

ΦΑΓΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΕΚΡΗΞΗ

Αλεξάνδρα Φλέβα Ph.D Βιολόγος
Τμήμα Ανοσολογίας-Ιστοσυμβατότητας
Γ.Ν. «Παπαγεωργίου»



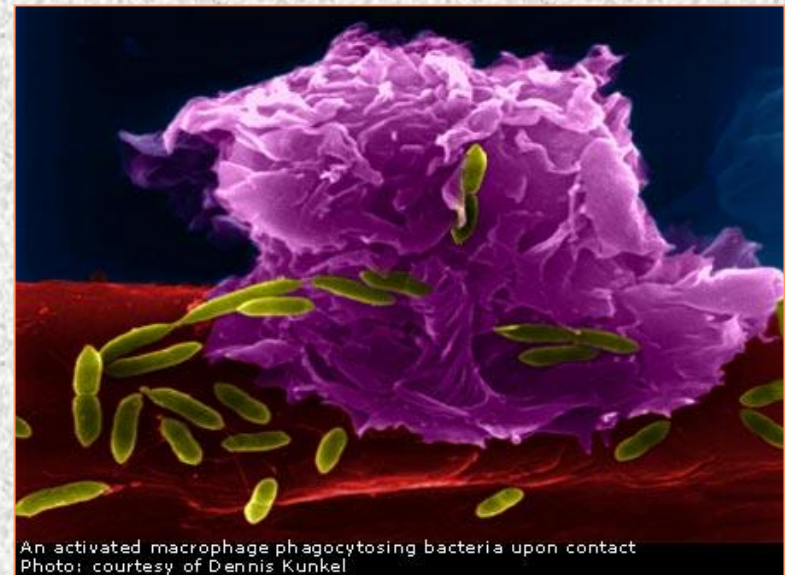
ΦΥΣΙΚΗ-ΜΗ ΕΙΔΙΚΗ ΑΝΟΣΙΑ

Φυσιολογικοί
φραγμοί

Κύτταρα

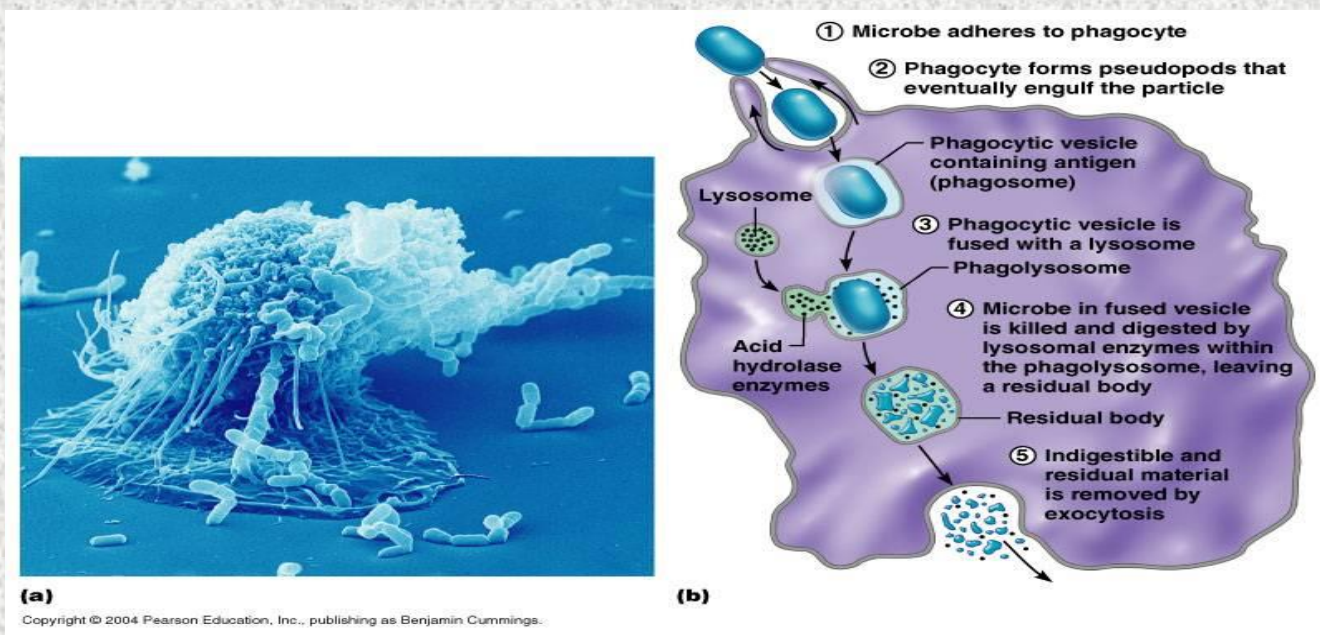
Χημικές
ουσίες

Αποτελεί τη πρώτη γραμμή άμυνας του οργανισμού, άμεση και μη ειδική, χωρίς μνήμη. Κυτταρικοί υποδοχείς και διαλυτά μόρια αναγνωρίζουν και αντιδρούν σε μια ποικιλία ξένων παραγόντων.

