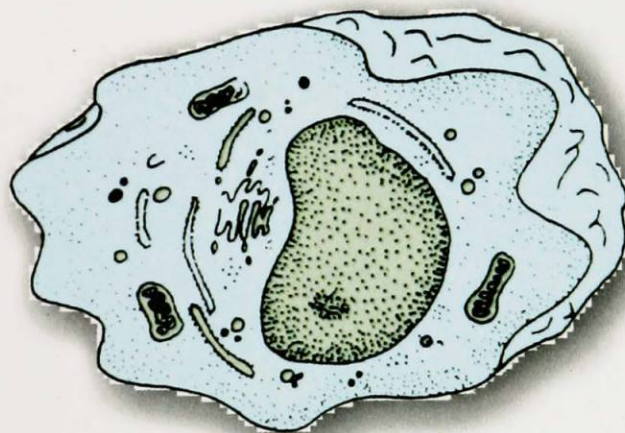


**ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM**

**TS. PHẠM ĐỨC CHƯƠNG (Chủ biên)
PGS.TS. NGUYỄN DUY HOAN, TS. LƯU THỊ KIM THANH,
TS. HOÀNG TOÀN THẮNG**

**GIÁO TRÌNH
MIỄN DỊCH HỌC
THÚ Y**



NHÀ XUẤT BẢN NÔNG NGHIỆP

**ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM**

**TS. PHẠM ĐỨC CHƯƠNG (Chủ biên)
PGS.TS NGUYỄN DUY HOAN, TS. LƯU THỊ KIM THANH,
TS. HOÀNG TOÀN THẮNG**

**GIÁO TRÌNH
MIỄN DỊCH HỌC THÚ Y**

(Dùng cho học viên cao học Ngành Thú y)

**NHÀ XUẤT BẢN NÔNG NGHIỆP
HÀ NỘI - 2007**

LỜI NÓI ĐẦU

Miễn dịch học thú y mới được đưa vào giảng dạy cho sinh viên ngành thú y trong những năm gần đây. Đây là môn học có liên quan đến nhiều môn học khác, đặc biệt là vi sinh vật, ký sinh trùng. Chúng tôi viết cuốn sách này với hy vọng giúp các học viên cao học ngành thú y có thể nâng cao thêm hiểu biết của mình về miễn dịch học và có thể sử dụng làm tài liệu tham khảo trong quá trình thực hiện các đề tài có liên quan đến vi sinh vật và ký sinh trùng. Tuy nhiên, đây là lần đầu tiên ra đời nên cuốn sách không tránh khỏi nhiều thiếu sót. Rất mong bạn đọc đóng góp ý kiến.

Xin trân trọng cảm ơn!

Tập thể tác giả

Chương 1

SỰ BẢO VỆ CƠ THỂ

1. KHÁI NIỆM

Trong môi trường sống của chúng ta có một số lượng lớn các vi sinh vật gây bệnh; chúng là những virus, vi khuẩn, nguyên sinh động vật, nấm và nhiều loại ký sinh trùng. Những vi sinh vật này có thể xâm nhập, gây bệnh và thậm chí giết chết vật chủ khi chúng nhân lên mạnh mà vật chủ không khống chế được.

Bệnh nhiễm trùng có thể diễn ra với một thời gian ngắn ở các cá thể bình thường, ít để lại tổn thương kéo dài. Đó là nhờ hệ thống miễn dịch của cơ thể chống lại tác nhân gây bệnh.

Miễn dịch (trong nhiễm trùng) là trạng trạng thái của cơ thể không bị mắc bệnh khi có vi sinh vật gây bệnh hoặc sản phẩm gây bệnh của chúng xâm nhập.

Bệnh nhân *AIDS* mất khả năng miễn dịch nên bị tử vong do nhiễm khuẩn thứ phát sau *AIDS*. Một súc vật sống ngăn được sự xâm nhiễm của vi khuẩn trong nhiều năm, song khi đã chết cơ thể bị phân huỷ chỉ sau vài giờ.

Để gây bệnh cho cơ thể, mỗi vi sinh vật có đường xâm nhập riêng, chẳng hạn như ký sinh trùng sốt rét, virus viêm gan B chỉ gây nhiễm được nếu chúng trực tiếp đi vào máu. Trong cơ thể, có loại vi sinh vật chỉ tồn tại và nhân lên được ở trong tế bào (virus...); có loài phát triển ở ngoài tế bào (đa số vi khuẩn, *Trypanosoma*...)

Đáp ứng với mỗi loại tác nhân gây bệnh qua mỗi đường xâm nhập, nằm trong hay ngoài tế bào, đòi hỏi phải có đáp ứng miễn dịch phù hợp. Tuy nhiên, dù là tác nhân gây bệnh nằm trong hay ngoài tế bào, để gây được nhiễm trùng, chúng phải đến được tế bào đích bằng đường máu hoặc đi qua các dịch tổ chức và khi đó chúng tiếp xúc với những yếu tố của hệ thống miễn dịch nằm ngoài tế bào.

Đáp ứng miễn dịch là để bảo vệ cơ thể song cũng có khi phản ứng giữa các yếu tố miễn dịch với vi sinh vật không đưa lại hiệu quả mong muốn mà lại dẫn đến tình trạng bệnh lý.

2. NHỮNG HÌNH THỨC BẢO VỆ CƠ THỂ

2.1. Các hàng rào giải phẫu và chức năng của chúng trong bảo vệ cơ thể

Loại bỏ tác nhân vi sinh vật gây bệnh xâm nhập vào cơ thể là điểm quan trọng nhất để bảo vệ sự sống của vật chủ. Cơ thể có nhiều cơ chế bảo vệ khác nhau mà trước hết là rào chắn ở da, niêm mạc. Tính toàn vẹn của da và niêm mạc; pH và enzyme của dịch tiết

(ở da, ở mắt, đường hô hấp, tiêu hóa...); ho, hắt hơi; nôn, ỉa chảy, nước tiểu; hệ vi khuẩn ở đường tiêu hoá... tất cả đều tham gia loại bỏ tác nhân gây bệnh.

2.2. Phản ứng viêm

Khi tác nhân gây bệnh vượt qua được các rào chắn ở da và niêm mạc thì gặp phản ứng bảo vệ cục bộ của cơ thể dưới dạng viêm. Tại ổ viêm có sự tăng cường lưu lượng máu và các tế bào có vai trò miễn dịch để tấn công và phá huỷ tác nhân gây bệnh. Những tế bào đó là bạch cầu trung tính, đại thực bào. Chúng có khả năng phá huỷ và ngăn cản hầu hết các vi sinh vật gây bệnh xâm nhập sang tổ chức lành. Mặt khác, một số tế bào tham gia vào quá trình viêm còn có vai trò hàn gắn tổ chức tổn thương, làm chúng trở lại trạng thái bình thường khi tác nhân gây bệnh đã bị tiêu diệt.

Cơ thể cũng sử dụng một số yếu tố khác của thể dịch nhằm tiêu diệt vi sinh vật, đó là hệ thống bổ thể, propeccidin, các chất ức chế không đặc hiệu đối với virus, Interferon.. Các quá trình trên đều góp phần vào sự bảo vệ cơ thể và đó là *hệ thống bảo vệ không đặc hiệu*.

Tuy nhiên những đáp ứng kể trên không phải là duy nhất có ý nghĩa quyết định trong việc bảo vệ cơ thể. Các yếu tố bảo vệ không đặc hiệu chỉ bảo vệ cơ thể có hiệu quả trước những vi sinh vật có độc lực yếu. Để cơ thể vật chủ chống được vi sinh vật có độc lực cao thì cơ chế *miễn dịch đặc hiệu* cần phải phát huy tác dụng. Cơ chế miễn dịch đặc hiệu do các kháng thể đảm nhận.

2.3. Đáp ứng miễn dịch

Trong hệ thống miễn dịch, có loại có sẵn ở từng loài động vật hoặc người và có loại là miễn dịch thu được.

Nhờ *miễn dịch có sẵn* mà nhiều loại động vật không mắc bệnh của người và ngược lại, người không mắc một số bệnh của động vật. Miễn dịch này không phải do kháng thể mà do đặc điểm về cấu tạo, giải phẫu và sinh lý của từng loài động vật được hình thành trong quá trình tiến hóa và do sự tương tác lâu đời giữa cơ thể và mầm bệnh.. Miễn dịch này có tính chất tuyệt đối, bền vững và di truyền từ thế hệ trước sang thế hệ sau.

Miễn dịch thu được là miễn dịch mà từng cơ thể thu được trong quá trình sống, đáp ứng bằng miễn dịch dịch thể và miễn dịch tế bào. Miễn dịch này không di truyền, có độ bền vững và cường độ tương đối, thường không tồn tại suốt đời mà giảm dần theo thời gian, gồm có miễn dịch thu được chủ động và miễn dịch thu được bị động.

Hệ thống miễn dịch có thể nhận biết các tác nhân gây nhiễm lạ, phá huỷ chúng và nhận ra chúng khi gặp lại. Cơ thể gặp lại tác nhân xâm nhiễm lần thứ hai, hệ thống miễn dịch đáp ứng nhanh hơn và có hiệu quả hơn, đó là nhờ *trí nhớ miễn dịch*.

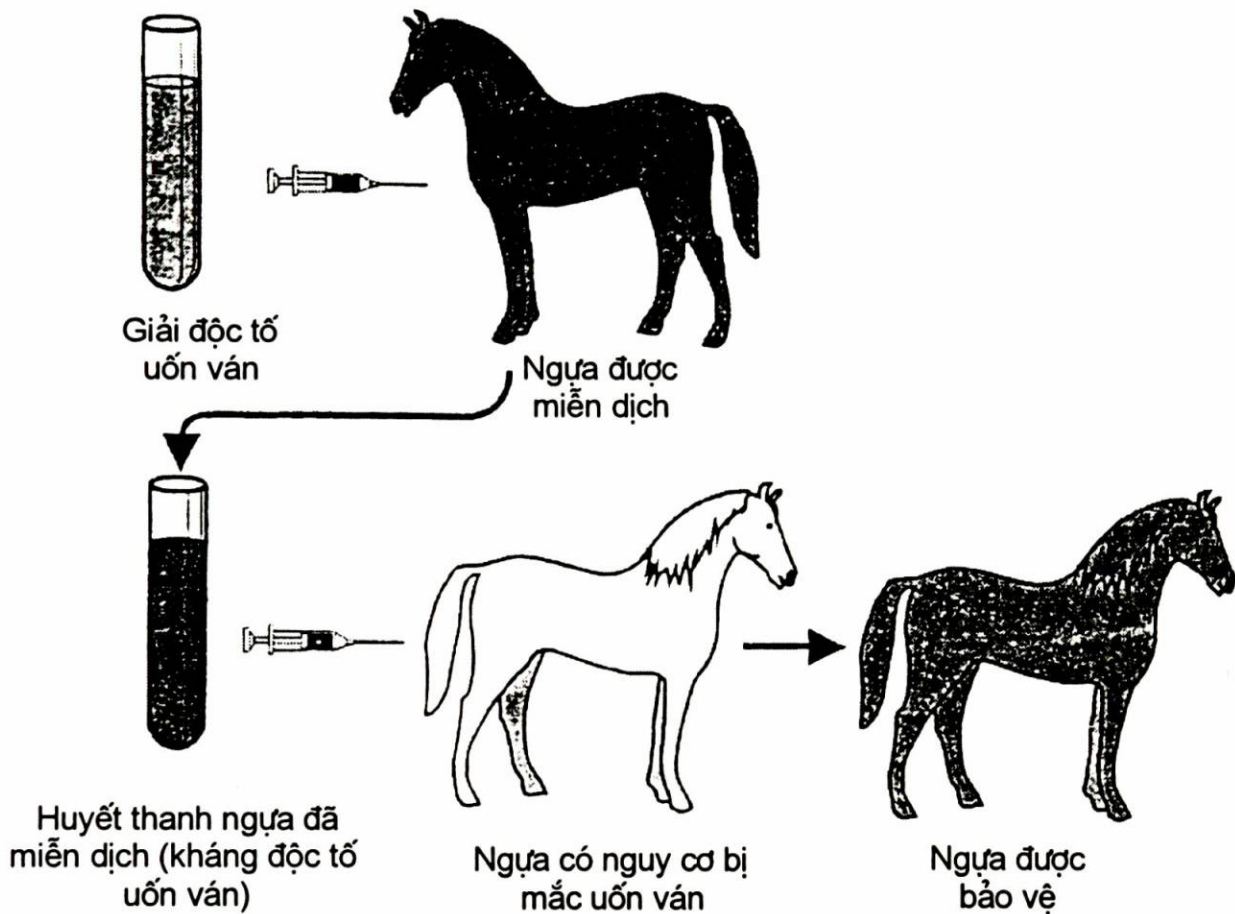
Ngoài nhiệm vụ giúp cơ thể chống đỡ với căn nguyên gây nhiễm trùng, hệ thống miễn dịch còn phải đảm bảo sự bình thường cho hệ thống tế bào trong cơ thể; khi có tế bào không bình thường phát sinh (ví dụ tế bào ung thư) thì hệ thống miễn dịch làm nhiệm vụ loại bỏ những tế bào này. Có thể chia tác nhân gây bệnh ra 2 loại chính: Một loại gồm các vi sinh vật gây bệnh nằm ở ngoài tế bào (phần lớn là vi khuẩn, nguyên sinh

động vật và giun sán); loại thứ hai gồm các vi sinh vật nằm trong tế bào (các vi khuẩn và nguyên sinh động vật sống trong tế bào) và tế bào ung thư. Căn cứ vào cách thức đề kháng với 2 loại tác nhân trên, hệ thống miễn dịch được chia ra 2 loại. Một loại miễn dịch có tác dụng chống lại các nhân tố gây bệnh nằm ngoài tế bào, đó là kháng thể - có bản chất là protein. Loại miễn dịch thứ hai chống lại các vi sinh vật ở bên trong tế bào, đó là đáp ứng miễn dịch tế bào, do đại thực bào và một số bạch cầu đảm nhận.

3. CÁC HÌNH THỨC ĐÁP ỨNG MIỄN DỊCH VÀ SỰ KIỂM SOÁT CỦA HỆ THỐNG MIỄN DỊCH

3.1. Đáp ứng miễn dịch dịch thể

Không bao lâu sau khi Pasteur phát hiện ra việc gây miễn dịch chống lại các nhân tố gây bệnh truyền nhiễm bằng cách tiêm vaccine, người ta đã tìm được trong máu những chất có tác dụng miễn dịch (hình 1.1).

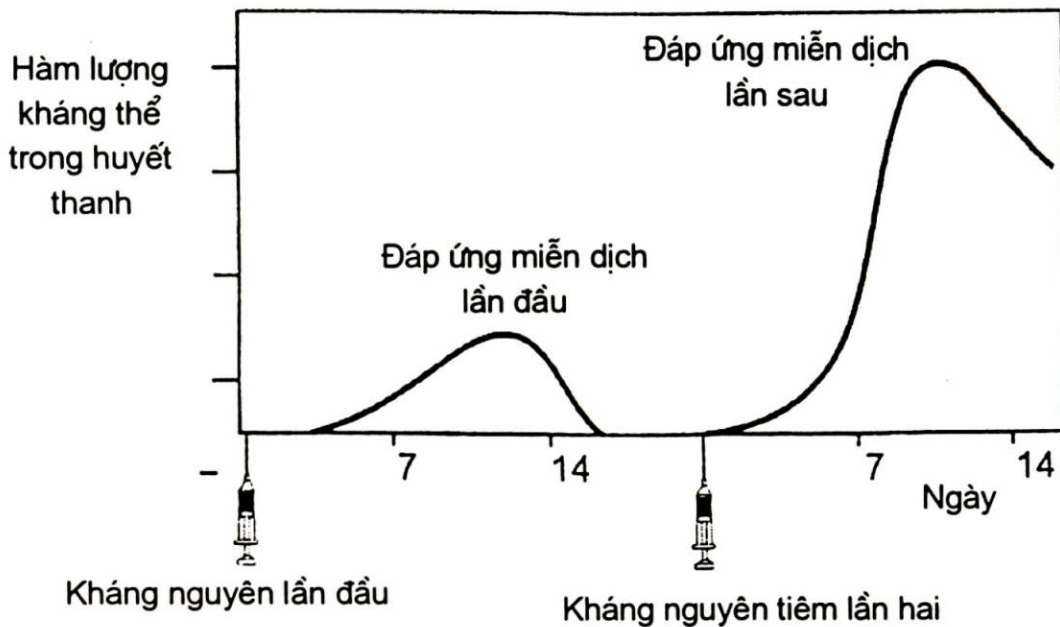


Hình 1.1: Truyền miễn dịch uốn ván bằng huyết thanh ngựa đã miễn dịch

Thí dụ nếu lấy huyết thanh từ ngựa đã được tiêm độc tố uốn ván tiêm cho ngựa khỏe, ngựa được tiêm sẽ có khả năng kháng lại độc tố uốn ván trong một vài tuần. Các yếu tố bảo vệ có trong huyết thanh của một súc vật đã có miễn dịch đó được gọi là *kháng thể*. Kháng thể chống độc tố uốn ván không tìm thấy trong huyết thanh của ngựa bình thường mà chỉ có được sau khi ngựa tiếp xúc độc tố uốn ván. Độc tố uốn ván là thí dụ về một chất lạ kích thích đáp ứng miễn dịch và chất lạ như vậy được gọi là *kháng nguyên*. Nếu tiêm kháng nguyên cho một gia súc, kháng thể được sản sinh ra có khả năng kết hợp với kháng nguyên và phá huỷ kháng nguyên đó. Kháng thể thường chỉ kết

hợp với kháng nguyên kích thích sinh ra nó. Thí dụ, kháng thể tạo ra sau khi tiếp xúc độc tố uốn ván chỉ kết hợp với độc tố uốn ván. Nếu đem huyết thanh có chứa các kháng thể này trộn với dung dịch độc tố uốn ván sẽ có ngưng kết do sự kết hợp của kháng thể và độc tố. Kháng thể trung hoà độc tố theo cơ chế kết hợp như vậy nên bảo vệ được động vật, giúp cơ thể chống lại tác dụng gây chết của độc tố.

Khoảng thời gian tạo kháng thể kháng độc tố uốn ván có thể theo dõi qua huyết thanh. Lượng kháng thể này được kiểm tra bằng phản ứng kết tủa hoặc bằng phản ứng trung hoà độc tố. Cả hai phương pháp cho kết quả tương tự như nhau. Tiêm độc tố uốn ván cho ngựa chưa từng tiếp xúc với độc tố uốn ván, trong vài ngày sau vẫn chưa tìm thấy kháng thể trong huyết thanh (hình 1.2).



Hình 1.2: Đặc điểm đáp ứng miễn dịch với một kháng nguyên (được xác định bằng hàm lượng kháng thể trong huyết thanh)

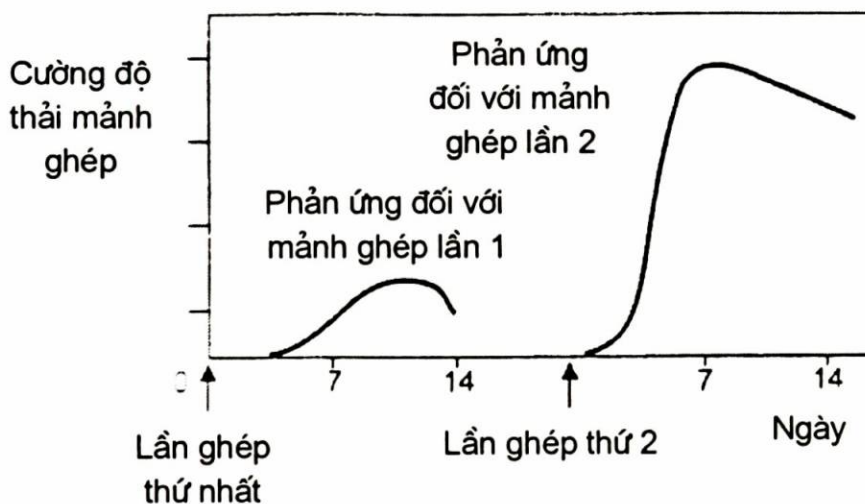
Nhưng sau đó 1 tuần thì xuất hiện kháng thể và hàm lượng kháng thể trong huyết thanh đạt được đỉnh cao ở ngày thứ 10 hoặc 14 rồi giảm và mất hẳn sau vài tuần tiếp theo. Điều đó có nghĩa là lượng kháng thể được tạo thành ngay trong thời gian đáp ứng đầu là rất ít. Sau một thời gian, tiêm liều độc tố thứ hai hoặc giải độc tố cho chính ngựa đó thì thấy kháng thể được hình thành chỉ sau khi tiêm 2 hoặc 3 ngày; lượng kháng thể trong huyết thanh tăng nhanh rồi giảm xuống từ từ. Kháng thể này tồn tại sau nhiều tháng hoặc thậm chí vài năm sau lần tiêm thứ hai. Tiêm liều thứ ba nhắc lại kháng nguyên trên cùng một gia súc thấy thời gian xuất hiện kháng thể sớm hơn, đáp ứng kháng thể cao hơn và kéo dài hơn. Kháng thể được sản sinh sau những lần tiêm nhắc lại có khả năng trung hoà và kết hợp với độc tố tốt hơn kháng thể sản sinh trong đáp ứng miễn dịch lần đầu. Kích thích đáp ứng miễn dịch chống lại căn nguyên nhiễm trùng là cơ sở để tiêm vaccine. Như chúng ta đã biết, đáp ứng miễn dịch của con vật đối với kháng nguyên tiêm lần hai là nhanh hơn, kháng thể đạt hiệu giá cao hơn và thời gian tồn tại của kháng thể lâu hơn ở lần thứ nhất. Đáp ứng thứ phát này có tính đặc hiệu ở chỗ nó chỉ được tạo ra sau tiêm kháng nguyên lần thứ hai. Mặc dù cường độ có xu hướng giảm

theo thời gian nhưng đáp ứng ấy có thể kéo dài nhiều tháng hoặc nhiều năm sau khi tiêm kháng nguyên lần thứ nhất. Vẫn thấy một đáp ứng miễn dịch thứ phát ngay cả khi đáp ứng với lần tiêm kháng nguyên thứ nhất yếu đến mức không thể phát hiện được. Đặc điểm đáp ứng thứ phát này cho thấy hệ thống tạo kháng thể có khả năng ghi nhớ sự tiếp xúc với kháng nguyên lần trước. Chính điều này mà đáp ứng miễn dịch thứ phát đôi khi được xem là miễn dịch ghi nhớ (anamnestic response - bắt nguồn từ tiếng Hy Lạp anamnesko là ghi nhớ). Song cần lưu ý rằng tiêm nhắc lại kháng nguyên không làm cho đáp ứng miễn dịch tăng lên mãi mà chỉ đạt một mức nhất định. Kháng thể trong huyết thanh bị khống chế khi cứ tiêm mãi cho dù liều kháng nguyên được tăng lên nhiều lần hoặc đưa vào nhiều kháng nguyên khác nhau.

3.2. Đáp ứng miễn dịch tế bào

Nếu lấy một mảnh tổ chức sống của con vật này đem ghép cho con vật khác cùng loài, mảnh ghép thường chỉ sống được một số ngày rồi bị phá huỷ. Quá trình thải bỏ mảnh ghép ấy cho thấy tồn tại một cơ chế trong đó các tế bào lạ được nhận ra và bị thải bỏ. Việc thải bỏ xảy ra với cả những tế bào có cấu trúc khác rất ít so với tế bào bình thường như tế bào già, tế bào nhiễm virus và tế bào ung thư. Đáp ứng miễn dịch đối với tế bào lạ cho thấy có một hệ thống kiểm tra nhận dạng và loại bỏ tế bào không bình thường.

Đem cấy da của một con chó cho một con chó khác không có quan hệ họ hàng, mảnh ghép sống được khoảng 10 tuần. Lúc đầu mảnh ghép dường như khoẻ mạnh, mạch quản phát triển giữa mảnh ghép và vật chủ. Tuy nhiên khoảng một tuần sau, mạch quản bắt đầu thoái hoá, mảnh ghép không còn được cấp máu, chết và bong ra. Quá trình thải bỏ mảnh ghép này được xem là phản ứng lần thứ nhất (hình 1.3).



Hình 1.3: Đặc điểm về thời gian loại bỏ mảnh ghép ở da

Nếu việc ghép lần thứ hai được tiến hành cũng trên hai con vật đó thì mảnh ghép chỉ sống không quá 2 ngày. Quá trình thải mảnh ghép nhanh này được xem là phản ứng thứ phát. Sự loại bỏ mảnh ghép lần thứ nhất tương đối yếu, chậm và tương tự đáp ứng kháng thể nguyên phát; ngược lại quá trình thải mảnh ghép lần thứ hai xảy ra nhanh và mạnh, tương tự như đáp ứng kháng thể thứ phát. Sự loại bỏ mảnh ghép cũng giống như sự hình

thành kháng thể, có tính chất đặc hiệu; phản ứng thứ phát chỉ xảy ra nếu mảnh ghép lần hai lấy từ con vật cho lần đầu. Giống như sự hình thành kháng thể, quá trình thải mảnh ghép cũng có khả năng ghi nhớ vì mảnh ghép lần thứ hai có thể bị loại bỏ rất nhanh cho dù lần ghép này được thực hiện sau lần ghép thứ nhất nhiều tháng hoặc nhiều năm. Tuy nhiên, quá trình loại bỏ mảnh ghép không hoàn toàn giống quá trình chống lại độc tố uốn ván ở chỗ không thể chuyển khả năng bảo vệ này từ súc vật được miễn cảm sang súc vật bình thường bằng việc chuyển kháng thể trong huyết thanh. Khả năng thải mảnh ghép chỉ có thể được truyền từ súc vật này sang súc vật khác bằng cách chuyển chính các tế bào thực hiện công việc miễn dịch, đó là những tế bào lympho trong lách, hạch lympho hoặc máu ngoại biên. Quá trình loại bỏ mảnh ghép chủ yếu là do các tế bào lympho điều khiển chứ không phải do kháng thể trong huyết thanh. Thí dụ ở trên là một điển hình về đáp ứng miễn dịch tế bào.

3.3. Sự kiểm soát của hệ thống miễn dịch

Đặc điểm của hệ thống miễn dịch là khả năng nhận ra và phản ứng với các chất lạ, đặc biệt là với vi khuẩn gây bệnh. Để gây ra một đáp ứng miễn dịch, một kháng nguyên như độc tố uốn ván hoặc một mảnh ghép từ một súc vật khác phải được nhận ra là chất lạ. Hệ thống miễn dịch phải có khả năng nhận biết các tế bào của chính bản thân vật chủ không phải là chất lạ và không tạo ra miễn dịch chống lại những tế bào này. Nói một cách khác, hệ thống miễn dịch được xem là dung nạp đối với tổ chức bình thường của cơ thể. Nếu sự dung nạp này bị phá vỡ, bệnh tật sẽ xảy ra (bệnh tự miễn dịch) vì hoặc kháng thể hoặc tế bào lympho tấn công các tế bào bình thường. Có hiện tượng dung nạp vì những tế bào có khả năng nhận ra kháng nguyên đã được chọn lọc cẩn thận trước khi chúng được giải phóng vào cơ thể. Tế bào có thể phản ứng với kháng nguyên của bản thân thường bị phá huỷ sớm trong quá trình phát triển của chúng, một quá trình được gọi là chọn lọc phủ định. Những tế bào còn sống chỉ có thể đáp ứng đối với kháng nguyên lạ và chúng được kích thích phát triển (chọn lọc khẳng định), tạo thành những quần thể trong cơ quan lympho. Các cơ quan lympho như tuỷ xương, lách, hạch lympho chọn cơ hội để vi sinh vật gây bệnh gặp tế bào của hệ thống miễn dịch trước khi vi sinh vật có thể gây tác hại nghiêm trọng, kể cả với hệ lympho. Một loạt cơ chế kiểm soát khác tiếp tục sau đó để bảo đảm rằng những tế bào phản ứng với bản thân không thể phát triển tự do hoặc được hoạt hoá. Hệ thống phòng vệ chỉ tác động theo cách phù hợp và chỉ chống lại các mục tiêu phù hợp. Hệ thống miễn dịch bao gồm một phức hợp các hệ thống điều chỉnh. Nhiều tế bào của hệ thống miễn dịch tham gia vào sự điều chỉnh này và chỉ một số lượng nhỏ thực sự được sử dụng để phá huỷ các vi sinh vật gây bệnh.

3.4. Cơ chế của đáp ứng miễn dịch

Hệ thống miễn dịch có thể so sánh với một nhà nước chuyên chế, trong nhà nước này người nước ngoài bị trục xuất, các công dân ứng xử tốt được dung nạp nhưng những người bất đồng chính kiến bị loại bỏ. Một chế độ như vậy cần có sự bảo vệ biên giới, có lực lượng cảnh sát để kiểm soát dân cư và loại bỏ những người chống đối. Trong hệ thống miễn dịch, đáp ứng do kháng thể điều khiển có tác dụng loại bỏ chất lạ và đáp ứng do miễn dịch tế bào có tác dụng làm ngừng sự xung đột bên trong. Cũng giống như

người nước ngoài hoặc người chống đối lại một nhà nước, không có đặc điểm tương đồng với dân cư của nhà nước này thì sẽ nhanh chóng được phát hiện và xử lý.

