ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ-ΟΓΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Β.Α ΓΕΩΡΓΟΥΛΙΑΣ

ΠΡΟΟΠΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΑΝΤΙΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΤΟ Τ- ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ ΠΑΝ. ΚΩΤΣΑΚΗΣ
ΠΑΘΟΛΟΓΟΣ-ΟΓΚΟΛΟΓΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Η Ρ Α Κ Λ Ε Ι Ο 2 0 0 8

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΑΘΑΝΑΣΙΟΥ ΠΑΝ. ΚΩΤΣΑΚΗ

ΠΡΟΟΠΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΑΝΤΙΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΤΟ Τ- ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ:
ΒΑΣΙΛΗΣ ΓΕΩΡΓΟΥΛΙΑΣ
Δ/ΝΤΗΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΟΓΚΟΛΟΓΙΚΗΣ ΚΛΙΝΙΚΗΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟΥ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟΥ ΗΡΑΚΛΕΙΟΥ

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ
ΒΑΣΙΛΗΣ ΓΕΩΡΓΟΥΛΙΑΣ, *Καθηγητής*
ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΣΑΜΩΝΗΣ, *Καθηγητής*
ΔΗΜΗΤΡΗΣ ΜΑΥΡΟΥΔΗΣ, *Αναπληρωτής Καθηγητής*
ΜΑΡΙΑ ΚΑΛΜΑΝΤΗ, *Καθηγήτρια*
ΑΧΙΛΛΕΑΣ ΓΚΙΚΑΣ, *Αναπληρωτής Καθηγητής*
ΕΥΣΤΑΘΙΟΣ ΣΤΑΘΟΠΟΥΛΟΣ, *Αναπληρωτής Καθηγητής*
ΕΥΤΥΧΙΑ ΣΤΕΙΑΚΑΚΗ, *Επίκουρη Καθηγήτρια*

Στους γονείς μου

... ελάχιστο δείγμα αγάπης.

Στον παππού και στη γιαγιά μου

... που άνοιξαν ορίζοντες στη σκέψη μου.

Στον καθηγητή μου κ. Βασίλη Γεωργούλια

...που υπήρξε για μένα οδηγός και συμπαραστάτης

στην πορεία μου στα δύσβατα μονοπάτια

της Επιστήμης και της Άσκησης του Ιατρικού λειτουργήματος.

Στους γιατρούς

Δημ. Κοντογιάννη και Χαρ. Κουρούση

... με απεριόριστο σεβασμό.

Στη Βάσω και τη νεογέννητη Σοφία

... για την ευτυχία που έφεραν στη ζωή μου.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Σελ.

ΠΡΟΛΟΓΟΣ 1

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ 4

ΒΑΣΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΗΣ ΕΜΦΥΤΗΣ (ΜΗ ΕΙΔΙΚΗΣ) ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΠΑΝΤΗΣΗΣ 6

Φαγοκύτταρα 6

ΝΚ κύτταρα 10

Κυτταροκίνες 11

ΒΑΣΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΑΝΟΣΙΑΣ 20

Μείζον σύστημα ιστοσυμβατότητας (MHC) και αναγνώριση αντιγόνων 20

Τ- λεμφοκύτταρα 22

Υποδοχείς και επικουρικά (accessory) μόρια των Τ- λεμφοκύτταρων 23

Ενεργοποίηση των Τ- λεμφοκυττάρων 25

Λειτουργική απάντηση των Τ- λεμφοκυττάρων 26

Δραστικοί μηχανισμοί της κυτταρικής ανοσίας 27

ΒΑΣΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΧΥΜΙΚΗΣ ΑΝΟΣΙΑΣ 34

Αντιγονική αναγνώριση και ενεργοποίηση των Β- λεμφοκυττάρων 36

Διαφοροποίηση των Β- λεμφοκυττάρων 37

Αντισωματική απάντηση έναντι μη πρωτεΐνικών αντιγόνων 39

ΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΟΣ 40

ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΟΧΗ 45

Κεντρική ανοχή των Τ- λεμφοκυττάρων 46

Περιφερική ανοχή των Τ- λεμφοκυττάρων 46

Κεντρική ανοχή των Β- λεμφοκυττάρων 50

Περιφερική ανοχή των Β- λεμφοκυττάρων 50

ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ 51

Ουδετεροπενικές λοιμώξεις 51

Μη ουδετεροπενικές λοιμώξεις 61

Λοιμώξεις από κοινά μικρόβια 61

Ευκαιριακές λοιμώξεις 62

ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΚΑΙ ΦΛΕΓΜΟΝΗ 73

ΑΝΟΣΟΚΑΤΑΣΤΟΛΗ ΣΤΟΥΣ ΚΑΡΚΙΝΟΠΑΘΕΙΣ 75

Ο ρόλος του συστήματος Fas/ FasL στην ανοσοκαταστολή 76

Ο ρόλος του TCR υποδοχέα στην ανοσοκαταστολή 77

Ο ρόλος των ρυθμιστικών Τ- λεμφοκυττάρων στην ανοσοκαταστολή 78

Ο ρόλος του οξειδωτικού stress στην ανοσοκαταστολή 79

Ο ρόλος των μακροφάγων στην ανοσοκαταστολή 80

Ο ρόλος της νικοτίνης στην ανοσοκαταστολή 81

Ο ρόλος της ηλικίας στην ανοσοκαταστολή 81

Ο ρόλος των κορτικοστεροειδών στην ανοσοκαταστολή 82

Ο ρόλος του υποσιτισμού στην ανοσοκαταστολή 85

Ο ρόλος της ακτινοβολίας στην ανοσοκαταστολή 86

Ο ρόλος της κατάθλιψης στην ανοσοκαταστολή 87

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΣΤΟΧΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ 90

ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ 92

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ 96

ΣΥΖΗΤΗΣΗ- ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ 107

ΠΕΡΙΛΗΨΗ 113

ΔΙΕΘΝΕΙΣ ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ .....

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 118

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Ένας μεγάλος αριθμός νεότερων φαρμάκων έχει προστεθεί στη φαρέτρα της σύγχρονης ογκολογίας, τα τελευταία 10-15 χρόνια. Μεταξύ αυτών, οι αναστολείς των μικροσωληνίσκων με βασικούς εκπροσώπους τη δοσεταξέλη και την πακλιταξέλη.

Η δοσεταξέλη αποτελεί βασικό χημειοθεραπευτικό παράγοντα για την αντιμετώπιση του καρκίνου του μαστού, του πνεύμονα, του προστάτη και του στομάχου. Τα αποτελέσματα της χορήγησής της είτε σαν μονοθεραπεία είτε σε συνδυασμό με άλλους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες, σε αρχικά (adjuvant) ή σε προχωρημένα στάδια της νόσου ήταν ιδιαίτερα ενθαρρυντικά.

Μια σημαντική, όμως, παρενέργεια που καταγράφηκε στο διάστημα που χρησιμοποιείται ήταν η αυξημένη συχνότητα σοβαρών ουδετεροπενικών, αλλά κυρίως μη- ουδετεροπενικών λοιμώξεων.

Σκοπός της παρούσας διδακτορικής διατριβής είναι η μελέτη και η ανάλυση της επίδρασης της δοσεταξέλης στα λεμφοκύτταρα, ιδίως στα Τ-λεμφοκύτταρα και τους υποπληθυσμούς τους και η συσχέτισή τους με την επίπτωση μη- ουδετεροπενικών λοιμώξεων.

Στο Γενικό μέρος – Εισαγωγή αναφέρονται τα βασικά χαρακτηριστικά του ανοσοποιητικού συστήματος, οι συνήθεις λοιμώδεις επιπλοκές που εκδηλώνονται στους καρκινοπαθείς και οι παθογενετικοί μηχανισμοί τους.

Στο Ειδικό μέρος περιγράφονται οι ασθενείς και οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν, τα αποτελέσματα της μελέτης και η συζήτηση επ' αυτών, και γίνεται μια προσπάθεια εξαγωγής κάποιων συμπερασμάτων.

Η μελέτη αυτή εκπονήθηκε στην Παθολογική Ογκολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ηρακλείου Κρήτης, ενώ το πειραματικό μέρος και η φαινοτυπική ανάλυση των λεμφοκυτταρικών υποπληθυσμών πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Βιολογίας του Καρκίνου της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Κρήτης.

Από τη θέση αυτή θέλω να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στον Καθηγητή κ. Βασ. Αντ. Γεωργούλια για την αμέριστη βοήθεια και καθοδήγηση σε κάθε φάση της μελέτης αυτής, να ευχαριστήσω τον καθηγητή κ. Γεώργιο Σαμώνη για τις πολύτιμες υποδείξεις του και να αποδώσω την τιμή και το σεβασμό που οφείλω στη μνήμη του καθηγητή Ιωάννη Βλαχονικολή για την ιδιαίτερη συμβολή του στην στατιστική ανάλυση των ευρημάτων.

Ευχαριστίες οφείλω και στις κ.κ. Μαρία Περράκη και Στέλλα Αποστολάκη από το Εργαστήριο Βιολογίας του Καρκίνου της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Κρήτης.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ [1-4]

Στο περιβάλλον που ζούμε υπάρχει μεγάλη ποικιλία μικροοργανισμών (μικρόβια, ιοί, μύκητες, βακτηρίδια, πρωτόζωα, παράσιτα κ.τ.λ). τα οποία μπορούν να πολλαπλασιαστούν ανεξέλεγκτα στον ανθρώπινο οργανισμό και να γίνουν επικίνδυνα για τη ζωή του. Συνήθως οι μικροοργανισμοί αυτοί δεν προκαλούν νόσο, ή αν προκαλέσουν είναι μικρής διάρκειας και έκτασης και σπάνια αφήνουν μόνιμες βλάβες. Τούτο οφείλεται στο ανοσοποιητικό σύστημα, το οποίο αμύνεται έναντι των ξένων προς τον οργανισμό ουσιών, μικρο- ή μακρομοριακών και οδηγεί στην ανοσολογική απάντηση.

Η ανοσολογική απάντηση διακρίνεται στην *έμφυτη ή εγγενή ή μη ειδική* και στην *προσαρμοστική ή ειδική*.

Η εγγενής ανοσολογική απάντηση περιλαμβάνει τους φυσικούς ή χημικούς φραγμούς του οργανισμού, π.χ επιθήλια και αντιμικροβιακές ουσίες που παράγονται στις επιθηλιακές επιφάνειες. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν τα φαγοκύτταρα (ουδετερόφιλα και μακροφάγα), τα NK κύτταρα (Natural Killers), το συμπλήρωμα και οι κυτταροκίνες (πρωτεΐνες, ρυθμιστικές της δράσης των κυττάρων που μετέχουν στην εγγενή αλλά και στην προσαρμοστική ανοσολογική αντίδραση). Η εγγενής ανοσολογική απάντηση δεν είναι ειδική για το είδος του μικροβίου και αποτελεί την απάντηση του οργανισμού τις πρώτες ώρες μετά την επαφή με αυτά, έχοντας πάντα τα ίδια χαρακτηριστικά.

Η προσαρμοστική ανοσολογική απάντηση είναι ειδική για το είδος του παθογόνου παράγοντα, τον οποίο αναγνωρίζει και οργανώνει ειδική για αυτό αντίδραση. Επίσης, χαρακτηρίζεται από την ανοσολογική μνήμη δεδομένου ότι επανενεργοποιεί την ανοσολογική απάντηση στην επανέκθεση του οργανισμού στον συγκεκριμένο παράγοντα. Υπάρχουν δύο τύποι προσαρμοστικής ανοσοαπάντησης (ανοσίας), η χυμική και η κυτταρική.

Η χυμική ανοσία επιτελείται από ειδικά μόρια που κυκλοφορούν στο αίμα, ονομάζονται αντισώματα και παράγονται από τα ειδικά ευαισθητοποιημένα Β-λεμφοκύτταρα. Αποτελεί τον βασικό μηχανισμό άμυνας του οργανισμού έναντι, εξωκυττάριων παθογόνων και των τοξινών τους, αφού έχουν την ικανότητα να

ενώνονται με τα παθογόνα και να προάγουν τη φαγοκυττάρωση τους ή την έκκριση φλεγμονωδών μεσολαβητών με τελικό σκοπό την απομάκρυνσή τους από τον οργανισμό.

Η κυτταρική ανοσία επιτελείται κυρίως από τα Τ- λεμφοκύτταρα και αφορά στα ενδοκυττάρια παθογόνα, τα οποία επιζούν και πολλαπλασιάζονται στα κύτταρα του ξενιστή (μακροφάγα κ.τ.λ) και δεν μπορούν να αναγνωρισθούν από τα κυκλοφορούντα αντισώματα.

ΒΑΣΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΗΣ ΕΜΦΥΤΗΣ (ΜΗ ΕΙΔΙΚΗΣ) ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΠΑΝΤΗΣΗΣ [1,5-13]

Η έμφυτη ανοσία αποτελεί την πρώτη γραμμή άμυνας έναντι των λοιμώξεων και σε πολλές περιπτώσεις μπορεί από μόνη της να αντιμετωπίσει τα μικρόβια. Κάποια από τα συστατικά της είναι λειτουργικά πριν ο οργανισμός έρθει σε επαφή με κάποιο μικροοργανισμό (π.χ δέρμα, επιθηλιακές επιφάνειες γαστρεντερικού, αναπνευστικού κ.τ.λ) και αποτελούν τους φυσικούς φραγμούς, ενώ κάποια άλλα ενεργοποιούνται ταχύτατα με την επαφή τους με τον μικροοργανισμό (π.χ φαγοκύτταρα, συμπλήρωμα κ.τ.λ). Η έμφυτη ανοσία βρίσκεται σε άμεση συνεργασία με την προσαρμοστική ανοσία μέσω της απελευθέρωσης κυτταροκινών.

Τα βασικά δραστικά κύτταρα της έμφυτης ανοσίας είναι τα ουδετερόφιλα, τα μονοπύρηνα φαγοκύτταρα (μακροφάγα) και τα ΝΚ κύτταρα. Τα κύτταρα αντιδρούν έναντι μικροοργανισμών που έχουν διασπάσει τους επιθηλιακούς φραγμούς και έχουν εισέλθει στην κυκλοφορία ή σε ιστούς. Καθένα από τα κύτταρα αυτά παίζει σημαντικό ρόλο στην απάντηση έναντι των μικροβίων. Για παράδειγμα, τα μακροφάγα και τα ΝΚ κύτταρα εκκρίνουν κυτταροκίνες οι οποίες ενεργοποιούν τα φαγοκύτταρα και διεγείρουν την κυτταρική αντίδραση της έμφυτης ανοσίας που καλείται φλεγμονή.

Οι ανέπαφοι επιθηλιακοί φραγμοί παράγουν πεπτίδια με δράση φυσικών αντιβιοτικών (defensins, cryptocidin κ.α) έναντι βακτηριδίων και μυκήτων και κυτταροκίνες που προάγουν την ανοσολογική απάντηση. Ίδιες ουσίες παράγονται και από τα φαγοκύτταρα.

ΦΑΓΟΚΥΤΤΑΡΑ

Φαγοκύτταρα ονομάζονται τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρηνα και μακροφάγα, τα οποία έχουν την ικανότητα να αναγνωρίζουν, να φαγοκυτταρώνουν (πέπτουν) και να καταστρέφουν μικρόβια. Τα ουδετερόφιλα αποτελούν το μεγαλύτερο αριθμό των κυκλοφορούντων λευκοκυττάρων και παίζουν σημαντικό ρόλο στην αρχική φάση της φλεγμονής. Ο πυρήνας είναι διαιρεμένος σε 3-5 λοβίδια

και στο γεγονός αυτό αποδίδεται η ονομασία τους (πολυμορφοπύρηνα). Στο κυτταρόπλασμα τους περιέχονται δύο ειδών κοκκία που περιέχουν διάφορες αντιμικροβιακές ουσίες (π.χ λυσοζύμη, κολλαγενάση, ελαστάση κ.α). Έχουν την ικανότητα να μεταναστεύουν στο σημείο της φλεγμονής, μέσα σε ώρες από την είσοδο του μικροβίου, κυκλοφορούν στο αίμα για έξι ώρες περίπου, ενώ τα αποπτωτικά κύτταρα απομακρύνονται από τα μακροφάγα του ήπατος και σπληνός.

Τα μακροφάγα, οι πρόγονοι τους τα μονοκύτταρα αλλά και τα ουδετερόφιλα, προέρχονται από το ίδιο αρχέγονο κύτταρο (stem cell) και παράγονται στο μυελό των οστών. Τα μονοκύτταρα μετά την παραγωγή τους στο μυελό των οστών, εισέρχονται στην κυκλοφορία, όπου μπορεί να παραμένουν για μεγάλο χρονικό διάστημα. Εγκαταλείποντας την κυκλοφορία, εισέρχονται στους ιστούς, όπου διαφοροποιούνται και σχηματίζουν τα ιστικά μακροφάγα. Αυτά απαντώνται στον υποεπιθηλιακό συνδετικό ιστό, κολποειδή τριχοειδή του ήπατος (κύτταρα Kupffer) και του σπληνός, στους λεμφικούς κόλπους των λεμφαδένων και σε διάφορα παρεγχυματικά όργανα (π.χ τα μικρογλοιακά κύτταρα στο νευρικό σύστημα, οι οστεοκλάστες στα οστά, τα κυψελιδικά μακροφάγα στους πνεύμονες κ.τ.λ), στις περιοχές που αναμένεται να φτάσουν αρχικά τα μικρόβια προκειμένου να εισέλθουν στον οργανισμό. Έχουν μεγαλύτερη διάρκεια ζωής από τα ουδετερόφιλα και κυριαρχούν σε πιο καθυστερημένες φάσεις της έμφυτης ανοσίας (1-2 ημέρες μετά την είσοδο του μικροβίου). Τέλος, να τονιστεί ότι τα μακροφάγα έχουν την ικανότητα να παράγουν κυτταροκίνες.

Οι βασικές λειτουργίες των φαγοκυττάρων θα μπορούσαν να συνοψιστούν σε:

α) Ενεργητική στρατολόγηση των φαγοκυττάρων στην περιοχή της φλεγμονής

β) Αναγνώριση μικροβίων

γ) Φαγοκυττάρωση

δ) Καταστροφή των ήδη φαγοκυτταρομένων μικροβίων.

α) Στρατολόγηση των φαγοκυττάρων στην περιοχή της φλεγμονής

Τα ουδετερόφιλα και τα μονοκύτταρα μεταφέρονται από την κυκλοφορία στο σημείο της λοίμωξης μέσω της σύνδεσης τους με ειδικά τμήματα των ενδοθηλιακών κυττάρων και μέσω χημειοτακτικών ουσιών που παράγονται στο πλαίσιο της απάντησης στη λοίμωξη. Τα λευκοκύτταρα, κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, κυκλοφορούν στο αίμα και δεν μεταναστεύουν στους ιστούς. Η μετανάστευσή τους στους ιστούς είναι μια πολύπλοκη διαδικασία, που περιλαμβάνει την προσκόλλησή τους στα ενδοθηλιακά κύτταρα και την είσοδό τους στους μολυσμένους ιστούς διαμέσου του ενδοθηλίου. Τα ιστικά μακροφάγα που βρίσκονται στους ιστούς αυτούς αναγνωρίζουν τα μικρόβια και εκκρίνουν κυτταροκίνες (TNF, IL-1, χυμοκίνες). Με τη δράση των κυτταροκινών αυτών ενεργοποιούνται υποδοχείς στην επιφάνεια των λευκοκυττάρων (ιντεγκρίνες) αλλά και προσδέτες (ligands) στα ενδοθηλιακά κύτταρα (VCAM 1-και-2). Επίσης επάγεται η παραγωγή G-και E-selectin από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και προσδετών για τα μόρια της G-και E-selectin από τα λευκοκύτταρα. Το αποτέλεσμα της διαδικασίας αυτής είναι η σταθερή προσκόληση των λευκοκυττάρων στα ενδοθηλιακά κύτταρα στην περιοχή της λοίμωξης. Είναι σημαντικό ότι τα λευκοκύτταρα εκφράζουν selectin και συγκεκριμένα την L- selectin.

β) Αναγνώριση μικροβίων

Τα φαγοκύτταρα φέρουν στην επιφάνεια τους ειδικούς υποδοχείς μέσω των οποίων αναγνωρίζουν μικρόβια στην κυκλοφορία ή στους ιστούς. Η αναγνώριση των μικροβίων οδηγεί στην ενεργοποίηση τους και στην παραγωγή κυτταροκινών και μικροβιοκτόνων ουσιών. Οι σπουδαιότεροι από τους υποδοχείς αυτούς είναι:

i. Υποδοχείς για οψωνίνες

Οι υποδοχείς αυτοί προάγουν τη φαγοκυττάρωση των μικροβίων που είναι καλυμμένα με ειδικές πρωτεΐνες που ονομάζονται οψωνίνες ενώ η διαδικασία ονομάζεται οψωνινοποίηση. Οι πρωτεΐνες αυτές μπορεί να είναι αντισώματα,

πρωτεΐνες που συναποτελούν το συμπλήρωμα και οι λεκτίνες. Τα IgG αντισώματα που οψωνινοποιούν τα μικρόβια ονομάζονται ειδικές οψωνίνες και το οψωνινοποιημένο μικρόβιο αναγνωρίζεται από τον Fcγ υποδοχέα των φαγοκυττάρων. Το σύστημα του συμπληρώματος και ειδικά κάποια κλάσματα του, όπως το C3 αποτελούν σημαντικές οψωνίνες. Τέλος, αξίζει να σημειωθεί ότι οψωνινοποίηση μικροβίων μπορούν να προκαλέσουν το ινωδογόνο, η CRP και οι λεκτίνες.

ii. Toll- like υποδοχείς

Οι υποδοχείς αυτοί ενεργοποιούν τα φαγοκύτταρα σε απάντηση προς μια σειρά συστατικών των μικροβίων, ιδίως των λιποπολυσακχαριτών και άλλων πρωτεογλυκανών. Η αναγνώριση των μικροβιακών αυτών παραγόντων από τους υποδοχείς αυτούς έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του ενδοκυττάριου συστήματος των κινασών και τελικά την παραγωγή μικροβιοκτόνων ουσιών και κυτταροκινών.

iii. Υποδοχείς κυτταροκινών

Τα φαγοκύτταρα παρουσιάζουν ειδικούς υποδοχείς διαφόρων κυτταροκινών. Μεγάλης σημασίας είναι ο υποδοχέας της IFN- γ, που παράγεται από τα NK κύτταρα και από τα T- λεμφοκύτταρα και αποτελεί τη βασική κυτταροκίνη ενεργοποίησης των μακροφάγων.

iv. Άλλοι υποδοχείς

Άλλοι υποδοχείς είναι οι επτά διαφορετικοί διαμεμβρανικοί α- ελικοειδείς υποδοχείς, ο υποδοχέας μαννόζης κ.α. με δράση στην αναγνώριση αλλά και στη μετανάστευση των φαγοκυττάρων.

<u>γ) Φαγοκυττάρωση μικροβίων</u>

Το φαγοκύτταρο αφού αναγνωρίσει το μικρόβιο, το εγκολπώνει, επεκτείνοντας και προβάλλοντας τη μεμβράνη του γύρω από το μικρόβιο. Όταν η προεξοχή της μεμβράνης καλύψει όλη την περίμετρο του μικροβίου, τα δύο άκρα της συγκλίνουν

και σχηματίζουν ένα κλειστό χώρο (σαν κύστη) που ονομάζεται φαγόσωμα. Στη συνέχεια, το φαγόσωμα καταλήγει στο εσωτερικό του κυττάρου, όπου ενεργοποιούνται μηχανισμοί καταστροφής των φαγοκυτταρωμένων μικροβίων. Πεπτίδια από τα φαγοκυτταρωμένα μικρόβια απελευθερώνονται, παρουσιάζονται στα Τ- λεμφοκύτταρα και ξεκινά η προσαρμοστική ανοσολογική απάντηση.

δ) Καταστροφή φαγοκυτταρωμένων μικροβίων

Η συγχώνευση των φαγοσωμάτων με τα λυσοσώματα έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό των φαγολυσοσωμάτων, όπου συγκεντρώνονται όλοι οι μικροβιοκτόνοι μηχανισμοί των φαγοκυττάρων. Τέτοια μικροβιοκτόνο δράση έχουν οι δραστικοί διαμεσολαβητές οξυγόνου (Reactive Oxygen Intermediates, ROI) με τη δράση του ενζύμου φαγοκυτταρική οξειδάση, οι δραστικοί νιτρικοί διαμεσολαβητές με τη δράση του ενζύμου INOS (Inducible Nitric Oxide Synthase) όπως, επίσης, και πολλά πρωτεολυτικά ένζυμα (π.χ ελαστάση). Τα ένζυμα αυτά, που παράγονται από τα φαγοκύτταρα είναι πολύ δραστικά και αν βρεθούν στον εξωκυττάριο χώρο, είναι δυνατόν να προκαλέσουν τραυματισμό των ιστών που θα έλθουν σε επαφή.

ΝΚ ΚΥΤΤΑΡΑ

Τα ΝΚ κύτταρα είναι μια υποομάδα λεμφοκυττάρων που μπορεί να εκκρίνουν κυτταροκίνες, κυρίως IFN-γ και να σκοτώνουν μολυσμένα από μικρόβια και ιούς, κύτταρα. Προέρχονται από το μυελό των οστών και με βάση τον φαινότυπό τους και την καταγωγή τους δεν είναι ούτε Β-, ούτε Τ- λεμφοκύτταρα. Απαντώνται σπάνια στα λεμφοειδή όργανα και αποτελούν το 5%-20% των μονοπύρηνων κυττάρων του αίματος.

Η ενεργοποίηση των ΝΚ κυττάρων εξαρτάται από την ισορροπία μεταξύ των υποδοχέων ενεργοποίησης και των ανασταλτικών υποδοχέων. Ένα κοινό χαρακτηριστικό τους με τα Β- και Τ- λεμφοκύτταρα είναι η παρουσία του ίδιου ενδοκυττάριου μονοπατιού μετάδοσης σήματος του υποδοχέα, των ITAMs. Με την ενεργοποίηση των ITAMs παρατηρείται κινητοποίηση και ενεργοποίηση των

τυροσινικών κινασών που οδηγεί στην ενεργοποίηση των γονιδίων μετάφρασης (gene transcription). Αντίστοιχα, υπάρχει το μονοπάτι μετάδοσης ανασταλτικών σημάτων, τα ITIMs.

Η αύξηση του αριθμού και της δραστικότητας των NK κυττάρων διεγείρεται από κυτταροκίνες, ιδίως από την IL-15 και από την IL-12. Η IL -15 παράγεται από τα μακροφάγα και άλλα κύτταρα και αποτελεί αυξητικό παράγοντα για τα NK κύτταρα. Η IL-12 επίσης προέρχεται από τα μακροφάγα και επάγει την κυτταρολυτική δράση των NK κυττάρων και την παραγωγή IFN-γ.

Λειτουργίες των NK κυττάρων

Τα NK κύτταρα ασκούν κυτταρολυτική δράση που παρουσιάζει πολλές ομοιότητες με αυτή των CTLs T- λεμφοκυττάρων. Στον ενδοκυττάριο χώρο έχουν κοκκία, τα οποία περιέχουν μια πρωτεΐνη που καλείται **περφορίνη**, όπως επίσης και ένζυμα που ονομάζονται **granzymes**. Η απελευθέρωση περφορίνης προκαλεί μικρούς πόρους στη μεμβράνη των κυττάρων- στόχων απ' όπου εισέρχονται τα granzymes και επάγουν την απόπτωσή τους. Τα NK κύτταρα ενεργοποιούνται πριν τα CTLs και στοχεύουν στην απομάκρυνση μολυσμένων κυττάρων από ιούς και ενδοκυττάρια μικρόβια. Επίσης, μέσω της παραγωγής IFN-γ ενεργοποιούν τα μακροφάγα, τα οποία μπορούν να ελέγξουν μια λοίμωξη από ενδοκυττάρια βακτήρια (π.χ Listeria monocytogenes) για κάποιο χρονικό διάστημα, έως ότου ενεργοποιηθεί η κυτταρική ανοσολογική απάντηση και τα εκριζώσει. Τέλος, φαίνεται ότι τα NK κύτταρα μπορούν να σκοτώνουν μολυσμένα κύτταρα που προσπαθούν να διαφύγουν της κυτταρικής ανοσίας μειώνοντας την έκφραση της τάξης I MHC μορίων.

ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ [1, 14-24]

Οι κυτταροκίνες είναι πρωτεΐνες που εκκρίνονται από τα κύτταρα του εγγενούς και του προσαρμοστικού ανοσολογικού συστήματος. Συμμετέχουν και ρυθμίζουν πολλές από τις λειτουργίες των κυττάρων αυτών.

Γενικά χαρακτηριστικά των κυτταροκινών

- Η έκκριση κυτταροκινών είναι βραχυχρόνια και αυτοπεριοριζόμενη.
- Συνήθως δεν προϋπάρχουν αποθηκευμένες στα κύτταρα, αλλά παράγονται κατά την ενεργοποίηση του κυττάρου μετά από μεταγραφή του γονιδίου τους.
- Οι λειτουργίες τους είναι πλειοτροπικές και πλεονάζουσες. Πλειοτροπικές, διότι κάθε κυτταροκίνη μπορεί να ασκεί τη δράση της σε διάφορα κύτταρα και πλεονάζουσες διότι διαφορετικές κυτταροκίνες μπορούν να έχουν την ίδια δράση πάνω στο ίδιο κύτταρο.
- Συχνά, επηρεάζουν και τροποποιούν την παραγωγή και δράση άλλων κυτταροκινών.
- Συνήθως, δρουν στο σημείο όπου παράγονται, είτε στο ίδιο (αυτοκρινής δράση), είτε σε παρακείμενα κύτταρα (παρακρινής δράση). Όταν εκκρίνονται σε μεγάλες ποσότητες περνούν στην κυκλοφορία και ασκούν τη δράση τους σε απομακρυσμένα κύτταρα (ενδοκρινής δράση).
- Ασκούν τη δράση τους μέσω σύνδεσής τους με ειδικούς μεμβρανικούς υποδοχείς των κυττάρων- στόχων.
- Εξωτερικά σήματα ρυθμίζουν την έκφραση των υποδοχέων των κυτταροκινών και κατά συνέπεια την απάντηση των κυττάρων στη δράση τους (π.χ διέγερση λεμφοκυττάρων).
- Τα κύτταρα- στόχοι σε απάντηση στις κυτταροκίνες παρουσιάζουν αλλαγές στη γονιδιακή έκφραση με αποτέλεσμα τον πολλαπλασιασμό τους και την εμφάνιση νέων λειτουργιών.

Υποδοχείς κυτταροκίνης και μεταβίβαση σήματος

Όλοι οι υποδοχείς κυτταροκίνης αποτελούνται από μια ή περισσότερες διαμεμβρανικές πρωτεϊνες, των οποίων το εξωκυττάριο τμήμα είναι υπεύθυνο για τη σύνδεση με τις κυτταροκίνες, ενώ το κυτταροπλασματικό είναι υπεύθυνο, μετά τη λήψη του σήματος σύνδεσης, για την ενεργοποίηση των διαφόρων ενδοκυττάριων

μονοπατιών μετάδοσης του συγκεκριμένου σήματος. Συγκεκριμένα, μετά την ενεργοποίηση του ενδοκυττάριου τμήματος του υποδοχέα, ξεκινά ένας καταρράκτης αλυσιδωτών αντιδράσεων που καταλήγει στην ενεργοποίηση μεταγραφικών παραγόντων, στην είσοδό τους στον πυρήνα του κυττάρου και τελικά στη γονιδιακή μεταγραφή. Τα βασικά ενδοκυττάρια μόρια που εμπλέκονται στη μετάδοση του σήματος είναι το σύστημα JAK/ STAT , που καταλήγει στην ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα STAT, το σύστημα των κινασών, των TRAFs (TNF receptor- associated factors), του TRADD, του FADD, του PI3K, του RAS κ.α, η πλειοψηφία των οποίων καταλήγει στην ενεργοποίηση των μεταγραφικών παραγόντων NF-κB και AP-1.

Κατηγορίες κυτταροκινών

Με βάση την λειτουργική τους αποστολή οι κυτταροκίνες θα μπορούσαν να ταξινομηθούν σε τρεις κατηγορίες:

α) κυτταροκίνες μεσολαβητές και ρυθμιστές της εγγενούς ανοσίας,

β) κυτταροκίνες μεσολαβητές και ρυθμιστές της προσαρμοστικής ανοσίας και

γ) κυτταροκίνες που διεγείρουν την αιμοποίηση.

Α) Κυτταροκίνες μεσολαβητές και ρυθμιστές της εγγενούς ανοσίας

1) Tumor necrosis factor (TNF): Είναι ο βασικός μεσολαβητής της οξείας φλεγμονώδους απάντησης σε Gram (-) βακτηρίδια, αλλά και έναντι άλλων μικροβίων. Παράγεται βασικά από ενεργοποιημένα μονοπύρηνα μακροφάγα, αλλά και από διεγερμένα Τ- λεμφοκύτταρα, NK κύτταρα και μονοκύτταρα. Η παραγωγή του από τα διεγερμένα μονοπύρηνα αυξάνει κάτω από την επίδραση της IFN-γ. Στην οικογένεια των TNF ανήκουν και άλλες κυτταροκίνες, όπως η λεμφοτοξίνη, TNF-β, ο Fas ligand, ο CD40 ligand, ο OX- 40 κ.α.

Δεσμεύονται από δυο τύπους υποδοχέων τον TNF- RI και τον TNF- RII. Με την ενεργοποίηση των ενδοκυττάριων μονοπατιών μετάδοσης του σήματος,

ενεργοποιούνται τελικά οι μεταγραφικοί παράγοντες NF-κB και AP-1 που αναστέλλουν την απόπτωση και ξεκινούν τη διαδικασία της φλεγμονής.

Η βιολογική δράση του TNF είναι μεγάλη και σημαντική:

- Προκαλεί αυξημένη έκφραση μορίων από τα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων (σελεκτίνη, ιντεργκρίνη) που έχουν, όπως ήδη έχει αναφερθεί, προσκολητικές ιδιότητες, με αποτέλεσμα να προσκολλώνται στην επιφάνεια τους λευκοκύτταρα.
- Διεγείρει την παραγωγή από τα μονοπύρηνα μακροφάγα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα χημειοκινών, οι οποίες αυξάνουν τη συγγένεια της ιντεργκρίνης με τον προσδέτη τους.
- Διεγείρει την παραγωγή IL-1.
- Σε βαριές λοιμώξεις παράγεται σε μεγάλη ποσότητα προκαλώντας βαριές κλινικές εκδηλώσεις.
- Διεγείρει τον υποθάλαμο για την παραγωγή προσταγλανδινών, που οδηγεί στην εμφάνιση πυρετού.
- Αυξάνει τη σύνθεση πρωτεϊνών οξείας φάσης στο ήπαρ (π.χ αμυλοειδές Α, ινωδογόνο κ.τ.λ)
- Παρατεταμένη παραγωγή TNF προκαλεί απώλεια λιπώδους ιστού και μυϊκής μάζας που ονομάζεται καχεξία, μέσω καταστολής της όρεξης και μέσω μειωμένης σύνθεσης λιποπρωτεϊνικής λιπάσης, ένζυμου απαραίτητου για την απελευθέρωση λιπαρών οξέων από τις κυκλοφορούσες λιποπρωτεϊνες.
- Μειώνει τη συσταλτικότητα του μυοκαρδίου και τον τόνο των λείων μυϊκών ινών των αγγείων, με αποτέλεσμα πτώση της αρτηριακής πίεσης και καταπληξία.
- Προκαλεί μεταβολικές διαταραχές, όπως για παράδειγμα ελάττωση των επιπέδων της γλυκόζης αίματος μέσω υπερκατανάλωσής της στους μυς και μειωμένης παραγωγής στο ήπαρ.

2) Ιντερλευκίνη- 1 (IL-1): Παράγεται από τα μακροφάγα, τα ουδετερόφιλα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα, ενεργοποιεί επίσης τους μεταγραφικούς παράγοντες NF- κB και AP-1, ενώ η βιολογική της δράση είναι παρόμοια με αυτή του TNF.

3) Χημειοκίνες: Παράγονται από λευκοκύτταρα αλλά και από ιστικά κύτταρα όπως επιθηλιακά, ενδοθηλιακά κύτταρα και ινοβλάστες. Στα λευκοκύτταρα υπάρχουν οι υποδοχείς τους που ανήκουν στην κατηγορία των επτά- α ελικοειδών υποδοχέων. Οι χημειοκίνες ρυθμίζουν τη μετακίνηση των λευκοκυττάρων προς τους διάφορους ιστούς. Επίσης, προάγουν τη μετάβαση των Β-, των Τ- λεμφοκυττάρων και των δενδριτικών κυττάρων στα περιφερικά λεμφικά όργανα, ενώ φαίνεται πως συμμετέχουν και στη μετακίνηση των ενεργοποιημένων δραστικών κυττάρων και των Τ- λεμφοκυττάρων σε μη λεμφικούς ιστούς (βλεννογόνους, δέρμα κ.τ.λ)

4) Ιντερλευκίνη-12 (IL-12): Αποτελεί τον κύριο μεσολαβητή της εγγενούς ανοσολογικής απάντησης έναντι ενδοκυττάριων μικροβίων, ενώ αποτελεί και το συνδετικό κρίκο μεταξύ εγγενούς και προσαρμοστικής ανοσίας. Παράγεται κυρίως από ενεργοποιημένα μονοπύρηνα φαγοκύτταρα και δενδριτικά κύτταρα. Οι υποδοχείς δεσμεύουν την IL-12, ενεργοποιούνται και στη συνέχεια μέσω της ενεργοποίησης των JAK κινασών μεταδίδουν το σήμα στις STAT μεταγραφικές πρωτεϊνες που εισέρχονται στον πυρήνα των κυττάρων και καταλήγουν στη γονιδιακή μεταγραφή. Η βιολογική δράση της IL-12 συνίσταται στη διέγερση των CD4+ βοηθητικών TH1- λεμφοκυττάρων που παράγουν IFN-γ, στην αύξηση της κυτταρολυτικής λειτουργίας των ενεργοποιημένων CD8+ Τ- λεμφοκυττάρων και των NK κυττάρων. Επίσης, συμμετέχει στην ενεργοποίηση των NK και Τ- λεμφοκυττάρων. Να σημειωθεί ότι ασθενείς με μεταλλάξεις στους υποδοχείς IL-12 παρουσιάζουν ευπάθεια σε λοιμώξεις από ενδοκυττάρια μικρόβια, όπως για παράδειγμα η Salmonella και τα άτυπα μυκοβακτηρίδια.

5) Ιντερλευκίνη- 10 (IL-10): Παράγεται από ενεργοποιημένα μακροφάγα και η δράση της συνίσταται στην αναστολή της παραγωγής IL-12 από τα μακροφάγα και τα δενδριτικά κύτταρα και στην αναστολή έκφρασης συνδιεγερτών και MHC

μορίων τάξης ΙΙ στην επιφάνεια των μακροφάγων και των δενδριτικών κυττάρων προκαλώντας με τον τρόπο αυτό τον τερματισμό της φάσης της διέγερσής τους.

6) Άλλες κυτταροκίνες- ρυθμιστές της εγγενούς ανοσίας είναι η Ιντερφερόνη τύπου Ι (IFN-α και IFN- β), η IL-6, η IL-15 και η IL-18 που ευοδώνουν την ανοσολογική απάντηση (της εγγενούς αλλά και της προσαρμοστικής ανοσίας) έναντι μικροοργανισμών που προκαλούν τη λοίμωξη.

<u>Β) Κυτταροκίνες που ρυθμίζουν το προσαρμοστικό ανοσολογικό σύστημα</u>

1) Ιντερλευκίνη-2 (IL-2). Παράγεται από τα CD4+ και σε μικρότερο βαθμό τα CD8+ Τ- λεμφοκύτταρα. Αποτελεί αυξητικό παράγοντα για τα διεγερμένα Τ- λεμφοκύτταρα. Οι υποδοχείς της αφού την αναγνωρίσουν, ενεργοποιούνται και μεταδίδουν ενδοκυττάρια το σήμα διαφόρων μονοπατιών (JAK/ STAT, PI3K, Ras, Map κ.τ.λ). Με τον τρόπο αυτό εξηγείται και η μεγάλη ποικιλία της βιολογικής δράσης.

- Ενεργοποίηση των Τ- λεμφοκυττάρων μέσω αύξησης της συγκέντρωσης κυκλίνης, η οποία στη συνέχεια, θα ενωθεί με διάφορες κινάσες.
- Επαγωγή της φωσφορυλλίωσης των κινασών και ενεργοποίηση διαφόρων ενδοκυτταρίων πρωτεϊνών, οι οποίες επάγουν τη μετάβαση από τη G1 στην S φάση του κυτταρικού κύκλου.
- Μείωση των επιπέδων της πρωτεΐνης p27, η οποία αναστέλλει τη δράση του συμπλέγματος κινάση- κυκλίνη.
- Προαγωγή της επιβίωσης των κυττάρων μέσω της παραγωγής της αντιαποπτωτικής πρωτεΐνης Bcl-2.
- Αύξηση της παραγωγής από τα Τ- λεμφοκύτταρα IFN- γ, IL-2, IL-4 κ.λ.π
- Δράση σαν αυξητικός παράγοντας των NK- κυττάρων και των Β- λευκοκυττάρων.
- Επαγωγή απόπτωσης των Τ- λεμφοκυττάρων, λόγω συνεχούς διέγερσης τους, μέσω του μονοπατιού Fas/ Fas ligand, συμμετέχοντας στην ομοιόσταση της ανοσολογικής απάντησης.

2) Ιντερφερόνη- γ (IFN- γ): Είναι η βασική κυτταροκίνη που ενεργοποιεί τα μακροφάγα και παίζει σημαντικό ρόλο και στους δύο τύπους της ανοσολογικής απάντησης. Παράγεται από τα NK κύτταρα, τα CD4+ TH1- λεμφοκύτταρα και τα CD8+ T- λεμφοκύτταρα. Το σήμα από τον ενεργοποιημένο υποδοχέα μεταδίδεται μέσω του συστήματος JAK/ STAT.

Η βιολογική της δράση συνίσταται στην:

- Εξασφάλιση της ενεργοποίησης των μακροφάγων και, κατά συνέπεια, τον τρόπο με τον οποίο τα T- λεμφοκύτταρα και τα NK κύτταρα αντιμετωπίζουν τα φαγοκυτταρωμένα μικρόβια. Το σήμα μεταφέρεται στον πυρήνα των μακροφάγων, διεγείροντας τη μετάφραση γονιδίων που έχουν κωδικοποιημένη την πληροφορία για την παραγωγή ενζύμων. Συγκεκριμένα, παράγεται η φαγοκυτταρική οξειδάση και η συνθετάση του νιτρικού οξειδίου, οι οποίες συμμετέχουν στην απελευθέρωση δραστικού οξυγόνου και νιτρικού οξειδίου τα οποία έχουν τοξική δράση.
- Διέγερση της έκφρασης των MHC μορίων τάξης I και II καθώς και των συνδιεγερτών τους στα APCs (Antigen Presenting Cells).
- Διαφοροποίηση των naive CD4+ λεμφοκυττάρων σε TH1 και αναστολή του πολλαπλασιασμού των TH2.
- Προαγωγή της παραγωγής IgG αντισωμάτων και αναστολή της απελευθέρωσης IgE.
- Ενεργοποίηση ουδετερόφιλων.

3) Λεμφοτοξίνη (LT): Παράγεται από τα T- λεμφοκύτταρα, ενεργοποιεί τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα ουδετερόφιλα και θεωρείται μεσολαβητής της οξείας φλεγμονώδους αντίδρασης όπως και ο TNF.

4) Ιντερλευκίνη- 4 (IL-4): Παράγεται κυρίως από τα CD4+ T- λεμφοκύτταρα. Η μετάδοση του σήματος γίνεται μέσω του μονοπατιού JAK/ STAT. Ο βιολογικός ρόλος της IL-4 συνίσταται στη:

- Διέγερση της απελευθέρωσης της IgE από τα Β- λεμφοκύτταρα, η οποία παίζει σημαντικό ρόλο στην άμυνα έναντι λοιμώξεων από έλμινθες και αρθρόποδα.
- Διέγερση της διαφοροποίησης των naïve CD4 Τ- λεμφοκυττάρων σε TH2 λεμφοκύτταρα.
- Αναστολή της ενεργοποίησης των μακροφάγων από τον TNF, με συνέπεια να θεωρείται ρυθμιστής της προσαρμοστικής ανοσοαπάντησης.

Η IL-13 έχει παρόμοια δράση με την IL-4.

5) Ιντερλευκίνη- 5 (IL-5): Παράγεται από τα CD4+ Τ- λεμφοκύτταρα και από τα μαστοκύτταρα. Το σήμα τους μεταδίδεται ενδοκυττάρια μέσω του συστήματος JAK/ STAT. Βασική βιολογική δράση της αποτελεί η ενεργοποίηση των ηωσινόφιλων και η διέγερση της ανάπτυξης και της διαφοροποίησής τους.

6) Transforming growth factor-β (TGF-β): Παράγεται από ενεργοποιημένα Τ- λεμφοκύτταρα και από μονοπύρηνα φαγοκύτταρα. Η μετάδοση του σήματος γίνεται μέσω πολλών ενδοκυττάριων οδών ενώ η βιολογική του δράση συνίσταται στην:

- Αναστολή του πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης των Τ- λεμφοκυττάρων και της ενεργοποίησης των μακροφάγων.
- Εξουδετέρωση των προφλεγμονωδών κυτταροκινών.
- Διέγερση της παραγωγής IgA αντισωμάτων από τα Β- λεμφοκύτταρα, τα οποία απαιτούνται στην ανοσία των βλεννογόνων.
- Προαγωγή της επανόδου των ιστών στη φυσιολογική τους κατάσταση μετά από άνοση ή φλεγμονώδη αντίδραση μέσω παραγωγής εξωκυττάριων πρωτεϊνών (κολλαγόνο), μεταλλοπρωτεϊνασών και κυτταρικών υποδοχέων (π.χ ιντεγκρίνες).

<u>Γ) Κυτταροκίνες που διεγείρουν την αιμοποίηση</u>

Οι κυτταροκίνες είναι απαραίτητες για τη σύνθεση και την ομαλή αιμοποίηση στο μυελό των οστών. Πολλές από τις κυτταροκίνες που στοχεύουν στην εγγενή ή

στην προσαρμοστική ανοσολογική απάντηση διεγείρουν την ανάπτυξη και τη διαφοροποίηση των προγονικών κυττάρων στο μυελό των οστών, πιθανότατα προς αντικατάσταση αυτών που καταναλώνονται στην άνοση και φλεγμονώδη αντίδραση. Τα έμμορφα στοιχεία του αίματος προέρχονται από αρχέγονα πολυδύναμα κύτταρα, τα οποία διαφοροποιούνται προς τις διάφορες αιματολογικές σειρές με τη δράση κυτταροκινών, που ονομάζονται colony stimulating factors (CSF).

1) Stem cell factor (c- kit ligand): Παράγεται από τα στρωματικά κύτταρα του μυελού των οστών, συνδέεται με τον υποδοχέα c- kit (πρωτεϊνικό προϊόν του πρωτοογκογονιδίου c- kit) και συμβάλλει στην ανταπόκριση των αρχέγονων κυττάρων στη διέγερση από άλλες CSF κυτταροκίνες.

2) Ιντερλευκίνη- 7 (IL-7): Παράγεται από τα στρωματικά κύτταρα του μυελού των οστών, μεταδίδει το σήμα της μέσω τους συστήματος JAK/ STAT και προάγει την επιβίωση και τη διαφοροποίηση των ανώριμων προγονικών κυττάρων σε Β- και Τ- λεμφοκύτταρα.

3) Ιντερλευκίνη-3 (IL-3): Παράγεται από CD4+ Τ- λεμφοκύτταρα, το σήμα της μεταδίδεται μέσω της JAK/ STAT οδού και δρα στα ανώριμα προγονικά κύτταρα, προάγοντας την ανάπτυξη και διαφοροποίηση τους προς ώριμα κύτταρα.

4) Granulocyte- monocyte colony stimulating factor (GM- CSF): Παράγεται όπως και ο G- CSF από ενεργοποιημένα Τ- λεμφοκύτταρα, μακροφάγα, ενδοθηλιακά κύτταρα και στρωματικά κύτταρα του μυελού των οστών. Ο GM- CSF προάγει την ωρίμανση των μυελικών κυττάρων προς δενδριτικά κύτταρα και μονοπύρηνα. Ο G- CSF προάγει την παραγωγή ουδετερόφιλων πολυμορφοπύρηνων και τη μετακίνηση τους στο σημείο της φλεγμονής.

ΒΑΣΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΑΝΟΣΙΑΣ [1, 25-29]

Η κυτταρική ανοσία αποτελεί τμήμα της ειδικής (προσαρμοστικής) ανοσολογικής απάντησης, επιτελείται από τα Τ- λεμφοκύτταρα και αφορά σε ενδοκυττάριους μικροοργανισμούς που δεν μπορούν να αναγνωρισθούν από τα υπόλοιπα συστατικά του ανοσολογικού συστήματος (φαγοκύτταρα, αντισώματα κ.τ.λ). Τα Τ- λεμφοκύτταρα διακρίνονται με βάση τη λειτουργία τους, σε βοηθητικά (helper) (CD4+) και σε κυτταροτοξικά Τ- λεμφοκύτταρα (CD8+). Το πρώτο βήμα για την ενεργοποίηση της κυτταρικής ανοσίας συνίσταται στην αναγνώριση του αντιγόνου.

ΜΕΙΖΟΝ ΣΥΣΤΗΜΑ ΙΣΤΟΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑΣ (MHC) ΚΑΙ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΑΝΤΙΓΟΝΩΝ

Τα Τ- λεμφοκύτταρα αναγνωρίζουν επίτοπους (τμήματα αντιγόνων) αντιγόνων που εκφράζονται στην επιφάνεια των κυττάρων που παρουσιάζουν το αντιγόνο (APCs: Antigen Presenting Cells). Η παρουσίαση και αναγνώριση των αντιγονικών επιτόπων πραγματοποιείται σε συνδυασμό με τα μόρια του μείζονος συστήματος ιστοσυμβατότητας (MHC) που εκφράζεται στην επιφάνεια πολλών κυττάρων, μεταξύ των οποίων και τα APCs. Διακρίνονται δύο είδη MHC μορίων (πρωτεϊνικά μόρια), τα τάξης I και τα τάξης II.

Τα τάξης I MHC μόρια παρουσιάζουν το αντιγόνο στα CD8+ κυτταροτοξικά Τ- λεμφοκύτταρα και τα τάξης II στα CD4+ βοηθητικά Τ- λεμφοκύτταρα. Στο ανθρώπινο είδος, το σύστημα MHC χαρακτηρίζεται από πολυμορφισμό, δηλαδή, το κάθε άτομο διαθέτει παραλλαγμένα γονίδια τα οποία κωδικοποιούν διαφορετικά MHC μόρια.

Τα μόρια τάξης I εκφράζονται σε όλα τα εμπύρηνα κύτταρα, ενώ τα μόρια τάξης II εκφράζονται στα δενδριτικά κύτταρα, στα Β- λεμφοκύτταρα, στα μακροφάγα και σε άλλα κύτταρα. Η λογική εξήγηση του γεγονότος αυτού είναι ότι τα CD8 κυτταροτοξικά Τ- λεμφοκύτταρα προορίζονται να σκοτώσουν τα

μολυσμένα, με ενδοκυττάρια μικρόβια, κύτταρα, ενώ τα CD4+ βοηθητικά Τ-λεμφοκύτταρα προορίζονται να αναγνωρίσουν τα αντιγόνα που παρουσιάζονται από τα δενδριτικά κύτταρα στα λεμφικά όργανα.

Τα μόρια τάξης Ι αυξάνουν τα επίπεδα τους σε ανταπόκριση στην IFN-α, IFN-β και στην IFN-γ, όπως επίσης στον TNF και στις λεμφοτοξίνες. Από την άλλη μεριά, τα μόρια τάξης ΙΙ αυξάνουν την έκφρασή τους υπό την επίδραση της IFN-γ και του TNF.

Τα APCs αποτελούν κυτταρικούς πληθυσμούς που ειδικεύονται να αιχμαλωτίζουν μικροβιακά και άλλα αντιγόνα, να τα παρουσιάζουν στα λεμφοκύτταρα και να εξασφαλίζουν με τον τρόπο αυτό το σήμα για τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των λεμφοκυττάρων. Κύριος εκπρόσωπός τους είναι τα δενδριτικά κύτταρα, ενώ στην ίδια κατηγορία ανήκουν το σύστημα μονοπύρηνων- μακροφάγων. Μερικές φορές, ρόλο APC παίζουν και τα Β-λεμφοκύτταρα. Τα δενδριτικά κύτταρα βρίσκονται κάτω από τα επιθήλια στα περισσότερα όργανα και αφού δεσμεύσουν το αντιγόνο κατευθύνονται προς τα περιφερικά λεμφικά όργανα. Τα περισσότερα δενδριτικά κύτταρα έχουν κοινή προέλευση με τα μονοκύτταρα και ονομάζονται μυελοειδή δενδριτικά κύτταρα.

Παραγωγή των πεπτιδίων που θα παρουσιασθούν από τα μόρια MHC τάξης ΙΙ [1, 30-34]

Τα APCs αρχικά αναγνωρίζουν τα πρωτεϊνικά αντιγόνα, μέσω ειδικών υποδοχέων τους. Στη συνέχεια τα ενδοκυτταρώνουν, τα οδηγούν σε ενδοκυττάρια κυστίδια που ονομάζονται ενδοσώματα. Αυτά έχουν όξινο PH και περιέχουν πρωτεολυτικά ένζυμα. Τα πρωτεϊνικά αντιγόνα αποδομούνται από τα ένζυμα αυτά. Τα πεπτίδια που απελευθερώνονται συνδέονται σε ειδικές θέσεις στα MHC μόρια τάξης ΙΙ, τα οποία παράγονται στο ενδοπλασματικό δίκτυο και στη συνέχεια μεταφέρονται στα ενδοσώματα, με τελικό προορισμό την παρουσίασή τους στην κυτταρική επιφάνεια των APCs.

Παραγωγή των πεπτιδίων που θα παρουσιασθούν από τα μόρια MHC τάξης I

Στο κυτταρόπλασμα των APCs οι αντιγονικές πρωτεΐνες που προέρχονται από ιούς και άλλα ενδοκυττάρια μικρόβια αλλά και οι πρωτεΐνες που προέρχονται από την έκφραση μεταλλαγμένων γονιδίων ή ογκογονιδίων υφίστανται πρωτεόλυση από τα πρωτεοσώματα. Τα πρωτεοσώματα είναι σύμπλεγμα ενζυμικών πρωτεϊνών που υπάρχει στο κυτταρόπλασμα πολλών κυττάρων. Τα μόρια MHC τάξης I παράγονται στο ενδοπλασματικό δίκτυο, ενώ τα αντιγονικά πεπτίδια στο κυτταρόπλασμα. Τα αντιγονικά πεπτίδια, στη συνέχεια, μεταφέρονται στο ενδοπλασματικό δίκτυο, πριν οδηγηθούν στην επιφάνεια των APCs.

Τ- ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ

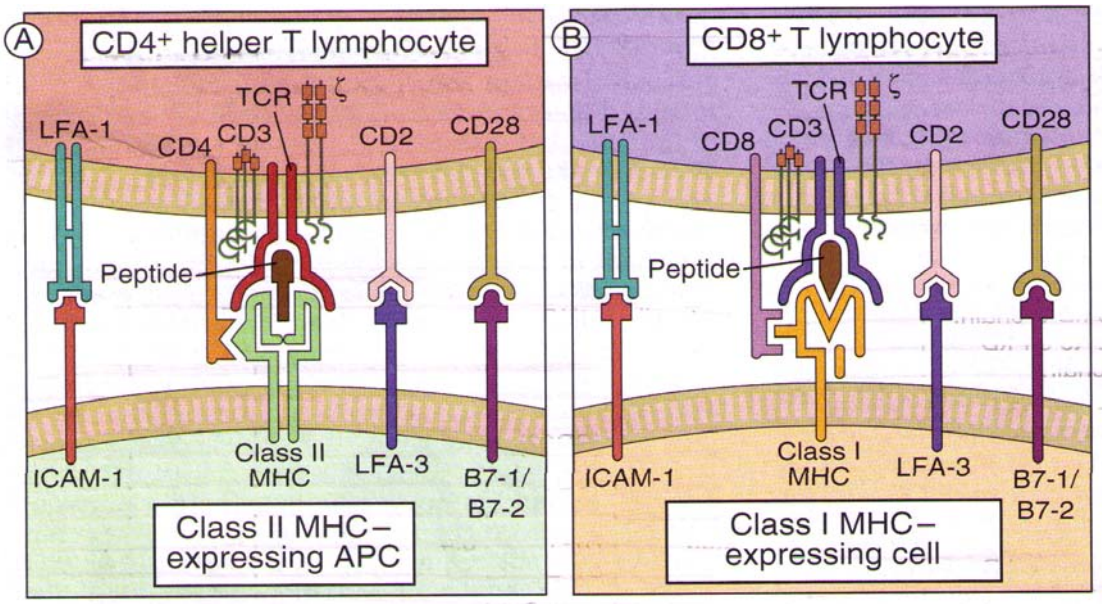
Γενικά: Το προσαρμοστικό ανοσοποιητικό σύστημα του ανθρώπου αποτελείται από τα κύτταρα παρουσίασης αντιγόνων (APCs) και από τα δραστικά κύτταρα (λεμφοκύτταρα) που στοχεύουν στην απομάκρυνση των αντιγόνων. Τα λεμφοκύτταρα είναι τα μοναδικά κύτταρα στον ανθρώπινο οργανισμό που έχουν την ικανότητα να αναγνωρίζουν ειδικά και να ξεχωρίζουν διαφορετικά αντιγονικά ερεθίσματα. Για το λόγο αυτό είναι υπεύθυνα και για τα δύο βασικά χαρακτηριστικά του προσαρμοστικού ανοσοποιητικού συστήματος, την ειδικότητα και τη μνήμη.

Προέρχονται από τα αρχέγονα κύτταρα του μυελού των οστών. Εκεί, περνούν από τα διάφορα στάδια ωρίμανσης και τα μεν Β- λεμφοκύτταρα εξέρχονται από το μυελό τελείως ώριμα, τα δε Τ- λεμφοκύτταρα παίρνουν τη τελική τους μορφή στο θύμο αδένα. Στη συνέχεια, εισέρχονται στην κυκλοφορία και καταλήγουν στα περιφερικά λεμφικά όργανα. Στη φάση αυτή ονομάζονται **naïve κύτταρα**, δηλαδή κύτταρα που δεν έχουν υποστεί αντιγονική διέγερση και είναι μικρά λεμφοκύτταρα. Μετά τη διέγερση τους ονομάζονται **λεμφοβλάστες**.

Στην επιφάνειά τους τα λεμφοκύτταρα φέρουν μεμβρανικές πρωτεΐνες, που είναι διαφορετικές για κάθε είδος λεμφοκυττάρων και χρησιμοποιούνται σαν φαινοτυπικοί δείκτες για να ξεχωρίζουν μεταξύ τους. Έτσι, τα βοηθητικά Τ-λεμφοκύτταρα εκφράζουν την επιφανειακή πρωτεΐνη CD4, ενώ τα CTLs την CD8.

<u>ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΚΑΙ ΕΠΙΚΟΥΡΙΚΑ (ACCESSORY) ΜΟΡΙΑ ΤΩΝ Τ-ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ</u> [1, 35-38] {βλ. **εικόνα 1** από Ref1}

Εικόνα 1.



Τα αντιγόνα παρουσιάζονται από τα APCs στα Τ- λεμφοκύτταρα με τη μορφή του συμπλέγματος μορίου MHC- πεπτιδικού αντιγόνου. Αυτά διαθέτουν τις μη ειδικές πρωτεΐνες CD3 και ζ και τον ειδικό για κάθε αντιγόνο υποδοχέα TCR (T-cell receptor), ο οποίος αναγνωρίζει το σύμπλεγμα. Οι μη ειδικές πρωτεΐνες είναι συνδεδεμένες με τον TCR, αποτελούν το TCR/ CD3 complex και είναι υπεύθυνες για τη μετάδοση του σήματος από τον TCR. Μετά την αναγνώριση του αντιγόνου από τον TCR, παρατηρείται φωσφορυλλίωση των τυροσινικών τμημάτων των μονοπατιών μετάδοσης σήματος (π.χ ITAM). Με ένα καταρράκτη αντιδράσεων, το σήμα φτάνει στον πυρήνα του κυττάρου, όπου παρατηρείται έκφραση διαφόρων γονιδίων του Τ- λεμφοκυττάρου.

Τα Τ- λεμφοκύτταρα εκφράζουν και άλλους μεμβρανικούς υποδοχείς, οι οποίοι παίζουν σημαντικό ρόλο στην απάντηση των Τ- λεμφοκυττάρων μετά τη διέγερση και όχι στην αναγνώριση του αντιγόνου, οι οποίοι αποτελούν τα επικουρικά μόρια. Η σύνδεση του TCR με το σύμπλεγμα μορίου MHC- αντιγόνου και το επικουρικό μόριο ονομάζεται **ανοσολογική σύναψη**, όπου το επικουρικό μόριο βοηθά στη σύνδεση και συγκράτηση των APCs με τον TCR μετά την

αναγνώριση του αντιγόνου. Άλλα επικουρικά μόρια παίζουν ρόλο στην ενεργοποίηση των κυττάρων μέσω της μετάδοσης του σήματος στον πυρήνα των Τ-λεμφοκυττάρων. Τέλος, κάποια άλλα επικουρικά μόρια φαίνεται πως αυξάνουν την ισχύ της προσκόλλησης μεταξύ των λεμφοκυττάρων και των APCs.

Τα CD4 και CD8 είναι πρωτεϊνικοί υποδοχείς των Τ- λεμφοκυττάρων, οι οποίοι ενώνονται με μη πολυμορφικά μόρια περιοχών του MHC και μεταδίδουν σήματα που μαζί με αυτά του συμπλέγματος TCR/ CD3 προκαλούν την ενεργοποίηση του Τ- λεμφοκυττάρου. Τα ώριμα Τ- λεμφοκύτταρα εκφράζουν στην επιφάνεια τους είτε CD4 είτε CD8, τα οποία αλληλεπιδρούν με τα μόρια τάξης ΙΙ και τάξης Ι του MHC αντίστοιχα, ενώ κύρια λειτουργία τους είναι η μετάδοση του σήματος μετά την αντιγονική αναγνώριση. Επίσης, είναι πιθανό να συμβάλλουν στην ισχυροποίηση του δεσμού του Τ- λεμφοκυττάρου με τα APCs. Επειδή ενεργούν ταυτόχρονα με τους TCRs ονομάζονται συνυποδοχείς και γίνεται αντιληπτό ότι αυτοί καθορίζουν αν το Τ- λεμφοκύτταρο θα αναγνωρίσει το μόριο MHC τάξης Ι ή ΙΙ. Από τα Τ- λεμφοκύτταρα που κυκλοφορούν στο αίμα 65% είναι CD4+ και 35% CD8+. Τα CD4+ Τ- λεμφοκύτταρα παίζουν σημαντικό ρόλο στην παραγωγή κυτταροκινών και στην άμυνα έναντι εξωκυττάριων μικροβίων, σε αντίθεση με τα CD8+ Τ- λεμφοκύτταρα, τα οποία συμμετέχουν στην εκρίζωση λοίμωξης οφειλόμενης σε ενδοκυττάρια μικρόβια ή ιούς. Τα CD4 και CD8 συμμετέχουν στη μετάδοση του σήματος του υποδοχέα μέσω μιας τυροσινικής κινάσης (LcK) που είναι συνδεδεμένη στο τελικό τους τμήμα και η οποία φωσφορυλλιώνει τα τυροσινικά τμήματα των μονοπατιών μετάδοσης σήματος (ITAMs) του υποδοχέα.

Ο **CD28** είναι ένας άλλος μεμβρανικός πρωτεϊνικός υποδοχέας, ο οποίος μεταδίδει σήματα που λειτουργούν μαζί με τα σήματα που στέλνει το σύμπλεγμα TCR, προκειμένου να ενεργοποιηθεί το Τ – λεμφοκύτταρο. Τα Τ – λεμφοκύτταρα παρουσιάζουν την ιδιομορφία να απαιτούν 2 σήματα για την ενεργοποίηση τους: το ένα προέρχεται από το σύμπλεγμα TCR μετά την αναγνώριση του αντιγόνου και το άλλο από τον CD28. Συγκεκριμένα, ο CD28 ενώνεται με μια πρωτεΐνη που βρίσκεται στην επιφάνεια των APCs και μπορεί να είναι ο B7-1 ή ο B7-2. Αντίθετη δράση με τον CD28 έχει ο CTLA-4, ο οποίος συνδέεται με τις ίδιες πρωτεϊνες (B7-1

ή B7-2) στην επιφάνεια των APCs και με τον τρόπο αυτό συμμετέχει στη μετάδοση σημάτων τερματισμού της Τ- λεμφοκυτταρικής απάντησης.

Ο **CD45** είναι ένα άλλο επικουρικό μόριο που εκφράζεται στην επιφάνεια των Β- και Τ- λεμφοκυττάρων, των μονοπύρηνων και των φαγοκυττάρων. Συμμετέχει επίσης στην ενεργοποίηση των Τ- λεμφοκυττάρων. Τα naïve Τ- λεμφοκύτταρα είναι CD45RA, ενώ τα Τ- λεμφοκύτταρα μνήμης είναι CD45 RO.

Τα μόρια προσκόλλησης (Ινετεργκρίνη, selectin) των Τ- λεμφοκυττάρων επίσης αποτελούν επικουρικά μόρια. Τα Τ- λεμφοκύτταρα, όπως και τα κύτταρα της εγγενούς (μη ειδικής) ανοσίας χρησιμοποιούν τα μόρια της ιντεργκρίνης και της selectin, ώστε να εξασφαλίζεται η σταθερότητα της σύνδεσης των Τ – λεμφοκυττάρων (με τα APCs, με το ενδοθήλιο κ.τ.λ) και κατά συνέπεια η αρτιότερη απάντησή τους στον αντιγονικό ερεθισμό. Επίσης, η ικανότητα των ιντεργκρινών να ενώνονται με μόρια του στρώματος είναι υπεύθυνη για την παραμονή των Τ- λεμφοκυττάρων στο σημείο της φλεγμονής.

Ο **CD44** είναι μεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη που εκφράζεται σε πολλά κύτταρα μεταξύ των οποίων είναι τα Β- και τα Τ- λεμφοκύτταρα, τα μακροφάγα κ.α. Η βασική του λειτουργία είναι να ενώνεται με το υαλουρονικό και με τον τρόπο αυτό να συγκρατεί τα Τ- λεμφοκύτταρα και τα λεμφοκύτταρα μνήμης σε φλεγμαίνοντες εξωαγγειακούς ιστούς.

Ο **CD40 ligand** είναι μια πρωτεΐνη που εκφράζεται στην επιφάνεια των ενεργοποιημένων CD4+ Τ- λεμφοκυττάρων, η οποία ενώνεται με τον CD40 που υπάρχει στην επιφάνεια των Β- λεμφοκυττάρων, των μακροφάγων, των δενδριτικών κυττάρων και των ενδοθηλιακών κυττάρων. Έτσι, αποτελεί βασικό μεσολαβητή δραστικών λειτουργιών του Τ- λεμφοκυττάρου, διεγείροντας τα Β- λεμφοκύτταρα να παράξουν αντισώματα και τα μακροφάγα να καταστρέψουν τους φαγοκυτταρωμένους μικροοργανισμούς.

<u>ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ Τ- ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ</u> [1, 39-49]

Τα naïve Τ- λεμφοκύτταρα αναγνωρίζουν αντιγόνα και ενεργοποιούνται στα περιφερικά λεμφικά όργανα, με συνέπεια την αύξηση των αντιγονικά ειδικών

λεμφοκυττάρων και την διαφοροποίησή τους σε δραστικά λεμφοκύτταρα και κύτταρα μνήμης. Στη συνέχεια, μερικά από αυτά εγκαταλείπουν τα λεμφικά όργανα και εισέρχονται στην κυκλοφορία, μέσω της οποίας καταλήγουν στην περιοχή της φλεγμονής, όπου αντιμετωπίζουν εκ νέου τα αντιγόνα που προκάλεσαν την ενεργοποίηση τους.

ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΑΠΑΝΤΗΣΗ ΤΩΝ Τ- ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

Η πρώτη απάντηση μετά την ενεργοποίηση των Τ- λεμφοκυττάρων οδηγεί στη μεταγραφή των υπεύθυνων γονιδίων για την έναρξη της σύνθεσης και της παραγωγής διαφόρων κυτταροκινών. Συγκεκριμένα, τα Τ- λεμφοκύτταρα απελευθερώνουν τον αυξητικό παράγοντα IL-2 που προάγει τον πολλαπλασιασμό τους και αυξάνει την έκφραση, στην επιφάνεια τους, του υποδοχέα της ιντερλευκίνης 2 (IL-2R). Συγχρόνως, παράγεται η IL-15 που παράγεται κυρίως από τα APCs και διεγείρει τον πολλαπλασιασμό των CD8+ Τ- λεμφοκυττάρων. Με την αντιγονική διέγερση ξεκινά και η διαδικασία της διαφοροποίησης των πολλαπλασιαζόμενων λεμφοκυττάρων σε κυτταροτοξικά (CTLs) και βοηθητικά. Η πλειοψηφία των διεγερμένων Τ- λεμφοκυττάρων πεθαίνει με απόπτωση κάποιες μέρες ή λίγες εβδομάδες μετά την απομάκρυνση των αντιγόνων. Τα Τ- λεμφοκύτταρα μνήμης παραμένουν για μακρύ χρονικό διάστημα και είναι υπεύθυνα για την αυξημένη απάντηση του ανοσολογικού συστήματος σε επανέκθεση στο ίδιο αντιγόνο. Η επιβίωσή τους δεν απαιτεί αντιγονική αναγνώριση.

Ο ρόλος των συνδιεγερτών στην ενεργοποίηση των Τ- λεμφοκυττάρων

Όπως ήδη έχει τονισθεί, τα λεμφοκύτταρα (Β- και Τ-) για να διαφοροποιηθούν και να πολλαπλασιαστούν χρειάζονται δύο σήματα. Το πρώτο προέρχεται απ' ευθείας από το αντιγόνο. Το δεύτερο σήμα προέρχεται από μόρια της επιφάνειας των APCs που ονομάζονται συνδιεγέρτες. Σε απουσία του συνδιεγέρτη τα Τ- λεμφοκύτταρα, είτε αποτυγχάνουν να αντιμετωπίσουν το αντιγόνο και πεθαίνουν (απόπτωση), είτε παραμένουν σε ανεργία. Οι καλύτερα μελετημένοι συνδιεγέρτες

είναι ο B7-1 και ο B7-2 που βρίσκονται στην επιφάνεια των APCs και ενώνονται με το μόριο CD28 (συνυποδοχέας), που βρίσκεται στην επιφάνεια των Τ-λεμφοκυττάρων. Ο CD28 μεταδίδει σήματα, τα οποία αυξάνουν την απάντηση των Τ- λεμφοκυττάρων στα αντιγόνα, κυρίως μέσω παραγωγής κυτταροκινών, όπως η IL-2. Ο συνδιεγέρτης B7 εκφράζεται σε όλα τα APCs (δενδριτικά κύτταρα, Β-λεμφοκύτταρα και μακροφάγα).

Η έκφραση των συνδιεγερτών εξασφαλίζει ότι η απάντηση των Τ-λεμφοκυττάρων θα αρχίσει την κατάλληλη στιγμή και στο σωστό μέρος. Η έκφραση του B7 αυξάνει με την παρουσία μικροβιακών προϊόντων (ενδοτοξίνες) και με την παρουσία κυτταροκινών, ειδικά της IFN-γ, η οποία παράγεται κατά την αρχική επαφή του ανοσοποιητικού συστήματος με το μικροοργανισμό. Επιπλέον, όταν τα Τ- λεμφοκύτταρα ενεργοποιούνται, εκφράζουν στην επιφάνεια τους ένα μόριο που ονομάζεται CD40 ligand και το οποίο ενώνεται με τον CD40 υποδοχέα στην επιφάνεια των APCs. Με τη σύνδεση αυτή, επιτυγχάνεται αύξηση της έκφρασης του B7 στα APCs. Τα Τ- λεμφοκύτταρα που ήδη έχουν διεγερθεί (ονομάζονται και κύτταρα μνήμης), χρειάζονται πολύ λιγότερο τη δράση των συνδιεγερτών από ότι τα naïve Τ- λεμφοκύτταρα.

Η έκβαση της αντιγονικής αναγνώρισης από τα Τ- λεμφοκύτταρα καθορίζεται από τη διάρκεια και τη συγγένεια της αλληλεπίδρασης TCR- αντιγόνου. Γενικά, η συγγένεια των TCR με το σύμπλεγμα αντιγονικού πεπτιδίου- MHC είναι χαμηλή. Η ενεργοποίηση του CD28 σταθεροποιεί και παρατείνει το χρονικό διάστημα της σύναψης μεταξύ του TCR και του APC. Επίσης, ο CD28 μπορεί να ενεργοποιεί και άλλα μονοπάτια μετάδοσης σήματος (πέρα από αυτά του TCR).

ΔΡΑΣΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΑΝΟΣΙΑΣ [1, 50-56]

Αναφέρθηκε προηγούμενα εκτενώς ο μηχανισμός της αρχικής αντιμετώπισης ξένων μικροοργανισμών από τα φαγοκύτταρα (μη ειδική ανοσία). Πολλές φορές, όμως, οι μικροοργανισμοί αυτοί αναπτύσσουν μηχανισμούς αντίστασης, που οδηγούν στην επιβίωση τους και στον ενδοκυττάριο πολλαπλασιασμό τους. Στις περιπτώσεις αυτές επιλαμβάνεται η κυτταρική ανοσία, η οποία αυξάνει τη

μικροβιοκτόνο δράση των μακροφάγων. Η μεσολάβηση αυτή γίνεται μέσω της παραγωγής IFN- γ, από τα Τ- λεμφοκύτταρα. Κύρια πηγή IFN- γ είναι τα διαφοροποιημένα CD4+ βοηθητικά Τ- λεμφοκύτταρα της υποομάδας TH1, όπως επίσης και τα CD8+ Τ- λεμφοκύτταρα. Επίσης, η παραγωγή από τα Τ- λεμφοκύτταρα TNF και λεμφοτοξίνης προάγει τη φλεγμονή. Με τον τρόπο αυτό, τα Τ- λεμφοκύτταρα δρουν διεγείροντας τα μακροφάγα να ¨σκοτώσουν¨ τα ήδη φαγοκυτταρωμένα μικρόβια. Στη περίπτωση που τα μολυσμένα κύτταρα δεν μπορούν από μόνα τους να «σκοτώσουν» τα ενδοκυττάρια μικρόβια, ενεργοποιούνται τα κυτταροτοξικά Τ- λεμφοκύτταρα (CTLs) τα οποία με μηχανισμούς που περιγράφονται παρακάτω, τα οδηγούν στο θάνατο.

Εμφάνιση δραστικών Τ- λεμφοκυττάρων

Τα naïve Τ- λεμφοκύτταρα δεν έχουν τη δυνατότητα να εκκρίνουν μόρια (κυτταροκίνες, κλπ.) που μπορούν να σκοτώσουν άλλα κύτταρα. Έτσι, μετά την αναγνώριση του μικροβίου, παρατηρείται ανάπτυξη του κλώνου (πολλαπλασιασμός) των Τ- λεμφοκυττάρων που αναγνωρίζουν το συγκεκριμένο αντιγόνο, ακολουθούμενη από τη διαφοροποίηση τους σε δραστικά κύτταρα.

Πολλαπλασιασμός των Τ- λεμφοκυττάρων

Τα Τ- λεμφοκύτταρα, μετά την αναγνώριση του αντιγόνου, ενεργοποιούνται και πολλαπλασιάζονται παράγοντας IL-2, που αποτελεί τον αυξητικό τους παράγοντα. Ο πολλαπλασιασμός τους είναι ταχύς και έντονος, ειδικότερα των CD8+ Τ- λεμφοκυττάρων μετά την αναγνώριση κάποιου ιού. Τα CD4+ Τ- λεμφοκύτταρα επίσης πολλαπλασιάζονται μετά από αντιγονική διέγερση, αλλά με μικρότερη ένταση και ρυθμό από τα CD8+ Τ- λεμφοκύτταρα. Προοδευτικά, με την απομάκρυνση του αντιγόνου, κάποια από τα ενεργοποιημένα λεμφοκύτταρα πεθαίνουν με απόπτωση, με συνέπεια να επανέρχεται το ανοσοποιητικό σύστημα σε κατάσταση ηρεμίας.

Διαφοροποίηση των naïve CD4+ Τ- λεμφοκυττάρων

Τα CD4+ Τ- λεμφοκύτταρα μπορεί να διαφοροποιούνται σε υποομάδες δραστικών κυττάρων, τα οποία παράγουν ξεχωριστές κατηγορίες κυτταροκινών και έτσι να εκτελούν διαφορετικές λειτουργίες. Οι καλύτερα καθορισμένες υποομάδες είναι τα TH1 και τα TH2 λεμφοκύτταρα. Η βασική κυτταροκίνη που απελευθερώνεται από τα TH1 είναι η IFN- γ ενώ οι IL-4 και IL-5 από τα TH2. Οι κυτταροκίνες αυτές δεν συμμετέχουν μόνο στον καθορισμό των δραστικών λειτουργιών των Τ- λεμφοκυττάρων αλλά και στον πολλαπλασιασμό της υποομάδας. Για παράδειγμα, η IFN- γ που παράγεται από το TH1 προάγει επιπλέον τη διαφοροποίηση των TH1, ενώ ταυτόχρονα αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των TH2.

Τα TH1 και τα TH2 προέρχονται από το ίδιο πρόδρομο κύτταρο, το naïve CD4+ Τ- λεμφοκύτταρο και η κατεύθυνση προς την οποία θα διαφοροποιηθούν καθορίζεται από τους διεγέρτες που εμπλέκονται στο αρχικό στάδιο της ανοσολογικής απάντησης. Οι πιο σημαντικοί διεγέρτες είναι η IL-12 για τα TH1 και η IL-4 για τα TH2.

Τα TH1 κύτταρα αναπτύσσονται έναντι μικροοργανισμών που μολύνουν ή ενεργοποιούν τα μακροφάγα ή τα NK κύτταρα (π.χ ενδοκυττάριοι μικροοργανισμοί όπως η Listeria, τα μυκοβακτηρίδια, οι ιοί κ.α). Κοινό χαρακτηριστικό των λοιμώξεων αυτών είναι ότι επάγουν τη μη ειδική ανοσία. Η IL-12 συνδέεται με τον υποδοχέα των CD4+ Τ- λεμφοκυττάρων, ενεργοποιείται ο μεταγραφικός παράγων STAT4, ο οποίος προάγει την διαφοροποίησή τους σε TH1 λεμφοκύτταρα.

Τα TH2 κύτταρα αναπτύσσονται σε απάντηση σε έλμινθες και αλλεργιογόνα, τα οποία προκαλούν χρόνια διέγερση των Τ- λεμφοκυττάρων, συχνά χωρίς τη συμμετοχή της μη ειδικής ανοσίας. Η διαφοροποίηση των αντιγονικά διεγερμένων Τ- λεμφοκυττάρων σε TH2 κύτταρα εξαρτάται από την IL-4 η οποία λειτουργεί ενεργοποιώντας το μεταγραφικό παράγοντα STAT6.

Διαφοροποίηση των Naïve CD8+ Τ- λεμφοκυττάρων

Τα naïve CD8+ Τ- λεμφοκύτταρα διαφοροποιούνται σε CTLs που είναι δραστικά CD8+ λεμφοκύτταρα και τα οποία αναγνωρίζουν και καταστρέφουν τα κύτταρα- στόχους που εκφράζουν αντιγόνα, σε συνδυασμό με τα μόρια MHC τάξης I. Το βασικό χαρακτηριστικό της διαφοροποίησης των CTLs είναι η εμφάνιση μεμβρανικά συνδεδεμένων κυτταροπλασματικών κοκκίων τα οποία περιέχουν πρωτεΐνες- συμπεριλαμβανομένων της perforin και των granzymes- που λειτουργούν σκοτώνοντας άλλα κύτταρα. Επίσης, τα CTLs παράγουν κυτταροξίνες, κυρίως IFN- γ, λεμφοτοξίνη και TNF, οι οποίες ενεργοποιούν τα μακροφάγα και επάγουν τη φλεγμονή.

Μετανάστευση των δραστικών Τ- λεμφοκυττάρων και άλλων λευκοκυττάρων στην περιοχή

Τα δραστικά Τ- λεμφοκύτταρα μεταναστεύουν στην περιοχή της φλεγμονής και παραμένουν εκεί. Η διαδικασία αυτή προκαλείται από τη δράση των κυτταροκινών, οι οποίες επάγουν την έκφραση μορίων προσκόλλησης στα ενδοθηλιακά κύτταρα και στη χημειοταξία των λευκοκυττάρων. Οι πιο σημαντικές κυτταροκίνες για τη μετανάστευση των λευκοκυττάρων στην περιοχή της λοίμωξης είναι ο TNF, η IL-1, οι χημειοκίνες και η IFN-γ. Ο TNF και η IL-1 ενεργοποιούν τα ενδοθηλιακά κύτταρα να εκφράσουν τους προσδέτες (ligands) για τα μόρια προσκόλλησης των λευκοκυττάρων στο σημείο της λοίμωξης, ενώ οι χημειοκίνες αυξάνουν τη συγγένεια των Τ- λεμφοκυττάρων με τις ιντεργκρίνες. Σε αντίθεση με τα ενεργοποιημένα δραστικά Τ- λεμφοκύτταρα που μεταναστεύουν στην περιοχή της φλεγμονής, τα naïve Τ- λεμφοκύτταρα παραμένουν στους περιφερικούς λεμφαδένες όπου ξεκινάει η ανοσοαπάντηση.

Ενεργοποίηση των μακροφάγων και άλλων λευκοκυττάρων από τα Τ-λεμφοκύτταρα

Τα δραστικά κύτταρα της κυτταρικής ανοσίας είναι τα μακροφάγα. Συγκεκριμένα, τα μονοκύτταρα εξέρχονται από τα αγγεία στην περιοχή της λοίμωξης και εκτίθενται σε διάφορα σήματα προερχόμενα από τα TH1 βοηθητικά και από τα CD8+ δραστικά Τ- λεμφοκύτταρα, σε απάντηση στην αντιγονική διέγερσή τους. Με τον τρόπο αυτό μετατρέπονται σε δραστικά μακροφάγα.

Σε σχέση με τις πρόδρομες μορφές τους (μονοκύτταρα) παρουσιάζουν ποσοτικές μεταβολές της έκφρασης διαφόρων πρωτεϊνών, με συνέπεια να απαιτούν τη δυνατότητα να εκτελούν λειτουργίες που δεν μπορούν να πραγματοποιήσουν οι πρόδρομες μορφές τους. Η ενεργοποίηση αυτή προκαλείται μέσω σημάτων που προέρχονται από την αλληλεπίδραση των CD40L- CD40 και από την IFN-γ.

Λειτουργίες Ενεργοποιημένων μακροφάγων

Σε απάντηση στα σήματα του CD40 και της IFN-γ τα μακροφάγα αυξάνουν την παραγωγή πολλών πρωτεϊνών, οι οποίες είναι υπεύθυνες για τις δραστικές λειτουργίες τους. Τα ενεργοποιημένα μακροφάγα θανατώνουν τα φαγοκυτταρωμένα μικρόβια, κυρίως με την παραγωγή μικροβιοκτόνων ουσιών, όπως είναι οι μεσολαβητές οξυγόνου, το νιτρικό οξείδιο και τα λυσοσωματικά ένζυμα. Η ικανότητα των μακροφάγων να αντιμετωπίσουν τους ξένους μικροοργανισμούς ενισχύεται από τα Τ- λεμφοκύτταρα.

Τα ενεργοποιημένα μακροφάγα απελευθερώνουν τοπικά κυτταροκίνες, κυρίως TNF, IL-1, χημειοκίνες, προσταγλανδίνες, λευκοτριένες, με συνέπεια, την πρόκληση τοπικής φλεγμονής με παρουσία πολλών ουδετερόφιλων, τα οποία καταστρέφουν παθογόνους μικροοργανισμούς.

Επίσης, τα ενεργοποιημένα μακροφάγα συμμετέχουν στην απομάκρυνση των νεκρωμένων ιστών, συνεισφέροντας στην αποκατάστασή τους μετά τη φλεγμονή, μέσω της έκκρισης αυξητικών παραγόντων (π.χ η απελευθέρωση PDGF διεγείρει

τον πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών, ενώ η απελευθέρωση TGF διεγείρει τη σύνθεση κολλαγόνου κ.α)

Σε περίπτωση αποτυχίας των μακροφάγων να εκριζώσουν το μικροοργανισμό που προκαλεί τη λοίμωξη, αυτά συνεχίζουν να παράγουν κυτταροκίνες και αυξητικούς παράγοντες με αποτέλεσμα την τροποποίηση του περιβάλλοντος του φλεγμαίνοντος ιστού. Έτσι τελικά, ο ιστός αυτός αντικαθίσταται από ινώδη ιστό, εύρημα που χαρακτηρίζει τις αντιδράσεις επιβραδυνόμενου τύπου.

Τέλος, αξίζει να αναφερθεί ότι σε κάποιες περιπτώσεις τα μακροφάγα συγχωνεύονται σχηματίζοντας πολυπύρηνα γιγαντοκύτταρα. Συναθροίσεις τέτοιων γιγαντοκυττάρων, συχνά περιβάλλουν αντιγόνα, σχηματίζοντας οζίδια φλεγμονώδους ιστού, που ονομάζονται **κοκκιώματα**. Κοκκιωματώδες φλεγμονές χαρακτηρίζουν επίμονες λοιμώξεις όπως η μυκοβακτηριδιακή φυματίωση, διάφορες μυκητιάσεις κ.α

Μηχανισμοί «θανάτωσης» μολυσμένων κυττάρων μέσω των CTLs

Ενδοκυττάριοι μικροοργανισμοί, οι οποίοι εντοπίζονται εκτός των φαγοσωμάτων ή σε μη φαγοκυτταρικά κύτταρα, δεν είναι δυνατόν να εξαλειφθούν από τα ενεργοποιημένα μακροφάγα. Ο μοναδικός τρόπος εκρίζωσής τους είναι η θανάτωση των μολυσμένων κυττάρων από τα CTLs. Η διαδικασία αυτή είναι αντιγονικά ειδική και απαιτεί την επαφή των CTLs με τα μολυσμένα κύτταρα. Τα CTLs ¨ σκοτώνουν¨ στόχους οι οποίοι εκφράζουν το αντιγόνο μέσω των μορίων του MHC τάξης I.

Οι δύο βασικές κυτταρολυτικές πρωτεϊνες είναι η perforin και τα granzymes (granule enzymes). Η περφορίνη μετά την απελευθέρωσή της συνδέεται με υψηλές συγκεντρώσεις εξωκυττάριου Ca^{2+} και υφίσταται πολυμορφισμό. Η πολυμερισμένη μορφή της εμφανίζεται στο στρώμα της πλασματικής μεμβράνης των κυττάρων-στόχων όπου δημιουργεί μικρές οπές. Από τις οπές αυτές εισέρχονται στα κύτταρα-στόχους, τα granzymes (πρωτεάσες). Το granzyme B, το πιο ενδιαφέρον από τα ένζυμα αυτά, δρα πρωτεολυτικά και ενεργοποιεί τα ενδοκυττάρια ένζυμα που ονομάζονται κασπάσες (caspases), με τελικό αποτέλεσμα την απόπτωση των

κυττάρων στόχων. Ένας άλλος μηχανισμός θανάτου των μολυσμένων κυττάρων συνίσταται στην εισροή νερού και διαφόρων εξωκυττάριων ιόντων μέσω ώσμωσης από τις οπές που προκαλεί η περφορίνη.

Κατά την ενεργοποίησή τους, τα CTLs συνδέονται με τις μεμβρανικές πρωτεϊνες των κυττάρων στόχων που καλούνται Fas. Η αλληλεπίδραση αυτή έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση των κασπασών και την απόπτωση των κυττάριων στόχων.

Τα CTLs αφού δώσουν το θανατηφόρο κτύπημα στα κύτταρα- στόχους, αποδεσμεύονται από αυτά, μέσω της μείωσης της συγγένειας των βοηθητικών μορίων με τους προσδέτες (ligands) τους. Η αποδέσμευση αυτή μπορεί να συμβεί και πριν το θάνατο των κυττάρων- στόχων.

ΒΑΣΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΧΥΜΙΚΗΣ ΑΝΟΣΙΑΣ

[1, 57-69]

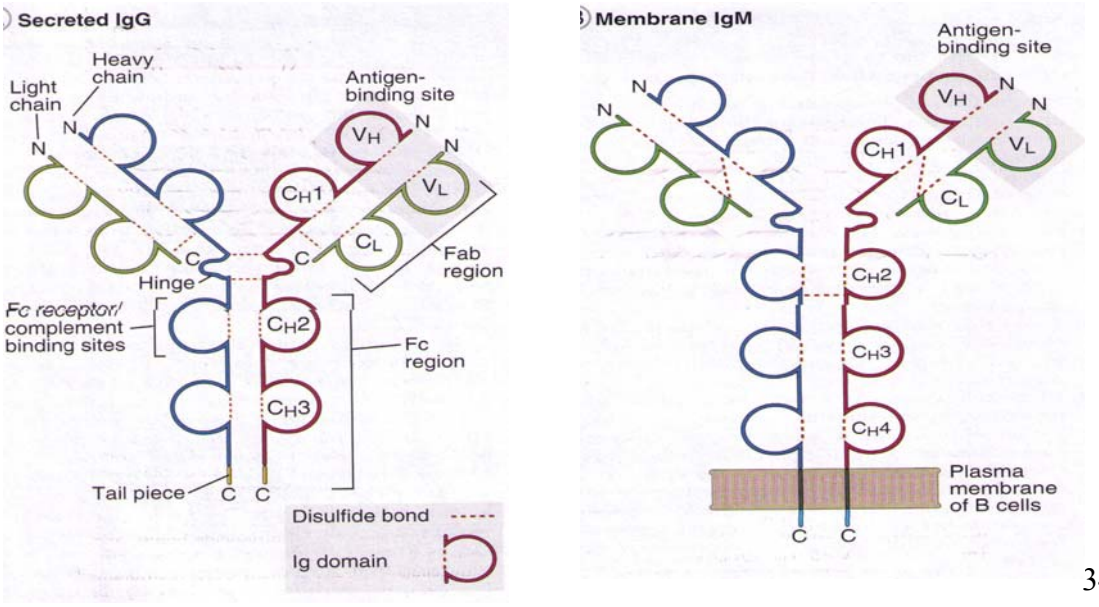
Η χυμική ανοσία επιτελείται από μια ομάδα γλυκοπρωτεϊνών που ονομάζονται αντισώματα και συμμετέχουν τόσο στην αναγνώριση αντιγόνων όσο και στην προσπάθεια απομάκρυνσής τους από τον οργανισμό. Η βασική φυσιολογική λειτουργία της είναι η άμυνα έναντι εξωκυττάριων μικροοργανισμών και μικροβιακών τοξινών. Τα αντισώματα παράγονται από τα Β- λεμφοκύτταρα και μπορούν να παραμείνουν προσκολλημένα στην επιφάνεια των Β- λεμφοκυττάρων, λειτουργώντας ως υποδοχείς αντιγόνων, είτε να απελευθερώνονται στην κυκλοφορία, στους βλεννογόνους ή το διάμεσο ιστό και να συμμετέχουν στην απομάκρυνση του αντιγόνου, συνεργαζόμενα με το συμπλήρωμα, τα φαγοκύτταρα και τα ηωσινόφιλα.

Με τη δράση τους τα αντισώματα κινητοποιούν διάφορους αμυντικούς μηχανισμούς, όπως η ενεργοποίηση του συστήματος του συμπληρώματος, η οψωνοποίηση του αντιγόνου και τέλος, η ενεργοποίηση της κυτταρικής ανοσίας.

Όλα τα αντισώματα μοιάζουν ως προς τα δομικά τους χαρακτηριστικά και παρουσιάζουν σημαντική μεταβλητότητα στις περιοχές τους που συνδέονται με τα αντιγόνα. Στην μεταβλητότητά τους αποδίδεται και η μεγάλη ικανότητα που έχουν να αναγνωρίζουν και να απαντούν σε διαφορετικά αντιγόνα.

Κάθε αντίσωμα αποτελείται από δύο βαρειές και δύο ελαφριές αλυσίδες {βλ. εικόνα 2, από Ref. 1}.

Εικόνα 2.



Τόσο οι βαρειές όσο και οι ελαφριές αλυσίδες παρουσιάζουν ένα αμινικό **μεταβλητό άκρο V,** το οποίο συμμετέχει στην αντιγονική αναγνώριση και ένα **καρβοξυλικό άκρο C,** το οποίο μεσολαβεί για την έναρξη των δραστικών λειτουργιών. Τα αντισώματα μπορούν να διαιρεθούν σε διαφορετικές κλάσεις και υποκλάσεις, με βάση τις διαφορές στη μορφολογία που παρουσιάζουν μεταξύ τους τα C τμήματα των βαρειών αλυσίδων. Διακρίνονται πέντε ισότυποι αντισωμάτων (IgA, IgD, IgE, IgG και IgM) ενώ, στον άνθρωπο υπάρχουν υποκλάσεις για το IgA (IgA_1 και IgA_2) και για το IgG (IgG_{1-4}). Ο κάθε ισότυπος εκτελεί διαφορετικές λειτουργίες, γεγονός που οφείλεται στο ότι ο κάθε ισότυπος συνδέεται σε υποδοχείς διαφορετικών κυττάρων, όπως τα φαγοκύτταρα, τα NK κύτταρα, τα μαστοκύτταρα κ.α.

Υπάρχουν 2 τύποι ελαφρών αλυσίδων, οι κ και λ, οι οποίες διαφέρουν στο καρβοξυλικό (C) άκρο τους. Ένα αντίσωμα θα περιέχει είτε 2κ είτε 2λ αλυσίδες, ποτέ, όμως, από μια. Στον άνθρωπο η αναλογία κ/λ είναι 60% / 40%. Σε διαταραχές της αναλογίας αυτής εγείρεται η υποψία μονοκλωνικής κακοήθειας των Β-λεμφοκυττάρων.

Το ώριμο naïve Β- λεμφοκύτταρο εκφράζει IgG και IgM μεμβρανικά αντισώματα, τα οποία παίζουν τον ρόλο του υποδοχέα στην επιφάνειά του και μόλις αναγνωρίσουν κάποιο αντιγόνο πυροδοτούν το μηχανισμό ενεργοποίησης του Β-λεμφοκυττάρου. Η ενεργοποίηση του Β- λεμφοκυττάρου συνίσταται στη διαφοροποίησή του προς έκκριση αντισωμάτων και σε αλλαγές στον τύπο των παραγόμενων ανοσοσφαιρινών (Ig).

Τα μεμβρανικά αντισώματα των Β- λεμφοκυττάρων αναγνωρίζουν ως αντιγόνα λιπίδια, ενδιάμεσους μεσολαβητές, υδατάνθρακες, πρωτεΐνες, νουκλεϊνικά οξέα, φωσφολιπίδια κ.α. Σε αντίθεση με τα Τ- λεμφοκύτταρα, που αναγνωρίζουν μόνο πεπτίδια, τα Β- λεμφοκύτταρα αναγνωρίζουν και ενεργοποιούνται μόνο με μακρομοριακές ενώσεις. Μικρά μόρια μπορεί να αναγνωρισθούν από τα αντισώματα χωρίς, όμως, να ενεργοποιούν τα Β- λεμφοκύτταρα. Τα μόρια αυτά ονομάζονται **απτίνες.** Το τμήμα του μακρομορίου που συνδέεται με το αντίσωμα καλείται **επίτοπος**, ενώ γίνεται αντιληπτό ότι κάθε μακρομόριο περιέχει πολλούς επίτοπους.

Χαρακτηριστικά της απάντησης της χυμικής ανοσίας

Το ώριμο Β λεμφοκύτταρο μεταναστεύει από το μυελό των οστών στους περιφερικούς λεμφικούς ιστούς, όπου έρχεται σε επαφή με τα αντιγόνα. Τα αντιγόνα έρχονται σε επαφή με τις ανοσοσφαιρίνες IgG και IgM στην επιφάνεια των naïve Β- λεμφοκυττάρων και τα ενεργοποιεί. Μετά την ενεργοποίηση τους ακολουθεί μια σειρά ενδοκυττάριων απαντήσεων στο συγκεκριμένο ερέθισμα, η οποία οδηγεί στον πολλαπλασιασμό τους, δηλαδή στην επέκταση του ειδικού για το συγκεκριμένο αντιγόνο κλώνου Β- λεμφοκυττάρων. Τα ενεργοποιημένα Β- λεμφοκύτταρα διαφοροποιούνται σε αυτά που θα εκκρίνουν αντισώματα και σε μνημονικά.