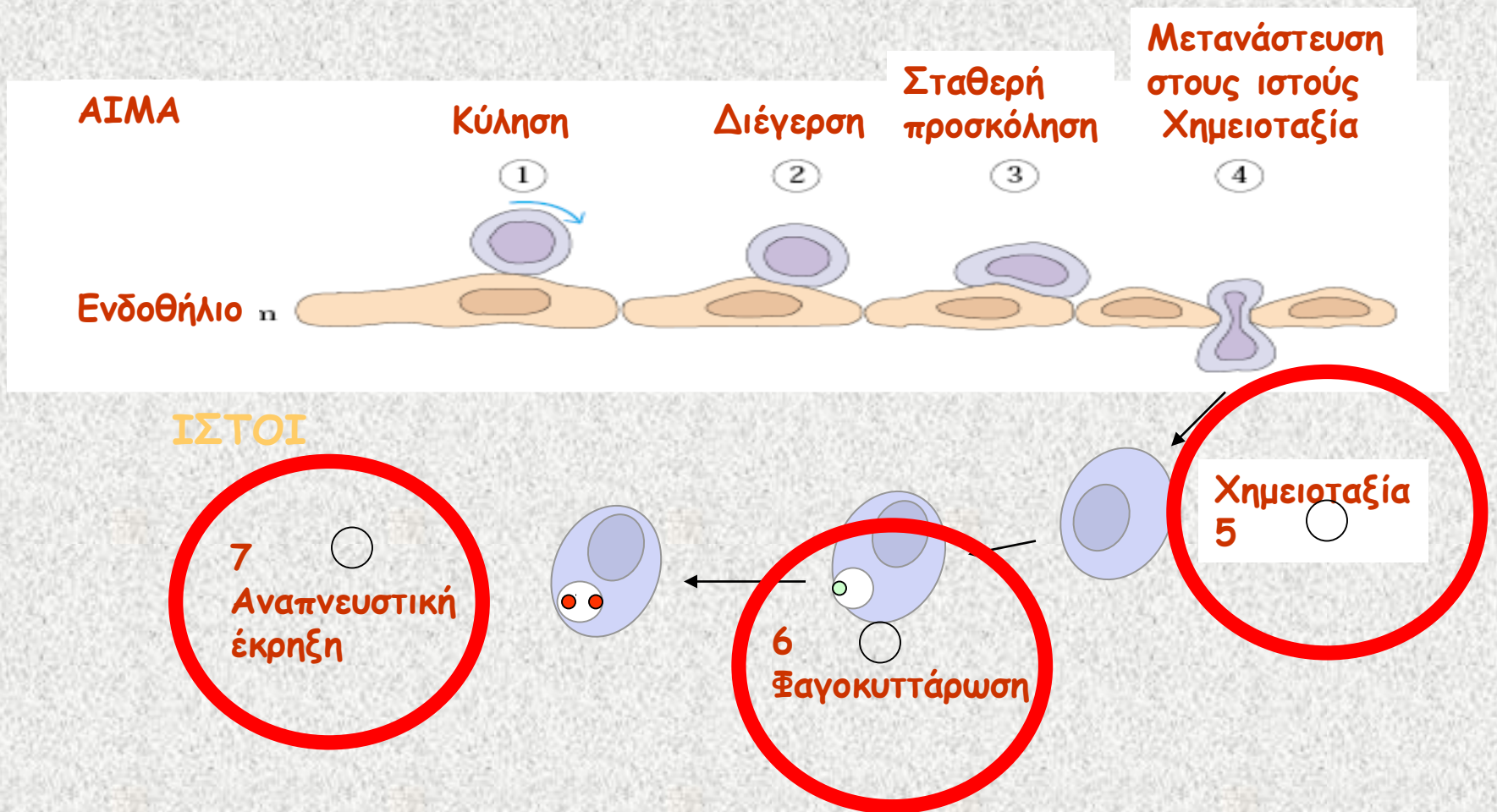


An activated macrophage phagocytosing bacteria upon contact
Photo: courtesy of Dennis Kunkel

Βασικός μηχανισμός της μη ειδικής ανοσίας αποτελεί η ικανότητα αναγνώρισης/πρόσληψης, ενσωμάτωσης και ενδοκυττάριας θανάτωσης «ξένων» στοιχείων από τα «επαγγελματικά» φαγοκύτταρα του ανοσιακού συστήματος που είναι τα μονοκύτταρα / μακροφάγα και τα ουδετερόφιλα.



Λειτουργίες των φαγοκυττάρων που μπορούν να ελεγχθούν με ΚΡ



ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΔΡΟΜΗ

NBT TEST

ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΤΟΥ ΚΥΑΝΟΥ ΤΟΥ ΤΕΤΡΑΖΟΛΙΟΥ



DHR 1,2,3 TEST

ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΤΗΣ ΔΙΥΔΡΟΡΟΔΑΜΙΝΗΣ 1,2,3

Biol Neonate 1997;72:201-209

Impact of Prematurity, Stress and Sepsis on the Neutrophil Respiratory Burst Activity of Neonates

Drossou V. · Kanakoudi F. · Tzimouli V. · Sarafidis K. · Taparkou A. · Bougiouklis D. · Petropoulou T. · Kremenopoulos G.

Departments of Neonatology and Pediatrics (Laboratory of Clinical Immunology), Aristotle University of Thessaloniki, Greece



Εμπορικά kit

phago.....

Burst.....