Khi một kháng nguyên lạ xâm nhập vào cơ thể, trước hết nó bị bắt và chế biến để có thể được nhận dạng là phân tử lạ đối với cơ thể. Sau đó thông tin này phải được chuyển đến cho hệ thống tạo kháng thể hoặc hệ thống miễn dịch tế bào. Các hệ thống này phản ứng nhanh chóng bằng cách sản sinh kháng thể đặc hiệu, hoặc tế bào miễn dịch hoặc cả kháng thể và tế bào miễn dịch để loại bỏ kháng nguyên. Hệ thống miễn dịch cũng phải ghi nhớ kháng nguyên để những lần sau gặp lại kháng nguyên này đáp ứng sẽ nhanh hơn và có hiệu quả hơn. Hệ thống miễn dịch sản sinh kháng thể hoặc tế bào có thể kết hợp mạnh với vi sinh vật gây bệnh. Tương tự như nhà nước chuyên chế, lực lượng cảnh sát được huấn luyện để nhận biết được những người nước ngoài hoặc những người chống đối và phản ứng nhanh khi gặp chúng. Hệ thống miễn dịch bao gồm 4 thành phần.

Đầu tiên là các tế bào có thể bắt giữ và chế biến (xử lý) kháng nguyên để có thể nhận biết rõ kháng nguyên; loại thứ hai là các tế bào có thể kết hợp và phản ứng với kháng nguyên đã được xử lý và các tế bào miễn cảm với kháng nguyên; loại thứ 3 là các tế bào sẽ sản sinh kháng thể hoặc tham gia vào đáp ứng miễn dịch tế bào chống lại kháng nguyên (tế bào cảm ứng); cuối cùng là các tế bào ghi nhớ và phản ứng nhanh đối với kháng nguyên đặc hiệu nếu gặp lại kháng nguyên đó lần sau. Kháng nguyên bị bắt giữ, xử lý và bị loại bỏ nhờ một số loại tế bào (bao gồm tế bào đuôi gai, tế bào lympho B). Các tế bào lympho B và lympho T có receptor đặc hiệu cho kháng nguyên lạ, chúng có khả năng nhận biết kháng nguyên đã được xử lý để có đáp ứng thích hợp. Tế bào lympho còn có chức năng ghi nhớ làm cơ sở cho đáp ứng miễn dịch thứ phát. Tế bào lympho điều khiển đáp ứng miễn dịch tế bào là tế bào lympho T. Tế bào lympho điều khiển đáp ứng miễn dịch kháng thể là tế bào lympho B.

Chương 2

HOẠT ĐỘNG THỰC BÀO

1. VIỆC BẮT GIỮ CÁC PHẦN TỬ LẠ

Cơ thể của gia súc có khả năng bảo vệ bản thân nó bằng nhiều cách. Hàng rào bảo vệ cơ thể tại da có thể loại bỏ nhiều loại vi sinh vật. Tuy nhiên gia súc cũng cần một hệ thống bảo vệ phản ứng. Cơ thể phải huy động các yếu tố có khả năng bảo vệ và tập trung chúng tại nơi vi khuẩn xâm nhập. Như vậy bất kỳ vi sinh vật gây bệnh nào tìm cách xâm nhập vào tổ chức cũng sẽ bị tấn công, bắt giữ và bị tiêu diệt rất nhanh. Quá trình này được thực hiện nhờ những tế bào có khả năng bắt giữ, tiêu hoá và phá huỷ chất lạ thông qua quá trình thực bào. Tế bào thực bào của loài có vú được chia làm hai loại chính: Một là hệ thống tế bào có nguồn gốc từ tuỷ xương bao gồm các tế bào thực bào; chúng có tác dụng nhanh nhưng không bền vững; hai là các tế bào của hệ thống thực bào đơn nhân tác dụng chậm hơn nhưng có khả năng tác dụng thực bào nhắc lại.

2. HỆ THỐNG CÁC BẠCH CẦU HẠT (HỆ THỐNG TUỶ XƯƠNG)

Tế bào của hệ thống này có nguồn gốc từ tuỷ xương. Do có bào tương chứa đầy các hạt nên chúng được gọi là bạch cầu hạt; có nhân biến đổi không theo quy luật, phân huỷ rõ rệt và được mô tả là tế bào có nhân nhiều hình thái. Ngược lại, tế bào đơn nhân có nhân tròn và chỉ có một nhân. Các bạch cầu hạt được chia thành 3 quần thể dựa vào sự bắt màu của hạt. Tế bào có hạt bắt màu thuốc nhuộm kiềm được gọi là bạch cầu ái kiềm. Tế bào bắt màu thuốc nhuộm loại acid eosin được gọi là bạch cầu ái toan và tế bào không bắt màu của thuốc nhuộm kiềm hoặc acid được gọi là bạch cầu trung tính.

- **Bạch cầu trung tính**

Loại tế bào chủ yếu có nguồn gốc từ tuỷ xương là các bạch cầu trung tính (hình 2.1).



Hình 2.1. Hình thái của bạch cầu trung tính

Bạch cầu này được tạo ra ở tuỷ xương, di chuyển trong máu và sau khoảng 12 giờ thì đi vào tổ chức. Vòng đời của chúng ngắn, chỉ được một số ngày. Bạch cầu trung tính chiếm khoảng 60 - 75% tổng số bạch cầu trong máu của hầu hết các loài ăn thịt nhưng tỷ lệ này chỉ là 20 -30% ở loài nhai lại như bò, cừu và ở chuột phòng thí nghiệm. Loài ngựa có gần 50% bạch cầu là bạch cầu trung tính. Tỷ lệ của bạch cầu trung tính trong máu có thể phản ánh tình trạng gia súc bị nhiễm khuẩn.

Cấu tạo của bạch cầu trung tính

Khi lơ lửng trong máu, bạch cầu trung tính là tế bào tròn có đường kính khoảng 12 μm . Bào tương của chúng chứa những hạt nhỏ hình gậy hoặc phân đốt có nhân biến đổi không theo quy luật. Cromatin trong nhân ở dạng cô đặc và có hình dạng phân đốt. Kính hiển vi điện tử cho thấy có hai loại hạt chủ yếu giàu protein ở bào tương. Những hạt sơ cấp chứa các enzyme diệt khuẩn như myeloperoxidase, lysozyme; các protease trung tính như elastase; các hydrolase acid như β glucuronidase và cathepsin. Hạt thứ cấp có chứa các enzyme như lysozyme, collagenase và protein ái sắt lactoferrin. Bạch cầu trung tính trưởng thành có bộ máy Golgi nhỏ, một số ty lạp thể nhưng có rất ít ribosom và tổ chức võng mạc nội mô. Như vậy chúng không thể tổng hợp một số lượng lớn protein.

Chức năng của bạch cầu trung tính

Chức năng của bạch cầu trung tính là bắt giữ và phá huỷ chất lạ thông qua thực bào. Quá trình thực bào có thể chia thành bốn giai đoạn rõ rệt: hướng động hoá học, kết dính, nuốt và tiêu hoá.

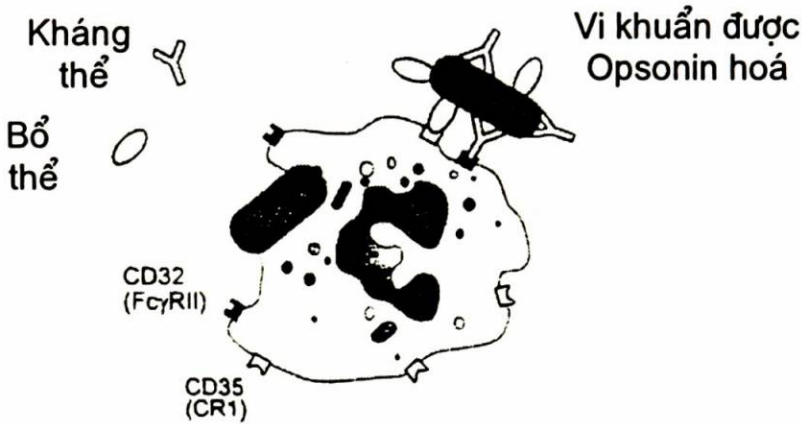
Hướng động hoá học

Bình thường, bạch cầu trung tính tuần hoàn trong máu. Chúng bị bắt buộc rời khỏi máu do việc tăng sự kết dính với các tế bào nội mô tạo vách mạch quản. Tế bào nội mô bộc lộ protein kết dính (những selectin và integrin) gắn bạch cầu trung tính vào vách mạch quản nhỏ. Sau đó vì được thu hút bởi một số chất hoá học, chúng di chuyển đến tổ chức. Sự di chuyển của bạch cầu trung tính theo hướng này gọi là hướng động hoá học. Sự xâm nhập của vi khuẩn và tổn thương của tổ chức do vi khuẩn gây ra tạo nên rất nhiều phân tử hướng động hoá học khác nhau, gồm có một peptide gọi là C5a được sinh ra nhờ hoạt hoá hệ thống bổ thể và một peptide được gọi là fibrinopeptide B có nguồn gốc fibrinogen, các phân tử do tiểu cầu trong máu giải phóng như yếu tố 4 của huyết tiểu cầu và một số lipid như leucotrien B₄. Ngoài ra, vi khuẩn xâm nhập vào còn giải phóng ra nhóm methionine có tác dụng hướng động hoá học mạnh đối với bạch cầu trung tính ở một số loài động vật có vú.

Do các phân tử hướng động hoá học được khuếch tán ra từ những vị trí tổn thương của tổ chức tạo sự chênh lệch nồng độ. Khi bạch cầu trung tính phát hiện thấy các phân tử này thì chúng sẽ kéo đến khu vực có nồng độ cao nhất. Số lượng lớn các phân tử hướng động làm cho bạch cầu trung tính mất sự miễn cảm với chất hướng động hoá học và lúc đó chúng rời khỏi nơi tổn thương khi đã hoàn thành nhiệm vụ thực bào.

Sự kết dính và opsonin hoá

Khi gặp một phân tử lạ, bạch cầu trung tính kết hợp với phân tử lạ này. Sự kết dính không xảy ra một cách tự phát vì các tế bào và vật lạ lơ lửng trong dịch của cơ thể thường tích điện âm nên chúng đẩy nhau. Điện tích âm ở những phân tử này có thể được trung hoà bằng cách bao phủ nó bằng một protein tích điện dương. Protein tích điện dương như vậy bao gồm các phân tử kháng thể và protein C3b (thành phần thứ ba của hệ thống bổ thể). Những phân tử được bao phủ kháng thể hoặc C3b có điện tích bề mặt giảm xuống và có thể kết hợp với bạch cầu trung tính tích điện âm. Bạch cầu trung tính cũng có receptor đặc hiệu với kháng thể và C3b. Những phân tử được các protein bao phủ như đã nói ở trên dễ kết hợp với bạch cầu trung tính thông qua những receptor này (hình 2.2).



Hình 2.2. Opsonin hoá vi khuẩn bởi kháng thể và bổ thể

Các phân tử bao phủ tiểu phân tử lạ như vậy và làm tăng khả năng thực bào gọi là opsonin. Từ này có nguồn gốc từ tiếng Hy Lạp có nghĩa là làm cho phân tử này có vị ngon hơn đối với bạch cầu trung tính. Kháng thể là những opsonin có hiệu quả nhất. Chúng bao phủ chất lạ, gắn với receptor trên tế bào thực bào và làm cho chất lạ bị nuốt. Cơ chế khác làm tăng sự tiếp xúc giữa các tiểu phân tử lạ là sự bắt giữ. Thường thì các tiểu phân tử lạ trôi trong máu, chúng gặp bạch cầu trung tính lơ lửng ở đó. Nếu một tiểu phân tử được gắn chặt vào tổ chức hoặc bị giữ lại giữa một bạch cầu trung tính và bề mặt của một tế bào khác thì chúng bị ngăn cản không trôi lơ lửng được nữa và có thể dễ dàng bị nuốt. Quá trình này được gọi là thực bào bề mặt.

Nuốt chất lạ

Khi gặp một chất lạ, trước hết các bạch cầu trung tính hình thành giả túc ôm lấy rồi tiếp theo là cả phần chính của tế bào ôm trùm lên tiểu phân tử này. Bào tương trong giả túc của bạch cầu trung tính có chứa màng lưới protein dạng sợi actin và myosin. Trạng thái của màng lưới này quyết định trạng thái dịch thể của bào tương, giả túc của bạch cầu trung tính bao vây chất lạ và sự kết hợp xảy ra giữa opsonin trên vi sinh vật và các receptor trên bạch cầu trung tính. Khi đã bị gắn chặt vào bề mặt của bạch cầu trung tính tiểu phân tử lạ được kéo vào trong tế bào, được nhấn chìm trong bào tương và bị bao vây trong không bào (phagosome). Khả năng bị nhấn chìm phụ thuộc một phần vào tính chất bề mặt của tiểu phân tử. Bề mặt kỵ nước của tế bào (như ở vi khuẩn lao *Mycobacterium*

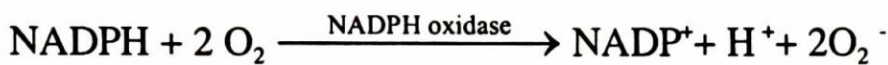
tuberculosis) thì dễ dàng bị nuốt, ngược lại *Streptococcus pneumoniae* (căn nguyên gây viêm phổi ở người) có vỏ carbohydrate ưa nước thì khó bị thực bào trừ khi bề mặt vi khuẩn được làm kỵ nước bằng cách phủ kháng thể hoặc C3b.

Sự phá huỷ các phân tử lạ

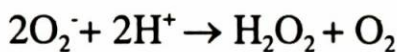
Sự phá huỷ các phân tử lạ được thực hiện thông qua hai cơ chế khác nhau: hô hấp và tiêu hoá nhờ enzyme của lysosom.

- Hô hấp

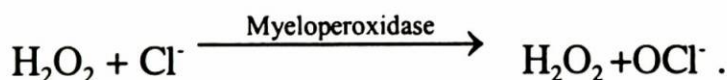
Sau một số giây kết hợp với một phân tử lạ, bạch cầu trung tính tăng tiêu thụ oxygen lên gấp 10 lần. Tăng tiêu thụ oxygen là do hoạt hoá enzyme bề mặt của tế bào, NADPH-oxidase. Khi bạch cầu trung tính bị tác động do kết dính của một phân tử lạ với receptor của kháng thể (CD 32), oxidase được hoạt hoá. NADPH oxidase được hoạt hoá chuyển NADPH (dạng khử của NADP, Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate) thành NADP^+ cùng với điện tử được giải phóng. Một phân tử oxygen tiếp nhận một điện tử được chuyển cho tạo ra một phân tử oxygen mang điện âm.



NAD^+ làm tăng tốc độ chuyển hoá hexose monophosphate, con đường chuyển hoá chuyển sucrose thành pentose và CO_2 , giải phóng năng lượng cho tế bào sử dụng. 2 phân tử O_2^- tương tác tự phát làm sản sinh một phân tử hydrogen peroxide (H_2O_2), nhờ enzyme superoxide dismutase:



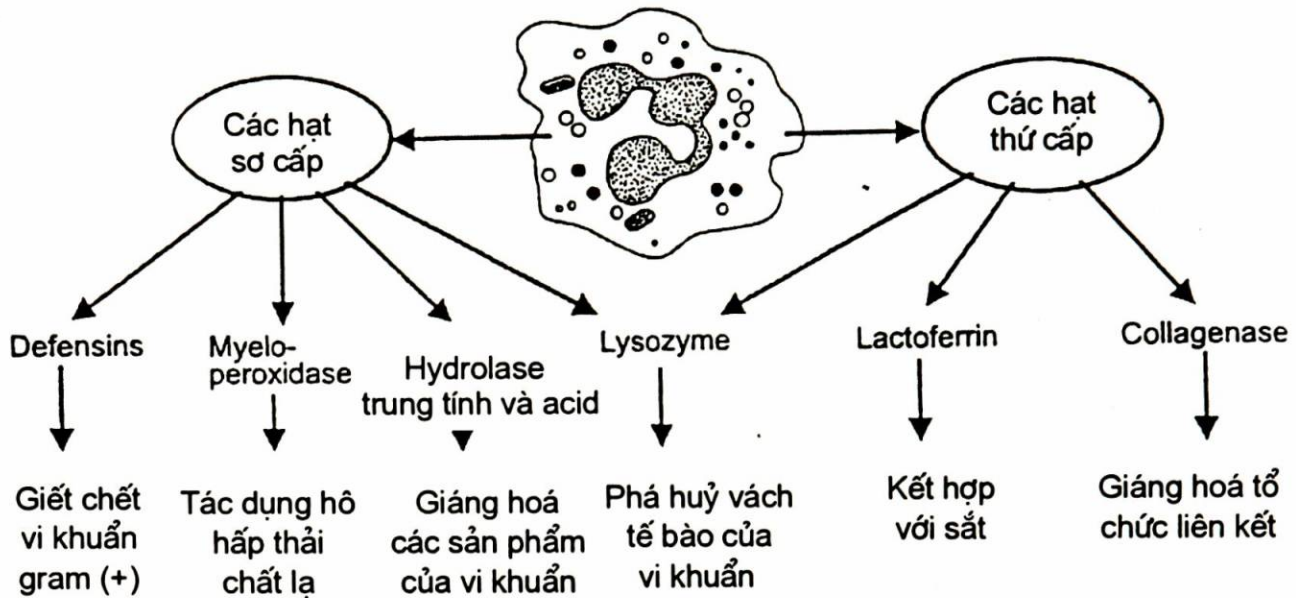
Do phản ứng này xảy ra nhanh, anion O^- không tích luỹ nhưng H_2O_2 tích luỹ lại thông qua hoạt động của myeloperoxidase, enzym quan trọng nhất trong hoạt động hô hấp của bạch cầu trung tính. Số lượng lớn myeloperoxidase được tìm thấy trong các hạt sơ cấp của bạch cầu này. Enzym này xúc tác phản ứng của H_2O_2 với ion halogen (Cl^- , Br^- , I^- hoặc SCN^-) để sản xuất hypohalide. Thí dụ:



Cl^- được sử dụng ở nhiều nơi trừ sữa và tuyến nước bọt. Do phản ứng mạnh, OCl^- không tích luỹ lại trong các hệ thống sinh học mà mất đi rất nhanh trong nhiều phản ứng. OCl^- tấn công nhiều phân tử sinh học, tiêu diệt vi khuẩn bằng cách oxy hoá protein của chúng và làm tăng hoạt tính diệt khuẩn của các enzym lysosom (HOCl là thành phần trong thuốc tẩy được nhiều nước sử dụng ở bể bơi để ngăn cản sự sinh trưởng của vi khuẩn). Với điều kiện là H_2O_2 được cung cấp và bạch cầu trung tính có thể sản xuất H_2O_2 khoảng 3 giờ sau khi kích thích, myeloperoxidase sẽ sử dụng Cl^- trong huyết tương để tạo ra OCl^- . Có sự khác nhau chút ít về bạch cầu trung tính giữa các loài vật nuôi, cừu dường như sản xuất O_2^- ít hơn bò và người.

- Tiêu hóa

Cơ chế thứ hai trong phá huỷ vi khuẩn là nhờ sự tiêu hoá của lysosome (hình 2.3).



Hình 2.3. Chất chứa trong các hạt bào tương của bạch cầu trung tính và chức năng của chúng

Khi bạch cầu trung tính tấn công một phần tử lạ, các hạt sơ cấp (hay lysosom) di chuyển trong bào tương kết hợp với phagosome và giải phóng ra enzyme. Enzyme đó có thể tiêu hoá vách của vi khuẩn và giết chết nhiều vi khuẩn gây bệnh nhưng lại có sự miễn cảm khác nhau đối với vi khuẩn. Vi khuẩn gram dương miễn cảm với lysozyme và bị phá huỷ nhanh chóng. Vi khuẩn gram âm như *Escherichia coli* sống sót được lâu hơn vì vách ngoài của chúng kháng lại được sự tiêu hóa của lysozyme. Lactoferrin khi kết hợp với sắt cũng có thể ngăn cản sự sinh trưởng của vi khuẩn. Một số vi khuẩn như *Brucella abortus* và *Listeria monocytogenes* có khả năng kháng được các enzyme lysosome đến mức chúng có thể sinh trưởng được trong tế bào thực bào. Khoảng 30% protein trong các hạt sơ cấp là những protein nhỏ gọi là defensin (có trọng lượng phân tử 3,5 - 4Da). Protein này tác động đến màng bào tương của nhiều vi khuẩn, nấm và nhiều virus có vỏ bao, gắn vào giữa 2 lớp lipid và làm rối loạn sự tương tác giữa các phân tử

Sự hoạt hoá các bạch cầu trung tính

Bạch cầu trung tính luôn tấn công và phá huỷ vi khuẩn xâm nhập. Trong một số điều kiện chúng được hoạt hoá và tăng tác dụng diệt khuẩn, thí dụ dưới ảnh hưởng của interferon gamma (IFN- γ), đáp ứng về hướng động hoá học tăng lên và vì vậy tác dụng diệt khuẩn tăng lên.

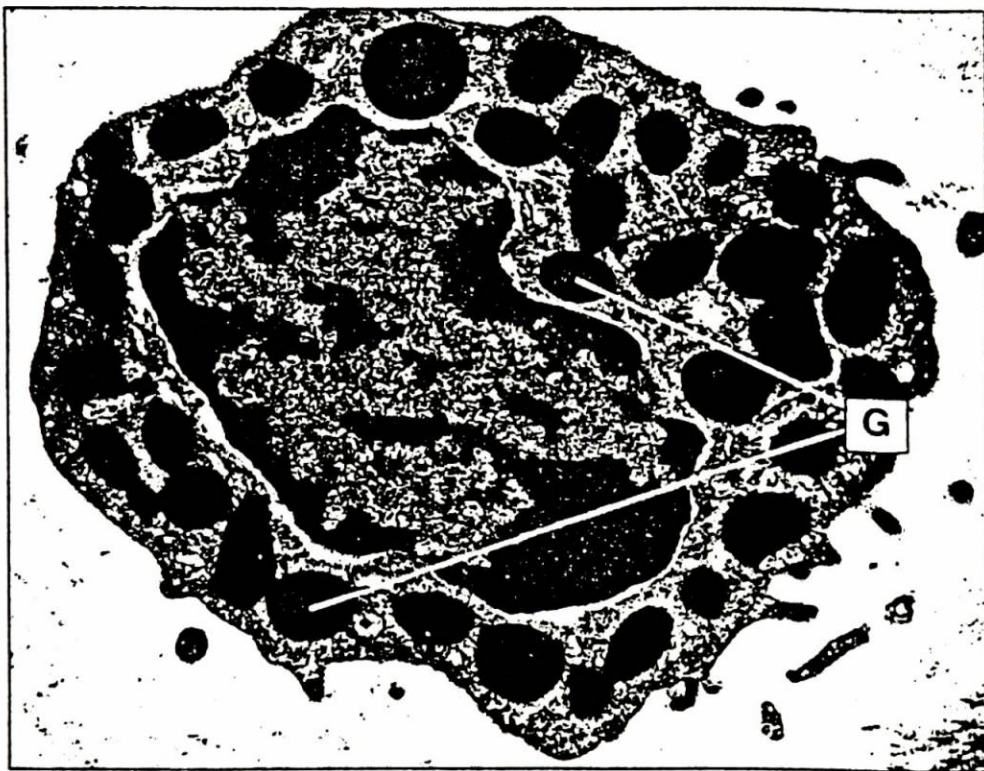
Số phận của bạch cầu trung tính

Bạch cầu trung tính dự trữ năng lượng rất hạn chế. Nguồn năng lượng này phát huy tác dụng ngay sau khi bạch cầu được giải phóng từ tuỷ xương và giảm xuống rất nhanh nên chỉ có thể đảm nhiệm một số tác dụng thực bào hạn chế. Đời sống của

chúng chỉ vài tuần. Đây là dòng tế bào đầu tiên tham gia vào quá trình bảo vệ cơ thể, di chuyển rất nhanh tới mục tiêu, thực bào rồi phá huỷ chất lạ cũng rất nhanh nhưng không có tác dụng lâu dài. Dòng tế bào thứ hai tham gia vào quá trình bảo vệ cơ thể là hệ thống thực bào đơn nhân. Do bạch cầu trung tính thường phá huỷ tất cả chất lạ nuốt vào nên bạch cầu đơn nhân rất ít có cơ hội xử lý kháng nguyên để trình diện cho tế bào miễn cảm.

- **Bạch cầu ái toan (eosinophil)**

Loại bạch cầu hạt thứ hai có nhân đa hình thái được gọi là bạch cầu ái toan (eosinophil) do hạt trong bào tương của chúng bắt màu eosin (một thuốc nhuộm màu đỏ). Bạch cầu ái toan rời khỏi tuỷ xương khi chưa trưởng thành rồi được chuyển tới lách. Sau khi đã trưởng thành tại lách, chúng tuần hoàn trong máu một thời gian ngắn với thời gian bán thải chỉ khoảng 30 phút. Rồi bạch cầu ái toan di chuyển tới các tổ chức; ở đó chúng có thời gian bán thải khoảng 12 ngày. Tỷ lệ bạch cầu ái toan rất thay đổi, tăng lên khi con vật bị nhiễm ký sinh trùng. Bình thường, tỷ lệ bạch cầu ái toan ở chó là khoảng 2% và ở bò xấp xỉ 10%. Bạch cầu ái toan lớn hơn bạch cầu đa nhân trung tính; nhân có 2 thùy, có chứa 2 loại hạt chủ yếu (hình 2.4), đó là hạt sơ cấp nhỏ và các hạt trong.



Hình 2.4. Siêu cấu trúc của bạch cầu ái toan (eosinophil).

Eosinophil trưởng thành có chứa các hạt (G) cùng với crytalloids ở trung tâm

Cũng giống như bạch cầu trung tính, bạch cầu ái toan có chức năng chủ yếu là thực bào, phá huỷ chất lạ. Tuy nhiên hạt trong bạch cầu ái toan chứa một lượng lớn phosphatase acid chứ không phải là lysozyme. Peroxidase của bạch cầu ái toan có tác dụng mạnh hơn peroxidase của bạch cầu trung tính. Có một số tác nhân có khả năng

kích thích làm cho bạch cầu này bị mất hạt và giải phóng các chất ra khu vực xung quanh. Bạch cầu ái toan đóng vai trò quan trọng trong miễn dịch chống giun sán. Chúng được thu hút đến khu vực hoạt động nhờ yếu tố hướng động hoá học. Bạch cầu ái toan có tác dụng phản vệ. Những yếu tố bảo vệ được giải phóng từ bạch cầu ái kiềm, tế bào mast và tế bào lympho T. Chúng có thể gắn vào ấu trùng của một số loài giun sán được phủ các kháng thể IgE và IgG và mất hạt làm giải phóng độc tố. Bạch cầu ái toan giải phóng histaminase và arylsulphatase làm mất hoạt tính các sản phẩm của tế bào mast và chất gây phản ứng phòng vệ chậm. Bạch cầu ái toan có chứa receptor của kháng thể và của bổ thể (CD32, CD23, CD16 và CD35). Receptor của kháng thể nói chung có số lượng ít hơn và có ái lực thấp hơn receptor của bạch cầu trung tính. Tuy nhiên số lượng receptor này của kháng thể tăng lên do sự có mặt của yếu tố hướng động hoá học bạch cầu ái toan. Cũng giống như bạch cầu trung tính, bạch cầu ái toan cũng có thể thực bào các vi sinh vật nhỏ song chủ yếu là chúng thực bào những ký sinh trùng lớn.