ΑΝΤΙΓΟΝΙΚΗ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΚΑΙ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ Β-ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

Η σύνδεση του αντιγόνου με τις μεμβρανικές ανοσοσφαιρίνες- υποδοχείς στην επιφάνεια των Β- λεμφοκυττάρων σηματοδοτεί την έναρξη της διαδικασίας μετάδοσης του μηνύματος στον πυρήνα τους με τελική κατάληξη την ενεργοποίησή τους. Συγκεκριμένα, αρχικά παρατηρείται φωσφορυλλίωση των ITAMs που ακολουθείται από έναν καταρράκτη αλυσιδωτών αντιδράσεων που οδηγεί στην ενεργοποίηση μεταφραστικών παραγόντων (AP-1, NF-κB, NFAT κ.α). Με την ενεργοποίηση των παραγόντων αυτών, αυξάνει η έκφραση γονιδίων, των οποίων τα προϊόντα απαιτούνται για τη λειτουργική ενεργοποίηση των Β- λεμφοκυττάρων.

Για την ενεργοποίησή τους τα Β- λεμφοκύτταρα απαιτούν ένα δεύτερο σήμα που προέρχεται από τους υποδοχείς συμπληρώματος τύπου 2 (CR2) που, επίσης βρίσκονται στην επιφάνειά τους. Τα σήματα αυτά εξασφαλίζουν τη διέγερση του Β- λεμφοκυττάρου, σε απάντηση αναγνώρισης ξένου για τον οργανισμό αντιγόνο και όχι αυτοαντιγόνου.

Το αντιγόνο μεταφέρεται σε κυστίδια εντός του κυτταροπλάσματος των Β- λεμφοκυττάρων όπου εάν πρόκειται για πρωτεϊνικό αντιγόνο, πρωτεολύεται και τα

πεπτίδια που προκύπτουν εκτίθενται στην επιφάνεια τους προκειμένου να αναγνωρισθούν από τα βοηθητικά Τ- λεμφοκύτταρα.

Τα πεπτιδικά αντιγόνα παρουσιάζονται μέσω των μορίων MHC τάξης ΙΙ στα CD4+ Τ- λεμφοκύτταρα, τα οποία με τον τρόπο αυτό ενεργοποιούνται και απελευθερώνουν κυτταροκίνες. Με τη δράση αυτών διεγείρεται η επικράτηση ενός κλώνου Β- λεμφοκυττάρων, η μετατροπή των Β- λεμφοκυττάρων σε άλλο ισότυπο, η ωρίμανση των Β- λεμφοκυττάρων και η διαφοροποίησή τους σε μνημονικά κύτταρα. Επίσης, στα Β- λεμφοκύτταρα μετά την αναγνώριση του πεπτιδικού αντιγόνου και υπό την ευοδωτική δράση των κυτταροκινών παρατηρούνται:

1) Είσοδος στη φάση G1 του κυτταρικού κύκλου με αύξηση του μεγέθους τους και του κυτταροπλασματικού RNA και η σύνθεση ενδοκυττάριων οργανυλίων (π.χ ριβοσώματα)
2) Αύξηση της έκφρασης αντιαποπτωτικών γονιδίων
3) Αύξηση της έκφρασης μορίων MHC τάξης ΙΙ και συνδιεγερτών από τα Β- λεμφοκύτταρα
4) Υπερέκφραση υποδοχέων για κυτταροκίνες που προέρχονται από τα Τ- λεμφοκύτταρα.

Είναι προφανές ότι τα βοηθητικά Τ- λεμφοκύτταρα συνεπικουρούν την ανάπτυξη και διαφοροποίηση των Β- λεμφοκυττάρων με αποτέλεσμα 3-7 ημέρες μετά την έκθεση του οργανισμού σε κάποιο αντιγόνο να αρχίζει η εμφάνιση των Β- λεμφοκυττάρων που παράγουν αντισώματα.

ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ Β- ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

Η αναγνώριση και ενεργοποίηση των Β- λεμφοκυττάρων από πεπτιδικό αντιγόνο, προκαλεί, όπως ήδη έχει αναφερθεί την ενεργοποίηση των βοηθητικών Τ- λεμφοκυττάρων. Σε απάντηση στην αντιγονική αναγνώριση αυξάνεται η έκφραση του CD40L από τα βοηθητικά Τ- λεμφοκύτταρα όπως η απελευθέρωση κυτταροκινών με συνέπεια τη μετατροπή της παραγωγής μεμβρανικών ανοσοσφαιρινών σε δραστικές ανοσοσφαιρίνες που εκκρίνονται και μπορεί να είναι διαφορετικών ισοτύπων (heavy chain isotype switching). Με το μηχανισμό αυτό

εξασφαλίζεται η ευρύτητα δράσης της χυμικής ανοσίας, δεδομένου ότι διαφορετικές ανοσοσφαιρίνες επιτελούν διαφορετικές λειτουργίες και αντιμετωπίζουν διαφορετικούς τύπους λοιμογόνων παραγόντων. Πολλά από τα Β- λεμφοκύτταρα μετατρέπονται σε πλασματοκύτταρα, τα οποία μορφολογικά διαφέρουν από αυτά και έχουν τη δυνατότητα να εκκρίνουν μεγάλες ποσότητες αντισωμάτων. Τα κύτταρα αυτά μεταναστεύουν στο μυελό των οστών και μπορεί να συνεχίσουν να παράγουν αντισώματα για μήνες ή και για χρόνια.

Ωρίμανση συγγένειας και μνημονικά Β- λεμφοκύτταρα

Η αντιμετώπιση ¨επίμονων¨ ή υποτροπιαζόντων αντιγόνων απαιτεί την παρουσία αντισωμάτων με υψηλή συγγένεια προς αυτά. Αυτή εξασφαλίζεται με την αλληλεπίδραση του CD40/ CD40L των βοηθητικών Τ- λεμφοκυττάρων. Για το λόγο αυτό ωρίμανση συγγένειας (affinity maturation) εμφανίζεται σε αντισωματικές απαντήσεις έναντι πρωτεϊνικών αντιγόνων.

Καθώς τα αντισώματα πολλαπλασιάζονται, περισσότερα αντιγόνα εξαλείφονται και λιγότερα είναι διαθέσιμα εντός των λεμφικών οργάνων. Έτσι, τα Β- λεμφοκύτταρα τα οποία είναι ικανά να ενωθούν ειδικά με το συγκεκριμένο αντιγόνο και να διασωθούν από τη διαδικασία της απόπτωσης, χρειάζονται να εκφράζουν υποδοχείς όλο και υψηλότερης συγγένειας προς το συγκεκριμένο αντιγόνο. Το γεγονός αυτό συνεισφέρει σημαντικά στη διαδικασία της ωρίμανσης συγγένειας.

Κάποια από τα ενεργοποιημένα Β- λεμφοκύτταρα δεν εμφανίζουν την ικανότητα να εκκρίνουν αντισώματα. Αποκτούν, όμως, την ικανότητα να επιβιώνουν για μακρύ χρονικό διάστημα, χωρίς να απαιτείται για αυτό αντιγονική διέγερση. Αυτά τα Β- λεμφοκύτταρα ονομάζονται **μνημονικά λεμφοκύτταρα** και μπορούν να παρουσιάζουν ταχύτατα την απάντηση σε επόμενη διέγερσή τους από το ίδιο αντιγόνο.

ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΙΚΗ ΑΠΑΝΤΗΣΗ ΕΝΑΝΤΙ ΜΗ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΩΝ ΑΝΤΙΓΟΝΩΝ

Πολλά μη πρωτεϊνικά αντιγόνα, όπως οι πολυσακχαρίτες, τα λιπίδια κ.α, διεγείρουν την παραγωγή αντισωμάτων χωρίς τη μεσολάβηση των βοηθητικών Τ-λεμφοκυττάρων. Αυτή η αντισωματική απάντηση διαφέρει σημαντικά από αυτή που παρατηρείται έναντι των πρωτεϊνικών αντιγόνων. Είναι χαμηλής συγγένειας και επιτελείται από τον IgM ισότυπο κυρίως στα λεμφικά όργανα, από τον IgG ισότυπο στο αίμα και από τον IgA στους βλενογγόνους. Στην ενεργοποίηση των Β-λεμφοκυττάρων από τα αντιγόνα αυτά, σημαντικό ρόλο φαίνεται να παίζουν τα μεμβρανικά αντισώματα όπως επίσης και η ενεργοποίηση του συστήματος του συμπληρώματος.

Στην πράξη αντισώματα τα οποία συνδέονται με μικρόβια ή μικροβιακές τοξίνες παρακωλύουν την ικανότητα τους να αλληλεπιδράσουν με τους υποδοχείς υγιών κυττάρων. Η σύνδεση των αντισωμάτων με τα μικρόβια προκαλεί σ' αυτά δομικές αλλαγές, έτσι ώστε να μη μπορούν να έλθουν σε επαφή με τους υποδοχείς.

Από την άλλη μεριά, αντισώματα του ισότυπου IgG οψωνοποιούν τα μικρόβια και προάγουν τη φαγοκυττάρωσή τους από τα μακροφάγα. Με τη δράση αυτή των αντισωμάτων, η σύνδεση μικροβίου- μακροφάγου γίνεται σταθερότερη και, κατά συνέπεια, η διαδικασία της φαγοκυττάρωσης πιο αποτελεσματική. Τα IgM και κάποιοι IgG ισότυποι ενεργοποιούν το σύστημα του συμπληρώματος, ενώ τα IgE συνδέονται με τους υποδοχείς των μαστοκυττάρων και των ηωσινόφιλων και τα ενεργοποιούν.

ΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΟΣ [1, 70-74]

Το σύστημα του συμπληρώματος αποτελεί έναν από τους βασικούς δραστικούς μηχανισμούς της μη ειδικής ανοσίας, αλλά και της χυμικής ανοσίας. Αποτελείται από πρωτεϊνες οι οποίες σε φυσιολογικές συνθήκες είναι ανενεργείς. Κάτω από ειδικές συνθήκες ενεργοποιούνται μέσω πρωτεόλυσης και τα προϊόντα αυτής είναι εκείνα που επιτελούν τις βασικές δραστικές λειτουργίες του συμπληρώματος. Η ενεργοποίησή του γίνεται όταν αυτό έλθει σε επαφή με μικρόβια παρουσία ή όχι αντισωμάτων. Με τον τρόπο αυτό εξασφαλίζεται ότι το ενεργοποιημένο συμπλήρωμα θα ασκήσει τις δραστικές του λειτουργίες μόνον όταν αυτό απαιτείται. Διακρίνονται τρεις οδοί ενεργοποίησης του συμπληρώματος: *η κλασική οδός,* που αποτελεί μηχανισμό της χυμικής ανοσίας, *η εναλλακτική οδός* και *το μονοπάτι της λεκτίνης* που αποτελούν τμήμα του μηχανισμού της μη ειδικής ανοσίας.

Οι τρεις οδοί διαφέρουν ουσιαστικά στον τρόπο έναρξής τους, ενώ το τελικό αποτέλεσμα είναι η πρωτεόλυση της πιο άφθονης πρωτεΐνης του συμπληρώματος, της C3, όπου θα δώσει τη γέννηση βιολογικά ενεργών προϊόντων (C3a και C3b)

Η κλασσική οδός

Η κλασσική οδός της ενεργοποίησης του συμπληρώματος ξεκινάει από τη σύνδεση της πρωτεΐνης C1 του συμπληρώματος με συγκεκριμένες περιοχές των μεμβρανικών αντισωμάτων (IgG και IgM). Από τους υπότυπους των IgG αντισωμάτων, οι IgG_1 και IgG_3 είναι οι πιο ικανοί ενεργοποιητές του συμπληρώματος. Η C1 είναι ένα μεγάλο πρωτεϊνικό σύμπλεγμα που αποτελείται από τρία τμήματα: Το $C1_q$ που συνδέεται με το αντίσωμα και τα $C1_r$ και $C1_S$ που είναι πρωτεάσες και ενεργοποιούνται με τη σύνδεση του $C1_q$ με το αντίσωμα. Η ενεργοποίηση του $C1_s$ προκαλεί πρωτεόλυση της C4 πρωτεΐνης του συμπληρώματος σε C4a που απελευθερώνεται και σε C4b. Η C4b συνδέεται με το σύμπλεγμα αντιγόνου- αντισώματος στην επιφάνεια του μικροβιακού κυττάρου. Έτσι, εξασφαλίζεται ότι η κλασσική οδός ενεργοποιείται παρουσία μικροβίου. Με τη

δράση του ενεργοποιημένου $C1_s$ πρωτεολύεται η πρωτεΐνη C2, σε C2a και C2b. Το σύμπλεγμα C4b2a αποτελεί την C3 convertase της κλασσικής οδού, η οποία διασπά με πρωτεόλυση τη C3 πρωτεΐνη του συμπληρώματος. Το C3b κλάσμα που προκύπτει συνδέεται με σταθερούς δεσμούς στην επιφάνεια των μικροβιακών κυττάρων ή των αντισωμάτων. Τέλος, κάποια μόρια C3b μπορεί να προσκολληθούν στο μόριο της C3 convertase και να σχηματίσουν το σύμπλεγμα C4b2a3b που ονομάζεται C5 convertase της κλασσικής οδού. Η C5 convertase προκαλεί πρωτεόλυση της C5 πρωτεΐνης του συμπληρώματος και οδηγεί στην έναρξη του τελικού σταδίου ενεργοποίησης του συμπλέγματος.

Η εναλλακτική οδός

Η οδός της ενεργοποίησης του συμπληρώματος έχει ως τελικό αποτέλεσμα την πρωτεόλυση του C3 και τη σταθερή σύνθεση του κλάσματος C3b που προκύπτει, στη μικροβιακή επιφάνεια, χωρίς τη συμμετοχή αντισωμάτων. Μόλις το C3 έλθει σε επαφή με τη μικροβιακή επιφάνεια, γίνεται ασταθές μέσω διαφόρων βιοχημικών διαδικασιών πρωτεόλυσης. Αν το κλάσμα C3b που παράγεται δεν συνδεθεί στην επιφάνεια του μικροβίου, τότε καθίσταται ανενεργό και η ενεργοποίηση του συμπληρώματος σταματά. Στην επιφάνεια του μικροβίου, η C3b συνδέεται με μια πρωτεΐνη του πλάσματος (παράγοντας B). Με τη δράση πρωτεολυτικών ενζύμων ο παράγοντας B διασπάται. Ένα κλάσμα του (η Bb) δημιουργεί σύμπλεγμα με το C3b (C3b Bb), του οποίου η δράση συνίσταται στην περαιτέρω πρωτεόλυση των C3 μορίων, δηλαδή στην ενίσχυση της ενεργοποίησης του συμπληρώματος. Το σύμπλεγμα C3bBb αποτελεί την C3 convertase της εναλλακτικής οδού. Το C3a κλάσμα απελευθερώνεται. Κάποια μόρια C3b που προκύπτουν από τη δράση της C3 convertase, προσκολλώνται σ' αυτή, σχηματίζοντας ένα σύμπλεγμα C3bBb3b που ονομάζεται C5 convertase της εναλλακτικής οδού. Βασική λειτουργία της C5 convertase είναι η διάσπαση της C5 πρωτείνης του συμπληρώματος και η έναρξη έτσι του τελικού σταδίου της ενεργοποίησης του συμπληρώματος.

Η οδός της λεκτίνης

Η οδός αυτή πυροδοτείται σε απουσία αντισωμάτων μετά τη σύνδεση μικροβιακών πολυσακχαριτών με την κυκλοφορούσα λεκτίνη. Αυτή συνδέεται με τα υπολείμματα μαννόζης στους πολυσακχαρίτες και επειδή μορφολογικά μοιάζει με το $C1_q$ ενεργοποιεί το σύστημα του συμπληρώματος ακολουθώντας την ίδια οδό, με την κλασσική οδό.

Τελικό στάδιο ενεργοποίησης του συμπληρώματος

Είναι κοινό και για τις τρεις οδούς που προαναφέρθηκαν. Οι C5 convertases που προκύπτουν στο αρχικό στάδιο δίνουν το έναυσμα για την έναρξη του τελικού σταδίου ενεργοποίησης του συστήματος του συμπληρώματος, το οποίο κορυφώνεται με το σχηματισμό του κυτταροκτόνου MAC (Membrane Attack Complex). Συγκεκριμένα, η C5 convertase προκαλεί διάσπαση της πρωτεΐνης C5, σε C5a που απελευθερώνεται και της C5b η οποία παραμένει συνδεδεμένη με πρωτεϊνες του συμπληρώματος στην επιφάνεια του μικροβιακού κυττάρου. Η C5b ενεργοποιεί διαδοχικά τις C6, C7, C8, δημιουργώντας το σύμπλεγμα C5b, 6,7,8 το οποίο έχει περιορισμένη ικανότητα λύσης των μικροβιακών κυττάρων. Ο σχηματισμός του MAC ολοκληρώνεται με τη σύνδεση του C9 στο σύμπλεγμα και το σχηματισμό του C5b, 6,7,8,9. Η C9 στο σημείο της σύνδεσής της με το σύμπλεγμα, πολυμερίζεται και σχηματίζει πόρους στην πλασματική μεμβράνη των μικροβιακών κυττάρων, από όπου, ωσμωτικά, εισέρχεται νερό με συνέπεια την εξοίδησή τους και τη ρήξη τους. Από την άλλη μεριά, από τους πόρους αυτούς εισέρχεται Ca^{2+}, το οποίο επάγει την απόπτωση των εμπύρηνων κυττάρων.

Υποδοχείς των πρωτεϊνών του συμπληρώματος

Οι περισσότερες από τις βιολογικές δραστηριότητες του συμπληρώματος πραγματοποιούνται μέσω της σύνδεσης κλασμάτων του συμπληρώματος σε μεμβρανικούς υποδοχείς που εκφράζονται σε διάφορα κύτταρα

Ο τύπος 1 υποδοχέων συμπληρώματος (CR1 ή CD35) λειτουργεί προάγοντας τη φαγοκυττάρωση των καλυμμένων από C3b ή C4b μικροβίων και την κάθαρση των ανοσοσυμπλεγμάτων από την κυκλοφορία. Πρόκειται για υποδοχείς υψηλής συγγένειας για το C3b και C4b. Εκφράζεται κυρίως στην επιφάνεια των ερυθροκυττάρων, των ουδετερόφιλων, των μονοπύρηνων, των ηωσινόφιλων και των Τ- και Β- λεμφοκυττάρων. Η σύνδεση των υποδοχέων με το C3b και το C4b προκαλεί την ενεργοποίηση των μικροβιοκτόνων μηχανισμών των μακροφάγων.

Ο τύπος 2 υποδοχέων συμπληρώματος (CR2 ή CD21) λειτουργεί διεγείροντας τις απαντήσεις της χυμικής ανοσίας, αυξάνοντας την ενεργοποίηση των Β-λεμφοκυττάρων και προάγοντας την παγίδευση του συμπλέγματος αντιγόνου-αντισώματος στα βλαστικά κέντρα των περιφερικών λεμφικών οργάνων. Οι υποδοχείς αυτοί είναι παρόντες στα Β- λεμφοκύτταρα και σε κάποια ενδοθηλιακά κύτταρα.

Ο τύπος 3 υποδοχέων συμπληρώματος καλείται και MAC-1 (CR3, CD11b/ CD18) είναι ιντεργκρίνη η οποία λειτουργεί ως υποδοχέας. Εκφράζεται στα ουδετερόφιλα, στα μακροφάγα, στα μαστοκύτταρα και στα NK κύτταρα. Ο υποδοχέας αυτός στα ουδετερόφιλα και στα μακροφάγα προάγει τη φαγοκυττάρωση οψωνοποιημένων μικροβίων. Σε άλλες περιπτώσεις από μόνος του αναγνωρίζει βακτήρια προκειμένου να φαγοκυτταρωθούν μέσω της σύνδεσης του με μικροβιακά μόρια.

Ο τύπος 4 υποδοχέων συμπληρώματος (CR4, CD_{11c}/CD18) είναι επίσης ιντεργκρίνη και δρα όπως ο MAC-1.

<u>Λειτουργίες του συμπληρώματος</u>

1) Η βασική δραστική λειτουργία του συμπληρώματος τόσο στην ειδική ανοσία, όσο και στη χυμική είναι *η οψωνοποίηση και φαγοκυττάρωση μικροβίων.* Μικρόβια στα οποία το συμπλήρωμα ενεργοποιείται με την κλασσική ή εναλλακτική οδό, φαγοκυτταρώνονται με τη σύνδεση των πρωτεϊνών- προϊόντων πρωτεόλυσης των C3 και C4 κλασμάτων του συμπληρώματος σε ειδικούς υποδοχείς των μακροφάγων και των

ουδετερόφιλων. Τα μακροφάγα με τη δράση της IFN- γ αυξάνουν την έκφραση του CR1 υποδοχέα και κατ' επέκταση της φαγοκυττάρωσης. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα για τη σημασία του συμπληρώματος στην άμυνα του οργανισμού αποτελεί η λοίμωξη από μικρόβια των οποίων η κάψα είναι πλούσια σε πολυσακχαρίτες (π.χ πνευμονιόκοκος, μηνιγγιδόκοκκος κ.τ.λ). Η λοίμωξη αυτή αντιμετωπίζεται σχεδόν ολοκληρωτικά από τη χυμική ανοσία. Αντισώματα IgM εναντίον της πολυσακχαριδικής κάψας συνδέονται με βακτήρια, ενεργοποιούν την κλασσική οδό και το σύμπλεγμα που σχηματίζεται φαγοκυτταρώνεται στο σπλήνα. Έτσι ερμηνεύεται γιατί, άτομα που έχουν υποστεί σπληνεκτομή είναι ιδιαιτέρως ευπαθή στις λοιμώξεις αυτές.

2) *Προκαλεί διέγερση φλεγμονωδών απαντήσεων* μέσω πρωτεολυτικών προϊόντων C3a, C4a, C5a τα οποία επάγουν την οξεία φλεγμονή με την ενεργοποίηση των μαστοκυττάρων και των ουδετερόφιλων (απελευθέρωση αγγειοδραστικών ουσιών, αύξηση της κινητικότητας των ουδετερόφιλων και ενίσχυση της σταθερής σύνδεσής τους με τα ενδοθηλιακά κύτταρα, αύξηση διαπερατότητας των αγγείων κ.α).
3) Τέλος, *έχει και κυτταρολυτικές ιδιότητες* μέσω του MAC όπως ήδη έχει αναφερθεί.

ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΟΧΗ [1, 75-83]

Ανοσολογική ανοχή ορίζεται η απουσία ανοσολογικής απάντησης σε αντιγόνο. Όταν ειδικά λεμφοκύτταρα αντιμετωπίζουν ένα αντιγόνο τότε μπορεί να προκληθεί είτε ενεργοποίησή τους, που οδηγεί σε άνοση απάντηση είτε παραμονή τους σε μη ενεργοποιημένη φάση που οδηγεί σε ανοσολογική ανοχή. Η διατήρηση της ανοχής έναντι αυτοαντιγόνων ελέγχεται από πολλούς διαφορετικούς μηχανισμούς που εμποδίζουν την ωρίμανση και ενεργοποίηση των λεμφοκυττάρων. Σε αποτυχία των μηχανισμών αυτών να διατηρήσουν την ανοχή του ανοσολογικού συστήματος έναντι αυτοαντιγόνων, προκαλούνται αντιδράσεις που καλούνται **αυτοανοσία** και τα νοσήματα που προκύπτουν **αυτοάνοσα.**

Όταν τα «ανώριμα» λεμφοκύτταρα αντιμετωπίζουν, στην περιοχή της «γέννησής» τους (θύμος, μυελός των οστών), κάποιο αυτοαντιγόνο μιλάμε για κεντρική ανοχή, ενώ όταν το αντιμετωπίζουν στην περιφέρεια τα «ώριμα» πλέον λεμφοκύτταρα, μιλάμε για **περιφερική ανοχή**. Τα «ανώριμα» λεμφοκύτταρα αντιμετωπίζουν κατά τη φάση της ωρίμανσής τους μόνο αυτοαντιγόνα και οι κλώνοι των λεμφοκυττάρων, των οποίων οι υποδοχείς αναγνωρίζουν με υψηλή συγγένεια τα αντιγόνα αυτά θανατώνονται. Η διαδικασία αυτή ονομάζεται **αρνητική επιλογή.**

Η περιφερική ανοχή επάγεται είτε όταν τα ώριμα λεμφοκύτταρα αναγνωρίζουν αντιγόνα χωρίς τα επαρκή επίπεδα συνδιεγερτών, που απαιτούνται για την ενεργοποίησή τους είτε μετά από συνεχή και επαναλαμβανόμενη διέγερση από αυτοαντιγόνα στους περιφερικούς ιστούς. Οι βασικοί μηχανισμοί εμφάνισης της ανοσολογικής ανοχής είναι ο **αποπτωτικός κυτταρικός θάνατος**, που ονομάζεται **απάλειψη ή διαγραφή**, η απενεργοποίηση των λεμφοκυττάρων χωρίς να εμφανίζεται απόπτωση, που ονομάζεται **ανεργία** και, τέλος, η **καταστολή** της **ενεργοποίησης** και των δραστικών λειτουργιών των λεμφοκυττάρων από τα ρυθμιστικά λεμφοκύτταρα.

ΚΕΝΤΡΙΚΗ ΑΝΟΧΗ ΤΩΝ Τ- ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

Κατά τη διάρκεια της ωρίμανσής τους στο θύμο, τα ανώριμα Τ- λεμφοκύτταρα, τα οποία αναγνωρίζουν με υψηλή συγγένεια τα αυτοαντιγόνα, εξαλείφονται μέσω της κυτταρικής απόπτωσης, διαδικασία που ονομάζεται **αρνητική επιλογή**. Οι παράγοντες που οδηγούν στην αρνητική επιλογή είναι η αυξημένη συγκέντρωση του συγκεκριμένου αντιγόνου στο θύμο και η υψηλή συγγένεια του αντιγόνου με τον υποδοχέα των ανώριμων Τ- λεμφοκυττάρων. Τα αυτοαντιγόνα παρουσιάζονται στα ανώριμα Τ- λεμφοκύτταρα μέσω του μορίου MHC των APCs. Έτσι, τα ώριμα Τ- λεμφοκύτταρα που απελευθερώνονται από το θύμο δεν αναγνωρίζουν αυτοαντιγόνα στην περιφέρεια.

Μια άλλη κατηγορία Τ- λεμφοκυττάρων που αναγνωρίζουν αυτοαντιγόνα στο θύμο, αλλά δεν οδηγούνται σε απόπτωση είναι τα **ρυθμιστικά Τ- λεμφοκύτταρα (Tregs)**, τα οποία αφού ωριμάσουν εξέρχονται από τον θύμο στην περιφέρεια, όπου αναστέλλουν την απάντηση των ώριμων Τ-λεμφοκυττάρων έναντι ιστών του ίδιου του οργανισμού.

ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΗ ΑΝΟΧΗ ΤΩΝ Τ- ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

Με τον όρο περιφερική ανοχή καλύπτονται οι μηχανισμοί με τους οποίους τα ώριμα Τ- λεμφοκύτταρα αναγνωρίζουν αυτοαντιγόνα στους περιφερικούς ιστούς, αλλά καθίστανται ανίκανα για περαιτέρω απάντηση στα αντιγόνα αυτά. Οι μηχανισμοί αυτοί είναι η λεμφοκυτταρική ανεργία, η απόπτωση και η καταστολή των Τ- λεμφοκυττάρων από τα ρυθμιστικά Τ- λεμφοκύτταρα

Ι) Ανεργία των Τ- λεμφοκυττάρων

Η ενεργοποίηση των Τ- λεμφοκυττάρων από κάποιο αντιγόνο, απαιτεί τουλάχιστον 2 σήματα. Το πρώτο προέρχεται από το πεπτιδικό αντιγόνο, το δεύτερο από τους συνδιεγέρτες (B7-1, και 2), οι οποίοι εκφράζονται στην επιφάνεια των αντιγόνο-παρουσιαστικών κυττάρων (APCs). Έτσι, η αναγνώριση του πρώτου

σήματος, πιθανότατα οδηγεί μόνον σε ανεργία. Ανεργία, επίσης, μπορεί να εμφανίζεται αν ο συνδιεγέρτης δεν αναγνωρίζεται από τον ενεργοποιητικό υποδοχέα CD28 (των Τ- λεμφοκυττάρων) αλλά από τον ανασταλτικό υποδοχέα CTLA-4. Γίνεται έτσι αντιληπτό ότι τα φυσικά χαρακτηριστικά των APCs στους περιφερικούς ιστούς (λεμφικούς και μη λεμφικούς) είναι ένας βασικός καθοριστής για το αν θα εμφανισθεί ανοχή στο συγκεκριμένο αυτοαντιγόνο ή αυτοανοσία. Υπό φυσιολογικές συνθήκες τα APCs εκφράζουν μικρό αριθμό συνδιεγερτών και, έτσι, τα αυτοαντιγόνα αναγνωρίζονται από τα Τ- λεμφοκύτταρα, τα οποία όμως, λόγω έλλειψης συνδιεγερτών παραμένουν ανενεργά. Σε περίπτωση λοίμωξης αυξάνει η έκφραση συνδιεγερτών από το APCs και παρατηρείται διάσπαση της ανοχής.

<u>ΙΙ) Εξαφάνιση των Τ- λεμφοκυττάρων μέσω απόπτωσης</u>

Επαναλαμβανόμενη διέγερση των Τ- λεμφοκυττάρων από επίμονα αντιγόνα οδηγεί σε θάνατο τα ενεργοποιημένα λεμφοκύτταρα μέσω της διαδικασίας της απόπτωσης. Η απόπτωση συνίσταται στην ενεργοποίηση ενδοκυττάριων ενζύμων (κυστεϊνικές πρωτεάσες), που ονομάζονται **κασπάσες,** που βρίσκονται στο κυτταρόπλασμα πολλών κυττάρων σε ανενεργή μορφή. Η ενεργοποίηση των κασπασών προκαλεί την έναρξη της διαδικασίας της απόπτωσης, προκαλώντας «σχίσιμο» του DNA, συμπύκνωση του πυρήνα και κλασματοποίηση του, μεταβολές στην κυτταρική μεμβράνη και τελικά στον κυτταρικό θάνατο. Στα λεμφοκύτταρα η ενεργοποίηση των κασπασών και η επακόλουθη απόπτωση επάγεται με δυο διαφορετικές οδούς.

1) **<u>Παθητικός κυτταρικός θάνατος:</u>** Όταν τα λεμφοκύτταρα χάνουν τις απαραίτητες διεγέρσεις επιβίωσης, όπως οι κυτταροκίνες, οι αυξητικοί παράγοντες ή οι συνδιεγέρτες το αποτέλεσμα είναι η αύξηση της διαπερατότητας της μιτοχονδριακής μεμβράνης και η απελευθέρωση πολλών πρωτεϊνών στο κυτταρόπλασμα. Μια από αυτές τις πρωτεϊνες είναι το κυτόχρωμα C, το οποίο λειτουργεί ως συμπαράγοντας της πρωτεΐνης Apaf-1 (apoptosis activating factor-1), με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του ενζύμου caspase- 9, από όπου ξεκινάει η διαδικασία της απόπτωσης.

Άλλες πρωτεϊνες που απελευθερώνονται από τα μιτοχόνδρια, μπλοκάρουν απ' ευθείας τις φυσιολογικές αντι- αποπτωτικές δράσεις του Bcl, με τελικό αποτέλεσμα τον κυτταρικό θάνατο. Καταστροφή του DNA προκαλούμενη από ακτινοβολία, χημειοθεραπεία ή και γλυκοκορτικοειδή, επάγει την απόπτωση των κυττάρων- στόχων μέσω της οδού των μιτοχονδρίων.

2) **Κυτταρικός θάνατος επαγόμενος από την ενεργοποίηση των death – receptors:** Η συνεχής διέγερση των Τ- λεμφοκυττάρων από συγκεκριμένα αντιγόνα οδηγεί σε αυξημένη έκφραση των death- receptors. Από τους καλύτερα μελετημένους υποδοχείς είναι ο Fas. Ο υποδοχέας αυτός ανήκει στην οικογένεια των υποδοχέων TNF, ενώ ο προσδέτης του, Fas Ligand, είναι ομόλογος της κυτταροκίνης TNF. Ο Fas εκφράζεται στα λεμφοκύτταρα αλλά και σε πολλά άλλα κύτταρα.

Η συνεχής έκθεση σε συγκεκριμένο αντιγόνο έχει ως αποτέλεσμα την υπερέκφραση του Fas/ FasL στην επιφάνεια του ίδιου ή γειτονικών Τ- λεμφοκυττάρων. Υψηλά επίπεδα συγκέντρωσης IL-2 ως αποτέλεσμα μεγάλου αριθμού ενεργοποιημένων Τ- λεμφοκυττάρων αυξάνει την ευαισθησία των Τ- λεμφοκυττάρων για απόπτωση μέσω του Fas/ FasL (αυξάνεται η έκφρασή τους). Η σύνδεση του FasL με τον Fas οδηγεί σε ενεργοποίηση του υποδοχέα, του FADD (Fas Associated death domain) και, τέλος, της caspase- 8. Από το σημείο αυτό ξεκινάει ένας καταρράκτης αλυσιδωτών ενδοκυττάριων αντιδράσεων που οδηγεί σε κατακερματισμό του DNA και πυρηνική κατάρρευση.

Ρύθμιση της απόπτωσης

Ο προγραμματισμένος λεμφοκυτταρικός θάνατος αποτρέπεται από μια ποικιλία διεγέρσεων που περιλαμβάνουν την αντιγονική αναγνώριση, αυξητικούς παράγοντες και συνδιεγέρτες. Οι διεγέρσεις αυτές λειτουργούν αυξάνοντας την έκφραση των αντιαποπτωτικών πρωτεϊνών της οικογένειας των Bcl.

Ο κυτταρικός θάνατος μέσω ενεργοποίησης εμποδίζεται με τη δράση μιας πρωτεΐνης που ονομάζεται FLIP, η οποία συνδέεται με την κασπάση-8 ή με το

FADD, αναστέλλοντας την ενεργοποίηση τους και συνεπώς τα αποπτωτικά σήματα που ξεκινούν από αυτά.

Βιολογικός Ρόλος της απόπτωσης

Η απόπτωση παίζει σημαντικό ρόλο στον καθορισμό του αριθμού των λεμφοκυττάρων στα διάφορα στάδια ωρίμανσης και ενεργοποίησής τους. Έτσι, τα ανώριμα λεμφοκύτταρα τα οποία δεν εκφράζουν λειτουργικούς αντιγονικούς υποδοχείς πεθαίνουν. Μετά την ωρίμανση τους, αν τα naïve λεμφοκύτταρα δεν αντιμετωπίσουν αντιγόνο, για το οποίο είναι ειδικά, πεθαίνουν από απόπτωση. Αν αντιμετωπίσουν και εκριζώσουν το αντιγόνο που προκάλεσε τη γέννησή τους επίσης, θα πεθάνουν με αποπτωτικό μηχανισμό.

Από την άλλη μεριά, η υπερέκφραση του Bcl-2 έχει ως αποτέλεσμα την αναστολή της απόπτωσης των λεμφοκυττάρων, συμμετέχοντας με τον τρόπο αυτό στη διατήρηση της ομοιόστασης.

III) Περιφερική ανοχή επαγόμενη από ρυθμιστικά Τ- λεμφοκύτταρα

Μερικές ανοσολογικές απαντήσεις αναστέλλονται από τα κύτταρα τα οποία αναστέλλουν την ενεργοποίηση και τις λειτουργίες των δραστικών Τ- λεμφοκυττάρων. Αυτά τα ανασταλτικά κύτταρα είναι επίσης Τ- λεμφοκύτταρα και ονομάζονται ρυθμιστικά Τ- λεμφοκύτταρα (Tregs). Πρόκειται για CD4+ Τ- λεμφοκύτταρα τα οποία φέρουν υποδοχείς IL-2, αλλά όχι άλλους δείκτες ενεργοποίησης. Σε ότι αφορά στο μηχανισμό δράσης τους υπάρχουν δύο εκδοχές: κατά την πρώτη, τα ρυθμιστικά Τ- λεμφοκύτταρα αναστέλλουν τις ανοσολογικές απαντήσεις μέσω της έκκρισης ανοσοκατασταλτικών κυτταροκινών όπως η IL-10 και ο TGF-β. Κατά τη δεύτερη, τα ρυθμιστικά Τ- λεμφοκύτταρα δρουν απ' ευθείας στα APCs ή στα Τ- λεμφοκύτταρα και όχι μέσω κυτταροκινών.

ΚΕΝΤΡΙΚΗ ΑΝΟΧΗ ΤΩΝ Β- ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

Όταν τα ανώριμα Β- λεμφοκύτταρα αναγνωρίζουν αυτοαντιγόνα με υψηλή συγγένεια στο μυελό των οστών είτε απαλείφονται είτε τροποποιούν την ειδικότητά τους. Οι παράγοντες που καθορίζουν εάν το Β- λεμφοκύτταρο θα υποστεί αρνητική επιλογή είναι η φύση και η συγκέντρωση του αυτοαντιγόνου, όπως και η συγγένεια των υποδοχέων του Β- λεμφοκυττάρου με το συγκεκριμένο αντιγόνο.

ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΗ ΑΝΟΧΗ ΤΩΝ Β- ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

Τα ώριμα Β- λεμφοκύτταρα, τα οποία αναγνωρίζουν αυτοαντιγόνα στα περιφερικά λεμφικά όργανα σε απουσία ειδικών βοηθητικών Τ- λεμφοκυττάρων, καθίστανται λειτουργικά ανενεργά ή αποβάλλονται από τους ιστούς αυτούς. Εάν τώρα το ανενεργό Β- λεμφοκύτταρο έλθει σε επαφή με κάποιο ειδικό για το αντιγόνο βοηθητικό Τ- λεμφοκύτταρο, το Β- λεμφοκύτταρο θανατώνεται μέσω του FasL που βρίσκεται στο Τ- λεμφοκύτταρο και συνδέεται με τον υποδοχέα Fas που βρίσκεται στην επιφάνειά του.

ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ

Οι ασθενείς με καρκίνο παρουσιάζουν σημαντικού βαθμού έκπτωση του ανοσοποιητικού τους συστήματος, η οποία επιτείνεται με τη χρήση αντινεοπλασματικών παραγόντων. Το γεγονός αυτό καθιστά τους ασθενείς αυτούς ιδιαίτερα ευάλωτους σε λοιμώξεις.

Α. ΟΥΔΕΤΕΡΟΠΕΝΙΚΕΣ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ

Ουδετεροπενία ορίζεται η κατάσταση κατά την οποία ο απόλυτος αριθμός ουδετερόφιλων είναι μικρότερος των 1500 κυττάρων/ μL. Ο κίνδυνος λοίμωξης αυξάνει όσο ο αριθμός τους μειώνεται κάτω από τα 1000 κύτταρα/μL.

Η ουδετεροπενία τουλάχιστον τις τέσσερις τελευταίες δεκαετίες θεωρείται βασικός προδιαθεσικός παράγοντας εμφάνισης λοίμωξης σε ασθενείς με καρκίνο [84]

Η εμφάνιση πυρετού μεγαλύτερου των 38°C που επιμένει περισσότερο από μια ώρα, σε ουδετεροπενικούς ασθενείς, απαιτεί άμεση ιατρική παρέμβαση με τη χορήγηση εμπειρικής αντιβιοτικής αγωγής ευρέως φάσματος [85-87]. Η περίπτωση λοίμωξης σε ουδετεροπενικούς ασθενείς δεν πρέπει να αποκλείεται λόγω απουσίας πυρετού, ιδίως στους ηλικιωμένους και σε αυτούς που λαμβάνουν κορτικοστεροειδή. Οι ασθενείς αυτοί συχνά εμφανίζουν υπόταση, υποθερμία και συνολική επιδείνωση της γενικής τους κατάστασης [88].

Προδιαθεσικοί παράγοντες εμφάνισης ουδετεροπενικής λοίμωξης

Το βάθος της ουδετεροπενίας αποτελεί σημαντικό προδιαθεσικό παράγοντα για την εμφάνιση λοίμωξης. Οι ασθενείς με απόλυτο αριθμό ουδετερόφιλων μικρότερο των 1000/μl θεωρούνται ότι έχουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης λοίμωξης, ενώ οι ασθενείς με αριθμό ουδετερόφιλων μικρότερο των 100/μl θεωρούνται ιδιαιτέρως αυξημένου κινδύνου [86, 87, 89-91]. **Ο βαθμός ανοσολογικής έκπτωσης** θεωρείται επίσης σημαντικός προδιαθεσικός παράγοντας.

Άλλοι παράγοντες που προδιαθέτουν στην εμφάνιση λοίμωξης σε ουδετεροπενικούς ασθενείς αποτελούν η **παρατεταμένη διάρκεια της ουδετεροπενίας** [84], **η κυτταροτοξική ισχύς των χημειοθεραπευτικών παραγόντων** [92], **η ύπαρξη άλλων σοβαρών νόσων** όπως π.χ καρδιακή ανεπάρκεια, νεφρική ανεπάρκεια κ.α. [93,94] **και η παρουσία περιφερικών ή κεντρικών φλεβικών γραμμών** [95, 96].

Οι περισσότερες λοιμώξεις σε ουδετεροπενικούς ασθενείς αποδίδονται σε μικροοργανισμούς που αποτελούν τη φυσιολογική χλωρίδα του δέρματος και των βλεννογονικών μεμβρανών του γαστρεντερικού και του ουροποιογεννητικού συστήματος. [97]. Είναι γνωστό ότι οι κυτταροτοξικοί χημειοθεραπευτικοί παράγοντες επιδρούν σε όλους τους αναπαραγόμενους ιστούς όπως τα μαλλιά, οι γονάδες, ο μυελός των οστών και τα επιθηλιακά κύτταρα των βλεννογόνων του πεπτικού σωλήνα [98, 99]. Οι βλάβες στα επιθηλιακά κύτταρα των βλεννογόνων και η λύση της συνέχειας του δέρματος από τη χρήση φλεβικών γραμμών, αποτελούν πύλη εισόδου των μικροοργανισμών αυτών.

Παθογόνα που σχετίζονται με την εμφάνιση ουδετεροπενικής λοίμωξης

Στο 30% μόνο των ουδετεροπενικών λοιμώξεων μπορεί να διαπιστωθεί η εστία της λοίμωξης [87]. Έτσι, στην πλειοψηφία των περιπτώσεων δεν είναι δυνατό να αποκαλυφθεί λοίμωξη απεικονιστικά ή μικροβιολογικά και, στην ουσία, πρόκειται για πυρετό απροσδιόριστης προέλευσης [100-104]. Στον πίνακα 1 φαίνονται τα συχνότερα παθογόνα που εμπλέκονται σε ουδετεροπενικές λοιμώξεις, ενώ θα πρέπει να τονισθεί ξανά, ότι το 80% των λοιμώξεων αναπτύσσεται από τη φυσιολογική χλωρίδα του γαστρεντερικού και του ουροποιογεννητικού συστήματος του ασθενούς.

Πίνακας 1. Συχνότητα παθογόνων μικροοργανισμών που απομονώνονται σε ασθενείς με εμπύρετη ουδετεροπενία.		
Συχνότεροι μικροοργανισμοί	**Λιγότερο συχνοί μικροοργανισμοί**	**Άλλοι μικροοργανισμοί (σχετικά σπάνιοι)**
Escherichia coli	Proteus	**Μύκητες**
Klebsiella	Haemophilus	Cryptococcus
Pseudomonas	Citrobacter	Histoplasma
Enterobacter	Serratia	Coccidioides
Coagulase-negative staphylococcus	Acinetobacter	Zygomycetes
Staphylococcus aureus	Neisseria	Pneumocystis carinii
Streptococcus pneumoniae	Capnocytophaga	**Ιοί**
Corynebacterium (JK)	Legionella	Herpes simplex virus 1,2
Streptococci	Moraxella	Varicella zoster virus
Clostridium difficile	Stenotrophomonas	Cytomegalovirus
Anaerobes	Bacillus	Epstein Barr virus
Aspergillus	Listeria	Human herpesvirus 6
Candida albicans	Stomatococcus	Enteroviruses
Other Candida species		Respiratory syncytial virus
Mycobacteria		Influenza (Live viral vaccines)
		Άλλα
		Babesia
		Toxoplasma
		Strongyloides
		Nocardia

2008 UpToDate

Βακτήρια: Οι Gram (-) μικροοργανισμοί και, κυρίως, η P. Aeruginosa, αλλά και η Escherichia coli και η Klebsiella sp. αποτέλεσαν τους βασικούς παθογόνους μικροοργανισμούς που εμπλέκονταν στις ουδετεροπενικές λοιμώξεις μέχρι τις αρχές της δεκαετίας του ΄80 [105, 106]. Από τα μέσα της δεκαετίας του ΄80 προοδευτικά παρουσιάσθηκε αύξηση των Gram (+) μικροοργανισμών και μείωση των Gram (-) [107, 108]. Σε μια μελέτη, εξετάσθηκαν 2340 ασθενείς που έπασχαν από

αιματολογικές κακοήθειες ή από νεοπλάσματα συμπαγών οργάνων, από 49 διαφορετικά νοσοκομεία των ΗΠΑ. Στη μελέτη αυτή διαπιστώθηκε ότι το 1995 το 62% των βακτηριαιμιών οφειλόταν σε Gram (+) μικροοργανισμούς, ενώ το 2000 το ποσοστό αυτό ανέβηκε στο 76%. Αντίθετα, οι βακτηριαιμίες που οφείλονταν σε Gram (-) μικροοργανισμούς ήταν 22% και 14% για τα ίδια έτη αντίστοιχα. Μάλιστα, διαπιστώθηκε ότι ο κυρίαρχος κόκκος ήταν ο σταφυλόκοκκος κοαγκουλάση (-).

Άλλοι Gram (+) μικροοργανισμοί που απομονώνονται αρκετά συχνά είναι οι στρεπτόκοκκοι, το κορυνοβακτηρίδιο κ.α [109, 110].

Η αυξημένη επίπτωση σταφυλοκοκκικών και στρεπτοκοκκικών λοιμώξεων έχει συνδεθεί με την εκτεταμένη χρήση ενδοαγγειακών συσκευών, χρήση νέων ισχυρών κυτταροτοξικών χημειοθεραπευτικών παραγόντων που οδηγούν σε σοβαρές βλεννογονίτιδες και στην προφυλακτική χρήση φλουοροκινολονών (λεβοφλοξοσίνη) για την πρόληψη λοιμώξεων από Gram (-) μικροοργανισμούς [111].

Η επίπτωση των αναερόβιων είναι εξαιρετικά σπάνια. Σε μια μελέτη [110] που εξετάσθηκαν 1051 βακτηριαιμικά επεισόδια σε 782 ουδετεροπενικούς ασθενείς αναερόβια απομονώθηκαν στο 3,4% των περιπτώσεων. Έτσι, η βακτηριαιμία από αναερόβια θα πρέπει να πιθανολογείται σε ασθενείς που παρουσιάζουν οδοντικό απόστημα, ενδοκοιλιακή ή ενδοπυελική λοίμωξη, νεκρωτική ουδετεροπενική κολίτιδα, κυτταρίτιδα κ.α.

Μύκητες: Οι συχνότερα απαντώμενες μυκητιασικές λοιμώξεις σε ουδετεροπενικούς ασθενείς με νεόπλασμα συμπαγών όγκων, είναι η καντιντίαση (συνήθως η Candida albicans και η Candida tropicalis) και η ασπεργίλλωση (συχνότερα είδη: Aspergillus fumigatus και Aspergillus flavus). Στα συγκεκριμένα στελέχη αποδίδονται το 85% των μυκητιασικών λοιμώξεων στους ασθενείς αυτούς. Οι μυκητιασικές λοιμώξεις έχουν γίνει η πρώτη αιτία νοσηρότητας και θνητότητας σε ασθενείς με καρκίνο. Η πρώιμη διάγνωση των λοιμώξεων αυτών είναι δύσκολη, με αποτέλεσμα, η έναρξη της αγωγής να γίνεται με σημαντική καθυστέρηση και προφανώς πτωχότερα κλινικά αποτελέσματα. Οι λόγοι της αυξημένης επίπτωσης των μυκητιασικών λοιμώξεων αποδίδεται στη χρήση ισχυρών νέων κυτταροτοξικών

χημειοθεραπευτικών παραγόντων που προκαλούν βλάβες των βλεννογόνων και παρατεταμένες ουδετεροπενίες, στην αυξημένη χρήση αντιβιοτικών ευρέως φάσματος, στη χρήση κεντρικών φλεβικών γραμμών. Η χρήση κορτικοστεροειδών οδηγεί σε ελάττωση του αριθμού των λεμφοκυττάρων αλλά και σε ελάττωση των φαγοκυτταρικών λειτουργιών. Επίσης, η χορήγηση για θεραπευτικούς λόγους ακτινοβολίας επηρεάζει τη λειτουργικότητα των λεμφοκυττάρων ενώ, είναι δυνατό να προκαλεί ουδετεροπενία και βλενογονίτιδα (περισσότερα στοιχεία για τις μυκητιασικές λοιμώξεις στο κεφάλαιο των μη ουδετεροπενικών λοιμώξεων).

Ιοί: Οι ιογενείς λοιμώξεις δεν είναι τόσο συχνές σε ουδετεροπενικούς ασθενείς. Συνήθως εμφανίζονται σε ασθενείς στους οποίους παρατηρείται μια συνεχής, εμμένουσα καταστολή των Τ- λεμφοκυττάρων [112]. Στις περισσότερες περιπτώσεις οφείλονται σε human herpes viruses (HHV) και ειδικότερα σε HSV-1, HSV-2, VZV, CMV, Epstein Barr Virus, κ.α.

