – 0,2 ml, a 4-a – 0,2 ml, a 5-a – 0,2 ml. La administrarea perorală a vaccinului după finisarea inoculării intranasale, peste 1-2 zile, preparatul se utilizează de 5 ori cu interval de 3-5 zile: prima administrare – 2 ml, iar celelalte – câte 4 ml.

Vaccinul stafilococic (antifagina stafilococică) conține un complex de Ag termostabili. Se utilizează pentru inducția imunității antistafilococice și majorarea rezistenței generale. Se administrează câte 0,1-1 ml, s.c, zilnic, timp de 5-10 zile.

Anatoxina stafilococică purificată, adsorbantă este destinată pentru imunizarea activă în maladiile induse de stafilococi. Stimulează sinteza Ac antitoxici. Se administrează s.c., în doza de 0,5 ml, ulterior în aceeași doză peste 30-40 de zile cu o revaccinare ulterioară peste 3-13 luni. Donatorii de plasmă hiperimună sunt vaccinați după schema: 1 ml – 1 ml – 2 ml cu interval de 7 zile.

Broncho-Vaxomul pentru adulți și copii este un lizat liofilizat din 8 bacterii (*Str. pneumoniae*, *H. influenzae*, *Kl. pneumoniae*, *Kl. ozaenae*, *N. catarrhalis*, *St. aureus*, *Str. pyogenes* și *Str. viridans*). Intensifică activitatea macrofagelor, neutrofilelor și se utilizează în terapia infecțiilor acute și cronice recidivante ale aparatului bronhopulmonar, tonzilitelor, faringitei, sinuzitei, otitelor câte o capsulă pe zi, 10 zile sau până la dispariția simptomelor. Nu se administrează copiilor sub 6 luni. Posedă efecte adverse (greață, diaree, cefalee, oboseală etc.)

Luivacul – lizat al *St. aureus* și *St. mitis*, *Str. pyogenes*, pneumococ, *Klebsiella*, *Moxarella*, *H. influenzae*. Se utilizează câte 1 tabletă, fiecare 28 de zile în infecțiile căilor respiratoare.

Influvacul este un vaccin inactivat antigripal subunitar, preparat din tulpinile virusului gripal epidemic actual. Conține antigeni superficiali purificați, solubili ai tulpinilor virusului gripal – 2 de tip A și 1 – de tip B. Posedă reactivitate minoră și activitate imunogenă marcată. Producția de Ac se constată la 95-98% dintre vaccinați și se menține în titru protectiv pe parcursul unui an. Este indicat copiilor și adulților cu risc major de îmbolnăvire de gripă:

- pacienților cu bronșită cronică, emfizem pulmonar, astm bronșic, mucoviscidoză, tuberculoză pulmonară, insuficiență cardiacă, hipertensiune arterială, afecțiuni renale cronice, dereglări metabolice, diabet zaharat;
- persoanelor instituțiilor unde infecțiile se răspândesc rapid (instituțiile preșcolare, școlare etc.);
- bolnavilor cu imunodeficit, inclusiv infecția cu HIV, celor care utilizează imunosupresoare.

Aduților și copiilor mai mari de 3 ani li se administrează o doză (0,5 ml), iar copiilor de la 6 luni până la 3 ani – 0,25 ml i.m. sau s.c. cu încălzirea până la t de 18-25°C și agitarea conținutului. Vaccinul poate conține urme de gentamicină și trebuie utilizat cu atenție pacienților cu reacții alergice la acest antibiotic. Sunt posibile reacții secundare (eritem, edem și dureri în locul injectării) și sistemice (hipertermie, slăbiciune, cefalee, alergie). Vaccinul este contraindicat persoanelor cu alergii la proteina ouălor.

Respivaxul este un preparat ce conține liofilizat și microbi a 6 agenți, care mai frecvent induc maladiile inflamatoare ale căilor respiratoare. Mecanismul de acțiune a remediei este datorat stimulării rezistenței naturale și imunității specifice antimicrobiene prin reacții imune celulare și umorale. Activează factorii locali de apărare a mucoaselor. Este indicat în bronșita și traheobronșita acută și cronică, tonsilită, faringită și laringita acută și cronică, sinuzita și otita acută și cronică, bronhopneumoniile frecvent recidivante. Preparatul este, în special, indicat pacienților cu infecții ale căilor respiratoare rezistente la antibiotice sau cu alergii. *Respivaxul* este eficace în infecțiile însoțite de stări imunodeficitare, în maladiile tumorale cu localizare diversă și stadiu de dezvoltare, de asemenea, în lues. Se utilizează în complex cu antibiotice și alte remedii. Contraindicații și reacții secundare n-au fost stabilite. Pentru imunoterapie remediu se utilizează 30 de zile câte o tabletă (25 mg) la copii și 50 mg la adulți dimineața pe foame, diluând comprimatul în apă, lapte sau alt lichid. Cura terapeutică poate fi repetată peste 6 luni, câte o tabletă în zi, timp de 20 de zile. Imunoprofilaxia se efectuează prin administrarea unei tablete de *Respivax* dimineața pe foame, timp de 20 de zile fiecare 3 luni ulterioare. În imunodeficitul major, inclusiv în cele însoțite de tumori, respectiv, poate fi administrată câte o tabletă pe zi, timp de 3-6 luni.

Uro-Vaxomul prezintă un extract din *Escherichia coli* care posedă proprietăți imunostimulatoare pentru LT și contribuie la inducția sintezei interferonului endogen. Este indicat pentru terapia proceselor inflamatoare ale căilor urinare, cistitei, pielonefritei, uretritei, bacteriuriei asimptomatice, concomitent cu antibiotice, potențând acțiunea ultimelor.

În faza activă a procesului inflamator se utilizează câte o capsulă zilnic până la dispariția simptomelor, dar nu mai puțin de 10 zile. În procesele rezistente tratamentul poate fi prelungit până la 3 luni. Nu se recomandă copiilor sub 6 luni. Contraindicații n-au fost stabilite.

Biostimul este o glicoproteină extrasă din *Klebsiella pneumoniae*. Stimulează factorii rezistenței nespecifice. Este indicat în superinfecțiile bronșitelor cronice, pentru profilaxia infecțiilor virale cronice recidivante, după tonsilectomie. Schema terapeutică include 3 cure:

I cură: 8 zile câte 2 tablete/zi (2 mg de substanță activă), întrerupere 3 săptămâni,

II cură: 8 zile câte o tabletă/zi cu întrerupere de 3 săptămâni;

III cură: 8 zile câte o tabletă/zi. Remediu este contraindicat copiilor până la 1 an și pacienților cu maladii autoimune.

Pirogenalul conține lipopolizaharida *Pseudomonas aeruginosa*. Este indicat în urologie, în terapia proceselor inflamatoare ale organelor reproductive atât în ginecologie, cât și în andrologie. Cura debutează cu injecții i.m., în doze de 25-50 doze minimale pirogene.

Prodigiozanul reprezintă o lipopolizaharidă obținută din *B. prodigiosum*. Intensifică activitatea fagocitară, sinteza de Ac și IFN. Este indicat ca imunostimulator în terapia complexă a afecțiunilor bacteriene torpide bronhopulmonare, pielii, stratului adipos (absces, furunculoză etc.). Se recomandă pentru cura de tratament 3-7 injecții, i.m., câte 5-50 μg copiilor de vârsta de 7-10 ani, 50-100 μg copiilor cu vârsta 11-18 ani și adulților. În formă de aerosol câte 2-5 ml de două ori pe săptămână se utilizează în maladiile bronhopulmonare.

Imunoferonul este un complex polizaharid proteic obținut din *Candida utilis* cu o proteină din *Ricinus communis*. În componența preparatului este inclus fosfatul și sulfatul de calciu. Se administrează câte 2 capsule de 3 ori/zi timp de 2-3 săptămâni.

Nucleinatul de sodiu reprezintă un produs al hidrolizei levurilor care posedă proprietăți de stimulare a leucopoiezei și rezistenței antiinfecțioase prin stimularea metabolismului energetic al macrofagelor. Este chemoattractant pentru leucocite și limfocite, intensifică migrarea lor cu creșterea concomitentă a conținutului de ATP, ADP, AMP. Acțiunea asupra LT și LB este mediată de activarea macrofagelor și se exprimă în creșterea titrului de Ac, cooperarea celulară. Este indicat în parotidita cronică, ulcerul gastric și duodenal, complicațiile astmului bronșic, hepatita virală cronică. Posedă proprietatea de majorare a nivelului interferonului endogen, preîntâmpină acțiunea imunodepresivă a antibioticelor administrate. Se utilizează peroral câte 0,1-0,25-0,5 g de 3-4 ori pe zi timp de 10-20 de zile. Pentru inocularea s.c. sau i.m., doza remediei constituie 5-10 ml sol. de 2% timp de 7-10 zile. Poate fi administrat pentru imunoreabilitatea pacienților care utilizează remedii imunosupresive. Este contraindicat în hemoblastoză, în dereglările conductibilității miocardului. Efectele adverse pot fi manifestate prin bradicardie, dispnee, reacții alergice, depresie psihogenă.

Zimozanul este un biopolimer al membranei *Saccharomyces cerevisii* care conține, în special, lipopolizaharide. Mecanismul de acțiune este datorat glicanilor cu activarea celulelor fagocitare și antigen-prezentatoare. Intensifică activitatea citotoxică a LT în reacțiile citolitice complement-dependente. Activează sistemul complementului, majorează sinteza de Ig, are acțiune radioprotectivă. Se utilizează în tumorile severe cu distrucția țesutului tumoral și eliminarea produselor acestora (efect antitoxic). Se administrează copiilor în doza de la 0,5 ml până la 2 ml sol. de 0,1% i.m. peste 2-4 zile, cura fiind de 5-10 injecții. Pentru adulți doza este de 2 ml timp de 7-12 zile cu interval de 2-4 zile.

Bestatinul (Ubenimex) reprezintă un remediu preparat din filtratul culturii *Streptomyces olivoreticuli*. Mecanismul de acțiune se manifestă prin majorarea

activității fagocitare a granulocitelor, celulelor NK, intensificarea numărului de LT, sintezei anticorpilor. Efect benign a fost constatat în terapia cancerului gastric și glandei mamare. Pe fundalul utilizării durabile a bestatinului a fost observată regresia metastazelor. Efect imunostimulant manifestă dozele de 30-100 mg/10 kg masă corporală/zi timp de 30 de zile. Doza mai mare de 200 mg/10 kg masă corporală conduce la scăderea indicilor sistemului T limfocitar. Sunt posibile reacții adverse (greață, vomă, erupții cutanate, edem facial etc.). Este contraindicat în graviditate.

Blastenul este un preparat al membranei *Lactobacillus delbrukii* care stimulează rezistența naturală și activează sistemul T și B imunitar în procesele inflamatoare acute și cronice. Mecanismul de acțiune este datorat majorării activității sistemului T imunitar și fagocitar prin sinteza de IL-1. Preparatul contribuie la reducerea duratei maladii, imunoreabilității stabile a pacienților. Rezultate benefice au fost obținute în tratamentul proceselor inflamatoare acute și cronice ale bronhiilor și pulmonilor. Blastenul intensifică efectul antibioterapiei și contribuie la micșorarea curei de tratament antibacterian la pacienții cu bronșită cronică obstructivă. Se administrează s.c. câte 2 mg cu interval de 5 zile, cura fiind de 3 injecții.

Probioticele restabilesc spectrul microflorei normale intestinale la copiii și adulții cu disbacterioză care contribuie la formarea imunodeficienței secundare și complică imunocorecția.

Biosporinul este un antagonist al microorganismelor patogene și convențional patogene și nu influențează microflora normală a intestinului. Prezintă un preparat uscat al microorganismelor vii, care secretă un complex de enzime cu stimularea și reglarea digestiei. Este indicat în infecțiile intestinale acute și în disbacterioză. O doză de substanță uscată se utilizează pentru a obține soluția perorală și conține $1-10 \times 10^9$ corpusculi microbieni vii, dintre care *B. subtilis* $1-8 \times 10^9$ și *B. licheniform* $0,1-2 \times 10^9$. Conținutul fiolei se dizolvă în apă fiartă răcită. În infecțiile acute intestinale se utilizează câte o doză 2 ori/zi timp de 3-7 zile, în perioada reconvalescenței – câte o doză de 2 ori/zi timp de 14 zile. În disbacterioză de diversă etiologie se administrează câte două doze de 2 ori/zi până la 2 săptămâni. Contraindicații și efecte secundare nu au fost stabilite.

Linexul conține minim $1,2 \times 10^7$ (o doză) de *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium infantis*, *Streptococcus faecium* vii, care posedă rezistență la antibioticele grupelor de penicilină, lincomicină, tetracilină, preparatele sulfanilamide, aminoglicozide. S-a constatat că linexul normalizează, păstrează și menține echilibrul fiziologic al florei intestinale. Este indicat în disbacteriozele aparente în timpul tratamentului cu antibiotice și remedii chimioterapice atât la copii, cât și la adulți. Contraindicații n-au fost stabilite.

Dufalacul este o dizaharidă lactuloză obținută din produsele acidolactice, care trec prin stomac și intestinul subțire în formă intactă (absența enzimei respecti-

ve), nimerind astfel în intestinul gros. Aici este scindat de microflora intestinală în acid lactic și acid acetic, crește aciditatea conținutului intestinal care stimulează microflora acidolactică și o inhibă pe cea proteolitică (salmonelle etc.) ce conduce la normalizarea funcției intestinale. Este indicat în disbacterioze, constipațiile cronice, hepatita cronică, ciroze, insuficiența hepatică, encefalopatia hepatică, salmoneloză cronică, profilaxia cancerului intestinului gros, endotoxemie etc. Doza utilizată este selectată individual în funcție de forma nosologică. În constipațiile cronice, adulților și copiilor cu vârsta mai mare de 12 ani li se administrează 15-30 ml; copiilor de la 1 la 6 ani-15 ml, sugarilor – maximal 5 ml/zi cu durată medie de 2 săptămâni. În disbacterioze se administrează 5-10 ml/zi timp de 1-2 luni. În hepatitele cronice, doza de 20 ml de 3 ori/zi este utilizată în primele 5 zile, ulterior dozarea este individualizată astfel ca să se obțină defecația de două ori pe zi. Durata medie a curei este de 2 săptămâni. În ciroze se administrează 30 ml de 4 ori/zi timp de o săptămână cu individualizarea ulterioară a dozei. Durata curei terapeutice – 24 de zile. Este contraindicat în galactozemie. Reacția adversă este posibilă în primele zile de utilizare, în formă de meteorism.

Preparatele sintetice imunotrope

În imunodeficiențele secundare au fost obținute succese esențiale în terapia unui șir de maladii prin utilizarea timomimeticelelor care influențează în special LT, activează proliferarea lor, sinteza citokinelor (IL-2, IFN- γ), expresia receptorilor pe LT, astfel facilitând cooperarea intercelulară.

Timogenul reprezintă un dipeptid sintetic, conține glutamină și triptofan. Stimulează LT și intensifică rezistența nespecifică. Se administrează i.m. adulților câte 1 ml sol. 0,01% timp de 10-14 zile. În IRAV se utilizează intranasal de 4-6 ori câte 1-2 picături în fiecare nară, de asemenea, poate fi utilizat ca remediu profilactic în perioada preepidemiilor de gripă.

Licopidul este un preparat semisintetic asemănător muramildipeptidelor bacteriene și reacționează cu receptorii NOD2 ai celulelor imunității congenitale. Prezintă fragmentul structural al peretelui celular al tuturor bacteriilor. A fost obținut prin condensarea directă a dipeptidului sintetic L-alanil-D-izoglutamin cu dizaharida (N-acetilglucozamin-N-acetilmuramil.) obținută din peretele celular al *M. lysodeicticus*. Intensifică rezistența organismului la agenții patogeni prin activarea fagocitelor (neutrofile, macrofage), activează LT și LB. În cazul inhibiției hemopoiezei induse de chimioterapie sau iradiație, utilizarea Licopidului conduce la restabilirea numărului de neutrofile. Este indicat în maladiile acute și cronice purulente, bolile acute și cronice ale căilor respiratoare, în alterarea colului uterin de virusul papilomei umane, vaginoză, infecțiile virale acute și cronice (oftalmoherpes, infecțiile herpetice), tuberculoza pulmonară, psoriazis, pentru imunoprofilaxia maladiilor respiratoare etc. Curele terapeutice sunt administrate în dependență de maladie. În infecțiile cronice

ale căilor respiratoare, în stadiul de acutizare se administrează câte 1-2 tablete (1mg) sublingual timp de 10 zile. În infecțiile torpide recidivante, câte 10 mg/zi timp de 10 zile, în tuberculoza pulmonară – câte 10 mg/zi, 3 cure câte 7 zile cu un interval de 2 săptămâni etc. Copiilor li se administrează tablete câte 1 mg. Este contraindicat în graviditate. Efectele secundare se manifestă prin hipertermie.

Imunofanul reprezintă o hexapeptidă care posedă proprietăți imunoreglatoare, detoxicante, hepatoprotective și antioxidante. Intensifică reacțiile fagocitare, proliferarea LT, producția de IL-2, anticorpogeneza, sinteza IFN, normalizează reacțiile imune celulare și umorale. Se administrează s.c., i.m. zilnic sau cu un interval de 1-4 zile, în total 5-15 injecții. În infecțiile herpetice și citomegalovirale, toxoplasmoză, chlamidioze, pneumochistoze se administrează câte 1 ml 0,005% peste 2 zile, cura de tratament constituind 10-15 injecții. Acțiunea antioxidantă a preparatului este benefică în tratamentul pacienților oncologici în perioada chimioterapiei și postoperatorie. Contraindicație – Rhesus conflict.

Hemodezul reprezintă o soluție hidrosalină de 6% a polivinilpirolidonului și este utilizat pentru dezintoxicație. Posibil, manifestă efect imunoreglator în terapia maladiilor cronice obstructive ale pulmonilor, în reumatism, AR, psoriazis, hepatita virală, keratita herpetică, dermatita medicamentoasă, toxicodermie, edemul Quincke, infecțiile intestinale etc. Se administrează câte 5-10 ml/kg copiilor și câte 300-500 ml adulților, i.v. lent (40-80 picături/min.).

Enterodezul este un praf de polivinilpirolidon, care prin sorbția endotoxinelor poate induce imunomodularea. Se dizolvă în 100 ml apă fiartă 5 g de remediu și se utilizează peroral 1-3 ori pe zi.

Diucifonul este un imunomodulator sintetic (difenilsulfon), stimulează limfocitele T-helper, sinteza IL-2, celulele NK și anticorpogeneza. Este indicat în colagenoze, lepră, maladiile infecțioase torpide și cronice. Comparativ cu levamizolul, el activează mai eficient imunitatea celulară T și poate fi utilizat în cazul contraindicației decarisului la pacienții cu imunodeficit T. Este bine tolerat în imunodeficiențele limfoide primare datorită acțiunii imunostimulatoare moi. În imunodeficiențele secundare are efect imunostimulant veridic. Este administrat peroral zilnic în doză de 0,1 g copiilor cu vârsta de 1-2 ani; 0,15 g – la 3-4 ani, 0,2 g – copiilor de 5-7 ani și 0,3 – copiilor mai mari de 7 ani și adulților. De asemenea, poate fi utilizat câte 2 ml soluție 5% o dată în zi, i.m., timp de 8 zile. Este contraindicat în maladiile ficatului și rinichilor.

Dimexidul posedă proprietăți antiinflamatoare, antiedemice, bactericide și imunomodulatoare. Stimulează fagocitele și limfocitele, reduce efectele negative ale levamizolului asupra leucopoiezei. Este recomandat în maladiile purulente, AR (în formă de aplicații pe articulații), în maladiile bronhopulmonare (aplicații) 5-10 aplicații. Este posibilă suplimentarea soluției de dimexid cu remedii imunomodulatoare datorită capacității unice de pătrundere în țesuturi.

Groprinosinul (Metisoprinolul) este un remediu imunostimulator cu activitate antivirală. Stimulează celulele fagocitare, limfocitele T (activarea sintezei citokinelor). Eliberarea IL-2 modifică activitatea funcțională a limfocitelor periferice și funcțiile lor (diferențierea celulelor naive în LT, intensificarea citotoxicității limfocitare). Influența antivirală este rezultatul alterării replicăției ARN și ADN virionilor. Concomitent, remediuul posedă activitate interferonogenă. Este recomandat în terapia infecțiilor virale (rujeola, varicela, gripa, paragripa etc.), îndeosebi pe fondul rezistenței scăzute a organismului (bolile virale ale pacienților cu HIV). Se administrează peroral în doza de 50-100 mg/kg cu 3-4 utilizări. Durata curei – 5 zile. Efecte adverse: greață, vomă, diaree, dureri abdominale, acutizarea gutei preexistente. Contraindicat în insuficiența renală, maladiile autoimune, graviditate și alăptarea copilului.

Metilinozinmonofosfatul este o purină timomimetică asemănătoare groprinosinei, dar mai eficace. Intensifică imunitatea celulară mai evident decât cea umorală, anulează imunosupresia.

Levamisolul reprezintă un derivat al imidazotiazolului, posedă acțiune timomimetică (asemănătoare timopoietinei). Normalizează activitatea funcțională a LT și fagocitelor, intensifică transformarea blastică a limfocitelor la mitogeni, majorează anticorpogeneza ca rezultat al stimulării macrofagelor și T-helperilor, activează celulele NK și sistemul complementului. Stimulează producția de IFN, reduce hipersensibilitatea de tip întârziat. Este indicat în infecțiile cronice și recidivante, în invaziile parazitare, în special în cazul inhibiției verigii celulare imune. Se administrează după una din schemele următoare:

- câte 150 μg/zi timp de 3 zile cu interval de 4 zile timp de 3-4 săptămâni.
- câte 50 μg de 2 ori/zi în zilele lucrătoare ale primei săptămâni cu întrerupere în zilele de odihnă, iar în a doua săptămână aceeași doză se administrează în zilele libere cu întrerupere în zilele lucrătoare. Cura tratamentului – 3 luni. Sunt posibile efecte adverse (neutropenie, agranulocitoză).

Metiluracilul frânează scăderea nivelului imunoglobulinelor pe fundalul antibioticelor datorită stimulării leucocitelor, macrofagelor, anticorpogenezei, sintezei lizo-zimului, contribuie la inducția IFN. Se administrează câte 0,5 g de 3 ori pe zi timp de 3-4 săptămâni. Pacienților cu proctită, rectită, hemoroizi etc. li se administrează supozitoare de metiluracil în număr de 5 cu repetarea curei de 2-3 ori.

Polioxidoniul este un derivat al polietilenpiperazinei sau al poliaminelor N-oxialifactice care posedă proprietăți imunostimulatoare, detoxicante, antioxidante și membranostabilizante. Activează fagocitoza, sinteza anticorpilor, majorează numărul LT și LB, rezistența naturală a organismului la diferiți agenți patogeni; normalizează SI în imunodeficiențele secundare. Se utilizează în terapia maladiilor inflamatoare cronice recidivante de orice genă, rezistente la tratamentul

tradițional. Este recomandat în procesul și după chimio- și radioterapia, tratamentul tumorilor pentru scăderea acțiunii nefro- și hepatotoxice a remediilor medicamentoase. Se administrează i.m. sau s.c. în doze de 6 -12 mg, cura fiind de 5-7 injecții peste o zi sau după schema: 1-2- 5- 8-11-14 zi de inoculare a preparatului. Contraindicat în sarcină, hipersensibilitate la preparat.

Cicloferon (Camedon) este un inductor sintetic al interferonului α și β . Manifestă activitate față de virusul encefalitei acariene, gripei, hepatitei B, C, herpesului CMV, HIV, papilomei etc. Este eficient în tratamentul complex al infecțiilor bacteriene acute și cronice (neuroinfecții, chlamidioze, bronșite, pneumonii), infecțiile urogenitale etc. Se administrează i.m. sau i.v în doză de 2-4 ml/zi primele 2 zile, iar în cele ulterioare (4-5 injecții) cu intervale de 48 ore pe fundalul antibioticoterapiei. Sunt posibile reacții alergice. Contraindicat în ciroza hepatică decompensată, sarcină și lactație, hipersensibilitate la preparat.

Neovirul prezintă un inductor al interferonului, posedă activitate antivirală, antibacteriană și imunomodulatoare. Stimulează celulele stem, NK, LT, macrofagele, scade nivelul TNF. Este recomandat în terapia și profilaxia maladiilor inflamatoare infecțioase, corecția stărilor imunodeficitare și ca imunostimulator.

În perioada acută a infecțiilor herpetice se administrează 3 injecții câte 2 ml (250 mg substanță activă), cu interval de 24 ore și 3 injecții cu interval de 48 ore. În chlamidioza urogenitală se administrează 5-7 injecții cu interval de 2 zile.

Produse de genезă fiziologică (biologică)

Peptidele timice și hormonii. Preparatele obținute din timus sunt remedii imunotrope de reglare centrală a imunogenezei. Actualmente au fost identificate mai multe peptide timice cu proprietăți de intensificare a limfopoiezei, inducției diferențierii LT, majorare a răspunsului lor la mitogeni și intensificare a reacției limfocitare mixte, generare a LT cu funcții supresoare și killer, producție a diferitor citokine.

Indicații pentru administrarea remediilor acestei grupe sunt manifestările clinice și de laborator ale insuficienței SI: sindroamele infecțioase etc. asociate cu insuficiența imună, limfopenia, scăderea numărului absolut de LT, indicelui $CD4^+$ / $CD8^+$, răspunsul proliferativ la mitogeni, depresia reacțiilor de hipersensibilitate întârziată în probele cutanate etc. Există diverse procedee de administrare a peptidelor timice, a căror selecție este dependentă de datele clinice și de laborator. Insuficiența timică poate avea caracter acut (intoxicație, stres fizic sau psihoemoțional, infecții acute severe) și cronic (imunodeficitul celular T și mixt). Insuficiența timică nu trebuie corijată prin acțiuni imunostimulatoare, ea necesită suplimentarea cu hormoni timici. Terapia substituentă a insuficienței timice acute, de regulă, necesită o cură de scurtă durată cu hormoni timici pe fundalul tratamentului simptomatic. Insuficiența timică cronică se efectuează prin cure regulate de peptide timice cu selecție individuală a dozei și duratei preparatului concret. Formele congenitale

ale insuficienței T-celulare practic nu se corijează cu factori timici, de regulă fiind determinate de defecte genetice ale celulelor-țintă sau de producția de mediatori (de ex., IL-2 și IL-3). Tratatamentul pacienților cu forme primare de insuficiență prin utilizarea tactivinului și timalinului demonstrează această limitare a eficacității hormonilor timici.

Imunodeficiențele adaptive sunt bine corectate cu factori timici dacă geneza acestora este insuficiența timică și ca rezultat imaturitatea celulelor T, dar peptidele timice nu influențează defectele enzimactice ale LT etc.

Timostimulinul (TP-1) constituie un complex de polipeptide timice ale bovinelor cu proprietăți imunomodulatoare și imunostimulatoare. Este indicat în stările imunodeficitare secundare în infecțiile virale, acutizările proceselor cronice bacteriene, în perioada postoperatorie, în imunodeficiențe la persoanele de vârstă înaintată, inclusiv în tumori în procesul de chimioterapie sau după terapia radicală. Stimulează maturizarea, diferențierea, activitatea funcțională a LT și sinteza IL-2 și IFN. Se administrează câte 0,5-1,5 mg/kg masă corporală/zi i.m. timp de o săptămână, ulterior de 3 ori în săptămână. Curele pot fi repetate de 2-3 ori timp de 5-6 luni. Efect clinic mai optimal s-a constatat în defectele funcționale ale efectorilor imunității celulare. Sunt posibile apariția reacțiilor alergice la preparat.

Tactivinul reprezintă un complex de polipeptide timice ale vițelilor. Stimulează producerea limfocitelor, inclusiv IFN- α și IFN- γ , restabilește activitatea T-helperilor, activitatea funcțională a celulelor hematopoietice stem și normalizează alți indici imunologici. Preparatul activează și sistemul macrofagal. Este recomandat în stările imunodeficitare provocate de procesele supurative, afecțiunile limfoproliferative, tumorile maligne, disfuncția timusului (boala actinică, tumorile), tuberculoză, herpesul oftalmic recidivant, psoriazis, dermatite și dermatoze, infecțiile respiratoare frecvente, infecțiile aparatului urinar, afecțiunile pulmonare cronice, hepatitele virale, stările pre- și postoperatorii, timomegalie, scleroza diseminată. În intervențiile chirurgicale, preparatul contribuie la cicatrizarea rapidă a răni, micșorează numărul de complicații. Utilizarea lui la pacienții oncologici contribuie la eradicarea rezistenței la terapia antitumorală și majorarea eficacității ei. Se administrează câte 1 ml soluție 0,01% zilnic s.c. seara timp de 5-6 zile, ulterior o dată în 7-10 zile. La necesitate cura terapeutică se repetă.

Pacienților chirurgicali tactivinul se administrează 2 zile până la operație și 3 zile după ea. Este contraindicat în sarcină și lactație. Pot apărea efecte adverse (reacții alergice). Efectul imunocorector de laborator nu se constată întotdeauna, el este evident, ca și în cazul altor imunomodulatoare, când nivelul inițial al unui indice este scăzut sau majorat.

Timalinul reprezintă un complex de peptide timice obținute de la vițel, este asemănător timozinului. Majorează reacțiile imune celulare, inclusiv cele T-dependente, restituie hemopoieza, reglarea neuroendocrină etc. Este recomandat în

terapia infecțiilor acute și cronice bacteriene și virale, în combustii, ulcerul gastric, astmul bronșic infecțios, maladiile asociate cu imunodeficiență.

Praful liofilizat (10 mg) se dizolvă în 1-2 ml soluție izotonică de clorură de sodiu. Se administrează i.m. adulților câte 5-20 mg (30-100 mg pentru o cură), copiilor până la 1 an câte 1 mg, 4-6 ani – câte 2-3 mg, 4-14 ani – câte 3,5 mg pe parcursul a 3-10 zile. La necesitate se administrează cure repetate peste 1-6 luni.

Timomodulina și Thym-Uvocalul reprezintă complexe de polipeptide obținute din timusul bovinelor cu efect identic tactivinului.

Vilosemul este un extras din timus cu molaritate joasă, posedă acțiune mitogenă asupra LT și capacitatea de a influența unele funcții imunoreglatoare prin activarea T-supresoarelor. Remediul inhibă producția IgE și stimulează sinteza IgM și IgG. Are efect membranostabilizant la bazofile. Este recomandat în profilaxia polinozelor cu 15-20 de zile înainte de acutizarea posibilă. Se administrează intranasal în soluție de 1% de 4-5 ori/zi, cura tratamentului fiind de 14-20 de zile.

Timoptinul conține polipeptide native ale timusului și contribuie la restabilirea indicilor scăzuți inițial ai imunității celulare, majorează activitatea neutrofilelor și fagocitoza. Este indicat în imunodeficiențele secundare (infecțiile virale și bacteriene severe, în maladiile cronice obstructive ale pulmonilor), insuficiența sau aplazia timusului, stările imunodeficitare induse de remediile medicamentoase. Utilizarea lui în practica chirurgicală contribuie la minorizarea gradului de inflamație, a numărului de complicații.

În oncologie se utilizează pe fundalul terapiei antitumorale, după terapia radicală, deoarece el contribuie la majorarea leucopoiezei și imunității celulare, intensifică activitatea fagocitară a neutrofilelor. Se administrează s.c. în doză de 100 μg o dată la 5 zile. Doza curei terapice constituie 400-500 μg. Este contraindicat în maladiile alergice, graviditate și intoleranța individuală la preparat.

Remedii sangvine și imunoglobuline

Imunoterapia substituentă pasivă este bazată pe inocularea factorilor și include terapia cu utilizarea plasmei sangvine și a imunoglobulinelor alogene.

Autohemotransfuzia este o alternativă a transfuziei alogene. În cazul intervențiilor chirurgicale planificate se recomandă prepararea sângelui autolog cu inocularea eritropoietinei o dată pe săptămână în doză de 400 un/kg timp de 3 săptămâni, și a stimulatoilor recombinanți ai leucopoiezei (GM-CSF) și trombocitopoiezei (IL-11).

Masa leucocitară se utilizează ca remediu substituent în imunodeficiențele fagocitare. Posedă acțiune mediatorie intensivă. Se utilizează în terapia infecțiilor acute și cronice severe în doză de 3-5 ml/kg masă corporală.

Celulele stem autologe și alogene din măduva osoasă și sângele periferic sunt capabile să restabilească funcțiile organelor și țesuturilor datorită diferențierii în celule mature.

Plasma sangvină nativă (fluidă, congelată) conține albumină (40-45 g/l), globulină α1 și α2 (9-10g/l), globulină β (11-12g/l), globulină γ (12-15 g/l). Ea poate

să conțină citokine, Ag HLA, receptori solubili. Transfuzia plasmei se efectuează reieșind din compatibilitatea după grupa sangvină AB0. La debutul transfuziei se realizează proba biologică și la depistarea reacțiilor se întrerupe. Plasma nativă posedă un șir de priorități, comparativ cu imunoglobulinele administrate i.m.:

- creșterea rapidă a nivelului de Ig celor 3 clase principale în sângele pacientului;
- absența proteolizei locale;
- posibilitatea de majorare rapidă a dozei Ig în sângele pacientului;
- Ig plasmei sunt mai puțin agregate, iar reacțiile sistemice se observă rar;
- manifestă efect detoxicant și osmoreglator, în special necesare în infecțiile severe și diaree aparente frecvent pe fundalul imunodeficiențelor.

La administrarea plasmei donatorilor pentru terapia substituentă regulată se menține riscul infectării cu unele virusuri din cauza fazei seronegative a maladiei și numărului restrâns de cercetări serologice ale donatorilor (HIV, HCV).

După imunizarea donatorilor cu anatoxine sau vaccinuri pot fi obținute preparate hiperimune cu activitate înaltă, plasmă cu conținut de Ac anti-stafilococi etc.

Preparate imunoglobuline umane

Imunoglobulina umană normală pentru utilizarea intramusculară sunt obținute din plasma donatorilor sau din sângele placentar și utilizate în imunoterapia pasivă specifică datorită conținutului de anticorpi de diversă specificitate.

Se utilizează pentru profilaxia unor infecții (hepatită, rujeolă, pertusis, poliomielită etc.), dar sunt ineficiente pentru terapia substitutivă în imunodeficiențele primare și secundare cu nivel scăzut de Ac. Majoritatea Ig sunt distruse în locul de inoculare, pot produce o imunostimulare. Selecția serurilor cu titru înalt de Ac de o specificitate anumită de la donatorii imunizați sau care au suportat infecțiile respective a permis crearea imunoglobulinelor hiperimune (antistafilococic, antigripal, antitetanos, antibotulinic etc.) pentru imunoterapia specifică pasivă.

Imunoglobulina antistafilococică umană conține Ig antitoxice în concentrație de cel puțin 20 UI/ml. Este indicată în procesele purulente, osteomielită, alte maladii. Se administrează i.m. copiilor până la un an câte 3-5 ml zilnic sau peste o zi (7-10 injecții). Cura poate fi repetată peste 2 luni.

Gamaglobulina normală se utilizează în profilaxia infecțiilor respiratoare virale, recidivante, hepatitei A, parotiditei epidemice, rubeolei, rujeolei etc.