- **Bạch cầu ái kiềm (Basophil) và tế bào mast**

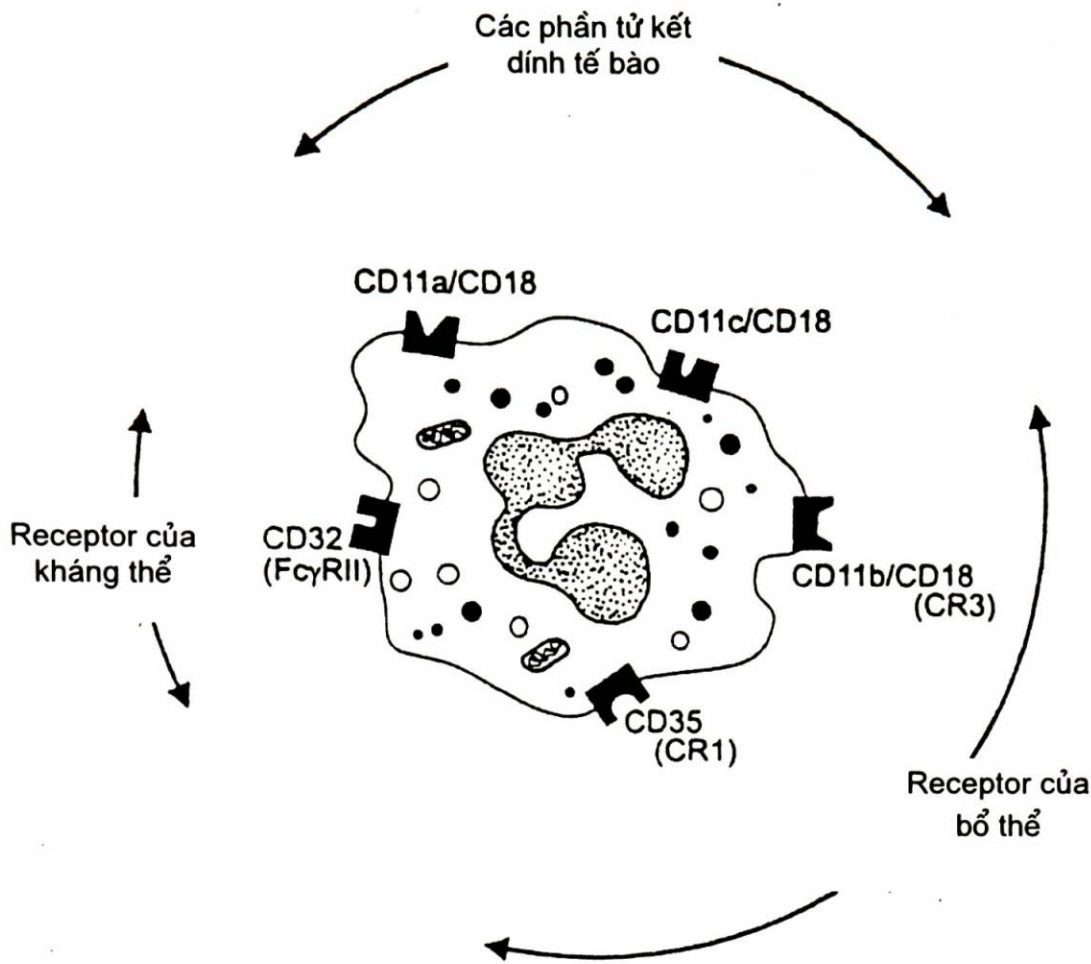
Bạch cầu ái kiềm là dòng tế bào có số lượng ít nhất trong hệ thống tế bào nguồn gốc tuỷ xương. Gọi là bạch cầu ái kiềm vì các hạt trong bào tương của nó bắt màu rõ rệt chất nhuộm kiềm như hematoxylin. Bạch cầu ái kiềm chiếm khoảng 0,5% tỷ lệ bạch cầu trong máu. Không tìm được bạch cầu này trong tổ chức ngoại biên ở điều kiện bình thường. Tuy nhiên chúng có thể thâm nhiễm vào tổ chức dưới tác dụng của các tế bào lympho.

Không tìm thấy tế bào mast trong tuần hoàn máu và thường chỉ có thể phân biệt chúng với bạch cầu ái kiềm ở một số tính chất. Có hai loại tế bào mast khác nhau, đó là tế bào mast ở niêm mạc liên kết với tế bào biểu mô của niêm mạc và tế bào mast của tổ chức liên kết. Tế bào mast ở niêm mạc dường như phụ thuộc các tế bào lympho T để tăng sinh, trong khi tế bào mast ở tổ chức liên kết thì không phụ thuộc.

Trong tổ chức, bạch cầu ái kiềm gây viêm vì hạt của chúng chứa các amine gây vận mạch như histamine và serotonine. Bạch cầu ái kiềm, bạch cầu ái toan và tế bào mast có liên quan về chức năng vì tất cả đều gây ra phản ứng viêm. Thường là một kháng nguyên gây dị ứng có khả năng kích thích bạch cầu ái toan hoặc làm mất hạt tế bào mast. Để tác dụng gây dị ứng có hiệu quả, kháng nguyên gây dị ứng phải liên kết chéo với các phân tử IgE gắn trên bề mặt tế bào mast hoặc bạch cầu ái kiềm thông qua receptor cho IgE có ái lực cao. Cả bạch cầu ái toan và bạch cầu ái kiềm đều có chứa protein cơ bản của bạch cầu ái toan và lisophospholipase.

- **Receptor của tế bào bạch cầu**

Như đã đề cập trước đây, các glycoprotein được phân loại bằng những nhóm biệt hoá (CD). Đến nay, ít nhất có 130 phân tử CD khác nhau đã được nhận diện. Bạch cầu trung tính mang nhiều phân tử CD trên bề mặt (hình 2.5).



Hình 2.5. Một số receptor bề mặt trên bạch cầu trung tính và chức năng của nó

Đặc điểm quan trọng nhất của các protein này là: đóng vai trò receptor cho các opsonin và là receptor để gắn bạch cầu trung tính vào vách mạch quản. Khi một vi khuẩn đã được gắn vào bạch cầu trung tính, các receptor cho opsonin sẽ chuyển tín hiệu cho tế bào và làm tăng hoạt động hô hấp và tiêu hoá. Như vậy, nếu một bạch cầu trung tính rời khỏi máu và đi vào tổ chức để tìm kiếm vi khuẩn thì trước hết nó phải gắn vào tế bào nội mô trên vách mạch quản.

Các receptor cho opsonin

CD32 là receptor cho các phân tử kháng thể và sẽ gắn vào vi khuẩn được kháng thể bao phủ. Ngoài bạch cầu trung tính, CD32 còn được tìm thấy trong nhiều loại tế bào. Do là một receptor của kháng thể nên CD32 gắn với khu vực Fc trên phân tử kháng thể và vì vậy nó được gọi là receptor Fc (FcR)(do có nhiều receptor khác nhau nên nó được phân loại là FcR γ II)

CD35 (CRI) là một receptor cho thành phần bổ thể C3b. Không chỉ có ở bạch cầu trung tính mà CD35 còn ở những bạch cầu hạt khác, bạch cầu đơn nhân, hồng cầu và tế bào lympho B. Các tiểu phần được bao phủ bởi C3b gắn vào CD35 trên bạch cầu trung tính - có nghĩa là làm cho bạch cầu trung tính gắn vào tiểu phần nhưng ở đây không xảy ra việc nuốt tiểu phần.

Receptor để bám dính các tế bào

Rất nhiều protein trên bề mặt tế bào có tác dụng làm cho các tế bào dính lại với nhau. Protein quan trọng nhất trong số này là integrin. Có 3 integrin khác nhau trên bạch

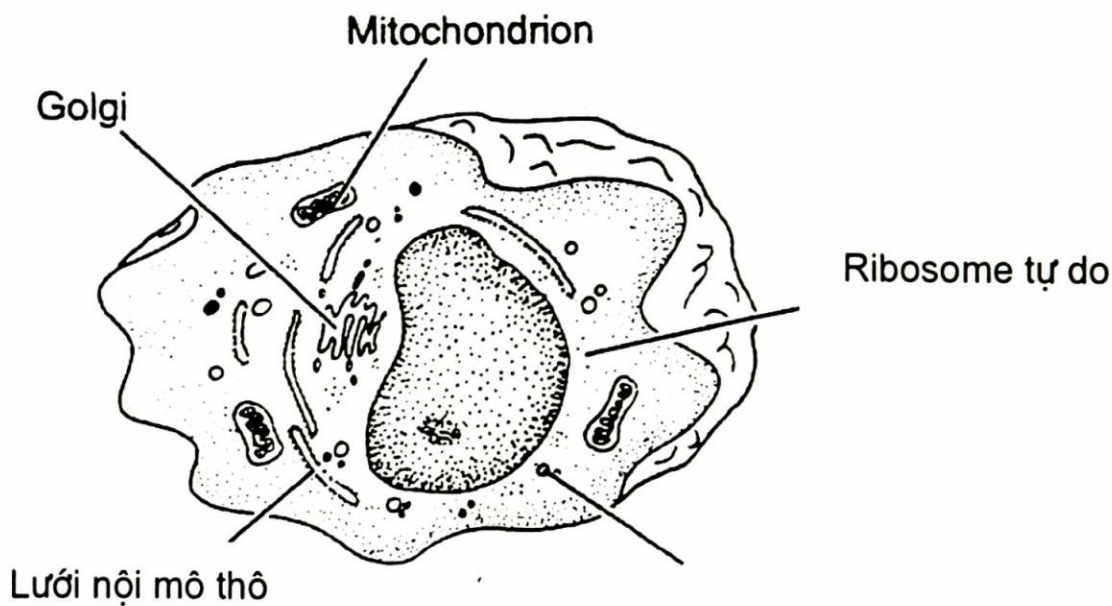
cầu trung tính, tất cả đều chứa các chuỗi đôi protein không đồng nhất. Ở đó chuỗi α CD11 a, b hoặc c được nối với chuỗi β chung CD18. Như vậy 3 integrin này là CD11a/CD18, CD11b/CD18 và CD11c/CD18. CD11a/CD18 được phát hiện thấy trên bạch cầu hạt, tế bào lympho, bạch cầu đơn nhân và tế bào diệt tự nhiên (NK). Nó gắn với 2 protein CD54, đó là ICAM -1 và ICAM -2 có trên bề mặt tế bào nội mô mao quản và ở tổ chức viêm. CD11b/CD18 cũng gắn bạch cầu với tế bào nội mô và là receptor cho thành phần bổ thể C3b nên còn được gọi là receptor 3 (CR3). CD11c/CD18 có trên bạch cầu hạt và đại thực bào; nó cũng gắn vào thành phần bổ thể C3b.

3. ĐẠI THỰC BÀO - QUẦN THỂ TẾ BÀO THỰC BÀO THỨ CẤP

Hệ thống thực bào đơn nhân được gọi là đại thực bào, có hình thái tương tự nhau, có chung một nguồn gốc và chung một chức năng. Chúng có một nhân tròn và tác dụng thực bào rõ ràng nên được gọi là hệ thống thực bào đơn nhân. Ngược lại với bạch cầu trung tính, đại thực bào có khả năng thực bào lâu dài và nhắc lại. Chúng tiết ra các phân tử làm khuếch đại đáp ứng miễn dịch. Đại thực bào có nguồn gốc từ tuỷ xương. Chúng kiểm soát viêm và góp phần trực tiếp hàn gắn tổn thương tổ chức bằng cách loại bỏ các tế bào chết và gunk chết. Những đại thực bào chưa trưởng thành lưu hành trong máu được gọi là bạch cầu đơn nhân. Những đại thực bào trong gan gọi là tế bào kuppfer và trong não được gọi là microglia; đại thực bào trong phổi và phế nang được gọi là đại thực bào phế nang và tế bào trong mao quản phổi gọi là đại thực bào trong mạch quản phổi. Các tế bào này có với số lượng lớn trong lách, tuỷ xương và hạch lympho. Tất cả chúng đều là đại thực bào và là một phần của hệ thống thực bào đơn nhân

3.1. Cấu tạo của đại thực bào

Đại thực bào có hình dạng rất biến đổi trong những môi trường khác nhau. Trong dịch treo chúng có hình tròn, đường kính khoảng $15\mu\text{m}$. Bào tương của đại thực bào có nhiều thành phần, ở trung tâm có nhân hình tròn hoặc hạt đậu. Trong bào tương có ty lạp thể, một số lượng lớn lysosom, lưới nội mô và bộ máy Golgi. Những thành phần này cho thấy khả năng tổng hợp protein của tế bào (hình 2.6).

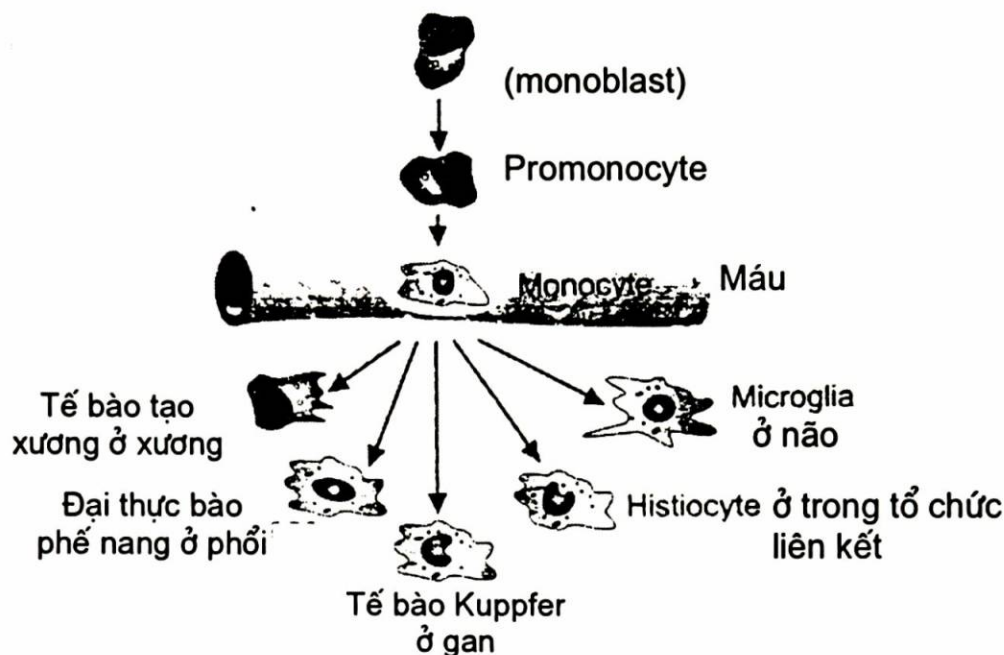


Hình 2.6. Cấu tạo cơ bản của đại thực bào

Một số đại thực bào có cấu trúc rất biến đổi. Bạch cầu đơn nhân trong máu ngoại vi có nhân tròn và trở thành bầu dục khi trưởng thành. Bào tương của đại thực bào phế nang hầu như chứa rất ít lưới nội mô nhưng thường có đầy hạt. Tế bào Microglia của hệ thống thần kinh trung ương có nhân hình gậy.

3.2. Nguồn gốc của đại thực bào

Tất cả hệ thống thực bào đơn nhân đều có nguồn gốc từ tế bào nguồn của tuỷ xương được gọi là nguyên bạch cầu đơn nhân (Monoblast) (hình 2.7).



Hình 2.7. Các đại thực bào gốc và sự phát triển của đại thực bào

Nguyên bạch cầu đơn nhân phát triển thành bạch cầu đơn nhân dưới tác dụng của một protein được gọi là yếu tố kích thích quần thể (colony stimulating factor). Sau đó bạch cầu đơn nhân vào máu và tuần hoàn trong máu 3 ngày trước khi đi vào tổ chức và phát triển thành đại thực bào. Đại thực bào có nguồn gốc cả từ tổ chức và cả từ tăng sinh cục bộ các tổ chức. Chúng là những tế bào có đời sống tương đối dài, có khả năng tự thay thế với tỷ lệ 1% mỗi ngày trừ khi được các phản ứng viêm hoặc tổn thương tổ chức hoạt hoá.

Nếu chúng nuốt chất lạ, vòng đời của chúng có thể bị ảnh hưởng. Đại thực bào có thể sống rất lâu sau khi nuốt các tiểu phần hoá học. Ở người nghiện thuốc lá hoặc sau khi tiếp xúc với bụi nặng, đại thực bào có thể mang những tiểu phần đó đến phổi hoặc ruột và từ đó vào phế quản hoặc khoang ruột rồi thải ra ngoài. Tuy nhiên một số tiểu phần dù dễ bị thực bào nhưng lại có tác dụng độc đối với đại thực bào, thí dụ như tiểu phần amiăng chẳng hạn, sẽ tiêu diệt đại thực bào sau khi bị thực bào. Được giải phóng từ tổ chức chết, những tiểu phần ấy có thể bị thực bào lại và đại thực bào tiếp tục bị phá huỷ làm giải phóng quá mức các enzyme của lysosome và các chất chuyển hoá do oxy hoá gây viêm, huỷ hoại tổ chức mãn tính, hình thành sẹo và như vậy có thể gây tổn thương phổi nặng như trong bệnh bụi phổi amiăng.

3.3. Chức năng của đại thực bào

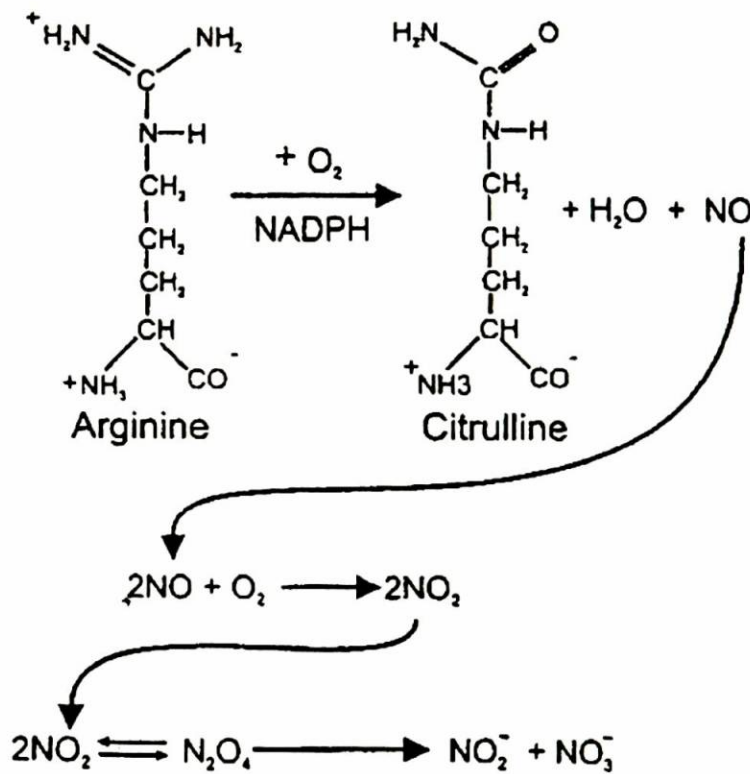
Thực bào

Quá trình thực bào của đại thực bào tương tự như quá trình thực bào ở bạch cầu trung tính. Bạch cầu không chỉ được thu hút đến các sản phẩm của vi khuẩn và các sản phẩm của mô thể như C5b mà còn được thu hút đến các phân tử được giải phóng từ tế bào và tổ chức bị tổn thương. Bạch cầu trung tính khi gần chết giải phóng elastase và collagenase và vì vậy làm sản sinh yếu tố hướng động hoá học của bạch cầu đơn nhân. Như vậy bạch cầu trung tính là những vật hy sinh của hệ thống miễn dịch, chúng đến và tấn công chất lạ trước hết rồi khi gần chết chúng thu hút đại thực bào đến nơi có vi sinh vật xâm nhập. Đại thực bào phá huỷ vi sinh vật bằng cả cơ chế oxy hoá và không phải oxy hoá. Một chức năng quan trọng nữa của đại thực bào là loại bỏ những tế bào chết và gần chết.

Sản sinh nitơ oxyt

Ở một số loài, đặc biệt là chuột và bò (ở người và thỏ thì không), đại thực bào được hoạt hoá do tiếp xúc với phân tử lạ hoặc yếu tố hướng động hoá học, sẽ tổng hợp một enzyme gọi là nitric oxide synthase. Enzyme này sử dụng NADPH và oxygen để tác động đến L-arginin làm sản sinh nitơ oxyt (NO) (hình 2.8) và citrulline.

Mặc dù nitơ oxyt không có độc tính cao nhưng nó phản ứng với anion oxygen sinh ra các dẫn xuất rất độc như NO_2^- , N_2O_3 , ONOO^- và NO_3^- . Những dẫn xuất này có thể giết chết vi khuẩn hay ký sinh trùng nằm trong tế bào và gây tổn thương nghiêm trọng cho tổ chức.



Hình 2.8. Sản xuất nitric oxide từ arginine, một hệ thống kháng khuẩn ở đại thực bào

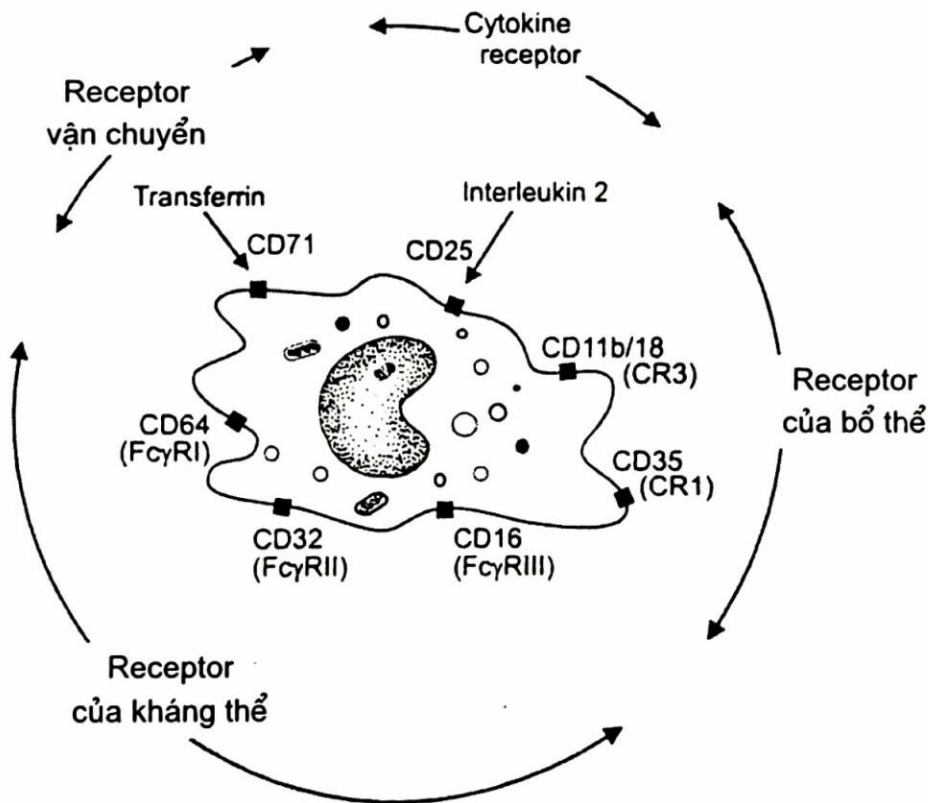
3.4. Hoạt hoá đại thực bào

Mặc dù bạch cầu đơn nhân và đại thực bào ở điều kiện bình thường là những tế bào có tác dụng thực bào tốt nhưng chúng cũng có thể được hoạt hoá dễ dàng và tác dụng sẽ tăng lên rất nhiều như tăng tác dụng thực bào, tăng sự bộc lộ receptor của kháng thể và bổ thể, tăng tiết enzyme protease và enzyme của lysosom. Các tế bào này được gọi là đại thực bào viêm. Tế bào viêm lại có thể bị kích thích hơn nữa, do tiếp xúc với vi khuẩn và các protein interferon, để trở thành đại thực bào hoạt hoá. Khả năng diệt khuẩn của đại thực bào hoạt hoá đã được tăng lên rất nhiều lần. Khi chất lạ tồn tại lâu trong cơ thể, đại thực bào tập trung với số lượng lớn quanh chất lạ và gây tác dụng kéo dài, giống như biểu mô của các tổ chức tiết trong cơ thể. Bởi lý do đó mà những tế bào này được gọi là tế bào dạng biểu mô. Khi vây quanh tế bào quá lớn mà không thể nuốt được, tế bào biểu mô có thể kết hợp với nhau để tạo nên tế bào khổng lồ có nhiều nhân. Hình ảnh tế bào dạng biểu mô và tế bào khổng lồ là đặc điểm nổi bật của các nang lao, một tổn thương viêm kéo dài dai dẳng ở những cá thể bị lao. Tổn thương này là do vi khuẩn lao tồn tại kéo dài trong tổ chức.

3.5. Các receptor của đại thực bào

Đại thực bào mang rất nhiều protein receptor khác nhau trên bề mặt của chúng (hình 2.9).

CD 64 (Fc γ RI) là receptor có ái lực cao với kháng thể, có mặt trên bạch cầu đơn nhân và đại thực bào và cũng có nhưng với số lượng thấp hơn trên bạch cầu trung tính. Số lượng receptor này tăng lên khi bạch cầu trung tính được hoạt hoá bởi interferon- γ (IFN - γ).

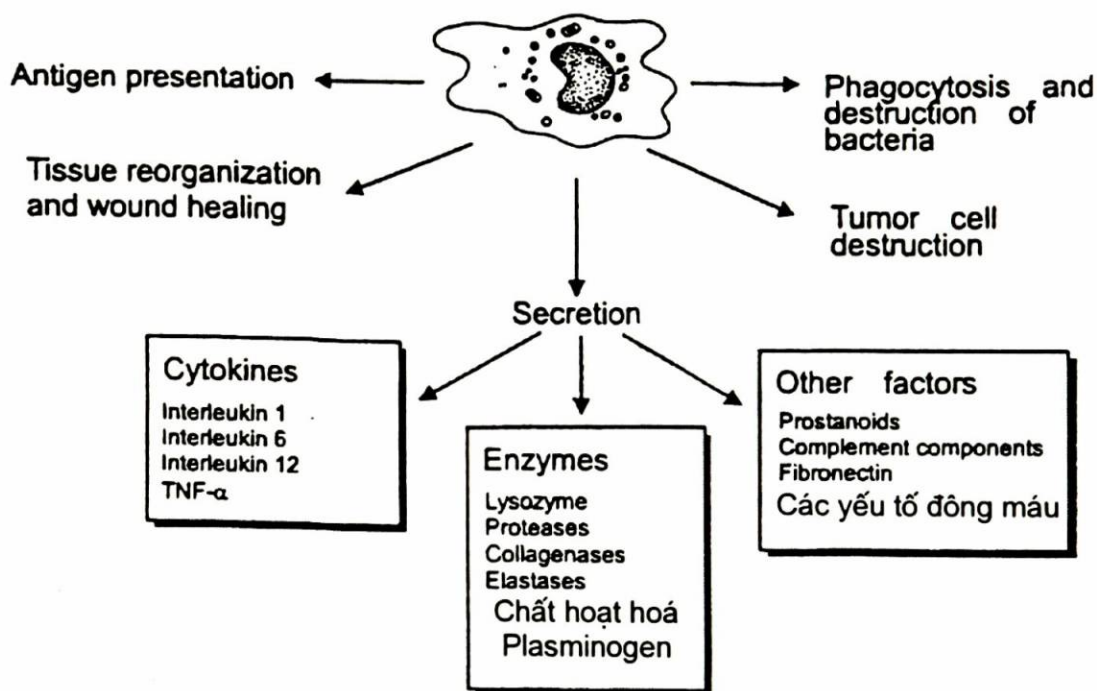


Hình 2.9. Một số receptor bề mặt ở đại thực bào và chức năng của chúng

Đại thực bào của người có mang hai receptor của kháng thể, CD32(Fc γ RII) và CD16 (Fc γ RIII). Những receptor này có ái lực thấp với kháng thể. Bò chỉ có một FcR duy nhất trên đại thực bào, Fc γ 2R. Nó có thể gắn vào các tiểu phân được bao phủ bằng một loại kháng thể đặc hiệu IgG2. Đại thực bào của người và chuột cũng có receptor cho các thành phần của bổ thể. Chúng bao gồm CD 35 (CRI) - một receptor chủ yếu cho C3b và CD11/CD18 - một receptor cho các tiểu phân của C3b. Nhờ receptor này, các tiểu phân kháng nguyên đã được bổ thể bao phủ gắn được vào đại thực bào. Integrin có tác dụng kết dính đại thực bào với tế bào khác, với một số phần tử của tổ chức liên kết như collagen và fibromectin, với một số thành phần bổ thể. Integrin cũng có thể gắn với một số protein của vi khuẩn như invasin, một protein bề mặt của vi khuẩn *Yersinia enterocolitica*. Một integrin gọi là $\alpha_2\beta_2$ đã được xác định trên đại thực bào của chó. Chất gắn và chức năng của nó chưa được biết đến. Những receptor này có bản chất là protein, có thể gắn với saccharide manose hoặc fucose trên vỏ saccharide của vi khuẩn xâm nhập. Carbohydrate lại là thành phần quan trọng của tế bào vi khuẩn, nên chính nhờ những receptor này mà đại thực bào gắn trực tiếp được với vi khuẩn chưa opsonin hoá.

3.6. Đại thực bào đóng vai trò là tế bào tiết

Đại thực bào có thể tổng hợp và tiết nhiều protein khác nhau (hình 2.10) như enzyme lysozyme và tiết liên tục các thành phần của bổ thể C2, C3, C4 và C5.