Νεκρωτική εντεροκολίτιδα (τυφλίτιδα)

Όπως ήδη αναφέρθηκε η λοίμωξη στους ουδετεροπενικούς ασθενείς μπορεί να εντοπίζεται σε οποιοδήποτε τμήμα του οργανισμού. Μπορεί να πρόκειται για βακτηριαιμία μόνο, μπορεί όμως η λοίμωξη να αφορά στο δέρμα (π.χ κυτταρίτιδα), στο ουρογεννητικό, στο αναπνευστικό κ.α. Από τις ενδοκοιλιακές λοιμώξεις, μια ιδιαίτερη περίπτωση που παρατηρείται κυρίως σε ουδετεροπενικούς ασθενείς και πρέπει να αναφερθεί εκτενέστερα, είναι η νεκρωτική εντεροκολίτιδα (τυφλίτιδα), η οποία είναι συνώνυμη με την ουδετεροπενική εντεροκολίτιδα. Στη παθογένεση της φαίνεται να συμμετέχει ο βλεννογονικός τραυματισμός από τη χρήση ισχυρών κυτταροτοξικών χημειοθεραπευτικών παραγόντων και η σημαντική ουδετεροπενία [113]. Η λοίμωξη ξεκινάει στη πλειοψηφία των περιπτώσεων από το τυφλό (τυφλίτιδα) και, στη συνέχεια, μπορεί να επεκτείνεται προς τον τελικό ειλεό ή και προς το ανιόν κόλον [114]. Η μικροβιακή λοίμωξη εξελίσσεται από την έσω στιβάδα του τοιχώματος του εντέρου προς την εξωτερική, προκαλώντας νέκρωση των φλεγμαινουσών αυτών στιβάδων. Η συνήθης εντόπιση στο τυφλό φαίνεται πως οφείλεται στα ανατομικά χαρακτηριστικά του τμήματος αυτού του παχέος εντέρου,

δηλαδή στο γεγονός ότι αφενός μεν είναι διατεταμένο (distensibility) και αφετέρου στη μειωμένη αγγείωσή του σε σχέση με το υπόλοιπο παχύ έντερο. Τα συμπτώματα ανάλογα με την έκταση της λοίμωξης ποικίλουν. Οι ασθενείς μπορεί να παρουσιάζονται με ουδετεροπενία, πυρετό και κοιλιακό άλγος, μερικές φορές, όμως, μπορεί να παρουσιάζονται με συμπτώματα οξείας κοιλίας, περιτοναϊκό ερεθισμό και shock σε περίπτωση διάτρησης του εντέρου ή αιμορραγίας [114-116].

Οι μικροοργανισμοί που συνηθέστερα προκαλούν τη βαριά αυτή εικόνα, είναι Gram (+) και (-) κόκκοι, αναερόβια, είδη Candida που αποτελούν τη φυσιολογική εντερική χλωρίδα. Η διάγνωση, όπως θα τονιστεί και στη συνέχεια, στηρίζεται στη λεπτομερή κλινική εξέταση και στην αξονική κοιλίας με πιθανότητα ψευδώς αρνητικού αποτελέσματος περίπου 15% [117]. Αξίζει να σημειωθεί ότι η διαγνωστική προσέγγιση με βαριούχο υποκλυσμό αντεδείκνυται [118], ενώ η κολονοσκόπηση αποτελεί σχετική αντένδειξη και κατά κανόνα θα πρέπει να αποφεύγεται επίσης, λόγω του κινδύνου διάτρησης του φλεγμαίνοντος εντέρου.

Η αντιμετώπιση της ανεπίπλεκτης τυφλίτιδας (π.χ περιτονίτιδα, διάτρηση ή αιμορραγία) είναι συντηρητική με διακοπή σίτισης, χορήγηση άφθονων υγρών και ευρέως φάσματος αντιβιοτικών [117, 118]. Η προσθήκη αντιμυκητιασικών θα πρέπει να ξεκινά όταν μετά από 72 ώρες χορήγησης αντιμικροβιακών ευρέως φάσματος, η συμπτωματολογία του ασθενούς δεν βελτιώνεται ή επιδεινώνεται ή όταν ο πυρετός επιμένει στα αρχικά υψηλά επίπεδα [119]. Η χορήγηση G- CSF, στην προσπάθεια ταχύτερης ανάρρωσης των λευκοκυττάρων, είναι λογική [120]. Η αντιμετώπιση όμως, της επιπλεγμένης τυφλίτιδας είναι χειρουργική και κατά κανόνα συνίσταται στη διενέργεια ημικολεκτομής [113, 115].

Η θνησιμότητα της νεκρωτικής εντεροκολίτιδας άγγιζε παλαιότερα το 50% τελευταία, όμως, φαίνεται πως έχει μειωθεί με τη πρωϊμότερη διάγνωση και την πρόοδο στο χειρισμό των ασθενών αυτών (αντιβιοτική αγωγή, χειρουργική αντιμετώπιση κ.τ.λ).

Αντιμετώπιση της ουδετεροπενικής λοίμωξης

Η εμπύρετη ουδετεροπενία θεωρείται ιατρικά, επείγον περιστατικό και χρήζει άμεσης αντιμετώπισης με ευρέως φάσματος αντιβιοτική αγωγή. Η θνησιμότητα πλησιάζει το 70% των ασθενών εάν η χορήγηση αντιβιοτικών καθυστερήσει [121].

Η αρχική επιλογή της αγωγής είναι εμπειρική και στηρίζεται στις παρατηρήσεις για τα επικρατώντα στελέχη στη νοσοκομειακή μονάδα και στα χαρακτηριστικά του ασθενούς (αλλεργίες κ.λ.π), μπορεί δε, να περιλαμβάνει ένα μόνο αντιμικροβιακό παράγοντα (μονοθεραπεία) ή συνδυασμό δύο παραγόντων. Για τη μονοθεραπεία χρησιμοποιούνται συνήθως η κεφταζιδίμη, κεφεπίμη, μεροπενέμη ή ιμιπενέμη και ο συνδυασμός πιπερακιλλίνης/ ταζομπακτάμης. Η χορήγηση μονοθεραπείας δεν φαίνεται να υστερεί ως προς την αποτελεσματικότητα σε σύγκριση με το συνδυασμό δύο αντιμικροβιακών παραγόντων [122-124]. Πολλοί υποστηρίζουν ότι μειονέκτημα της χορήγησης μονοθεραπείας είναι η ανάπτυξη ανθεκτικών στελεχών στο συγκεκριμένο παράγοντα [125]. Οι αντιμικροβιακοί παράγοντες που προαναφέρθηκαν έχουν συγκριθεί μεταξύ τους, εμφανίζοντας πρακτικά ισοδύναμη δραστικότητα [126-128].

Σ' ότι αφορά στο συνδυασμό χημειοθεραπευτικών παραγόντων, η χορήγηση αντιψευδομοναδικού β- λακταμικού παράγοντα με φθοριοκινολόνη ή αμινογλυκοσίδη φαίνεται πως είναι ο προτιμότερος συνδυασμός. Σε μελέτη που συνέκρινε τους δύο συνδυασμούς, δεν παρατηρήθηκε διαφορά στη δραστικότητά τους [129].

Η αρχική, εμπειρική αντιβιοτική αγωγή προσφέρει κάλυψη κυρίως έναντι των Gram (-) μικροοργανισμών και ιδίως έναντι της P.aeruginosa. Η προσθήκη αντιβιοτικής αγωγής εμπειρικά έναντι Gram (+) μικροοργανισμών δεν συνιστάται. Μελέτες έχουν δείξει ότι η τυφλή χορήγηση αγωγής έναντι Gram (+) δεν βελτιώνει το κλινικό αποτέλεσμα [130,131], αλλά και δεν μειώνει τη θνησιμότητα των ασθενών αυτών [132]. Οι συνηθέστερα χρησιμοποιούμενοι παράγοντες έναντι των Gram (+) είναι η βανκομυκίνη, η τεϊκοπλανίνη και η λινεζολίδη. Η προσθήκη των αντιμικροβιακών αυτών στην αρχική εμπειρική αγωγή κρίνεται σκόπιμη σε ασθενείς που παρουσιάζουν εκτεταμένη βλεννογονίτιδα, υπόταση, δερματικές

βλάβες, μόνιμες κεντρικές γραμμές (Hickman, port-a-caths κ.τ.λ), ιστορικό λοίμωξης με S. aureus ανθεκτικό στη μεθικιλλίνη (MRSA), πρόσφατη χορήγηση προφυλακτικά κινολόνης, σε περίπτωση εμμονής του εμπύρετου παρά τη χορήγηση της εμπειρικής αγωγής ή, τέλος, σε περίπτωση κλινικής επιδείνωσης του ασθενούς [133, 134]. Η αγωγή έναντι των Gram (+) θα πρέπει να διακόπτεται μετά από 72 ώρες χορήγησης εφόσον οι καλλιέργειες παραμένουν αρνητικές.

Εάν από τις καλλιέργειες απομονωθεί κάποιος μικροοργανισμός, τότε η διάρκεια θεραπείας θα πρέπει να είναι αυτή που προβλέπεται για το συγκεκριμένο μικροοργανισμό, ανεξάρτητα με την ανάκαμψη των ουδετερόφιλων ή την πορεία του πυρετού. Εάν από τις καλλιέργειες δεν απομονωθεί μικροοργανισμός τότε η διάρκεια θεραπείας καθορίζεται με βάση τον πυρετό και τον αριθμό των ουδετερόφιλων (<ή >500/μl). Συνήθως η αγωγή διακόπτεται όταν ο ασθενής παραμένει 48 ώρες απύρετος και τα ουδετερόφιλα είναι >500/μl. Εάν το εμπύρετο επιμένει για περισσότερες από 5-7 ημέρες θα πρέπει η επιλογή της αντιβιοτικής αγωγής να επανεκτιμηθεί, ενώ θα πρέπει να προστεθεί και αντιμυκητιασική αγωγή. Γενικότερα πάντως, ένδειξη για την προσθήκη αντιμυκητιασικού στην αγωγή αποτελεί η επιμονή του εμπύρετου και της ουδετεροπενίας για περισσότερες από 7 ημέρες [135-137].

Η αμφοτερικίνη Β αποτέλεσε το βασικό αντιμυκητιασικό παράγοντα για τη περίπτωση αυτή. Οι πολλές ανεπιθύμητες ενέργειες, ακόμη και της λιποσωμιακής αμφοτερικίνης Β- οδήγησαν στην ανάπτυξη άλλων λιγότερο τοξικών αντιμυκητιασικών παραγόντων (βορικοναζόλη, caspofungin κ.α). Σε μια μελέτη μάλιστα [138] φάνηκε ότι η caspofungin ήταν ισοδύναμη της λιποσωμιακής αμφοτερικίνης Β σε ασθενείς με εμπύρετη ουδετεροπενία. Επίσης, ισοδύναμα αποτελέσματα με την αμφοτερικίνη Β έχει δώσει και η ιτρακοναζόλη [139].

Οι αυξητικοί παράγοντες (G-CSF ή GM- CSF) δεν έχουν δείξει ότι μειώνουν τη θνησιμότητα όταν εφαρμόζονται σε ασθενείς με εμπύρετη ουδετεροπενία. Έτσι, θα πρέπει να χορηγούνται σε ασθενείς με πολύ βαριά γενική κατάσταση- νεκρωτική εντεροκολίτιδα, πνευμονία, σε ασθενείς με υπόταση ή με πολυοργανική ανεπάρκεια- και σε ασθενείς που αναμένεται να καθυστερήσουν να ανανήψουν.

I) Προφυλακτική χορήγηση G-CSF (colony- stimulating growth factors)

Η προφυλακτική χρήση των αυξητικών παραγόντων των λευκών μπορεί να διακριθεί σε: **1) Πρωτεύουσα χρήση**, όταν αναμένεται ουδετεροπενία μετά τη χορήγηση χημειοθεραπείας, **2) δευτερεύουσα χρήση**, όταν χορηγούνται σε ασθενείς που εμφάνισαν εμπύρετη ουδετεροπενία σε προηγούμενο κύκλο χημειοθεραπείας και **3) όταν χορηγείται σε ασθενείς με ουδετεροπενία χωρίς πυρετό**, προκειμένου να μειωθεί το χρονικό διάστημα που ο ασθενής θα είναι ουδετεροπενικός.

1) Η πρωτεύουσα προφυλακτική χρήση (primary prophylaxis) αυξητικών παραγόντων στοχεύει στην ελάττωση της επίπτωσης της εμπύρετης ουδετεροπενίας και στην ανάγκη για νοσηλεία. Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι η προφυλακτική χρήση αυξητικών παραγόντων μειώνει την ανάγκη για ενδονοσοκομειακή χορήγηση αντιβιοτικής αγωγής [140-143]. Σε μια μετανάλυση οκτώ τυχαιοποιημένων μελετών, η προφυλακτική χορήγηση G-CSF μείωνε κατά 62% τον κίνδυνο εμπύρετης ουδετεροπενίας, όπως επίσης και την επίπτωση τεκμηριωμένης λοίμωξης, ενώ η τάση μείωσης της θνητότητας συνεπεία λοίμωξης, ήταν στατιστικά μη σημαντική [146, 147]. Η σύσταση από την ASCO και την EORTC είναι να χορηγούνται προφυλακτικά αυξητικοί παράγοντες όταν αναμένεται εμπύρετος ουδετεροπενία στο 20% ή περισσότερο των ασθενών που θα υποβληθούν σε χημειοθεραπεία με συγκεκριμένους παράγοντες [144, 145]. Επίσης, οι συστάσεις για χορήγηση προφυλακτικά G- CSF αφορούν σε ασθενείς >65 ετών που υποβάλλονται σε χημειοθεραπεία και όταν η αύξηση της συχνότητας ή της δόσης της χημειοθεραπείας- που πιθανόν οδηγεί σε ουδετεροπενία- γίνεται με στόχο τη βελτίωση της επιβίωσης του ασθενούς.
2) Η δευτερεύουσα προφυλακτική χρήση αυξητικών παραγόντων των λευκών όπως ήδη αναφέρθηκε, πραγματοποιείται όταν οι ασθενείς σε προηγούμενη χορήγηση συγκεκριμένων χημειοθεραπευτικών παραγόντων είχαν

παρουσιάσει εμπύρετη ουδετεροπενία, και προκειμένου να μειώσει την πιθανότητα επανεμφάνισής τους.

3) Η χορήγηση G- CSF σε ασθενείς με ουδετεροπενία χωρίς πυρετό είναι η πλέον αμφισβητούμενη δεδομένου ότι σε μια μελέτη ουδετεροπενικών απύρετων ασθενών (χορήγησης έναντι μη χορήγησης G- CSF), η χορήγηση αυξητικού παράγοντα οδήγησε σε μικρή μόνο μείωση της διάρκειας της ουδετεροπενίας (δυο έναντι τεσσάρων ημερών), ενώ η ανάγκη νοσηλείας και ο αριθμός των ασθενών που εμφάνισε στη συνέχεια εμπύρετη ουδετεροπενία δεν διαφοροποιήθηκε.

<u>ΙΙ) Προφυλακτική χορήγηση αντιβιοτικής αγωγής</u>

Οι απόψεις για την προφυλακτική χορήγηση αντιβιοτικής αγωγής σε ουδετεροπενικούς ασθενείς διίστανται [148].

Σε μια μεγάλη μετανάλυση διαπιστώθηκε ότι η χορήγηση, προφυλακτικά, αντιβιοτικής αγωγής σε ουδετεροπενικούς ασθενείς μειώνει τη θνητότητα των ασθενών αυτών από λοιμώξεις, ενώ η χορήγηση φλουροκινολόνης εκτός της μείωσης της θνητότητας, φαίνεται πως μειώνει και την επίπτωση εμπύρετης ουδετεροπενίας, αυξάνοντας όμως την επικράτηση ανθεκτικών στελεχών [149].

Σχεδόν την ίδια εποχή με την ανακοίνωση των αποτελεσμάτων της προαναφερθείσας μετανάλυσης, έγιναν γνωστά τα αποτελέσματα δυο τυχαιοποιημένων μελετών προφυλακτικής χορήγησης έναντι μη χορήγησης αντιμικροβιακής αγωγής (λεβοφλοξασίνης) σε ουδετεροπενικούς ασθενείς [150, 151]. Στα αποτελέσματα και των δυο μελετών φάνηκε ότι, η προφυλακτική χορήγηση αντιβιοτικών μειώνει την επίπτωση εμπύρετης ουδετεροπενίας, χωρίς όμως, το γεγονός αυτό να οδηγεί σε όφελος στην επιβίωση. Επίσης, ενώ διαπιστώθηκε ότι μειώθηκαν τα επεισόδια βακτηριαιμίας από E.Coli, υπήρξε σημαντική αύξηση των ανθεκτικών στελεχών στην ομάδα που έλαβε προφυλακτική αντιμικροβιακή αγωγή σε σχέση με αυτή που δεν έλαβε τη συγκεκριμένη αγωγή (77% vs 17%).

Έτσι, το IDSA δεν συστήνει την προφυλακτική χορήγηση αντιμικροβιακής αγωγής σε ασθενείς με ουδετεροπενία. Αυτή, προτείνεται σε ασθενείς με αιματολογικά νοσήματα κυρίως, σε ασθενείς που πρόκειται να υποβληθούν σε μεταμόσχευση μυελού και σε ασθενείς που λαμβάνουν μεγάλες δόσεις ή σε μικρότερα του συνηθισμένου χρονικά διαστήματα, χημειοθεραπεία με στόχο την ίαση. Τέλος, πρέπει να αναφερθεί ότι οι συστάσεις του IDSA αναφέρουν ότι σε περίπτωση προφυλακτικής χορήγησης αντιβιοτικής αγωγής, οι ασθενείς θα πρέπει να καλύπτονται και έναντι των μυκήτων.

Β. ΜΗ ΟΥΔΕΤΕΡΟΠΕΝΙΚΕΣ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ

Οι μη ουδετεροπενικές λοιμώξεις σε γενικές γραμμές διακρίνονται σε **λοιμώξεις από κοινά μικρόβια** και σε **ευκαιριακές λοιμώξεις**.

α) ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΑΠΟ ΚΟΙΝΑ ΜΙΚΡΟΒΙΑ

Οι λοιμώξεις από κοινά μικρόβια, σε ασθενείς με καρκίνο που υποβάλλονται σε χημειοθεραπεία, είναι σχετικά συχνές. Συνήθως, οι μικροοργανισμοί που προκαλούν τη λοίμωξη έχουν αποικήσει την περιοχή, στην οποία αναπτύσσεται η λοίμωξη [152].

Οι συνηθέστερα απαντώμενοι τύποι μικροοργανισμών είναι από τους Gram (+) ο St. aureus, ο St Epidermidis και οι α- αιμολυτικοί στρεπτόκοκκοι, ενώ από τους Gram (-) η E. Coli , η Klebsiella pneumoniae και η P. Aeruginosa [153, 154].

Η μερική απόφραξη της αναπνευστικής οδού από νεοπλασματικό ιστό προδιαθέτει στην εμφάνιση πνευμονίας. Με τον ίδιο μηχανισμό, η απόφραξη της ουροποιητικής οδού μπορεί να προκαλέσει την εμφάνιση ουρολοίμωξης ενώ, η απόφραξη των χοληφόρων, χολαγγεϊτιδα. Η καταστροφή των βλεννογόνων από τη χημειοθεραπεία συντελεί στην είσοδο μικροβίων στον οργανισμό. Άλλοι προδιαθεσικοί παράγοντες για ανάπτυξη λοιμώξεων είναι η νέκρωση του όγκου, η ηλικία, η έκπτωση λειτουργίας διαφόρων οργάνων, ο υποσιτισμός κ.α[156-158]. Η χρήση συσκευών, όπως φλεβοκαθετήρες, ουροκαθετήρες, stents κ.τ.λ όπως και στις

ουδετεροπενικές λοιμώξεις αποτελούν βασικό προδιαθεσικό παράγοντα . Τέλος, θα πρέπει να αναφερθεί ότι οι ποσοτικές ανωμαλίες της φαγοκυτταρικής λειτουργίας που εμφανίζονται ως συνέπεια θεραπείας με κορτικοστεροειδή, θεραπείας με κυτταροτοξικούς παράγοντες ή ακτινοθεραπείας, προδιαθέτουν στην εμφάνιση λοιμώξεων. Φαίνεται πως οι ποιοτικές ανωμαλίες αφορούν κυρίως στη βακτηριοκτόνο δράση των φαγοκυττάρων και όχι στη διαδικασία της φαγοκυττάρωσης. Θα πρέπει να τονισθεί ξανά ότι, το τελικό προϊόν της κυτταρικής ανοσίας είναι τα ενεργοποιημένα μακροφάγα ή μονοκύτταρα, που συνεισφέρουν στην πέψη και θανάτωση των ενδοκυττάριων παθογόνων [155]. Η φαγοκυτταρική δραστηριότητα των μακροφάγων και των μονοκυττάρων παραβλάπτεται επίσης, όταν υπάρχει δυσλειτουργία της χυμικής ανοσίας. Οι ασθενείς με επηρεασμένη τη χυμική ανοσία, εμφανίζουν λοιμώξεις από συγκεκριμένους τύπους μικροβίων (π.χ St pneumoniae, Haemofilus influenzae κ.α), δεδομένου ότι στερείται αντισωμάτων που θα οψωνοποιήσουν το συγκεκριμένο μικρόβιο. Αν και η πλειοψηφία των κυτταροτοξικών χημειοθεραπευτικών παραγόντων προκαλεί διαταραχές στη κυτταρική ανοσία, υπάρχουν μελέτες που δείχνουν ότι κάποιοι παράγοντες προκαλούν διαταραχές κυρίως στη χυμική ανοσία. Σε μια σχετικά πρόσφατη μελέτη διαπιστώθηκε ότι η gemcitabine ανέστειλε, κυρίως, τον πολλαπλασιασμό των Β-λεμφοκυττάρων [159]. Όπως ήδη έχει αναφερθεί, οι συχνότερα απαντώμενες λοιμώξεις είναι οι λοιμώξεις του ουροποιητικού, του αναπνευστικού και οι βακτηριαιμίες. Σε μια σχετικά πρόσφατη μελέτη που συμμετείχε και η κλινική μας διαπιστώθηκε ότι στο σύνολο των 157 επεισοδίων βακτηριαιμίας που καταγράφηκαν, το 51% αποδόθηκε στις κακές συνθήκες υγιεινής των ασθενών και του προσωπικού που τους επιμελούνταν, το 35% ήταν νοσοκομειακές, ενώ το 14% μόνο αποδόθηκε σε μικρόβιο της κοινότητας [160].

β) ΕΥΚΑΙΡΙΑΚΕΣ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ

Όπως ήδη έχει τονισθεί οι καρκινοπαθείς αποτελούν μια ομάδα ασθενών με σημαντικά εξασθενημένο το ανοσοποιητικό τους σύστημα. Με τον τρόπο αυτό, δίδεται η ¨ευκαιρία¨ σε μη παθογόνους ή και ελάχιστα παθογόνους

μικροοργανισμούς να αναπτυχθούν και να προκαλέσουν βαριά λοίμωξη που συχνά απειλεί τη ζωή των ασθενών. Οι λοιμώξεις αυτές γίνονται ιδιαιτέρως απειλητικές για τη ζωή των ασθενών, δεδομένου ότι η διάγνωσή τους, συνήθως είναι καθυστερημένη. Πολλές φορές το μοναδικό σύμπτωμα των ασθενών είναι ο πυρετός οδηγώντας τη διαγνωστική σκέψη αρχικά, σε λοίμωξη από κοινά μικρόβια, σε νεοπλασματικό πυρετό, σε αντίδραση σε μετάγγιση ή στον χημειοθεραπευτικό παράγοντα [161]. Σε άλλες περιπτώσεις, η διάγνωση καθυστερεί λόγω της χορήγησης κορτικοστεροειδών για θεραπευτικούς λόγους, καλύπτοντας έτσι την κλινική εικόνα, ενώ επιπλέον λόγο καθυστερημένης διάγνωσης αποτελεί το γεγονός του χαμηλού τίτλου αντισωμάτων ως απάντηση σε κάποιο παθογόνο, λόγω της ανοσοκαταστολής [161].

Η διάγνωση συνήθως τίθεται από την αναζήτηση των ίδιων των αντιγόνων στα βιολογικά υλικά που εξετάζονται, ενώ στον τομέα αυτό συνεισφέρει σημαντικά η PCR (Polymerase chain reaction).

Παράγοντες κινδύνου

1) Η πλειοψηφία των ευκαιριακών λοιμώξεων εμφανίζεται σε ασθενείς με διαταραχές της κυτταρικής ανοσίας ή του απόλυτου αριθμού των λεμφοκυττάρων [162].
2) Ουδετεροπενία: Η προηγηθείσα ουδετεροπενία αυξάνει σημαντικά τον κίνδυνο λοίμωξης από βακτήρια, μύκητες και ιούς. Όπως, ήδη τονίσθηκε, οι λοιμώξεις από Gram (+) βακτήρια παρουσιάζουν σημαντική αύξηση σε σχέση με τις λοιμώξεις από Gram (-), λόγω της ευρείας χρήσης κεντρικών γραμμών και της προφύλαξης με κινολόνες. Η καντινταιμία είναι επίσης συχνή σε ασθενείς με ουδετεροπενία και καταστροφή των βλεννογόνων από τη χρήση χημειοθεραπευτικών παραγόντων. Λοιμώξεις με Aspergillus sp., Scedosporium sp, fusorium sp., zygomycetes κ.α, αποτελούν συχνές σχετικά επιπλοκές παρατεταμένης ουδετεροπενίας (δέκα ή περισσότερες ημέρες) ή μετά από πολλαπλούς κύκλους χημειοθεραπείας [163].
3) Επιθηλιακός βλεννογονικός φραγμός: Το τμήμα αυτό της εσωτερικής επένδυσης του γαστρεντερικού, του ουροποιογεννητικού και του

αναπνευστικού συστήματος, αποτελεί την πρώτη γραμμή άμυνας του οργανισμού έναντι διαφόρων παθογόνων. Η καταστροφή του από τη χημειοθεραπεία ή την ακτινοθεραπεία, διευκολύνει την είσοδο μικροβίων που αποτελούν τη φυσιολογική τοπική χλωρίδα.

4) Σπληνεκτομή: Σε μερικές περιπτώσεις καρκίνου στομάχου ή παγκρέατος, η χειρουργική αντιμετώπιση περιλαμβάνει και τη σπληνεκτομή, η οποία προδιαθέτει σε λοιμώξεις από St. pneumoniae, H. influenzae, Neisseria meningitidis κ.α.
5) Κορτικοστεροειδή: Η χορήγηση για μεγάλο χρονικό διάστημα υψηλών δόσεων κορτικοστεροειδών αυξάνει το κίνδυνο εμφάνισης λοίμωξης από Pneumocystis Carinii, Nocardia sp, mycobacteria, ιούς και μύκητες.

Για πρακτικούς λόγους οι ευκαιριακές λοιμώξεις θα κατηγοριοποιηθούν σε τέσσερις ομάδες: **στις αιματογενείς, στις πνευμονικές, στις δερματικές και στις λοιμώξεις του ΚΝΣ.**

1. Αιματογενείς λοιμώξεις

i) Βακτηριαιμία: Η βακτηριαιμία από Salmonella αποτελεί περίπου το 1% των εισαγωγών λόγω λοίμωξης, στους καρκινοπαθείς. Στο 45% των περιπτώσεων εκδηλώνεται ως βακτηριαιμία μόνο, ενώ μπορεί να ακολουθείται από εντερίτιδα ή άλλη εστιακή εντόπιση. Οι τρεις βασικοί ορότυποι είναι: η Salmonella typhimurium, η Salmonella dublin και η Salmonella enteritidis, στους οποίους αποδίδεται το 75% των λοιμώξεων από Salmonella. Βασικούς προδιαθεσικούς παράγοντες αποτελούν η χημειοθεραπεία, η χρήση αντιόξινων, τα κορτικοστεροειδή, ο υποσιτισμός, ενώ τα συμπτώματα είναι σοβαρότερα σε ασθενείς με επηρεασμένη την κυτταρική ανοσία [161]. Η 3^{ης} γενιάς κεφαλοσπορίνες είναι λιγότερο δραστικές σε σχέση με τις φθοριοκινολόνες που αποτελούν τη θεραπεία εκλογής [164].

Η βακτηριαιμία από Corynebacterium jeikeium παρουσιάζει αυξημένη επίπτωση τα τελευταία χρόνια στους καρκινοπαθείς λόγω της ευρείας χρήσης κεντρικών γραμμών, των συχνών εισαγωγών στο νοσοκομείο και τις συχνότερες διενέργειες μυελογράμματος ή οστεομυελικών βιοψιών. Το Corynebacterium

Jeikeium είναι ένα λιπόφιλο σαπρόφυτο του δέρματος, που συχνότερα εντοπίζεται περιπρωκτικά, στη βουβωνική και στη μασχαλιαία χώρα. Θεραπεία εκλογής αποτελεί η χορήγηση βανκομυκίνης με ταυτόχρονη αφαίρεση της κεντρικής γραμμής [165, 166].

ii) Καντινταιμία και μυκητιασαιμία

Η καντινταιμία αποτελεί το 5-7% του συνόλου των θετικών αιμοκαλλιεργειών στους καρκινοπαθείς [167]. Η οξεία βακτηριαιμία από Candida, στις περισσότερες περιπτώσεις οφείλεται στην Candida albicans, ενώ σε κάποια κέντρα μπορεί να οφείλεται στη Candida tropicalis ή στη Candida Krusei [168, 169]. Παράγοντες που φαίνεται πως προδιαθέτουν στην εμφάνιση καντινταιμίας, είναι η προχωρημένη νόσος που φαίνεται να συσχετίζεται με πιο βαριά ανοσοανεπάρκεια, η παρουσία κεντρικής φλεβικής γραμμής και η προηγηθείσα χορήγηση αντιβιοτικής αγωγής έναντι αναεροβίων [186]. Η Candida parapsilosis όπως και η μυκητιασαιμία από Malassezia furfur παρατηρούνται σε ασθενείς που λαμβάνουν ολική παρεντερική διατροφή, για τους οποίους η αφαίρεση του φλεβοκαθετήρα και η χορήγηση αμφοτερικίνης Β αποτελεί τη θεραπεία εκλογής. Για τους υπόλοιπους ασθενείς με λοίμωξη από Candida, η χορήγηση αμφοτερικίνης Β, ή λιποσωμιακής αμφοτερικίνης Β αποτελούν τη θεραπεία εκλογής. Εναλλακτικά, με λιγότερες παρενέργειες χορηγείται fluconazole, voriconazole ή caspofungin [187]. Σε μια μελέτη μάλιστα διαπιστώθηκε ότι η caspofungin ήταν δραστικότερη από την αμφοτερικίνη Β (70% vs 56%) ενώ η έκβαση της καντινταιμίας ήταν ευνοϊκότερη στους μη ουδετεροπενικούς ασθενείς με συμπαγείς όγκους σε σχέση με τους ουδετεροπενικούς ασθενείς με λευχαιμία

Η χρόνια διάχυτη καντιντίαση, διατρέχει σε υποκλινική μορφή μέχρι την επανεμφάνιση ουδετεροπενίας [170]. Πρώιμα σχετικά συμπτώματα αποτελούν η επανεμφάνιση πυρετού και καταβολής με αύξηση της αλκαλικής φωσφατάσης. Ηπατικό, σπληνικό, νεφρικό, πνευμονικό απόστημα μπορεί να αποκαλυφθεί στον απεικονιστικό έλεγχο. Η χειρουργική παροχέτευση του αποστήματος και η συστηματική αντιβιοτική αγωγή (όπως προαναφέρθηκε) αποτελούν τη θεραπεία εκλογής.

Σπανιότερα, η μυκητιασαιμία μπορεί να οφείλεται σε Trichosporon beigelii, που συνήθως είναι ανθεκτικό στην αμφοτερικίνη Β [171], σε L. monocytogenes, C. neoformans προ της εκδήλωσης νευρολογικών συμπτωμάτων σε Geotrichum candidum, Rhodotorula sp.,κ.α.

Άλλοι παθογόνοι μικροοργανισμοί που προκαλούν βακτηριαιμία φαίνονται στον πίνακα 2 [161].

2. Πνευμονικές λοιμώξεις

Η πρόκληση βλαβών στο επιθήλιο του αναπνευστικού συστήματος από τη χημειοθεραπεία, σε συνδυασμό με τη διαταραχή του ανοσοποιητικού συστήματος, για λόγους που ήδη έχουν αναφερθεί, καθιστά τις πνευμονικές ευκαιριακές λοιμώξεις αρκετά συχνές.

Η πνευμονική ασπεργίλλωση αποτελεί μια από τις συχνότερες θανατηφόρες λοιμώξεις σε ανοσοκατασταλμένους ασθενείς. Οφείλεται κυρίως στα στελέχη Aspergillus fumigatus και Aspergillus Flavus. Ο κίνδυνος λοίμωξης αυξάνει ανάλογα με τη διάρκεια της ουδετεροπενίας [172] αλλά και με τον απόλυτο αριθμό λεμφοκυττάρων. Σε μια μελέτη μάλιστα, [188] διαπιστώθηκε ότι το 69% των ασθενών με διηθητική ασπεργίλλωση πνεύμονα ή εγκεφάλου είχε απόλυτο αριθμό λεμφοκυττάρων <500/μL.

Πίνακας 2
Pathogens causing haematogenous infections, with predisposing factors, sources of infection and recommended therapy

Pathogen	Predisposing factors	Sources	Recommended therapy
Salmonella spp.	Impaired cellular immunity, corticosteroids, antacids	Gastrointestinal tract	Fluoroquinolones, perfloxacin or ciprofloxacin
Corynebacterium jeikeium	Neutropenia, haematological malignancy, indwelling catheter, long hospitalization	Skin (rectal, inguinal or axillary areas)	Vancomycin, removal of catheter
Rothia dentocariosa	Oral mucositis, neutropenia	Mouth flora	Penicillin G
Capnocytophaga spp.	Oral mucositis, neutropenia	Mouth flora	Penicillin G
Eikenella corrodens	Oral mucositis, neutropenia	Mouth flora	Ampicillin

Stomatococcus mucilaginosus	Oral mucositis	Mouth flora	Ampicillin G, or vancomycin for resistant strains
Leuconostoc spp.	Previous antibiotics, indwelling catheter, invasive procedures	Gastrointestinal tract	High-dose penicillin G or clindamycin, removal of catheter
Bacillus spp.	Neutropenia, TPN indwelling catheter	Skin	Penicillin G or vancomycin for resistant strains
Candida spp.	Neutropenia, TPN indwelling catheter, mucositis	Mouth flora, skin, gastrointestinal tract	Amphotericin B (not for C.lusitaniae) or fluconazole (not for C.krusei), removal of catheter
Torulopsis glabrata	Neutropenia, TPN indwelling catheter, mucositis	Mouth flora, skin, gastrointestinal tract	Amphotericin B, removal of catheter
Trichosporon spp.	Neutropenia	Skin, gastrointestinal tract	No standard therapy recommended—very frequent resistance to amphotericin B, combination therapy with amphotericin B and fluconazole?
Malassezia furfur	TPN	Skin	Amphotericin B, discontinue TPN, removal of catheter

Λοίμωξη από ασπέργιλλο μπορεί να εμφανισθεί επίσης στους παραρρίνιους κόλπους. Στον απεικονιστικό έλεγχο, διαπιστώνονται μονήρεις ή πολλαπλές ουλώδεις βλάβες, με τάση ανάπτυξης κοιλότητας ή διάχυτης πνευμονικής διήθησης. Ενδοφλέβια χορήγηση αμφοτερικίνης Β ή εναλλακτικά caspofungin ή voriconazole αποτελεί τη θεραπεία εκλογής.

Η mucormycosis, εκδηλώνεται όπως η ασπεργίλλωση, είναι, όμως, πιο επιθετική λοίμωξη και παρά τη χορήγηση αμφοτερικίνης είναι συνήθως θανατηφόρος.

Άλλες μυκητιασικές λοιμώξεις του αναπνευστικού είναι η coccidioidomycosis, η histoplasmosis, η fusariosis. κ.α.

Η επίπτωση της πνευμονίας από pneumocystis carinii (PCP) είναι αυξημένη σε καρκινοπαθείς με διαταραχές της κυτταρικής ανοσίας. Φαίνεται ότι στην εμφάνιση

της λοίμωξης σημαντικό ρόλο παίζει ο χαμηλός απόλυτος αριθμός λεμφοκυττάρων για μακρύ χρονικό διάστημα, παρατεταμένη νοσηλεία, εντατική χημειοθεραπεία ή ακτινοθεραπεία [189]. Η διάγνωση τίθεται από τα συμπτώματα του ασθενούς (πυρετός, ξηρός βήχας, δύσπνοια, σημαντική υποξαιμία) [173], τα απεικονιστικά ευρήματα (διάχυτες διάμεσες πνευμονικές διηθήσεις) και από την εξέταση του βρογχοκυψελιδικού εκπλύματος για PCP. Η θεραπεία συνίσταται στη χορήγηση υψηλών δόσεων τριμεθοπρίμης (20mg/kg/d) και σουλφολεθοξαζόλης (100mg/kg/d) διαιρεμένων σε τέσσερις ημερήσιες δόσεις. Εναλλακτικά, πενταμιδίνη ενδοφλεβίως (4mg/kg/d).

Από τις ιογενείς πνευμονικές λοιμώξεις, η λοίμωξη από κυτταρομεγαλοϊό (CMV) είναι συχνότερη. Τα συμπτώματα και τα ακτινολογικά ευρήματα μοιάζουν με αυτά στην PCP λοίμωξη. Η διάγνωση γίνεται με την ανεύρεση αντιγόνου ή με PCR (στο φυσιολογικό υλικό που εξετάζεται) μειώνοντας την καθυστέρηση στη διάγνωση. Θεραπεία εκλογής αποτελεί ganciclovir.

Άλλες ιογενείς πνευμονίες οφείλονται σε λοιμώξεις από αδενοϊούς, από τον ιό του απλού έρπητα (HSV) και από τον ιό του έρπητος ζωστήρος. Η πνευμονία από ιό του έρπητος ζωστήρος χαρακτηριστικά εκδηλώνεται 1-6 ημέρες μετά την εμφάνιση του εξανθήματος.

Η επίπτωση της φυματίωσης τα τελευταία χρόνια παρουσιάζει αύξηση, ειδικά σε πάσχοντες από νόσο Hodgkin και καρκίνο του πνεύμονα [174]. Στην πλειοψηφία των ασθενών πρόκειται για ενεργοποίηση λανθάνουσας νόσου και όχι μετάδοσης της νόσου στους ανοσοκατασταλμένους ασθενείς. Πυρετός, βήχας και κοιλοτικές βλάβες στους άνω πνευμονικούς λοβούς θέτουν την υποψία φυματίωσης. Η διάγνωση τίθεται με απομόνωση του μυκοβακτηριδίου, με χρώσεις Ziehl- Nielsen, ενώ η χρήση της PCR βοηθά στην αύξηση της ευαισθησίας της διάγνωσης. Η χορήγηση θεραπείας για 6 μήνες ενδείκνυται στους πάσχοντες ανοσοκατασταλμένους ασθενείς.

Λοιμώξεις του αναπνευστικού συστήματος από Nocardia sp. Legionella s.p, είναι σχετικά σπάνιες αν και, η επίπτωσή τους αυξάνει στους ανοσοκατασταλμένους ασθενείς. Άλλοι παθογόνοι μικροοργανισμοί που μπορούν να προκαλέσουν λοιμώξεις του αναπνευστικού φαίνονται στον πίνακα 3 [161].

Πίνακας 3. Pathogens causing pulmonary infections, with predisposing factors, clinical patterns and recommended therapy			
Pathogen	**Predisposing factors**	**Sources**	**Recommended therapy**
P.carinii	Cellular immunity	Subacute onset, dyspnoea, hypoxia, interstitial pulmonary infiltrates	TMP–SMX pentamidine or TMP–dapsone
Aspergillus spp.	Neutropenia	Acute onset, pleuritic chest pain, cutaneous ulcerations (rare), CNS abscesses, solitary or multiple nodular lesions on X-ray with halo sign or cavitation	Amphotericin B
Mucorales	Neutropenia	Acute onset and fulminant course, palatal necrotic ulcer, radiography findings simiar to aspergillosis	Amphotericin B
Coccidioides spp.	Cellular immunity	Travel to endemic area, acute progressive peumonia with miliary dissemination	Amphotericin B
Histoplasma capsulatum	Cellular immunity	Hepatosplenomegaly, patchy infiltrates, miliary dissemination, chest radiograph may be normal	Amphotericin B, ketoconazole or itraconazole can be given for moderate disease
Fusarium and P.boydii	Neutropenia	Similar to aspergillosis with more frequent cutaneous ulceration, both can be isolated from blood	Both invariably resistant to amphotericin B, no standard therapy for Fusarium, miconazole for P.boydii
Mycobacterium tuberculosis	Cellular immunity	History of previous disease or contact, chronic course, cavitations in upper lobes, rarely military	Isoniazid and rifampicin for 6 months, pyrazinamide for 2 months
Legionella spp.	Cellular immunity	Acute onset, hypoxia, extrapulmonary manifestations such as diarrhoea and confusion, unilobar or multilobar consolidation	Combinated erythromycin and rifampicin, or a fluoroquinolone plus rifampicin
Nocardia spp.	Cellular immunity	Chronic onset, nodular subcutaneous lesions, brain abscesses, solitary or multiple cavitations, reticulonodular infiltrates and	TMP–SMX or a sulphonamide

		empyema, upper lobes commonly involved	
Rhodococcus equi	Cellular immunity	Animal contacts, cavitations in upper lobes	Combined erythromycin and rifampicin
Strongyloides stercoralis	Cellular immunity	Urticaria and pruritus, gastrointestinal symptoms, diffuse alveolar infiltrates, eosinophilia may be absent in 50% of immunosuppressed patients	Thiabendazole
Cytomegalovirus	Cellular immunity	Subacute onset, hypoxia, interstitial pneumonia, often in recipients of bone marrow transplants	Ganciclovir
Herpes simplex and herpes zoster-varicella viruses	Cellular immunity	Subacute onset, mucosal and cutaneous lesions may precede pneumonia (interstitial, focal or multifocal)	Acyclovir
Adenovirus	Cellular immunity	Subacute conjunctivitis, haematuria, diffuse interstitial pneumonia, pleural effusion	No therapy
Respiratory syncytial virus	Cellular immunity	Subacute onset, upper respiratory symptoms, bilateral diffuse infiltrates	Ribavirin?

3. Λοιμώξεις του ΚΝΣ

Όπως οι περισσότερες ευκαιριακές λοιμώξεις, έτσι και οι λοιμώξεις του ΚΝΣ παρατηρούνται σε ασθενείς με σημαντικό έλλειμμα της κυτταρικής ανοσίας τους. Η Listeria monocytogenes, το Toxoplasma gondii, ο Cryptococcus neoformans, η Nocardia asteroides και οι Polyomaviruses αποτελούν τους συνήθεις παθογόνους μικροοργανισμούς στους οποίους αποδίδεται η εμφάνιση μηνιγγίτιδας, μηνιγγοεγκεφαλίτιδας, ή και εγκεφαλικού αποστήματος. Η διάγνωση τίθεται με χρήση απεικονιστικών μέσων (CT, MRI εγκεφάλου) και απομόνωση των μικροοργανισμών από το ΕΝΥ. Η Listeria monocytogenes αποτελεί την πιο συχνή αιτία ευκαιριακής λοίμωξης του ΚΝΣ στους καρκινοπαθείς και σχετίζεται με τη λήψη μολυσμένης τροφής, κυρίως γαλακτοκομικών προϊόντων [175] σε ασθενείς με διαταραχές της κυτταρικής ανοσίας [176-180] και σε αυτούς που λαμβάνουν συστηματικά κυτταροτοξική θεραπεία [181]. Πιθανά στην εμφάνιση της λοίμωξης

να συντελεί κάποια βλάβη της μη ειδικής ανοσίας (ηπατοσπληνικά μακροφάγα) [182]. Επίσης, στην εμφάνιση γενικευμένης λοίμωξης πιθανά εμπλέκεται διαταραχή της λειτουργίας του NF-κB ή του Toll- like υποδοχέα μονοπατιού που φαίνεται να υπάρχει σε ασθενείς με προχωρημένη ηπατική νόσο [183], η οποία τελικά οδηγεί σε αναποτελεσματική αντιμετώπιση της L. monocytopenes κατά τη διάρκεια της ηπατικής φάσης της λοίμωξης [184]. Στον υπόλοιπο πληθυσμό η λοίμωξη από Listeria monocytogenes, προκαλεί εμπύρετη γαστρεντερίτιδα, αυτοπεριοριζόμενη και σπανιότατα διάχυτη συστηματική λοίμωξη [185]. Το 40% των ασθενών καταλήγουν εντός των πρώτων δύο 24ώρων από τη μικροβιολογική διάγνωση, γεγονός που καθιστά αναγκαία την άμεση χορήγηση των κατάλληλων αντιμικροβιακών παραγόντων, επί υποψίας της διάγνωσης. Θεραπεία εκλογής θεωρείται η συγχορήγηση αμπικιλλίνης/ αμινογλυκοσίδης για 14 ημέρες. Εναλλακτικά, πρέπει να χορηγείται τριμεθοπρίμη/ σουλφομεθαξαζόλη.

Ο Cryptococcus neoformans αποτελεί τη δεύτερη σε συχνότητα αιτία ευκαιριακής λοίμωξης του ΚΝΣ στους καρκινοπαθείς, ιδίως σε ασθενείς με λευχαιμία και με λέμφωμα. Το 95% των ασθενών με κρυπτοκοκικκή λοίμωξη του ΚΝΣ έχουν νευρολογικά συμπτώματα, ενώ σχεδόν σε όλους υπάρχουν παθολογικά ευρήματα στην εξέταση του ΕΝΥ. Πρέπει να τονισθεί επίσης, ότι σε ασθενείς με υποκείμενη νεοπλασματική νόσο, η κρυπτοκοκικκή λοίμωξη είναι συνήθως διάχυτη με αποτέλεσμα ένα ποσοστό της τάξης των 25% του συνόλου των καλλιεργειών αίματος ή ούρων να είναι θετικές [162]. Θεραπεία εκλογής είναι ο συνδυασμός αμφοτερικίνης Β και 5- φλουροκυτοσίνης για έξι εβδομάδες.

Στον πίνακα 4 [161] φαίνονται οι παθογόνοι μικροοργανισμοί που προκαλούν ευκαιριακές λοιμώξεις του ΚΝΣ.

Πίνακας 4.
Pathogens causing CNS infections, with predisposing factors, clinical patterns and recommended therapy

Pathogen	Predisposing factors	Sources	Recommended therapy
Listeria monocytogenes	Cellular immunity	Meningitis, meningoencephalitis	Ampicillin alone or with gentamicin, or TMP–SMX
Toxoplasma gondii	Cellular immunity	Meningoencephalitis, brain abscesses	Combined pyrimethamine and sulfadiazine, or

			clindamycin–pyrimethamine or dapsone–pyrimethamine combinations
Cryptococcus neoformans	Cellular immunity	Meningitis, meningoencephalitis, brain abscesses	Combined amphotericin B and 5-fluorocytosine, or fluconazole or itraconazole
Polyomavirus JC	Cellular immunity	Progressive multifocal leukoencephalopathy	No therapy

4. Δερματικές λοιμώξεις

Η διάγνωσή τους μερικές φορές καθυστερεί, δεδομένου ότι πρέπει να διαφοροδιαγνωσθούν από αντιδράσεις υπερευαισθησίας σε χημειοθεραπευτικούς παράγοντες, σε αντιβιοτική αγωγή, ή από δερματική μεταστατική νόσο. Άλλες φορές πρέπει να διαχωριστούν από παρανεοπλασματική νόσο, όπως π.χ δερματική αγγειϊτιδα στα πλαίσια κρυοσφαιριναιμίας ή Sweet Syndrome (πυρετός, λευκοκυττάρωση, καλά αφοριζόμενες βλατίδες και πλάκες με εκτεταμένη διήθηση από ουδετερόφιλα). Η οριστική διάγνωση γίνεται με βιοψία δέρματος.

Ελκοφλυκταινώδης νεκρωτική πυοδερματίτιδα συχνά οφείλεται σε λοίμωξη από P. Aeruginosa. Σε άλλες περιπτώσεις τοπική λοίμωξη των μαλακών ιστών από p. aeruginosa ή άλλα Gram (-) βακτήρια, σε ουδετεροπενικούς ασθενείς, μπορούν να προκαλέσουν εκτεταμένη νέκρωση και κεραυνοβόλο σήψη. Κλωστηριδιακή μυονέκρωση συνηθέστερα απαντάται σε ασθενείς με κακοήθειες του γαστρεντερικού συστήματος ή σε ασθενείς με γυναικολογικό καρκίνο. Απαιτείται άμεση χειρουργική αφαίρεση του φλεγμαίνοντος ιστού και συστηματική χορήγηση αντιβιοτικών.