ΑΙΜΑ

Ενδοθήλιο

Κύληση

1

Διέγερση

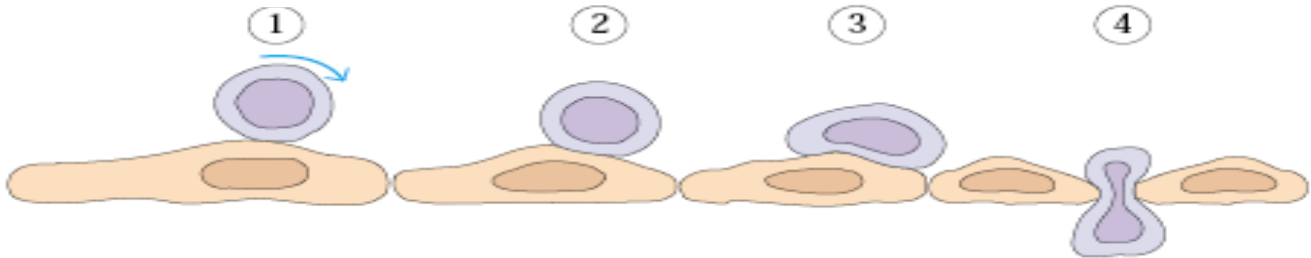
2

Σταθερή προσκόληση

3

Μετανάστευση στους ιστούς
Χημειοταξία

4



ΙΣΤΟΙ

Χημειοταξία

5

Φαγοκυττάρωση

6

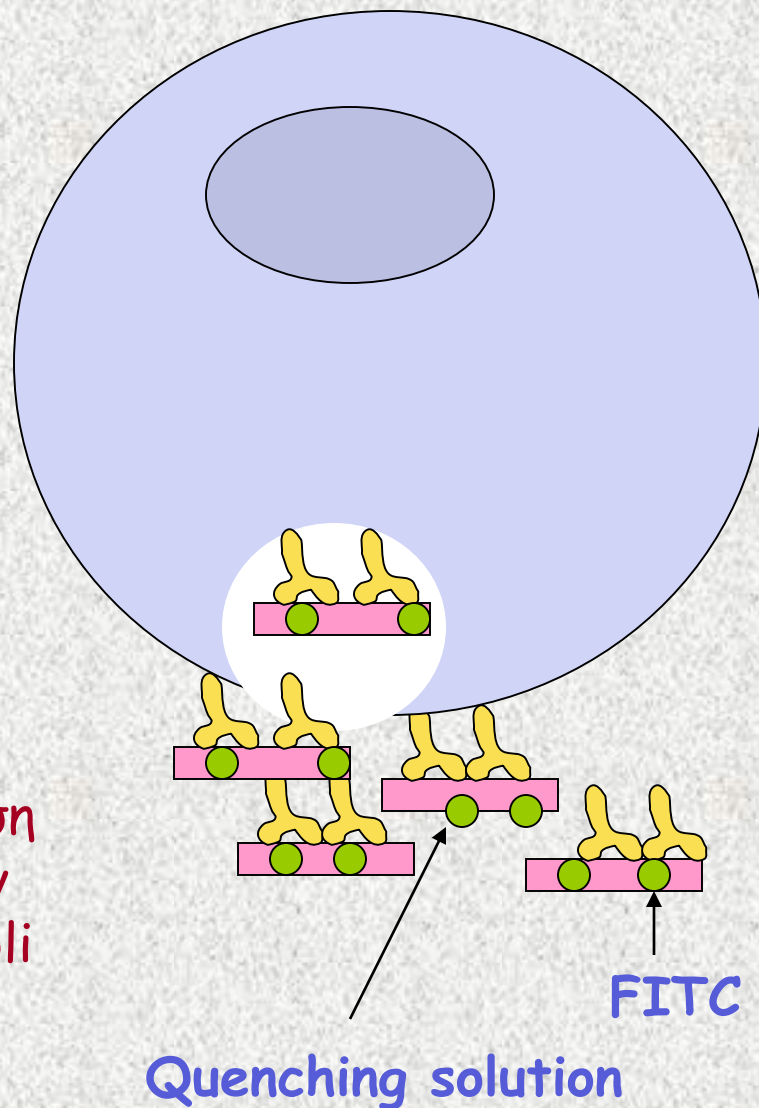
Συγγενείς διαταραχές

- Δυσλειτουργία ακτίνης
- Ανεπάρκεια tuftsin
- Ανεπάρκεια του υποδοχέα του C3bi

Επίκτητες Διαταραχές

- Σακχαρώδης Διαβήτης
- Νεφρική Ανεπάρκεια
- Λοιμώσεις
- Πολυτραυματίες

Βασική αρχή δοκιμασίας φαγοκυττάρωσης

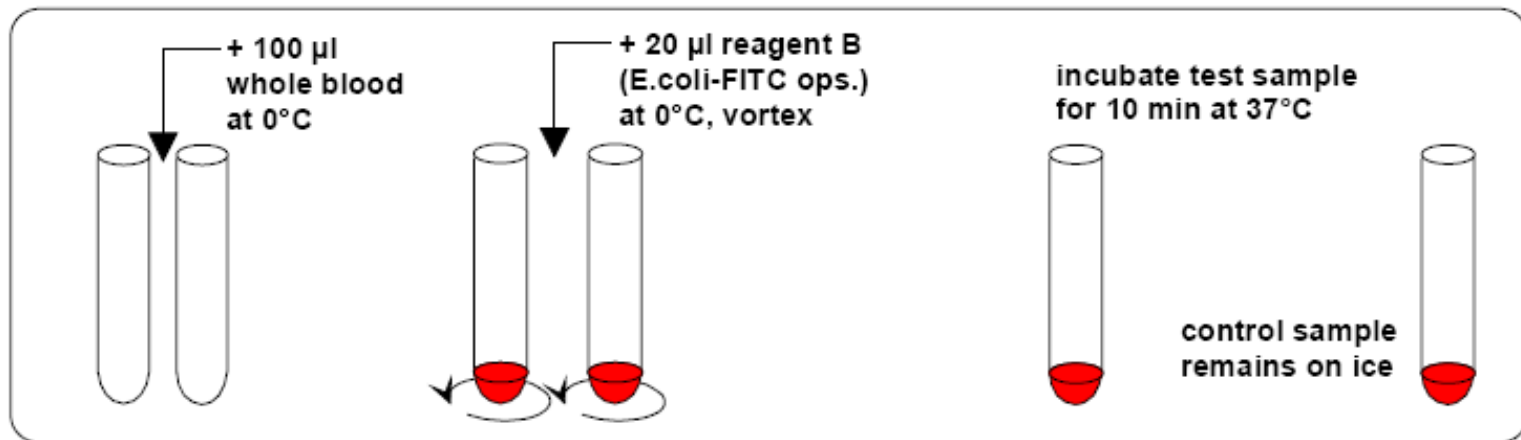


Η δοκιμασία φαγοκυττάρωσης γίνεται με τη χρήση οψονινοποιημένων βακτηριδίων *E. coli* σημασμένων με φλουρεσκεΐνη..

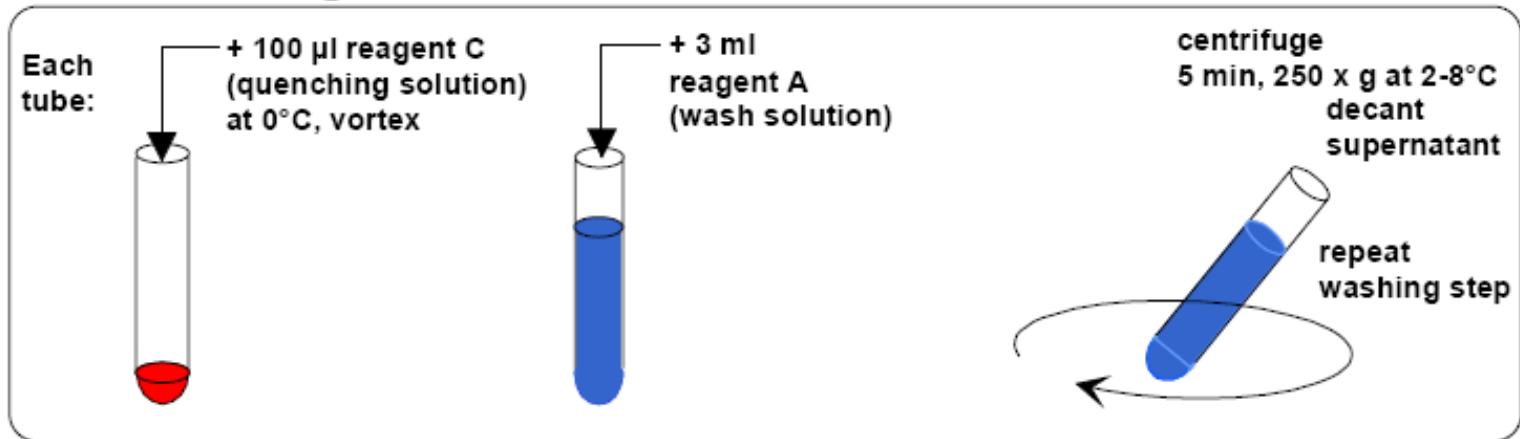
Τα δείγματα επωάζονται στις κατάλληλες συνθήκες και τα βακτήρια εγκολπώνονται από τα φαγοκύτταρα του δείγματος. Η ποσοτική και ποιοτική μέτρηση της έντασης των φθορίζοντων βακτηριδίων που φαγοκυτταρώνονται αντιστοιχούνται με την ποσοτική μέτρηση της φαγοκυτταρικής ικανότητας.

