

IMMUNOLOGIAREN OINARRIAK

1. AURKIBIDEA

2. GLOSARIO

3. LABURDURAK

4. IMMUNITATE-SISTEMA

- a. EGITURA
- b. LINFA-SISTEMAREN ZELULAK
- c. ZELULEN TRAFIKOA

5. ANTIGENOAK ETA ANTIGENOEN HARTZAILE ESPEZIFIKOAK

- a. ANTIGENOAK
- b. IMMUNOGLOBULINAK
- c. B LINFOZITOEN HARTZAILE ESPEZIFIKOA (BCR)
- d. T LINFOZITOEN HARTZAILE ESPEZIFIKOA (TCR)

6. LINFOZITOEN AKTIBAZIOA

- a. ANTIGENOAREN AURKEZPENA ETA EZAGUTZA.
- b. LINFOZITOAREN KLON ESPEZIFIKOAREN HEDAPENA EDO UGALKETA
- c. ZELULA EFEKTORETAN DESBERDINTZEA

7. DEFENTSA-MEKANISMO EFEKTOREAK

- a. KANPOKO HESIAK
- b. MAKANISMOA EFEKTOREAK
- c. KONPLEMENTUA
- d. FAGOZITOSIA
- e. FASE AKUTUAREN ERREAKZIOAK
- f. NK ZELULEN ZITOTOXIKOTASUNA
- g. ANTIGORPUTZAK
- h. T_H1 ZELULA EFEKTOREAK.
- i. T_C LINFOZITOEN ZITOTOXIKOTASUN ESPEZIFIKOA
- j. INFEKZIOAREN AURREKO ERANTZUNANA

8. IMMUNITATE-ERANTZUN DESEGOKIAK

- a. IMMUNOESKASIAK
- b. HIPERSENTIKORTASUNA
- c. AUTOIMMUNTATEA

9. BIRPASA-ARIKETAK.

10. BIBLIOGRAFIA ETA ESTEKAK

11. LABORATEGIKO PRAKTIKA-GIDALIBURUA

1. GLOSARIOA

Adjubante: erantzun immunea indartzeko eta luzatzeko antigenoarekin batera txertatzen den substantzia.

Afinitate: antigenoa espezifikoki lotzeko immunoglobulinaren gune baten (paratopoa) eta antigenoaren epitopo baten arteko elkartzeko/lotzeko indarra.

Afinitatearen heltzea (*affinity maturation of immunoglobulin*): antigorputzek duten antigenoarekiko afinitatea aktibazioa aurrera joan ahala hobetzea.

Aglutinazio: antigorputzaren eta partikulei lotutako antigeno edo antigeno partikulatuen arteko erreakzioa; emaitza partikulen pilaketa da.

Alelo: gene baten aldaera natural bat.

Alergeno: erantzun alergikoak eragiten dituen antigeno ez infekziosoa.

Alergia: inguruneko antigeno ez kaltegarriaren kontrako hipersentikorasan erantzuna. Antigenoarekin topo egin eta hurrengo topaketetan agertzen dira sintomak, antigorputzek edota zelulek bideratuak.

Aloantigeno: espezie bereko beste ale (indibiduo) baten ehunetatik datorren antigenoaren aldaera.

Alotipo: gene baten aleloek kodetutako proteinen aldaera naturalak (*adibidez immunoglobulinak*).

Anafilotoxina: konplementuaren aktibazioan zehar sortutako C5a, C4a eta C3a zatiak. Antigenoa pilatzen den lekuraino likidoa eta zelulak erakartzen dituzte, hantura akutua laguntzen.

Anergia: antigeno batekiko linfzito baten aktibatze gaitasun eza. Linfzitoak antigeno espezifikoa bere errezeptorearen bidez elkartzen duenean, baina aktibaziorako beharrezkoak diren beste seinale osagarriak heltzen ez direnean gertatzen da.

Antigeno: T zelulen hartzaile batekin, B zelulen hartzaile batekin edo antigorputz batekin espezifikoki lotzen den substantzia.

Antigenoaren ezagutza: erantzun espezifikoaren lehenengo urratsa, linfzito klon espezifikoak, bere mintzeko errezeptore espezifikoaren bidez (TCR edo BCR,) antigenoa elkarrekin. T linfzitoen kasuan beste kondizioak bete beharko dira: CD4/CD8 molekulek MHCII / MHCI histokonpatibilitate-molekulekin elkarketa hain zuzen.

Antigenoaren prozesamendu*: zelula aurkezleek egiten duten antigenoaren zatiketa, tamaina egokia duten peptidoak lortu ondoren, dagozkien MHC molekuletan lotura baimentzeko, gero peptidoak T linfzitoei aurkezteko.

Antigeno endogeno: ostalariaren zelularen zitoplasman bertan sintetizatzen dena.

Antigeno exogeno: ostalariaren zeluletatik kanpoan sintetizatutakoa. Endozitosiaren bidez barneratu eta prozesatu ondoren, antigeno honen peptidoak aurkez daitezkeen mintzean.

Antigeno monobalente, edo bere balentziaren balioa bat (1) duena: epitopo bakarra duen antigenoa. Antigorputzaren elkarrekin edo paratopo bakar batekin elkartzeko gai dena.

Antigeno polibalente, edo balentzia anitz duena: hainbat epitopo duen antigenoa. Antigorputzaren elkarrekin edo paratopo bat baino gehiagorekin elkartzeko gai dena.

Antigeno-determinante (epitopo edo determinante antigeniko): immunoglobulina batek edo T zelulen (errezeptoreak) hartzaile batek ezagutzen duen antigeno zatia.

Antigorputz: antigenoarekin modu espezifikoan elkartzen den immunoglobulina.

Antigorputz-erantzun primario: antigenoarekin lehen kontaktua izan ostean ekoizten diren antigorputzak; gehienak IgM klasekoak dira.

Antigorputz-erantzun sekundario: antigenoarekin bigarren (eta hurrengo) kontaktua izan ostean ekoizten diren antigorputzak; adibidez odolean, gehienak IgG klasekoak dira.

Antigorputz monoklonal: zelula-klon talde bakarretik ekoizten diren antigorputzak. Egitura eta espezifikotasun uniformeak/bakarra dute.

Antigorputz monomeriko: immunoglobulina molekula bakarrekoa (bibalentea da).

Antigorputz polimeriko: bi edo immunoglobulina gehiagoz osatuta izan daitezke (normalean 2 edo 5). Antigorputz hauek polibalenteak dira, antigenorako 4 edo 10 balentziak dituztelako.

Antiplasma : antigorputzak dituen plasma.

Antiplasma poliklonal: antígeno baten zenbait determinanteren edo zenbait antigenoren antigorputzen nahastea dituen plasma.

Antitoxina: toxina espezifikoki ezagutzen eta neutralizatzen duen antigorputza.

Apoptosi: aurrez programatutako zelulen heriotza. Mintzetik datorren seinaleak (atxikidura-molekuletatik) zitoplasmatik DNARA heltzen dira, eta hurrengo erreplikazio-zikloan kromatina zatitu egiten da. Ondorioz zelula hilko da.

Autoantigeno: ostalariaren berezko molekula.

Autoantigorputz: indibiduo batek autoantigenoen kontrako ekoiztutako antigorputza.

Autoimmunitate: indibiduo batek, bere antigenoen kontrako erantzun immune espezifikoa sortzea.

Autotolerantzia: sistema immune bakoitzak bere antigenoak toleratzea.

B linfozito: BCR errezeptore antígeno espezifikoa duen immunitate-sistemako zelula. Antigorputzak ekoizteko plasma-zeluletan bereizteko gai da.

Bahiketa (antígenoarena): begi barnea, barrabilak, umetokia edo garuna, leku anatomiko babestuak dira ikuspegi immunologikotik. Leku hauetan dauden antigenoak kontaktu berezi eta kontrolatua dute immunitate-sistemaren zelulekin (muga fisiko edota erregulazio fina dela kausa) eta esaten da bahituta daudela. Horrela egoteagatik ez da haien kontrako tolerantzia espezifikoa garatzen beste antígeno propioen kasuetan bezala, eta askatzekotan arazoak sor daitezke.

Barea: urdailaren ondoan dagoen babarrun formako organoa. Odoleko eritrozito zahar edota kaltetuak suntsitzeko balio du eta gainera, odoletik garraiatutako antigenoen kontrako erantzun immunitario espezifikoak sortzen diren organo linfoide sekundarioa da.

Basofilo: odolean urria den leukozittoa. Granulozitoetariko bat da, koloratzaile basikoekin tindatzen diren pikor ugari ditu zitoplasman.

Bide endozitiko edo exogeno: II motako MHC molekulekin batera, kanpotik hartutako antigenoak (fagozitatutakoak) T_H linfozitoi aurkezteko bidea.

Bide zitosoliko, endogeno edo biosintetiko: I motako MHC molekulekin batera zitosolean sintetizatzen diren antigenoak T_C linfozitoi aurkezteko bidea.

C3 konbertasa: konplementuaren aktibazioan zehar sorturiko proteasa, C3 molekula apurtzen duena, C3a eta C3b sortuz.

C5 konbertasa: konplementuaren aktibazioan zehar sorturiko proteasa, C5 molekula apurtzen duena, C5a eta C5b sortuz.

CTLA-4 (*Cytotoxic T Lymphocyte associated Antigen 4*): T linfozito zitotoxikoei asoziatutako 4 antígenoa.

Determinante antigeniko: Epitopoa

Determinante konformazional: hiru dimentsioko determinantea. Proteinaren sekuentzia primarioan aldenduta dauden zatiez eratutako epitopoa, proteinaren tolesturak hurbiltzen dituen.

Determinante lineal: proteinaren sekuentzia primarioan segida bat eratzen duten aminoazidoz eratutako epitopoa.

Diapedesi: odol-hoditik ehunetara pasatzeko odol-hodien paretan zehar egindako leukozitoen mugimendua.

Domeinu: 30-150 aminoazidodun sekuentziak definitzen duen egitura globular trinkoa, adibidez immunoglobulinen edo TCRen kate polipeptidikoetan espazioan bereizten diren alde globularrak.

Domeinu aldakor (V domeinu): immunoglobulinetan eta TCR-etan kate polipeptidikoen mutur aminoaren domeinua. Immunoglobulinen kate astun eta arinen domeinu hauekin, antígenoa lotzeko lekua osatzen da.

Dosi-atari (gaztelaniaz “dosis umbral”): erantzuna eragiteko txertatu behar den antigenoaren kantitate minimoa.

Endoteliozito: odol-hodien endotelioko zelula.

Endosoma edo bakuola endozitiko: mintzez inguratutako bakuola, kanpotik hartutako antigenoak zitoplasman garraiatzeko balio duena.

Endozitosi: mintz plasmatikoaaren luzapenez osaturiko besikula endozitikoez material estrazelularren harrapaketa zelula barnera.

Eosinofilo: odolako leukozitoa eta granulozitoetariko bat da. Eosinaz tindatzen diren pikorrak ditu zitoplasman, eta haien edukina jariatzen du zelula estimulatzean. Oso garrantzitsuak helmintoen kontrako erantzunetan.

Epitopo edo determinante antigeniko: antigorputzekin eta linfzitoen errezeptore espezifikoekin elkartzen diren molekulen zatia (immunoglobulina edo TCR batek ezagutzen duen antigeno zatia.)

Erantzun immune poliklonal: hainbat espezifikotasun erakusten duena. Adibidez, antigeno konplexuek espezifikotasun ezberdinetako klonak bat baino gehiago eragin ditzakete.

Erdiko tolerantzia edo organo primarioetakoa (tolerantzia zentrala): hezur-muinean eta timoan garatzen dena, klonak autoerreaktiboaren delezioaren bidez batez ere (hautespen negatiboa).

Erradioimmunoanalisi: antigenoen edo antigorputzen lotura hautemateko erabiltzen den analisi immunologikoa; antigorputz edo antigeno erradioaktiboak erabiltzen ditu.

Errekonbinazio somatiko edo geneen berrantolaketa: hezur-muinean B linfzitoen heltze-prozesuan zehar (edo timoan T linfzitoen heltze-prozesuan zehar), immunoglobulin (edo TCR-en) geneetan V, J edo V, D, J gene-zati konkretu batzuen batzea, tarteko DNA guztia /galduz. Horrela bereizten dira espezifikotasun ezberdinetako BCRak (edo TCRak) dituen B linfzito (edo T linfzito) klonak.

Espezifikotasun: bi molekulen arteko lotura selektiboa.

Exozitosi: mintz plasmatikoaarekin batzean zitoplasmako besikulen edukia kanporatzea. Maiz, entzima hidrolitikoak kanporatzen dira. eta mekanismo hau, tamaina handikoa parasitoen kontra erabiltzen da (ezinezkoa da parasittoa fagozito barruan sartu).

Ez ikusia (antigenoarena) (gaztelaniaz “ignorancia del antígeno”): tolerantzia periferikoa mantentzeko mekanismo bat. Immunitate-sistemak antigeno bat ez hautematea. Hainbat geneen espresioa oso baxua da eta produktu hauen kontzentrazioa txikiegia da antzemateko.

B, P eta D faktore: konplementuaren bide alternatiboan parte hartzen duten proteinak.

Fagolisosoma: fagosoma eta lisosoma baten fusioz eratutako besikula intrazelularra, non fagozitatutako materiala lisosomako entzimek suntsituko duten.

Fagosoma: fagozitosiz harrapatutako materiala duen besikula intrazelularra.

Fagozito: fagozitatzeko (jateko) gaitasuna duen zelula. Ugaztunetan zelula fagozitiko nagusiak makrofago eta neutrofiloak dira.

Fas edo CD95: xede-zeluletan errezeptoreen familiaren partaidea, zenbait zeluletan espresatzean, FasL adierazten dituzten zelulek eragindako suntsipenarekiko sentikor bihurtzen direnak (apoptosia eragiten da).

Fitohemaglutinina: mitogenoa den landareen proteina.

Folikulu linfoide primario: linfa-ehun sekundarioetan B linfzitoen aldea, non B linfzito ez aktibatuek (atseden egoeran) pilatzen diren,.

Folikulu linfoide sekundario: linfa-ehun sekundarioetan, antigenoari erantzuten ari diren B linfzitoen aldea, beraz, B linfzito aktibatuekin.

Linfa-gongoil: hodi-linfatikoen lodigune txikiak babarrun formarekin. Linfa-organo sekundarioak dira, non linfatik garraiatutako antigenoak aurkezten diren linfzitoei erantzun immune espezifikoak garatzeko.

Granuloma: infekzioa kronifikatzen denean, makrofago aktibatu inguruan agertzen den lesio immunohistologikoa.

Granulozito: leukozitoak, zitoplasmako granuluekin eta forma irregularra duten lobulu anizdun nukleoarekin. Hiru mota bereizten dira: neutrofiloak, eosinofiloak eta basofiloak.

Granzima: Tc eta NK linfzitoen granuluetan dagoen serinproteasa. Entzima hauek xede-zelularen zitosolean sartzean xede-zelularen apoptosia eragiten dute. Fragmentinak ere deitzen dira.

Hantura: partikula arrotzen eta bestelako estimulu kaltegarrien aurrean gertatzen den erreakzio bereizgarria; horren ondorioz, gorritasuna, handitzea, beroa eta mina agertzen dira.

Hanturaren bitartekari: Hainbat zelula motak jariatutako molekulak, hantura sortu edo mantentzeko infekzio eta traumatismoaren guneetan.

Haplotipo (HLAri dagokiona): kromosoma bakar batean histokonpatibilitate-gene guztien aleloen konbinaketa zehatza, gizabanako bakoitzarena, adibidez HLA: DP1-DQ2-DR7-A1-B44-Cw7.

Hapteno: antigorputzei lotzeko gai diren molekulak baina ez erantzun immune espezifikoak eragiteko.

Hemaglutinazio: odol-zelula gorrien aglutinazioa.

Hematopoiesia: zelula ama pluripontetatik, odoleko zelulen sorrera.

Hezur-muin: hainbat hezurren barruan dagoen ehuna, hematopoiesiaren leku nagusia.

Hipersentikortasun: gehiegizko edota neurritz kanpoko erantzun immune espezifikoa, erantzuna eragin zuen antigeno edota patogenoa baino kaltegarriagoa.

Hipermutazio somatiko: linfa-organo sekundarioetan, B linfzito aktibatuak ugaltu ahala immunoglobulinen VDJ gene aldean pairatzen dituzten mutazioak (sortuko dituzten antigorputzen kidetasuna edo afinitatea aldatzeko balioko dute).

Histamina: mastozitoen granuluetan pilatutako amina basoaktiboa. Mastozitoak aktibatzean askatzen da eta tokiko odol-hodietan dilatazioa eta muskulu lisoaren kontrakzioa eragiten du.

Histokonpatibilitate: beste indibiduo baten txertatutako ehuna onartzeko gaitasuna.

Histokonpatibilitate-antigeno edo -molekula: transplante bat egiteko orduan ehunen arteko bateragarritasuna erabakitzen duten molekulak. Erantzun immunean beste funtzio garrantzitsu batzuk dituzte molekula hauek, besteak beste T linfzitoei antigeno arrotzak aurkeztea.

Humoral: likido estrazelularrekin erlazionatua, plasma (suero?) eta linfarekin barne.

Idiotipo: immunoglobulina batek edo TCR batek (edo klon hauetatik eratorritako zelulak) adierazten duen espezifikotasun konkretua.

Immunizazio: animalia batean antigenoak, antigorputzak edo immunitate-zelulak txertatuz immunitate espezifikoa indusitzea.

Immunitate: organismo batek infekzioari aurre egiteko duen gaitasuna.

Immunitate egokitapenezko, espezifiko, hartutakoa: erantzun immune espezifikoak eragindako infekzioarekiko erresistentzia.

Immunitate innatoa, berezko: infekzioen hasieran eta era ez-espezifikoan, indibiduoaren babesean parte hartzen duten mekanismo taldea.

Immunoeskasia: : immunitate-sistemaren mekanismo eragile bat edo gehiago akastunak edo ez-funtzionalak edukitzea.

Immunogeno: erantzun immunitario espezifikoa induzi dezakeen antigenoa.

Immunokonplexu: antigeno bat, berarentzat espezifikoa den antigorputzarekin elkartuta.

Immunologia: immunitate-sistema eta erantzun immunea ikasten duen zientzia.

Immunopatologia: immunitate-sistemaren funtzionamendu ez egokia.

Immunotransferentzia (Western hibridazio-analisisa): antigorputz jakin batekiko erreakzio osagarria eginez, iragazki batean harrapatuta dauden proteinak zein diren hautematea. Aldera ezazu *Southern* eta *Northern* hibridazio-analisiarekin.

Inflamozito, edo hantura-zelula: hantura eragiteko gaitasuna duen zelula.

Interferona (α eta β): ostalariekiko espezifikoak diren zitokinak; birusek infektatutako zelulek ekoizten dituzten zitokinak, inguruko zeluletan birus-infekzioa saihesteko balio dutenak.

Interleukina (IL): leukozitoek jariatutako zitokina.

ITAM (Immunoreceptor Tyrosin Based Activation Motif): tirosinaz oinarritutako immunohartzailean aktibazio-seinalea.

ITIM (*Immune receptor Tyrosin-Based Inhibitory Motif*) : tirosinaz oinarritutako immunohartzailean inhibizio-seinalea.

Isotipo: immunoglobulinen klase edo mota ezberdinak, funtzio ezberdinak dituenak.

Jatorrizko DNA lerro (B linfozito klon batena), edo DNAREN lerro germinal: hezur-muineko B linfozitoaren zelula aitzindarietan DNAREN immunoglobulinen geneak (DNA honetan BCREN espezifikotasunak aukeratu gabe daude eta V, D eta J gene aldaera guztiak daude).

Kappa (κ): immunoglobulinen kate arinen mota bat.

Kate astun: immunoglobulina edo antigorputz bat osatzen duten kate polipeptidiko mota bietatik handiena.

Kate arin: immunoglobulina edo antigorputz bat osatzen duten kate polipeptidiko mota bietatik txikiena.

Kemokina (kimiokina): zitokinen familiako substantzia kimikoa fagozitoak eta beste zelula batzuk odoletik infekziogunera erakartzen dituenak. Funtsezkoak hantura-erantzunetan.

Klonen delekzioa: berezko antigenoak ezagutzen dituzten B eta T linfozito klonak, agertu ahala (hezur-muinean eta timoan), APC zelulek bidalitako seinaleen bidezko apoptosia.

Kodominantzia: gene baten bi aleloak indar berdinarekin espresatzea, adibidez MHC molekulen kasuan.

Konplementua (C): odoleko proteinen sistema (defentsa naturalen barne sartzen dena). Hantura prozesuetan, fagozitoen aktibazioan eta mintz zelularreko eraso litikoetan, erreakzioen segidaren bidez, parte hartzen duen odoleko proteina taldea.

Korrezeptore: errezeptore antigeno espezifikoaren antigenoarekiko sentikortasuna gehitzen duen mintzeko proteina (gehi dezake atxikidura-loturak edota ezagutzaren seinaleen transdukzioa).

Lambda (λ): immunoglobulinen kate arinen mota bat.

Leinu linfoide: linfozito guztiez eta haien hezur-muineko aitzindariak osatutako zelula multzoa.

Leinu mieloide: monozito, makrofago, granulozitoz eta haien hezur-muineko aitzindariak osatutako zelula multzoa.

Lektina: mitogenoa den proteina mota bat.

Lepamin: birusengatiko gaixotasuna (paperas).

Leukozito: odoleko zelula zuria.

Leukozito polimorfonuklear (PMN): odol-zelula zuri eta mugikorrak; lisosoma ugari dituzte eta fagozitosiaz arduratzen dira. Nukleo zatikatu bereizgarria dute. Neutrofiloa, eosinofilo eta basofiloa.

Linfa: sistema linfatikok garraiatutako likido estrazelularra eta zelulen nahasketa.

Linfoto: leinu linfoideko leukozitoa. Handiak eta txikiak izan daitezke, lehenak, immunitate innatoaren NK linfotoak dira eta linfoto txikiak immunitate espezifikoaren B eta T linfotoak, errezeptore antigeno espezifikoekin.

M zelula: mukosako zelula berezia, kanpoko antigenoak hartu eta barrura eramateko gai dena. Ez da APC zelula ez duelako molekula osagarriak espresatzen T linfotoak aktibatzeke.

Makrofago: ehunetako fagozito biztanlea, nukleo bakarrekoa.

Mastozito: histaminaz betetako zelula, inflamazioaren eragilea.

Mitogeno: antigenoarekiko espezifizitatearen independenteki linfotoen ugalketa eragiten duten substantzia.

Monozito: odol-zirkulazioan dagoen zelula zuria; nukleo bakarrekoa. Ehunetara joan eta gero makrofago bilakatzen da.

Monozitoa: zenbait lisosoma ditu eta makrofago bilaka daiteke.

Nekrosi: kalte kimiko edo fisikoek eragindako zelularen heriotza lisiaren bidez.

Neutralizazio: antigorputzak eta patogenoak/toxinak lotzean, patogenoen ugalketa, haien sarrera xede-zeluletara edo toxinen efektuak blokeatzea.

Neutrofilo: leukozito fagozitikoa, ehun infektatuetan kopuru handitan sartzen dena.

Opsonina: patogenoak lotzen dituzten antigorputzak eta beste molekula batzuk, patogenoaren fagozitosia laguntzen.

Opsonizazio: mikroorganismo patogenoaren azala molekula batzuen bidez estaltzea. Fagozitoek errezeptoreak izan behar dituzte molekula hauek (opsoninak) elkartzeko. HoPatogenoa opsonizatuta, hau da, opsoninez estalita dagoenean, errazago fagozitatua izango da.

Organo linfoide (ehun linfoide) edo linfa-organo: estroma ez linfoide batean sartuta, linfozito asko duten ehun antolatuak.

Organo (ehun) linfoide primarioak: organo linfoideak non linfozitoak sortu eta heltzen diren (hezur-muina eta timoa).

Organo (ehun) linfoide sekundarioak: organo linfoideak non garatzen diren erantzun immune espezifikoak (linfa-gongoilak, barea, MALT,...).

Patogeno: kanpoko mikroorganismo infekzioso eta kaltegarria, ostalariaren barruan ugaltu eta kalte egiten duena.

Peyer-en plakak: hesteetako mukosapean B eta T linfozitoen multzoak. Folikulu linfoideak dira, non linfozito klon espezifikoak aktibatu eta ugaltzen diren, baina ez daude kapsula baten barruan sartuta linfa-gongoilak bezala.

Perforina: T_C eta NK linfozitoek produzitutako proteina batzuk xede-zelulen mintzean poroak eragiten dituztenak (C5-C9 konplementuaren konplexu antzeko mekanismoa).

Plaketa: megakariozitoetatik sortutako zelulen zatia, zeinek koagulazio-prozesuan parte hartzen duen.

Plasma: odol-zelulak eta odola koagulatzeaz arduratzen diren materialak odoletik erauzi ostean geratzen den parte likidoa edo zelularra ez den odolaren parte.

Plasma-zelula edo zelula plasmatikoa: B linfozito handi eta bereizia; antigorputzen ekoizpen masiboaz arduratzen da.

Pleiotropismo: zitokina batek zelula mota desberdinetan ekiteko gaitasuna, hau da, efektu biologiko desberdinak eragiteko gaitasuna.

Proteasoma: zelula guztien zitosolean dagoen eta zitosoleko proteinak zatikatzen dituen proteasa handia (azpiunitate askorekin).

Seinale osagarri: linfozitoak aktibatzeke, antigeno espezifikoa elkartzeaz gain behar diren beste estimulak. APC zeluletan dauden atxikidura-molekulak elkartu, edo zitokinak hartu izan daitezke seinale hauek, eta ez dira antigenoekiko espezifikoak.

Selektina: leukozito eta endotelioetan dauden atxikidura-molekulen familia. Lektinak dira eta muzina bezalako zenbait glukoproteinen azukreei lotzen dira.

Serologia: antigeno-antigorputz erreakzioak *in vitro* ikertzen dituen alorra.

Sistema linfatikoa edo linfa-sistema: erantzun immunea sortzen duen organo, zelula eta molekulen sistema.

Superantigeno: antigenorako espezifikotasun ezberdinetako T_H linfozito klon batzuk (% 20a) aldi berean eragiten dituen antigenoa da.

T zeluletako hartzailea: T linfozitoen gainazalean dagoen eta antigenoekiko espezifikoa den hartzailea.

Tapasina: garraio-proteina zitoplasmako peptidoak erretikulura garraiatzeko balio duena.

Timo: toraxean kokatutako organo linfoide kapsulatua, non T linfozitoak heltzen diren.

Timozito: timoan heltzen ari diren T linfozitoak.

Tolerantzia: antigeno baten aurrean erantzun immune espezifikorik ez aktibatzea. Mekanismo espezifiko eta moldakorra.

Tolerantzia periferiko: hezur-muinetik eta timotik kanpo mantentzen dena (anergia eta beste mekanismoen bidez).

Tolerantzia zentral: organo linfoide primarioetan, linfozitoen heltze-prozesuan lortutako tolerantzia.

Transzitosi: epitelio alde batetik bestera molekulen garraioa, endozitosi-besikuletan.

Transplante, edo ehun-txertatze: indibiduo baten ehunak beste batera ipintzea azken indibiduoan funtzionalak izateko.

Tumore (minbizi): kontrolik gabeko zelulen ugalketa. Ongarria eta automugatua edo gaiztoa eta inbaditzailea izan daiteke.

Txertaketa: ostalari bat patogeno hil edo ahulduz edo patogenoen produktuez inokulatzea, immunitate babeslea sustatzeko.

Txerto: patogeno jakin baten aurreko babes immunitate espezifikoa indusitzeko erabiltzen den materiala.

Zaletasun edo abidezia: antigorputz polibalente batek antígeno polibalente batekin elkartzen duen indarra, epitopoen afinitatea eta antígeno eta antigorputzaren balentzien arabera izango da).

Zelula antígeno-aurkezle (APC): antígenok harrapatu, prozesatu eta T linfozitoi aurkezten dizkieten zelulak.

Zelula barruko patogeno edo patogeno intrazelularra: ostalariaren zelulen barruan ugaltzen dena, adibidez birusak.

Zelula kanpoko patogeno edo patogeno estrazelularra: ostalariaren zeluletatik kanpoan, tarteko gunetan ugaltzen dena, adibidez bakterio batzuk (estafilokokokak, meningokokokak,...).

Zelula dendritiko: morfologia adardun antígenoren zelula aurkezlea. T linfozitoen (birjinen) aktibatzaile nagusiak/indartsuenak.

Zitokina: molekula txikiak mezulari ibiltariak direnak. Zelula batzuek ekoitzi eta beste zeluletako hartzailetara joaten dira seinaleak transmititzeko.

Zitolisina: T_C eta NK linfozitoek produzitutako substantzia litikoak, besteak beste perforinak eta fragmentinak.

2. LABURDURAK

Ab (*antibody*): antigorputza.

ADCC (*Antibody-Dependent Cell-mediated Cytotoxicity*): antigorputz mendeko zitotoxizitatea, antigorputz menpeko zitotoxizitate zelularra.

Ag (*antigen*): antigenoa.

Ag-Ab , AbAg edo immunokonplexua: antigeno eta antigorputzen arteko lotura espezifiko ez osaturiko konplexuak.

APC: (*Antigen Presenting Cells*) zelula antigeno-aurkezle profesionala.

B7 (CD80): APC zeluletan dagoen atxikidura-molekula. T linfzitoen mintzeko CD28 molekularekin elkartzen da T linfzitoen aktibazioa eragiteko (seinale osagarria).

Bb: konplementuaren bide alternatiboko B faktorea hidrolizatu eta gero geratzen den zati handia.

BCR: antigenoak elkartzeko errezeptore espezifikoa B linfzitoetan (*B cell receptor*).

BL: B linfzitoa.

C aldea: antigorputzen alde aldaezina edo konstantea.

C3: konplementuaren proteina garrantzitsua, aktibazio-bide guztietan agertzen dena.

C3a, C5a: konplementua aktibatu ondoren agertzen diren C3 eta C5 proteinen zati txikiak. Kimiotaxinak dira, hau da, neutrofiloak infekzio-gunera erakartzen dituzte. Anafilotoxinak ere badira, inflamazioa eragiten dutelako.

C3b, C4b: konplementua aktibatu ondoren agertzen diren C3 eta C4 proteinen zati handiak. Opsoninak dira, hau da, patogenoen azalean lotzen dira fagozitoek errazago atxikitu eta fagozitzatzeko.

C5, C6, C7, C8, C9: konplementuaren proteinak dira. Mintzean polimerizatuz mintza erasotzeko konplexua osatu eta xede-zelularen lisia eragiten dute.

CD: desberdintzapen taldea (*Cluster of Differentiation*). Linfzitoen mintzean dauden molekulak taldekatzeko balio dutenak.

CD14, CD11 edo CD18: makrofagoaren errezeptore komunak bakterioak eta beste patogenoak elkartzeko eta fagozitzatzeko.

CD28. Atxikidura-molekula T linfzitoetan dagoena. T linfzitoetan dagoen atxikidura-molekula APC zeluletako mintzean dagoen B7 (CD80) molekularekin elkartzen denean (aurretik antigenoa elkartuta) aktibazioa gertatuko da.

CD3: T linfzitoen markatzaile komuna.

CD4: T laguntzaileen markatzailea (MHC II molekulak aurkeztutako antigenoak ezagutzen dituzten zenbait T linfzitoen azaleko glikoproteina. Zelula hauetan koerrezeptore bezala jokatzen du, MHC II molekula lotzen du, T_H linfzitoen antigenoarekiko erantzuna indartzen).

CD40: B linfzitoen atxikidura-molekula T_H linfzitoekin elkartzeko. B linfzitoen azaleko glukoproteina, T_H linfzitoetan dagoen CD40L-arekin lotean B zelulen ugalketa eragiten duena.

CD40L: atxikidura-molekula bat T_H2 linfzitoetan dagoena, B linfzitoen CD40 molekularekin elkartzeko balio du. T_H2 linfzitoetan dagoen atxikidura-molekula, B linfzitoen CD40 molekularekin elkartzeko balio du.

CD45RA: T_H linfzitoen mintzeko markatzailea, RA forman dagoenean linfzitoa birjina dela adierazten du.

CD45RO: T_H linfzitoen mintzeko markatzailea, RO forman dagoenean linfzitoa ez dela birjina adierazten du. Zelula eragilea edo oroimenezkoa izan daiteke.

CD79: B linfzitoetan BCR errezeptorearen kate aldaezinak (Igβ + Igα aldaezinak) antigenoaren ezagutzearen seinalea zitoplasmaz bidaltzen duenak.

CD8: T zitotoxikoen markatzailea (MHC I molekulak aurkeztutako antigenoak ezagutzen dituzten zenbait T linfzitoen azaleko glikoproteina. Zelula hauetan koerrezeptore bezala jokatzen du, MHC I molekula lotzen du T_H linfzitoen antigenoarekiko erantzuna indartzen).

CD80 edo B7: APC zeluletan dagoen atxikidura-molekula eta T linfzitoen mintzeko CD28 edo CTLA-4 molekularekin elkartzen dena.

CD95 (Fas): xede-zeluletan espresatzen diren molekulak, T_C zelula eragileen CD95L molekularekin elkartzen direnak.

CD95L (FasL): T_C eragileen mintzean dagoen errezeptore bat elkartzen duela xede-zelularen CD95 molekula apoptosiaren seinalea bidaltzeko.

CDR1, CDR2, CDR3 (*Complementarity-Determining Region*): Osagarritasunaren alde determinatzaileak BCR errezeptorearen edo antigorputzaren elkartze- gunean, antigenoarekin lotura erabakitzen duten sekuentziak.

C_H: kate astunaren alde aldaezina edo konstantea (zelulen Fc errezeptorearekin elkartzen dena).

C_L: kate arinaren alde aldaezina edo konstantea.

CPL (*Compartment Peptide Loading*): Peptidoak kargatzeko konpartimentua. Konpartimentu honetan MHC II motako molekulen kate aldaezina degradatzen da pHa azidoa dela eta, molekulak endosomatik etorriko diren peptido antigenikoak hartzeko prest egongo dira.

CPL/endosoma: aurretik aipatutako konpartimentua endosomarekin fusioatuta.

CR (*Complement Receptor*): Konplementu sistemaren proteina batentzako errezeptorea.

CTL edo T_C: T linfozito zitotoxiko (CD8⁺, CD4⁻).

C α katea: A immunoglobulinan H katearen alde aldaezina kodetzen duen genea.

C δ katea: D immunoglobulinan H katearen alde aldaezina kodetzen duen genea.

C ϵ katea: E immunoglobulinan H katearen alde aldaezina kodetzen duen genea.

C γ katea: G immunoglobulinan H katearen alde aldaezina kodetzen duen genea.

C μ katea: M immunoglobulinan H katearen alde aldaezina kodetzen duen genea.

Fab (*Fragment antigen binding*): papainarekin tratatu ondoren immunoglobulinaren zati bat, antigenoarekin elkartzen dena.

FAP: fase akutuko proteinak.

Fc (*Fragment crystallizable*): papainarekin tratatu ondoren immunoglobulinaren zati bat, antigenoarekin elkartzen ez dena.

FcR (*Fc receptor*): Immunoglobulinaren Fc alderako errezeptorea.

Fc γ R: G immunoglobulinaren Fc alderako errezeptorea.

FDC (*Follicular Dendritic Cells*): Folikuluetakoko zelula dendritikoa edo zelula dendritiko folikularra.

GALT (*Gut-Associated Lymphoid Tissue*): Digestio-bidearekin lotutako linfa-ehun hedatua.

H katea: immunoglobulinaren kate astuna.

HEV (*High-Endothelium Venule*): Endotelio garaiko benula. Benulen zelula endotelio bereziak zelula garaiekin, nondik linfozitoak gongoil linfatiko edota mukosetako ehun linfoidera migratzen diren.

HIESA: Hartutako immunoeskasiaren sindromea.

HLA (*Human Leucocyte Antigen*): Giza-antigeno leukozitarioa edo histokonpatibilitate-antigenoa.

HLA-DR: II motako MHC molekula bat.

ICAM (*Intercellular adhesion molecule*): zelulen arteko atxikidura-molekula.

IEL: epitelioen barruko linfozitoak.

IFN (*InterFeroN*): interferona, zitokina mota bat (IFN- α , IFN- β , IFN- γ)

IFN γ : gamma interferona, erantzun zelularrarekin lotutako zitokina. Batez ere, T_H1 populazioak jariatuta.

IFN α , IFN β : alfa eta beta interferonak, birusek infektatutako zelulek produzitutako zitokinak, alboko zelulak infekzioarengandik babesteko balio dutenak.

Ig: immunoglobulina (antigorputza).

IgA: A isotipoko immunoglobulina.

IgA1: A1 azpi isotipoko immunoglobulina.

IgA2: A2 azpi isotipoko immunoglobulina.

IgD: D isotipoko immunoglobulina.

IgE: E isotipoko immunoglobulina.

IgG: G isotipoko immunoglobulina.

IgG3: G3 azpisotipoko immunoglobulina.

IgG4: G4 azpi isotipoko immunoglobulina.

IgG-Ag: G immunoglobulina espezifikoa antigenoarekin lotuta immunokonplexu bat eratuz.

IgM: M isotipoko immunoglobulina.

IL (*InterLeuquin*): interleukina, zitokina mota bat (IL-1, IL-6, IL-12,...).

IL-1, IL-6: interleukina 1 eta 6. Erantzun ez espezifikoan parte hartzen duten interleukinak, besteak beste makrofagoek eta mastozitoek ekoiztutakoak.

IL-10: interleukina 10 erantzun humoralarekin lotutako zitokina. T_H2 linfozitoek jariatuta. T_H1 populazioa inhibitzen du.

IL-12: interleukina 12, erantzun ez espezifikoan parte hartzen duen zitokina, besteak beste NK zelulek ekoiztutakoak.

IL-2: interleukina 2. T linfozitoen hazkuntza-faktorea, klona ugaltzeko balio du.

IL-4: interleukina 4, erantzun humoralarekin lotuta. B linfozitoen ugalketa eta antigorputzen produkzioa eragiten du. T_H2 linfozitoek jariatuta.

IL-5: interleukina 5, inflamazioarekin eta IgE produkzioarekin lotutako zitokina. T_H2 linfozitoek jariatuta.

ITAM (*Immunoreceptor Tyrosin Based Activation Motif*): tirosinaz oinarritutako immunohartzailean aktibazio-seinalea.

ITIM (*Immune receptor Tyrosin-Based Inhibitory Motif*) : tirosinaz oinarritutako immunohartzailean inhibizio-seinalea.

J katea (*joint*): IgA dimeron eta IgM pentameron, monomeroak lotzeko katea.

L katea: kate arina.

LPL: lamina Propiako linfozitoak.

LPS: lipopolisakaridoa, bakterio gramnegatiboen hormako osagai bat.

LPSR: lipopolisakaridorako errezeptorea.

MAC (*Membrane Attach Complex*): mintza erasotzeko konplexua.

MALT (*Mucose Associated Lymphoid Tissue*): Mukosetara loturiko linfa-ehuna.

MBL (*Mannose Binding Lectine*): manosa lotzen duen lektina.

MHC (*Mayor Histocompatibility Complex*): histokonpatibilitate-komplexu nagusia.

MHC I: I motako histokonpatibilitate-molekula. Gizakian: **HLA-A, HLA-B, HLA-C**.

MHC II: II motako histokonpatibilitate-molekula. Gizakian: **HLA-DP, HLA-DQ, HLA-DR**.

NK (*Natural Killer*): Zelula zitozida naturala.

NO: oxido nitrikoa, fagozito barruko digestioan agertzen den osagaia.

PAMP (*Pathogen-Associated Molecular Patterns*): Patogenoei asoziatutako patroizko molekularrak

PCR: C proteina errektiboa, gibelean produzitutako fase akutuen proteina.

S osagaia (*secretory componet*): A immunoglobulina dimerikoa kanporatzeko erabiltzen den garraio-proteinaren zatia. Zati hau lotuta gelditzen da IgA dimeruari eta denen artean sIgA osatuko dute.

SC (*secretory component*): jariatzeko sekuentzia Sekuentzia hori transkribatzen bada antigorputzak agertuko dira RNA itzuli ostean.

S α katea: A immunoglobulinaren alde aldaezina kodetzen duen genea, VDJ geneekin errekonbinatzeko gunea.

S ϵ katea: E immunoglobulinaren alde aldaezina kodetzen duen genea, VDJ geneekin errekonbinatzeko gunea.

S γ katea: G immunoglobulinaren alde aldaezina kodetzen duen genea, VDJ geneekin errekonbinatzeko gunea.

S μ katea: M immunoglobulinaren alde aldaezina kodetzen duen genea, VDJ geneekin errekonbinatzeko gunea.

T CD4+: CD4 koerrezeptorea duen T linfozitoa.

T CD8+: CD8 koerrezeptorea duen T linfozitoa.

TAP: tapasina, zitoplasmako peptidoak erretikulu endoplasmikora garraiatzeko balio duen garraio-proteina.

T_C: T CD8 linfozito aktibatua ekintza zیتotoxikoarekin, T zیتotoxikoa.

TCR (*T cell receptor*): T zelulen errezeptore antigenikoa.

TCR $\alpha\beta$: linfozito gehienek errezeptore antigeno espezifikoa, $\alpha\beta$ kateak osaturikoa.

TCR $\gamma\delta$: T linfozitoen azpipopulazio primitiboago baten errezeptore antigeno espezifikoa, $\gamma\delta$ kateak osaturikoa. Larruazaleko T linfozitoetan agertu ohi dira.

T_{dep} edo TD: T-mendeko antigenoa.

TGF β (*Tumour Growth Factor*): Tumoreen hazkuntza-faktorea.

T_H: T linfozito laguntzailea. T CD4 linfozito aktibatua ekintza laguntzailearekin.

T_H0: T linfozito laguntzaile mota bat, oraindik zein zitokina mota produzituko duen erabaki gabe. T_H1: T linfozito laguntzaile mota bat INF γ , IL-10, IL-12 eta horrelako zitokinak produzitzen dituena, erantzun zelularrak (zitotoxizitatea eta fagozitosia) eragiteko. T_H2: T linfozito laguntzaile mota bat IL-4, IL-5 eta horrelako zitokinak produzitzen dituena, erantzun humorala (antigorputzak, konplementuaren aktibazioa, hantura) eragiteko.

T_H3: T linfozito laguntzaile mota bat TGF- β , IL-5 eta horrelako zitokinak produzitzen dituena, IgA isotipo-aldaketa eragiteko. T_I1: antígeno T-independente 1 motakoa

T_{ind} **edo T_I:** antígeno T- independentea.

T_L: T linfozito

TNF α (*Tumour Necrosis Factor*): Tumoreen nekrosi-faktorea, zitokina bat; erantzun ez espezifikoan parte hartzen du eta besteak beste makrofagoek eta mastozitoek ekoiztatzen da.

V aldea: alde aldakorra.

VDJ geneak: immunoglobulin H kateen alde aldakorrak kodetzen dituzten gene-zatiak.

V_H: kate astunaren alde aldakorra (antigenoarekin elkartzen duena).

VJ geneak: immunoglobulin L kateen alde aldakorrak kodetzen dituzten gene-zatiak.

V_L: kate arinaren alde aldakorra (antigenoarekin elkartzen duena).

α katea: A immunoglobulin H katearen alde aldaezina kodetzen duen genea.

δ katea: D immunoglobulin H katearen alde aldaezina kodetzen duen genea.

ϵ katea: E immunoglobulin H katearen alde aldaezina kodetzen duen genea.

γ katea: G immunoglobulin H katearen alde aldaezina kodetzen duen genea.

κ katea: immunoglobulin L kateen alde aldaezina kodetzen duten gene mota bat

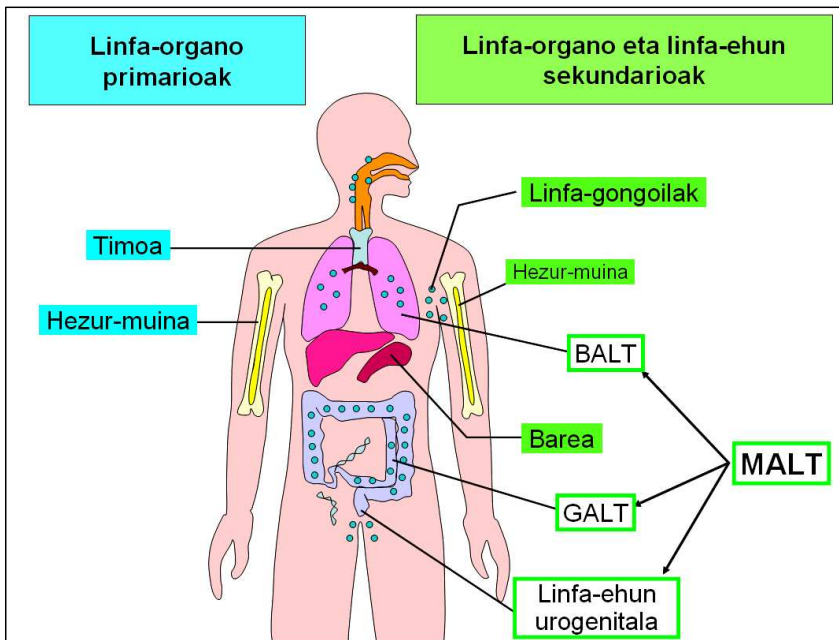
λ katea: immunoglobulin L kateen alde aldaezina kodetzen duten gene mota bat.

μ kateak: M immunoglobulin H katearen alde aldaezina kodetzen duen genea.

ζ kateak: T linfozitoetan TCR errezeptorearen kate aldaezinak antigenoaren ezagutzearen seinalea zitoplasmarantz bidaltzen dutenak .

3. IMMUNITATE-SISTEMA

EGITURA. Immunitate-sistemaren zelulak odoleko zelula zuriak dira; besteak beste, antigeno mota bakoitzerako hartzaille espezifikoak dituzten T eta B linfozitoak. Zelula horiek odol- eta linfa-hodietatik barrena ibiltzen dira, baina, noizean behin, linfa-



ehun eta linfa-organoetan elkartzen dira, zelulen arteko elkarreraginak errazteko eta immunitate-erantzun espezifikoak optimizatzeko. Linfa-organo batzuk ondo bereizitako organo kapsuladunak dira: hezur-muina, timo-guruina, barea eta linfa-gongoilak, adibidez, horrelakoak dira. Beste batzuk, ordea, linfa-zelulen multzo hedatuak baino ez dira. Azken horiek infekzio-ate nagusien azpian egon ohi dira, bereziki larruazalaren eta mukosaren azpian (larruazaleko linfa-ehuna eta MALT "Mucosa-Associated Lymphoid Tissue"). Immunitate-sistemaren funtzioari erreparaturik, linfa-organoak bi taldetan banatzen dira. Batetik, **organo primarioak** edo erdiko organoak ditugu (hezur-muina eta timoa), sistemaren **zelulen jatorriak** direnak. Bestetik, **organo sekundarioak** (barea, linfa-gongoilak, eta larruazalari eta mukosei lotutako linfa-ehunak) **immunitate-erantzun espezifikoak garatzeko guneak** dira (1. irudia).

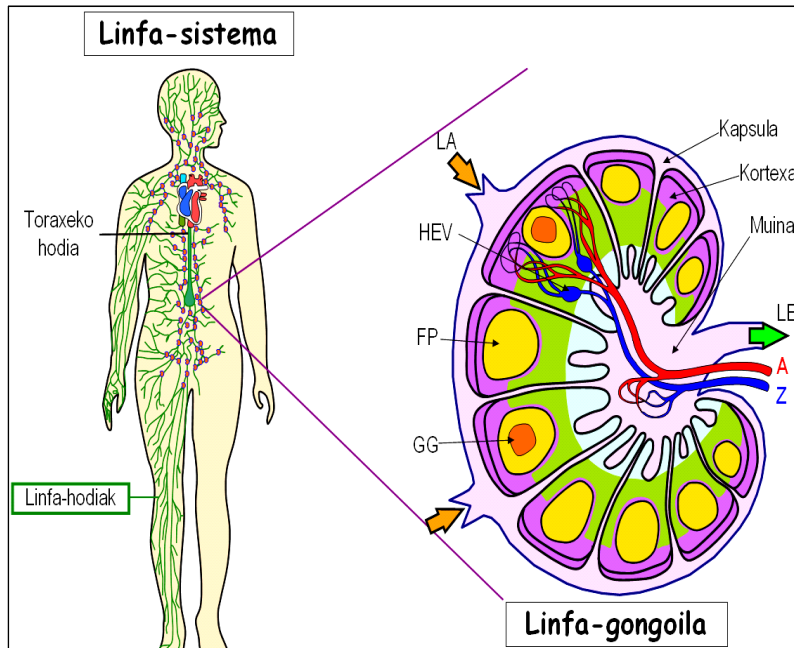
1. irudia. Linfa-ehun eta linfa-organo nagusien kokapena giza gorputzean. Organo kapsuladunak koloredun laukien bidez izendatu dira, eta ehun ez-kapsuladunak, lauki markodunen bidez. MALT: Mucosa-associated lymphoid tissue; BALT: Bronchus-associated lymphoid tissue; GALT: Gut-associated lymphoid tissue.

Hezur-muinean odoleko zelula guztiak sortzen dira. Estromako zelulek eta makrofagoek jariatutako zitokinek zuzentzen dute hematopoiesia eta zelula mota bakoitzaren heltze-prozesua hezur-muinean. **B linfozitoak hezur-muinean garatzen dira**, eta, ugaltu ahal, antigeno baterako edo besterako espezifikoa den hartzaillea adierazten hasten dira, BCRA (ingelesez "B cell receptor"). Immunitate-sistemak autotolerantzia bermatzeko, antigeno arrotzak elkartzeko hartzailleak adierazten dituzten linfozitoak askatuko dira soilik odol-zirkulaziora; berezko molekulak ezagutzen dituzten B linfozitoak, berriz, hezur-muinean bertan eliminatzen dira.

T linfozitoen zelula aitzindariak hezur-muinetik timora joan behar du nahitaez, heltze-prozesua egiteko (hortik "T" letra). **Timoa** toraxeko erdialdean dagoen lobulu bikoitzeko organoa da. Lobulu bakoitzaren azalean timozito asko daude oraindik heldugabe (ez dute antigenorako hartzaille egokiak agertzen mintzean). Timoa **muin alderantz zeharkatu ahal timozitoak heltzen dira**, eta antigenorako hartzaille espezifikoa adierazten dute, TCRA (ingelesez "T cell receptor"). Zelula dendritikoak eta makrofagoak timo osoan sakabanatuta daude sistemaren berezko antigenoak, histobateragarritasun-molekulekin batera, sortzen ari diren T linfozito berriei aurkezteko prest. Heltze-prozesu horretan **T linfozitoen bi populazio** bereizten dira: **CD4** molekula adierazten duena (batez ere linfozito laguntzaile edo T_H , "T helper", linfozito bilakatuko diren linfozitoez osaturikoa) eta **CD8** molekula adierazten duena (linfozito zitotoxiko edo T_C , "T cytotoxic", linfozito bilakatuko diren linfozitoez osaturikoa). Azkenean, organo primario horietatik sortzen den B eta T linfozito klon bakoitzak mintzean antigeno baterako hartzaille espezifikoak adierazten ditu, eta, antigenoa aurkituz gero, erantzuteko/aktibatze gaitza da. Horiek **linfozito heldu birjinak** dira: helduak, hartzaille antigeno-espezifikoak dituztelako, eta birjinak, haien antigeno espezifikoa oraindik aurkitu ez dutelako.

Mikroorganismoek, infekzioak eragiteko, larruazala edo mukosen endotelioak zeharkatu behar dituzte. Leku horietara guztietara linfa-kapilarrak heltzen dira zelulen arteko likidoa drainatzeko. Zelula dendritikoek mikroorganismoen molekulak (antigenoak) harrapatu eta linfa-kapilarretatik abiatzen dira linfa-hodi handienetarantz, linfa-gongoil batekin aurkitu arte. B eta T linfozito heldu birjinak gorputz osoan **hedatzen dira** odolaren eta linfaren bidez, eta, bereziki periferiako linfa-organoetan edo **organo sekundarioetan** (barean, linfa-gongoiletan eta larruazalari eta mukosei lotutako linfa-ehunetan) pilatzen dira. Organo sekundario horiek immunitate-sistemaren zeluletarako topaguneak dira, eta kanpoko hesiak (larruazala edo mukosak) ere zeharkatu dituzten mikroorganismoen **antigenoak drainatzeko lekuak**. Hor, T eta B linfozitoak elkarrekin elkartzen dira, eta antigeno arrotzak atzeman ditzakete, T linfozitoen kasuan, zelula dendritikoek edo makrofagoek behar bezala aurkeztuta. Elkarreragin horien ondorioz organo sekundarioetan immunitate-erantzun espezifikoak garatuko dira: **antigeno** espezifikoak aktibatuta, linfozito klon bakoitza lehenengo ugaltzeko da, eta, ondoren, **populazio efektore espezifiko** bilakatuko da (B linfozitoa **plasma-zelula** bilakatuko da; CD4 linfozito gehienak, $T_H 1$ edo $T_H 2$ linfozito efektore, eta CD8 linfozito gehienak **Tc** efektore bilakatuko dira). Azkenean, zelula efektoreak organo sekundarioetatik infekzio-gunera joango dira antigenoa suntsitzeko. Plasma-zelula gehienak, ordea, hezur-muina joango dira, baina haiek kanporatutako **antigorputz espezifikoak** odoletik bideratuko dira infekzio-gunera.

Linfa-gongoilek, beren antolakuntzari esker, mikroorganismoak eta haien antigenoak iragazten dituzte. Linfa-gongoil bakoitzak kanpoko **azala** eta barruko muina dauzka, eta zuntzeko kapsula batez inguratuta dago. Hodi aferente batzuek kapsula zulatzen dute, eta haietatik linfa (zelula dendritikoekin eta antigenoekin batera) azala zeharkatzen du muineraino. Azalean, **B zelulen**



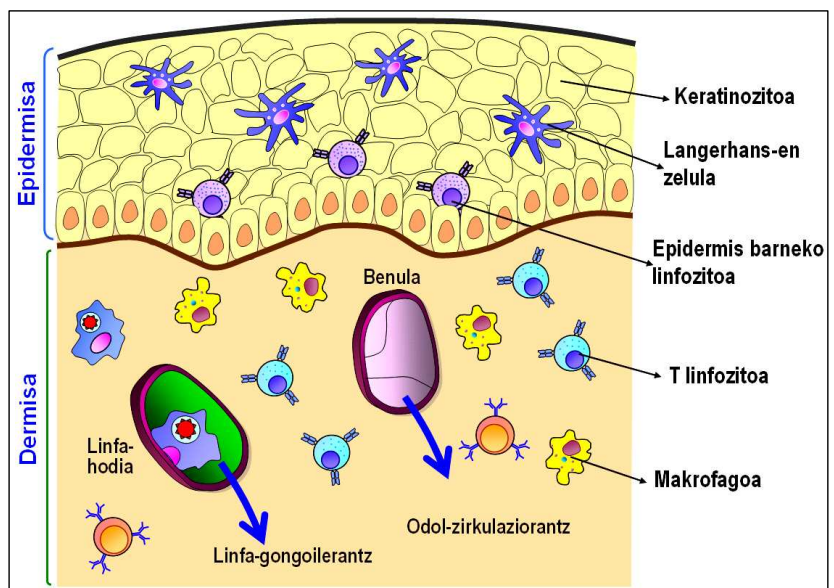
pilaketak daude, **folikulu primarioak** deitutakoak. Folikulu batzuek, **folikulu sekundarioek**, erdigunean ugaltzen ari diren B linfzitoen pilaketak dituzte, gune germinalak deitutakoak. **Linfa-gongoilaren muin alderantz T guneak** daude. Hainbat zitokinek eta atxikidura-molekulek zuzentzen dute linfzitoen migrazioa eta banaketa linfa-gongoilean. Edonola ere, antígeno batek aktibatuta, B eta T linfzitoak gongoil barruan desplazatu eta elkartzen dira hainbat gunetan, eta aktibazioaren ondorioz sortutako linfzito populazio efektoreak gongoiletik irtengo dira hodi eferentetik. **Linfa-hodien sarea** toraxeko hodiaren bidez **elkartzen da odol-zirkulazioarekin** (2. irudia).

2. irudia. Linfa-gongoilen egitura eta banaketa giza gorputzean. FP: folikulu primarioa; GG: folikulu sekundarioaren gune germinala; HEV: high endothelial venule edo goiko endotelioko benula; LA: linfatiko aferentea; LE: linfatiko eferentea; A: arteriola; Z: zaina

Odol zirkulazio-sistematik drainatzen diren antigenoak barera doaz zuzenean. **Barea** abdomeneko ezker aldean dago, eta helduen kasuan 150 gramo inguru pisatzen du. Odola barera sartzen da arteria esplenikotik. Linfa-gongoiletan bezala, barean B linfzitoen folikuluak eta T guneak bereizten dira, eta makrofago asko ere badaude. **Odoletik etortzen diren mikroorganismoak eta antigeno libreak** iragazteko balio du, eta opsonizatutako mikroorganismo asko fagozititzen dira hor.

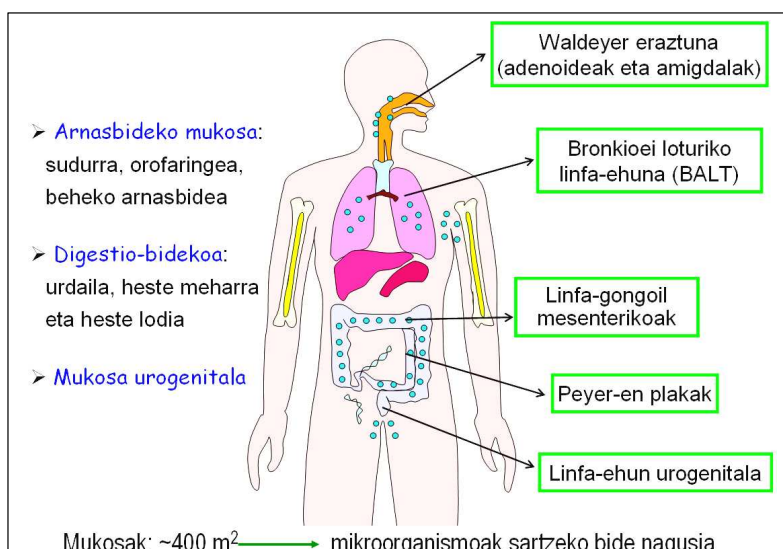
Larruazaleko linfa-ehunak linfzito eta zelula antígeno-aurkezle (APC "antigen presenting cell") propioak ditu, eta tokiko **hantura-erantzunak** eta **immunitate-erantzunak** sortzeko gai da. Epitelioetako **Langerhans-en zelulak** zelula dendritiko heldugabeak dira. Larruazaletik datozen antigenoak atzeman bezain pronto luzapenak laburtu eta lehenengo dermisera joaten dira; ondoren, eskualdeko linfa-gongoiletara abiatzen dira. Bi leku horietan, T **linfzitoei antigenoa aurkezten diete**. Epidermis barneko linfzitoak Tc populazioak izan ohi dira, eta, askotan, linfzito zitotoxiko horiek **TCR $\gamma\delta$** hartzaileak dituzte (TCR $\alpha\beta$ -en ordez). Dena den, larruazaleko linfzito gehienak dermisean daude, eta T CD4+ edo T CD8+ **oroimenezko linfzitoak** edo linfzito efektoreak izan ohi dira (3. irudia).

3. irudia. Larruazaleko immunitate-sistema.



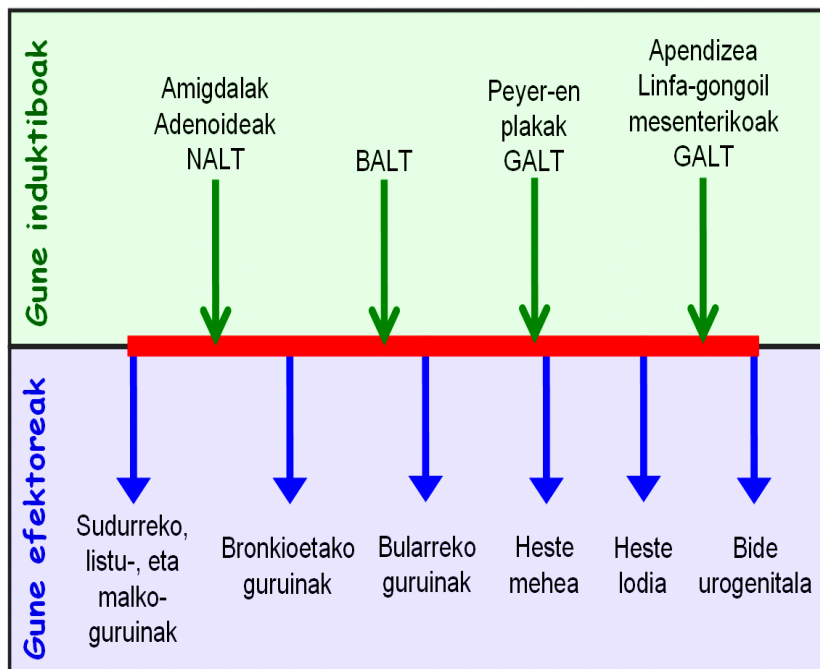
Mukosekin lotutako linfa-ehunak. Mukosetarik etorritako antigenoek mukosaren azpian linfa-ehun propioak (**MALT**) aurkitzen dituzte, **mukosan bertan erantzun espezifikoak** antolatzeke gai direnak. Aldi berean, antigeno horiek linfa-hodien bidez immunitate-sistema orokorrera joango dira, **erantzun sistemikoak** (gorputz osoan) eragiteko. Mukosetan linfa-zelulak ez daude organo kapsuladunetan antolatuta, hedatuta baizik. Gehien ezagutzen den epitelio mukosoa digestio-bidekoa da (**GALT**), baina arnasbideko edo bide genitaleko mukosan ere linfa-ehun hedatua dago (4. irudia).

4. irudia. Mukosetako immunitate-sistemaren banaketa gorputzean.



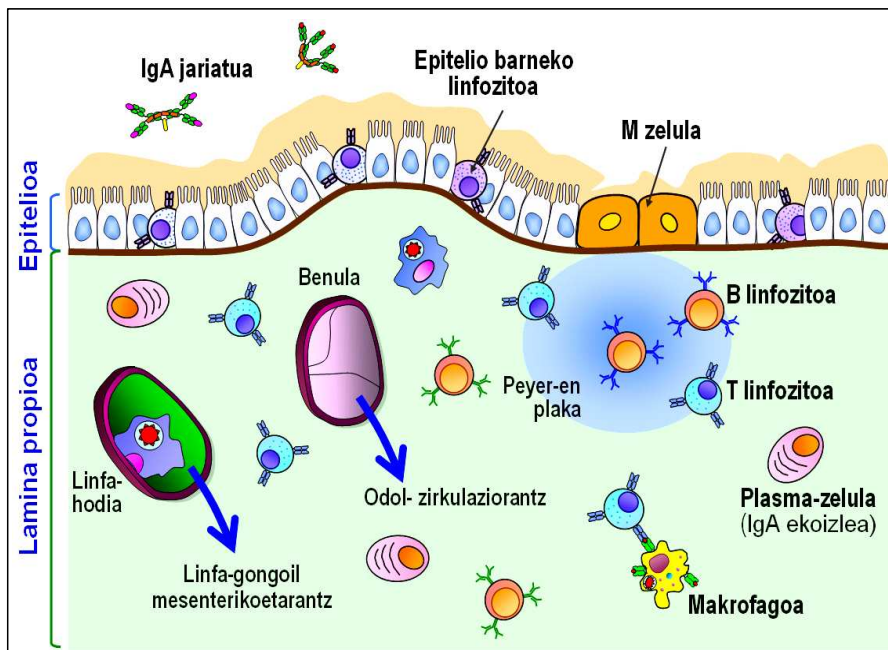
Mukosa baten linfa-zelulak beste mukosetarik barrena ibiltzen dira. Horrela, Peyer-en plaketan antígeno batek estimulatutako linfa-zelulak linfatik barrena joango dira eskualdeko linfa-gongoiletaraino, eta, ondoren, toraxeko hoditik zirkulaziora, eta handik berriro mukosetara; hor, IgA jariatuko dute. Birzirkulazio espezifiko hori (mukosetik zaletasuna) oinarritzen da mukosetako zelulek adierazten dituzten atxikidura-molekuletan. Mekanismo horietaz baliatuz, **mukosaren alde batean egindako antígeno baten estimulazioak, mukosetako beste aldeetan ere antígeno horrekiko Ig A motako antigorputz espezifikoak erantzuna eragingo du.**

Mukosa guztietan linfzito-pilaketak eta beste linfa-zelula batzuk sakabanatuta daude, eta **erantzuna sortzeko guneak** (benetako organo sekundarioak) eta erantzunaren **gune efektoreak** (populazio efektoreak eta Ig A antigorputzak dituzten lekuak) bereizten dira (5. irudia).