Η Candida μπορεί να προκαλέσει δερματικές ερυθηματοβλατιδώδεις βλάβες, με διάμετρο έως 1cm οι οποίες μπορεί να συνυπάρχουν με μυαλγίες εάν φλεγμαίνει και ο υποκείμενος μυς (Candida μυοσίτιδα). Η διάγνωση γίνεται με καλλιέργεια υλικού από τη βλάβη, ενώ η θεραπεία συνίσταται στη χορήγηση αντιμυκητιασικής αγωγής.

ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΚΑΙ ΦΛΕΓΜΟΝΗ

Το 1863 ο Rudolf Virchow πρώτος διαπίστωσε την παρουσία φλεγμονωδών κυττάρων, στην περιοχή του κακοήθους όγκου και επίσης πρώτος, έκανε τη σύνδεση μεταξύ χρόνιας φλεγμονής και ανάπτυξης νεοπλάσματος. Πέρασαν πολλά χρόνια και είναι πλέον από τους πάντες αποδεκτό ότι, οι χρόνιες φλεγμονές προδιαθέτουν σε κακοήθη εξαλλαγή των κυττάρων [190- 196] {βλ. πίνακα 5}.Τούτο αποδίδεται είτε σε βλάβες του DNA των πολλαπλασιαζόμενων κυττάρων από παράγοντες που απελευθερώνονται από τα φλεγμονώδη κύτταρα [196-202], είτε σε βλάβες (π.χ μεταλλάξεις, bypassing) των ογκοκατασταλτικών γονιδίων (π.χ p53) [198, 203].

Τα κύτταρα που συρρέουν στις φλεγμονές (λευκοκύτταρα, αιμοπετάλια κ.λ.π) που αναπτύσσονται γύρω από κακοήθεις όγκους, συμβάλλουν στην επιβίωση και πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων μέσω της παραγωγής και απελευθέρωσης κυτταροκινών, χημειοκινών, κυτταροτοξικών μεσολαβητών, αγγειογεννετικών ουσιών κ.α. [204-222]. Από την άλλη, τα καρκινικά κύτταρα χρησιμοποιούν τους τροφικούς παράγοντες των φλεγμονωδών κυττάρων αλλά και τα προσκολλητικά μόρια, χημειοκίνες και υποδοχείς που βοηθούν στη μετανάστευση τους και στη δημιουργία μεταστάσεων. [217-219,221,223-225].

Πίνακας 5 από Ref 190

Chronic inflammatory conditions associated with neoplasms		
Pathologic condition	Associated neoplasm(s)	Aetiologic agent
Asbestosis, silicosis	Mesothelioma, lung carcinoma	Asbestos fibres, silica particles
Bronchitis	Lung carcinoma	Silica, asbestos, smoking (nitrosamines, peroxides)
Cystitis, bladder inflammation	Bladder carcinoma	Chronic indwelling, urinary catheters
Gingivitis, lichen planus	Oral squamous cell carcinoma	
Inflammatory bowel disease, Crohn's disease, chronic ulcerative colitis	Colorectal carcinoma	
Lichen sclerosus	Vulvar squamous cell carcinoma	
Chronic pancreatitis, hereditary pancreatitis	Pancreatic carcinoma	Alcholism, mutation in trypsinogen gene on Ch. 7
Reflux oesophagitis, Barrett's oesophagus	Oesophageal carcinoma	Gastric acids
Sialadenitis	Salivary gland carcinoma	
Sjögren syndrome, Hashimoto's thyroiditis	MALT lymphoma	
Skin inflammation	Melanoma	Ultraviolet light
Cancers associated with infectious agents		
Opisthorchis, Cholangitis	Cholangiosarcoma, colon carcnoma	Liver flukes (*Opisthorchis viverrini*), bile acids
Chronic cholecystitis	Gall bladder cancer	Bacteria, gall bladder stones
Gastritis/ulcers	Gastric adenocarcinoma, MALT	*Helicobacter pylori*
Hepatitis	Hepatocellular carcinoma	Hepatitis B and/or C virus
Mononucleosis	B-cell non-Hodgkin's lymphoma, Burkitts lymphoma,	Epstein-Barr Virus
AIDS	Non-Hodgkin's lymphoma, squamous cell carcinomas, Kaposi's sarcoma	Human immunodeficiency virus, human herpesvirus type 8
Osteomyelitis	Skin carcinoma in draining sinuses	Bacterial infection
Pelvic inflammatory disease, chronic cervicitis	Ovarian carcinoma, cervical/anal carcinoma	Gonnorrhoea, chlamydia, human papillomavirus
Chronic cystitis	Bladder, liver, rectal carcinoma, follicular lymphoma of the spleen	Schistosomiasis

Modified from refs 29, 67. MALT, mucosa-associated lymphoid tissue.

ΑΝΟΣΟΚΑΤΑΣΤΟΛΗ ΣΤΟΥΣ ΚΑΡΚΙΝΟΠΑΘΕΙΣ

Στο σημείο αυτό θα πρέπει να τονισθεί το παράδοξο που παρατηρείται στη νεοπλασματική νόσο. Ενώ τα καρκινικά κύτταρα παράγουν φλεγμονώδεις κυτταροκίνες και χημειοκίνες, στους καρκινοπαθείς παρατηρείται μειωμένη ικανότητα αύξησης των φλεγμονωδών αντιδράσεων σε σημεία του οργανισμού πέρα από την περιοχή του όγκου, ενώ και τα κυκλοφορούντα μονοκύτταρα παρουσιάζουν μειωμένη ικανότητα απάντησης σε χημειοτακτικά ερεθίσματα [191,226]. Επίσης, τα λεμφοκύτταρα στην περιοχή του όγκου, αλλά και τα λεμφοκύτταρα στο περιφερικό αίμα, παρουσιάζουν ελαττωματική ανοσολογική απάντηση στο αντιγονικό ερέθισμα. [227]. Αυτό αποδίδεται σε διάφορους λόγους:

1) Χημειοκίνες απελευθερώνονται στη συστηματική κυκλοφορία και είναι πιθανό να προκαλούν απευαισθητοποίηση των κυκλοφορούντων λευκοκυττάρων [190,191,228]
2) Τα καρκινικά κύτταρα παράγουν αντιφλεγμονώδεις κυτταροκίνες [229] ή αδυνατούν να προσροφήσουν κυτταροκίνες που προάγουν τις φλεγμονώδεις αντιδράσεις,
3) Αυξημένη «κατανάλωση» λευκοκυττάρων στην περιοχή του όγκου και
4) Τα μακροφάγα που διηθούν το νεοπλασματικό ιστό (tumor associated macrophages, TAM), απελευθερώνουν μεγάλες ποσότητες IL-10 και TGF-β [229]. Είναι γνωστό ότι, η μεν IL-10 αποτελεί αναστολέα των ενεργοποιημένων μακροφάγων και δενδριτικών κυττάρων και έτσι παράγοντα ελέγχου της ειδικής και μη ειδικής ανοσίας, ο δε TGF- β αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση των Τ-λεμφοκυττάρων και την ενεργοποίηση των μακροφάγων [1].

Τα δενδριτικά κύτταρα που συνδέονται με τους κακοήθεις όγκους (tumor - associated dendritic cells, TADC), έχουν το φαινότυπο ανώριμων κυττάρων, μειονεκτικών στη διέγερση των Τ- λεμφοκυττάρων [224]. Αυτό θα μπορούσε να αντανακλά είτε την έλλειψη σημάτων που θα οδηγούσαν στην ωρίμανση τους, είτε την παρουσία ανασταλτικών για ωρίμανση σημάτων.

Τα NK κύτταρα είναι πολύ σπάνια στο μικροπεριβάλλον του όγκου [230]. Τα Τ- λεμφοκύτταρα που διηθούν το νεοπλασματικό ιστό (tumor infiltrating T- cells, TILs) έχουν φαινότυπο κυττάρων μνήμης και παράγουν κυρίως IL-4 και IL-5 όχι όμως IFN-γ [231]. Τόσο η IL-4, όσο και η IL-5 συμμετέχουν, όπως ήδη έχει αναφερθεί, στην ενεργοποίηση των ηωσινοφίλων και των TH2 CD4+ βοηθητικών Τ- λεμφοκυττάρων. Τα TH2 λεμφοκύτταρα είναι ανενεργά έναντι των όγκων αλλά και διαφόρων ενδοκυτταρίων μικροοργανισμών.

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ FAS/ FasL ΣΤΗΝ ΑΝΟΣΟΚΑΤΑΣΤΟΛΗ

Τα τελευταία χρόνια έχει γίνει μεγάλη συζήτηση για το ρόλο των Fas/ FasL στην, ήδη διαπιστωμένη, μειονεξία του ανοσοποιητικού συστήματος στους καρκινοπαθείς. Όπως ήδη έχει τονισθεί, ο FasL είναι μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη της οικογένειας των TNF ligands. Ο Fas είναι, επίσης, μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη της οικογένειας των TNF υποδοχέων. Η δέσμευση του Fas από τον FasL πυροδοτεί έναν ενδοκυττάριο καταρράκτη αλυσιδωτών αντιδράσεων (ενεργοποίηση κασπασών) που τελικά οδηγούν σε προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο (απόπτωση), που αποτελεί μια φυσιολογική διαδικασία [232]. Μέσω της απόπτωσης επιτυγχάνεται η ομοιόσταση του ανοσοποιητικού συστήματος..

Αρχικά υπήρχε η εντύπωση ότι ο FasL εκφραζόταν μόνο σε κύτταρα του λεμφικού συστήματος, η οποία στη συνέχεια αποδείχθηκε ότι ήταν λάθος, αφού FasL μπορούν να εκφράσουν και εξωλεμφικά κύτταρα. Μετά από μακρόχρονες έρευνες, βρέθηκε ότι τα καρκινικά κύτταρα πολλών όγκων (πνεύμονος, γαστρεντερικού συστήματος, κεφαλής- τραχήλου, μαστού κ.λ.π) υπερεκφράζουν στην επιφάνειά τους τον FasL. Θεωρείται πλέον δεδομένο ότι στην περιοχή του όγκου επικρατεί ανεργία των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος, που σε σημαντικό βαθμό αποδίδεται στην απόπτωση λεμφοκυττάρων, μονοκυττάρων και δενδριτικών κυττάρων και που κατά ένα μεγάλο μέρος επάγεται από το σύστημα Fas/ FasL [233,234].

Είναι αποδεδειγμένο ότι στο περιφερικό αίμα καρκινοπαθών εμφανίζεται απόπτωση μονοπύρηνων κυττάρων, ενώ δεν διαπιστώνεται το ίδιο σε υγιείς-

μάρτυρες.[235, 236]. Στις πιο πρόσφατες μελέτες διαπιστώθηκε στο περιφερικό αίμα ασθενών με διάφορους τύπους νεοπλάσματος (κεφαλής/ τραχήλου, μελάνωμα), ο αποπτωτικός θάνατος Τ- λεμφοκυττάρων με τη μεσολάβηση των Fas/ FasL. Το γεγονός αυτό, πιθανότατα, συμβάλλει στη γενικότερη καταστολή του ανοσοποιητικού συστήματος που παρατηρείται στους καρκινοπαθείς. [236,237].

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ TCR ΥΠΟΔΟΧΕΑ ΣΤΗΝ ΑΝΟΣΟΚΑΤΑΣΤΟΛΗ

Σε μελέτες που έχουν γίνει έχει διαπιστωθεί ότι τα λεμφοκύτταρα που διηθούν τον όγκο (TILs) είναι δυσλειτουργικά Τ- λεμφοκύτταρα. Η δυσλειτουργία τους αυτή αποδίδεται στην ελαττωματική μετάδοση σημάτων από τον υποδοχέα TCR όπως επίσης, και στη μειονεκτική ενεργοποίηση του NF- κΒ μεταγραφικού παράγοντα [238-240]. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η δυσλειτουργία των Τ- λεμφοκυττάρων δεν περιορίζεται μόνο στα TILs, αλλά και στα NK κύτταρα και στα Τ- λεμφοκύτταρα στα περιφερικά όργανα των καρκινοπαθών [241-245]. Είναι αυτονόητο ότι η δυσλειτουργία των Τ- λεμφοκυττάρων οδηγεί σε μειωμένη απάντηση σε αντιγονικά ερεθίσματα και συνεπώς σε μειωμένη παραγωγή φλεγμονωδών κυτταροκινών, που προάγουν τη λεμφοκυτταρική απάντηση. Επίσης, φαίνεται ότι η δυσλειτουργία αφορά και στα μνημονικά Τ- λεμφοκύτταρα. [246].

Όπως τονίσθηκε σε προηγούμενο κεφάλαιο, η αναγνώριση του αντιγόνου γίνεται από τον υποδοχέα TCR του λεμφοκυττάρου, ενώ στη μετάδοση του σήματος βασικό ρόλο παίζει η ζ- αλυσίδα του συμπλέγματος TCR. Η χαμηλή έκφραση της πρωτεΐνης αυτής, οδηγεί σε ελαττωματική απάντηση των Τ- λεμφοκυττάρων στην αντιγονική διέγερση, σ' ότι αφορά στον πολλαπλασιασμό τους, στην κυτταροτοξική λειτουργία τους και στην παραγωγή κυτταροκινών από τα TH1. Τα TILs, τα NK κύτταρα και τα Τ- λεμφοκύτταρα καρκινοπαθών παρουσιάζουν χαμηλή ή καθόλου έκφραση της ζ- αλυσίδας του TCR συμπλέγματος, [242-245,247] η οποία φαίνεται ότι αποτελεί μια ένδειξη πρώιμης απόπτωσης τους. [248-250]. Η μειωμένη έκφραση της ζ- αλυσίδας του συμπλέγματος TCR έχει συσχετισθεί με το στάδιο της νόσου, όπου στο πλέον προχωρημένο στάδιο η έκφραση της είναι σχεδόν μηδενική [251-256].

Η χαμηλή έκφραση της ζ- αλυσίδας έχει συσχετισθεί με αύξηση της αναλογίας των αποπτωτικών Τ- λεμφοκυττάρων (και των TILs), ενώ επίσης έχει συσχετισθεί με υψηλά επίπεδα έκφρασης του FasL στον όγκο [257] και αυξημένη δραστηριότητα των ενδοκυττάριων κασπασών [258].

Η ενεργοποίηση των κασπασών ως αποτέλεσμα αποπτωτικών ερεθισμάτων φαίνεται ότι αποτελεί ένα μηχανισμό μειωμένης έκφρασης της ζ- αλυσίδας στους καρκινοπαθείς. Η χρόνια ενεργοποίηση των Τ- λεμφοκυττάρων, που όπως ήδη έχει τονισθεί παρατηρείται στους καρκινοπαθείς, οδηγεί σε ενεργοποίηση αποπτωτικών μηχανισμών και τελικά στο θάνατο των Τ- λεμφοκυττάρων [259]. Τα μακροφάγα από την άλλη πλευρά ενεργοποιούνται από κυτταροκίνες που απελευθερώνονται στην περιοχή του όγκου και απελευθερώνουν H_2O_2. Σε πειραματόζωα έχει διαπιστωθεί ότι η απόπτωση των Τ- λεμφοκυττάρων οφείλεται είτε σε απ' ευθείας δράση του H_2O_2 [260,261] είτε ως επακόλουθο της ικανότητας των μεσολαβητών του reactive oxygen στην επαγωγή της έκφρασης του Fas ή του FasL στα Τ- λεμφοκύτταρα με συνέπεια την ενεργοποίηση κασπασών [262-265]

Γίνεται λοιπόν αντιληπτό ότι τα καρκινικά κύτταρα επάγουν την ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος, η οποία οδηγεί σε υπερέκφραση των «death receptors» στα κύτταρα αυτά, στην ενεργοποίηση των κασπασών (κυρίως της κασπάσης-3) και, τελικά, στην απόπτωσή τους [266]. Σε αρκετές μελέτες φαίνεται ότι η απόπτωση αφορά κυρίως στα CD8+ Τ- λεμφοκύτταρα [241, 266].

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΩΝ Τ- ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΤΗΝ ΑΝΟΣΟΚΑΤΑΣΤΟΛΗ

Τα ρυθμιστικά Τ- λεμφοκύτταρα (Tregs, CD4+ CD25+) είναι φυσιολογικά, ανενεργά, κατασταλτικά λεμφοκύτταρα, παράγονται στο θύμο ως λειτουργικά ξεχωριστά Τ- λεμφοκύτταρα και συμμετέχουν στην ομοιόσταση του οργανισμού. Τα κύτταρα αυτά παράγουν τον ανασταλτικό παράγοντα TGF- β και επάγουν την έκφραση του ανασταλτικού συνυποδοχέα CTLA-4 στην επιφάνεια των Τ- λεμφοκυττάρων [267].

Έχει διαπιστωθεί αυξημένη έκφραση των CD4+ CD25+ (Tregs) λεμφοκυττάρων στο περιφερικό αίμα ασθενών με Ca πνεύμονα, μαστού, ωοθηκών [268-270], στομάχου και οισοφάγου [271]. Ο ακριβής μηχανισμός της υπερέκφρασης των ρυθμιστικών Τ- λεμφοκυττάρων δεν είναι σαφής. Έχει προταθεί η απελευθέρωση από τα καρκινικά κύτταρα, παραγόντων που ευνοούν την υπερέκφραση τους όπως επίσης, ότι αποτελεί ένα φυσιολογικό αμυντικό φαινόμενο έναντι της συνεχούς φλεγμονής που επάγεται από τα καρκινικά κύτταρα. [271].

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ STRESS ΣΤΗΝ ΑΝΟΣΟΚΑΤΑΣΤΟΛΗ

Το H_2O_2 φυσιολογικά παράγεται σε μεγάλες ποσότητες από τα κοκκιοκύτταρα και τα μακροφάγα σαν μεσολαβητής της μη ειδικής ανοσίας έναντι μικροβίων που έχουν διεισδύσει στον οργανισμό [272, 273]. Παρ' όλα αυτά, η δράση του, όπως επίσης και άλλων reactive oxygen ειδών (ROS), ενίοτε μπορεί να είναι επιζήμια για τον οργανισμό. Η οξεία έκθεση για μακρύ χρονικό διάστημα, σε συνθήκες οξειδωτικού stress των Τ- λεμφοκυττάρων οδηγεί σε μειωμένη δραστηριότητα των μεταγραφικών παραγόντων και ως εκ τούτου σε μειωμένη παραγωγή κυτταροκινών ως απάντηση σε αντιγονική διέγερση [274-276]. Επίσης, η απελευθέρωση H_2O_2 από μονοκύτταρα του περιφερικού αίματος μειώνει την κυτταροτοξικότητα των NK κυττάρων [277]. Η απελευθέρωση NO από τα μακροφάγα οδηγεί σε μείωση της φωσφορυλλίωσης και, κατά συνέπεια, της ενεργοποίησης του JAK/ STAT 5 συστήματος μετάδοσης σημάτων, αναστέλλοντας έτσι τον πολλαπλασιασμό των Τ-λεμφοκυττάρων σε απάντηση στην IL-2 [278]. Ο μεταγραφικός παράγοντας NF-kB αποτελεί σημαντικό ρυθμιστή της ανοσολογικής απάντησης στον άνθρωπο. Η αναστολή του έχει συσχετισθεί με Τ- λεμφοκυτταρική ανεργία και μειωμένη ικανότητα παραγωγής IFN- γ, IL-2 και IL-4 [279, 280].

Η επίδραση του H_2O_2 στον NF- kB παράγοντα παραμένει αμφιλεγόμενη. Άλλοι υποστηρίζουν ότι, το H_2O_2 αποτελεί ανασταλτικό παράγοντα για τον NF-κB και συνεπώς ανασταλτικό παράγοντα για την παραγωγή προφλεγμονωδών και φλεγμονωδών κυτταροκινών [274-276]. Άλλοι υποστηρίζουν ότι παρουσία του

H_2O_2, ο NF- kB παράγοντας ενεργοποιείται συντελώντας στην έκφραση διαφόρων γονιδίων που επάγουν την απόπτωση (π.χ FasL) [281, 282].

Τέλος, τα ενεργοποιημένα/μνημονικά (CD45 RO^+) λεμφοκύτταρα χάνουν την ικανότητά τους να παράγουν IFN- γ, TNF- α και IL-2 παρουσία H_2O_2, ενώ τα naïve λεμφοκύτταρα εξακολουθούν να παράγουν τις κυτταροκίνες αυτές [283]. Πρακτικά, τούτο σημαίνει ότι ο NF-kB στα naïve λεμφοκύτταρα είναι πιο ανθεκτικός σε συνθήκες οξειδωτικού stress σε σχέση με τον NF-kB των μνημονικών λεμφοκυττάρων.

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΜΑΚΡΟΦΑΓΩΝ ΣΤΗΝ ΑΝΟΣΟΚΑΤΑΣΤΟΛΗ

Τα μακροφάγα, όπως ήδη έχει αναφερθεί, αποτελούν τμήμα της μη ειδικής ανοσίας, τα οποία μπορούν να φαγοκυτταρώνουν τους ξένους μικροοργανισμούς και στη συνέχεια, να εκκρίνουν βακτηριοκτόνες ουσίες με στόχο το θάνατό τους. Σε σχετικά πρόσφατες μελέτες διαπιστώθηκε ότι τα μακροφάγα στους λεμφαδένες της περιοχής του όγκου είναι ενεργοποιημένα και εκκρίνουν H_2O_2. Όπως αναλύθηκε στη προηγούμενη παράγραφο, η απελευθέρωση του H_2O_2 οδηγεί σε δυσλειτουργία των Τ- λεμφοκυττάρων, με διάφορους μηχανισμούς. Το H_2O_2 επάγει τη μειωμένη έκφραση της ζ- αλυσίδας του TCR [284] και κατά συνέπεια της απάντησης του Τ-λεμφοκυττάρου κατά την παρουσίαση του αντιγόνου, ταυτόχρονα με την αύξηση της δραστηριότητας της αποπτωτικής κασπάσης-3. Έχει δειχθεί επίσης ότι η δυσλειτουργία των Τ- λεμφοκυττάρων που επάγεται από τη ¨συνεργασία¨ τους με τα μακροφάγα εμφανίζεται σε προχωρημένα στάδια νόσου αλλά όχι και στα αρχικά [285] Επίσης, η παραγωγή IL-10 και IL-12 από τα μακροφάγα είναι αυξημένη σε πιο προχωρημένα στάδια της νόσου σε σχέση με το αρχικό.

Τα μακροφάγα με βάση την ενδοκυττάρια περιεκτικότητα τους σε γλουταθειόνη διαιρούνται σε δύο υποομάδες, τα οξειδωτικά και τα περιοριστικά (reductive). Πιθανά, η ισορροπία μεταξύ των 2 υποομάδων είναι αυτή που καθορίζει και την ισορροπία μεταξύ των TH1/ TH2 βοηθητικών Τ- λεμφοκυττάρων και, συνεπώς, των κυτταροκινών που θα απελευθερωθούν σε απάντηση στην αντιγονική διέγερση [286].

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΝΙΚΟΤΙΝΗΣ ΣΤΗΝ ΑΝΟΣΟΚΑΤΑΣΤΟΛΗ

Μεγάλος αριθμός των πασχόντων από κακοήθεις νεοπλασίες, είναι καπνιστές. Φαίνεται ότι πέρα από αυτή καθ' αυτή την καρκινογένεση, το κάπνισμα (ουσιαστικά η νικοτίνη), τροποποιεί και επιδρά αρνητικά στο ανοσολογικό σύστημα. Άλλοι υποστηρίζουν ότι επάγει αποπτωτικούς μηχανισμούς και μέσω αυτών επιδρά στο ανοσολογικό σύστημα και άλλοι ότι αναστέλλει την απόπτωση [287].

Έναν άλλο μηχανισμό πρόκλησης ανοσοκαταστολής, αποτελεί το γεγονός ότι στους καπνιστές έχουν διαπιστωθεί χαμηλότερα επίπεδα προ- φλεγμονωδών κυτταροκινών, που επηρεάζουν την ικανότητα διέγερσης των Τ- λεμφοκυττάρων από τα APCs (κυρίως δενδριτικά κύτταρα) [288], κυρίως λόγω πρόκλησης λειτουργικής βλάβης στα κύτταρα αυτά.

Τέλος, φαίνεται ότι η νικοτίνη, με τη μεσολάβηση των νικοτινικών υποδοχέων ακετυλοχολίνης, επηρεάζει την ωρίμανση των Τ- λεμφοκυττάρων, αφού σε πειραματικά μοντέλα, η χρήση νικοτίνης οδηγούσε σε αύξηση της συγκέντρωσης των άωρων Τ- λεμφοκυττάρων και σε μείωση των ώριμων Τ- λεμφοκυττάρων. Επίσης, διαπιστώθηκε μετά από χρήση νικοτίνης αύξηση της έκφρασης του CD95 (Fas) [289].

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ ΣΤΗΝ ΑΝΟΣΟΚΑΤΑΣΤΟΛΗ

Η επίπτωση του καρκίνου, πλην εξαιρέσεων, είναι σημαντικά αυξημένη σε άτομα περασμένης ηλικίας. Η γήρανση του ανοσοποιητικού συστήματος είναι μια κατάσταση κατά την οποία το ανοσοποιητικό σύστημα παρουσιάζει δυσλειτουργίες και μειωμένες απαντήσεις σε εξωτερικά ερεθίσματα [290-298]

Στη γήρανση του ανοσοποιητικού συστήματος αποδίδεται η αυξημένη επίπτωση λοιμώξεων, αυτοάνοσων νοσημάτων αλλά και του καρκίνου [290,299,300] δεδομένου ότι διαταράσσεται η ανοσοεπιτήρηση.

Συνήθως η έμφυτος ανοσία διαταράσσεται σε μικρό βαθμό και, συνήθως, αποδίδεται σε μειωμένη έκκριση βλέννης από τους βλεννογόνους, σε μειωμένη

συσταλτικότητα/ ελαστικότητα διαφόρων ιστών, σε διαταραχές του αυτόνομου νευρικού συστήματος, που μπορεί να οδηγήσουν σε λοιμώξεις της αναπνευστικής ή ουροποιητικής οδού [301].

Οι σημαντικές αλλαγές, όμως, αφορούν στην κυτταρική κυρίως αλλά και στη χυμική ανοσία [290, 291, 296]. Τα ανώριμα Τ- λεμφοκύτταρα εξέρχονται από το μυελό των οστών, όπου παράγονται και κατευθύνονται στο θύμο προκειμένου να ωριμάσουν (και να μετατραπούν σε naïve κύτταρα). Ο θύμος προοδευτικά με την πάροδο του χρόνου υποστρέφει. Ο ρυθμός και ο βαθμός υποστροφής του φαίνεται πως καθορίζεται γενετικά [298]. Η υποστροφή του θύμου έχει ως αποτέλεσμα τη προοδευτική ελάττωση της παραγωγής naïve Τ- λεμφοκυττάρων [291, 292] που οδηγεί σε μειωμένη ικανότητα απάντησης σε νέα αντιγόνα. Η υποστροφή του θύμου επηρεάζει κυρίως, τα CD4+ Τ- λεμφοκύτταρα [296].

Με την πρόοδο της ηλικίας παρατηρείται αύξηση του αριθμού των ρυθμιστικών CD4+ CD25+ Τ- λεμφοκυττάρων [297]. Συγχρόνως έχει παρατηρηθεί ότι αυξάνει γραμμικά ο αριθμός των CD8+ CD95+ Τ- λεμφοκύττάρων δηλαδή, η έκφραση του Fas στην επιφάνεια των CD8+ Τ- λεμφοκυττάρων [241,302] . Επίσης, φαίνεται πως υπάρχουν διαταραχές της λειτουργίας των APCs [290,294], μειονεξία των stem cells, καθώς και ενδοκυττάριες διαταραχές των μονοπατιών ενεργοποίησης των λεμφοκυττάρων [294]. Τέλος, τα κυκλοφορούντα μνημονικά Β- λεμφοκύτταρα είναι ελαττωμένα ενώ και η παραγωγή τους είναι, επίσης, μειωμένη.

Σε ότι αφορά στα φαγοκύτταρα, παρουσιάζουν διαταραχές της φαγοκυτταρικής λειτουργίας που περιλαμβάνει την κίνησή τους προς το σημείο της φλεγμονής, τη φαγοκυττάρωση, αλλά και την ενδοκυττάρια ¨θανάτωση¨ του αντιγόνου [301]. Τα ΝΚ κύτταρα εμφανίζουν μειωμένη κυτταροτοξικότητα και μειωμένη παραγωγή IFN- γ [295].

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΚΟΡΤΙΚΟΣΤΕΡΟΕΙΔΩΝ ΣΤΗΝ ΑΝΟΣΟΚΑΤΑΣΤΟΛΗ

Τα κορτικοστεροειδή αποτελούν μια κατηγορία φαρμάκων που χρησιμοποιούνται ευρύτατα στην αντιμετώπιση νεοπλασματικών νόσων. Η χρήση τους μπορεί να αποτελεί τμήμα της θεραπείας της νόσου τους (π.χ ν. Hodgkin, Ca

προστάτη κ.τ.λ) ή τμήμα της ανακουφιστικής θεραπείας (π.χ αποιδηματική αγωγή σε εγκεφαλικές μεταστατικές εστίες, βρογχόσπασμος σε Ca πνεύμονα κ.λ.π).

Τα κορτικοστεροειδή έχουν ανασταλτική δράση στα Τ- και Β- λεμφοκύτταρα όπως επίσης και στα ουδετερόφιλα και μακροφάγα.

Ενδοκυττάρια δράση κορτικοστεροειδών

Η επίδραση των κορτικοστεροειδών στις κυτταρικές λειτουργίες ασκείται μέσω της απ' ευθείας μετάδοσης του σήματος στον πυρήνα του κυττάρου. Συγκεκριμένα, η σύνδεση του κορτικοστεροειδούς με τον υποδοχέα του κυττάρου οδηγεί σε κυτταροπλασματικές αλλαγές, οι οποίες διευκολύνουν τη μετάδοση του σήματος στον πυρήνα του απ' ευθείας από τον υποδοχέα. Το ειδικό τμήμα του υποδοχέα το οποίο συνδέεται με συγκεκριμένα γονίδια στον πυρήνα του κυττάρου δίνει την εντολή για διέγερση ή καταστολή της γονιδιακής μετάφρασης. Με τον τρόπο αυτό τα κορτικοστεροειδή διεγείρουν την παραγωγή αντιφλεγμονωδών ουσιών ΙκΒα, IL-10, κ.λ.π. [303-305].

Η ΙκΒα είναι μια πρωτεΐνη που παγιδεύει και απενεργοποιεί το μεταφραστικό παράγοντα NF- κΒ, ο οποίος μαζί με τον, επίσης, μεταφραστικό παράγοντα AP-1 συμμετέχουν στη σύνθεση των προφλεγμονωδών κυτταροκινών.

Επίδραση κορτικοστεροειδών στην έμφυτη (μη ειδική) ανοσία

Η χορήγηση κορτικοστεροειδών έχει σημαντική επίδραση στις κυτταρικές λειτουργίες των φαγοκυττάρων και των ενδοθηλιακών κυττάρων. Η έκφραση προσκολλητικών μορίων στις επιφάνειες των ενδοθηλιακών κυττάρων και λευκοκυττάρων μειώνεται σημαντικά, με αποτέλεσμα την ελαττωμένη συγκέντρωση λευκοκυττάρων στην περιοχή της φλεγμονής [306].

Αν και η συγκέντρωση των ουδετερόφιλων στο σημείο της φλεγμονής είναι χαμηλή, μετά από χορήγηση κορτικοστεροειδών, ο απόλυτος αριθμός τους στην κυκλοφορία είναι αυξημένος εξαιτίας της αυξημένης απελευθέρωσης από το μυελό των οστών και αναστολής της απόπτωσης τους [307,308].Παρ' όλα αυτά, τα

γλυκοκορτικοειδή δεν επηρεάζουν σημαντικά την απάντηση των φαγοκυττάρων ή τη βακτηριοκτόνο δράση τους [307,309].

Η συγκέντρωση των μακροφάγων και των μονοκυττάρων στην περιοχή της φλεγμονής είναι επίσης μειωμένη [310, 311]. Η φαγοκυτταρική τους ικανότητα αλλά και η μικροβιοκτόνος δράση τους είναι ελλατωματική ενώ η παραγωγή εικοσανοειδών και φλεγμονωδών κυτταροκινών (IL-1, TNF) από αυτά είναι μειωμένη [307,312,313]. Η παρουσία αντιγόνων και η έκφραση τάξης II μορίων MHC από τα μακροφάγα υπολείπεται [314]. Τέλος, ο αριθμός των ηωσινόφιλων είναι σημαντικά μειωμένος. Αυτό αποδίδεται στο γεγονός ότι τα κορτικοστεροειδή προάγουν την απόπτωση τους είτε απ' ευθείας είτε μειώνοντας τη σύνθεση IL-5, η οποία επάγει την επιβίωσή τους.

<u>Επίδραση κορτικοστεροειδών στην προσαρμοστική (ειδική) ανοσία</u>

Ο αριθμός των κυκλοφορούντων δενδριτικών κυττάρων μειώνεται με τη χορήγηση κορτικοστεροειδών. Δεδομένου ότι τα δενδριτικά κύτταρα αποτελούν τα βασικά αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα, τα οποία διεγείρουν τα naïve T-λεμφοκύτταρα, φαίνεται ότι μέσω του μηχανισμού αυτού, η χορήγηση κορτικοστεροειδών εμποδίζει την εμφάνιση ειδικής ανοσολογικής απάντησης έναντι νεοεμφανιζόμενων αντιγόνων. Τα NK κύτταρα δεν υφίστανται απόπτωση με τη δράση κορτικοστεροειδών [306].

Η θεραπεία με στεροειδή προκαλεί ταχεία μείωση του αριθμού των κυκλοφορούντων T- λεμφοκυττάρων εξαιτίας συνδυασμού γεγονότων: αυξάνει τη μετανάστευση των κυκλοφορούντων T- λεμφοκυττάρων [307], αναστέλλει την απελευθέρωση IL-2 του βασικού αυξητικού παράγοντα των T- λεμφοκυττάρων [315,316], εμποδίζει την απελευθέρωση τους από τα περιφερικά λεμφικά όργανα και επάγει την απόπτωσή τους.

Η ευαισθησία των T- λεμφοκυττάρων, στην επαγόμενη από τα κορτικοστεροειδή απόπτωση, συσχετίζεται με τη απουσία έκφρασης του Bcl-2, μιας πρωτεΐνης που εκφράζεται στα πιο ώριμα, ανθεκτικά στα στεροειδή T-λεμφοκύτταρα. Τα ώριμα T- λεμφοκύτταρα που δεν αποπίπτουν θεωρούνται

ανθεκτικά στα κορτικοστεροειδή, αν και κάποια ενεργοποιημένα CD4+ TH1 λεμφοκύτταρα μπορούν να υποστούν απόπτωση επαγόμενη από τα στεροειδή [317,318]. Επίσης, φαίνεται ότι τα CD4+ T- λεμφοκύτταρα που είναι ευαίσθητα στην απόπτωση που μεσολαβείται από το σύστημα Fas/ FasL επιμηκύνουν την επιβίωσή τους λόγω της κατασταλτικής δράσης των κορτικοστεροειδών στην έκφραση του FasL [319].

Τα κορτικοστεροειδή αναστέλλουν την παραγωγή και απελευθέρωση κυτταροκινών από τα TH1 και από τα TH2 λεμφοκύτταρα. Παρ' όλα αυτά, φαίνεται ότι η αναστολή αφορά σε μεγαλύτερο βαθμό τα TH1 λεμφοκύτταρα [320]. Τα στεροειδή ελαττώνουν σημαντικά την παραγωγή IL-12 από τα περιφερικά μονοπύρηνα που οδηγεί σε ελαττωμένη παραγωγή TH1, ενώ η παραγωγή της IL-10, που ευνοεί την εμφάνιση TH 2 λεμφοκυττάρων, ελάχιστα επηρεάζεται [321].

Ο αριθμός των κυκλοφορούντων B- λεμφοκυττάρων επηρεάζεται σημαντικά λιγότερο σε σχέση με τα T- λεμφοκύτταρα μετά από χορήγηση κορτικοστεροειδών [322]. Η σύνθεση αντισωμάτων ελάχιστα επηρεάζεται από τη χορήγηση στεροειδών για μικρό χρονικό διάστημα [323]. Με την πάροδο του χρόνου, όμως, παρατηρείται προοδευτική πτώση του τίτλου διαφόρων αντισωμάτων που αποδίδεται είτε στην αναστολή των βοηθητικών T- λεμφοκυττάρων είτε στον αυξημένο καταβολισμό των αντισωμάτων. Έτσι, μετά από μακρά χορήγηση κορτικοστεροειδών, παρατηρείται ελάττωση των επιπέδων των IgG και IgA και συχνά αύξηση της IgE [324,325]. Η αύξηση της IgE αποδίδεται στη θετική επίδραση της IL-4, η οποία επάγει την μετατροπή διαφόρων ισοτύπων ανοσοσφαιρινών σε IgE [326].

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΥΠΟΣΙΤΙΣΜΟΥ ΣΤΗΝ ΑΝΟΣΟΚΑΤΑΣΤΟΛΗ

Η πλειοψηφία των ασθενών με καρκίνο υποσιτίζονται. Η ίδια, η χημειοθεραπεία προκαλεί ανορεξία η οποία επιτείνεται από τη ναυτία και τους εμέτους που συχνά παρουσιάζουν οι ασθενείς αυτοί. Επίσης, η δυσφαγία και η δυσκαταποσία που εμφανίζουν αρκετές φορές σαν αποτέλεσμα της χημειοθεραπείας ή της ακτινοθεραπείας στην οποία υποβάλλονται επιδεινώνει την ανορεξία τους.

Η πλημμελής πρόσληψη τροφής καταστέλλει το ανοσοποιητικό σύστημα και επηρεάζει και την εγγενή (μη ειδική) και την προσαρμοστική (ειδική) ανοσία [327-329]. Ο υποσιτισμός οδηγεί σε δυσλειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος λόγω ανεπαρκούς πρόληψης μακροστοιχείων των τροφών (λευκώματα, λίπη κ.λ.π) που εξασφαλίζουν την απαιτούμενη ενέργεια στον οργανισμό, ιχνοστοιχείων και βιταμινών που συνεισφέρουν στην άρτια λειτουργία του [329].

Συγκεκριμένα, οι βιταμίνες A, C, E και ο ψευδάργυρος ενισχύουν το δέρμα και το επιθήλιο των βλεννογόνων που αποτελούν την πρώτη γραμμή άμυνας του οργανισμού. Ο ψευδάργυρος φαίνεται πως εμπλέκεται στη διατήρηση της λειτουργικότητας των NK κυττάρων [295]. Οι βιταμίνες C, E, το σελήνιο, ο χαλκός και ο ψευδάργυρος αντιμετωπίζουν ιστικές καταστροφές που προκαλούνται από το reactive oxygen (όπως ήδη έχει αναφερθεί), ενώ φαίνεται πως ρυθμίζουν τη λειτουργία των κυττάρων που μετέχουν στην ανοσολογική απάντηση [328]. Η επαρκής πρόληψη των βιταμινών B_6, φυλικού οξέος, B_{12}, C, E, του σεληνίου, του ψευδαργύρου, του χαλκού και του σιδήρου υποστηρίζει την ανοσολογική απάντηση των TH1 λεμφοκυττάρων συμμετέχοντας στην παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών και μέσω αυτών αναστέλλοντας την ενεργοποίηση των αντιφλεγμονωδών TH2 λεμφοκυττάρων [328].

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΣΤΗΝ ΑΝΟΣΟΚΑΤΑΣΤΟΛΗ

Η ακτινοβολία αποτελεί ένα συχνό τρόπο αντιμετώπισης των νεοπλασιών, ενώ σε κάποια νεοπλάσματα (π.χ ενδομήτριου και τραχήλου μήτρας, κεφαλής και τραχήλου κ.α) αποτελεί το βασικό μέσο αντιμετώπισης τους. Οι επιπτώσεις της ακτινοθεραπείας στο ανοσολογικό σύστημα του ανθρώπου είναι πολλές και ενίοτε επικίνδυνες για την ίδια τη ζωή του ασθενούς.

Η ακτινοβολία προκαλεί βλάβες στους βλεννογόνους διαφόρων ιστών καταστρέφοντας έτσι την πρώτη γραμμή άμυνας του οργανισμού (μη ειδική, έμφυτη ανοσία).

Σε διάφορες μελέτες έχει αποδειχθεί ότι η ακτινοβολία προκαλεί σημαντική πτώση του απόλυτου αριθμού των λεμφοκυττάρων και των NK κυττάρων [330-

334]. Σε γυναίκες ασθενείς που έλαβαν ακτινοβολία μόνο για γυναικολογικό νεόπλασμα το 75% από αυτές παρουσίασε σημαντική πτώση των λεμφοκυττάρων κάτω από τα 500/mm^3 [330]. Τα Β- λεμφοκύτταρα είναι τα πλέον ακτινοευαίσθητα με απότομη μείωση του αριθμού τους από την έναρξη της αντινοβολίας ενώ τα πλέον ακτινοανθεκτικά φαίνεται πως είναι τα NK κύτταρα, τα οποία παρουσιάζουν μια προοδευτική πτώση κατά τη διάρκεια της ακτινοβολίας [331].

Σε μερικές περιπτώσεις γίνεται ταυτόχρονη χορήγηση ακτινοθεραπείας και μικρών δόσεων χημειοθεραπείας προκειμένου να αυξηθεί η ευαισθησία του όγκου στην ακτινοβολία. Στους ασθενείς αυτούς, σε μια μελέτη διαπιστώθηκε ότι η προσθήκη του χημειοθεραπευτικού παράγοντα δεν επιδεινώνει το βάθος της λεμφοπενίας που ούτως ή άλλως προκαλείται από την ακτινοβολία [332]. Στην ίδια μελέτη διαπιστώθηκε ότι η χορήγηση ακτινοβολίας με ή χωρίς χημειοθεραπεία προκαλεί αύξηση των ρυθμιστικών CD4+ CD25+ λεμφοκυττάρων.

Σε ότι αφορά στην ¨ανάρρωση¨ των λεμφοκυττάρων μετά την ολοκλήρωση της ακτινοβολίας φαίνεται ότι τα Β- λεμφοκύτταρα είναι τα πρώτα που αποκαθίστανται, ενώ τα NK κύτταρα αυτά που καθυστερούν περισσότερο από όλα [333]. Παρόλα αυτά είναι σαφές ότι η χορήγηση ακτινοβολίας με ή χωρίς χημειοθεραπεία προκαλεί σημαντική και παρατεταμένη λεμφοπενία που αφορά σε όλους τους υποπληθυσμούς των λεμφοκυττάρων [332, 333].

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΚΑΤΑΘΛΙΨΗΣ ΣΤΗΝ ΑΝΟΣΟΚΑΤΑΣΤΟΛΗ

Η ανακοίνωση στους ασθενείς της βαρύτητας της νόσου τους, η ανάγκη συνεχούς εισαγωγής στο νοσοκομείο για θεραπεία ή υποστήριξη, τους καθιστά, σε άλλοτε άλλο βαθμό, καταθλιπτικούς. Στη μείζονα κατάθλιψη παρατηρείται αύξηση της απελευθέρωσης προφλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως IL-1, IL-6, TNF-α, οι οποίες προάγουν την απελευθέρωση CRH (corticotropin- releasing hormone) από τον υποθάλαμο, η οποία με τη σειρά της προάγει την απελευθέρωση ACTH από την υπόφυση η οποία, τελικά, διεγείρει την παραγωγή κορτιζόνης από τα επινεφρίδια [336]. Πιθανά, η χρόνια δράση της κορτιζόνης να οδηγεί στην ανοσοκαταστολή που εμφανίζουν οι καταθλιπτικοί ασθενείς και η οποία έρχεται να προστεθεί στην ήδη

υπάρχουσα, λόγω της νεοπλασίας, ανεπάρκεια του ανοσοποιητικού συστήματος. Στους καταθλιπτικούς ασθενείς έχουν βρεθεί μειωμένα επίπεδα IL-12, TNF-a και IFN- γ, ενώ αντίθετα, τα επίπεδα IL-10, IL-4 και TGF-β, είναι υψηλά [335,337].

Επίσης, σε ασθενείς με κατάθλιψη έχει διαπιστωθεί λευκοκυττάρωση με μειωμένη, όμως, φαγοκυτταρική ικανότητα των ουδετερόφιλων [335] ενώ, έχει παρατηρηθεί και μειωμένη κυτταροτοξική δραστηριότητα των Τ- λεμφοκυττάρων και των ΝΚ κυττάρων [335].

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΣΤΟΧΟΙ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Από τα προαναφερόμενα καθίσταται σαφές ότι υπάρχει μια πληθώρα αιτιών που μπορούν να ευθύνονται για την έκπτωση της ανοσολογικής επάρκειας σε ασθενείς με καρκίνο. Η μελέτη των παραμέτρων αυτών είναι περιορισμένη και η βαρύτητα του ρόλου τους κάθε φορά είναι υπό διερεύνηση.

Τα τελευταία χρόνια μια σειρά από νέα αντινεοπλασματικά χημειοθεραπευτικά φάρμακα έχουν αναπτυχθεί και έχουν βρει ευρεία χρήση στην αντιμετώπιση των νεοπλασματικών παθήσεων. Από τα φάρμακα αυτά, τα πλέον ίσως σημαντικά είναι οι ταξάνες με κύριους αντιπροσώπους την Πακλιταξέλη και τη Δοσεταξέλη, που ασκούν τη δράση τους στα κύτταρα μέσω της διάσπασης του δικτύου των μικροσωληνίσκων, το οποίο είναι απαραίτητο για τη μιτωτική κυτταρική διαίρεση στη μεσόφαση. Συγκεκριμένα, οι ταξάνες συνδέονται με τους ελεύθερους σωληνίσκους και προάγουν τη συνάθροισή τους σε σταθερούς μικροσωληνίσκους, ενώ ταυτόχρονα αναστέλλουν την αποδόμησή τους. Αυτό οδηγεί στη σταθεροποίηση και στη δημιουργία σωρών μικροσωληνίσκων που στερούνται της φυσιολογικής τους λειτουργίας, με τελικό αποτέλεσμα την αναστολή της μίτωσης των κυττάρων. Στη συνέχεια, εντός 48-72 ωρών τα κύτταρα οδηγούνται σε προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο [338].

Τα φάρμακα αυτά συνήθως χρησιμοποιούνται σαν θεραπεία 1^{ης} γραμμής, χορηγούμενα πρώιμα μετά την αρχική διάγνωση της νόσου. Κατά συνέπεια, στη φάση αυτή της χορήγησής τους, το ανοσολογικό σύστημα δεν έχει υποστεί σημαντικές επιδράσεις τόσο από την έκταση της νόσου (φορτίο νόσου) όσο και από τις διάφορες θεραπευτικές πρακτικές. Στη φάση αυτή λοιπόν της νεοπλασματικής νόσου θα ήταν δυνατόν να εκτιμηθεί η επίδραση των ταξανών στο λεμφικό σύστημα και ειδικότερα στα Τ- λεμφοκύτταρα.

Ως εκ τούτου, οι κύριοι στόχοι της μελέτης ήταν:

- Να διερευνηθεί η δράση των ταξανών στους διάφορους λεμφοκυτταρικούς πληθυσμούς και ειδικότερα του Τ- λεμφοκυτταρικού συστήματος.

- Να μελετηθεί και να συγκριθεί η δράση των φαρμάκων αυτών με τη δράση άλλων αντινεοπλασματικών φαρμάκων στη λειτουργικότητα των Τ-λεμφοκυττάρων.
- Να εκτιμηθεί η επίπτωση μη ουδετεροπενικών λοιμώξεων σε ασθενείς που υποβάλλονται σε θεραπεία με ταξάνες και να συσχετισθεί η εμφάνισή τους με τις προκαλούμενες από τις ταξάνες διαταραχές του λεμφικού συστήματος.

Προκειμένου να απαντηθούν τα ερωτήματα αυτά, πραγματοποιήθηκαν δύο προοπτικές μελέτες.

- Στην πρώτη από αυτές μελετήθηκε η επίδραση της μονοθεραπείας με δοσεταξέλη στο ανοσολογικό σύστημα και ειδικότερα, οι ποσοτικές αλλαγές των διαφόρων υποπληθυσμών των λεμφοκυττάρων, στο περιφερικό αίμα.
- Στη δεύτερη, εκτιμήθηκε η χημειοθεραπεία με βάση τη δοσεταξέλη σε ασθενείς που έλαβαν το φάρμακο σε ένα συγκεκριμένο χρονικό διάστημα και παρουσίασαν μη ουδετεροπενικές λοιμώξεις.

ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Α) Ποσοτική ανάλυση λεμφοκυτταρικών πληθυσμών σε ασθενείς που λάμβαναν ως μονοθεραπεία δοσεταξέλη

Ασθενείς και Θεραπεία:

Εντάχθηκαν 46 ασθενείς, που δεν είχαν λάβει προηγουμένως χημειοθεραπεία με ιστολογικά ή κυτταρολογικά διαγνωσμένο καρκίνο.

Εξ αυτών:

Μη-μικροκυτταρικό Ca πνεύμονα (NSCLC)	n = 10
Ca μαστού	n = 10
Ca στομάχου	n = 7
Ca παγκρέατος και χοληφόρων	n = 11
Ca ενδομητρίου	n = 1
Ca προστάτου	n = 1
Ca ωοθηκών	n = 3
Κακοήθη γλοιώματα ΚΝΣ	n = 3

Θεραπευτικά σχήματα που εφαρμόσθηκαν:

Σε κύκλο 4 εβδομάδων

- 100mg/m^2 δοσεταξέλη / 3 εβδομάδες → έλαβαν 33 ασθενείς.
- 35mg/m^2 δοσεταξέλη / 3 συνεχόμενες εβδομάδες → έλαβαν 13 ασθενείς.
- Δεξαμεθαζόνη 8mg/per os 12h και 4h πριν τη χορήγηση δοσεταξέλης → έλαβαν 46 ασθενείς.
- Δεξαμεθαζόνη 4mg/per os x 2 x 3 ημέρες μετά τη χορήγηση δοσεταξέλης → έλαβαν 46 ασθενείς.

Από τους 33 ασθενείς του πρώτου θεραπευτικού σχήματος:

- 15 (45%) ολοκλήρωσαν δύο κύκλους
- 9 (27%) ολοκλήρωσαν τρεις ή τέσσερις κύκλους
- 9 (27%) ολοκλήρωσαν περισσότερους από πέντε κύκλους

Από τους 13 ασθενείς του δεύτερου θεραπευτικού σχήματος:

- 5 (38%) ολοκλήρωσαν τρεις κύκλους
- 3 (23%) ολοκλήρωσαν δύο κύκλους
- 5 (38%) ολοκλήρωσαν ένα κύκλο

Ως ομάδες ελέγχου χρησιμοποιήθηκαν 35 ασθενείς με νεοδιαγνωσθέν κολοορθικό Ca και 20 ασθενείς με νεοδιαγνωσθείσα μεταστατική εγκεφαλική νόσο.

Οι ασθενείς με κολοορθικό Ca έλαβαν για θεραπεία αυξανόμενες δόσεις ιρινοτεκάνης (200-350 mg/m^2) και 5-FU (300-650 mg/m^2) σε 24ώρη έγχυση για 4 συνεχόμενες ημέρες ανά 3 εβδομάδες ενώ η δεύτερη ομάδα έλαβε per os 8 mg δεξαμεθαζόνης τρεις φορές ημερησίως για 7 ημέρες, παράλληλα με τη χορήγηση μαννιτόλης και ολοκρανιακής ακτινοβολίας.

<u>Ανάλυση λεμφοκυτταρικού πληθυσμού</u>

Περιφερικό αίμα σε σωληνάρια που περιείχαν EDTA ελήφθησαν για γενική αίματος και ανοσοφαινοτυπική ανάλυση πριν και μετά τη χορήγηση χημειοθεραπείας ως εξής: α) στην ομάδα των ασθενών που αντιμετωπίζονταν με τη χορήγηση θεραπείας κάθε 21 ημέρες, η αιμοληψία γίνονταν τις ημέρες 0, 21, 42, 63. β) στην ομάδα των ασθενών που λάμβαναν θεραπεία σε εβδομαδιαία βάση, η λήψη γινόταν κάθε εβδομάδα προ της χορήγησης του φαρμάκου της θεραπείας, γ) στην ομάδα ασθενών με κολοορθικό καρκίνο, τις ημέρες 0 και 64, δ) στην ομάδα των ασθενών με εγκεφαλικές μεταστάσεις τις ημέρες 0 και 7, και τέλος ε) στους ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με δοσεταξέλη έγινε μια αιμοληψία 1-3 μήνες μετά τη διακοπή χορήγησής της.

Για τον ανοσοφαινοτυπικό καθορισμό χρησιμοποιήθηκαν 100μL αίματος που περιείχε EDTA, το οποίο επωάσθηκε με τον απαραίτητο όγκο μονοκλωνικών αντισωμάτων για 15 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια προστέθηκαν 2ml υγρού που προκαλούσε λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων (immunoprep Kit; Coulter, Miami, FL). Τα δείγματα εκπλύθηκαν 2 φορές με PBS (phoshpate-buffered saline) που περιείχε azide (0,1% volume/ volume [V/V]) και

μονιμοποιήθηκαν σε PBS/ παραφορμαλδεϋδη (1% V/V). Η ανάλυση των κυττάρων γινόταν άμεσα.

Τα μονοκλωνικά αντισώματα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν: τα anti- CD3 (IOT3) anti- CD4 (IOT4), τα anti- CD8 (IOT8), τα anti- CD20 (IOT20) και τα anti- CD56 (IOT56). Όλα τα αντισώματα ήταν fluoroscein- isothiocyanate σημασμένα και προέρχονταν από την Immunotech (Lumigny, Marseilles, France). Τα δείγματα αναλύθηκαν με κυτταρομετρία ροής σε FACScan (Elite; Coulter), εφοδιασμένα με λογισμικό της Elite 4:1. Τα λεμφοκύτταρα ταυτοποιήθηκαν με forward- και site-scatter ανάλυση.

Στατιστική ανάλυση

Η σύγκριση των δειγμάτων της ομάδας των ασθενών και της ομάδας ελέγχου έγινε με t-Test, ενώ η σύγκριση των δειγμάτων προ και μετά θεραπεία για κάθε λεμφοκυτταρικό υποπληθυσμό έγινε με Student t-Test και με Fisher test.

Β) Μη ουδετεροπενικές λοιμώξεις σε ασθενείς που λάμβαναν θεραπεία με βάση τη δοσεταξέλη.

Ασθενείς:

Μελετήθηκαν

- 680 ασθενείς που έλαβαν χημειοθεραπεία 1^{ης} γραμμής με βάση τη δοσεταξέλη,
- 175 ασθενείς που έλαβαν χημειοθεραπεία με βάση την πακλιταξέλη
- 410 ασθενείς που έλαβαν χημειοθεραπεία χωρίς ταξάνη

και έγινε συσχέτιση με την εμφάνιση μη ουδετεροπενικών λοιμώξεων.

Με τον τρόπο αυτό οι μη ουδετεροπενικές λοιμώξεις κατατάχθηκαν σε 3 κατηγορίες: α) σε μη ουδετεροπενικές λοιμώξεις ασθενών που υποβάλλονταν σε χημειοθεραπεία με βάση τη δοσεταξέλη, β) σε μη ουδετεροπενικές λοιμώξεις ασθενών που υποβάλλονταν σε χημειοθεραπεία με βάση τη πακλιταξέλη και γ) σε

μη ουδετεροπενικές λοιμώξεις ασθενών που υποβάλλονταν σε χημειοθεραπεία με μη ταξανούχους συνδυασμούς.

Κάθε εμπύρετο επεισόδιο εκτιμήθηκε με φυσική εξέταση, καλλιέργειες βιολογικών υγρών (π.χ πύον, αίμα, ούρα, πτύελα και βρογχικό έκλπυμα), ακτινογραφίες θώρακος ή άλλες απεικονιστικές εξετάσεις, όπου κρίνονταν απαραίτητες. Αρκετοί ασθενείς υποβλήθηκαν σε βρογχοσκόπηση. Οι μη ουδετεροπενικές λοιμώξεις χαρακτηρίζονταν ως **κλινικά τεκμηριωμένες** όταν υπήρχαν ενδείξεις λοίμωξης (πυρετός, αύξηση των WBC κ.λ.π) αλλά δεν απομονωνόταν ο υπεύθυνος μικροοργανισμός και σε **μικροβιολογικά τεκμηριωμένες** όταν αναγνωριζόταν ο μικροοργανισμός.

Ο αιματολογικός έλεγχος, εκτός της καλλιέργειας αίματος, περιελάμβανε τη γενική αίματος, το βιοχημικό έλεγχο, τον υπολογισμό των CD4+, CD8+ Τ-λεμφοκυττάρων στο περιφερικό αίμα, καθώς επίσης τον προσδιορισμό ανοσοσφαιρινών.

Ο υπολογισμός τους γινόταν με έμμεσο **ανοσοφθορισμό** και **fluorescence-activated cell sorting analysis** (όπως προαναφέρθηκε).Τα επίπεδα των ανοσοσφαιρινών IgA, IgG και IgM υπολογίσθηκαν με νεφελομετρία σε όλους τους ασθενείς.

Ως λεμφοπενία ορίσθηκε η κατάσταση κατά την οποία ο απόλυτος αριθμός λεμφοκυττάρων ήταν μικρόμετος των 900/dL, CD4+ λεμφοπενία όταν ο αριθμός τους ήταν μικρότερος των 400/dL και CD8+ λεμφοπενία όταν ο αριθμός τους ήταν μικρότερος των 300/dL. Οι ανοσοσφαιρίνες θεωρούνταν χαμηλές εάν τα επίπεδα της IgA ήταν μικρότερα των 25mg/dL, της IgG μικρότερα των 700mg/dL και της IgM μικρότερα των 40mg/dL.

Στατιστική Ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση έγινε με τη χρήση του x^2 test.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Α. Ποσοτική ανάλυση λεμφοκυτταρικών πληθυσμών σε ασθενείς που λάμβαναν μονοθεραπεία με δοσεταξέλη

1. Ανοσοφαινοτυπική ανάλυση λεμφοκυττάρων περιφερικού αίματος κατά τη χορήγηση δοσεταξέλης ανά 3 εβδομάδες:

Στους 33 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε χημειοθεραπεία με δοσεταξέλη κάθε 3 εβδομάδες, ο απόλυτος αριθμός των ουδετερόφιλων προ της πρώτης και προ της δεύτερης χορήγησης δεν διέφερε σημαντικά. Ο απόλυτος αριθμός των λεμφοκυττάρων στο περιφερικό αίμα στις ίδιες χρονικές περιόδους ήταν μεν ελαττωμένος από 1200 ± 327 κύτταρα/dL σε 830 ± 75 κύτταρα/ dL, χωρίς όμως η μείωση αυτή να είναι στατιστικά σημαντική (p= 0.065). Θα πρέπει παρ' όλα αυτά τα τονιστεί ότι την 21 ημέρα, 7 ασθενείς (21%) παρουσίασαν σημαντική (<500κύτταρα/dL) λεμφοπενία.

Στην φαινοτυπική όμως ανάλυση των διαφόρων λεμφοκυτταρικών υποομάδων διαπιστώθηκε ότι ο απόλυτος αριθμός των Τ- λεμφοκυττάρων (CD3+, CD4+, CD8+), αλλά και των NK κυττάρων (CD56+) μειώθηκε σημαντικά μετά την πρώτη χορήγηση δοσεταξέλης. Αντίθετα, ο απόλυτος αριθμός των Β- λεμφοκυττάρων δεν ελαττώθηκε στατιστικά σημαντικά {βλ. πίνακα 6}.

Πίνακας 6.
Απόλυτος αριθμός λεμφοκυτταρικών υποπληθυσμών στο περιφερικό αίμα μετά την πρώτη χορήγηση δοσεταξέλης.

	Απόλυτος αριθμός / dL κυττάρων (μέσος αριθμός ±SD)		
Λεμφοκυτταρικός πληθυσμός	**Προ θεραπείας (d=0) (n=33)**	**Μετά την 1η χορήγηση (d=22) (n=33)**	***P* value**
CD3	1136±629	629±449	<0.005
CD4	629±320	345±250	<0.01
CD8	443±269	252±190	<0.01
CD20	150±134	94±119	NS
CD56	345±215	195±156	<0.01
CD45RO	316±221	181±186	<0.01

SD: σταθερά απόκλισης, NS: μη σημαντικό.
Ο Φαινότυπος των λεμφοκυτταρικών υποπληθυσμών του περιφερικού αίματος εκτιμήθηκε από το ολικό αίμα όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο «Ασθενείς & Μέθοδος».

Όταν εξετάσθηκαν τα δείγματα μετά και τη 2η χορήγηση δοσεταξέλης (ημέρα 42) διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική μείωση και των CD20+ λεμφοκυττάρων. Τα Τ- λεμφοκύτταρα (CD3+, CD4+, CD8+) παρουσίαζαν περαιτέρω μείωση, ενώ τα CD56+ (NK κύτταρα) δεν παρουσίαζαν νέα μείωση. Στον πίνακα 7 φαίνεται ότι η δεύτερη χορήγηση της δοσεταξέλης δεν επηρεάζει σημαντικά τους λεμφοκυτταρικούς υποπληθυσμούς.

Πίνακας 7.
Επίπτωση της CD4+ CD20+ και CD56+ λεμφοπενίας κατά τη διάρκεια της χορήγησης δοσεταξέλης ανά 3 εβδομάδες.

	Αριθμός ασθενών (%)		
Δόση	**Προ της χορήγησης (n = 33)**	**Μετά τη 1η χορήγηση (n = 33)**	**Μετά τη 2η χορήγηση (n = 30)**
ALN < 500/dL	0 (0)	7 (21)	5 (17)
$CD4^+$ < 400/dL	7 (21)	18 (55)	15 (50)
$CD20^+$ < 50/dL	3 (9)	15 (45)	10 (33)
$CD56^+$ < 100/dL	3 (9)	8 (24)	8 (27)

ALN: απόλυτος αριθμός λεμφοκυττάρων.
Ο φαινότυπος των λεμφοκυτταρικών υποπληθυσμών του περιφερικού αίματος καθορίσθηκε όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο «Ασθενείς & Μέθοδος».

Όπως ήδη έχει τονιστεί στο προηγούμενο κεφάλαιο (ασθενείς και μέθοδοι), οι ασθενείς που υποβάλλονταν σε θεραπεία με δοσεταξέλη λάμβαναν προετοιμασία με δεξαμεθαζόνη, την οποία συνέχιζαν για 3 ημέρες μετά τη χορήγηση, προκειμένου να αποφευχθούν αλλεργικές αντιδράσεις. Θα μπορούσε λοιπόν κάποιος να αποδώσει την παρατηρηθείσα λεμφοπενία στα κορτικοστεροειδή (δεξαμεθαζόνη) και όχι στη δοσεταξέλη. Για το λόγο αυτό, έγινε φαινοτυπική ανάλυση {βλ. πίνακα 8} των λεμφοκυττάρων του περιφερικού αίματος νεοδιαγνωσθέντων ασθενών με εγκεφαλικές μεταστάσεις, που δεν είχαν λάβει προηγουμένως χημειοθεραπεία και που αντιμετωπίσθηκαν για την εγκεφαλική τους νόσο με υψηλές δόσεις δεξαμεθαζόνης για 7 ημέρες. Από την φαινοτυπική ανάλυση προέκυψε στατιστικά σημαντική μείωση του απόλυτου αριθμού των CD56+ κυττάρων, αλλά όχι των υπολοίπων λεμφοκυτταρικών υποτύπων (CD3+, CD4+, CD8+, CD20+).

Πίνακας 8.
Φαινότυπος λεμφοκυττάρων στο περιφερικό αίμα ασθενών με μεταστατική νόσο στο ΚΝΣ υπό θεραπεία με υψηλές δόσεις κορτικοστεροειδών.

	Απόλυτος αριθμός /dL (μέσος αριθμός ± SD)		
Λεμφοκυτταρικός υποπληθυσμός	**Προ της χορήγησης κορτικοστεροειδών (n = 20)**	**Μετά τη χορήγηση κορτικοστεροειδών (n = 20)**	***P* value**
CD3	889 ± 479	680 ± 412	NS
CD4	488 ± 319	399 ± 283	NS
CD8	316 ± 184	235 ± 188	NS
CD20	161 ± 142	169 ± 157	NS
CD56	322 ± 170	203 ± 132	< 0.002

SD: σταθερά απόκλιση; NS: μη σημαντικό

Η χορήγηση τριών κύκλων χημειοθεραπείας που δεν περιείχε ταξάνη (5-FU, ιρινοτεκάνη), δεν επηρέασε σημαντικά τον απόλυτο αριθμό των διαφόρων λεμφοκυτταρικών υποπληθυσμών. Οι ασθενείς της ομάδας αυτής μετείχαν σε μια μελέτη φάσης Ι, όπου ο σκοπός της ήταν να καθορισθεί η μέγιστη ανεκτή δόση του συνδυασμού των δύο χημειοθεραπευτικών παραγόντων. Είναι αξιοσημείωτο, ότι στην φαινοτυπική ανάλυση του περιφερικού αίματος, ακόμη και στα επίπεδα όπου παρατηρήθηκε δοσοπεριοριστική τοξικότητα (DLT), δεν διαπιστώθηκε σημαντική ελάττωση του απόλυτου αριθμού κάποιου λεμφοκυτταρικού υποπληθυσμού {βλ. πίνακα 9}.

Πίνακας 9.
Φαινότυπος λεμφοκυττάρων περιφερικού αίματος ασθενών με προχωρημένο κολοορθικό καρκίνο που αντιμετωπιζόταν με CPT-11 & 5-FU.

	Επίπεδο μέγιστης ανεκτής δόσης [α] (n = 5)			**Επίπεδο δοσοπεριοριστικής τοξικότητας [β] (n = 3)**		
Λεμφοκυτταρικός υποπληθυσμός	**Προ θεραπείας (μέσος αριθμός ± SD)**	**Μετά 3 κύκλους (μέσος αριθμός ± SD)**	***P* value**	**Προ θεραπείας (μέσος αριθμός ± SD)**	**Μετά 3 κύκλους (μέσος αριθμός ± SD)**	***P* value**
$CD3^+$	921 ± 485[c]	847 ± 376	NS	1033 ± 638	1172 ± 281	NS
$CD4^+$	480 ± 224	484 ± 259	NS	538 ± 377	613 ± 289	NS
$CD8^+$	292 ± 186	251 ± 101	NS	349 ± 254	370 ± 184	NS
$CD20^+$	81 ± 43	76 ± 71	NS	99 ± 75	128 ± 42	NS
$CD56^+$	260 ± 153	242 ± 124	NS	347 ± 306	327 ± 128	NS

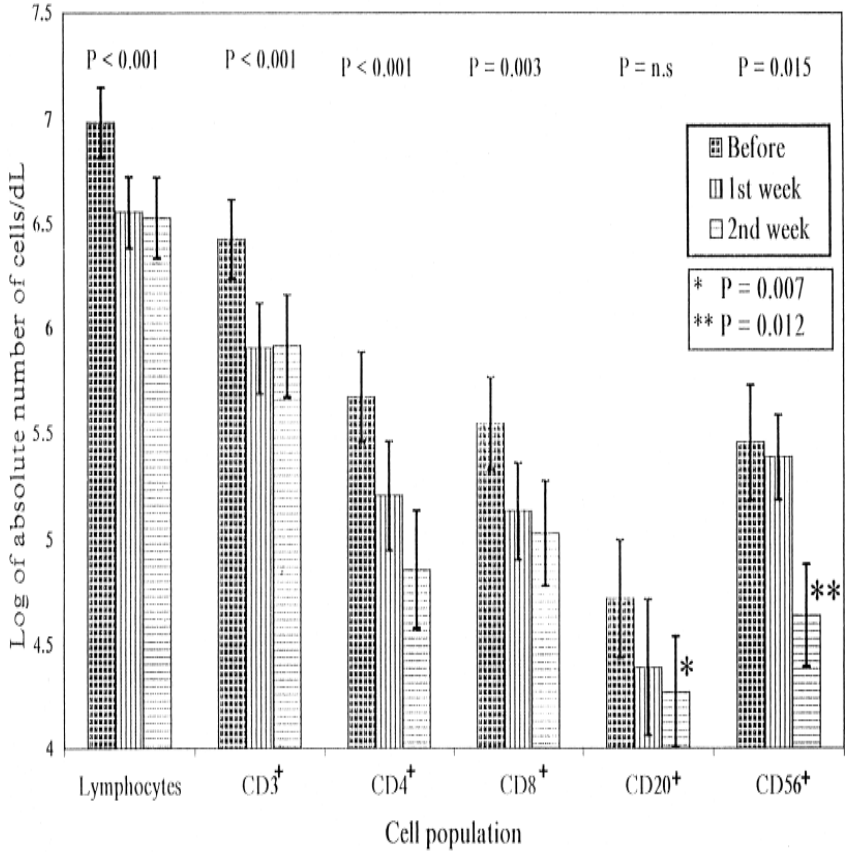
SD: σταθερά απόκλιση; NS: μη σημαντικό
[α] Καθορίσθηκε για τη 5-Fu στο 600mg/m^2 συνεχούς έγχυσης για 4 ημέρες και για το CPT-11 στο 350 mg/m^2 ενδοφλέβιας έγχυσης την ημέρα 1.
[β] Επιτεύχθηκε για το 5-Fu στα επίπεδα των 650 mg/m^2 συνεχούς έγχυσης για 4 ημέρες και για το CPT-11 στα 350 mg/m^2 ενδοφλέβιας έγχυσης την ημέρα 1.

2. Ποσοτικές ανωμαλίες λεμφοκυτταρικών υποπλυθησμών κατά τη διάρκεια της εβδομαδιαίας χορήγησης δοσεταξέλης.

Στο περιφερικό αίμα των 13 ασθενών που αντιμετωπίστηκαν με εβδομαδιαία χορήγηση δοσεταξέλης έγινε φαινοτυπική ανάλυση των λεμφοκυττάρων. Ο σκοπός που συμπεριλήφθηκε η ομάδα αυτή των ασθενών στη μελέτη ήταν προκειμένου να διευκρινισθεί εάν η παρατηρηθείσα λεμφοπενία, που περιγράφηκε προηγουμένως, ήταν δοσοεξαρτώμενη και επίσης, να καθορισθεί η ταχύτητα εμφάνισής της.

Στην εικόνα 3 γίνεται σαφές ότι, μετά την πρώτη χορήγηση δοσεταξέλης, ο απόλυτος αριθμός των Τ- λεμφοκυττάρων (CD3+, CD4+, CD8+), αλλά όχι των CD20+ και CD56+, μειώνεται σημαντικά. Επί πλέον φαίνεται ότι η μείωση του απόλυτου αριθμού των CD20+ και CD56+ κυττάρων γίνεται στατιστικά σημαντική μετά τη 2η χορήγηση, ενώ η 2η χορήγηση δεν φαίνεται να επηρεάζει περαιτέρω τα Τ- λεμφοκύτταρα.

Εικόνα 3



Η διακοπή της χορήγησης δοσεταξέλης οδηγεί σε στατιστικά σημαντική αύξηση του απόλυτου αριθμού των λεμφοκυττάρων όπως επίσης και των CD3+, CD4+ λεμφοκυτταρικών υποπληθυσμών {πίνακα 10}. Αντίθετα, ο απόλυτος αριθμός των CD8+, CD20+, CD56+ κυττάρων παρέμεινε χαμηλός τουλάχιστον για 1-3 μήνες μετά τη διακοπή της χορήγησης.

Πίνακας 10.
Μεταβολές των λεμφοκυτταρικών υποπληθυσμών του περιφερικού αίματος μετά τη διακοπή χορήγησης δοσεταξέλης

	Απόλυτος Αριθμός (κύτταρα/dL) (μέσος αριθμός ± SD)		
Λεμφοκύτταρα	**Κατά τη διάρκεια χορήγησης δοσεταξέλης (n = 14)**	**1-3 μήνες μετά τη διακοπή χορήγησης δοσεταξέλης (n = 20)**	***P* value**
Ολικά λεμφοκύτταρα	1004 ± 604	1550 ± 590	< 0.003
$CD3^+$	617 ± 346	1148 ± 288	< 0.001
$CD4^+$	271 ± 165	560 ± 231	< 0.001
$CD8^+$	371 ± 277	474 ± 146	< 0.194
$CD20^+$	97 ± 131	171 ± 175	< 0.146
$CD56^+$	289 ± 288	391 ± 206	< 0.123

SD: σταθερά απόκλιση
Ο φαινότυπος των λεμφοκυττάρων του περιφερικού αίματος καθορίσθηκε όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο «Ασθενείς & Μέθοδος».

Μετά από 201 συνολικά χορηγήσεις δοσεταξέλης, 8 ασθενείς (17%) παρουσίασαν μη ουδετεροπενικές λοιμώξεις, ενώ, ένας μόνο από αυτούς είχε παρουσιάσει σε διάστημα μικρότερο των 30 ημερών από την εμφάνιση της λοίμωξης, ουδετεροπενία grade 4 (χωρίς πυρετό). Στον πίνακα 11 φαίνεται το είδος της λοίμωξης και ο απόλυτος αριθμός των CD4+, CD20+, CD56+ κυττάρων στους 8 αυτούς ασθενείς. Επίσης, φαίνεται, ότι 3 ασθενείς παρουσίασαν ευκαιριακές λοιμώξεις (2 εξ' αυτών αναζωπύρωση έρπητα ζωστήρα και ένας γενικευμένη καντιντίαση), ενώ ο απόλυτος αριθμός των CD4+ ήταν ιδιαίτερα μειωμένος (<100 κύτταρα/dL) και στους 3 ασθενείς.

Πίνακας 11. Μη ουδετεροπενικές λοιμώξεις σε ασθενείς που αντιμετωπίσθηκαν με δοσεταξέλη.				
		Απόλυτος αριθμός κυττάρων/dL		
Αριθμός ασθενούς	**Είδος Λοίμωξης**	**CD4+**	**CD20+**	**CD56+**
7	Λοίμωξη κατώτερου αναπνευστικού πνευμονία	294	45	160
8	Λοίμωξη κατώτερου αναπνευστικού πνευμονία	542	41	153
10	Ουρολοίμωξη	61	16	51
18	Αναζωπύρωση λοίμωξης από τον έρπητα ζωστήρα.	90	32	84
24	Λοίμωξη κατώτερου αναπνευστικού πνευμονία	468	94	730
25	Γενικευμένη καντιντίαση	92	37	159
26	Gram (-) μικροβιαιμία	309	19	ND
32	Αναζωπύρωση λοίμωξης από τον έρπητα ζωστήρα.	86	27	73

ND: Δεν καθορίσθηκε

<u>Β) Μη ουδετεροπενικές λοιμώξεις σε ασθενείς που λάμβαναν θεραπεία με βάση τη δοσεταξέλη</u>

Τα χαρακτηριστικά των ασθενών που καταγράφηκαν φαίνονται στους πίνακες 12,13,14.

Στηριζόμενοι στις παρατηρήσεις που αναφέρθηκαν για την επίπτωση των μη- ουδετεροπενικών λοιμώξεων στους ασθενείς που υποβάλλονται σε θεραπεία με δοσεταξέλη, διεξήχθη, όπως προαναφέρθηκε, μια μελέτη των μη- ουδετεροπενικών λοιμώξεων σε ασθενείς που λάμβαναν χημειοθεραπεία 1ης γραμμής με βάση τη δοσεταξέλη. Επίσης έγινε σύγκριση της επίπτωσης μη ουδετεροπενικών λοιμώξεων με αυτές που παρατηρήθηκαν σε ασθενείς που υποβάλλονταν σε χημειοθεραπεία 1ης γραμμής με βάση την πακλιταξέλη ή με μη- ταξανούχους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες. Η εμφάνιση των μη ουδετεροπενικών λοιμώξεων συσχετίστηκε με το φαινοτυπικό profil των Τ- λεμφοκυττάρων.

Μεταξύ των 680 ασθενών που υποβλήθηκαν σε χημειοθεραπεία με βάση τη δοσεταξέλη και των 175 ασθενών που έλαβαν χημειοθεραπεία με βάση τη πακλιταξέλη διαπιστώθηκαν 53 (7,8%) και 6 (3,4%), αντίστοιχα, επεισόδια εμπύρετης μη ουδετεροπενικής λοίμωξης. Η επίπτωση της λοίμωξης ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερη στους ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με βάση τη δοσεταξέλη (P=0.042) που σημαίνει μια αύξηση κατά 2,38 φορές του σχετικού κινδύνου εμφάνισης μη ουδετεροπενικής λοίμωξης σε σχέση με τους ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με βάση την πακλιταξέλη. Από την άλλη πλευρά, 12 ασθενείς (3%), στο σύνολο των 410 που αντιμετωπίσθηκαν με μη ταξανούχους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες, εμφάνισαν μη- ουδετεροπενική λοίμωξη. Όταν

συγκρίθηκαν, η επίπτωση των μη- ουδετεροπενικών λοιμώξεων ήταν επίσης σημαντικά υψηλότερη στους ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με βάση τη δοσεταξέλη (p=0.001), που σημαίνει μια αύξηση κατά 2,8 φορές του σχετικού κινδύνου εμφάνισης μη- ουδετεροπενικής λοίμωξης σε σχέση με τους ασθενείς που έλαβαν ταξανούχους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες.

Πίνακας 12.
Χαρακτηριστικά 680 ασθενών που έλαβαν ΧΜΘ με βάση τη δοσεταξέλη και αριθμός εμπύρετων επεισοδίων

Πρωτοπαθής όγκος	**Αριθμός εμπύρετων επεισοδίων**
Μη μικροκυτταρικός καρκίνος πνεύμονα (n = 345)	
Docetaxel/vinorelbine/CDDP (55)	2
Docetaxel/CDDP (83)	5
Docetaxel/gemcitabine (90)	10
Docetaxel/vinorelbine (50)	5
Docetaxel/carboplatin (32)	3
Docetaxel + RTX (35)	2
Καρκίνος μαστού (n = 190)	
Docetaxel (16)	1
Docetaxel/doxorubicin (9)	1
Docetaxel/vinorelbine (5)	0
Docetaxel/mitoxantrone (48)	7
Docetaxel/epirubicin (35)	2
Docetaxel/gemcitabine (57)	9
Docetaxel/epirubicin/cyclophosphamide (20)	0
Καρκίνος στομάχου (n = 31)	
Docetaxel	3
Καρκίνος παγκρέατος (n = 39)	
Docetaxel (12)	0
Docetaxel/gemcitabine (27)	1
Καρκίνος ουροδόχου κύστεως (n = 26)	
Docetaxel (8)	0
Docetaxel/CDDP (10)	0
Docetaxel/gemcitabine (8)	0
Καρκίνος ωοθηκών (n = 4)	
Docetaxel	0
Καρκίνος τραχήλου μήτρας (n = 3)	
Docetaxel/CDDP	0
Σάρκωμα -(n = 3)	
Docetaxel/epirubicin	0
Χολαγγειοκαρκινώματα (n = 13)	
Docetaxel	0
Διάφορα (n = 26)[α]	
Docetaxel	0
Σύνολο (*n* = 680)	53

RTX: ακτινοθεραπεία
[α] *Συμπαγείς όγκοι που αντιμετωπίστηκαν με δοσεταξέλη (Μελέτη φάσης Ι)*

Πίνακας 13. Χαρακτηριστικά 175 ασθενών που έλαβαν ΧΜΘ με βάση την πακλιταξέλη / αριθμός εμπύρετων επεισοδίων	
Πρωτοπαθής όγκος	**Αριθμός εμπύρετων επεισοδίων**
Μη μικροκυτταρικός καρκίνος πνεύμονα (n = 29)	
Paclitaxel/gemcitabine	0
Μικροκυτταρικός καρκίνος πνεύμονα (n = 31)	
Paclitaxel/etoposide/CDDP (21)	0
Paclitaxel/carboplatin (7)	0
Paclitaxel (3)	0
Καρκίνος κεφαλής- τραχήλου (n = 13)	
Paclitaxel/vinorelbine	0
Καρκίνος τραχήλου μήτρας (n = 16)	
Paclitaxel/CDDP (4)	0
Paclitaxel/ifosfamide/CDDP (12)	0
Καρκίνος ουροδόχου κύστης (n = 5)	
Paclitaxel/carboplatin	0
Paclitaxel/carboplatin (18)	2
Σάρκωμα (n = 20)	
Paclitaxel/ifosfamide/etoposide/CDDP	1
Καρκίνος αγνώστου πρωτοπαθούς εστίας (n = 5)	
Paclitaxel/CDDP	0
Μελάνωμα (n = 5)	
Paclitaxel	0
Διάφορα (n = 23) [α]	
Paclitaxel/weekly	3
Σύνολο (*n* = 175)	6

[α] *Συμπαγείς όγκοι που αντιμετωπίστηκαν με πακλιταξέλη (Μελέτη φάσης Ι)*

Πίνακας 14. Χαρακτηριστικά 410 ασθενών που έλαβαν μη- Ταξανούχο ΧΜΘ	
Πρωτοπαθής όγκος	**Αριθμός εμπύρετων επεισοδίων**
Κολοορθικός καρκίνος (n = 149)	
Irinotecan/5-fluorouracil/leucovorin (102)	3
Oxaliplatin/5-fluorouracil/leucovorin (28)	0
5-fluorouracil/leucovorin (19)	0
Καρκίνος μαστού (n = 122)	
5-Fluorouracil/epirubicin/cyclophosphamide (32)	0
5-Fluorouracil/cyclophosphamide (8)	0
Vinorelbine/carboplatin (11)	1
Vinorelbine/carboplatin/Mitoxanthrone (57)	2
Vinorelbine/gemcitabine (14)	0
Μη μικροκυτταρικός καρκίνος πνεύμονα (n = 28)	
Irinotecan/CDDP (18)	1
Irinotecan/gemcitabine (10)	1
Ηπάτωμα (n = 4)	
THP-doxorubicin	0
Καρκίνος χοληφόρων (n = 9)	
THP-doxorubicin	0

Καρκίνος παγκρέατος (n = 9)	
Irinotecan/oxaliplatin	0
Καρκίνος ωοθηκών (n = 2)	
Carboplatin	1
Καρκίνος ουροδόχου κύστης (*n* = 6)	
Methotraxate/vinblastin/doxorubicin/carboplatin	1
Σάρκωμα (n = 38)	
Ifosfamide/doxorubicin/dacarbazine (36)	0
Ifosfamide/etoposide/CDDP (2)	1
Καρκίνος νεφρού (n = 26)	
5-Fluorouracil/IFN-α	1
Διάφορα (n = 17) [α]	
Gemcitabine/oxaliplatin	0
Σύνολο (*n* = 410)	12

[α] *Συμπαγείς όγκοι που αντιμετωπίστηκαν με μη- ταξανούχο ΧΜΘ (Μελέτη φάσης Ι)*

Στον πίνακα 15 φαίνεται ο αριθμός των ασθενών και ο τύπος της λοίμωξης που παρατηρήθηκε μεταξύ των ασθενών που έλαβαν θεραπεία με βάση τη δοσεταξέλη. Οι πιο συχνές μη- ουδετεροπενικές λοιμώξεις ήταν οι λοιμώξεις του κατώτερου αναπνευστικού. Η διάγνωση στους ασθενείς αυτούς γίνονταν με κλινικά και ακτινολογικά κριτήρια. Σε 5 ασθενείς διαπιστώθηκε λοίμωξη αναπνευστικού από Pneumocystis carinii επιβεβαιωμένη μικροβιολογικά σε βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα από βρογχοσκόπηση. Από τους ασθενείς αυτούς, οι τέσσερις αντιμετωπίστηκαν επιτυχώς με ισχυρές δόσεις τριμεθοπρίμης/ σουλφομεθοξαζόλης, ενώ ένας κατέληξε.

Σε 11 ασθενείς τεκμηριώθηκε, μικροβιολογικά, καντιντίαση του ρινοφάρυγγα και του οισοφάγου, που απαίτησε νοσηλεία τους. Όλοι οι ασθενείς αντιμετωπίσθηκαν επιτυχώς με χορήγηση υψηλών δόσεων φλουκοναζόλης.

Τέλος, σε ότι αφορά τις ιογενείς λοιμώξεις, σε 3 ασθενείς διαπιστώθηκε, μικροβιολογικά, λοίμωξη από CMV, ενώ 4 ασθενείς παρουσίασαν αναζωπύρωση λοίμωξης από τον ιό του έρπητα ζωστήρα. Οι υπόλοιπες μη ουδετεροπενικές λοιμώξεις ήταν σπάνιες, όπως φαίνεται και στον πίνακα 15.

Το σύνολο των 53 ασθενών που εμφάνισαν μη- ουδετεροπενικές λοιμώξεις οι οποίες συσχετίσθηκαν με τη χορήγηση δοσεταξέλης παρουσίαζε φυσιολογικό αριθμό ουδετερόφιλων και λεμφοκυττάρων προ της έναρξης της θεραπείας. Κανένας ασθενής δεν ήταν ουδετεροπενικός κατά τη στιγμή της εκδήλωσης της

λοίμωξης, ενώ 5 ασθενείς είχαν παρουσιάσει grade 3 ή 4 ουδετεροπενία χωρίς πυρετό στο διάστημα των 30 ημερών που προηγήθηκαν της λοίμωξης.

Πίνακας 15.
Λοιμώξεις που παρατηρήθηκαν στην ομάδα των 680 ασθενών που έλαβαν ΧΜΘ με βάση τη δοσεταξέλη

Είδος λοίμωξης	**Αριθμός ασθενών (%)**
Πνευμονία	25 (3.7)
Καντιντίαση	11 (1.5)
Πνευμονία από Pneumocystis carinii	5 (0.7)
Έρπης ζωστήρας	4 (0.6)
Οισοφαγίτιδα από CMV	3 (0.3)
Βακτηριαιμία	2 (0.3)
Πνευμονικό απόστημα	1 (0.2)
Περιπρωκτικό απόστημα	1 (0.2)
Ουρολοίμωξη	1 (0.2)
Σύνολο ασθενών	53 (7.8)

Οι τριάντα από τους 53 ασθενείς (57%) που εμφάνισαν μη – ουδετεροπενική λοίμωξη παρουσίαζαν χαμηλό απόλυτο αριθμό λεμφοκυττάρων (<900 κύτταρα/ dL) τη στιγμή της εκδήλωσης της λοίμωξης. Επίσης, το 90% των ασθενών που παρουσίασαν ευκαιριακές λοιμώξεις και το 94% εκείνων που παρουσίασαν μη ευκαιριακές εμφάνιζαν σημαντικά ελαττωμένο απόλυτο αριθμό CD4+ λεμφοκυττάρων {πίνακα 16}.

Πίνακας 16.
Σοβαρή λεμφοπενία και χαμηλός αριθμός CD4+ σε ασθενείς που έλαβαν ΧΜΘ με βάση τη δοσεταξέλη, οι οποίοι εμφάνισαν ευκαιριακές και μη- ευκαιριακές λοιμώξεις.

		Αριθμός ασθενών (%)		**Μέσος όρος ± σταθερά απόκλιση (κύτταρα/dL)**	
Είδος λοίμωξης	**Αριθμός ασθενών**	**ALN < 900/dL (%)**	**$CD4^+$ < 400/dL (%)**	**ALN**	**$CD4^+$**
Ευκαιριακές	20 (38%)	13 (65)	18 (90)	733 ± 367	193 ± 121
Μη ευκαιριακές	33 (62%)	17 (52)	31 (94)	886 ± 477	193 ± 151

ALN: απόλυτος αριθμός λεμφοκυττάρων

Από τους 175 ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με βάση την πακλιταξέλη, 3 ασθενείς παρουσίασαν σημαντικά ελαττωμένο αριθμό λεμφοκυττάρων (<900 κύτταρα/ mL) και CD4+ λεμφοκυττάρων (<400/mL). Όλοι οι ασθενείς αυτοί εκδήλωσαν ευκαιριακή λοίμωξη (έρπητας ζωστήρας, γενικευμένη ερπητική λοίμωξη και οισοφαγική καντιντίαση).

Από τους 410 ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με μη- ταξανούχους παράγοντες, τρεις ασθενείς παρουσίασαν ελαττωμένες τιμές του απόλυτου αριθμού των λεμφοκυττάρων και των CD4+ λεμφοκυττάρων. Οι 2 από τους ασθενείς αυτούς παρουσίασαν ευκαιριακή λοίμωξη (PCP, έρπητας).

Από την φαινοτυπική ανάλυση των λεμφοκυττάρων του περιφερικού αίματος, διαπιστώθηκε ότι τα CD4+ και τα CD8+ Τ- λεμφοκύτταρα ήταν σημαντικά ελαττωμένα στους ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με δοσεταξέλη σε σχέση με αυτούς που έλαβαν θεραπεία με μη ταξανούχους συνδυασμούς ($p= 0.06$ και $p= 0.03$, αντίστοιχα).

Στην πολυπαραγοντική ανάλυση, το είδος της θεραπείας αποτελούσε προβλεπτικό παράγοντα για την εμφάνιση μη- ουδετροπενικής λοίμωξης. Η επίπτωση των μη- ουδετεροπενικών λοιμώξεων ήταν 2,4 φορές υψηλότερη στους ασθενείς που χορηγήθηκε θεραπεία με βάση τη δοσεταξέλη σε σχέση με αυτούς των οποίων η θεραπεία δεν περιελάμβανε δοσεταξέλη ($p= 0.01$). Επίσης, ασθενείς που αντιμετωπίζονταν με θεραπεία βασισμένη στη δοσεταξέλη και είχαν απόλυτο αριθμό CD4+ λεμφοκυττάρων μικρότερο των 200 κυττάρων/dL, είχαν σημαντικά μεγαλύτερη πιθανότητα εμφάνισης ευκαιριακών λοιμώξεων από ότι λοιμώξεις από κοινά μικρόβια ($p= 0.002$).

ΣΥΖΗΤΗΣΗ- ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από όσο είμαστε σε θέση να γνωρίζουμε η μελέτη αυτή είναι η πρώτη που συσχετίζει τη χορήγηση δοσεταξέλης, ως μονοθεραπεία ή και σε συνδυασμό με άλλους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες, με την εμφάνιση σοβαρής λεμφοπενίας και την εκδήλωση μη- ουδετεροπενικών λοιμώξεων.

Στη μελέτη αυτή διαπιστώθηκε ότι μια μόνο χορήγηση δοσεταξέλης αρκεί να προκαλέσει σοβαρή λεμφοπενία που αφορά στα Τ- λεμφοκύτταρα (CD3+, CD4+, CD8+), στα NK κύτταρα (CD56+), αλλά όχι στα Β- λεμφοκύτταρα (CD20+). Η εμφάνιση της λεμφοπενίας αποτελεί ένα **πρώιμο φαινόμενο**, λαμβάνοντας υπόψιν ότι εμφανίσθηκε 7 ημέρες μετά τη πρώτη χορήγηση χαμηλής δόσης δοσεταξέλης. Η λεμφοπενία αυτή μάλιστα δεν φαίνεται να είναι **δοσοεξαρτώμενη**, δεδομένου ότι αναγνωρίσθηκε την $7^{η}$ ημέρα από την πρώτη χορήγηση χαμηλής δόσης δοσεταξέλης ($35mg/m^2$). Γίνεται έτσι αντιληπτό ότι μικρές δόσεις δοσεταξέλης αρκούν να προκαλέσουν σημαντική λεμφοπενία.

Στις παραπάνω παρατηρήσεις, είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι μετά τη δεύτερη χορήγηση δοσεταξέλης διαπιστώθηκε σημαντική μείωση και των Β-λεμφοκυττάρων. Θα μπορούσε κάποιος να συμπεράνει εξ' αυτών ότι **η δοσεταξέλη προκαλεί γενικευμένη λεμφοπενία**, σε μικρό χρονικό διάστημα από την έναρξη χορήγησής της και ότι η δράση αυτή μπορεί να προκληθεί με σχετικά χαμηλές δόσεις. Πράγματι, όπως εφάνη στον πίνακα 7 , μετά την ολοκλήρωση του $2^{ου}$ κύκλου χημειοθεραπείας, το 50% των ασθενών παρουσίαζε CD4+ (<400 κύτταρα/dL), το 33% CD20+ (<50 κύτταρα/dL) και το 27% CD56+ λεμφοπενία (<100 κύτταρα/ dL).

Στην παρούσα μελέτη διαπιστώθηκε, επίσης, ότι η παρατηρούμενη λεμφοπενία, δεν οφείλεται στα συγχορηγούμενα κορτικοστεροειδή (δεξαμεθαζόνη), που απαιτούνται για την αποφυγή εμφάνισης αλλεργικών αντιδράσεων κατά τη χορήγηση δοσεταξέλης. Οι 20 νεοδιαγνωσθέντες ασθενείς με μεταστατική εγκεφαλική νόσο, οι οποίοι αντιμετωπίσθηκαν με τη χορήγηση υψηλότερων δόσεων κορτικοστεροειδών δεν παρουσίασαν σημαντική ελάττωση των CD3+, CD4+, CD8+ και CD20+ λεμφοκυττάρων. Παρουσίασαν μόνο στατιστικά σημαντική

ελάττωση των NK κυττάρων (CD56+) {βλ. πίνακα 8}. Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται σε αντίθεση με όσα είναι γνωστά για την επίδραση των κορτικοστεροειδών στο ανοσολογικό σύστημα και αναφέρονται στο γενικό μέρος. Μια πιθανή εξήγηση είναι ότι οι ασθενείς μας έλαβαν όντως μεγάλες δόσεις κορτικοστεροειδών, αλλά για μικρό σχετικά χρονικό διάστημα. Η πλειοψηφία των μελετών, που αναφέρονται στην «κατασταλτική» δράση των κορτικοστεροειδών επί του ανοσολογικού συστήματος, αφορούν στην μακρόχρονη χορήγηση κορτικοστεροειδών.

Από την άλλη μεριά, στη μελέτη αυτή ήταν σημαντικό να διαπιστωθεί εάν παρόμοια με τη παρατηρούμενη λεμφοπενία στους ασθενείς που αντιμετωπίζονται με δοσεταξέλη μπορούσε να προκληθεί και σε ασθενείς που υποβάλλονταν σε θεραπεία με μη ταξανούχους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες. Έτσι, χρησιμοποιήθηκαν ως ομάδα ελέγχου, ασθενείς με νεοδιαγνωσθέντα μεταστατικό κολοορθικό καρκίνο που είχαν ενταχθεί σε μια μελέτη φάσης Ι του συνδυασμού ιρινοτεκάνης (αναστολέας τοποϊσομεράσης Ι) και 5-FU (αντιμεταβολίτης, πυριμιδινικό ανάλογο) που διεξάγονταν την εποχή εκείνη στην κλινική μας. Ένας επιπλέον λόγος να συμπεριληφθούν οι ασθενείς αυτοί, οι οποίοι στα πρώτα επίπεδα της φάσης Ι λάμβαναν χαμηλές δόσεις των χημειοθεραπευτικών παραγόντων, ήταν για να διαπιστωθεί, εάν οι χαμηλές δόσεις Ιρινοτεκάνης και 5-FU θα μπορούσαν να προκαλέσουν την εμφάνιση σημαντικής λεμφοπενίας, όπως στη περίπτωση χορήγησης χαμηλών εβδομαδιαίων δόσεων δοσεταξέλης. Μετά από τρεις χορηγήσεις ιρινοτεκάνης και 5-FU, σε όλα τα επίπεδα δόσεων, δεν διαπιστώθηκε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά στους διαφόρους λεμφοκυτταρικούς υποπληθυσμούς {βλ. πίνακα 9}. Τα αποτελέσματα αυτά καταδεικνύουν ότι η λεμφοπενία που παρατηρείται στους ασθενείς που θεραπεύονται με δοσεταξέλη, αποτελεί ένα φαινόμενο που σχετίζεται ειδικά με τον παράγοντα αυτό.

Η συγχορήγηση χημειοθεραπείας με ακτινοβολία αποτελεί τη θεραπεία εκλογής σε ασθενείς με μη- μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα, ανεγχείρητου σταδίου ΙΙΙΑ και ΙΙΙΒ. Οι ταξάνες και οι πλατινούχοι παράγοντες είναι μεταξύ των κυρίων φαρμάκων που χρησιμοποιούνται στις περιπτώσεις αυτές.

Σε 2 μελέτες ταυτόχρονης χημειοθεραπείας με χαμηλές εβδομαδιαίες δόσεις πακλιταξέλης (50-85mg/m^2) [339] και 54Gy ακτινοβολίας, στη μια μελέτη και

δοσεταξέλης (20- 40mg/m^2) [340] σε συνδυασμό με 64Gy ακτινοβολίας αναφέρθηκε σημαντική και παρατεταμένη (πέρα των 3 μηνών) λεμφοπενία. Από την άλλη μεριά, όπως προαναφέρθηκε, οι χαμηλές δόσεις δοσεταξέλης (ως μονοθεραπεία), από την πρώτη κιόλας χορήγηση, προκαλούν σοβαρή λεμφοπενία. Θα μπορούσε λοιπόν κάποιος να υποθέσει ότι η παρατηρηθείσα λεμφοπενία στις μελέτες που προαναφέρθηκαν αποδίδεται αποκλειστικά στη χορήγηση ταξανών. Στη παρούσα μελέτη, όμως, η λεμφοπενία ήταν μερικά αναστρέψιμη σε μικρό σχετικά χρονικό διάστημα. Πράγματι όπως φαίνεται στον πίνακα 10, ο απόλυτος αριθμός λεμφοκυττάρων, τα CD3+ και τα CD4+ λεμφοκύτταρα έχουν επανέλθει σε διάστημα 1-3 μηνών από τη διακοπή της δοσεταξέλης, σε αντίθεση με τα CD8+, CD20+ και CD56+ που στο διάστημα αυτό εξακολουθούν να παραμένουν σε χαμηλά επίπεδα. Γίνεται αντιληπτό, ότι αφενός μεν η προκαλούμενη από τη δοσεταξέλη λεμφοπενία είναι μερικά τουλάχιστον αναστρέψιμη σε σχετικά μικρό χρονικό διάστημα, αφετέρου δε ότι η παρατηρηθείσα λεμφοπενία κατά τη συνδυασμένη χημειοθεραπεία με ταξάνη και ακτινοθεραπεία, εν μέρει μόνο, μπορεί να αποδοθεί στη χημειοθεραπεία.