+Χρώση DNA

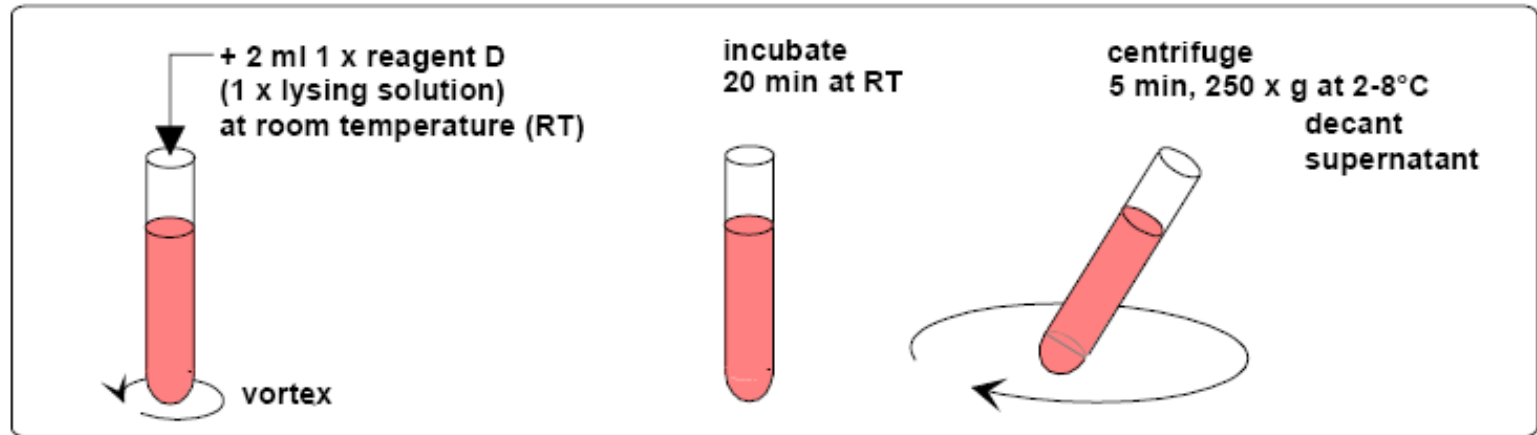
1. Labelling



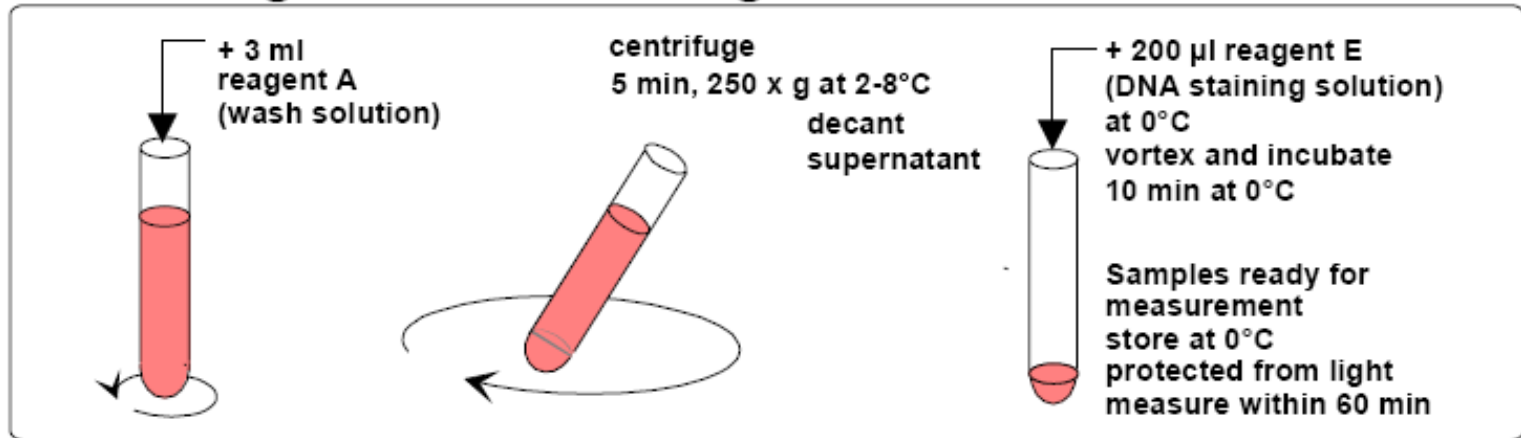
2. Quenching



3. Lysing and Fixation



4. Washing and DNA Staining



attention

προσοχή

Λειτουργική διαδικασία ΑΡΑ οι χρόνοι και η θερμοκρασία έχουν τεράστια σημασία

→ Αιμοληψία

→ Επώαση

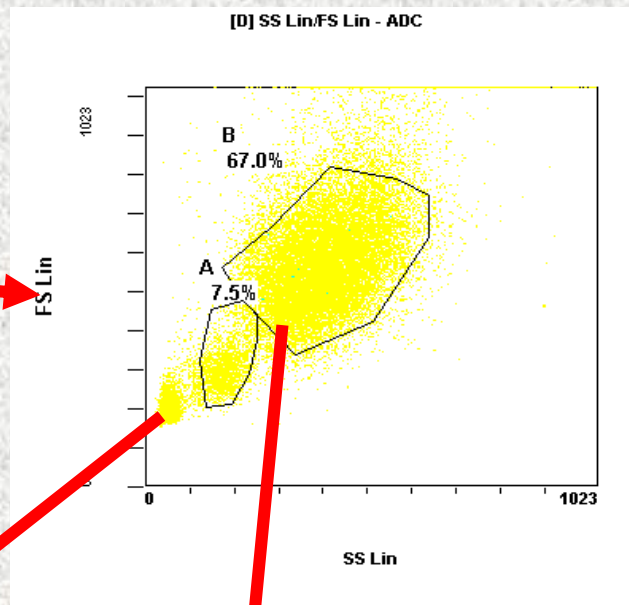
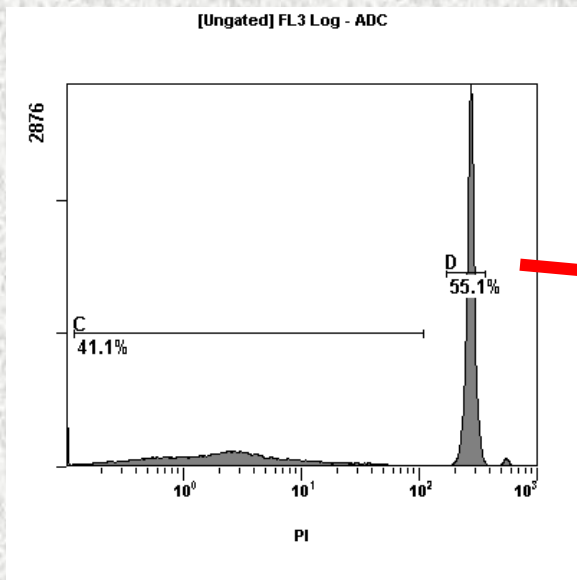
→ μέτρηση