Imunoglobulinele pentru administrarea intravenoasă, generația IV (octagam, alfablobulină, poliglobin etc.) se caracterizează prin puritate înaltă, distribuție normală a subclaselor IgG, prezența IgG3 responsabilă pentru neutralizarea virionilor, activității fragmentului Fc. Utilizarea maltozei ca stabilizator face posibilă administrarea acestor preparate pacienților cu diabet zaharat. Ele pot fi utilizate ca remedii substituente în imunodeficiențele primare și secundare sau ca imunomodulatori în terapia maladiilor autoimune. Sumar datele pentru utilizarea acestor imunoglobuline sunt elucidate în registrele remediilor medicamentoase europene și din SUA, în Farmacopeea Europeană cu sistematizarea lor în 3 grupe principale conform

eficacității: *efect dovedit convingător* (agamaglobulinemia și hipogamaglobulinemia, imunodeficiențele variabile mixte, severe, sindromul Wiscott-Aldrich, ataxia-teleangiectazia, hipogamaglobulinemia secundară a pacienților cu limfocelemie și mielom, însoțite de infecții recidivante, imunodeficiențe secundare în infecțiile bacteriene etc.); *efecte probabile* (tumorile cu deficit de Ac, nefropatiile, enteropatiile cu hipogamaglobulinemie, sepsisul neonatal, miastenia gravis etc.); *efecte posibile* (LES, dermatomiozita, AR, diabetul zaharat, retinopatia, maladia Crohn, trauma multiplă, peritonita, meningita etc.).

Există câteva variante de utilizare curativo-profilactică a acestor remedii: *substituentă* în imunodeficiențe, infecțiile cu complicații, sepsis etc. și *imunomodulatoare* în maladiile autoimune, efectul fiind datorat inhibiției producției de autoanticorpi sau legării anticorpilor idiotipici ai acestora cu receptorul pentru fragmentul Fc al Ig pe suprafața LB, care va conduce la inhibiția funcțiilor ultimilor. Doza administrată variază în funcție de forma maladivă și starea pacientului.

Efectele adverse ale acestor remedii pot apărea în primele ore de inoculare, se manifestă prin cefalee, greață, vomă, frisoane, hipertenzie. Anemia hemolitică poate fi rezultatul prezenței izohemaglutininei anti-D. Contraindicațiile pentru utilizarea acestor remedii sunt hipersensibilitatea la Ig omologă, în special la pacienții sensibilizați cu deficit selectiv IgA și Ac anti-IgA.

Sandoglobulina a fost obținută din plasmă pulată a donatorilor. Conține molecule intacte de imunoglobuline, nu activează sistemul complementului și precalicreina. Se utilizează pe larg în complex cu antibiotice în neonatologie. Este indicată în infecțiile severe, în sepsisul nou-născuților. La adulți remediu se administrează în șocul septic, în infecțiile cronice, purpura trombocitopenică idiopatică în doză de 400 mg/kg masă corporală zilnic pe parcursul a 5 zile, în alte maladii – 1g/kg timp de 3 zile cu utilizarea ulterioară a dozei de 500 mg/kg o dată în 3-4 săptămâni. A fost demonstrată eficacitatea utilizării ei și în tratamentul complex al femeilor cu risc major de dezvoltare a avorturilor spontane.

Preparatul complex imunoglobulinic a fost obținut din serul sangvin uman și conține proteine imunologic active (IgM, IgG, IgA) cu o concentrație majoră de Ac anti-enterobacterii (Shigella, Salmonella, Escherichia etc.). Este indicat în tratamentul infecțiilor acute intestinale, disbacterioze, aparente după utilizarea antibioticelor, chimioterapiei, radioterapiei etc.; în profilaxia proceselor infecțioase la persoanele cu imunodeficit secundar, imunocorecției în neonatologie și gerontologie. Se utilizează peroral cu dizolvarea dozei (conține 300 g proteine) în apă fiartă la temperatura camerei (jumătate de flacon) cu 30 de min. înainte de masă. Este contraindicat în reacțiile alergice anamnestice la preparatele imunoglobulinice.

Chipferonul (supozitoare) prezintă o combinație a preparatului complex imunoglobulinic și IFN- α 2 uman recombinant. Posedă efect imunomodulator, antiviral și antimicrobian.

Imunoglobulina normală umană pentru administrarea intravenoasă este un remediu purificat și concentrat, conține Ac cu diversă activitate specifică. Activitatea nespecifică a remediei se manifestă prin majorarea rezistenței organismului. Este recomandat în infecțiile bacteriene și virale severe, complicațiile postoperatorii însoțite de septicemie. Copiilor li se administrează 3-4 ml/kg masă corporală (dar nu mai mult de 25 ml) cu diluarea lui 1:4 într-o soluție de clorură de sodiu sau 5% glucoză. Adulților li se administrează 25-50 ml fără dizolvare peste 1-3 zile, 3-10 transfuzii în condiții de staționar. Efectele adverse pot fi observate la unii pacienți (reacții alergice, inclusiv șocul anafilactic în cazuri excepționale). Contraindicații la remediu sunt reacțiile alergice la preparatele sangvine (în cazul sepsisului sever unica contraindicație este șocul anafilactic).

Octagamul conține imunoglobuline IgG, IgM și urme de IgA. Este recomandat în tratamentul agamaglobuliniei congenitale, în imunodeficiențele variabile și combinate, în purpura trombocitopenică, maladia Kawasaki, transplantul măduvei osoase. În imunodeficiențe se administrează 200-800 mg/kg lunar până la obținerea nivelului de IgG în plasma sangvină de 4-6 g/l. Monitorizarea se realizează cu controlul concentrației IgG în sânge. În purpura trombocitopenică se utilizează 0,8-1 g/kg, doza se repetă la a 3-a zi sau câte 400 mg/kg timp de 2-5 zile.

Pentaglobina conține 6 mg de IgM, 38 mg de IgG și 6 mg de IgA în 1 ml. Se utilizează în sepsis, alte maladii infecțioase, imunodeficiențe; nou-născuților li se administrează 1,7 ml/kg/oră – câte 5 ml/kg zilnic timp de 3 zile; adulților – 0,4 ml/kg/oră, ulterior 0,2 ml/kg până la 15 ml/kg/oră timp de 72 de ore timp de 3 zile, la necesitate cura se repetă.

Intraglobina conține într-un ml 50 mg IgG și circa 2,5 mg IgA. Se utilizează în imunodeficiențe, infecții, maladii autoimune.

Alfetinul este o proteină fetală purificată a AFP obținută din sângele abortiv (conține 75 μg AFP). Se administrează i.v. și i.m. Legarea AFP cu unii receptori pe membrană induce creșterea și proliferarea celulară. Se recomandă în terapia maladiilor autoimune, tumorilor, artritelor și artrozelor, astmului, mastopatiilor, arsurilor, hepatitelor de diversă genă, chlamidiozei, toxoplasmozei și infecției citomegalovirale.

Remediile imunomodulatoare din măduva osoasă, splină și leucocite

Mielopidul este un remediu obținut din supernatantul culturii stem a porcinelor care conține miopeptide: miopeptida-1 cu efect corector al defectelor imunității, miopeptida-2 cu funcție stimulantă a imunității antitumorale, miopeptida-3 (seramil) – stimulator al fagocitozei; miopeptida-4 posedă capacitate esențială de stimulare a celulelor producătoare de anticorpi. Acestea contribuie la intensificarea maturizării LB în măduva osoasă, în faza productivă a răspunsului imun majorează cantitatea de celule care secretă Ac, stimulează proliferarea ce-

lulelor granulocitare și macrofagelor în măduva osoasă. În componența mielopidului se găsesc multiple peptide biologic active, endorfine care posedă proprietăți analgezice evidente. Mielopidul este utilizat în tratamentul maladiilor bacteriene cronice, torpide și septică. A fost aprobat și ca imunomodulator în imunofarmacoterapia extracorporală a imunodeficiențelor secundare etc. Ca remediu profilactic, este utilizat pentru prevenirea dezvoltării complicațiilor sistemice și locale după intervențiile chirurgicale, traume, arsuri termice și chimice etc. Se administrează i.m. zilnic sau peste o zi în doză de 0,04-0,06 mg/kg, cura fiind de 3-10 injecții. Efectele secundare ale preparatului pot fi manifeste prin indurația țesuturilor în locul injectării, alergii locale, hipertermie în primele 2 zile. Este contraindicat în graviditate cu prezența conflictului Rhesus.

Berlopentinul reprezintă un complex de peptide ale măduvei osoase care intensifică diferențierea celulelor SI în stările imunodeficitare. Se utilizează câte 2 ml s.c. de 3 ori pe săptămână.

Splenina este un remediu biologic aprotic obținut din splina bovinelor. Proprietățile imunomodulatoare ale spleninei constau în normalizarea sistemului imun celular prin majorarea cantității de LT cu intensificarea răspunsului imun la mitogeni și glucocorticosteroizi. Reduce cantitatea de CIC, induce producerea factorului seric timic. S-a mai constatat că splenina posedă proprietăți de îmbunătățire a funcției ficatului, metabolismului azotului, sintezei proteinelor, intensifică secreția bilei. Este indicată în stările imunodeficitare, în practica oncologică. Cura de tratament include 2 ml de remediu i.m. timp de 20 de zile.

Granocitul conține substanța activă lenograstim și prezintă factorul coloniestimulant al granulocitelor. Stimulează proliferarea predecesorilor granulocitelor, măjorează cantitatea neutrofilelor în sângele periferic. Se administrează în neutropenii câte 2-10 $\mu\text{g/kg/zi}$ timp de 6 zile. Efectele adverse pot apărea sub formă de trombocitopenii, algii musculare și osoase etc. Terapia cu granocit se realizează numai în staționar. Contraindicații pentru utilizarea remediei sunt sensibilizarea la lenograstim, mieloleucemia acută și cronică, realizarea concomitentă cu chimioterapia.

Affinoleukinul reprezintă o fracție complexă a extrasului din leucocitele a 1000 de donatori, pasteurizată la 60°C timp de 10 ore. Se utilizează în infecțiile respiratoare, herpetice, hepatite. Se administrează s.c. câte 1 Un copiilor și 2 Un adulților de 3-6 ori pe săptămână.

Citokine

Citokinele sunt un grup de glicopeptide biologic active (IL, IFN, factori de creștere etc.) obținute din celulele sistemului imun.

Betaleukina reprezintă IL-1b recombinantă ce stimulează leucopoieza în leucopeniile induse de citostatice și iradiere, diferențierea celulelor imunocompetente. Este recomandată în oncologie, în complicațiile purulente postoperatorii, în in-

fecțiile purulente. Se administrează i.v. în doză de 5 ng/kg pentru imunostimulare; 15-20 ng/kg pentru stimularea leucopoiezei într-o soluție de 0,9% de clorură de sodiu. Cura include 5 infuzii.

Roncoleukina reprezintă IL-2 recombinantă, posedă efecte polipotente în imunogenază. Este indicată în infecțiile purulente, sepsis, peritonită, abcese, flegmoane, piodermie, tuberculoză, hepatite, SIDA, tumori însoțite de imunodeficiențe. Se administrează i.v. câte 1-2 ml/min. într-o soluție de 400 ml 0,9% clorură de sodiu. Doza remediei în sepsis, tumori, infecții chlamidiene etc. variază în funcție de forma maladivă și starea pacientului.

Neupogemul (Filgrastim) este un factor coloniestimulant recombinant al granulocitelor (G-CSF). Stimulează formarea neutrofilelor funcțional active și parțial a monocitelor, activează hemopoieza. Este utilizat în neutropeniile aparente la chimioterapie, pentru profilaxia infecțiilor în doză de 5 μg/kg/zi i.v. sau s.c. după finisarea curei de tratament timp de 10-14 zile. În neutropenia congenitală se administrează 12 μg/kg/zi s.c. zilnic.

Leucomaxilul este un factor coloniestimulant al granulocitelor și macrofagelor (GM-CSF) recombinant uman, care conține substanța activă molgramostim. Este produs de tulpina *E. coli* purtătoare a plasmidei cu gena GM-CSF. Remediu intensifică expresia moleculelor HLA de clasa II pe monocitele umane și majorează secreția de Ac, activitatea fagocitară a neutrofilelor mature și cantitatea lor în sângele periferic. Efectul este dependent de doza utilizată. Este indicat în chimioterapia antitumorală pentru minorizarea severității neutropeniei ce conduce la scăderea riscului de dezvoltare a infecției, în sindroamele mielodisplazice, anemia aplastică pentru minorizarea riscului de dezvoltare a infecției ca rezultat al neutropeniei; în transplantul măduvei osoase pentru intensificarea restabilirii mielopoiezei; în leucopeniile de genă infecțioasă (inclusiv infecția HIV), în tratamentul infecției citomegalovirale cu ganciclovir pentru scăderea severității neutropeniei. Doza utilizată variază în funcție de patologie. Pe fundalul chimioterapiei antitumorale, se administrează s.c. câte 5-10 μg/kg masă corporală/zi cu debutul terapiei după 24 de ore de la finisarea ultimei cure chimioterapice timp de 7-10 zile; în sindroamele mielodisplazice și anemia aplastică se utilizează 3 μg/kg/zi s.c.; în leucopeniile induse de infecții – câte 1-5 μg/kg/zi s.c. După majorarea numărului de leucocite doza diurnă poate fi corectată la fiecare 3-5 zile. Posedă efecte adverse: frisoane, greață, dispnee, diaree, erupții, vomă, algii musculare și osoase, cefalee, astenie, anorexie, trombocitopenie, anemie. Remediu este contraindicat în mieloleucemie, hipersensibilitate la molgramostim. Prima doză de leucomaxil se administrează sub supraveghere medicală.

Leukinferonul constituie un complex de citokine (IFN-α, IL-1, MIF, IL-6, IL-12, TNF-α etc.) în coraport natural, care nu se dereglează în procesul de purificare. Este recomandat în terapia infecțiilor bacteriene, mixte.

Printre citokinele utilizate local *Superlimful* prezintă un complex de citokine standardizat (IL-1, IL-2, IL-6, TNF- α , MIF etc.). Se administrează local zilnic în doză de 0,5-1 ml (50-100 $\mu\text{g/ml}$) în funcție de mărimea răni.

Interferonii constituie circa 20 de glicoproteine biologice active, care diferă după structura și proprietățile biologice. După originea lor, IFN pot fi de genă leucocitară (IFN- α), fibroblastică (IFN- β), imună (IFN- γ), biotehnologică (IFN- α_2 , IFN- ω). Mecanismul acțiunii imunomodulatoare este realizat prin intensificarea expresiei receptorilor de membrană a celulelor și antrenarea în diferențiere. Ei activează celulele NK, macrofagele, granulocitele, inhibă celulele tumorale. IFN de tipul I (α și β) stimulează expresia Ag HLA de clasa I pe celule și activează macrofagele, celulele epiteliale, fibroblaștii. IFN- γ (tipul II) intensifică expresia Ag HLA-DR de clasa II, funcția macrofagelor, citotoxicitatea celulelor NK și T-killerilor. Interferonii posedă proprietăți antivirale, antibacteriene și imunomodulante. Statusul interferonic uman se caracterizează prin cantități minore ale acestora în sânge (< 4 UI/ml), pe mucoase. La stimulul antigenic, în normă, se secretă toate tipurile de IFN, dar rolul prioritar în imunitatea antivirală locală îi revine IFN- α . În infecțiile virale cronice (herpes, hepatite etc.), capacitatea de sinteză a IFN este scăzută cu manifestări ale sindromului de deficiență al acestora. În imunodeficiența primară de tip limfoid la copii, funcția interferonică a leucocitelor se păstrează. IFN în doză de 2 mil. UI are efect imunostimulator, pe când dozele majore (10 mil. UI) induc imunosupresia. Toate preparatele IFN pot induce pirexie, neutropenie, trombocitopenie, alopecie, dermatite, dereglări funcționale hepatice și renale etc.

Interferonul α leucocitar de origine umană se utilizează în terapia și profilaxia gripei și a infecțiilor virale respiratoare acute. Doza remediei – 5 picături în fiecare narină de 2 ori/zi.

Egiferonul este un amestec al subtipurilor de IFN- α obținut după prelucrarea leucocitelor umane cu virusul Sendai. Este indicat în hepatita B acută și cronică, în afecțiunile herpetice ale corneei, buzelor, genitalelor etc. Se administrează în injecții și aplicații locale. La utilizarea îndelungată a dozelor mari este posibilă apariția unei trombocitopenii tranzitorii.

Velferonul reprezintă IFN- α limfoblastic uman constituit dintr-un amestec de subtipuri ale IFN- α produse de celulele limfoblastice, infectate cu virusul Sendai. Este indicat în hepatitele virale, infecția HIV, maladiile papilomatoase virale. Poate fi înregistrat un efect secundar sub formă de sindrom asemănător gripei, intensitatea căruia este dependentă de doza utilizată.

Laferonul reprezintă IFN- α -2b recombinant uman obținut prin tehnica genoingenică. Este recomandat în terapia complexă a adulților și copiilor în hepatita virală B acută și cronică, în infecțiile virale, bacteriene și mixte acute, în stările septice acute și cronice de origine virală și bacteriană, în infecțiile herpetice de diversă localizare; în papilomatoza laringelui, scleroza multiplă, tumo-

rile maligne, melanomul pielii și ochiului, cancerul renal, cancerul vezicii urinare, ovarian, glandei mamare, sarcoma Kaposi, maladia mielom etc. în doze diverse. Contraindicații pentru acest remediu sunt maladiile alergice, graviditatea. La utilizarea îndelungată a dozelor mari sunt posibile reacții secundare – frisoane, uneori leuco- și trombocitopenie.

Intronul A – IFN- α_2b este un remediu recombinant la care nu se sintetizează Ac neutralizați ce asigură un efect terapeutic stabil. Este indicat în maladiile:

- mielomul multiplu – s.c., de 3 ori/săptămână începând cu doza de 2×10^6 UI/m². În funcție de sensibilitatea individuală, doza treptat se majorează până la toleranța maximă (5×10^6 - 10×10^6 UI/m²) și se administrează de 3 ori pe săptămână;
- sarcomul Kaposi – câte 50×10^6 UI/m², s.c., zilnic, timp de 5 zile, ultima injecție în doza diurnă se inoculează i.v., cu întreruperi de 9 zile, apoi cura se repetă, independent de toleranța remediei;
- melanomul malign – câte 10×10^6 UI, s.c., de 3 ori pe săptămână timp de 2 luni;
- leucemia cu celule păroase – câte 2×10^6 UI/m² de 3 ori pe săptămână, s.c., timp de 1-2 luni;
- papilomatoză, hepatita virală, se utilizează doza primară de 3×10^6 UI/m² de 3 ori pe săptămână timp de 6 luni în primul caz (și numai după eradicarea chirurgicală a papilomei) și timp de 3-4 luni în cazul doi. Efecte secundare: hipertermie, cefalee etc.

Reaferonul – IFN- α_2A recombinant este obținut la cultivarea tulpinii *Pseudomonas* sp. Este indicat în afecțiuni herpetice virale (câte 1 mil. UI, cura fiind de 10 injecții), în hepatita virală cronică B (câte 3 mil. UI, cure de 10-15 injecții cu intervalul de o lună), în tumorile maligne (cancerul vezicii urinare, leucemie etc.) doza se majorează până la 10 mil. UI, i.m.

Viferonul – IFN- α_2b recombinant. Se utilizează în formă de supozitoare (câte 150-500 mii UI – 1 mil. UI), unguent (40 mii UI/g). Se administrează în infecțiile inflamatoare severe la copii (IRVA, pneumonie, meningită, sepsis etc.); câte 1 mil. UI/zi timp de 5 zile (2-3 cure) în infecțiile herpetice, chlamidiene și citomegalovirale câte 1 mil. UI/zi timp de 10 zile, ulterior de 3 ori pe săptămână timp de 3-12 luni.

Realdersonul reprezintă IFN-2b recombinant uman stabilizat cu poliglucină (realderson) sau cu albumină (refergen). Este indicat în hepatitele acute (1 mil. UI de 2 ori/zi timp de 5-6 zile), în hepatita cronică activă B câte 3-6 mil. UI de 3 ori pe săptămână timp de 6 luni, în leucemii – 3-9 mil. UI de 3 ori pe săptămână.

Roferonul A constituie IFN- α_2a recombinant și este indicat în hepatita cronică activă B câte 4,5 mil. UI s.c. sau i.m. de 3 ori pe săptămână timp de 6 luni; în procesele tumorale (cancerul renal, limfomul pielii T celular) doza minimă constituie 3 mil. UI și treptat se majorează până la 18-36 mil. UI/zi. Cura de tratament durează minim 10-12 săptămâni.

Viaferonul se referă la IFN- α și este indicat în IRVA, în afecțiunile herpetice ale pielii, mucoaselor genitale și organelor interne, în afecțiunile virale și chlamidiene ale pielii, mucoaselor cavității bucale, organelor genitale externe, hepatitele acute și persistente, infecția citomegalovirală, tumori (papilomul laringelui juvenil, tumorile solide – cancerul pulmonar, renal, mieloleucemia cronică, leucemia acută etc.).

Pegasys reprezintă IFN- α -2b în amestec cu polietilenglicol (MM 12 kDa) și posedă activitate antivirală înaltă. Se utilizează în hepatita cronică C câte 180 μ g/zi o dată în săptămână s.c., timp de 48 de săptămâni.

Interferonii β secretați de fibroblaști induc activarea LT cu intensificarea sintezei IFN- γ , stimulează sinteza IL-1 și TNF- α de către celulele microgliale și macrofage. Sunt cunoscute următoarele preparate:

Feron – IFN- β natural uman. Se utilizează în pneumoniile virale, hepatita B și infecțiile herpetice, HIV.

Fron – IFN- β natural uman. Este indicat în hepatita cronică B și C, în afecțiunile herpetice, tumorile colului uterin, leucemii. Doza remedului în procesele herpetice constituie câte 2 mil. UI timp de 10 zile, în hepatite – câte 8-10 mil. UI de 3 ori/zi cu o durată de 6 luni. Este contraindicat în hepatitele cronice cu ciroză progresivă necompensată. A fost demonstrată eficacitatea IFN- β în scleroza multiplă datorată capacității lui de intensificare a proliferării celulelor microgliale.

Preparatele IFN- γ induc expresia Ag HLA de clasa II pe celulele microgliale și macrofage cu majorarea capacității lor de prezentare a Ag și un efect pozitiv în procesele inflamatoare.

Imukin IFN- γ -1b posedă o activitate mai mare, comparativ cu IFN- α și IFN- β . Se administrează practic în toate maladiile virale, procesele maligne, alergii (reducere sinteza IgE), infecțiile bacteriene severe.

Interferonlagen – IFN- γ recombinant uman. Este indicat în AR și LES și contraindicat în reacțiile alergice, la gravide și mamele care alăptează. Posedă efecte secundare – sindromul asemănător gripei (utilizarea paracetamolului reduce manifestările acestuia).

Leukinferonul conține IL, IFN- α , TNF- α . Este cel mai eficace remediu din grupa IFN în complicațiile purulente septice. Se administrează câte 10 mii UI i.m. de 2 ori pe zi minim 10 zile. Contribuie la normalizarea rapidă a indicilor clinici de laborator, normalizează imunograma. A fost demonstrată eficacitatea înaltă a remedului într-un șir de tumori maligne.

Metodele extracorporale de imunoemocorecție

Sângele conține celulele sistemului imun și factori umorali (Ac, C). Orice acțiune asupra sângelui conduce la modificări cantitative și calitative ale componenței acestuia și ca rezultat la imunomodulare. Pentru imunoemocorecția extracorporală se utilizează diverse metode:

- gravitare pentru divizarea celulelor și plasmei sangvine în fracțiuni cu eliminarea uneia (plasmafereza, leucocitofereza, trombocitofereza);
- sorbente bazate pe legarea nespecifică sau specifică a Ag, Ac, complexelor imune, populațiilor și subpopulațiilor celulare cu eliminarea lor ulterioară (hemosorbția, plasmosorbția, limfosorbția, xenoperfuzia, citosorbția, separarea magnetică etc.);
- difuzie membranară cu eliminarea unui șir de substanțe prin filtrare prin membrane (hemodializă, ultrafiltrație, plasmofiltrație etc.);
- de sedimentare și precipitare (crioprecipitația, crioplasmosorbția, termoprecipitarea etc.);
- fizioterapeutice (iradierea ultravioletă, cu laser, razele Ro etc.).

Plasmafereza induce imunomodularea datorită eliminării unei părți de plasmă sangvină care conține Ac, complexe imune și citokine. Plasma sangvină este separată de celule prin centrifugarea sângelui în containere timp de 20 min. la 2000-2500 rot./min. într-o centrifugă cu răcire sau cu ajutorul plasmofiltrelor membranare care separă plasma și celulele. Se efectuează 3-7 cure cu eliminarea sumară a plasmei până la 6-6,5 l la adulți și compensarea ei ulterioară cu plasmă nativă, soluție de 5% sau 10% de albumină. Metoda permite eliminarea Ac citotoxici anti-Ag subpopulațiilor limfocitare proprii, complexelor imune, conduce la scăderea titrului de autoanticorpi specifici IgE etc. Scăderea esențială a titrului de Ac citotoxici anti-celule T-helper la bolnavii cu agamaglobulinemie adoptivă conduce la restabilirea sintezei de imunoglobuline proprii. Efectul se menține timp de câteva luni, iar titrul Ac citotoxici crește din nou, celulele T-helper sunt inhibitate și la pacienți se constată recidiva agamaglobulinemiei. Metoda poate fi utilizată la pacienții cu imunodeficiență umorală adaptivă la supresia celulelor B de către Ac citotoxici, dar efectul procedurii este de scurtă durată.

Într-un șir de cazuri, la bolnavii cu sindrom atopic sever și astm bronșic, după plasmafereză scade nivelul IgE totale și alergen-specifice. La bolnavii cu LES după plasmafereză se constată scăderea Ac anti-ADN cu îmbunătățirea stării pacientului, dar pe o scurtă durată de timp.

Indicații pentru plasmafereză sunt maladiile alergice și autoimune severe, în special cele rezistente la terapia cu corticosteroizi, imunodeficiente complicate cu infecții și toxicoză. Plasmafereza se administrează în asocieră cu alte remedii terapice pentru reducerea activității proceselor alergice și autoimune.

Citofereza prevede izolarea și eliminarea diferitor celule. Mai importante sunt recoltarea leucocitelor autologe și celulelor stem sangvine pentru autotransplantarea ulterioară (după chimioterapie), eliminarea limfocitelor sau subpopulațiilor lor.

Limfocitofereza este bazată pe separarea celulelor eritroide și limfoide în condiții sterile. Metoda poate fi utilizată în maladiile autoimune pentru inhibiția procesului și pentru eliminarea limfocitelor T din mostrele măduvei osoase utilizate pentru auto-

transplantare (prevenirea reacției „transplant contra gazdei”). La o procedură de limfocitofereză se elimină $5-8 \times 10^9$ limfocite după ce la bolnavi scade nivelul LT și LB.

Optimală s-a dovedit metoda separației magnetice: particulele cu conținut de fier acoperite cu anticorpi monoclonali anti-CD (de ex. CD3) leagă celulele T după ce acestea sunt sedimentate magnetic. Particulele identice purtătoare de Ac anti-HLA-DR se utilizează pentru eliminarea LB.

Trombocitofereza se utilizează în maladiile autoimune cu activitate majorată a trombocitelor.

Hemosorbția este bazată pe capacitatea cărbunelui de a adsorbi proteinele și peptidele cu MM joasă – componente ale toxinelor. Mecanismul efectului imunomodulator al hemosorbției este cel de interacțiune directă a cărbunelui cu mononucleare și cu eliminarea din circulație și de pe membrana celulară a complexelor imune capabile de modificarea funcțiilor celulare. Concomitent, are loc eliminarea enzimelor din granulocite și alterarea eritrocitelor ce poate avea consecințe negative.

Hemosorbția în infecțiile bacteriene (practica chirurgicală) conduce la intensificarea fagocitozei și la majorarea numărului de celule T. În maladiile autoimune (de ex., AR), hemosorbția posedă efect tipic imunosupresor, în astmul bronșic poate scădea nivelul Ac IgE. Eficacitatea unei proceduri este de 3 zile. Indicații pentru hemosorbție sunt imunodeficiențele secundare cu sindrom infecțios și autoimun.

Limfosorbția este bazată pe drenarea ductului toracic, pe recoltarea limfei și sanarea ei.

Imunosorbția este bazată pe sorbția specifică a proteinei A sau factorului IX de coagulare, Ac anti-ADN (în maladiile autoimune), reducerea activității blocante a componentului C3 al complementului (în procesele tumorale). Metoda a fost aprobată ca procedeu de frânare a reacției superacute de reacție și scădere a intoxicației. După 5-7 zile de la procedură, se constată creșterea activității substanțelor agresive până la nivelul inițial. Se efectuează imunosorbția sângelui, plasmei. Imunosorbția cu utilizarea alergenilor fixați pe purtători permite eliminarea Ac IgE din sângele pacienților cu astm bronșic.

Activarea extracorporală a celulelor imunocompetente cu remedii imunomodulatoare se realizează în câteva etape: leucofereza în volum de $1-4 \times 10^9$ celule, inocularea imunomodulatorului în suspensia celulelor mononucleare cu incubarea lor timp de 3 ore la 37°C , spălarea triplă a celulelor și reinfuzia masei leucocitare. Au fost obținute rezultate pozitive la utilizarea imunomodulatei tactivină, diucifon, glucocorticoizi etc. În urma activării se secretă interleukine (IL-2 etc.) care modifică imunitatea celulară blocată. Pentru stimulare pot fi utilizate remedii slab tolerate de pacient, doze superterapice etc.

Metoda este recomandată pentru utilizarea clinică la pacienții cu imunodeficiență, maladii alergice, autoimune, posibil și limfoproliferative. Acest tip de imunomodulare poate fi stimulator sau supresiv.

Crioprecipitația plasmei sangvine, realizată în prezența heparinei la t 4°C, permite sedimentarea și eliminarea precipitatelor de fibronectină, crioglobuline, complexe imune, unor mediatori și imunoglobuline.

Imunoterapia regională include metode invazive și neinvazive de inoculare a imunomodulatorilor în sistemul limfatic. Metodele invazive includ puncția și cateterizarea vaselor limfatice, introducerea preparatelor în țesuturile moi, s.c. etc. crearea unui depou s.c. în condițiile vasostazei temporare.

Metodele neinvazive includ aplicarea imunomodulatorilor pe piele, administrarea per mucoase, electroforeza regională, metode aerosolice.

Pentru terapia proceselor inflamatoare se recomandă administrarea unui complex de preparate: antibiotice, inhibitori ai proteazelor și imunomodatoare. Terapija endolimfatică se utilizează în maladiile inflamatoare purulente (bronhopulmonare, ginecologice, chirurgicale etc.). Eficacitatea metodei este datorată concentrației înalte și acțiunii durabile a preparatului în focarul inflamator la o doză generală mai mică. Dar metoda invazivă este complicată de necesitatea cateterizării vaselor limfatice mici.

Enterosorbția

Problema intoxicației endogene (endotoxicoza) în ultimii ani devine tot mai actuală. Este un proces complicat, polifactorial cu hipoxia sistemică a țesuturilor și consecințe metabolice. Intoxicația endogenă este însoțită de alterarea majorată a țesuturilor, de procese catabolice intensive, de insuficiența funcțională a ficatului și rinichilor, de dereglări în sistemele de macro- și microcirculație, de dereglarea metabolismului proteic, hidrosalin etc.

Printre produsele finale metabolice potențial periculoase pentru dezvoltarea endotoxicozei se enumeră amoniacul, bilirubina, acizii biliari, azotul restant, ureea, creatinina. Acțiunea agentului deteriorativ asupra celulei, indiferent de natura lui, conduce la modificarea proprietăților membranei, la eliberarea produselor toxice ale metabolismului dereglat în spațiile interstițiale și în sânge. Răspunsul imun al organismului la acțiunea toxinelor este manifest prin eliberarea substanțelor biologic active, mediatorilor inflamației (histamină, serotonină, kinine, prostaglandine, leucotriene, enzime lizozomale, anafilotoxine etc.). Aceasta majorează permeabilitatea vaselor patului microcirculator cu dereglări și hipoxie tisulară, perturbări metabolice (intensificarea oxidativă a lipidelor). Astfel, hipoxia tisulară stă la baza endotoxicozei – factor esențial în clinica și patogeneza maladiilor autoimune, infecțioase, hepatice, renale acute și cronice, sepsis etc. Hemosorbția și alte măsuri detoxicante sunt utile, uneori însoțite de efecte secundare și complicații, iar ulterior induc modificări negative ale mitocondriilor și lizozomilor ficatului.

Enterosorbția este o metodă simplă și eficace bazată pe legarea și eliminarea din tractul digestiv a substanțelor endo- și exogene, în special a toxinelor, intensificarea biotransformării lor. Ca enterosorbenți sunt utilizați cărbunele activat, silica-gelul, almagelul, filamentele etc. Ei leagă și elimină mediatorii și produsele toxice, dar pot lega și medicamentele, vitaminele și microelementele și de aceea sunt administrați peste 2-3 ore după utilizarea preparatelor. Sorbenții pot reține asimilarea proteinelor, deregla activitatea intestinală (constipații), ceea ce este necesar de a lua în considerare la administrarea lor.

Enterogelul este un hidrogel al acidului metilsilicic. Preparatul leagă prin adsorbție și elimină din tractul gastrointestinal toxinele conținutului intestinal și cele extrase prin osmosa transmembranară din sângele pacientului (substanțe toxice, produse intermediare ale metabolismului, radionuclidele); ameliorează funcția intestinală, hepatică și renală, normalizează indicii biochimici sangvini și urinari, are acțiune demulcentă și protejează mucoasa gastrointestinală de factorii nocivi, previne leziunile eroziv-ulceroase și nu elimină microelementele și vitaminele. Nu se absoarbe din intestine. Este indicat în terapia detoxificantă în bolile urologice cu insuficiență cronică renală (pielonefrită, polichistoză renală, nefrolitiază, hiperuricemie în gută), în afecțiunile hepatice toxico-infecțioase (hepatită toxică A și B), în colestaza de diversă genă asociată cu insuficiență renală și reacții alergice, toxicoza gravidelor; gastrite și enterocolite, toxicoinfecții alimentare, intoxicație alcoolică, procese septico-purulente, combustii, peritonite, septicemii etc. Se administrează câte 15 g adulților și 5 g copiilor în 30 ml apă de 3 ori pe zi cu 1,5-2 ore înainte de masă sau de ingerarea medicamentelor. Durata curei de tratament constituie 7-14 zile. În intoxicațiile severe, primele 3 zile doza se dublează, iar la necesitate (icterul mecanic, ciroza hepatică) durata tratamentului poate fi îndelungată (peste 6 luni).

Smecta posedă proprietăți remarcabile adsorbante datorită structurii sale discoido-cristaline. Protejează mucoasa intestinală de acțiunea negativă a ionilor de hidrogen, a acidului clorhidric, a sărurilor acizilor biliari, a microorganismelor și a toxinelor acestora și a altor iritanți. Este indicată în tratamentul simptomatic al durerilor provocate de maladiile esofagului, stomacului, duodenului și colicile intestinale, diaree acută și cronică, în special la copii. Adulților li se administrează câte 3 plicuri cu 3,76 g pulbere pe zi, care se diluează în ½ pahar de apă. În clisme medicamentoase – câte 1-3 plicuri la 50-100 ml apă – 1-3 clisme pe zi. Copiilor sub un an – câte 1 plic pe zi, care se diluează într-un biberon cu 50 ml apă și se repartizează pe parcursul zilei (poate fi amestecat și cu alte lichide), copiilor de 1-2 ani – 1-2 plicuri/zi, celor peste 2 ani – 2-3 plicuri pe zi. În esofagită, preparatul se administrează după mese, iar în celelalte cazuri în afara meselor.

Au fost observate efecte adverse cu agravarea constipației, care dispăreau la micșorarea dozei. Remediul este contraindicat în ocluzia intestinală, hipersensibilitatea la componentele preparatului. *Smecta* poate reține absorbția altor substanțe

și în acest caz medicamentele se vor administra cu câțva timp înainte sau după utilizarea preparatului.