5. irudia. Mukosetako immunitate-sisteman immunitate-erantzuna garatzeko lekuak eta gune efektoreak bereizten dira.

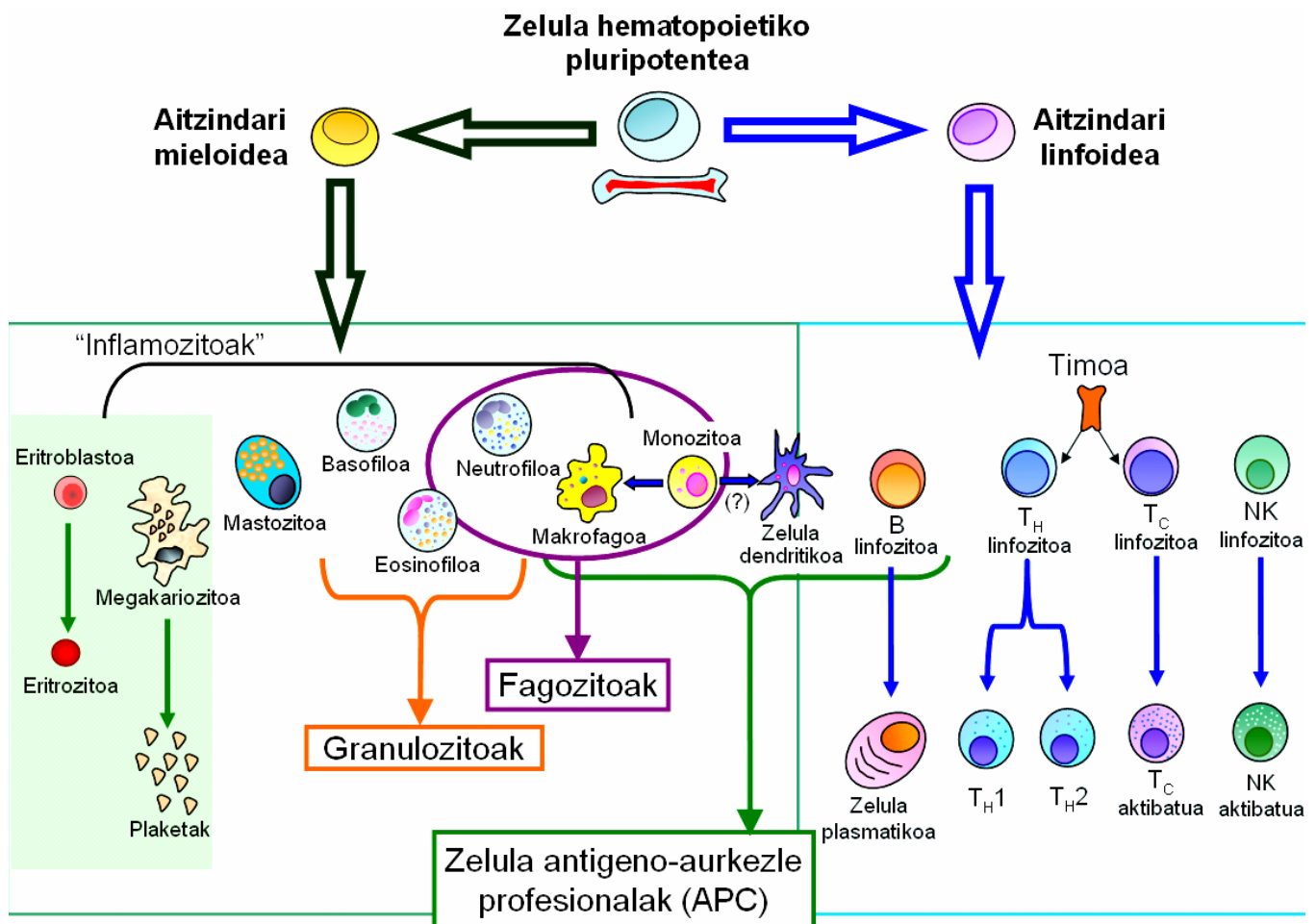
GALT: Digestio-bideko mukosetako linfzitoak hiru aldetan biltzen dira: epitelio barruan, lamina propioan eta Peyer-en plaketan. Epitelio barruan, gehienak Tc dira, eta horietatik % 10, **T $\gamma\delta$** linfzitoak; lamina propioan, T CD4+ aktibatuta, plasma-zelulak, makrofagoak eta zelula dendritikoak sakabanatuta daude. **Peyer-en plaketak** heste meharreko ondo antolatuako linfzito-pilaketak dira. Peyer-en plaketaren erdigunean, linfa-gongoiletan bezala, B linfzitoak daude, folikulu tankeran, batzuetan gune germinaldunak. Folikuluen artean, T CD4 (T_H) linfzitoak daude. Kanpoaldetik etortzen diren antigenoak barneratzeko zelula espezializatu batzuk daude, **M zelula** deitutakoak. M zelulek hesteko argitik antigenoak hartu (pinozitosia dela medio) eta barrura garraiatzen dituzte, baina ez dira antigeno-aurrekeizleak; zelula dendritikoek eta makrofagoek betetzen dute funtzio hori, immunitate-



erantzun espezifikoari hasiera emateko (6. irudia). Mukosetan immunoglobulina mota guztiak sintetizatzen diren arren, IgA da ohikoena. **IgA jariatua** mukosak zeharkatzeko gai den antigorputz dimerikoa da, mikroorganismoak mukosetik sartzea galarazten laguntzen duena. IgA jariatua **dimerikoa** da (bi immunoglobulina **J katearekin lotuta**), eta S deritzon polipeptido batekin lotuta dago. S osagaia endotelioko zelulen poli-Ig hartzailetik dator, eta IgA argira eramateko garraio-proteina da. IgA jariatuak mukosaren kolonizazioa galarazten du, birusen edo bakterioen adhesinak elkartuz; toxinak neutralizatzen ditu (kolerarena, adibidez), eta immunokonplexuak baztertzen ditu (hau da, antigenoa + IgA multzoak hesteko argira eramaten ditu). IgA-k duen opsonizatze ahalmena ez da handia. Beste alde batetik gutxi aktibatzen du konplementuaren sistema, eta horrela **ez du hanturarik eragiten**.

6. irudia. GALT (Gut-associated lymphoid tissue) digestio-bidearekin loturiko linfa-ehunak.

LINFA-SISTEMAREN ZELULAK. Hezur-muineko zelula aitzindariak bi leinutan bereiziko dira: leinu linfoidean eta leinu mieloidean (7. irudia). **Leinu linfoidea** linfzito guztien jatorria da: antígeno bakoitzerako hartzaile espezifikoak dituzten B eta T linfzitoak (oroimena duten erantzun espezifikoetan parte hartzen dutenak), eta antigenoekiko hartzaile ez-espezifikoak dituzten NK linfzitoak (erantzun natural edo ez-espezifikoetan parte hartzen dutenak). **Leinu mieloideko** zelulak hainbat morfologiatakoak dira, eta fagozitosia dela edo hantura-erantzuna dela, antigenoak suntsitzeko mekanismo naturaletan hartzen dute parte. Leinu mieloidetik etortzen dira odoleko zelula gorriak (eritrozitoak) eta plaketak, granulozito guztiak (leukozito polimorfonuklear neutrofiloak, basofiloak eta eosinofiloak), mastozitoak edo zelula gizenduak eta odoleko monozitoak, ehunetara migratzen dutenean makrofago edo zelula dendritiko mieloitiko bilakatuko direnak.



7. irudia. Immunitate-sistemaren zelulak hezur-muinean sortzen dira.

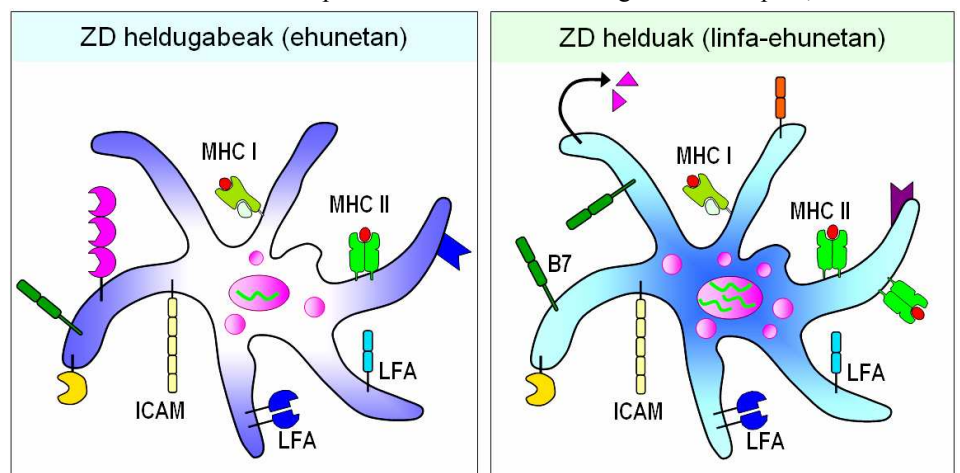
Eritrozitoak edo globulu gorrien funtzio nagusia gorputzeko zelula guztiei elikagaiak eta oxigenoa eramatea da. Metabolismoaren hondakinak eta arnasketan ekoiztatutako karbono dioxidoa ere biltzen eta kanporatzen dituzte. Immunitate-erantzunari dagokionez, eritrozitoek mintzean konplementuaren C3b hartzaileak dituzte proteinarentzat; horri esker odoleko immunokonplexuak hartu eta gibelera eramaten dituzte suntsitzeko.

Megakariozitoak zelula erraldoiak dira, eta apurtzerakoan nukleorik gabeko partikulak ematen dituzte, **plaketak**, odol-isuriak eteteko balio dutenak (koagulazio-prozesuan).

Monozitoak odolean eta linfa zelula ibiltari biribilak dira, fagozitosia egiten dutenak. Odoletik ehunetara bizitzera doazenean, zitoplasma handitu eta ameboide bihurtu eta gero, batzuk makrofagoak eta beste batzuk zelula dendritiko mielozitikoak izatera helduko dira.

Zelula dendritiko mielozitikoak odoleko monozitoetatik datoz. Zitoplasmaren luzakinekin antigenoak harrapatu, eta hurbilen dauden linfa-gongoiletara abiatzen dira atxikidura-molekulek zuzenduta. Haien funtzio nagusia **antigenoak aurkeztea** da (APC). Behin organo sekundarioetan, antigenoak II motako MHC molekulen barruan aurkezten dituzte, eta B7 molekulak (T linfzitoen koaktibatzaileak) adierazten dituzte mintzean. Horrela, **T_H linfzito birjinak aktibatze** gai dira, erantzun espezifikoari hasiera emateko (8. irudia).

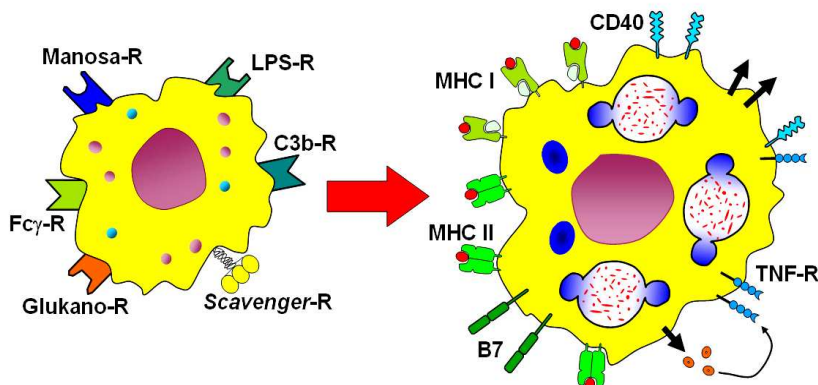
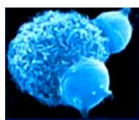
8. irudia. Zelula dendritikoen ezaugarriak aldatzen dira aktibatzen direnean.



Linfa-gongoilen eta barearen B linfzitoen folikuluetan zelula antígeno-aurrekezte berezi batzuk daude: **folikuluetak zelula dendritikoak (FDC "follicular dendritic cell")**. Zelula horiek ez dute zerikusirik aurreko zelula dendritiko mielozitikoekin (ez dituzte MHC II edo B7 molekulak adierazten mintzean). Garrantzitsuak dira antigorputzen afinitatearen heldutasuna lortzeko B linfzitoetan. Zitoplasmako pseudopodo oso luzeak dituzte, eta FcR eta CR molekulen bidez **antigeno-molekulak atxiki** eta

Makrofagoen ekintza nagusiak

- Fagozitosia
- Zitokinen ekoizpena
- Antigenoen aurkezpena



denbora luzez erakusten dizkiete ugaltzen ari diren gune germinaleko B linfotzitoei. Antigenoak BCR hoberenak dituzten linfotzitoak soilik elkartuko ditu ondorengo aktibazioetarako, eta, horrela, antigorputzen kalitatea gero eta hobea izango da aktibazioak aurrera egin ahala.

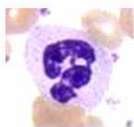
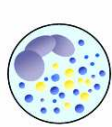
Makrofagoak bizi luzeko ameba moduko **zelula fagozitiko mononuklearrak** dira (aste/urte batzuk bizi izaten dira); monozitoak baino 10 aldiz handiagoak dira, eta hainbat itxura eta izen hartzen dituzte migratu duten lekuaren arabera (Kupffer-en zelulak gibelean, mikroglia garunean, osteoklastoak hezurretan, eta abar). Hainbat mikroorganismoaren azalean arruntak diren molekulak, elkartzeko hartzaille komunak izateaz gain, G immunoglobulinentzakoak (FcγR) eta konplementuaren proteinentzakoak (C3bR) dituzte mintzean. Mikroorganismoak horrelako proteinez estalita daudenean (opsonizatuta), makrofagoek gauzatzen duten fagozitosia askoz

efikazagoa (arinagoa) izango da (9. irudia).

9. irudia. Makrofagoa antigenorik gabe eta antigenoaren presentzian.

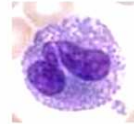
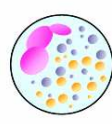
Makrofagoek, antigenoak elkartu eta berehala, hainbat zitokina ekoizten dituzte, zeinek balio baitute hantura eragiteko, gibelean hepatozitoetan fase akutuko proteinen sintesia aktibatze eta NK zelulen kopurua eta aktibitatea handitzeko. Beraz, infekzioen kontrako defentsamekanismoen zelula nagusiak dira makrofagoak, **mekanismo efektore batzuen loturak ahalbidetzen dituztelako**. **Fagozitoak** izateaz gain, makrofagoak **antigeno-aurkezleak ere badira** (APC), digeritutako antigenoen zatiak histobateragarritasun-molekulekin batera T_H linfotzitoei aurkezteko gai direlako. Horrela, makrofagoek **abiarazten dute erantzun espezifiko** antigenoarekiko.

Neutrofiloa



Polimorfonuklearren % 90
Fagozito profesionalak

Eosinofiloa



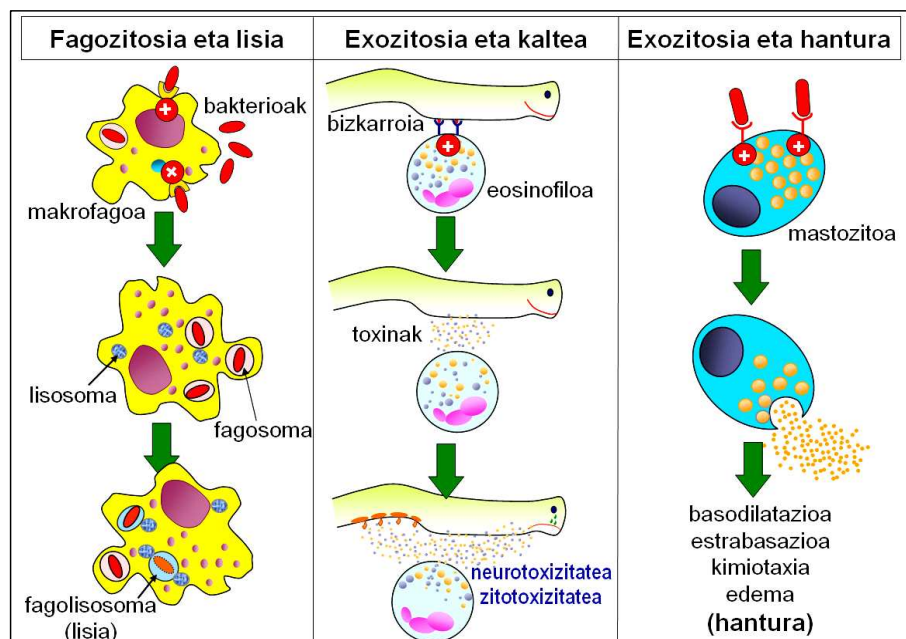
Polimorfonuklearren % 2-5
Alergietan eta parasitoen kontrako erantzunetan parte hartu

Basofiloa



Polimorfonuklearren % 1
Hantura-zelulak

Odoleko leukozito polimorfonuklearrak zitoplasmako granulu motaren arabera bereizten dira hiru taldetan: neutrofiloak, basofiloak eta eosinofiloak (10. irudia). **Neutrofiloak** leukozito polimorfonuklearren % 90 neutrofiloak dira, zitoplasmako



pikorren tindatzearen arabera. **Odoleko zelula ibiltari** eta bizi laburrekoak dira (2-3 egun bizi izaten dira). Mintzean konplementuaren produktu batzuentzako (C5arentzako) eta beste kemokinentzako hartzailleak dituzte. Infekzio bat dagoenean, kemokinen gradientearen alde odol-hodietatik kanporatuko dira abiadura handiz (40μm/min) infekzio-gunerantz. Hor, bakterioak, onddoak edo birusak **fagozitzatzeko ahalmen handia dute**. Odoleko neutrofiloen ohiko kopurua handitzea infekzioaren seinalea da. Mikroorganismoak elkartzeko hartzaille komunak izateaz gain, mikroorganismoaren azalean geratzen diren hainbat opsoninentzako hartzailleak ere badituzte mintzean (G immunoglobulina [FcγR], konplementuaren proteina [C3bR] eta fase akutuen proteina batzuentzat).

11. irudia. Makrofago, eosinofilo eta mastozitoen jardura nagusiak.

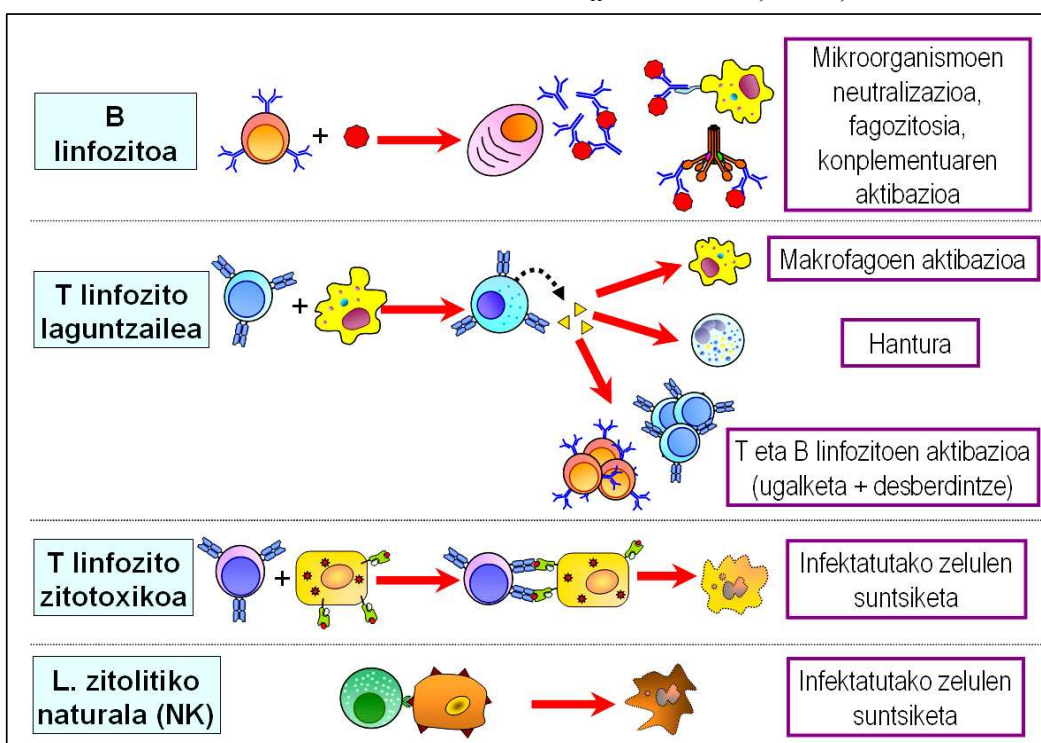
Eosinofiloen zitoplasmako pikorrak tindagai azidoekin (eosinarekin, adibidez) tindatzen dira. Odoleko leukozitoen % 2-5 dira, pertsona osasuntsuen kasuan. Kemokinentzako eta E eta G immunoglobulinentzako hartzaileak dituzte (FcεR, FcγR) mintzean, eta **exozitosi**-prozesuaren bidez bizkarroi handiei kalte egiten diete. Odoleko eosinofiloen kontzentrazioa handitzea (eosinofilia) **parasitosiak edo prozesu alergikoak** dauden seinalea da. **Basofiloen** zitoplasmako pikorrak tindagai basikoekin urdinez tindatzen dira. Odoleko **hantura-zelulak** dira (leukozitoen % 0,2). Beste granulozitoak bezala, kemokinek erakarrita ehunetara abiatzen dira, eta pikorren edukia husteko gai dira behar den lekuan hantura sortzeko. Mintzean E immunoglobulinentzako hartzaileak dituzte.

Mastozitoak. Ehunetako **hantura-zelula biztanleak** dira. Zitoplasman histaminaz eta hanturako beste bitartekariez betetako pikorrak dituzte (11. irudia). Konplementuaren proteinentzako hartzaileak (CR) eta E immunoglobulinentzako hartzaileak dituzte mintzean, eta, IgE-rekin kargatuta daudenean, antigenoa (edo alergenoa) sartu bezain laster hantura-prozesua aktibatzen dute, neutrofiloak eta beste zelula asko infekzio-gunera erakartzeko.

NK zelulak, linfzitoak izan arren, **erantzun ez-espezifikoan** hartzen dute parte, ez dituztelako antigeno arrotzen motak bereizteko hartzaile espezifikoak. NK zelulak, B eta T zelulak ez bezala, antigenoa elkartzen dutenean ez dira ugaltzen, eta ez dute oroimenik garatzen. NK linfzitoek **xede-zelulak suntsitzeko berezko joera dute**. Oso baliagarriak dira, bakterioak, **tumore batzuetako zelulak edo birus batzuek infektatutako zelulak** (MHC molekulen adierazpen eskasa edo ezegokia dutenak) deuseztatzeko. NK zelulek G immunoglobulinentzako hartzaileak dituzte (FcγR).

B linfzitoek antigenoak bereizteko **hartzaile espezifikoak** dituzte mintzean (BCR), immunoglobulinak. Antigenoak elkartu eta gero, ugaltu eta **plasma-zelula** bilakatzen dira. Plasma-zelulek B linfzitoaren molekula hartzaileak (immunoglobulinak) kanporatzen dituzte, hain zuzen, espezifikoki antigenoa elkartzeko gai direnak (**antigorputzak**). B linfzitoen hartzaile espezifikoek patogenoen azalean dauden antigenoak jatorrizko konformazioan (**epitopo konformazionalak**) **ezagutzen dituzte**. B linfzitoak mintzean, BCRez gain, beste molekula asko erakusten ditu: II motako MHC histobateragarritasun-molekulak eta B7 koaktibatzailea (T_H linfzitoak aktibatzeko), CD40 (T_H2 linfzitoekin komunikatzeko) eta konplementuaren proteinak eta antigorputzak elkartzeko hartzaileak (CR eta FcR). Odolean eta organo sekundarioetan dauden B linfzito gehienek ez dute CD5 molekula adierazten (CD5-), eta **B2 azpipopulazioa** osatzen dute. Edozein motatako antigenoen aurrean antigorputz-erantzunak egiteko gai dira **T linfzitoen laguntzarekin**. Pleuran eta peritoneoan batez ere, beste B linfzito populazio bat dago, **B1 populazioa**, CD5 molekula adierazten duena. Populazio horrek bereziki bakterioen hormako antigenoen (**antigeno T-independenteen**) aurrean sortzen ditu antigorputzak, T linfzitoen laguntzarik gabe.

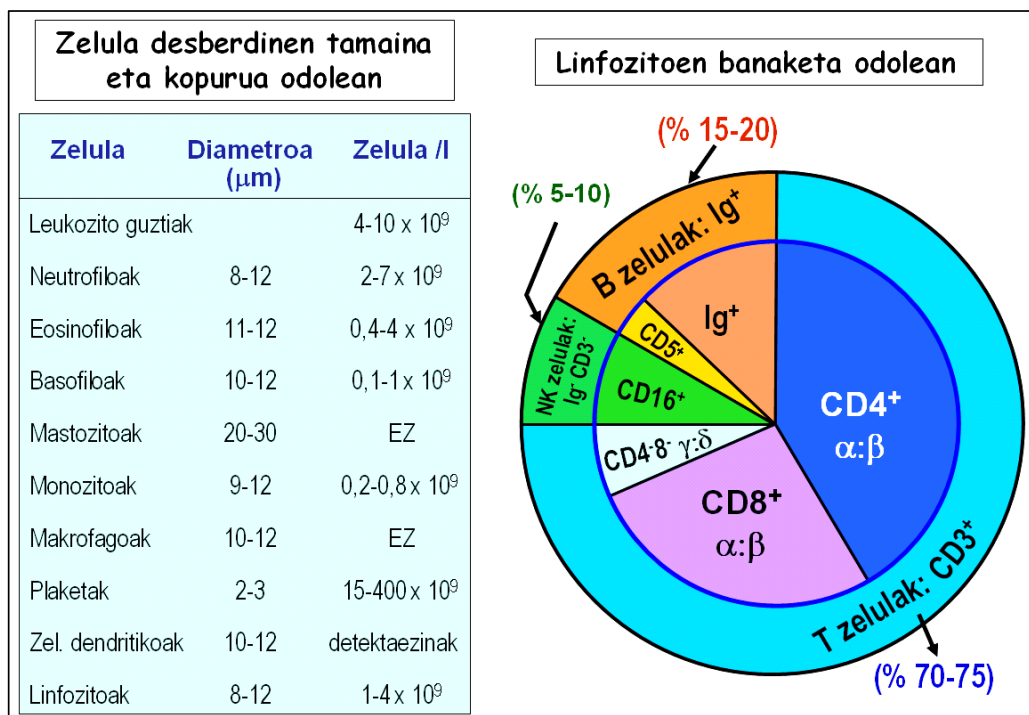
T linfzitoen antigenoentzako hartzaile espezifikoa **TCRa** da. Hartzaile horrek ezagutzen ditu peptido linealak, beste zelulek prozesatuta (degradatuta) eta MHC molekulen barruan aurkeztuta. Zelula dendritikoak zelula antigeno-aurkezle eraginkorrenak dira; beraz, linfzito birjinak aktibatzeke onenak. Peptidoak aurkezteko aktibatutako edota oroimen T linfzitoentzako bai zelula dendritikoak, bai makrofago edota B linfzitoak efikazak dira. Nahiz eta **T zelula guztiek CD3** molekulak izan, ez dute populazio homogeneoa osatzen. TCR gehienak dira **αβ motakoak (% 85)**, eta horietariko batzuek **CD4** proteina dute mintzean (**T_H populazioa edo T laguntzaileak**), eta besteek **CD8** proteina dute (**Tc populazioa edo T zitotoxikoak**). T_H populazioa bereiziko da infekzioa eragiten duen patogeno motaren arabera: **T_H 1 edo T_H 2** populazio funtzionalak. T_H 1 linfzitoek makrofagoak eta Tc linfzitoak aktibatzeke zitokinak ekoizten dituzte. T_H 2 linfzitoek, ordea, B linfzitoak estimulatzeko erantzunak handitzeko. **Tc linfzitoak zitotoxikoak** dira, eta, beren TCR hartzailearen bidez, suntsituko dituzte antigeno arrotz espezifikoak I motako MHC molekulen barruan adierazten dituzten zelulak. Oso linfzito garrantzitsuak dira, adibidez, birusek infektatutako zelulak ezabatzeke. T linfzitoen % **15ek TCR γδ** dauka. Gehienak larruazalean edo mukosetan daude, eta CD8+ (T_C) izan ohi dira. Hartzaile horiek ez dute hainbeste antigeno-espezifikotasun bereizten.



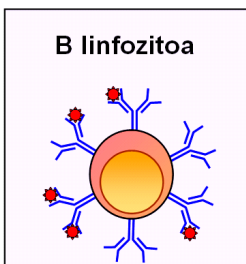
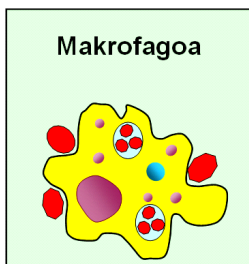
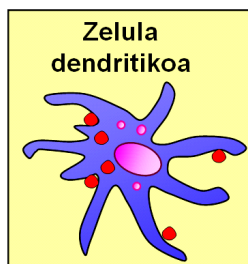
Linfzitoen funtzio nagusiak 12. irudian aurkezten dira, eta populazio mota bakoitzaren ohiko kopuruak, 13. irudian.

Hainbat zelula mota, nahiz eta jatorri ezberdinekoak izan, **populazio funtzional** berean sailkatzen dira eginkizun bera betetzen dutenean. Horrelako populazioa da **zelula antígeno-aurkezleena** (APC). Talde horretan, antígenoak harrapatzeko eta prozesatzeko gaitasuna duten zelulak daude. Zelula antígeno-aurkezle profesionalak antígenoak atzeman ostean, peptido txiki bihurtuta (prozesatuta edo landuta), T_H linfotzitoi aurkeztuko dizkiete, II motako MHC molekulen barruan. Zelula dendritikoak, makrofagoak eta B linfotzitoak APC zelulak dira (14. irudia).

13. irudia. Odoleko zelulen tamaina eta ohiko kopuruak eta linfotzito moten banaketa.



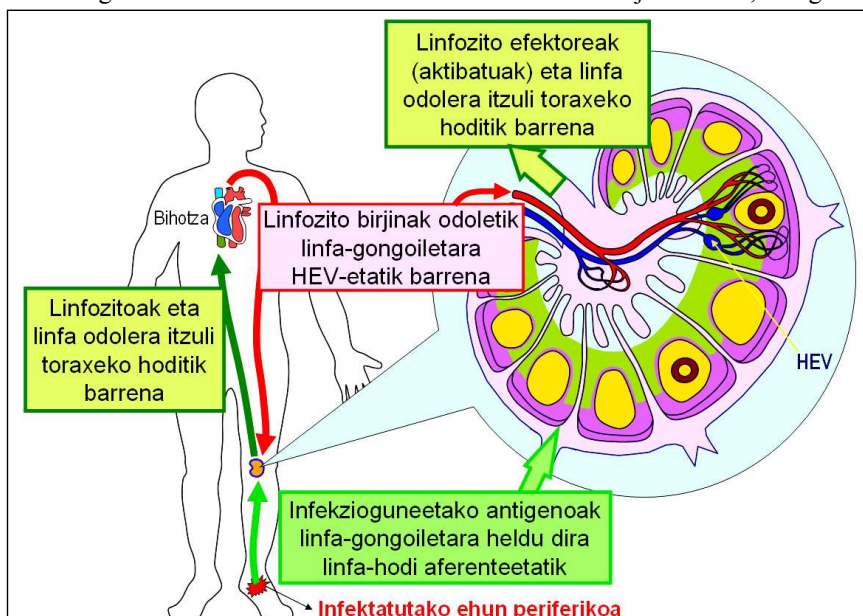
- Antigenoa sartzen eta antigenoa aurkezten den ehunetan kokatuak
- Antigenoa hartzeko gaitasuna (berezko endozitosia / fagozitosia)
- Antigenoa barneratu, suntsitu eta prozesatzeko dute
- Antigenoa aurkezten diete T_H linfotzitoi MHC II molekulen bidez



Modu berean, **fagozito** esatean, mikroorganismoak barneratu eta zitoplasma barruko bakoletan suntsitzen ahal dituzten zelulez ari gara; monozitoak, makrofagoak eta neutrofilak, adibidez, fagozitoak dira. **Inflamozito** esatean, hantura eragiten duten zelulak izendatu nahi ditugu. Kasu horretan, argi dago mastozitoak eta basofilak inflamozitoak direla, baina beste zelula askok askatzen dituzte hanturako bitartekariak, nahiz eta aldi berean beste funtzio batzuk egin. Adibidez, makrofagoak, neutrofilak, eosinofilak edo T_H 1 linfotzitoak hanturako bitartekariak jariatzen dituzte

14. irudia. Zelula antígeno-aurkezleak (APC).

ZELULEN TRAFIKOA. Leukozito guztiak organo primarioetatik odolera joaten dira hainbat ibilbidetatik. Monozitoak odoletik ehunetara joaten dira makrofago edo zelula dendritiko gisa. **Mastozitoak eta eosinofilak** ere ehunetara joaten dira, han geratzeko (leukozito **biztanleak**). Neutrofilak zelula fagozitiko nagusiak dira; hezur-muinetik odolera joaten dira, eta, infekziorik egon ezean, **odoletik ibiltzen dira** hil arte (egun batzuetan). Infekzioa dagoenean, hanturaren ondorioz **infekzio-gunera abiatuko dira** (kemokinek erakarrita). Etenik gabe odoletik heldutako hainbat espezifikotasunetako **B eta T linfotzito klon birjinak linfa-gongoilak eta barea kolonizatzen dituzte**. Antigenoak infekzioarako ate ugari dituzte ostalaria inbaditzeko, gehienetan mukosak eta larruazala. Infekzioa dagoenean, zelula dendritikoak alboko linfa-gongoilera joaten dira antigenoarekin batera. Hor, haientzako hartzaile espezifikoak dituzten B eta T linfotzito klonak elkartu eta aktibatuko dituzte.

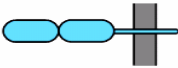
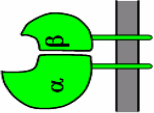
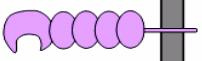
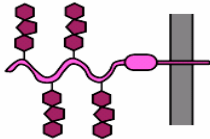


15. irudia. Linfozitoen zirkulazioa.

Linfozito espezifikoa ugalduko dira **organo sekundarioetan**, eta gero, **linfatik odolera itzuliko dira** toraxeko hodiari esker, eta hortik **odol-hodietatik infekzio-guneetara** (15. irudia).

Linfozito birjin ibiltariak linfa-organo primarioetatik odolera mugitzen dira, odoletik linfa-ehun sekundarioetara (adibidez, linfa-gongoiletara) eta linfatik berriro odolera. Antigeno espezifikoa linfa-gongoilean agertzen bada (linfatik ekarritakoa), linfozito birjinak aktibatu, bereizi eta efektore bihurtu eta gero, linfa-hodi eferentetik irten eta odolera itzultzen dira; azkenean, hortik infekzio-gunera abiatzen dira.

Atxikidurako molekulak dira linfozitoen trafikoan, heldueran, aktibazioan eta eragin-fasean parte hartzen duten proteinak. Proteinen familia horietakoak izan daitezke: immunoglobulinetakoak, integrinetakoak, selektinetakoak, edo diriginetakoak. **Leukozito guztien eta endotelioko zelulen mintzean** ere agertu eta desagertzen dira, organo primarioetan linfa-zelulen heltze-prozesuak eta bilakaeran laguntzeko, eta, gero, immunitate-sistemaren organo eta ehunen artean linfa-zelulen trafikoa zuzentzeko. Atxikidura-molekulen lotura-molekulak beste atxikidura-molekula batzuk izan ohi dira (16. irudia).

| Familia | Funtzioa | Izena | Banaketa |
|---|--|--|--|
| Immunoglobulinak  | Integrinen ligandoak Endotelio/leukozito atxiki | ICAM-1 , -2, -3 LFA-2 , -3 VCAM-1 | T eta NK linfozitoak APC Endotelio aktibatua |
| Integrinak  | Leukozito/matrize estrazelular atxiki Organo linfoideetan finkatu (timoa, GALT...) | VLA-1 , -4, -5 LFA-1 Mac-1, CR3 P150, CR4 LPAM-1, -2 | Eskuarki ubikua Batzuk leukozito, plaketa eta linfozito intraepitelialei mugatuak |
| Selektinak  | Leukozito/endotelio atxikidura hasi | E-, P-, eta L-selektinak (CD62E, P, L) | Endotelio aktibatua Leukozitoak Plaketak |
| Adresina baskularrak  | Selektinen ligandoak Endotelio/leukozito atxikidura hasi O. linfoideetan finkatu | CD34 GlyCAM-1 MadCAM-1 Ly24, HERMES | Endotelio Leukozitoak |

16. irudia. Atxikidura-molekula batzuen funtzioa eta banaketa.

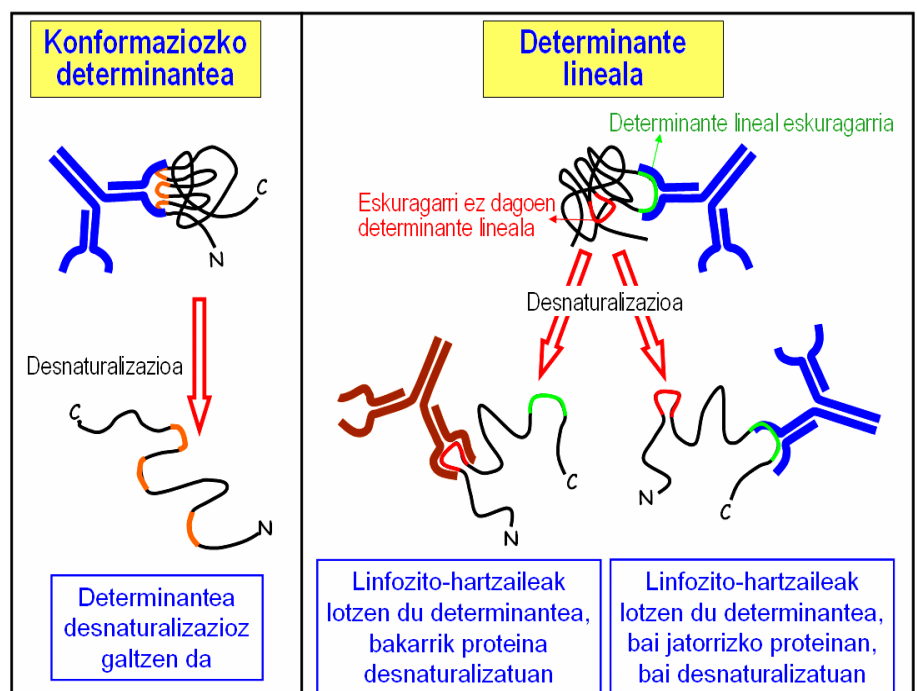
4. ANTIGENOAK ETA ANTIGENOEN HARTZAILE ESPEZIFIKOAK

ANTIGENOAK. Animalia edo gizaki batean ondo txertatuta **immunitate-erantzun espezifikoak** (antigorputzak, T zelula espezifikoak, edo biak batera) sortarazten dituzten gaiak **immunogenoak** deitzen dira. Erantzun horiek eragiteko B edo T linfzito baten azalean dagoen hartzaile espezifiko batek molekula arrotza (**antigenoa**) ezagutu eta elkartu behar du. Mikroorganismoen azaleko antigenoak eta inguruko gai kimiko asko animalia edo gizaki batean barneratzen direnean horien kontrako immunitate-erantzun espezifikoak sortarazten dituzte. Ostalariaren immunitate-sistemarentzat arrotzak badira pisu molekular handia (10.000 baino gehiago) duten antigeno gehienak immunogenoak dira. Antigeno batzuk ordea antigorputz batekin elkartzeko gai dira, baina ezin dute, laguntzarik gabe, antigorputzen ekoizpena bultzatu, hau da, ez dira immunogenoak. Horrelako molekulak **haptenoak** deitzen dira. Molekula txikiak izan ohi dira eta immunogeno bihurtzeko garraio-proteina batekin lotuta egon behar dute.

1.taula. Antigenoen immunogenotasunarekin lotutako hainbat faktore.

| Antigenoaren | Immunogenotasun handia | Immunogenotasun eskasa |
|----------------|-----------------------------------|--------------------------------------|
| Izaera kimikoa | Proteina | Azido nukleikoak, lipidoak, azukreak |
| Tamaina | Handia ($P_M > 10.000$) | Txikia ($P_M < 2.500$) |
| Dosia | Ertaina | Masiboa / oso txikia |
| Sartzeko bidea | Larruazalpetik | Bena barnetik |
| Egitura | Konplexua | Xumea |
| Egoera | Partikulatuta / Desnaturalizatuta | Disolbatuta / Jatorrizko forman |

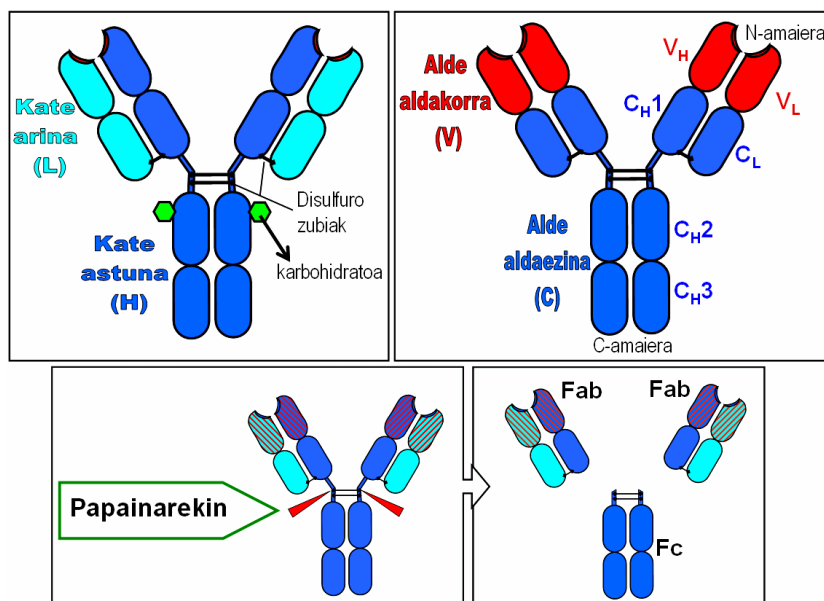
T edo B zeluletako hartzaileek ezagutzen dituzten antigenoaren zatia **epitopoa** edo **antigeno-determinante** deitzen da. Antigeno-determinanteak antigenoaren zati txiki-txikiak dira, 4-6 aminoazido baino ez daudelako hartzaileekin loturetan inplikaturik. Beraz, proteina batek antigeno-determinante batzuk izan ohi ditu, eta, sortuko duen immunitate-erantzuna poliklonala izango da, hau da, bere epitopo ezberdin guztien aurrean antigorputz espezifikoek ekoizpena eragingo du. Aurretik aipatutako haptenoak antigeno-determinanteak soilak dira. **Antigeno-determinanteak** izan daitezke **linealak**, hau da, lehen mailako sekuentzia bata bestearen segidan dauden aminoazido batzuek osatuta; edo **konformaziozko antigeno-determinanteak**, lehen mailako sekuentzia han-hemenka dauden baina hirugarren mailako egituran bata bestearen alboan geratzen diren aminoazido batzuek osatuta.



1. irudia. Antigeno-determinante motak eta linfzitoen hartzaile espezifikoekin loturak.

B linfzitoek jatorrizko egoeran dauden antigeno aske, edo zelulekin elkartuta, ezagutzen dituzte bere azaleko immunoglobulinen bidez (BCR), eta makromolekulen **gainazaletan** dauden **determinante linealak eta konformaziozko determinanteak** ezagutu ohi dituzte. T linfzitoen hartzaileak (TCR) proteinazko antigenoak soilik ezagutzen ditu, aurretik zelula-antigeno aurkezle batek prozesatuta eta mintzean behar bezala aurkeztuta daudenean. Lantze edo desnaturalizazio prozesu horretan proteina konplexu bat peptido antigeniko txikitzen da, eta histobateragarritasun-molekulek peptido antigeniko txiki horiek T linfzitoei aurkeztuko dizkiete. Horrek esan nahi du **T linfzitoek beti ezagutzen dituztela antigeno-determinante linealak** (antigenoa degradatu eta gero konformaziozkoak galtzen direlako). Hori bai, T linfzitoek jatorrizko proteinan eskuragarriak ez ziren determinanteak ere ezagutu ditzakete, desnaturalizazio prozesuan agertzen direlako. Antigeno gehienek aurreko erantzuna gertatzeko bai B eta bai T linfzitoek antigenoa ezagutu behar dute. Antigeno mota horiek **timo-mendekoak** (T mendekoak) deitzen dira. Antigeno **T independente** deitutakoak aldiz molekula gutxi batzuk dira, T linfzitoen laguntzarik gabe B linfzitoak aktibatzeke kapazak direnak. Karbohidratozko edo lipidozko homopolimeroak izan ohi dira (antigeno-determinante errepikatuak dituzten molekula handiak). **Superantigenoak bakterioen edo birusen proteina toxikoak dira sistema batean txetatuta** T CD4⁺ klon asko aldi berean modu ez espezifikoan aktibatzen dituztenak. Ondorioz oso kaltegarria den zitokinen jariatzen masiboa gertatzen da. Hainbat T eta B klon aldi berean aktibatzeke gai diren molekulak **mitogenoak** deitzen dira. Mitogenoak, landareek sortutako lektinak, bakterioen hormako lipopolisakaridoak edo estafilokokoen A proteinak, besteak beste, zelula immunitarioak laborategiak hazteko erabil daitezke.

IMMUNOGLOBULINAK. Antigenoekiko espezifikoak diren molekulak immunoglobulinak eta T linfzitoen hartzailleak dira (TCR). Immunoglobulinak B zelulen azalari lotuta daudenean B linfzitoen hartzailleak dira (BCR), eta, ekoizten direnean plasmako edo beste gorputz-likidoetako proteina disolbagarri moduan, antigorputzak deitzen dira, antigenoak elkartu eta neutralizatzeko gai direlako. Antigorputzen artean odol zirkulazioan kontzentrazio handiena duen eta hoberen ezagutzen den immunoglobulina Ig G da.

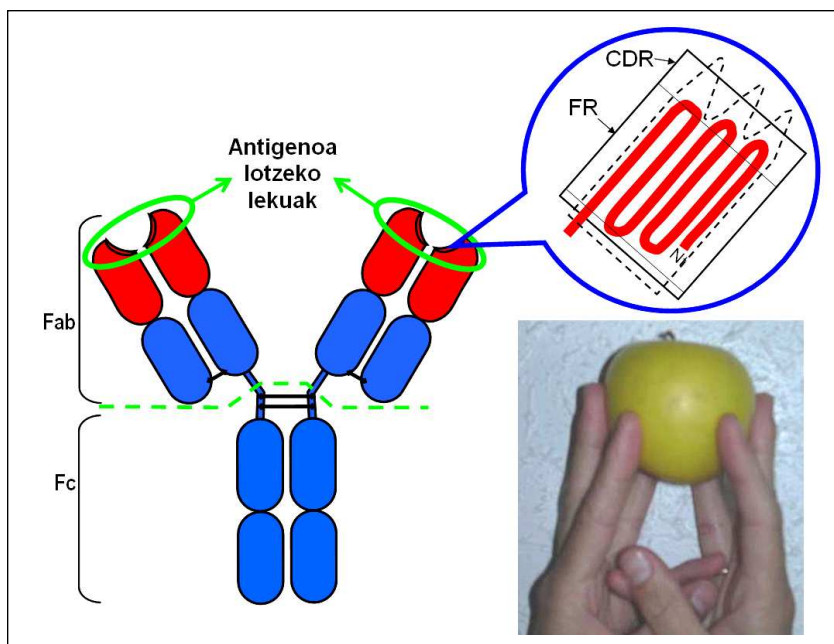


Immunoglobulinaren egitura eta funtzioa: Ig G immunoglobulinak lau kate polipeptidikoak ditu, bi astunak edo H (450 aminoazidozkoak), elkarren artean berdinak, eta bi arinak edo L (220 aminoazidozkoak), elkarren artean berdinak, disulfuro-zubien bidez elkartuta.

Kate bakoitzean N-amaieran V alde aldakorra dago eta C-amaieran C alde aldaezinak kokatzen dira. L kateetan V_L eta V_C bakarria dago. Ig G immunoglobulinaren H kateak V_H bat eta hiru C_H ditu (2.irudia).

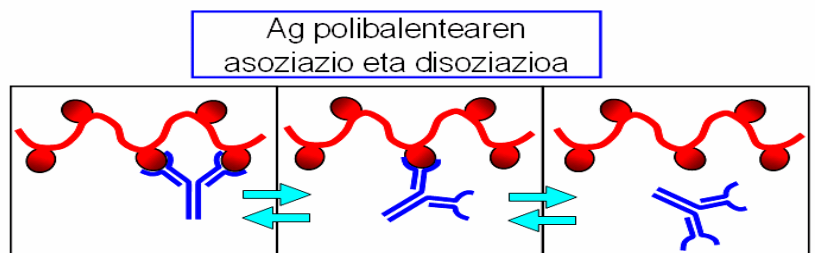
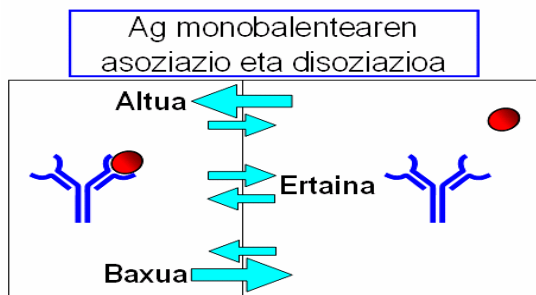
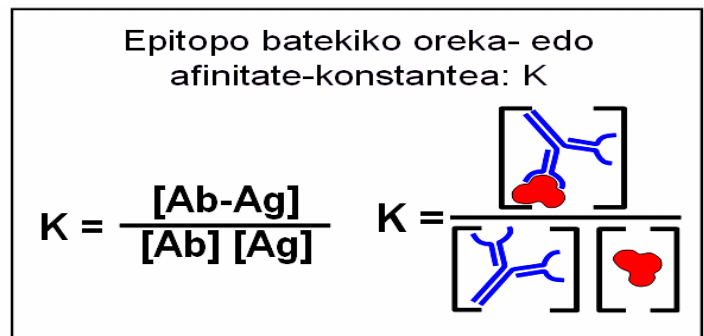
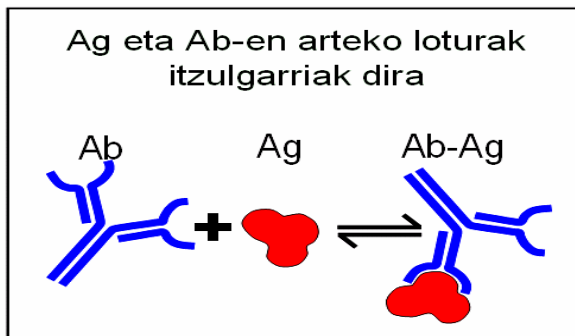
2. irudia. Ig G immunoglobulinaren egitura.

Molekula simetrikoa hori papaina entzimarekin tratatuz hiru zatitan apurtzen da: horietatik bik kate astunaren eta kate arinaren N-muturra dituzte, hau da V_H eta V_L aldeak batera. Horregatik **Fab** zatiak (fragmen of antigen binding) deitzen dira, antigeno-determinanterako loturagunea dutelako. Hirugarren zatiak kate astunen C aldeak ditu eta **Fc** aldea (crystallizable fragment) deitzen da. Gizabanako baten B linfzito klon guztiek jariatutako G immunoglobulinak alderatuz, C aldeek (L kateetan eta C kateetan) aminoazido sekuentzia berdina dituztela nabarmentzen da. V aldeak, aldiz, molekula batetik bestera aldatzen da, antigeno mota bakoitzarekin elkartu ahal izateko. V_L eta V_H horietan gehien aldatzen diren aldeak (hiperaldakorrak) antigenoaren osagarritasuna zehazteko eskualdeak edo CDR1, CDR2 eta CDR3 dira (complementary determining regions). Eskualde horiek eratutako loturaguneak 2x3 nm baino ez du eta antigenoaren 10-15 aminoazidoekin elkartzeko gai da. Immunoglobulina baten espezifotasuna edo **idiotipoa**, beraz, antigenoarekiko loturagunearen hirugarren mailako egituraren datza, hau da, kate astuna eta arinen alde hiperaldakorrak tolesteko erak idiotipo bakoitzean lotura-gune espezifiko bat sortuko du. (antigeno-determinante bakoitzarekin) lotzeko gai dena (3.irudia)



3. irudia. Immunoglobulinaren antigenorako loturaguneak

Antigorputzen eta antigenoen arteko lotura hori sustatzen duten indarrak, kobalenteak izan ezik, mota askotakoak dira: hidrogeno zubiak, eragin-truke elektrostatiakoak, eragin-truke hidrofoboak eta Van der Waals-eko indarrak. Indar guzti horien batuketak antigorputzaren antigeno-determinantearekiko **afinitatea** erabakitzen du. Dena dela, antigeno konplexuek antigeno-determinante bat baino gehiago dituzte antigorputzarekin elkarketan inplikaturik, eta antigorputzen edo BCRen, bere aldetik determinante bera lotzeko gutxienez bi paratopo dituzte (edo gehiago polimerikoak direnean). Horregatik “in vivo” antigorputz molekula baten eta antigeno konplexu baten arteko loturaren indarra edo **irrika** epitopo-paratopo loturen batuketa baino handiagoa da (4.irudia).

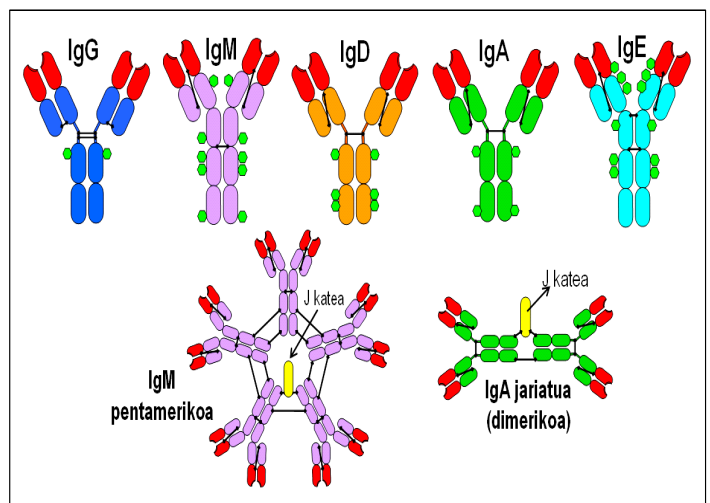


4. irudia. Antigeno eta antigorputzen arteko loturen afinitatea eta irrika.

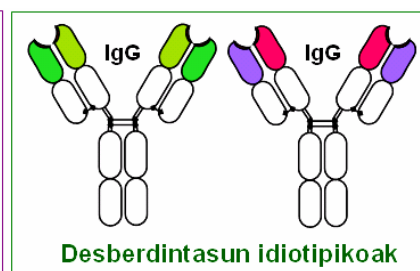
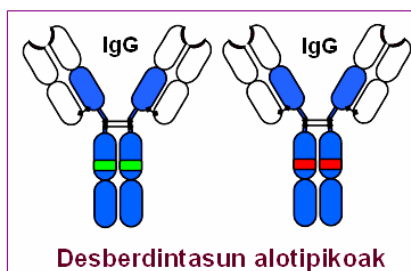
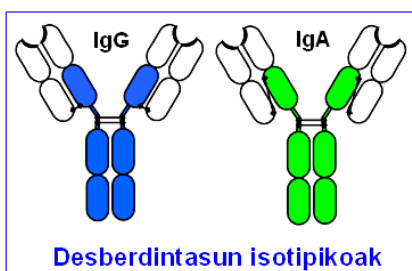
Immunoglobulinen C aldetan aldaketa txikien arabera bost **isotipo** edo antigorputz klase bereizten dira: Ig M, Ig D, Ig G, Ig A eta Ig E. IgG isotipoak 4 azpiklase ditu: IgG1, IgG2, IgG3 eta IgG4, eta IgA isotipoak 2: IgA1 eta IgA2.

2. taula: Isotipoak edo immunoglobulinen klaseak.

| Kate astunaren C genea | Kate arinaren C genea | Immunoglobulinen isotipoa |
|------------------------|------------------------|---------------------------|
| μ | κ edo λ | Ig M |
| δ | κ edo λ | Ig D |
| $\gamma 1$ | κ edo λ | Ig G1 |
| $\gamma 2$ | κ edo λ | Ig G2 |
| $\gamma 3$ | κ edo λ | Ig G3 |
| $\gamma 4$ | κ edo λ | Ig G4 |
| $\alpha 1$ | κ edo λ | Ig A1 |
| $\alpha 2$ | κ edo λ | Ig A2 |
| ϵ | κ edo λ | Ig E |



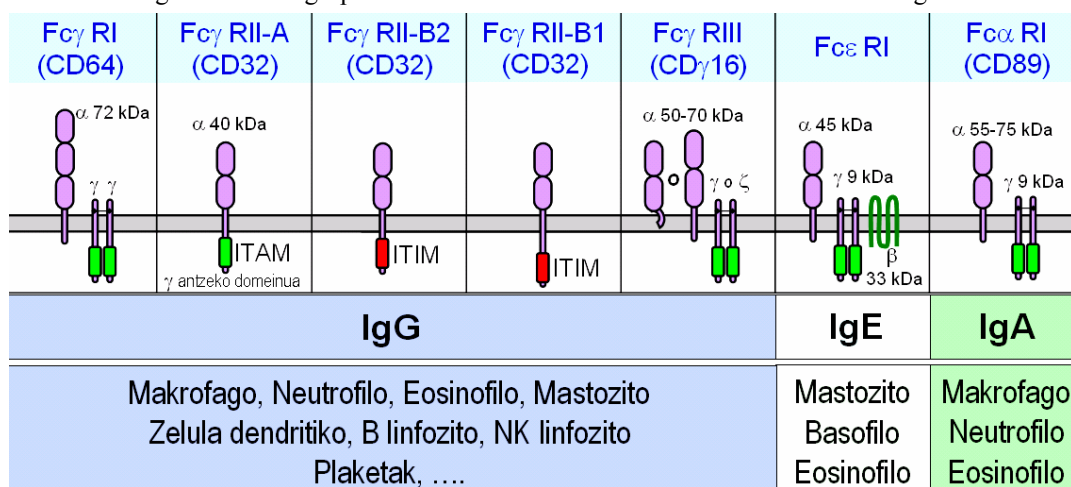
Antigeno berarekin elkartzen duten klase edo isotipo ezberdinetako bi immunoglobulinek alde aldakorak (V_H eta V_L) berdinak dituzte. Isotipoa edo klase erabakitzen duten aminoazido-sekuentziak ordea (C_H aldeak), ezberdinak izango dira. Ezberdintasun horrek antigorputzen funtzio efektoreak hainbat patogenoetara egokitzea baimentzen du, isotipo bakoitza, bere C aldetik immunitate-sistemaren hainbat zelula motekin elkartuko baita. Gizaki ezberdinetik etorritako bi immunoglobulina, idiotipo eta isotipo berekoak, funtzioa dagokionari baliokideak dira baina C aldeetan ezberdintasun txikiak dituzte, **alotipo** ezberdinak izateagatik (5. irudia).



5. irudia. Antigorputzen isotipoak. Ezberdintasun isotipikoak, alotipikoak eta idiotipikoak.

Antigorputzak proteina disolbagarriak dira (immunoglobulinak). Plasman eta gorputzeko jariakinetan aurkitzen dira, amaren esnean, listuan eta malkoetan besteak beste. Antigeno baten kontrako antigorputzak dituen plasma antiplasma deitzen da. Antiplasmak gaixotasun infekziosoen diagnostikorako eta terapiarako erabiltzen dira.

Funtzioari dagokionez antigorputzak humore-erantzunaren arduradunak dira. Patogenotasun-faktoreak (adhesinak edo toxinak)



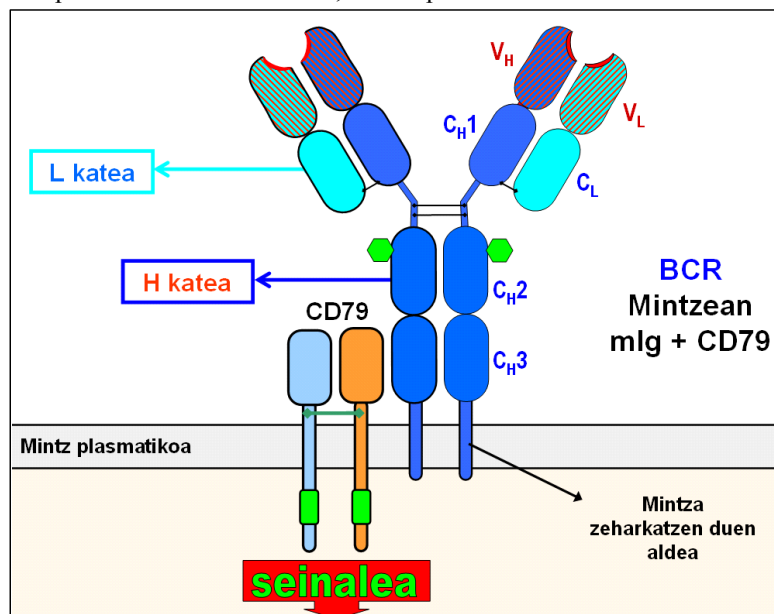
Zuzenean elkartuz patogenoak neutralizatu ditzakete, eta, gainera, hainbat defentsa-mekanismo naturalak ahalbidetzen dituzte: fagozitosia, hantura-erreakzioak, zitotoxikotasun naturala eta konplementuaren aktibazioa hain zuzen ere. Immunitate-erantzunean parte hartzen duten hainbat zelulek antigorputzen Fc aldearentzako hartzaileak (FcR) dituzte (6. irudia).

6. irudia. Immunoglobulinen Fc aldearentzako hartzaileak (FcR).