Κατάλληλο αντιπηκτικό

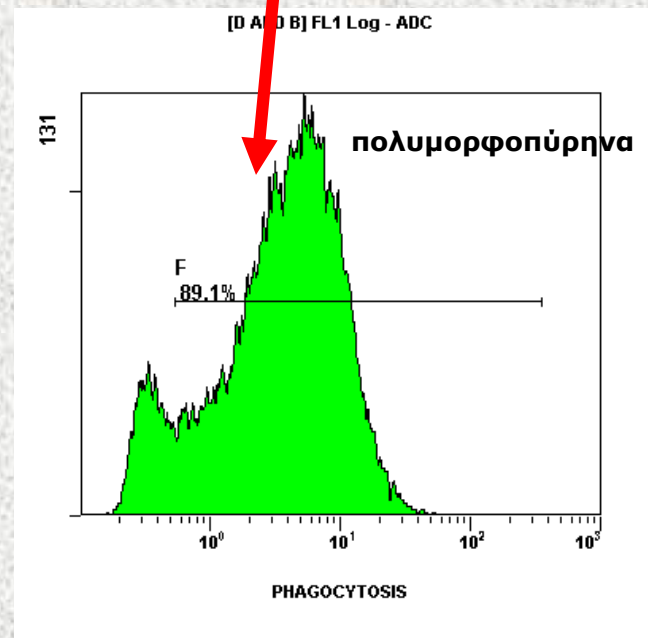
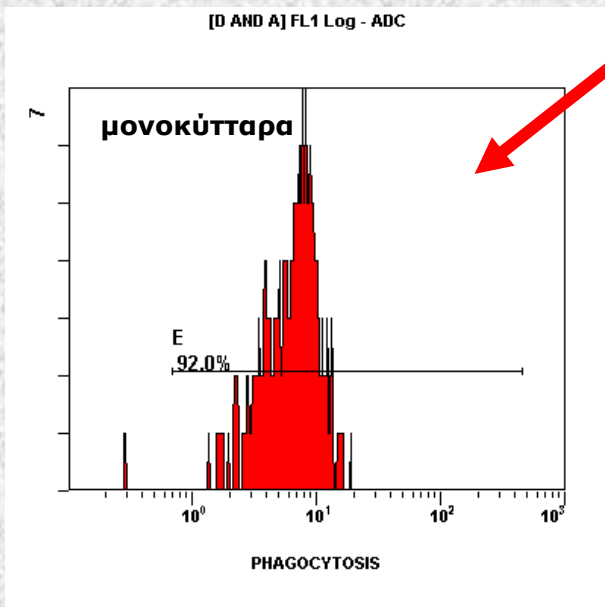
Βαθμονόμηση υδατόλουτρου

Βαθμονόμηση πιπετών



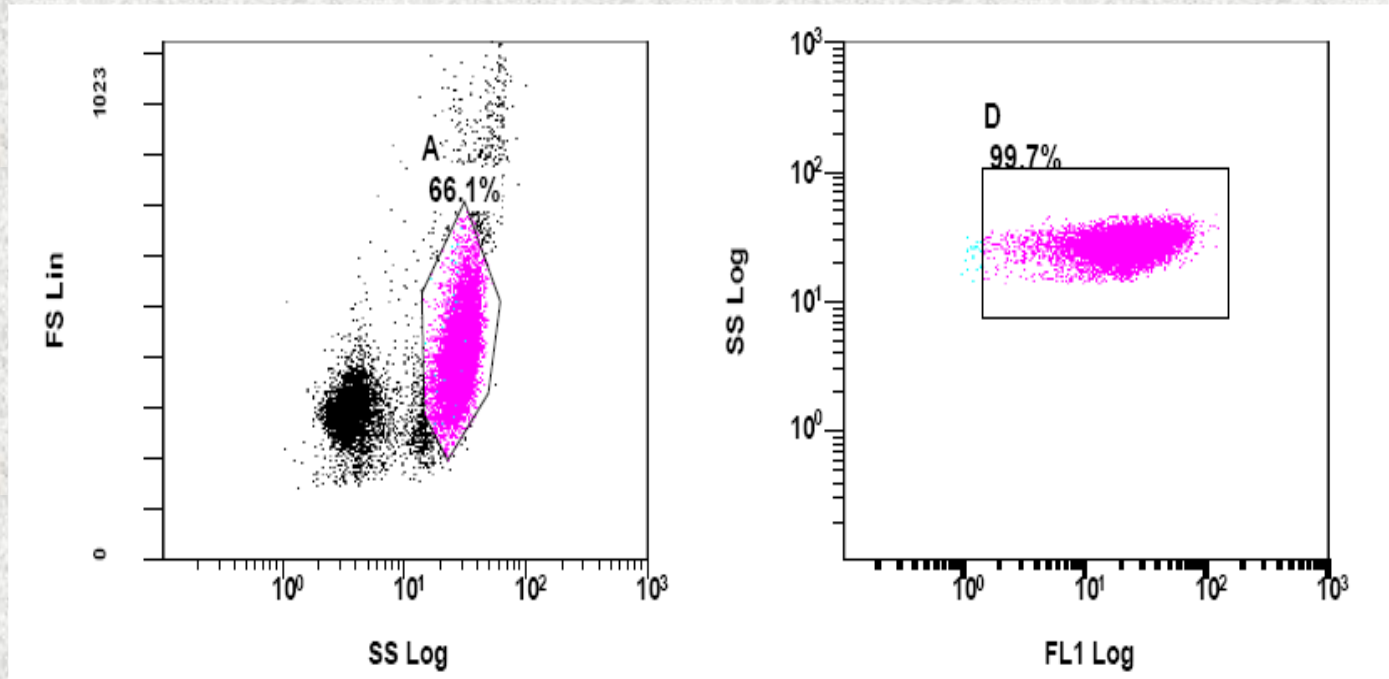


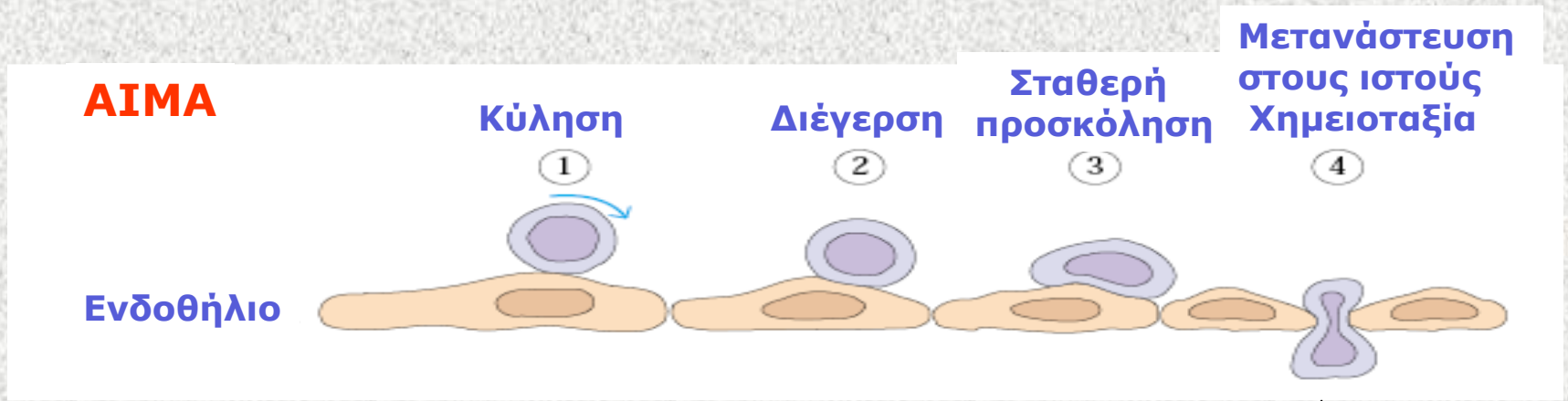
Σωληνάρια
στους 37°C



Λειτουργικός έλεγχος φαγοκυττάρωσης
Βασική ανάγνωση ιστογραμμάτων

Έλεγχος φαγοκυττάρωσης





ΙΣΤΟΙ

(7) **Αναπνευστική έκκριση**

(6) **Φαγοκυττάρωση**

Χημειοταξία (5)