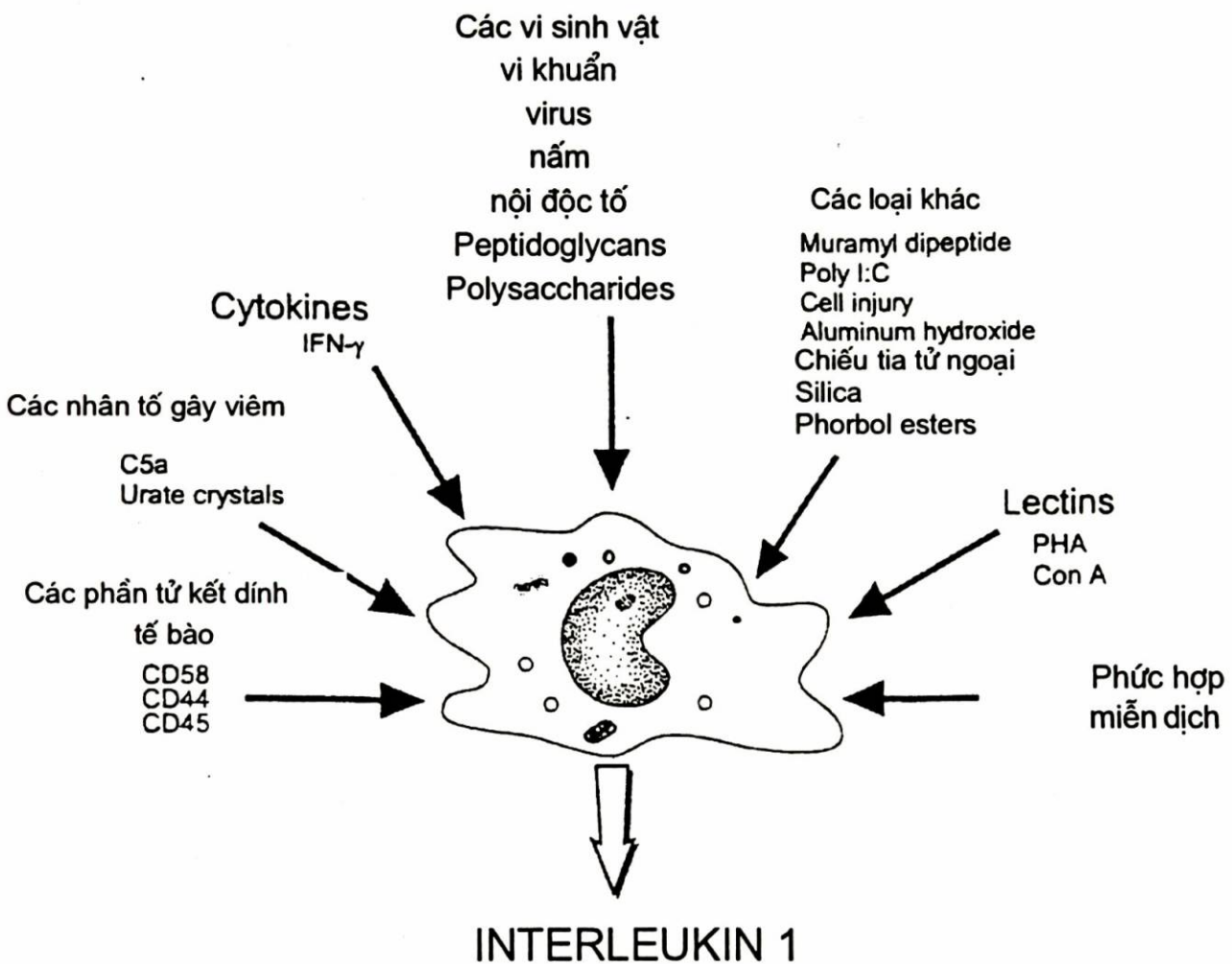


Hình 2.10. Chức năng của đại thực bào

Những protein khác được giải phóng trong quá trình thực bào, bao gồm protease, collagenase, elastase của lysosome và các chất hoạt hoá plasminogen. Đại thực bào cũng tiết bốn protein quan trọng đóng vai trò chủ yếu trong điều hoà miễn dịch: Interleukin 1 (IL-1), Interleukin 2 (IL-2), Interleukin 12 (IL-12) và yếu tố làm huỷ hoại khối u alpha (Tumor necrosis factor alpha-TNF- α). Những protein điều hoà này được phân loại là các cytokin.

Interleukin 1(IL-1)

Mặc dù rất nhiều tế bào có thể tiết IL-1 như tế bào lympho, tế bào nội mô, nguyên bào sợi (Fibroblast) và tế bào sừng (keratinocyte) nhưng nguồn chủ yếu là từ những đại thực bào hoạt hoá. Ở trạng thái bình thường, đại thực bào sản xuất IL-1 với số lượng ít nhưng ở trạng thái hoạt hoá chúng sản xuất IL-1 với số lượng lớn hơn nhiều. Sự sao chép của IL-1 mRNA được tiến hành 15 phút sau khi tiếp xúc với tác nhân kích thích (như các tiểu phần thực bào...) và đạt tới đỉnh cao sau 3-4 giờ rồi duy trì trong vài giờ nữa trước khi giảm xuống. Có hai dạng IL-1 hoạt hoá, đó là IL-1 α và IL-1 β . Chúng là những protein có trọng lượng phân tử 17kDa. IL-1 β thường được sản xuất với nồng độ cao gấp 10 đến 50 lần nồng độ của IL-1 α . IL-1 α gắn vào tế bào, ngược lại IL-1 β được các tế bào tiết ra ngoài. Vì vậy IL-1 α chỉ tác động đến những tế bào tiếp xúc trực tiếp với đại thực bào. Khi một con vật bị nhiễm vi sinh vật gây bệnh, đại thực bào giải phóng IL-1 vào máu (hình 2.11), tìm cách phá huỷ các vi sinh vật xâm nhiễm nhưng cũng tác động đến não gây sốt, mệt mỏi, khó chịu, ăn mất ngon.



Hình 2.11. Các kích thích thúc đẩy giải phóng interleukin 1 từ đại thực bào

Như vậy chính IL-1 làm cho cơ thể có cảm giác đau ốm. IL-1 tác động đến các tế bào cơ, huy động amino acid; tác động đến tế bào gan, gây cảm ứng sản xuất protein mới gọi là protein pha cấp tính (acute phase protein) hỗ trợ cho việc bảo vệ cơ thể. IL-1 hoạt hoá các tế bào lympho điều khiển đáp ứng miễn dịch và cần thiết cho việc tạo ra

một số dạng đáp ứng miễn dịch. IL-1 gắn vào receptor trên một số tế bào lympho (đặc biệt là các tế bào của tiểu quần thể T gọi là T hỗ trợ 2 (*Th2*) và gây cảm ứng làm chúng tiết ra một hỗn hợp protein như interleukin 4 (IL-4), interleukin 5 (IL-5) và interleukin 10 (IL-10).

Người ta đã xác định được hai receptor cho IL-1 (IL-1R). Receptor loại 1 được gọi là CDw121a và receptor loại 2 gọi là CDw121b. Rất ít phân tử CDw121a cần thiết để chuyển tín hiệu và kích thích tế bào đích. Ngược lại, CDw121b không chuyển tín hiệu sinh học và như vậy tác dụng là chất điều chỉnh phủ định. Nó có thể tác dụng như vậy khi gắn vào tế bào hoặc bong khỏi bề mặt tế bào.

Chất đối kháng của receptor interleukin 1

Ngoài receptor IL-1 α và IL-1 β , đại thực bào còn sản xuất một dạng thứ 3 của IL-1 không có tác dụng chuyển tín hiệu cho tế bào mà đồng thời có tác dụng là chất đối kháng receptor - đó là ILIRA. ILIRA là một glycoprotein gắn với CDw121a bằng một ái lực cao, phong toả receptor này gắn vào IL-1 hoạt động và vì vậy ngăn cản sự dẫn truyền tín hiệu. Như vậy nó cạnh tranh với cả hai dạng đối với receptor này của IL-1. ILIRA có ái lực thấp đối với CD121b. ILIRA rất quan trọng trong nhiều bệnh. Nó làm giảm tỷ lệ chết do sốc nhiễm khuẩn huyết và làm giảm mức độ trầm trọng trong bệnh viêm khớp hoặc trong thải bỏ mảnh ghép.

Interleukin 6

IL-6 là một protein có trọng lượng phân tử 26 Da, không chỉ do đại thực bào đã hoạt hoá mà còn do các nguyên bào sợi (Fibroblast), các tế bào nội mô và các tế bào màng mao mạch sản xuất. IL-6 tác dụng trên nhiều tế bào đích khác nhau bao gồm các tế bào lympho, các nguyên bào sợi, các tế bào gan. Nó cũng tác động đến tế bào lympho để tăng cường tổng hợp kháng thể. IL-6 cũng giống như IL-1 có vai trò quan trọng trong đáp ứng toàn thân đối với nhiễm khuẩn. Chất này còn kích thích giải phóng protein pha cấp tính từ gan và cũng gây sốt mặc dù tác dụng yếu hơn nhiều so với IL-1 hoặc TNF α .

Interleukin 12

IL-12 là một chuỗi đôi không đồng nhất, có 2 glycoprotein nối với nhau; do đại thực bào, tế bào lympho B và tế bào đuôi gai sản xuất. IL-12 có vai trò quan trọng giống như IL-1 trong tác dụng kích thích hoạt động của tế bào T hỗ trợ; nhưng trong khi IL-1 là chất kích thích đối với các tế bào của tiểu quần thể *Th2* thì IL-12 lại kích thích tiểu quần thể khác (*Th1*). IL-12 làm tăng tiết protein của tế bào này như IL-2 và IFN- γ đồng thời đóng vai trò là receptor của IL-2. Nó cũng là chất kích thích mạnh tế bào diệt tự nhiên (NK) do làm tăng tác dụng gây độc, tăng tác dụng chống virus và chống khối u của tế bào này.

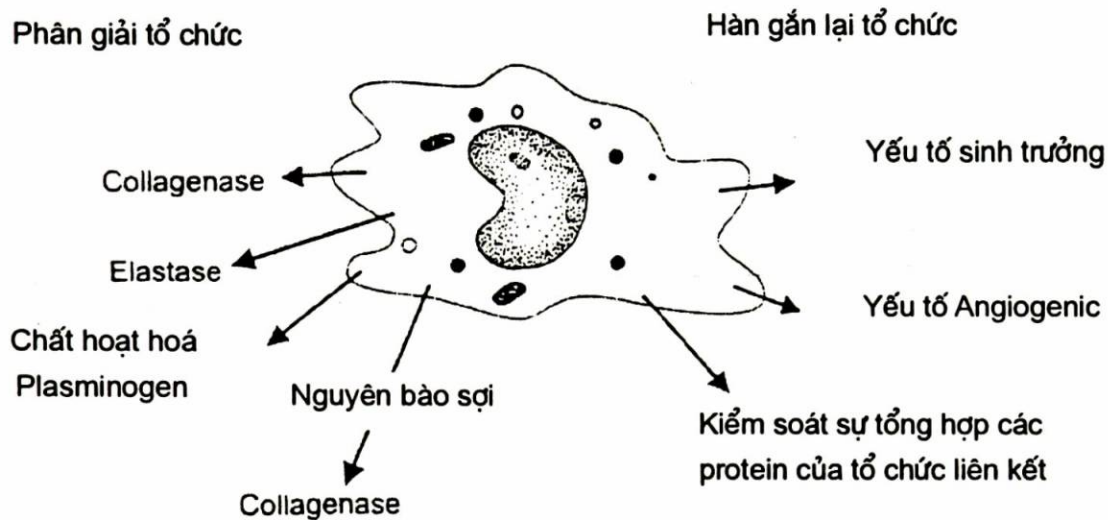
Yếu tố gây huỷ hoại khối u alpha

Gia súc nhiễm vi khuẩn gram âm như *Escherichia coli* hoặc *Salmonella typhimurium* có các triệu chứng như sốt, hạ huyết áp, tổn thương thận, gan, phổi, có thể

nhiễm khuẩn huyết và chết. Những triệu chứng trên là do tác dụng của TNF- γ và các cytokin khác được giải phóng ra từ đại thực bào đã được nội độc tố kích thích. Gia súc tiếp xúc trong thời gian dài với số lượng ít TNF- γ sẽ bị sút cân, thiếu máu và giảm mạnh protein. Sút cân là do TNF- γ làm cho tế bào giảm lipid dự trữ. TNF- γ làm cho tế bào gan tiết ra protein pha cấp tính và cũng tác động đến não hoặc gây sốt. Nó cũng làm tăng hướng động hoá học của đại thực bào và bạch cầu trung tính, làm tăng tác dụng thực bào và tác dụng gây độc. TNF- γ giết chết một số khối u, gây hoại tử ở trung tâm của một số khối u *in vivo* do nó gắn vào receptor của những tế bào tại đó, được các tế bào truyền thông tin đưa đến tín hiệu gây chết.

3.7. Đại thực bào và tác dụng hàn gắn vết thương

Đại thực bào rất cần thiết cho việc hàn gắn vết thương (hình 2.12).



Hình 2.12. Vai trò của đại thực bào trong việc hàn gắn vết thương

Đến vết thương, đầu tiên đại thực bào tác dụng theo kiểu như bạch cầu đa nhân trung tính, thực bào và giết chết vi khuẩn thông qua tiết các enzyme chuyển hoá và các enzyme lysosom. Tuy nhiên đại thực bào cũng tiết các enzyme protease làm phân giải tổ chức liên kết và điều chỉnh sản xuất collagenase của các nguyên bào sợi do tiết ra IL-1. Khi tổ chức tổn thương bị loại bỏ, đại thực bào cũng là nguồn các yếu tố sinh trưởng đối với nguyên bào sợi và kích thích chúng tiết ra collagen. Những tế bào này còn tiết ra những phân tử làm tăng sinh mạch quản mới. Như vậy đại thực bào là tế bào có vai trò chủ yếu trong hàn gắn vết thương.

3.8. Số phận của các chất lạ trong cơ thể

3.8.1. Số phận các tiểu phần kháng nguyên vào bằng đường tĩnh mạch

Nếu vi khuẩn được đưa vào tĩnh mạch của một con vật, chúng sẽ nhanh chóng bị loại khỏi máu. Số phận của chúng phụ thuộc vào loài gia súc. Ở chó, súc vật phòng thí nghiệm và ở người thì một tỷ lệ đáng kể (80% - 90%) vi khuẩn cũng như những vi sinh vật khác bị đại thực bào trong xoang mạch máu ở gan và lách bắt giữ rồi loại bỏ. Ngược lại, ở bê, cừu, dê, ngựa, lợn và mèo thì chủ yếu các vi sinh vật lại bị các đại thực bào trong mạch quản của phổi loại bỏ. Các đại thực bào trong các mạch quản phổi

được thu hút đến các tế bào nội mô trong mao quản phổi. Ở những loài có sự thanh lọc diễn ra chủ yếu tại gan thì các virus lớn hoặc các vi khuẩn có thể được thanh lọc hoàn toàn qua đường gan. Lách có tác dụng lọc hiệu quả hơn gan nhưng là cơ quan nhỏ hơn, bắt giữ được ít chất lạ hơn. Có sự khác nhau rất lớn giữa các loại tiểu phân lạ được lách và gan loại bỏ. Tiểu phân lạ được kháng thể bao phủ có xu hướng được ưu tiên loại bỏ qua lách. Đại thực bào của lách có receptor cho kháng thể (CD34) và vì vậy gắn vào các tiểu phân được kháng thể bao phủ. Ngược lại, tiểu phân được bổ thể bao phủ thì chủ yếu bị loại bỏ nhờ tế bào Kupffer tại gan vì những tế bào này có receptor của bổ thể (CD35). Tỷ lệ thanh lọc của những tiểu phân này trong máu được điều chỉnh nhờ sự có mặt của một số chất opsonin như fibromectin. Nếu một súc vật được tiêm một liều lớn carbon ở dạng keo, các opsonin hoà tan sẽ bị loại bỏ, các tiểu phân lạ khác (như vi khuẩn) sẽ không bị thanh lọc khỏi máu. Trong trường hợp này cả hệ thống thực bào nguồn gốc tuỷ xương và hệ thống thực bào đơn nhân đều bị phong toả. Sự loại bỏ vi sinh vật khỏi máu tăng lên mạnh nếu kháng thể đặc hiệu có mặt do sự opsonin hoá sẽ làm tăng hiệu quả bắt giữ của bạch cầu trung tính và đại thực bào. Nếu không có mặt kháng thể, hoặc vi khuẩn có chứa vỏ polysaccharide làm giảm khả năng thực bào thì tỷ lệ thanh lọc giảm xuống. Một số chất như nội độc tố vi khuẩn, estrogen và các lipid đơn giản kích thích hoạt động của đại thực bào do vậy làm tăng độ thanh lọc vi khuẩn. Các chất steroid và các thuốc khác làm ức chế hoạt động thực bào lại làm giảm tốc độ thanh lọc.

3.8.2. Số phận kháng nguyên hoà tan vào bằng đường tĩnh mạch

Trừ khi được xử lý đặc biệt còn bình thường thì các phân tử protein trong dung dịch đưa vào tĩnh mạch có xu hướng kết tụ lại một cách tự phát. Nếu một dung dịch protein đem tiêm tĩnh mạch, những phân tử kết tụ này bị bạch cầu trung tính và đại thực bào loại bỏ. Phân tử không bị kết tụ thì được giữ lại trong dung dịch và thậm chí được phân phối trong máu gia súc. Còn phân tử nào nhỏ (dưới 50kDa) thì được phân phối trong khắp các dịch tổ chức bên ngoài mạch quản. Một khi được phân phối, kháng nguyên được xử lý giống như những protein khác của cơ thể và được phân giải làm cho nồng độ kháng nguyên tiếp tục giảm dần. Tuy nhiên, sau vài ngày, gia súc có đáp ứng miễn dịch; kháng thể được tạo ra sẽ kết hợp với kháng nguyên để hình thành nên phức hợp kháng nguyên kháng thể. Phức hợp kháng nguyên kháng thể này bị thanh lọc khỏi tuần hoàn máu nhờ tế bào thực bào. Tất cả kháng nguyên được loại bỏ nhanh chóng theo cách này. Sự phân phối, chuyển hoá kháng nguyên và thanh lọc đó có thể thay đổi trong một số điều kiện. Thí dụ nếu con vật chưa được tiếp xúc với kháng nguyên từ trước thì thời gian cần cho việc sản xuất kháng thể và loại bỏ phức hợp miễn dịch chậm, mất khoảng 5 - 10 ngày; nhưng nếu con vật đã từng tiếp xúc với kháng nguyên trước đó thì chỉ sau 2-3 ngày đã xuất hiện đáp ứng miễn dịch. Nếu kháng thể đã có sẵn trong máu khi đưa kháng nguyên vào thì sự loại bỏ phức hợp miễn dịch sẽ xảy ra ngay. Còn nếu chất tiêm vào không có tính kháng nguyên hoặc nếu đáp ứng miễn dịch không xảy ra thì sự phân giải sẽ tiếp tục cho đến khi chất này bị loại bỏ.

3.8.3. Số phận của kháng nguyên vào bằng đường khác

Tiêm kháng nguyên không hoà tan (kháng nguyên kết tụ) vào tổ chức sẽ gây ra một tổn thương nhẹ. Bạch cầu trung tính và đại thực bào di chuyển đến chỗ tiêm dưới ảnh hưởng của yếu tố hướng động hoá học được giải phóng từ tổ chức tổn thương. Chúng thực bào những chất tiêm vào. Kháng nguyên bị đại thực bào bắt giữ được xử lý và kích thích đáp ứng miễn dịch. Kháng thể và bổ thể tương tác với kháng nguyên làm sản sinh nhiều yếu tố hướng động hoá học thu hút tế bào thực bào tới nhiều hơn và loại bỏ nhanh kháng nguyên. Ở một súc vật miễn cảm, tế bào bắt giữ kháng nguyên chuyên biệt được gọi là tế bào langerhan nằm trong da có thể bắt giữ phức hợp miễn dịch và trực tiếp trình diện kháng nguyên cho tế bào lympho. Vì vậy, tiêm kháng nguyên vào trong da có thể kích thích đáp ứng miễn dịch hiệu quả hơn tiêm vào dưới da. Các kháng nguyên hoà tan tiêm vào tổ chức sẽ được phân phối lại trong dịch tổ chức thông qua hệ thống lympho đi vào máu; vì vậy số phận cuối cùng của nó cũng tương tự số phận của các chất tiêm tĩnh mạch. Bất kỳ chất ngưng kết nào có mặt đều bị thực bào bởi bạch cầu trung tính trong máu hoặc đại thực bào trong tổ chức, hoặc đại thực bào và tế bào đuôi gai trong hạch lympho.

Bình thường kháng nguyên đi qua ruột bị enzyme tiêu hoá phân giải sẽ trở thành những phân tử nhỏ hơn không còn tính kháng nguyên. Tuy nhiên, một số phân tử có tính kháng nguyên có thể vẫn được giữ nguyên vẹn và chuyển qua biểu mô ruột. Polysaccharide của vi khuẩn và kháng nguyên gắn với lipid tồn tại tính kháng nguyên theo kiểu này vì chúng được hấp thu ở dạng nhũ chấp. Các kháng nguyên từ ruột đi vào máu sẽ bị đại thực bào ở gan loại bỏ nhanh chóng. Ngược lại, kháng nguyên đi vào hạch lympho ruột sẽ bị giữ lại trong hạch lympho ở mạc treo ruột.

Số phận của kháng nguyên được hít vào qua đường hô hấp phụ thuộc vào kích thước của chúng. Những phân tử lớn (có đường kính lớn hơn $5\mu\text{m}$) lắng đọng lại trong lớp màng nhầy bao phủ biểu mô đường hô hấp từ khí quản cho đến phế quản tận. Sau đó các tiểu phân này được loại bỏ nhờ dòng niêm dịch đến hầu hoặc nhờ ho tống ra ngoài. Phần lớn tiểu phân đến phế nang được đại thực bào của phế nang nuốt và mang chúng trở lại phần nối giữa phế quản với phế nang. Tại đó chúng cũng được loại khỏi phổi nhờ niêm dịch. Tuy nhiên, một số kháng nguyên có thể được hấp thu từ phế nang. Phân tử nhỏ bị hấp thu theo cách này được thanh lọc đến hạch lympho. Ngược lại, kháng nguyên hoà tan đi vào mạch máu rồi được phân phối khắp cơ thể. Khi số lượng lớn các tiểu phân kháng nguyên được hít vào, chẳng hạn như công nhân tiếp xúc với bụi công nghiệp hay người nghiện thuốc lá thì hệ thống đại thực bào ở phế nang có thể bị phong toả tạm thời và do vậy phổi bị miễn cảm hơn với vi sinh vật gây bệnh.

Chương 3

PHẢN ỨNG VIÊM

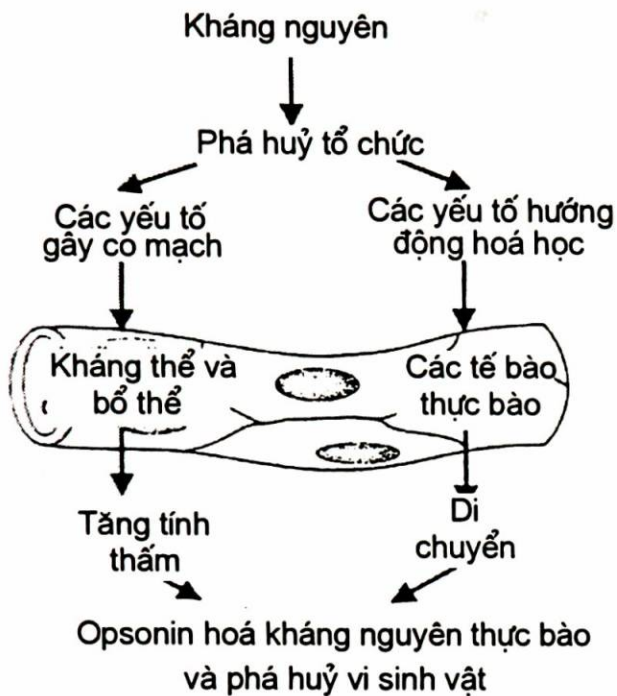
Viêm là đáp ứng của tổ chức đối với vi khuẩn xâm nhập hoặc với tổn thương, là một cơ chế bảo vệ sự sống. Khi viêm, tế bào thực bào và các phân tử bảo vệ như kháng thể và bổ thể tìm đường tới nơi vi khuẩn xâm nhập hoặc tổ chức tổn thương. Bình thường tế bào thực bào có trong tổ chức, chúng di chuyển trong tổ chức để tiêu diệt vi sinh vật gây bệnh; còn kháng thể và các thành phần bổ thể có nồng độ cao trong máu. Những phân tử này có kích thước lớn nên bình thường chúng không thể rời khỏi mạch máu. Khi có phản ứng viêm chúng lại có thể thoát ra ngoài lòng mạch để vào tổ chức, làm cố định và loại bỏ vi sinh vật gây bệnh, hỗ trợ cho quá trình liền vết thương.

Viêm được phân loại dựa theo mức độ nghiêm trọng và khoảng thời gian bị viêm, bao gồm viêm cấp tính và viêm mãn tính.

1. VIÊM CẤP TÍNH

Cơ thể đáp ứng bằng một phản ứng viêm cấp tính chỉ sau khi tổ chức bị tổn thương khoảng 1 giờ. Viêm có 5 đặc điểm: sưng, nóng, đỏ, đau và rối loạn chức năng hoạt động. Tất cả các triệu chứng này là do biến đổi ở mạch quản nhỏ. Ngay sau khi tổn thương sẽ xảy ra hiện tượng co động mạch cục bộ, rồi tiếp theo đó là giãn mạch ở tất cả các mạch quản nhỏ trong khu vực tổn thương làm tăng lưu lượng máu đến khu vực này. Khi mạch quản giãn ra, tính thấm của chúng tăng lên làm thoát dịch từ máu vào tổ chức gây sưng nề và phù. Những biến đổi ấy ở mạch quản cũng làm cho bạch cầu trung tính, bạch cầu ái toan và bạch cầu đơn nhân dính vào tế bào nội mô mạch quản. Nếu mạch quản bị tổn thương, tiểu cầu ngưng kết lại và giải phóng yếu tố gây co mạch và yếu tố đông máu. Sau khi gắn vào thành mạch, bạch cầu di chuyển vào tổ chức xung quanh qua khoảng trống giữa các tế bào nội mô (hình 3.1).

Bạch cầu trung tính và bạch cầu ái toan được huy động nhiều nhất trong số các bạch cầu ở máu và chúng là những tế bào đầu tiên đi đến tổ chức bị tổn thương. Bạch cầu đơn nhân di chuyển chậm hơn và đến khu vực này muộn hơn. Những tế bào ấy được thu hút đến khu vực sinh trưởng của vi khuẩn và đến tổ chức tổn thương nhờ các phân tử hướng động hoá học. Tại đó chúng làm nhiệm vụ thực bào và phá huỷ chất lạ. Bạch cầu đơn nhân trở thành đại thực bào của tổ chức viêm có tác dụng loại bỏ tổ chức hoại tử.



Hình 3.1. Đặc điểm chủ yếu của viêm cấp tính

1.1. Sự di chuyển của bạch cầu, sự kết dính, quá trình kết dính

Kết dính vào thành mạch quản nhỏ là bước đầu tiên trong sự di chuyển của bạch cầu. Bình thường bạch cầu di chuyển tự do trong máu, không gắn vào tế bào nội mô. Sự gắn kết diễn ra khi các phân tử kết dính được bộc lộ trên tế bào biểu mô. Sự bộc lộ này là do sản phẩm của vi khuẩn (như lipopolysaccharide) hoặc do chất giải phóng từ tổ chức bị tổn thương (như thrombin, histamine), yếu tố phá huỷ khối u alpha (TNF- α) và interleukin (IL-1) gây ra. Khi tổ chức bị tổn thương những phân tử này làm cho tế bào nội mô bộc lộ một protein là P. selectin (CD62P). Bình thường, P.selectin được dự trữ trong các hạt nhưng được chuyển đến bề mặt tế bào chỉ vài phút sau khi tế bào được kích thích. P.selectin có thể gắn vào chuỗi phụ carbohydrate trên một protein ở bề mặt của bạch cầu trung tính được gọi là L.selectin (CD62L). Sự kết dính này tồn tại rất ngắn vì L.selectin nhanh chóng bong khỏi bề mặt của bạch cầu trung tính. Do vậy bạch cầu trung tính không gắn chặt mà dần dần giảm sự liên kết, cuộn dọc theo bề mặt của tế bào nội mô mạch quản, giảm tốc độ và sau đó hoàn toàn ngừng lại. Khi bạch cầu trung tính cuộn dọc trên bề mặt tế bào nội mô, giai đoạn kết dính thứ hai xảy ra; đồng thời các bạch cầu đó được hoạt hoá bởi yếu tố hoạt hoá tiểu cầu -platelet (activating factor (PAF)), có bản chất là một lipid và do tế bào nội mô tiết ra dẫn đến làm tăng sự biểu thị của integrin CD11a/CD18. Bề mặt những bạch cầu này biến dạng dẫn đến tăng ái lực với chất gắn (một glycoprotein gọi là CD102 (ICAM-2), lộ diện trên tế bào nội mô. Sự gắn integrin này làm cho bạch cầu trung tính ngừng di chuyển và gắn chặt với tế bào nội mô. Khi bạch cầu trung tính đã gắn chặt, chúng đưa giả túc vào giữa các tế bào rồi lách qua đó để xuyên qua vách mạch quản vào khoảng trống của tổ chức dưới ảnh hưởng của phân tử hướng động hoá học (quá trình này được gọi là xuyên mạch).