Ig G: odol zirkulazioan kontzentrazio handiena duen isotipoa da (antigorputz guztien %70a). Monomero eran odol hodian barruan ala kanpoan egon daitezke. Bigarren mailako erantzunetan plasman nagusitzen den antigorputz klasea da. Ig G-ren azpi mota guztiak plazenta zeharkatzen dute umekia babesteko. Ig G-rako hartzaileak immunitate zelula gehienetan daudenez, antigenoak neutralizatu aparte, antigorputzen funtzio efektore guztiak ezin hobeto betetzen du isotipo horrek: NK zelulen zitotoxikitatea aktibatzea (ADCC), patogenoak opsonizatzea eta, Ig G4 izan ezik, konplementua aktibatzea.

Ig M: B linfozitoen azalean (BCRan) dauden Ig M molekulak monomerikoak dira baina odoletik pentamero moduan dabilta (plasmako % 5-10 inguru Ig M da). Ig M-aren kate astunek laugarren alde aldezin bat daukate (C_H4). J katea, polimerizazio prozesuan hartzen du parte. Ig M lehen mailako erantzunetan antigorputz nagusia da. Nahiz eta Ig G baino afinitate txikiagokoa izan, antigeno-determinanteak elkartzeko 10 balentzia izanik, irrika handia du antigenoarekiko.

Ig A: plasmako immunoglobulinen %15-20 da. Arnas bideko jariakinetan, bide genitourinarioan, listuan, malkoetan, kalostroan eta ama-esnean, aldiz, isotipo ugariena da. Izatez, gorputzak jariatutako Ig A guztia plasmako Ig G guztia baino gehiago da. Jariakin horietan IgAk egitura dimerikoa dauka, eta, Ig M bezala, J katea du. Mukosa-epitelioko zeharkatzeko, epitelioko zelulen hartzaile batekin elkartzen da eta azken hori, zelularen goiko partera ailegatu ondoren, apurtu eta Ig A-ren dimeroarekin lotuta geratzen da. Hartzailearen zati honi jariatze-zatia (S) deritzo eta proteolisisetik erresistentzia gehiago ematen dio antigorputzari. IgAaren bi azpi motak, Ig A1 eta Ig A2, baliokideak dira. Isotipo horien funtzio nagusia mukosetan dauden antigenoak neutralizatu eta kanporatzea da, eta opsonina ere izan daiteke. Hantura-erreakzioak berriz ez ditu eragiten mastozitoek ez dutelako isotipo horretarako hartzaileak, eta konplementua aktibatzeko ez dute balio.



Ig E: Monomerikoa da eta Ig M-aren moduan beste C_H bat dauka. Antigorputz ibiltarien artean kontzentrazio txikiena duen isotipoa da, baina zelula gizenduetan (mastozitoetan), eta ehunen basofiloetan finkatu ahal da bere Fc aldetik. Berehalako hipersentikortasunaren arduraduna da (I motatako alergia), eta dirudienez garrantzia du parasito batzuen kontrako erantzunetan (helmintoen kontra).

Ig D: Monomerikoa da. Antigorputz ibiltarietatik %1 baino gutxiago da, baina, Ig M monomerikoarekin batera, B linfozito birjina guztien azalean dago (BCR moduan). Ez dakigu zehazki zertarako balio duen, baina B linfozitoen aktibazio eta bereizketa prozesuan parte hartzen duela dirudi, aktibazioaren ondoren mintzetik desagertzen delako.

7.irudia. B linfozitoen hartzaile espezifikoak (BCR)

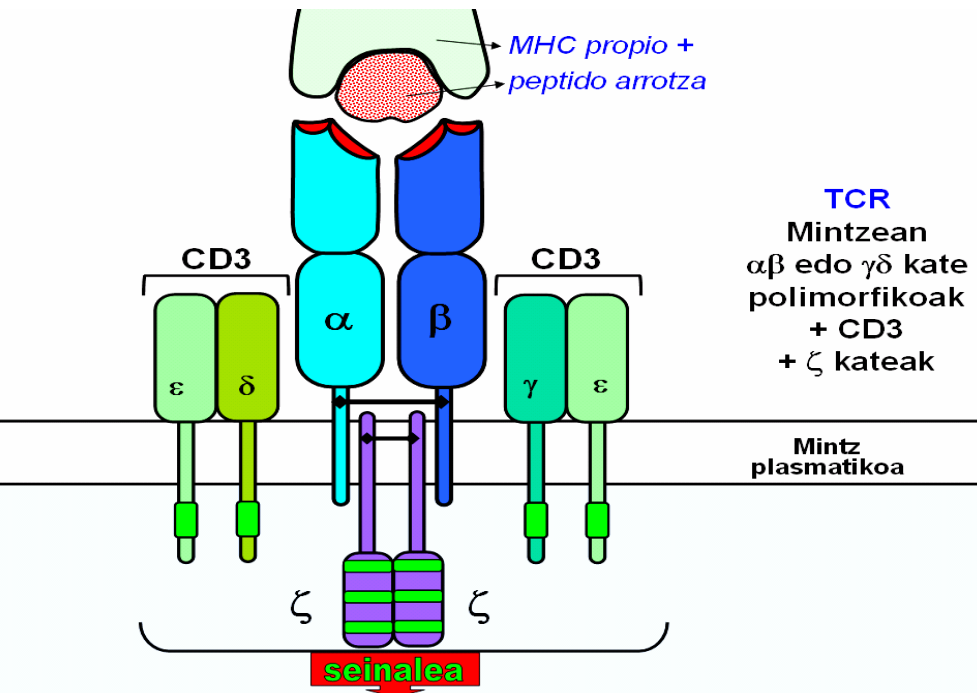
B LINFOZITOEN ANTIGENORAKO HARTZAILE ESPEZIFIKOA (BCR). B linfozitoek funtzio garrantzitsua dute humore-erantzun espezifikoan, sisteman sartzen den antigeno bakoitzaren kontra antigorputz espezifikoak sintetizatzea alegia. Horretarako BCR (B cell receptor) deitutako mintzeko hartzaile espezifikoek bidez ezagutzen dituzte antigenoak. BCRak bi zati

ditu: antigenoa (aldatu gabe) ezagutzen duena, eta B zelula barrurantz (nukleorantz) aktibazio seinalea transmititzen duen zatia. Lehenengoa immunoglobulina espezifikoa da, antigorputza bezalakoa, baina, linfozitoaren mintz zitoplasmatikoa zeharkatzen duen aminoazido gehigarri batzuekin. Hartzailearen zati horri kate aldakorak edo alde polimorfoa deritzo, eta B linfozito klon bakoitzean idiotipo edo espezifikotasun desberdina du. BCR-aren bigarren zatia kate aldaezinak edo alde monomorfikoa deitzen da, eta immunoglobulinaren aldeetan kokatutako CD79 bi molekulaz osatuta dago. Zati honek antigenoaren ezagutzaren seinalea zitoplasma aldera bideratzen du (7. irudia).

T LINFOZITOENTZAT ANTIGENORAKO HARTZAILE ESPEZIFIKOA (TCR). Immunitate-erantzun eragiteko funtsezkoa da T linfozitoek ere antigenoak ezagutzea. Beraz, T linfozitoen hartzaile espezifikoek antigorputzek bezainbeste antigenorako lotura-gune izan behar dituzte.

Histobateragarritasun-molekulek aurkeztutako antigenoen zatiak ezagutzeko, eta informazioa T linfozito nukleorantz bidaltzeko gai diren proteinazko kate multzoari TCR (T cell receptor) konplexua deritzo. Bi motako TCR daude: TCR alfa-beta T zelula

helduen %85an agertzen da eta TCR gamma-delta %15ean.



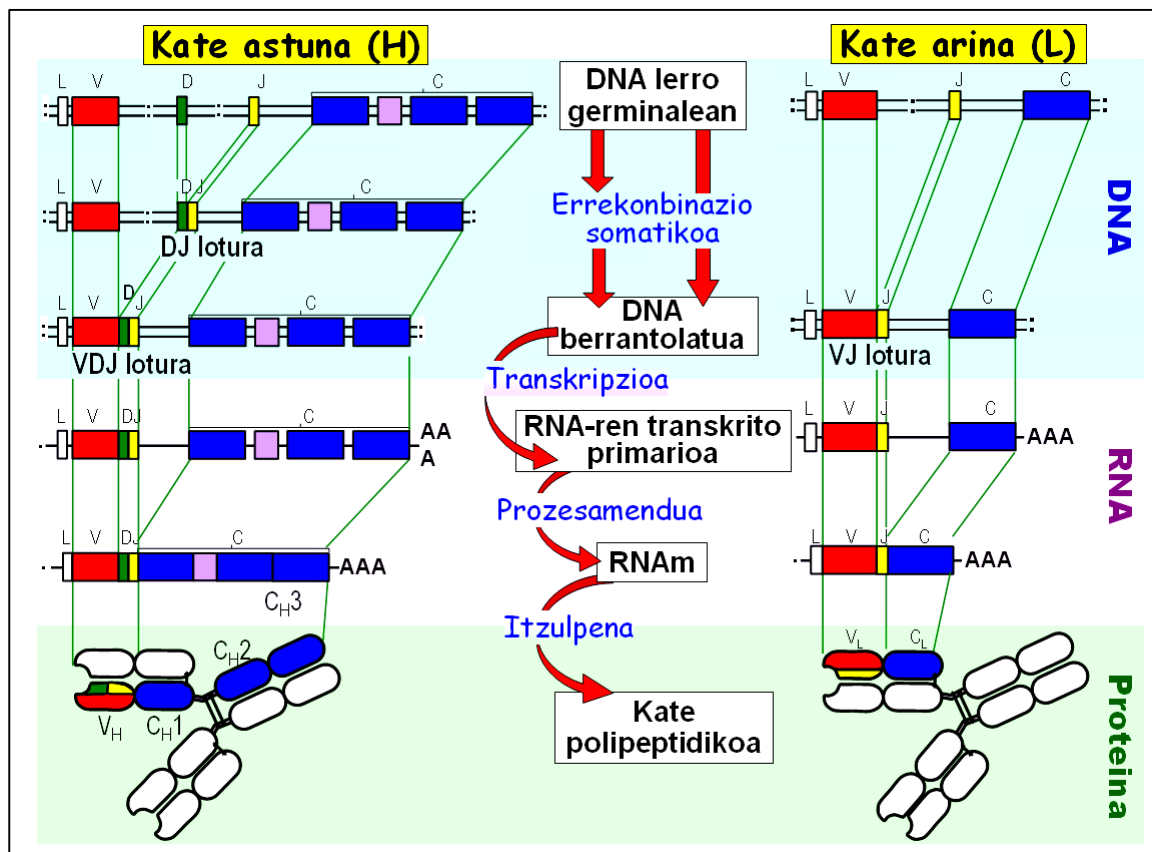
Egitura eta funtzioa. TCRαβ alfa eta beta kate polimorfikoez osaturik dago (8.irudia). Kate alfa eta beta bakoitzak, immunoglobulinaren antzera, V domeinu aldakorra eta C domeinu aldaezina dauzka. Antigenoa ezagutzen duten kate horiek mintzean ainguratuta daude mintz-zeharkako peptido baten bidez. Aminoazidoen aldakortasuna V domeinuko hiru CDR eskualde hiperaldakorretan datza. Bi kateen alde aldakor horiek antigenorako lotura-gunea eratzen dute. Mintzetako beste proteina batzuk (molekula gehigarriak) antigenoak ezagutzeko laguntza ematen diote TCR-ari, bereziki CD4 eta CD8 (MHC I eta II motako molekulentzako hartzaileak).

8. irudia. T linfozitoen hartzailearen (TCR konplexuaren) egitura

TCRγδ hartzaileak antolamendu antzekoa dauka. TCR kate polimorfikoak CD3 kate polipeptidiko batzuekin elkartzen dira (kate monomorfikoak), eta zeta katearekin ere bai. Osagai horiek ez dira aldatzen T klonaren arabera, baina antigenoaren ezagutzaren seinalea zitoplasmatik nukleorantz bideratzeko balio dute. Zelula barruan erreazio biokimiko batzuek TCR-ak sortutako seinalea ahula anplifikatuko dute (fosforilazio /desfosforilazio, mintzetako fosfolipidoen hidrolisia, zitoplasman Ca ioien handipena...), eta, azkenean, aktibazioan parte hartzen duten geneen transkripzioa eragingo dute (klon-hedapena).

T eta B LINFOZITOEN ERREPERTORIOAREN SORKUNTZA. Heldugabe dauden T linfozitoak edo timozitoak ez dute TCRrik. Alfa eta beta katearen alde aldakor zehatz bat sintetizatzen da, V,J edo V,D,J zati genikoak zoriz aukeratzen dira, dauden bertsio anitzen artean (V₁₋₁₅₀, eta J₁₋₇ eta V₁₋₅₇, D₁₋₂ eta J₁₋₁₃). Behin elkartuta hurbiltzen dira C (aldaezina) aldea kodetzen duten segmentuetara. D eta J tartean edozein 1-6 nukleotido sar daitezke eta horrek aniztasuna izugarri handitzen du. Honela **espezifikotasun erreperitorio handi**agoa dago TCRen kasuan (10¹⁵ bertsio aldera). Hori bai, **timoan sortzen diren T linfozito gehienak eliminatuak** izango dira heltze-prozesuan zehar. Soilik MHC molekula propioekiko afinitate ertaina eta handia duten TCRAk **hautespen positiboa** pairatzen dute timoaren azalean, eta, gainera, berezko molekulak eta ehunak ez kaltetzeko, afinitate handikoak (linfozito autoerrektiboak) hautespen negatiboaren bidez eliminatuak izango dira.

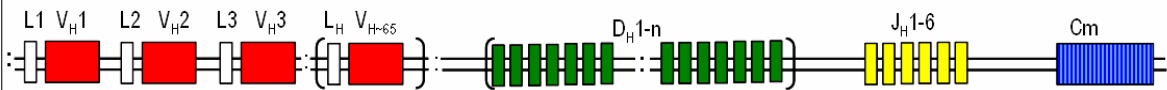
B zelulak hezur muinean sortu eta heltzen dira. Prozesuan zehar **immunoglobulinaren geneen berrantolaketa** gertatzen da, eta B linfozitoen mintzean molekulak agertu eta aldatu egiten dira. Mintzetako molekula horiek beste zelulekin edo bitartekari molekularrekin (zitokinekin) erlazionatzeko balio dute. Berezko proteinen aurrean erreakzionatzen duten B linfozitoek **hautespen negatiboa** pairatuko dute, hau da, kalte egiteko gai diren B linfozitoen klonak eliminatuak izango dira. Sortutako B linfozitoetatik gutxi batzuk helduko dira eta hainbat BCR motatako klon helduak odol zirkulaziora joango dira (9.irudia).



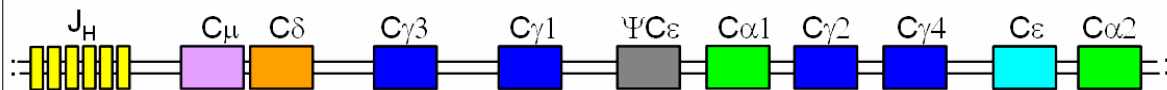
9. irudia. Immunoglobulinen geneen berrantolaketa eta adierazpen-prozesua.

B linfzitoek edozein antigenorako immunoglobulina espezifikoak, BCR moduan ala antigorputzak bezala, sortu ahal dituzte. C segmentuek immunoglobulinen kate arin eta astunen **alde aldaezinak** kodetzen dituzte, V - J (kate arinetan) edo **V-D-J** segmentuek (kate astunetan) **alde aldakorrek** kodetzen dituzten bitartean. V,D eta J gene-zatien hainbat bertsio dago kromosoman (V_{1-150} , J_{1-5} eta V_{1-200} , D_{1-50} , J_{1-4}) eta B linfzito klona bakoitzaren heltze prozesuan zehar gene-zati horien **birkonbinazio somatikoa** gertatzen da, segmentuak elkarrekin **zoriz** hurbilduz eta tarteko DNA ebakiz. Birkonbinazio horiek gene kopuru mugatu batekin (409 gene) immunoglobulina bariante anitz sortzea baimentzen du: $150V \times 5J = 750$ κ kate arin motak; $200V \times 50D \times 4J = 4.000$ H kate mota. Immunoglobulina bakoitzean kate arin eta kate astun mota bakoitza parekatzea zoriz ere gertatzen denez $750 \times 4000 = 3.000.000$ birkonbinazio agertzen dira. BCR edo antigorputz bakoitzean aukeratutako V geneek CDR1 eta CDR2 kodetzen ditu eta hautatutako D-J bariantek CDR3 kodetzen dute. Berrantolaketa prozesuan gertatzen diren segmentuen arteko loturetan zehatz gabetasunak, eta antigenoa ezagutu ondoren gertatzen diren immunoglobulinen isotipo-aldaketek eta hipermutazio somatikoek immunoglobulinen aldakortasuna are gehiago handitzen dute, gizabanako baten **antigorputzen erreperitorioa** 10.000.000.000 ingurukoa izanik (10. irudia).

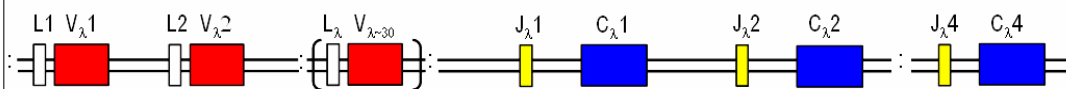
kate astunaren lokusa (14. kromosoman)



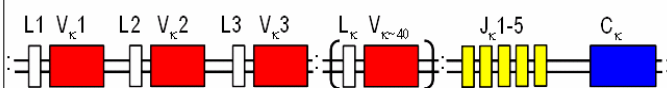
Gizakiaren kate astunaren C aldeko geneen antolaketa



λ kate arinaren lokusa (22. kromosoman)



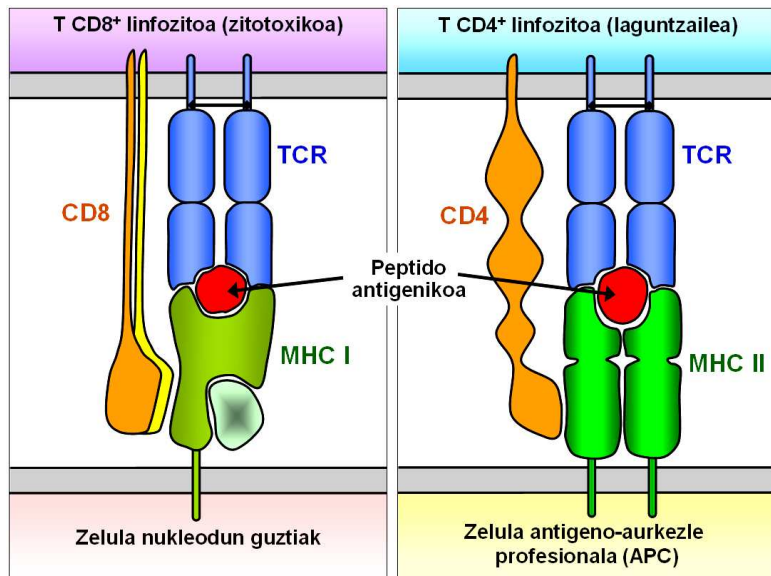
κ kate arinaren lokusa (2. kromosoman)



10 irudia. Immunoglobulinen geneen antolakuntza, polimorfismoa eta birkonbinazio somatikoa.

5. LINFOZITOEN AKTIBAZIOA

ANTIGENOAREN AURKEZPENA ETA EZAGUTZA. T linfzitoen hartzaileek (TCR) ezin dute aske dauden antigenoak

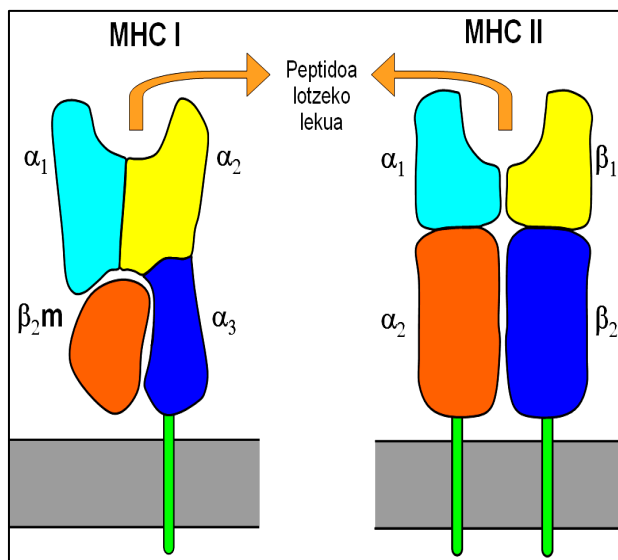


ezagutu; proteina propioei lotutako peptido antigenikoak baino ez dituzte elkartzen, eta beti ere beste zelulen mintzean adierazita. **Histokonpatibilitate-molekulak** gure zelulen molekula antigeno-aurkezleak dira, peptido antigenikoa lotu eta gero, T linfzitoen TCR hartzaile espezifikoarekin harremanetan jartzen dutenak (1.irudia).

Aurrekoan aipatzen den bezala, immunitate-sistemaren zelulenzako identitate immunologikoa erabakitzen duten molekulak dira: timoan **T linfzitoen hezkuntzan** parte hartzen dute **molekula propioen aurreko tolerantzia** garatzeko orduan; ondoren, **organo linfoide sekundarioetan**, T linfzitoak aktibatzeke **peptidoak aurkeztea** da histokonpatibilitate-molekulen funtzio biologiko nagusia. T linfzitoen TCRak antigenoarekin (peptido arrotza) eta histokonpatibilitate-molekula propioekin elkartzen da.

1. irudia. T linfzitoen aktibazioa.

Histobateragarritasun-molekulen egitura (2.irudia). Gizakian hiru motatako histobateragarritasun-molekula edo HLA antígeno (Human Leucocyte Antigens) identifikatu dira (I,II eta III), baina, T linfzitoen aktibazioan parte hartzen dutenak eskuarki **I eta II motakoak** dira. I motako molekulak 2 kate dituzte, alfa katea eta beta 2 mikroglobulina. Alfa kateak zelulatik kanpoko 3 domeinu ditu eta I motako molekula batetik bestera aldatzen den **alde polimorfikoa** alfa katearen 1. eta 2. domeinuetan kokatuta dago eta **8-11 aminoazidozko peptido antigenikoak** elkartzen ditu. Alfa katearen 3.domeinua T linfzito zitotoxikoen **CD8** molekularekin (koerrezeptorearekin) elkartzen da. Beta 2-mikroglobulina peptido aldaezina da eta MHC I molekulen egiturari beharrezkoa bada ere, ez du peptido antigenikoen loturan parte hartzen.**II motako molekulak** 2 kate dituzte, alfa eta beta, bakoitzak zelula kanpoko 2 domeinukin. Alfa eta beta kateen 1. domeinuetan kokatzen dira molekularen alde polimorfikoenak eta hauetan **10-30 aminoazidozko peptido antigenikoak** lot daitezke. Beta katearen 2. domeinua T linfzito laguntzaileen **CD4** molekularekin (koerrezeptorearekin) elkartzen da (1.taula)



2. irudia. MHC molekulen egitura.

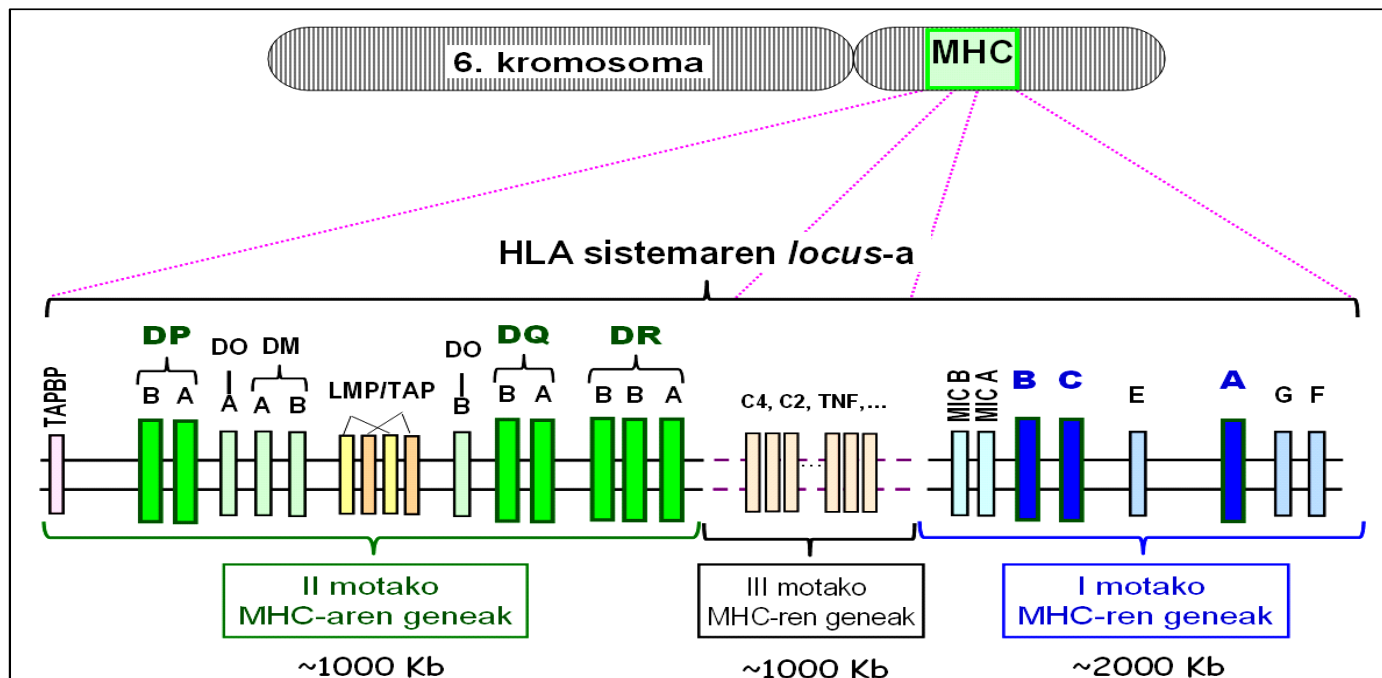
| I eta II motatako MHC molekulen ezaugarriak | | |
|---|--|---|
| Ezaugarria | MHC I | MHC II |
| Kate polipeptidikoak | α (~45 kD) β ₂ -mikroglobulina (12 kD) | α (~ 33 kD) β (~ 28 kD) |
| Alde polimorfikoa | α ₁ eta α ₂ domeinuak | α ₁ eta β ₁ domeinuak |
| T linfzitoen molekula laguntzaileekin lotzeko lekua | α ₃ aldea CD8 molekulari lotzen da | β ₂ aldea CD4 molekulari lotzen da |
| Lotutako peptido antigenikoen tamaina | 8-11 aminoazidozko peptidoak sartzen dira | 10-30 aminoazidozko peptidoak sartzen dira |
| Geneak eta alelo kopurua | HLA-A HLA-B HLA-C H-2K H-2D H-2L | HLA-DR HLA-DQ HLA-DP I-A I-E |

1.taula. MHC molekulen ezaugarriak

Histobateragarritasun-konplexu nagusia.

Gizabanako bakoitzak ezberdintasun txikiak ditu histobateragarritasun-molekulen aminoazido-sekuentzian. Horregatik gizabanako batek beste gizabanako batentzat immunogenoa da, eta txertatutako ehunen errefusatzea eragiten du.

Ehun arrotzen errefusatzean (transplanteak) inplikaturako loci genikoak histobateragarritasun-konplexu nagusia deritzen geneen aldea osatzen dute (MHC edo Major Histocompatibility Complex). Gizakiaren HLA antígeno nagusiak kodetzen dituzten gene-taldea, hau da, gizakiaren MHC edo histokonpatibilitate konplexu nagusia, 6. kromosomako beso laburrean dago (3.irudia).

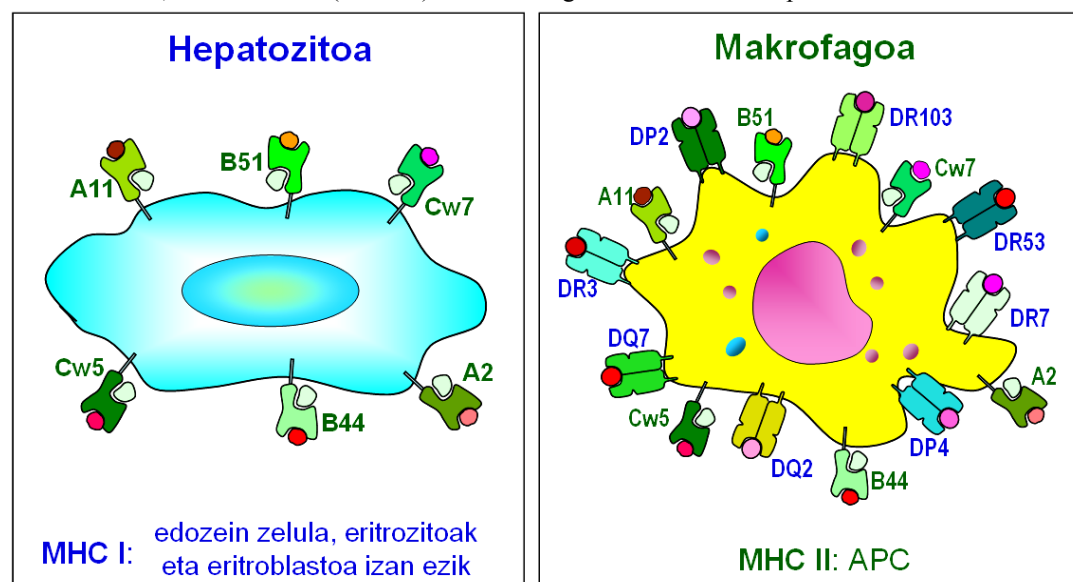


3.irudia. Gizakiaren MHC egitura.

T CD8 linfotzitoi peptidoak aurkezteko **I motatako 3 molekula** daude: **HLA-A, HLA-B eta HLA-C**, eta bakoitzeko hainbat bertsio agertzen dira giza populazioan: HLA-A-rako >30 alelo, HLA-B-rako > 60 eta HLA-C-rako >15.

Amaren eta aitaren kromosomek kodetutako molekulak modu kodominantean adierazten direnez, gizabanako gehienak heterozigotoak izango dira, eta zelulen azalean I motako 6 produktu adieraziko dituzte: bi molekula HLA-A, bi HLA-B eta bi HLA-C.

Zelula antígeno-aurkezle profesionalen mintzean, aurrekoaz gain, aldi berean adierazten diren **II motako** hainbat produktu daude. Gizabanako guztiek adieraziko dituzte **HLA-DR, HLA-DQ eta HLA-DP** motako molekulak. Gizabanako batzuek laugarren produktu bat ere adieraziko dute DRw52, DRw53 edo DRB51 deitutakoa. Kasu honetan ere izugarritzko polimorfismo dago giza populazioan. Histobateragarritasun-molekulen **polimorfismo** horrek, ehunen transplanteak zaildu arren, **giza-populazioa biziraupena bermatzeko** balio du. HLAren haplotipo ezberdina duten gizabanakoen patogeno beraren antígenoen aurkezpena modu ezberdinean egingo dutelako, (prozesatutako antígenoaren peptido ezberdinak aurkeztuz) eta, honela, patogenoak populazio guztia akabatzeak aukera txikiagoa izango du, gizabanako batzuk beraren kontra immunitate-erantzun eraginkorrak garatuko dituztelako. Dena den, TCRak antígeno bakoitzarekiko espezifikoak badira ere, ez dago MHC molekula espezifiko bat antígeno bakoitzeko. MHC proteina bakarrari lotzen zaizkion hainbat peptidok antzeko tamaina eta egitura-eredu bera dute. Beraz, gure **organismoaren zelula nukleodun gehienetan I motatako molekulak daude**, mintz zitoplasmatikoan txertatuta eta kanpora begira. Birusek infektatutako zeluletan adibidez, I motako molekulak zitoplasma barruan sintetizatutako birus-peptidoekin elkartu ostean mintzean adierazten dira. Honela infektatutako zelula T CD8+ linfotzito zitotoxikoen zelula-xedea bilakatzen da. Zelula osasuntsuek ere I klaseko proteinak izaten dituzte mintzean, baina, peptido propioez bakarrik eratuta daudenez, ez dago odolean konplexu horiek ezagutzeko T zelularik. **II motatako molekulak makrofago, B linfotzito, T linfotzito eta NK zelula aktibatuetan adierazten dira, eta beste zelula antígeno-aurkezle profesionaletan ere, bareko zelula dendritikoetan, besteak beste (4.irudia).** Zelula antígeno-aurkezleek kanpotik aurkitzen dituzten mikroorganismoak fagozitatze

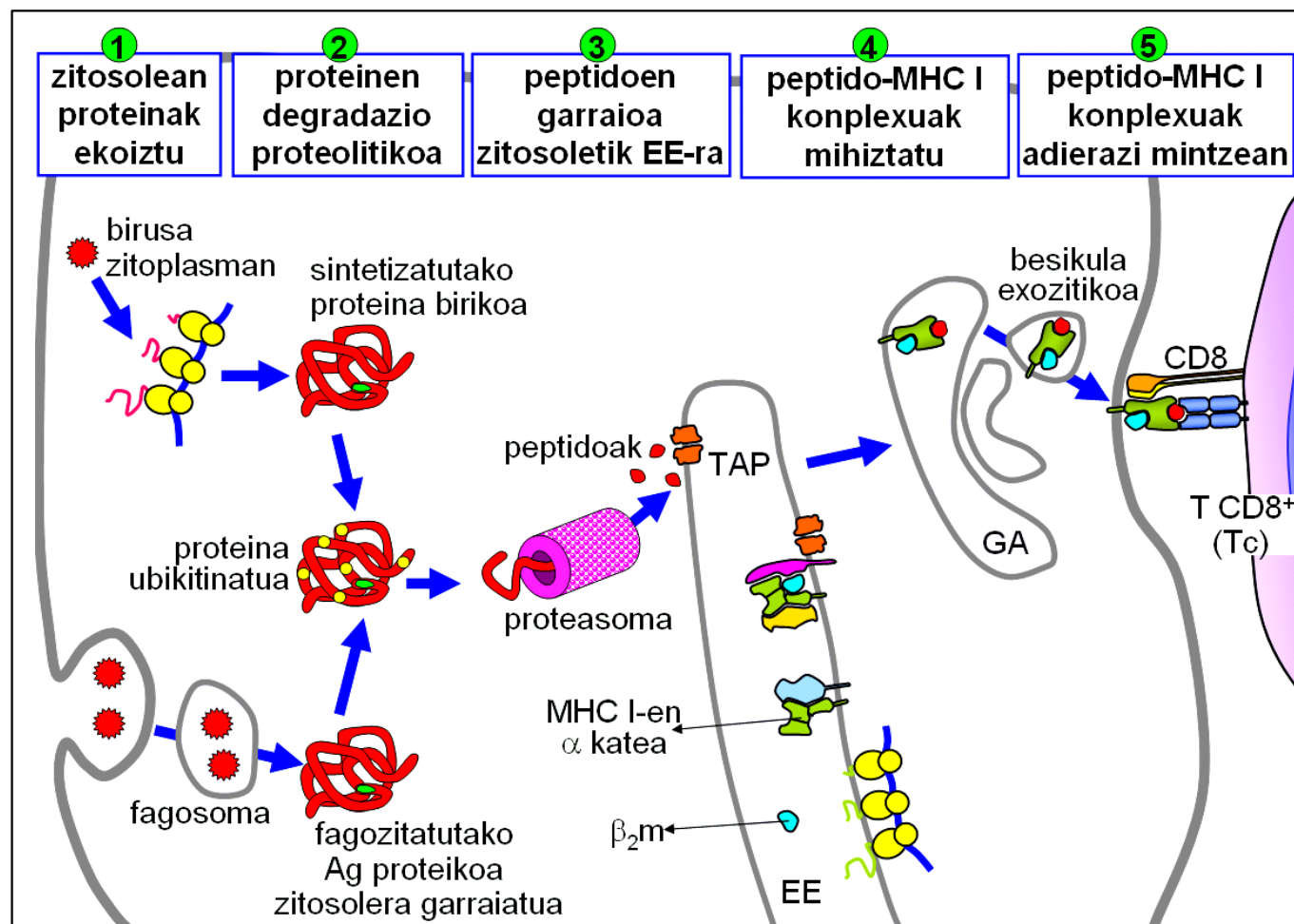


4. irudia. MHC molekulen adieraapena.

ahalmena dute eta, fagozitatutako antígenoak digeritu eta gero, II motako molekularekin elkartuta mintzean aurkezten dizkiete T CD4+ linfotzito laguntzaileei.

Histobateragarritasun-molekulen espresioa erregulatuta dago eta hainbat zitokinek handitu edo gutxitu egiten dute molekula horien espresioa, immunitate-erantzuna aktibatu edo baretzeko hurrenez hurren.

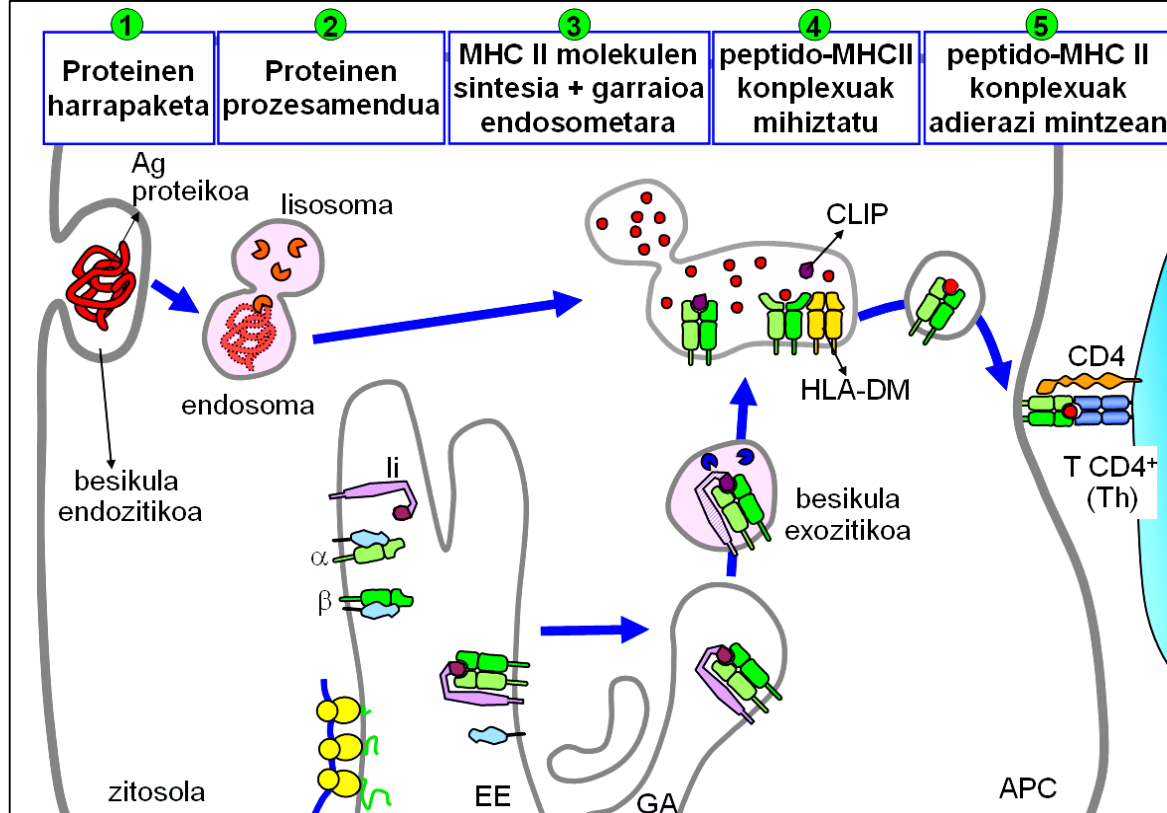
Antigenoa aurkezteko bideak. Antigenoak lantzeko eta T linfozitoei aurkezteko bi bide daude. **Bide endogenoa edo zitosolikoa** (5.irudia). Edozein zeluletan adierazitako I motako molekulek **zitoplasman degradatutako peptidoak** aurkeztu dezakete **TCD8+ linfozito zitotoxikoei**. TAP proteinek eramaten dituzte peptido horiek erretikulu endoplasmikoaren barrura eta hor, **I motatako molekulekin** elkartu ondoren, Golgi aparatua joan eta exozitosiaren bidez, mintz zitoplasmatikora, han adierazteko. Zelularen proteinen peptidoak ere aurkezten dira, baina horien kontrako linfozito klon espezifikoak aurretik deuseztatu dira timoan, eta, beraz, sistemak toleratzen ditu. Birus batek infektatutako zelulen zitoplasman ordea, peptido propioak aparte, birusaren proteinen peptido arrotzak I motako proteina propioekin batera aurkeztuko dira mintzean, eta Tc klon espezifikoak konplexua ezagutuko du



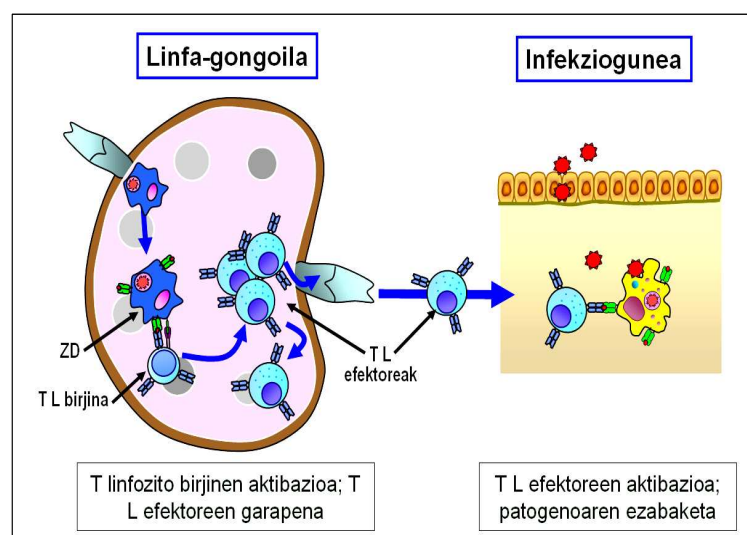
TCRaren bidez.

5. irudia. Antigenoak aurkezteko bide zitosolikoa.

Bide exogenoa edo fagozitikoa (6.irudia). **II motako molekulek** zelula aurkezle profesionalak kanpoko proteinak fagozitu eta degradatzearen produktuak **TCD4+ linfozito laguntzailei** aurkeztu dezakiete. II molekulak erretikulu endoplasmikoan **proteina aldaezin** batekin elkartzen dira, eta, honela, ezin dute berezko peptidoak elkartu. II motatako molekula-proteina aldaezina konplexu hori Golgi aparatua doa, eta gero, proteina aldaezina degradatzen da CLIP peptido txiki bat utziz. Jarraian, konpartimentu hori kanpoko peptidoekin kargatuta dagoen fagosomarekin fusionatzen da. Fusioatutako bakuola barruan HLA-DM proteinak elkartrukutzen ditu CLIP peptidoa peptido antigeniko batekin, eta ondoren II molekula mintz zitoplasmatikora abiatzedu. T_H linfozito espezifiko bakoitzak II molekula propio + peptido antigeniko arrotza konplexua ezagutzen ditu.



6. irudia. Antigenoak aurkezteko bide fagozitikoa.



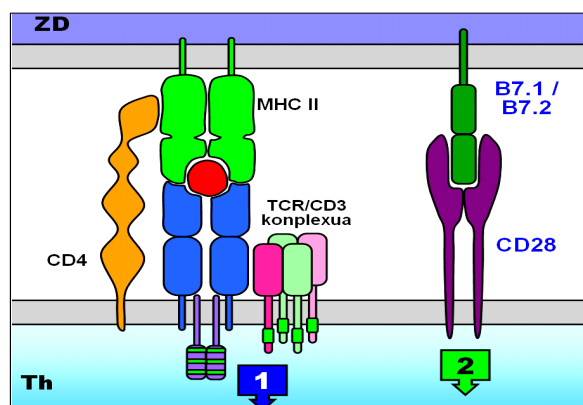
LINFOZITOAREN KLON ESPEZIFIKOAREN HEDAPENA EDO UGALKETA

T_H linfzitoak erantzun espezifikoaren zuzentzaile nagusiak izanik oso **zorrotz kontrolatuta** daude. T_H klona aktibatzeke **ez da nahikoa behar bezala auzetutako antígeno-determinantea elkaru** izana; aktibaziorako testuingurua egon behar du aldi berean, hau da, antígenoa ezagutzeko aldi **seinale kitzikatzaile osagarriak** ere hartzea. T_H linfzito **birjinen kasuan organo sekundarioetan** dauden zelula aurkezleek, **zelula dendritikoek** batez ere, emango dizkiote seinale horiek. Infekzio-fokuetara bidaltako T_H linfzitoak aktibatzeke seinale osagarriak antígenoa harrapatu duten makrofagoek edo B linfzietoek eskeiniko dituzte (8.irudia).

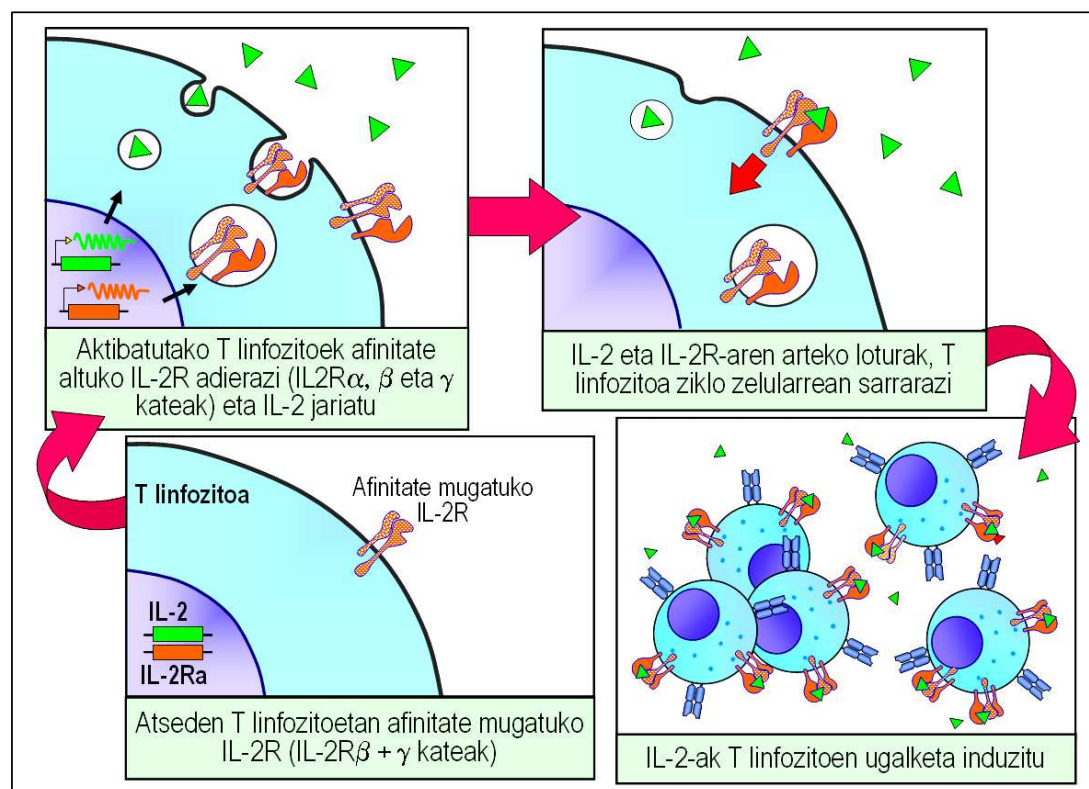
7. irudia. Antigenoek bideraturiko T linfzito birjin eta efektoreen aktibazioa

Behin TCRak II motatako molekula batean antígeno espezifikoa ezagutu eta gero, T_H linfzitoaren mintzean eta APC zelularen mintzean atxikidura molekulen espresioa handitzen da. Besteak beste **CD28** (T_H linfzitoan) eta **B7** molekula (APC zelulan) elkarrekin elkartuko dira, eta elkarketa osagarri horrek nukleorantz bidaliko du aktibazio seinalea (8.irudia).

8. irudia. APC-etan adierazitako B7 molekulak (koestimulatzaile nagusiak), T zelulen CD28 proteinari lotzen dira



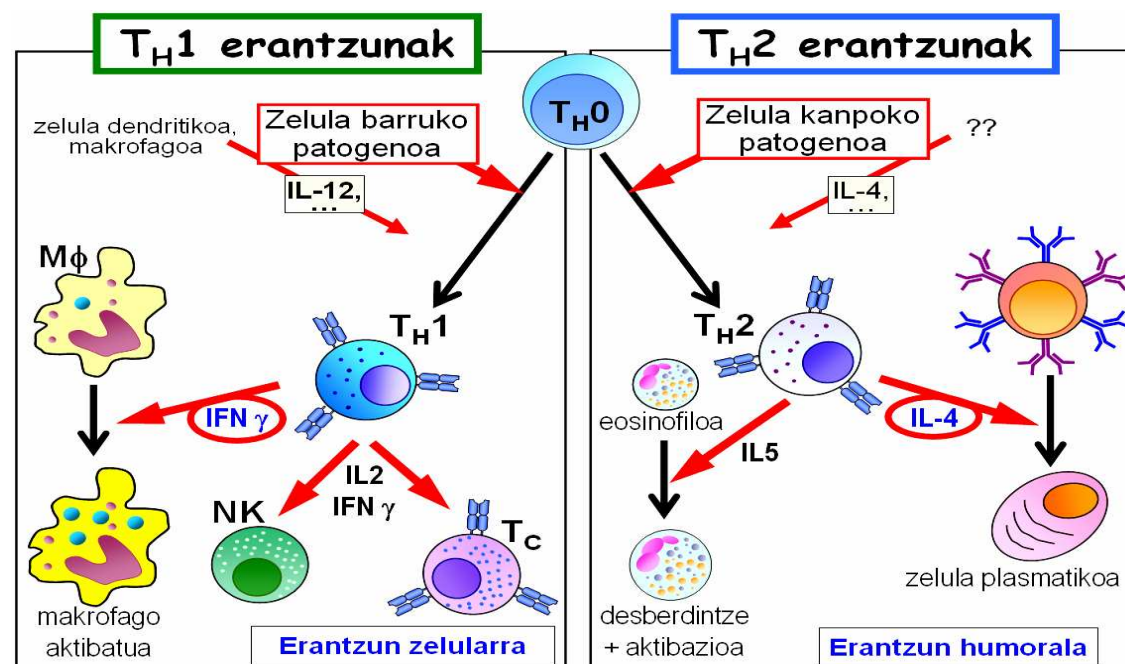
Antigenoarekin elkarrekintzak izan ondoren T_H zelulak IL-2 askatzen du, eta mintzean IL-2rako hartzailea adierazten du. IL-2 T linfozitoen hazkuntza-faktorea da eta eragin autokrino eta parakrino dauka. IL-2 hartzean T_v kлона espezifikoa zatitzen hasten da bere buruaren kopiak egiteko (**klon espezifikoaren hedapena**) (9.irudia).



9. irudia. T zelula aktibatuek IL-2 jariatzen eta IL-2-ri erantzuten diote klon espezifikoa hedatzeko.

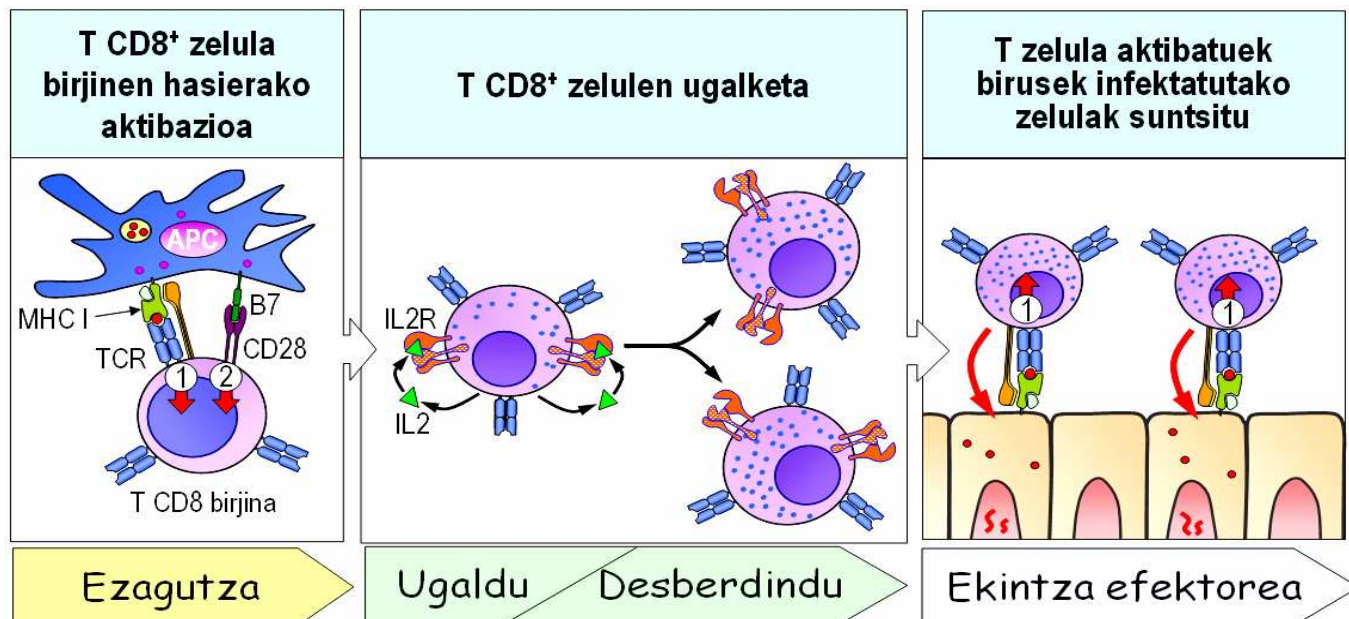
ZELULA EFEKTORETAN DESBERDINTZEA

T_H : T_H1 edo T_H2 bilakatu eta linfokinen ekoizti. T_H linfotatuak ugaltu ahal, eta, APC zelulak bidalitako zitokinen arabera bereizten dira T_H1 eta T_H2 azpi populazioetan. Zelulabarruko patogenoen aurreko erantzunetan APC zelulek IL-12 bidaltzen diote aktibatzen ari den T_H0 linfotatuari eta horrek T_H1 en agerpena eragiten du. T_H1 populazio laguntzaileak erantzun zelularra koordinatzen du, hau da, makrofago, T_c linfotatu eta NK zelulak aktibatzen dituzte INF γ , IL 12 eta beste zitokina batzuk sintetizatuz. T_H0 populazioa ugaltzeko momentuan IL12 hartzen ez badu T_H2 bihurtuko da. T_H2 linfotatu laguntzaileek B linfotatuaren aktibazioa eta, ondorioz, antigorputzen ekoizpena (humore-erantzun espezifikoa) bultzatzen dituzte, 4-IL, 5-IL, 10-IL eta 13-IL sintetizatuz (10.irudia).



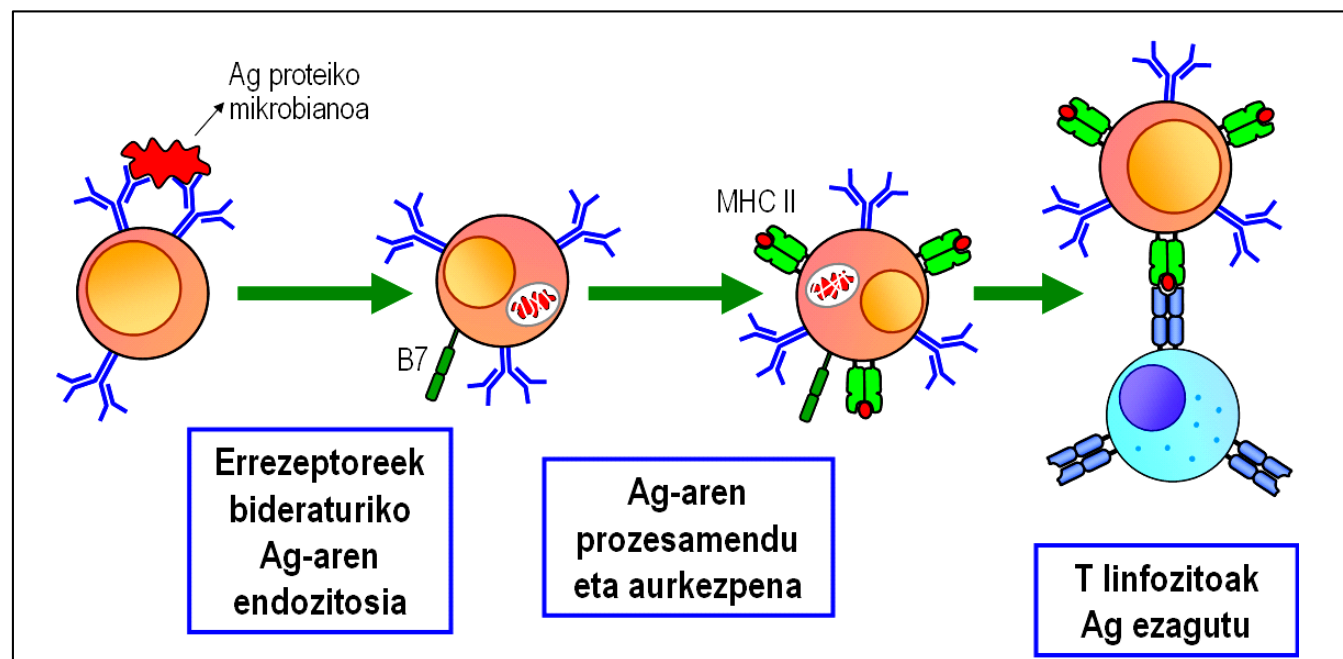
10.irudia. T_H linfotatuaren desberdintze prozesua .

Tc: zitotoxiko bihurtzea. Tc linfzito zitotoxikoek, zelula infektatuak suntsituz barruan dauden patogenoak ezabatzen dituzte. Kasu gutxi batzuetan Tc linfzito birjinak aktibatzeke behar diren seinale osagarriak APC zelula berak ematen ditu (adibidez B7a linfzitoaren CD28arekin elkartzea). Baina gehienetan antigeno berdinak aktibatutako **T_H1 linfzito baten laguntza** behar du. Azken honek APC zelulari molekula gehigarriak espresatzeko estimulatzen dio **gamma-IFN**aren bitartez, eta gainera, **IL-2a** bidaltzen dio Tc linfzitoari (11.irudia). Behin aktibatuta, eta **zitotoxiko bihurtuta, nahikoa izango da zelula batean antigenoa elkartzea xede-zelula hori suntsitzeko.**



11.irudia. T_C linfzito birjinen aktibazioa

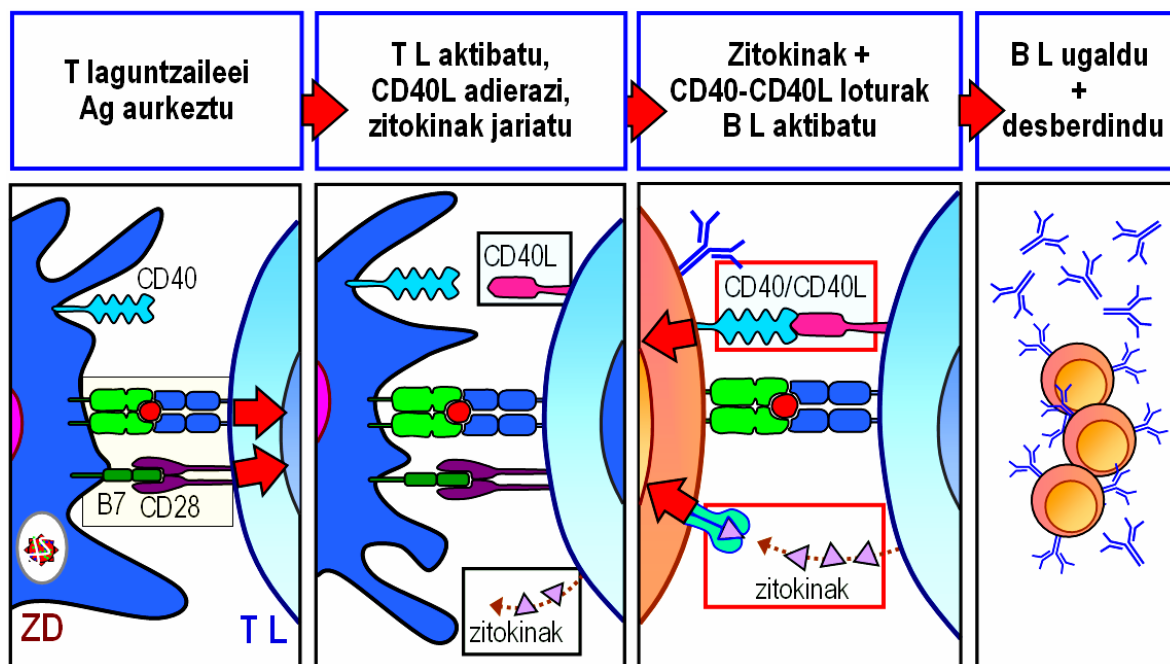
B linfzitoa plasma-zelulatan bilakaera eta antigorputzen ekoizpena. B zelula efektoreak humore-immunitatearen (antigorputzen ekoizpenaren) arduradunak dira. Antigeno gehienak **proteinak** dira eta, antigorputz espezifikoek agerpena eragiteko, **berarekiko B eta T_H2 klon espezifikoak aktibatu** behar dituzte aldi berean. **Antigeno tartean B eta T_H2 zelulek elkarri laguntzen diote.** Hau da, B linfzitoak, APC zelula denez, T_H2 aktibatzeke antigenoa behar bezala aurkeztu, eta seinale osagarriak eskaintzen dizkio. T_H2ak, bere aldetik, B linfzito klonak aktibatzeke seinale osagarriak eta hazkuntza faktoreak emango dizkio. Organo sekundarioetan, linfa-gongoilean adibidez, antigenoa lotzen duten B linfzito klonak eta T_H efektoreak elkarrekin eraginez **foku primarioa** osatzen dute.



12. irudia. B linfzitoen aktibazioa: antigenoaren ezagutza, prozesamendua eta T linfzitoei aurkezpena.