Χρόνια Κοκκιωματώδης Νόσος

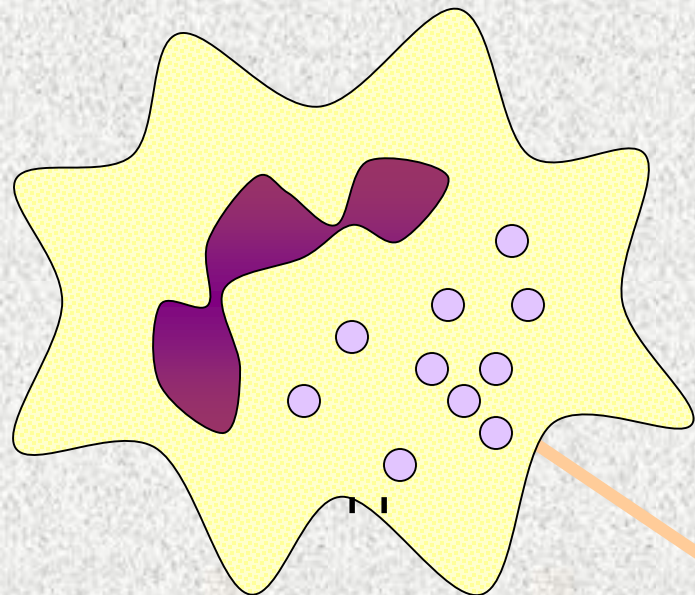
Ανεπάρκεια G6PD Ανεπάρκεια MPO

Μεταμόσχευση

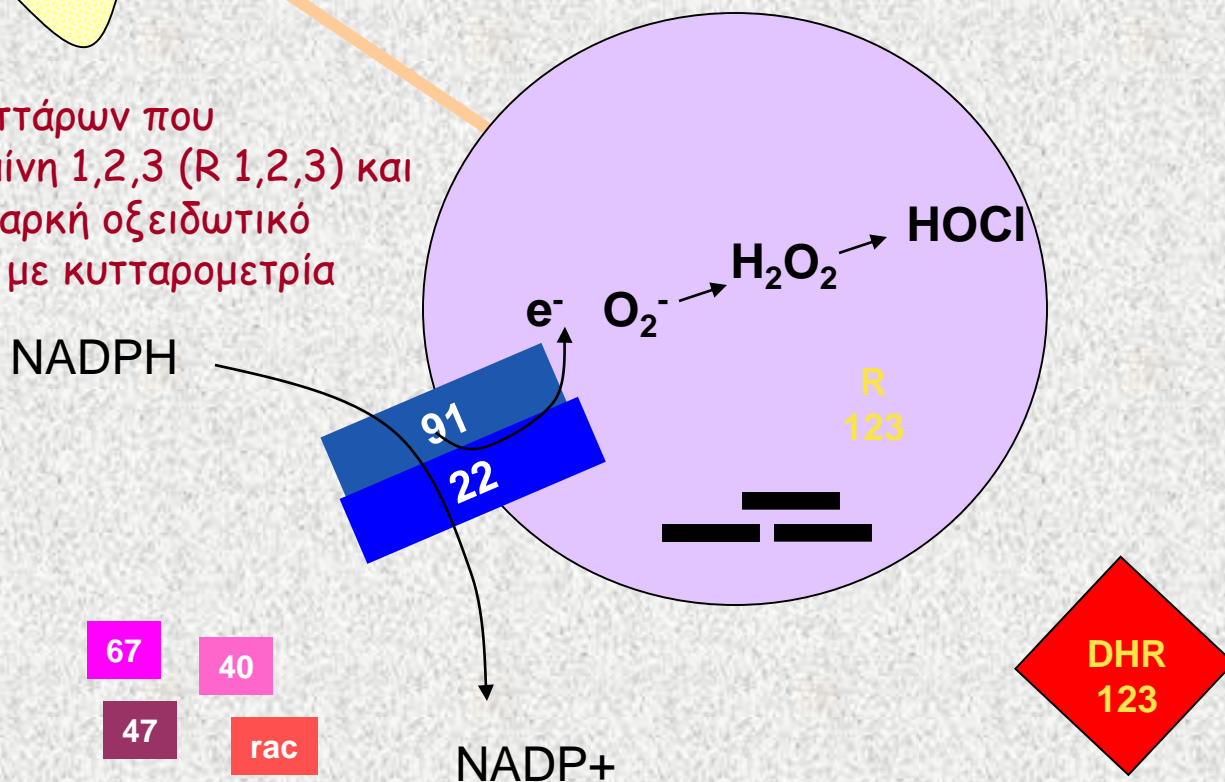
AIDS

Λειτουργικός έλεγχος αναπνευστικής έκρηξης.

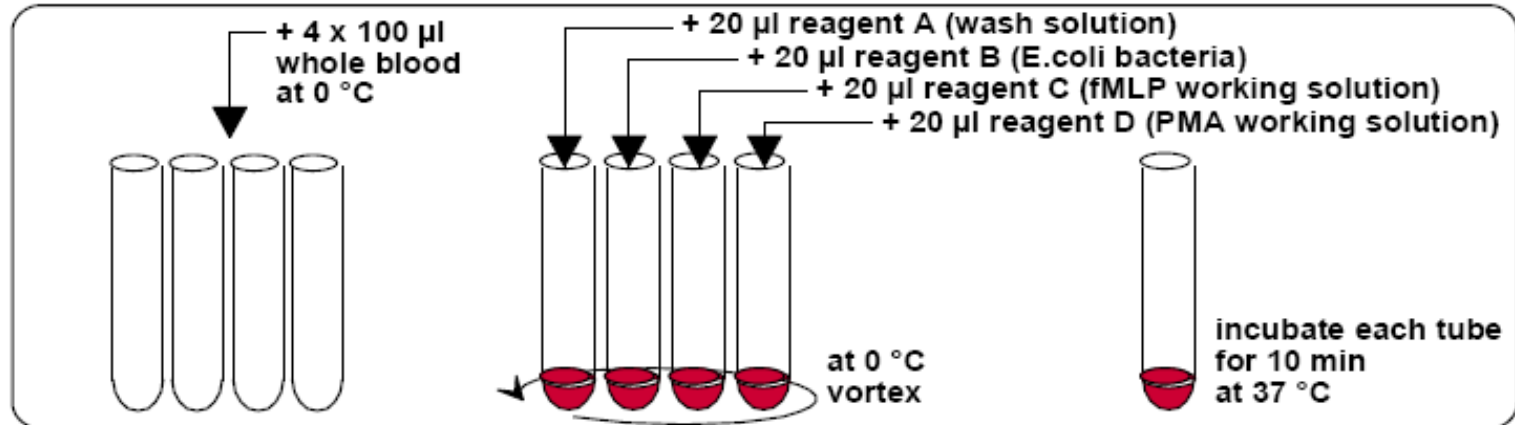
Η τεχνική αυτή εφαρμόζεται για την ποσοτική μέτρηση των παραγόμενων ελευθέρων ριζών οξυγόνου κατά την αναπνευστική έκρηξη του κυττάρου. Η διϋδροροδαμίνη είναι μια μεμβρανοδιαπερατή άχρωμη ουσία η οποία όταν οξειδωθεί από το H_2O_2 που εκλύεται κατά την τελική φάση της φαγοκυττάρωσης, μετατρέπεται σε φθορίζουσα κόκκινη χρωστική τη ροδαμίνη 1,2,3.