Giai đoạn thứ hai của sự tăng kết dính giữa bạch cầu và tế bào nội mô cần vài giờ và phải nhờ đến sự điều khiển của một số cytokin. Cytokin IL-1 hoặc TNF γ biểu thị E.selectin (CD62E) hoạt hoá tế bào nội mô làm tăng tính kết dính của bạch cầu trung

tính hơn nữa. IL-1 cũng gây cảm ứng sản xuất interleukin 8 (IL-8) từ tế bào nội mô và càng thu hút nhiều bạch cầu trung tính đến khu vực này. TNF γ kích thích không chỉ tế bào nội mô tiết ra IL-1 mà còn kích thích hoạt động giãn mạch, tiền đông máu, hình thành huyết khối, tăng bậc lộ protein kết dính tế bào và sản xuất các phân tử hướng động hoá học.

1.2. Hướng động hoá học

Trong số các loại bạch cầu trong máu thì bạch cầu trung tính được huy động nhiều nhất và là những tế bào đầu tiên đi đến tổ chức viêm. Tế bào đơn nhân trong máu di chuyển chậm hơn và đến muộn hơn. Tại tổ chức, các tế bào được thu hút đến vị trí sinh trưởng của vi khuẩn và tổ chức tổn thương; tại đó chúng tiến hành thực bào, phá huỷ chất lạ và bạch cầu đơn nhân làm nhiệm vụ loại bỏ các tổ chức chết và gán chết. Sự di chuyển của bạch cầu trung tính là một quá trình tích cực. Rất nhiều phân tử có tác dụng hướng động hoá học đối với bạch cầu trung tính. Một trong những phân tử hướng động hoá học quan trọng nhất được sản xuất trong quá trình viêm là chemokin (là một peptide nhỏ). Ngoài ra, khi mạch quản bị tổn thương sẽ hoạt hoá hệ thống đông máu, protein có tính hướng động hoá học cũng được sản sinh. Sản phẩm của vi khuẩn cũng có tác dụng hướng động hoá học và như vậy thu hút bạch cầu trung tính đến vị trí vi khuẩn xâm nhập. Phân tử hướng động hoá học có tác dụng mạnh là một lipid gọi là leucotriene B₄. Khi bạch cầu trung tính đã đến được tổ chức tổn thương hoặc bị nhiễm khuẩn chúng sẽ nuốt và phá huỷ chất lạ. Phần lớn các bạch cầu trung tính chết ngay sau đó và bị đại thực bào loại bỏ.

1.3. Sự biến đổi tính thấm thành mạch

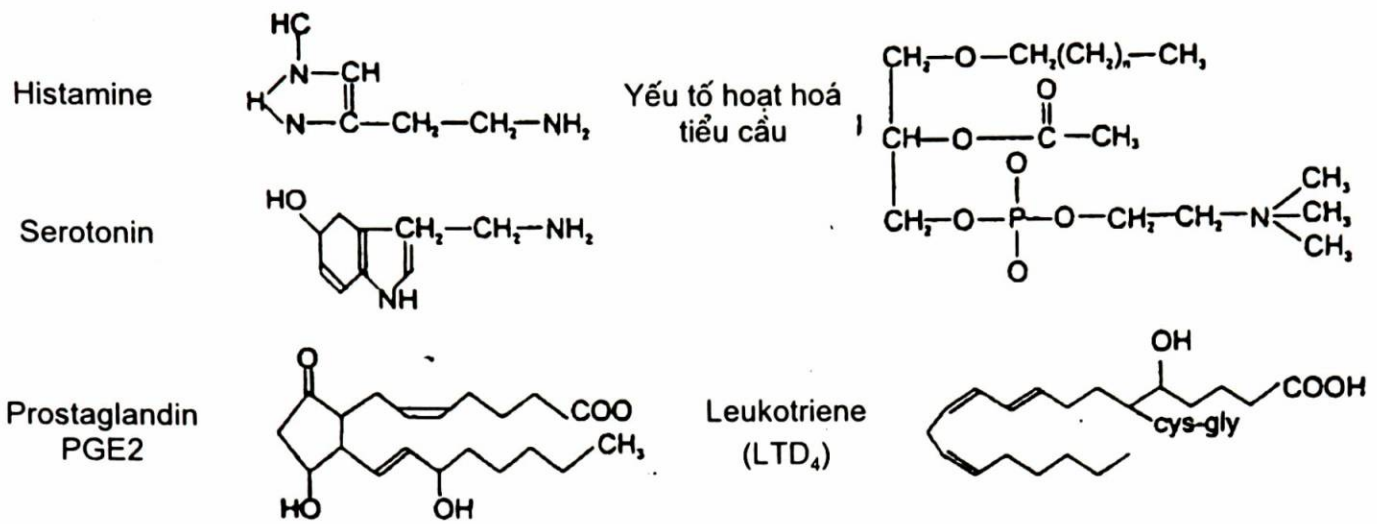
Tổ chức viêm bị sưng nề lên là do tích lũy dịch. Dịch được thoát vào tổ chức do tăng tính thấm thành mạch. Quá trình tăng tính thấm thành mạch diễn ra gồm 2 giai đoạn. Đầu tiên, sự tăng tính thấm này là do các phân tử gây vận mạch được giải phóng ra từ tổ chức tổn thương. Giai đoạn thứ hai của quá trình này xảy ra sau khởi đầu của viêm vài tuần vào thời điểm bạch cầu trung tính bắt đầu di trú. Các tế bào nội mô, các tế bào xung quanh mạch quản co thắt và tách ra một khoảng để dịch thoát ra khoảng trống của tế bào. Rất nhiều trong số những phân tử vận mạch này là chất đóng vai trò quan trọng trong phản ứng dị ứng.

1.4. Các phân tử có tác dụng vận mạch

1.4.1. Histamine

Histamine là amine được tạo thành và dự trữ trong các hạt của tế bào mast (hình 3.2).

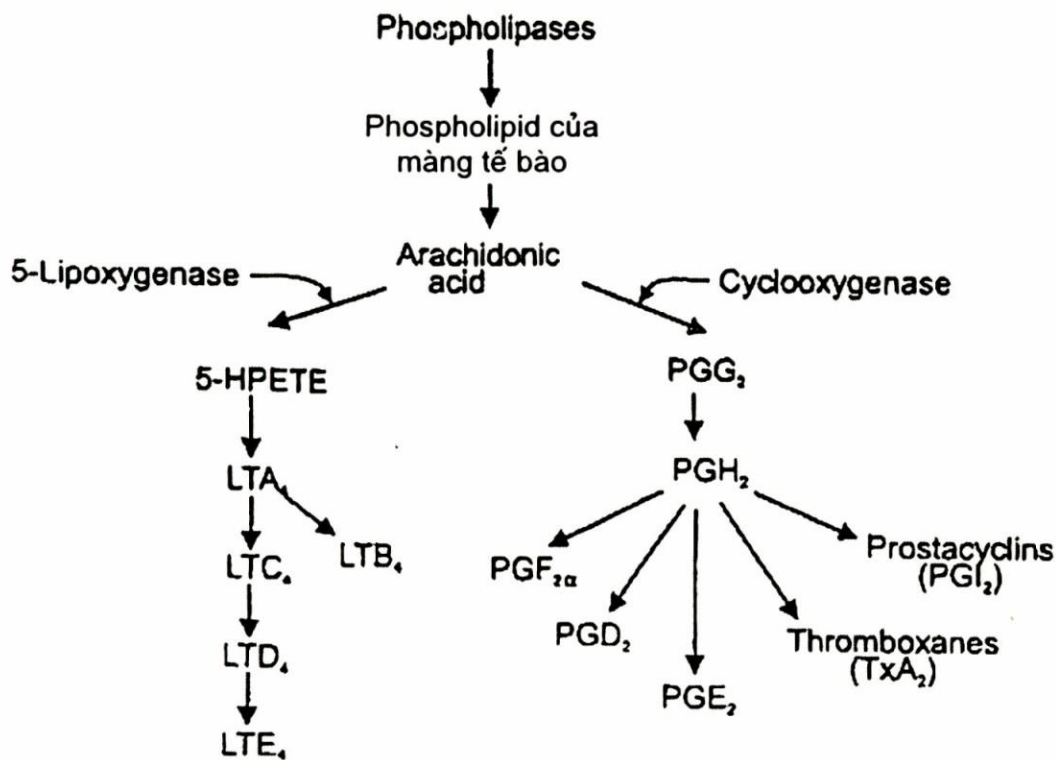
Do tổn thương tổ chức, các hạt này có cơ hội tiếp xúc với dịch ngoại bào, histamine được giải phóng. Histamine tác động đến mạch quản, cơ trơn và các tuyến ngoại tiết, thí dụ, nó làm giãn hết mao mạch và tĩnh mạch nhỏ nhưng làm co mạch quản riêng như mạch quản phổi của loài ăn cỏ và tĩnh mạch gan ở chó. Nó cũng làm tăng tính thấm của mao mạch vì vậy tiêm histamine trong da gây phù cục bộ.



Hình 3.2. Cấu tạo của một số phân tử gây vận mạch

1.4.2. Các chất chuyển hoá của acid arachidonic

Khi tổ chức bị tổn thương hoặc bị kích thích thì phospholipase tác động đến phospholipid ở vách tế bào làm giải phóng acid béo. Một acid béo quan trọng nhất trong số này là acid béo chưa bão hoà mạch dài - acid arachidonic. Dưới tác dụng của acid 5 lipoxygenase, arachidonic chuyển thành lipid có hoạt tính sinh học được gọi là leukotriene (hình 3.3).



Hình 3.3. Sự sản xuất leukotrien và prostaglandin do tác dụng của lipoxygenase và cyclooxygenase

Dưới tác dụng của cyclooxygenase, acid arachidonic tạo ra prostaglandin. Thuật ngữ chung dùng cho các phức hợp lipid này là prostanoid. Có bốn leukotriene đóng vai trò

quan trọng trong quá trình viêm. Leucotriene B (LTB_4) kích thích hướng động hoá học bạch cầu trung tính, bạch cầu ái toan và làm tăng sự bộc lộ receptor C3b của chúng. Leucotriene C_4 , D_4 và E_4 , (LTC_4 , LTD_4 và LTE_4) làm co chậm các cơ trơn. LTC và LTD gây co cơ trơn phế quản mạnh gấp 20 lần histamine ở một số loài và là chất gây kích thích mạnh làm tăng tính thấm thành mạch. Prostaglandin có bốn nhóm PGE , PGF , tromboxane (PGA_2) và prostacycline (PGI_2). Enzyme có tác dụng làm sản sinh ra prostacycline được phát hiện thấy trong tế bào nội mô của mạch quản. Tromboxane có trong tiểu cầu và những prostaglandin khác có thể được sản xuất ở tế bào có nhân. Hoạt tính sinh học của các prostaglandin rất khác nhau, mặt khác lại có nhiều prostaglandin khác nhau được giải phóng vào tổ chức viêm nên tác dụng của chúng có thể rất phức tạp. Thí dụ, $PGF_{2\alpha}$ và tromboxane A_2 làm co cơ trơn và co mạch quản. Các prostaglandin khác như PGE_1 , PGE_2 và prostacycline (PGI_1) thì làm giãn cơ trơn và giãn mạch quản; PGI_2 , PGE_1 và $PGF_{2\alpha}$ lại ức chế ngưng kết tiểu cầu; PGE_2 và TxA_2 làm tăng ngưng kết tiểu cầu và giải phóng các chất trung gian của huyết tiểu cầu như serotonin và $PGF_{2\alpha}$ kích thích tế bào mast giải phóng các chất trung gian.

1.4.3. Các polypeptide gây vận mạch

Một số peptid có tác dụng vận mạch hoặc hướng động hoá học mạnh. Quan trọng nhất trong số này là kinin và anaphylatoxin. Kinin là polypeptide; kinin quan trọng nhất là bradykinin. Chúng có nguồn gốc từ các tiền chất trong huyết thanh được gọi là kininogen. Nhờ tác dụng của kalikrein - một protease, kininogen chuyển thành kinin. Kalikrein được sản xuất ở tế bào mast, bạch cầu ái kiềm hoặc huyết tiểu cầu. Kinin kích thích làm co cơ trơn và làm tăng tính thấm mạch quản. Yếu tố này cũng kích thích receptor có tác dụng gây đau. Anaphylatoxin là peptide C3a và C5a có nguồn gốc từ sự phân cắt các protein bổ thể C3 và C5. C5a cũng còn là chất gây hướng động hoá học bạch cầu trung tính và bạch cầu đơn nhân.

1.4.4. Các phần tử có nguồn gốc bạch cầu trung tính

Khi các phần tử bị bạch cầu trung tính thực bào, hạt sơ cấp của bạch cầu trung tính liên hợp với phagosome (thể thực bào) tạo ra phagolysosome (tiểu thể thực bào). Do sự liên hợp này xảy ra trước khi tiểu phần lạ bị nuốt hoàn toàn, chất chứa trong lysosome có thể được giải phóng vào tổ chức, đó là những kalikrein và enzyme hô hấp như superoxide dismutase cũng như các gốc oxygen tự do trong quá trình hô hấp.

Yếu tố hoạt hoá tiểu cầu (Platelet - activating factor - PAF) là một phospholipid có quan hệ gần gũi với lecithin. Nó được tế bào mast, tế bào nội mô của mạch quản, huyết tiểu cầu, bạch cầu trung tính và bạch cầu ái toan tổng hợp. Nhân tố hoạt hoá tiểu cầu làm ngưng kết tiểu cầu và làm cho chúng giải phóng những phần tử gây vận mạch và tổng hợp tromboxane. Chất này cũng tác động đến bạch cầu trung tính theo kiểu tương tự, như vậy thúc đẩy bạch cầu trung tính kết tụ lại, mất hạt, hướng động hoá học, giải phóng gốc oxygen tự do và làm số lượng bạch cầu trung tính giảm xuống (neutropenia). Nhân tố hoạt hoá tiểu cầu có tác dụng gây co cơ trơn ở nồng độ rất thấp. Có thể vai trò

quan trọng nhất của yếu tố hoạt hoá tiểu cầu là hoạt hoá bạch cầu trung tính làm cho chúng biểu thị integrin và kết dính chặt với tế bào nội mô mạch quản.

1.5. Hệ thống đông máu

Khi các dịch rời khỏi máu để đi vào tổ chức thì có ba chuỗi enzyme được hoạt hoá, đó là hệ thống bổ thể, hệ thống đông máu và hệ thống phân giải fibrin. Hoạt hoá hệ thống đông máu sẽ dẫn đến phản ứng của hàng loạt enzyme. Kết quả là số lượng lớn thrombin (một enzyme đông máu chủ yếu) được tạo ra. Thrombin tác động đến fibrinogen ở tổ chức và huyết tương làm hình thành những dải fibrin không tan. Các sợi fibrin này hình thành một hàng rào ngăn cản không cho sự nhiễm khuẩn lan rộng. Hoạt hoá chất tham gia vào chuỗi đông máu cũng tác động đến hệ thống phân giải fibrin dẫn đến hoạt hoá plasminogen thành plasmin (một enzyme phân giải mạnh fibrin). Phá huỷ fibrin, plasmin làm giải phóng ra thành phần peptide có tác dụng hướng động hoá học bạch cầu trung tính.

1.6. Sự khống chế viêm cấp tính

Do viêm cấp tính có thể gây tổn thương nghiêm trọng tổ chức nên nó cần được kiểm soát chặt chẽ. Huyết tương có chứa một số phần tử có khả năng hoặc trực tiếp làm mất hoạt tính của chất trung gian gây viêm hoặc gián tiếp giảm viêm do ức chế enzyme tham gia sản sinh chất trung gian gây viêm. α_1 - anti trypsin và α_2 - macroglobulin phong toả protease giải phóng từ hạt của bạch cầu trung tính cũng như thrombin, plasmin và C1 esterase. Protein phản ứng C (C reactive protein- CRP) ức chế ngưng kết huyết tiểu cầu. Các gốc oxygen phản ứng mạnh (superoxide, hydrogen peroxide) được giải phóng trong quá trình hô hấp của bạch cầu trung tính gây tổn thương tổ chức và viêm bằng cách oxy hoá lipid của màng tế bào. Do những gốc tự do này rất có hại, tổ chức phải tự bảo vệ bằng cách tiêu diệt các gốc tự do đó. Catalase và peroxidase phá huỷ peroxide, còn superoxide dismutase, ceruloplasmin và các ion đồng tự do thì phân huỷ superoxide do bạch cầu trung tính giải phóng. Bạch cầu trung tính thường chết trong quá trình đáp ứng viêm. Tuy nhiên nếu chúng giải phóng enzyme của lysosome thì sẽ gây tổn thương nghiêm trọng cho tổ chức. Song hiện tượng này thường ít xảy ra. Trong quá trình chết, bạch cầu trung tính có những biến đổi nhất định (quá trình chết của tế bào - Apoptosis) trong đó có sự biến đổi của lipid trên bề mặt. Đại thực bào nhận ra sự biến đổi đó và chúng thực bào bạch cầu trung tính này, do vậy mà những chất trong bạch cầu trung tính không được giải phóng vào tổ chức. Những tế bào tiêu thụ các bạch cầu trung tính đó cũng không giải phóng cytokin hoặc các lipid gây vận mạch. Rõ ràng sự thực bào tế bào chết là một quá trình loại bỏ có hiệu quả những tế bào không còn cần thiết mà không làm thoát ra các chất trong tế bào có tác dụng gây độc.

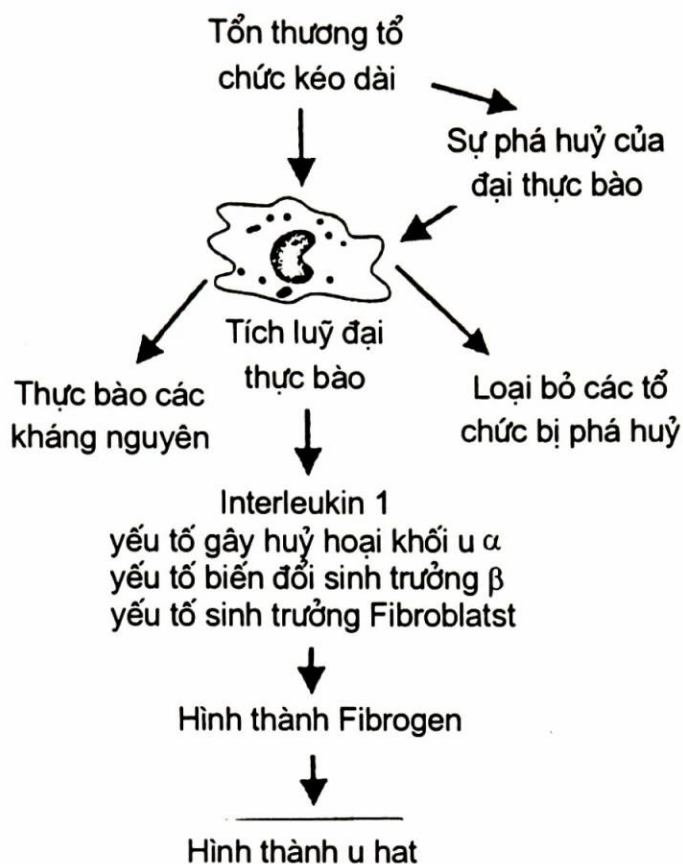
2. VIÊM MÃN TÍNH

Việc bạch cầu đơn nhân dính vào tế bào nội mô mạch quản cũng được điều hành bằng một quá trình tương tự quá trình tác động đến bạch cầu trung tính. Sự cuộn lại của bạch cầu đơn nhân là nhờ L-selectin và cuối cùng dừng lại do integrin gắn vào CD106.

Sau đó bạch cầu đơn nhân trải rộng trên bề mặt tế bào nội mô rồi sử dụng integrin CD18 gắn vào ICAM-1 và di chuyển qua vách mạch quản. Vài giờ sau khi bạch cầu trung tính đến trung tâm ổ viêm, bạch cầu đơn nhân cũng bắt đầu đến. Bạch cầu đơn nhân được thu hút do nhiều phân tử giống như phân tử thu hút bạch cầu trung tính: collagen, elastin, các sản phẩm phân giải fibronectin và lymphokin. Khi đến tổ chức, bạch cầu đơn nhân được hoạt hoá và không chỉ loại bỏ bất kỳ vi khuẩn gây bệnh nào mà còn thực bào và phá huỷ các tế bào và các tổ chức đã bị huỷ hoại bao gồm cả bạch cầu trung tính và các sợi fibrin lắng đọng lại. Đại thực bào giải phóng collagenase và elastase trực tiếp phân huỷ các tổ chức liên kết. Chúng cũng giải phóng chất hoạt hoá plasminogen để tạo ra plasmin. Bằng cách giải phóng IL-1, đại thực bào thu hút và hoạt hoá nguyên bào sợi (fibroblast). Bằng cách giải phóng IL-1, đại thực bào thu hút nguyên bào sợi hoạt hoá. IL-1 thúc đẩy tăng sinh nguyên bào sợi và kích thích sự tổng hợp collagen cần thiết để làm liền vết thương. Collagen lắng đọng tại nơi tổn thương một vài tuần hoặc tháng cho đến khi tổ chức tổn thương trở lại bình thường. Ngoài ra tình trạng thiếu oxygen ở giữa vết thương kích thích tăng sinh mạch quản. Khi hàm lượng oxygen được phục hồi trở lại bình thường, sự hình thành mạch quản mới sẽ ngừng lại. Kết quả cuối cùng của quá trình làm liền vết thương này phụ thuộc phần lớn vào kết quả của quá trình viêm. Nếu nguyên nhân bị loại bỏ hoàn toàn và nhanh chóng, sự hàn gắn tổn thương sẽ thuận lợi. Tuy nhiên, nếu tác nhân gây bệnh hoặc vi khuẩn xâm nhập không thể bị phá huỷ, quá trình viêm có thể tồn tại dai dẳng. Như vậy viêm mãn tính là do sự có mặt của vi khuẩn (như vi khuẩn lao *Mycobacterium tuberculosis*), nấm (như *Cryptococcus*) hoặc ký sinh trùng (như sán lá gan) hoặc các chất vô cơ (như bụi amiăng). Trong những trường hợp này, sự tồn tại dai dẳng của tác nhân gây viêm sẽ kích thích làm cho đại thực bào và các nguyên bào sợi mới tiếp tục đến nơi tổn thương dẫn đến sự lắng đọng quá mức của collagen ở tổ chức. Tổn thương phát triển theo cách này hình thành nên những u hạt (hình 3.4).

Các u hạt đó bao gồm bạch cầu trung tính bị tích lũy lại, các nguyên bào sợi, các tổ chức liên kết lỏng lẻo. Nếu yếu tố kích thích không có tính kháng nguyên, thí dụ như silica, đá tan (talc), dầu khoáng...bạch cầu trung tính, tế bào lympho rất ít được thu hút đến nơi tổn thương. Tuy nhiên các tế bào biểu mô và tế bào khổng lồ vẫn được hình thành để cố gắng phá huỷ chất xâm nhập. Nếu chất xâm nhập có tác dụng độc đối với đại thực bào (như bụi amiăng chẳng hạn) thì enzyme của đại thực bào có thể được giải phóng dẫn đến tổn thương quá mức ở tổ chức và có thể tạo xơ cục bộ gây nên sẹo. Nếu yếu tố kích thích đó có tính miễn dịch thì do cytokin được giải phóng và kích thích miễn dịch kéo dài, loại u hạt sẽ chứa tế bào lympho, đại thực bào, tế bào xơ và có thể có một số bạch cầu trung tính, bạch cầu ái toan, bạch cầu ái kiềm. Đại thực bào trong những u hạt này có thể hình thành nên tế bào khổng lồ. Đại thực bào bị kích thích kéo dài cũng sẽ tiết ra IL-1 kích thích nguyên bào sợi làm tích lại collagen và có thể làm tổ chức tổn thương bong ra. Gây ra phản ứng này có các vi khuẩn như *Mycobacterium*, hoặc *Brucella abortus* (căn nguyên gây sẩy thai truyền nhiễm) và ký sinh trùng (như sán lá gan). Phản ứng hình thành u hạt mãn tính có khi gây hậu quả rất xấu, thí dụ nhiễm sán lá

gan có thể làm chết bệnh súc do tổ chức bình thường của gan bị thay thế dần bằng tổ chức xơ được sinh ra vì bị kích thích kéo dài.



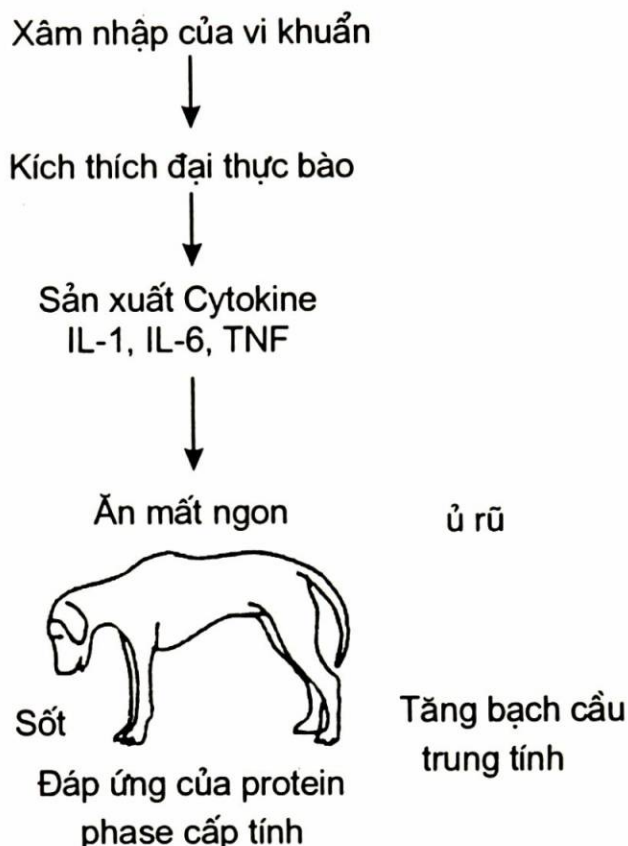
Hình 3.4. Bệnh lý của quá trình viêm mãn tính

3. PHẢN ỨNG TOÀN THÂN ĐỐI VỚI TỔN THƯƠNG TỔ CHỨC VÀ VIÊM

Khi có viêm hoặc xảy ra tổn thương ở bất kỳ nơi nào trong cơ thể, gia súc cũng đáp ứng lại bằng cách sản sinh protein mới và có hàng loạt đáp ứng để bảo vệ cơ thể. Những đáp ứng toàn thân gồm có sốt, tăng bạch cầu trung tính, lơ òờ mệt mỏi và tiêu hao cơ. Các phản ứng đó chịu sự điều khiển của 3 cytokin có nguồn gốc đại thực bào: IL-1, IL-6 và TNF (hình 3.5).

Tất cả các cytokin này tác động đến não làm tăng nhiệt độ cơ thể và ăn không ngon miệng. Chúng tác động đến trung tâm điều nhiệt tại não gây sốt, tăng giữ nhiệt bằng cách co mạch và tăng sản sinh nhiệt bằng phản ứng run. Sốt làm tăng các thành phần chủ yếu của đáp ứng miễn dịch (thí dụ tiết cytokin, chủ yếu là IL-2 phụ thuộc vào nhiệt độ - tức là IL-2 được sản xuất khi cơ thể ở nhiệt độ cao hơn là khi ở nhiệt độ bình thường). Những cytokin này làm tăng giải phóng các phân tử gây ngủ trong não. Tình trạng ngủ lịm thường gắn liền với sốt và có thể bằng cách này làm giảm nhu cầu năng lượng của con vật để từ đó tăng khả năng bảo vệ cơ thể. IL-1 cũng ức chế trung khu đói của não gây nên triệu chứng ăn không ngon miệng khi bị nhiễm trùng.

Những biến đổi chuyển hóa do cytokin gây ra, ngoài tác dụng trên hệ thần kinh và hệ thống miễn dịch, IL-1, IL-6 và TNF- α còn tác dụng đến cơ xương để tăng trao đổi protit và huy động các amino acid. Dù những biến đổi này dẫn đến tiêu hao cơ nhưng các amino acid được huy động là để tăng tổng hợp kháng thể cho cơ thể.