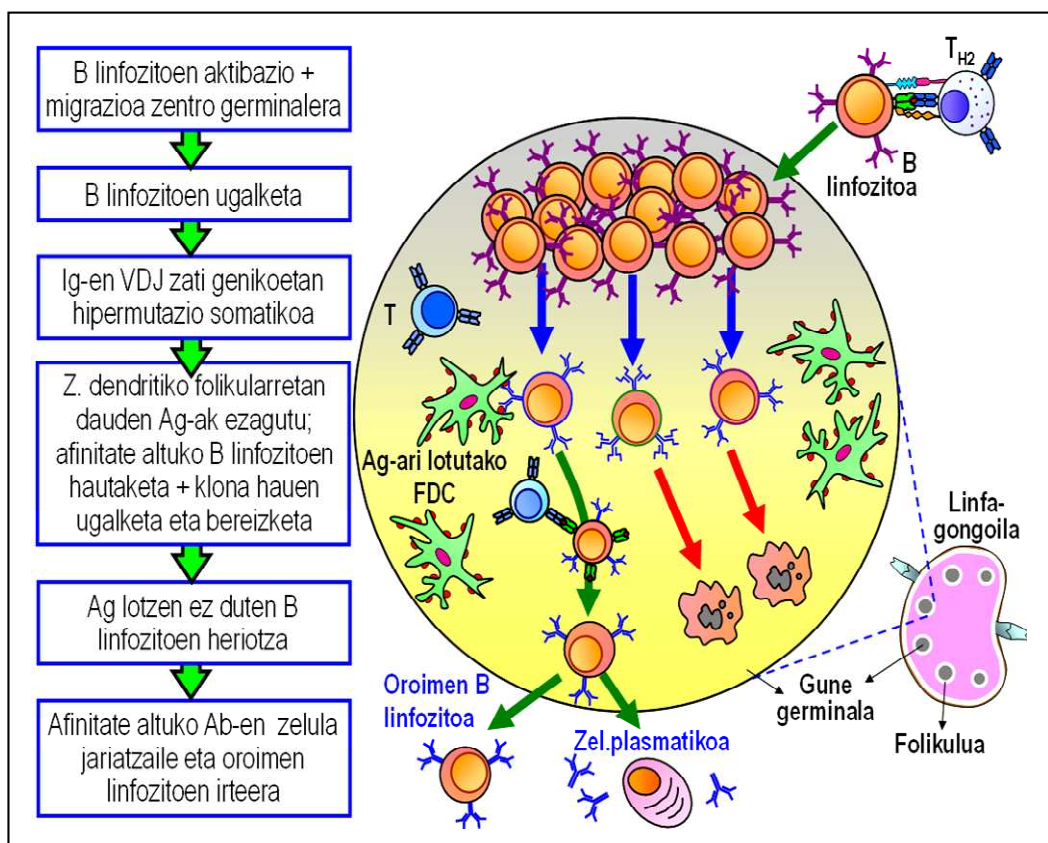
B linfzitoek, mintzeko immunoglobulina espezifikoren bidez proteinen azaleko **antigeno-determinanteak lotzen** ditu eta segituan antigenoa hartzaile eta guzti barneratzen ditu. **Barruan prozesatu** ondoren proteinaren **pepido antigenoak II motako histokonpatibilitat-molekuletan** txertatuta mintzean erakutsiko dizkio **T_H2 linfzitoei** (12.irudia).

Honek TCRaren bidez antigenoa lotu ondoren B linfzitoaren mintzean dauden **CD40 molekula**k lotzeko **CD40L** hartzaileak adieraziko ditu, eta B linfzitoentzat ugalketa faktoreak, eskuarki IL-4 (13.irudia).



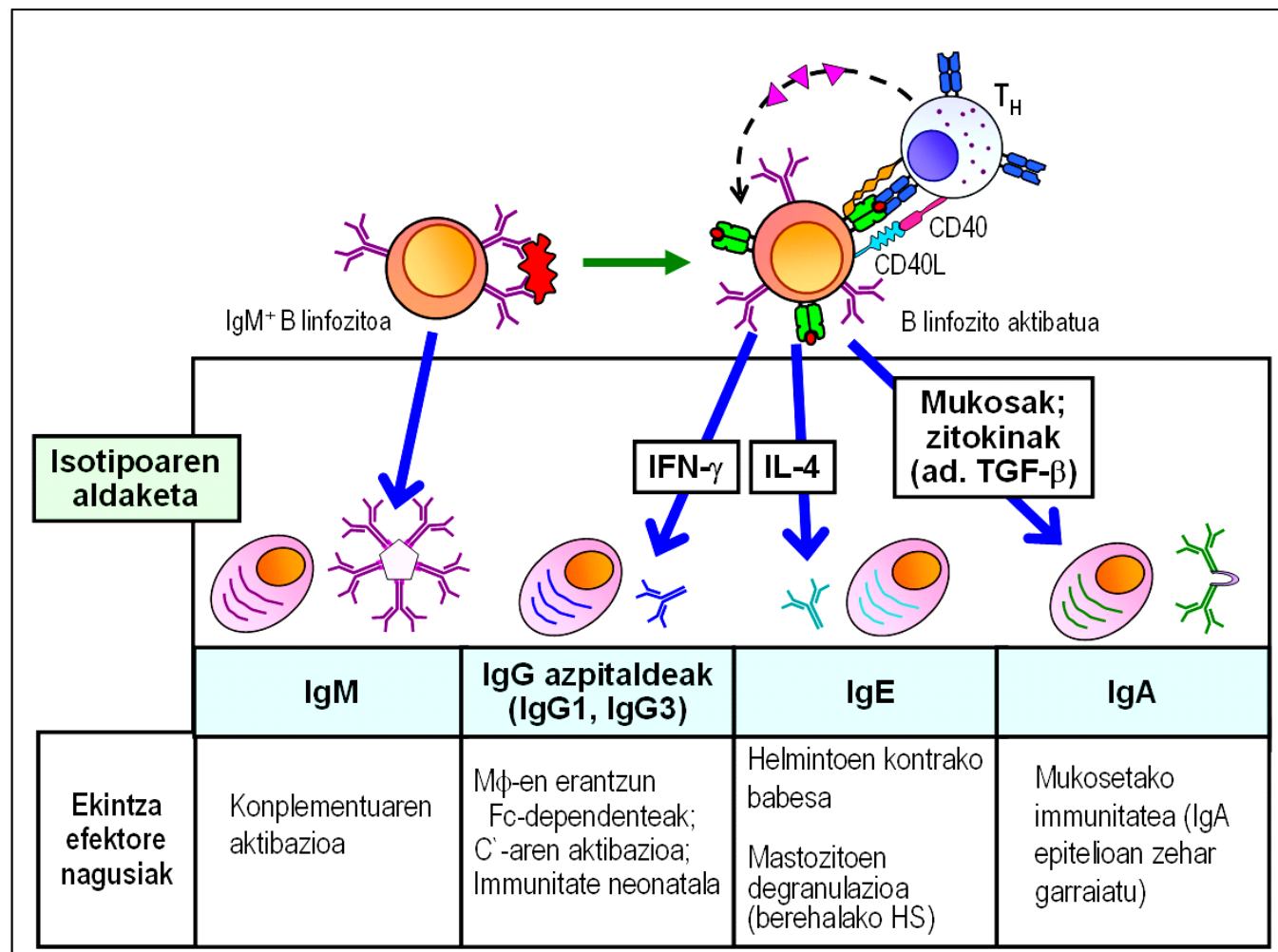
13. irudia. T linfzito laguntzaileek bideraturiko B linfzitoen aktibazioa

B folikulu primarioetatik **plasma-zelula** batzuk sortu eta hezur muinera joaten dira antigorputzak produzitzeko. Antigenoarekin lehenengo kontatuan (erantzun primarioa) sortutako plasma-zelulak gehienak biziraupen laburra dute (aste betekoa) eta **IgM antigorputz** espezifikoki asko jariatzen dituzte. Lehen mailako folikuluak kolonizatzen dituzten B zelula antigeno-espezifikokiak, antigenoak elkartu eta gero, B zelulen blastoak emango dituzte. Blasto horietariko bat edo gutxi batzuk aurrera joango dira **gune germinal** bat eratzeko. B zelulen blastoak arin-arin ugaitzen dira eta 3 edo 4 egunetan 10^4 zelula ematen dituzte. Laugarren egunean zelulak zentroblastoak bihurtuta (azaleko immunoglobulinik gabekoak) folikulu barruko aldera doazen gune iluna eratuz.



14.irudia. Zentro germinaleko erreakzioak erantzun immune humoral T-dependenteetan

Zentroblastoak heltzen dira zentrozitoak bihurtzeko, azaleko immunoglobulinak espresatzeko gai direnak, eta gune germinaleko beheko alde argian daudenak. Denboraldi honetan gertatzen omen dira B zelulen immunoglobulinaren geneen alde aldakorretan (VDJ geneetan) mutazioak. Zentrozitoak (B linfzitoak) eta **folikuluetak zelula dendritikoak (FDC)** estu lotuta daude atxikidura molekulen bitartez (linfzitoen LFA-1 eta FDCen ICAM-1). **FDCek aurkeztutako antigenoak, gutxi dagoenean, kidesun handiko BCRak dituzten linfzitoak soilik elkartuko ditu**, bigarren mailako blastoak sortzeko. Horiek folikuluetatik irtengo dira, **oroimen-zelulak** bezala edo **plasma-zelulen** aitzindariak bezala. Kidesun txikiko BCRak dituzten linfzitoak ez dira FDC zelulekin elkartuko (antigeno guztia lotuta dagoelako), eta aktibazio-seinalerik gabe, apoptosia dela medio hilko dira. B zelula gutxi batzuk folikulu primario horretatik mugitu eta folikulu sekundarioak egiten dituzte. Hor **ugaltu ahala mutazio asko gertatzen dira V,D,J geneetan eta afinitate ezberdinetako BCR agertzen dira**.

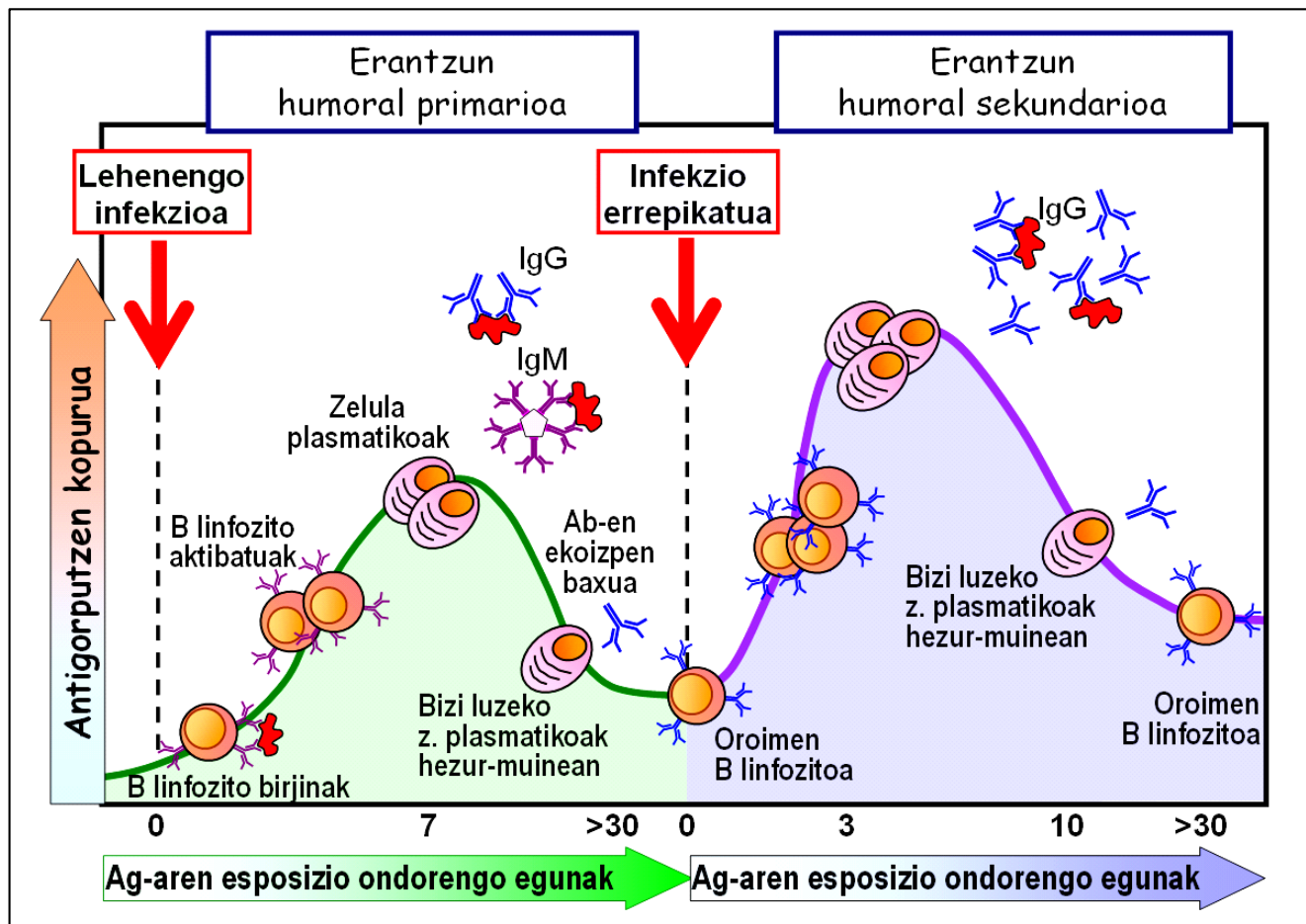


15.irudia. Kate astunaren isotipo aldaketa

Aldi berean, B/T zelulen arteko kontaktu ondoren immunoglobulinaren C genea elkartrukatu daiteke eta, T_H ek bidalitako zitokinen arabera B linfzitoak M ez diren beste antigorputz isotipo sintetizatzen hasten da (**Isotipo aldaketa**). **Hipermutazio somatikoak**, eta isotipo aldaketak (C geneen elkartrukatzea) biak organo sekundarioen gune germinaletan (= bigarren mailako folikuluetan) gertatzen dira oroimen-zeluletan, baina fenomeno ezberdinak eta independenteak dira. Folikulu sekundarioetatik plasma-zelulak eta oroimen zelulak sortzen dira odol-zirkulaziora. Oroimen-zelulak hainbat urtez bizi daitezke. Antigeno bera berriro topaz gero oroimen-zelulak aktibatuko dira gehienbat, linfzito birjinak baino gehiago direlako, eta aurretik eratutako antigorputzek inhibitzen dutelako B linfzito birjinen aktibazioa. Oroimen-B linfzitoak antigenoa elkartu eta berehala ugaltu eta plasma-zelulak bihurtuko dira. Erantzun sekundarioa honetan ekoiztutako antigorputzen isotipoa aldatuko da (IgG₁ edo IgA₂ gehienetan) patogeno motari eta sarbideari egokitzeko. Oroimen-zeluletik etortzen diren plasma-zelulek (erantzun sekundariokoak) afinitatea handiko antigorputzak kanporatzen dituzte erantzun primarioetakoekin alderatuta. Afinitatearen hobekuntza hori lortzen da immunoglobulinaren V,D,J aldeetan mutazioen bitartez (hipermutazio somatikoak).

Beraz, **erantzun primarioa eta sekundarioa** T-mendeko antigenoen aurrean ezberdinak izango dira. Ezberdintasun nagusiak hurrengoak dira:

- Lehen mailako erantzunean, antigorputz maila egokia lortzeko estimulu antigenikoa gertatu ondoren denboraldi luze bat itxaron behar da (aste batzuk), bigarren mailako erantzunean arinago lortzen da;
- Lehen mailako erantzuna bigarren mailakoa baino intentsitate gutxiagokoa da;
- Lehen mailako erantzunean M Ig da nagusi, bigarren mailako erantzunean G Ig (odolean) edo beste isotipoak nagusitzen diren bitartean;
- G Ig, M Ig baino bizi iraupen handiagokoa izanik, bigarren mailako erantzuna lehen mailakoa baino iraunkorragoa da, eta gainera bigarren mailako erantzuneko antigorputzek kalitate hobea dute (kidesun handiagoa).

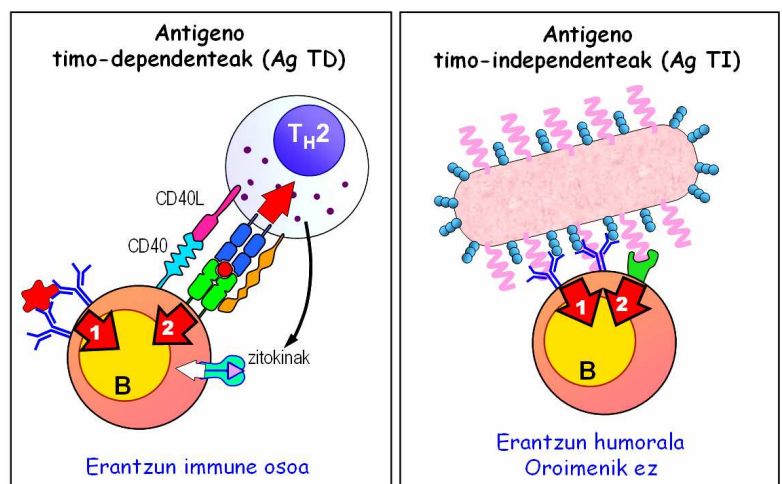


16.irudia. Antigorputz erantzun primarioa eta sekundarioa.

T- mendeko eta ez mendeko antigenoak. Antigeno gehienek, aipatu dugunez, B eta T linfzitoak eragin behar dituzte humore-erantzuna sortzeko eta horregatik deitzen ditugu T- mendekoak. Antigeno batzuk aldiz (eskuarki proteinazkoak ez direnak), M Igen ekoizpena bultzatu ahal dute T_H linfzitoi eragin gabe. Sortutako erantzuna ahulagoa izango da eta oroimenik gabekoa. Beraz, kasu honetan ez dago ezberdintasunik lehen edo bigarren erantzunen artean. Horrelako antigenoak T- independenteak deitzen dira.

B linfzitoen populazioak

Antigeno T-independenteen aurreko erantzunetan parte hartzen duten linfzito populazioak **B1** linfzitoak eta **BZM** linfzitoak izan ohi dira. Linfzito mota horiek oso gutxi dira odolean eta organo sekundarioetan non populazio nagusia **B2** diren, baina metatzen dira peritoneo eta pleura aldeetan (B1) eta bareko ertzetan (BZM). Linfzito horiek oraindik ezezagunak diren hainbat estimulu eraginda antigorputz "naturalak" (IgM) jariatzeko gai dira antigenoak elkartu baino lehen. Beste alde batetik, digestio bidetik edo odoletik etortzen diren bakterioen kapsula polisakaridoekin elkartuko dira antigorputz espezifikoak ekoitziz. Honela infekzioa tetan ohiko patogenoen kontrako lehen mailako defentsa dira.



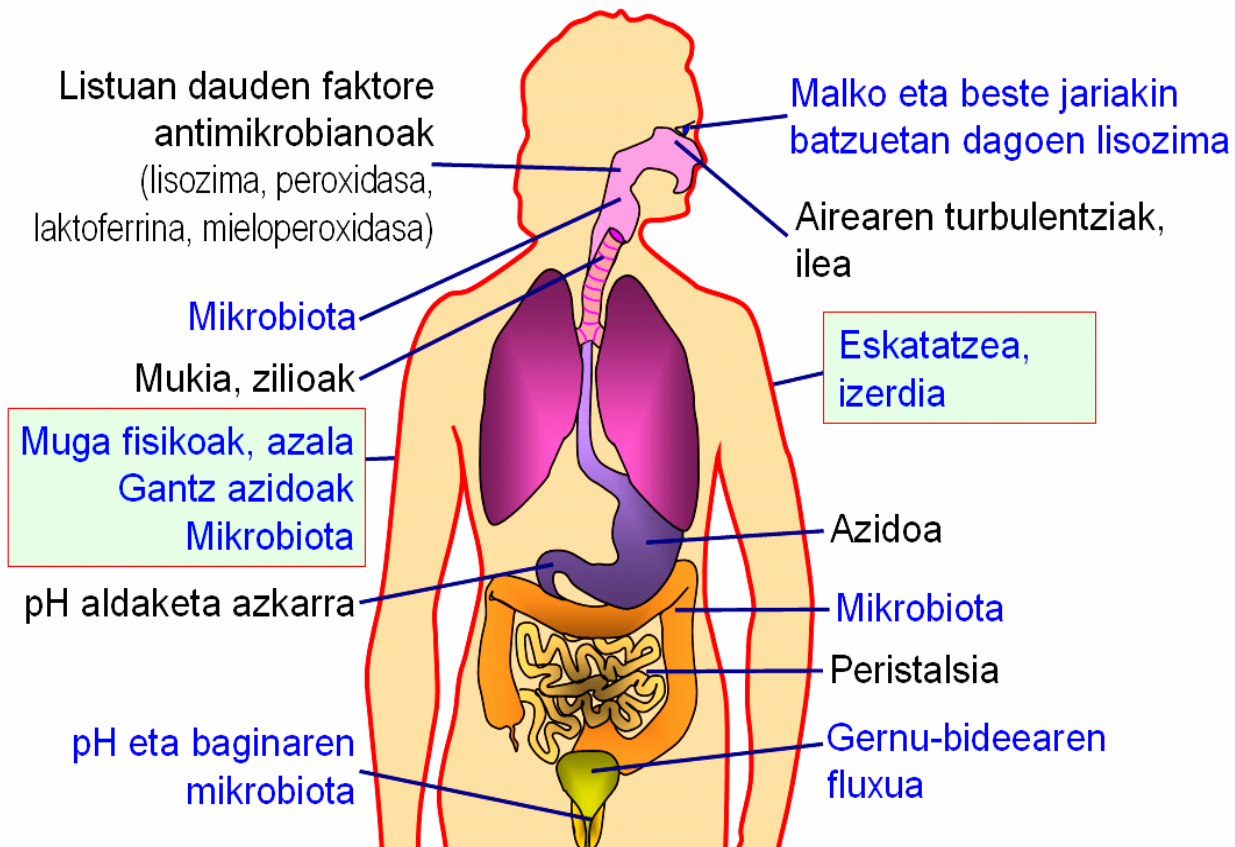
17.irudia: antigeno T independenteak.

7. DEFENTSA-MEKANISMO EFEKTOREAK

KANPOKO HESIAK. Gizakiak **gorputzaren kanpoaldean** larruazala eta mukosak **hesi naturalak** ditu mikroorganismoen inbasioa mugatzeko (1.irudia)

Infekzio-ateetan mikroorganismoak kanporatzeko mekanismo fisiko ugari daude, adibidez, larruazalaren zelulen ezkatatzea, mukosetan jariatutako mukia, listua eta genuaren jarioa, eztula eta arnasbideko zelulen zilioen mugimenduak.

Substantzia kimiko batzuek, besteak beste, larruazalaren gantz azidoak, jariakinen lisozima edo urdail eta baginako pH azidoak mikroorganismo-karga gutxitzen laguntzen dute. Azkenik, ohiko mikrobiota infekzioen kontrako babes biologiko eraginkorra da, infekzio-ateetan patogenoen atxikidura eta ugalketa oztopatzen dituelako.



1. irudia. Patogenoen sarrera oztopatzen duten kanpoko hesiak.

MEKANISMO EFEKTOREAK. Sukarra eta hantura, infekzio askotan ageri ohi diren sintoma komunak dira. Odoleko zenbait zelula eta molekulen ohiko kopurua handitzea ere infekzioaren seinale izan daiteke. Leukozito kopuru handiek (leukozitosiek) eta konplementuaren produktuen edo C proteina erreaktiboaren ez-ohiko kontzentrazio altuek, infekzioa dagoela adierazten dute. Adibidez, helmintoek eragindako infekzioetan, eosinofiloen ohiko kopurua handitzen da (eosinofilia). Sintoma eta zeinu horiek guztiak infekzioa kontrolatzeko balio duten immunitate-mekanismo efektoreen isla baino ez dira.

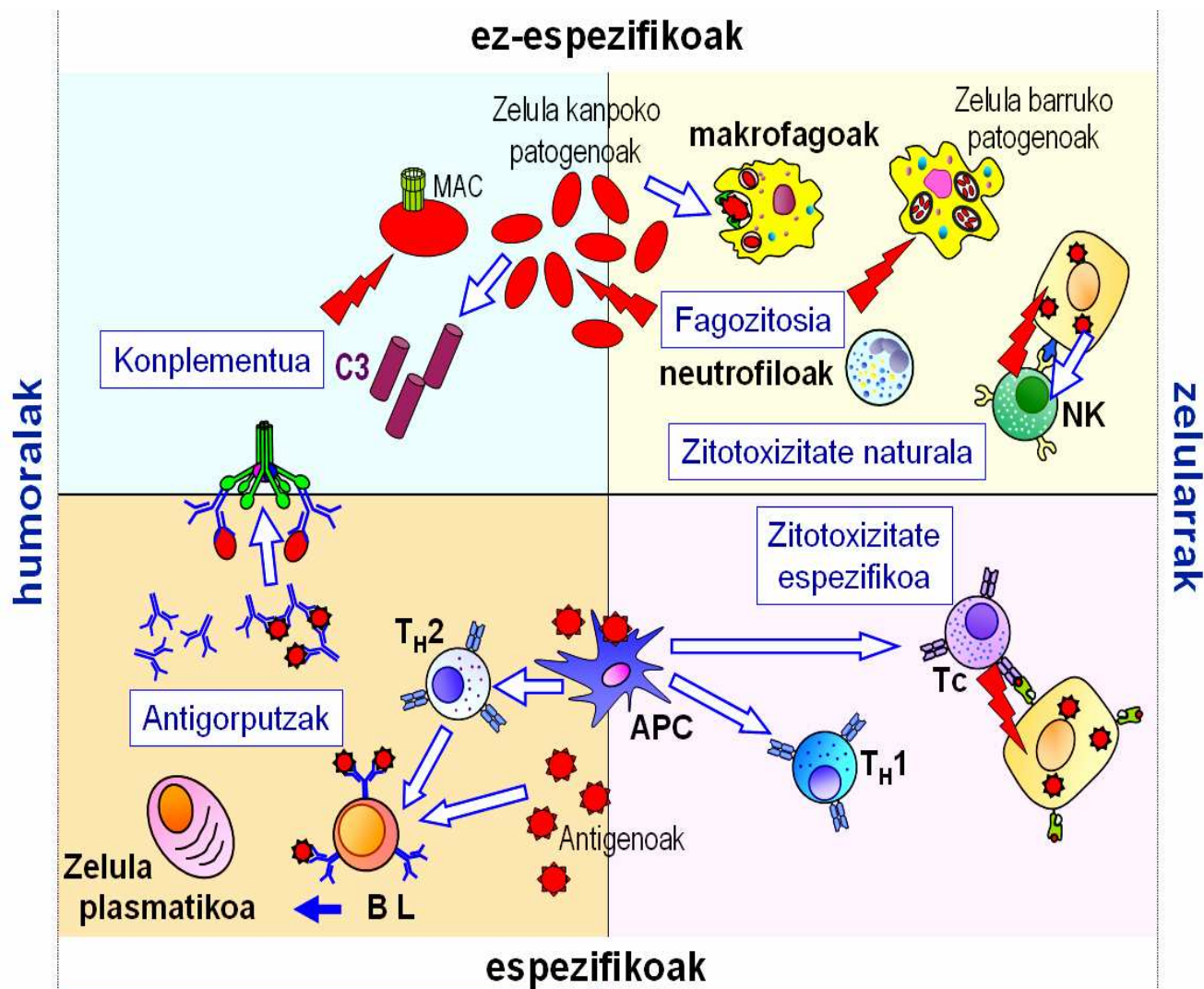
1.taula. Mekanismo-efektoreen sailkapena

| Mekanismo efektoreak | Naturalak (berehalakoak) | Naturalak (induzitu goiztiarrak) | Espezifikoak |
|----------------------|--|---|--|
| Humore-erantzunak | Konplementua | Fase akutuaren proteinak Hanturaren bitartekariak | Antigorputzak |
| Zelulen bidezkoak | FAGOZITOSIA Makrofagoak HANTURA Mastozitoak | FAGOZITOSIA Neutrofiloak Eosinofiloak HANTURA Basofiloak ZITOTOXIKOTASUN naturala NK | ZITOTOXIKOTASUN espezifikoa Tc T _H 1 erantzuna |

Harrigarria bada ere, infekzioa eragiten duen patogeno berak aktibatzen ditu beraien kontrako **defentsa-mekanismo efektoreak**. Patogenoak indargabetzen edo suntsitzen dituzten hainbat defentsa-mekanismo efektore daude, batzuk **humoreen eta beste batzuk zelulen bidezkoak** (2.irudia). Mekanismo ez-espezifikoien kasuan, (konplementua, fagozitosia eta NK zitotoxikotasuna)

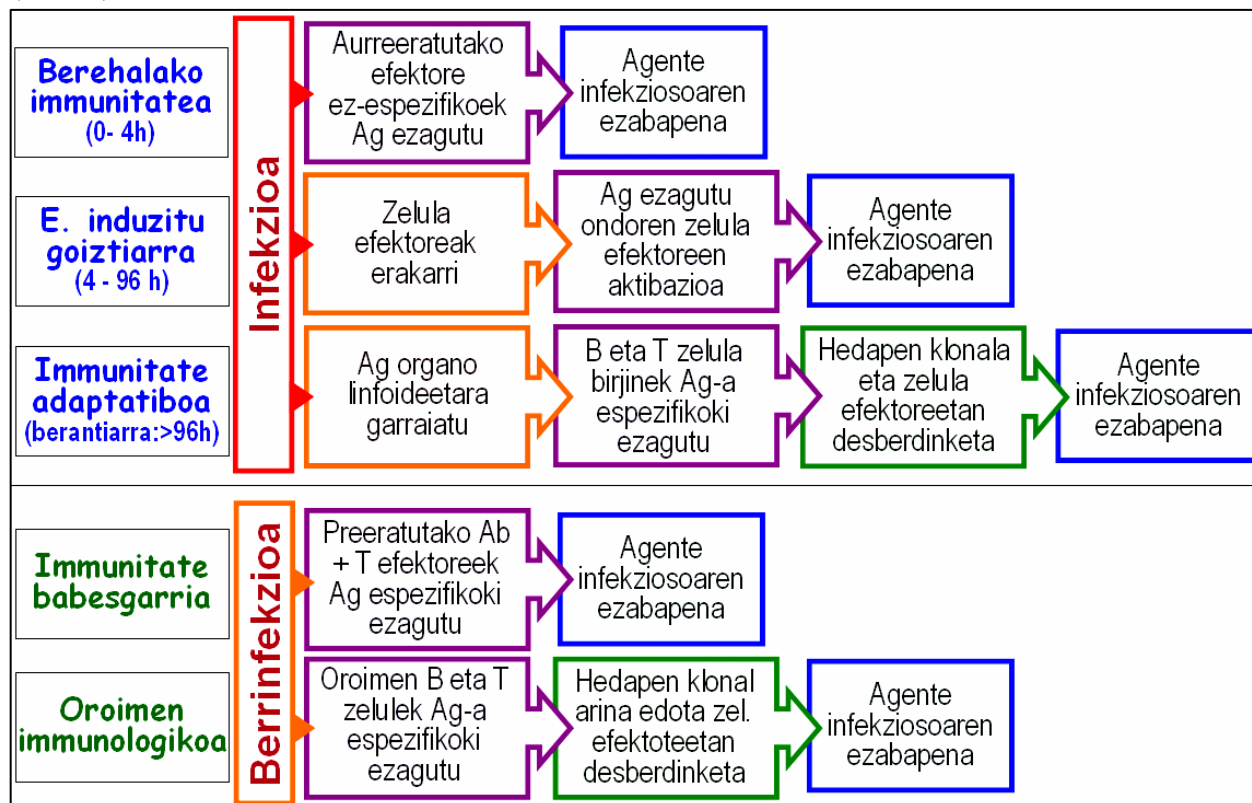
patogeno askoren azalean dauden molekula arruntek (PAMP edo *Pathogen-associated molecular patterns*) aktibatzen dituzte mekanismoa. Berezko immunitate-zelulek, mastozitoek, fagozitoek eta NK zelulek, besteak beste, patogenoekin loturiko patroik molekularrak elkartzeko hartzaile egokiak (PRR, *Pattern Recognition Receptors*) dituzte, eta, hartzaile horien bidez, zelula ez-espezifiko populazio oro aktiba daiteke, edozein izanik infekzioa eragiten duena.

Aitzitik **immunitate-erantzun espezifikoa klonala da**, hau da, T eta B linfzito klon batzuek soilik patogeno zehatzen antigenoak espezifikoki ezagutzen eta elkartzen dituzte, eta, ugaltu ondoren, populazio efektore espezifikoak aktibatuko dira patogeno hori eta ez beste bat suntsitzeko.



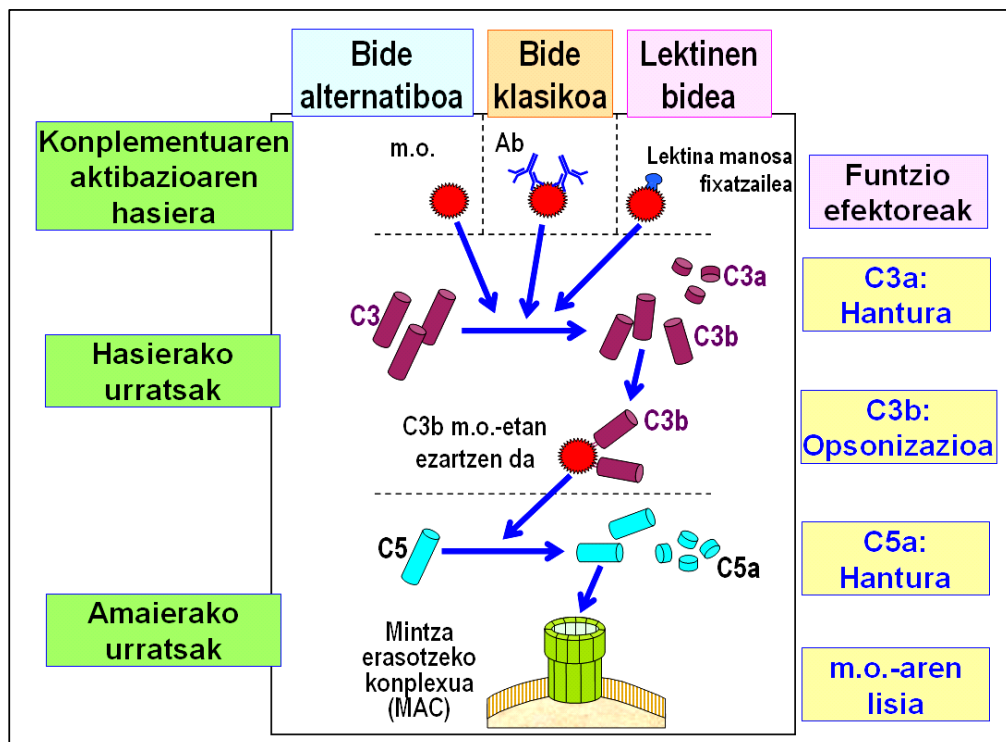
2. irudia. Defentsa-mekanismo efektore motak: humore-erantzun ez espezifikoak (konplementuak eragindako lisia), zelulen bidezko erantzun ez espezifikoak (fagozitosia eta berezko zitotoxikotasuna), humore-erantzun espezifikoak (antigorputzak) eta, zelulen bidezko erantzun espezifikoak (zitotoxikotasun espezifikoa, makrofagoen aktibazioa).

Gorputzean patogeno bat lehenengo aldian sartzen denean ostalariak berezko mekanismo-efektoreekin egin beharko du aurre infekzioari, antigorputz eta T zelula espezifiko nahikoa garatu bitartean. **Sartu eta berehala konplementuaren proteinak** patogenoen gainean aktiba daitezke, eta aktibazio honen ondorioz agertutako kemokinek odoleko fagozitoak erakartzen dituzte. Hasieratik, infekzio-guneko **makrofagoek patogenoak fagozitatzen dituzte**, eta fagositosiak bultzatuta, **hantura, fase akutua eta NK zelulen aktibitatea indusitzen** dituzte. Gainera, prozesatutako patogenoen antigenoak T linfotitoi aurkeztuz, **mekanismo espezifikoaren aktibazioa** ere indusitzen dute. Jarraian, **mekanismo-efektore guztiek** (antigenoekiko espezifikoak eta ez-espezifikoak) **batera egingo dute lan infekzioa kontrolatzeko**. Immunitate espezifikoak oroimena usten duenez, mikroorganismo bera berriro sartzen bada ostalari berean, mekanismo-efektore guztien aktibazioa arinagoa eta eraginkorragoa da (3.irudia).



3. irudia. Immunitate-erantzunaren bilakaera; berehalako mekanismo naturalak, mekanismo indusitu goitiarrak eta erantzun espezifikoak.

Immunitate-erantzunaren aktibatzaile nagusiak patogenoaren molekulak badira ere, **mekanismo-efektoreek elkarri aktiba daki** (4.irudia). Adibidez, opsoninak mikroorganismoen azalean lotzen direnean fagozitosia erraztu eta hobetzen da. **Opsoninak** hainbait antigorputz, konplementu eta fase akutuaren proteina dira. Aurreko molekulekin mikroorganismoak estaltzea **opsonizazioa** da, eta, fagozitoek opsoninentzako hartzaileak dituztenez, opsonizatutako mikroorganismoak hobeto lotuko dute. Opsonizazio prozesu horrek eta beste sistema batzuek (hanturak, kemotaxiak eta fase akutuaren erreakzioak) mekanismo efektoreen efikazia biderkatzeko balio dute.

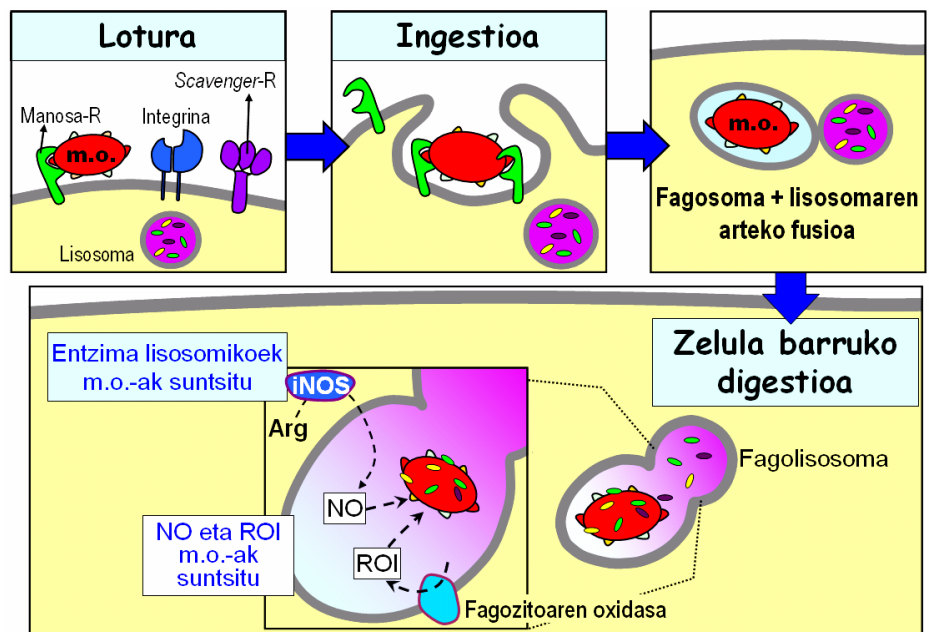


5.irudia. Konplementua aktibatzen bideak eta ondorio biologiko nagusiak.

Konplementuaren proteinen aktibazioa oso mekanismo indartsua da patogenoak ezabatzeko, baina, **ostalariaren ehunak ez kaltetzeko, zorrotz erregulatuta egon behar du**. Proteina disolbagarri batzuek eta soilik ostalariaren zelulen dauden mintzari lotutako beste batzuek, konplementuaren aktibazioa inhibitu ahal dute hainbat pausuetan. Mekanismo erregulatzailerik esker konplementuaren proteinen aktibazioa galarazten da ostalariaren zeluletan.

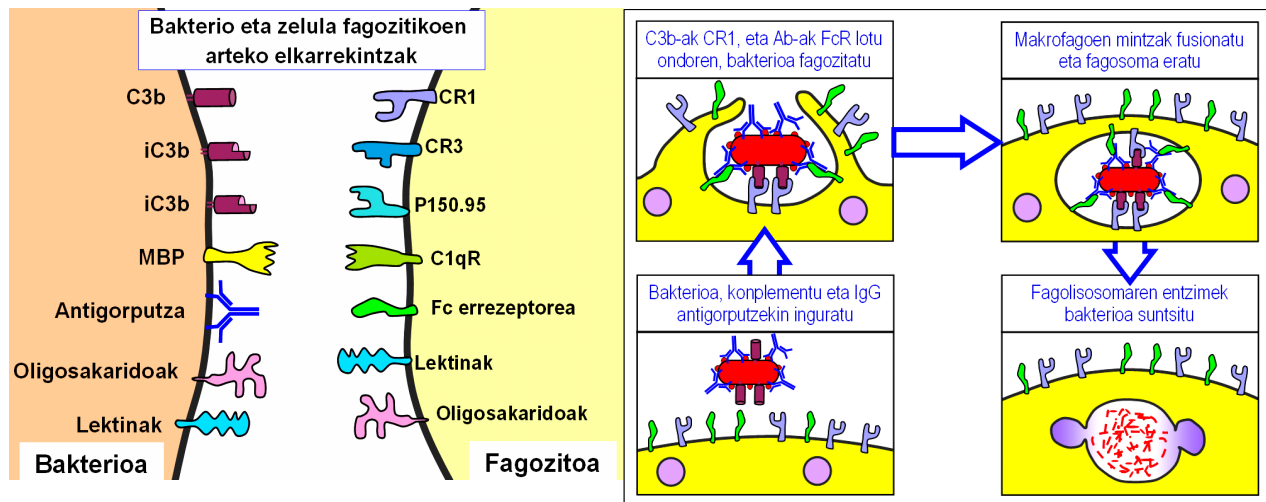
FAGOZITOSIA. Oso prozesu arina eta **zelula kanpoko patogenoen ugalketa kontrolatzeko eraginkorra** da. Zelula mota ezberdin batzuek, **makrofagoek eta neutrofiloek** batez ere patogenoak eta beste zelula batzuk fagozitatzeko, hau da, irentsi eta digestitzeko ahalmena dute (6.irudia).

Fagozitosiaren prozesuaren lehenengo urratsa **patogenoa atzematea eta mintzeko hartzaileen bidez elkartzea** da. Zuzenean elkar ditzakete patogenoen molekulentzako hartzaileen bitartez (**PRR**). Opsoninak lotzeko hartzaileak (**CR, FcR**) ere erabil ditzakete fagozitoek patogenoak arinago antzemateko. Patogenoa opsonizatuta dagoenean errazago fagozitatzeko dituzte. Opsonina ez espezifikoak (C3b, C4b edo C proteina erreaktiboa) patogenoa sartu ondorengo orduetan infekzio-gunean ugarituko dira. Patogeno berarekin aurreko kontaktuetan sortutako IgG edo IgA antigorputzak daudenean fagozitosia askoz arinagoa da, infekzioa berehala kontrolatzeko modukoa (7.irudia).



iNOS: inducible nitric oxide synthase; ROI: Reactive oxygen intermediates; NO: Nitric oxide

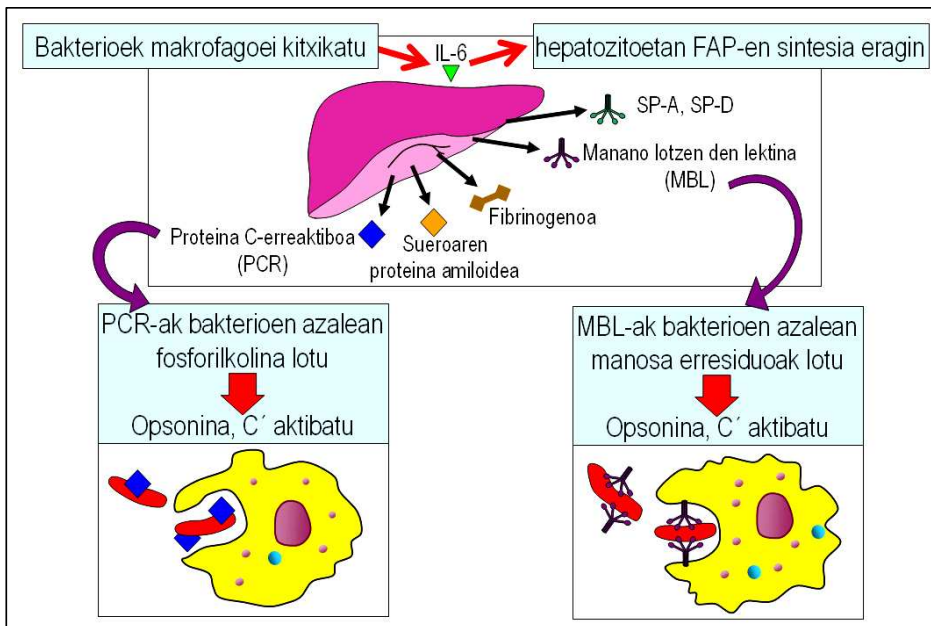
6.irudia. Fagozitosiaren faseak.



7.irudia. Opsoninak eta horien hartzailak. Opsonizatutako bakterio baten fagozitosia.

Fagozito batek patogenoak atxiki duenean, fagozitosiak ez dauka atzera joaterik. Bigarren urratsa **patogenoaren irenstea** da: fagozitoaren mintzak patogenoa inguratzeko bi pseudopodo eratzen ditu, eta horiek fusionatuta, fagozitosi-bakuola (**fagosoma**) barruan zitoplasma aldera eramaten du digeritzeko. Fagozitoen barruko **digestioa** da azken urratsa. Zitoplasmako lisosomak fagosomaren mintzarekin fusionatzean fagolisosoma eratzen da, eta bertako proteasak aktibatuko dira pH azidoan. Fagolisosoman dagoen pH azido bera (3,5-4) bakterioestatikoa edo bakterizida izan daiteke. Oxigenoaren bitartekari erreaktiboak (O_2^- ioi superoxidoa, H_2O_2 hidrogeno peroxidoa, $-OH$ hidroxilo erradikala), NO bezalako nitrogenoaren oxido toxikoak, hidrolasak, lipasak, proteasak eta beste entzima batzuk, mikroorganismo gehienentzako toxikoak izango dira.

Hainbat bakterio patogenok fagozitosia ekiditeko mekanismoak garatu dituzte. *Streptococcus pneumoniae*ren kapsulak edo *Streptococcus pyogenes*aren hormako M proteinak irenste-urratsa zailtzen dute. Kapsula edo M proteinen kontrako antigorputz espezifikoek opsonizatuta badaude ordea, errez fagozitatzen dira. *Mycobacterium tuberculosis* eta beste zelulen barruko patogenoak fagolisosoma barruan bizi eta hazten dira oxigenoaren eratorri toxikoak indargabetuz edo lisosomen fusioa inhibituz. Horrelako kasuetan fagozitoek T_H1 linfozitoen laguntza behar dute fagolisosoma barruko digestio-mekanismoak indartzeko (makrofagoen aktibazioa).

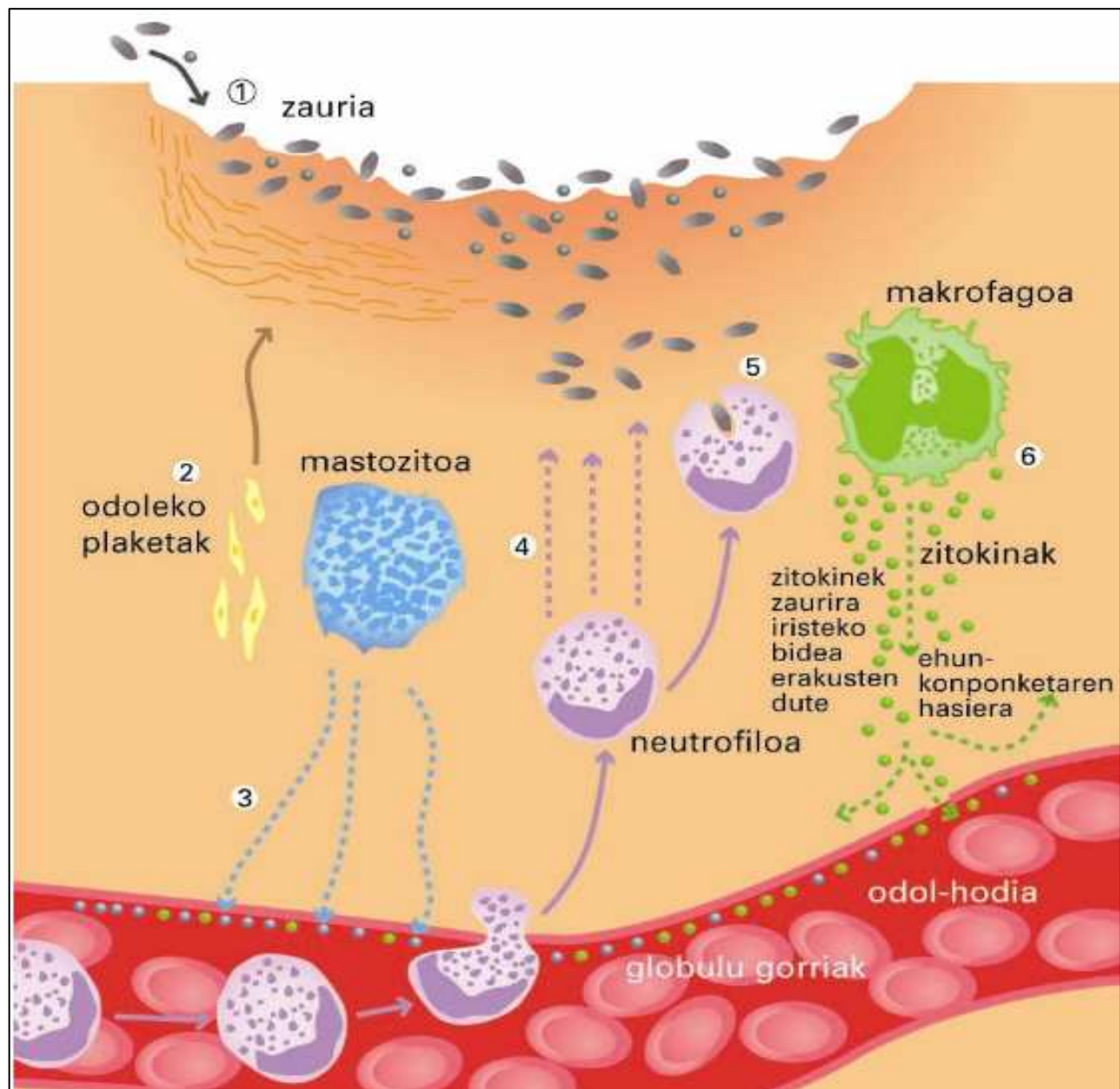


FASE AKUTUKO ERREAKZIOAK. Makrofagoek, fagozitosia egiten duten bitartean, hainbat monokinak sintetizatu eta kanporatzen dituzte, besteak beste IL-1, IL-6 eta $TNF-\alpha$. Infekzio akutuetan, hipotalamoak eragindako **temperaturaren igoerarekin batera**, hepatozitoek, IL-6 lotu ondoren, hainbat proteina kanporatzen dituzte odolera infekzio-gunean metatzeko direnak (8.irudia). **Fase akutuaren proteina horietako batzuek, besteak beste proteina C erreaktiboa (PCR) eta manosa elkartzeko lektina (MBL), fagozitosia eta konplementuaren aktibazioa indartzen dute.** Beste batzuek (fibrinogeno edo protrombina) tokiko koagulazioa eragiten dute infekzio-fokua mugatzeko.

8. irudia. Fase akutuko proteinak.

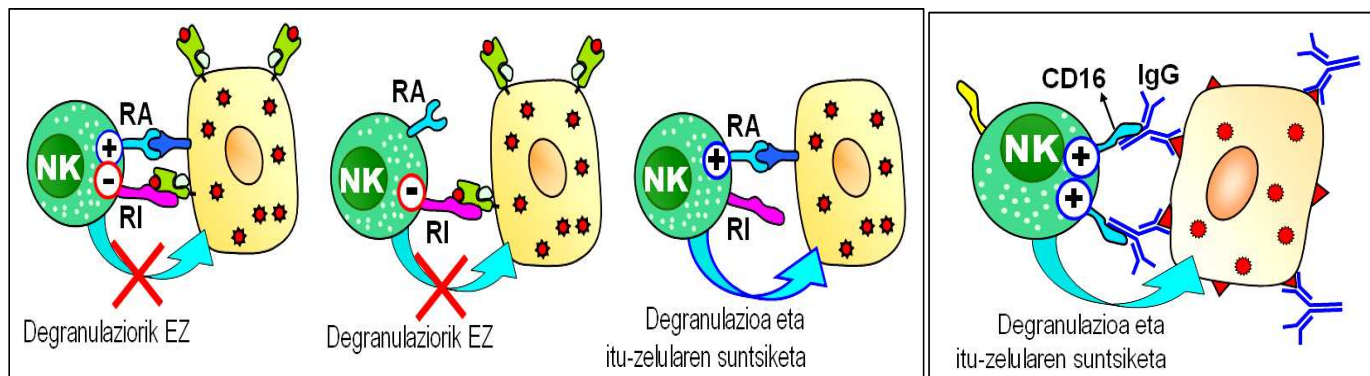
Hantura. Infekzio-atean ehuneko mastozitoek patogenoa elkartu bezain pronto zitoplasmako pikorren histamina askatzen dute. Konplementuaren hainbat produktuk ($C3a$, $C5a$), eta makrofagoek jariatutako zitokina batzuek ere ($TNF\alpha$, IL-1, IL-6) hantura indusitzen dute lehenengo orduetan. **Hantura-erreakzioa gertaera koordinatu sorta bat** da (9.irudia): **odol-hodien diametroa** handitzen da odol-fluxua handitzeko, eta odol hodien **iragazkortasuna** handitzen da barruko likidoak infekzio-fokuan errazago kanporatzeko. Aldi berean, hodien endoteliozitoetan **atxikidura-molekulak** adierazten dira leukozito eta linfozito geldiarazteko eta infekzio-fokurantz bideratzeko (**kemotaxia**).

| Hantura-prozesua | |
|---|---|
| Induzitutako gertaera | Eragina |
| Odol-hodien diametroa gehitzea | Odol-fluxua gehitzea |
| Odol-hodien iragazkortasuna gehitzea | Fluidoaren gehitze lokala |
| Zelula endotelialean atxikidura-molekulen adierazpena | Fagozito eta linfozitoen estrabasazioa, infekzio-guneetan pilatzea |
| Endotelioan, odolaren tokiko koagulazioa induzitu | Infekzioaren hedapena mugatu eta patogenoa linfa-bidetik linfa-gongoiletara joanarazi |
| Kemotaxia | Zelula immunitarioen gehitzea infekzio-gunean |



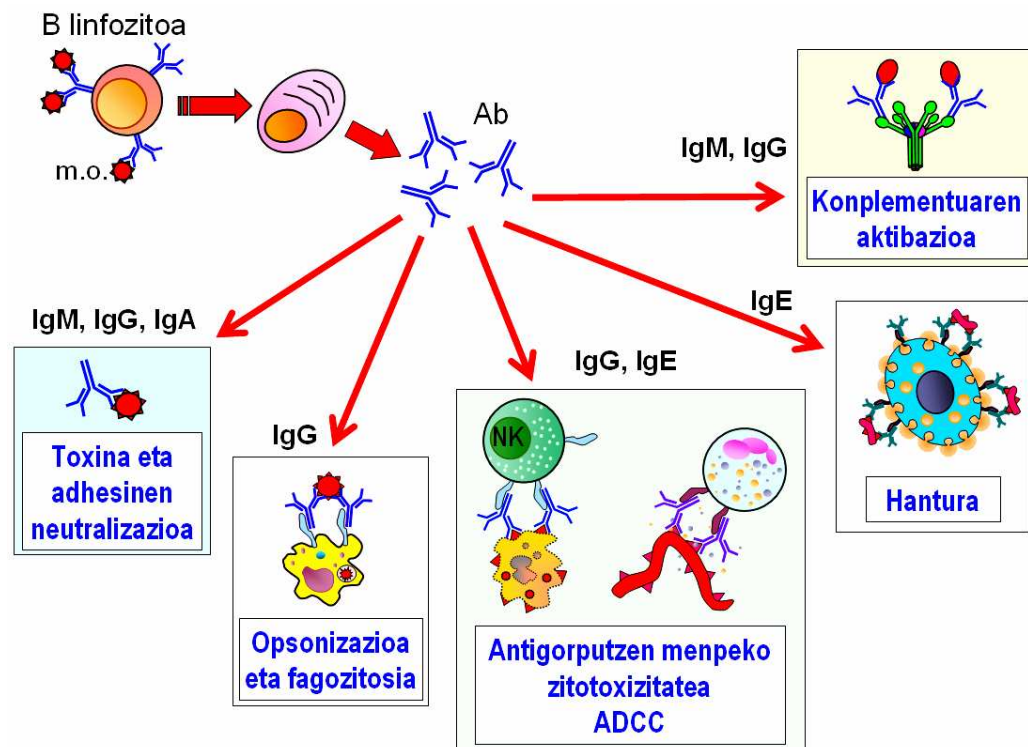
9. irudia. Hantura-prozesuaren gertaera sorta.

NK ZELULEN ZITOTOXIKOTASUNA. Makrofagoek NK linfozitoen aktibitatea aktibatzen dute IL-12aren bidez. NK linfozitoek **hartzaile** mota desberdinak dituzte, batzuk zitotoxikotasunaren **aktibatzaileak (RA)** eta beste batzuk **inhibitzaileak (RI)**, eta horien bidez xede-zelulak aztertzen dituzte (10.irudia). Adibidez, hartzaile inhibitzaile batzuek I motako histobateragarritasun-molekulak ezagutzen dituzte eta elkartzuz gero zitotoxikotasun-mekanismoa inhibituta gelditzen da. Honela NK zelulek ostalariaren zelula gehienak errespetatzen dituzte. Aldiz, MHC I motako molekulak desagertzen badira edota haien espresioa aldatuta badago, hartzaile inhibitzaileak libre geratzen dira eta aktibatzaileen seinaleak nahikoak izan daitezke NK zelulak elkartutako xede-zelula hiltzeko. Hainbat birusek eragindako infekzioetan eta eraldatutako zelula tumoraletan MHC molekulen espresioa gutxituta dago eta NK zelulen xede-zelulak bihurtzen dira. Behin NK zelula aktibatuta, xede-zelula suntsitzeko erabiltzen dituen **mekanismo zitotoxikoak Tc linfozitoek erabiltzen dituztenak bezalakoak** dira: perforinak eta granzimen jariatzea eta Fas-FasL kontaktuaren bidezkoa.



10. irudia. NK linfozitoek xede-zelula ezagutzeko mekanismoa.

ANTIGORPUTZAK. Antigorputz espezifikoek mekanismo efektore zuzenak izan daitezke patogenoen birulentzia faktoreak (adhesinak edo toxinak) elkartzuz patogenoak **neutralizatu** ditzaketelako. Baina gehienetan antigorputzen hainbat defentsa-mekanismo natural **ahalbidezten edo indartzen dituzte: fagozitosia, hantura-erreakzioak, zitotoxikotasun naturala eta konplementuaren aktibazioa** hain zuzen ere. Bitartekaritza hori gertatzeko hainbat immunitate-zelulek antigorputzen Fc aldearentzako hartzaileak dituzte (**FcR**) (11.irudia).



11.irudia. Antigorputzen funtzio efektoreak.

Espezifikotasun bereko antigorputzak hainbat isotipo edo klasekoak izan daitezke, bakoitza funtzio zehatza eta gorputzaren banaketa ezberdinekin. Patogeno berri batekin lehenengo kontaktuan IgM pentamerikoa nagusitzen da plasman. Egunak pasa ahala IgG isotipoa agertuko da, antigeno beraren hurrengo kontaktu ondoren (erantzun sekundarioetan) plasman nagusituko dena. Bai **IgM** pentamerikok, zein **IgG** monomerikoak, **konplementua aktibatu** dezakete bide klasikoetik. Aipatutako **IgM** eta **IgG** isotipoek odolean mikroorganismo patogenoen atxikidura-faktore eta toxinak **neutralizazio** balio dute.

2. taula. Immunoglobulin isotipoen ezaugarriak.

| Klasea/H katearen isotipoa ^a | Plasma (mg/mL) | Antigenorako lotura-guneak | Ezaugarriak | Banaketa |
|---|-----------------|----------------------------|---|---|
| IgG γ | 13,5 | 2 | Zirkulazioan dauden antigorputz nagusiak; lau azpitalde: IgG ₁ , IgG ₂ , IgG ₃ , IgG ₄ ; IgG ₁ eta IgG ₃ molekulak konplementua aktibatzen dute | Zelulaz kanpoko likidoetan; odolean eta linfan; karena zeharkatzen du |
| IgM μ | 1,5 0 | 10 2 | Imunizazioaren ostean agertzen den lehen antigorputza; konplementuaren aktibatzaile sendoa | Odolean eta linfan; B linfzitoen gainazalean |
| IgA α | 3,5 0,05 | 2 4 | Plasmako antigorputz garrantzitsua Jariatzen den antigorputz nagusia | Jariakinetan (listua, oritza, zelulen eta odolaren likidoak); plasman monomeroa da, eta, jariakinetan, berriz, dimeroa. |
| IgD δ | 0,03 | 2 | Zirkulazio-antigorputza (ez dut ulertzen) | Odolean eta linfan; B linfzitoen gainazalean |
| IgE ε | 0,00005 | 2 | Erreakzio alergikoetan parte hartzen du; CH4k mastozitoei lotzeko zatia du | Odolean eta linfan; mastozitoen gainazalei lotuta. |

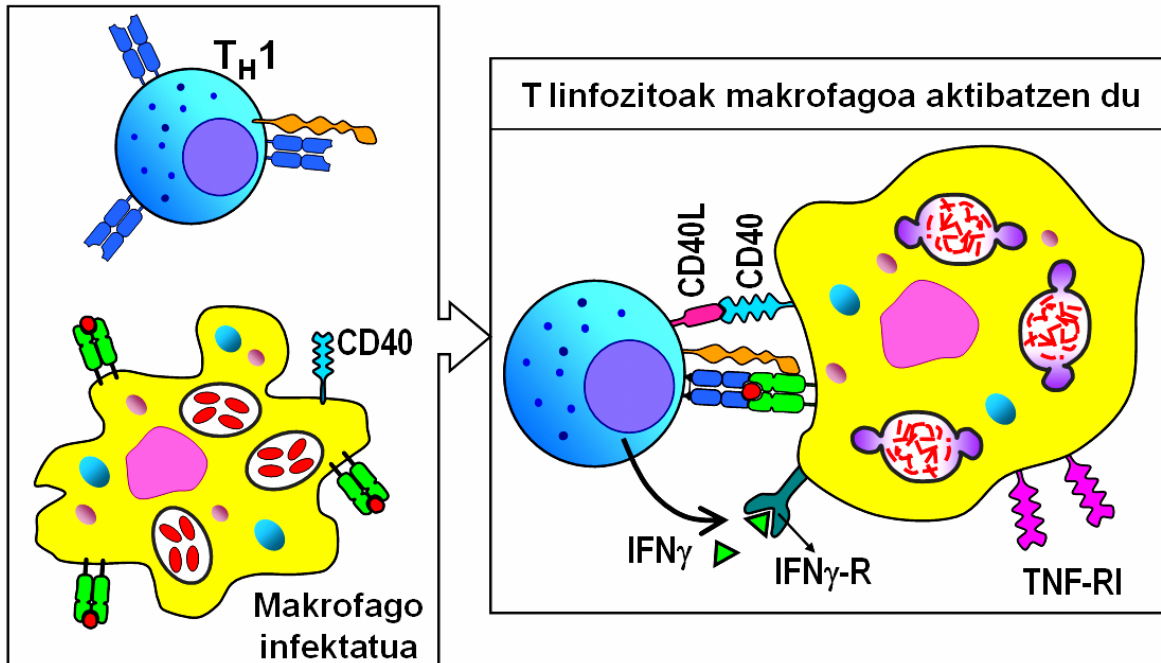
*“Mikroorganismoen Biologia” tik hartutakoa taula.