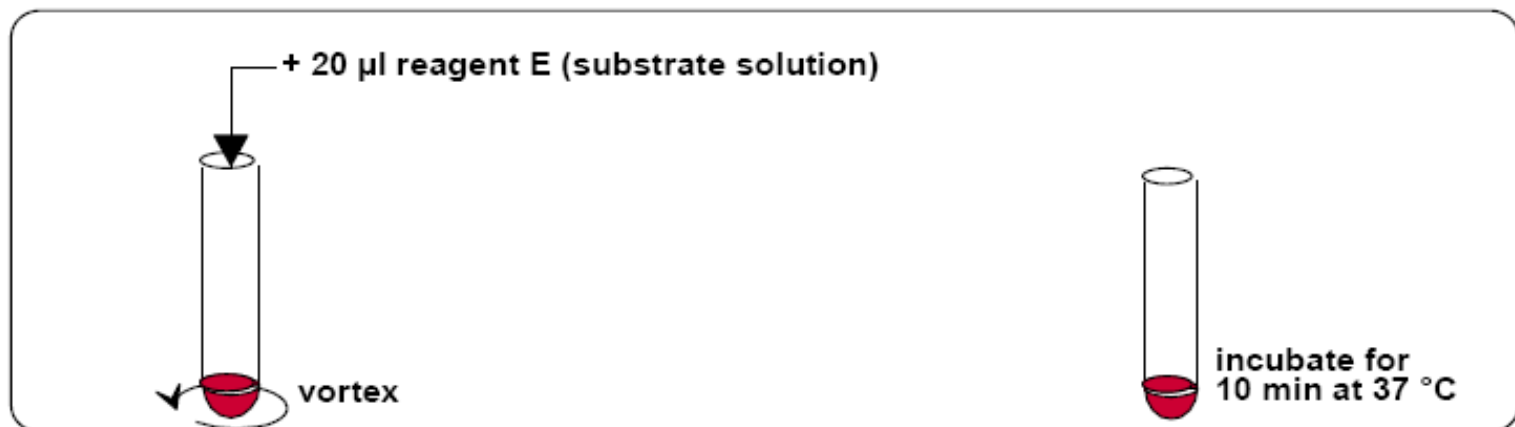
Το ποσοστό των κυττάρων που φθορίζουν με ροδαμίνη 1,2,3 (R 1,2,3) και επομένως έχουν επαρκή οξειδωτικό μηχανισμό μετράται με κυτταρομετρία ροής.



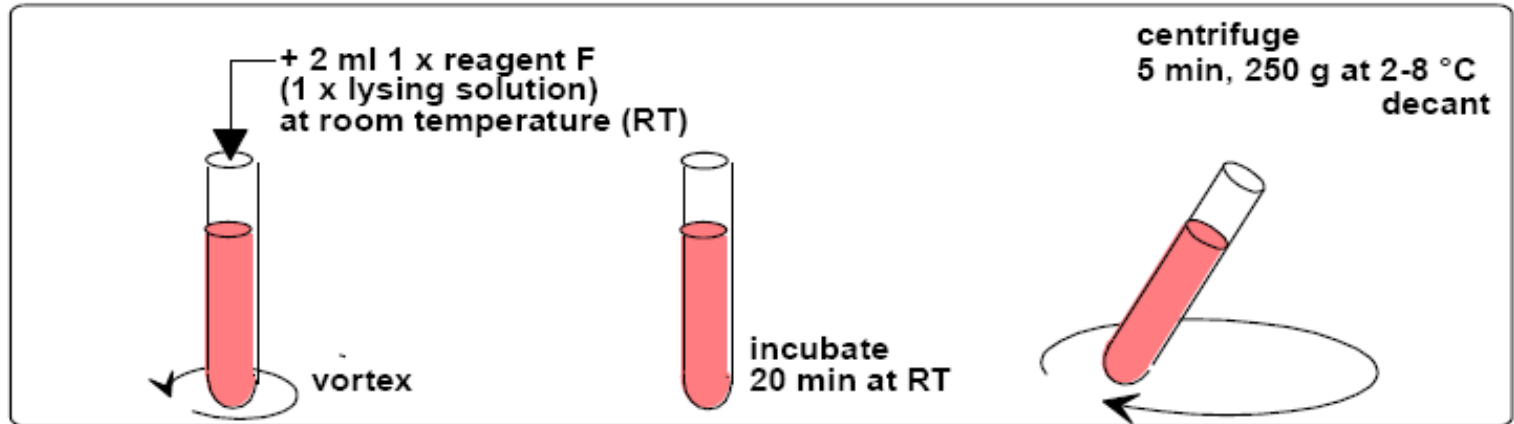
1. ACTIVATION with opsonized E.coli bacteria, PMA and fMLP