Στην παρούσα μελέτη διαπιστώθηκε ότι η χορήγηση δοσεταξέλης προκαλεί μείωση των Β- και Τ- λεμφοκυττάρων και των NK κυττάρων. Παρόμοια μείωση των Τ- και Β- λεμφοκυττάρων, έχει περιγραφεί και σε άλλες μελέτες [341-344], χωρίς όμως, να παρατηρείται μείωση και των NK κυττάρων. Στην πλειοψηφία των μελετών, η ελάττωση των CD4+ λεμφοκυττάρων αναφέρεται ως η πλέον σημαντική διαταραχή των λεμφοκυτταρικών υποπληθυσμών η οποία προδιαθέτει για την εμφάνιση μη ουδετεροπενικών λοιμώξεων [343,345,346]. Σε ότι αφορά στην ανάκαμψη των CD4+ λεμφοκυττάρων υπάρχει διχογνωμία στη βιβλιογραφία. Στη παρούσα μελέτη, όπως και σε άλλες [341,342], αναφέρεται ότι με τη διακοπή της χημειοθεραπείας τα CD4+ ανακάμπτουν άμεσα, ενώ σε άλλες μελέτες αναφέρεται ότι η ανάκαμψη των CD4+ καθυστερεί πέρα των 3 μηνών, σε αντίθεση με τα CD8+ λεμφοκύτταρα [343,344, 346-351].

Στη μελέτη της επίδρασης της δοσεταξέλης στους λεμφοκυτταρικούς πληθυσμούς, (πιν. 11), 8 ασθενείς (17%) εμφάνισαν μη ουδετεροπενικές λοιμώξεις (τρεις εξ' αυτών ήταν ευκαιριακές) κατά τη διάρκεια 201 χορηγήσεων δοσεταξέλης.

Η πλειοψηφία των ασθενών αυτών παρουσίασε εξαιρετικά χαμηλό απόλυτο αριθμό CD4+ λεμφοκυττάρων (<400 κύτταρα/dL) και CD20+ λεμφοκυττάρων (<50 κύτταρα/ dL). Η παρατήρηση αυτή είναι σύμφωνη με ανάλογες αναφορές σε άλλες μελέτες όπου χορηγήθηκε χημειοθεραπεία με βάση τη δοσεταξέλη [339,340,352-356] και πρακτικά καταδεικνύει την βλαπτική επίδραση της δοσεταξέλης στους λεμφοκυτταρικούς υποπληθυσμούς, προδιαθέτοντας για την εμφάνιση σοβαρών λοιμώξεων.

Η παρατήρηση αυτή επιβεβαιώθηκε στη δεύτερη μελέτη κατά την οποία εκτιμήθηκε η επίπτωση των μη- ουδετεροπενικών λοιμώξεων σε ασθενείς που λάμβαναν θεραπεία με βάση τη δοσεταξέλη. Επίσης, για πρώτη φορά, απ' όσο γνωρίζουμε, έγινε απ' ευθείας σύγκριση χημειοθεραπευτικών σχημάτων που περιέχουν δοσεταξέλη με ανάλογα σχήματα που περιέχουν πακλιταξέλη και με σχήματα που δεν περιέχουν ταξανούχο παράγοντα. Πράγματι, το 7,8% των ασθενών που αντιμετωπίσθηκαν με σχήματα που περιείχαν δοσεταξέλη, έναντι 3,4% των ασθενών που αντιμετωπίσθηκαν με σχήματα που περιείχαν πακλιταξέλη εμφάνισαν μη- ουδετεροπενικές λοιμώξεις. Τα ποσοστά αυτά είναι στατιστικά σημαντικά (p=0.042) και εκφράζουν μια τάση αύξησης κατά 2,38 φορές του κινδύνου εμφάνισης μη- ουδετεροπενικής λοίμωξης έναντι των ασθενών που έλαβαν πακλιταξέλη και κατά 2,8 φορές έναντι των ασθενών που αντιμετωπίσθηκαν με μη ταξανούχους παράγοντες. Το 38% σχεδόν των μη- ουδετεροπενικών λοιμώξεων, στους ασθενείς που αντιμετωπίσθηκαν με σχήματα βασισμένα στη δοσεταξέλη, ήταν ευκαιριακές, ενώ στη μελέτη αυτή επιβεβαιώθηκε ότι η εμφάνιση μη-ουδετεροπενικής λοίμωξης είναι στενά συνδεδεμένη με τον χαμηλό απόλυτο αριθμό λεμφοκυττάρων (<900 κύτταρα/ dL) και την CD4+ λεμφοπενία (<400 κύτταρα/ dL), (πιν. 16). Στην πολυπαραγοντική ανάλυση που έγινε, το είδος του χημειοθεραπευτικού παράγοντα αποτελεί ανεξάρτητο προβλεπτικό παράγοντα για την εμφάνιση μη ουδετεροπενικής λοίμωξης.

Στη βιβλιογραφία, η πλειοψηφία των λοιμώξεων σε ασθενείς που αντιμετωπίζονται με χημειοθεραπεία βασισμένη στη δοσεταξέλη, εμφανίζονται κατά τη διάρκεια της ουδετεροπενίας [360-372].

Στην παρούσα μελέτη κανένας από τους 53 ασθενείς που εμφάνισαν λοίμωξη δεν παρουσίαζε ουδετεροπενία, ενώ μόνο 5 από αυτούς είχαν εμφανίσει ουδετεροπενία τις 30 τελευταίες ημέρες προ της εκδήλωσης της μη-ουδετροπενικής λοίμωξης. Με τον τρόπο αυτό, απομακρύνεται και η πιθανότητα οι ασθενείς αυτοί να είχαν μολυνθεί κατά την ουδετεροπενική φάση και να εκδήλωσαν σε δεύτερο χρόνο τη λοίμωξη. Η δοσεταξέλη χρησιμοποιήθηκε για την αντιμετώπιση διαφόρων νεοπλασμάτων (μη- μικροκυτταρικός καρκίνος πνεύμονα, καρκίνος μαστού, παγκρεατικός και γαστρικός καρκίνος κ.α) σε συνδυασμό με άλλους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες (ανθρακυκλίνες, γεμσιταμπίνη, πλατινούχα κλπ), ή και ακτινοβολία όπως, ήδη έχει, αναφερθεί. Στους περισσότερους συνδυασμούς της δοσεταξέλης κάποιοι ασθενείς εκδήλωσαν μη- ουδετεροπενική λοίμωξη. Η υψηλότερη επίπτωση παρατηρήθηκε όταν συνδυάσθηκε με γεμσιταμπίνη (αντιμεταβολίτης, ανάλογο του φολικού οξέος) και ακτινοβολία, για αδιευκρίνιστους λόγους {βλ.πίνακα 16}.

Η φλουνταραμπίνη, ένα ανάλογο της πουρίνης που χρησιμοποιείται για την αντιμετώπιση της χρόνιας λεμφικής λευχαιμίας μετά από αποτυχία αλκυλιούντων παράγοντων, προκαλεί σοβαρή λεμφοπενία που αφορά κυρίως στα CD4+ λεμφοκύτταρα, αλλά όχι μόνο. Η διάρκεια της προκαλούμενης ανοσοκαταστολής ξεπερνά τους 3 μήνες [357,358]. Η παρατεταμένη λεμφοπενία έχει συσχετισθεί με την εμφάνιση μη ουδετεροπενικών λοιμώξεων στους ασθενείς αυτούς (λιστερίωση, PCP, λοιμώξεις από μυκοβακτηρίδια, ιογενείς ή μυκητασικές λοιμώξεις κ.α) [359]. Στη παρούσα μελέτη, 5 ασθενείς παρουσίασαν PCP λοίμωξη, 11 ασθενείς κακτιντίαση, 4 ασθενείς έρπητα ζωστήρα και 3 ασθενείς CMV λοίμωξη. Όλοι οι ασθενείς είχαν βαριά CD4+ λεμφοπενία. Φαίνεται ότι η λεμφοπενία αυτή προκαλεί συνολικά δυσλειτουργία των Τ- λεμφοκυττάρων, η οποία αποτελεί το βασικό προδιαθεσικό παράγοντα για την εκδήλωση ευκαιριακών λοιμώξεων. Αξίζει μάλιστα να τονισθεί ότι ο κίνδυνος εμφάνισης ευκαιριακής λοίμωξης ήταν σημαντικά υψηλότερος όταν ο απόλυτος αριθμός των CD4+ λεμφοκυττάρων ήταν <200 κυττάρων/ dL.

Τα επίπεδα των ανοσοσφαιρινών ελάχιστα επηρεάστηκαν με τη χορήγηση των διαφόρων χημειοθεραπευτικών παραγόντων. Έτσι, δεν φαίνεται ότι υπάρχει

συσχέτιση της επίπτωσης των μη- ουδετεροπενικών λοιμώξεων με τα επίπεδα των ανοσοσφαιρινών.

Ο μηχανισμός με τον οποίο η Docetaxel προκαλεί λεμφοπενία, δεν είναι διευκρινισμένος, φαίνεται όμως πως έχει απ'ευθείας επίδραση στα λεμφοκύτταρα, στα οποία προκαλεί βλάβη του κυτταρικού περιβλήματος κατά την φάση της εξόδου από την μίτωση (κυτταροτοξικότητα) με συνέπεια την αυξημένη επίπτωση μη-ουδετεροπενικών λοιμώξεων.

Συμπερασματικά, φαίνεται πως η δοσεταξέλη ασκεί άμεση κυτταροτοξική δράση στα λεμφοκύτταρα του περιφερικού αίματος την οποία στερούνται σε τέτοιο βαθμό τουλάχιστον, άλλοι αντινεοπλασματικοί παράγοντες (ιρινοτεκάνη, πακλιταξέλη κ.α). Η δυσλειτουργία της κυτταρικής ανοσίας, που εκφράζεται κυρίως από τη σημαντική CD4+ και CD8+ λεμφοπενία φαίνεται ότι προδιαθέτει στην εμφάνιση ευκαιριακών αλλά και μη- ευκαιριακών λοιμώξεων στους ασθενείς αυτούς. Επομένως, όλοι οι ασθενείς που υποβάλλονται σε χημειοθεραπεία με βάση τη δοσεταξέλη πρέπει να παρακολουθούνται προσεκτικά για πιθανή εμφάνιση μη-ουδετεροπενικής ευκαιριακής λοίμωξης η οποία απαιτεί άμεση αντιμετώπιση με χορήγηση της κατάλληλης θεραπείας.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι ασθενείς με καρκίνο παρουσιάζουν σημαντικού βαθμού έκπτωση του ανοσοποιητικού τους συστήματος, η οποία επιτείνεται με τη χρήση των αντινεοπλασματικών παραγόντων,αφού αυτοί είναι δραστικοί έναντι όλων των αναγεννόμενων ιστών (βλεννογόνοι, μυελός των οστών κλπ.), με αποτέλεσμα οι ασθενείς να παρουσιάζουν συχνά λοιμώξεις, πολλές φορές βαριές, που κατά κανόνα απαιτούν νοσηλεία και αρκετά συχνά αποτελούν την αιτία θανάτου τους.

Οι λοιμώξεις στους καρκινοπαθείς διακρίνονται σε:

Α) Ουδετεροπενικές λοιμώξεις: που εμφανίζονται σε ασθενείς, μετά από χορήγηση χημειοθεραπείας, όταν αυτοί βρίσκονται στη φάση της μυελικής απλασίας, με αριθμό ουδετερόφιλων $<1500/mm^3$. Σοβαρή ουδετεροπενία, επικίνδυνη για τη ζωή των ασθενών είναι όταν ο απόλυτος αριθμός των ουδετερόφιλων είναι $<500/mm^3$.

Β) Μη ουδετεροπενικές λοιμώξεις: που μπορεί να οφείλονται σε κοινά μικρόβια ή σε μικρόβια μη παθογόνα, αλλά που σε ανοσοκατασταλμένους ασθενείς μπορούν να προκαλούν λοιμώξεις (ευκαιριακές λοιμώξεις).

1) Η ανάπτυξη λοίμωξης από κοινά μικρόβια στους καρκινοπαθείς είναι αρκετά συχνή και αποδίδεται καταρχήν στην ανοσοανεπάρκεια που παρουσιάζουν οι ασθενείς αυτοί. Άλλοι λόγοι που ευνοούν την ανάπτυξη λοιμώξεων είναι:
   α) βλάβες των βλεννογόνων και των επιθηλίων λόγω της χημειοθεραπείας .
   β) αποφρακτικά φαινόμενα, που οδηγούν σε μεταποφρακτική λοίμωξη.
   γ) μεταστατικές βλάβες στο ΚΝΣ, που μπορεί να προκαλούν διαταραχές της αναπνοής ή της κινητικότητας, εισρόφηση και πνευμονία ή διαταραχές ούρησης που προδιαθέτει σε ουρολοιμώξεις. Οι ασθενείς αυτοί συχνά λαμβάνουν κορτικοστεροειδή, που ως γνωστόν προκαλούν ποιοτικές

ανωμαλίες στο φαγοκυτταρικό σύστημα και επηρεάζουν την κυτταρική ανοσία.

δ) οι διάφορες ιατρικές επεμβατικές μέθοδοι, π.χ τοποθέτηση φλεβοκαθετήρων, καθετήρων κύστεως κλπ., οι οποίες προδιαθέτουν σε ανάπτυξη λοίμωξης και τέλος

ε) οι αλλαγές της μικροβιακής χλωρίδας, ως αποτέλεσμα της ευρείας χρήσης αντιβιοτικών.

2) Οι ευκαιριακές λοιμώξεις: αναπτύσσονται σε ασθενείς με διαταραχές της κυτταρικής ανοσίας, ιδίως των CD4+ λεμφοκυττάρων. Τα συχνότερα παθογόνα από τα βακτήρια είναι η Listeria Monocytogenes, η Salmonella, τα Μυκοβακτηρίδια, η Legionella pneumonophila, η Candida sp και ο Cryptococcus neoformans, οι Ερπητοϊοί (herpes simplex), η VZV, ο CMV και ο Epstein-Barr, όπως επίσης και η Pneumocystis carinii.

Το γεγονός της υψηλής επίπτωσης των λοιμώξεων στους καρκινοπαθείς, η συσχέτιση τους με ανοσοανεπάρκεια, καθώς και το γεγονός ότι η διεθνής βιβλιογραφία στερείται πολλών πληροφοριών αναφορικά με τη δράση διαφόρων νέων αντινεοπλασματικών φαρμάκων (π.χ Docetaxel) στο ανοσολογικό σύστημα, οδήγησε στο σχεδιασμό και στην ολοκλήρωση της παρούσας διδακτορικής διατριβής, με σκοπό τη μελέτη της δράσης αντινεοπλασματικών φαρμάκων και ιδίως της Δοσεταξέλης στο Τ- λεμφοκυτταρικό σύστημα.

Στην παρούσα μελέτη εντάχθηκαν 46 ασθενείς που δεν είχαν λάβει ποτέ στο παρελθόν ΧΜΘ με ιστολογικά ή κυτταρολογικά διαγνωσμένο καρκίνο (παγκρέατος, χοληφόρων, μη μικροκυτταρικό πνεύμονος, μαστού κ.α.)

Οι 33 απ'αυτούς ελάμβαναν θεραπεία με βάση τη Docetaxel κάθε 21 ημέρες. Οι υπόλοιποι 13 ελάμβαναν Docetaxel ανά εβδομάδα επί τρείς συνεχόμενες εβδομάδες και μία εβδομάδα κενό. Επί πλέον, 35 ασθενείς με νεοδιαγνωσθέντα μεταστατικό κολοορθικό καρκίνο που ελάμβαναν συνδυασμό ιρινοτεκάνης και 5-FU καθώς και 20 ασθενείς με μεταστατική εγκεφαλική νόσο που ελάμβαναν δεξαμεθαζόνη, μαννιτόλη και ολοκρανιακή ακτινοβολία χρησιμοποιήθηκαν ως ομάδες ελέγχου.

Δείγμα περιφερικού αίματος ελαμβάνετο για προσδιορισμό γενικής αίματος και ανοσοφαινοτυπική ανάλυση των λεμφοκυττάρων πριν και μετά την χορήγηση χημειοθεραπείας ως εξής: α) στην 1η ομάδα η λήψη γινόταν τις ημέρες 0,21,42,63 β) στην 2η ομάδα γινόταν κάθε εβδομάδα προ της χορήγησης του φαρμάκου γ) στην 3η ομάδα τις ημέρες 0 και 64 και δ) στην 4η ομάδα τις ημέρες 0 και 7.

Για τον ανοσοφαινοτυπικό καθορισμό των λεμφοκυττάρων ελαμβάνετο δείγμα 100μL αίματος σε EDTA,γινόταν η κατάλληλη επεξεργασία (επώαση με τα μονοκλωνικά αντισώματα, λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων) (Immunoprep/Cit, Coulter, Miami, FL),έκπλυση και μονιμοποίηση. Χρησιμοποιήθηκαν μονοκλωνικά αντισώματα anti-CD3 (IOT3), anti-CD4 (IOT4), anti-CD8 (IOT8), anti-CD20 (IOT20) και anti-CD56 (IOT56), fluoroscein-isothiocyanate σημασμένα της Immunotech (Lumigny, Marseilles, France). Η ανάλυση έγινε με κυτταρομετρία ροής σε FACScan (Elite, Coulter), με λογισμικό της Elite 4:1.

Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι δεν διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στον απόλυτο αριθμό ουδετερόφιλων (p=0,0157), ούτε στον απόλυτο αριθμό λεμφοκυττάρων (p=0.65), όμως η φαινοτυπική ανάλυση των λεμφοκυττάρων αποκάλυψε σημαντική ελάττωση του απόλυτου αριθμού όλων των υποπληθυσμών των Τ-λεμφοκυττάρων (CD3, CD4, CD8, CD56), όχι όμως και των Β-λεμφοκυττάρων (CD20),τα οποία ελαττώνονται σημαντικά μετά την ημέρα 42 (2η χορήγηση). Μετά την 2η χορήγηση ελαττώνονται σημαντικά εκ νέου τα CD3+, CD4+, CD8+ αλλά όχι τα CD56+. Η φαινοτυπική ανάλυση και η σύγκριση με τις ομάδες ελέγχου που ελάμβαναν μεγάλες δόσεις κορτικοστεροειδών επί μεγαλύτερο διάστημα, έδειξε στατιστικά σημαντική ελάττωση των CD56+, αλλά όχι των άλλων λεμφοκυτταρικών πληθυσμών. Το ίδιο αποτέλεσμα διαπιστώθηκε και στην ομάδα των ασθενών στους οποίους εχορηγείτο Docetaxel σε εβδομαδιαία βάση. Η διακοπή του φαρμάκου είχε ως αποτέλεσμα την σημαντική αύξηση του απόλυτου αριθμού των CD3+, CD4+, αλλά όχι των CD8+, CD20+, CD56+, ο απόλυτος αριθμός των οποίων παρέμενε χαμηλός ακόμη και 1-3 μήνες μετά.

Η παρατήρηση ότι η επίπτωση των μη- ουδετεροπενικών λοιμώξεων ήταν αυξημένη στους ασθενείς που ελάμβαναν Docetaxel, οδήγησε σε μία προοπτική μελέτη διάρκειας 2 ετών κατά την οποία ασθενείς με μη- ουδετεροπενικές λοιμώξεις

διαχωρίσθηκαν σε 3 ομάδες: 1) 680 ασθενείς που λάμβαναν Docetaxel, 2) 175 ασθενείς που λάμβαναν Paclitaxel και 3) 410 ασθενείς που λάμβαναν χημειοθεραπεία που δεν περιείχε κάποια ταξάνη. Οι λοιμώξεις τεκμηριώνονταν κλινικά, όταν δεν ήταν δυνατό να απομονωθεί κάποιος μικροοργανισμός ή εργαστηριακά όταν αυτό ήταν δυνατό.Διαπιστώθηκε ότι υπήρχε σημαντική διαφορά στην επίπτωση μη-ουδετεροπενικών λοιμώξεων μεταξύ των ασθενών των δύο πρώτων ομάδων Docetaxel/Paclitaxel (p=0,042). Ολοι οι ασθενείς αυτοί είχαν φυσιολογικό αριθμό ουδετερόφιλων κατά την εκδήλωση της λοίμωξης, 5 από αυτούς όμως είχαν εμφανίσει ουδετεροπενία grade 3 ή 4 στον προηγούμενο της λοίμωξης μήνα. Στους πλείστους των ασθενών αυτών υπήρξε σημαντική μείωση των CD3+ και CD4+ λεμφοκυττάρων <900/dL και <400/dL αντίστοιχα. Μεταξύ των ασθενών που έλαβαν Paclitaxel ή μη- ταξανούχο θεραπεία, μόνο 3 εμφάνισαν απόλυτο αριθμό CD4+ <400/dL.

Στην πολυπαραγοντική σταδιακή ανάλυση (stepwise multivariate logistic regression analysis), ο τύπος της θεραπείας αποτελούσε προβλεπτικό παράγοντα για εμφάνιση μη- ουδετεροπενικής λοίμωξης. Η επίδραση της θεραπείας ήταν σημαντική (p=0.01), ενώ ο κίνδυνος για λοίμωξη ήταν 2,4 φορές υψηλότερος για τους ασθενείς που ελάμβαναν Docetaxel έναντι εκείνων που αντιμετωπίσθηκαν με Paclitaxel. Επίσης παρατηρήθηκε ότι ασθενείς με απόλυτο αριθμό CD4+ <200/dL είχαν σημαντικά αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ευκαιριακής λοίμωξης (p=0.002) απ' ότι μια κοινή λοίμωξη.

Συμπερασματικά διαπιστώθηκε ότι ακόμη και μία χορήγηση Docetaxel αρκεί να προκαλέσει σοβαρή λεμφοπενία ,που αφορά στα Τ-λεμφοκύτταρα (CD3, CD4, CD8, CD56), αλλά όχι στα Β-λεμφοκύτταρα (CD20). Η λεμφοπενία που προκαλείται φαίνεται ότι αποτελεί την υποκείμενη αιτία εμφάνισης μη-ουδετεροπενικών λοιμώξεων και το γεγονός,ότι κατά την εκδήλωση της μη-ουδετεροπενικής λοίμωξης οι ασθενείς δεν παρουσίαζαν ουδετεροπενία, μας οδηγεί να θεωρήσουμε ως αιτία τον χαμηλό αριθμό CD4+ Τ-λεμφοκυττάρων (κατά κανόνα <200/dL). Στους ασθενείς των ομάδων ελέγχου παρατηρήθηκε σημαντική μείωση μόνον των CD56+.

Ακόμη διαπιστώθηκε ότι η επίπτωση των μη-ουδετεροπενικών λοιμώξεων ήταν μεγαλύτερη σε ασθενείς που αντιμετωπίσθηκαν με συνδυασμό Docetaxel/Gemcitabine και Docetaxel/ακτινοθεραπείας, για αδιευκρίνιστους λόγους.

Ο μηχανισμός με τον οποίο η Docetaxel προκαλεί λεμφοπενία, δεν είναι διευκρινισμένος, φαίνεται όμως πως έχει απ'ευθείας επίδραση στα λεμφοκύτταρα, στα οποία προκαλεί βλάβη του κυτταρικού περιβλήματος κατά την φάση της εξόδου από την μίτωση (κυτταροτοξικότητα) με συνέπεια την αυξημένη επίπτωση μη-ουδετεροπενικών λοιμώξεων.

Το φαινόμενο της λεμφοπενίας είναι μερικά αναστρέψιμο. Τα CD3+ και τα CD4+ επανέρχονται, στα προ θεραπείας επίπεδα, μέσα σε 1-3 μήνες από τη διακοπή της θεραπείας ενώ δεν ισχύει το ίδιο για τα CD8+, CD20+ και CD56+ κύτταρα.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Abbas K. Abul, Lichtman H. Andrew. Cellular and Molecular Immunology 5th edition 2003.

2. Burnet FM. A modification of Jerne's theory of antibody production using the concept of clonal selection. Australian Journal of science 20:67-69, 1957.

3. Silverstein AM. A History of Immunology. Academic Press, San Diego, 1989.

4. Silverstein AM. Paul Ehrlich's Receptor Immunology: The Magnificent Obsession. Academic Press, New York, 2001.

5. Aderem A, Ulevitch RJ. Toll- like receptors in the induction of the innate immune response. Nature 406: 782-787, 2000.

6. Akira S, Takeda K, Kaisho T. Toll- like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity. Nature immunology 2: 675-680, 2001.

7. Biron CA, Cosuens LP, Nguyen KB, Pien GC, Salazar- Mather TP. Natural killer cells in antiviral defense: function and regulation by innate cytokines. Annual Review of Immunology 17: 189-220, 1999.

8. Hack CE, Aarden LA, Thijs LG. Role of cytokines in sepsis. Advances in Immunology 66:101- 195, 1997.

9. Janeway CA, Medzhitov R. Innate immune recognition. Annual Review of Immunology 20: 197-216, 2002.

10. Long EO. Regulation of immune responses through inhibitory receptors. Annual Review of Immunology 17: 875-904, 1999.

11. MacMicking J, Xie Q-W, Nathan CF. Nitric oxide and macrophage function. Annual Review of Immunology 15: 323-350, 1997.

12. Medzhitov R, Janeway CA. Innate immunity. New England Journal of Medicine 343: 338-344, 2000.

13. Underhill DM, Ozinsky A. Phagocytosis of microdes: complexity in action. Annual Review of Immunology 20: 825-852, 2002.

14. Gately MK, Renzetti LM, Magram J, Stern AS, Adorini L, Gubler U, Presky DH. The interleukin-12/ interleukin -12 receptor system: role in normal and pathologic immune responses. Annual Review of Immunology 16: 495-521, 1998.

15. Ihle JN. The Stat family in cytokine signalling. Current Opinion in Cell Biology 13: 211-217, 2001.

16. Imada K, Leonard WJ. The Jak- Stat pathway. Molecular immunology 37: 1-11, 2000.

17. Letterio JJ, Roberts AB. Regulation of immune responses by TGF- beta. Annual Review of Immunology 16: 137-161, 1998.

18. Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. Cell 104: 487-501, 2001.

19. Moore KW, Malefyt R de W, Coffman RL, O' Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. Annual Review of Immunology 19: 683-765, 2001.

20. Nelson BH, Willerford DM. Biology of the interleukin-2 receptor. Advances Immunology 70: 1-81, 1998.

21. O' Shea JJ, Gadina M, Schreiber RD. Cytokine signaling in 2002: new surprises in the Jak/ Stat pathway. Cell 109: S121-S131, 2002.

22. Trinchieri G, Scott P. Interleukin-12: Basic principles and clinical applications. Current Topics in Microbiology and Immunology 238: 57-78, 1999.

23. Waldmann TA, Tagaya Y. Multifaceted regulation of interleukin-15 expression and its role in NK cell differentiation and host response to intracellural pathogens. Annual Review of Immunology 17: 19-49, 1999.

24. Zlotnik A, Yoshie O. Chemokines: a new classification system and their role in immunity. Immunity 12: 121-127, 2001.

25. Campbell RD, Trowsdale J. Map of the human MHC. Immunology Today 14: 349-352, 1993.

26. Engelhard VH. Structure of peptides associated with class I and class II MHC molecules. Annual Review of Immunology 12: 181-207, 1994.

27. Klein J, Sato A. The HLA system. New England Journal of Medicine 343: 702-709 and 782-786, 2000.

28. Hart DNJ. Dendritic cells: unique leukocyte populations which control the primary immune response. Blood 90: 3245-3287, 1997.

29. Chapman HA. Endosomal proteolysis and class II MHC function. Current Opinion in Immunology 10: 93-102, 1998.

30. Germain RN. MHC- dependent antigen processing and peptide presentation: providing ligands for T lymphocyte activation. Cell 76: 287-299, 1994.

31. Geuze HJ. The role of endosomes and lysosomes in MHC class II functioning. Immunology Today 19: 282-287, 1998.

32. Rock KL, Goldberg AL. Degradation of cell proteins and generation of MHC class I- presented peptides. Annual Review of Immunology 17: 739-779, 1999.

33. Tanaka K, Tanahashi N, Tsurumi C, Yokota K, Shimbara N. Proteasomes and antigen processing. Advances in immunology 64: 1-38, 1997.

34. Villadangos JA, Ploegh HL. Proteolysis in MHC class II antigen presentation: who's in charge? Immunity 12: 233-239, 2000.

35. Bjorkman PJ. MHC restriction in three dimensions: a view of T cell receptor/ ligand interactions. Cell 89: 167-170, 1997.

36. Garcia KC, Teyton L, Wilson IA. Structural basis of T cell recognition. Annual Review of Immunology 17: 369-397, 1999.

37. Hennecke J, Wiley DC. T cell receptor- MHC interaction up close. Cell 104: 1-4, 2001.

38. Miceli NC, Parnes JR. The role of CD4 and CD8 in T cell activation and differentiation. Advances in immunology 53: 59-122, 1993.

39. Acuto O, Cantrell D. T cell activation and the cytoskeleton. Annual Review of Immunology 18: 165-184, 2000.

40. Alegre ML, Frauwirth KA, Tompson CB. T cell regulation by CD28 and CTLA-4. Nature Immunology Reviews 1: 220-228, 2001.

41. Bromley SK, Burack WR, Johnson KG, Somersalo K, Sims TN, Sumen C, Davis MM, Shaw AS, Allen PM, Dustin ML. The immunological synapse. Annual Review of Immunology 19: 375-396, 2001.

42. Coyle AJ, Gutierrez- Ramos J-C. The expanding B7 superfamily: increasing complexity in costimulatory signals regulating T cell function. Nature Immunology 2: 203-209, 2001.

43. Germain RN, Stefanova I. The dynamics of T cell receptor signaling: complex orchestration and the key roles of tempo and cooperation. Annual Review of Immunology 19: 467-522, 1999.

44. Jenkins MK, Khoruts A, Ingulli E, Mueller DL, McSorley SJ, Reinhardt RL, Itano A, Pape KA. In vivo activation of antigen- specific CD4 T cells. Annual Review of Immunology 19: 23-45, 2001.

45. Kaech SM, Wherry EJ, Ahmed R. Effector and memory T cell differentiation: Implications for vaccine development. Nature Reviews Immunology 2: 251-262, 2002.

46. Karin M, Liu Z, Zendi E. AP-1 function and regulation. Current Opinion in Cell Biology 9: 240-246, 1997.

47. Rao A, Luo C, Hogan PG. Transcription factors of the NFAT family: regulation and function. Annual Review of Immunology 15:707-747, 1998.

48. Samelson LE. Signal transduction mediated by the T cell antigen receptor: The role of adapter proteins. Annual Review of Immunology 20: 371-394, 2002.

49. Sharpe AH, Freeman GJ. The B7- CD28 superfamily. Nature Reviews Immunology 2: 116-126, 2002.

50. Boehm U, Klamp T, Groot M, Howard JC. Cellular responses to interferon-gamma. Annual Review of Immunology 15:749-795, 1997.

51. Heath WR, Carbone FR. Cross- presentation, dendritic cells tolerance and immunity. Annual Review of Immunology 19:47-64, 2001.

52. Murphy KM, Ouyang, Farrar JD, Yang J, Ranganath S, Asnagli H, Afkarian M, Murphy TL. Signaling and transcription in T helper development. Annual Review of Immunology 18: 451-494, 2000.

53. O' Garra A. Cytokines induce the development of functionally heterogeneous T helper cell subsets. Immunity 8: 275-283, 1998.

54. Oxenius A, Zinkernagel RM, Hengartner H. $CD4^+$ T cell induction and effector functions: a comparison of immunity against soluble antigens and viral infections. Advances in Immunology 70: 313-367, 1998.

55. Russell JH, Ley TJ. Lymphocyte- mediated cytoxicity. Annual Review of Immunology 20: 323-370, 2002.

56. Von Andrian UH, Mackay CR. T- cell function and migration. New England Journal of Medicine 343: 1020-1034, 2000.

57. Harris LJ, Larsen SB, McPherson A. Comparison of intact antibody structures and the implications for effector functions. Advances in Immunology 72: 191-208, 1999.

58. Huston JS, George AJ. Engineered antibodies take center stage. Human Antibodies 10: 127-142, 2001.

59. Ravetch JV, Bolland S. IgG Fc receptors. Annual Review of Immunology 19: 275-290, 2001.

60. Carroll MC. The role of complement in B cell activation and tolerance. Advances in Immunology 74: 61-88, 2000.

61. Clark EA, Ledbetter JA. How B and T cells talk to each other. Nature 367: 425-428, 1994.

62. Foy TM, Aruffo A, Bajorath J, Buhlman JE, Noelle RJ. Immune regulation by CD40 and its ligand. Annual Review of Immunology 14: 591-617, 1996.

63. Heyman B. Regulation of antibody responses via antibodies, complement and Fc receptors. Annual Review of Immunology 18: 709-737, 2000.

64. Hsueh RC, Scheuermann RH. Tyrosine kinase activation in the decision between growth, differentiation and death responses initiated from the B cell antigen receptor. Advances in Immunology 75: 283-316, 2000.

65. Przylepa J, Himes C, Kelsoe G. Lymphocyte development and selection in germinal centers. Current Topics in Microbiology and Immunology 229: 85-104, 1998.

66. Rajewsky K. Clonal selection and learning in the antibody system. Nature 381: 751-758, 1996.

67. Stavnezer J. Antibody class switching. Advances Immunology 61: 79-146, 1996.

68. Boes M. Role of natural and immune IgM antibodies in immune responses. Mollecular Immunology 37: 1141-1149, 2000.

69. Radaev S, Sun P. Recognition of immunoglobulins by Fcγ receptors. Molleculary Immunology 38: 1073-1083, 2002.

70. Barrington R, Zhang M, Fischer M, Carroll MC. The role of complement in inflammation and adaptive immunity. Immunological Reviews 180: 5-15, 2001.

71. Carroll MC. The role of complement and complement receptors in induction and regulation of immunity. Annual Review of Immunology 16: 545-568, 1998.

72. Liszewski MK, Farries TC, Lublin DM, Rooney IA, Atkinson JP. Control of the complement system. Advances in Immunology 61: 201-283, 1996.

73. Petersen SV, Thiel S, Jensenius JC. The mannan- binding lectin pathway of complement activation: biology and disease association. Molecural Immunology 38: 133-149, 2001.

74. Walport MJ. Complement. New England Journal of Medicine 344: 1058-1066 and 1141-1444, 2001.

75. Anderton SM, Wraith DC. Selection and fine- tuning of the autoimmune T cell repertoire. Nature Reviews Immunology 2: 487-498, 2002.

76. Goodnow CC, Cyster JG, Hartley SB, Bell SE, Cooke MP, Healy JI, Akkaraju S, Rathmell JC, Pogue SL, Shokat KP. Self- tolerance checkpoints in B lymphocyte development. Advances in Immunology 59: 279-368, 1995.

77. Healy JI, Goodnow CC. Positive versus negative signaling Immunology 16: 645-670, 1998.

78. Sakaguchi S. Regulatory T cells: key controllers of immunologic self-tolerance. Cell 101: 455-458, 2000.

79. Salomon B, Bluestone JA. Complexities of CD28/ B7: CTLA-4 costimulatory pathways in autoimmunity and transplantation. Annual Review of Immunology 19: 225-252, 2001.

80. Shevach EM. Regulatory T cells in autoimmunity. Annual Review of Immunology 18: 423-449, 2000.

81. Siegel RM, Chan FK-M, Leonardo MJ. The multifaceted role of Fas signaling in immune cell homeostasis and autoimmunity. Nature Immunology 1: 469-474, 2000.

82. Thompson CB, Allison JP. The emerging role of CTLA-4 as an immune attenuator. Immunity 7: 445-450, 1997.

83. Van Parijs L, Abbas AK. Homeostasis and self- tolerance in the immune system: shutting lymphocytes off. Science 280: 243-248, 1998.

84. Bodey GP, Buckley M, Sathe YS, et al. Quantitative relationships between circulating leukocytes and ifections in patients with acute leukemia. Ann Intern Med 64: 328-340, 1966.

85. Hughes WT, Armstrong D, Bodey GP, et al. 2002 Guidelines for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer. Clin Infect Dis 34:730, 2002.

86. Hathorn JW, Lyke K. Empirical treatment of febrile neutropenia: evolution of current therapeutic approaches. Clin Infect Dis 24 Suppl 2:S256, 1997.

87. Pizzo PA. Management of fever in patients with cancer and treatment-induced neutropenia. N Engl J Med 328:1323, 1993.

88. Gregory K Robbins, MD, MPH. Fever in the neutropenic adult patient with cancer. Up to date version 15.3, August 31, 2007.

89. Hughes WT, Armstrong D, Bodey GP, et al. Guidelines for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with unexplained fever. J Infect Dis 161:381, 1990.

90. Armstrong, D. Empiric therapy for the immunocompromised host. Rev Infect Dis 13 Suppl 9:S763, 1991.

91. Rubin RH, Ferraro MJ. Understanding and diagnosing infectious complications in the immunocompromised host. Current issues and trends. Hematol Oncol Clin North Am 7:795, 1993.

92. Blay J-Y, Chauvin F, Le Cesne A, Anglaret B, Bouhour D, Lasset C et al. Early lymphopenia after cytotoxic chemotherapy as a risk factor for febrile neutropenia. Journal of Clinical Oncology 14: 636-643, 1996.

93. Talcott JA, Siegel RD, Finberg R, Goldman L. Risk assessment in cancer patients with fever and neutropenia: A prospective, two-center validation of a prediction rule. J Clin Oncol 10:316, 1992.

94. Schimpff SC. Empiric antibiotic therapy for granulocytopenic cancer patients. Am J Med 80:13, 1986.

95. Morrrison V. An overview of the management of infection and febrile neutropenia in patients with cancer. Supportive Cancer Therapy 2:88, 2005.

96. Mermel LA, Farr BM, Sherertz RJ, et al. IDSA guidelines for the management of intravascular catheter-related infections-I. Clin Infect Dis 32:1249, 2001.

97. Bow E.J. Approach to infections in patients receiving cytotoxic chemotherapy for malignancy. In Principles of Critical Care (Hall J.B, Wood G.A, Eds L.D.H), pp 1186-1207. McGraw- Hill, New York, 1992.

98. Shaw MT, Spector MH, Ladman AJ. Effects of cancer, radiotherapy and cytotoxic drugs on intestinal structure and function. Cancer Treatment Reviews 6: 141-151, 1979.

99. Slavin RE, Dias MA, Saral R. Cytosine arabinoside induced gastrointestinal toxic alterations in sequential chemotherapeutic protocols, a clinical-pathologic study of 33 patients. Cancer 42: 1747-1759, 1978.

100. Rolston KVI, Boney GP. Infections in patients with cancer. Cancer Medicine, Philadelphia, Lea & Febiger, pp 2416-2441, 1993.

101. Maher DW, Lieschke GJ, Green M, Bishop J, Stuart- Harris R, Wolf M. et al. Filgrastim in patients with chemotherapy – induced febril neutropenia. A double- blind, placebo- controlled trial. Annals of Internal Medicine 121: 492-501, 1994.

102. Vellenga E, Uyl- de Groot CA, de Wit R, Keizer HJ, Lowenberg B, ten Haaft MA, et al. Randomized placebo- controlled trial of granulocyte- macrophage colony- stimulating factor in patients with chemotherapy – related febrile neutropenia. Journal of Clinical Oncology 14: 619-627, 1996.

103. Pizzo PA, Robichaud KJ, Wesley R, Commers JR. Fever in the pediatric and young adult patient with cancer. A prospective study of 1001 episodes. Medicine 61: 153-166, 1982.

104. Figueredo AT, Hryniuk WM, Strautmanis I, Frank G, Rendell S. Co-trimoxazole prophylaxis during high- dose chemotherapy of small- cell lung cancer. Journal of Clinical Oncology 3: 54-64, 1985.

105. The EORTC international antimicrobial therapy project group. Three antibiotic regimens in the treatment of infection in febrile granulocytopenic patients with cancer. J Infect Dis 137: 14-29, 1978.

106. Bodey GP, Jadeja L, Elting L. Pseudomonas bacteremia: Retrospective analysis of 410 episodes. Arch Intern Med 145:1621, 1985.

107. The EORTC international antimicrobial therapy cooperative group. Vancomycin added to empirical combination antibiotic therapy for fever in granulocytopenic cancer patients. J Infect Dis 163: 951-958, 1991.

108. Wisplinghoff H, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Current trends in the epidemiology of nosocomial bloodstream infections in patients with hematological malignancies and solid neoplasms in hospitals in the United States. Clin Infect Dis 36:1103, 2003.

109. Sipsas NV, Bodey GP, Kontoyiannis DP. Perspectives for the management of febrile neutropenic patients with cancer in the 21st century. Cancer 103:1103, 2005.

110. Coullioud D, Van der Auwera P, Viot M, Lasset C. Prospective multicentric study of the etiology of 1051 bacteremic episodes in 782 cancer patients. CEMIC (French-Belgian Study Club of Infectious Diseases in Cancer). Support Care Cancer 1:34, 1993.

111. Bochud PY, Calandra T, Francioli P. Bacteremia due to viridans streptococci in neutropenic patients: a review. Am J Med 97: 256-264, 1994.

112. Sandherr M, Einsele H, Hebart H, Kahl C, Kern W, Kiehl M, Massenkeil G, Penack O, Schiel X, Schuettrumpf S, Ullmann AJ, Cornely OA. Antiviral prophylaxis in patients with haematological malignancies and solid tumours: Guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society for Hematology and Oncology (DGHO).

113. Urbach DR, Rotstein OD. Typhlitis. Can J Surg 42:415, 1999.

114. Katz JA, Wagner ML, Gresik MV, et al. Typhlitis. An 18-year experience and postmortem review. Cancer 65:1041, 1990.

115. Wade DS, Nava HR, Douglass HO Jr. Neutropenic enterocolitis. Clinical diagnosis and treatment. Cancer 69:17, 1992.

116. Schnoll-Sussman F, Kurtz RC. Gastrointestinal emergencies in the critically ill cancer patient. Semin Oncol 27:270, 2000.

117. Sloas MM, Flynn PM, Kaste SC, Patrick CC. Typhlitis in children with cancer: A 30-year experience. Clin Infect Dis 17:484, 1993.

118. Kaste SC, Flynn PM, Furman WL. Acute lymphoblastic leukemia presenting with typhlitis. Med Pediatr Oncol 28:209, 1997.

119. Louis- Michel Wong Kee Song, Marcon NE. Necrotizing enterocolitis (typhlitis) in adults. Up to Date, version 15.3.

120. Kouroussis C, Samonis G, Androulakis N, et al. Successful conservative treatment of neutropenic enterocolitis complicating taxane-based chemotherapy: a report of five cases. Am J Clin Oncol 23:309, 2000.

121. Heussel CP, Kauczor HU, Heussel GE, et al. Pneumonia in febrile neutropenic patients and in bone marrow and blood stem-cell transplant recipients: use of high-resolution computed tomography. J Clin Oncol 17:796, 1999.

122. Leyland MJ, Bayston KF, Cohen J, et al. A comparative study of imipenem versus piperacillin plus gentamicin in the initial management of febrile neutropenic patients with haematological malignancies. J Antimicrob Chemother 30:843, 1992.

123. Bliziotis IA, Michalopoulos A, Kasiakou SK, et al. Ciprofloxacin vs an aminoglycoside in combination with a beta-lactam for the treatment of febrile neutropenia: a meta-analysis of randomized controlled trials. Mayo Clin Proc 80:1146, 2005.

124. Pizzo PA, Hathorn JW, Hiemenz J, et al. A randomized trial comparing ceftazidime alone with combination antibiotic therapy in cancer patients with fever and neutropenia. N Engl J Med 315:552, 1986.

125. Bow EJ, Rotstein C, Noskin GA, et al. A randomized, open-label, multicenter comparative study of the efficacy and safety of piperacillin-tazobactam and cefepime for the empirical treatment of febrile neutropenic episodes in patients with hematologic malignancies. Clin Infect Dis 43:447, 2006.

126. Cometta A, Calandra T, Gaya H, et al. Monotherapy with meropenem versus combination therapy with ceftazidime plus amikacin as empiric therapy for fever in granulocytopenic patients with cancer. The International Antimcrobial Therapy Cooperative Group of the European Organization for Reasearch and Treatment of Cancer and the Gruppo Italiano Malattie Ematologiche Maligne dell'Adulto Infection Program. Antimicrob Agents Chemother 40:1108, 1996.

127. Feld R, DePauw B, Berman S, et al. Meropenem versus ceftazidime in the treatment of cancer patients with febrile neutropenia: A randomized, double-blind trial. J Clin Oncol 18:3690, 2000.

128. Raad II, Escalante C, Hachem RY, et al. Treatment of febrile neutropenic patients with cancer who require hospitalization: a prospective randomized study comparing imipenem and cefepime. Cancer 98:1039, 2003.

129. Peacock JE, Herrington DA, Wade JC, et al. Ciprofloxacin plus piperacillin compared with tobramycin plus piperacillin as empirical therapy in febrile neutropenic patients. A randomized, double-blind trial. Ann Intern Med; 137:77, 2002.

130. Johnson MP, Ramphal R. Beta-lactam-resistant Enterobacter bacteremia in febrile neutropenic patients receiving monotherapy. J Infect Dis 162:981, 1990.

131. Vardakas KZ, Samonis G, Chrysanthopoulou SA, et al. Role of glycopeptides as part of initial empirical treatment of febrile neutropenic patients: a meta-analysis of randomised controlled trials. Lancet Infect Dis 5:431, 2005.

132. Paul M, Borok S, Fraser A, et al. Empirical antibiotics against Gram-positive infections for febrile neutropenia: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. J Antimicrob Chemother 55:436, 2005.

133. Dompeling EC, Donnelly JP, Deresinski SC, et al. Early identification of neutropenic patients at risk of grampositive bacteraemia and the impact of empirical administration of vancomycin. Eur J Cancer 32A:1332, 1996.

134. Freifeld A, Baden L, Brown A, et al. Fever and neutropenia. Journal of the National Comprehensive Cancer Network 2:391, 2004.

135. Cho SY, Choi HY. Opportunistic fungal infections among cancer patients. Am J Clin Pathol 72:617, 1979.

136. Giamarellou H. Empiric therapy for infections in the febrile, neutropenic, compromised host. Med Clin North Am 79:559, 1995.

137. Moellering RC. Linezolid: the first oxazolidinone antimicrobial. Ann Intern Med 138:135, 2003.

138. Walsh TJ, Pappas P, Winston DJ, et al. Voriconazole compared with liposomal amphotericin B for empirical antifungal therapy in patients with neutropenia and persistent fever. N Engl J Med 346:225, 2002.

139. Walsh TJ, Finberg RW, Arndt C, et al. Liposomal amphotericin B for empirical therapy in patients with persistent fever and neutropenia. N Engl J Med 340:764, 1999.

140. Vogel CL, Wojtukiewicz MZ, Carroll RR, et al. First and subsequent cycle use of pegfilgrastim prevents febrile neutropenia in patients with breast cancer: a multicenter, double-blind, placebo-controlled phase III study. J Clin Oncol 23:1178, 2005.

141. Crawford J, Ozer H, Stoller R, et al. Reduction by granulocyte colony-stimulating factor of fever and neutropenia induced by chemotherapy in patients with small-cell lung cancer. N Engl J Med 325:164, 1991.

142. Gerhartz HH, Engelhard M, Meusers P, et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled, phase III study of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor as adjunct to induction treatment of high-grade malignant non-Hodgkin's lymphomas. Blood 82:2329, 1993.

143. Timmer-Bonte JN, de Boo TM, Smit HJ, et al. Prevention of chemotherapy-induced febrile neutropenia by prophylactic antibiotics plus or minus granulocyte colony-stimulating factor in small-cell lung cancer: a Dutch Randomized Phase III Study. J Clin Oncol 23:7974, 2005.

144. Smith TJ, Khatcheressian J, Lyman GH, et al. 2006 update of recommendations for the use of white blood cell growth factors: an evidence-based clinical practice guideline. J Clin Oncol 24:3187, 2006.

145. Aapro MS, Cameron DA, Pettengell R, et al. EORTC guidelines for the use of granulocyte-colony stimulating factor to reduce the incidence of chemotherapy-induced febrile neutropenia in adult patients with lymphomas and solid tumours. Eur J Cancer 42:2433, 2006.