Hình 3.5. Đáp ứng của cơ thể đối với kích thích riêng

3.1. Sự biến đổi bạch cầu do cytokin gây ra

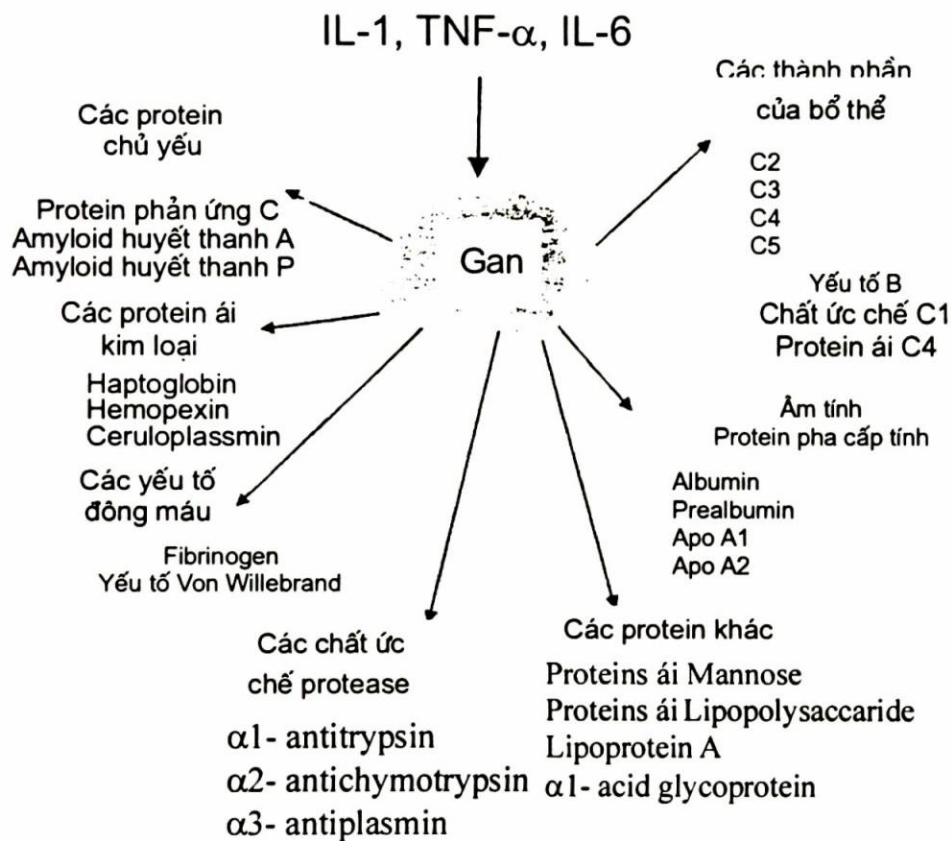
IL-1 kích thích tuỷ xương giải phóng bạch cầu trung tính vào hệ tuần hoàn và vì vậy làm tăng bạch cầu trung tính trong máu.

3.2. Các protein pha cấp tính

Dưới ảnh hưởng của IL-1, IL-6 và TNF- α , tế bào gan tăng tổng hợp và tiết protein. Đáp ứng này có sau vài giờ và giảm xuống sau 24-48 giờ. Do sự tổng hợp này gắn liền với sự nhiễm khuẩn và viêm cấp tính, đồng thời protein có nồng độ tăng cao rất nhanh nên chúng được gọi là protein pha cấp tính. Trong số đó có rất nhiều protein có chức năng bảo vệ vật chủ, bao gồm các thành phần của bổ thể, yếu tố đông máu, chất ức chế protease và protein ái kim loại. Ba protein pha cấp tính quan trọng nhất là protein phản ứng C (C reactive protein-CRP), protein dạng tinh bột P của huyết thanh (serum amyloid protein - SAP) và protein dạng tinh bột A của huyết thanh (Amyloid - SAA). Hàm lượng của protein này trong máu có thể tăng lên một nghìn lần sau khi vi khuẩn xâm nhập và có tổn thương tổ chức (hình 3.6).

Cả cấu tạo lẫn chức năng của CRP và SAP có quan hệ mật thiết với nhau. Nói chung, ở một loài nhất định, chỉ một trong hai protein này là protein ở pha cấp tính. CRP là protein pha cấp tính chủ yếu ở người, chó, khỉ, lợn và thỏ, trong khi vai trò này thuộc về SAP ở chuột. CRP không phải là protein pha cấp tính ở bò và ngựa vì bình thường cũng có chúng trong huyết thanh (ở bò, CRP dường như là protein gắn liền với tiết sữa; khi là bò sữa hàm lượng CRP tăng gấp 2 - 5 lần so với bình thường). Cả CRP và SAP là những polymer có 5 đơn vị nhỏ 25 kDa giống nhau thuộc họ pentamer được gọi là

pentraxin. Protein này lần đầu tiên được xác định và đặt tên CRP là do khả năng gắn và ngưng kết polysaccharide C của *Streptococcus pneumoniae*. CRP gắn vào phosphatidylcholine, một phân tử có trong tất cả các màng tế bào. Nó có thể gắn với tế bào lympho hoạt hoá, vi khuẩn xâm nhiễm và tổ chức tổn thương. Tại đây CRP hoạt hoá bổ thể theo con đường cổ điển. Khi gắn vào bạch cầu trung tính, CRP làm tăng khả năng thực bào và loại bỏ tổ chức bị huỷ hoại, tổ chức sắp chết hoặc chết. Chất này cũng ức chế sản sinh superoxide và làm mất hạt của bạch cầu trung tính và do vậy thúc đẩy sự hàn gắn tổ chức bằng cách làm giảm tổn thương, tăng phát triển tổ chức hạt. CRP gắn vào các thành phần của nhân như chromatin, histone và điều chỉnh đáp ứng của tự kháng thể đối với kháng nguyên từ nhân tế bào. Còn SAP là thành phần của màng đáy bình thường, có thể gắn vào thành phần của nhân tế bào (như DNA, chromatin và histone) hoặc cũng có thể gắn và hoạt hoá C1q - thành phần thứ nhất của hệ thống bổ thể. Những protein pha cấp tính khác là một họ protein gọi là SAA. SAA có nồng độ cao trong huyết thanh của những con bệnh bị kháng nguyên kích thích kéo dài như lao hoặc viêm khớp. SAA của chó là một protein có trọng lượng phân tử 15 kDa. Nồng độ của SAA có thể tăng lên 20 lần khi vi khuẩn xâm nhập vào cơ thể. Khả năng của SAA trong việc ức chế mạnh miễn dịch thể hiện ở chỗ khi bình thường nó khống chế đáp ứng miễn dịch. SAA là chất hướng động hoá học mạnh đối với bạch cầu trung tính, bạch cầu đơn nhân và tế bào lympho T.



Hình 3.6. Các protein pha cấp tính dưới ảnh hưởng của IL-1, IL-6 và TNF-α

Nhóm thứ hai của các protein pha cấp tính bao gồm các chất ức chế protease như α_1 antitrypsin và α_1 chymotrypsin, α_2 macroglobulin. Những chất này có thể hạn chế được tổn thương tổ chức do tác dụng của protease được giải phóng từ bạch cầu trung tính tại

nơi viêm. Cũng trong nhóm này còn có các protein ái sắt, đó là haptoglobin và hemopexin. Haptoglobin và hemopexin gắn vào phân tử sắt và như vậy sắt không được sử dụng cho vi khuẩn xâm nhiễm và theo đó chúng ngăn cản sự tăng sinh gây nhiễm trùng của vi khuẩn. Haptoglobin còn làm giảm sắt cần cho việc tạo hồng cầu do vậy tình trạng thiếu máu thường gắn liền với nhiễm khuẩn nặng hoặc mãn tính. Haptoglobin là protein pha cấp tính chủ yếu ở loài nhai lại. Bằng cách xác định haptoglobin có thể nhận biết được tình trạng nhiễm khuẩn nghiêm trọng hoặc viêm. Và điều này được ứng dụng để kiểm tra tình trạng của con vật khi giết mổ xem nó có thể làm thực phẩm cho người được hay không. Một số protein pha cấp tính lại không thể tìm thấy vì hàm lượng của chúng giảm khi viêm cấp tính (như albumin, transferin).

3.3. Tốc độ lắng hồng cầu

Khi protein pha cấp tính được tế bào gan tổng hợp, một trong các protein huyết thanh tăng lên, đó là fibrinogen. Fibrinogen làm giảm tích điện trên bề mặt hồng cầu khiến chúng ngưng tụ lại và hồng cầu lắng xuống nhanh hơn bình thường. Điều này đã được ứng dụng trong kỹ thuật đo tốc độ lắng máu. Cho máu vào trong ống nghiệm, hồng cầu lắng nhanh xuống đáy. Tốc độ lắng hồng cầu là một kỹ thuật đơn giản, tiện lợi cho phép xác định mức độ viêm ở một cá thể.

3.4. Thoái hoá bột

Protein dạng tinh bột là chất không định hình ở ngoài tế bào; chúng thâm nhiễm vào tổ chức trong một số điều kiện bệnh lý. Chất này có ở tất cả các loài gia súc, đặc biệt ở bò, ngựa, chó. Có nhiều loại protein dạng bột nhưng có hai loại protein dạng bột quan trọng nhất. Thứ nhất là protein dạng bột gây miễn dịch; chúng gắn liền với u tuỷ hoặc các khối u khác của hệ lympho. Thứ hai là protein dạng bột phản ứng; chất này gắn liền với những trường hợp viêm mủ mãn tính như viêm màng xương, áp xe, viêm ngoại tâm mạc do lao hoặc chấn thương.

Thoái hoá bột mãn tính là nguyên nhân chết chủ yếu ở những gia súc được gây miễn dịch nhắc lại nhiều lần nhằm sản xuất huyết thanh. Tổn thương này cũng thường thấy ở bệnh tự miễn dịch. Một số dạng thoái hoá bột xác định đã được biết đến, thí dụ chó già có thể bị thoái hoá dạng bột ở mạch quản. Các dạng thoái hoá bột tạo hạt giống như khối u thường có ở gan, lách, thận, đặc biệt là trong cầu thận; cũng đã thấy có thoái hoá bột ở dưới da của ngựa nhưng hiếm gặp hơn. Quan sát dưới kính hiển vi điện tử thấy protein dạng bột là một khối fibrin được gấp lại ở dạng β . Dạng này làm cho fibrin rất khó bị thủy phân và do đó chúng kháng được protease bình thường. Khi protein dạng bột lắng đọng trong tổ chức thì khó mà loại bỏ chúng và sự thâm nhiễm này dần dần làm huỷ hoại tế bào và tổ chức.

Chương 4

KHÁNG NGUYÊN, PHỨC HỢP HÒA HỢP MÔ CHỦ YẾU (MHC) VÀ VAI TRÒ CỦA CHÚNG TRONG XỬ LÝ VÀ TRÌNH DIỆN KHÁNG NGUYÊN

Vi sinh vật xâm nhập vào cơ thể và sử dụng nhiều nguồn dinh dưỡng của cơ thể cho bản thân chúng. Dựa vào cấu tạo có thể chia vi sinh vật làm 3 nhóm chính. Một nhóm gồm những vi sinh vật có nhân trong tế bào; ranh giới giữa nhân và màng nhân rõ ràng và có cơ quan đặc trưng như ty lạp thể. Nguyên sinh động vật và nấm thuộc nhóm này. Nhóm thứ 2 gồm các vi sinh vật tiền nhân; tế bào của chúng không có nhân và màng nhân rõ rệt, chất liệu di truyền phân bố tự do trong nguyên sinh chất, thiếu các cơ quan đặc trưng của tế bào. Điển hình của nhóm này là vi khuẩn. Cả vi sinh vật tiền nhân và vi sinh vật có nhân đều chứa 2 loại acid nucleic RNA và DNA. Virus không tồn tại ở dạng tế bào độc lập và chỉ chứa một loại acid nucleic, hoặc RNA hoặc DNA. Do thiếu các enzyme chuyển hoá, virus chỉ phát triển được trong tế bào sống. Cũng như các vi sinh vật khác, một số virus có thể gây bệnh trong khi một số virus khác có thể hoà nhập vào trong tế bào và tồn tại ở đó, không gây tổn thương cho tế bào và không gây bệnh. Gia súc khoẻ mạnh bình thường có thể mang các virus như vậy trong tế bào của chúng. Một vi sinh vật có khả năng gây bệnh được gọi là tác nhân gây bệnh. Số này chỉ chiếm một phần nhỏ của thế giới vi sinh vật. Mặc dù có thể phát triển trên da, niêm mạc... hay gọi chung là bề mặt của gia súc song rất ít vi sinh vật xâm nhập được vào tổ chức của cơ thể để gây bệnh. Các tác nhân gây bệnh có khả năng gây bệnh rất khác nhau và khả năng đó được gọi là độc lực. Vi sinh vật có độc lực cao có khả năng gây bệnh mạnh hơn vi sinh vật có độc lực thấp. Một vi sinh vật có khả năng gây bệnh gần như bất kỳ lúc nào (kể cả khi chúng có số lượng ít) cho cá thể khoẻ mạnh được gọi là tác nhân gây bệnh sơ cấp. Các tác nhân loại này có thể kể đến như virus sài chó, virus HIV và vi khuẩn gây bệnh sẩy thai truyền nhiễm *Brucella*. Những tác nhân gây bệnh có độc lực thấp chỉ có thể gây bệnh nếu chúng xâm nhập với số lượng lớn hoặc khi khả năng bảo vệ của hệ thống miễn dịch bị suy giảm. Những tác nhân này là vi sinh vật gây bệnh cơ hội (có thể kể đến như *Pasteurella hemolytica*, ký sinh trùng *Pneumocystis carinii*...), hiếm khi gây bệnh ở gia súc khoẻ mạnh bình thường.

Chức năng bảo vệ cơ thể của hệ thống miễn dịch chống lại vi sinh vật gây bệnh được thực hiện khi các phần tử lạ được nhận biết. Trên thực tế hệ thống miễn dịch có thể nhận biết được những thành phần lạ, đặc hiệu của vi sinh vật - đó là các kháng nguyên. Có các thành phần kích thích đáp ứng miễn dịch mạnh hơn thành phần khác đó là do chúng có tính kháng nguyên mạnh hơn.

1. ĐỊNH NGHĨA KHÁNG NGUYÊN

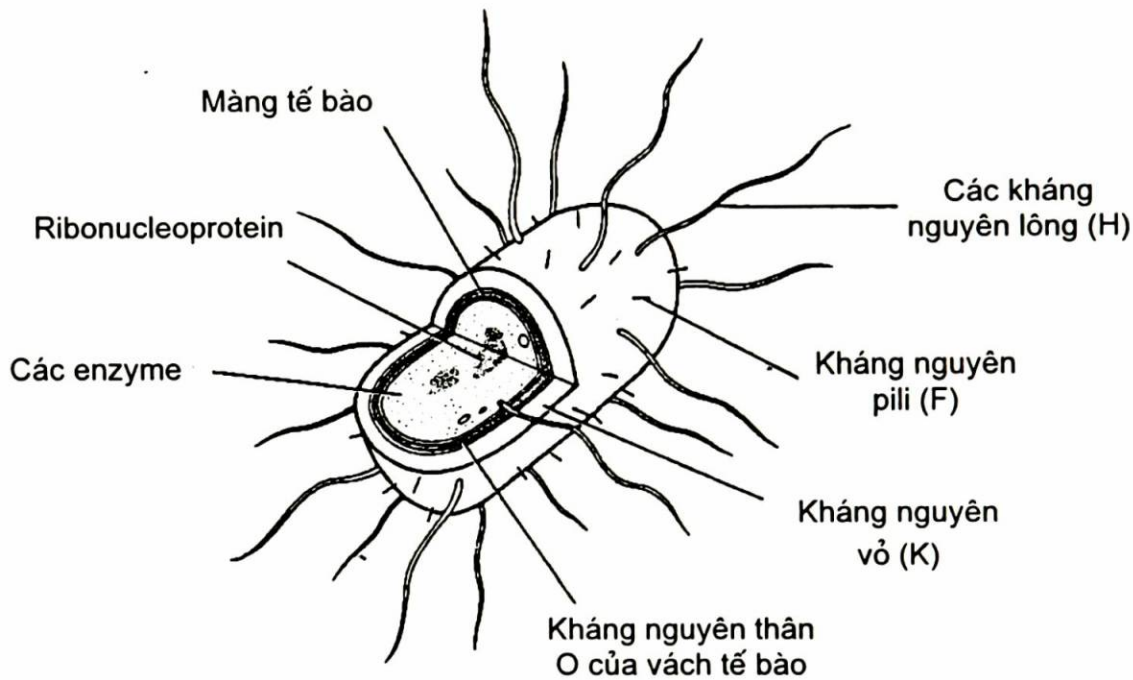
Kháng nguyên là chất khi vào cơ thể sẽ kích thích cơ thể sinh kháng thể có khả năng kết hợp đặc hiệu với kháng nguyên và sẽ kích thích tế bào T tạo ra những phản ứng dây chuyền phức tạp trong đáp ứng miễn dịch tế bào nhằm loại trừ kháng nguyên đó.

2. PHÂN LOẠI KHÁNG NGUYÊN

2.1. Kháng nguyên vi sinh vật

2.1.1. Kháng nguyên vi khuẩn

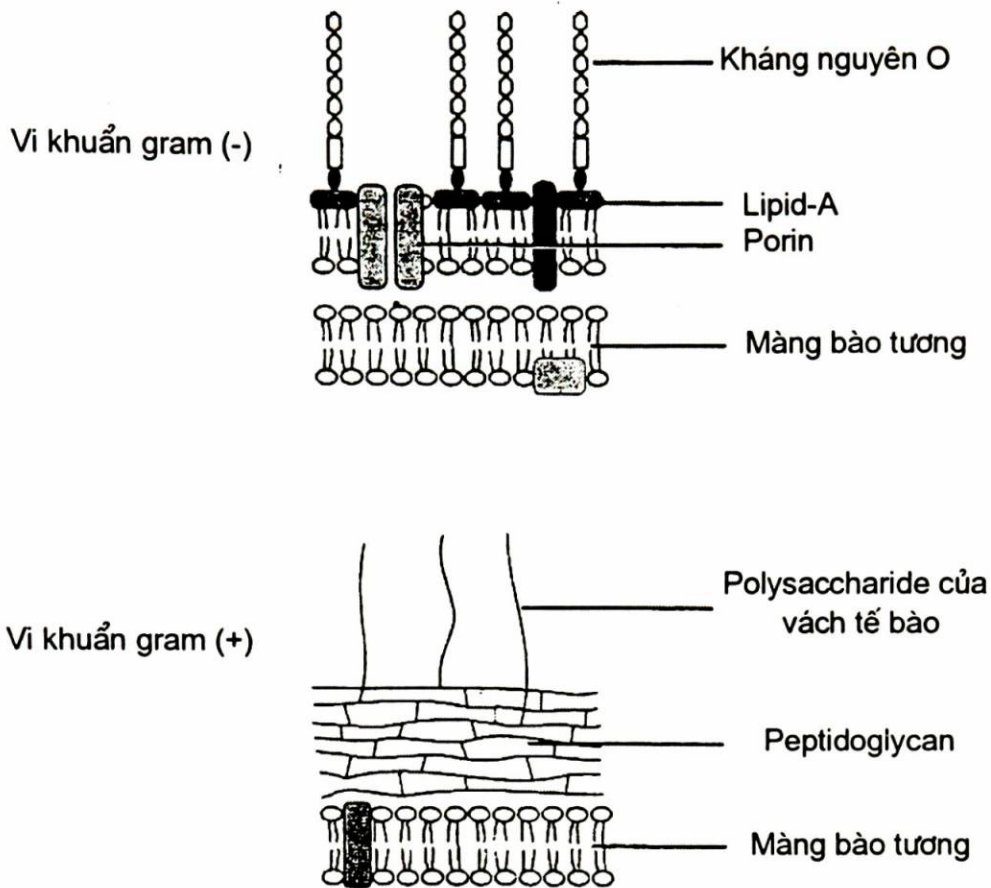
Vi khuẩn có hình cầu, hình gậy, hình bầu dục, hình xoắn; trong nguyên sinh chất chứa các yếu tố chủ yếu của cấu trúc tế bào và được bao quanh bởi một màng tế bào (hình 4.1).



Hình 4.1. Cấu tạo của vi khuẩn và các kháng nguyên quan trọng

Bên ngoài màng là một vách dày cùng một số cấu trúc liên quan. Bốn cấu trúc chính của bề mặt vi khuẩn là vách tế bào, vỏ ngoài, pili và lông. Vách của vi khuẩn gram dương chứa peptidoglycan (các chuỗi N. acetylglucosamine và N. acid acetylmuramic nối chéo với nhau bằng các chuỗi phụ peptid ngắn) (hình 4.2).

Vách của vi khuẩn gram âm chứa polysaccharide - lipid - protein. Phần lớn tính kháng nguyên của vi khuẩn gram âm là do thành phần polysaccharide quyết định. Thành phần này bao gồm một oligosaccharide nối với một lipid (lipid A) và với các chuỗi 3 đường nhắc lại. Cấu tạo của chuỗi 3 đường này quyết định tính kháng nguyên của vi khuẩn. Nhiều vi khuẩn được phân loại dựa theo cấu tạo kháng nguyên của chúng (thí dụ giống *Salmonella* đã được phân thành 2000 loài).



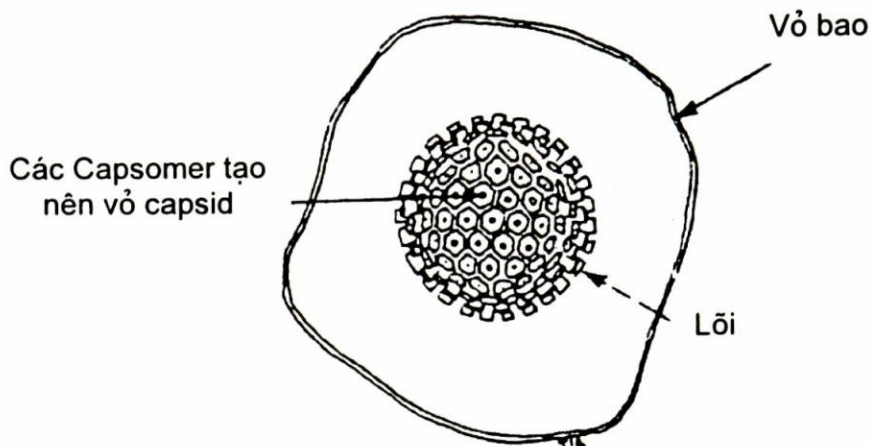
Hình 4.2. Cấu trúc cơ bản của vách tế bào vi khuẩn

Kháng nguyên polysaccharide

Polysaccharide của vi khuẩn gram âm có tác dụng độc và gọi là nội độc tố (endotoxin). Vỏ vi khuẩn có thể là polysaccharide hoặc protein. Polysaccharide thường là kháng nguyên mạnh vì chúng có chứa hexosamine là thành phần chủ yếu quyết định tính kháng nguyên. Vỏ bảo vệ vi khuẩn chống lại thực bào và vì vậy kháng thể chống lại vỏ có tác dụng chống nhiễm khuẩn, bảo vệ gia súc. Các kháng nguyên vỏ là kháng nguyên K. Pili là những phần ngắn nhô ra bao bọc một số vi khuẩn gram âm. Chúng có thể có kháng nguyên F hoặc kháng nguyên K. Pili gắn với tế bào vi khuẩn và đóng vai trò quan trọng trong sự bám dính của vi khuẩn. Kháng thể chống lại pili có chức năng bảo vệ cơ thể vì chúng ức chế sự bám dính của vi khuẩn. Lông vi khuẩn có chứa một protein được gọi là flagellin. Kháng nguyên lông được gọi là kháng nguyên H. Một số kháng nguyên quan trọng khác như các porin, các protein sốc nhiệt và ngoại độc tố. Porin là những protein tạo nên các lỗ màng (pore) trên bề mặt của vi khuẩn gram âm. Ngoại độc tố có bản chất là protein, do vi khuẩn tiết ra. Ngoại độc tố gây miễn dịch mạnh và kích thích cơ thể sinh ra kháng thể gọi là kháng độc tố. Rất nhiều ngoại độc tố khi xử lý với chất gây biến tính protein như formaldehyde thì bị mất tính độc nhưng vẫn giữ tính kháng nguyên. Độc tố được biến đổi như vậy tạo thành giải độc tố. Giải độc tố có thể được dùng để phòng bệnh (thí dụ như giải độc tố uốn ván *Clostridium tetani*).

2.1.2. Các kháng nguyên virus

Virus rất nhỏ bé và ký sinh bắt buộc trong tế bào; có lõi là acid nucleic; được bao bọc chung quanh là một lớp gồm nhiều tiểu phần protein. Lớp protein này gọi là capsid và các tiểu phần được gọi là capsomer (hình 4.3).



Hình 4.3. Cấu tạo của virus

Protein của capsid có khả năng kích thích mạnh tạo kháng thể. Một số virus có thể được bao xung quanh bằng một vỏ bao có chứa lipoprotein và glycoprotein. Cấu trúc hoàn chỉnh của một virus được gọi là virion. Khi một gia súc bị nhiễm virus, protein trong virion có tác dụng như một kháng nguyên và gây ra đáp ứng miễn dịch. Virus không luôn luôn lưu hành trong máu; chúng khu trú trong tế bào và ở đó chúng tránh được kháng thể. Có khi acid nucleic của virus hòa nhập vào gen của tế bào chủ. Khi đó gen của virus mã hoá sản xuất các protein mới và những protein này được chuyển đến bề mặt của tế bào đó. Do vậy, dù những tế bào này được tổng hợp bên trong cơ thể của một gia súc nhưng chúng được xem là lạ và có thể gây ra đáp ứng miễn dịch. Protein lạ mới được tổng hợp này là kháng nguyên nội sinh, khác với kháng nguyên lạ từ bên ngoài xâm nhập vào cơ thể được gọi là ngoại kháng nguyên

2.1.3. Các kháng nguyên vi sinh vật khác

Ngoài vi khuẩn và virus, gia súc có thể bị nhiễm nấm hoặc các ký sinh trùng thuộc loại nguyên sinh động vật và giun sán. Mỗi một loại có chứa nhiều cấu trúc khác nhau gồm các protein, carbohydrate, lipid và acid ribonucleic. Một vài cấu trúc này có tác dụng của kháng nguyên và có thể gây ra đáp ứng miễn dịch. Tuy nhiên tác dụng của chúng rất thay đổi và đáp ứng miễn dịch được tạo ra không phải lúc nào cũng có hiệu quả bảo vệ động vật.

2.2. Kháng nguyên không phải từ vi sinh vật

Cơ thể gia súc không chỉ gặp các kháng nguyên từ vi sinh vật gây bệnh. Kháng nguyên còn có thể có trong thức ăn. Trong một số điều kiện, những phần tử này có thể gây ra đáp ứng miễn dịch và có thể gây ra phản ứng dị ứng. Bụi hít vào (bào tử nấm, phấn hoa...) có thể chứa các phần tử lạ và như vậy kháng nguyên có thể vào cơ thể qua đường hô hấp. Kháng nguyên cũng có thể được tiêm trực tiếp vào cơ thể như khi bị rần cần, tiêm vaccine, truyền máu hoặc khi tiêm kháng nguyên cho gia súc với mục đích thí nghiệm. Việc ghép cơ quan chính là ghép một lượng lớn chất liệu lạ cho một cơ thể.

2.2.1. Kháng nguyên trên bề mặt tế bào

Trên bề mặt của mỗi tế bào động vật có vú bao gồm dấu ấn của các phân tử protein gắn chặt trong hai lớp lipid lỏng. Phần lớn những protein này có tác dụng của kháng nguyên khi tiêm cho gia súc khác loài, thậm chí là cho gia súc khác trong cùng một loài. Kháng nguyên nhóm máu trên bề mặt hồng cầu làm cho việc truyền máu giữa các cá thể không có quan hệ họ hàng thường xảy ra tai biến. Tế bào truyền vào bị phá huỷ nhanh chóng, ngay cả khi cơ thể nhận chưa từng được truyền máu trước đây. Thí nghiệm cho thấy hiện tượng này là do sự có mặt của kháng thể tự nhiên kháng lại kháng nguyên carbohydrate và glycoprotein trên bề mặt tế bào hồng cầu. Các tế bào có nhân (như bạch cầu chẳng hạn) có hàng trăm phân tử protein khác nhau trên bề mặt; những protein này có tính kháng nguyên mạnh và dễ dàng gây ra đáp ứng miễn dịch khi tiêm chúng cho một gia súc khác loài. Tế bào lạ có thể gây ra một đáp ứng miễn dịch (ví dụ như loại bỏ mảnh ghép) nếu được chuyển cho một cá thể trong cùng một loài nhưng khác nhau về mặt di truyền. Protein quan trọng nhất gây ra loại bỏ mảnh ghép là phức hợp các phân tử kháng nguyên phù hợp tổ chức.

Khi ngành miễn dịch đạt đến tiến bộ tạo ra được kháng thể đơn dòng chống lại các protein đặc hiệu trên bề mặt tế bào thì chúng ta đã phát hiện thấy nhiều kháng nguyên trên bề mặt ấy. Để phân loại các kháng nguyên bề mặt này, một hệ thống đánh số, ghi nhận những nhóm phân tử có các quyết định kháng nguyên tương tự nhau đã được đưa ra. Theo đó các kháng thể đơn dòng để phát hiện một kháng nguyên đơn lẻ là một nhóm biệt hoá gọi là CD có đánh số. Một CD xác định biểu thị một protein có chức năng đặc hiệu, thí dụ protein CD4 liên quan đến các tế bào lympho hỗ trợ đáp ứng miễn dịch, còn protein CD8 được phát hiện ở tế bào lympho có tác dụng giết chết những tế bào không bình thường.