Polifepanul este un enterosorbent fitogen natural, obținut prin hidroliza fibrelor lemnoase, conține lignină și celuloză, elementele structurale ale cărora sunt derivații fenilpropanului și hidroceluloză. Are acțiune adsorbantă și detoxifiantă nespecifică considerabilă. În lumenul TGI leagă și elimină din organism bacteriile patogene și toxinele lor, preparatele medicamentoase, noxele, sărurile metalelor grele, alcoolul, alergenii. Absoarbe bilirubina, colesterolul, ureea, toxinele endogene și metaboliții lor.

Este recomandat în terapia intoxicațiilor acute cu medicamente, alcool, săruri ale metalelor grele, alcaloizi. De asemenea, este indicat în dizenterie, salmoneloză, disbacterioză, în toxicozele de etiologie diversă, insuficiența hepatică și renală, dereglările metabolismului lipidic (ateroscleroză, obezitate), alergii, pentru eliminarea xenobioticelor. Optimizează indicii statusului imun.

Se administrează cu 1,5-2 ore înainte de masă sau după administrarea altor medicamente. Remediul se dizolvă în 50-100 ml apă și se bea: sugarilor – câte 0,5-1 linguriță, copiilor de la 1-7 ani – câte o lingură de desert, celor peste 7 ani și adulților – câte o lingură de 3-4 ori/zi timp de 3-5 zile în stările acute și 14 zile în cele cronice. Cura poate fi repetată peste 2 săptămâni. Poate provoca reacții alergice și constipații. Contraindicații sunt hipersensibilitatea la preparat, ulcerul gastric și duodenal în faza acutizării, atonia intestinală, gastrita anacidă.

Preparatul scade efectul medicamentelor administrate concomitent. La utilizarea lui îndelungată (peste 20 de zile), se recomandă administrarea de polivitamine și preparate de calciu.

Polisorbul MP este un enterosorbent neorganic aselectiv, polifuncțional. Conține dioxid de siliciu. În tractul digestiv, preparatul leagă și elimină din organism substanțele toxice endo- și exogene, inclusiv bacteriile patogene și toxinele lor, antigenii, alergenii alimentari, bacteriile patogene și toxinele lor, sărurile metalelor grele, radionuclizii și alcoolul. Polisorbul MP elimină din organism și unele produse metabolice (excesul de bilirubină, uree, colesterol și complexe lipidice, metaboliții responsabili de toxicoză endogenă). Este indicat în intoxicațiile acute și cronice de orice proveniență, în infecțiile intestinale, inclusiv toxicoinfecții, disbacterioză (adjuvant), în bolile septice cu intoxicație manifestă, în intoxicațiile acute cu toxine și medicamente, alcool, alcaloizi, săruri ale metalelor grele, în alergiile alimentare și medicamentoasă, hiperbilirubinemie și hipoazotemie.

Se administrează câte 0,1-0,2 mg/kg masă corporală cu o oră înainte de masă sau înainte de administrarea altor medicamente, de 3-4 ori/zi. Durata terapiei în intoxicațiile acute este de 3-5 zile, în maladiile alergice și intoxicațiile cronice – de 10-14 zile. Curele suplimentare sunt posibile peste 2-3 săptămâni. Doza remediuului se amestecă cu apă (50-100 ml) și se prepară înainte de administrare.

Efecte adverse – reacții alergice, dispepsie. La utilizare îndelungată se recomandă administrarea profilactică a polivitaminelor și calciului.

Este contraindicat în ulcerele gastrice și duodenale în faza de acutizare, în hemoragiile gastrointestinale, în atonia intestinală, hipersensibilitatea la preparat.

Vitamine, microelemente și complexe antioxidante

Sub influența vitaminelor și a preparatelor vitaminelor se modifică activitatea proceselor biochimice în celulă, inclusiv a celor imunologice. Activitate imunotropă evidentă posedă preparatele vitaminelor E, A, F, C, cele ale grupei B, P etc. O importanță majoră în ultimii ani se acordă proprietăților antioxidante ale vitaminelor, în special în combinație cu unele microelemente în terapia și profilaxia descărcărilor imune dependente de acțiunea radicalilor liberi (oxidanților). Unele forme de imunodeficiență sunt asociate cu deficitul unor vitamine, de ex., sindromul Chediak-Higashi. Administrarea vit. C în doză de 1 g/zi în această maladie, pe parcursul a câtorva săptămâni, activează sistemele enzimatice oxidative până la stadiul de compensație a funcțiilor bactericide ale neutrofilelor și macrofagelor.

Acidul ascorbic (vitamina C) participă activ în oxidarea microzomală a substanțelor exogene și non-proprie, stimulează activitatea ciclului citocrom, proceselor de hidroxilare. Activitatea citocromului P-450, activitatea fagocitară a neutrofilelor și macrofagelor, proprietățile lor antimicrobiene sunt dependente de concentrația acidului ascorbic. Rolul protectiv esențial al vit. C este ca antioxidant în acțiunea toxică a diferitor compuși. Activează sinteza Ac (în special, IgA și IgM), componentul C3 al complementului, IFN, contribuie la fagocitoză, intensifică migrarea și chemotactismul PMN, restabilește funcția lor inhibată de virioni. Modulează formarea prostaglandinelor, contribuie la sinteza corticosteroizilor, la inactivarea histaminei, la minorizarea nivelului de IgE. Normalizează activitatea LT și neutrofilelor la bolnavii cu indici scăzuți primar. Astfel, vit. C este capabilă să activeze apărarea nespecifică a organismului, să inhibe procesele inflamatoare alergice. Dar dozele mari (10 g) induc imunodepresia. Se administrează câte 50-100 mg de 3 ori pe zi, în unele cazuri – câte 0,5-1 g, de 1-2 ori pe zi timp de 5-7 zile. Pot apărea reacții alergice. La administrarea dozelor mari se recomandă controlul funcției renale, tensiunii arteriale și glicemiei.

Vitamina E (tocoferol acetat, α -tocoferol) stabilizează structurile membranare unde are loc oxidarea radicalilor liberi, modifică activitatea lipo- și ciclooxigenazelor, intensifică producția IL-2, nivelul IFN endogen, activează sinteza proteinelor. Datorită proprietăților antioxidante și imunostimulatoare se utilizează în distrofiile musculare, în dereglarea funcțiilor sexuale la chimioterapie. Se administrează peroral și i.m. câte 0,05-0,1 g/zi timp de 1-2 luni. Administrarea vit. E în doză diurnă 300 UI timp de 6-7 zile peroral conduce la majorarea numărului de leucocite, limfocite T

și B. În combinație cu seleniu, vit. E mărește cantitatea celulelor formatoare de Ac. Tocoferolul în doză de 500 mg zilnic normalizează indicii statusului imun.

Vitamina A (retinol) și carotinoidele posedă acțiune antioxidantă, normalizează proprietățile structurale și funcționale ale membranelor. Ea împiedică acțiunea cancerigenă a benzilpirenului și altor substanțe, care este datorată capacității de inhibare a oxidării microsomale a acestor compuși.

Efectul biologic și imunomodulant al *microelementelor* este datorat faptului că ele sunt componente ale multor enzime și hormoni ai celulelor, canalelor ionice prin care semnalul de pe membrană se transmite în citoplasmă. Posedă acțiune selectivă imunomodulatoare asupra diferitor subpopulații celulare ale SI.

Zincul se constată în insulină, în multe enzime și în hormoni. Acetatul de zinc stimulează anticorpogeneza și HTI, zinc-timulinul este considerat ca hormon principal al timusului.

Remediile zincului sporesc rezistența la infecțiile respiratoare. Deficiența zincului se constată la pacienții cu alimentație parenterală îndelungată (perioada postoperatorie etc.), la lichidatorii avariei de la Cernobîl (insuficiența zinc-timulinului).

Selenul se constată în cantități mai mari în proteinele cu conținut înalt de cistină. Efectul lui antioxidant este datorat acțiunii lui ca component al glutatationperoxidazei. În cazul deficitului de selen și scăderea activității glutatationperoxidazei, crește hemoliza eritrocitelor sub acțiunea peroxidului de hidrogen etc. Posedă activitate antiblastomă.

În componența sistemelor fermentative cu proprietăți antioxidante sunt prezente microelementele Cu, Zn, Mg, Fe, Se, care într-o măsură mare asigură potențialul antioxidant al organismului. Alimentarea rațională balansată este suportul funcționării normale fiziologice a sistemului antioxidant și profilaxia multor maladii.

Imunodulatoarele de origine fitogenă pot influența reacțiile imune și sunt utilizate prioritar în imunoreabilitarea pacienților (*Echinacea*, eleuterococ, ginseng etc.). Proprietăți imunomodulatoare posedă usturoiul (induce sinteza IFN endogen), fasolele, extrasele din ceapă, aloe, flavinele și flavonoidele care se conțin în vinul roșu, citrice etc. Remediile din *Echinacea purpura* și *pallida* datorită conținutului de microelemente (selen, zinc etc.) și substanțelor biologice active (betain, rutin, enzime, flavonoide etc.), vitamina A și C posedă capacitatea de stimulare a reacțiilor celulare și umorale ale imunității nespecifice prin activarea fagocitozei, intensificarea secreției de Ac, citokine, IFN etc. Există mai mult de 300 de preparate de *echinacea*. Sunt utilizate prioritar pentru profilaxia maladiilor respiratorii, în terapia infecțiilor virale și bacteriene a tractului respirator, urinar etc. Pentru profilaxia recidivelor infecțiilor se utilizează 40 picături de 3 ori pe zi. Dozele de întreținere – 20 picături de 3 ori pe zi peroral timp de 8 săptămâni. Eleuterococul posedă activitatea interferonogenă, intensifică fagocitoza, funcția LT. Se utilizează câte 2 ml de 3 ori pe zi timp de 3-4 săptămâni. Copiilor li se administrează câte 1 picătură / 1 an 3 ori pe zi timp de 3-4 săptămâni pentru profilaxia recidivelor infecțiilor respiratorii acute.

Metode fizioterapeutice

Imunofizioterapia utilizează factorii fizici pentru modularea reactivității imunologice. De regulă, acțiunea intensivă a acestora induce efecte imunodepresive, pe când cele slabe și parțial medii au acțiune stimulatorie. Multe dintre aceste metode pot fi combinate cu imunomodulatoare chimice, biologice. Pentru intensificarea „imunotropismului” agenților fizioterapeutici se recomandă aplicarea lor pe organe și sau pe zonele de proiecție a acestora pe piele.

Imunofototerapia se bazează pe faptul că iradierea ultravioletă, cu laser, raze Roentgen și unde magnetice induce imunomodularea și poate stimula sau inhiba reactivitatea imunologică în funcție de intensitate și de condițiile de acțiune.

Iradieră ultravioletă ca factor imunomodulator

În spectrul ultraviolet (400-750 nm) distingem 3 zone: UV-A (315-400 nm induce fotoalergia și bronzarea), UV-B (280-315 nm induce eritem, arsuri, cancer), UV-C (200-280 nm are efect bactericid și induce mutație). În funcție de doză, de lungimea unde și condițiile de iradiere, poate fi obținută stimularea sau inhibiția reacțiilor imune datorate influenței asupra cheratinocitelor și altor APC participante în recunoașterea Ag.

Inhibiția răspunsului imun *in vivo* poate fi dependentă de activarea celulelor supresoare. În procesul de iradiere apar molecule modificate chimic și mediatori (histamină, neuropeptide, prostaglandine, enzime). UV-B inhibă capacitatea celulelor Langerhans de a prezenta Ag limfocitelor Th1 responsabile de imunitatea celulară, dar această capacitate se păstrează pentru Th2 care induc sinteza de Ac. UV-A stimulează sinteza hormonului stimulant al melanocitelor, care la rândul său stimulează sinteza IL-10, antagonistul IL-1, TNF- α și IL-2.

Iradieră pielii și sângelui bolnavului în unele cazuri se utilizează pentru „desensibilizare” și pentru reducerea reactivității în alergii, în altele – dimpotrivă, pentru stimularea imunității la inhibiția ei și reactivitate slabă.

Asupra pielii influențează toate undele ultraviolete, inclusiv cele naturale medii și lungi. Razele solare ultraviolete de lungime scurtă sunt potențial mutagene și imunodepresante. Razele de lungime mare inhibă celulele NK și pot fi cancero-gene. UV-B cu unda de 290-320 nm induc eliberarea de către cheratinocitele pielii a citokinelor (IL-1, -6, -7, -10, -12, -15, TNF- α etc.) care inhibă IL-17 (factor cu funcție de creștere și diferențiere a LT). Astfel, răspunsul imun este inhibat. Acțiunea razelor de acest diapazon, inclusiv iradierea solară, induc degranularea mastocitelor pielii cu eliberarea histaminei, secreției substanței P, neurokinei A, factorului de creștere a nervilor și a altor neuropeptide de către axonii nervilor.

Doza minimală eritemă a iradierii ultraviolete majorează rezistența la infecții. Crește activitatea IL-1 în serul sangvin, coraportul CD4/CD8 în favoarea T-helpe-

rilor. Sângele donatorilor, iradiat cu unda de 254 nm și suplimentat în coraport de 1:10 la sângele autolog, stimulează fagocitoza monocitelor și granulocitelor.

Autohemotransfuzia sângelui iradiat se utilizează în diferite maladii, în special în cele complicate cu procesele purulente torpide la terapia obișnuită și însoțite de dereglări ale imunității. La acțiunea iradierii ultraviolete, în sânge se dezvoltă o cascadă de reacții fotochimice însoțite de modificarea componenței plasmei și membranei eritrocitelor și leucocitelor. Efectele membranotrope sunt dominante. De regulă, este inhibată oxidarea lipidelor cu activarea sistemului antioxidant. În reacțiile majorate se constată imunopresia, iar în imunodeficiențe – majorarea nivelului de LT și LB, Ig, activității fagocitare și bactericității sangvine. Metoda este recomandată în maladiile torpide, cronice purulente, în procesele autoimune. Nu este recomandată în LES, în fotodermatite și porfirie.

Pentru iradiere, sângele este recoltat din venă în flacoane cu heparină, care se iradiază cu undă de lungime scurtă prin utilizarea lămpilor DRB-8 sau cu unde medii, lungi cu lămpile LE-8 în doză de 648 J/m² sau 388 J/m², respectiv, sângele iradiat se inoculează pacientului i.v.. Optimală este metoda în flux a iradierii ultraviolete. Se efectuează 4-8 ședințe zilnic, peste o zi sau 2-3 zile. Iradierea poate fi combinată cu hemosorbția, plasmafereza și terapia ulterioară cu preparate proteice și plasmă sangvină. Efect similar poate fi obținut și la iradierea sângelui conservat al donatorilor. Este posibilă apariția hipertermiei, trombozelor, fotodermatitei etc.

Iradierea cu laser exercită o influență biostimulatoare, modifică oxidarea peroxidilor, posedă efecte antioxidante și membranostabilizante. De aceste acțiuni este dependentă intensificarea fagocitozei, majorarea nivelului de LT și LB, IFN. Efectul stimulant este dependent într-o măsură mai mare de polaritate decât de coerența iradierii. În terapia imună se utilizează lasere de energie joasă cu zonele spectrale albastră (385-404 nm), verde (540-560 nm) și roșie (560-580 nm, 760 nm). Se constată sensibilitatea individuală la iradierea cu laser. Efectul apare mai frecvent după 2-3 ședințe și mai rar pe parcursul primei aplicări de terapie.

Metoda este indicată în terapia maladiilor inflamatoare purulente pe fundalul imunodeficienței, în maladiile autoimune pentru intensificarea restaurării, regenerarea țesuturilor la imunoreabilitare.

Acupunctura cu laser (laseracupunctura) este o terapie medicală complementară care utilizează atât resursele terapiei laser de energie joasă, cât și pe cele ale tehnicilor acupuncturale, și pe cele ale medicinei de reglaj bioenergetic.

Acțiunea acupuncturii cu laser se realizează prin stimularea (mecanică, termică, electrică, optică etc.) a unor zone cutanate punctiforme răspândite pe suprafața învelișului cutanat. De regulă, cu laserul roșu se iradiază punctele metabolice și emoționale, cu o putere de 4 mW/cm² (Milli-Watts per square centimeter) câte 10-20 sec. pentru fiecare punct. Laserul roșu poate fi utilizat pentru iradierea țesutului limfoid al inelului faringian în tonzilele cronice și în faringite pentru stimularea

regenerării și inhibiția procesului inflamator infecțios. Iradierea cu laser în pneumonii, astm realizată în zona timusului, suprarenalelor etc. (1-2 min.) a condus la reducerea recidivelor maladii, la normalizarea indicilor statusului imun. Lumina laser intensifică proliferarea limfocitelor, sinteza imunoglobulinelor și integral a hematopoiezei și circulației sangvine. Pentru iradierea extracorporală a sângelui se utilizează sistemul incontinuu extracorporal 15-20 min. cu o putere de 20-30 mW/cm³.

Iradierea cu substanțe radioactive și raze Roentgen deja în doze medii sunt agenți puternici imunodepresivi. După terapia locală a tumorilor se observă modificări stabile ale populațiilor și subpopulațiilor limfocitare, cu apariția imunodeficienței secundare, dar la acțiunea dozelor superminimale au fost descrise efecte imunostimulante.

Lumina polarizată are efect modulănt asupra membranei celulare, și în funcție de durata și intensitatea iradierii, poate stimula metabolismul cheratocitelor, majora secreția citokinelor (TNF- α), sinteza Ac de clasa IgM, IgG, IgA.

Imunocorecția cu ultrasunet ca și undele de frecvență superinaltă (SHF – Super High Frequency) posedă efecte imunostimulatoare: intensifică sinteza anticorpilor, fagocitoza, secreția citokinelor, activează LT în cazul indicilor modificați, fără influență asupra celor normali.

Magnetoterapia cu câmp magnetic continuu sau variabil poate fi utilizată ca acțiune imunomodulatoare cu majorarea rezistenței nespecifice a organismului. Efectul este dependent de parametrii acțiunii și de faza răspunsului imun.

Metodele electroforetice ale diferitor imunomodulatoare se utilizează în imunoterapia locală atât cu imunostimulatoare, cât și cu imunosupresoare pentru terapia maladiilor alergice, AR etc.

Procedeele aerosol de administrare se utilizează în terapia maladiilor cronice nespecifice ale pulmonilor cu simptome de imunodeficiență, în astmul bronșic și în alte maladii alergice.

Balneoterapia, speleoterapia, masajul, sauna manifestă acțiune favorabilă asupra statusului imun în perioada dispariției manifestărilor acute ale maladii. Această acțiune nu este imunotropă, dar este mediată de mecanisme neuroendocrine. Practic aceste metode au scop de imunoreabilitare. Metodele psihoneuroimunomodulatoare (psihoterapia, diferite tipuri de training și relaxare) pot fi utilizate în tratarea imunodepresiei indusă de stresuri.

Terapia imunosupresivă nespecifică

Imunoterapia supresivă include diverse remedii (corticosteroizi, antiinflamatoare nesteroidice, citostatice etc.).

Corticosteroizii (prednison, prednisolon, beclometazona, triamcinolon etc.) sunt pe larg utilizați în deprimarea reacțiilor imune în maladiile alergice și auto-

munc, în rejețul de transplant și în alte situații când reacția imună majorată asigură procesul patologic. Glucocorticosteroidii (GC) prin difuzie pătrund în celulă și se leagă cu receptorii fosfoproteici citoplasmatici, care în stare neactivă se găsesc într-un complex cu proteina șocului termic – hps 90. Dimerul receptor-hormon este transportat în nucleu, unde se leagă cu moleculele coactivatoare: activatorul receptorului steroid (SRC-1) și proteina CBR care leagă elementul sensibil al cAMP cu activitate de acetiltransferază. El acetilează histonele, micșorând densitatea cromatinei, și majorează posibilitatea polimerazei ARN în catalizarea sintezei ARN matrice – transcripția genelor, care formează proteine antiinflamatoare:

- inhibitorii factorului nuclear kappa B (NFkB) care activează expresia genelor proinflamatoare;
- lipocortina-1 cu activitate inhibantă a fosfolipazei A și sintezei acidului arahidonic;
- IL-10, care inhibă sinteza citokinelor inflamatoare;
- peptidaza neutră care distruge bradikina și tahikininele.

Concomitent, complexe „hormon-receptor” interacționează cu factorii de transcripție (NFkB, AP-1) care participă la producerea proteinelor inflamatoare (IL-1, -6, -8, -11, -13, -16, -17, TNF- α etc.), sintetazei NO și ciclooxigenazei-2, moleculelor de adeziune. În doze mici (< 10 mg/24 de ore) după 30 min., ei deja influențează prioritar genomul, în doze medii (1 mg/kg/24 ore) suplimentar și receptorii, iar în doze mari (> 1g/24 de ore) suplimentar – membrana celulei.

Efectele imune ale GC sunt multilaterale:

- diminuarea inflamației datorată scăderii producției de mediatori ai inflamației – citokinelor proinflamatoare și altor interleukine (IL-1, IL-6, TNF- α , GM-CSF, IL-3, IL-4, IL-5, IL-8), a prostaglandinelor și leucotrienelor (inhibiția fosfolipazei A2 și ciclooxigenazei de tip 2), a oxidului nitric (NO) prin inhibarea enzimei NOS (sintetaza oxidului nitric);
- efecte antiinflamatoare prin scăderea migrării leucocitelor din sânge în zona inflamatoare, datorită inhibării exprimării moleculelor de adeziune celulare (CAM) și diminuării chemotactismului;
- promovează moartea leucocitelor, mai ales a LT activate și a timocitelor prin apoptoză;
- produc supresia unor funcții ale monocitelor, macrofagelor, ca digestia și prezentarea antigenului, activarea, chemotactismul, activitatea bactericidă, precum și sinteza unor citokine proinflamatoare – IL-1, TNF- α ;
- provoacă redistribuirea limfocitelor circulante (sechestrarea Th1, Th2 și LTc în măduva osoasă și/sau țesuturile limfoide) având ca efect limfopenia care afectează mai ales limfocitele CD4⁺;
- induce supresia unor funcții limfocitare, în special T (LTc, Th) și ale celulelor NK;

- inhibă producerea IL-2, accelerează catabolismul Ig și inhibă metabolismul acidului arahidonic.

Glucocorticosteroidii influențează metabolismul glucidic, lipidic și proteic. Ei induc hiperglicemia, inhibă secreția insulinei, frânează sinteza proteinei în mușchi, intensifică excreția aminoacizilor, stimulează sinteza proteinelor în ficat; dereglează metabolismul mineral, rețin sodiul, apa și stimulează eliminarea calciului și potasiului. De aceea, la utilizarea de lungă durată a GC exogeni, pot apărea un șir de complicații în diferite organe și sisteme.

Rezistența steroidă poate fi primară (mai rar, determinată de scăderea receptorilor GC) și secundară (dependentă de nivelul înalt al citokinelor inflamatoare etc.). În utilizarea GC este important să se realizeze un echilibru între efectele terapeutice benefice antiinflamatoare față de afecțiunea autoimună și cele toxice secundare. Pacienții trebuie monitorizați în privința apariției infecțiilor, deoarece organismul lor fiind imunosupresat nu mai este capabil să realizeze un răspuns imun adecvat la cele mai mici agresiuni microbiene, nu numai exogene, ci și endogene (posibilitatea reactivării unor virusuri latente). Din acest motiv, în general, GC se administrează în asociere cu alte medicamente pentru a se putea menține la minimum dozele și efectele toxice.

Indicații pentru administrarea GC sunt diverse maladii (forme medii-severe și severe) aparente ca rezultat al reacțiilor alergice. Indicații absolute sunt șocul anafilactic, toxicodermiile severe (sindromul Lyell, Stevens-Johnson, statusul astmatic în astmul bronșic) și maladiile autoimune (LES, AR), alotransplantul tisular, unele tumori și complicațiile infecțioase. Indicații relative sunt diverse alergoze (forme medii și severe), manifestările alergiei alimentare, chimice, maladia serică, astmul bronșic recidivant, alveolitele.

După durata de acțiune, GC pot fi clasificate în 3 categorii: de durată scurtă (cortizon, hidrocortizon), de durată medie (prednisolon, metilprednisolon) și de durată lungă (dexametazon, triamcinolon, betametazon). Preparatele cele mai frecvent folosite sunt prednisonul și prednisolonul.

Dozele GC și schemele de administrare sunt diverse și depind de indicații care pot fi împărțite în 3 grupe:

- terapia intensivă cu doze maxime (de ex., șocul anafilactic, statusul astmatic);
- terapia obișnuită, prioritar substituentă în cazul insuficienței GC în organism (majorarea utilizării sau sinteza insuficientă) – se utilizează doze medii;
- terapia continuă de întreținere, când după obținerea efectului clinic se utilizează doze minime individuale.

Căile de administrare a GC sunt diverse: perorale, i.m., i.v., în formă de aerosoli dozați și linimente. Utilizarea locală a acestora micșorează acțiunea totală negativă, scade efectele secundare. Schemele terapeutice și dozele utilizate depind de scopul administrării GC.

Terapia intensivă, de regulă, este de scurtă durată, predestinată pentru jugularea rapidă a procesului cu utilizarea dozelor medii și mari a GC injectabili sau peroral în stările acute alergice și autoimune.

Tratamentele prelungite pot să se înceapă cu doze mari de 1-2 mg/kg /24 de ore în doză unică dimineața, care apoi sunt reduse progresiv până la 0,05-0,3 mg/kg/24 de ore. În caz de necesitate, vor fi suplimentate cu antiinflamatoare nesteroidice în cantități mai mici decât cele uzuale. Prednisonul trebuie administrat cu medicamente de protecție gastrică, deoarece există o incidență majoră a ulcerului gastro-duodenal la pacienții aflați sub corticoterapie. Pentru prevenirea osteoporozei ce se produce în cursul tratamentului, se recomandă utilizarea de anabolizante, săruri de calciu, vitamina D. Instalarea fiziologică a menopauzei în timpul corticoterapiei impune administrarea hormonilor sexuali.

Pentru protecția axului hipofizo-suprarenal se indică administrarea alternativă a prednisolonului, dublul dozei zilnice, la 48 de ore. În același scop se recomandă aplicarea cu intermitență de ACTH, administrat mai ales în perioada de stopare a corticoterapiei.

Citostaticele

Stimularea antigenică conduce la intensificarea metabolismului celulelor limfoide și ele devin sensibile la substanțele inhibante. Remediile antiproliferative care supresează proliferarea celulară, inclusiv a limfocitelor, de regulă, sunt imunosupresive. La ele se referă antimetaboliții (azatioprina, 6-mercaptopurina etc.), citostaticele (ciclofosfamida, clorambucilul etc.), unele antibiotice (actinomicina D etc.). Terapia imunosupresivă necesită controlul statusului imun al pacientului. De regulă, ea se utilizează la ineficacitatea terapiei cu alte remedii, la progresarea rapidă a evoluției maladiei și strict după indicații individuale.

Indicațiile absolute pentru administrarea lor sunt alotransplantul organelor, formele severe ale maladiilor alergice și autoimune. La necesitate terapia cu citostatice se asociază cu glucocorticosteroizii. De altfel, citostaticele se administrează la necesitatea supresiei proceselor imunoproliferative. Ca indicații relative, în special la ineficiența altor remedii, sunt trombocitopenia imună, AR, glomerulonefrita etc.

Antimetaboliții blochează metabolismul având asimilări structurale cu compușii fiziologici activi necesari pentru sinteza ARN și ADN. Printre imunodepresantele acestei grupe sunt antagoniștii purinei și pirimidinei, acidului folic. Antagoniștii purinei, de ex., 6-mercaptopurina, blochează sinteza ARN și ADN, proliferarea celulară.

Azatioprina (Imuran) este un derivat de mercaptopurină. Ea devine activă numai *in vivo*, prin convertirea enzimatică la metaboliții imunosupresori, dintre care cea mai importantă este 6-mercaptopurina. Acționează prin blocarea transformării acidului inozinic în acid adenilic, care este precursorul bazelor purinice (guanina,

hiperxantina), blocând astfel sinteza ADN (faza S a ciclului celular), ceea ce duce la suprimarea proliferării și a funcțiilor celulelor NK, precum și a limfocitelor T (mai ales Th), având ca rezultat reducerea intensivă a inflamației. Astfel, activitatea imunosupresivă se exprimă în inhibiția anticorpogenezii, reacțiilor imune celulare, activității celulelor de sinteză a IL-2 și interferonilor. Prioritar sunt inhibate T-supresoarele, de aceea în unele cazuri răspunsul imun parțial poate fi stimulat. Nu influențează fagocitoza și macrofagele.

În urma degradării azatioprinei, în special în ficat, rezultă și metaboliții (de ex., acidul tiouric) care sunt lipsiți de proprietăți imunosupresoare, însă sunt puternic mielotoxici (leucopenie, anemie). Din acest motiv, este necesară evaluarea atentă a dozelor și monitorizarea clinică de laborator.

Ciclofosfamida este un membru al familiei compușilor de azot muștar. Este un agent alchilant, prin metabolizarea ei *in vivo* în fosforamid muștar, care interferează duplicarea ADN în faza premitotică (faza S), iar prin alterarea ADN duce la moartea celulară. Efectele imunosupresoare se datorează scăderii numărului și funcțiilor limfocitelor B, inclusiv suprimarea producției de anticorpi (hipogamaglobulinemie), scăderea limfocitelor citotoxice (CD8⁺) și Th (CD4⁺ la doze mari). Este utilizată în maladiile autoimune, alergice, alotransplant. Ca complicație a remediei sunt inhibiția hemopoiezei, cistitele hemoragice, enterocolitele, alterarea ficatului etc.

Metotrexatul (amopterina) este un inhibitor al acidului folic (al tetrahidrofolat-reductazei), care blochează sinteza purinelor (scade biosinteza ADN în faza S a ciclului celular) și proteinelor. El suprimă funcțiile LT și LB, sinteza anticorpilor, diminuează chemotactismul PMN și adeziunea acestora (mediată prin β2-integrine). Suprimă sinteza TNF-α, dar intensifică producția de IL-10 cu inhibiția inflamației. Scade nivelul IL-6, IL-2R solubile, induce apoptoza LT activate. Este utilizat în maladiile autoimune, în procesele infecțioase, poliartritele nespecifice, LES etc. Este contraindicat în maladiile ficatului.

Alternativa modernă a medicamentelor citotoxice (mai puțin toxică) este furnizată de ciclosporinele sau macrolidele imunosupresoare de origine fungică, utilizate mai ales în prevenirea rejektului transplantelor și implementate în terapia bolilor autoimune ca o alternativă non-toxică la citostatice: ciclosporina A (CyA), FK 506 (Tacrolimus), Rapamicina (Sirolimus) și ASM 981 sau Pimecrolimus (un derivat de ascomicină). Efectele imune se realizează prin inhibiția răspunsurilor limfocitare, în special și a unora dintre cele granulocitare. Toate microlidele inhibă sinteza și eliberarea IL-2, produsă mai ales de LT activate, precum și a altor citokine, prin inhibiția transcrierii genelor ce le codifică.

Ciclosporina A (Sandimmun) este o peptidă ciclică obținută din miceliile fungilor *Cylindocarpum licidum* și *Trichoderma polysporum*. Posedă acțiune antifungică, antiinflamatoare, antimalarică și puternic imunosupresivă. Inhibă răspunsul

imun primar și mai puțin cel secundar la Ag timodependenți, în special dacă este inoculată până la pătrunderea Ag. Suprimă etapele precoce de activare a celulelor T CD4⁺, sinteza IL-2, IFN- γ , TNF- α de către Th1 și IL-1 de către macrofage. În concentrații terapeutice inhibă eliminarea histaminei din bazofilele umane, lactoferinei din neutrofile. La pătrunderea în celulă se leagă de receptorii citoplasmatici ai citofilinelor A,B, C, D cu formarea unui complex care aderă la calcineurină (fosfataza B) și îi blochează activitatea enzimatică.

Mai eficace este în alotransplantul organelor, deoarece preîntâmpină criza de rejecție a transplantelor. Se utilizează și în maladiile autoimune (LES, AR, uveite, psoriazis, în diabetul insulino-dependent, sindromul Sjögren, sclerodermie etc.) peros în doza de 2-5 mg/kg/24 de ore până la îmbunătățirea stării bolnavului.

Principalul efect secundar este toxicitatea renală (leziuni tubulare proximale, ale arteriolelor până la necroză fibrinoidă), dar mai pot surveni hipertensiunea arterială, sindromul hemolítico-uremic, hipertrichoza, hipertrofia gingivală, acroparestezii, epilepsie (în special la copii), hepatita cronică colestatică, posibilitatea apariției de limfoame. Doar unele dintre acestea pot regresa la sistarea tratamentului sau la reducerea dozei.

Clorbutina are afinitate la IgM și se utilizează în terapia limfocemiei și limfoamelor maligne în doze de 0,05-0,2 mg/24 de ore pe parcursul a câteva luni.

FK 506 (Tacrolimus) este o macrolidă de origine fungică (*Streptomyces tsukubaensis*) și are acțiune analoagă, dar mai puternică de 10-100 ori decât cea a ciclosporinei A, iar toxicitatea renală este mai redusă. Analogul lui structural este rapamicina. Mecanismul de acțiune este inhibiția activității LT. Preparatul pătrunde în citoplasma LT și se leagă de o imunofilină intracitoplasmatică FKBP-12 (FK binding protein), diferită de ciclofilină, dar modul de acțiune al complexului FK 506-FKBP-12 este asemănător cu cel al CyA-citofilinei. Odată format, acesta blochează activitatea calcineurinei și apoi transcrierea genelor unor interleukine.

Același mecanism se realizează și în cazul derivatului de ascomicină denumit Pimecrolimus sau încă ASM 981.

Rapamicina (Sirolimus) este o macrolidă provenită dintr-o specie de fungi *Streptomyces hygroscopicum*, structural similară cu FK 506, dar care are efecte imunosupresive diferite. Ea nu inhibă sinteza de IL-2, ci proliferarea celulară, expansiunea clonală indusă de IL-2 și IL-4. Posedă efecte secundare.

Antiinflamatoarele nesteroidiene (NSAID) blochează enzima ciclooxigenaza, deprimând sinteza de prostaglandine, prostaciline, leucotriene și tromboxani; inhibă generarea anionului superoxid, eliberarea enzimelor lizozomale, exprimarea unor molecule de adeziune celulară (ELAM-1, ICAM-1, β 2-integrine), inhibă funcțiile limfocitelor, producerea factorului reumatoid și degradarea cartilajului în poliartrita reumatoidă (PAR sau AR), având acțiune analgezică, antipiretică și antiinflamatoare. Acțiune antiinflamatoare și imunosupresivă moderată posedă preparatele diferitor grupe: salicilate (acidul acetilsalicilic, salicilatul de sodiu, salici-

lamida), acidul antronil (acidul mefenamic și flufenamic), derivații pirazonului (amidopirină, metindol), acidului propionic (ibuprofenul, naproxenul, ketoprofenul, suprofenul), acidului indolacetic (indometacinul, metindolul etc.), acidului fenilacetic (voltaren, ortofen etc.), derivații chinolinici (delaghil, rezohin, placvenil, clorcolin, cvinacrin). Salicilatele inhibă anticorpogeneza, chemotactismul leucocitelor, proliferarea limfocitelor, agregarea trombocitelor. Ca și alte remedii enumerate într-o măsură mai mare, influențează sinteza mediatorilor hipersensibilității de tip imediat și procesele de cooperare celulară ale LT și LB, migrația și funcția neutrofilelor, inhibă enzimele lizozomale, activarea complementului. Mai active în acest aspect sunt indometacinul și acidul mefenamic, care suplimentar frânează diferențierea celulelor stem polipotente. Sunt utilizate în terapia maladiilor autoimune și alergice. Remediile pot induce gastrite, ulcerul gastric, anemie, alergii etc.