Mukosetan immunoglobulina mota guztiak sintetizatzen diren arren, IgA da ohikoena. **IgA jariatua** mukosak zeharkatzeko gai den antigorputz dimerikoa da (bi immunoglobulina **J katearekin lotuta**), eta S deritzon polipeptido batekin lotuta dago. S osagaia endotelioko zelulen poli-Ig hartzailetik dator eta garraio-proteina bezala jotzen du IgA argira pasartzeko. IgA jariatua mukosaren mikroorganismoen kolonizazioa galarazten du birusen edo bakterioen adhesinak elkartuz; toxinak neutralizatzen ditu (kolerarena adibidez) eta immunokonplexuak baztertzen ditu, hau da, antigenoa + IgA multzoak hesteko argira eramaten ditu. Beste alde batetik gutxi aktibatzen du konplementuaren sistema eta honela **ez du hanturarik eragiten**.

IgG eta IgA immunoglobulinekin patogenoak estaltzen dituztenean (**opsonizazioa**) fagozitoen hartzaileen arteko elkar-gurutzapenek neutrofiloei eta makrofagoei burututako fagozitosia indartzen dute.

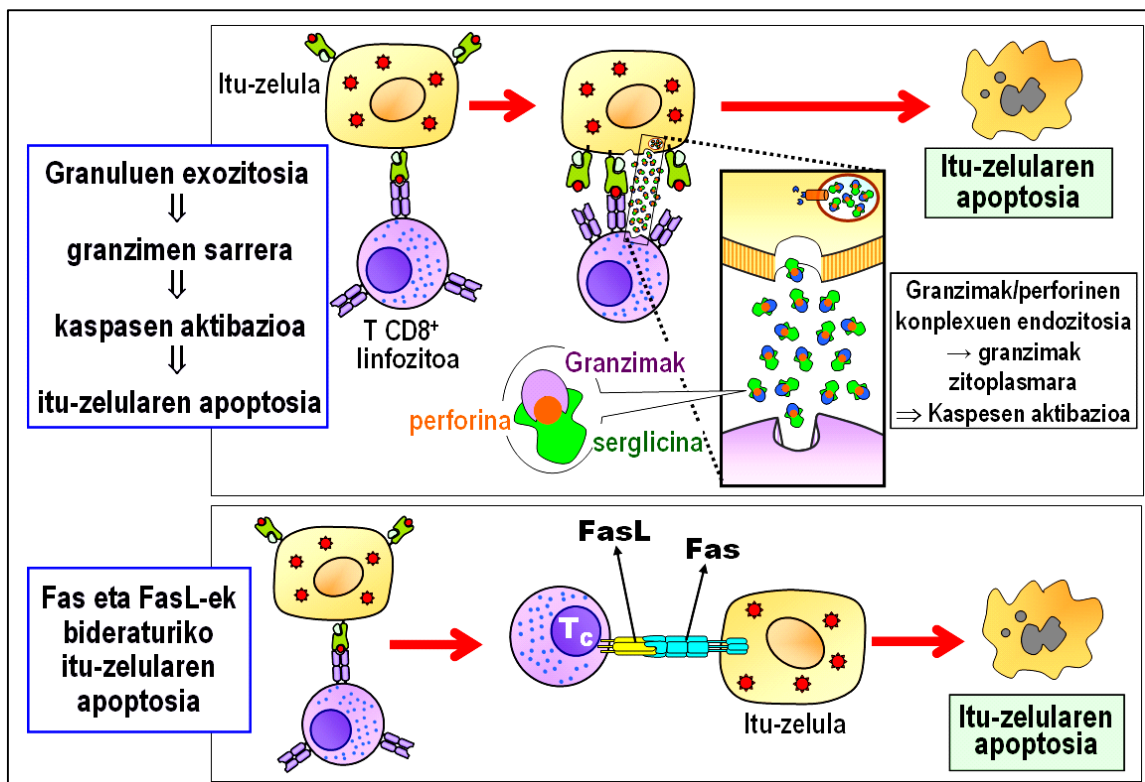
NK zelulek **G** immunoglobulinentzako hartzaileak dituzte (FcγR) eta mikroorganismoak edo xede-zelulak IgG espezifikoek opsonizatuta daudenean, **antigorputzen bidez** elkartu eta **zitotoxikotasun-mekanismoa** aktibatzen dute (ADCC edo “*antibody dependent cell-mediated cytotoxicity*”). Mastozito, basofilo eta eosinofiloen Fcε hartzaileek **IgE** immunoglobulinekin lotzen dira eta hurrengo kontaktuan, patogenoaren antigenoak elkartzean, **hantura eta exozitosia** eragiten duten molekulak kanporatzen dituzte patogenoaren inguruan.

T_H1 ZELULA EFEKTORAK. Zelulen barruko parasitoek T_H1 populazio efektorea aktibatzen dute IL-12 zitokinaren bidez. T_H1 linfzito efektoreek infekzio-fokuetan askatutako zitokinek **makrofagoen aktibazioa**, **Tc lifozitoen zitotoxikotasuna eta hantura-erreakzioak** eragiten dute. Batzuetan, zelulek eragindako erantzunak ezin du infekzioa sortzen duen mikroorganismoa eliminatu, edo material antigenikoa guztiz degradatu. Horrelakoetan, **T_H1 zelulak metatzen dira makrofago infektatuen inguruan, eta INF-γ zitokina bidaliz indartzen dute makrofagoen digestio-ahalmena**, bereziki oxido nitrikoaren (NO) produkzioa. Honela, fagositosiaren efikazia biderkatzen da eta infekzio-fokuak kontrolatzen dira. Makrofagoen barruko infekzioa gehiegi irauten badu ordea, T_H1en etengabeko zitokinen jariapenaren eraginez, zelulak erraldoi eta nukleo anitzekoak bihurtuko dira. Lesio histologiko horiek **granulomak** deitzen dira eta batzuetan kalte handiak sortzen dituzte (12.irudia).



12.irudia. Makrofagoen aktibazioa eta granulomaren eraketa.

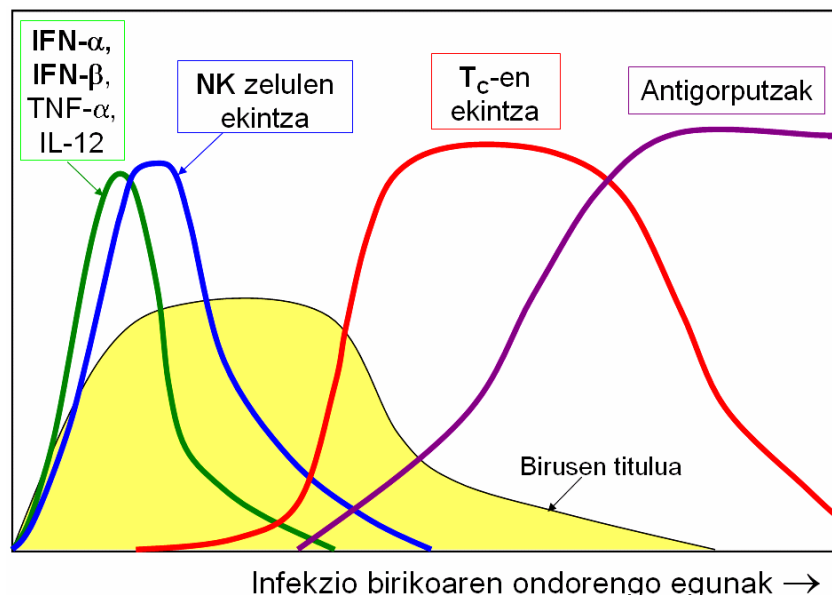
T_C LINFOZITOEN ZITOTOXIKOTASUN ESPEZIFIKOA. Tc funtzio nagusia birusek infektatutako zelulak eta zelula tumoralak eliminatzea da. Zelula zitotoxiko gehienak CD8⁺ dira, eta **MHC I motatako molekulekin elkartutako antigeno arrotzak ezagutzen dituzte**. Tc linfzitoen zitotoxikotasuna, NK linfzitoena ez bezala, antigeno espezifikoa da, TCRak xede-zelulan adierazitako antigenoa elkarrekin aktibatuko duelako molekula toxikoen askapena. Beraz, soilik antigeno mota hori erakusten duten zelulak hilko ditu. Tc efektoreak bi zitotoxikotasun-mekanismo ditu, batean substantzia toxikoak jariatzen ditu xede-zelulan sartzen direnak, eta bestean xede-zelularen mintzeko molekulak elkartuz apoptosiaren seinaleak bidaltzen dizkio. **Mekanismo jariakorrean** Tc linfzitoen pikorren **perforinak** eta granzimak konplexuak osatzen dute eta, endozitosiz, xede-zelularen zitoplasmara pasatzen dira. Zitoplasman endosomako balditzek bideratuak perforinak aktibatu eta endosomen mintzean zuloak eratzen dituztenetik granzimak zitoplasmara irteten dira. Behin zitoplasman daudenean, prokaspasa inaktiboak aktibatzen dituzte eta kaspasek xede-zelularen heriotza eragingo dute. Tc linfzitoen pikorrak Tc xede-zelularen arteko elkarrekin soilik askatzen dira, inguruko zelulak errespetatuz. Molekulen elkarrekin bidezko mekanismoan Tc zelulak, antigenoa elkartu ondoren, **FasL (CD95) molekula xede-zelularen Fas (CD95) molekularekin lotzen du**. Loturak kaspasen bidea aktibatzen du eta honekin batera xede-zelularen apoptosia (13.irudia).



13.irudia. Tc linfzitoek xede-zelula ezagutzeko modua eta zitotoxikotasun-mekanismoak.

INFEKZIOAREN AURREKO ERANTZUNA. Mikroorganismo desberdinen arabera, mekanismoak efektore batzuen edo besteen aktibazioa nagusituko da. Horrela, **zelula kanpoko bakterioen infekzioen kontra zelula fagozitikoak, konplementua eta antigorputzak** dira aktibatzen diren mekanismo garrantzitsuenak. **Zelula barneko bakterioen infekzioen kontra**, aldiz, antigorputzak ezin direnez sartu zelularen barrura, zelulen bidezko erantzuna da garrantzitsua (**T_H1 zelulak eta makrofagoak**).

Birusen infekzioen kontra, hasieran **α eta β interferonak**, gero **NK zelulak** eta azkenean **T zelulak (T_H1 eta T_C motakoak)** dira mekanismo garrantzitsuenak. **Antigorputzak**, birusa zelulatik kanpo dagoenean soilik, birus-partikulen hedapena ekiditeko balio dute (14.irudia).

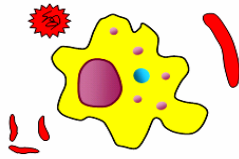
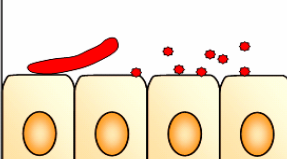
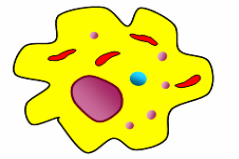
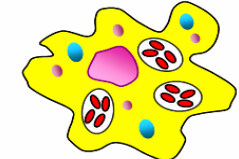


14. irudia. Infekzio birikoen aurkako mekanismo-efektoreak.

Onddoen infekzioak kontrolatzeko **T_H1 motako erantzuna** eta hipersentikortasun atzeratua izango dira mekanismo-efektoreak. Antigorputzak, oro har, ez dira babesleak onddoen kontra. Dena den, antigorputzak sortzen dira infekzio fungikoetan eta diagnostikorako erabilgarriak izan daitezke.

Bizkarroien taldea oso heterogeneoa da. Horrela, helmintoen batzuen infekzioak kontrolatzeko (eskistosomiasiak) **eosinofiloak bideraturiko IgE menpeko mekanismo zitotoxikoak** garrantzitsuak dira. Beste batzuen kontra, **immunitate-erantzun zelularra** ezinbestekoa da, bereziki granulomen bidezkoa. Bizkarroiak, eskuarki, erresistenteak dira konplementuari.

Protozooen kontra antigorputzak oso garrantzitsuak dira, baina protozoak zelula barneko bizkarroiak direnean **immunitate-erantzun zelularra** funtsezkoa da. Horrela da *Plasmodium* (malariaren eragilea), *Trypanosoma cruzi* (Chagas gaixotasunaren eragilea) eta *Toxoplasma*ren kasuetan. (15.irudia)

| Infekzioaren kokapena | Estrazelularra | | Intrazelularra | |
|------------------------|---|---|---|---|
| | Gune interstizialak, odola, linfa | Gainazal epitelialak | Zitoplasmikoa | Besikularra |
| |  |  |  |  |
| Organismoak | Birusak, bakterioak, protozoak, onddoak, zizareak | <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , zizareak, <i>Mycoplasma</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Vibrio cholerae</i> , <i>E. coli</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Helicobacter pylori</i> | Birusak, <i>Chlamydia spp</i> , <i>Rickettsia spp</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , protozoak | <i>Mikobakteria</i> , <i>S. Typhimurium</i> , <i>Leishmania spp</i> , <i>Listeria spp</i> , <i>Trypanosoma spp</i> , <i>Legionella pneumophila</i> , <i>C. neoformans</i> , <i>Histoplasma</i> , <i>Yersinia pestis</i> |
| Immunitate babesgarria | Antigorputzak, konplementua, fagozitosia, neutralizazioa | Antigorputzak (batez ere IgA), peptido antimikrobianoak | T _C , NK zelulak | T eta NK zelulen menpeko makrofagoen aktibazioa |

15.irudia. Immunitate-mekanismo efektoreen egokitzea patogenoaren arabera.

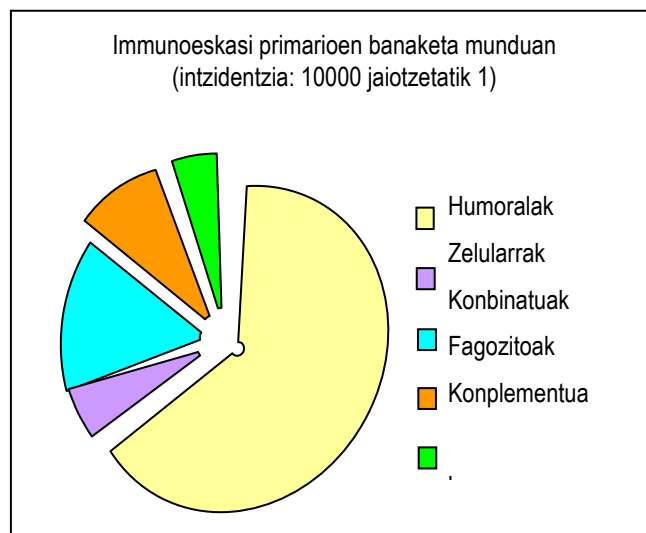
3.taula. Zitokina eta kemokina batzuen ezaugarriak.

| Zitokina/kemokina | Zelula ekoizleak | Xede-zelulak | Eragina |
|-------------------|---|---|--|
| IL-1 | Monozitoak, makrofagoak, BL | T _H zelulak B zelulak | Aktibatu Heldu, hedatu |
| IL-2 | T zelulak | T zelulak | Ugalketa sustatzen dute |
| IL-4 | T _H 2 | B (antigenoek abiarazita) B (aktibatuta) | Aktibatu Ugaldu Klasez aldatu IgE sintetizatu |
| IL-5 | T _H 2 | B zelulak | Bereizketa IgA sintetizatu |
| IL-6 | T _H 2 Monozitoak Makrofagoak | Ugaltzen ari diren B zelulak Plasma-zelulak Zelula ama mieloideak | Bereizketa, plasma-zelula bilakatzeko Antigorputzak jariatu Bereizketa |
| IL-8 | Ehun konektiboa | T zelulak PMNak | Kimikoki erakarri, aktibatu |
| IL-10 | T _H 2 | Makrofagoak | IL-1en ekoizpena eten |
| IL-12 | Makrofagoak, B zelulak | T _C T _H 1 | Bereizketa, T _C bilakatzeko Ugaldu |
| IFN-α | Leukozitoak | Zelula arruntak | Birusen kontrako |
| IFN-γ | T _H 1, T _C , NK | Makrofagoak Zelula arruntak | Aktibatu Birusen kontrakoa |
| GM-KBF | Makrofagoak, T _H 1 | Zelula ama mieloideak | Bereizketa: granulozitoak eta monozitoak |
| MKEAF | Ehun konektiboa | T zelulak Makrofagoak | Kimikoki erakarri, aktibatu |
| TNF-α | Makrofagoak, NK | Tumore-zelulak | Zitotoxikoa |
| TNF-β | T _H 1, B | Tumore-zelulak | Zitotoxikoa |

8. IMMUNITATE-ERANTZUN DESEGOKIAK.

Immunitate-sistemaren eginkizun fisiologikoa gorputza babestea da, bai infekzioengandik, bai beste zelula edo substantzia kaltegarriengandik. Eskuarki, funtzio hori kalte larriarik sortu gabe betetzen da. Baina noizbehinka, immunitate-erantzunak ez du bere eginkizuna ondo betetzen, akatsak daudelako edo kontrol-mekanismoak txarto daudelako. Erantzuna desegoki horrek, arazoak konpondu beharrean, kalteak eragiten ditu ostalarian. Immunopatologiak immunitate-sistemak indusitutako gaixotasunak ikertzen ditu (immunoeskasiak, tumore batzuk, hipersentikortasunak eta gaixotasun autoimmunek).

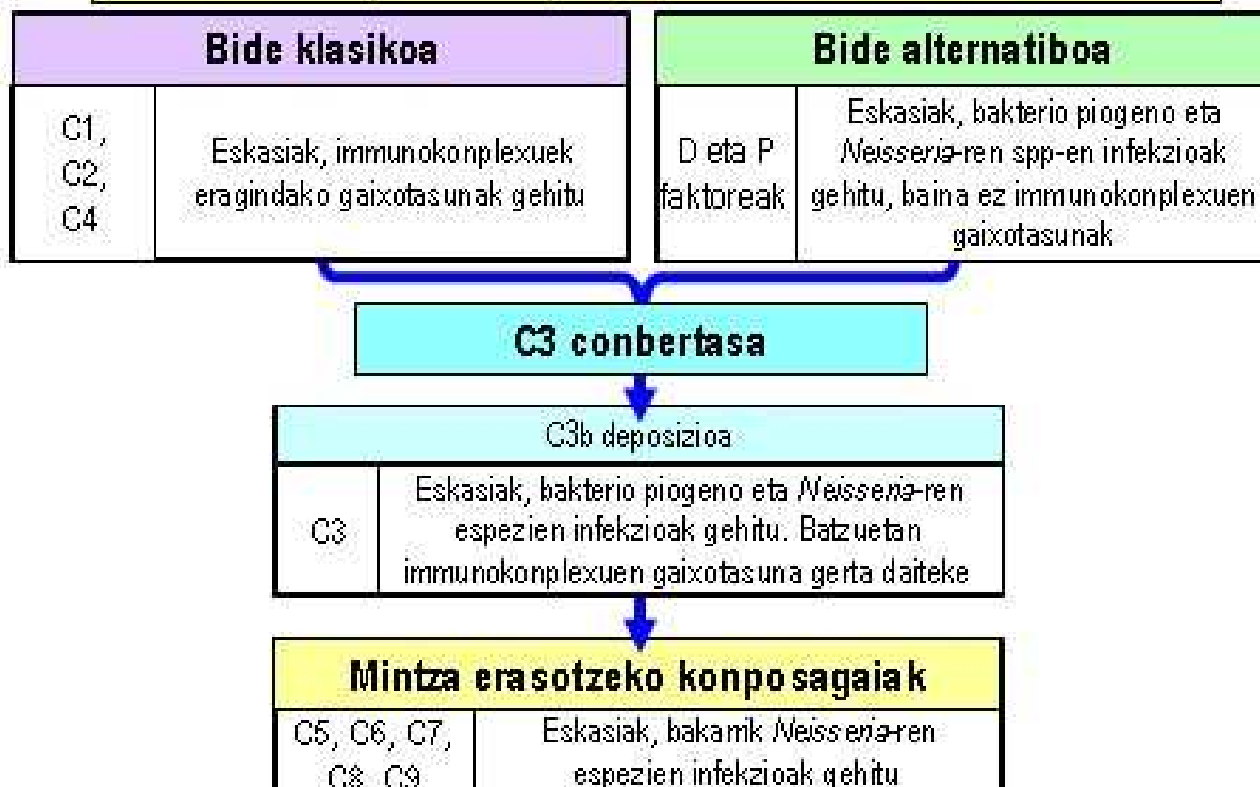
IMMUNOESKASIAK linfozito, fagozito edota beste immunitate-zelula, molekula, bitartekari edo faktore erregulatzaileen akatsak daudenean sortzen dira. Hau da, immunitate-sistemaren zerbait falta denean, eskasa denean edo bere funtzioa ez duenean ondo betetzen. Immunoeskasi guztien **ondorio kliniko nagusia infekzioen gehikuntza** da. Kasu askotan infekzio kroniko, iraunkor eta errepikakorrek gertatzen dira, eta patogeno oportunistek eragindakoak edota tratatzeko zailak direnak ere. Aldi berean, immunitate-sistemaren funtzionamendu akastunaren ondorioz, zenbait minbizi (adibidez EBV-ak eragindakoak) eta autoimmunitatea pairatzeko arriskua ere gehi daiteke.



Immunoeskasi primarioak edo sortzetikoak jatorri genetikoak dute. Ez-ohiko gaixotasun-talde heterogeneo da (immunoeskasi primario bakoitza ez da maiz agertzen). Mundu mailan bizirik jaiotzen diren 10.000 indibiduoetatik 1-ek immunoeskasiaren bat edukiko du, eskuarki humore-eskasiak. Horietatik %40a bizitzaren lehenengo urtean diagnostikatzen dira eta %95a sei urte bete baino lehen. Immunitate-sistemaren funtzionamendurako beharrezkoa den edozein gene izan daiteke afektatua, eta inplikaturiko elementuaren arabera immunoeskasi horien larritasuna guztiz desberdina izango da. Sortzetiko immunoeskasi mota batzuetan akats genetikoak non dagoen eta nola heredatzen den gero eta hobeto ezagutzen da, eta, horren ondorioz, diagnostikoa eta tratamenduak hobetzen doaz. Gaixotasun horiek diagnostikatzeko senideen historia, jasatako infekzio mota eta horien errepikapenak kontutan hartzen dira.

Immunoeskasi primarioak ikertzeko immunitate-sistemaren hainbat elementuen kantitatea eta jardura ebaluatu behar dira. Horretarako lehenengo bilaketa edo *screening* kuantitatibo eta funtzionalak egiten dira. Azterketa horiek egitea eskuarki ez da oso

Konplementuaren konposagaien eskasiak, zenbait infekzioerikiko suszeptibilitatearekin eta immunokonplexuen pilaketekin erlazionatzen dira



zaila, eta immunoeskasiaren maila eta mota diagnostikatzea, eta terapia ere bideratzea baimentzen dute. Ondoren ikerketak konplexuagoak egiten dira kasu bakoitzean, adituek ondo prestatu eta antolatu behar dituztenak.

Berezko immunitate-mekanismoen

eskasien artean, akatsak batez ere konplementu eta fagozitoekin erlazionatzen dira (mikroorganismoen suntsipena, migrazioa eta atxikidura, eta TLR edo beste PRR-etan akatsak) (1.irudia)

1.irudia. Immunoeskasi primarioen banaketa munduan

Nahiz eta gutxitan gertatu, **konplementuaren produktu gehienetan deskribatu dira akatsak** (2.irudia).

2. irudia. Konplementuaren eskasiak.

Denek herentzia autosomiko errezesiboa azaltzen dute. Konplementua beharrezkoa da hainbat bakterio mota opsonizatu eta ondoren fagozitu ahal izateko, eta zenbait immunokonplexu ezabatzeko ere bai. Beraz, konplementuaren akatsak, batez ere, bakterio piogenikoen infekzioekin eta immunokonplexuen pilaketekin erlazionatzen dira.

Zelula fagozitikoetan ere akats ugari deskribatu dira (3.irudia). Fagozitoak bakterio eta onddoen kontrako lehenengo defentsamaila direnez, fagozitoen akatsak, patogeno horiek eragindako infekzioekin erlazionatzen dira. **Leukozitoen atxikipen-eskasia** (*LAD: Leucocyte adhesion deficiency*), leukozitoek ezin dira ehunetan sartu ezta infekzioa kontrolatu, eta ondorioz, larrazaleko, hesteko eta ahoko infekzio asko garatzen dira. **Gaixotasun granulomatoso kronikoan** (*CGD = chronic granulomatous disease*), fagozitoek ezin dute superoxido erradikala edota beste oxigenoaren bitartekari erreaktiboren bat ekoiztu eta ondorioz, ezin dute jarduera bakterizida ondo burutu. Ezin dutenez fagozitatutakoa ondo suntsitu, askotan granulomak sor daitezke.

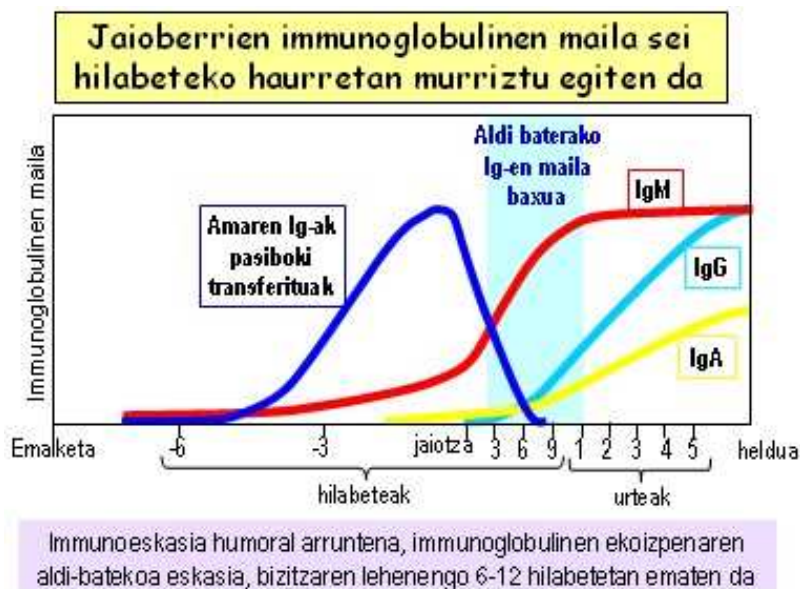
Fagozitoen eskasiak, infekzio bakteriano iraunkorrekin erlazionatuak

| Eskasia mota / sindromearen izena | Lotutako gaixotasunak, infekzioso edo bestelakoak |
|--------------------------------------|---|
| Leukozitoen atxikipenaren eskasia | Bakterio piogenoek eragindako infekzioak |
| Gaixotasun granulomatoso kronikoa | Infekzio intra- eta estrazelularra; granulomak |
| G6PD-ren eskasia | Makrofagoen suntsipen intrazelular gutxitua, infekzio kronikoa |
| Mieloperoxidasaren eskasia | Makrofagoen suntsipen intrazelular gutxitua, infekzio kronikoa |
| Chediak-Higashi sindromea | Infekzio intra- eta estrazelularra; granulomak |

3. irudia. Fagozitoen eskasiak

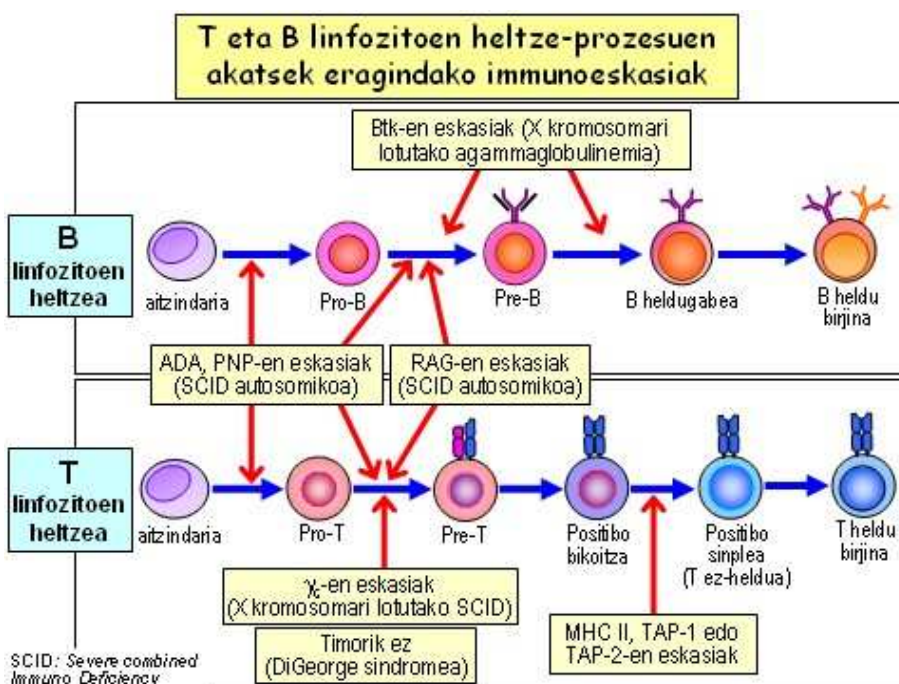
Beste kasu batzuetan afektatuta dagoen elementua immunitate-erantzun espezifikarena da, hau da, **T edo B linfozitoak** edo **antigorputzak**. Immunoeskasi “espezifikoa” horien artean hurrengoak bereizten ditugu: antigorputzen eskasiak, immunoeskasi konbinatuak eta ondo definitutako beste sindrome batzuk. Immunoeskasi espezifikoa ohikoenak, **antigorputz-immunoeskasiak** dira. Mota askotakoak izan daitezke eta maiz larritasun baxua dute eta tratamenduari nahiko ondo erantzuten diote. B linfozitoen heltze- edo aktibazio-prozesuetan sortzen dira, edo B-T linfozitoen arteko kooperazioan (adibidez X kromosomari lotutako hiperIgM sindromea). Antigorputz-erantzunak funtsezkoak dira hainbat infekziotan, adibidez, bakterio kapsuladunek eragindakoetan (*Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *taphylococcus. aureus*). Hori dela eta, B linfozitoen akatsak

daudenean, eskuarki bakterio kapsuladunek eragindako infekzioak gehitzen dira. Askotan, isotipo bereziak ekoizteko gaitasun eza nabaritzen da. Adibidez, 800 gizakietatik batek edukiko du **IgA-ren eskasia**. Izan ere, IgA-ren akats espezifikoa immunoeskasi normalena da. Immunoeskasi hori eskuarki mukosetako infekzioekin, eta batzuetan alergiekin eta gaixotasun autoimmuneekin erlazionatzen da. Beste kasu batzutan, T eta B zelulen arteko komunikazioa txarto ematen da, eta ez dira isotipo aldaketa aproposak gertatzen. Akats horien ondorioz, besteak beste **“Hiper-IgM sindromea”** ager daiteke eta IgM izango da detektatzen den isotipo nagusia. Beste adibide berezi bat urtebete baino gutxiago duten umeetan ematen da. Umean amaren IgG-ak 6-12 hilabete arte irauten du, umearen lehenengo IgG-ekin nahastu arte. Baina umearen IgG ekoizpena atzeratzen bada, **IgG-aren aldi bateko eskasia** ager daiteke, eskuarki denborarekin desagertzen dena (4.irudia).



4.irudia. IgGaren aldi bateko eskasia.

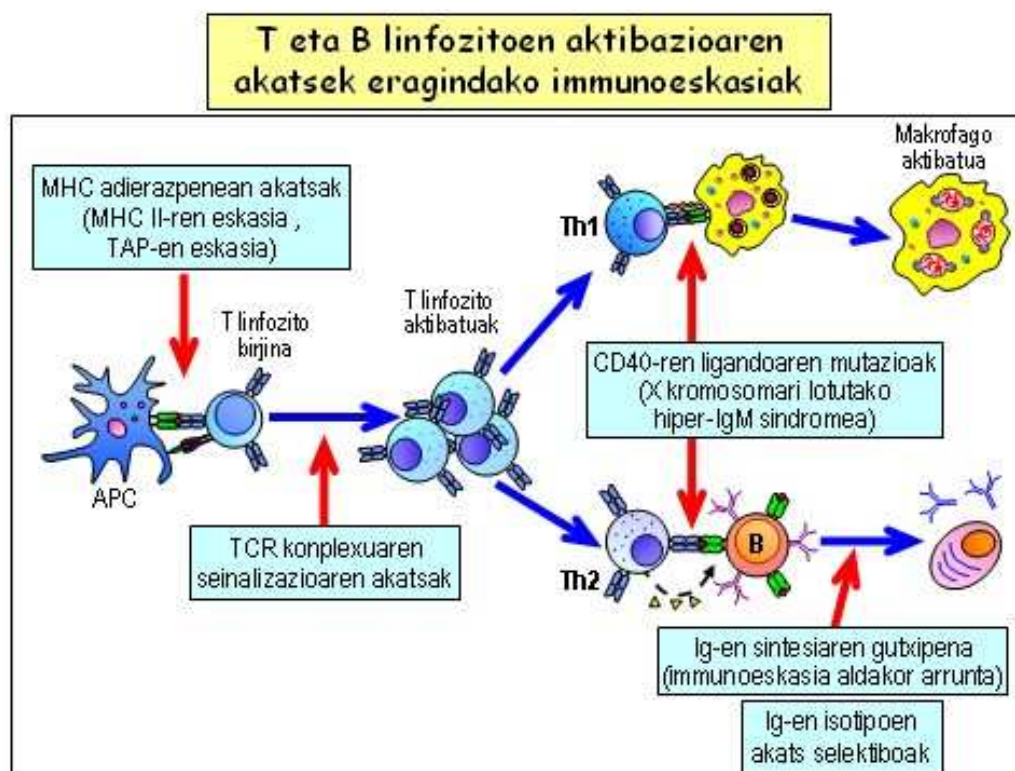
T linfozitoen immunoeskasiaren artean, MHC molekulen adierazpenaren akatsak, T linfozitoen hartzaileek transduzitutako seinaleen akatsak eta beste akats batzuk daude. MHC molekulak beharrezkoak dira T linfozitoen garapenean eta ezagutza aproposa baimentzeko. Beraz, **histobateragarritasun-molekulen akatsek** T linfozitoen garapenean eta ezagutza-prozesuetan erroreak eragin ditzakete (5.irudia).



5. irudia. T eta B linfozitoen heltze-prozesuen akatsek eragindako immunoeskasiak

T linfozitoak erdiko elementuak dira immunitate-erantzun askotan, bai beste populazioak aktibatzeke, bai sistemaren funtzionamendu aproposa baimendu eta erregulatzeke (6.irudia). Hori dela eta, T linfozitoekin erlazionatzen diren arazoak, beste

zelula batzuen ekintzen urritasunak eragiten dituzte, oso garrantzitsuak baitira immunitate-sistemaren erregulazioan. Izan ere, T linfzito erregulatzaileen immunoeskasiak gaixotasun autoimmuneekin eta neoplasiekin erlazioa daitezke. Beste aldetik, immunoeskasia B eta T motako linfzitoak inplikatzan baditu **“immunoeskasi konbinatua”** ere deritzo eta klinikoki larriak badira **“larria”** hitza gehitzen da gaixotasunaren izenari (**SCID: severe combined immune deficiency edo immunoeskasi konbinatu larria**). Horieta, jaiotze momentutik infekzio larriak agertzen dira, hazkuntza-gabezia eta hainbat arazo immunitate-sistemaren elementuetan.



6.irudia. T eta B linfzitoen aktibazioaren akatsek eragindako immunoeskasiak

Immunoeskasi konbinatu larrietan T eta B linfzitoen heltze-prozesuetan akatsak gertatzen dira: entzima berezien akatsak, zitokinek bidalitako seinaleen akatsak, VDJ birkonbinazio akatsak eta abar.

- **SCID** batzuetan, zenbait entzima kodetzen duten geneen akatsek eraginda, hainbat metabolito toxikoen pilaketa gerta daiteke zeluletan. Efektu hori bereziki garrantzitsua da linfzitoen aitzindarietan, eta ondorioz, horien garapena oztopatzen da. **ADA-ren akatsa** (adenosina deaminasa) edo **PNP-ren akatsa** (purina-nukleosido fosforilasa) dira honelako kasuen adibiderik garrantzitsuenak.
- **Disgenesia erretikularrean** hezur-muineko zelula aitzindariak ezin dira ondo desberdindu leinu mieloide eta linfoidetan eta horregatik linfopenia, neutropenia eta tronbozitopenia agertzen dira. Haurra jaio eta berehala hiltzen da.

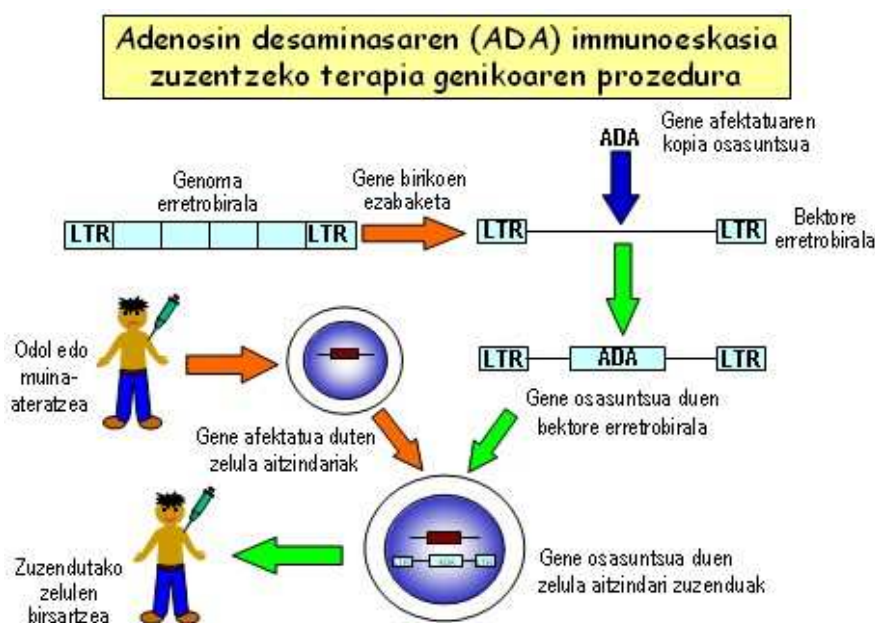
Beste kasu batzuetan, immunoeskasia bestelako akatsei loturikoa agertzen da. Adibidez **Wiskott-Aldrich** eta **Di George** sindromeetan. Sortzetiko immunoeskasi batzuk X kromosoman kodetutako geneekin erlazionatzen direnez gaixotasuna **“sexuari lotuta”** dagoela esaten da. Honako immunoeskasi primarioak batez ere gizonetan ematen dira, adibidez, “X kromosomari lotutako agammaglobulinemia” (**XLA**), zeinean B linfzitoak ezin dira desberdindu eta pre-B linfzito moduan geratzen dira, antigorputzak ekoiztu ezinik. Paziente bakoitzean agertzen den patogenoa, eskuarki immunoeskasia motarekin erlazionatzen da (1. taula).

1.taula. Zenbait akats immunitario, zerekin erlazionatzen diren eta loturiko infekzioak.

| Gaixotasuna | Akats espezifikoa | Akats immunitarioa | Minberatasuna |
|--------------------------------------|--|------------------------|---------------|
| Immunoeskasi konbinatu larria (SCID) | ADA | T eta B zelularik gabe | Orokorra |
| | PNP | T eta B zelularik gabe | Orokorra |
| | X kromosomari loturiko SCID (gc katearen akatsa) | T zelularik gabe | Orokorra |

| | | | |
|---|---|--|--|
| | SCID autosomikoa (DNA-ren konponketan akatsak) | T eta B zelularik gabe | Orokorra |
| DiGeorge sindromea | Aplasia timikoa | T eta B zelulen kopuru aldakorra | Orokorra |
| MHC Ien eskasia | TAPen mutazioak | T CD8 zelularik gabe | Biriki eta azalaren hantura kronikoa |
| MHC IIren eskasia | MHC II adierazpen eskasa | T CD4 zelularik gabe | Orokorra |
| Wiskott-Aldrich sindromea | X loturiko WASP gene akasduna | Anti-polisakarido Ab eskasak eta T linfozitoen aktibazio akasdunak | Zelula kanpoko bakterioak kapsuladunak |
| X kromosomari loturiko agammaglobulinemia | Btk entzimaren galera | B zelularik gabe | Zelula kanpoko bakterioak, birusak |
| X kromosomari loturiko hiper-IgM sindromea | CD40L akasduna | Isotipo-aldaketarik EZ | Zelula kanpoko bakterioak |
| IgA selektiboa | Ez-ezaguna; MHCarekin erlazionatua | IgA ekoizpenik EZ | Arnas-bideetako infekzioak |
| Fagozitoetan akatsak | Asko | Fagozitoen jardueraren galera | Zelula kanpoko bakterioak eta onddoak |
| Konplementuan akatsak | Asko | Konplementuaren elementuren baten jardueraren galera | Zelula kanpoko bakterioak batez ere <i>Neisseria</i> |

Tratamendu eraginkorra bilatzeko, lehenengo betebeharra **immunoeskasiaren arrazoia** ezagutzea da, eta, kasu askotan, hori lortzea oso zaila da. Eskuarki, ondorio klinikoak murrizteko neurriak jartzen dira, hau da, immunoeskasietan infekzioak prebenitzeko edo murrizteko neurriak. Gainera gaixo horiekin **kontuz** ibili behar da **txertatzerakoan**, kasu askotan ezin baitute immunitate-erantzun aproposa sortu txertoaren kontra eta ondorioz txertaketa arriskutsua bihur daiteke. Immunoeskasiak benetan konpontzeko, galdutako edo **kaltetutako osagaia ordezkatzeko litzateke egokiena**. Kasu batzuetan hori lortzeko ez dago arazo handirik eta posiblea da, adibidez immunoglobulinaren **immunizazio pasiboaren** bidez. Beste kasu batzuetan **entzimen transfusioak** erabil daitezke arazoa konpontzeko. Baina beste kasu batzuetan soluzioa zailagoa da eta **hezur-muineko edo ama-zeluleko transplante** aproposarekin edo **gene-terapiarekin** soilik konpondu daiteke. Etorkizunean, genoterapiaren bidez, akasduen elementua ordezkatzuz, tratamendua hobetzea espero da.



7.irudia. ADA immunoeskasia zuzentzeko gene-terapia.

Immunoeskasi sekundarioak edo hartutakoak bizitzan zehar sortzen dira. Immunoeskasi mota horiek induzi ditzaketen faktoreak, infekzio, desnutrizio, minbizi eta tratamendu immunosupresoreek (minbizi, transplante edo autoimmunitatean) eragindakoak izango dira (2.taula). Herrialde txiroetan, **desnutrizioa** izaten da immunoeskasi sekundarioa edukitzeko arrazoi nagusia, baina herri garatueta gaixotasun kutsakorrek, metabolikoak, tumoreak, eta zenbait tratamendu mediko izaten dira immunoeskasi mota horien eragile nagusiak. Zenbait birusek eragindako infekzioetan immunoeskasia sortzen da, adibidez elgorrian, baina gaur egun arrisku nagusia **GIB-aren infekzioa** da, gaixoaren heriotza eragin dezakelako.

2. taula. Immunoeskasi sekundarioak edo hartutakoak.

| Immunoeskasi sekundarioak edo hartutakoak | |
|---|--|
| Eragilea | Mekanismoa |
| GIB infekzioa | CD4 ⁺ linfozitoak murriztu |
| Desnutrizio proteiko-kalorikoa★ | Linfotoen heltze eta funtzioa inhibititu |
| Radioterapia eta kimioterapia antineoplasikoa | Hezur-muinean aitzindarien galera |
| Hezur-muinean minbizien metastasia | Leukozitoen garapenerako espazioa murriztu |
| Barerik ez | Mikroorganismoen fagozitosiaren murrizketa |

★ Mundu mailan (bereziki, herrialde txiroetan), immunoeskasiaren eragilerik garrantzitsuenak

GIB-ek eragindako infekzioari jarraitzen dion immunoeskasi sekundario larria **HIES-a** da. GIB, RNA birusa da eta odol edota semenaren bidez transmititzen da. Birusak CD4 molekula eta zenbait zitokinen familiako hartzailak baliatzen da xede-zeluletan sartzeko. Xede-zelula batez ere, **T CD4⁺ linfozitoak** dira, baina makrofagoak, zelula dendritikoak eta mikroglia ere afektatuak izango dira, CD4 molekula kontzentrazio baxuetan adierazten baitute. Zelula horiek infektatzean immunitate-sistemaren disfuntzio larria eragiten da. GIB-ek eragindako **sintomarik gabeko infekzioa** jasan ondoren, immunoeskasia agertzen da (HIESa). Kasu horietan, immunoeskasia batez ere **T CD4⁺ linfotoen kopuruaren beharpenagatik** gertatzen da, eta eskuarki **patogeno oportunistek eragindako infekzioei** lotzen da.

Birusa zelularen barruan dagoenean, birusaren genoma, alderantzizko transkriptasaren bidez DNA bilakatzen da. DNA biriko berri hori zelularen DNA txertatzen da. Birusaren gene-transkripzio eta ugalketa gertatzen denean birusak ekoizten dira eta zelula ostalaria hiltzen da. Infekzioaren fase akutuan **mukosetako oroimen T CD4⁺ linfozitoak hiltzen dira** eta birusak **ehun linfoideetatik sakabanatzen** dira. Fase latentean, linfa-ehunen birusen erreplikazio mugatua dago eta poliki-poliki T linfozitoak galtzen doaz. **T linfotoen aktibazio iraunkorrak haien heriotza bultzatzen du.** Honek, T CD4⁺ linfotoen galera azkarra eta immunoeskasia eragiten du **fase kronikoan**. T CD4⁺ linfotoen galera GIB-ak infektatutako pertsonetan, birusek eragindako efektu zitopatikozuzenaren, birusaren produktuen efektu toxikorekin (adibidez askatutako gp120 proteina) eta zeharkako kaltearen ondorioz gertatzen da (Tc-ek eragindako zelula infektatuen heriotza). Pertsona infektatuetan GIB-en zenbait gordeleku daude: bizi laburreko T CD4⁺ aktibatuak, bizi luzeko makrofagoak eta bizi luzeko oroimen-T linfoto infektatuak. T CD4⁺ linfotoen galerak, mikroorganismo oportunistek eragindako infekzioak jasotzeko aukera gehitzen du. Gainera minbiziak ere gehitzen dira (bereziki **Kaposiren sarkoma** eta VEB birusei loturiko B linfotoen **linfoma**) eta maiz beste arazo mota batzuk ere gehitzen dira. GIB birusak mutazio-tasa oso altua azaltzen du. Honek, birusari immunitate-erantzunetatik ihes egiteko eta tratamendu farmakologikoei erresistentea bihurtzea baimentzen diote. Aldakortasun genetikoak ere txertoa lortzeko orduan arazo-iturri da. Tratamendu antibirikoak, entzima birikoen inhibitzaileen konbinazioan oinarritzen da batez ere.

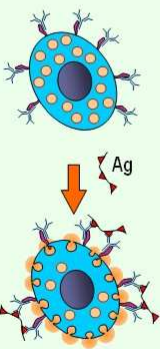
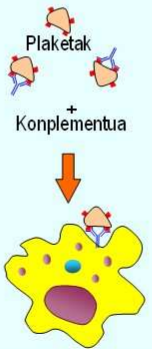
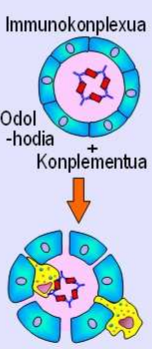
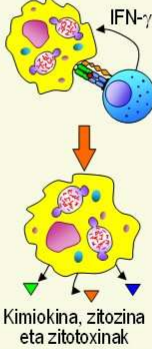
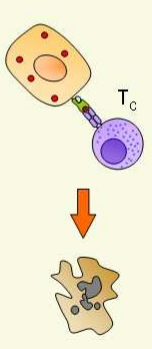
HIPERSENTIKORTASUN-ERREAKZIOAK.

Immunitate-erantzun espezifiko gehiegizko edo ez-egokiek indusitutako gaixotasunak dira. Eskuarki immunitate-sistemaren **erregulazio aproposaren faltan** oinarrituta daude. Hipersentikortasun-erreakzioak immunitate babesgarriarekin batera agertzen dira. Izan ere, hipersentikortasunen mekanismo efektoreak, patogenoen kontrako immunitate-erantzunak bezalakoak dira, baina erantzuna sortzen da **antigeno ez-kaltegarriaren kontra** edota **momentu edo neurri ez egokian**. Organismoaren hipersentikortasun-erantzun zehatzak garatzeko gaitasuna eta joera, antigenoaren eta ostalariaren araberakoak dira. **Antigenoarekin kontaktuan egon ondoren** garatuko dira soilik, eta **sentsibilizatutako indibiduoetan** hipersentikortasunak gero eta gogorragoak izan daitezke. Coombs eta Gell ikerlariek 1963an etiopatologian inplikaturako immunitate-mekanismoaren arabera (antigenoaren natura, sarrera-bidea eta azken finean, inplikaturako molekula/zelula eta aktibatzen diren mekanismo efektoreen arabera) hipersentikortasun-erreakzioak 4 motatan sailkatu zituzten (*V motakoa ere definitu da: hipersentikortasun estimulatzailea, antigorputz anti-hartzaileek bideraturikoa*). Hipersentikortasunen ezaugarri nagusiak 3. taulan ikus daitezke.

3. taula. Hipersentikortasun motak, horien kalte-mekanismoak eta loturiko gaixotasunak.

| Hipersentikortasun mota | Mekanismo immunitario patologikoak | Ehunen kalte eta gaixotasunen mekanismoak |
|---|--|---|
| Berehalako hipersentikortasuna (I motakoa) | IgE (T _H 2) | Mastozitoak eta haien bitartekariak (amina basoaktiboak, bitartekari lipidikoak, zitokinak) |
| Antigorputzek bideraturikoa (II motakoa) | IgM, IgG Zelula kanpoko matrizen edo zelulen azaleko antigenoen kontrako antigorputzak | <ul style="list-style-type: none"> Zelulen opsonizazioa eta fagozitosia C' eta FcRak bideraturiko zelulen (neutrofilo, makrofago, mastozito) bilketa / aktibazioa Zelulen ekintzen aldaketak (adibidez hartzaile hormonalen seinaleen transmisioa) |
| Immunokonplexuek bideraturikoa (III motakoa) | Immunokonplexu ibiltariak (Ag-IgM/IgG) | C' eta FcR-ak bideraturiko zelulen bilketa / aktibazioa |
| T linfzitoek bideraturikoa (IV motakoa) | 1. T CD4 ⁺ linfzitoak (T _H 1): atzeratutako hipersentikortasuna 2. T CD8 ⁺ linfzito zitotoxikoak: T Lek bideraturiko zitolisia | <ul style="list-style-type: none"> Makrofagoen aktibazioa, zitokinek bideraturiko hantura Xede-zelulen heriotza zuzena, zitokinek bideraturiko hantura |

Lehenengo 3 motetan erreakzioak **antigorputzek bideraturikoak** izango dira eta **laugarrenean** batez ere **T zelulek bideraturikoa** (8. irudia). Dena den, klinikan, hipersentikortasunek eragindako gaixotasunetan mekanismo bat baino gehiago nahastea normala da.

| I motakoa | II motakoa | III motakoa | IV motakoa | |
|---|---|---|---|---|
| IgE | IgG | IgG | T _H 1 | T _C |
| Ag solugarria | Ag zelularra /matrizei asoziatua | Ag solugarria | Ag solugarria /zelularra | Ag zelulei asoziatua |
| Mastozitoen aktibazioa | C', FcR ⁺ zelulak (NK, fagozitoak) | C', FcR ⁺ zelulak (NK, fagozitoak) | Makrofagoen aktibazioa | Zitotoxizitatea |
|  |  |  |  |  |
| Errinitis eta asma alergikoa, jakiekiko alergiak, anafilaxi sistemikoa | Fetoaren eritroblastosia | Sueroaren gaixotasuna, Arthus erreakzioa | Kontaktu bidezko dermatitis, tuberkulinaren erreakzioa | Kontaktu bidezko dermatitis |

8.irudia: Hipersentikortasunen mekanismoak

Kasu gehienetan hipersentikortasunak alergiekin erlazionatzen dira, baina **“alergiak” hipersentikortasun-erreakzioak badira ere, hipersentikortasun guztiak ez dira alergia izaten.**

- Zenbait indibiduotan, kaltegarriak ez diren substantzia arrotz geldoen kontrako gehiegizko immunitate-erantzun espezifikoak ematen dira, eta horiekin batera patologia klinikoak. Hipersentikortasun-erreakzioak dira, eta “erreakzio alergikoak” deritze. Kasu horietan antigenoa **“alergenoa”** da, hots, hipersentikortasun-erreakzioak sortarazten dituen antigeno arrotz inerte eta ez-kaltegarria.
- Beste hipersentikortasun batzuetan ezagutzen diren antigenoak, **antigeno propioak** dira eta **autoimmunitatea** sortzen da. Horiek II, III edo IV motakoak izan daitezke.
- **Aloantigenoak** ezagutzen direnean, transplanteetan adibidez, **errefusak** sortzen dira. Horiek II edo IV motako hipersentikortasunak dira.
- Eta azkenik, zenbait antigeno kaltegarrien kontrako erantzunetan, hau da, zenbait **infekzioetan**, **antigenoa ezin da guztiz edo ondo deuseztatu** eta gehiegizko erreakzio kaltegarriak sortzen dira, hau da hipersentikortasunak.

I motako hipersentikortasuna, berehalako hipersentikortasuna, edo alergia atopikoa (“atopia”: lekuz kanpoko erreakzioa) deitzen da. **I motako hipersentikortasuna, IgE-k bideraturiko antigeno disolbagarri arrotz eta ez-kaltegarriaren kontrako erantzun ez-aproposa da.** Alergeno disolbagarri baten aurrean sentsibilizatutako indibiduotan alergenok bera berriz agertzen denean berehalako hantura-erreakzioa (segundu/minutuetan) garatzen da, entsibilizazio fasean eratutako IgE alergenoespezifikoak mastozito/basofiloen FcεR1 lotuta geratzen direlako, eta alergenok elkartzean, hantura-bitartekariak askatzen dituzte berehala. Beraz, alergenorekin **lehenengo topaketa “sentsibilizazio-fasea”** da eta EZ ditu manifestazio klinikoak eragiten (alergenoak ez du ugaltzeko ahalmenik eta azkar degradatzen da, beraz, ezin du erreakziorik sortu), baina **immunitate-erantzun espezifikoa eta oroimen immunologikoa** sortuko ditu. Alergeno berdinarekin **bigarren edo ondorengo topaketetan** berehala (minutuetan) agertuko da **immunitate-erantzun alergikoa, sintoma klinikoekin**. Sintoma klinikoak, mastozito eta basofiloen bitartekarien askapenagatik gertatzen dira (batez ere histamina eta leukotrienoak). Hurrengo esposizioetan **erreakzio alergikoak gero eta gogorragoak** izan daitezke (gero eta T/B linfozito errektibo gehiago daudelako). **Alergenoaren natura, dosia eta sarrera-bidearen arabera, ondorio kliniko desberdinak** eragiten dira: oso ahulak izatek oso larriak izatera pasa daitezke edota lokalak izatek sistemikoak izatera (4.taula).

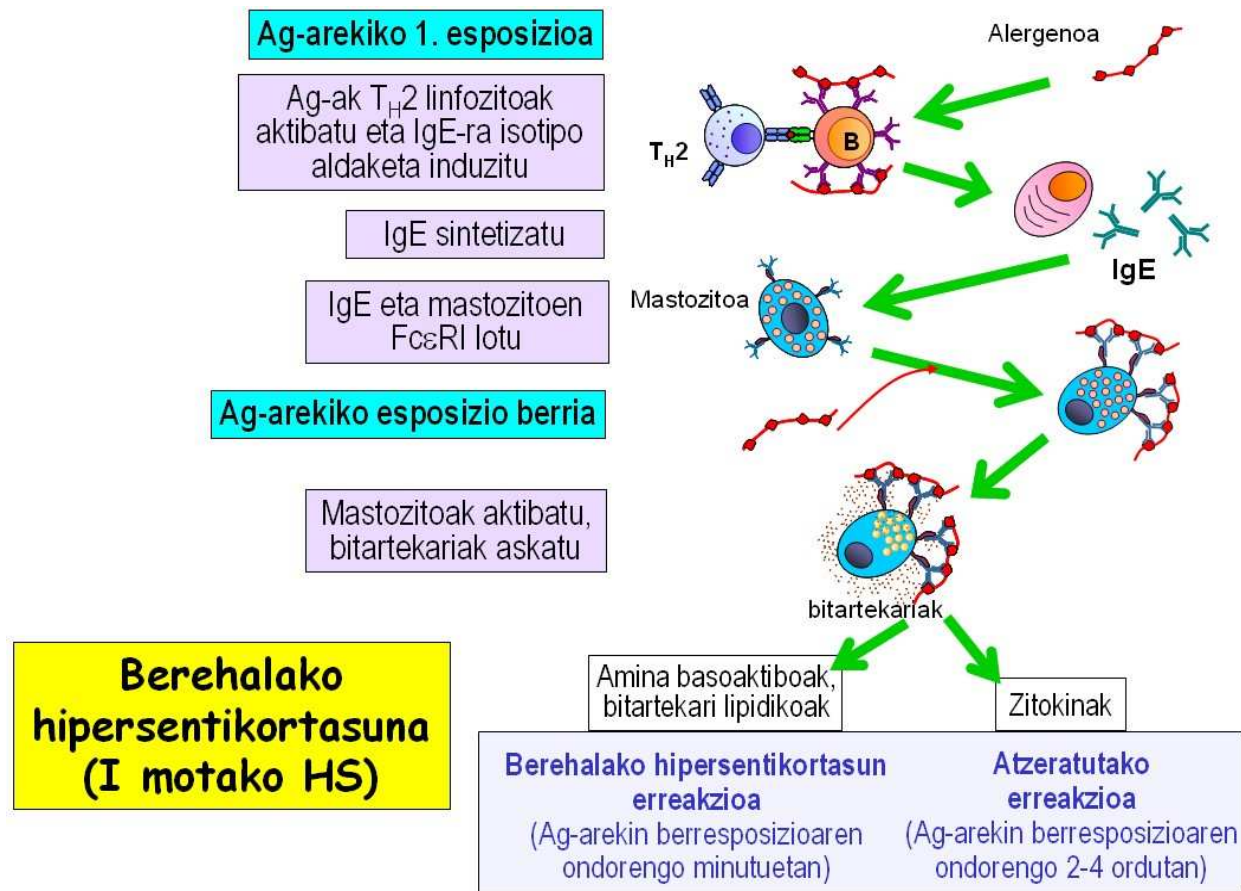
Alergenoaren sarrera-bide arruntena arnas-bidea da. Goiko arnas-bideetatik eta dosi baxuetan sartzen bada ondorio klinikoak eskuarki ez dira oso larriak izaten (doministikuak, mukua, azkura). Adibide arrunta udaberriko errinitisa alergikoa da (“fiebre del heno” deiturikoa edo polenarekiko alergia arrunta). Alergenoa beheko arnas-bideetara hantzen bada asma alergikoa ager daiteke eta sintoma larriagoak eragin (muskulu lisoaren kontrakzioa, mukuaren gehiegizko jariaketa eta azkenean, arnasteko arazoak). Alergenoa digestio-bidetik sartzen bada (jakiak), heste-mukosako mastozitoen degranulazioa eragiten da (oka eta beherantzakoa eragin daiteke). Alergenoak hesteetan absorbatu eta odolera pasatzen badira, ehun konektibo submukosoan dauden mastozitoak degranulatzen dira eta urtikaria sortzen da (dermatitis atopikoa honekiko desberdina da). Alergenoa bena-barnetik sartzen bada, adibidez penizilina bezalako botika, “penizilinarekiko alergia” sor daiteke eta zenbait kasutan oso larria izan. Odol-hodiei loturiko ehun-konektiboko mastozitoen degranulazioa eragiten bada anafilaxia eragin daiteke eta ondorioz heriotza (basodilatazio sistemikoa, odol-hodi guztien presioaren galera eta arnas-bideen konstriktzioa)

4.taula. I motako hipersentikortasunak eragindako agrpen klinikoak, alergenok mota eta sarrera bidearen arabera.

| IgE-ak bideraturiko erantzunak | | | |
|--|--|----------------|---|
| Gaixotasuna | Alergeno-mota | Sarrera-bidea | Erantzuna |
| Hantura lokala | Intsektuen ziztadak, alergiaren proba kutaneoak | Subkutaneoak | Basodilatazio lokala, edema lokala |
| Errinitis alergikoa Bronkioetako asma | Polena, hautsa, intsektu edo beste animalia batzuen hondakinak | Arnas-bidea | Bronkio edo sudur-mukosaren edema eta narritadura |
| Jakiekiko alergia | Esne, arrautzak, arrainak, eta abar | Digestio-bidea | Oka, beherakoa, pruritoa, urtikaria |
| Anafilaxia sistemikoa | Botikak (penizilina) Erle/liztorren pozoia Kontraste erradiologikoak | Bena-barnekoa | Edema, basodilatazioa, trakearen oklusioa, zirkulazioaren kolapsoa, heriotza |

Sentsibilizazio-fasea. Demagun alergenok mukosetatik sartzen dela lehenengo aldiz. APC batek alergenok hartu eta prozesatu ondoren, alergenoren peptidoak aurkeztuko ditu MHC II molekulatan. T linfozito batek ezagutuko du alergenoren aurkeztutako peptidoren bat eta T_H2 bihurtuko da. Beste alde batetik, B linfozito batek alergenok zuzenean ezagutu, barneratu, prozesatu eta alergenoren peptidoak aurkeztuko ditu. B linfozito-alergenok espezifikoa eta T_H2-alergenok espezifikoa elkartuko dira baraien

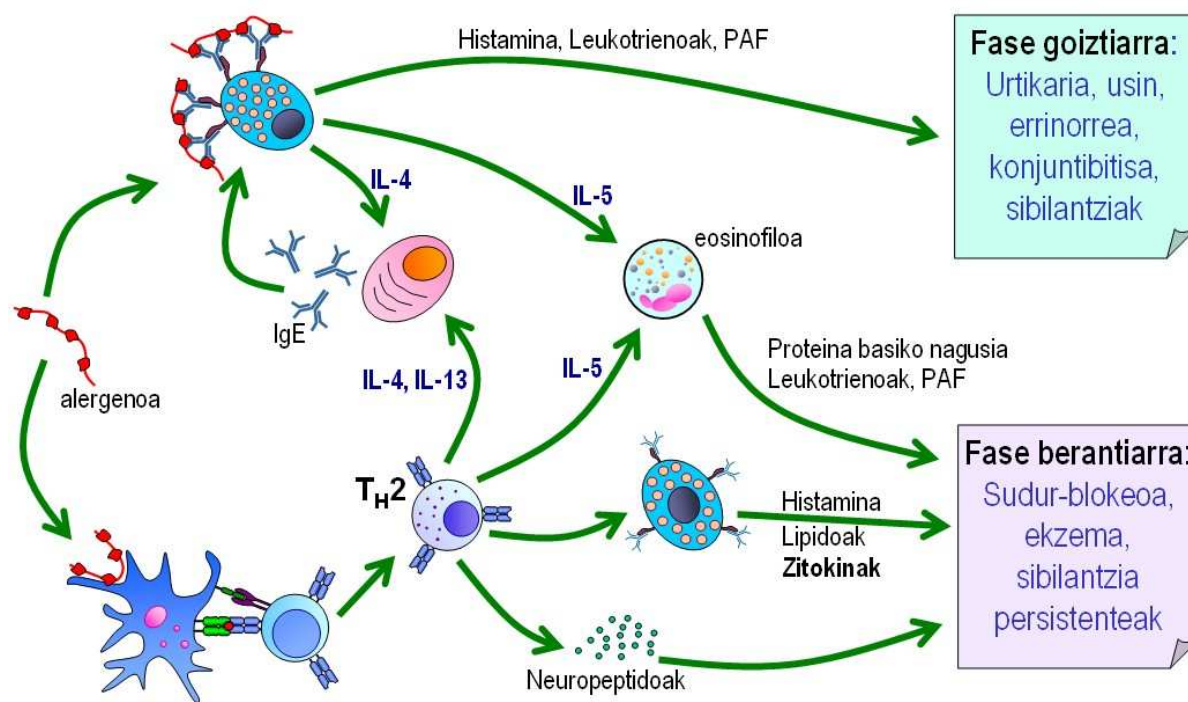
hartzaileen bidez (MHC II/CD4, CD40/CD40L, IL-4/IL-4R eta IL-13/IL-13R). Elkarrekintza molekular guzti horien ondorioz, B linfzitoaren aktibazio osoa lortzen da, eta IgE ekoizteko isotipo-aldaketa gertatzen da. B linfzitoa guztiz desberdindu eta IgE ekoiztu eta jariatuko du. Sortutako IgE immunoglobulinak mastozitoetan dauden afinitate altuko FcεRekin lotuko dira. Bitartean, alergenoa desagertuko da eta ez da erreakziorik nabarituriko, baina sentsibilizazio fasearen amaieran mastozitoak IgE-antialergenorekin inguratuta gelditzen dira.