146. Pui CH, Boyett JM, Hughes WT, et al. Human granulocyte colony-stimulating factor after induction chemotherapy in children with acute lymphoblastic leukemia [see comments]. N Engl J Med 336:1781, 1997.

147. Kuderer NM, Dale DC, Crawford J, Lyman GH. Impact of primary prophylaxis with granulocyte colony-stimulating factor on febrile neutropenia and mortality in adult cancer patients receiving chemotherapy: a systematic review. J Clin Oncol 25:3158, 2007.

148. Relling MV, Boyett JM, Blanco JG, et al. Granulocyte colony-stimulating factor and the risk of secondary myeloid malignancy after etoposide treatment. Blood 101:3862, 2003.

149. Gafter-Gvili A, Fraser A, Paul M, Leibovici L. Meta-analysis: antibiotic prophylaxis reduces mortality in neutropenic patients. Ann Intern Med 142:979, 2005.

150. Bucaneve G, Micozzi A, Menichetti F, et al. Levofloxacin to prevent bacterial infection in patients with cancer and neutropenia. N Engl J Med 353:977, 2005.

151. Cullen M, Steven N, Billingham L, et al. Antibacterial prophylaxis after chemotherapy for solid tumors and lymphomas. N Engl J Med 353:988, 2005.

152. Schimpff SC, Young VM, Greene WH, et al. Origin of infection in acute nonlymphocytic leukaemia: Significance of hospital acquisition of potential pathogens. Ann Intern Med 77: 707-714, 1972.

153. EORTC International Antimicrobial Therapy Cooperative Group. Ceftazidime combined with a short or long course of amikacin for empirical therapy of gram- negative bacteremia in cancer patients with granulocytopenia. N Engl J Med 317: 1692-1698, 1987.

154. Escande MC, Herbrecht R. Prospective study of bacteraemia in cancer patients. Results of a French multicentre study. Support Care Cancer 6(3):273-280, 1998.

155. Johnston RB. Monocytes and macrophages. N. Engl J Med 318: 747-752, 1988.

156. McClure CL. Common infections in the elderly. Am Fam Physician 45: 2691-2698, 1992.

157. McCormick RD. Infections in patients with solid tumors. Nurs Clin North Am 20: 199-205, 1985.

158. Phair JP, Riesing KS, Metzger E. Bacteremic infection and malnutrition in patients with solid tumors: investigation of host defence mechanisms. Cancer 45: 2702-2706, 1980.

159. Nowak AK, Robinson BWS, Lake RA. Gemcitabine exerts a selective effect on the humoral immune response: Implications for combination chemo-immunotherapy. Cancer research 62: 2353-2358, 2002.

160. Anatoliotaki M, Valatas V, Mantadakis E, Apostolakou H, Mavroudis D, Georgoulias V, Rolston KV, Kontoyiannis DP, Galanakis E, Samonis G. Bloodstream infections in patients with solid tumors: Associated factors, microbial spectrum and outcome. Infection 32 (2): 65-71, 2004.

161. Klastersky J, Aoun M. Opportunistic infections in patients with cancer. Annals of Oncology 15 (4): 329-335, 2004.

162. Kaplan MH, Rosen PP, Armstrong D. Cryptococcosis in a cancer hospital. Cancer 39: 2265-2274, 1977.

163. Smiley S, Almyroudis N, Segal BH. Epidemiology and management of opportunistic infections in immunocompromised patients with cancer. Abstr Hematol Oncol 8 (3): 20-30, 2005.

164. Jacobson MA, Hahn SM, Gerberding JL, et al. Ciprofloxacin for Salmonella bacteremia in the acquired immunodefinciency syndrome (AIDS). Ann Intern Med 110: 1027-1029, 1989.

165. Dan M, Sonner I, Knobel B, et al. Cutaneous manifestations of infection with Corynebacterium group JK. Rev Infect Dis 10: 1204-1207, 1988.

166. Lipsky BA, Goldberger AC, Tompkins LS, et al. Infections caused by nondiphteria Corynobacteria. Rev Infect Dis 4: 1220-1235, 1982.

167. Maksymiuk AW, Thongprasert S, Hopfer RL, et al. Systemic candidiasis in cancer patients. Am J Med 77: 20-27, 1984.

168. Wingard JR, Merz WG, Saral R. Candida tropicalis: a major pathogen in immunocompromised patients. Ann Intern Med 91: 539-543, 1979.

169. Wingard JR, Merz WG, Rinaldi MG, et al. Increase in Candida Krusei infection among patients with bone marrow transplantation and neutropenia treated prophylactically with fluconazole. N Engl J Med 325: 1274-1277, 1991.

170. Thaler M, Pastakia B, Shawker TH, et al. Hepatitic candidiasis in cancer patients: the evolving picture of the syndrome. Ann Intern Med 108: 88-100, 1988.

171. Evans HL, Kletzel M, Lawson RD, et al. Systemic mycosis due to Trichosporon cutaneum. Cancer 45: 367-371, 1980.

172. Gerson SL, Talbot GH, Hurwitz S, et al. Prolonged granulocytopenia: the major risk factor for invasive pulmonary aspergillosis in patients with acute leukaemia. Ann Intern Med 100: 345-351, 1984.

173. Varthalitis I, Meunier F. Pneumokystis Carinii pneumonia: the pathogen, the diagnosis and recent advances in management. Int J Antimicrob Agents 1: 97-108, 1991.

174. Kapan MH, Amstrong D, Rosen P. Tuberculosis complicating neoplastic disease: A Review of 201 cases. Cancer 33: 850, 1974.

175. Farber JM, Pererkin PI. Listeria monocytogenes, a food- borne pathogen. Microbiol Rev 55: 476-511, 1991.

176. Safdar A, Armstrong D. Infectious morbidity in critically ill patient with cancer. Crit Care Clin 17:531–70, 2001.

177. Lorber B. Listeriosis. Clin Infect Dis 24:1–11, 1997.

178. Kwok LY, Miletic H, Lutjen S, Soltek S, Deckert M, Schluter D. Protective immunosurveillance of the central nervous system by Listeria-specific CD4 and CD8 T cells in systemic listeriosis in the absence of intracerebral Listeria. J Immunol 169:2010–2019, 2002.

179. Portnoy DA, Auerbuch V, Glomski IJ. The cell biology of Listeria monocytogenes infection: the intersection of bacterial pathogenesis and cell-mediated immunity. J Cell Biol 158:409–414, 2002.

180. Jurado RL, Farley MM, Pereira E, et al. Increased risk of meningitis and bacteremia due to Listeria monocytogenes in patients with human immunodeficiency virus infection. Clin Infect Dis 17:224–227, 1993.

181. Louria DB, Hensle T, Armstrong D, et al. Listeriosis complicating malignant disease: a new association. Ann Intern Med 67:261–281, 1967.

182. Safdar A, Armstrong D. Listeriosis in Patients at a Comprehensive Cancer Center, 1955–1997. Clinical Infectious Diseases 37: 359-364, 2003.

183. Kobayashi K, Hernandez LD, Galan JE, Janeway CA Jr, Medzhitov R, Flavell RA. IRAK-M is a negative regulator of Toll-like receptor signaling. Cell 110:191–202, 2002.

184. Barsig J, Flesch IE, Kaufmann SH. Macrophages and hepocytic cells as chemokine producers in murine listeriosis. Immunobiology 199:87–104, 1998.

185. Aureli P, Fiorucci GC, Caroli D, et al. An outbreak of febrile gastroenteritis associated with corn contaminated by Listeria monocytogenes. N Engl J Med 342:1236–1241, 2000.

186. Pasqualotto AC, Rosa DD, Medeiros LR, Sevvero LC. Candidaemia and cancer: patirents are not all the same. BMC Infect Dis 16: 6-50, 2006.

187. DiNubile MJ, Hille D, Sable CA, Kartsonis NA. Invasive candidiasis in cancer patients : observations from a randomized clinical trial. J Infect 50 (5): 443-449, 2005.

188. Ohmagari N, Raad II, Hachem R, Kontoyiannis DP. Invasive aspergillossis in patients with solid tumors. Cancer 101 (10): 2300-2302, 2004.

189. Barbounis V, Aperis G, Gambletsas E, Koumakis G, Demiris M, Vassilomanolakis M, Efremidis A. Pneumocystis carinii pneumonia in patients with solid tumors and lymphomas: predisposing factors and outcome. Anticancer Res 25 (1B): 651-655, 2005.

190. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. Nature 420: 860-867, 2002.

191. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? The Lancet 357: 539-545, 2001.

192. Dvorak H. F. Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. N. Engl. J. Med 315: 1650-1659, 1986.

193. Dranoff G. Tumour immunology: immune recognition and tumor protection. Curr. Opin. Immunol. 14: 161-164, 2002

194. Blaser MJ., Chyou PH, Nomura A. Age at establishment of Helicobacter pylori infection and gastric carcinoma, gastric ulcer, and duodenal ulcer risk. Cancer Res. 55: 562-565, 1995.

195. Scholl SM, et al. Anti-colony-stimulating factor-1 antibody staining in primary breast adenocarcinomas correlates with marked inflammatory cell infiltrates and prognosis. J. Natl Cancer Inst. 86: 120-126, 1994.

196. Shacter E, Weitzman SA. Chronic inflammation and cancer. Oncology 16: 217-226, 2002.

197. Maeda H, Akaike T. Nitric oxide and oxygen radicals in infection, inflammation, and cancer. Biochemistry 63: 854-865, 1998.

198. Yamanishi Y, et al. Regional analysis of p53 mutations in rheumatoid arthritis synovium. Proc. Natl Acad. Sci. USA 99: 10025-10030, 2002.

199. Ernst PB, Gold BD. The disease spectrum of Helicobacter pylori: the immunopathogenesis of gastroduodenal ulcer and gastric cancer. Annu. Rev. Microbiol. 54: 615-640, 2000.

200. Mazzucchelli L, Blaser A, Kappeler A, et al. BCA-1 is highly expressed in Helicobacter pylori-induced mucosa-associated lymphoid tissue and gastric lymphoma. J Clin Invest 104: 49-54, 1999.

201. Komori A, Yatsunami M, Suganuma S, et al. Tumor necrosis factor acts as a tumor promoter in BALB/3T3 cell transformation. Cancer Res 53: 1982-1985, 1993.

202. Jaiswal M, LaRusso NF, Burgart LJ, Gores GJ. Inflammatory cytokines induce DNA damage and inhibit DNA repair in cholangiocarcinoma cells by a nitric oxide-dependent mechanism. Cancer Res 60: 184-190, 2000.

203. Hudson JD, et al. A proinflammatory cytokine inhibits p53 tumor suppressor activity. J. Exp. Med. 190: 1375-1382, 1999.

204. Brigati C, Noonan DM, Albini A, Benelli R. Tumors and inflammatory infiltrates: friends or foes? Clin. Exp. Metastasis: 19, 247-258, 2002.

205. Tsung K, Dolan JP, Tsung YL, Norton JA. Macrophages as effector cells in interleukin 12-induced T cell-dependent tumor rejection. Cancer Res. 62: 5069-5075, 2002.

206. Schoppmann S, et al. Tumor-associated macrophages express lymphatic endothelial growth factors and are related to peritumoral lymphangiogenesis. Am. J. Pathol. 161: 947-956, 2002.

207. Torisu H, et al. Macrophage infiltration correlates with tumor stage and angiogenesis in human malignant melanoma: possible involvement of TNFα and IL-1α. Int. J. Cancer 85: 182-188, 2000.

208. Ono M, Torisu H, Fukushi J, Nishie A, Kuwano M. Biological implications of macrophage infiltration in human tumor angiogenesis. Cancer Chemother. Pharmacol. 43: S69-S71, 1999.

209. Jonjic N, et al. Expression of adhesion molecules and chemotactic cytokines in cultured human mesothelial cells. J. Exp. Med. 176: 1165-1174, 1992.

210. Kuper H, Adami HO, Trichopoulos D. Infections as a major preventable cause of human cancer. J. Intern. Med. 248: 171-183, 2000.

211. DiCarlo E, et al. The intriguing role of polymorphonuclear neutrophils in antitumor reactions. Blood 97: 339-345, 2001.

212. Coussens LM, et al. Inflammatory mast cells up-regulate angiogenesis during squamous epithelial carcinogenesis. Genes Dev. 13: 1382-1397, 1999.

213. Coussens LM, Tinkle CL, Hanahan D, Werb Z. MMP-9 supplied by bone marrow-derived cells contributes to skin carcinogenesis. Cell 103: 481-490, 2000.

214. Bergers G, et al. Matrix metalloproteinase-9 triggers the angiogenic switch during carcinogenesis. Nature Cell Biol. 2: 737-744, 2000.

215. Richmond A, Thomas H. Purification of melanoma growth stimulatory activity. J. Cell. Physiol. 129: 375-384, 1986.

216. Hanahan D, Weinberg R A. The hallmarks of cancer. Cell 100: 57-70, 2000.

217. Zhang J, et al. Sialyl Lewis X-dependent lung colonization of B16 melanoma cells through a selectin-like endothelial receptor distinct from E- or P-selectin. Cancer Res. 62: 4194-4198, 2002.

218. Borsig L, Wong R, Hynes RO, Varki NM, Varki A. Synergistic effects of L- and P-selectin in facilitating tumor metastasis can involve non-mucin ligands and implicate leukocytes as enhancers of metastasis. Proc. Natl Acad. Sci. USA 99: 2193-2198, 2002.

219. Qian F, Hanahan D, Weissman IL. L-selectin can facilitate metastasis to lymph nodes in a transgenic mouse model of carcinogenesis. Proc. Natl Acad. Sci. USA 98: 3976-3981, 2001.

220. Pinedo HM, Verheul HMW, D'Amato RJ, Folkman J. Involvement of platelets in tumour angiogenesis?. Lancet, 352: 1775-1777, 1998.

221. Hanghnegahdar H, Du J, Wang Z, et al. The tumorigenic and angiogenic effects of MGSSA/GRO proteins in melanoma. J Leukoc Biol 67: 53-62, 2000.

222. Sica A, Saccani A, Bottazzi B, et al. Defective expression of the monocyte chemotactic protein-1 receptor CCR2 in macrophages associated with human ovarian carcinoma. J Immunol 164: 733-738, 2000.

223. Kim YJ, Borsig L, Varki NM, Varki A. P-selectin deficiency attenuates tumor growth and metastasis. Proc. Natl Acad. Sci. USA 95: 9325-9330, 1998.

224. Allavena P, Sica A, Vecchi A, Locati M, Sozzani S, Mantovani A. The chemokine receptor switch paradigm and dendritric cell migration: its significance in tumor tissues. Immunol Rev 177: 141-149, 2000.

225. Martin Padura I, Mortarini R, Lauri D, et al. Heterogeneity in human melanoma cell adhesion to cytokine activated endothelia cells correlates with VLA-4 expression. Cancer Res 51: 2239-2241, 1991.

226. Snyderman R, Cianciolo GJ. Immunosuppressive activity in the retroviral envelope protein P15E and its possible relationship to neoplasia. Immunol Today 5: 240-244, 1984.

227. Miescher S, Whiteside TL, Carrel S, von Fliender V. Functional properties of tumor- infiltrating and blood lymphocytes in patients with solid tumors: effects of tumor cells and their supernatants on proliferative responses of lymphocytes. J Immunol 136: 1899-1907, 1986.

228. Rutledge BJ, Rayburn H, Rosenberg R, et al. High level monocyte chemoattractant protein-1 expression in transgenic mice increases their susceptibility to intracellular pathogens. J Immunol 155: 4838-4843, 1995.

229. Sica A, Saccani A, Bottazi B, et al. Autocrine production of IL-10 mediates defective IL-12 production and NF-κB activation of tumor-associated macrophages. J Immunol 164: 762-767, 2000.

230. Negus RPK, Stamp GWQ, Hadley J, Balkwill FR. Quantitative assessment of the leucocyte infiltrate in ovarian cancer and its relationship to the expression of C-C chemokines. Am J Pathol 150: 1723-1734, 1997.

231. Van den Berg A, Visser L, Poppema S. High expression of the CC chemokine TARC in Reed-Sternberg cells: a possible explanation for the characteristic T-cell infiltrate in Hodgkin's lymphoma. Am J Pathol 154: 1685-1691, 1999.

232. O' Connell J, Bennett MW, O' Sullivan GC, Collins JK, Shanahan F. The Fas counterattack: cancer as a site of immune privilege. Rev Immunology Today 20 (1): 46-52, 1999.

233. Reichert TE, Rabinowich H, Lohnson JT, Whiteside TL. Human immune cells in the tumor microenvironment: mechanisms responsible for signaling and functional defects. J Immunother 21: 295-306, 1998.

234. Shurin MR, Esche C, Lokshin A, Lotze MT. Apoptosis in dendritic cells, in Dendritic Cells: Biology and Clinical Applications (Lotze MT, Thomson AW, eds) 673-692, 1999. Academic Press, NY.

235. Dworacki G, Meidenbauer N, Kuss I, Hoffmann TK, Gooding MS, Lotze M, Whiteside TL. Decrease ζ chain expression and apoptosis in CD3+ peripheral blood T lymphocytes of patients with melanoma. Clin Cancer Res, 2000.

236. Saito T, Kuss I, Dworacki G, Gooding W, Johnson JT, Whiteside TL. Spontaneous ex vivo apoptosis of peripheral blood mononuclear cells in patients with head and neck cancer. Clin Cancer Res 5: 1263-1273, 1999.

237. Saito T, Dworacki G, Gooding W, Lotze MT, Whiteside TL. Spontanious apoptosis of CD8+ T lymphocytes in peripheral blood of patients with advanced melanoma. Clin Cancer Res 6: 1351-1364, 2000.

238. Rabinowich H, Reichert TE, Kashii Y, Bell MC, Whiteside TL. Lymphocyte apoptosis induced by Fas ligand- expressing ovarian carcinoma cells: implications for altered expression of TcR in tumor- associated lymphocytes. J Clin Invest 101: 2579-2588, 1998.

239. Finke JH, Rayman P, Tannenbaum GR, et al. Tumor- induced sensitivity to apoptosis in T cells from patients with renal cell carcinoma: role of nuclear factor kappa B suppression. Clin Cancer Res 7: 940-946, 2001.

240. Whiteside TL. Signaling defects in T lympocytes of patients with malignancy. Symposium- in- writing. Cancer Immunol Immunother 48: 346-352, 1999.

241. Whiteside TL. Apoptosis of immune cells in the tumor microenvironment and peripheral circulation of patients with cancer: implications for immunotherapy. Vaccine 20: 46-51, 2002.

242. Finke JH, Zea AH, Stanley J, Longo DL, Mizoguchi H, Tubbs RR, Wiltrout RH, O'Shea JJ, Kudou S, Klein E, Bukowski RM, Ochoa A. Loss of T-cell receptor ζ chain and p56lck in T-cell infiltrating human renal cell carcinoma. Cancer Res 53: 5613–5616, 1993.

243. Lai P, Rabinowich H, Crowley-Nowick PA, Bell MC, Mantovani G, Whiteside TL. Alteration in expression and function of signal transducing proteins in tumor-associated T and NK cells in patients with ovarian carcinoma. Clin. Cancer Res 2: 161–173, 1996.

244. Nakagomi H, Petersson M, Magnusson I, Juhlin C, Matsuda M, Mellstedt H, Taupin JL, Vivier E, Anderson P, Kiessling R. Decreased expression of the signal-transducing ζ chains in tumor-infiltrating T-cell and NK cells of patients with colorectal carcinoma. Cancer Res 53: 5610–5612, 1993.

245. Rabinowich H, Banks M, Reichert T, Logan TF, Kirkwood JM, Whiteside T L. Expression and activity of signaling molecules in T lymphocytes obtained from patients with metastatic melanoma before and after IL-2 therapy. Clin. Cancer Res 2: 1263–1274, 1996.

246. Young RC, Corder MP, Haynes HA, DeVita VT. Delayed hypersensitivity in Hodgkin's disease. A study of 103 untreated patients. Am. J. Med 52: 63-68, 1972.

247. Reichert TE, Day R, Wagner EM, Whiteside TL. Absent of low expression of the ζ chain in T cells at the tumor site correlates with poor survival in patients with oral carcinoma Cancer Res 58: 5344-5347, 1998.

248. Rabinowich H, Reichert TE, Kashii Y, Bell MC, Whiteside TL. Lymphocyte apoptosis induced by Fas ligand-expressing ovarian carcinoma cells: implications for altered expression of TcR in tumor-associated lymphocytes. J. Clin. Investig 101: 2579-2588, 1998

249. Gastman BR, Johnson DE, Whiteside TL. Rabinowich H. Caspase-mediated degradation of TCR-ζ chain. Cancer Res 59: 1422-1427, 1999.

250. Whiteside TL. Signaling defects in T lymphocytes of patients with malignancy. Cancer Immunol. Immunother 48: 401-410, 1999.

251. Lai P, Rabinowich H, Crowley-Nowick PA, Bell MC, Mantovani G, Whiteside TL. Alternation in expression and function of signal-transducing proteins in tumor-associated T and natural killer cells in patients with ovarian carcinoma. Clin. Cancer Res 2: 161, 1996

252. Gunji Y, Hori S, Aoe T, Asano T, Ochiai T, Isono K, Saito T. High frequency of cancer patients with abnormal assembly of the T cell receptor-CD3 complex in peripheral blood T lymphocytes. Jpn. J. Cancer Res 85: 1189-1192, 1994.

253. Kono K, Ressing ME, Brandt RM, Melief CJ, Potkul RK, Andersson B, Petersson M, Kast MW, Kiessling R. Decreased expression of signal transducing ζchain on peripheral T cells and NK cells in patients with cervical cancer. Clin. Cancer Res 2: 1825-1828, 1996.

254. Zea AH, Curti BD, Longo DL, Alvord WG, Strobi SL, Mizoguchi H, Creekmore SP, Ochoa JJ. Alteration in T-cell receptor and signal transduction molecules in melanoma patients. Clin. Cancer Res 1: 1327-1335, 1995.

255. Matsuda M, Petersson M, Lenkei R, Taupin JL, Magnusson I, Mellstedt H, Anderson P, Kiessling R. Alterations in the signal-transducing molecules of T cells and NK cells in colorectal tumor-infiltrating, gut mucosal and peripheral lymphocytes: correlation with the stage of the disease. Int. J. Cancer 61: 765-772, 1995.

256. Mulder WM, Bloemena E, Stukart MJ, Kummer JA, Wagstaff J, Scheper RJ. T cell receptor-ζ and granzyme B expression in mononuclear cell infiltrates in normal colon mucosa and colon carcinoma. Gut 40: 113-119, 1997.

257. Reichert TL, Strauss L, Wanger EM, Gooding W, Whiteside TL. Signaling abnormalities, apoptosis and reduced proliferation of circulating and tumor-infiltrating lymphocytes in patients with oral carcinoma. Clin Cancer Res 8, 2002.

258. Rabinowich H, Reichert TE, Kashii Y, Gastman BR, Bell MC, Whiteside TL. Lymphocyte apoptosis induced by Fas ligand-expressing ovarian carcinoma cells: implications for altered expression of TcR in tumor associated lymphocytes. J. Clin. Invest 101: 2579–2588, 1998.

259. Gastman BR, Johnson DE, Whiteside TL, Rabinowich H. Caspase- mediated degradation of T- Cell receptor ζ- chain. Clin Cancer Res 59: 1422-1427, 1999.

260. Wesch D, Marx S, Kabelitz D. Monocyte-dependent death of freshly isolated T lymphocytes: induction by phorbolester and mitogens and differential effects of catalase. J. Immunol 161: 1248-1256, 1998.

261. Takahashi A, Kono K, Ichihara F, Sugai H, Amemiya H, Iizuka H, Fujii H, Matsumoto Y. Macrophages in tumor-draining lymph node with different characteristics induce T-cell apoptosis in patients with advanced stage-gastric cancer. Int. J. Cancer 104: 393-399, 2003.

262. Bauer M KA, Vogt M, Los M, Siegel J, Wesselborg S, Schulze-Osthoff K. Role of reactive oxygen intermediates in activation-induced CD95 (APO-1/Fas) ligand expression. J. Biol. Chem 273: 8048-8055, 1998.

263. Vogt M, Bauer MK, Ferrari D, Schulze-Osthoff K. Oxidative stress and hypoxia/reoxygenation trigger CD95 (APO-1/Fas) ligand expression in microglial cells. FEBS Lett 429: 67-72, 1998.

264. Kono K, Salazar-Onfray F, Petersson M, Hansson J, Masucci G, Wasserman K, Nakazawa T, Anderson P, Kiessling R. Hydrogen peroxide secreted by tumor-derived macrophages down-modulates signal-transducing ζmolecules and inhibits tumor-specific T cell- and natural killer cell-mediated cytotoxicity. Eur. J. Immunol 26: 1308-1313, 1996.

265. Malmberg KJ, Arulampalam V, Ichihara F, Petersson M, Seki K, Andersson T, Lenkei R, Masucci G, Pettersson S, Kiessling R. Inhibition of activated/memory (CD45RO(+)) T cells by oxidative stress associated with block of NF-κB activation. J. Immunol 167: 2595-2561, 2001.

266. Saito T, Dworacki G, Gooding W, Lotze MT, Whiteside TL. Spontaneous Apoptosis of $CD8^+$ T Lymphocytes in Peripheral Blood of Patients with Advanced Melanoma. Clinical Cancer Res 6: 1351-1364, 2000.

267. Woo EY, Chu CS, Goletz TJ, Schlienger K, Yeh H, Coukos G, Rubin SC, Kaiser LR, June CH.Regulatory $CD4^+CD25^+$ T Cells in Tumors from Patients with Early-Stage Non-Small Cell Lung Cancer and Late-Stage Ovarian Cancer. Cancer Research 61: 4766-4772, 2001.

268. Woo EY, Chu CS, Goletz TJ, Schlienger K, Yeh H, Coukos G, Rubin SC, Kaiser LR, June CH. Regulatory CD4(+)CD25(+) T cells in tumors from patients with early-stage non-small cell lung cancer and late-stage ovarian cancer. Cancer Res 61: 4766-4772, 2001.

269. Woo EY, Yeh H, Chu CS, Schlienger K, Carroll RG, Riley JL, Kaiser LR, June CH. Cutting edge: regulatory T cells from lung cancer patients directly inhibit autologous T cell proliferation. J. Immunol 168: 4272-4276, 2002.

270. Liyanage UK, Moore TT, Joo HG, Tanaka Y, Herrmann V, Doherty G, Drebin JA, Strasberg SM, Eberlein TJ, Goedegebuure PS, Linehan DC. Prevalence of regulatory T cells is increased in peripheral blood and tumor microenvironment of patients with pancreas or breast adenocarcinoma. J. Immunol 169: 2756-2761, 2002.

271. Ichihara F, Kono K, Takahashi A, Kawaida H, Sugai H, Fujii H. Increased Populations of Regulatory T Cells in Peripheral Blood and Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Patients with Gastric and Esophageal Cancers. Clinical Cancer Res 9: 4404-4408, 2003.

272. Rossi F, Zabucchi G, Dri P, Bellavite P, Berton G. O_2^- and H_2O_2 production during the respiratory burst in alveolar macrophages. Adv. Exp. Med. Biol. 121:53, 1979.

273. Dahlgren C, Karlsson. Respiratory burst in human neutrophils. J. Immunol. Methods 232:3, 1999.

274. Flescher E, Ledbetter JA, Schieven GL, Vela-Roch N, Fossum D, Dang H, Ogawa N, Talal N. Longitudinal exposure of human T lymphocytes to weak oxidative stress suppresses transmembrane and nuclear signal transduction. J. Immunol. 153:4880, 1994.

275. Flescher E, Tripoli H, Salnikow K, Burns FJ. Oxidative stress suppresses transcription factor activities in stimulated lymphocytes. Clin. Exp. Immunol. 112:242, 1998.

276. Lahdenpohja N, Savinainen K, Hurme M. Pre-exposure to oxidative stress decreases the nuclear factor-κB-dependent transcription in T lymphocytes. J. Immunol. 160:1354, 1998.

277. Hansson M, Asea A, Ersson U, Hermodsson S, Hellstrand K. Induction of apoptosis in NK cells by monocyte-derived reactive oxygen metabolites. J. Immunol. 156:42, 1996.

278. Bingisser RM, Tilbrook PA, Holt PG, Kees UR. Macrophage-derived nitric oxide regulates T cell activation via reversible disruption of the Jak3/STAT5 signaling pathway. J. Immunol. 160:5729, 1998.

279. Aune TM, Mora AL, Kim S, Boothby M, Lichtman AH. Costimulation reverses the defect in IL-2 but not effector cytokine production by T cells with impaired IκBα degradation. J. Immunol. 162:5805, 1999.

280. Schottelius AJ, Mayo MW, Sartor RB, Baldwin AS. Interleukin-10 signaling blocks inhibitor of κB kinase activity and nuclear factor κB DNA binding. J. Biol. Chem. 274:31868, 1999.

281. Bauer MKA, Vogt M, Los M, Siegel J, Wesselborg S, Schulze-Osthoff K. Role of reactive oxygen intermediates in activation-induced CD95 (APO-1/Fas) ligand expression. J. Biol. Chem. 273:8048, 1998.

282. Dumont A, Hehner SP, Hofmann TG, Ueffing M, Droge W, Schmitz ML. Hydrogen peroxide-induced apoptosis is CD95-independent, requires the release of mitochondria-derived reactive oxygen species and the activation of NF-κB. Oncogene 18:747, 1999.

283. Malmberg KJ, Arulampalam V, Ichihara F , Petersson M‡, Seki K, Andersson T, Lenkei R, Masucci G, Pettersson S, Kiessling R. Inhibition of Activated/Memory (CD45RO$^+$) T Cells by Oxidative Stress Associated with Block of NF-KB Activation. The Journal of Immunology 167: 2595-2601, 2001.

284. Kono K, Salazar- Onfray F, Petersson M, Hansson J, Masucci G, Wasserman K, Nakazawa T, Anderson P, Kiessling R. Hydrogen peroxide secreted by tumor- derived macrophages down- modulates signal- transducing zeta molecules and inhibits tumor- specific T cell – and natural killer cell- mediated cytotoxicity. Eur J Immunol 26: 1308-1313, 1996.

285. Takahashi A, Kono K, Ichihara F, Sugai H, Amemiya H, Iizuka H, Fujii H, Matsumoto Y. Macrophages in tumor-draining lymph node with different characteristics induce T-cell apoptosis in patients with advanced stage-gastric cancer. Int J Cancer 104(4):393-399, 2003.

286. Murata Y, Shimamura T, Hamuro J. The polarization of Th1/Th2 balance is dependent on the intracellular thiol redox status of macrophages due to the distinctive cytokine production. Int Immunol 14: 201-212, 2002.

287. Hakki A, Pennypacker K, Eidizadeh S, Friedman H, Pross S. Nicotine inhibition of apoptosis in murine immune cells. Experimental Biology and Medicine 226: 947-953, 2001.

288. Shirazi NM, Guinet E. Evidence for the immunosuppressive role of nicotine human dendritic cell fuctions. Immunology 109 (3): 365-373, 2003.

289. Middlebrook AJ, Martina C, Chang Y, Lukas RJ, DeLuca D. Effects of nicotine exposure on T Cell development in fetal thymus organ culture: Arrest of T Cell Maturation. The Journal of Immunology 169: 2915-2924, 2002.

290. Linton P, Thoman ML. T cell senescence. Front Biosci 6: D248-261, 2001.

291. Hakim FT, Flomerfelt FA, Boyiadzis M, Gress RE. Aging, immunity and cancer. Curr Opin Immunol 16 (2): 151-156, 2004.

292. Donnini A, Re F, Bollettini M, Moresi R, Tesei S, Bernardini G, Provinciali M. Age- related susceptibility of naive and memory CD4 T cells to apoptosis

induced by IL-2 deprivation or PHA addition. Biogerontology 6(3): 193-204, 2005.

293. Effros RB, Cai Z, Linton PJ. CD8 T cells and aging. Crit Rev Immunol 23 (1-2): 45-64, 2003.

294. Pawelec G, Remarque E, Barnett Y, Solana R. T cells and aging. Front Biosci 3: D59-99, 1998.

295. Mocchegiani E, Molavolta M. NK and NKT cell functions in immunosenescence. Aging Cell 3(4): 177-184, 2004.

296. Weigle WO. Effects of aging on the immune system. Hosp Pract (Off Ed) 24 (12): 112-119, 1989.

297. Gregg R, Smith CM, Clark FJ, Dunnion D, Khan N, Chakraverty R, Nayak L, Moss PA. The number of human peripheral blood CD4+ CD25high regulatory T cells increases with age. Clin Exp Immunol 140(3): 540-546, 2005.

298. Bodey B, Bodey B Jr, Siegel SE, Kaiser HE. Involution of the mammalian thymus, one of the leading regulators of aging. In Vivo 11(5): 421-440, 1997.

299. Weksler ME, Schwab R, Huetz F, et al. Cellular basis for the age-associated increase in autoimmune reactions. Int Immunol 2:329, 1990.

300. Ershler WB. The influence of an aging immune system on cancer incidence and progression. J Gerontol 48:B3, 1993.

301. Bonilla FA. Miscellaneous causes of secondary immune deficiency. Up to date, 2008.

302. Tsukishiro T, Donnenberg A, Johnson JT, Ferris RL, Whiteside TL. Apoptosis of CD8+ T cells in the circulation of patients with head and neck cancer: clinical correlations, submitted for publication. Vaccine 20 A46-A51, 2002.

303. Scheinman RI, Cogswell PC, Lofguist A, Baldwin AS. Jr. Role of transcriptional activation of I kappa B alpha in mediation of immunosuppression by glucocorticoids. Science 270:283, 1995.

304. Almawi WY, Beyhum HN, Rahme AA, Rieder MJ. Regulation of cytokine and cytokine receptor expression by glucocorticoids. J Leukoc Biol 60:563, 1996.

305. Auphan N, DiDonato JA, Rosette C, et al. Immunosuppression by glucocorticoids: Inhibition of NF-kB activation through induction of IkBa. Science 270:286, 1995.

306. W Winn Chatham, MD. Glucocorticoid effects on innate and acquired immunity. UpToDate, 2008.

307. Fauci AS, Dale DC, Balow JE. Glucocorticoid therapy: Mechanisms of action and clinical considerations. Ann Intern Med 84:304, 1976.

308. Cox G. Glucocorticoid treatment inhibits apoptosis in human neutrophils. Seoaration of survival and activation outcomes. J Immunol 154:4719, 1995.

309. Schleimer RP, Freeland HS, Peters SP, Brown KE. An assessment of the effects of glucocorticoids on degranulation, chemotaxis, binding to vascular endothelium and formation of leukotriene B4 by purified human neutrophils. J Pharmacol Exp Ther 250:598, 1989.

310. Gerlag DM, Haringman JJ, Smeets TJ, et al. Effects of oral prednisolone on biomarkers in synovial tissue and clinical improvement in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 50:3783, 2004.

311. Balow JE, Rosenthal AS. Glucocorticoid suppression of macrophage migration inhibitory factor. J Exp Med 137:1031, 1973.

312. Boumpas DT, Chrousos GP, Wilder RL, et al. Glucocorticoid therapy for immune-mediated diseases: basic and clinical correlates. Ann Intern Med 119:1198, 1993.

313. Rinehart JJ, Balcerzak SP, Sagone AL, et al. Effects of corticosteroids on human monocyte function. J Clin Invest 54:1337, 1974.

314. Gerrard TL, Cupps TR, Jurgensen CH, Fauci AS. Hydrocortisone-mediated inhibition of monocyte antigen presentation: Dissociation of inhibitory effect and expression of DR antigens. Cell Immunol 85:330, 1984.

315. Horst HJ, Flad HD. Corticosteroid-interleukin 2 interactions: inhibition of binding of interleukin 2 to interleukin 2 receptors. Clin Exp Immunol 68:156, 1987.

316. Paliogianni F, Ahuja SS, Balow JP, Balow JE. Novel mechanism for inhibition of human T cells by glucocorticoids. Glucocorticoids inhibit signal transduction through IL-2 receptor. J Immunol 151:4081, 1993.

317. Cohen JJ, Duke RC. Glucocorticoid activation of a calcium-dependent endonuclease in thymocyte nuclei leads to cell death. J Immunol 132:38, 1984.

318. Lanza L, Scudeletti M, Puppo F, Bosco O. Prednisone increases apoptosis in in vitro activated human peripheral blood T lymphocytes. Clin Exp Immunol 103:482, 1996.

319. Webster JC, Huber RM, Hanson RL, et al. Dexamethasone and tumor necrosis factor-alpha act together to induce the cellular inhibitor of apoptosis-2 gene and prevent apoptosis in a variety of cell types. Endocrinology 143:3866, 2002.

320. Franchimont D, Louis E, Dewe W, Martens H. Effects of dexamethasone on the profile of cytokine secretion in human whole blood cell cultures. Regul Pept 73:59, 1998.

321. Visser J, van Boxel-Dezaire A, Methorst D, Brunt T. Differential regulation of interleukin-10 (IL-10) and IL-12 by glucocorticoids in vitro. Blood 91:4255, 1998.

322. Slade JD, Hepburn B. Prednisone-induced alterations of circulating human lymphocyte subsets. J Lab Clin Med 101:479, 1983.

323. Settipane GA, Pudupakkam RK, McGowan JH. Corticosteroid effect on immunoglobulins. J Allergy Clin Immunol 62:162, 1978.

324. Posey WC, Nelson HS, Branch B, Pearlman DS. The effects of acute corticosteroid therapy for asthma on serum immunoglobulin levels. J Allergy Clin Immunol 62:340, 1978.

325. Fedor ME, Rubinstein A. Effects of long-term low-dose corticosteroid therapy on humoral immunity. Ann Allergy Asthma Immunol 97:113, 2006.

326. Jabara HH, Ahern DJ, Vercelli D, Geha RS. Hydrocortisone and IL-4 induce IgE isotype switching in human B cells. J Immunol 147:1557, 1991.

327. Maggini S, Wintergerst ES, Beveridge S, Hornig DH. Selected vitamins and trace elements support immune function by strengthening epithelial barriers and cellular and humoral immune responses. Br J Nutr. 1:S29-35, 2007.

328. Wintergerst ES, Maggini S, Hornig DH. Contribution of selected vitamins and trace elements to immune function. Ann Nutr Metab.51(4):301-323, 2007.

329. Calder PC, Kew S. The immune system: a target for functional foods? Br J Nutr. 2: S165-177, 2002.

330. Lissoni P, Meregalli S, Bonetto E, Mancuso M, Brivio F, Colciago M, Gardani G. Radiotherapy-induced lymphocytopenia: changes in total lymphocyte count and in lymphocyte subpopulations under pelvic irradiation in gynecologic neoplasms. J Biol Regul Homeost Agents 19(3-4):153-158, 2005.

331. Louagie H, Van Eijkeren M, Philippe J, Thierens H, de Ridder L. Changes in peripheral blood lymphocyte subsets in patients undergoing radiotherapy. Int J Radiat Biol. 75(6):767-771, 1999.

332. Santin AD, Hermonat PL, Ravaggi A, Bellone S, Roman J, Pecorelli S, Cannon M, Parham GP. Effects of concurrent cisplatinum administration during radiotherapy vs. radiotherapy alone on the immune function of patients with cancer of the uterine cervix. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 48(4):997-1006, 2000.

333. Bachtiary B, Herbacek I, Zideck T, Knocke TH, Dimopoulos J, Poetter R, Micksche M. Impact of radiotherapy with and without concurrent cisplatin on lymphocyte subpopulations in cervical cancer patients. Anticancer Res. 25(6C):4673-4678, 2005.

334. Nakayama Y, Makino S, Fukuda Y, Min KY, Ikemoto T, Shimizu A, Ohsawa N. Varied effects of thoracic irradiation on peripheral lymphocyte subsets in lung cancer patients. Intern Med 34(10):959-965, 1995.

335. Reiche EM, Morimoto HK, Nunes SM. Stress and depression-induced immune dysfunction: implications for the development and progression of cancer. Int Rev Psychiatry 17(6):515-527, 2005.

336. O'Brien SM, Scott LV, Dinan TG. Cytokines: abnormalities in major depression and implications for pharmacological treatment. Hum Psychopharmacol 19(6):397-403, 2004.

337. Calcagni E, Elenkov I. Stress system activity, innate and T helper cytokines, and susceptibility to immune-related diseases. Ann N Y Acad Sci 1069:62-76, 2006.

338. Theodoropoulos PA, Polioudaki H, Kostaki O, Dedras SP, Georgoulias V, Dagremont C, et al. Taxol affects nuclear lamina and pore complex organization and inhibits import of karyophilic proteins into the cell nucleus. Cancer Res 59: 4625-4633, 1999.

339. Reckzeh B, Metre H, Pfluger KH, Pfab R, Wolf M, Havemann K. Severer lymphocytopenia and interstitial pneumonia in patients treated with paclitaxel and simultaneous radiotherapy for non-small-cell lung cancer. J Clin Oncol 14: 1071-1076, 1996.

340. Koukourakis M, Kouroussis C, Kamilaki M, Koukouraki S, Giatromanolaki A, Kakolyris S, et al. Weekly docetaxel and concomitant boost radiotherapy for non-small cell lung cancer. A phase I/II dose escalation trial. Eur J Cancer 34: 838-844, 1998.

341. Strender LE, Blomgren H, Petrini B, Wasserman J, Forgren M, Norberg R, et al. Immunologic monitoring in breast cancer patients receiving postoperative adjuvant chemotherapy. Cancer 48: 1996-2002, 1981.

342. Brunvand MW, Collins C, Livingston RB, Raghu G. Pneumocystis carinii pneumonia associated with profound lymphopenia and abnormal T-lymphocyte subset ratios during treatment for early breast carcinoma. Cancer 67: 2407-2409, 1991.

343. Mackall CL, Fleisher TA, Brown MR, Magrath IT, Shad AT, Horowitz ME, et al. Lymphocyte depletion during treatment with intensive chemotherapy for cancer. Blood 84: 2221-2228, 1994.

344. Mackall CL, Fleisher TA, Brown M.R., Andrich MP, Chenn CC, Fenerstein IM, et al. Age, thymopoiesis and CD4+ T-lymphocyte regeneration after intensive chemotherapy. N Engl J Med 332: 143-149, 1995.

345. van der Klooster JM, Bosman RJ, Oudemans-van Straaten HM, van der Spoel JI, Wester JP, Zandstra DF. Disseminated tuberculosis, pulmonary aspergillosis and cutaneous herpes simplex infection in a patient with infliximab and methotrexate. Intensive Care Med 29(12):2327-2329, 2003.

346. Mackall CL. T- cell immunodeficiency cytotoxic antineoplastic therapy: a review. Stem Cells 18(1): 10-8, 2000.

347. Bergmann L, Fenchel K, Jahn B, Mitrou PS, Hoelzer D. Immunosuppressive effects and clinical response of flutarabine in refractory chronic lymphocytic leukemia. Ann Oncol 4: 371-375, 1993.

348. Wijermans PW, Gerrits WBJ, Haak HL. Severe immunodeficiency in patients treated with flutarabine monophosphate. Eur J Haematol 50: 292-296, 1993.

349. Sarra E, Kotsakis A, Souglakos J, Kouroussis C, Kakolyris S, Mavromanolakis E, et al. Post-chemotherapy lymphopoiesis in patients with solid tumors is characterized by CD4+ cell proliferation. Anticancer Res 19: 471-476, 1999.

350. Hakim FT, Cepeda R, Kaimei S, Mackall CL, McAtee N, Zujewski J, Cowan K, Gress RE. Constraints on CD4 recovery postchemotherapy in adults: thymic insufficiency and apoptotic decline of expanded peripheral CD4 cells. Blood. 90(9):3789-3798, 1997.

351. Mackall CL, Fleisher TA, Brown MR, Andrich MP, Chen CC, Feuerstein IM, Magrath IT, Wexler LH, Dimitrov DS, Gress RE. Distinctions between CD8+ and CD4+ T-cell regenerative pathways result in prolonged T-cell subset imbalance after intensive chemotherapy. Blood 89(10):3700-3707, 1997.

352. Kouroussis C, Androulakis N, Kakolyris S, Souglakos J, Maltezakis G, Metaxaris G, et al. First-line treatment of advanced non-small-cell lung carcinoma with docetaxel and vinorelbine. Cancer 83: 2083-2090, 1998.

353. Georgoulias V, Kouroussis C, Androulakis N, Kakolyris S, Dimopoulos AM, Papadakis E, et al. Front-line treatment of advanced non-small-cell lung cancer with docetaxel and gemcitabine: a multicenter phase II trial. J Clin Oncol 17: 914-920, 1999.

354. Geogroulias V, Androulakis N, Dimopoulos AM, Kouroussis C, Kakolyris S, Papadakis E, et al. First-line treatment of advanced non-small-cell lung cancer with docetaxel and cisplatin: a multicenter phase II study. Ann Oncol 9: 331-334, 1998.

355. Georgoulias V, Androulakis N, Bouros D, Kouroussis C, Chatzakis K, Papadakis E, et al. Combination chemotherapy with docetaxel, vinorelbine and cisplatin as first-line treatment of advanced non-small-cell lung cancer: a multicenter phase II study of the Greek Cooperative Group for Lung Cancer. Lung Cancer 2: 213-220, 1998.

356. Mavroudis D, Malamos N, Alexopoulos A, Kouroussis C, Agelaki S, Sarra E, et al. Salvage chemotherapy in anthracycline pretreated metastatic breast cancer patients with docetaxel and gemcitabine: a multicenter phase II trial. Ann Oncol 10: 1-5, 1998.

357. Wijermans PW, Gerrits WBJ, Haak HL. Severe immunodeficiency in patients treated with fludarabine monophosphate. Eur J Haematol 50: 292-296, 1993.

358. Betticher DC, Fey MF, Von Rohr A, et al. High incidence of infections after 2-chlorodeoxyadenoside (2-CDA) therapy in patients with malignant lymphomas and chronic acute leukemias. Ann Oncol 5: 57-64, 1994.

359. Anaissie EJ, Kontoyiannis DP, O' Brien S, et al. Infections in patients with chronic lymphocytic leukemia treated with fludarabine. Ann Intern Med 129: 559-566, 1998.

360. Ringel I, Horwitz SB. Studies with RP 56976 (Taxorete): a semi-synthetic analog of taxol. *J Natl Cancer Inst.* 83: 288-291, 1991.

361. Bissery MC, Guenard D, Gueritte-Voegelein F, Lavelle F. Experimental antitumour activity of Taxotere (PR 56976, NSC 628503), a taxol analogue. *Cancer Res.* 51: 4845-4852, 1991.

362. Piccart MJ. Taxoid compounds in breast cancer: current status and future prospects. *Cancer Treat Res.* 78: 185-207, 1995.

363. Fossela FV, Lee JS, Berille J, et al. Summary of phase II data of docetaxel (Taxotere), an active agent in the first-and second-line treatment of advanced non-small cell lung cancer. *Semin Oncol.* 22 (Suppl 4): 22-29, 1995.

364. Piccart MJ, Gore M, den Bokkel Huinink W, et al. Docetaxel: an active new drug for treatment of advanced epithelial ovarian cancer. *J Natl Cancer Inst.* 87: 676-681, 1995.

365. Kaye SB. Docetaxel (Taxotere) in the treatment of solid tumors other than breast and lung cancer. *Semin Oncol.* 22 (Suppl 4): 30-33, 1995.

366. Rougier P. Docetaxel delivers new management opportunities for gastrointestinal carcinomas. *Anticancer Drugs.* 6 (Suppl 4): 25-29, 1995.

367. Georgoulias V, Androulakis N, Dimopoulos AM, et al. First-line treatment of advanced non-small cell lung cancer with docetaxel and cisplatin: a multicenter phase II study. *Ann Oncol.* 9: 331-334, 1998.

368. Georgoulias V, Androulakis N, Bouros D, et al. Combination chemotherapy with docetaxel, vinorelbine and cisplatin as first-line treatment of advanced non-small cell lung cancer: a multicenter phase II study of the Greek cooperative Group for Lung Cancer. *Lung Cancer.* 21: 213-220, 1998.

369. Kouroussis Ch, Androulakis N, Kakolyris S, et al. First-line treatment of advanced non-small cell lung cancer with docetaxel and vinorelbine. *Cancer.* 83: 2083-2090, 1998.

370. Georgoulias V, Kouroussis Ch, Androulakis N, et al. Docetaxel (Taxotere) and vinorelbine (Navelbine) in the treatment of non-small cell lung cancer. *Semin Oncol.* 24 (suppl 14): 9-14, 1997.

371. Georgoulias V, Kouroussis Ch, Androulakis N, et al. Docetaxel (Taxotere) and gemcitabine (Gemsar) in the treatment of non-small cell lung cancer: preliminary results. *Semin Oncol.* 24 (Suppl 14): 22-25, 1997.

372. Alexopoulos K, Kouroussis Ch, Androulakis N, et al. Docetaxel and granulocyte colony-stimulating factor in patients with advanced non-small-cell lung cancer previously treated with platinum-based chemotherapy: a multicenter phase II trial. *Cancer Chemother Pharmacol.* 43: 257-262, 1999.