Remediile aminochinoline, antimalarice (delaghil, placvenil, hingamin, rezohin, clorochin) inhibă activitatea enzimelor, mediatorilor alergiei și inflamației, stabilizează lizozomii, inhibă metabolismul acizilor nucleici, induc apoptoza limfocitelor. Influența asupra celulelor imunocompetente este mai puternică, comparativ cu alte remedii antiinflamatoare, dar mai slabă decât la citostatice. Sunt utilizate mai frecvent în maladiile autoimune (AR, LES etc.). Pot apărea dispepsii, erupții, dermatite, alopecie etc.

Lefunomida este un derivat al izoxalolului, în sânge se transformă în malononitrilamidă care inhibă dehidroorotatdehidrogenaza necesară sintezei uridinmonofosfatului care participă în activarea LT. Se utilizează în doză de 20 mg/24 ore în AR și în alte maladii autoimune în combinație cu metotrexatul.

Mycophenolate mofetil (sinonime – *MMF, CelCept, Myfortic*) se transformă în organism în acid mucofenolic, care inhibă sinteza GMP, GTP și a nucleotidelor guanine. Suprează proliferarea LT și LB, sinteza anticorpilor, moleculelor adezive. Se administrează în nefritele LES, în AR, vasculite, slerodermie etc.

Thymodepressin este o peptidă care conține 2 aminoacizi dextrogiri (triptofan și acidul glutamic). Reduce numărul limfocitelor, activarea lor, fazele precoce de limfopoieză. Este indicat pacienților cu toate tipurile de citopenie autoimună: anemia autoimună hemolitică, purpura trombocitopenică idiopatică. Doza diurnă constituie 10-30 μg/kg masă corporală. Remediu se administrează s.c. sau i.m. câte 1-3 ml soluție 0,1% zilnic pe parcursul a 5-7 zile, cu întrerupere între cure de 7-14 zile. În cazurile severe, durata curei poate fi majorată până la 8-10 zile, cu întrerupere de 5 zile.

Alte antiinflamatoare

Sărurile de aur sunt lizozomotrope, efectele lor fiind similare celor ale antimalaricelor: inhibă prelucrarea și prezentarea Ag de către APC, în special de către macrofage. Eficiența în terapia bolilor autoimune, în special în AR, se datorează și altor efecte imunodepresoare și metabolice. Ele au efect terapeutic

mai ales atunci când sunt administrate la debutul bolii, ameliorarea observându-se după circa 2 luni de tratament. Remisiunile pot dura însă câțiva ani după întreruperea tratamentului. Efecte adverse sunt greața, voma, diareea.

D-penicilamina este un stereoizomer al dimetilcisteinei, distruge complexe imune, suprasează sinteza IgM, inclusiv cea a factorului reumatoid. Se utilizează în terapia AR, a sclerodermiei, hepatitei cronice progresive, în fibroza pulmonară. Au fost aduse date despre efectul acesteia în boala Wilson (întrucât chelatează cuprul) și cistinurie. Se presupune că prin asocierea cu cuprul sunt îndepărtați radicalii liberi de oxigen, generați de fagocite la nivelul zonei inflamatoare, în mod similar cu superoxid dismutaza. Posibil că complexul D-penicilamina+cuprul are și alte efecte imune: diminuarea prezentării Ag de către APC, inhibarea funcțiilor limfocitare T (cu excepția Th2), inhibarea mieloperoxidazei din PMN, deci producerea de radicali liberi ai oxigenului. Posedă efecte secundare – nefrite, eczemă etc.

Actinomicina D, prin legarea cu ADN, frânează multiplicarea celulară. Este înalt toxică. Se utilizează pentru supresia crizelor de rejetare a grefei, parenteral în doze de 0,01-0,02 mg/kg.

Vincristinul și mai puțin *vinblastinul* se utilizează în terapia maladiilor autoimune, a unor alergoze, a alotransplantului – 0,1 mg/kg (vincristin) și 1-11,4 mg/m² (vinblastin) i.v. o dată pe săptămână sau câte 800 mg/24 de ore în AR. Posedă neurotoxicitate, induce parestezii, ataxie etc.

L-asparaginaza, prin distrucția asparaginei inhibă proliferarea celulară. Efectul este mai semnificativ în imunitatea celulară, comparativ cu sinteza de Ac. Se utilizează în alotransplant și în maladiile autoimune câte 100-1000 U/kg/24 de ore. Este posibilă alterarea ficatului, sistemului nervos central, rinichilor și pancreasului.

Pentru unele *remedii terapeutice* au fost constatate proprietăți imunodepresive necunoscute anterior în stările patologice ale organismului. De ex., substanțele psihotrope (tranchilizantele) acționează imunosupresiv. Barbituratele inhibă celulele B cu stabilirea insuficienței selective a IgA. Vitamina D₂ în doze de 100-200 U/24 de ore utilizată pe parcursul a 10 zile inhibă funcțiile LT. Heparina inhibă unele reacții imune. Dimedrolul și alte blocante H1 inhibă sinteza Ac. Biseptolul și rifampicina, de asemenea, inhibă sinteza Ac. Tetraciclina și amfotericina B scad hipersensibilitatea de tip întârziat, iar gentamicina, tobramicina, ampicina și amfotericina B inhibă chemotaxisul fagocitelor. Diferențierea limfocitelor se dereglează sub influența biseptolului, tetraciclinei, cloramfenicolului. Îngrășămintele minerale, în special nitrații, insecticidele, pesticidele, erbicidele posedă proprietăți citostatice și imunosupresive. Ținta pentru cele enumerate posibil că este veriga reglatorie a limfocitelor în răspunsul imun. Din acest motiv în imunoterapie trebuie de luat în considerare efectul imunosupresiv posibil și ținta preparatelor administrate.

Anticorpii imunosupresori

Serul și imunoglobulina antilimfocitară distrug limfocitele și induc limfocitopenia. Acestea se obțin prin imunizarea animalelor (cailor etc.) cu limfocite umane. Interacționează atât cu LT, cât și cu LB. Utilizarea imunoglobulinei antitimocitare, care reacționează numai cu celulele T, micșorează frecvența reacțiilor secundare. Pentru standardizare și aprecierea activității se testează limfotoxinele (titrul >1:512), gradul de inhibiție (titrul 1 : 6000) sau supresia proliferării limfocitelor (titrul > 1 : 1000). Se administrează i.m. sau i.v. lent în doze de 5-10 mg/kg sau 10-20 mg/kg. Administrarea repetată a imunoglobulinelor xenogene poate conduce la apariția reacțiilor anafilactice, boala serului, dar ele, comparativ cu citostaticele, mai puțin inhibă hemopoieza, acționează selectiv. De regulă, se utilizează în alo-transplantul organelor și în maladiile autoimune și limfoproliferative.

Limfoglobulina este o globulină de cal antitimocitară, ce posedă activitate imunosupresivă din contul inhibiției LT. Se utilizează pentru prevenirea și tratamentul reacțiilor de rejecție la transplantul renal, al cordului, pancreasului și ficatului, pentru terapia anemiei aplastice; se propune pentru tratamentul sindromului „grefă antirecipient”. Contraindicațiile sunt alergiile la proteina de cal, maladiile virale acute. Preparatul se administrează i.v. cu utilizarea prealabilă a remediilor antihistaminice (cu o oră până la infuzie), diluat în sol. fiziologică în combinație cu steroizi.

Profilaxia reacțiilor de rejet ale transplantului: o fiolă de 5 ml (100 mg)/10 kg masă corporală/24 de ore pe parcursul a 1-3 săptămâni; în anemia aplastică: 1-2 fiole/10 kg masă corporală/24 de ore pe parcursul a 5 zile.

Timoglobulina este o imunoglobulină antitimocitară (25 mg/fiolă), posedă activitate imunosupresivă din contul epuizării funcției LT. Este indicată în transplantul organelor pentru prevenirea și terapia reacțiilor de rejet (transplantul rinichilor, cordului, pancreasului, ficatului); terapia anemiei aplastice. Este propusă pentru tratamentul sindromului „transplant anti-organismul-gazdă”. Contraindicație: alergiile la proteina de iepure, maladiile virale acute.

Terapia cu anticorpi monoclonali

Biotehnologia de anticorpi monoclonali (AcMo) de origine murină cu specificitate față de antigenii de membrană specifici LT, inclusiv a subpopulației Th (CD4⁺), a creat premise pentru un tratament imunologic mai țintit, care nu distruge nediferențiat toate celulele proliferative ca citotoxicele, ci numai limfocitele T, principalele celule implicate în reacția autoimună. Utilizarea unor anticorpi de origine total murină s-a dovedit însă limitată, activitatea terapeutică a acestora fiind slabă din mai multe motive:

- administrarea repetată din cauza duratei scurte de înjumătățire (T_{1/2});
- Ac sunt imunogeni având proprietăți de non-propriu, induc sinteza de Ac neutralizanți anti-anticorpii de șoarece (HAMA-Human anti-mouse antibo-

dies), care le anulează efectele terapice prin facilitarea eliminării acestora. În plus, la injectările ulterioare apar reacții alergice, de obicei moderate (eritem, urticarie, febră, vomă), mai rar șoc anafilactic și/sau afecțiuni prin complexe imune formate de HAMA;

- au efecte minime la nivelul efectorilor, deoarece regiunea Fc, responsabilă de proprietățile biologice ale anticorpilor și de fixarea pe celulele efectoare, este diferită de cea umană.

Din aceste motive, s-au creat prin inginerie genetică anticorpi monoclonali hibridi, în care o parte de Ac murin este substituită cu una umană. Pentru specificitate se păstrează situsul de legare de la anticorpul murin (regiunea Fab), iar restul moleculei provine de la o imunoglobulină umană (cuprinzând regiunea funcțională, care se leagă de receptorii membranei și activează complementul, domeniile constante care conțin zonele antigenice (de specie și aloantigenii).

Anticorpii himerici sunt formați din regiunea Fab (25%), care furnizează specificitatea de origine murină, iar regiunea Fc (75%), responsabilă de efectele biologice active, specificitatea de origine umană. Deoarece regiunea Fc este cea mai imunogenă, înlocuirea ei cu una umană scade mult inducerea unei reacții imune față de acești anticorpi.

Anticorpii „umanizați” reprezintă o etapă superioară, deoarece doar zona de fixare a antigenului de anticorp (CDR – regiunea ce determină complementaritatea) este de origine murină, tot restul moleculei fiind de origine umană.

Anticorpii monoclonali anti-limfocitele T sunt derivate ale preparatelor anti-limfocitare. AcMo pan-T acționează asupra tuturor limfocitelor T. Depleția pan-T poate să crească însă riscul infecțiilor și al tumorilor și din acest motiv este preferabilă țintirea unor subpopulații de LT prin care să se prevină aceste efecte secundare.

AcMo anti-CD3 (muromonab CD3) se administrează i.v. ca majoritatea anticorpilor monoclonali, în doze variabile (circa 5 mg/zi) timp de aproximativ 2 săptămâni. Au efecte imunosupresoare puternice prin distrugerea dependentă de complement a LT și din acest motiv au fost utilizați în special pentru prevenirea rejecției transplantelor. Deoarece în prima fază (respectiv primele zile) anticorpii activează LT ducând la eliberarea de citokine proinflamatoare (IFN- γ , TNF- α), apar fenomene secundare reductabile (febră, frisoane, diaree, tulburări respiratorii, sindrom de fugă capilară (leak syndrom) cu edem pulmonar și/sau cerebral. O situație similară apare și în urma tratamentelor cu AcMo față de alt marker pan-T, CD2 prezent pe LT, timocite și o parte din celulele NK.

AcMo anti-CD52 posedă specificitate față de Ag CD52 exprimat pe 95% dintre limfocite și monocite. Acești Ac determină apariția unei limfopenii foarte marcate și prelungite, deoarece sunt eficienți în activarea lizei dependentă de complement. Posedă efecte secundare (febră, frisoane, greață).

AcMo anti-CD5. Antigenul CD5 este exprimat pe 70-80% din LT și pe un subgrup de LB (5-30% din LB circulante), subgrup adesea crescut în afecțiunile autoimune. În tratament a fost utilizată o imunotoxină, adică o moleculă formată dintr-un Ac anti-CD5 la care a fost atașată o toxină, mai frecvent lanțul A al ricinei. Prin legarea anticorpului de Ag membranei CD5 și pătrunderea lui apoi în celulă prin endocitoză este pusă în libertate toxina care omoară celulă respectivă.

AcMo anti-CD7. Antigenul CD7 este exprimat de majoritatea LT (80%), dar și de celulele NK, și de unele LB. Anticorpii anti-CD7 produc o depleție marcată a LT și au unele rezultate favorabile în AR, probabil datorită predominării celulelor CD7 în sinoviala afectată.

AcMo anti-CD4. Tratamentul cu AcMo murini, dar în special, cei complet umanizați, s-a dovedit eficient în prevenirea rejektului greftelor și în diferite boli autoimune (LES, diabet, AR, scleroza multiplă etc.).

AcMo anti-molecule de adeziune. Moleculele de adeziune celulară (CAM) întăresc legătura dintre celulele prezentatoare de antigen (celule dendritice, macrofage, LB) și limfocitul T, cu receptori specifici, pentru antigenul respectiv, având, totodată, și rolul de costimulare în unele cazuri. Utilizarea acestor Ac conduce la scăderea severității bolii acute și celei inflamatoare cronice.

CD 54 reprezintă molecula de adeziune ICAM-1 de pe suprafața celulară, care face parte din superfamilia imunoglobulinelor. Utilizarea terapeutică a AcMo anti-CD54 produce ameliorarea clinică a pacienților, cu toate că nu influențează creșterea numărului limfocitelor circulante și a celor activate (cu receptori pentru IL-2), ceea ce sugerează că anti-ICAM blochează pătrunderea LT din sânge în zona inflamatoare. Ameliorarea apare rapid și se menține 15-60 de zile.

Imunoterapia care vizează citokinele

În multe maladii autoimune, rolul patogen îl joacă subpopulația Th1 activată, care, la rândul ei, activează macrofagele, producând și menținând un răspuns inflamator local prin citokinele existente în micromediul lor înconjurător. Prezența în mediu a IFN- γ sau TNF face să se încline balanța Th1/Th2 spre Th1 și invers, IL-4, IL-10 sau TGF stimulează diferențierea LT spre Th2.

În imunoterapia de tip reglator pe baza citokinelor sunt utilizate mai multe modalități având ca scop principal scăderea producerii în exces de citokine proinflamatoare.

Se pot utiliza alte tipuri de citokine având efecte opuse, anticorpi monoclonali anti-citokine proinflamatoare sau inhibitori de citokine proinflamatoare.

Anumite interleukine, ca IL-4, IL-10, TGF- β denumite și citokine de tip 2, deoarece sunt produse de LT-helper de tip 2 (Th2), sunt inhibitori endogeni ai răspunsului imun inflamator, putând fi, deci, utilizați ca agenți terapeutici.

IL-4 inhibă multe funcții ale monocitelor, macrofagelor, precum: producerea altor citokine proinflamatoare și a radicalilor liberi de oxigen, exprimarea antigenilor HLA-DR, proliferarea sinovocitelor și experimental s-a demonstrat că are un rol reglator al balanței dintre citokinele de tip 1 și de tip 2 (balanța dintre Th1 și Th2). Dezavantajul administrării de *IL-4* îl constituie activarea puternică a răspunsului limfocitelor Th2 care ajută LB să producă anticorpi, inclusiv autoanticorpi.

IL-10 posedă efecte antiinflamatoare puternice. Ea inhibă producerea de citokine de către LT-helper, precum și proliferarea Th1, diminuează puternic funcțiile macrofagelor, inclusiv activarea lor și producerea de citokine proinflamatoare, stimulează proliferarea și diferențierea LB activate și producerea unui antagonist al receptorului pentru *IL-1* (*IL-1Ra*).

TGF-β inhibă puternic activarea LB și LT. La nivelul țesutului conjunctiv se opune efectelor catabolice ale *IL-1* și facilitează formarea matricei extracelulare. Dezavantajele ei sunt că la doze mari ar putea să apară fibroza și că are o activitate puternică de factor chemotactic pentru monocite și macrofage.

IL-1Ra leagă receptorul pentru *IL-1* (*IL-1R*), dar fără să-l activeze, în acest mod funcția lui este de antagonist natural al *IL-1*. La tratamentul AR a fost administrată *IL-1Ra* recombinantă, având ca rezultat o îmbunătățire clinică a unor parametri, deși mulți pacienți au dezvoltat reacții locale la locul injectării. *IL-1* participă în patogeneza acestei maladii prin stimularea sinovocitelor și creșterea răspunsului imun sinovial. El face parte dintr-o rețea de citokine, fiind implicat în perpetuarea inflamației.

Anticorpii anti-TNF-α blochează acest mediator atât sub formă solubilă, cât și sub formă legată de membranele celulare, împiedicând astfel interacțiunea acestui factor cu receptorii săi. Progresele recente realizate în domeniul inhibării TNF sunt cele mai notabile, în special în terapia AR și în afecțiunile inflamatoare intestinale (maladia Crohn). Anticorpus hibrid chimeric, *Infliximab*, este format din fragmentul Fab (25%) de origine murină (Ac monoclonal) și Fc (75%) de origine umană (IgG1). Prin blocarea interacțiunii TNF-α cu receptorii săi, anticorpus neutralizează o gamă largă de efecte biologice ale TNF-α: reduce mult inflamația prin diminuarea componentelor inflamatoare (liza celulelor secretante de TNF-α prin intermediul complementului și/sau al celulelor citotoxice) și reduce producția locală de citokine proinflamatoare. Tratamentul este bine tolerat, obținându-se ameliorări semnificative la o săptămână după perfuzia i.v. cu *Infliximab*. Complicații: urticarie, infecții etc.

Alternativa o constituie preparatul *Etanercept*, care este o proteină de fuziune între receptorul de TNF (TNF-RII) și fragmentul Fc al IgG (TNF-RII/IgG Fc) cu efecte similare.

Anticorpii care leagă diferite substanțe. Pot fi obținuți anticorpi față de diferite substanțe biologice active – remedii medicamentoase, hormoni etc. în scopul neutralizării lor și eliminării ulterioare din organism.

Fragmentele Fab ale Ac sunt utilizate pentru terapia intoxicației cu glucozide. Pacienților cu supradozare sau otrăvire cu digoxină li se administrează i.v. fragmentele Fab ale anticorpilor (100 mg în 600 ml sol. fiziologică), anti-digoxină ce conduce la reducerea intoxicației și la înlăturarea fibrilației atriale, rezistentă la alte remedii.

Anticorpii monoclonali anti-IgE se folosesc pentru deprimarea reacțiilor alergice în astmul bronșic.

Astfel, progresele recente realizate în imunologie au condus la apariția perspectivelor noi de intervenție imună în transplantare și bolile autoimune (tab. 19.1).

Tabelul 19.1

Tendințe noi în terapia imunosupresoare

Inhibitori ai celulelor T:

- Macrolide (Ciclosporina A, FK 506, Pimecrolimus (SDZASM 981), Rapamicina (Sirolimus)
- Anticorpi anti-CD2 (Siplizumab – MED 1507)
- Anticorpi anti-CD3 (OKT3, HuM 291)
- Anticorpi anti-CD4 (BB14)
- Anticorpi anti-CD7
- Anticorpi anti-CD25 (Basiliximab, Dalizumab)
- Mycophenolate Mofetil (CellCept)

Acțiune asupra funcției celulelor prezentatoare de antigen:

- CTLA-4 (BMS 188667)
- Anticorpi anti-CD80 (IDEC 114)
- Calcitrioli (Rocaltrol)
- Esteri ai acidului furamic (Fumaderm)

Inhibitori ai celulelor B

- Anticorpi anti-CD5

Inhibitori de adeziune

- Anticorpi anti-CD11 (Efalizumab)
- Anticorpi anti-CD6 (ior-t1)
- Inhibitori ai VAP-1 (*Vascular adhesion protein*)
- Inhibitori nonapeptidici ai $\alpha_v\beta_3$

Antagoniști ai HLA de clasa II

- Anticorpi anti-HLA-DRB1
- Anticorpi anti-MHC (γ -globulina de origine placentară)

Inhibitori ai citokinelor proinflamatoare /acțiunii mediatorilor

- Anticorpi anti-IL-8 (ABX-IL8)
- Anticorpi anti-IL-6 (umanizați)
- Anticorpi anti-TNF- α (Infliximab, Remicade)
- Receptori solubili ai TNF- α (Enbrel TNF RII IgG)
- Autovaccinarea față de TNF- α
- Antagonist al receptorului pentru LTB4 (VLM 295)
- Anticorpi anti-IFN- γ
- Inhibitori ai căii de semnalizare ce conduc la producerea și secreția citokinelor proinflamatoare (JNKs (Jun N-terminal kinazele) și MAPKs (p 38 mitogen-activate kinazele))

Administrarea de citokine anti-inflamatoare

- IL-4
- IL-10
- IL-11Ra, IL-1Ra

În concluzie, menționăm că răspunsul imun poate fi modulată (stimulat sau inhibat) în funcție de forma maladivă, patogenia și evoluția ei, starea statusului imun, sensibilitatea la diferite remedii imunotrope etc.

Imunoterapia restaurativă pune accent pe modalitățile de readucere la normal a capacității imunologice a bolnavilor prin utilizarea agenților imunorestoratori naturali și sintetici (transplant de măduvă osoasă și/sau prin factori de stimulare a coloniilor – CSF). Tot în acest context, tratamentul restaurativ include plasmoforeza, inhibitori ai producerii de prostaglandine etc.

LEXIC

Absorbție	Manoperă prin care se elimină dintr-un ser anumiți anticorpi utilizând proprietatea lor de a se fixa pe antigenii solubili sau insolubili, adăugați la serul respectiv
Abzime	Imunoglobuline cu activitate fermentativă în maladiile autoimune
Activarea macrofagelor	Creșterea funcției macrofagelor sub acțiunea mediatorilor produși de LT sensibilizate în prezența antigenului (de exemplu, IFN- γ)
Activator policlonal	Substanță care activează unele funcții limfocitare independent de specificitatea lor pentru antigeni. Exemple: fitohemaglutinina (PHA) și concanavalina A (ConA) sunt activatori policlonali ai LT, iar lipopolizaharidele (LPS) bacteriene sunt activatori policlonali ai LB
ADCC (<i>Antibody-dependent cell mediated cytotoxicity</i>)	Citotoxicitate mediată celular dependentă de anticorpi – reprezintă o reacție citotoxică realizată de către celulele care au pe membrana lor receptori pentru fragmentul constat Fc al Ig (Fc γ R) și care recunosc celula-țintă prin intermediul anticorpilor specifici (de ex., citotoxicitatea realizată de celulele NK, macrofage)
Aderență intercelulară	Legătură fizică între membranele a două celule, realizată prin intermediul moleculelor de adeziune (homofile sau heterofile, homotipice sau heterotipice)
Adezie	Aderare, mecanism principal de interacțiune a celulelor sistemului imun cu ajutorul moleculelor specializate (adezine, integrine, selectine)
Adjuvant	Substanță care mărește imunogenitatea antigenului atunci când este administrată împreună cu acesta
Adsorbție	Fixarea (lipirea) unor molecule sau particule, aflate în soluție, pe suporturi solide. De regulă, se folosesc hematii sau bile de plastic
Afinitate	Forța de legare realizată între două molecule diferite, ca, de exemplu, între antigen și anticorp
Agamaglobulinemie	Absența gamaglobulinelor din serul sangvin și țesuturi
Aglutinare	Reacție între un antigen particular și un anticorp care determină formarea de agregate vizibile (de exemplu, agregarea hematiilor sau a enterobacteriilor în prezența anticorpilor specifici)
Aglutinină	Anticorp a cărui combinare cu antigenul corespunzător de pe suprafața unor celule provoacă aglutinarea acestora (bacterioaglutinină, hemaglutinină etc.)
Alelă	Variante ale unui locus genetic în interiorul speciei
Alergen	Denumire dată substanțelor străine organismului, care sunt capabili să producă o reacție de hipersensibilitate (alergică)
Alergie	Reacție patologică exagerată la un antigen
Aloanticorp	Anticorp care recunoaște ca antigeni proteinele altor indivizi, care aparțin aceleiași specii
Aloantigen	Antigenul care induce sinteza aloanticorpilor. Proteinele unui individ sunt recunoscute ca antigeni de către limfocitele altui individ din cadrul aceleiași specii

Alogen	Diferență antigenică între proteinele a doi indivizi, aparținând aceleiași specii, determinată de o variație genetică
Alotip	Determinanți antigenici situați pe moleculele de imunoglobuline, caracteristici unor indivizi din cadrul aceleiași specii. Este o variație de structură a proteinei (în special, imunoglobulina), codificată de o alelă
Amine vasoactive	Substanțe eliberate de către mastocite, bazofile sau trombocite (histamina, serotonina), care acționează asupra endoteliului și mușchilor netezi ai vaselor
Anafilatoxină	Peptidele mici ale complementului (C3a și C5a) produse în cursul activării acestuia, care induc chemotactismul celulelor fagocitare spre locul inflamației
Anergie	<i>In vitro</i> reprezintă incapacitatea celulei B sau T de a exprima o activitate funcțională după un semnal activator specific; <i>in vivo</i> se consideră incapacitatea unui individ de a dezvolta o reacție de hipersensibilitate întârziată față de unul sau mai mulți antigeni
Angajată	Celulă stimulată, în curs de exprimare a funcției efectoare
Anticorp	Moleculă de imunoglobulină cu funcție de recunoaștere specifică a antigenului
Anticorp antiidiotip	Anticorp față de idiotipul unui alt anticorp (antigeni caracteristici regiunii V a unui anticorp). Un idiotip este format dintr-o serie de idiotipi
Anticorp citofil	Anticorp care se leagă la suprafața celulelor prin fragmentul constant Fc și nu prin situsurile combinative de la extremitatea NH ₂ terminale a lanțurilor polipeptidice
Anticorp facilitant	Anticorp care favorizează difuziunea unui agent infecțios în organism și nu-l neutralizează, cum este normal
Anticorpi monoclonali	Anticorpi produși de o singură clonă de limfocite B. Moleculele de anticorpi care rezultă sunt identice sub toate aspectele: afinitate, specificitate de fixare, izotipie, alotipie, idiotipie. Uzual sunt produse de hibridoame, celule hibride formatoare de anticorpi realizate prin fuziunea celulelor de mielom cu celule splenice imune (izolate de la un animal imunizat)
Anticorpi naturali	Anticorpi care sunt sintetizați în absența (aparentă) a unui stimul antigenic extern
Antigen	Molecule care induc producerea de anticorpi sau proliferarea clonală a limfocitelor. Sunt recunoscuți de către receptorii specifici de pe membrana limfocitelor
Antigeni de histocompatibilitate	Molecule de membrană, comune tuturor celulelor nucleate din același organism
Antigeni timo-dependenți	Molecule față de care se induce producerea de anticorpi numai prin cooperarea dintre LT și LB
Antigeni timo-independenți	Structuri moleculare față de care sinteza de anticorpi nu necesită intervenția LT, fiind suficientă doar stimularea LB
Apoptoză	Moartea programată a celulei, în care celula își activează un program intern de moarte, caracterizată morfologic prin degradarea și fragmentarea ADN-ului nuclear

Atopie	Răspuns anormal, alergic, la un stimul antigenic normal cu existența unei concentrații mari de IgE în ser
Autoantigen	Molecule potențial antigenice pentru propriul organism care, în mod normal, sunt „tolerate”. În cazul ruperii „toleranței”, induc răspuns imun însoțit de manifestări patologice
Autocrin	Acțiunea unei substanțe asupra însăși celulei care a sintetizat-o
Autoimunitate	Imunitate aparentă în rezultatul imunizării unui subiect față de componentele proprii devenite autoantigene
Autolog	Component care aparține propriului organism
Autosomi	Cromozomii care nu sunt cromozomi sexuali (X și Y)
Aviditate	Forța de legare dintre un anticorp și un antigen, dată de valențele anticorpilor și antigenilor. Cu cât anticorpurul are mai multe situsuri combinate, deci mai multe valențe, cu atât leagă mai „avid” antigenul (cum este cazul IgM)
Axenic (<i>Axenos</i> – lipsit de străini)	Animal lipsit de germeni patogeni și nepatogeni. Uzual, sunt denumiți și <i>germ-free</i>
B (celule sau limfocite)	Celule limfoide producătoare de anticorpi, după transformarea lor în plasmocite. Aceste celule se diferențiază în bursa lui Fabricius – la păsări și în măduva osoasă – la mamifere
B7.1 și B7.2 (Sinonim al moleculei B7)	Molecule costimulatoare principale pentru limfocitul T, membrii străns înrudiți ai superfamiliei genelor imunoglobulinelor. Ele sunt exprimate diferit de către diverse celule prezentatoare de antigen
Balama (regiunea)	Domeniul flexibil care asamblează brațele Fab de Fc
Bazofil	Leucocit polimorfonuclear cu granule conținând glicoproteine acide, care se evidențiază cu coloranți bazici, rezultând culoare albastră. Se consideră că au o funcție similară mastocitelor
BCR (<i>B Cell Receptor</i>)	Receptorul pentru antigen al limfocitului B
Beta 2-microglobulina	Poliptid de aproximativ 12 kDa, găsit în asocieri cu antigenii MHC de clasa I pe suprafața celulelor nucleate
Blast	Celulă cu nucleu mare, cu nucleoli evidenți, citoplasmă redusă, raportul nucleu/citoplasmă în favoarea nucleului. Este un stadiu al procesului proliferativ celular, declanșat de un stimul antigenic sau mitogenic care duce la divizarea celulei
Blastogeneză	Proces în cursul căruia are loc formarea blaștilor („transformarea blastică”), celulele stimulate suferind modificări morfologice care preced diviziunea lor
Booster	Rapel (reinocularea Ag în obținerea unui răspuns secundar mai intensiv)
Bystander cell	Celulă spectatoare (care nu participă la răspunsul imun)
Calea alternativă de activare a complementului (C)	Activarea complementului pornește prin stimularea directă a C3 în formarea C3b, fără activarea factorilor C1, C4 și C2
Calea clasică de activare a complementului (C)	Activarea complementului este indusă de complexe antigen-anticorp (clasa IgG și IgM); implică toate complementele C

Cap	Bonetă. Moleculile sau complexe moleculare de pe suprafața membranei celulare, în cursul redistribuirii polare se aglomerează la un pol al celulei formând o „glugă” care este apoi endocitată
Capping	Termen englez pentru procesul de „redistribuire polară”, respectiv pentru formarea de „glugă” sau „bonetă”
Captare	Înglobarea selectivă în celulă a unor molecule străine
Carrier	Grupare purtătoare din componența antigenului care poartă epitopii
Cașectină	Factorul de necroză a tumorilor
CD (<i>Cluster of Differentiation</i>) sau „clasele de diferențiere”	Termenul definește moleculele de pe suprafața celulelor sistemului imun, care caracterizează etapele lor de diferențiere și de activare funcțională (vezi Anexa 1)
CDR (<i>Complementarity Determining Regions</i>) sau „regiuni de determinare a complementarității”	Sunt zone hipervariabile de la nivelul regiunii variabile a moleculelor de anticorp sau a receptorilor pentru antigen de pe limfocitul T, care formează locul de legare (paratopul) a determinantului antigenic (epitopul)
Celulă ajutătoare	Sinonim: celule helper sau auxiliare. Subpopulație de limfocite T, care ajută dezvoltarea celulelor citotoxice sau proliferarea și diferențierea celulelor B. Aceste celule recunosc antigenul prezentat de către celulele antigen-prezentatoare în asociere cu moleculele de clasa II a MHC
Celulă angajată	Celulă stimulată, care se angajează pe o linie de diferențiere, în vederea efectuării unei funcții
Celulă citolitică	Celulă care poate liza altă celulă, după ce a recunoscut-o specific. Sinonim cu citotoxic
Celulă citotoxică	Sinonim cu celula citolitică
Celulă competentă	Capabilă să recunoască specific și să neutralizeze antigenul
Celulă cu memorie	Limfocit T și B, care a venit în contact cu antigenul și care exprimă receptori de suprafață pentru epitopii acestuia. La un nou contact, va reacționa prompt și eficient
Celule dendritice (DC – <i>Dendritic Cells</i>)	Grup de celule prezentatoare de antigen, prezente în ariile limfocitare T ale țesuturilor limfatice (ganglioni limfatici, splină, țesuturi limfatice și în număr mic în sânge), care sunt cele mai eficiente în prezentarea antigenului și stimularea răspunsurilor limfocitelor T. Ele provin din măduva osoasă și se deosebesc de celulele dendritice foliculare
Celule dendritice foliculare	Celule care prezintă antigenul limfocitelor B, au origine neprecizată și receptori Fc prin care leagă complexe antigen-anticorp pe care nu le internalizează, ci le prezintă pe suprafața membranei limfocitelor B
Celulă educată	Celulă imunocompetentă, care a venit în contact cu antigenul
Celulă incompetentă	Celulă tânără, care nu are încă exprimați receptori pentru antigen și, ca atare, nu-i poate recunoaște și nu poate dezvolta reacții imune
Celulă K (<i>Killer Cell</i>)	Limfocit capabil să distrugă ținta prin mecanisme de citotoxicitate mediată celular anticorp-dependentă. Au pe suprafața lor receptori pentru Fc ai Ig. Sinonim: celule T citotoxice

Celulă L	Limfocit „labil” care fixează labil pe suprafața sa molecule IgG. La temperatura de 37 °C și la pH acid, moleculele atașate se desprind de celulă
Celulă NK (<i>Natural Killer</i>)	sau „natural ucigașă”. Este un limfocit, care are capacitatea de a recunoaște selectiv și de a distruge unele celule tumorale sau infectate, fără recunoașterea specifică a antigenilor de suprafață și a moleculelor codificate de MHC
Celulă precursoră	Celulă tânără, angajată pe o linie de maturare, din care va deriva o celulă efectoră a unei funcții imune
Celulă prezentatoare de antigen (APC)	Celulă susceptibilă de a prezenta antigenul limfocitelor T în asociere cu moleculele codificate de MHC
Celulă sensibilizată	Celulă imună (limfocite) care a fost expusă la un antigen specific
Celulă T sau limfocit T	Populație limfocitară caracterizată prin dezvoltarea ei în timus și prin receptori heterodimerici (α)
Celulele Kupffer	Fagocite fixe, aliniată pe sinusoidale hepatice. Ele înlătură detritusurile celulare din sânge.
Celulele Langerhans	Celule dendritice fagocitare din epiderm, care exprimă pe suprafață un număr mare de molecule MHC. Ele pot prelua antigenul pe care îl transportă spre ganglionii limfatici regionali, unde se diferențiază în celule dendritice
Celulă-țintă	Celula modificată din punctul de vedere al structurilor de suprafață (celulă tumorală sau infectată viral), recunoscută de celulele efectoră citotoxice, specifice sau selectiv
Celulă „virgină” sau naivă	Celulă care și-a câpătat competența imunologică, dar care încă nu a avut ocazia să-și exercite funcțiile, deoarece nu a întâlnit antigenul
Chemokine	Citokine mici implicate în migrarea și activarea unor celule, mai ales fagocite și limfocite
Chemotactism	Mișcare direcționată a unei celule sub influența unor agenți chemotactici
Ciclul celular	Ansamblu de procese care conduc la diviziunea celulară, ale căror principale etape sunt G_0 ; G_1 ; S; G_2 și M. Replicarea semiconservativă a ADN-ului survine în cursul fazei S (sinteză), celula divizându-se în faza de mitoză M
C-INH (C1-INH; C3-INH)	Proteine care inhibă componente ale complementului activat (C1, C3 activat)
Citofilie	Proprietatea de a se atașa la celule (IgG pentru macrofage, IgE pentru mastocite)
Citokine	Termen general prin care se denumesc moleculele solubile, care permit comunicarea între celule și activarea acestora spre un proces proliferativ sau spre exprimarea unei funcții
Citostatic	Factor care inhibă multiplicarea celulei, blocându-i procesele metabolice, fără să o ucidă
Citotoxic	Factor care ucide celula
Citotoxicitate mediată celulară	Liza celulei-țintă direct prin intermediul unor celule efectoră cu rol citotoxic