9.irudia. I motako hipersentikortasunaren mekanismoa.

Erantzun alergikoa. Antigenoarekin ematen den hurrengo kontaktuan **erreakzio alergikoa** gertatuko da. Erantzun alergikoetan bi fase mota ager daitezke: **goiztiar edo berehalakoa eta berantiarra** (alergenoren kontzentrazioaren arabera). Fase goiztiarraren elementu nagusia mastozitoa da. Mastozitoetan dauden FcεR-ari lotutako IgE immunoglobulinak eta alergenoa espezifikoa lotzen direnean, mastozitoak aktibatuta eta zitoplasmako pikorretan dauden amina basoaktiboak eta beste konposatu batzuk askatzen dira (histamina, prostaglandinak, leukotrienoak eta abar). Substantzia horiek hantura eragiten dute eta honekin batera alergiaren berehalako sintomak. Askatzen diren substantzia batzuk kemokinak dira, eta beste batzuek, basokonstrikzioa eta odol-hodien iragazkortasunaren eta odol-fluxuaren gehitzea eragiten dute. Alergenoaren kontzentrazioaren arabera erreakzio berantiarra ager daitezke (6-9 h beranduago). Batez ere kemokinek zuzentzen dituzte erreakzio horiek. Horietan, besteak beste T linfzitoak, monozitoak eta eosinofiloak erakartzen dira, eta bereziki, eosinofilo eta T_H2 linfzitoen pilaketak detektatuko dira. Pilaketa horiek 48 ordu igaro ondoren hantura eragiten dute.

Berehalako hipersentikortasunaren fase goiztiarra eta berantiarra

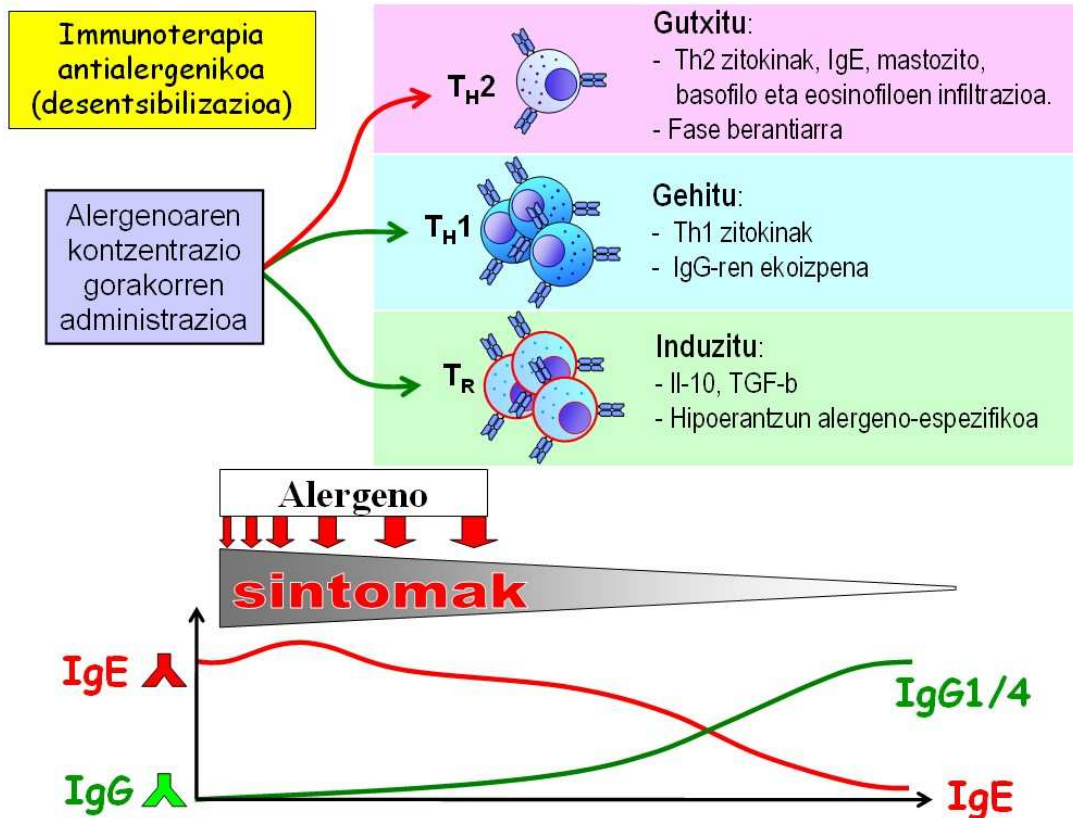


10.irudia. Berehalako hipersentikortasunaren fase goiztiarra eta berantiarra.

IgE immnoglobulinekin bideraturiko erantzun normalak helmintoen kontrakoak izaten dira, eta baliteke alergenoei, patroia molekularrak helmintoenak bezalakoak adieraztea. Indibiduo **atopikoek**, alergenoei bideraturiko IgE immnoglobulinekin bideraturiko immunitate-erantzun gogorak sortzeko **joera genetiko** dute. Alergia atopikoa garatzeko arrisku-faktore ugari proposatu dira, nahiz eta denak garrantzi berdinekoak ez izan. Badirudi ingurumeneko zenbait faktorek garrantzia eduki dezaketela (kutsadura, tabakoa, agente infekziosoekiko esposizioa,...). Gizabanakoaren hainbat faktore ere garrantzitsuak izan daitezke (sexua, adina,...). Dena den, beste faktore batzuk atopiekin zuzenean erlazionatuta daude: batez ere alergenoei bideraturiko esposizioa eta faktore genetikoak (zenbait alelo, bereziki HLA-DR motakoak, eta IgE sintesia eta mastozito/basofiloen aktibazioan inplikaturiko geneak). Indibiduo atopikoek gaixotasun alergikoak (bat edo gehiago) garatzen dituzte eta gainerako pertsonen baino **IgE eta eosinofilo gehiago daukate** odolean. Indibiduo atopiko horiek, helmintoen eraginaren azkarrago eta hobeto erantzun diezaiakete eta abantaila ebolutiboa kontsidera daiteke populazio horietan (ez dago guztiz argi teoria hori, beste faktore batzuk inplikaturiko egon daitezkeelako). Herri garatuak alergien intzidentzia altuagoa da eta zenbait kasutan populazioaren herenak alergiaren bat eduki dezake bizitzan zehar.

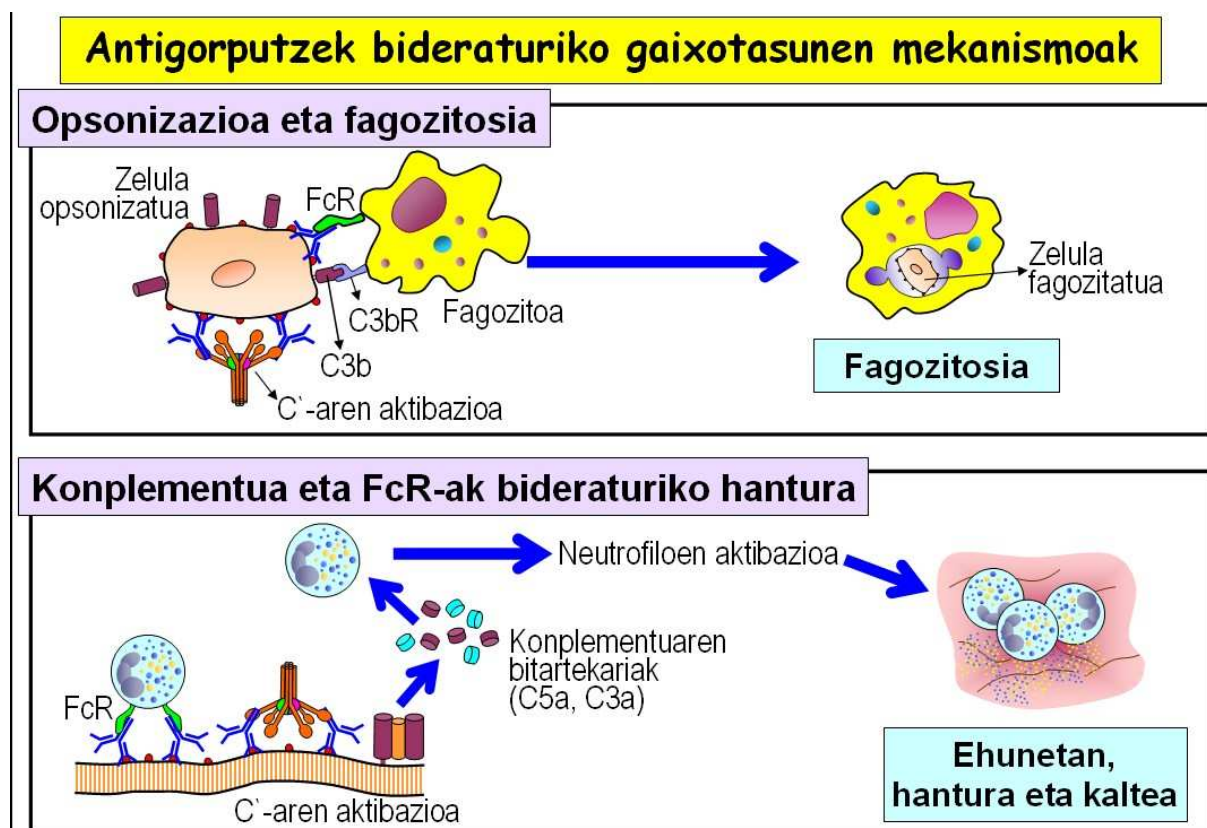
Berehalako hipersentikortasunaren ondorioak **prebenitzeko** egin behar den lehenengo gauza antigenoarekin (**alergenoei**) **topaketak ekiditea da**. **Tratamendurako** zenbait aukera daude:

- Tratamendu farmakologikoa **hantura** eragiten duten bitartekari desberdinen blokeoa lortzeko. Erreakzio akutua edo goiztiarra tratatzeko (alergiaren hasierako faseetan) **antihistaminikoak** eta muskulu erlaxatzaileak erabiltzen dira. Erreakzio alergiko kronikoetan, aldiz, fase berantiarreko erreakzioak inhibitzea da helburua, eta horretarako **kortikosteroideak** erabiltzen dira.
- Indibiduo atopikoen **“desentsibilizazioa”**, alergenoei kontrako erantzunak ez-kaltegarri bilakatzea da helburua: alergenoei kopuru gero eta handiagoak eta epe luzeagoz ematen zaizkio pazienteari, eta ziztaden arteko aldea gero eta luzeagoa izaten da. Tratamenduaren ondorioz **IgE erantzunak IgG erantzun ez-kaltegarri bihurtu** daitezke. Hori egitean T_H2 populazioak gutxitu eta T_H1 eta T_R populazioak gehitzen dira, alergenoei kontrako immunitate-erantzuna kontrolpean jarritz (11.irudia).
- Beste tratamendu batzuk: zenbait elementu bereziekin erreakzio alergikoen fase desberdinak kontrolatu, **anti-IgE** terapia, T edo B linfotzito eta mastozitoen aktibazioaren urrats desberdinak inhibitu/blokeatu, eta abar. **Kemokinak** oso garrantzitsuak direnez eosinofilo eta basofiloak erakartzeko eta haien degranulazioa eragiteko, xede-terapeutiko bihurtzen hasi dira.



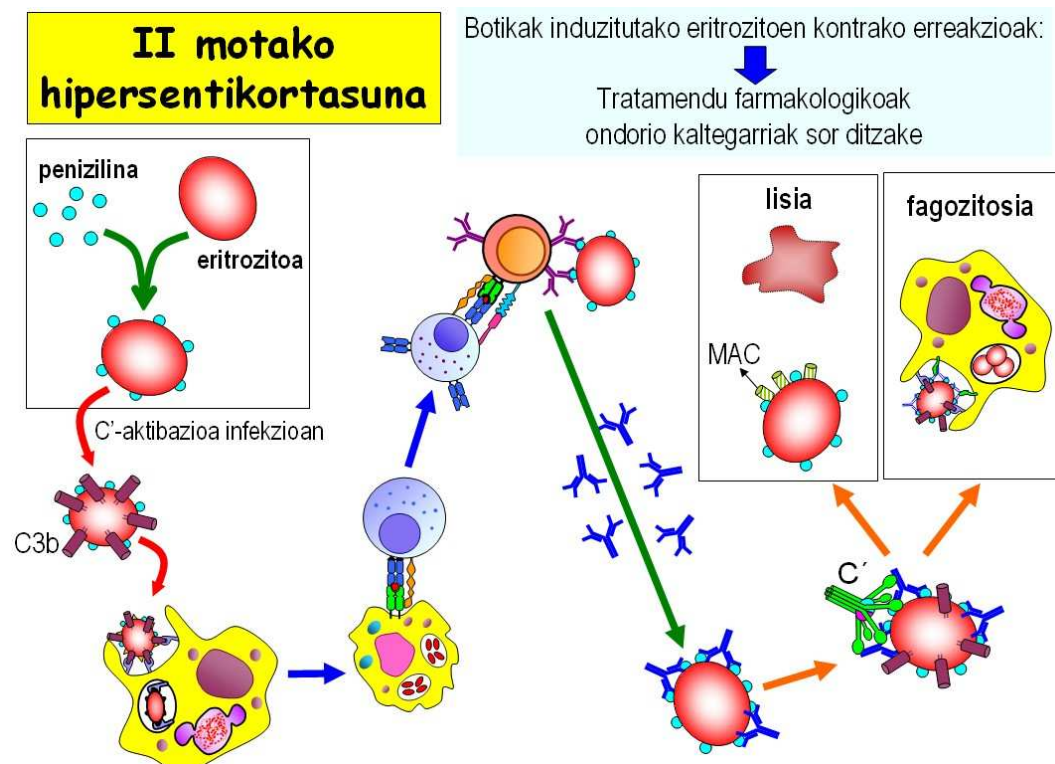
11.irudia. Desentsibilizazio antialergenikoa.

II motako hipersentikortasunak zelulen mintzean edota matrize estrazelularrean kokatzen diren antigenoak (arrotzak edo propioak) ezagutzen dituzten **IgG (edo IgM) antigorputzek bideraturiko erreakzioak** dira. Mekanismo efektore nagusiak **konplementua eta FcγR duten zelulak** dira (12.irudia). Hala ere, patologia bakoitzean elementu desberdinak izan daitezke garrantzitsuenak. Antigenoa ezagutu den lekuan, eta zenbait mekanismo efektore aktibatu ondoren, zelula edo ehunetako gaixotasun edo kalte espezifikoak sortzen dira: konplementuaren bidez zuzenean edo CR edota FcR hartzaileak dituzten zelulen bidez (fagozitoak, NK, plaketak), **ezagututako zelulak suntsituak** izan daitezke. Zelula efektoreak aktibatzean substantzia ugari aska daitezke (proteasak, histamina eta beste bitartekari asko). Gainera ADCC prozesuak aktibatzen dira NK linfzitoetan eta fagozitoetan, eta konplementua aktibatzean zenbait opsonina agertuko dira, zeinek NK eta fagozitoetan dauden hartzaileak lotzen dituztenean xede-zelulen suntsipena eragingo dute.



12.irudia. Antigorputzen bideraturiko gaixotasunen mekanismoak.

Eskuarki, **II motako hypersentikortasunaren sintomak**, antigenoa ezagutu eta **ordu batzuk beranduago** agertzen dira. Adibide tipikoenak antigorputzek eragindako erreakzio hemolitikoak dira (zitopeniak): **transfusioen aurreko erreakzioak** (odol-taldeen kontrako erreakzioek eragindako anemia hemolitikoa edo “transfusioen osteko erreakzioa”), **jaio berriaren anemia hemolitikoa** edo fetoaren eritroblastosia (amaren **Rh-a inkompatibler** delako), antigorputzek bideraturiko injertoen errefusa hiperakutua, odoleko elementuen kontrako gaixotasun autoimmunek, eta botikei asoziatutako **anemia hemolitikoa** (botikek eragindako eritrozito edota plaketen suntsiketa). Zenbait botikekiko erreakzioa edo alergietan, botika bera bakarrik EZ da immunogenoa, haptenoa baizik. Botika zenbait zelulei lotzen denean, neoantigeno immunogenoak sortzen dira eta aldi berean hypersentikortasun erreakzioak. Botikaren naturaren arabera zelula mota desberdinetara lotuko da eta efektu desberdinak agertuko dira. Eritrozitoek konplementuarentzako proteina erregulatzailer gutxi daukatenez oso sentikorrak dira erreakzio mota horientzako. Adibidez penizilina, kinina eta sulfamidak txertatu ondoren, eritrozitoetara lot daitezke eta anemia hemolitikoa sortu. Lasaigarri batzuk plaketetara lotzen dira eta purpura tronbopenikoa sortzen da.



13.irudia. Botikek indusitutako hypersentikortasun-erreakzioak.

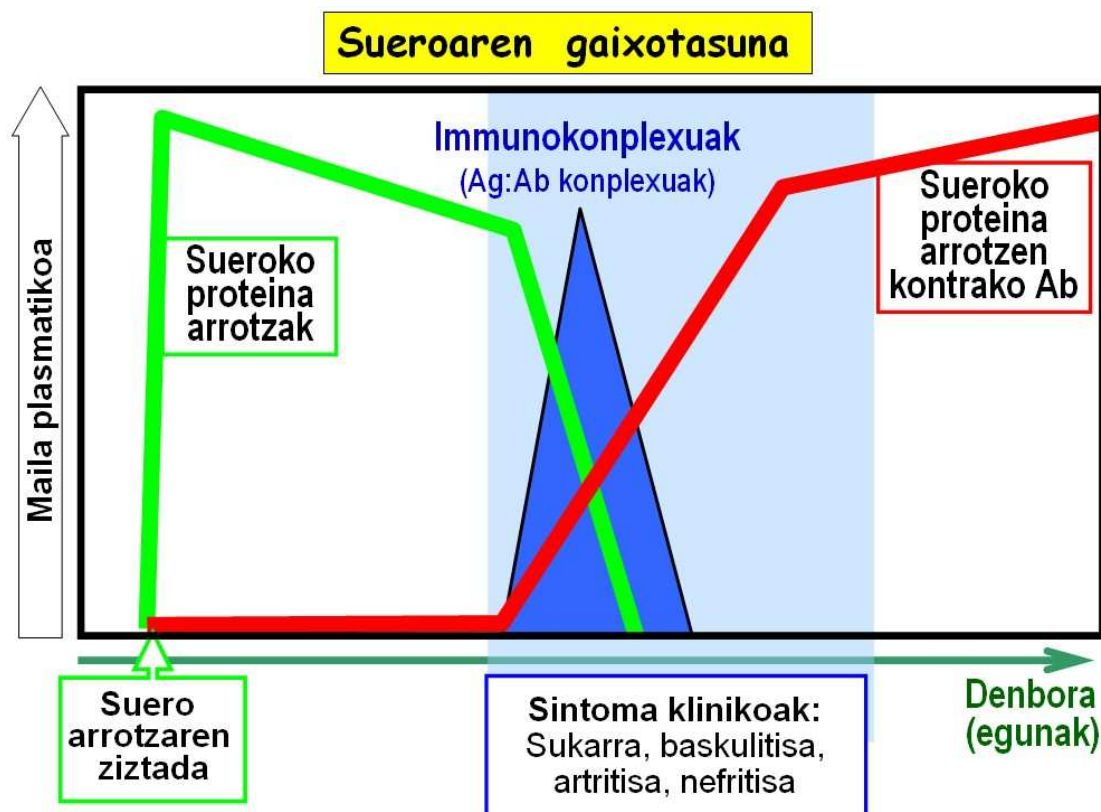
Odol-talde desberdinen arteko erreakzio garrantzitsuenak Rh taldeak edota ABO sistemak sortzen dituzte. Zenbait zelulatan, batez ere eritrozitoetan, odol-taldea definitzen duen antigenoak adierazten dira. Antigeno horiek kodetzen dituzten 3 alelo daude, A, B eta O. Alelo horiek era kodominantean adierazten dira (“A”, “B”, “O” edo “AB” taldeak emango dituzte). Indibiduo bakoitzean adierazten diren antigenoen arabera, indibiduoa agertzen ez diren ABO sistemaren antigenoen kontrako IgM isotipoko antigorputz naturalak agertzen dira. Beraz, beste odol-talde bateko eritrozitoak sartzen badira gorputzean, eritrozitoak IgM antigorputz natural horiekin inguratu, konplementua aktibatu eritrozitoen azalean, eta lisis eragiten da. Antigorputz naturalak, hesteetako bakterio gram negatiboen kontrako antigorputzak direla pentsatzen da, eta erreakzio gurutzuak leudeke eritrozitoen antigenoekin. Rh taldearen D antigenoa, dentsitate baxuko epitopoa, eritrozitoetan agertzen da gizakien ~%85-ean (populazio Rh+). Transfusio edo erditze baten ostean, anti-Rh IgG antigorputzak sor daitezke eta ondorengo transplante edo haurdunaldi batean arazoak sortu. Rh faktorearekin aurrez immunizatutako ama Rh- batean, fetoaren eritroblastosia gertatzen da. Ama Rh- batean, anti-Rh IgG antigorputzak ager daitezke erditzean, bere umea Rh+ denean (umearen globulu gorriak Rh antigenoarekin pasatzen direlako amara). Lehenengo haurrari ez zaio ezer gertatzen. Hurrengo haurdunaldi batetan, amaren anti-Rh IgG-ak Rh+ den bigarren fetora pasa daitezke eta bere eritrozitoekin erreakzionatu eta suntsitu. Arazoak, ez bada laster tratatzen, fetoaren heriotza eragin daiteke. Hori prebenitzeko amari, erditze ostean, anti-Rh D⁺-IgG-ak ziztatzen zaizkio amari. Horiek, fetoaren eritrozitoak inguratu eta D antigenoa ezkatututa gelditzen da. Amak orduan ez du anti-Rh erantzuna garatuko eta hurrengo haurdunaldietan ez du arazorik edukiko.

III motako hypersentikortasunak, ehunetan pilatzen diren immunokonplexuek eragindako gaixotasunak dira. Kasu horietan **antigenoa disolbagarria** da eta immunokonplexuak osatzen dituzten immunoglobulina garrantzitsuenak **IgG** dira. Immunokonplexuak immunitate-erantzun guztietan sortzen dira, baina eskuarki barean eta giblean suntsitzen dira, arazorik sortu gabe. **Immunokonplexu gehiegi** ekoizten badira, edota ezin badira ondo suntsitu, orduan kokapen berezietan pilatu daitezke eta zenbait mekanismoen aktibazioaren ondorioz, kaltea eragiten dute. Oso tamainu txikiko immunokonplexuak gernuan ezabatzen dira eta tamainu handiko immunokonplexuak, konplementua fixatu eta gero, eritrozitoek harrapatu eta gibel/barera eramaten dituzte, fagozitoek bertan barneratu eta suntsitzeko. Beste immunokonplexu batzuk, txikiak dira fagozitoek harrapatzeko eta eliminatzeko zailagoak dira; horregatik, horiek ehunetan pilatu eta konplementu eta leukozitoen aktibazioa eragiten dute. Fagozitoek ezin dituzte immunokonplexu horien pilaketak fagozitzatu, eta degranulatzean, hantura eta zenbait kalte eragiten dituzte. Immunokonplexuak odolean zirkulatzen dutenez, organismoaren leku desberdinetan pilatu daitezke: **artikulazioetan** (giltzaduretan), **odol-hodietan**, **giltzurrunetan**, **azalean**, eta abar. Eskuarki immunokonplexu arriskutsuenak IgG-ek osatutakoak dira, baina IgM antigorputzez osaturikoek ere efektu txarrak eduki ditzakete.

Immunokonplexuek sortutako **gaixotasunen adibideak** hurrengoak dira:

- Batzuetan immunokonplexuak infekzio kronikoei asoziatzen dira, antigenoa mantendu eta ezin delako eliminatu, adibidez zenbait infekzioen ostean (estreptokokoak, hepatitis, ...).
- Zenbait proteinen etengabeko inhalazioz “**albeolitis alergikoa**” garatu daiteke: antigenoa dosi altuetan (onddo, landare edo animalietatik eratorritakoak) eta era errepikakorrean inhalatu eta gero IgG erantzunak eragiten dira. Sortzen diren immunokonplexuak albeoloetan pilatzen dira eta “baserriarraren birika” edo “hegaztien zaintzailearen gaixotasuna” bezalako gaixotasunak eragiten dira.
- Autoantigenoen kontrako antigorputzak sortzen direnean ere gaixotasun autoimmuneak garatzen dira: adibidez LES (**Lupus Eritematoso Sistemikoa**) edo **arthritis erreumatoidea** bezalakoak.
- Azalean ziztatutako antigenoak (adibidez zenbait botika) immunokonplexu subkutaneoak sortzen dituzte. Honen ondorioz, konplementua eta mastozitoak aktibatzen dira eta C5a, C3a, eta beste bitartekari batzuk askatzean, hantura lokala eragiten da. Ondoren, zelula eta molekulak erakartzen dira, eta immunokonplexuak ezin direnez guztiz deuseztatu ehunetatik, fagozitoek entzima lisosomikoak jariatzen eta ehunetako kalte eragiten dute (adibidez **Arthus erreakzioan**).
- Antigenoa dosi altuetan benabarnetik sartzen bada, organismoak deuseztatu ditzakeenak baino immunokonplexu gehiago agertu eta ehunetan pilatzen dira. Immunokonplexuak metatzen direneko lekuen arabera kalte desberdinak eragingo dira: **odol-hodietan, baskulitisa; giltzurrunean, nefritisa; artikulazioetan, artritisa**. Prozesu iragankorrak izan daitezke, immunokonplexuak desagertzean kaltea desagertuz.

“**Sueroaren gaixotasuna**” horietariko adibidea da: Antibiotikoen aurreko garaian, immunizatutako zaldien sueroak erabiltzen ziren difteria/eskarlatina edo beste gaixotasun batzuk tratatzeko. Zenbait pazienteez, zaldien proteinen kontrako humore-erantzun espezifikoak garatzen zuten. Antzeko suero batekin tratatzen baziren 7-10 egun beranduago, sueroaren proteinak eta aurrez sortutako IgG-ak immunokonplexuak sortu eta pilatzen ziren. Honen ondorioz, sueroaren gaixotasuna garatzen zen (konplementua eta FcγR zelulek aktibatzean sintomak agertzen ziren: sukarra, baskulitisa, artritisa eta abar). Pozioen kontrako antidotoetan, plasma poliklonalekin eta botika bezala erabilitako antigorputz monoklonalekin, gauza bera gerta daiteke.

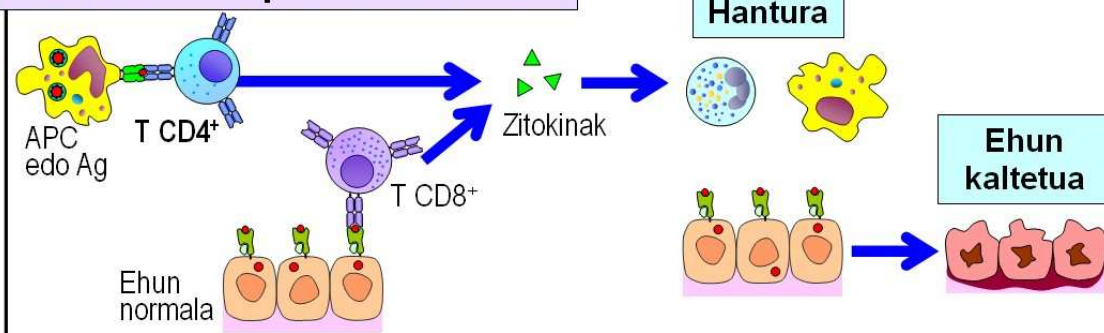


14.irudia. Sueroaren gaixotasuna.

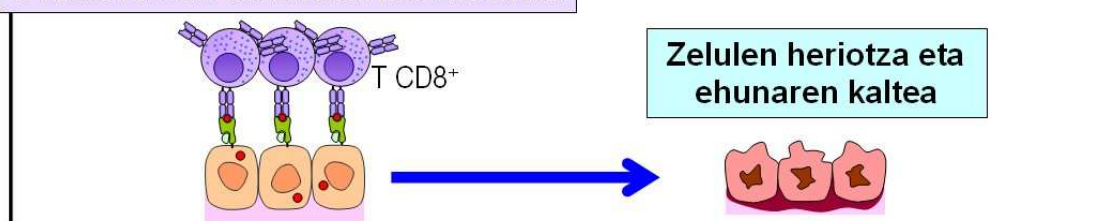
IV motako hipersentikortasuna T linfzitoek bideraturiko hipersentikortasun-erreakzioa da. Mota honetako hipersentikortasunetan, T_H1 populazioa beti inplikaturik egongo da eta mekanismo efektorearen arabera bi taldeetan sailka daitezke. Lehenengoan, T_H1 eta **aktibatutako makrofagoek** bideratzen dute kaltea eta bigarrean, **Tc linfzitoek** eragiten dute kalte nagusia. Dena den, askotan biak batera parte hartzen dute ehunetako kaltean (15.irudia).

T linfzitoek bideraturiko gaixotasunen mekanismoak

Atzeratutako hipersentikortasuna



T linfzitoek bideraturiko zitolisia



15.irudia. T linfzitoen bideraturiko gaixotasun mekanismoak.

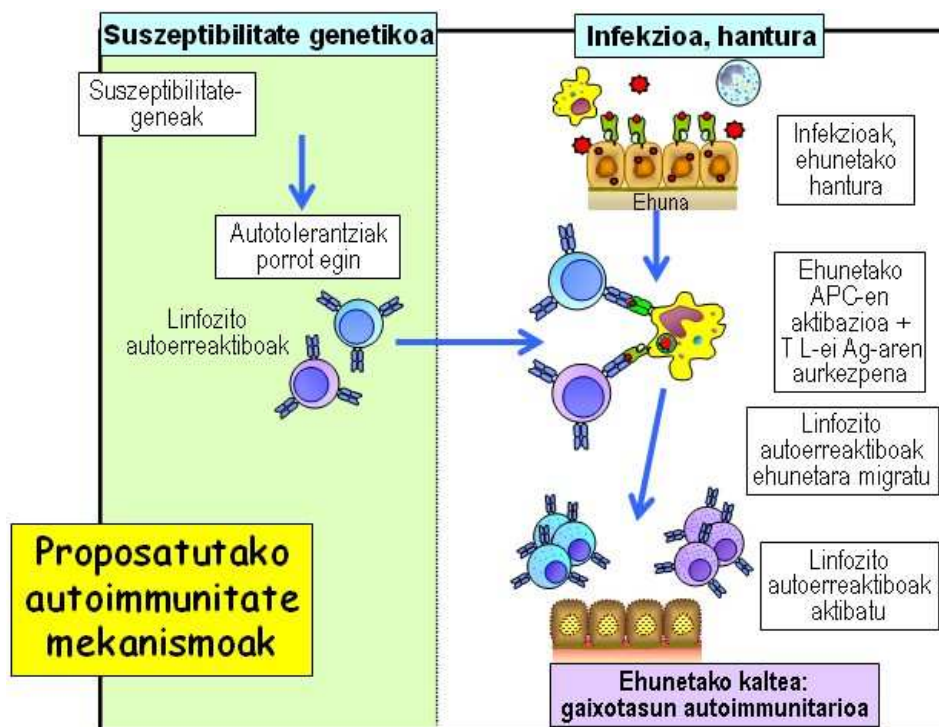
Gaixotasun mota horiek eragiten dituzten **antigenoak disolbagarriak, zelularrak edo zelulei asoziatuak** izan daitezke. Kasu batzuetan proteina arrotzak dira eta beste batzuetan autoantigenoak edo proteina propioei lotutako haptenoak. Immunitate-erantzunak ezagutzen den antigenoaren kokapenaren arabera, **kaltea lokala edo sistemikoa** izan daiteke. Gainera, antigenoaren natura eta sarrera-bidearen arabera sintomak guztiz desberdinak izan daitezke. Antigenoa ezagutu ondoren eta T_H1 azpipopulazioa aktibatu eta gero, beste populazio batzuk aktibatzen dira (makrofagoak, Tc, eta abar), zitokinak (besteak beste $IFN\gamma$) eta beste bitartekari batzuk askatzen dira, eta hantura edota zitolisia eta zenbait kalte eragiten dira. **Erantzuna garatu eta sintomak agertzeko egun batzuk** behar dira (antigenoa ezagutu eta gutxienez 24 h beranduago) eta horregatik **atzeratutako hipersentikortasuna** deritze.

- **Kontaktu bidezko dermatitisak** edo hipersentikortasunak, adibidez **metalekiko alergia**, mota honetako erreakzioa da. Erlojuen kateetan agertzen diren zenbait metalak (Ni, Cr, eta abar) hapteno bezala jokatu dute. Hapteno horiek sakabanatzen dira azal eta mukosan zehar. Metala, molekula propioei lotu eta neoantigenoak sortzen dira. Konplexu berri horiek harrapatu, degradatu, prozesatu eta aurkezten dira (Langerhans zelulen bidez). APC horiek T linfzitoak aktibatuko dituzte eta T_H1 populazio aktibatuak bihurtzen dira. Antigenoarekin hurrengo kontaktuetan, sentsibizatutako T CD4 linfzitoek, zitokinak askatu eta fagozitoak erakarri eta aktibatzean, hantura eragiten dute.
- Immunitate-erantzun zelularrak oso garrantzitsuak dira **zelulen barruko patogenoen kontra**, adibidez *Mycobacterium tuberculosis* eta *Lysteria monocytogenes* mikroorganismoen kontra. Kasu batzuetan infekzio horien ostean IV motako hipersentikortasunak garatzen dira. Erreakzio horiek erabilgarriak izan daitezke gaixotasunaren diagnostiko edo detektziorako. Hori gertatzen da adibidez, **erreakzio tuberkulinikoarekin**. Koch-ek aurkitu zuen efektu hori tuberkulosiak jotako pazienteengan. Antigenoaren dosi subkutaneo txikiak ziztatutako lekuan, 24-72 ordu pasa ondoren, T_H1 -ek bideraturiko “habon” gogorra eraten da (hanturaren ondorioz). Proba hori tuberkulosiaren diagnostikoan eta immunokonpetentzia aztertzeko erabilgarria da.
- Beste adibide bat **hipersentikortasun granulomatosoa** da. Kasu honetan makrofagoek fagozitatzen dituzten zenbait substantzia ezin dituzte deuseztatu. Orduan makrofagoak pilatu eta granulomak sortzen dira.
- Meatzarietan, deuseztatu ezin diren hainbat konposatu (berilio, silizioa, eta abar) behin eta berriz inhalatzen dira eta granulomak eratzen dira. Honen ondorioz, hantura kronikoa, fibrosia eta arnasteko arazoak sortzen dira (**beriliosia, silikosisia**).
- **Intzektuen ziztadarekiko** alergia ere honelako hipersentikortasun mekanismoa ematen da.

AUTOIMMUNITATEA autoantigenoen kontrako immunitate-erantzuna da. Immunitate-erantzun ez aproposak eta gehiegizkoak direnez, hipersentikortasunen barruan sar daitezke eta gaixotasun mota horiek balira sailkatu. Arrazoi desberdinengatik **autotolerantzia** (antigeno propioekiko tolerantzia) **apurtzen denean** sortzen da. Patogenoen kontrako immunitate-erantzunen pareko erantzunak dira, baina autoantigenoen kontra. Autoimmunitate mota asko deskribatu dira, ezagutu

eta erasotzen den antigenoaren arabera. Gaixotasun autoimmuneetan ezagutzen diren autoantigenoak asko izan daitezke eta antigenoaren natura (solugarria/mintzari lotuta) eta jatorriaren (ubikista/kokatua) arabera sintoma desberdinak agertzen dira. Autotolerantzia mantentzeko mekanismoak oso eraginkorrak direnez, autoimmunitate mota konkretu bakoitzaren **maiztasuna nahiko baxua** da. Dena den, autoimmunitate mota guztiak hartuta, herri mendebaldeko populazioaren %5 inguruk, autoimmunitateren bat jasaten du (maiztasun altueneko gaixotasunen artean, autoimmunitateak hirugarrenak dira, gaixotasun kardiobaskular eta minbiziaeren atzetik). Autoantigenoak eskuarki, antigeno iraunkorrak dira eta ezin dira guztiz deuseztatu, nahiz eta immunitate-sistemak autoantigeno hori erasotzen eta suntsitzen duen etengabe (antigeno propioa denez, berriro agertuko da). Ondorioz, **autoimmunitateak, gaixotasun kronikoak izaten dira (bizi osorako)**. Indibiduo guztietan linfozito ugari sortzen dira, eta klon bakoitzak espezifikotasun bakarra du. Linfozito horiek guztien artean, batzuek antigeno arrotzak ezagutuko dituzte, eta beraz, mantendu beharrezkoak dira indibiduo infekzioetatik babesteko. Beste batzuek ordea, antigeno propioak ezagutuko dituzte eta arriskutsuak bihurtu daitezkeenez indibiduoarentzat, mekanismo desberdinen bidez suntsitu edota isilarazi behar dira. Horrela gertatzen bada, autotolerantzia mantentzea posible da. Baina, zenbait kasutan horietariko linfozito autoerreaktiboak kontrol-mekanismoetatik ihes egitean, autoimmunitateren bat agertu, eta “propioa” eraso daiteke. Dena den, autoimmunitatea sortzen denean ez da immunitatearen akats orokorra izaten, baizik eta akats puntualak zenbait autoantigenoen kontra (autotolerantzia mantentzeko mekanismoak oso eraginkorrak baitira). Gainera, autoimmunitatea sortzen duten autoantigenoak eskuarki gutxi dira, baina zenbait ezaugarriengatik antigeno horiekiko tolerantzia sortu edo mantentzea zailagoa izaten da (adibidez autoantigeno horiek ez dira oso arruntak edota ugariak). **Autotolerantzia** mantentzeko B eta T linfozitoak kontrolpean mantendu behar diren arren, T linfozitoak izaten dira garrantzitsuenak autoimmunitatean, eta batez ere **T_H linfozitoak**. Immunitate-erantzun gehienak T-mendekoak dira, beraz, T linfozitoek B linfozitoen aktibazioarako beharrezkoak dira. T linfozito autoerreaktiboak kontrolpean badaude, dagozkien B linfozito autoerreaktiboak ezin dira aktibatu. Beste aldetik, T linfozitoen artean zenbait populazio bereziren jardura nagusia, hainbat mekanismo erregulatzailen bidez, autotolerantzia mantentzea da. Aurrekoa kontutan hartuta, uler daiteke **erantzun autoimmune gehienak T_H linfozitoen akatsekin hasten direla**. Immunitate innatoaren elementuak (makrofagoak, konplementua,...) ez daude zuzenean murgilduta autoimmunitatean. Horiek, PAMP (patogenoei asoziatutako patroi molekularrak) ezagutzeko sortu dira, eta molekula horiek ez dira gizakietan agertzen. Beraz, immunitate innatoaren elementuek erantzun autoimmunitarioetan parte hartzen dute T linfozitoei edo antigorputzei laguntzeko, baina ez dute bakarrean autoimmunitate erreakzioari abiatzen.

Ez da ezagutzen zerk hasten duen autoimmunitatea, baina nahiz eta arrazoi efektoreak desberdinak izan, argi dago gaixotasun multifaktorialak direla eta zenbait **ingurumen-faktore** eta **faktore genetiko**, autoimmunitate batzuen hasierarekin estuki erlazionatuta daude.



16.irudia. Autoimmunitatearen mekanismoak.

Ingurumen-faktoreen artean, **infekzioak** izan daitezke **autoimmunitateen eragile nagusiak**. Ingurumen-faktoreek ez dute tolerantzia zentrala apurtzen, baina periferikoa apurtzen da arrazoi desberdinengatik, batez ere, anergia eta ignorantzia immunologikoaren egoeran dauden zelula potentzialki autoerreaktiboak aktibatzen direnean. Infekzio bati erantzuteko, immunitate-erantzuna pizten da eta zenbait **T linfozito autoerreaktibo modu ez espezifikoan aktibatzen dira** (zitokinen askapenaren edo MHC II eta koestimulatzailen adierazpenaren bidez). Patogenoa agertzean, patogenoaren kontrako erantzunak eta B linfozito autoerreaktiboak aldi berean aktibatzen dira. **Superantigenoak** agertzean, aktibatzen diren klonen artean zenbait linfozito autoerreaktibo daude. Antzekotasun estrukturala (**mimetismo molekularra**): immunitate-erantzuna sortzen da mikroorganismoaren kontra, baina mikroorganismoaren antigenoren bat eta zenbait autoantigeno antzekoak dira eta erreakzio gurutzatuak sortzen dira. Infekzio edo **traumatismo** baten bidez, **bahitutako autoantigeno** leku immunopribilegiatuetatik **askatzen dira** eta immunitate-sistemak erasotzen ditu. Genetikari dagokienez, badirudi **zenbait gene** autotolerantzia bermatzeko

oso garrantzitsuak direla eta **autoimmunitatea jasatzeko joerari lot daitezke**. Dena den, ez da gene bakarra izango autoimmunitate konkretu bat eragingo duena, baizik eta indibiduo eta errealtate batean pilatutako gertakizun taldea. Gene bakanak soilik gaixotasun autoimmune bat pairatzeko arriskua gehitu/gutxitu egiten du. Gaixotasun autoimmune konkretu bat pairatzen duten indibiduen artean dibertsitate fenotipiko handia da. Adibidez, diabetes mellitus insulina-mendekoan (Tc linfzitoek pankreasaren β zelulak, insulina-ekoizleak, selektiboki suntsitzen dituzte), 20 gene inguru inplikaturik egon daitezkeela deskribatu da. Baina denak ez daukate garrantzi berdina gaixotasuna pairatzeko arriskuan. Eskuarki, autoimmunitatearekin gehien erlazionatzen diren molekulak zenbait II motako HLA-k dira. **HLA molekula** guztiak ez dute antígeno propioak aurkezteko gaitasun berdina, eta beraz, ezin dute autoimmunitatea sortu erraztasun berdinarekin.

HLA-rekin (MHC) erlazionatutako gaixotasun immunitarioen adibideak

Gaixotasun autoimmunitario gehienak poligenikoak dira (berez, gene batek autoimmunitatea ez du sortzen, baina pairatzeko arriskua gehitu/gutxitu egiten du). **MHC-rekin erlazionatutako geneak bereziki, oso garrantzitsuak dira.**

| Gaixotasuna | HLA aleloa | Arrisku erlatiboa* | Sexuen % (♀:♂) |
|---------------------------------------|-----------------------|--------------------|----------------|
| Artritis erreumatoidea | DR4 | 4 | 3 |
| Diabetes mellitus insulinodependentea | DR3/DR4 heterozigotoa | 25 | ~1 |
| Esklerosi anitza | DR2 | 4,8 | 10 |
| Lupus eritematoso sistemikoa | DR2/DR3 | 5,8 | 10-20 |
| Penfigo arrunta | DR4 | 14 | ~1 |
| Espondilitis ankilosantea | B27 | >90 | 0,3 |

*Arrisku erlatiboa: HLA alelo konkretuak duten pertsonetan, gaixotasun konkretu bat jasateko aukera (probabilitatea), alelo hori ez duten pertsonekin konparatuz. Agertzen diren zenbakiak aproximazioak dira.

Hormonak edo sexuarekin erlazionatutako beste faktore batzuk eragina eduki dezakete zenbait gaixotasun autoimmunitarioetan

17. irudia. HLArekin loturiko gaixotasun autoimmuneak.

Beste faktore batzuk ere garrantzitsuak izan daitezke gaixotasun mota horiek sortaraztean. Adibidez sexua edota hormonak. Gaixotasun mota horien maiztasun altuagoa, emakumeetan aurkitzen da. Klinikoki, autoimmunitateen hainbat sailkapen egin daitezke. Erasotutako autoantigenoen kokapenaren arabera: **organoespezifikoak eta sistemikoak bereizten dira**. Organo-espezifikoetan antigenoa organo edo ehun konkretu batean kokatuta dago eta organo hori bakarrik kaltetzen da. Sistemikoetan antigenoa kokapen desberdinetan agertu edo "ibiltaria" da. Hipersentikortasun **mekanismoaren arabera antigorputzek bideraturikoak, immunokomplexuek sortutakoak eta T linfzitoek bideraturikoak bereizten dira** (5. taula, 6. taula, 7. taula)

5. taula. Antigorputzek bideraturikoak zelula/ehunetako antigenoen kontra → II motako hipersentikortasunak

| Gaixotasuna | Autoantigenoa | Ondorioa |
|----------------------------------|---|--|
| Anemia hemolitiko autoimmunea | Odol-taldea (Rh) | Eritrozitoen suntsitzea |
| Purpura trombopeniko autoimmunea | Plaketen integrina | Koagulazio okerra. Plaketopenia |
| Goodpasture sindromea | Kolagenoaren zuntzak | Baskulitisa, giltzurrun eta biriken porrotak |
| Penfigo arrunta | Kadherina epidermikoa | Anpuluak dermisean |
| Sukar erreumatikoa | Bihotzeko muskulua | Poliartritis, miokarditis eta balbulopatiak |
| Graves-en gaixotasuna | Tiroidesa aktibatzen duen hormonaren hartzailea | Hipertiroidismoa |

| | | |
|------------------|------------------------------|-----------------|
| Miastenia gravis | Azetil kolinarako hartzailea | Muskuluen nekea |
|------------------|------------------------------|-----------------|

6.taula.Immunokonplexuek bideraturikoak → III motako hipersentikortasunak

| Gaixotasuna | Autoantigenoa | Ondorioa |
|------------------------------|-------------------------------|--|
| Lupus eritematoso sistemikoa | DNA, histonak eta erribosomak | Glomerulonefritisa, baskulitisa eta artritis |

7.taula.T linfozitoek bideraturikoak → IV motako hipersentikortasunak

| Gaixotasuna | Autoantigenoa | Ondorioa |
|-------------------------------------|---------------------------------|--|
| Diabetes mellitus insulina-mendekoa | Pankreaseko zelulen antigenoa | Zitolisia |
| Artritis erreumatoidea | Antigeno sinobiala | Hantura eta giltzaduren suntsiketa |
| Esklerosi anitza | Mielinaren oinarritzko proteina | T linfozitoek garuna inbaditzea, elbarritasuna |

Autoimmunitateak **tratatzeko** ez dago metodo bakar edota eraginkorrik. Kasu askotan erositzen den autontigenoa ez da ezaguna (batez ere antigorputzak inplikaturik ez badaude) eta tratamendu espezifikoa lortzea zaila da. Beraz, askotan aukera bakarra **sintomak tratatzea** da. Eskuarki, immunitate-erantzuna edo immunitate-erantzunaren efektuak inhibitzen dira **antiinflamatorio** edota **immunosupresoreen** bidez. Etorkizunerako, klon espezifikoaren inaktibazio/inhibizio selektiboa edota autoantigeno zehatzekiko **desentsibilizazioa** bilatzen da. Hau da, autoantigenoekiko galdutako tolerantzia berreskuratzea. Klon bereziak suntsitzean edo inaktibatzean autoimmunitatea sortzen duten elementuak kontrolatzen dira, baina gainerako immunitate-erantzunak erabilgarri eta babesgarri mantentzen dira.

10. BIRPASA-ARIKETAK

Oharrak:

* Test motako galderetan posible da erantzun zuzen bakarra, bat baino gehiago edo bat ere ez izatea

* Azalpenak eskatzen diren galderetan oso zehatza izan behar da eta laburki erantzun

1. Immunitate-sistemari buruzko hurrengo esaldietatik, esan zeinek dagokio erantzun immune ez-espezifiko edota espezifikoari:

- Arrotza eta propioa bereizten du
- Infekzioa kontrolatu eta gero oroimen immunologikoa lortzen du
- Erantzun zelularraren elementuak dituzte baina ez humoralarenak
- Patogenoa ezagutzen duten errezeptoreak dituzte

2. Bete ezazu taula hau ezagutza ez-espezifikoaren eta espezifikoaren arteko desberdintasunak bereizteko:

| | Erantzun Ez-espezifikoa | Erantzun Espezifikoa |
|---------------------------------------|-------------------------|----------------------|
| Ezagututako egiturak | | |
| Errezeptoreak | | |
| Errezeptoreen banaketa | | |
| Propio eta arrotzen arteko bereizketa | | |

3. Aipatu laburki, linfa-organo primarioak eta sekundarioak, eta haien funtzioak.

4. Elkartu zelula mota bakoitza deskripzio hoberenekin (zelula mota bat lot daiteke deskripzio bakarrarekin, bat baino gehiagorekin edo gerta daiteke deskripzio egokirik ez izatea).

Zelula mota:

Deskripzioak:

- Aitzindari mieloidea
- Monozitoa
- Eosinofiloa
- Zelula dendritikoa
- NK linfositoa
- Kupffer-en zelula
- Mastozitoa (zelula gizendua)
- Neutrofiloa
- Linfositoa
- Mikrogliako zelula
- Aitzindari komuna (ama zelula pluripotentea)

- T_H linfositok birjinei antigenoak aurkezten dizkiete
- Nerbio-sistema zentrolean zelula fagozitikoa
- Mikroorganismoen kontrako defentsarako zelula fagozitiko garrantzitsua
- Gibeleko makrofagoa
- Leukozito PMN-en jatorria
- Hantura-gunera heltzen den lehenengo zelula
- Leinu linfoide eta leinu mieloidearen jatorria
- Odoleko zelula, ehunetan makrofago bihurtzen dena
- Pikorrekin beteta dago, Ez da fagozittoa, eta hanturarekin erlazioatutako substantziak askatzen ditu
- Ehunetara joan eta alergia-erreakzioetan parte hartzen duen leukozitoa

5. Zein zelula motak adierazten ditu TCR, CD3 eta CD4 molekulak mintzean?

- B linfositoa
- T_C linfositoa
- T_H linfositoa
- NK linfositoa
- Zelula plasmatikoa
- Aitzindari linfoidea

6. Zer da epitopoak? Zein desberdintasun dago epitopo lineal eta konformatzionalen artean? Azaldu laburki zein motako epitopoak ezagutzen dituzte B eta T linfozitoen errezeptore antigeno-espezifikoek.

7. Hurrengo hitzen definizioa eman:

- Antigeno
- Immunogeno
- Hapteno
- Superantigeno

8. Hauetako zeluletatik, zeinek jarraitzen du hurrengo ibilbidea: Hezur-muinetik timora, han heldu eta gero odoletik linfa-organo sekundarioetara. eta, aktibatu ostean, ehun infektatuetera.

- a) Neutrofiloia
b) NK zelula
c) B linfocitoia
d) T linfocitoia
e) Zelula dendritikoa
f) Mastocitoia

9. Zerk bideratzen ditu immunoglobulinen ekintza efektoreak?

- a) Kate astunaren alotipoak
b) Kate arinaren alotipoak
c) Kate astunaren alde aldakorak
d) Kate arinaren alde aldakorak
e) Kate astunaren isotipoak
f) Kate arinaren epitipoak

10. IgG molekula osoaren eta bere osagai edo zati ISOLATUEN propietateak deskribatu hurrengo taulan.

| | IgG osoa | H katea | L katea | Fab zatia | Fc zatia |
|--|----------|---------|---------|-----------|----------|
| Antigenoa elkartu | | | | | |
| Ag lotzeko leku bi | | | | | |
| FcR-arekin lotu | | | | | |
| Antigenoaren presentzia komplementuarekin elkartu | | | | | |
| V domeinuak ditu | | | | | |
| C domeinuak ditu | | | | | |

11. Immunoglobulinen V, D eta J geneen hainbat bertsio dago hurrengo zelula bakoitzean:

- a) Linfa-gongoilak kolonizatzen dituzten B linfozito birjinetan
- b) B linfozito aktibatuetan
- c) Heldu gabeko pre-B zeluletan
- d) Aitzindari linfoidean
- e) Zelula plasmatikoan
- f) Aipatutakoetan inon ez dago

12. Immunoglobulinen dibertsitatea lortzeko mekanismoak aipatu.

13. IgM eta IgG molekulak konparatu, egitura eta funtzioari dagokienez.

14. Immunoglobulinene geneen “S” aldeetan (kate astunene alde aldeazinak kodetzen dituztene geneene arteko “S” sekuentzietan) akats edo mutazioak sortzen badira, zein izan daiteke ondorio nagusia?

15. Antigenoaren loturan parte hartzen duten molekula konparatu hurrengo taulan:

| | Immunoglobulinak eta BCR | T linfozitoen errezeptorea (TCR) | Histokonpatibilitate molekulak (I eta II) |
|---|--------------------------|----------------------------------|---|
| Zerekin osatzen da antigenoa lotzeko lekua? | | | |
| Zein Ag mota lotu daiteke? | | | |
| Zein motako determinanteak lot daitezke? | | | |
| Ekintza nagusia | | | |

16. Zer dute komun antígenoentzako hartzaile espezifikoek B eta T linfozitoetan? Lau gauza komun eta lau desberdin aipatu.
17. Zelula batek mintzean adierazten dituen molekulen artean HLA-A1, HLA-B3, HLA-Cw5, HLA-A3, HLA-B44, eta HLA-Cw8 daude. Zein zelula mota izan daiteke?
- a) Makrofagoa
 - b) Zelula dendritikoa
 - c) Hepatozitoa
 - d) Giltzurruneko zelula
 - e) B linfozitoa
 - f) Eritrozitoa

18. Polimorfismo eta poligenia desberdinu. Nola lortzen da MHC molekula kopuru txiki batekin peptido asko aurkeztea?

19. Antigenoen prozesamendu eta aurkezpena bereiztu.

20. Konplementuaren aktibazioan, ☐ eini zango da funtsezko erreakzioa aktibazioarekin jarraitzeko? (konplementuaren fizatzea). Nola deitzen dira erreakzio hau burutzen duten entzimak? Aipatu aktibazioa gertatzen denean sortzen diren 3 ekintza-mekanismo nagusiak.

21. Bete itzazu hutsuneak:

- Odol-zirkulazioan sartzen diren mikroorganismoen kontrako erantzun immunea _____ garatzen da.
- _____ zelulak antígeno proteiko espezifikoak ezagutzen dituzte.
- _____ MHC I eta MHC II molekulak aldi berean adierazten dituzte mintzean.
- Ehunetan, _____ mikroorganismoen fagozito nagusiak dira.
- _____ leinu linfoideko zelula zitotoxikoak dira.
- TCR eta BCRen _____ osatzen dute antigenoa lotzeko lekua.

22. Esan egia edo gezurra diren hurrengo esaldiak:

- Leukozitoen mintzeko markatzaileak ez dira aldatzen haien bizitzan zehar.
- Garatzen ari diren linfzitoen superbizipena errezeptoreen adierazpen egokiaren menpekkoa da.
- MHC molekula desberdinak daude, denak polimorfismo berdinarekin.
- Linfzito birjinak HEV-etatik irteten dira linfa-ehun sekundario guztietara.
- Zitosolean prozesatutako antigenoak MHC I molekulatan aurkezten dira edozein T linfzitoei.
- Hautapen klonala oinarritzkoa da erantzun ez-espezifiko eta espezifiko hasteko.

23. Marraztu (egin eskema bat):

- Makrofago bat eta azaleko bi molekula garrantzitsu.
- I motako molekula
- $\gamma\delta$ linfzito baten konplexu errezeptorea

24. Hutsuneak bete:

- Zelula dendritikoek adierazten dituzte mintzean, T linfzito birjinen aktibazioa baimentzeko.
- T CD4⁺ linfzitoak aktibatu ondoren ekoizten dute, eta adierazten dute mintzean molekula horretarako errezeptorea. Honen ondorioz hasten dira ugaltzen eta bi azpipopulaziotan bereizten.
- T_H linfzito birjinak aktibatzeke seinale osagarria lortzen da hurrengo molekulak elkartzen direnean: Molekula, T_H mintzean dagoena, molekula, antigenoa aurkezten duen zelularen mintzean dagoena.

25. Taula bete, erantzun humoral primarioa eta sekundarioa alderatuz.

| Propietatea | Erantzun primarioan | Erantzun sekundarioan |
|-----------------------------------|---------------------|-----------------------|
| Erantzuten duen zelula | | |
| Erantzuna hasteko atzerapena | | |
| Erantzun maximoa lortzeko denbora | | |
| Erantzunaren tamaina | | |
| Sortutako isotipo | | |
| Antigeno mota | | |
| Antigorputzen kidetasuna | | |

26. Konpara itzazu B linfzito birjinak, aktibatuak, oroimenezkoak eta zelula plasmatisikoak (ekintza nagusia eta markatzaile nagusiak aipatu).

27. Erantzun immune timo-dependentea eta timo-independentea alderatu: antigenoen natura, erantzun mota eta inplikaturako zelulak.

55. Banatu antigenoen aurkezpenetan agertzen diren hurrengo elementuak bi zerrendetan. Zerrenda bakoitzean kokatu elementu hauek ordenatuta, antigeno baten aurkezpena egin ahal izateko:

- a) MHC I
- b) MHC II
- c) Zitoplasmako peptidoak
- d) Endosomako peptidoak
- e) TAP proteinak
- f) Proteasoma
- g) Kate aldaezina (li)
- h) HLA-DM molekulak
- i) LT CD8
- j) LT CD4

56. T_H linfzitoen aktibazioan, TCRak antigenoa ezagutzeaz gain hurrengo elkarketa behar da:

- a) Linfzitoaren CD95 molekulak elkartzea CD95L APC zelulan
- b) Linfzitoaren CD4 molekulak elkartzea B7 APC zelulan
- c) Linfzitoaren CD28 molekulak elkartzea B7 APC zelulan
- d) Linfzitoaren CD8 molekulak elkartzea MHC II APC zelulan
- e) Linfzitoaren IL-2 molekulak elkartzea IL-2R APC zelulan
- f) Linfzitoaren IL-2 molekulak elkartzea IL-2R linfzitoan

30. Esan egia ala gezurra den:

- a) T_{CD4+} linfzitoak bereizten dira $T_H 1$ eta $T_H 2$ zelula eragiletan
- b) $T_H 2$ linfzitoak beharrezkoak dira antigeno polisakaridoen aurrean erantzun humoral gertatzeko
- c) T_C linfzito zitotoxikoak T_{CD8+} linfzitoen aktibazioaren ondoren sortzen dira
- d) B2 zelulek $T_H 2$ linfzitoen laguntza behar dute proteinen aurrean antigorputzak ekoizteko

31. Zer dira antigeno endogeno eta exogenoak?

32. Zer da "isotipo-aldaketa" eta zein ondorio biologikoak ditu?

33. Deskribatu immunitate-sistemako zeluletan IL-4 molekulak duen ekintza. Zer zelulatan ekoizten da? Zein zelula aktibatzen ditu? Zein da aktibatutako zelulen azken produktua?

34. Hurrengo taulan esan NK eta T_C linfzitoen zitotoxizitatean hurrengo elementuak parte hartzen duten (+) ala ez (-).

| | T_C | NK |
|---------------|-------|----|
| Antigorputzak | | |
| Perforinak | | |
| Granzimak | | |
| HLA-A | | |
| HLA-E | | |
| TCR | | |
| CD4 | | |
| RI | | |
| FasL | | |

35. T_H linfzitoen laguntza/kooperazioa ez da beti gertatzen. Zein inplikazio du honek antigorputzen ekoizpenean? Eta T_C zitotoxizitatean?

36. Jar itzazu zerrenda batean zer gaitzen kontrako txertoak jaso dituzun. Jar ezazu zerrenda batean zer gaitzen kontra jaso duzun immunitatea era naturalean.

37. Aipatu periferian tolerantzia mantentzeko mekanismoak.
38. Makrofago aktibatuek zitokina asko jariatzeko dituzte. Hauen artean, hantura akutuan hiru zitokina jariatzeko dira efektu lokalizatu eta sistemikoetan oso garrantzitsuak direnak. Zeintzuk?
39. Immunoeskasi primarioen artean, zein uste duzu ondorio kliniko larriagoak edukiko dituela, C3 edo C1-en eskasia?
40. Hainbat mikroorganismo, zenbait entzimen bidez, antigorputzen Fc aldea suntsitzen dute. Mekanismo honek, mikroorganismoen biziraupenerako garrantzia edukiko du?
41. Konplementuak bideraturiko ekintza nagusiak aipatu eta erlazionatu konplementuaren osagaiekin.
42. Erlazionatu hurrengo funtzioak dagozkien antigorputz isotipoekin:
- Erantzun primarioa: _____
 - Erantzun sekundarioa: _____
 - Umekia (fetus) babesten du: _____
 - Amaren esnean dago: _____
 - Opsonina ezin hobeak dira: _____
 - Konplementua aktibatzen dute: _____
 - Mastozitoetan Fc errezeptoreak dituzte: _____
 - Helmintoen kontrako erantzunetan garrantzitsuak: _____
 - NK zelulen aktibitatean bitartekariak: _____
57. Erlazionatu hurrengo baieztapenak T_H eta T_C zelulekin:
- $IFN\gamma$ ekoizten du: _____
 - MHC I ezagutzen du: _____
 - Xede-zelularako zیتotoxikoa da: _____
 - CD3 adierazten du: _____
 - TCR alfa/beta errezeptorea adierazten du: _____
 - Perforinak ekoizten ditu: _____
 - CD40L espresatzen du: _____
44. Zein hipersentikortasun-mekanismoari dagokie hurrengo ezaugarriak?
- Antigorputzek parte hartzen dute: _____
 - IgE immunoglobulinak parte hartzen du: _____
 - Zelula eragileak, aktibatutako makrofagoak eta T_H1 linfozitoak dira: _____
 - Zelula eragileak T_{CD8^+} linfozitoak dira: _____
 - Antigeno zelularren kontrako erantzunak sortzen dira: _____
 - Antigeno disolbagarrien kontrako erantzunak sortzen dira: _____
 - Autoimmunitate gaixotasunetan inplikaturik daude: _____
45. Zergatik ezin dute IgM edo IgG immunoglobulinekin konplementua lotu antigenoa elkartu baino lehen?
46. Mukosetako gune induktore eta efektoreak definitu eta adibideak jarri.
47. Zergatik pentsatzen duzu haplotipoa garrantzitsua dela gaixotasun autoimmuneetan?
48. Erantzun immuneetan, nori deitzen zaio efektorea? Zer dira, molekulak ala zelulak? Jarri 2 adibide.
49. Indibiduo bat birus batekiko immunizatuta dago. Bere T_{CD8^+} linfozitoek, zein kasuan aktibatuko dira? Azaldu zergatik.
- Birus berdinarekin kontra beste indibiduo batetan
 - Edozein birusen kontra, indibiduo berean
 - Edozein birusen kontra, indibiduo histokompatibile batean
 - Bakarrik indibiduo berdinean, birus berdinarekin kontra
50. Opsonizazioa definitu eta adibideak aipatu.
51. Komentatu hurrengo baieztapenak:
- Indibiduo normaletan ez dira linfozito autoerreaktiborik sortzen.
 - Autoimmunitatean linfozito autoerreaktiboak sortzen dira, baina ez daude zelula erregulatzaileak.
52. NK zelulak, zein seinale behar ditu xede-zelulak hiltzeko? Erantzuteko eskematxo bat egin.