2.2.2. Các tự kháng nguyên

Có khi có đáp ứng miễn dịch trực tiếp chống lại thành phần bình thường của cơ thể. Đáp ứng này được gọi là đáp ứng tự miễn dịch, có thể xảy ra với các hormone (thí dụ thyroglobulin), các thành phần cấu tạo (như màng nền), các lipid phức tạp (thí dụ myelin), một số thành phần trong tế bào (protein của ty lạp thể, acid nucleic hoặc nucleoprotein), đặc biệt là với các receptor của hormone. Sự sản xuất tự kháng thể và hậu quả của nó sẽ được đề cập đến trong phần sau.

3. ĐẶC ĐIỂM CỦA MỘT KHÁNG NGUYÊN MẠNH

Các phân tử có tác dụng kháng nguyên và gây kích thích miễn dịch rất khác nhau. Nói chung các protein lạ có tác dụng kháng nguyên mạnh. Hầu như protein có trọng lượng phân tử lớn hơn 1000 Dalton (Da) đều có tính kháng nguyên. Nhiều kháng nguyên vi sinh vật (như độc tố của vi khuẩn *Clostridium*, lông của vi khuẩn, vỏ capsid của virus, màng tế bào của nguyên sinh động vật...) là protein. Nhiều protein khác cũng có tính kháng nguyên như nọc rắn, protein huyết thanh, protein bề mặt tế bào, protein của sữa và thức ăn, hormone và ngay cả những phân tử của chính bản thân cơ thể.

Các polysaccharide đơn giản như tinh bột hoặc glycogen không phải là kháng nguyên mạnh vì chúng bị giáng hoá ngay khi hệ thống miễn dịch chưa kịp đáp ứng lại. Tuy nhiên, những carbohydrate phức tạp hơn lại có thể có vai trò quan trọng trong miễn dịch, đặc biệt khi nó được gắn vào protein. Những kháng nguyên loại này có ở vách tế bào hay kháng nguyên nhóm máu ở hồng cầu. Rất nhiều kháng thể tự nhiên kháng polysaccharide được phát hiện thấy trong huyết thanh của súc vật chưa được miễn dịch và đó là do cơ thể đã từng tiếp xúc với glycoprotein hoặc carbohydrate của hệ vi sinh vật bình thường (chí) trong ruột hoặc trong thức ăn.

Lipid thường là kháng nguyên yếu do cấu trúc đơn giản và không ổn định, đồng thời lại chuyển hoá nhanh. Tuy nhiên, khi gắn với protein hoặc polysaccharide, lipid có thể gây ra đáp ứng miễn dịch.

Acid nucleic có tính kháng nguyên yếu do chúng tương đối đơn giản, không ổn định và giáng hoá nhanh. Tuy nhiên kháng thể kháng acid nucleic có thể được sản xuất, được làm ổn định và gắn với một phân tử protein. Các tự kháng thể chống acid nucleic cũng có đặc điểm quan trọng riêng trong bệnh tự miễn dịch.

Nói chung, kháng nguyên protein là kháng nguyên mạnh nhất vì có thể gây ra đáp ứng miễn dịch tốt nhất. Phần tử lớn có tính kháng nguyên mạnh hơn phần tử nhỏ và protein có thể là những phần tử lớn. Như vậy, hemocyanin, một protein lớn trong máu của động vật không xương sống (trọng lượng phân tử 670 kDa) là một kháng nguyên mạnh. Albumin huyết thanh của động vật có vú (69 kDa) là kháng nguyên khá mạnh (nhưng cũng có thể gây dung nạp miễn dịch). Angiotensin, một hormone peptid (1031Da) là kháng nguyên yếu. Có thể thấy kháng nguyên có cấu trúc càng phức tạp thì tính kháng nguyên càng mạnh. Thí dụ tinh bột và các chuỗi polymer nhắc lại là những kháng nguyên yếu nhưng lipopolysaccharide phức tạp của vi khuẩn có tính kháng nguyên mạnh. Protein phức tạp có tác dụng kháng nguyên mạnh hơn chuỗi polymer lớn có cấu trúc nhắc lại (như lipid, carbohydrate và acid nucleic).

Cấu trúc ổn định cũng là đặc điểm quan trọng của một kháng nguyên. Để kết hợp với một phần tử lạ, các receptor trên bề mặt tế bào của hệ thống miễn dịch phải nhận dạng kháng nguyên. Do vậy khi một phần tử có tính linh hoạt cao, không có hình dạng cố định thì có tính kháng nguyên yếu. Thí dụ gelatin, một protein có cấu trúc không ổn định, là một kháng nguyên yếu trừ khi nó được làm ổn định bằng cách đưa vào trong phân tử tyrosine hoặc tryptophan có các chuỗi peptide nối chéo nhau. Tương tự như vậy, Flagellin - một protein chủ yếu của lông vi khuẩn, là kháng nguyên yếu không ổn định về cấu trúc. Bằng cách trùng hợp làm ổn định hình dạng, tính kháng nguyên của nó sẽ tăng lên nhiều. Không phải tất cả các phân tử lạ đều có khả năng kích thích đáp ứng miễn dịch, thí dụ như ghim bằng kim loại hoặc như van tim bằng nhựa được ghép cho người không gây ra đáp ứng miễn dịch. Sự thiếu tính kháng nguyên ở một polymer hữu cơ lớn như nhựa không chỉ do sự không đồng nhất về phân tử mà còn do tính trơn của chúng. Chúng không thể bị các tế bào giáng hoá và chế biến thành dạng đủ để kích thích một đáp ứng miễn dịch. Ngược lại, những phân tử lạ không ổn định và bị phá huỷ nhanh có thể không đủ thời gian cho việc kích thích một đáp ứng miễn dịch.

3.1. Các chất lạ

Các tế bào phản ứng với kháng nguyên (tế bào miễn dịch với kháng nguyên) được chọn lọc để chúng không phản ứng với những phần tử có nguồn gốc ở cùng cơ thể (kháng nguyên bản thân). Tuy nhiên, chúng sẽ phản ứng với phần tử lạ ngay cả khi phần tử này chỉ khác chút ít với các phần tử của cơ thể. Hệ thống miễn dịch không có phản ứng với thành phần bình thường của cơ thể là do tế bào phản ứng với bản thân đã được loại bỏ một cách có chọn lọc dẫn đến trạng thái tự dung nạp miễn dịch. Sự loại bỏ này diễn ra trong quá trình phát triển của tế bào. Những tế bào không phù hợp, phản ứng với kháng nguyên bản thân sẽ bị tiêu diệt trong một quá trình gọi là chọn lọc phủ định. Nếu tế bào của hệ thống miễn dịch không gặp kháng nguyên bản thân ở thời kỳ nó chưa trưởng thành thì không có sự dung nạp đối với kháng nguyên đó. Như vậy, tế bào của hệ thống miễn dịch trưởng thành có thể phản ứng với kháng nguyên nào của bản thân vốn vẫn được che dấu trong tổ chức hoặc tế bào nhưng nay bộc lộ ra. Thí dụ như tế bào tạo tinh dịch ở trong dịch hoàn chỉ phát triển khi thành thực về tính và được tách khỏi phần còn lại của cơ thể bằng một bức ngăn và như vậy thì bình thường, hệ thống miễn dịch không gặp các kháng nguyên tinh dịch và do đó vẫn giữ khả năng đáp ứng với chúng. Khi dịch hoàn bị tổn thương, kháng nguyên tinh dịch có thể được thoát ra và vào máu. Ở máu, các tế bào miễn dịch với những kháng nguyên này (bởi nó là lạ) sẽ sản sinh kháng thể kháng lại kháng nguyên. Sự xuất hiện kháng thể chống tinh dịch là hậu quả thường gặp sau thủ thuật mở ống dẫn tinh. Thí dụ nữa có thể thấy trong một phạm vi nhỏ hơn, đó là với các ty lạp thể. Bình thường ty lạp thể không tiếp xúc với tế bào miễn dịch kháng nguyên trong máu. Khi có tổn thương lan rộng (thí dụ trong bệnh tim) thì protein của ty lạp thể thoát ra và kích thích sản sinh kháng thể. Các kháng thể chống ty lạp thể này có thể phát hiện thấy trong huyết thanh sau tổn thương vài tuần.

Tính miễn dịch của một kháng nguyên cũng phụ thuộc vào mức độ lạ của nó. Sự khác nhau giữa kháng nguyên lạ và kháng nguyên của bản thân con vật càng lớn thì cường độ của đáp ứng miễn dịch càng cao. Thí dụ ghép thận ở hai con vật sinh đôi thì thận ghép dễ dàng được chấp nhận vì protein của con vật cho giống protein của con nhận. Thận được ghép từ một con vật không cùng một loài sẽ bị loại bỏ khoảng sau 2 tuần trừ khi dùng thuốc ức chế sự loại bỏ mảnh ghép. Thận được ghép giữa các cá thể khác loài, thí dụ từ lợn cho chó, sẽ bị loại bỏ sau một vài giờ cho dù có sử dụng thuốc ức chế miễn dịch.

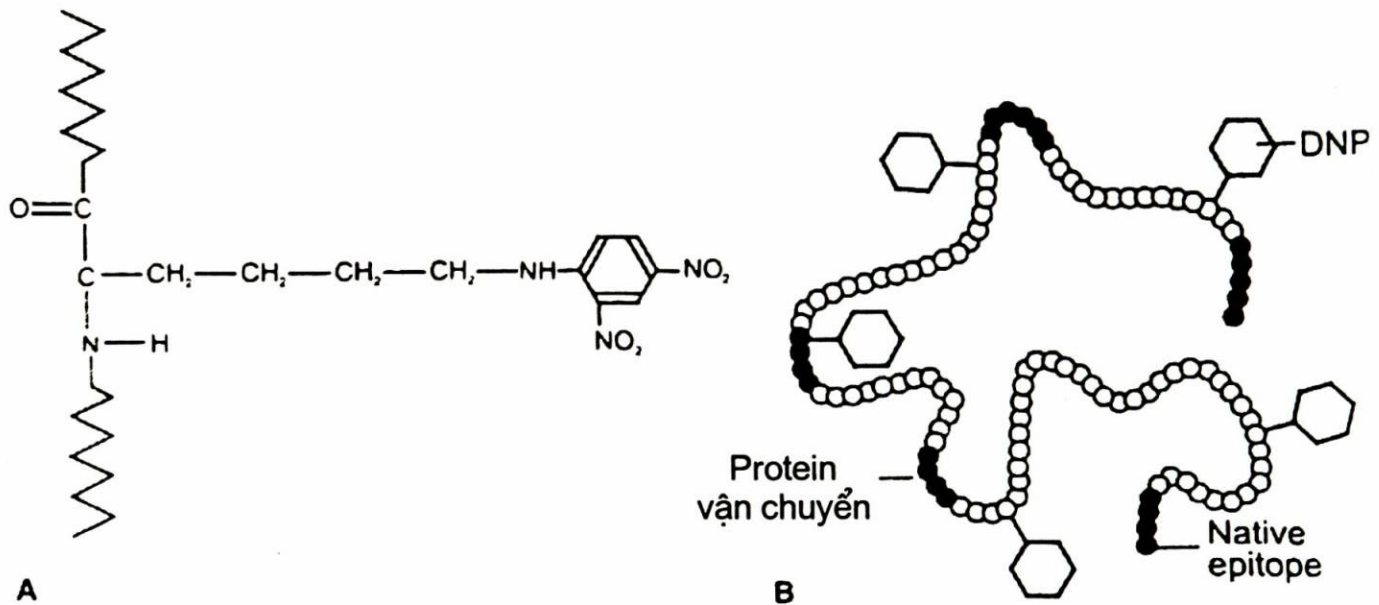
3.2. Các quyết định kháng nguyên

Các phần tử lạ như vi khuẩn, tế bào có nhân và hồng cầu là những hỗn hợp phức tạp của protein, glycoprotein, polysaccharide, lipid và nucleoprotein, lipopolysaccharide và lipid. Do đó, đáp ứng miễn dịch chống lại các kháng nguyên ấy là đáp ứng miễn dịch hỗn hợp đồng thời với việc chống lại mỗi một phần tử lạ. Trên phần tử lớn có những khu vực mà tại đó đáp ứng miễn dịch được sản sinh; những khu vực này thường ở trên bề mặt phân tử và được gọi là epitope hay quyết định kháng nguyên. Trong một phân tử protein lớn và phức tạp, hệ thống miễn dịch có thể nhận dạng được nhiều quyết định kháng nguyên khác nhau. Có quyết định kháng nguyên có tính miễn dịch cao hơn quyết định

kháng nguyên khác (thí dụ như khi gây miễn dịch bằng lysozyme của gà thì chuột đáp ứng trội hơn đối với quyết định kháng nguyên được kích thích, còn những phần khác của phân tử lysozyme lại có thể không có tính miễn dịch). Quyết định kháng nguyên như vậy được xem là có tính trội miễn dịch. Nói chung số lượng các quyết định kháng nguyên có liên quan đến kích thước của phân tử protein. Ở kháng nguyên bản thân, không tìm thấy một phân tử kháng nguyên có chứa nhiều quyết định kháng nguyên.

3.3. Hapten

Một phân tử (như thuốc hoặc hormone) có trọng lượng phân tử dưới 1000 Da là quá nhỏ không đủ để xử lý và trình diện cho hệ thống miễn dịch nên nó không gây được một đáp ứng miễn dịch. Nói một cách khác, chúng không có tính miễn dịch. Tuy nhiên, nếu được gắn vào một phân tử lớn protein thì phân tử nhỏ này sẽ tạo nên các quyết định kháng nguyên hoàn toàn mới trên bề mặt của phân tử lớn đó. Dem tiêm phức hợp này cho một con vật sẽ có đáp ứng miễn dịch chống lại tất cả các quyết định kháng nguyên. Một số kháng thể được tạo nên trong đáp ứng với phức hợp này sẽ chống lại các quyết định kháng nguyên mới được tạo nên bởi phân tử nhỏ đã được gắn vào phức hợp. Những phân tử nhỏ hay nhóm hoá học có chức năng như quyết định kháng nguyên khi chúng được gắn với phân tử lớn hơn được gọi là hapten (hình 4.4).



**Hình 4.4. A. Một Hapten điển hình (dinitrophenol gắn với chuỗi phụ lysine)
B. Hapten gắn với một chuỗi peptide làm nên một quyết định kháng nguyên mới**

Các phân tử kháng nguyên mà nó gắn vào gọi là chất mang tải. Rất nhiều dị ứng thuốc là do sự kết hợp của thuốc với protein bình thường. Bằng cách sử dụng những cấu trúc hoá học đã biết có thể nghiên cứu chi tiết mối tương tác giữa kháng thể và các quyết định kháng nguyên (thí dụ kháng thể được tạo ra để chống lại một hapten có thể dùng để kiểm tra khả năng kết hợp với hapten khác có cấu trúc gần gũi). Kiểm tra cho thấy bất kỳ sự thay đổi nào về hình dạng, kích thước hoặc điện tích của hapten cũng làm thay đổi khả năng kết hợp của nó với kháng thể. Ngay cả khi có một sự thay đổi rất nhỏ của

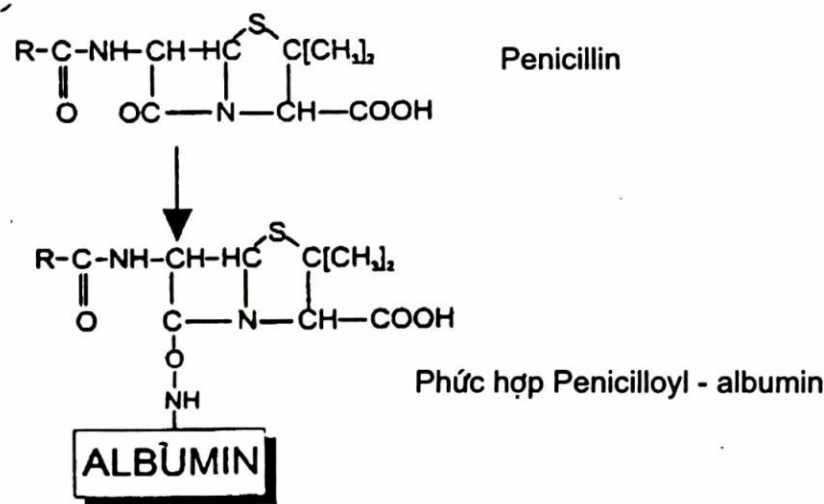
haptens như sự khác nhau giữa các đồng phân lập thể cũng ảnh hưởng đến khả năng kết hợp của kháng thể. Nhờ sự khác nhau rất lớn về tiềm năng giữa các haptens và do mỗi haptens có thể tạo ra các kháng thể đặc hiệu riêng của nó nên động vật có thể có khả năng tạo ra vô cùng nhiều những phân tử kháng thể đặc hiệu.

3.4. Quyết định kháng nguyên protein

Do kháng thể tạo ra chống lại kháng nguyên protein là chống lại các quyết định kháng nguyên có hình dạng nhất định nên cách gấp của các chuỗi protein đóng một vai trò quan trọng trong tính đặc hiệu của những kháng thể chống lại chúng. Phân tử lysozyme có cầu disulfide làm gấp chuỗi peptide thành một quai. Quai peptide này tạo nên một quyết định kháng nguyên quan trọng. Nếu quai không còn gấp nhưng cầu disulfide còn nguyên vẹn thì quai peptide đó vẫn giữ khả năng kết hợp của kháng thể với lysozyme, song khi cầu disulfide bị giảm xuống để cho quai này mở ra, kháng thể sẽ không còn kết hợp với quai peptide nữa. Điều đó chứng tỏ tính đặc hiệu của kháng thể là do hình dạng của quyết định kháng nguyên chứ không phải do chuỗi amino acid quyết định.

3.5. Kết hợp haptens-protein

Khái niệm về haptens và phân tử mang tải đã là cơ sở cho các hiểu biết về tính đặc hiệu của đáp ứng kháng thể. Haptens còn có tầm quan trọng trong lâm sàng. Thí dụ, kháng sinh penicilline là một phân tử nhỏ không có tính miễn dịch. Tuy nhiên, khi bị giáng hoá trong cơ thể nó đã tạo ra nhóm penicilloyl và nhóm này gắn với albumin huyết thanh để tạo ra phức hợp penicilloyl albumin (hình 4.5).

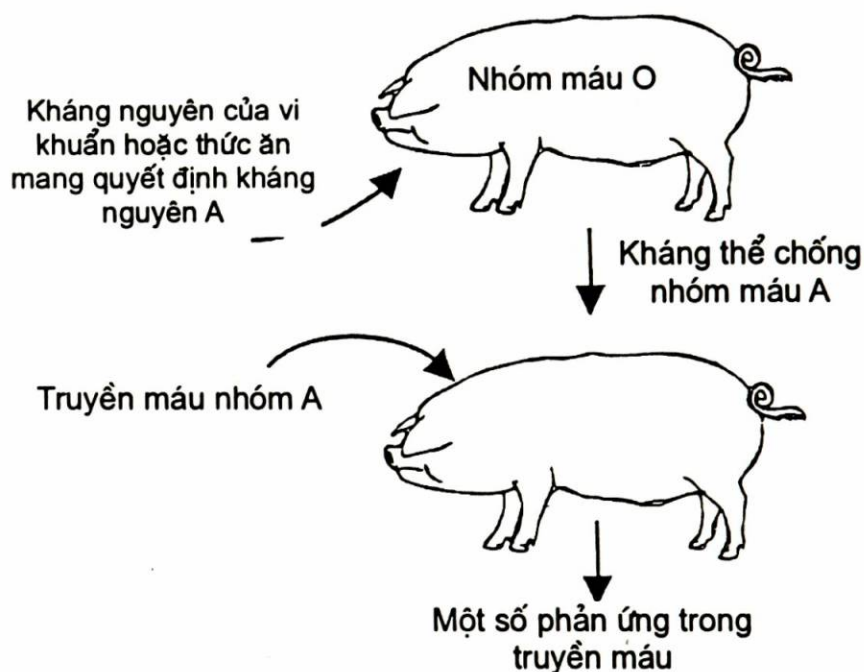


Hình 4.5: Penicillin là một haptens. Penicillin được phân giải in vivo bằng nhiều cách

Haptens penicilloyl được xem là quyết định kháng nguyên lạ ở một số cá thể và vì vậy gây ra đáp ứng miễn dịch. Kháng thể được sản sinh chống lại nó có thể gây ra đáp ứng miễn dịch chống lại penicillin. Hiện tượng tương tự cũng có thể thấy khi tiếp xúc và bị tác dụng độc của cây thường xuân (*Rhus radican*). Nhựa của cây là urushiol sẽ kết hợp với bất kỳ protein nào mà nó tiếp xúc (bao gồm cả protein ở da của người cạo vào cây này). Protein của da bị biến đổi và được xem là chất lạ, bị các tế bào lympho tấn công tương tự như trong thái độ mảnh ghép, gây ra những vết biến đổi trên da và viêm da dị ứng.

4. PHẢN ỨNG CHÉO

Có thể thấy những quyết định kháng nguyên giống nhau hoặc tương tự nhau trên các phân tử không có quan hệ gần gũi. Do vậy kháng thể chống lại một kháng nguyên cũng có thể phản ứng ngẫu nhiên với một kháng nguyên khác không có quan hệ gần. Đôi khi các quyết định kháng nguyên trên một protein có thể khác rất ít với một kháng nguyên có nguồn gốc từ một con vật có quan hệ họ hàng. Do vậy kháng thể chống lại một protein này có thể phản ứng với một protein khác giống hoặc tương tự với nó nhưng ở một loài khác. Cả hai hiện tượng này được gọi là phản ứng chéo. Kháng nguyên gần giống hoặc tương tự nhau có thể gặp nhiều trong tự nhiên. Thí dụ, glycoprotein cùng với các chuỗi phụ carbohydrate trong vách tế bào rất nhiều vi khuẩn cũng được phát hiện thấy ở hồng cầu của loài có vú. Hoặc như một số vi khuẩn đường ruột chứa glycoprotein có các chuỗi phụ A và B ở vách tế bào; khi các protein này được hấp thu qua vách ruột vào máu, con vật sẽ sản sinh kháng thể chống lại kháng nguyên lạ. Chuỗi phụ A ở glycoprotein của nhóm máu A là chất lạ đối với lợn nhóm máu O (hình 4.6).



Hình 4.6. Kháng nguyên của thức ăn hoặc vi khuẩn trong thức ăn có quyết định kháng nguyên phản ứng chéo với glycoprotein A của nhóm máu; lợn nhóm máu O sản sinh kháng thể với quyết định kháng nguyên A

Vì vậy lợn nhóm máu O sẽ sản sinh kháng thể phản ứng với hồng cầu của lợn nhóm máu A.

Tuy nhiên, những kháng thể này được sinh ra không phải do đáp ứng miễn dịch có trước đó với hồng cầu nhóm máu A mà là do đáp ứng với các quyết định kháng nguyên có nguồn gốc từ vi khuẩn đường ruột. Kháng thể có phản ứng chéo của loại này được gọi là dị kháng thể (heterophil antibody). Cũng có thể thấy phản ứng chéo xảy ra giữa vi khuẩn Brucella với một số chủng Yersinia enterocolitica hoặc với virus gây bệnh viêm phúc mạc truyền nhiễm ở mèo. Y. enterocolitica (một vi sinh vật gây bệnh không quan trọng ở bò) kích thích tạo kháng thể có phản ứng chéo với Brucella. Do vậy, bằng chẩn

đoán huyết thanh, súc vật nhiễm Yersinia có thể bị chẩn đoán nhầm là mang Brucella (bệnh nguy hiểm hơn do Y. enterocolitica) và vì vậy bị đem huỷ.

Phản ứng chéo cũng xảy ra giữa virus gây viêm phúc mạc truyền nhiễm ở mèo và virus gây viêm dạ dày - ruột ở lợn. Trong phòng thí nghiệm, nuôi cấy virus gây viêm phúc mạc mèo là rất khó, nhưng nuôi cấy virus gây viêm dạ dày ruột lợn thì dễ. Bằng cách phát hiện kháng thể chống virus gây viêm dạ dày - ruột truyền nhiễm lợn có thể chẩn đoán bệnh viêm phúc mạc truyền nhiễm mèo mà không cần nuôi cấy virus viêm phúc mạc truyền nhiễm mèo. Loại phản ứng chéo thứ hai giữa các protein có quan hệ gần gũi có thể biểu thị trong nhiều hệ thống sinh học khác nhau. Thí dụ phương pháp chẩn đoán được sử dụng để phát hiện mối quan hệ giữa các loài có vú. Như vậy kháng huyết thanh chống protein của bò có phản ứng chéo rõ rệt với protein của các loài nhai lại khác nhưng có phản ứng rất yếu với protein của động vật có vú khác hoặc chim. Điều này phản ánh sự tương tự về cấu trúc giữa những quyết định kháng nguyên trên protein và vì vậy kỹ thuật này là công cụ quan trọng để xác định các mối quan hệ về tiến hoá.

5. CÁC RECEPTOR TRÌNH DIỆN KHÁNG NGUYÊN

Tất cả những điều được nói tới trên đây mới chỉ đề cập tới miễn dịch tự nhiên.

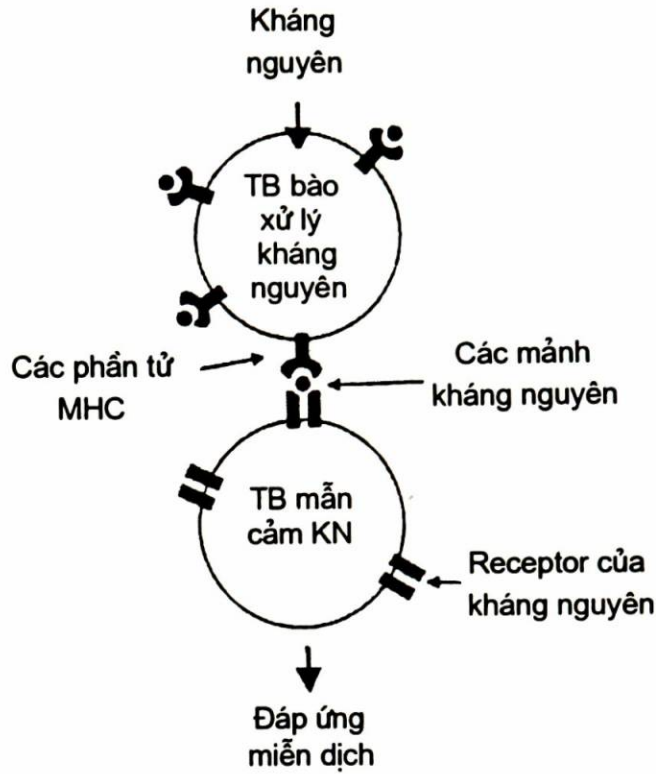
Một đáp ứng cho khả năng phòng vệ lý tưởng khi chúng có kinh nghiệm trong việc chống lại các tác nhân xâm nhập. Trong quá trình đáp ứng miễn dịch, những phân lựa chọn của vi sinh vật xâm nhập được xử lý và trình diện cho tế bào miễn cảm kháng nguyên của hệ thống miễn dịch. Sau sự phân huỷ chất lạ là sự trình diện kháng nguyên, đưa các phần này vào nơi kết hợp trên receptor của bề mặt tế bào. Hệ thống miễn dịch sẽ chỉ đáp ứng với kháng nguyên được trình diện.

5.1. Các kháng nguyên phù hợp tổ chức chủ yếu (các phức hợp hoà hợp mô chủ yếu)

Để gây ra một đáp ứng miễn dịch, sự trình diện kháng nguyên đòi hỏi không chỉ những phần nhỏ của phân tử kháng nguyên trong tế bào mà còn phải có sự kết hợp của các tiểu phần này với một phân tử trình diện kháng nguyên phù hợp (hình 4.7).

Phân tử trình diện kháng nguyên này được gọi là phân tử phù hợp tổ chức. Chúng là những receptor glycoprotein được gọi là kháng nguyên phù hợp tổ chức chủ yếu hay phức hợp hoà hợp mô chủ yếu (Major histocompatibility complex - MHC) được các gene nằm trong phức hợp gene mã hoá. Vì vậy những receptor này còn được gọi là những phân tử MHC. Yêu cầu tuyệt đối để cho kháng nguyên gắn vào phân tử MHC được gọi là sự hạn chế của MHC. Gene ở trên MHC quyết định kháng nguyên nào được xử lý và trình diện. Trên quan điểm miễn dịch, MHC được xem là một nhóm gene kiểm soát sự xử lý và trình diện kháng nguyên. Có thể thấy MHC là cơ sở tạo ra các thành phần chủ yếu quyết định sự miễn cảm hoặc kháng lại mầm bệnh (những thành phần này có được là nhờ gen di truyền). Tất cả động vật có xương sống từ cá sụn cho đến loài có vú đều có gene MHC nằm trong bộ gene. Tổ hợp gene này có thể rất lớn. Thí dụ MHC của người lớn gấp 2-3 lần MHC của chuột và có cùng kích thước với toàn bộ bộ gene (genome) của

Escherichia coli. Mỗi một MHC có chứa ba lớp gene. Gene lớp I mã hoá cho các phân tử MHC trên bề mặt của nhiều tế bào có nhân (và trên hồng cầu của một số loài).