Citotoxicitate mediată de complement	Efect citolitic al unor fracțiuni active ale complementului (vezi MAC), apărute în urma fixării specifice, prin Fab a anticorpilor pe suprafața celulei ce conține antigenul
Clathrin	Moleculă care câpтуșește membrana celulei fagocitare, cu rol în internalizarea corpusculilor străini
Clonă	Familie cu celule identice genetic, care derivă dintr-o singură celulă. În cazul limfocitelor, toate celulele aceleiași clone au receptori cu același situs de recunoaștere a antigenului, denumit uneori și „receptor clonotipic”
Committed	Celulă angajată (pe o direcție de maturare)
Compatibilitate	Celule care exprimă aceleași molecule din clasele I sau II ale MHC
Competiție antigenică	Situație în care un antigen este stânjenit în activitatea sa stimulantă de către alt antigen
Complement (C)	Grup de proteine serice implicate în inflamație, activarea celulelor fagocitare și liza membranelor celulare
Complex imun (CI)	Produsul reacției antigen-anticorp; conține adesea complement
Complexul de atac de membrană (CAM sau MAC)	Asamblarea componentelor terminale ale C activat, C5b-C9 care se inseră în membrana celulară provocând liza celulei
Complexul major de histocompatibilitate (MHC) (<i>Major Histocompatibility Complex</i>)	Ansamblu multigenic multialelic de gene care codifică moleculele glicoproteice de membrană (moleculele MHC) ce prezintă peptidele antigenice limfocitelor T (MHC de clasa I și II), MHC de clasa III codifică molecule solubile
Comutare izotopică	Proces prin care un limfocit B își poate asocia produsul genelor C ale lanțurilor H de imunoglobulină la produsul genelor V, producând un anticorp cu aceeași specificitate, dar aparținând altei clase de imunoglobulină
Congenic	Sinonim: coizogenic; indivizi cu genotipuri identice care diferă între ele doar printr-un singur marker genetic, produs al unei gene
Conjugat	Legarea a două molecule prin diverse mijloace
Consangvin	Populație de animale, în care toți indivizii sunt identici între ei din punct de vedere genetic. Se obțin prin consangvinizare, procedeu de reproducere, care constă din împerecherea frate x soră timp de mai multe generații
CR1, CR2, CR3	Receptori pentru fragmentele lui C3
Crioglobuline	Imunoglobuline, cu proprietatea de a precipita la rece, și care se redizolvă la 37°C. În general, IgG joacă rol de antigen, iar IgM este anticorp anti-IgG
Cross-reaction	Reacție încrucișată. Un anticorp poate recunoaște doi antigeni diferiți, care au comun unul sau mai mulți epitopi
Cultură mixtă limfocitară	Transformare limfoblastică și proliferarea limfocitelor indusă prin cultivarea împreună (cocultivare) a populațiilor limfocitare care diferă la nivelul MHC
Degranulare	Exocitoza granulelor la exteriorul celulei (procedeu prin care mastocitele și granulocitele bazofile elimină aminele vasoactive)

Delecție clonală	Moartea prin apoptoză a LT sau LB, de obicei prin interacțiunea cu antigenul atunci când sunt imature (de ex., selecția negativă a LT în timus)
Depleție	Eliminarea unor celule din o populație celulară sau din organism
Depresie	Diminuarea unei funcții imune
Derepresie	Anularea unui efect inhibitor sau represor urmată de revenirea la starea de exprimare a unei funcții
Determinant antigenic	Porțiunea din molecula de antigen recunoscută specific de către receptorii de pe limfocitele B sau limfocitele T. Sinonim: epitop
Domeniu	Regiunea unei peptide, care are o structură primară, secundară și terțiară organizată. Organizarea în domenii caracterizează polipeptidele produse de genele „superfamiliei imunoglobulinelor”
Echivalență	Situație în care raportul dintre cantitatea de antigen și de anticorp asigură precipitarea maximă
Ecotaxie	Înseamnă „plecarea către casă” a limfocitelor din circulația periferică, care, odată ajunse în organele limfoide secundare, cantonează în zone specifice populațiilor din care fac parte (arii dependente). Sinonim: <i>homing</i>
Efector	Celulă imunocompetentă care efectuează o anumită funcție imună (citotoxică, de sinteză etc.)
Electroforeză	Mișcarea moleculelor realizată într-un câmp electric
ELISA (<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>)	Termen format din inițialele celor patru cuvinte care înseamnă „dozare imunoenzimatică”, utilizată pentru detecția antigenului sau anticorpilor pe baza folosirii unor liganzi cuplați cu o enzimă
ELISPOT	Tehnică adaptată a ELISA în care celulele sunt plasate pe un strat de antigen sau anticorpi, atașați de un suport solid, care fixează doar produsele secretate de celule. Vizualizarea acestora se realizează apoi cu anticorpi cuplați cu enzime
Endocitoză	Proces de captare și înglobare în interiorul celulei (internalizare) a unor molecule sau particule
Endogen	Care are origine internă, care aparține interiorului unei celule, țesut, organism
Epitop	Sinonim: cu „determinant antigenic” sau „grupare determinantă”
Excludere alelică	Exprimarea fenotipică a unei singure alele dominante care inhibă exprimarea alelei recesive. Cu alte cuvinte, exprimarea unui caracter în dauna altuia care este inhibat
Exocitoză	Eliminarea în exterior a unor molecule formate în interiorul celulei
Exogen	Component care provine dintr-un organism sau dintr-o substanță străină de organism
Exon	Segment de genă, care codifică o proteină
Fab (<i>Fragment Antigen Binding</i>)	Adică partea moleculei de imunoglobulină, care leagă antigenul. Fragmentul este format din extremitățile NH ₂ ale lanțurilor grele (H) și ușoare (L), care conține situsul de combinare cu antigenul
Facilitare	Prelungirea duratei de supraviețuire a grefei de către anticorpii care recunosc antigenii grefonului

Factor reumatoid	Autoanticorp din clasa IgG, IgM, IgA, care reacționează cu fragmentul Fc al IgG autologe, prezent în serul și în lichidul articular al bolnavilor cu artrită reumatoidă
Factori de stimulare a coloniilor (CSF) (<i>Colony Stimulating Factors</i>)	Grup de citokine care controlează diferențierea coloniilor hematopoietice
Factorul B, D, H, I	Componente ale căii alternative de activare a complementului
Factorul de activare plachetară (PAF) (<i>Platelet Activating Factor</i>)	Mediator fosfolipidic al inflamației care produce agregarea trombocitelor și eliberarea de mediatori ce cresc permeabilitatea vasculară și contractă musculatura netedă. Este eliberat de bazofile
Fagocit	Celulă care fagocitează
Fagocitoză	Proces prin care se realizează internalizarea și degradarea particulelor internalizate de către celula fagocitară
Fagolizozomi	Organite celulare, care rezultă din fuziunea lizozomilor cu un fagozom
Fc	Fragment cristalizabil al moleculei de Ig, format din extremitatea COOH terminală a lanțurilor grele, responsabile de fixarea la receptor (FcR) de pe membrana celulară și de activare a C pe cale clasică
FcR	Receptor pentru Fc, receptor prezent pe membrana unor celule, de care se leagă anticorpii prin intermediul fragmentului Fc
Feedback	„Conexiune inversă” sau „controlul reacției prin produs final”. Se spune, de exemplu, inhibiție „feedback” despre inhibiția anticorpilor, deja produși, asupra sintezei altora care ar fi urmat a fi produși de plasmocit
Fenotip	Caracteristici determinate genetic și exprimate fenotipic (adică somatic, care se „văd”)
Flagelină	Proteină existentă în flagelii germenilor Gram-negativi. Există ca forme monomere, dar, în special, ca polimeri cu greutatea moleculară mare (100 000 kDa) care sunt antigeni timo-independenți
Fosfataze	Enzime responsabile de defosforilarea proteinelor
Fragmentine (granzime)	Esteraze din granulele celulelor citotoxice (limfocitele T-citotoxice și celulele natural ucigașe). Când pătrund în citosolul altor celule, induc apoptoza prin fragmentarea ADN-ului
GALT (<i>GUT-Associated Lymphoid Tissue</i>)	Țesut limfatic asociat tubului digestiv
Genele imunoglobulinelor	Gene care codifică sinteza imunoglobulinelor, porțiunea variabilă a acestora rezultând din recombinarea genelor/segmentelor de gene V (de variabilitate), D (diversitate) și J (juncțiune). Porțiunea constantă este codificată de genele C (constante)
Genotip	Constituție genetică a unui individ, moștenită de la ambii părinți. Genomul nu este necesar să fie exprimat complet la acest individ
Germ-free	Organism lipsit de germeni patogeni sau nepatogeni (sinonim: axenic). Termenul se referă la animalele crescute în incubatoare speciale, după ce au fost extrase prin cezariană și care sunt lipsite de floră microbiană

GlyCAM-1	Moleculă mucin-like prezentă pe venulele cu endoteliu înalt din țesuturile limfatice. Ligand pentru L-selectină
Gm	Determinant alotipic pe lanțurile grele ale IgG umane
Gnotobiotic	Animale care sunt infectate deliberat cu unul sau mai multe specii microbiene precis cunoscute (<i>gnotos</i> = cunoscut; <i>bios</i> = viață). Înainte de a fi făcute gnotobiotice, animalele trebuie să fie germ-free
Granzime	Vezi fragmentine
Grupare determinantă	Vezi epitop
Grupare purtătoare	Molecula sau partea de moleculă, care este recunoscută de către limfocitele T în procesul de cooperare T-B instalat prin stimul antigenic (în engleză: <i>carrier</i>)
Haplotip	Totalitatea genelor existente pe un cromozom
Haptenă	Moleculă de antigen, care poate reacționa cu anticorpii, dar care nu poate induce sinteza lui decât atunci când este cuplată cu o moleculă sau cu o grupare purtătoare. Sunt „haptene complete”, care dau precipitate vizibile <i>in vitro</i> cu anticorpii și „haptene incomplete”, care dau reacții invizibile cu anticorpii. Sinonim: epitop sau grupare determinantă
Hemaglutinine	Orice substanță care produce aglutinarea hematiilor: anticorpi de grupă sangvină (față de antigenii AB0), unele virusuri (gripal) etc.
Hemocitoblast	Celulă mare, tânără din măduva osoasă
Hemoliză în gel	Tehnică prin care se pune în evidență existența unor plasmocite, care secretă anticorpi (<i>in vitro</i>)
Heterolog	Termen care semnifică diferențe antigenice interspecie
Hibridom	Linie celulară creată <i>in vitro</i> prin fuzionarea unor celule tumorale și a unor limfocite sensibilizate la antigeni. Hibridoamele sunt folosite la obținerea anticorpilor monoclonali cu specificitate definită, care sunt secretați indefinit de către hibridoame
Himeră	Situație în care, în organismul aceluiași individ, coexistă celule aparținând la doi indivizi diferiți genetic
Hiperimunizare	Imunizare prelungită, cu administrarea repetată a antigenului în scopul obținerii de anticorpi cu titru ridicat
Hipersensibilitate	Răspuns imun exagerat la un stimul antigenic, în cursul căruia se pot instala leziuni tisulare
Hipersensibilitate de contact	Hipersensibilitate întârziată provocată prin contactul pielii cu diverși antigeni sau haptene
Hipersensibilitate de tip imediat	Reacție imunitară datorată anticorpilor IgE (anticorpi citofilici) legați de mastocite și bazofile cu eliberare de histamină și alte substanțe vasoactive, după administrarea antigenului sensibilizant
Hipersensibilitate întârziată de tip tuberculinic	Hipersensibilitate cu substrat celular, manifestă la 48-72 de ore sub forma de indurație și edem, transmisibilă prin LT
Histocompatibilitate	Capacitatea de a accepta grea
HLA (<i>Human Leukocyte Antigens</i>)	Antigenii Leucocitari Umani (complexul de histocompatibilitate major la om)
Homing	Termen sinonim cu „ecotaxie”

Homogrefă	Grefă, provenită de la un donator, care face parte din aceeași specie cu recipientul, dar care este diferită sub raportul antigenilor de histocompatibilitate
Homolog	Diferențe genetice la nivelul antigenilor de histocompatibilitate, existente între indivizii aceleiași specii. Termenul este sinonim cu „alogen”
Humoral	Sistem alcătuit din molecule, deci din soluții (umori). În imunologie termenul se referă la răspunsul imun umoral efectuat de către moleculele de imunoglobuline cu funcție de anticorp
ICAM (<i>Intercellular adhesion molecules</i>)	Molecule care realizează adeziunea dintre celule
Idiotip	Ansamblu de caracteristici antigenice ale regiunii variabile a unei imunoglobuline sau a unui receptor pentru antigen al limfocitului T
Idiotop	Determinant antigenic al regiunii variabile V a imunoglobulinelor sau a receptorului pentru antigen al limfocitului T, caracteristic unei clone celulare, în relație cu paratopul
IFN (interferon)	Citokine care induc rezistența celulelor la infecții virale. Cele 3 tipuri de interferon sunt produse de leucocite (IFN- α), fibroblaștii (INF- β), iar IFN- γ de limfocitele CD4 Th1, CD8 și de celulele NK – acțiunea principală a ultimului fiind activarea macrofagelor
Imunitate	Stare de nereceptivitate dobândită în urma contactului cu un antigen
Imunitate mediată celular	Răspuns imun efectuat de către celule și care poate fi transferat prin celule
Imunitate umorală	Imunitate efectuată prin molecule de anticorp
Imunoaderență	Aglutinarea simultană a celulelor îmbrăcate în C3 și a celulelor purtătoare de receptori pentru C3 (RC3)
Imunocit	Celulă imunocompetentă
Imunocitoaderență	Aderența unui antigen la suprafața unei celule imune (prin TCR sau BCR) sau a macrofagului (prin receptori Fc ori C3)
Imunocompetent	Competent imunologic
Imunodeficit	Situație în care răspunsul imun nu se poate realiza la parametrii normali din cauza unor deficiente la nivelul sistemului imun
Imunofluorescență	Tehnică de evidențiere a antigenilor dintr-un țesut sau de pe celule cu ajutorul anticorpilor cuplați cu o substanță fluorescentă (fluorocrom)
Imunogen	Substanță antigenică, care poate declanșa cinctic un răspuns imun
Imunogenicitate	Capacitatea unui antigen de a produce răspuns imun
Imunoglobuline (Ig)	Termen generic desemnând ansamblul de globuline serice, împărțite în cinci clase: IgM, IgG, IgA, IgD, IgE
Imunomodulare	Procedeu prin care se activează sau se reglează nespecific funcțiile componentelor celulare și umorale ale sistemului imun
Inactivare	Distrugea unei proprietăți biologice prin diferite procedee fizice sau chimice. Sunt inactivate bacteriile sau toxinele, care urmează a fi utilizate ca vaccinuri, este inactivat complementul prin tratare termică etc.
Inbred (animale)	Animale de linie pură care posedă gene și antigeni identici

Incompatibilitate	Neacceptarea de către sistemul imun al unui individ a țesuturilor altui individ, diferit la nivelul antigenilor de histocompatibilitate
Inhibiție	Blocarea exprimării unei funcții sau caracter
Integrine	Familie de molecule cu rol în adeziunea celulară
Interleukine (IL)	Sinonim cu citokine. Produse de leucocite, care acționează asupra altor leucocite.
Intradermoreacție (IDR)	Metodă utilizată prin inocularea intradermică a tuberculinei (PPD) extrasă din <i>M. tuberculosis</i>
Intron	Segment genic situat între doi exoni, care nu codifică
Izoanticorp	Anticorp secretat față de un antigen provenit de la un alt individ al aceleiași specii. Sinonim: aloanticorp
Izoelectrofoculare	Procedeu de separare a moleculelor pe baza încărcăturii lor electrice. Fiecare moleculă migrează la un pH izoelectric, unde nu sunt nici sarcini electrice pozitive, nici sarcini negative
Izogenic	Termen mai vechi pentru desemnarea unui individ cu aceeași constituție genetică. Sinonim: izolog, singen
Izogrefă	Transplantarea unui grefon la un recipient, preluat de la un donator care aparține aceleiași specii și care este identic sub raportul antigenilor MHC. Izogrefa este posibilă numai la gemenii univitelini și la animalele consangvine (<i>inbred</i>). Sinonim: singenic
Izolog	Identitate genetică între doi indivizi diferiți care aparțin aceleiași specii (gemeni univitelini sau animale <i>inbred</i>)
Izotip	Variație genetică în interiorul unei familii de proteine, în cadrul aceleiași specii. Fiecare membru al speciei posedă în genomul său orice izotip al familiei de proteine (de exemplu, clase de imunoglobuline)
Kinaze	Enzime care fosforilează proteinele
Lanț J	Lanț de unire, care leagă monomerii moleculelor în dimeri (IgA) sau pentameri (IgM)
<i>Large Granular Cell (LGL)</i>	Limfocit mare, caracterizat morfologic prin prezența de granule. Majoritatea celulelor efectoare ale unei citotoxicități naturale (NK) sau anticorp-dependentă (ADCC) sunt LGL
Lectină	Proteină, de regulă, de origine vegetală, care se leagă la moleculele glucidice existente la nivelul membranei celulare. După legare, poate stimula multiplicarea celulei sau aglutinarea, având activitate mitotică sau aglutinantă
Leucotriene	Metaboliți ai acidului arahidonic cu importante efecte farmacologice: chimiotactism, vasodilatare, bronhoconstricții
LFA (<i>Lymphocyte Function Associate</i>)	Molecule „asociate funcțiilor limfocitelor” cu rol în adeziunea și transmiterea semnalelor dintre diferite celule
Ligand	Moleculă care se leagă la un receptor de pe o celulă
Limfoblast	Limfocit transformat blastic

Limfocite naive	Limfocite mature care nu au întâlnit antigenul lor specific și astfel nu au răspuns niciodată la el. Toate limfocitele care părăsesc organele limfoide centrale sunt limfocite naive. Acelea care pleacă din timus sunt limfocite naive T, iar cele care provin din măduva osoasă sunt limfocitele naive B
Limfocite nule	Clasă de limfocite care nu exprimă pe suprafața lor nici markerii limfocitului B, nici ai limfocitului T
Limfocite T citotoxice (LTc)	Celule citotoxice cu rol în răspunsul imun celular, acționând asupra celulelor-țintă sub restricție MHC de clasă I
Limfocite T-helper (LTh)	Limfocite care, prin interleukinele eliberate, amplifică răspunsul imun celular (LTh1) sau umoral (LTh2)
Limfocite T-supresoare (LTs)	Limfocite care, prin intermediul factorilor T supresori, inhibă diferite etape ale cooperării celulare, diminuând intensitatea răspunsului imun
Limfokine	Citokine sintetizate de limfocite
Limfotoxină	Limfokină cu efect toxic pentru celule, secretată de limfocitele T activate (TNF- β)
Linie	Termenul definește o colecție de celule cultivate <i>in vitro</i> sau o populație de animale de laborator (în special șoareci), care au anumite caractere genetice transmise și transmisibile la descendenți
Linie germinativă	Material genetic transmis prin gameți, înainte de a suferi modificări datorate mutațiilor sau recombinărilor și rearanjărilor somatice
Linkaj	Situație în care două gene se găsesc în poziție apropiată pe un cromozom comun și care, de regulă, se transmit împreună la urmași
Lipopolizaharidă (LPS)	Produs existent în pereții germenilor Gram-negativi, care acționează ca mitogen pentru limfocitele B și ca activator al complementului (pe cale alternativă)
Lipozom	Fosfolipide organizate într-un dublu strat, sub formă sferică, obținute prin dispersia lipidelor în apă. Sunt utilizate pentru studierea modului de formare a membranei celulare
Locus	Poziția pe cromozom a unei gene
MAC (<i>Membrane Attack Complex</i>)	Complexul de atac membranar C5b-C9, rezultat prin activarea căii comune a cascadei de activare a complementului, care conduce la liza celulei-țintă
Macrofag activat	Macrofag care are intens stimulate funcțiile fagocitare, secretoare, de digestie intracitoplasmatică etc. Activitatea este consecința semnalelor primite de la diferite citokine
Macrofag armat	Macrofag care a fixat citofil moleculele de anticorp. Acestea recunosc prin Fab antigenul, iar prin Fc se fixează la receptorii pentru Fc de pe membrana acestor celule. Astfel „armate”, ele devin mult mai funcționale
Macroglobulină	Globulină serică cu greutate moleculară mare (peste 400 000 Da). Include IgM și α 2-macroglobulina
Macroglobulinemie Waldenström	Proliferarea anarhică a unor clone de limfocite B care devin plasmocite și secretă IgM monomer

Marker	Caracter particular propriu unei populații de celule, prin care aceasta se deosebește de alte populații de celule. Pot fi morfologici, funcționali sau antigenici. Markerii antigenici sunt molecule situate pe suprafața celulelor, care pot fi identificate prin diferite tehnici, dintre care cea mai utilizată este cea care folosește anticorpii monoclonali
Mastocite	Celule care conțin în citoplasma lor numeroase granule bazofile, bogate în mediatori (histamină, heparină, serotonină) a căror eliberare este provocată de diferiți factori, printre care se numără legarea alergenilor de anticorpii citofili IgE, astfel că mastocitele joacă un rol foarte important în declanșarea hipersensibilității de tip imediat (anafilactice și atopice)
Memorie imunologică	Capacitatea celulelor limfoide de a păstra informația despre antigen după primul contact cu acesta (stimul primar). La un nou contact (stimul secundar), celulele reacționează mult mai activ
MHC (<i>Major Histocompatibility Complex</i>)	Complexul major de histocompatibilitate este o regiune genetică, al cărei produși sunt responsabili de rejecția rapidă a grefelor și de transmiterea semnalelor despre antigen între limfocite și alte tipuri de celule ale sistemului imun
Miastenia gravis	Boală autoimună, produsă de autoanticorpii care blochează receptorii acetilcolinici de la nivelul sinapselor neuromusculare. Este însoțită de hiperplazia timică și de disfuncții ale acestui organ
Mielom	Proliferarea neoplazică a limfocitelor B (a plasmocitelor), asociată cu secreția necontrolată a diferitor clase de imunoglobuline. Pot fi mioame monoclonale, caracterizate prin producerea în cantități mari a unor clase sau subclase de IgG, IgA etc., sau policlonale, când sunt secretate mai multe clase de imunoglobuline
MIF (<i>Macrophage Inhibition Factor</i>)	Factorul de inhibiție a migrării macrofagelor, o citokină sintetizată de limfocitele T activate
Mitogen	Substanță care induce proliferarea policlonală a celulelor și, în special, a limfocitelor. Sunt de origine bacteriană (ex. LPS), vegetală (lectine) sau animală (anticorpi antilimfocitari). Sinonim: activatori policlonali
MLR (<i>Mixed Lymphocyte Reaction</i>)	Reacție mixtă limfocitară. Tehnică prin care se poate analiza capacitatea de recunoaștere a celulelor alogene de către limfocitele T. <i>In vitro</i> , în prezența limfocitelor alogene, limfocitele T proliferază (dediferențiere sau transformare blastică), proces ușor de identificat prin determinarea izotopului încorporat în ADN
Modulare antigenică	Înlocuirea temporară a unui determinant antigenic, exprimat pe suprafața celulei, cu un alt determinant. De regulă, „pierderea” antigenului se face prin capping și pinocitoză sau prin „radierea” și eliminarea lui în mediul extern
Monoclonal	Produs derivat dintr-o singură clonă. Anticorpii monoclonali sunt secretați de către o singură clonă de limfocite, fiind caracterizați printr-o specificitate de recunoaștere unică
Monokină	Mediatori solubili (citokine), produși de către monocite și macrofage, cu rol în cooperarea celulară și în alte procese biologice

Mutagen	Factor chimic sau fizic, care poate induce modificări în genomul celulei, imprimându-i proprietăți funcționale noi, de regulă, cu caracter neoplazic
Mutație somatică	Proces care are loc în cursul maturării limfocitelor B pe genele care codifică pentru regiunea variabilă a moleculei de imunoglobulină
NADPH	Nicotinamidadeninucleotidfosfat
Neoplasm	Țesut tumoral
Non-responder	Care nu răspunde. Limfocite care nu reacționează la stimulul antigenic sau mitogenic
Non-self	Non-propriu, material (celulă țesut) străin de organism
N-terminal	Extremitatea lanțului polipeptidic în care aminoacidul are gruparea aminică (NH ₂) liberă
Nu/Nu	Șoareci „nuzi”, atimici congenital. Sunt lipsiți de păr și nu dezvoltă reacții imune mediate celular, deoarece sunt lipsiți de limfocite T
NZB/W	Tulpină de șoareci, care dezvoltă spontan o boală autoimună, asemănătoare cu lupusul eritematos sistemic uman
Oligoclonal	Produs de către puține clone de celule
Omolog	Asemănător
Oncofetal	Caracter comun țesutului embrionar și neoplazic
Oncogenă	Genă responsabilă de multiplicarea celulei și, uneori, de deviația neoplazică a ei
Opsonină	Component seric, de regulă, anticorp sau complement, care se leagă citofil de membrana celulei fagocitare, facilitând procesul de fagocitare
Opsonizare	Proces care facilitează fagocitarea datorită reacției opsoninelor (anticorpi, complement) cu antigenul
PAF (<i>Platelet Activating Factor</i>)	Factorul de activare a trombocitelor. Este eliberat de bazofile, provocând agregarea trombocitelor
Papaină	Endopeptidază (enzimă proteolitică), obținută din planta tropicală <i>Carica papaya</i> , care hidrolizează proteinele
Paracrin	Acțiunea hormonilor asupra altor celule decât cele care le-au secretat (în general învecinate)
Paralizie imunologică	Lipsa răspunsului imun la un stimul antigenic, din cauza blocării mai multor clone de limfocite
Paratop	Partea de moleculă de anticorp de la nivelul situsului combinativ, care vine în contact cu determinantul antigenic (epitop). Aparține regiunii V a Ig sau TCR
Perforină	Polipeptid cu structură asemănătoare componentei C9 a complementului, eliberat de limfocitele citotoxice, care, în prezența Ca ⁺⁺ , se asamblează în structuri tubuliforme și perforază membranele, ducând la liza celulei-țintă
PFC (<i>Plaque Forming Cells</i>)	Celule formatoare de plaje hemolitice <i>in vitro</i>
PHA	Fitohemaglutinina extrasă din <i>Phaseolus vulgaris</i> . Este o lectină mitogenă pentru limfocitele T <i>in vitro</i> și, condiționat de gradul ei de purificare, cu proprietăți leucoaglutinante și hemaglutinante

Phytolacca americana	Plantă din care se extrage o lectină (PWM) mitogenă pentru limfocitele T și B umane
Pinocitoză	Proces prin care sunt captate și transportate în interiorul celulei lichide sau molecule mici
Placă Peyer	Formațiune constând din aglomerări limfoide, situate sub mucoasa intestinului subțire. Se găsesc, în special, la nivelul ileonului și dețin funcțiile organelor limfoide secundare
Plasmaferază	Metodă de separare <i>in vitro</i> a plasmii de celulele sângelui, urmată de reinocularea celulelor și reținerea plasmii. Se aplică în mieloame, cancere pentru îndepărtarea din circulație a excesului de proteine secrete de celulele care proliferază neoplazic etc.
Plasmocit	Limfocit B aflat în ultima fază de diferențiere, când a devenit celulă efectoră, producătoare de anticorpi
Plasmocitom	Tumoră formată din plasmocite, care secretă activ imunoglobuline (proteine mielom)
Policlonal	Produsul mai multor clone de limfocite
Polizaharidă capsulară	Polimer glucidic extras din capsula unor bacterii
Pre-B	În timpul dezvoltării limfocitelor B, ele au la început rearanjate doar genele lanțurilor grele, nu și ale celor ușoare
Premuniție	Protecție specifică realizată de prezența în organism a unui număr mic de agenți patogeni (bacterii, paraziți). Prezența acestora nu permite penetrarea și dezvoltarea altora, cum este cazul în tuberculoză, parazitoze etc.
Prezentator de antigen	Proces prin care unele celule, prezentatoare de antigen sau APC, exprimă antigenul pe suprafața lor, asociat cu moleculele MHC, într-o manieră accesibilă limfocitelor T
Primed	Sensibilizat. Se spune despre o clonă de celule, care are deja informații despre un antigen
Pro-B	Celule care au pe suprafața markerii limfocitelor B, dar nu și-au completat încă rearanjamentul genelor lanțurilor grele
Profil antigenic	Totalitatea antigenilor exprimați pe suprafața unei celule
Properdină	Sau factorul P care activează complementul pe cale alternativă, al cărui rol este stabilizarea C3-convertazei inițiale a acestei căi
Propriu	Relația dintre antigenii țesuturilor unui organism și propriile sale limfocite
Prostaglandine	Metaboliți ai acidului arahidonic biologic activ cu implicații asupra celulelor sistemului imun
Proteinfosfataza	Enzime care îndepărtează o grupare fosfat a unei proteine
Proteinkinaza C (PKC)	Este o serin/treonin kinază care fosforilează proteinele la nivelul serinei/treoninei, e activată de diacilglicerol și calciu, ca rezultat al semnalului primit de la mai multe tipuri de receptori, implicată și în activarea limfocitelor
Proteina A	Proteină existentă în peretele stafilococilor, care reacționează cu fragmentul Fc al moleculelor de IgG, dar nu și cu Fc al IgA sau IgM

Proteina Bence-Jones	Proteină alcătuită din dimeri de lanțuri ușoare L, existentă în urina pacienților cu mielomatoză. Precipită când este încălzită la 60 °C, dar se redizolvă la 90 °C
Proteina C reactivă (PCR)	Proteina sintetizată în ficat sub influența citokinelor. Apare în ser numai în cursul proceselor inflamatoare acute sau în cazul unor necroze. Formează precipitate cu Ca ²⁺ și cu polizaharidele pneumococice
Proteina de fază acută	Sinonim cu proteina C reactivă
Proteinkinaze	Enzime responsabile de fosforilarea proteinelor
Pseudogenă	Genă care are o structură omologă altor gene, dar care nu este exprimată funcțional
Punct izoelectric	Valoare a pH-ului în care numărul grupărilor pozitive (bazice) este egal cu cel al grupărilor negative (acide)
Purtătoare	Partea moleculei de antigen, care este recunoscută de către limfocitele T în procesul de cooperare T-B pentru stimularea limfocitelor B. Sinonim: carrier
PWM (<i>Pokeweed Mitogen</i>)	Lectină extrasă din planta <i>Phytolacca americana</i>
Quenching	Stingere. Oprirea unor procese imune active
Radio-immuno-assay	Termen englez pentru cuvântul „radioimunodozare” (dozare imună cu agenți radioactivi)
Radioimunodozare	Tehnică foarte sensibilă, folosită pentru măsurarea concentrațiilor de antigen sau de anticorp, care include, pe lângă alți reagenți, și izotopi radioactivi
Răspuns anamnestic	Răspuns imun secundar, obținut după contactul cu același antigen (sistemul imun își „amintește” de el)
Răspuns imun	Ansamblul modificărilor la nivelul organelor și celulelor sistemului imun, instalate după un stimul antigenic, care țintesc neutralizarea și eliminarea antigenului
Răspuns imun primar	Răspunsul care se instalează după primul contact al organismului cu un antigen
Răspuns imun secundar	Răspunsul care se instalează după două sau mai multe contacte cu același antigen. Spre deosebire de răspunsul primar, reacțiile imune în acest caz se instalează mai rapid, sunt mai intense, anticorpul aparțin clasei IgG și nu IgM etc.
Reacție antigen-anticorp	Modificarea măsurabilă, rezultată din combinarea paratopului cu epitopul. Se manifestă <i>in vitro</i> cu reacție de precipitare, aglutinare, floculare etc.
Reacție Arthus	Reacție de hipersensibilitate imediată de tipul III, obținută prin inocularea intravenosă a serului imun și intradermică a antigenului. După 2-4 ore, la locul de inoculare a antigenului apare un edem indurat, hemoragie și necroză, declanșate de precipitatul antigen-anticorp. Sinonim: fenomen Arthus

Reacție grefă contra gazdă	Denumită prescurtat și GVH (<i>Graft Versus Host</i>). Se instalează atunci, când un organism incompetent imunologic primește limfocite mature alogene. Acestea se vor multiplica, vor recunoaște ca non-proprii antigenii gazdei și vor reacționa împotriva lor. Animalul scade în greutate, se „pipernicește”, are splina și ficatul mult mărite în volum, prezintă diaree gravă, urmată de moarte. Fenomenul imunologic este același, ca și în cazul rejecției de grefă, cu deosebirea, că în această situație grefa este cea care „rejecțiază” organismul-gazdă
Reagină	Anticorp din clasa IgE, care se fixează pe fragmentul Fc la receptorii Fc ϵ de pe membrana mastocitelor și bazofilelor. Fixarea acestora provoacă eliberarea de amine vasoactive, responsabile de producerea reacțiilor alergice de tipul I
Rearanjare	Proces prin care se modifică poziția genelor într-o linie germinativă, în urma căreia se realizează diversitatea funcțională și antigenică a moleculelor de imunoglobulină, a receptorilor pentru antigen de pe limfocitele T etc.
Receptor	Structură complexă, macromoleculară, exprimată la nivelul celulei, prin care aceasta poate lega specific un ligand, de la care primește diferite mesaje
Receptorii limfocitului T (TCR)	Caracteristica limfocitului T este expresia pe suprafața sa a receptorilor pentru antigen. Fiecare limfocit poartă un receptor de structură unică, generat în timpul dezvoltării limfocitului prin rearanjarea segmentelor de gene ale receptorului. TCR constă din heterodimeri (cuplați prin punte disulfică) ai lanțurilor variabile α și β . Sunt exprimați pe membrana limfocitară ca un complex de lanțuri CD3
Recesiv	Caracter neexprimat fenotipic
Recombinare	Proces care are loc în cursul meiozei, prin care se reorganizează informația genetică. Rearanjările au loc la nivelul ADN cu formarea de gene, care codifică pentru sinteza proteinelor
Reconstituire	Repopularea cu limfocite a unui organism, căruia i s-au distrus, prin iradiere letală, celulele sistemului imun
Redistribuire polară	Regruparea într-un punct de pe membrana celulei a moleculelor existente pe suprafața ei, care, eventual, au fixat un ligand (antigen sau anticorp) pentru internalizarea lor
Rejecție	Eliminarea imună specifică a unor țesuturi sau celule alogene sau xenogene
Represie	Inhibarea exprimării unei funcții sau caracter
Restricție alogenică	Obligativitatea existenței de molecule MHC identice atât la nivelul limfocitelor, cât și la nivelul celulelor antigen-prezentatoare, în cursul prezentării antigenului. Limfocitele T nu pot recunoaște antigenul, dacă acesta este asociat cu molecule MHC alogene
RT-PPC (<i>Revers Transcriptase-Polymerase Chain Reaction</i>)	Metodă utilizată pentru amplificarea unor secvențe de ARN. Enzima revers-transcriptaza convertește ARN în ADN complementar (cADN) care este utilizat la amplificare