53. Antigorputz monoklonala eta poliklonalak desberdindu. Nola lor daitezke? Antigorputz baten “humanizazioa” zertarako/noiz da garrantzitsua?
54. Demagun IgE-ren immunoeskasia daukagula, zer gerta daiteke?
- b) Autoimmunitate gutxiago egongo dela
 - c) Konplementuaren aktibazioa bide klasikotik blokeatuta dagoela
 - d) Alergia gutxiago ager daitezkeela
 - e) Mastozitoak ez direla aktibatuko
 - f) b, c eta d egia dira
55. Fagozitosi bat marraztu fagozitosiaren faseak adierazteko eta aipatu ondorio biologiko nagusiak.

10. BIBLIOGRAFIA eta ESTEKAK

Liburuak

Janeway CA Eds. "Immunobiology". 2005. 6th Edition. Garland & Churchill Livingstone.

Roitt Eds. "Immunology". 7th Edition. 2006. Mosby.

Kuby J. Eds. "Immunology". 6th Edition. 2006. WH Freeman and company, New York.

Informazio osagarria eskuratzeko estekak:

Sidalava

Arabako hiesaren kontrako batzordea

Hiesa eta immunitate-sistemari buruzko informazioa

<http://www.sidalava.org/WEB%20euskera/2.vih.htm>

Hiru.com: Txertoak

http://www.hiru.com/adinekoen_zainketa/adinekoen_zainketa_04_03_03.html

OSANET: Txertoak

http://www.euskadi.net/r33-2288/es/contenidos/informacion/vacunas_epidem/eu_4330/vacunas_epidem_e.html

Ministerio de Sanidad y Consumo. Ciudadanos- Osasunaren Babesa. Gobierno de España: Txertoak

<http://www.msc.es/eu/ciudadanos/proteccionSalud/vacunaciones/viajero/home.htm>

Wikipedia:

Immunitate-sistema: <http://eu.wikipedia.org/wiki/Immunitate-sistema>

Linfozito: <http://eu.wikipedia.org/wiki/Linfocito>

HIESA:

<http://www.zientzia.net/informazioa/elhuyar/2008/248/Pdf/032.pdf>

Elhuyar, 1989 zientzia.net

Immunitate-sistema: kanpoko erasoetatik babestu behar

Ibarguren Olalde, Karlos

http://www.zientzia.net/artikulua_inprimatu.asp?Artik_kod=9446

Elhuyar 1990 (16, 61-73)

TUMORE-MARKATZAILAK ETA ANTIGORPUTZ MONOKLONALAK

Alberto Loizate Totorikaguena, Gurutzeta ospitaleko "Kirurgia Orokorra-B"

zerbitzuko medikua

http://www.elhuyar.org/elhuyar_aldizkaria/pdf/Elhuyar-53-07.pdf

Elhuyar, 2000

Zergatik daude gizabanakako alergikoak?

Miren Basaras / Elixabete Arrese

http://www.zientzia.net/informazioa/elhuyar/2000/154/pdf/A154_O38-41.pdf

Elhuyar, 2001 zientzia.net

Sistema immunearen poliziak, Galarraga Aiestaran, Ana

http://www.zientzia.net/artikulua.asp?Artik_kod=1888

Elhuyar, 2002 zientzia.net

Minbizi-zelulen suizidioa eragiteko teknika bat garatu dute Israelen, Carton Virto, Eider

http://www.zientzia.net/artikulu.asp?Artik_kod=6447

Elhuyar, 2002

Tumore-angiogenesisia

Gorka Orive Arroyo

http://www.zientzia.net/informazioa/elhuyar/2002/173/pdf/A173_O51-55.pdf

Elhuyar, 2002 zientzia.net

Txertoak, ziztada babesleak

Aiestaran, Ana

http://www.zientzia.net/artikulu.asp?Artik_kod=4983

Elhuyar, 2002

Txertoak entsaladan, eltzekoan...

Ana Galarraga Aiastaran

http://www.zientzia.net/informazioa/elhuyar/2002/181/pdf/A181_O25-28.pdf

Elhuyar, 2003 zientzia.net

Sistema immunea

Galarraga Aiastaran, Ana

http://www.zientzia.com/artikulu.asp?Artik_kod=7519

Argia 2007

Jarrera baikorra botika baino hobe

Mikel Garcia

<http://www.argia.com/argia-astekaria/2100/jarrera-baikorra-botika-baino-hobe?pdf>

11. LABORATEGIKO PRAKTIKA- GIDALIBURUA

Immunologiaren oinarriak

1. Liburu, poltsa eta arropa guztia lan-eremutik at egon behar dute. **Lan-eremuan**, lanerako beharrezkoak diren gauzak soilik egon daitezke (koadernoak, protokoloak, lantresnak), eta ahal bezain **garbi**, txukun eta huts mantenu behar da lan-eremua.
2. **Bata eraman beharra dago**, era horretan gu eta gure arropak babestuko baititugu (bai kontaminazioa eta bai koloratzaile eta substantzia kimikoen ekintza). Ez irten laborategitik laborategiko batarekin (kafea hartzera, hitz egitera, klasera...).
3. Laborategian **jatea** (txiklea mastekatzea barne), **edatea edo erretzea debekatuta dago**. Ekiditu eskuak zein beste edozein objektu ahoratzea. Ez haginka egin boligrafoari. Ez ukitu aurpegia, begiak eta abar.
4. Ezer egin baino lehen, **protokoloa irakurri**. Zer egin behar den eta nola egin behar den aurrez jakiteak istripuak gutxitzen ditu eta denbora hobeto erabiltzea baimentzen du.
5. Praktika egun bakoitzaren hasieran azalpen labur bat emango da. Ez hasi lanean azalpenak eta protokoloa irakurri baino lehen. Metodoa edo esperimentuaren helburua ulertzen ez duzunean, **galdetu irakasleari**.
6. Praktika hazterakoan desinfektatu lan-eremua desinfektatzailearekin (desinfektatzailea paper xurgatzaile batekin zabaldu mahai gainean eta lehortzen utzi). Prozedura bera errepikatu lana amaitutakoan. Praktika amaitzean mahaia txukundu.
7. Erabilitako gauza guztiak izen, talde, data eta esperimentuarekin errotulatu, era horretan materialaren erabilera ez-zuzena ekidingo baitugu.
8. Lanean zehar, kontaminazioak erraz ditzaketen **aire-korronteak ekidin**. Saiodi esterilak edo kultibodunak tentengailuetan bertikalki mantendu behar dira. Sekula ez mahai gainean etzanda.
9. Praktiketan egindakoaren ohar guztiak laborategiko koadernoan idatzi.
10. **Kontuz metxeroekin**, batez ere metxeroaren bestaldean dagoen zerbait hartu nahi denean. Istripuak ekiditeko, itzali metxeroak behar ez direnean.
11. **Kutsatutako material guztia** eta erabiliko ez diren kultibo guztiak garbitu edo bota baino lehen, esterilizatu beharra dago. Esterilizatu beharreko materiala ontzi egokietan utzi. Pipetak, portak eta estalkiak mahaian dauden lixibadun untxietara botako dira.
12. Paperak, pospoloak eta beste material ez kutsagarriak zakar-ontzira botako dira. Inoiz ere ez, harraskara.
13. **Laborategitik atera baino lehen**, bai aldi batez edo behin-betiko, **eskuak xaboi germizidaz garbitu behar dira**.
14. **Edozein istripu edo arazoren aurrean (ebaketak, erredurak, kultiboen isurketak...), irakasleari jakinarazi berehala dagokion neurriak har daitezen.**

ZELULA-ESEKIDUREN AZTERKETA: KONTZENTRAZIOAREN ETA ZELULEN BIDERAGARRITASUNAREN KALKULUA ZELULAK KONTATZEKO GANBARETAN

SARRERA

Zelulak erabiltzen dituen edozein lan esperimentalean, immunologiarekin erlazionatutako hainbat ikerketetan gertatzen den bezalaxe, zelulak bizirik edota kopuru jakin eta egokian behar dira.

Zelula-esekidura baten kontzentrazioa kalkulatzeko hainbat metodo daude. Hauetariko bat, kontatzeko ganbara batetan, lagina zuzenean mikroskopioan behatu eta zelulak zenbatzea da. Orokorrean, oso metodo erabilgarria da, erraza eta merkea izateagatik. Nahiz eta kontatzeko ganbara mota asko egon, funtzionamenduaren oinarria berdina da kasu guztietan. Ganbara hauek porta bereziak dira, eta haien arteko desberdintasun nagusia, ganbara bakoitzak landuta daukan saretxoan datza. Azalera ezaguna duen sare hori da, hain zuzen, zelulak zenbatzeko lekua. Sare honen gainean sartzen den laginaren bolumena finko eta ezaguna da. Beraz, bolumen txiki horretan (normalean 0,1 μ l) dauden zelulak zenbatuz gero, laginaren kontzentrazioa kalkula daiteke.

Zelulen zenbaketa egiteaz gain, komenigarria edo beharrezkoa izaten da zelulen bideragarritasuna kalkulatzeko, adibidez zenbait bizi-tindaketaren bidez. Hainbat bizi-tindatzaile daude eta Trypan urdina da erabilienetarikoa bat odol-zelulentzako. Koloratzaile hau, bizirik dauden zeluletatik kanporatzen da, baina hildako zeluletan (mintzeko osotasuna galdu dutenak), barrura sartu eta zelulak urdinez tindatzen dira.

HELBURUA

- Trypan urdinarekin egindako bizi-tindaketaren bidez zelulen bideragarritasuna kalkulatzeko.
- Kontatzeko ganbara batetan (Neubauer edo Thoma) zelulen kontzentrazioa kalkulatzeko.
- Zelula-esekidura baten kontzentrazioa, kontzentrazio egokira doitzeko (kontzentratzea edo diluitzea).

MATERIALA

- Zelula-esekidurak:
 - Makrofagoen esekidura
 - Legamien esekidura
- *Kultibatutako zelula-populazioak ikasleei emango zaizkie kontaketa eta bideragarritasun-kalkuluak egiteko.
- PBS tanpoia (*Phosphate Buffered Saline*), pH 7,2
- Trypan urdina tindatzailea (*Trypan blue*)
- Plastikozko 1,5 ml-ko eppendorf hodiak
- Mikropipetak eta mikropipetentzako puntak
- Mikroskopio optikoa
- Zelulak kontatzeko ganbara (Thoma edo Neubauer)
- Estalkiak
- Xukapapera

METODOLOGIA (PRAKTIKAREN GARAPENA)

A) Neubauer kontatzeko ganbararen erabilera (1. irudia)

Ganbara honen kontatzeko lauki-sarea 9 lauki handiz osatuta dago, bakoitza 1 mm²-ko azalerarekin.

Erdiko lauki handia, 25 lauki ertainetan bananduta dago, eta hauetariko bakoitzak 16 lauki txiki dauzka barruan.

Izkinetako 4 lauki handiak (1. irudian “E” hizkiarekin markatuta) 16 lauki ertainez osatuta daude.

Kontaketa egin daiteke bai erdiko lauki handian, bai izkinetakoetan, ikertzen diren zelulen tamainaren arabera.

Lagina estalkiaren azpian jartzen dugunean, zelula-esekidurak 0,1 mm-ko altuera izango du. Datu hauek guztiak kontuan izanik, lauki handi baten gainean kokatutako bolumena hurrengoa izango da:

$$1 \times 1 \times 0,1 = 0,1 \text{ mm}^3 = 10^{-4} \text{ ml}$$

Mikroskopiaoren 10x objektiboarekin, zenbatzeko aldea bilatzen da (lauki handi bat). Zelulak zenbatzeko 40x objektiboa erabiltzen da. Lauki ertain guztietan dauden zelulak kontatzen dira (25 lauki ertain, erdiko lauki handian zenbatu nahi bada edo 16, izkinetako laukiren bat aukeratuz gero) hurrengo irizpidea jarraituz:

Lauki ertain guztien barruan dauden zelulak zenbatzen dira, goiko eta eskuineko aldea ukitzen daudenak barne (nahiz eta zelularen erdia edo gehiago laukiaren kanpo egon).

N zelula zenbatzen badira lauki handi batetan, ikertzen ari den laginaren kontzentrazioa hurrengoa izango da:

$$N \times 10^4 \text{ zelula/ml}$$

Kontaketa hau egiteko, hasierako lagina diluitu edo kontzentratu behar izan bada, faktore hau (f) kontutan eduki behar da:

$$N \times 10^4 \times f \text{ zelula/ml}$$

$$[\text{Hasierako zelula-esekidura}] = [\text{diluitutako zelula-esekidura}] \times \text{diluzio-faktorea}$$

B) Thoma kontatzeko ganbararen erabilera (2. irudia)

Ganbara honen kontatzeko lauki-sarea, 1 mm²-ko azalera duen lauki handi bakar batez osatuta dago.

Erdiko lauki handi hau 16 lauki ertainetan bananduta dago, eta hauetariko bakoitzak 16 lauki txiki dauzka barruan.

Lagina estalkiaren azpian jartzen dugunean, zelula-esekidurak 0,1 mm-ko altuera izango du. Datu hauek guztiak kontuan izanik, erdiko lauki handi baten gainean kokatutako bolumena hurrengoa izango da:

$$1 \times 1 \times 0,1 = 0,1 \text{ mm}^3 = 10^{-4} \text{ ml}$$

Mikroskopiaoren 10x objektiboarekin, zenbatzeko aldea bilatzen da (lauki handia). Zelulak zenbatzeko 40x objektiboa erabiltzen da. Hamasei lauki ertainetan dauden zelula guztiak kontatzen dira hurrengo irizpide hau jarraituz:

Lauki ertain guztien barruan dauden zelulak zenbatzen dira, goiko eta eskuineko aldea ukitzen daudenak barne (nahiz eta zelularen erdia edo gehiago laukitik kanpo egon).

N zelula zenbatzen badira lauki handian (16 lauki ertainetan), ikertzen ari den laginaren kontzentrazioa hurrengoa izango da:

$$N \times 10^4 \text{ zelula/ml}$$

Kontaketa hau egiteko, hasierako lagina diluitu edo kontzentratu behar izan bada, faktore hau (f) kontutan eduki behar da:

$$N \times 10^4 \times f \text{ zelula/ml},$$

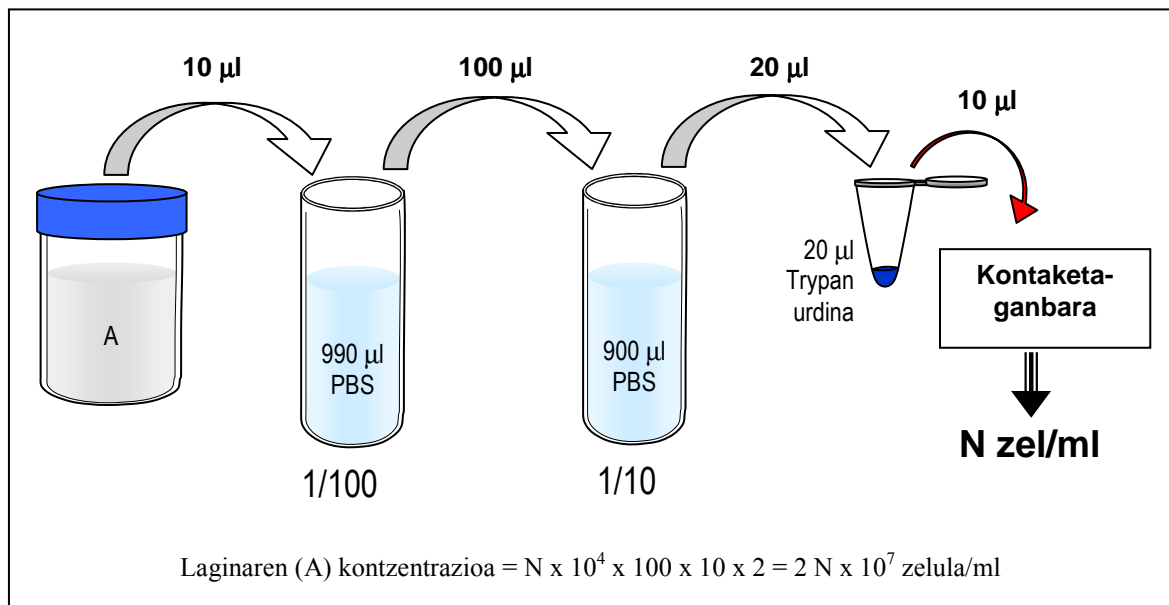
$$[\text{Hasierako zelula-esekidura}] = [\text{diluitutako zelula-esekidura}] \times \text{diluzio-faktorea}$$

C) Zelulen bideragarritasunaren kalkulua: bizi-tindaketa Trypan urdinarekin

1. Zelula-esekiduren 10 µl hartu pipetarekin, eta Trypan urdina koloratzailearen bolumen berdinarekin (1:1 proportzioan) poliki-poliki nahastu eppendorf hodi batetan.
2. Nahastea homogeneousatu mikropipetarekin bolumen osoa 5 bider hartu eta askatuz. Prozedura hau kontu handiz egin behar da makrofagei kalte ez egiteko.
3. Lagina kontatzeko ganbaran jarri eta mikroskopiaan behatu (40x objektiboarekin).
4. Zelula guztiak kontatu, eta hauetatik, bereizi zenbat dauden hilda, hau da, zenbat tindatu diren urdinez. Irakurketa 5 minutu baino lehen egin behar da, koloratzaile berak denborarekin bideragarritasuna gutxitzen duelako.
5. Bideragarritasuna kalkulatu hurrengo formulaz baliatuz:

Bideragarritasunaren ehunekoa = (bizirik dauden zelula-kopurua/ zelula-kopuru osoa) x 100

Zelula bideragarriekin lan egiteko gutxieneko bideragarritasuna % 86 izan behar da.



3. irudia. Trypan urdinarekin egindako bizi-tindaketa

D) Zelulen kontaketa:

1. Kontatzeko ganbara garbitu urarekin eta xukatu paperarekin.
2. Kontatzeko ganbarak dituen gune berezien gainean beirazko estalki bat ipini.
3. Behar izanez gero bizi-tindaketa egin (bideragarritasuna kalkulatzeko).
4. Lagina homogeneousatu eta ikertzen ari garen zelula-esekiduratik bolumen txiki bat (~10 µl) kontatzeko ganbaran jarri. Horretarako, mikropipetaren puntarekin leunki ukitu porta, eta lagina kapilaritatez utzi pasatzen portaren eta estalkiaren artean.
5. Lauki handi bat 10x objektiboarekin fokatu, eta gero, 40x objektiboarekin lauki ertain bat behatu.
6. Lauki handi bateko lauki ertain guztietan dauden zelulak zenbatu, “kontatzeko ganbararen erabilera” atalean azaldutako irizpideak jarraituz.
7. Hasierako zelula-esekiduraren kontzentrazioa eta bideragarritasuna kalkulatu.

E) Kontzentrazioaren doitzea:

Kontzentrazio jakin batera doiketa egiteko, daukagun zelula-esekiduraren kontzentrazioa zein den (aurrez kalkulatuta) kontutan hartu behar da:

- A. Daukagun zelulen kontzentrazioa baino kontzentrazio txikiagoa behar bada, lagina diluitu egin behar da, eta horretarako medio edo tanpoiaren bolumen egokia erabiliko da.
- B. Daukagun zelula kontzentrazioa baino kontzentrazio altuagoa behar bada, lagina kontzentratu egin behar da, eta horretarako, normalean lagina zentrifugatu (edo kasu batzuetan filtratu), laginaren bolumen guztia edo bolumena partzialki kendu eta bolumen egokira doitzen da.

Esekidurako zelula-kopurua = esekiduraren kontzentrazioa x esekiduraren bolumena

F) Emaitzen irakurketa eta interpretazioa

1. Zelulen kontzentrazioaren kalkulua:

Zelulak zenbatzeko 40x objektiboarekin, lauki handi bateko lauki ertainen barruan dauden zelula guztiak kontatzen dira. Lauki ertainetan goiko eta eskuineko aldeak ukitzen dauden zelulak kontatu behar dira, nahiz eta zelularen erdia edo gehiago laukitik kanpo egon (ikusi Neubauer edo Thoma kontatzeko ganbaran erabilera).

Kontatzeko ganbaran jarri den esekiduraren kontzentrazioa honako hau izango da: $N \times 10^4$ zelula/ml, non N, lauki handi bateko lauki ertain guztietan dauden zelula kopurua da (Neubauer ganbaran 25 lauki ertain eta Thoma ganbaran 16 lauki ertain).

Hasierako lagina diluitu edo kontzentratu egin bada kontaketa egiteko, diluzio edo kontzentrazio faktorea (f) kontutan hartu behar da hasierako esekiduraren benetako kontzentrazioa kalkulatzeko: $N \times 10^4 \times f$ zelula/ml

Nahiz eta zelula-kopurua kontagarria izan, gerta daiteke oso altua izatea. Kasu hauetan, posiblea da lauki handietatik ondo bananduta dauden zenbait lauki ertain bakarrik aukeratzea (esaterako, Neubauer ganbaran 5 lauki ertain edo Thoma ganbaran 6 lauki ertain) eta bertan dauden zelulak zenbatzea. Datu horietatik estrapolazio bat egin daiteke lauki ertain guztietan zenbat zelula dauden kalkulatzeko. Hiruko erregela eginez, 16 edo 25 lauki ertainetan zenbat zelula dauden kalkulatzeko da.

2. Zelulen bideragarritasunaren kalkulua:

Trypan urdinarekin tindatuta ez dauden zelulak (bizirik daudenak) zenbatzen dira, eta aldi berean, urdinez tindatuta daudenak (hildako zelulak). Datu hauekin bideragarritasuna kalkulatzeko da:

$$\text{Bideragarritasuna} = (\text{Bizirik dauden zelula-kopurua} / \text{zelula-kopuru osoa}) \times 100$$

3. Kontzentrazioaren doiketa:

- 3.1. Hasierako esekidura behar dena baino kontzentrazio altuagoan badago, diluzio-faktore egokia erabiliz, PBS-an diluituko da.
- 3.2. Hasierako esekidura, behar dena baino kontzentrazio baxuagoan badago, zentrifugazioz kontzentratuko da. Gainjalkina kendu ondoren, PBS tanpoiaren bolumen egokian esekidura berria prestatzen da.

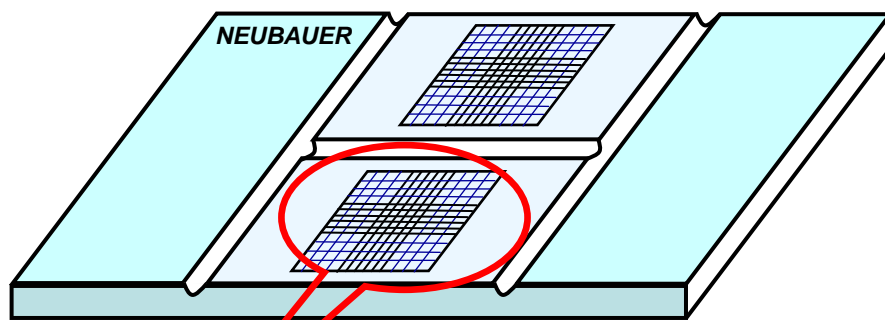
$$[\text{Hasierako esekidura}] = [\text{diluitutako esekidura}] \times \text{diluzio-faktorea}$$

Hasierako esekiduretatik abiatuta hurrengo kontzentrazioak lortu:

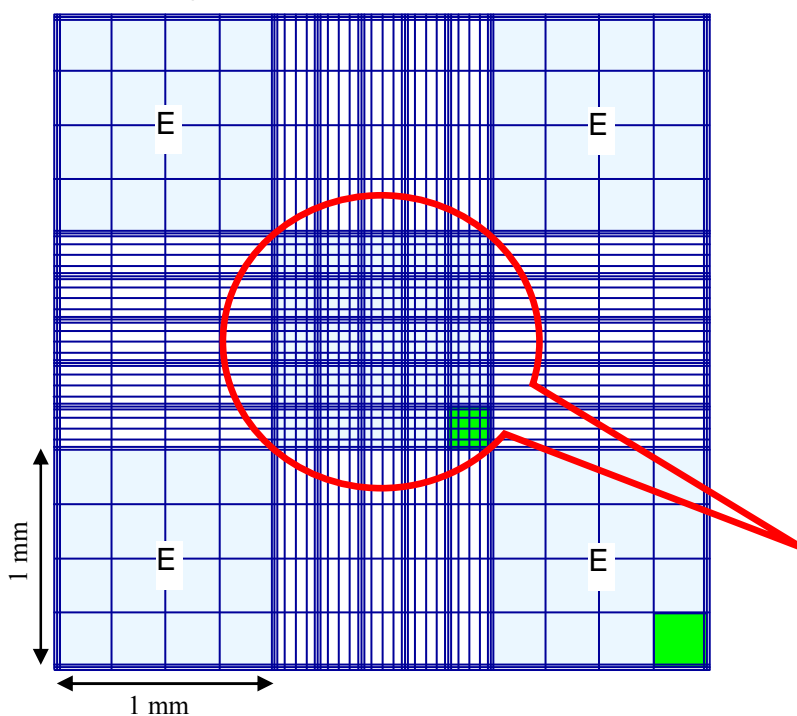
- a. 2×10^6 makrofago/ml eta 5×10^8 makrofago/ml
- b. 2×10^7 legamia/ml eta 5×10^9 legamia/ml

PRAKTIKAREN EMAITZAK

- Bideragarritasunaren ehunekoa
- Zelulen kontzentrazioa
- Kontzentrazioaren doiketaren kalkulua eta zelula-esekidura berria lortzeko era

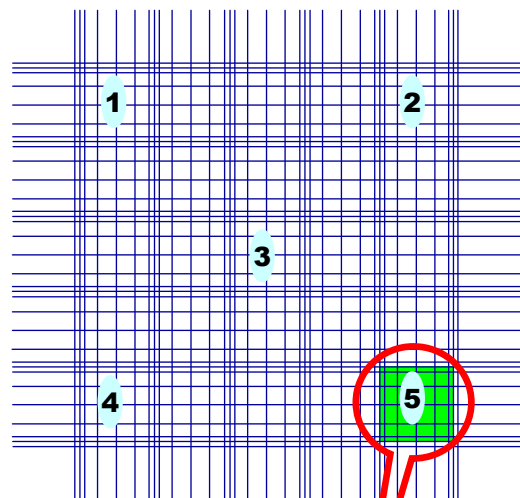


10x objektiboarekin



Erdiko karratu handiko 25 karratu ertain guztietan dauden zelulak zenbatu behar dira (karratu ertain bakoitzak 16 karratu txiki dauzka). Posiblea da, “E” izeneko izkinetako lauki handietan 16 karratu ertain guztietan dauden zelulak zenbatzea.

Karratu handi bakoitzaren bolumena = $0,1 \mu\text{l} = 10^{-4} \text{ ml}$



Kontaketa-irizpidea:

Karratu ertain bakoitzaren barruan dauden zelulak zenbatu behar dira (karratuaren goiko eta eskuineko izkinak ukitzen daudenak barne).

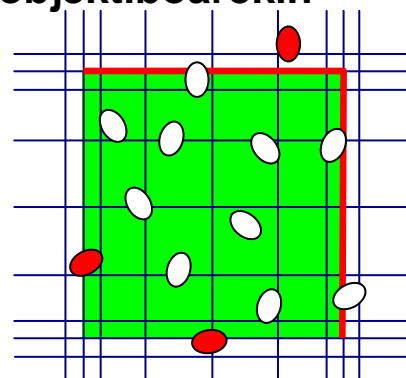
Kontatzeko ganbaran ipini dugun laginaren kontzentrazioa:

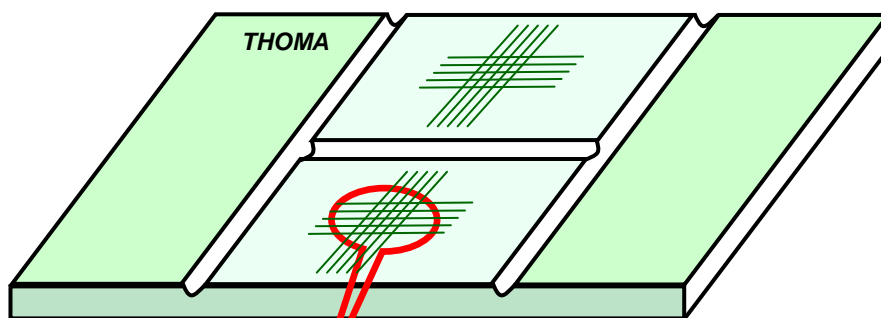
$$N \times 10^4 \text{ zelula/ml}$$

$N = 25$ karratu ertainetan dauden zelulen kopurua

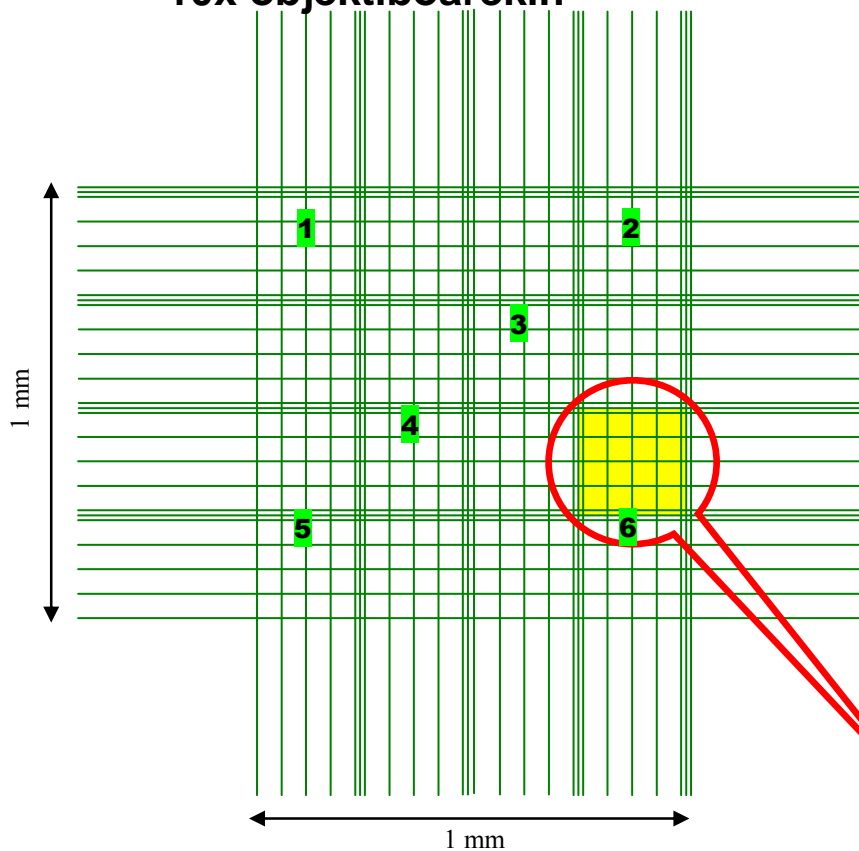
Maiz, soilik 1-5 zenbakiekin markatutako karratu ertainetan dauden zelulak zenbatzen dira, eta gero karratu handian dauden zelulen kopurua kalkulatzen da.

40x objektiboarekin





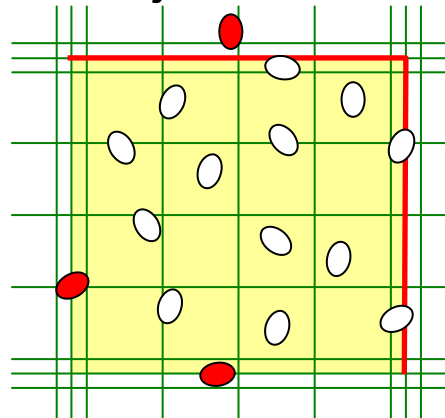
10x objektiboarekin



Erdiko lauki handian dauden zelulak zenbatu. Hau da, 16 karratu ertain guztietan (bakoitza 16 karratu txikiekin) dauden zelulak zenbatu behar dira.

16 karratu ertainen bolumena (karratu handi bat)
 $= 0,1 \mu\text{l} = 10^{-4} \text{ ml}$

40x objektiboarekin



Kontaketa-irizpidea:

Karratu ertain bakoitzaren barruan dauden zelulak zenbatu behar dira (karratuaren goiko eta eskuineko izkinak ukitzen daudenak barne).

Kontatzeko ganbaran ipini dugun laginaren kontzentrazioa:

$$N \times 10^4 \text{ zelula/ml}$$

$N = 16$ karratu ertainetan dauden zelulen kopurua

Zelulen kontzentrazioa oso altua denean, soilik 1-6 zenbakiekin markatutako karratu ertainetan dauden zelulak zenbatu daitezke, eta gero karratu handian dauden zelulen kopurua kalkulatzen da.

Zelulen kontaketei buruzko galderak

Esan hurrengo baieztapenak egia ala gezurra diren:

1. Makrofagoen bideragarritasuna, zelulak Trypan urdinarekin tindatzen direlako ezagut daiteke.
2. Trypan urdina bizi-koloratzailea da.
3. Guztira 8×10^6 zelulak ditugu. Hauetatik % 20 Trypan urdinarekin tindatuta dago, hau da, $1,6 \times 10^6$ zelula bideragarriak dira.
4. Zelula-esekidura baten bideragarritasuna % 90 da eta zelulen kontzentrazioa 5×10^6 zelula/ml. Esekiduraren 2 ml-tan 9×10^6 zelula bizirik daude.
5. Zelulak zenbatzeko ganbara batetan zenbaketa egin eta gero, emaitza hurrengoa da: $N \times 10^4$ + diluzio faktorea, non N ganbararen erdiko lauki handian dauden zelulen kopurua den.
6. “A” zelula-esekiduraren 1 ml-tik hasita, kontatzeko ganbararen erdiko lauki handian 250 zelula zenbatzen dira. “B” esekidura berriaren 2 ml prestatzeko ($2,5 \times 10^5$ zelula/ml kontzentrazioan), “A” esekiduraren eta PBS-aren ml bana nahastu behar dira.
7. “X” zelula-esekidura baten 1/100 diluziotik 10 mikrolito jarri ditugu kontatzeko ganbaran. Erdiko laukian 48 *Candida albicans*-en zelula zenbatu dira. Hasierako “X” esekiduraren kontzentrazioa $4,8 \times 10^6$ zelula/ml da.
8. Kontatzeko ganbara baten erdiko laukian 250 zelula zenbatzen dira. Hasierako esekiduraren 2 ml-tako esekiduratik abiatuta 10^6 zel/ml-ko kontzentrazioa lortzeko, 3 ml PBS gehitu beharko dira.
9. Esekidura baten kontzentrazioa 2×10^8 zelula/ml da. Beaz, 6×10^7 zelula edukitzeko 300 mikrolitro hartu behar dira.
10. “A” esekiduraren 1/100 diluzioa egin eta gero, zelulak zenbatzen dira. Kontatzeko ganbararen erdiko lauki handian 150 zelula zenbatzen dira. “B” esekidura berriaren 1 ml lortzeko, 3×10^6 zelula/ml-ko kontzentrazioan, “A” esekiduraren 200 mikrolitro eta PBS-ren 800 mikrolito nahastu behar dira.

Zelula-esekiduren kontzentrazioari buruzko ariketak

1. Esekidura (*suspensión*) zelular baten kontzentrazioa 5×10^6 zelula/ml da. Zenbat zelula edukiko ditugu 30 ml-tan?, eta 50 μ l-tan?
2. Esekidura zelular baten 150 μ l-tan 3×10^3 zelula daude. Zein da esekidura honen kontzentrazioa?
3. Esekidura zelular baten 1/250 diluzioa egin dugu zelulak zenbatzeko. Kontatzeko ganbararen 6 karratu ertainetan, 150 zelula zenbatu baditugu, zein izango da hasierako esekiduraren kontzentrazioa?
4. Demagun, Thoma kontatzeko ganbara batetan, 300 legamia zenbatu ditugula 16 karratu ertainetan.
 - a. Zein da esekiduraren kontzentrazioa?
 - b. Zenbaketa, 1/100 diluzio egin eta gero burutu bada, zein da hasierako esekiduraren kontzentrazioa?
 - c. Zenbaketa, 1/15 diluzio egin eta gero burutu bada, zein da hasierako esekiduraren kontzentrazioa?
 - d. Zenbatu ahal izateko, geneukan esekidura 5 bider kontzentratu badugu, zein izango da hasierako esekiduraren kontzentrazioa?
 - e. 10^6 zelula/ml-ko esekidura berria lortzeko, zer egin beharko genuke? Nola?
 - f. 10^8 zelula/ml-ko esekidura berria lortzeko, zer egin beharko genuke? Nola?
5. Esekidura zelular bat daukagu, 5×10^6 zelula/ml kontzentrazioarekin.
 - a. Zenbat zelula egongo dira 150 μ l-tan?
 - b. Zenbat ml beharko ditugu 9×10^8 zelulak lortzeko?
6. Esekidura zelular bi dauzkagu (A eta B). A esekiduraren 150 μ l-tan 3×10^6 zelula dauzkagu. B esekiduraren 250 ml-en kontzentrazioa 10^4 zelula/ml da. A esekiduraren 150 μ l eta B esekiduraren 250 ml saiodi batetan nahasten baditugu, D esekidura edukiko dugu.
 - a. Zein izango da esekidura berri honen kontzentrazioa (D-rena)?
 - b. Zenbat zelula edukiko ditugu nahasketa egin eta gero?
7. Esekidura zelular baten 10 μ l ipini ditugu kontatzeko ganbara batetan. Zelulak zenbatu eta gero, batez beste 30 zelula/karratu ertain dauzkagu.
 - a. Zein da gure esekiduraren kontzentrazioa? (zelula/ml)
 - b. Zenbat zelula egongo dira, 25 ml-ko esekidura badaukagu?
 - c. Zer egin beharko dugu 5 ml-ko esekidura berri bat prestatzeko 10^6 zelula/ml kontzentrazioarekin?
 - d. Zer egin beharko dugu 1 ml-ko esekidura berri bat prestatzeko 10^7 zelula/ml kontzentrazioarekin?
8. Esekidura zelular baten 1/10 diluzioa egin dugu. Kontatzeko ganbara batetan lagina ipini ondoren, 16 karratuetan 100 zelula zenbatzen ditugu.
 - a. Zein da, esekiduraren hasierako kontzentrazioa?
 - b. 5 ml-ko esekidura berri bat 5×10^7 zelula/ml kontzentrazioarekin behar badugu, nola lortuko dugu hau?
 - c. 5 ml-ko esekidura berri bat 10^6 zelula/ml kontzentrazioarekin behar dugu. Zer egingo dugu esekidura hau lortzeko?
9. Zelula-esekidura baten kontzentrazioa kalkulatzeko Thoma kontatzeko ganbaran 100 zelula zenbatu ditugu 8 karratu ertainetan.
 - a. Zenbat hartu behar dugu 10^6 zelula edukitzeko?

- b. Zenbat diluitzaile gehitu behar diogu 2 ml-ko hasierako esekiduratik 10^6 zelula /ml-ko kontzentrazio berrira doitzeko?
10. Botila batetan (A) dauden 55 ml-ko legamia-esekiduraren kontzentrazioa $6,3 \times 10^4$ zelula/ml da.
- Zenbat zelula edukiko ditugu botilan?
 - 10 ml hartu eta beste botila batetan (B) jartzen dugu, zein izango da zelula-esekidura honen kontzentrazioa?
 - B botilan 20 ml PBS gehitzen badugu, zein izango da kontzentrazioa?
11. Legamia-esekidura baten 3,55 ml dauzkagu. Thoma kontatzeko ganbaran 10 μ l jartzen ditugu eta 8 karratu ertainetan 80 zelula zenbatu ditugu.
- Zein da esekidura honen kontzentrazioa?
 - Nola lor dezakegu 10 ml-ko zelula-esekidura berria 7×10^5 zelula/ml kontzentrazioarekin.
12. Zelula-esekidura baten 250 ml hartu eta 1250 ml PBS-rekin nahastu dugu. Thoma ganbaran 10 karratu ertainetan 180 zelula zenbatu ditugu.
- Zein izango da hasierako esekiduraren kontzentrazioa?
 - Nola lortuko dugu 3 ml-ko esekidura berri bat 8×10^8 zelula/ml kontzentrazioarekin?
 - Eta 25 ml 3×10^5 zelula/ml kontzentrazioarekin?
13. A esekiduraren 2 ml-tan kontzentrazioa 2×10^6 zelula/ml da, eta B esekiduraren 15 ml-tan kontzentrazioa 5×10^4 da. Biak nahasten baditugu,
- Zein izango da zelula-esekidura berriaren kontzentrazioa?
 - Nahasketa egin ondoren, zenbat zelula dauzkagu?
 - Zelula-esekidura berritik 5 ml hartzen baditugu eta 275 ml PBS-an nahasten baditugu, zein izango da kontzentrazio berria?
14. Hiru zelula-esekidura dauzkagu (A, B eta C). A esekiduraren kontzentrazioa 10^5 zelula/ml da, B esekiduraren 10 ml-tan 5000 zelula daude eta C esekiduraren 15 ml-ko kontzentrazioa kalkulatzeko, kontatzeko ganbaran 115 zelula zenbatu ditugu. A esekiduraren 10^4 zelula, B esekiduraren 8 ml eta C esekiduraren 0,25 ml nahasten baditugu botila batetan, D esekidura lortuko dugu.
- Zein izango da esekidura berri honen kontzentrazioa (D-rena)?
 - Zenbat zelula edukiko ditugu nahasketa egin eta gero?
15. Zelula-esekidura baten 1/100 diluzioa egin eta gero konturatzen gara zelula gehiegi daudela kontatzeko ganbaran eta beste 1/50 diluzio bat egiten dugu. Zelulak Thoma ganbaran zenbatu ditugu, batez beste, 45 zelula/karratu ertain bakoitzean.
- Zein da gure esekiduraren kontzentrazioa? (zelula/ml)
 - Zenbat zelula egongo dira, 15 ml-ko esekidura badaukagu?
 - Zer egin beharko dugu 25 ml-ko esekidura berri bat prestatzeko 10^8 zelula/ml kontzentrazioarekin?
 - Zer egin beharko dugu 10 ml-ko esekidura berri bat prestatzeko 10^{11} zelula/ml kontzentrazioarekin?

MAKROFAGOEN FAGOZITOSI-AHALMENAREN BALORAZIOA

SARRERA

Fagozitoak, odolean eta ehunean hainbat materiala irentsi eta suntsitzen duten zelulak dira. Materiala hauek mikroorganismoak, hondakinak, partikula kaltegarriak eta zelula hilak izan daitezke. Sistema immuneak patogenoak ezabatzeko erabiltzen duen mekanismo nagusietariko bat fagozitosia da. Hau dela eta, zelulen ekintza fagozitikoaren neurketa ostalariaren sistema immune innatoaren eraginkortasunarekin erlazionatzen da. Makrofagoek egindako fagozitosia funtsezkoa da linfotzitoi antigenoen aurkezpena egiteko eta honekin batera, patogenoaren kontrako erantzun immune espezifiko proposa lortzeko. Hau dela eta, fagozitosiaren eskasiek, zenbait mikroorganismoen kontrako erantzun immune espezifikoetan ere eragina dute (bakterio eta onddoak besteak beste), baita immunokonplexuen ezabaketan eta erantzun immune espezifiko eragikorraren beste akats batzuetan.

Fagozitoetan agertzen diren akatsek gaixotasun larriak sortarazten dituzte, adibidez, Chediak-Higashi-ren sindromea eta gaixotasun granulomatoso kronikoa. Gaixotasun hauek pairatzen dituzten pertsonak, birulentzi gutxiko mikroorganismoekiko infektibera/sentibera bihurtzen dira.

Odolean, zelula fagozitiko nagusia neutrofiloa da, eta ehunetan, makrofagoa. Makrofagoak, ehun konektiboetan eta zenbait organoetan sakabanatuta daude (gibela, barea, birika edo linfa-gongoiletan), non asteak edo hilabeteak bizirauten dute.

Infekzio bat sortzen denean, hainbat seinale sortzen dira infekzio-gunean. Seinale hauek fagozitoak erakarri eta kaltetutako ehunera joanarazten dituzte (kimiataxia) agente infekziosoak suntsitzeko. Odoleko fagozitoek, odol-hodien pareta zeharkatu behar dute (diapedesia) infekzio-fokura heltzeko.

Fagozitoa eta suntsitu behar den materiala topatzen direnean, fagozitosia gertatzen da. Fagozitosian, mintzak partikula solidoak bildu eta barneratu ondoren, barruko fagosoma baten barruan partikula hauek degradatzen dira.

Fagozitosia lau urratsetan banandu daiteke:

1. Atxikidura
2. Irenstea
3. Digestioa
4. Exozitosia

Klinikan, ekintza fagozitikoa ebaluatzeko, prozesu honen urrats desberdinak neurtzen dituzten laborategiko probak egiten dira. Maiz, ikertzen diren zelula fagozitikoen jatorria, gaixotasun konkretuak jasaten dituzten indibiduoarenak dira. Kasu hauetan, fagozitosiaren zein urratsean egon daitekeen akatsa ikertzen da.

Gaur egun, zelulen fagozitosi-ahalmena zenbait tekniken bidez iker daiteke, hauen artean, isotopo erradioaktiboak erabiltzen dituen fluxu-zitometria. Ekintza fagozitikoa ebaluatzeko, porta baten gainean fagozitoek egindako partikulen irenketaren behaketa mikroskopikoa lagina tindatu ondoren, metodo erraz eta erabilgarria da. Fagozitosiaren azkenengo urratsak (digestioa), partikulen irenste arrakastatsuen menpekoak dira. Hori dela eta, fagozitosi-prozesua ebaluatzeko, irenstearen ikerketa metodo arin eta nahiko sinplea da.

Praktika hauetan, “fagozitosi” hitza erabiliko da bakarrik fagozitosi-prozesuaren atxikidura eta irenstearen urratsak definitzeko. Saguen makrofagoen fagozitosi-ahalmenaren zenbait urrats ikertuko dira, legamiak atxikitze eta irensteko ahalmena hain zuzen. Horretarako, J774 A.1 lerro zelularreko sagu-makrofagoak eta *Candida* (*C. albicans* edo *C. guilliermondii*) legamiak batera jartzen dira, behien suero fetala (FBS: *fetal bovine serum*) duen hazkuntza-medio aiposean.

HELBURUA

- Makrofagoekin (zelula fagozitikoak) eta legamiekin (fagozitatzen den antigenoa), *in vitro* fagozitosia egitea.
- Makrofagoek egindako *Candida* legamien fagozitosia mikroskopioan behatzea eta ebaluatzea.

- Praktikan erabilitako makrofagoen fagozitosi-indizea eta irensteko ahalmena kalkulatzeko.

MATERIALA

- Saguen makrofagoak: J774 A.1 lerro zelularra
- *Candida spp* legamiak: *C. albicans* edo *C. guilliermondii*
- RPMI hazkuntza-medioa (pH 7,2), % 10 FBS (*fetal bovine serum*) gehigarriarekin
- PBS tanpoia (*Phosphate Buffered Saline*), pH 7,2
- Trypan urdina tindatzailea (*Trypan blue*)
- Giemsa tindatzailea 1/20 diluitua ur distilatuan
- Alkohol metilikoa
- Murgil-olioa
- Mikropipetak eta pipetentzako puntak
- Mikroskopia optikoa
- Kontatzeko ganbara
- Portak
- Estalkiak
- Plastikozko 1,5 ml-ko eppendorf hodiak
- Eppendorf hodientzako zentrifugatzailea
- Tindatzeko euskarria eta kubeta
- Bainua 37 °C-tan
- Xukapapera

METODOLOGIA (PRAKTIKAREN GARAPENA)

A) *Candida* legamien prestaketa

1. Legamiak, Sabouraud agar glukosadunean hazten dira 37 °C-etan, 24 orduz.
2. Zelulak bildu eta PBSrekin ikuzten dira: 2500 rpm-ra, 5 minutuko zentrifugazioaren ostean gainjalkina kendu. Ikuzketa errepikatu.
3. RPMI medioan birsuspenditu, kontatzeko ganbaran zenbatu eta 2×10^7 zelula/ml kontzentrazioa doitu (begiratu 1. praktikaren protokoloa).

B) Makrofagoen prestaketa

1. J774 A.1 saguen makrofagoak inokulatu (5×10^5 zelula/ml) hazkuntza zelularreko 25 cm² azaleko ontzian, RPMI 1640 hazkuntza-medioan, 0,2 mol/L glutaminarekin, 10 U/ml antibiotikorekin eta % 10 FBS gehigarriarekin batera. Inkubazioa 37 °C-tan eta % 5 CO₂-rekin egiten da.
2. Zelula-tapizetik makrofagoak askatu. RPMI-FBS-arekin ikuzi: 1200 rpm-tara, 5 minutuz zentrifugatu eta gainjalkina kendu.
3. RPMI-FBS-an birsuspenditu, Trypan urdinarekin bizi-tindaketa egin eta kontatzeko ganbara erabiliz bideragarritasuna eta zelulen kontzentrazioa kalkulatu (1. praktikaren protokoloan begiratu).
4. Hurrengo kontzentrazioa doitu: 2×10^6 makrofago bideragarri/ml (1. praktikaren protokoloan begiratu).

C) Fagozitosiaren proba:

1. Eppendorf hodi batean jarri batera 10^6 makrofago eta 10^7 legamia (makrofago/LG ratioa = 1/10) 1 ml-ko azken bolumenean.
2. Eppendorf hodientzako zentrifugatzailean laginari pultsu bat eman eta gainjalkina kendu.
3. Makrofagoei 200 μ l RPMI-BFS gehitu eta poliki-poliki zelulak birsuspenditu.
4. Inkubatu mugimenduarekin 37 °C-tan dagoen bainuan 20 minutuz (edo, fagozitosiaren zinetika ikertzeko, hainbat inkubalditan: 5, 10, 15, 20, 25 eta 30 minutuan adibidez).
5. Inkubaldiaren ondoren, porta garbi eta siku baten ezker aldean kokatu laginaren bolumen guztia.
6. Lagina, dagoen lekutik portaren beste aldera arte, lagina mikropipetaren puntarekin hedatu (**prozedura behin bakarrik egin behar da makrofagoei kalte ez egiteko**).
7. Inguruneko tenperaturan sikatu.

D) Zelulen Giemsa tindaketa

1. Portak, euskarri finko baten gainean jarri eta tindaketa-kubetaren gainean kokatu.
2. Alkohol metilikoarekin prestakina fixatu: Porta guztia alkohol metilikoz estali eta inguruneko tenperaturan lurrintzen utzi.
3. Giemsa tindatzailez (1/20 diluitua uretan) porta estali eta 2-5 minutu itxaron.
4. Dekantatu eta ur distilatuarekin ondo garbitu.
5. Lehortzen utzi (porta kontu handiz xukapaperarekin sika daiteke gehiegizko ura har dezan).

E) Irakurketa eta emaitzen interpretazioa:

1. Ez da estalkirik jarri behar. Lagin gainean murgil-olioaren tanta bat jarri.
2. Mikroskopia optikoan 1000 handipenarekin behatu lagina.
3. Legamiak urdin iluna-moreaz tindatuta egon behar dira eta makrofagoak kolore berdintsua baina argiagoa. Makrofagoetan nukleoa ilunago ikusten da eta zitoplasma urdin-larrosa argia. Zenbait kasutan, mikroskopiaaren mikrometroa mugitzean makrofagoen mintzak argi ikusten dira eta bereiz daiteke makrofagoak fagozitatzen ari diren edo fagozitatuta gabeko legamien ondoan dauden.
4. Gutxienez 100 makrofago zenbatu behar dira. Zenbat makrofagok duten atxikitako edota irentsitako legamiak aztertu behar da, eta baita, zenbatu egin behar da atxikita edota irentsitako legamien kopurua (begiratu 1. irudia).

Fagozitosi-indizea, fagozitatzen ari diren makrofagoen ehunekoa da, eta estimazio fidagarria lortzeko gutxienez 600 makrofago kontatu behar dira.

Makrofagoen **irensteko ahalmena**, makrofago batek fagozitatzen dituen legamien batezbestekoa da, eta estimazio fidagarria lortzeko gutxienez, fagozitatzen dauden 100 makrofago kontatu behar dira.

Lorturiko datuekin hurrengo parametroak kalkula daitezke:

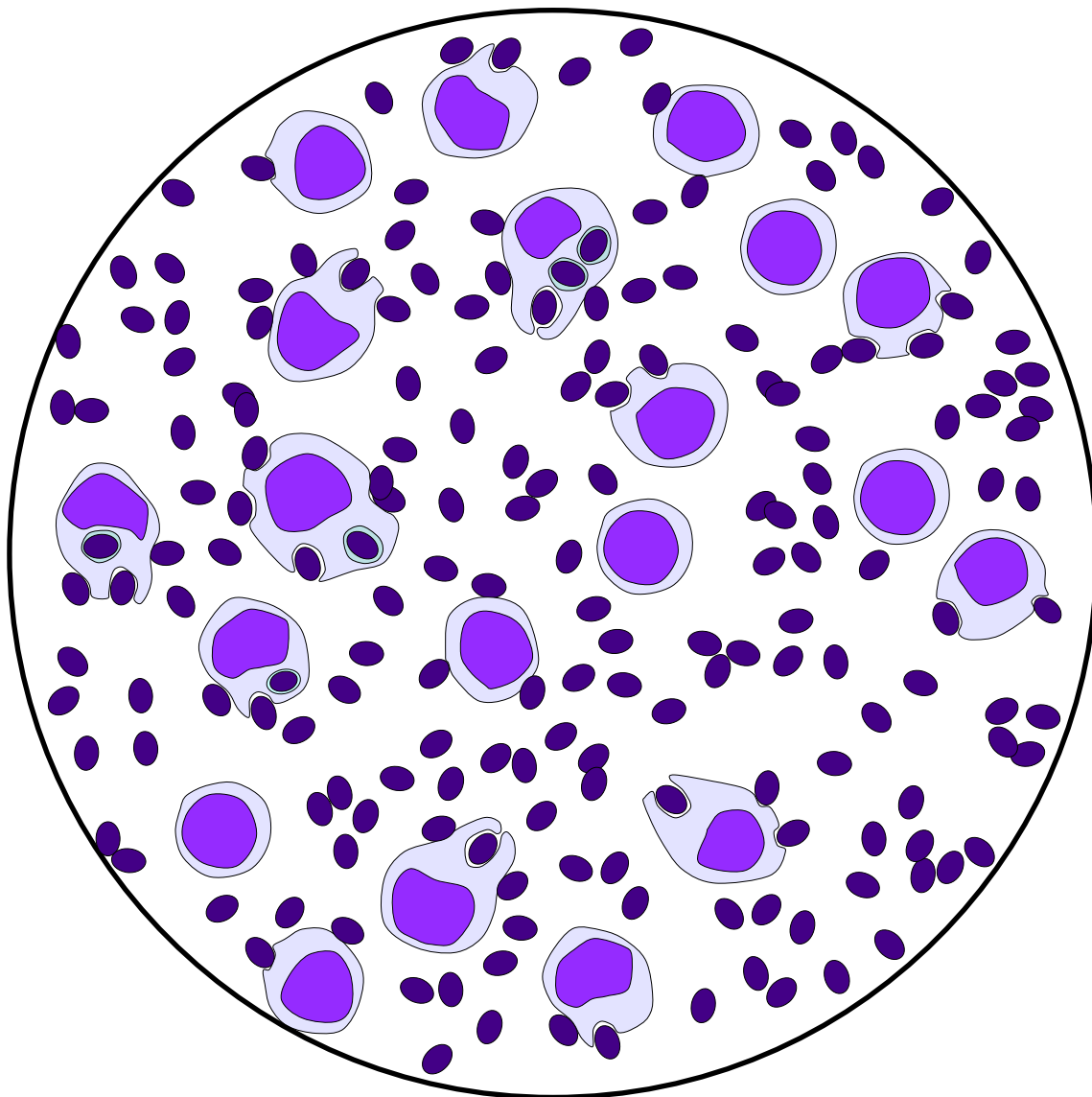
$$\text{Fagozitosi-indizea} = \frac{\text{fagozitatzen dauden makrofago-kopurua}}{\text{kontaturiko makrofago-kopurua}} \times 100$$

$$\text{Makrofagoen irensteko ahalmena} = \frac{N \text{ makrofagoek irentsitako zelula-kopurua}}{N \text{ makrofago}}$$

PRAKTIKAREN EMAITZAK

- Bideragarritasunaren ehunekoa
- Fagozitosi-indizea
- Makrofagoen irensteko ahalmena

1. irudia. Mikroskopiaan egin dezakegun fagozitosiaren behatze-eskema.



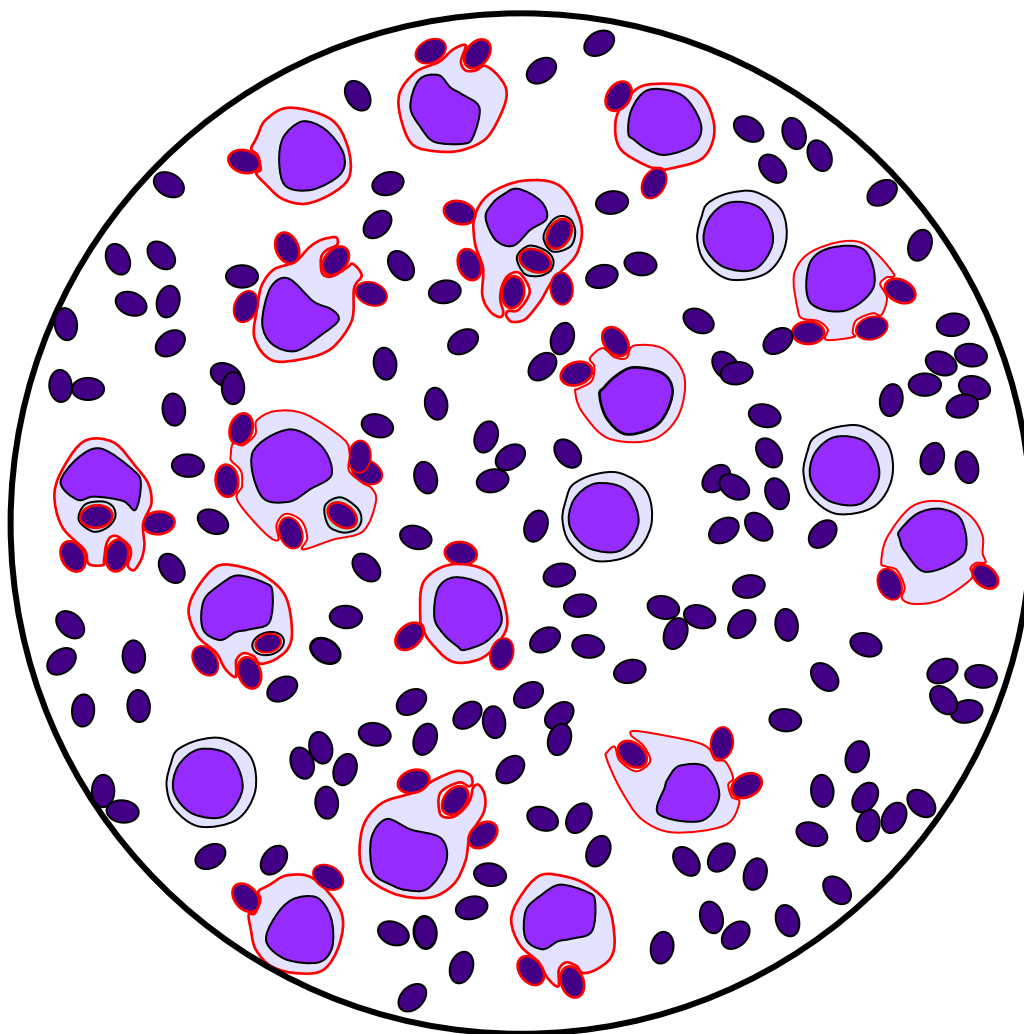
- Irudian agertzen diren 20 makrofagoetatik, 16 makrofago fagozitatzen daude.

Beraz, “**fagozitosi-indizea**” hurrengoa izango da:

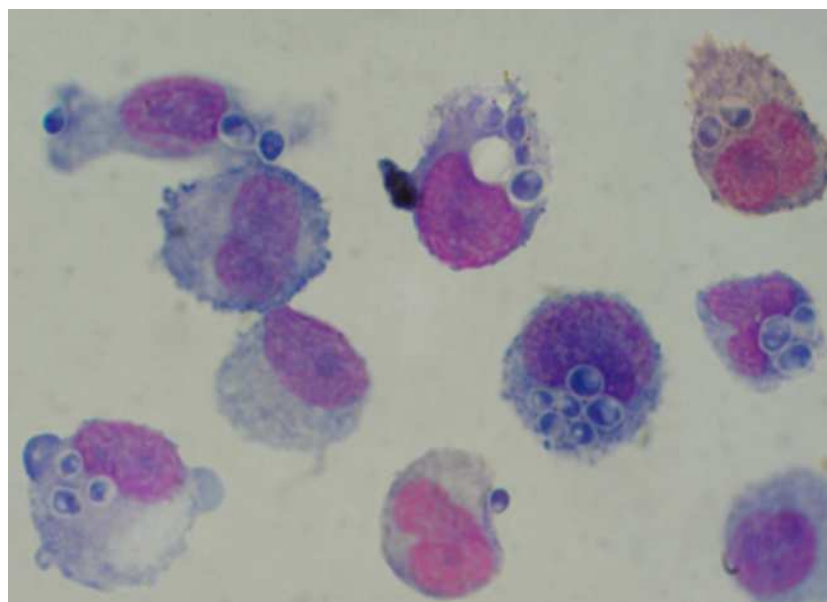
$$16 \times 100/20 = \% 80$$

- Fagozitatzen dauden 16 makrofagoek 48 legamia jan edota harrapatu dituzte:

Fagozitatzen dauden makrofagoak eta fagozitatutako edo fagozitatze-prozesuan hasi duten legamiak, gorriz agertzen dira.



Sagu-makrofagoek *Candida albicans* legamien fagozitosiaren irudia



Fagozitosiari buruzko galderak

1. Fagozitosia gertatzen den ikusteko, makrofagoak Giemsarekin tindatzen dira legamiekin nahastu baino lehen, hau da, fagozitzatu behar duten antígenoarekin.
2. Makrofagoek legamiak fagozitzatu ahal izateko, legamiak hilda egon behar dira.
3. Fagozitosia ikusi ahal izateko, fluoreszentsia-mikroskopia erabiltzen da makrofagoak Giemsarekin tindatu ondoren.
4. Giemsa tindaketak, makrofago eta legamiak urdin-moreaz tindatuta ikustea baimentzen du.
5. Fagozitzatzen ari diren 100 makrofagotan, fagozitzatutako 400 legami zenbatu dira. Ezin dugu irensteko ahalmena kalkulatu ez baitakigu fagozitzatzen ez dauden makrofagoen kopurua.
6. Fagozitzatzen ari diren 5 makrofago ikusi ditugu. Hauetan, fagozitzatutako 5, 5, 9, 10 eta 11 legami zenbatu ditugu. Beraz, irensteko ahalmena 40 da.
7. Porta batetan, 1000 makrofago zenbatu eta hauetatik 800 makrofago fagozitzatzen daude. Ez badago datu gehiagorik ezin da irensteko ahalmena kalkulatu.
8. Porta batetan, 800 makrofago zenbatu eta hauetatik 480 fagozitzatzen daude. Fagozitzatutako legamien kopurua 1440 da. Fagozitosi-indizea % 60 da.
9. Porta osoan fagozitzatzen ari diren 280 makrofago zenbatu dira eta fagozitzatzen ez dauden 120. Beraz, fagozitosi-indizea % 70 da.
10. Porta batetan, 600 makrofago zenbatu ditugu eta hauetatik 500 fagozitzatzen daude. Fagozitzatutako legamien kopurua 2500 da. Makrofagoen irensteko ahalmena 5 da.