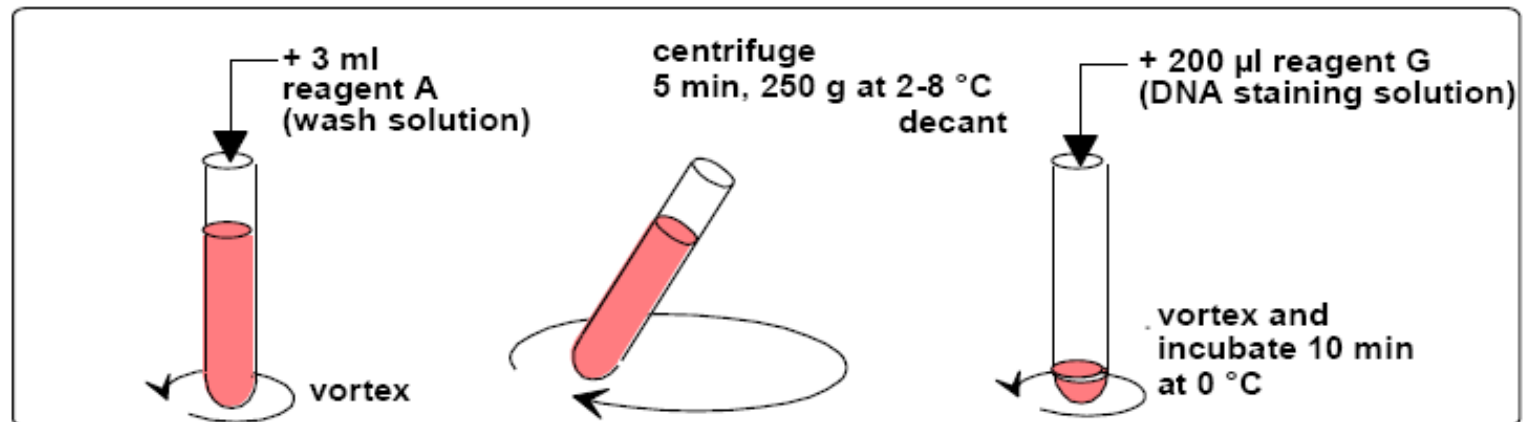
2. OXIDATION



3. LYSING and FIXATION

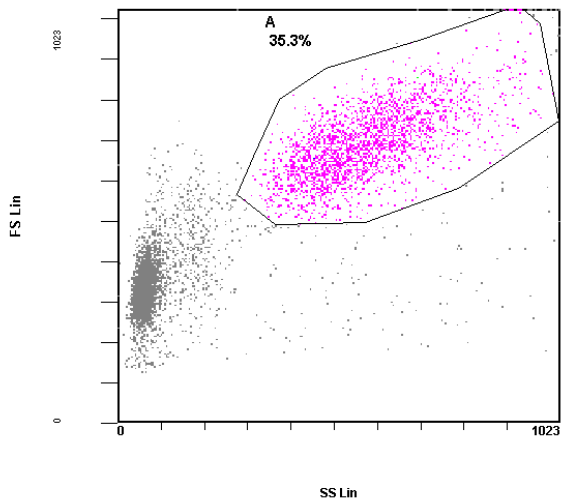


4. WASHING and DNA STAINING

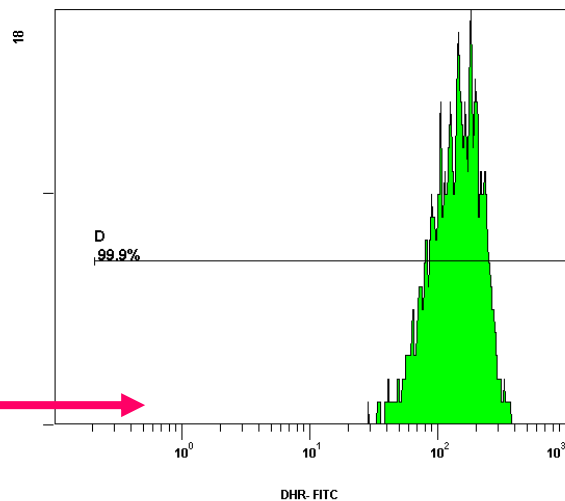


ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ DHR

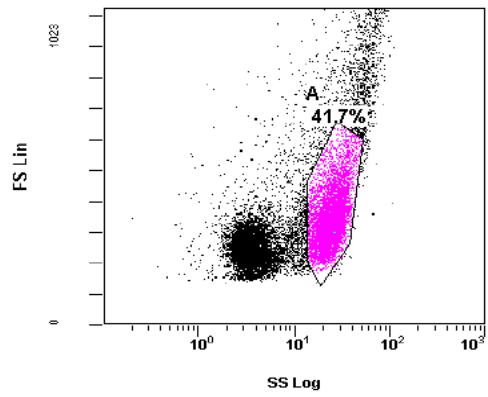
(F1)[Ungated] Iagonikos PMA 00000292 2008-07-17.LMD : SS Lin/FS Lin - ADC



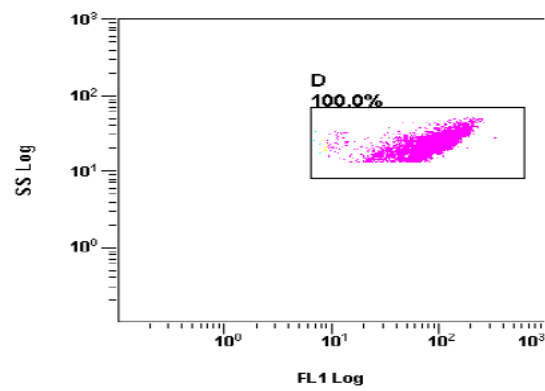
(F1)[A AND B] Iagonikos PMA 00000292 2008-07-17.LMD : FL1 Log - ADC



[Ungated] BURST TEST IOSIFIDOY 00017825 210.LMD : SS Log/FS Lin - ADC



(F1)[A] BURST TEST IOSIFIDOY 00017825 210.LMD : FL1 Log/SS Log



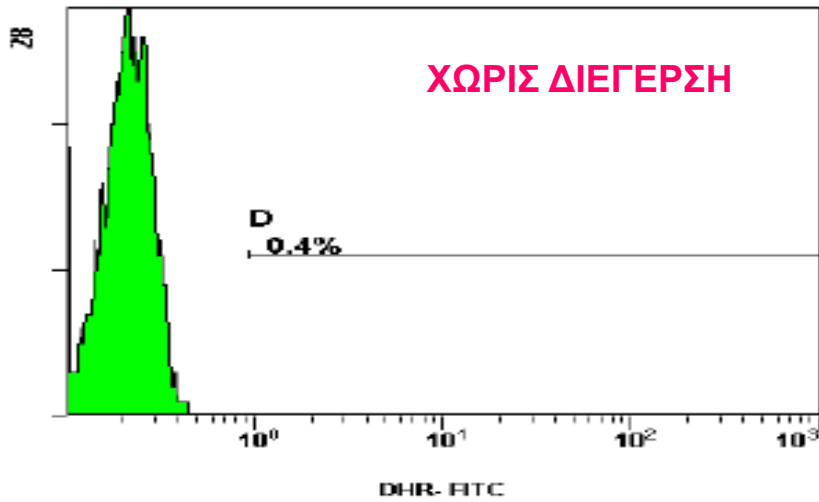
(F1)[Ungated] BURST TEST IOSIFIDOY 00017825 210.LMD : SS Log/FS Lin

| Region | Number | %Total | %Gated | X-Mean | Y-Mean |
|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| ALL | 30453 | 100.00 | 100.00 | 25.5 | 390 |
| A | 12684 | 41.65 | 41.65 | 24.8 | 350 |

(F1)[A] BURST TEST IOSIFIDOY 00017825 210.LMD : FL1 Log/SS Log

| Region | Number | %Total | %Gated | X-Mean | Y-Mean |
|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| ALL | 12684 | 41.65 | 100.00 | 96.7 | 24.8 |
| D | 12680 | 41.64 | 99.97 | 96.7 | 24.8 |

[A AND B] FL1 Log - ADC



[A AND B] FL1 Log - ADC



[A AND B] FL1 Log - ADC



[A AND B] FL1 Log - ADC



attention

προσοχή

Λειτουργική διαδικασία ΑΡΑ οι χρόνοι και η θερμοκρασία έχουν τεράστια σημασία

→ Αιμοληψία

→ Επώαση

→ μέτρηση

Κατάλληλο αντιπηκτικό

Βαθμονόμηση υδατόλουτρου

Βαθμονόμηση πιπετών