Segregare	Distribuirea genelor în gameți
Selecție clonală	Baza fundamentală a activării limfocitelor, prin care antigenul stimulează specific celulele, care exprimă receptori pentru antigen, proces în urma căruia are loc proliferarea și diferențierea limfocitelor
Selecție negativă	În timpul dezvoltării intratimice, timocitele care recunosc constituenții antigenici proprii sunt îndepărtate. Limfocitele B autoreactive suferă un proces similar în măduva osoasă. Este un mecanism al inducerii toleranței imune
Selecție pozitivă	Se referă la dezvoltarea intratimică a limfocitelor T prin care sunt selectate doar cele ale căror receptori recunosc antigenii prezentați de molecule MHC proprii. Restul mor înainte de maturare
Selectine	Familie de molecule de adeziune de membrană exprimate pe leucocite și celule endoteliale care se leagă de porțiunea glucidică a unor glicoproteine specifice
Self	Propriu
Sensibilizare	Căștigarea de către limfocite a capacității de a reacționa specific la antigen, consecutiv contactului cu acesta
Ser	Lichidul din circulația sangvină rămas după eliminarea elementelor figurate ale sângelui și a fibrinei
Seroterapie	Inocularea în scop terapeutic a unui ser imun
Sindrom de imunodeficiență dobândită	Alterarea gravă a funcțiilor imune provocată de distrugerea limfocitelor CD4 infectate cu virusul HIV
Sinergism	Cooperare interacțională
Singenic	Animale identice genetic la nivelul tuturor cromozomilor autosomali.
Situs de combinare	Locul de pe molecula de anticorp, prin care aceasta se combină cu antigenul (situs-loc)
Soareci consagvini	Șoareci omogeni genetic, obținuți prin încrucișarea frate x soră timp de minim 20 de generații (în engleză: inbred)
SpA	Termen prescurtat pentru proteina A stafilococică
Specific	Modalitate strictă de recunoaștere a unui determinant antigenic
Specific patogen free	Animale lipsite de germeni patogeni, care sunt agenți etiologici pentru unele boli infecțioase
Splenomegalie	Creșterea în volum a splinei
Steric	Conformația spațială a unei molecule
Stimul antigenic primar	Primul contact al organismului cu un antigen
Stimul antigenic secundar	Contactul organismului cu un antigen, pe care-l cunoaște din contactele anterioare
Structură primară	Secvența aminoacizilor în lanțul polipeptidic
Structură secundară	Modalitate de aranjare în spațiu a lanțurilor polipeptidice, care, sub influența diferitor forțe de atracție, se pliază, conferind moleculei diferite forme sterice

Superantigeni	Molecule care stimulează o subpopulație de limfocite T prin legarea de molecule MHC de clasa II și domeniul V β al receptorilor LT pentru antigeni și stimulând policlonal ansamblul de LT care exprimă anumite segmente de gene V β , indiferent de specificitatea lor pentru antigenii peptidici. Superantigenii sunt exotoxine bacteriene sau virale, ca și proteinele endogene produse de gene, care stimulează sistemul imun și provoacă reacții distructive
Supraveghere imunologică	Teorie, conform căreia, sistemul imun al organismului controlează în permanență apariția unor celule aberante, în special neoplazice, pe care le elimină
Supresie	Blocarea exprimării unor funcții sau caractere biologice. Supresia alotipică previne sinteza unor molecule de imunoglobulină cu un anumit alotip, cea idiotipică – sinteza unor anticorpi cu anumiți determinanți idiotopici etc.
Switch	Comutare
Șoc anafilactic	Manifestare sistemică, acută, a anafilaxiei, caracterizată prin hipotensiune, bronhoconstricție și tulburări grave respiratorii
TAP-1 și TAP-2	Proteine legate de ATP, implicare în transportul peptidelor rezultate din prelucrarea antigenului. Ajunse în lumenul reticulului endoplasmatic, ele pot să se cupleze cu moleculele MHC de clasa I nou sintetizate, pentru a-și completa structura lor. TAP-1 și TAP-2 sunt necesare pentru propria expresie a moleculelor MHC de clasa I
TCR (<i>T-cel receptor</i>)	Receptorul pentru antigen al LT, care este un heterodimer $\alpha\beta$ sau $\gamma\delta$ cu funcția de recunoaștere a antigenului și de transmitere a semnalului activator prin intermediul complexului molecular CD3
Test de inhibiție	Test serologic, prin care este inhibată posibilitatea de reacție specifică a unui reagent
Test de neutralizare	Detectarea și evaluarea cantitativă a anticorpilor pe baza capacității lor de a neutraliza efectele biologice produse de un antigen
Test de transformare blastică	Realizează evidențierea <i>in vitro</i> a reacției limfocitelor, stimulate cu antigeni sau mitogeni. Evaluarea se face „morfologic” prin numărarea blastilor la microscopul fonic și exprimarea lor procentuală sau cu ajutorul izotopilor radioactivi (de regulă, cu timidină tritiată). Sinonim: test de diferențiere blastică sau „de blastogeneză”
Test Mantoux	Test de intradermoreacție la tuberculină, PPD etc. Bolnavii de tuberculoză sau cei care au avut această boală reacționează pozitiv, formând la locul de inoculare a alergenului un edem congestionat (hipersensibilitate de tip IV)
Timectomie	Extirparea timusului
Timidină tritiată	Simbolul ^3H -Td. Nucleotid pirimidinic, precursor al ADN, marcat cu tritiu (^3H), un izotop al hidrogenului
Timp de înjumătățire	Durata în zile, necesară pentru a reduce la jumătate numărul de molecule (de anticorp, de exemplu) existente într-o populație
Titru	Cantitatea de anticorpi dintr-un ser, exprimată sub formă de raport invers al celei mai mari diluții, la care serul mai reacționează cu antigenul, dând precipitate sau aglutinate vizibile cu ochiul liber

TNF (<i>Tumor Necrosis Factor</i>)	Citokine produse de macrofage și limfocite T cu multiple funcții în răspunsul imun
Toleranță	Stare de areactivitate imunologică specifică față de un antigen administrat în anumite condiții (cale de inoculare, doză, ritm etc.). Toleranța imunologică este manifestată pentru un singur antigen sau pentru un număr de antigeni, se menține atât timp, cât celulele limfoide ale organismului se găsesc în contact cu antigenul și nu afectează reactivitatea imună activă față de alți antigeni
Tolerogen	Preparat molecular sau celular, care poate induce toleranța imunologică
Transfer de celule	Inocularea unei suspensii de celule (de regulă, se folosesc limfocite) recoltate de la un organism altui organism. Recipientul „adoptă” celulele inoculate, din care cauză transferul se mai numește și „transfer adoptiv”
Transgenic	Animalul transgenic se caracterizează prin integrarea de gene exogene (transgene) în genomul lor, în stadiul de dezvoltare embrionară
Turnover	Durata de viață a unei celule, definită ca intervalul dintre două diviziuni mitotice sau dintre o diviziune mitotică și moartea ei, sau durata de viață a unei molecule existentă în ser ori pe membrana celulară
Tesut limfoid	Totalitatea componentelor, care alcătuiesc sistemul imun: organe limfoide primare și secundare, celule limfoide etc.
Ultracentrifugare	Centrifugare la viteză înaltă, cu un număr mare de rotații/minut (peste 100 000)
Ultrafiltrare	Metodă de separare cu ajutorul membranelor, care au pori mici, cu dimensiuni bine determinate, a moleculelor aflate într-un amestec de molecule de diferite mărimi. Prin porii membranei vor trece numai molecule de dimensiuni mici, fiind reținute cele cu dimensiuni mai mari. Prin acest procedeu se pot separa virusurile de bacterii
Umanizarea anticorpilor	Anticorpi monoclonali care conțin secvențe umane. ADN care codifică regiuni hipervariabile ale anticorpilor monoclonali produși de șoareci este inserat în cadrul genelor imunoglobulinelor umane
Uropod	Porțiunea alungită a unei celule, cu ajutorul căreia se fixează de un punct de pe peretele sau suprafața, pe care se deplasează și care, prin contractare, ajută la deplasarea întregii celule
Urticarie	Erupție papuloeritematoasă cutanată, însoțită uneori de prurit al pielii, care apare în hipersensibilitatea de tipul I
Vaccin	Produs biologic cu proprietăți imunizante, care poate conferi protecție față de o boală bacteriană, virală sau parazitară
Vaccinare	Inocularea parenterală sau orală a unui vaccin
Variabilitatea	Reprezintă diferențele în secvența aminoacizilor a diverselor variante ale proteinei respective. Cele mai variabile proteine cunoscute sunt anticorpii și TCR
Variație antigenică	Modificarea expresiei fenotipice a structurii antigenice a unei molecule sau celule. Sinonim: modulație antigenică
VLA (<i>Very Late Antigen</i>)	Molecule din familia integrinelor, cu rol în adeziunea intercelulară. Antigen exprimat foarte târziu

VN	Vitronectină. Molecule cu rol în adeziunea celulară din familia integrinelor
Xenogen	Diferențe antigenice existente între celule și țesuturile unor indivizi, care aparțin la două specii diferite (<i>xenos</i> – străin). Sinonim: heterolog
Xenogrefă	Sinonim cu „heterogrefă” sau cu „grefă heterologă”
Xenotip	Tip antigenic distinct, care deosebește un individ, aparținând unei specii, de altul, care aparține altei specii
Zeta (lanțul)	Lanț polipeptidic, subcomponent al complexului CD3, implicat în transducția semnalului generat de recunoașterea antigenului de către TCR
Zimozan	Polizaharidă insolubilă, izolată din peretele celular al drojdiei de bere <i>Sacharomyces cerevisiae</i> , capabilă să activeze pe cale alternativă complementul
Zimozan opsonizat	Complex format din zimozan și anticorpii IgG antizimozan, utilizat pentru studiul receptorilor Fc de pe macrofage sau granulocite

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Abbas, A. K., Lichtman, A. H. Basic Immunology. Functions and Disorders of the Immune System. 2nd edition. Elsevier, 2004. 323 p. <http://medical-textbooksrevealed.s3.amazonaws.com/files/16659-53.pdf>
2. Andrieș, L., Barba, D., Berezovscaia, E. Diagnosticul maladiilor alergice: actualități și perspective. Recomandări metodice. Chișinău: CEP Medicina, 2010. 34 p.
3. Andrieș, L., Cernetchi, O., Cebotari, S. et al. Izoimunologia în teoria și practica contemporană: compendiu. Chișinău: CEP Medicina, 2007. 179 p.
4. Andrieș, L., Galețchi, P., Niguleanu V. et al. Analiza imunoenzimatică în practica medicală: semnificația diagnostică și interpretarea clinică: compendiu. Chișinău: Știința, 2002. 126 p.
5. Andrieș, L., Olinescu, A. Compendiu de imunologie fundamentală. Chișinău: Știința, 1992. 476 p.
6. Barker, J. M. Clinical review: Type 1 diabetes associated autoimmunity: Natural History, Genetic Associations and Screening. In: The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. 2006, 91(4), 1210-7.
7. Brokaw, A. Immunology: Use Howard Hughes Medical Institute Resources to Teach. Ohio, 2013. 37 p. Disponibil: <http://www.hhmi.org/biointeractive/teacher-guide-immunology>
8. Bruges-Armas, J. Clinical and Molecular Advances in Ankylosing Spondylitis. InTech, 2012. 164 p. Disponibil: <http://www.intechopen.com/books.clinical-and-molecular-advances-in-ankylosing-spondylitis>
9. Chan, J. Autoimmune Diseases Contributing Factors, Specific Cases of Autoimmune Diseases, and Stem Cell and Other Therapies. InTech, 2012. 392 p. Disponibil: <http://www.intechopen.com/books/autoimmune-diseases-contributing-factors-specific-cases-of-autoimmune-diseases-and-stem-cell-and-other-therapies>
10. Cristea, V., Crișan, M. Curs de imunologie pentru studenții facultății de medicină. Cluj-Napoca, 2011. 255 p.
11. Dumbrava, V. T., Lupașcu, Iu., Berliba, E. et al. Bazele hepatologiei: compendiu pentru studenți și rezidenți. Chișinău, 2010. V. II, 415 p.
12. Fang-Ping, H. Autoimmune Disorders Current Concepts and Advances from Bedside to Mechanistic Insights. In Tech, 2011. 614 p. Disponibil: <http://www.intechopen.com/books/autoimmune-disorders-current-concepts-and-advances-from-bedside-to-mechanistic-insights>
13. Hay, F. C., Westwood, Olwyn, M. R. Practical immunology. Oxford: Blackwell Publishing Company Editorial, 2002. 400 p.
14. Hunt, R. C., Hunt, D. M. Microbiology and Immunology. Disponibil: <http://www.microbiologybook.org/book/immunol-sta.htm>
15. Matcovschi C., Procopișin V., Parii B. Ghid farmacoterapeutic. Chișinău: Î.S. F.E.-P. „Tipografia Centrală”. 2006, 1424 p.
16. Mihăescu, G. Imunologie și imunochimie. București: Editura Universității din București, 2003. 456 p.

17. Matcovschi C., Safta V. Ghid farmacoterapeutic (medicamente omologate în Republica Moldova) Ch.: „Vector V-N” SRL, 2010 (F.E.-P. ”Tipogr. Centrală”). 1296 p.
18. Mac Pherson, G., Austyn, J. Exploring Immunology: Concepts and Evidence. WILEY-VCH, 2012. 45 p. Disponibil: http://www.beck-shop.de/fachbuch/leseprobe/9783527324125_Excerpt_001.pdf
19. Mavragani, Clio P. Autoimmune Disorders Pathogenetic Aspects. In: Tech, 2011. 508 p. Disponibil: <http://www.intechopen.com/books/autoimmune-disorders-pathogenetic-aspects>
20. Olinescu, A., Andrieș, L. Tehnici imunologice: manual. Chișinău: Știința, 1994. 318 p.
21. Pawankar, R., Canonica, Giorgio W., Holgate, Stephen T., et.al. WAO White Book on Allergy 2011-2012: Executive Summary. World Allergy Organization (WAO), 2011. 24 p. Disponibil: www.worldallergy.org/publications/wao_white_book.pdf
22. Perețianu, D., Saragea, M. Imunologia în teoria și practica medicinei: în 2 vol. București: A.L.L., Vol. 1, 1996. 1106 p. Vol. 2, 1998. 682 p.
23. Pereira, Celso Allergic Diseases – Highlights in the Clinic, Mechanisms and Treatment. In: Tech, 2012. 554 p. Disponibil : <http://www.intechopen.com/books/allergic-diseases-highlights-in-the-clinic-mechanisms-and-treatment>
24. Roitt, I., Brostoff, J., Male, D. Immunology. London: Elsevier Science Ltd, 2001. 480 p.
25. Sakkas, Lazaros I., Katsiari, C. Updates in the diagnosis and treatment of vasculitis. In: Tech, 2013. 274 p. Disponibil: <http://www.intechopen.com/books/updates-in-the-diagnosis-and-treatment-of-vasculitis>
26. Spickett, G. Oxford handbook of clinical immunology and allergy. Oxford: Oxford University Press, 2006. 535 p.
27. Stanilova, S. A. Genes and autoimmunity intracellular signaling and microbiome contribution. In: Tech, 2013. 267 p. Disponibil : <http://www.intechopen.com/books/genes-and-autoimmunity-intracellular-signaling-and-microbiome-contribution>
28. Șuțeanu Șt., Macovei L. Diagnosticul precoce al spondilitei anchilozante. În: Practica Medicală. 2006, 1(1-2), 28-34.
29. Technical manual (16 th edition) (John D.Roback, Marta Combs, Brenda J.Crosman, Christofer Hillyer et al.) AABB, 2008, 1039 p. Technical manual American Association of blood Banks, 12-th edition.-Marylend, 2000.1055 p.
30. Wagner, D. Type 1 Diabetes: pathogenesis, genetics and immunotherapy. In Tech, 2011. 660 p. Disponibil: <http://www.intechopen.com/books/type-1-diabetes-pathogenesis-genetics-and-immunotherapy>
31. Аллергология и иммунология: Национальное руководство / под ред. Р. М. Хаитова, Н. И. Ильиной. М.: ГОЭТАР-Медиа, 2009. 659 с.
32. Бурместер, Г. Р., Пецутто, А. Наглядная иммунология. М.: Бином, 2007. 320 с.

33. Володин, Н. Н., Дегтярева, М. В., Димитрюк, С. А. и др., Справочник по иммунотерапии для практического врача. СПб.: Диалог, 2002. 479 с.
34. Дранник, Г. Н. Клиническая иммунология и аллергология. М.: Мед. информ. агентство, 2003. 540 с.
35. Иммунотерапия. Руководство для врачей / под ред. Р. М. Хаитова и Р. И. Атауллаханова М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. 672 с.
36. Ковальчук, Л. В., Ганковская, Л. В., Мешкова, Р. Я. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии: учебник для вузов, М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. 639 с.
37. Казмирчук, В. Е., Ковальчук, Л. В., Мальцев, Д. В. Клиническая иммунология и аллергология. Киев: Феникс, 2009. 522 с.
38. Кишкун, А. А. Иммунологические и серологические исследования в клинической практике. М.: Мед. информ. агентство, 2006. 531 с.
39. Лазарева, Г. Ю. Диагностический справочник аллерголога. М.: АСТ: Астрель: Полиграфиздат, 2010. 384 с.
40. Лебедев, К. А., Понякина, И. Д. Иммунограмма в клинической практике: введение в прикладную иммунологию. М.: Наука, 1990. 223 с.
41. Мальцев, Д. В., Казмирчук, В. Е. Иммунодефицитные болезни человека. Киев: Феникс, 2012. 600 с.
42. Минеева, Н. В. Группы крови человека. Основы иммуногематологии. СПб., 2004. 188 с.
43. Мишин Ю.А. Лабораторная диагностика аллергических заболеваний. СПб., 2010. 143 с.
44. Новиков, Д. К., Сергеев, Ю. В., Новиков, П. Д. Лекарственная аллергия. М.: Национальная академия микологии, 2001. 330 с.
45. Новиков, Д. К. Патология системы иммунитета. М.: Национальная академия микологии, 2003. 366 с.
46. Препараты, корригирующие процессы иммунитета. Гл.10 (иммуномодуляторы, иммунокорректоры). В. кн.: Машковский, М. Д. Лекарственные средства (Пособие для врачей). М.: Новая волна, 2010. С. 726-743.
47. Пухлик, Б. М., Викторов, А. П., Зайков, С. В. Лекарственная аллергия и побочные эффекты лекарственных средств в аллергологии. Львів: Медицина світу, 2008. 108 с.
48. Ройт, А. , Бростофф, Дж., Мейл, Д. Иммунология. М.: Мир, 2000. 581 с.
49. Рагимов, А. А., Дашкова, Н. Г. Основы трансфузионной иммунологии. М.: Мед. информ. агентство, 2004. 279 с.
50. Сепиашвили, Р. И. Основы физиологии иммунной системы. М.: Медицина-здоровье, 2003. 237 с.
51. Сепиашвили, Р. И., Балмасова, И. П. Физиология естественных киллеров. М.: Медицина-здоровье, 2005. 455 с.
52. Хаитова, Р. М. Иммунология и аллергология: Стандарты диагностики и лечения. М., 2001. 105 с.
53. Хаитов, Р. М., Игнатьева, Г. А., Сидорович И. Г. Иммунология, норма и патология. М.: Медицина, 2001. 750 с.

54. Хаитов, Р. М., Ярилин, А. А., Пинегин, Б. В. Иммунология: атлас. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011, 624 с.
55. Хаитов, Р. М., Ярилин, А. А., Пинегин, Б. В. Руководство по клинической иммунологии. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. 352 с.
56. Ярилин, А. А. Иммунология: учебник. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. 748 с.

ANEXE

Anexa 1

Markeri, clase de diferențiere

CD	Exprimarea celulară	GM (kDa)	Funcții	Familia
CD1 a,b,c,d	Timocitele corticale, CL*, DC**, celulele B (CD1c), epiteliul intestinal, mușchii netezi, vasele sangvine (CD1d)	43 – 49	Molecule MHC I-like asociate cu β_2 -microglobulina; pot avea rol specializat în prezentarea antigenilor lipidici LT	Superfamilia Ig
CD2	Toate LT, majoritatea celulelor NK	45 – 58	Molecule de adeziune (CAM), leagă hematitiile de berbec, CD58 (LFA-3), LFA-4, transmite semnalul transmembrantar intercelular și activează LT	Superfamilia Ig
CD2R	LT activate	45 – 58	Formă conformațională dependentă de activare a CD2	Superfamilia Ig
CD3	LT mature, cele imature (în citoplasmă)	γ : 25-28 δ : 20 ϵ : 20 ζ : 16 η : 22	Asociat cu TCR, asigură transmiterea semnalului de la TCR în citoplasmă	Superfamilia Ig ($\gamma\delta\epsilon$) η/ζ înrudit cu lanțul FcR γ
CD4	Marker al Th (celule Th1 și Th2, unele monocite, macrofage, spermatozoizi, celule gliale)	55	Receptor pentru HIV-1 și HIV-2 (gp120), participă în recunoașterea Ag asociați cu moleculele HLA de clasa II, glicoproteină transmembranară	Superfamilia Ig
CD5	Timocite și LT, LB autoreactive	67	Glicoproteină transmembranară cu funcție necunoscută. Ligand pentru CD72 pe LB, participă în proliferarea celulelor T	Receptor „scavenger”
CD6	Timocite, LT și LB (parțial)	120	Leagă CD166 (ALCAM) pe epiteliul timic	Receptor „scavenger”
CD7	Celule stem, LT, NK (Fc μ -receptor IgM)	40	Necunoscute. Marker al leucemiei acute limfoblastice (LAL) cu LT și al leucemiei cu celule stem pluripotente	Superfamilia Ig

CD8	LT supresoare, citotoxice, unele NK	32	Co-receptor pentru MHC I în recunoașterea Ag	Superfamilia Ig
CD9	Celule pre-B, eozinofile, bazofile, trombocite, monocite	24	Rol posibil în activarea și agregarea plachetară	Superfamilia transmembrana-ră 4 (TM4), serpentina
CD10	Precursori B (GALLA-Ag a celulelor leucemice) și, parțial, timocite, granulocite	100	Zinc-metaloproteinază, marker pentru LAL cu pre-B	
CD11a	Toate leucocitele	180	Subunitatea α L a integrinei LFA-1 (asociată cu CD18), receptor pentru liganzii CD54 (ICAM-1), CD102 (ICAM-2) și CD50 (ICAM-3)	Integrină α
CD11b	Monocite, granulocite, celule NK	165	Lanțul α M al integrinei LFA-1, asociate cu CD18; receptor pentru liganzii CD54 (ICAM-1), C3bicomponent al complementului (receptor CR-3) și fibrinogenului	
CD11c	Monocite, granulocite, NK, LT și LB activate	95-150	Subunitatea α X a integrinei CR4 (asociată cu CD18); liganzii lui CD54, leagă fibrinogenul	Integrină α
CD11d	Leucocite	125	Subunitatea α D a integrinei (asociată cu CD18) se leagă de CD50	Integrină α
CDw12	Monocite, granulocite, trombocite	90-120	Necunoscute	
CD13	Celule mieloide, dendritice și endoteliale	150-170	Amino-peptidaza N, receptor pentru coronavirusuri	
CD14	Monocite-macrofage, granulocite	55	Receptor pentru complexul LPS cu proteina care leagă LPS și pentru moleculele P1 ale trombocitelor. Este absentă la pacienții cu hemoglobinurie paroxistică nocturnă	

CD15 (Lewis ^x)	Neutrofile, eozinofile, monocite (mai slab ex- primare)		Trizaharide terminale exprimate pe glicolipide și multe glicoproteine de suprafață; forma cu acid sialic CD15s este ligand pentru CD62E (ELAM). Unii Ac la el inhibă fago- citoza	
CD16	Neutrofile, celulele NK, monocite (slab expri- mat)	50-80	Component al FcγRIII, mediază fagocitoza și ADDC	Superfami- lia Ig
CDw17	Neutrofile, monocite, trombocite		Lactozilceramidă (glicofosfo- lipid membranal)	
CD18	Leucocite	95	Subunitatea β2 a integrine- lor, asociată cu CD11a,b,c	Integrină β
CD19	LB și precursori B	95	Formează complexe cu CD21 (CR2) și CD81 (TAPA-1); co-receptor pentru celulele B	Superfami- lia Ig
CD20	LB, celule dendritice foliculare	35	Rol, posibil, în reglarea activării LB; oligomerii săi pot forma canal pentru ionii de Ca	Conține 4 segmente transmem- branare
CD21	LB mature, unele timo- cite, LT	145	Receptor pentru C3d, virus Epstein-Barr. Cu CD19 și CD81, CD21 formează co- receptor pentru LB	Componen- te regla- toare ale C (CCP)
CD22	LB mature	135	Adeziunea LB la monocite, LT	Superfami- lia Ig
CD23	LB mature, macrofage activate, eozinofile, DC foliculare, trombocite	45	Receptor de afinitate mică pentru IgE; ligand pentru co-receptorul CD19:CD21:CD81	Lectină de tip C
CD24	Neutrofile, eozinofile, LB	35-45	Necunoscute. Este absent în hemoglobinuria paroxis- tică nocturnă	
CD25	LT, LB activate, macro- fage	55	Lanțul α al IL-2R se aso- ciază cu CD122 și lanțul IL-2Rγ	CCP
CD26	LB și LT activate, ma- crofage	120	Exopeptidază implicată recent în pătrunderea HIV în celule	Glicopro- teină trans- membrana- ră tip II

CD27	LT mature și activate, LB (în citoplasmă)	50-55 homodimer	Leagă liganzi de tip TNF, CD70, poate funcționa ca și co-stimulator pentru LT și LB	Superfamilia receptorului NGF (factorul de creștere a nervilor)
CD28	LT citotoxice (supresoare)	90	Activarea LT native, receptor pentru semnalul co-stimulator, leagă CD80 (B7.1) și CD86 (B7. 2), intensifică proliferarea LT	Superfamilia Ig și CD86 (B7. 2)
CD29	Leucocite	130	Subunitatea $\beta 1$ a integrinelor, asociată cu CD49a	Integrină β
CD30	LB, LT și NK activate, monocite, celulele Reed-Sternberg	105-120	Leagă proteine membrana TNF-like, CD30-L (CD153)	Superfamilia receptorului TNF/NGF
CD31	Monocite, trombocite, granulocite, subset de LT, celule endoteliale	130-140	Moleculă de adeziune (PECAM-1) mediază interacțiunile leucocite/endoteliu și endoteliu/endoteliu	Superfamilia Ig
CD32	Monocite, granulocite, LB, eozinofile	40	Receptor Fc de afinitate mică pentru Ig agregate/CI (Fc γ RII)	Superfamilia Ig
CD33	Celule progenitoare ale seriei mieloide, monocite	67	Leagă sialoconjugatele	Superfamilia Ig
CD34	Precursori hematopoietici, endoteliul capilar	105-120	Ligand pentru CD62L (L-selectina); marker al celulelor stem	Mucină
CD35	Eritrocite, LB, monocite, granulocite, DC folliculare, unele LT, NK	160-250	Este receptor pentru C3b, C3c, C4b, mediază fagocitoza (receptor CR I)	CCP
CD36	Trombocite, monocite, celule endoteliale, LB	90	Moleculă de adeziune endotelială, receptor pentru trombospondină, este afîn pentru colagenii I și IV, participă în interacțiunea celulelor cu trombocite	
CD37	LB și LT mature, celule mieloide	40-52	Necunoscute. Formează complexe cu CD53, CD81, CD82 și MHC clasa II	Transmembrană 4
CD38	LT și LB activate, LB din centrul germinal, plasmocite	45	NAD glicohidrolază, intensifică proliferarea LB	

CD39	LB activate, NK activate, macrofage, celule dendritice	78	Necunoscută, poate media adeziunea LB	
CD40	LB mature, macrofage, DC, celule epiteliale bazale	48	Receptor pentru semnalul co-stimulator pentru LB, participă în interacțiunea cu LT prin legarea cu CD154 (CD40L), promovează creșterea, diferențierea și comutarea izotipică a LB; producerea de citokine a macrofagelor și DC. Este absent în sindromul hiper-IgM	Superfamilia receptorului NGF/TNF
CD41	Trombocite, megacariocite	Dimer: GPIIb: 125 GPIIbb: 122	Integrină α IIb, asociată cu CD61 pentru a forma GPIIb, leagă fibrinogenul, fibronectina, factorul von Willebrand (vWF), trombospodina	Integrină α
CD42a, b, c, d	Trombocite, megacariocite	a: 23 b: 135, 23 c:22 d:85	Leagă factorul von Willebrand (vWF), trombina; esențială pentru adeziunea plachetară la zona leziunilor	Leucin-rich repeat (LRR)
CD43	Leucocite cu excepția LB neactivate în repaus	95-115	Proteină glicolizată (numită și leucosialină sau sialoforină); este implicată în fenomenul „homing” al limfocitelor. Este defectă în sindromul Wiskott-Aldrich	Mucină
CD44	Leucocite, eritrocite	80-95	Leagă acidul hialuronic, mediază adeziunea leucocitară	Proteină de legare
CD45	Toate celulele hematopoietice	180-240 (izoforme multiple)	Fosfotirozin fosfatază, transmite semnalul prin TCR și BCR; 5 izoforme (numită și LCA, T200, B220)	Fibronectină tip III
CD45R0	LT activate, prioritar celulele cu memorie, timocite, monocite, macrofage (slab exprimată)	180	Participă în activarea celulelor (izoformă a CD45)	Fibronectină tip II
CD45RA	LT naive, celulele B, monocite, granulocite	205-220	Izoforme ale CD45 care conține exonul A	Fibronectină tip II

CD45RB, CD45RC	Subseturi LT, LB, monocite, macrofage, granulocite	190-220	Izoforme ale CD45 pe subpopulațiile T și B, monocite	Fibronectină tip II
CD46	Celule nucleate hematopoietice și nehematopoietice	56-66	Receptor pentru virionul rujeolei, cofactor membranar reglator al activării complementului, inhibitor al convertazei C3	CCP
CD47	Leucocite, eritrocite (cu excepția Rh-)	47-52	Glicoproteină asociată cu receptorul vitronectinei	Superfamilia Ig
CD48	Limfocite și monocite	40-47	Proteină care leagă P1, absentă în hemoglobinuria paroxistică nocturnă	Superfamilia Ig
CD49a	LT activate, monocite, celule neuronale, mușchi neted	210	$\alpha 1$ integrină, se asociază cu CD29, leagă collagenul, laminina	Integrină α
CD49b	LB, monocite, trombocite, celule neuronale, epiteliale și endoteliale, osteoclaste	165	$\alpha 2$ integrină, se asociază cu CD29, leagă collagenul, laminina	Integrină α
CD49c	LB, multe celule aderente	125	$\alpha 3$ integrină, se asociază cu CD29, leagă laminina-5, collagenul, fibronectina, invazina, intactina	Integrină α
CD49d	Distribuție largă ce include LB, timocite, monocite, granulocite, DC	150	$\alpha 4$ integrină, se asociază cu CD29, leagă fibronectina, venulele postcapilare din plăcile Peyer, VCAM-1, MAdCAM-1	Integrină α
CD49e	Distribuție largă ce include LT cu memorie, monocite, trombocite	135	$\alpha 5$ integrină, se asociază cu CD29, leagă fibronectina, invazina	Integrină α
CD49f	LT, timocite, monocite, trombocite, megacariocite, trofoblast	120	$\alpha 6$ integrină, se asociază cu CD29, leagă laminina, invazina, merosina	Integrină α
CD50	Timocite, LT, LB, monocite, granulocite	130	Moleculă de adeziune intercelulară leucocitară 3. Leagă integrina CD11a/CD18 (LFA-1)	Superfamilia Ig
CD51	Trombocite, megacariocite, monocite	125	αV integrină, se asociază cu CD61, leagă vitronectina, vWF, fibrinogenul și trombospondina. Poate fi receptor pentru celule apoptotice	Integrină α

CD52	LT, LB (fără plasmocite), monocite, granulocite, spermatozoizi	25	Necunoscute, țintă pentru anticorpii folosiți terapeutic pentru depleția LT din măduva osoasă (CAMPATH-1)	
CD53	Leucocite	35-42	Componentă a complexului de transducție	Familia CD9
CD54	Celule hematopoietice și nehematopoietice	75-115	Moleculă de adeziune intercelulară (ICAM-1), leagă integrina CD11a/CD18 (LFA-1) și CD11b/CD18 (Mac-1), receptor pentru rinovirusuri	Superfamilia Ig
CD55	Leucocite, eritrocite	60-70	Factorul DAF+, lentizează activarea complementului	CCP
CD56	Celule NK, unele LT	175-185	Izoformă a moleculei de adeziune neurală (NCAM), moleculă de adeziune (NKH-1)	Superfamilia Ig
CD57	Celule NK, subseturi LT, LB și monocite		Oligozaharidă, prezentă pe numeroase glicoproteine de suprafață (NKH-1)	
CD58	Celule hematopoietice și nehematopoietice	55-70	LFA-3, ligand CD2 (LFA-2) pe leucocite, eritrocite	Superfamilia Ig
CD59	Celule hematopoietice și nehematopoietice	19	Leagă componentele complementului C8 și C9, blochează asamblarea MAC	Superfamilia Ly-6
CDw60	Subseturi LT, trombocite, monocite		Oligozaharidă, prezentă pe gangliozide	
CD61	Trombocite, megacariocite, macrofage	110	Integrina $\beta 3$, GPIIb a trombocitelor se asociază cu GPIIb (CD41) sau CD51 pe endoteliu, formează receptor pentru vitronectină	Integrine β
CD62E	Endoteliu	140	ELAM, leagă sialil-Lewis X, mediază „rolling-ul” neutrofilelor pe endoteliu (E-selectina)	Lectină de tip C, superfamilia EGF și CCP
CD62L	LB, LT, monocite, celule NK	150	LAM, leagă CD34, GlyCAM, mediază interacțiunea leucocite-endoteliu (L-selectina)	Lectină de tip C, superfamilia EGF și CCP

CD62P	Trombocite, megacariocite, endoteliu	140	Moleculă de adeziune, leagă CD162, mediază interacțiunea trombocitelor cu celulele endoteliale, monocitele și „roolling-ul” neutrofilelor pe endoteliu	Lectină de tip C, superfamilia EGF și CCP
CD63	Trombocite activate, monocite, macrofage	53	Necunoscute, este proteină a membranei lizozomale translocată la suprafața celulară după activare	Transmembranare 4
CD64	Monocite, macrofage, granulocite activate	75	Receptor de mare afinitate pentru IgG, mediază fagocitoza, captura antigenului, ADCC (FcγRI)	Superfamilia Ig
CD65	Celule mioeloide		Componentă oligozaharidică a unei dodecazaharide de ceramidă	
CD66a,b,c,d,e	Granulocite, carcinom de colon (c,e)	90-180	Molecule de adeziune pe granulocite, leagă bacteriile	Superfamilia Ig
CD68	Monocite, macrofage, neutrofile, bazofile, limfocite mari	110	Necunoscute	Mucine
CD69	LT și LB activate, celule NK și macrofage activate	28-34	Necunoscute, glicoproteină de activare timpurie a LT, LB	Lectină tip C
CD70	Limfocite T și B activate, macrofage	75, 95, 170	Ligand pentru CD27, poate funcționa ca și co-stimulator al LT și LB	TNF
CD71	Toate celulele în proliferare, leucocitele activate	95/190 homodimer	Receptor pentru transferrină, mediază internalizarea Fe în celulă, reglează creșterea celulei	
CD72	LB (pre-B și mature)	42 homodimer	Ligand pentru CD5	Lectină de tip C
CD73	Subseturi LT și LB	69	Ecto-5-nucleotidază, defosforilează nucleotidele pentru a permite preluarea nucleozidelor	
CD74	LB, macrofage, monocite, celule care exprimă MHC II	33, 35, 41, 43)	Lanț invariabil asociat MHC de clasa II, participă în expresia HLA II pe monocite-macrofage	
CD75	LB mature, subseturi LT		Ligand pentru CD22, mediază adeziunea LB-LB	