Fagozitosiari buruzko ariketak

1. Trypan urdinarekin tindaketa egin ondoren, 10^8 zeluletatik % 25 urdinez tindatuta daude. Zenbat zelula bideragarri dauzkagu?
2. Thoma ganbaran 120 zelula zenbatu ditugu. Hauetatik 15 urdinak ziren. Zein izango da zelula bideragarrien kontzentrazioa?
3. Fagozitosia egiteko Thoma ganbaran zenbatu ditugu makrofagoak bizi-tindaketa egin eta gero. Ganbararen 8 karratu ertainetan 85 makrofago zenbatzen ditugu eta hauetatik 8 urdinak ziren. Fagozitosia egiteko 10^6 zelula/ml-ko esekidura baten 200 μ l behar ditugu. Nola prestatuko dugu zelula-esekidura hau?
4. Fagozitatzen ari diren 10 makrofago ikertu ditugu. Bakoitzak fagozitatzen dituen legamien kopuruak hauek dira: 15, 6, 12, 8, 8, 10, 9, 10, 17, 5. Zein izango da fagozitosi-indizea? Eta ingestio-ahalmena?
5. Zenbatu ditugun 500 makrofagoetatik, 400 fagozitatzen ari ziren. Zein izango da ingestio-ahalmena? Eta fagozitosi-indizea?
6. 775 makrofago zenbatu ditugu. Hauetatik, 527 fagozitatzen zeuden eta 1845 legamiak zeuzkaten fagozitatuta. Zein da ingestio-ahalmena? Zein da fagozitosi-indizea?
7. Fagozitosia egin ondoren fagozitatzen ez duten 168 makrofago eta fagozitatzen ari diren 357 makrofago zenbatu ditugu. Fagozitatutako legamien kopurua 982 da. Zein da fagozitosi-indizea? Eta ingestio-ahalmena?
8. Fagozitosia egiteko % 90 makrofago bideragarri dituen esekidura erabili da. 720 makrofago zenbatu dira, hauetatik 615 fagozitatzen zeuden eta 1895 legamia fagozitatuta zeuzkaten. Zein izango da fagozitosi-indizea? Eta ingestio-ahalmena?

ANTIGORPUTZEN DETEKZIOA IMMUNOFLUORESZENTZIA EZ-ZUZEN ETA ENTZIMOIMMUNOPROBAREN BIDEZ

Antigorputzei kobalenteki markatzaile kimiko mota ugari (*tags*) lot daitezke. Lotura honek ez du oztopatzen antigorputz eta antigenoen artean lotzeko gaitasuna, eta aldiz, antígeno edota antigorputzen detekzio espezifikorako guztiz erabilgarria da. Markatzaile hauek isotopo erradioaktiboak, entzimak edo konposagai fluoreszenteak izaten dira. Markatutako antigorputzari “konjugatua” deritzo eta honek, antigenoa lotzean sortutako immunokonplexuaren detekzioa baimentzen du, seinale erradioaktibo, kolorimetriko edo fluoreszenteen bidez, konjugatuaren naturaren arabera hurrenez hurren.

I) IMMUNOFLUORESZENTZIA EZ-ZUZENA (*Indirect ImmunoFluorescence: IIF*)

SARRERA

Immunofluoreszentzia teknikan, konjugatua fluorokromo bati kobalenteki lotutako antigorputza da. Maiz erabiltzen diren fluorokromoak fluoreszeinaren isotiozianatoa eta rodamina dira. Argi ultramoreak fluorokromoak kitzikatzen dituzenean, fluoreszentzia mikroskopioan beha daitekeen espektro ikusgaiko argi berdea (fluoreszeinaren isotiozianatoaren kasuan) edo gorria (rodaminaren kasuan) igortzen du.

Beste detekzio-sistema batzuetan bezala, immunofluoreszentzia metodo zuzena edo ez-zuzena izan daiteke (1. irudia). Teknika zuzenean, konjugatuak, laginean bilatzen den antigenoa zuzenean ezagutzen du eta horretarako antígeno “partikulatuak” (zelula eukariotoak, bakterioak edo beste partikula naturalak), porta batetan edo ebaketa histologikoetan atxikita egon behar dira.

Immunofluoreszentzia ez-zuzenean (IIF edo *indirect immunofluorescence*), lehenengo inkubazioan antigenoa eta antigorputz espezifikoaren artean immunokonplexuak osatzen dira, eta bigarren inkubazioan, konjugatuak aurrez sortutako immunokonplexuak detektatzen ditu. Zelulen inguruko fluoreszentiaren detekzioak proba positiboa dela adierazten du, eta beraz, emaitza kualitatiboa da. Laginaren zenbait diluzio ikertzen badira, adibidez suero edo listuarekin egindako diluzioak, antigorputzen tituluak kalkula daitezke, eta teknikak izaera semikuantitatiboa hartuko du.

Immunofluoreszentzia autoantigorputz eta ehunetako antigenoen detektziorako asko erabiltzen da. Teknikaren arazoen artean, irakurketaren subjektibitatea dago, eta abantailen artean, lagin berean zenbait antígeno desberdin detektatzeko aukera.

Immunofluoreszentiaren beste aplikazio bat, esekidura batetako zelulen antigenoak detektatzea da. Horretarako, fluxu-zitometroa deituriko aparailua erabiltzen da (FACS: *Fluorescence Analyzer Cell Sorter*). Fluxu-zitometroek, fluoreszentzia eta tamainaren arabera analiza ditzakete partikulak, eta banatzaile edo *sorters*-en kasuan, ezaugarri konkrituak dituzten populazioen banaketa edo purifikazioa baimentzen dute.

Immunofluoreszentzia ez-zuzena, lagin biologiko batean antígeno konkritu baten kontrako antigorputzak dauden jakiteko erabiltzen da, eta horretarako ondoren aipatzen diren urratsak jarraitzen dira (2. irudia):

1. **Antigenoaren adsortzioa portan:** Kasu honetan antigenoak zelulak dira. Antigenoa duen lagina portaren gainean sikatzen uzten da. Proba egiteko erabiltzen diren portak maiz tefloizkoak dira eta hainbat putzu dauzkate.
2. **Inkubazioa lagin-problemarekin:** Portan jarritako antigenoaren kontrako antigorputzak eduki ditzaketen lagin-problema gehitzen dira putzuetan, suero edo listua adibidez. Laginean, antigenoarekiko antigorputz espezifikoak badaude, antígeno eta antigorputza lotu, immunokonplexuak osatu eta portan adsorbituta gelditzen dira.
Lagin-problema, eta honekin batera lotuta ez dauden antigorputz guztiak kentzeko portak ikuzten dira.
3. **Konjugatuarekin inkubazioa:** Fluorokromo bati kobalenteki lotutako bigarren antigorputza (konjugatua) gehitzen da immunokonplexuak detektatzeko. Ondoren, portak ikuzten dira lotuta ez dagoen konjugatua kentzeko.
4. **Emaitzen irakurketa eta interpretazioa:** Putzuak fluoreszentzia-mikroskopioan behatzen dira. Lagina positiboa bada, zelulak (antigenoa) fluoreszenteak izango dira (intensitate handiago edo gutxiagorekin, zenbat eta antigorputz espezifiko gehiago laginean, orduan eta fluoreszentzia biziagoa). Lagina negatiboa bada, zelulak guztiz gorri ikusiko dira hondo ilunaren gainean.

Proba ondo eginda dagoela frogatzeko, beti kontrolak behatu behar dira lehenengo. Positiboak ondo irteten badira, erreaktiboak ondo daudela frogatzen da. Negatiboak ondo irteten badira, erreaktiboak ez daudela kutsatuta pentsatuko dugu, eta horregatik ez dute positibo faltsurik eman.

Ezin dugu lagineko antigorputzen kontzentrazioa kalkulatu edo kuantifikatu, baina laginaren diluzioak aztertzen badira, "titulua" kalkulatu eta emaitzen balorazio semikuantitatiboa egin daiteke. Antigorputzen titulua laginaren azken diluzio positiboa izango da, hau da, antígenoaren inguruan fluoreszentzia erakusten duena (nahiz eta ahula izan).

Praktika honetan, immunofluoreszentzia ez-zuzenaren bidez, giza-listuen edo animalia baten sueroen laginetan (untxi edo saguena), *Candida albicans* legamien kontrako antigorputz espezifikoek presentzia kualitatibo eta semikuantitatiboki zehaztuko da.

HELBURUA

- Antigenoa duten portak prestatzea immunofluoreszentzia egiteko.
- Immunofluoreszentzia ez-zuzenaren bidez, antigorputzen detekzioa egitea laginean:
 - A. Sagu baten sueroan
 - B. Giza-listuan

MATERIALA

- Antigenoa: formaldehidoz edo beroaz hildako *Candida albicans*-en legamiak
- Ikertu behar den lagina:
 - A. Sagu immunizatu baten sueroa
 - B. Pertsona baten listua
- PBS tanpoia (*Phosphate Buffered Saline*), pH 7,2
- PBS-Tween-EU: % 0,05 Tween 20 eta % 0,05 Evans urdina PBS tanpoian
- Fluoreszeinarekin markatutako konjugatua (PBS-Tween-EU soluzioan 1/500 diluituta): Anti-Ig-FITC
 - A. Anti-sagu-IgG-FITC (lagina sagu baten sueroa baldin bada)
 - B. Anti-giza-IgA-FITC (lagina giza-listua baldin bada)
- Glizerina tanponatua
- Plastikozko 1,5 ml-ko eppendorf hodiak
- Mikropipetak eta mikropipetentzako puntak
- Zelulak kontatzeko ganbara (Thoma edo Neubauer)
- Estalkiak
- Tefloiarekin estalitako portak, 12 zulotxodunak
- Xukapapera
- Beirazko ontziak porten ikuzketak egiteko
- Ganbara hezea (Petri kutxatila batekin egindakoa)
- Mikroskopia optikoa
- Fluoreszentzia-mikroskopia

METODOLOGIA (PRAKTIKAREN GARAPENA)

1. Tefloizko portan antígenoaren adsortzioa (*Candida albicans* legamiak)

1.1. Antígenoaren prestaketa:

Beroaz edo formaldehidoz hildako *C. albicans* legamia-esekiduraren kontaketa egin kontaketa-ganbara erabiliz.

Legamia-esekiduraren kontzentrazio egokia prestatzen da ur distilatuan: 2×10^6 legamia/ml (begiratu zelula-esekiduren prestatetarako protokoloa).

1.2. Porten prestaketa:

Portaren zulotxo bakoitzean aurrez lortutako 2×10^6 legamia/ml-ko esekiduratik 10 µl jarri.

Airean lehortzen uzten dira eta siku daudenean erabili arte gorde daitezke.

2. Lagin-problemarekin inkubazioa:

2.1. Lagenen prestaketa:

2.1.1. Lagin-problema (Xa eta Xb):

Listu-problemaren 1/10 diluziotik edo suero-problemaren 1/2 diluziotik hasita (X1), hiru diluzio bikoitz (X2, X3, X4) egiten dira PBS tanpoian.

| Lagina | X1 | X2 | X3 | X4 |
|--------------------|------|------|------|------|
| Listuaren diluzioa | 1/10 | 1/20 | 1/40 | 1/80 |
| Sueroaren diluzioa | 1/2 | 1/4 | 1/8 | 1/16 |

2.1.2. Kontrolak:

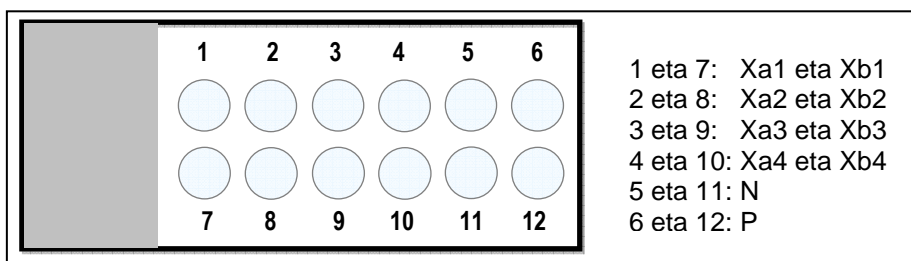
Beti “kontrol positiboa” erabili behar da (P), zeinek bilatzen ditugun antigorputzak dauzka. Aurrez ikertutako lagina izan daiteke (listu edo suero positiboa). Ikertzen ari garen lagenen arabera kontrolaren natura ere desberdina izango da: adibidez, listua ikertzen badugu, lehen inkubaldian kontrol positibo bezala listu positiboa erabili behar da (konjugatu bera behar duen lagina erabili behar da).

“Kontrol negatiboa” (N) ere beharrezkoa da, erreaktiboak eta erabilitako materiala kutsatuta ez daudela frogatzeko. Kontroletan, lehen inkubazioan, diluzioak egiteko erabiltzen den tanpoia soilik erabiliko da (gure kasuan PBSa).

Bi kontrol mota hauei esker, proba ondo eginda dagoen eta emaitzak fidagarriak diren jakin dezakegu.

2.2. Putzuen betetzea lagin eta kontrolekin

Portaren putzuak bete behar dira lagin-problema (Xa edo Xb) eta kontrolekin (P eta N). Putzu bakoitzean 10 µl gehitzen dira eta 3. irudian agertzen den eskematxoa jarraitzen da laginak kokatzeko:



3. irudia. Tefloizko porta eta putzu bakoitzean jarritako laginak

Portak 20 minutuz 37 °C-tan inkubatu ganbara hezean (laginak sikatu ez daitezen).

2.3. Portaren lehenengo ikuzketa:

Portak PBS tanpoia duten ontzitzoetan sartu eta birritan ikuzten dira mugimenduarekin.

Ikuzketa amaitu eta gero portak airean lehortzen utzi.

3. Konjugatuarekin inkubazioa:

3.1. Putzuen betetzea konjugatuarekin

Putzu bakoitzean dagokion konjugatuaren 10 µl jarri, anti-Ig-FITC (anti-giza-IgA-FITC, giza-listuen laginekin edo anti-sagu-IgG-FITC sagu-suerokin).

Portak 20 minutuz 37 °C-tan inkubatu ganbara hezean.

3.2. Portaren bigarren ikuzketa:

Portak PBS tanpoia duten ontzitzoetan sartu eta birritan ikuzten dira mugimenduarekin.

Ikuzketa amaitu eta gero portak airean lehortzen utzi.

4. Fluoreszentziaren behaketa mikroskopioan:

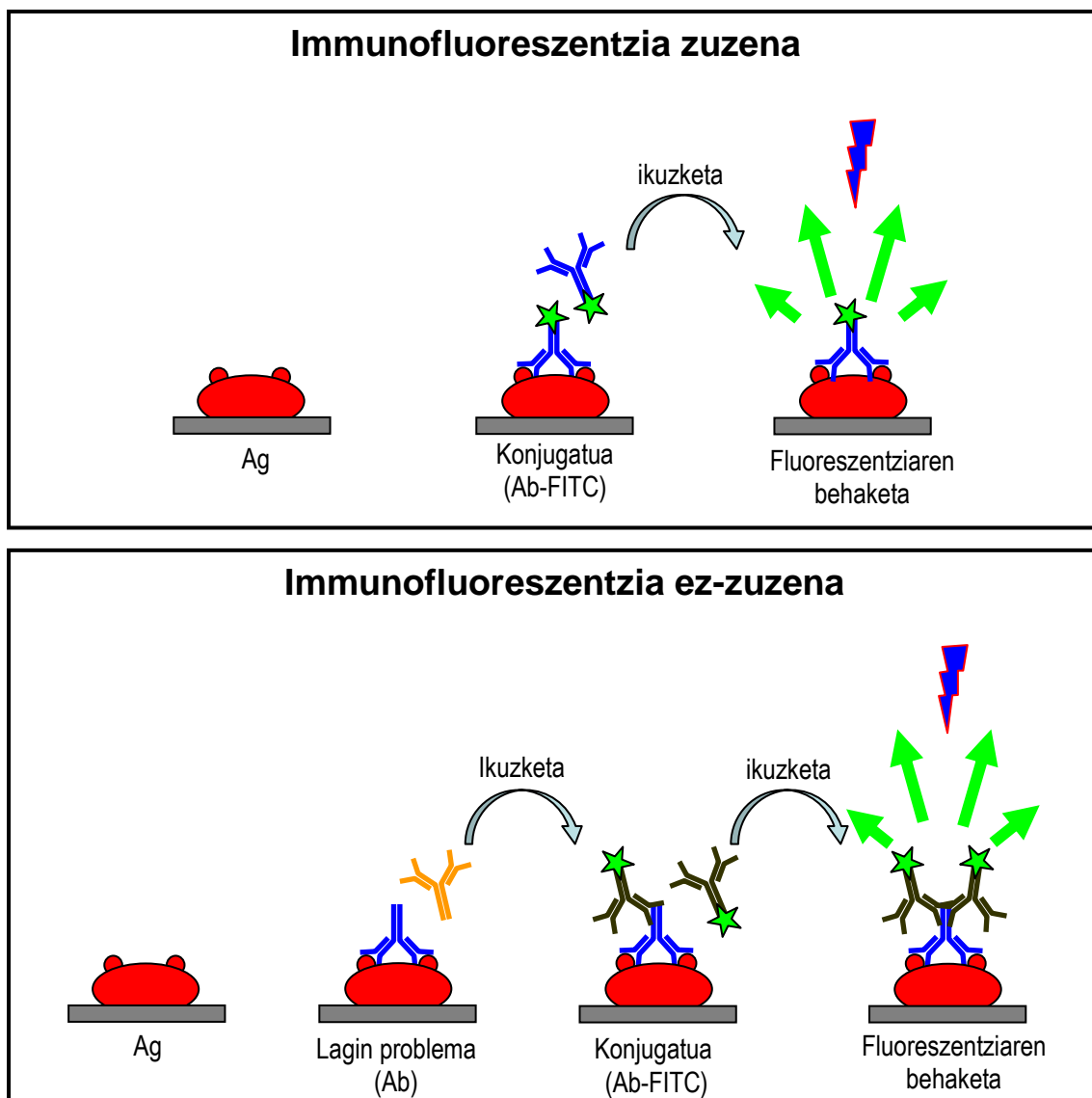
Portak fluoreszentzia-mikroskopioan behatzeko prestatu behar dira: putzuen gainean glizerina tanponatua gehitu eta gero estalkia jarri. Glizerina gehiegi ez da erabili behar; gehiegi erabiltzen bada kanpora irten eta dena zikintzen du.

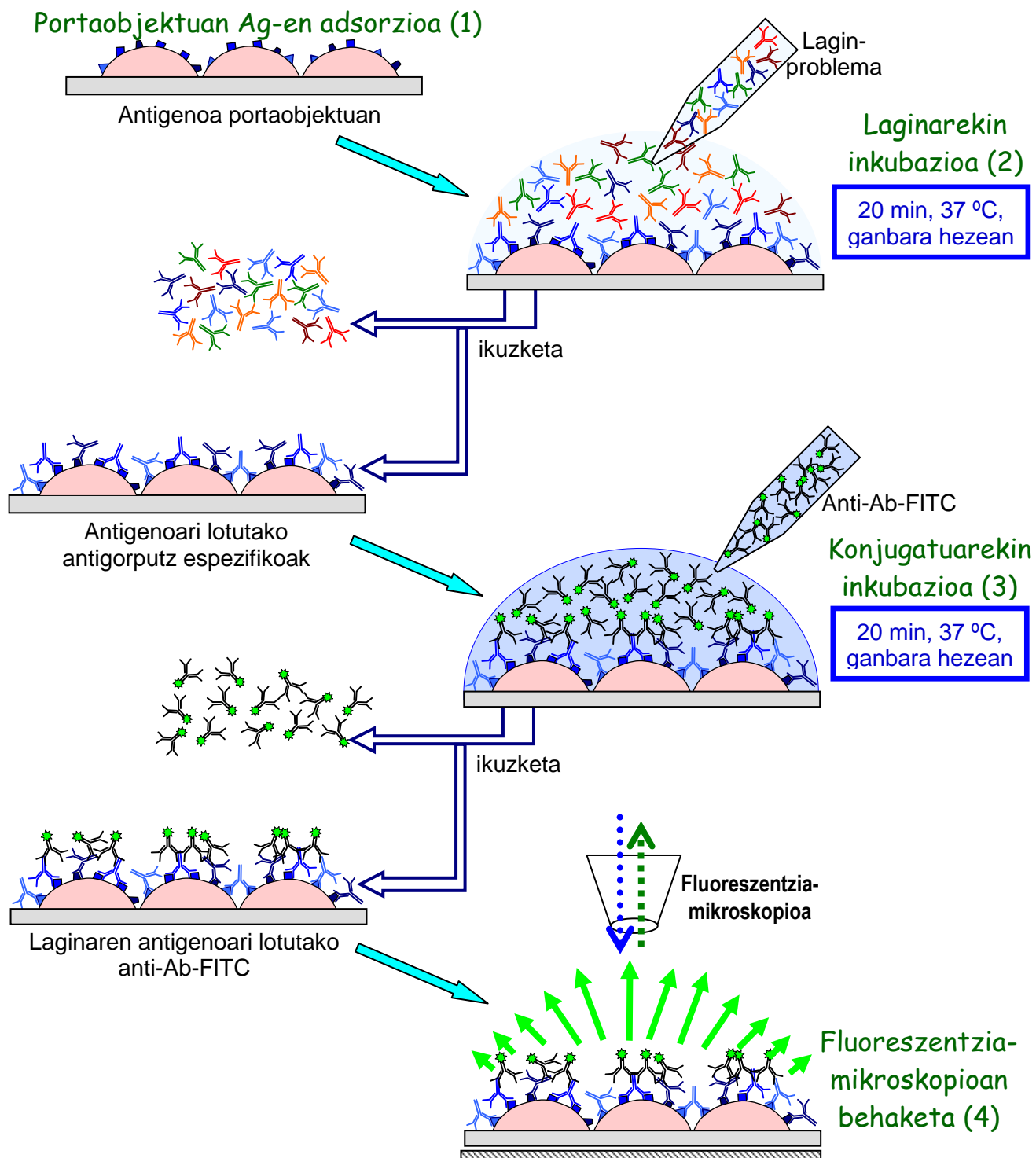
Fluoreszentzia dagoen eta laginaren titulua kalkulatzeko (lagina positiboa den eta proban egindako diluzio positiborik handiena ezagutzeko), portak fluoreszentzia-mikroskopioan behatu behar dira x40 edo x100 objektiboekin.

5. Emaizen irakurketa eta interpretazioa

- Kontrolak ondo dauden frogatu behar da, hau da, kontrol positiboan zelulak fluoreszenteak ikusten diren (fluoreszentziaren intentsitate aldakorra izan daiteke) eta negatiboan zelula guztiak gorri ikusten diren (fluoreszentziarik gabe). Erabilitako erreaktiboak ondo daudela eta prozedura egokia izan dela frogatuko dugu kontrol positiboarekin (P). Erreaktiboak kutsatuta ez daudela eta ikusitako fluoreszentzia espero ez ziren erreakzioengatik ez dela agertzen frogatuko dugu kontrol negatiboarekin (N).
- Ikertzen den lagina negatiboa bada (portan kokatutako antigenoa ezagutzen duten antigorputz espezifikorik ez badaude), zelulak guztiz gorri ikusiko dira, eta hondoa berde iluna edo beltza.
- Ikertzen den lagina positiboa bada (portan kokatutako antigenoa ezagutzen duten antigorputz espezifikoak badaude), portan dauden zelulen inguruan fluoreszentzia berdea ikusiko da. Hainbat eta fluoreszentziaren Intentsitate handiagoa, orduan eta antigorputz espezifiko gehiago egongo dira laginean. Zenbat eta antigorputz antigeno-espezifiko gutxiago laginean, orduan eta intentsitate gutxiagoko fluoreszentzia eta zelula (antigeno) gorrien ehuneko altuagoa. Dena den, metodo honekin antigorputzen kontzentrazioa ezin da kalkulatu.
- Laginaren diluzioak ikertzen badira, antigorputz-titulua kalkula daiteke, hots, lagineko antigorputzen neurri semikuantitatiboa lortzen da. Titulua laginaren azken diluzio positiboa da. Titulua gero eta handiagoa, orduan eta antigorputzen kontzentrazio altuagoa izango da laginean.

1. irudia. Immunofluoreszentzia mota





Esan hurrengo baieztapenak egia ala gezurra diren:

1. Lagin kliniko batetan immunofluoreszentzia ez-zuzenaren bidez antigorputz espezifikoak detektatzeko, dagokien antigenoa eduki behar dugu.
2. Listu-lagin batekin immunofluoreszentzia ez-zuzena egitean, listuan dauden IgA guztiak detekta ditzakegu.
3. Listu-lagin batekin immunofluoreszentzia ez-zuzena egitean, normalean "X" antigenoarekiko espezifikoak diren antigorputz guztiak bilatzen ditugu.
4. Listu-lagin batekin immunofluoreszentzia ez-zuzena egitean, normalean "X" antigenoarekiko espezifikoak diren IgA antigorputzak bilatzen ditugu.
5. Lagianaren hainbat diluzio ikertzean immunofluoreszentzia ez-zuzenaren bidez, emaitza kuantitatiboa lortzea baimentzen du.
6. Immunofluoreszentzia ez-zuzenak laginetan antigorputz-titulua kalkulatzeko baimentzen du, eta honekin batera, antigenoari lotzen diren antigorputzen batez bestekoa.
7. Immunofluoreszentzia ez-zuzenean, ez ditugu positiboak diren zelulak zenbatu behar lagina positiboa dela esateko.
8. Immunofluoreszentzia ez-zuzena positiboa denean, zenbait zelula gorri eta intentsitate maila desberdineko fluoreszentzia duten beste zelula batzuk ikus ditzakegu.
9. Immunofluoreszentzia ez-zuzenean zelula positiboa denean, zelula osorik kolore berde fluoreszentearekin ikusi behar da.
10. Lagin positiboa diluitu ahala, ikusten den fluoreszentzia gutxitzen doa, antigenoari lotutako antigorputz espezifikoaren kopurua (eta aldi berean fluoreszentzia) baxuagoa delako.
11. Lagin positiboa diluitu ahala, ikusten den fluoreszentzia gutxitzen doa, laginari gehitutako konjugatuaren kopurua (eta aldi berean fluoreszentzia) baxuagoa delako.
12. Immunofluoreszentzia ez-zuzenean erabiltzen den konjugatua, antigorputz bati lotutako entzima edo fluorokromoa izan daiteke.
13. Immunofluoreszentzia ez-zuzenean egiten den lehenengo inkubaldia amaitu ondoren, portaobjektua ikuzten da konjugatuaren gehiegizkoa kentzeko.
14. Immunofluoreszentzia ez-zuzenaren lehenengo inkubaldian antigenoari lotu ez diren antigorputzak, konjugatua gehitu eta gero kentzen dira ikuzketa baten bidez.
15. Immunofluoreszentzia ez-zuzenean portaobjektua inkubatzen dugu sueroa eta bere diluzioak antigenoaren gainean jarri ondoren. Horrela, anti-Ig-ek, anti-*Candida* antigorputz espezifikoak lotuko dira.
16. Immunofluoreszentzia ez-zuzenean lagin positiboa ikusten da azken inkubaldian erabilitako Evans urdinari esker. Honek, fluorokromoarekin erreakzionatu eta gero, fluoreszentzia askatzen du.
17. Immunofluoreszentzia ez-zuzenean erabiltzen den konjugatua, anti-antigenoari lotutako fluorokromoa izan daiteke.
18. Untxi-sueroan anti-*Candida* antigorputzak detektatzeko immunofluoreszentzia ez-zuzenaren bidez, anti-giza IgG-FITC erabili dezakegu konjugatu bezala.
19. Immunofluoreszentzia ez-zuzena irakurtzeko fluoreszentzia-mikroskopia beharrezkoa da.
20. Immunofluoreszentzia ez-zuzenean, portaobjektua blokeatu behar da konjugatua portaobjektuan inespezifikoki lot ez dadin.
21. Immunofluoreszentzia ez-zuzen baten titulua 256 da. Hau da, antigeno bakoitzean batez beste 256 antigorputz lotuta daude.
22. Immunofluoreszentzia ez-zuzen baten bidez, zenbait gaixotasun kutsakorren diagnostikoa egitea posiblea da. Horretarako, antigeno konkretuen aurkako erantzun immune espezifikoa detektatu behar da.
23. Laginean dauden antigorputzak detektatu ditzakegunez, immunofluoreszentzia ez-zuzena erabilgarria da diagnostiko zuzenerako.
24. Immunofluoreszentzia ez-zuzenean egiten den bigarren inkubazioa, laginaren antigenoa portaobjektuan dagoen konjugatuari lotzeko egiten da.

25. Immunofluoreszentzia ez-zuzenean bigarren ikuzketa lotu ez den konjugatua kentzeko egiten da.
26. Immunofluoreszentzia ez-zuzenean, Evans urdinak fluoreszentzia-mikroskopioan urdin tindatu diren zelulak ikustea baimentzen du. Zelula hauek negatiboak izango dira.
27. Immunofluoreszentzia ez-zuzena egiteko portaobjetuaren putzu bakoitzean, lotzen den antigenoaren kopurua antzekoa izango da.
28. Ikertzen den laginean, antigenoarekiko antigorputz espezifikorik ez badaude, hondoa iluna eta zelula guztiak gorri ikusiko dira.
29. Immunofluoreszentzia ez-zuzenaren bidez lagina negatiboa izanik ere, antigenoa ezagutzen duten antigorputzak egon daitezke nahiz eta guk detektatu ez.
30. Immunofluoreszentzia ez-zuzenean, untxietatik lortutako anti-giza antigorputzak erabil ditzakegu giza-immunoglobulinak ezagutzeko.

II) ENTZIMOIMMUNOPROBA (ELISA: ENZYME LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY)

SARRERA

Entzimekin loturiko antigorputzen bidez immunokonplexuak identifikatzen dituzten hainbat teknika daude. Entzimekin markatutako antigorputzak (konjugatu entzimatiakoak), hainbat antigeno edo antigorputz era zuzenean edo ez-zuzenean detektatzeko erabil daitezke. Aztertzen diren antigenoak, disolbagarri edo partikulatuak izan daitezke, eta **ehunetako laginetan** edo hainbat euskarri inerte motara atxikita egon daitezke. ELISA teknika, immunoerreaktiboak geldiarazteko euskarri solidoa (mikrotitulazio-plaka) erabiltzen duen EIA (entzimoimmunoentsaiua) mota bat da. Antigenoak, antigorputzak edota hauekin osatutako immunokonplexuak, plastikozko euskarrian adsorbatzen dira, ondoren ikuzketak eta hainbat errektiboen gehitze sekuentziala baimenduz. Teknikan erabiltzen diren kromogenoekin, emaitzen ikus-irakurketa, zein espektrofotometro bidezkoa egin daiteke.

ELISA teknika, natura antigenikodun edozein substantziaren detekzioarako oso teknika **sentikor eta espezifiko** da. Detektatzen diren substantziak batez ere proteinak dira (antigorputzak barne) eta normalean kontzentrazio baxuetan daude fluido biologikoetan. **Oso kopuru txikiak detekta daitezke**, adibidez 1 nanogramo proteina/ml. Beste aldetik, analisi hauek hainbat abantaila dituzte: azkar eta errez egiten dira, behar den ekipamendua ez da oso konplexua, eta errez automatizatzen dira. Desabantailen edo erabileraren mugen artean, **antigeno, antigorputz edo bien purifikazio maila oso altuaren beharra** dago, teknikaren sentikortasun oso altua dela eta. Maiz, antigorputz monoklonalak erabiltzen dira prozeduran. Beste markatzaile batzuekin konparatuz (konposagai fluoreszenteak edo erradioaktiboak), entzimen erabilerak hainbat abantaila azaltzen ditu. Konjugatu fluoreszenteekin egiten den interpretazioa subjektiboagoa da, eta ekipamendua garestiagoa. Aldiz, konjugatu erradioaktiboak arriskutsuak dira.

Honegatik guztiagatik, gaixotasun infekzioso, alergia eta autoimmunitatearen diagnostikoa egiteko **klinikan gehien erabiltzen den laborategiko teknika immunologikoa** ELISA da. Bere erabilgarritasunaren adibide batzuk hurrengo elementuen detekzio/kuantifikazioak dira: hormona, zitokina eta tumore-markatzaileak, mikroorganismoen antigenoak, antigeno konkretuen kontrako antigorputzak (adibidez anti-GIB), eta gaixotasun autoimmuneak dituzten pazienteetan, autoantigorputzak.

ELISA teknikaren aldaera asko daude: zuzena, ez-zuzena, lehiakorra (*competitive*), inhibizioarena, *sandwich* motakoa eta abar (1. irudia). Detektatu behar denaren arabera, aldaera konkretua erabiliko da. Metodo ez-zuzena lagin biologiko batean antigeno baten kontrako antigorputz espezifikoak bilatzeko erabiltzen da. Kuantifikatu behar dena sueroako proteina bada (antigorputz ez dena) normalean *sandwich* motako ELISA aukeratzen da.

ELISA ez-zuzenak laginean (sueroan, listuan) antigeno konkretu baten kontrako antigorputz espezifikoaren detekzioa baimentzen du. Horretarako, normalean, hurrengo urratsak jarraitzen dira (2. irudia):

1. **Antigenoaren adsorzioa:** poliestirenozkoko plakako putzuen hondoan antigenoak (edo antigorputzak) absorbatzean (geldiaraztean) datza. Plastikoaekin lotura ez-espezifiko eta ez-kobalenteak mantentzeko proteinek duten ahalmenean oinarritzen da. Lotura gertatu ondoren, gehiegizko antigenoa ikuzketen bidez kentzen da.
2. **Plakaren blokeoa:** putzuaren hondoan antigenoarekin estali ez den plastikoa, proteina blokeatzaile batekin estali behar da (probarekin erlazionatuta ez dagoen proteinaren bat, behien sueroaren albumina edo BSA adibidez). Horrela, hurrengo urratsetan, beste proteina batzuen lotura ez-espezifikoak ekiditen dira.
3. **Lagin-problemarekin inkubazioa:** lagin-problema (suero, listua) gehitzen da putzuetara. Laginean, plakan kokatutako antigenoaren kontrako antigorputzak badaude, antigorputzak antigenoari lotu, immunokonplexuak osatu, eta euskarri solidoari atxikita geldituko dira. Ondoren, plakak ikuzten dira, lagin-problema eta lotuta ez dauden antigorputz guztiak kentzeko.
4. **Konjugatuarekin inkubazioa:** immunokonplexuak detektatzeko, entzima bati kobalenteki lotutako bigarren antigorputza gehitzen da (konjugatua). ELISA-n konjugatua entzima bati lotutako anti-immunoglobulina da. Normalean, peroxidasa edo fosfatasa alkalinoa izaten da erabiltzen den entzima. Mikrotitulazio plakan immunokonplexu egokia bada, konjugatua immunokonplexuari lotuko zaio. Plakak ikuzten dira gehiegizko konjugatua kentzeko (lotu ez dena).
5. **Entzimaren substratuaren gehitzea:** bigarren antigorputzari lotutako entzimaren substratu egokia eta dagokien kromogenoa gehitzen da. Entzimak katalizatzen duen erreakzioan koloregabeko substratua konposagai koloreduna bihurtzen da. Beraz, kolorea agertzen bada putzuetan, erreakzioa positiboa da, eta bestela negatiboa.
6. **Emaitzen irakurketa:** ikusitako kolorearen aldaketa begiz baloratu daiteke edo espektrofotometro baten bidez.

Lagin bakoitzarentzat lortutako absorbantziaren balioa, aldez aurretik ezarritako *cut-off* balioarekin alderatu behar da (*cut-off* balioa: kontrol negatiboen absorbantziaren batezbestekoa gehi 3 aldiz desbideratze estandarra edo SD). Lagina positiboa edo negatiboa dela kontsideratzen da, bere absorbantzia, *cut-off* balioa baino handiagoa edo txikiagoa denean. Irakurketa honek probaren interpretazio kualitatiboa baimentzen du.

Lagina titulatzean, emaitzen balorazio semikuantitatiboa egin daiteke. Antigorputzen titulua laginaren azken diluzio positiboa izango da, hau da, *cut-off* balioa baino absorbantzia handiagoa duena.

Laginean dagoen antigorputzaren kontzentrazioa kuantifikatzeko, antigorputz kontzentrazio ezaguna duten hainbat kontrol sartu behar dira proban (lagin estandarrek). Estandarren balioekin zuzen-patroia egiten da, non antigorputzen kontzentrazioa eta lortutako absorbantzia erlazionatzen dira. Lagin problemekin lortutako absorbantzia-datuak zuzen-patroira eraman eta gero, laginetan dauden antigorputzen kontzentrazioa kalkula daiteke (U/mL, edo mg/ml).

Listuko *Candida albicans* kontrako antigorputzen detekzioa ELISA ez-zuzenaren bidez

HELBURUA

- Antigenoa duten ELISA plakak prestatzea proba egiteko.
- ELISAren bidez, *Candida albicans* legamiaren kontrako antigorputz espezifikoaren presentzia detektatzea laginetan (listu edo odolean), era kualitatibo, semikuantitatibo eta kuantitatiboan.

MATERIALA

- Antigenoa: formaldehidoz edo beroaz hildako *Candida albicans*-en legamiak
- Ikertu behar den lagina:
 - A. Sagu edo untxi immunizatu baten sueroa
 - B. Giza-listua*
- Kontrolak: positibo eta negatiboa
- Soluzio estandarra
- Ikuzteko tanpoia:
 - I. PBS tanpoia (*Phosphate Buffered Saline*), pH 7,2
 - II. PBST: PBS + % 0,05 Tween 20
- Blokeatzeko tanpoia (edo diluzioak egitekoa): PBS + % 1 BSA (PBS-BSA)
- Peroxidasa (PO) lotuta duen konjugatua: Anti-Ig-PO (blokeatzeko tanpoian 1/1000 diluitua)
 - A. Anti-IgG-PO
 - B. Anti-IgA-PO: Untxiaren anti-giza-IgA peroxidasarekin markatua (Anti-IgA Rabbit F (ab')₂)
- Kromogenoa: OPD (ortofenilendiaminaren 20 mg)
- Fosfato-zitrato tanpoia
- Ur oxigenatua (H₂O₂) % 33 kontzentrazioan
- Erreakzioa geldiarazteko errektiboa: 0,5 M sulfuriko
- Mikrotitulazio-plaka: U formako 96 putzurekin
- Plastikozko 1,5 ml-ko eppendorf hodiak
- Mikropipetak eta mikropipetentzako puntak
- Zelulak kontatzeko ganbara (Thoma edo Neubauer)
- Estalkiak
- Listua biltzeko hodia*
- Xukapapera
- ELISA irakurgailua (492 nm)

METODOLOGIA (PRAKTIKAREN GARAPENA)

1. Antigenoen adsorzioa mikropalakara

1.1. Antigenoaren prestaketa:

Beroaz edo formaldehidoz hildako legamia-esekiduraren zelulen kontaketa egin.

Kontzentrazioa 6×10^6 zelula/ml-ra doitu PBS tanpoian.

Kontatzeko ganbaran egindako zelulen zenbaketaren protokoloa jarraitu.

1.2. Plakaren sentsibilizazioa: antigenoaren adsorzioa

Zulotxo bakoitzean, 6×10^6 legamia/ml esekiduretatik 100 μ l jarri.

Mikrotitulazio-plaka gau osoan zehar 4 °C-tan inkubatu (12-24 h). Plaka estali sikatu ez dadin, adibidez aluminiozko paperarekin.

1.3. Plakaren ikuzketa:

Antigenoak plakaren hondoan itsatsita daudenean, antigenodun plakaren ikuzketa egin behar da hurrengo prozedura hiru aldiz errepikatuz. Ikuzketa egiten den bakoitzean plaka ahalik eta sikuen utzi behar da.

a. Hustu putzuak bortizki. Plaka buruz behera jarri eta xukapaper baten gainean, kolpeak emanaz, guztiz sikatu.

b. Putzuak PBS tanpoiarekin bete (200 μ l/putzu). Aire burbuilak kendu, 1-5 minutu itxaron eta berriro guztiz hustu.

Oso garrantzitsua da, garbitzeko tanpoia (eta dagokien kasuetan, erreaktiboak) gehitu baino lehen plaka ahalik eta sikuen uztea.

2. Plakaren blokeoa:

2.1. Blokeoa:

Blokeatzeko tanpoiaren 200 μ l (PBS-BSA % 1) gehitu putzu bakoitzera eta 30 minutuz inkubatu, 37 °C-tan. Plaka estali sikatu ez dadin, adibidez aluminiozko paperarekin.

Zulotxoak hustu.

2.2. Plakaren ikuzketa:

Urrats hau aukerakoa da.

Jarraitu 1.3 urratsean azaltzen den prozedura.

Plakak berehala erabil daitezke edo aluminiozko paperean bilduta, -20 °C-tan gorde erabili arte.

3. Lagin-problemaren inkubazioa:

3.1. Laginen prestaketa:

3.1.1. Lagin-problema (Xa, Xb, ..., Xz listuak):

Listu-problemaren 1/10 diluziotik hasita (X1), 5 diluzio bikoitz egin (X2, X3, X4, X5, X6) PBS-BSA tanpoian.

| | | | | | | |
|----------|------|------|------|------|-------|-------|
| Lagina | X1 | X2 | X3 | X4 | X5 | X6 |
| Diluzioa | 1/10 | 1/20 | 1/40 | 1/80 | 1/160 | 1/320 |

3.1.2. Lagin estandarra (S):

Soluzio estandarren 1/10 diluziotik hasita (S1) diluzio bikoitzak egin (S2tik S12ra) PBS- BSA tanpoian.

Lagin estandarra, aldi berean, kontrol positibo bezala erabiltzen da (aldez aurretik probarentzako egokiak diren antigorputzak dituela badakigu, hau da, giza-IgA).

| | | | | | | | | | | | | |
|---|------|------|------|------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|---------|---------|
| L | S1 | S2 | S3 | S4 | S5 | S6 | S7 | S8 | S9 | S10 | S11 | S12 |
| D | 1/10 | 1/20 | 1/40 | 1/80 | 1/160 | 1/320 | 1/640 | 1/1280 | 1/2560 | 1/5120 | 1/10240 | 1/20480 |

L: lagina; D: diluzioa

3.1.3. Kontrol negatiboak (N):

Kontrol negatibo mota desberdinak egiten dira. Kontrol bakoitzean, teknikan egindako urrats/inkubazio bakoitzean erabiltzen den errektibo nagusia kenduko da:

NA: Antigenorik gabeko putzua

NB: Anti giza-IgA antigorputzik ez duen putzua (S1 laginik gabe)

NC: Konjugaturik gabeko putzua

ND: Substrato/kromogenorik gabeko putzua (ez OPD, ez H₂O₂)

Kontrol hauetan guztietan, NB-an izan ezik, “lagin-problema” bezala estandarreko 1/10 diluzioa gehituko da (S1, hau da, giza-IgA antigorputzak dituen kontrola) (ikusi 1. taula).

3.2. Plakaren betetzea eta inkubazioa:

Mikroplakan jarri, lagin-problema (X), estandarrek (S) eta kontrol negatiboak (N), bakoitza hiru putzutan. Laginei dagokienez, putzu bakoitzean dagokion laginaren 100 µl gehitu behar da 1 taulan azaldutako eskema jarraituz.

1. taula

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--------|-----|-----|-----|-----|-------|
| A | Xa1 | Xa2 | Xa3 | Xa4 | Xa5 | Xa6 | zuria* | NA | NB | NC | ND | zuria |
| B | Xb1 | Xb2 | Xb3 | Xb4 | Xb5 | Xb6 | zuria* | NA | NB | NC | ND | zuria |
| C | Xc1 | Xc2 | Xc3 | Xc4 | Xc5 | Xc6 | zuria* | NA | NB | NC | ND | zuria |
| D | Xd1 | Xd2 | Xd3 | Xd4 | Xd5 | Xd6 | Xf1 | Xf2 | Xf3 | Xf4 | Xf5 | Xf6 |
| E | Xe1 | Xe2 | Xe3 | Xe4 | Xe5 | Xe6 | Xg1 | Xg2 | Xg3 | Xg4 | Xg5 | Xg6 |
| F | S1 | S2 | S3 | S4 | S5 | S6 | S7 | S8 | S9 | S10 | S11 | S12 |
| G | S1 | S2 | S3 | S4 | S5 | S6 | S7 | S8 | S9 | S10 | S11 | S12 |
| H | S1 | S2 | S3 | S4 | S5 | S6 | S7 | S8 | S9 | S10 | S11 | S12 |

- Zuria: Diluitzeko tanpoia bakarrik duen putzua (PBS-BSA bakarrik)
- Xa-Xn: lagin-problema eta bere diluzioak.
- X1etik X6ra, lagin-problemaren diluzio bikoitzak; non X1, jatorrizko laginaren 1/10 diluzioa den.
- S1etik S12ra lagin-estandarren diluzio bikoitzak (kontrol positiboa), non S1, estandarren 1/10 diluzioa den.

- N: kontrol negatiboak, proban erabiltzen diren errektibo nagusietariko bateren bat gehitu gabe dutenak. NB kontrolean izan ezik, S1 estandarra erabiltzen da lagin gisa dagokion inkubazioan.

Inkubatu 20 min, 37 °C-tan. Plaka estali sikatu ez dadin, adibidez aluminiozko paperarekin.

3.3. Plakaren ikuzketa

Jarraitu 1.3 atalean azaltzen den prozedura, baina ikuzketarako PBS-Tween 20 tanpoia erabili (200 µl/ putzu).

Plakak berehala erabil daitezke edo aluminiozko paperarekin estalita gorde -20 °C-tan hurrengo urratsa egin arte.

4. Konjugatuarekin inkubazioa

4.1. Konjugatuarekin inkubazioa:

Anti-IgA peroxidasaren konjugatuaren 1/1000 diluzioa prestatu blokeatzeko tanpoian (PBS-BSA), eta putzu bakoitzean diluzioaren 100 µl gehitu.

Inkubatu 15-45 min, 37 °C-tan.

4.2. Plakaren ikuzketa:

Jarraitu 1.3 atalean azaltzen den prozedura, baina ikuzketarako PBS-Tween 20 tanpoia erabili (200 µl/ putzu).

5. Entzimaren substratu eta kromogenoaren gehitze eta errebelatua:

5.1. Substratua/kromogenoaren prestaketa:

Substratua/kromogeno soluzioa momentuan prestatu behar da: 10 ml zitriko-fosfato disodiko soluzioan OPD pastilla bat disolbatu (20 mg), eta azken momentuan, plakak bete baino lehen, 5 µl ur oxigenatu gehitu.

5.2. Substratua/kromogenoaren gehitzea eta inkubazioa:

Substratua/kromogeno soluziotik 100 µl gehitu putzu bakoitzera. Putzuak betetzeko erabiltzen den ordena gogoratu behar da.

Ingurune tenperaturaren inkubatu 10-15 minutuz ilunpean (kolorea agertu arte).

5.3. Erreakzioaren geldiera:

Erreakzioa geldiarazteko errektiboaren 50 µl gehitu putzu bakoitzari. Azido sulfurikoa gehitzean, berriro substratua/kromogeno soluzioa gehitzeko erabili den orden bera jarraitu behar da.

6. Irakurketa eta interpretazioa

- 6.1. Putzuetan, kolore aldaketak edota putzuen arteko desberdintasunak dauden aztertu. Mikroplaka espektrofotometro batean irakur daiteke 490 nm-tan.

Irakurketa ordu bat igaro baino lehen egin behar da.

6.2. Emaizten tratamendua:

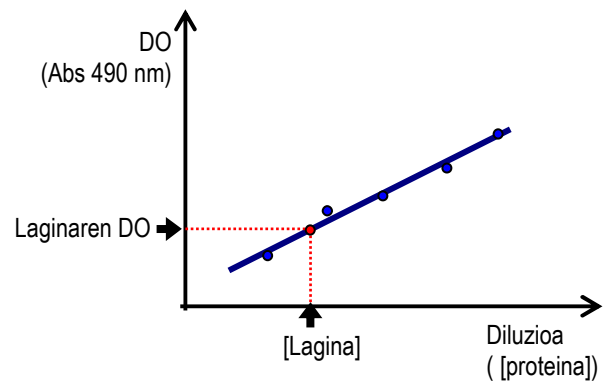
“Zurien” absorbantzia balioen batezbestekoa egin ondoren, plakaren gainerako absorbantzia balioei kendu behar zaie lortutako batezbestekoa, eta emaitza berriekin jarraitu.

- 6.2.1. Lagin positiboen determinazioa: NB kontrol negatiboetan lorturiko absorbantzia- balioekin *cutt-off* balioa kalkulatu (NB balioen batezbesteko + 3 x SD). Balio hau gaingiditzen duten laginak positibotzat joko dira.

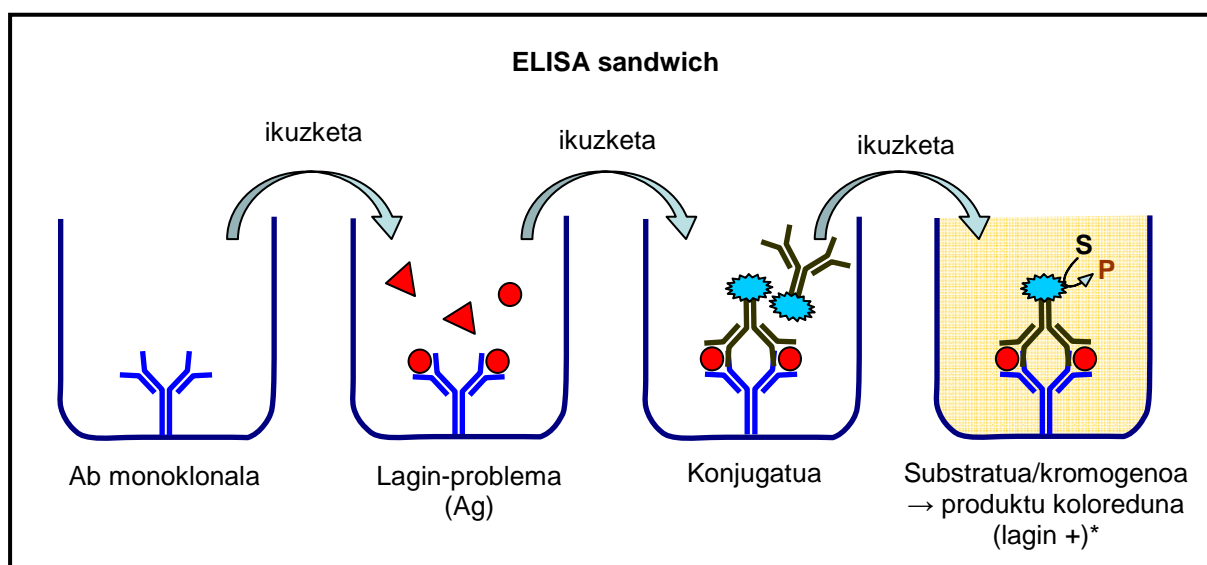
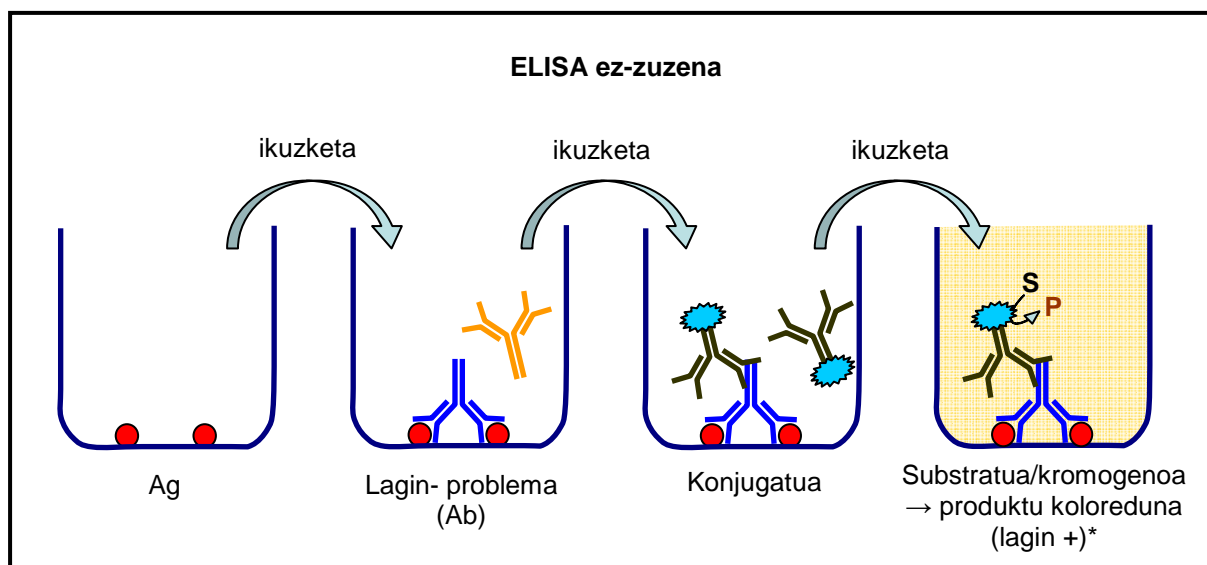
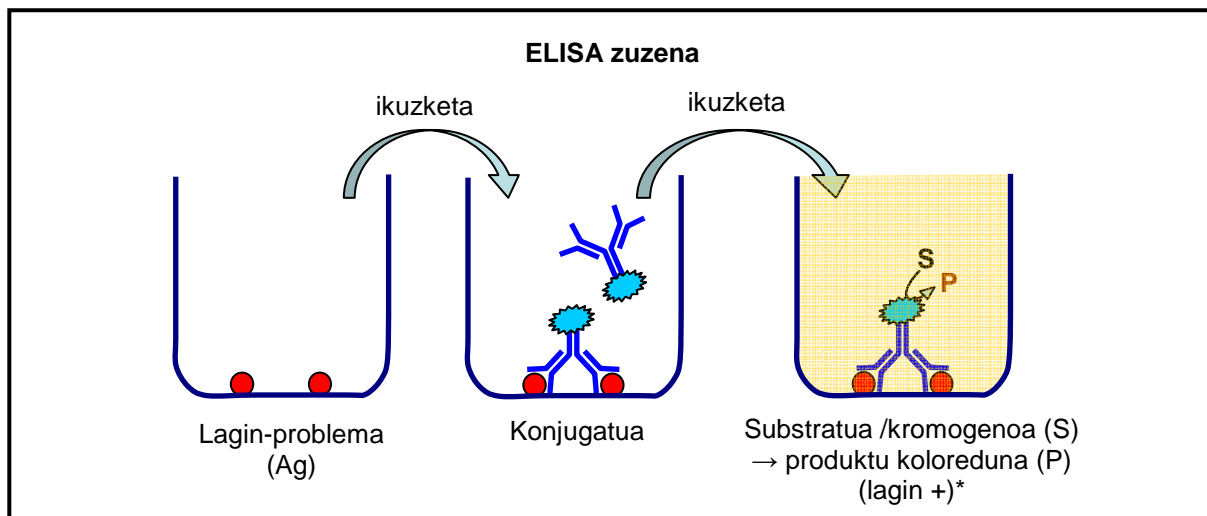
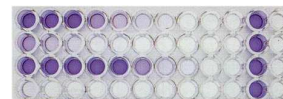
- 6.2.2. Laginaren tituluaren determinazioa: *cut-off* balioa baino absortzio-balioa handiagoa duen diluziorik altuenak izango da titulua definitzen duena.

- 6.2.3 Zuzen-patroia: Soluzio estandarrekin lortutako datuekin erregresio kurba eratzen da eta honekin kalibrazio-zuzena edo zuzen-patroia egin behar da. Horretarako, ordenatu-ardatzean (Y) estandarren diluzioekin lorturiko absorbantzia balioak edo dentsitate optikoa (DO) jartzen dira eta abzisa-ardatzean (X) estandar bakoitzari dagokion kontzentrazioa edo diluzioa.

6.2.4 Laginean dagoen *Candida*-ren kontrako IgA-ren kontzentrazioaren determinazioa: Lagin-problemen absorbantzia balioak interpolatu (1/10 diluzioa erabili) zuzen-patroiaren gainean, eta immunoglobulinen kontzentrazioa kalkulatu (UI/ml edo mg/ml).

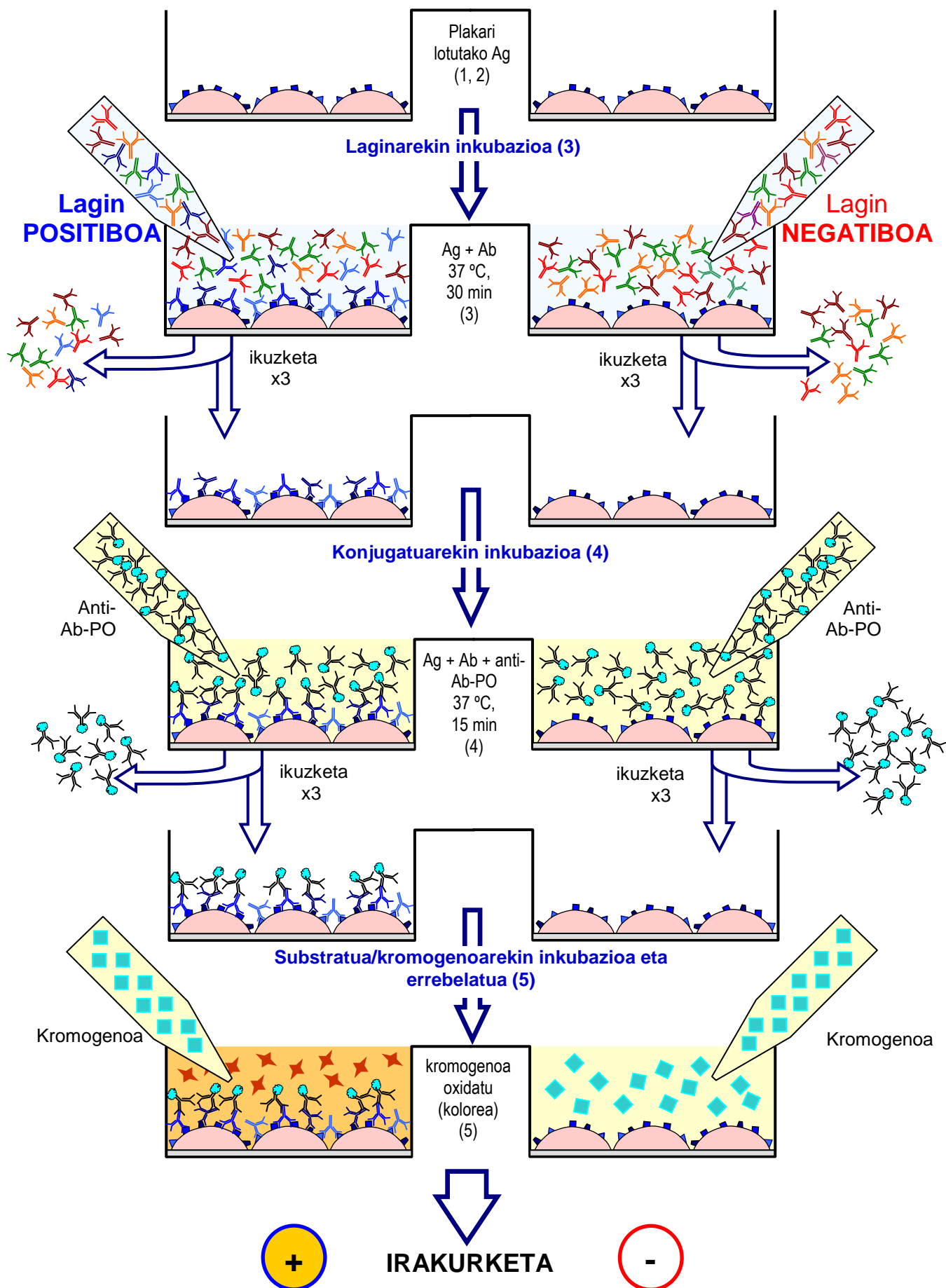


1. irudia. ELISA mota



* Kolorearen agerpena, lagineko Ab espezifikoaren kopuruarekiko zuzenki proportzionala da.

Antigenoaren fixapena (1) eta mikroplakaren blokeoa (2)



ELISA-ri buruzko galderak

Esan hurrengo baieztapenak egia ala gezurra diren:

1. ELISAn PBS-BSA-rekin egiten den blokeoa, antigenoak uzten dituzten zulotxoak betetzeko eta plakan antigorputzen lotura ez-espezifikoa ekiditeko egiten da.
2. ELISaren emaitza, lagina konjugatuarekin markatu eta gero, mikroskopioan behatzean lortzen da.
3. ELISA-plaka, listu-laginarekin inkubatu ondoren, konjugatuaren gehiegizkoa kentzeko ikuzten da.
4. ELISAn, konjugatua osagai koloredunari lotutako antigorputza da.
5. ELISA teknika semikuantitatiboa izan daiteke, baina inoiz kuantitatiboa, zeren eta antigeno bakoitzari zenbat antigorputz dauden lotuta ezin baitugu kalkulatu.
6. ELISA, estandar eta zuzen patroi egokia erabiltzean, teknika kuantitatiboa izan daiteke.
7. ELISAn kontrol negatiboa positibo irteten bada, erreaktiboren bat kutsatuta egon daiteke.
8. ELISAn egiten diren inkubazioen odena hurrengo da: lagina, substratua eta konjugatua.
9. ELISAn, STOP soluzioa erabili dugu substratu/kromogenoaren hidrolisia geldiarazteko.
10. Giza-IgA ezagutzen duen untxiaren immunoglobulinak peroxidasari kobalenteki lotzen baditugu, ELISAn konjugatu bezala erabilgarriak dira.

Aurkibidea

| | |
|---|--|
| Immunologia eta mikrobiologia laborategian jarraitu beharreko arau orokorrak | |
| Zelula-esekiduren azterketa: Kontzentrazioaren eta zelulen bideragarritasunaren kalkulua zelulak kontatzeko ganbaretan | |
| Zelulen kontaketei buruzko galderak | |
| Zelula-esekiduren kontzentrazioari buruzko ariketak | |
| Makrofagoen fagozitosi-ahalmenaren balorazioa | |
| Fagozitosiari buruzko galderak | |
| Fagozitosiari buruzko ariketak | |
| Antigorputzen detekzioa immunofluoreszentzia ez-zuzen eta entzimoimmunoprobaren bidez | |
| II) Immunofluoreszentzia ez-zuzena (<i>Indirect ImmunoFluorescence: IIF</i>) | |
| Immunofluoreszentzia ez-zuzenari buruzko galderak | |
| III) Entzimoimmunopropa (ELISA: <i>Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay</i>) | |
| ELISA-ri buruzko galderak | |