CD76	LB mature, subseturi LT		Polilactozamină $\alpha 2, 6$ sialilată expimată pe glicosfingolipide și glicoproteine	
CD77	LB din centrul germinativ		Glicosfingolipidă neutră, leagă toxina Shiga, cross-linkarea induce apoptoza	
CD79 α, β		$\alpha: 40-45$ $\beta: 37$	Componente ale BCR analog cu CD3, necesar pentru exprimarea BCR și transducția semnalului (Iga, Ig β)	Superfamilia Ig
CD80	LT și LB activate	60	Co-stimulator, ligand pentru CD28 și CTLA-4 (B7. 1)	Superfamilia Ig
CD81	Limfocite	26	Se asociază cu CD19, CD21 pentru a forma coreceptorul LB	Transmembrane 4
CD82	Leucocite	50-53	Necunoscute	Transmembrane 4
CD83	LB, DC circulante	43	Necunoscute	Superfamilia Ig
CD86	Monocite, LB activate, DC	80	Ligand pentru CD28 și CTLA-4 (B7. 2)	
CD87	Granulocite, monocite, macrofage, LT, NK, mare varietate de tipuri de celule nehematopoietice	35-59	Receptor pentru activatorul plasminogenului urokinază	Ly-6
CD88	Leucocite PMN, monocite, mastocite	43	Receptor pentru C5a a complementului	Receptori cuplați cu proteina G
CD89	Monocite, macrofage, granulocite, subpopulații LB și LT	55-70	Receptor pentru IgA pe celule (FcaR), trigger al fagocitozei	Superfamilia Ig
CD91	Monocite, multe celule nehematopoietice	85-515	Receptor pentru $\alpha 2$ -macroglobulină, pentru lipoproteine de densitate mică pe monocite	Receptor EGF, LDL
CD95 (Fas)	O mare varietate de linii celulare, distribuție <i>in vivo</i> incertă	45	Leagă ligandul Fas TNF-like, induce apoptoza (Apo-1, Fas)	Receptor TNF, familia NGF
CD96	LT activate în faza tardivă, celule NK	160	Necunoscute	Superfamilia Ig

CD97	LB și LT activate, monocite, granulocite	75-85	Leagă CD55	Receptor cuplat cu proteina G, EGF
CD98	LT, LB, celule NK, granulocite, toate liniile celulare umane	80, 40 heterodimer	Ar putea fi transportor de aminoacizi	
CD102	Limfocite în repaus, monocite, endoteliu vascular (cel mai puternic)	55-65	Glicoproteină, adezivă, ICAM-2 care leagă CD11a/CD18 (LFA-1), dar nu și CD11b/CD18(Mac-1)	Superfamilia Ig
CD103	Limfocite intraepiteliiale, 2-6% limfocite din sângele periferic	150, 25	α E integrină	Integrine α
CD104	Timocite dublu negative, celule neuronale, epiteliale, Schwann, unele celule endoteliale, trofoblastice	220	β 4 integrină asociată cu CD49f, leagă lamininele	Integrine β
CD105	Celule endoteliale, monocite și macrofage activate, subset de celule din măduva osoasă	90 homodimer	Leagă TGF- β	
CD106	Celule endoteliale activate, monocite	100-110	Moleculă de adeziune (VCAM-1), ligand pentru integrine (CDd49, NLA-4)	Superfamilia Ig
CD107a	Trombocite activate, LT, neutrofile și endoteliu activate	110	Necunoscute, proteină a membranei lizozomale translocată la suprafața celulei după activare	
CD107b	Trombocite activate, LT, neutrofile și endoteliu activate	120	Necunoscute, proteină a membranei lizozomale translocată la suprafața celulei după activare	
CD109	LT activate, trombocite activate, celule endoteliale vasculare	170	Necunoscute (PAF)	
Grua receptorilor citokinici				
CD114	Granulocite, monocite	150	Receptor pentru G-CSF, fibronectină tip III	Superfamilia Ig, fibronectină tip III
CD115	Monocite, macrofage	150	Receptor pentru M-CSF, participă în proliferarea monocitelor-macrofagelor	Superfamilia Ig, tirozin kinaze

CD116	Monocite, neutrofile, eozinofile, endoteliu, celule precursorare	70-85	Lanțul α al receptorului pentru GM-CSF, receptorul familiei citokinelor hemopoietice	Receptori de citokine, superfamilia fibronectinei tip III
CD117	Progenitori hematopoietici CD34 ⁺ , precursorii osteoclastelor, mastocite	145	Receptor pentru factorul celulelor stem (<i>SCF – Stem Cell Factor</i>), posedă activitate tirozinkinază	Superfamilia Ig, tirozinkinaze
CD118	Expresie celulară largă		Receptor pentru IFN- α și β	
CD119	Macrofage, granulocite, LT, LB, epitelium, endoteliu	90-100	Receptor pentru IFN- γ	Fibronectină tip III
CD120a	Celule hemato- și nehematopoietice, maximum pe celule epiteliale	50-60	Receptor pentru TNF, leagă atât TNF- α , cât și TNF- β (receptor tip 1)	Superfamilia receptorului TNF/NGF
CD120b	Celule hemato- și nehematopoietice, maximum pe celule mioeloidice	75-85	Receptor pentru TNF, leagă atât TNF- α , cât și TNF- β (receptor tip 2)	Superfamilia receptorului TNF
CD121a	LT, fibroblaști, endoteliu	80	Receptor tip I pentru IL-1, leagă IL-1 α și IL-1 β	Superfamilia Ig
CD121b	LT, unele celule B, monocite	68	Receptor tip II pentru IL-1, leagă IL-1 α și IL-1 β	Superfamilia Ig
CD122	NK, LT activate, monocite	75	Lanțul β al receptorului pentru IL-2, la asocierea cu lanțul α (CD25) formează receptor pentru IL-2	Receptor de citokine, fibronectină tip III
CD123	Celule stem din măduva osoasă, granulocite, monocite, megacariocite	70	Lanțul α al receptorului pentru IL-3	Receptor de citokine, fibronectină tip III
CD124	LB și LT mature, precursori ai celulelor hematopoietice, endoteliu, fibroblaști	140	Receptor pentru IL-4	Receptor de citokine, fibronectină tip III
CD125	Eozinofile, bazofile, LB activate	55-60	Lanțul α al receptorului pentru IL-5	Receptor de citokine, fibronectină tip III

CD126	LB și plasmocite activate (puternic), majoritatea leucocitelor (slab exprimate)	80	Receptor pentru IL-6 (subunitatea α)	Superfamilia Ig, receptor de citokine, fibronectină tip III
CD127	Precursori limfoizi medulari, pro-B, LT mature, monocite	75	Receptor pentru IL-7	Superfamilia Ig, fibronectină tip III
CD128	Neutrofile, bazofile, eozinofile, LT (parțial exprimate), monocite, cheratinocite	58-67	Receptor pentru IL-8	Receptori cuplați cu proteina G
CD129	Neatribuit		Receptor pentru IL-9	
CD130	Majoritatea tipurilor de celule B activate și plasmocite	130	Subunitatea comună β a receptorilor de IL-6, IL-11, OSM (oncostatin-M), LIF (<i>leukemia inhibitory factor</i>)	Superfamilia Ig, receptor de citokine, fibronectină tip III
CD131	Progenitori mieoizi, granulocite, LT, LB	140	Subunitatea comună β a receptorilor de IL-3, IL-5 și GM-CSF	Receptori de citokine, fibronectină tip III
CD132	LB, LT, celule NK, mastocite, neutrofile	64	Lanțul γ al receptorului de IL-2, subunitate comună a receptorilor de IL-2, IL-4, IL-7, IL-9 și IL-15	Receptori de citokine
CD134	LT activate	50	Poate acționa ca un co-stimulator al moleculei de adeziune, ligand pentru gp 34	Receptor TNF
CD135	Precursori multipotențiali, progenitori mielomonocitari și celulari B	130,155	Receptor de factor de creștere	Superfamilia Ig, tirozinkinaze
CDw136	Monocite, celule epiteliale, sistemul nervos central și cel periferic	180	Chemotactism, fagocitoză, creștere celulară și diferențiere	Tirozinkinaze
CDw137	LT și LB, monocite, unele celule epiteliale		Co-stimulator al proliferării celulelor T	Receptor TNF
CD138	LB		Heparian sulfat, proteoglican, leagă colagenul tip I	
CD140a, b	Celulele stromale și unele celule endoteliale	a:180 b:180	Lanțul α și β al receptorului de PDGF	

CD141	Celule mieloide, endoteliale etc.	105	Anticoagulantă, leagă trombina, complexul astfel format activează apoi proteina C	Lectină tip C, EGF
CD142	Cheratinocite epidermice, diferite celule epiteliale, astrocite, Schwann	45-47	Factor major de inițiere a coagulării. Leagă factorul VIIa; acest complex activează factorii VII, IX și X	Fibronectină tip III
CD143	Celule endoteliale (exceptând cele ale vaselor mari și renale), epiteliale (rinichi și intestin subțire), neuronale, macrofage și unele LT. Formă solubilă în plasmă	170-180	Zn ²⁺ metaloproteinază dipeptidil peptidază, clivează angiotensina I și bradikina din formele lor precursoare	
CD144	Celule endoteliale	130	Organizează joncțiunile aderente în celulele endoteliale (caderina 5)	Caderine
CD146	Endoteliu	130	Moleculă potențial de adeziune, localizată la joncțiunile celulă-celulă (MCAM, MUC-18), homing-ul LT-activate	Superfamilia Ig
CD147	Leucocite, hematii, trombocite, celule endoteliale		Moleculă potențial de adeziune	Superfamilia Ig
CD148	Granulocite, monocite, DC, LT, fibroblaste, celule nervoase	240-260	Inhibiția de contact a creșterii celulare	Fibronectina tip III, protein tirozinfosfataze
CD150	Limfocite T, B activate	75-95	Marker al activării, moleculă de semnalizare SLAM	Superfamilia Ig
CD151	Trombocite, megakariocite, celule epiteliale și endoteliale	32	Asociată cu β1 integrine	Transmembrană 4
CD152	Celule T activate	33	Receptor pentru CD80 (B7.1) și CD86 (B7. 2); reglator negativ al activării celulelor T (CLA-4)	Superfamilia Ig
CD153	Celule T activate; macrofage, neutrofile și celule B activate	38-40	Ligand pentru CD30 (CD30L), poate co-stimula celulele T	TNF
CD154	Celule T CD4 activate	30 (trimer)	Ligand pentru CD40 (CD40L), induce proliferarea și activarea celulelor B	Receptor TNF

CD155	Monocite, macrofage, timocite, neuroni din SNC	80-90	Funcția normală e necunoscută, receptor pentru polivirus	Superfamilia Ig
CD157	Granulocite, monocite, celule stromale medulare, endoteliale vasculare, DC foliculare	42-45 (50 pe monocite)	ADP-ribozilciclaza, hidrolaza ADP-ribozei ciclice	
CD158a	Subset de celule NK	50 sau 58	Inhibă citotoxicitatea NK prin legarea moleculelor MHC clasa I	Superfamilia Ig
CD158b	Subset de celule NK	50 sau 58	Inhibă citotoxicitatea NK prin legarea HLA-Cw3 și a alelelor înrudite	Superfamilia Ig
CD161	Celule NK	44	Reglează citotoxicitatea NK	Lectină tip C
CD162	Monocite, granulocite, LT, LB	120 (dimer)	Ligand pentru CD62P (selectina P), reglează ralingul leucocitelor	Mucine
CD165	Timocite, epiteliul timic, neuronii SNC, insule pancreatice, capsula Bowman	37	Adeziunea dintre timocite și epiteliul timic	
CD166	Celule T și B activate, NK, epiteliul timic, fibroblaste, neuroni	100-105	Ligand pentru CD6, implică extensia neuro-integrinei	Superfamilia Ig
TCR ζ	Celule T	12 (homodimer)	Componentă a TCR, conține 3 ITAM per lanț	Lanț ζ

Notă: CL – celule Langerhans; DC – celule dendritice; MCP – membrane co-factor protein; DAF – decay accelerating factor; CD169 – sialodezină; CD173 – molecula grupei sanguine H; CD183 – receptori chemochinici; CD204 – receptori „gunoieri” ai macrofagelor; CD205 – receptorul celulelor dendritice; CD206 – receptor al IL-10; CD210 – receptor al IL-12; CD212 – receptor al IL-11 α1; CD213a1 – receptor al IL-11 α2; CD213a2 – receptor al IL-17; CDW217 – receptor al insulinei; CD22 – 8-melanotransferină; CD234 – antigen Duffy; CD235a – glicoforina A; CD235b – glicoforina B; CD241 – antigenul Rh; CD242 – ICAM-4.

Activitatea biologică a unor clase de prostaglandine

Prostaglandine	Activitatea biologică
PGA	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Influențează metabolismul hidraților de carbon ▪ Stimulează sinteza cAMP ▪ Este implicată în transmiterea impulsurilor la nivelul sistemului nervos central
PGE1	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Stimulează formarea trombusurilor ▪ Inhibă agregarea trombocitelor ▪ Produce vasodilatație ▪ Efect bronhodilatator ▪ Stimulează sinteza cAMP ▪ Inhibă excitația nervoasă ▪ Are efect chemotactic puternic
PGE2	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Produce vasodilatația și dilatarea bronhiilor ▪ Inhibă excitația nervoasă și inhibă eliberarea de noradrenalină ▪ Crește rata infiltrării cu granulocite PMN ▪ Stimulează sinteza cAMP
PGF2α	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Are activitate vasoconstrictoare și bronhoconstrictoare ▪ Provoacă regresia corpului galben (luteoliza)

Notă: Prostaglandinele (PG) sunt compuși biologici activi, produși practic de toate țesuturile și celulele care au suferit un proces de stimulare la nivelul membranei citoplasmice. Sunt sintetizate local în cantități foarte mici și acționează scurt timp datorită metabolizării lor rapide.

Pe baza structurii și activității lor biologice, s-au descris mai multe clase de PG: PGA, C, D, E, F, H, I, iar în cadrul acestor clase există molecule de tip 1 și tip 2.

S-a demonstrat că PG au multiple funcții biologice, intervin în fiziologia mușchilor netezi, în transmiterea impulsurilor nervoase, în interacțiunile hormonale și în procesele imune.

Instrucțiune privind determinarea grupei sangvine după sistemul ABO

Grupa sangvină după sistemul ABO se caracterizează prin diverse combinații ale proprietăților antigenice specifice eritrocitelor, denumite aglutinogeni, și anticorpilor anti-antigenii eritrocitelor – aglutinine, circulante în plasma sangvină. Sunt cunoscuți doi aglutinogeni A și B și două aglutinine – anti-A și anti-B. Diferite combinații ale aglutinogenilor și aglutininelor formează 4 grupe sangvine după sistemul ABO: 0, A, B, AB. Pentru determinarea grupelor sangvine se folosesc seruri izohemaglutinante standard, reagenți ce conțin anticorpi monoclonali, seruri hiperimune de la animale imunizate cu eritrocite A și B umane, lectine (reagenți preparați din extrasele plantelor care conțin proteine identice anticorpilor anti-A și anti-B) și eritrocite standard.

Există două metode de determinare a grupelor sangvine după sistemul ABO:

1. Determinarea grupelor sangvine cu ajutorul serurilor izohemaglutinante standard sau cu reagenți ce conțin anticorpi monoclonali.

2. Determinarea grupei sangvine prin metoda încrucișată.

Prima procedură este preventivă și se efectuează în secțiile curative ale instituțiilor medicale sau de către grupul de pregătire a sângelui de la centrele și secțiile de transfuzie a sângelui. Pentru a doua tehnică se utilizează eritrocite standard și ser izohemaglutinant standard sau reagenți cu anticorpi monoclonali. Metoda permite stabilirea prezenței sau absenței aglutinogenilor A, B și aglutininelor anti-A și anti-B. Aprecierea rezultatului definitiv privind apartenența grupei sangvine după sistemul ABO se emite numai după determinarea aglutinogenilor și aglutininilor prin metoda încrucișată, care este obligatorie. Determinarea grupei sangvine se execută de un medic cu o pregătire specială în domeniul izoimunologiei. Rezultatele investigațiilor izoserologice efectuate bolnavilor se vor înscrie în fișa medicală a pacientului de staționar cu indicarea datei și semnătura persoanei care a efectuat această examinare. La donatori grupa sangvină ABO se determină la fiecare donare, în două etape (predonare – când se utilizează seruri izohemaglutinante standard sau reagenți monoclonali, și postdonare – prin metoda încrucișată). Rezultatele examinării donatorului și sângelui donat se documentează în cartela donatorului, în fișa de evidență a rezultatelor examinărilor de laborator a sângelui donat cu indicarea datei și semnătura persoanei, care a efectuat această examinare. Testarea grupei sangvine la donatori poate fi efectuată cu două serii de ser izohemaglutinant standard cu titrul de 1:32 și mai mult sau cu loturi diferite de anticorpi monoclonali.

Principiul reacției este bazat pe aglutinarea eritrocitelor de către anticorpii antieritrocitari A și B, care este exprimată prin formarea de hemaglutinate – grunji vizibili cu ochiul liber.

Materiale necesare: plăci cu godeuri din sticlă, metal, ceramică sau material plastic, pipete Pasteur, baghete din sticlă sau plastic, soluție izotonică (0,85%) de clorură de sodiu, două serii de seruri izohemaglutinante standard de grupa 0, A, B și AB, eritrocite standard de grupa 0, A, B, anticorpi monoclonali anti-A, anti-B, anti-AB, taimer etc.

Condiții de efectuare a reacției și prepararea prealabilă a ingredientelor.

1. Reacția de hemaglutinare se efectuează la temperatura de 15-25°C într-o încăpere bine iluminată.

2. Flacoanele cu seruri standard se instalează într-un stativ cu trei godeuri (sau în două stative la utilizarea a două serii de ser de fiecare grupă). În godeul din stânga se instalează serul de grupa 0, în mijloc – serul de grupa A și în cel din dreapta – serul de grupa B. Separat se instalează serul de testare a grupei AB, utilizat ca control suplimentar. Acest set se completează cu un flacon cu soluție fiziologică. În fiecare flacon se introduce câte o pipetă curată și uscată.

3. Pentru spălarea baghetelor de sticlă sau plastic și a pipetelor Pasteur se folosesc două pahare (150 ml) cu soluție fiziologică (sau se utilizează baghete de o singură folosință).

4. Sângele pentru cercetare se obține prin înțeparea degetului sau prin venepuncție. Prin venepuncție sângele, în volum de 2-5 ml, se colectează în eprubete fără stabilizator (anticoagulant), marcate preventiv cu inițialele individului. Se poate utiliza și sângele colectat cu stabilizator. Tuburile sunt lăsate la temperatura camerei timp de 20 min. pentru formarea cheagului cu separarea serului. În cazul necesității de separare rapidă a serului, tubul cu sânge poate fi centrifugat la 1500-2000 rot./min. timp de 10 min. În unele cazuri, se admite păstrarea sângelui pe parcursul a 48-72 de ore la temperatura de 4-8°C pentru cercetarea ulterioară. Sângele pentru testare trebuie colectat până la transfuzie, deoarece transfuzia de sânge incompatibil sau a unui mare volum de componente sangvine de la persoanele cu grupa 0 poate conduce la concluzii incorecte despre apartenența de grupa sangvină.

5. Pentru testarea aglutininelor anti-A și anti-B se utilizează eritrocite standard conservate de grupa 0, A, B, care înainte de utilizare se spală de 3 ori cu o soluție fiziologică prin centrifugare la 1000 rot./min. timp de 10 min. Eritrocitele spălate în tuburi se instalează într-un stativ în ordinea următoare: începând din stânga – grupa 0, A, B.

Tehnica de lucru se realizează în două variante: cu ajutorul serurilor izohemaglutinante standard, când se determină prezența sau absența aglutininogenilor, și prin varianta încrucișată, cu utilizarea eritrocitelor și serurilor izohemaglutinante standard.

Determinarea grupelor de sânge cu utilizarea serurilor izohemaglutinante standard

Pe planșe, în partea dreaptă, se indică numele, prenumele persoanei investigate, iar, începând din partea stângă, se notează simbolul specificității serurilor izohemaglutinante: 0 (anti-A+B), A (anti-B), B (anti-A). Sub fiecare simbol se depun câte 0,1 ml (o picătură mare) de ser izohemaglutinant standard de grupa corespunzătoare, pipeta fiind imediat repusă în flaconul respectiv. Cele două serii de seruri standard sunt aranjate în două rânduri una sub alta. Picăturile de sânge cercetate (0,01 ml) se depun cu o baghetă de sticlă/plastic alături de picătura de ser izohemaglutinant standard. Coraportul dintre picătura de sânge și volumul serului izohemaglutinant standard trebuie să fie 1:10. Picătura de sânge se amestecă cu cea de ser cu bagheta, folosind de fiecare dată alt bețișor pentru omogenizare. Se poate folosi și o singură baghetă, dar după amestecul fiecărei picături bagheta se spală în vasul cu soluție fiziologică și se șterge minuțios cu tifon. Picăturile obținute în urma omogenizării vor avea un diametru de cel puțin 1 cm. Ulterior, placa este agitată prin înclinarea repetată cu pauze de 1-2 minute între agitări. După 3 minute în amestecul de picături se adaugă câte 0,05 ml soluție fiziologică, se omogenizează conținutul, apoi reacția este urmărită până la 5 minute datorită posibilității unei hemaglutinări tardive, de ex. cu eritrocitele subgrupeii A₂ etc.

Controlul și interpretarea rezultatelor reacției. Reacția de hemaglutinare poate fi pozitivă sau negativă. În cazul reacției pozitive, în primele 10-30 de secunde după amestecul reagenților apar aglutinate mici de culoare roșie, care conțin eritrocite aglutinate de anticorpi. Aglutinatele mici devin tot mai mari ca rezultat al aglomerării lor, iar picătura se decolorează spre margini. În cazul reacției negative, amestecul rămâne omogen (colorat în roșu) fără semne de aglutinare. Rezultatul reacției cu serul izohemaglutinant standard al celor două serii utilizate pentru respectiva grupă trebuie să coincidă. La cercetarea sângelui cu utilizarea serurilor izohemaglutinante standard putem obține patru variante ale reacției (tab. A3.1).

Rezultatele posibile ale reacției de hemaglutinare specifică cu serurile izohemaglutinante standard

Seria	Seruri izohemaglutinante de grupă				Apartenența de grupă sangvină
	0 (anti-A+B)	A (anti-B)	B (anti-A)	AB (control)	
1	-	-	-		0
2	-	-	-		
1	+	-	+		A
2	+	-	+		
1	+	+	-		B
2	+	+	-		
1	+	+	+		AB
2	+	+	+	-	

Notă: * Aprecierea apartenenței de grupă sangvină cu două serii de seruri izohemaglutinante. Semnul "+" indică prezența aglutinării, iar semnul "-" absența ei.

1. Dacă serurile standard izohemaglutinante a celor trei grupe au demonstrat reacție negativă, adică toate picăturile au rămas difuz colorate în roșu fără semne de aglutinare a hematiilor cercetate, atunci putem afirma că sângele cercetat nu conține aglutinogeni A și B și aparține grupei 0.

2. La apariția aglutinării cu serurile grupelor 0 și B și absența fenomenului în serul de grupa A, putem afirma că sângele conține aglutinogenul A și aparține grupei A.

3. Reacția pozitivă cu serurile grupelor 0 și A, iar cea negativă cu serul grupei B dă posibilitate să afirmăm că sângele cercetat conține aglutinogenul B aparținând grupei B.

4. Reacțiile pozitive cu serurile celor trei grupe indică faptul că sângele cercetat conține ambii aglutinogeni (A și B) și aparține grupei AB. Dar în cazul dat, pentru excluderea aglutinării nespecifice a eritrocitelor cercetate, este necesar un control suplimentar cu ser standard de grupa AB. Pentru aceasta, pe placă se depune 0,1 ml ser AB și se adăugă 0,01 ml din sângele cercetat. Aceste două picături se amestecă și reacția se monitorizează 5 minute, periodic agitând placa. Numai absența aglutinării în această picătură și prezența ei în cele care conțin serurile standard 0, A și B permit aprecierea reacției ca fiind specifică, iar sângele cercetat este identificat ca fiind de grupa AB. Această variantă de testare a grupei sangvine se folosește pentru investigații izoserologice în instituțiile medicale ca metodă prealabilă.

Determinarea grupelor sangvine prin metoda încrucișată cu utilizarea serurilor izohemaglutinante și a eritrocitelor standard

Această variantă de testare a grupelor sangvine se practică pentru identificarea aglutinogenilor în eritrocitele sângelui cercetat prin utilizarea serurilor izohemaglutinante standard și a aglutininelor de grupă anti-A și anti-B în ser – cu ajutorul eritrocitelor standard. Se folosește pentru determinarea de precizie a grupelor sangvine în laboratoarele instituțiilor medicale.

Materialele necesare, condițiile și prepararea prealabilă a reagenților sunt aceleași ca și în cazul precedent, dar și cu utilizarea hematiilor standard.

Tehnica de lucru. Pentru cercetare se utilizează atât serul, cât și eritrocitele individului investigat. Pe placă se notează numele și prenumele persoanei cercetate și simbolurile grupelor de sânge: 0 (anti-A+B), A (anti-B), B (anti-A). Sângele pentru cercetare, în volum de 2-3 ml, prelevat prin venepuncție, este centrifugat la 1500 rot./min. timp de 5-10 min. pentru obținerea serului. Este posibilă și varianta de instalare în termostat (37°C) a sângelui timp de 10 min., după care se trece în frigider și se întreține la temperatura de 2-8°C, apoi se separă cheagul de la peretele tubului.

Scenariul rezumativ al testărilor asupra aglutinogenilor și aglutininelor din sângele examinat este redat în tab. A3.2.

Tabelul A3.2

Aprecierea rezultatelor testării grupei sangvine cu utilizarea eritrocitelor și serurilor izohemaglutinante standard

Eritrocite standard			Seruri izohemaglutinante standard			Aparțința de grupă a sângelui cercetat
0	A	B	0 (anti-A+B)	A (anti-B)	B (anti-A)	
-	+	+	-	-	-	0
-	+	+	-	-	-	
-	-	+	+	-	+	A
-	-	+	+	-	+	
-	+	-	+	+	-	B
-	+	-	+	+	-	
-	-	-	+	+	+	AB
-	-	-	+	+	+	

Controlul cu serul grupei AB – rezultat negativ “-”

Notă: * Semnul “+” indică prezența aglutinării, iar semnul “-” – absența ei.

Pe planșe, sub marcajul de grupă sangvină, se picură câte 0,1 ml ser pentru cercetare, iar mai jos se picură câte 0,1 ml ser izohemaglutinant standard în câte două serii de fiecare grupă, astfel obținând 6 picături amplasate în două rânduri câte trei, care sunt semnificate din stânga spre dreapta ca 0, A, B. Alături de picăturile serului cercetat se aplică câte 0,01 ml eritrocite standard ale grupelor 0, A, B, iar lângă serurile standard se picură câte 0,01 ml eritrocite ale persoanei investigate. Fiecare pereche de picături este amestecată cu o baghetă curată și uscată până la omogenizarea completă a picăturii. Periodic, planșa se înclină, reacția fiind monitorizată timp de 5 min. În picăturile cu ser standard aglutinarea, ca regulă, apare peste 10-30 sec., pe când în picăturile, unde se testează serul cu eritrocitele standard, aglutinarea poate apărea mai târziu (la sfârșitul minutului), din cauza titrului minor de aglutinine în serul cercetat. Pe măsura apariției aglutinării, dar nu mai devreme de 3 min., în picăturile unde aceasta a apărut se adaugă câte o picătură (0,05 ml) de soluție fiziologică, se omogenizează și se urmărește reacția cu agitarea planșei până la 5 min.

Controlul și interpretarea rezultatelor reacției. Evaluarea rezultatelor obținute cu serurile și eritrocitele standard trebuie să corespundă, adică aglutinogenii și aglutininele constatate la cercetare aparțin aceleiași grupe de sânge. Pot fi posibile patru variante (tab. A3.2).

1. Reacția pozitivă a serului cercetat cu eritrocitele standard ale grupelor A și B indică prezența aglutininelor anti-A și anti-B, absența aglutinogenilor este marcată prin reacția negativă cu serurile standard izohemaglutinante. Aceste fenomene sunt caracteristice grupei de sânge 0.

2. În cazurile când eritrocitele standard ale grupei B sunt aglutinate de serul cercetat, iar eritrocitele pacientului – de serurile standard izohemaglutinante ale grupelor 0 și B, grupa nativă de sânge este A.

3. Dacă cu ajutorul eritrocitelor standard se identifică aglutinina anti-A, iar cu serurile standard – aglutinogenul B, putem afirma că sângele cercetat aparține grupei B.

4. În caz că serul cercetat nu aglutinează eritrocitele standard ale celor trei grupe, iar cu ajutorul serurilor standard constatăm prezența aglutinogenilor A și B pe eritrocitele individului, atunci se prezumă prezența grupei de sânge AB. Pentru excluderea aglutinării nespecifice utilizăm serul de control al grupei AB. În cazul dat reacția va fi negativă.

Determinarea grupelor de sânge cu ajutorul anticorpilor monoclonali anti-A, anti-B și anti-AB

Anticorpii monoclonali sunt destinați pentru aprecierea grupelor de sânge în locul serurilor standard izohemaglutinante. Testarea grupei sangvine se efectuează în sângele nativ cu și fără conservant, inclusiv colectat din deget. Se utili-

zează metoda de hemaglutinare pe planșe. Pe planșă se indică numele, prenumele individului, simbolurile grupelor sangvine. Metodologia reacției cu anticorpi monoclonali este reflectată de tab. A3.3.

Materialele necesare și condițiile de testare sunt similare celor prezentate în compartimentul anterior.

Tehnica de lucru. Pe planșă se indică numele, prenumele celui investigat și specificitatea reactivilor, ulterior picurăm câte o picătură mare (0,1 ml) de reagenți cu anticorpi monoclonali anti-A, anti-B și anti-AB, alături aplicăm o picătură mică de sânge cercetat (0,03 ml), amestecăm picăturile cu baghete, omogenizăm conținutul picăturilor prin înclinarea planșei. În cazurile reacției pozitive constatăm o aglutinare a eritrocitelor după 3-6 sec., care, sub formă de agregate roșii, se adună rapid în aglutinate mari. La reacția negativă, picătura rămâne difuz colorată în roșu fără aglutinate, dar reacția se va urmări timp de 3 minute, fiind posibilă aglutinarea tardivă a eritrocitelor care conțin aglutinogeni A și B slab exprimați.

Controlul și interpretarea rezultatelor reacției. Aprecierea și interpretarea rezultatelor reacției de hemaglutinare a eritrocitelor cu reagenții ce includ anticorpi monoclonali sunt redate în tab. A3.3. În absența aglutinării cu anticorpii monoclonali anti-A, anti-B și anti-AB, se conchide lipsa aglutininogenilor A și B și apartenența sângelui cercetat la grupa 0. Dacă s-a constatat hemaglutinarea cu anticorpii monoclonali anti-A și anti-AB, se deduce prezența aglutinogenului A în eritrocite și deci apartenența sângelui cercetat la grupa A.

Tabelul A3.3

Interpretarea rezultatelor reacției de hemaglutinare cu reagenții monoclonali

Rezultatul reacției cu anticorpii monoclonali			Apartenența de grupă a sângelui cercetat
anti-A	anti-B	anti-AB	
-	-	-	0
+	-	+	A
-	+	+	B
+	+	+	AB

Agglutinarea eritrocitelor cu anticorpii monoclonali anti-B și anti-AB denotă prezența pe eritrocitele cercetate a aglutinogenului B și apartenența lor la sângele de grupa B.

Dacă eritrocitele se aglutinează cu anticorpii monoclonali anti-A, anti-B și anti-AB, se constată prezența ambilor aglutinogeni (A și B) în eritrocitele cercetate și apartenența sângelui la grupa AB.

Pentru a exclude aglutinarea spontană nespecifică a eritrocitelor amestecăm o picătură mare de soluție fiziologică (0,1 ml) cu o picătură mică (0,01 ml) de

sânge al pacientului. Absența aglutinării în această probă martor confirmă corectitudinea reacției. În cazul aglutinării spontane este necesară determinarea repetată a grupei sangvine, folosind eritrocitele pacientului după o spălare cu soluție fiziologică (centrifugare la 1500-2000 rot./min. timp de 5-10 min.).

Surse de erori. Cauzele diferitor erori în testarea grupei sangvine după sistemul AB0 pot fi de caracter divers: nerespectarea tehnicii reacției, calitatea insuficientă a ingredientelor utilizate și particularitățile individuale ale sângelui cercetat. Printre cauzele erorilor tehnice mai frecvente se atestă: marcarea incorectă a tuburilor cu sângele pentru cercetare de la diferiți indivizi; amplasarea incorectă a serurilor izohemaglutinante sau anticorpilor monoclonali pe planșă, înregistrarea incorectă a rezultatelor testării, nerespectarea tehnicii de cercetare (coraportul incorect al serului și eritrocitelor cercetate, utilizarea serurilor și reagenților cu termen expirat, reducerea termenului de monitorizare a reacției, efectuarea cercetării la temperaturi de sub 15°C și peste 25°C pot conduce la apariția reacției fals-negative).

Erorile definite de utilizarea reactivilor de calitate insuficientă:

- aviditatea minoră a anticorpilor serurilor standard poate determina un rezultat fals-negativ la identificarea aglutinogenilor și conchiderea incorectă despre apartenența de grupă sangvină;
- spectrul redus al specificității anticorpilor anti-A al unor serii de reagenți monoclonali și seruri izohemaglutinante, care nu interacționează cu toate variantele antigenice A și definesc absența aglutinării cu unele mostre de eritrocite cercetate, care conțin antigenul A2.

Erorile definite de particularitățile individuale ale antigenilor eritrocitari AB0:

- cantitatea și amplasarea determinantelor antigenice pentru aglutinogenii A și B de pe eritrocitele diferitor indivizi variază, variantele lor reflectând astfel activitatea interacțiunii eritrocitelor cu anticorpii serurilor standard la testarea grupei sangvine;
- modificarea expresivității antigenice sau dispariția determinantelor antigenice eritrocitare (pacienții cu tumori și leucemie). Cauza posibilă a acestor modificări nu este elucidată complet, dereglarea sintezei transferazelor care asigură formarea determinantelor antigenice A și B ar avea un rol în acest proces.

Rigorile ce se impun la testarea grupei sangvine:

1. Utilizarea reagenților de calitate.
2. Recoltarea sângelui și aprecierea apartenenței de grupă se efectuează dublu, operând de fiecare dată cu două serii de seruri sau anticorpi monoclonali.
3. Cercetarea trebuie realizată prin metoda încrucișată. Nu se admite utilizarea eritrocitelor A și B recoltate de la persoane sporadice, se utilizează numai eritrocite standard.

4. Utilizarea serului izohemaglutinant AB pentru controlul specificității reacției de aglutinare.

5. Sângele pentru cercetare se recoltează de la pacient până la hemotransfuzie, dat fiind faptul că transfuzia de sânge incompatibil sau a unui mare volum de componente sangvine de la persoanele cu grupa 0 poate conduce la concluzii incorecte despre apartenența de grupă sangvină.

6. Sângele pentru cercetare se recoltează până la transfuzia soluțiilor substituente de plasmă pentru excluderea erorilor induse de aglomerarea eritrocitelor în „stâlpușori numulari”.

7. Cercetarea atentă a diagnosticului pacientului.

8. Verificarea zilnică a calității reagenților utilizați cu înregistrarea rezultatelor.

9. Participarea în controlul extern al calității.

Tactica aprecierii apartenenței de grupă în cazurile aglutinării nespecifice și autoaglutinării:

1. Testarea repetată a grupei sangvine cu utilizarea altor serii de eritrocite și seruri izohemaglutinante standard.

2. Aprecierea aglutinogenilor eritrocitari în hematiile spălate în prealabil cu soluție fiziologică.

3. Utilizarea obligatorie a serului standard AB.

4. Excluderea posibilității autoaglutinării.

Determinarea corectă a grupei sangvine atât la pacienți, cât și la donatori este una dintre verigile de suport în asigurarea securității și inofensivității transfuzionale.

Instrucțiunea privind testarea apartenenței Rhesus

Sistemul Rhesus conține 5 antigeni eritrocitari: D, C, c, E, e, care pot fi testați prin utilizarea serurilor cu anticorpii respectivi. Antigenul „d”, ipotetic serologic, nu se apreciază. Există, de asemenea, și alte variante de antigeni ai sistemului Rhesus: D^w, C^v, G etc. Frecvența înregistrării antigenilor sistemului Rhesus variază de la 30% până la 97,5% (D – 85%, C – 70%, c – 80%, E – 30%, e – 97,5%). Aceștia induc sinteza de anticorpi izoimuni. Imunogenitate majoră manifestă antigenul D, numit și factorul Rhesus. În 95% din cazuri el este cauza maladii hemolitice a nou-născuților la incompatibilitatea dintre mamă-făt, precum și a complicațiilor posttransfuzionale severe. Persoanele care posedă antigenul D se referă la categoria Rhesus pozitiv, iar cei care n-au acest antigen – la Rhesus negativ. Diferite aranjamente ale antigenilor sistemului Rhesus formează 28 de grupe, dintre care 14 conțin factorul D (Rhesus-pozitivi), iar celelalte 14 nu conțin acest antigen, fiind Rhesus-negativi. Testarea apartenenței Rhesus se efectuează de un medic cu pregătire specială în domeniul izoimunologiei. Pentru cercetarea recipientilor se utilizează ser standard sau anticorpi monoclonali anti-D cu evidențierea celor Rhesus-pozitivi (Rh+) și Rhesus-negativi (Rh-). Spre deosebire de recipienti, la donatori testarea apartenenței de grupă Rhesus se realizează în două etape: primar sângele donatorului se cercetează cu serul standard sau reagent monoclonal anti-D, ulterior cei care au demonstrat reacție negativă sunt cercetați suplimentar cu serurile standard anti-Rhesus, care conțin anticorpi anti-C, -E, -c, -e. Anticorpii anti-C și anti-E pot fi prezenți în ser separat și în diverse combinații cu anticorpii anti-D, de exemplu: anti-D+C, anti-D+E sau anti-D+C+E. Donatorii Rhesus-negativi sunt cei care au dat rezultate negative cu toate serurile, adică nu conțin antigenii D, C, E, c, e. Rezultatele examinării donatorului și sângelui donat se documentează în cartela donatorului, în fișa de evidență a rezultatelor examinărilor de laborator a sângelui donat cu indicarea datei și semnătura persoanei care a efectuat această examinare. Rezultatele investigațiilor efectuate la bolnavi se vor documenta în fișa medicală a bolnavului cu indicarea datei și semnătura persoanei care a efectuat această examinare. Sângele pentru cercetare se colectează în volum de 2-5 ml într-un tub marcat preventiv cu numele, prenumele celui investigat. Recoltarea materialului pentru investigație este posibilă cu sau fără utilizarea anticoagulantului. După coagularea sângelui pentru care nu s-a utilizat anticoagulant, la fundul tubului rămân eritrocite libere care ulterior sunt folosite pentru cercetare. La utilizarea soluției de 5% citrat de sodiu (0,25 ml la 1 ml sânge), eritrocitele, până la utilizare, se spală cu soluție fiziologică de 3 ori prin centrifugare la 1500-2000 rot./min., timp

de 10 min. Pentru a putea opera cercetări ulterioare se admite păstrarea sângelui timp de 48-72 de ore la temperatura de 2-8°C. În perioada temperaturilor ridicate termenul de păstrare a sângelui pentru cercetare se reduce până la 24 ore. Zilnic, la fiecare testare este necesar un control al specificității și activității serului anti-Rhesus standard cu utilizarea eritrocitelor standard Rhesus-pozitive grupa 0 sau de aceeași grupă sangvină după sistemul AB0, precum și a sângelui cercetat și eritrocitelor standard Rhesus-negative. În prealabil, eritrocitele sunt spălate cu soluție fiziologică până la absența urmelor de sânge în supernatant. Din sedimentul de eritrocite spălate se pregătește o suspensie de 2%, pentru care se ia o picătură de eritrocite într-un tub marcat, care conține 49 de picături de soluție fiziologică, se amestecă minuțios conținutul și se utilizează pentru cercetare. Serurile standard anti-Rhesus pot conține anticorpi compleți și incompleți, care manifestă activitate diversă în anumite condiții, ceea ce va defini și metoda de utilizare a serului standard (predestinația serului este indicată în instrucția de însoțire a producătorului).

Determinarea factorului Rhesus cu ser anti-Rhesus standard

Testarea factorului Rhesus se realizează în mediul salin și cu utilizarea gelatinei. Testul de aglutinare în mediu salin este eficient doar pentru investigare cu seruri ce conțin anticorpi anti-Rhesus compleți. Determinarea factorului Rhesus se efectuează cu două serii de ser anti-Rhesus standard, luându-se în considerare specificitatea de grupă după sistemul AB0. Serul anti-Rhesus de grupa 0 poate fi utilizat pentru determinarea factorului Rhesus în eritrocitele de grupa 0, serul de grupa A – pentru aprecierea factorului dat în hematiile grupelor 0 și A, serul anti-Rhesus de grupa B – pentru eritrocitele grupelor 0 și B, iar serul de grupa AB – pentru determinarea factorului Rhesus în hematiile tuturor grupelor de sânge. Pentru controlul specificității și activității serului anti-Rhesus, ca martor sunt folosite eritrocitele standard Rhesus-pozitive de grupa 0 sau de grupa identică cu grupa sangvină cercetată, precum și eritrocitele standard Rhesus-negative de grupa 0 sau de aceeași grupă cu sângele cercetat după sistemul AB0.

Materiale necesare: tuburi cu lungimea de 2-2,5 cm și diametrul de 0,5-0,6 cm, stative, două serii de ser standard anti-D cu anticorpi compleți, soluție fiziologică, sânge pentru cercetare, eritrocite standard Rh+ și Rh- pentru control, termostat (37°C), centrifugă, lupă (2-4x) etc.

Tehnica de lucru. În stativ se montează două rânduri de tuburi (conform numărului de eritrocite pentru cercetare și câte două eprubete pentru control). Stativul este acoperit cu o foaie de hârtie albă în care se fac găuri pentru instalarea tuburilor. Lângă fiecare pereche de tuburi pe hârtie se notează numele, prenumele individului cercetat. În toate tuburile primului rând se introduce

câte o picătură (0,05 ml) de ser anti-Rhesus – prima serie, iar în tuburile din rândul doi – câte o picătură (0,05 ml) de ser anti-Rhesus – seria a doua. În toate tuburile perechi se adaugă câte o picătură (0,05 ml) de soluție fiziologică. În tuburile marcate corespunzător se introduce câte o picătură (0,05 ml) suspensie de 2% eritrocite cercetate, iar în tuburile pentru control – câte o picătură (0,05 ml) suspensie de 2% eritrocite standard Rh+ și Rh-. Conținutul tuburilor este agitat minuțios, după care stativul va fi incubat în termostat la temperatura +37°C timp de o oră. După expirarea timpului de incubare, tuburile pot fi lăsate la temperatura camerei pe 1,5-2 ore până la controlul rezultatelor.

Controlul și interpretarea rezultatelor reacției se efectuează cu ajutorul unei lupe la o sursă de lumină acoperită cu o sticlă mată. Se apreciază prezența sau absența aglutinării hematiilor ce se manifestă printr-un sediment de diferite forme. În cazul reacției pozitive, sedimentul eritrocitar se așază în strat neuniform la fundul tubului, unde se disting structuri rugoase, spongioase, granulare. Marginea sedimentului este neregulată, uneori sunt suprapuse spre centru. În unele cazuri, eritrocitele sunt amplasate în formă de coroană ondulată, care spre partea centrală este mai pală. La reacția negativă, sedimentul eritrocitar este prezentat printr-un strat uniform în formă de cerc cu marginile bine conturate. Diametrul acestuia la reacția negativă este întotdeauna mai mic decât la reacția pozitivă. Eritrocitele care au fost aglutinate de anticorpii serului anti-Rhesus sunt apreciate ca Rhesus-pozitive, iar cele care n-au fost aglutinate cu acest ser sunt specificate ca Rhesus-negative. Ambele serii de ser anti-Rhesus trebuie să demonstreze rezultate identice. Probele martor confirmă specificitatea și activitatea serului anti-Rhesus, adică absența aglutinării cu hematiile Rhesus-negative standard ale grupului identic și prezența aglutinării cu eritrocitele Rhesus-pozitive de aceeași grupă sau de grupa 0. În cazurile în care eritrocitele dau o reacție slab pronunțată, este necesară o cercetare suplimentară cu câteva serii de ser anti-Rhesus cu o activitate mai înaltă sau se utilizează o altă metodă. La determinarea factorului Rhesus la donatori este insuficientă diferențierea lor în Rhesus-pozitivi și Rhesus-negativi cu ajutorul serului anti-D. Sunt necesare cercetări suplimentare cu serurile anti-C, -E, -c, -e. Donatori Rhesus-negativi sunt persoanele care au dat rezultat negativ cu toate serurile standard, adică eritrocitele lor nu conțin niciunul din antigenii enumerați. La utilizarea serurilor standard anti-C sau anti-E, aglutinarea eritrocitelor indică prezența acestor antigeni pe membrana hematiilor. Ca martor pozitiv, se folosesc eritrocite standard care conțin respectivii antigeni: C și/sau E, c, e.

Controlul specificității. Pentru realizarea controlului de specificitate și activitate în fiecare serie de eritrocite se vor include eritrocite de grupa 0 Rhesus-pozitiv și Rhesus-negativ standard.

Testarea apartenenței Rhesus în reacția cu gelatină

Reacția de conglutinare cu gelatină este relevantă în cazul serurilor standard care conțin anticorpi anti-Rhesus incompleți. Determinarea factorului Rhesus se efectuează cu două serii de seruri anti-Rhesus standard. În acest caz se ține cont de specificitatea de grupă a serului anti-Rhesus după sistemul AB0. Cu ajutorul serului anti-Rhesus grupa 0 se determină factorul Rhesus numai în eritrocitele de grupa 0, cu serul anti-Rhesus grupa A se determină factorul Rhesus numai în eritrocitele grupelor 0 și A, cu serul anti-Rhesus de grupa B se apreciază factorul Rhesus numai din eritrocitele grupelor 0 și B, și cu serul anti-Rhesus grupa AB și cu cea „universală” se cercetează eritrocitele grupei AB și ale altor grupe. Ca martor, se utilizează hematii standard Rhesus-pozitive de grupa 0 sau de grupa corespondentă celei cercetate și eritrocite standard Rhesus-negative, obligativ de grupa 0 sau identică sângelui cercetat.

Materiale necesare: eprubete pentru centrifugare (10 ml), stative, sânge de examinat, hematii Rhesus-pozitive și Rhesus-negative standard, gelatină (10%), termostat (46-48°C), ser anti-Rhesus (două serii), baie de apă, soluție fiziologică (0,9%), lupă (2-4x) etc.

Tehnica de lucru. Într-un stativ se instalează trei rânduri de tuburi de centrifugare cu volumul de 10 ml (în fiecare rând, conform numărului de probe cercetate, și câte două eprubete suplimentar pentru control). Se notează numele, prenumele pe toate 3 tuburi. În eprubete se introduce câte o picătură (0,05 ml) de eritrocite pentru cercetare, iar în trei eprubete pentru control câte o picătură (0,05 ml) de eritrocite Rhesus-pozitive standard, în celelalte două eprubete pentru control câte o picătură (0,05 ml) de eritrocite Rhesus-negative standard. În toate eprubetele adăugăm câte două picături (0,1 ml) soluție de 10 % gelatină încălzită în prealabil la termobaie cu temperatura de 46-48°C. În eprubetele din primul rând adăugăm câte două picături (0,1 ml) de ser anti-Rhesus – prima serie, iar în tuburile din rândul doi-câte două picături (0,1 ml) de ser anti-Rhesus – seria a doua. Rândul trei este martor pentru o eventuală autoaglutinare. Conținutul tuburilor se agită, apoi se incubează în baia de apă la temperatura 46°C-48°C timp de 15 min. sau în termostat la aceeași temperatură timp de 25-30 min. După expirarea incubării, în eprubete se adaugă câte 8-10 ml soluție fiziologică și se agită prin rotirea tuburilor de 1-2 ori.

Controlul și interpretarea rezultatelor. Eprubetele se cercetează cu ochiul liber sau cu lupa (2-4x) și se constată prezența sau absența aglutinării eritrocitelor. În caz de reacție pozitivă, aglutinatele apar sub formă de grăuncioare sau fulgi la fundul lichidului transparent și practic incolor (fig. A4.1).

În cazul reacției negative, lichidul este opalescent și colorat difuz în roz. Eritrocitele care au fost aglutinate de serul anti-D sunt apreciate ca Rhesus-pozitive,

iar cele care n-au fost aglutinate cu același ser sunt Rhesus-negative. Rezultatele trebuie să fie identice cu ambele serii de ser anti-Rhesus, iar controlul trebuie să confirme specificitatea și activitatea serului anti-Rhesus, adică absența aglutinării cu hematiile Rhesus-negative standard de aceeași grupă și prezența aglutinării cu hematiile Rhesus-pozitive standard de aceeași grupă. În tuburile rândului trei (martor) nu trebuie să fie prezentă aglutinarea. Prezența aglutinării în tuburile din rândul trei semnifică rezultatele false ale reacției și rezultatul pozitiv cu serul anti-D nu poate fi luat în considerare. În acest caz se recomandă spălarea eritrocitelor cercetate cu soluție fiziologică caldă pentru eluția autoanticorpilor și repetarea ulterioară a testului. În caz dubios se utilizează metoda aglutinării în mediul salin, folosind serurile anti-Rhesus care conțin anticorpi compleți.

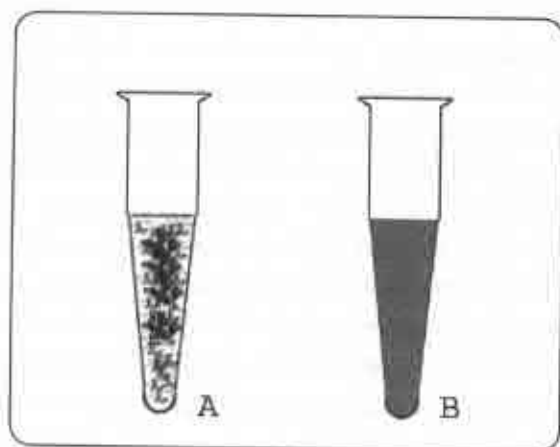


Fig. A 4.1. Aprecierea rezultatelor testării factorului Rhesus în proba cu gelatină

A – rezultat pozitiv
B – rezultat negativ

Controlul specificității. Pentru efectuarea controlului de specificitate și activitate, în fiecare serie de eritrocite se vor include eritrocite de grupa 0 Rhesus-positiv standard și Rhesus-negativ standard.

Testul de aglutinare cu reagenți monoclonali anti-Rhesus care conțin anticorpi compleți

Principiul reacției. Este destinată pentru aprecierea antigenilor sistemului Rhesus: D, C, E, c, e, cu utilizarea reagenților monoclonali anti-C, -E, -c, -e standard.

Tehnica de lucru este una obișnuită. Pe placă picurăm câte o picătură mare (0,1 ml) de anticorpi anti-D (-C, -E, -c și -e), alături aplicăm o picătură mică de sânge (0,01 ml), amestecăm picăturile, omogenizăm (2 min). În caz de reacție pozitivă, constatăm aglutinarea eritrocitelor, care, sub formă de agregate roșii, se adună rapid în aglutinate mari. În cazul reacției negative, amestecul

rămâne difuz colorat în roșu, fără semne de aglutinare. Monitorizarea reacției se efectuează timp de 3 min., considerând posibilitatea aglutinării tardive a eritrocitelor.

Controlul și interpretarea rezultatelor reacției. În cazurile în care nu se constată aglutinarea cu anticorpii anti-D (-C, -E, -c și -e), putem afirma absența antigenului D (-C, -E, -c și -e) din sângele cercetat. Dacă aglutinarea apare cu anticorpii monoclonali anti-D (C, E, -c și -e), se constată prezența antigenului D (-C, -E, -c și -e) în sângele cercetat.

Controlul specificității. Pentru efectuarea controlului de specificitate și activitate, în fiecare serie de eritrocite se vor include eritrocite de grupa 0 Rhesus-positiv standard și Rhesus-negativ standard.

Surse de erori. La testarea factorului Rhesus pot avea loc rezultate fals- pozitive și fals-negative.

Cauzele rezultatelor fals- pozitive:

- utilizarea incorectă a altui reagent;
- serul conține anticorpi de altă specificitate;
- coraportul picăturilor este incorect (o picătură prea mare de sânge);
- pe eritrocitele cercetate sunt fixați anticorpi;
- eritrocitele cercetate posedă capacitatea de poliaglutinare;
- utilizarea serurilor cu termen expirat;
- temperatura încăperii unde se efectuează reacția nu corespunde celei optime (+15 ... +25°C);
- nerespectarea termenului de monitorizare a reacției.

Cauzele rezultatelor fals- negative:

- utilizarea incorectă a altui reagent;
- calitatea insuficientă a reagenților standard;
- maladii ce asociază diminuarea activității antigenice;
- absența anticorpilor în tuburi;
- agitarea prea intensivă a tuburilor;
- utilizarea reagenților standard cu termen expirat de valabilitate;
- nerespectarea regimului termic;
- nerespectarea regimului de monitorizare a reacției.

Instrucțiune privind determinarea anticorpilor imuni după sistemul ABO

Anticorpilor imuni apar prin imunizare (transfuzii de sânge incompatibil după grupa sangvină ABO și la gravide). La femeile gravide, hetero-specificitatea devine cauza maladiei hemolitice a fătului. Anticorpilor imuni anti-A sau anti-B sunt prezenți permanent în sângele mamei la momentul nașterii copilului. De obicei, anticorpilor anti-A și anti-B sunt de titru înalt.

La transfuzia sângelui incompatibil după grupa sangvină, anticorpilor imuni anti-A și anti-B apar, de obicei, către a 5-7 zi și ajung la titre maxime la a 15-25 zi.

Anticorpilor imuni anti-A și anti-B pot apărea sub formă de anticorpi compleți și incompleți. Ei sunt activi la $t\ 37^{\circ}\text{C}$, dar pot deveni mai activi (în titre mai crescute) dacă se aplică metoda de reacție în mediul salin. Ei pot fi determinați și în proba indirectă Coombs. Anticorpilor imuni sunt activi și rezistenți la încălzirea serului de până la $t+70^{\circ}\text{C}$ pe parcursul a 10 min. Cele mai demonstrative diferențieri între anticorpilor normali (naturali) și cei imuni anti-A și anti-B se prezintă prin comportamentul lor la acțiunea temperaturii înalte.

Determinarea anticorpilor imuni după sistemul ABO

Principiul reacției. Aglutinarea eritrocitelor asupra cărora acționează anticorpilor antieritocitari se manifestă prin formarea de hemoaglutinate – grunji distinși cu ochiul liber. Reacția se desfășoară în soluție fiziologică, care se folosește pentru determinarea grupelor de sânge.

Materiale necesare: plăci cu godeuri din sticlă, metal, ceramică sau material plastic, pipete, baghete de sticlă, soluție fiziologică, eritrocite standard de grupele A, B, taimer, eprubete de 2-2,5 cm înălțime și cu fund rotund, termostat, baie de apă, centrifugă, stative etc.

Tehnica de lucru. Eritrocitele standard ale grupelor A și B sunt spălate de trei ori cu soluție fiziologică de NaCl 0,9% prin centrifugare la 1000 rot./min. timp de 10 min., după care din sediment se prepară o suspensie de 2%. Serul de cercetat, în volum de 0,5-1 ml, este diluat de patru ori cu soluție de 0,9% NaCl pentru a evita coagularea la încălzire; volumul obținut este repartizat egal în două tuburi: unul dintre acestea va fi încălzit la $t\ 70^{\circ}\text{C}$ timp de 10 min., astfel avem ser nativ și ser încălzit, fiecare fiind diluat 1:4. La cercetarea serului de grupa A sau B, în stativ se montează un șir de eprubete mici (12 buc.), ale serului de grupa 0 – două rânduri câte 12 tuburi. Stativul este acoperit cu o foaie de hârtie în care se fac găuri pentru instalarea tuburilor. Pe hârtie se notează numele,

prenumele și grupa sangvină a individului cercetat, grupa eritrocitelor standard și la fiecare tub – diluția serului în tub (1:4, 1:8, 1:16 până la 1:8000). În toate tuburile fiecărui rând, începând cu al doilea, introducem două picături de soluție de NaCl 0,9%. Apoi în prima și a doua eprubetă se toarnă câte două picături de ser nativ pregătit, cu diluția 1:4. În tubul doi al fiecărui rând, serul se amestecă cu soluție izotonică NaCl, apoi 2 picături ale acestui amestec se transferă în al treilea tub, după agitare – din al treilea în al patrulea etc., până la ultimul, din care eliminăm 2 picături. Astfel, în tuburi obținem diluții ale serului nativ de la 1:4 până la 1:8000.

Pe un alt stativ, sunt pregătite identic diluțiile serului încălzit (de regulă sunt suficiente 6 tuburi). În diluțiile serului din toate tuburile se adaugă câte o picătură din suspensia de 2% eritrocite de grupe opuse standard: în cazul serului de grupa B se folosesc eritrocitele A, în cazul serului de grupa A – eritrocite de grupa B, în cazul serului de grupa 0 într-un șir de eprubete se adaugă eritrocite de grupă A, în alt șir de eprubete – eritrocite de grupa B. Conținutul tuburilor este agitat după ce stativele sunt lăsate în repaus timp de 1oră: cele cu ser nativ la temperatura camerei, iar cele cu ser încălzit – la 37°C.

Controlul rezultatelor este efectuat cu o lupă (6-8x) deasupra unei surse de lumină. În cazul reacției pozitive, sedimentul apare sub aspect de ghemuri, neuniform, cu margini îndoite, uneori rulate spre interior. În reacția negativă, sedimentul eritocitar este repartizat uniform, la fundul tubului, în formă de cerc bine conturat. Prezența aglutinării semnifică existența Ac compleți, iar ultima diluție în care se constată este titrul ei.

Titrul Ac în serul nativ se referă la aglutininele naturale anti-A și anti-B, titrul Ac în serul încălzit – la Ac imuni anti-A sau anti-B. În caz de reacție pozitivă în toate tuburile, examenul trebuie repetat cu diluarea ulterioară a serului. Rezultatul negativ în toate tuburile cu ser încălzit semnifică absența Ac imuni compleți.

Determinarea anticorpilor incompleți cu ajutorul probei Coombs indirectă

La cercetarea serului de grupele A și B, în stativ se aranjează 6 eprubete: la cercetarea serului de grupa 0 – două rânduri de eprubete câte 6 la număr. Eprubetele se numerotează. Stativul prealabil se acoperă cu o foaie de hârtie curată, unde se vor marca inițialele indivizilor cercetați și grupa de sânge. În toate eprubetele, începând cu nr. 2, se toarnă câte 3 picături de soluție de NaCl 0,9%, apoi în eprubetele nr. 1 și nr. 2 – câte 3 picături de ser cercetat prealabil, încălzit, după care urmează diluarea lui, la fel ca mai sus (metoda salină), dar în volumul a trei picături.

În toate eprubetele se adaugă cu pipeta câte o picătură mică (0,01 ml) de eritrocite de grupa adversă. Se amestecă serul cu eritrocite și stativul se introduce în termostat pentru 45 min. la $t+37^{\circ}\text{C}$. Aceste condiții permit fixarea anticorpilor imuni pe eritrocite. După incubare în eprubete se adaugă soluție de NaCl 0,9% până la 2/3 din eprubetă. Eritrocitele se amestecă și se pun la centrifugare, după care se separă lichidul supernatant. Procedura de spălare se repetă de 3 ori (folosind eprubete de 10 ml, este suficientă dubla spălare).

După spălare, în fiecare eprubetă se adaugă câte 3-5 picături de soluție NaCl de 0,9% pentru a se obține suspensie de eritrocite de 5%, din care ulterior se va separa câte o picătură ce se trece pe o placă albă. La fiecare picătură se adaugă câte o picătură de ser pentru proba Coombs și se amestecă cu o bagheta de sticlă. Se urmărește rezultatul pe parcursul a 10 min., agitând periodic placa.

Controlul reacției. Se apreciază rezultatul după prezența sau lipsa aglutinării, care se observă cu ochiul liber. Rezultatele se înscriu pe hârtia de lângă fiecare eprubetă cu semnul plus (+) sau minus (-). Prezența aglutinării anunță prezența anticorpilor imuni incompleți, dar ultima diluție ne indică titrul acestora. În cazul când aglutinarea se observă în toate eprubetele, cercetarea se va repeta, iar diluțiile se vor continua. Un rezultat negativ în toate eprubetele certifică lipsa anticorpilor imuni în formă incompletă în serurile cercetate.

Interpretarea rezultatelor

La descrierea rezultatelor cercetărilor se determină trei forme de 3 anticorpi: anticorpi normali compleți – aglutinine termolabile; anticorpi imuni compleți – anti-A și anti-B termostabili; anticorpi normali incompleți – anti-A și anti-B termostabili.

Rezultatul final se deduce după aprecierea rezultatelor tuturor cercetărilor:

a) prezența anticorpilor imuni (termostabili) compleți sau incompleți denotă pătrunderea în organismul uman a antigenilor incompatibili după sistemul AB0. Titrul acestor anticorpi, de obicei, este mai mic decât al celor normali (naturali) și foarte rar aceștia ating indicatorul 1:8 pentru anticorpii imuni compleți și de 1:32 – pentru anticorpii imuni incompleți;

b) prezența anticorpilor normali compleți (de la 1:128 și mai mult în această metodă de cercetare) și lipsa anticorpilor imuni incompleți (termostabili) la momentul cercetării demonstrează starea de sensibilizare față de antigenii sistemului AB0 în organismul individului cercetat;

c) lipsa anticorpilor imuni (termostabili) anti-A și anti-B la titrele de anticorpi normali compleți (de maximum 1:128 prin această metodă de cercetare) ne demonstrează că organismul individului la momentul cercetării nu prezintă starea de izoimunizare cu antigenii sistemului AB0.

Instrucțiune privind determinarea anticorpilor anti-Rhesus în serul uman

Anticorpilor anti-Rhesus se referă la anticorpilor imuni și apar în sângele persoanelor Rhesus-negative numai în condiții care contribuie la formarea anticorpilor: inocularea sângelui Rh⁺ persoanei Rhesus-negative sau la gravidele Rhesus-negative și făt cu Rhesus-pozitiv.

Determinarea anticorpilor anti-Rhesus, concomitent cu determinarea Rhesus apartenenței bolnavului și donatorului, se efectuează pentru a preveni transfuzia de sânge incompatibil după sistemul Rhesus și pentru a diagnostica boala hemolitică la nou-născuți. Determinarea anticorpilor anti-Rhesus se efectuează și la prepararea materialului pentru pregătirea serului anti-Rhesus.

Deosebim anticorpi anti-Rhesus:

1. *După specificitate:* anti-D, anti-C, anti-c, anti-E și anti-e.

2. *După formă:* compleți și incompleți.

Specificitatea anticorpilor se testează cu unul din antigenii Rhesus, cu care reacționează. Forma anticorpului se depistează prin modul de interacțiune cu eritrocitele, ce conțin antigenul Rhesus specific. Anticorpilor compleți reacționează cu antigenul Rhesus al eritrocitelor, generând aglutinarea acestor eritrocite în reacția salină. Anticorpilor incompleți în aceste condiții numai sensibilizează eritrocitele, dar nu le aglutinează, această reacție nefiind vizibilă. Pentru aprecierea reacției dintre anticorpilor Rhesus incompleți și eritrocite sunt necesare anumite condiții sau utilizarea serului antiglobulinic Coombs.

Diferite metode de determinare a anticorpilor anti-Rhesus necesită diverse condiții de temperaturi optime.

Metoda de apreciere a anticorpilor anti-Rhesus incompleți în ser cu folosirea gelatinei

Principiul metodei este bazat pe aglutinarea eritrocitelor Rhesus-pozitive de către Ac incompleți anti-Rhesus în mediul coloidal. Testul este folosit pentru identificarea Ac incompleți anti-Rhesus și la aprecierea titrului lor în serul pentru cercetare.

Recoltarea sângelui se poate realiza cu 2-3 zile înainte de cercetare în volum de 1-3 ml. Tuburile sunt numerotate cu indicarea numelui, prenumelui, grupei și apartenenței Rhesus a individului cercetat. Eritrocitele de la fundul tubului sunt folosite pentru cercetare; dacă cantitatea lor este insuficientă, atunci e posibilă agitarea coagulatului pentru obținerea unei cantități suplimentare de eritrocite.

Sângele poate fi recoltat și cu citrat de sodiu, dar, în acest caz, eritrocitele trebuie în prealabil spălate cu soluție fiziologică.

Materialele necesare: tuburi cu înălțimea de 2-2,5 cm și diametrul de 0,5-0,6 cm, stative, soluție fiziologică, sânge de cercetat, eritrocite standard Rhesus- pozitive și Rhesus-negative, termostat, centrifugă etc.

Tehnica de lucru. În stativ se instalează un șir de eprubete numerotate conform numărului tipurilor de eritrocite cu care va fi controlat serul pentru cercetare. În eprubete se introduce câte o picătură (0,05 ml) de eritrocite standard, câte două picături (0,1 ml) de gelatină (10%) care în prealabil a fost încălzită la temperatura de $+46^{\circ}\text{C}$ $+48^{\circ}\text{C}$. Dacă soluția de gelatină este tulbure sau conține fulgi, sau pierde capacitatea de a se încheaga la temperatura de $+4^{\circ}\text{C}$ $+8^{\circ}\text{C}$, ea nu poate fi folosită în cercetare. În toate tuburile se introduc câte două picături (0,1 ml) de ser de cercetat, apoi tuburile se agită pentru a amesteca conținutul și sunt incubate în baia de apă la temperatura de $+46 \dots +48^{\circ}\text{C}$ timp de 10 minute sau în termostat timp de 45 de minute. După aceasta, în tuburi se introduc câte 5-8 ml soluție izotonică de NaCl. Conținutul se agită prin rotirea tuburilor (1-2 ori).

Rezultatul se verifică după prezenta sau absența aglutinării eritrocitelor cu ochiul liber sau cu ajutorul lupei (2x). Prezența aglutinării în tuburile cu eritrocite Rhesus- pozitive și absența aglutinării în cele cu eritrocite Rhesus- negative și proprii indică prezența anticorpilor incompleți anti-Rhesus în serul cercetat. Absența aglutinării cu toate felurile de eritrocite indică că anticorpii incompleți anti-D, C și E, de asemenea, anti-c și anti-e n-au fost evidențiați.

Titarea serului ce conține anticorpi incompleți anti-Rhesus

În stativ sunt instalate 10 eprubete cu notarea diluției 1:2; 1:4; 1:8 etc. până la 1:1024, în care introducem câte două picături (0,1 ml) de soluție fiziologică. În primul tub introducem două picături (0,1 ml) de ser de cercetat și, după agitare, transferăm două picături în al doilea tub, din al doilea – în al treilea și așa mai departe până la ultimul tub din care aruncăm două picături. Astfel, în tuburi obținem diluția serului de la 1:2 până la 1:1024. În toate tuburile adăugăm câte o picătură (0,05 ml) de amestec de eritrocite obținute de la 4-5 donatori Rhesus- pozitivi și preparate după cum a fost expus mai sus, câte două picături (0,1 ml) de gelatină (10%) în prealabil încălzită până la fluidificare în apă caldă la temperatura de $+46+48^{\circ}\text{C}$. Tuburile se agită și apoi se incubează în baia de apă la $t +45+48^{\circ}\text{C}$ timp de 10 minute sau în termostat

timp de 45 de minute. După aceasta, în tuburi se adaugă câte 5-8 ml soluție fiziologică și se urmărește rezultatul reacției. Ultima diluție în care se observă aglutinarea este considerată ca titru al Ac incompleți anti-Rhesus identificați. Dacă se observă aglutinarea eritrocitelor în toate diluțiile serului, atunci titrul anticorpilor anti-Rhesus este mai mare de 1:1024. În acest caz, cercetarea se repetă cu diluția serului în continuare.

Testul Coombs indirect este, de asemenea, utilizat pentru detecția Ac anti-Rh incompleți în serul de cercetat.

Materiale necesare: ser de cercetat, eritrocite standard de grupa AB0 și Rh cunoscut (2 probe cu Rh- și 3 probe cu Rh+, ser antiglobulinic, soluție de NaCl de 0,9%, eprubete, pipete Pasteur, centrifugă, termostat, stative etc. Eritrocitele standard sunt spălate de 3 ori cu o soluție fiziologică prin centrifugarea la 1 000 rot./min. timp de 10 min.

Tehnica de lucru. Într-un șir de eprubete numerotate se introduc câte 6 picături din serul de cercetat, la care se adaugă câte una-două picături din o suspensie standard (50-100%), în cele de cercetare – eritrocite Rh+, în cea martor – eritrocite Rh-. Eprubetele se agită și sunt apoi incubate la 37 °C timp de 45 min. Dacă în serul de cercetat sunt Ac anti-Rh incompleți, atunci ei se vor fixa pe eritrocitele Rh+. După incubare, în tuburi se adaugă soluție fiziologică (2/3 de tub); conținutul este amestecat și centrifugat de 3 ori la 1000 rot./min. timp de 10 min. Din sedimentul eritrocitelor se prepară o suspensie de 5% eritrocite cu soluție fiziologică care este utilizată ulterior în reacție. O picătură din suspensia pregătită din fiecare tub este transferată pe o lamă de porțelan alb și la fiecare picătură se adaugă câte o picătură de ser antiglobulinic. Picăturile se amestecă cu o baghetă de sticlă; lama este agitată prin înclinări repetate, urmărindu-se timp de 20 min.

Controlul reacției. Prezența aglutinării în picăturile cu eritrocite Rh+, absența ei la cele Rh- și la eritrocite proprii indică prezența Ac anti-Rh incompleți în serul de cercetat. Aglutinarea are loc, de obicei, în primele 30-60 de secunde, dar la un titru mic de anticorpi anti-Rh aceasta poate apărea mult mai târziu. Absența aglutinării cu toate tipurile de eritrocite utilizate denotă lipsa Ac anti-Rh incompleți în serul cercetat.

Fenomenul de „zonă”. Utilizarea serurilor native sau a celor cu concentrații mari de Ac, dar insuficient diluate poate să nu dea aglutinare cu eritrocitele Rh+. Pentru excluderea fenomenului de „zonă”, serul trebuie diluat 1:8 sau 1:16, iar uneori și mai mult. În aceste diluții, Ac anti-Rh devin activi și aglutinează eritrocitele Rh+.

Surse de erori:

- prezența Ac compleți în ser (în cazul dat vom avea aglutinare în proba mar-tor);
- infectarea serului;
- prezența urmelor de soluții de coloizi, a sărurilor de siliciu, care apar după frecarea puternică a suprafețelor de sticlă sau a eprubetelor rău prelucrate;
- contaminarea soluției fiziologice cu ioni de metale grele;
- raportul necorespunzător dintre ser și eritrocite;
- păstrarea îndelungată a hematiilor;
- neglijarea perioadei de incubație.