Hình 4.7. Vai trò chủ yếu của phân tử MHC trong việc trình diện kháng nguyên cho tế bào miễn cảm kháng nguyên

Gene này lại có thể chia thành các gene có nhiều hình thái (gene lớp Ia) và các gene có ít hình thái (gene lớp Ib). Một số gene có quan hệ họ hàng gần gũi với gene lớp Ib lại nằm bên ngoài MHC, trên một nhiễm sắc thể khác. Gene lớp II mã hoá cho các phân tử MHC được tìm thấy chủ yếu trên bề mặt của tế bào trình diện kháng nguyên (đại thực bào, tế bào đuôi gai, tế bào lympho B). Do phân tử MHC của lớp Ia và lớp II là receptor gắn vào tiểu phần của kháng nguyên và trình diện kháng nguyên cho tế bào lympho, chúng điều hoà đáp ứng miễn dịch rất có hiệu quả.

Gene lớp III mã hoá cho nhiều protein khác nhau và có nhiều chức năng, trong đó nhiều chức năng không liên quan đến sự trình diện kháng nguyên. Một số gene trong lớp III này mã hoá cho protein của bộ thể. Hệ thống bộ thể là một hệ thống các protein của huyết thanh có chức năng bảo vệ cơ thể chống lại sự xâm nhập của vi sinh vật gây bệnh. Mỗi MHC có thể chứa cả ba lớp gene mặc dù số lượng và sự sắp xếp của nó rất khác nhau. Tên protein của MHC cũng rất khác nhau ở các loài. Ở người, phân tử này được gọi là kháng nguyên bạch cầu (HLA); ở chó gọi là DLA, ở bò là BoLA, ở ngựa là ELA và ở lợn là SLA. Kháng nguyên nhóm máu của một số loài đã được xác định là kháng nguyên phù hợp tổ chức trước khi nhận ra chức năng của chúng. MHC ở chuột được gọi là H-2 và ở gà là B.

5.1.1. Các protein lớp Ia

Protein lớp Ia có mặt trên bề mặt của phần lớn các tế bào có nhân. Thí dụ, ở lợn những phân tử này được phát hiện trên tế bào gan, tế bào lympho, huyết tiểu cầu, bạch cầu hạt, tế bào thận và tinh dịch. Chúng có nồng độ cao nhất trên tế bào lympho và đại

thực bào. Không phát hiện thấy protein này ở hồng cầu của người nhưng tìm thấy chúng trên hồng cầu của chuột. Một số tổ chức như cơ tim và cơ xương có rất ít hoặc không biểu thị phần tử của lớp Ia.

5.1.1.1. Cấu tạo

Tất cả các phần tử của lớp Ia có hai chuỗi peptide. Một chuỗi 45 kDa được gọi là chuỗi α , liên kết lỏng lẻo với một chuỗi nhỏ hơn được gọi là microglobulin β_2 (β_2M) (hình 4.8).

Chuỗi α được gắn vào giữa màng kép lipid của bề mặt tế bào, chứa ba khu vực bên ngoài tế bào α_1 , α_2 và α_3 , mỗi khu vực có khoảng 100 amino acid, một khu vực gian bào và một khu vực bào tương. β_2M có chứa duy nhất ở một khu vực ngoài tế bào. Nơi kết hợp kháng nguyên kháng thể nằm trên vùng α_1 và α_2 của phần tử này. Tại đây có gắn cấu trúc giống như receptor với màng tế bào. Thành phần β_2M có thể có tác dụng làm ổn định cấu trúc.

5.1.1.2. Sự sắp xếp gene

Mỗi động vật có vú có chứa 3 gene, hoặc 2 locus gene của MHC. Ở người gene này được gọi là A, B và C; còn ở chuột chúng được gọi là K và D. Ở một số giống khác gene này lại có tên là L. Trong mỗi locus có nhiều gene với số lượng khác nhau ở các loài. Chuột cống có khoảng trên 60, chuột có khoảng 30 còn lợn có khoảng 6 gene hoặc những phần nhỏ của gene. Tuy số lượng như vậy nhưng ít khi tất cả các gene của nó đều hoạt động, như ở chuột chỉ hai hoặc ba chuỗi α có chức năng hoạt động rõ rệt; một số là những gene giả (pseudogene).

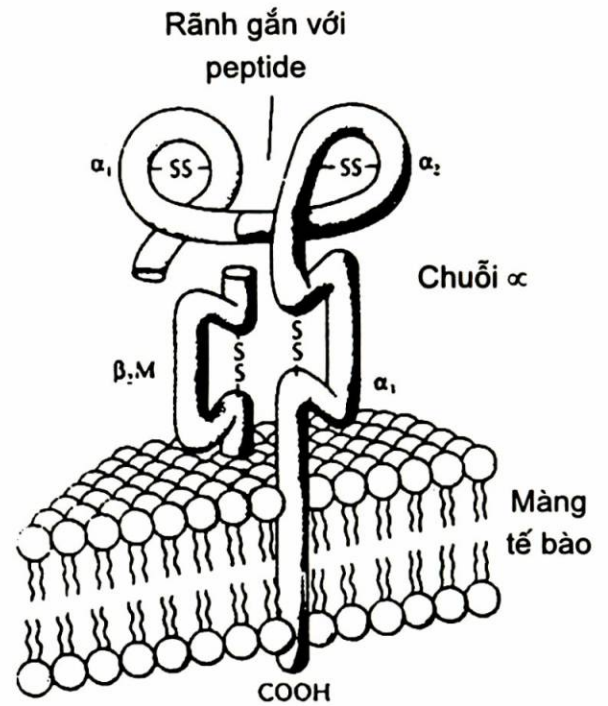
5.1.1.3. Tính đa hình thái

Phần tử của lớp Ia thể hiện có tính đa hình thái.

Các chuỗi amino acid của chúng rất biến đổi. Sự biến đổi ấy tập trung ở những vùng cực kỳ biến đổi nằm tại khu vực α_1 và α_2 . Thường chỉ tìm thấy hai hoặc ba amino acid ở mỗi vị trí và một vị trí thường chiếm ưu thế hơn. Số lượng các phần tử này không đổi và thể hiện rất ít biến đổi chuỗi.

Các khu vực α_1 và α_2 gấp lại cùng với nhau tạo nên rãnh mở ở phần cuối. Dải gấp β tạo nên phần đáy của rãnh.

Vách của nó được hai vòng xoắn ốc α tạo nên. Rãnh gắn vào các peptide có tính kháng nguyên. Các peptide này được tạo ra từ khâu xử lý kháng nguyên. Khu vực biến



Hình 4.8. Cấu trúc ba chiều của phân tử kháng nguyên MHC lớp I trên màng tế bào

đổi hầu như nằm trên vách của rãnh và xác định hình dạng của nó. Hình dạng của rãnh quyết định peptide kháng nguyên nào có thể được kết hợp và như vậy xác định khả năng của con vật đáp ứng với quyết định kháng nguyên đặc hiệu.

Khả năng biến đổi của các khu vực trong α_1 và α_2 là do cơ năng của một số phân tử khác nhau làm thay đổi chuỗi nucleotide.

Quan trọng nhất là sự đột biến và thay đổi về gene. Gene của MHC có tỷ lệ đột biến gen cao nhất (10^{-3} đột biến/gen ở chuột/thế hệ).

5.1.2. Các protein lớp Ib

5.1.2.1. Cấu tạo và sự sắp xếp gene

Loài có vú có rất nhiều gene của lớp Ib không có nhiều hình thái. Thí dụ các locus gene của lớp Ib ở chuột tạo nên ba nhóm Q, T và M. Chúng mã hoá cho protein trên bề mặt tế bào lympho điều hoà miễn dịch, tế bào lympho chưa trưởng thành và tế bào tạo máu. Mỗi protein trong số này có một chuỗi α 44 kDa liên kết với β_2M gắn vào màng. Hình dạng của nó tương tự với hình dạng của các phân tử lớp Ia và chúng có rãnh kết hợp với kháng nguyên.

5.1.2.2. Gene trên các nhiễm sắc thể khác

Một họ những phân tử giống lớp Ib gọi là CDI được tìm thấy trên nhiễm sắc thể tách ra từ MHC. CDI có họ hàng xa với phân tử MHC cổ điển nhưng không giống như phân tử MHC lớp Ia trình diện peptide cho tế bào miễn cảm kháng nguyên. Phân tử CDI dường như trình diện kháng nguyên lipid không phải peptide (acid mycolic) của Mycobacteria. FcRn là phân tử MHC lớp Ia có tác dụng là receptor của kháng thể (Fc) ở trên tế bào biểu mô ruột của chuột sơ sinh, chuột cống và có thể cả ở các loài có vú khác. Nó gắn với kháng thể được lấy từ sữa mẹ và chuyển chúng vào máu. Nó không có rãnh kết hợp với kháng nguyên kháng thể rõ ràng và gene của nó không nằm trong MHC.

5.1.3. Các protein của MHC lớp II

Sự phân phối những phân tử lớp II của MHC rất khác nhau giữa các loài. Ở động vật phòng thí nghiệm (chuột) chúng có mặt ở tế bào chuyên xử lý kháng nguyên (tế bào lympho B, tế bào đuôi gai hoặc đại thực bào) và được cảm ứng của tế bào lympho T, tế bào sừng, tế bào nội mô mạch quản. Tế bào lympho T của chuột ở trạng thái nghỉ không biểu thị phân tử lớp II của MHC nhưng tế bào lympho T ở trạng thái nghỉ của chó, mèo và ngựa trưởng thành lại biểu thị sản phẩm của lớp II. Ở bò, phần lớn các phân tử lớp II của MHC chỉ có mặt trên tế bào lympho B và tế bào lympho T hoạt hoá. Tuy nhiên một phân tử lớp II độc nhất của BoLA (H42A) được tìm thấy trên tế bào biểu mô tuyến ức và tế bào chuyên trình diện kháng nguyên (đại thực bào, tế bào lympho B, tế bào đuôi gai). Ở lợn, tế bào lympho T trong trạng thái nghỉ biểu thị các phân tử MHC lớp I với cùng mức độ như đại thực bào và chúng cũng có chức năng trình diện kháng nguyên. Đồng thời cũng thấy chúng có mặt ở tinh dịch lợn đực với nồng độ thấp. Có một số lượng lớn phân tử lớp II của MHC hiện diện bình thường trên tế bào nội mô mạch quản thận và cầu thận của người và lợn. Sự biểu thị phân tử MHC

lớp II trên bề mặt tế bào tăng lên ở tế bào đang phân chia mạnh và tế bào được xử lý bằng interferon.

5.1.3.1. Cấu tạo

Phần tử MHC lớp II là những glycoprotein liên kết lỏng lẻo với chuỗi polypeptid β và α . Trọng lượng phân tử của chuỗi α là 31-34 kDa và của chuỗi β là 25-29 kDa.

Mỗi chuỗi có hai khu vực nằm ngoài màng tế bào, một peptide liên kết, một khu vực giữa màng và một khu vực nằm trong bào tương. Chuỗi thứ ba là một chuỗi γ không biến đổi (CD74) liên kết với các phần tử lớp II của MHC.

5.1.3.2. Sự sắp xếp gene

Trong khu vực lớp II của người có 5 locus được sắp xếp theo trật tự DP, DN, DO, DQ và DR.

Trong mỗi locus gene đối với chuỗi α là gene A và đối với chuỗi β là gene B. Không phải tất cả các locus đều chứa gene cho cả hai chuỗi. Một số locus có chứa nhiều gene giả. Những gene giả này có chức năng như bộ phận cung cấp chuỗi nucleotide để làm tăng sự đa hình thái của lớp II.

5.1.3.3. Sự đa hình thái

Phần tử của lớp II có một rãnh kết hợp kháng nguyên kháng thể được tạo nên do liên kết của các khu vực α và β . Rãnh này có cấu tạo tương tự với rãnh ở các phần tử lớp I của MHC. Vách của nó được tạo nên bởi hai vòng xoắn ốc α song song và đáy của nó là một dải gấp β . Sự đa hình thái là do sự khác nhau về chuỗi amino acid trong các vòng xoắn ốc.

5.1.3.4. Ý nghĩa về tiến hoá của sự đa hình thái

Sự kết hợp của các phần tử lớp Ia hoặc lớp II của MHC ít đặc hiệu ở chỗ rãnh kết hợp có thể gắn với rất nhiều peptide khác nhau. Tuy nhiên sự hạn chế về cấu trúc làm hạn chế hiệu quả của sự kết hợp và một phần tử MHC không có khả năng gắn với tất cả các peptide; chỉ một hoặc hai peptide của một protein không lớn lắm là có khả năng gắn với bất kỳ phần tử MHC nào. Tăng số lượng phần tử MHC trong một cá thể sẽ làm tăng rõ rệt số lượng peptide có thể kết hợp và tăng khả năng kháng khuẩn. Do phần lớn các cá thể có dị hợp tử ở locus của MHC, mỗi một cá thể bình thường biểu thị tối đa 6 phần tử của lớp Ia (thí dụ ở người được mã hoá của các locus HLA.A, HIA.B và HLA.C). Số lượng locus của MHC không lớn hơn bởi lẽ do sự có mặt của phần tử MHC làm tăng cơ hội để MHC có thể kết hợp và trình diện các tự kháng nguyên sẽ loại bỏ rất nhiều tế bào lympho T phản ứng với bản thân trong suốt quá trình phát triển. Sáu phần tử lớp Ia của MHC tiêu biểu cho một sự sắp xếp hợp lý, phân biệt tự kháng nguyên với kháng nguyên lạ.

Một số locus lớp Ia của MHC mã hoá cho nhiều allele, thí dụ locus H - 2K ở chuột mã hoá hơn 100 allele. Sự đa hình thái đóng vai trò quan trọng làm nên tính khác nhau cho mỗi locus. Ở đây cũng có một vài lý do khác tạo nên tính rất đa dạng về MHC.

Lý do cơ bản nhất là sự bảo vệ quần thể chống lại bệnh tật. Do sự đa hình thái của MHC, phần lớn cá thể trong quần thể có những phân tử đặc biệt của lớp Ia và lớp II. Những phân tử này có khả năng kết hợp với rất nhiều quyết định kháng nguyên. Khi có sự xâm nhập của một vi khuẩn mới thì ít nhất là một số cá thể sẽ có những phân tử MHC có khả năng kết hợp và trình diện quyết định kháng nguyên của vi sinh vật. Những cá thể này phản ứng với tác nhân gây bệnh và tạo miễn dịch. Kiểm tra những quần thể lớn ở người và chuột không phát hiện có allele riêng lẻ nào có tần suất cao. Nói một cách khác, không có phân tử MHC riêng lẻ làm thuận lợi cho một cá thể. Điều này phản ánh có sự cố gắng nhưng vô hiệu của vật chủ khi chống lại vi sinh vật gây bệnh có biến đổi nhiều về tính kháng nguyên.

Một vi sinh vật luôn luôn có khả năng đột biến để thoát khỏi phản ứng của miễn dịch nhanh hơn tốc độ phát triển của đáp ứng miễn dịch ở quần thể loài có vú đối với vi sinh vật đó. Bất kỳ sự đột biến nào ở MHC, trong khi làm tăng sức đề kháng với một vi sinh vật này thì đồng thời lại làm giảm sức đề kháng với vi sinh vật khác.

Khi một cá thể nào đó có các phân tử lớp Ia và lớp II của MHC chỉ biến đổi một chút thôi thì cũng sẽ làm cho vi sinh vật vốn vẫn có khả năng lây lan trong quần thể nay phải thích ứng lại từ đầu với mỗi vật chủ. Đối với quần thể sinh vật thì chúng càng có nhiều phân tử MHC khác nhau càng tốt.

Các sinh vật có tính thích ứng cao, sống theo quần thể lớn như người hoặc chuột cống thể hiện MHC rất đa hình thái. Ngược lại, những loài sống riêng biệt và mật độ thấp như loài có vú sống ở biển (cá voi, voi biển) hoặc mèo thì tính đa hình thái ít hơn.

Do thiếu sự đa dạng về MHC mà một bệnh nhiễm khuẩn nguy hiểm có khả năng làm tuyệt chủng cả một loài như loài báo săn (*acinomyx jubatus*).

Người ta đã chứng minh được động vật ăn thịt sống với mật độ quần thể thấp có hiện tượng đa hình về MHC ít hơn những loài có vú khác.

5.1.4. Protein lớp III của MHC

Những gene còn lại nằm trong MHC có thể tập hợp lại với nhau thành gene của lớp III, mã hoá cho protein có nhiều chức năng. Một số trong những gene này mã hoá cho protein của hệ thống bổ thể. Ngoài ra có những locus mã hoá cho các enzyme hydroxylase A và B, yếu tố phá huỷ khối u TNF- α và TNF- β . Tất cả locus này được xếp vào locus lớp III của MHC. Có bốn gene cho thành phần bổ thể trong khu vực của lớp III (hai gene cho C4, một gene cho yếu tố B và C2).

5.1.5. MHC của vật nuôi

Mỗi loài có vú có MHC chứa gene mã hoá cho phân tử phù hợp tổ chức lớp I và lớp II cũng như cho thành phần bổ thể (lớp III). Trật tự sắp xếp và số lượng của mỗi locus là rất khác nhau giữa loài này và loài khác; cấu tạo phân tử của MHC ở gia súc không khác nhiều so với người hoặc chuột.

5.1.5.1. Hệ thống BoLA

Hệ thống BoLA nằm trên nhiễm sắc thể 23, gồm bốn vùng: Lớp I, lớp IIa, lớp IIb và lớp III. Lớp IIa mã hoá cho những phân tử hoạt động của lớp II, trong khi trạng thái của phân tử lớp IIb vẫn chưa được biết rõ.

Hiện tại chỉ có một locus của lớp I được quốc tế thừa nhận dựa trên phản ứng huyết thanh (BoLA-A) mặc dù có bằng chứng về sự tồn tại một locus thứ hai của lớp I (BoLA-B). Phân tích phân tử cho thấy khu vực của lớp I có chứa đến 15 gene. Locus A có 32 allele được xác định bằng huyết thanh và ít nhất có trên 4 allele dù nhiều gene không hoạt động. Hai allele (BoLA w25 và BoLA w32) có thể có nguồn gốc từ locus BoLAB. Những phân tử lớp II của bò, tương tự với các phân tử ở những loài khác, có chứa một chuỗi α 33kDa và một chuỗi β 28kDa. Khu vực lớp II của bò có cấu trúc tương tự cấu trúc quan sát thấy ở những loài có vú khác. Phức hợp cổ điển có số lượng gene DQ rất khác nhau.

Một số loài động vật chứa gene DQA và DQB riêng lẻ; có loài có hai DQA với một DQB; có loài có 2DQA và 2DQB. Có ít nhất ba gene DRB mà một trong số đó là gene giả (pseudogene) (DRB1).

DR3 là locus biểu thị chủ yếu và DR2 chỉ biểu thị ở mức thấp. Phức hợp này cũng chứa một gene DOA và một gene DOB cũng như gene HSP70. Khu vực gene của lớp IIb có chứa gene DOB, DYA, DYB, DIB và LMP2 (mã hoá cho thành phần của proteasome, một enzyme tham gia chế biến phức hợp kháng nguyên).

Cả DIB và DOB không biểu thị trên tế bào lympho của bò. Bò không có gene DP. Khu vực lớp III của MHC ở bò chứa gen mã hoá C4, thành phần bổ thể và yếu tố B (Bf).

5.1.5.2. Hệ thống ELA

Ngựa có hai locus của lớp I, đó là ELA-A và ELA-B, trong đó có ít nhất 22 allele ở locus ELA-A và ba allele ở locus ELA-B. Hai locus được xác định là có gene DRB và DQA. Một khu vực của lớp III có gene mã hoá cho C4 và 21-hydroxylase cũng đã được xác định. Phức hợp ELA được liên kết với gene kiểm soát hệ thống nhóm máu và có mối liên hệ giữa một số allele A và một số allele ELA. Ngựa cũng có những dấu ấn trên tế bào lympho gọi là ELY-I và ELY-II.

5.1.5.3. Hệ thống SLA

Phức hợp SLA nằm trên nhiễm sắc thể 7. Phức hợp này liên kết với gene kiểm soát hệ thống nhóm máu. Bằng sinh hoá học đã xác định được phân tử lớp I và lớp II trên bề mặt tế bào lympho của lợn. Phức hợp lớp I chứa ba locus cổ điển: SLA-A, SLA-B và SLA-C và tổng số 9 gene lớp I. Thường chỉ có hai hoặc đôi khi có ba trong số những sản phẩm gene lớp I của SLA được biểu thị.

Tất cả chúng là glycoprotein 45kDa liên kết với β_2 M. Bằng phản ứng huyết thanh đã xác định được hơn 40 allele lớp I khác nhau. 8-15 allele trong mỗi locus và chỉ khoảng 60 thể đơn bội (haplotype) được xác định.

Có một số gene lớp II của SLA nhưng chỉ hai gene là SLA-DR và SLA-DQ được biểu thị. Các protein biểu thị có một chuỗi α 33-35 kDa và một chuỗi β 27-28 kDa.

Họ gene lớp II của SLA có chứa một gene SLA-DRA, hai gene SLA-DRB, một hoặc hai SLA-DQA, hai hoặc ba gen SLA-DQB, một gene SLA-DPA và một gene SLA-DPB. Họ này cũng có gene DOB và DOA.

Chỉ một locus của DRB được biểu thị, còn các locus khác thì không.

Lợn có một khu vực lớp III nằm trong phức hợp SLA mã hoá cho C4, C2, 21-hydroxylase, ba HSD và hai TNF.

5.1.5.4. Hệ thống OLA

MHC của cừu có ba gene của lớp I được biểu thị, đó là OLA-A, OLA-B và OLA-C. Ít nhất 16 allele lớp I do các locus này kiểm soát đã được biểu thị trong đó 6 allele là thuộc về OLA-A, 5 allele cho OLA-B và ba allele cho OLA-C.

Sức đề kháng với bệnh ghẻ và viêm lâm ba đường như có liên quan đến một số gene trong những loại trên.

Cừu có các gene DRA, DNA, DOB của lớp II cũng như là các locus DRB và DQB. Như vậy khu vực phụ DQ có hai locus DQ1 và DQ2, mỗi một locus có một gene A và một gene B đa hình thái.

Gene ở mỗi một locus được sao chép nhưng chỉ có thể phát hiện được sản phẩm biểu thị các gene của DQ1.

Cừu cũng có locus DY có chứa gene A và B. Không thấy gene nào tương ứng với DP.

5.1.5.5. Hệ thống DLA

Chó có ba locus của DLA lớp I gọi là A, B và C. 8 allele đã được tìm thấy ở locus thứ nhất (DLA-A) và 5 ở locus thứ hai (DLA-B). Locus DLA-C có 4 allele rõ rệt. Chó có 3-10 gene DRB, 6-9 gene DQB và 5-7 gene DPB. Kháng thể đơn dòng kháng phần tử lớp III của người cũng phản ứng với các phần tử ở tổ chức của chó và các protein ấy có chứa hai chuỗi peptid. Locus A của lớp III mã hoá cho C4 đã được xác định ở chó.

5.1.5.6. Hệ thống FLA

Khó xác định được đặc điểm của MHC ở mèo vì tạo ra kháng thể bằng phương pháp tạo kháng thể thông thường đối với phần tử MHC là rất khó.

Kháng thể chống MHC của mèo cũng khó được tạo ra bằng phương pháp truyền huyết thanh hoặc ghép da. Người ta cho rằng đó là do thiếu tính đa hình của MHC ở mèo nhà. Nhiều khả năng hơn là do bạch cầu đơn nhân của mèo biểu thị mức độ thấp các phần tử MHC. Phân tích về di truyền cho thấy hệ thống FLA có chứa 10-20 locus của gene lớp I và 5 locus của gene lớp II. Có thể chỉ hai trong những gene lớp I và ba trong những gene lớp II được biểu thị. Mức độ đa hình ở locus này ít hơn chuột nhiều nhưng tương đương với người. Tính đa hình là do sự khác nhau ở khu vực của FLA lớp I và DRB của FLA lớp II nhưng không phải do phần tử DRA.

5.1.6. Các phân tử MHC ở chim

MHC ở gà được biết đến đầu tiên là một locus kiểm soát nhóm máu. Protein MHC lớp I của chim là những chuỗi đôi không đồng nhất 40 và 11 kDa được phát hiện thấy trên bạch cầu đơn nhân. Protein của lớp II là những chuỗi đôi không đồng nhất 27 và 30 kDa được phát hiện thấy trên tế bào lympho B, bạch cầu đơn nhân và đại thực bào.

MHC của chim có một số đặc điểm khác, phân biệt nó với hệ thống của loài có vú. Thí dụ gene MHC của gà có nguồn gốc từ hai nhóm độc lập là B và Rfp-Y nằm trên cùng một nhiễm sắc thể nhỏ. Mỗi một nhóm có chứa cả gene của lớp I và lớp II. Có sự khác nhau chút ít về cấu trúc giữa các gene trong mỗi nhóm. Phức hợp B có chứa hai khu vực giống như khu vực lớp I và lớp II ở loài có vú và được gọi là B-F và B-L tương ứng. Phức hợp B cũng chứa khu vực gene chủ yếu thứ ba gọi là B-G hay lớp IV. Các gene lớp III mã hoá cho thành phần bổ thể chưa phát hiện thấy ở chim. Tổ chức của các họ gene trong tổ hợp B cũng rất khác ở loài có vú. Đáng lẽ tụ họp lại thành khu vực rõ ràng thì các gene B-F và B-L lại trộn lẫn trong khu vực B-F/B-L. Sáu gene B-F đã được xác định lẫn với một số gene không đa hình thái và rất khó xác định. Năm gene B-LB đã được xác định nhưng chỉ một hoặc hai gene được biểu thị.

Số lượng gene B-LA chưa được xác định.

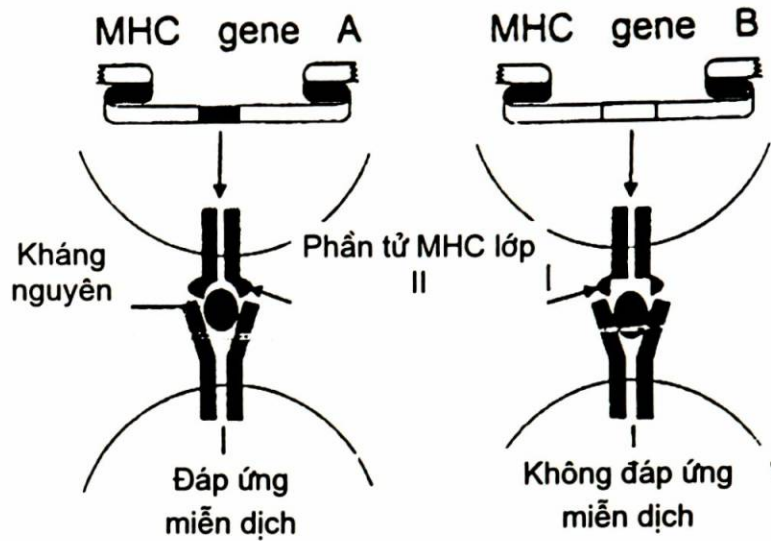
Thể đơn bội (haplotype) MHC của chim không chỉ khác ở các gene của lớp I và lớp II được biểu thị ở cá thể mà còn khác cả ở số lượng gene được biểu thị. Sự biểu thị phân tử B-L trên tế bào lympho B được một gene không phải của MHC, đó là Bu-1m, kiểm soát. Hai gene của MHC lớp I và hai gene của MHC lớp II tạo ra khu vực Rfp-Y. Chúng khác gen của phức hợp B ở chỗ là sản phẩm của chúng không biểu thị trên hồng cầu.

Gene B-G bao gồm một họ có nhiều gene, rất đa hình, nằm trong một khu vực tách ra từ các gene B-F/B-L mặc dù đã tìm thấy một số gene B-G có thể nằm trong khu vực B-F/B-L. Sản phẩm của gene B-G là một hỗn hợp những protein không đồng nhất của màng tế bào có trọng lượng phân tử 40-48 kDa. Các phân tử này có thể tạo nên chuỗi đơn, chuỗi đôi đồng nhất hoặc chuỗi đôi không đồng nhất, chủ yếu có mặt trên hồng cầu và tiểu cầu.

Những phân tử có quan hệ họ hàng với B-G được tìm thấy có nồng độ thấp ở tế bào lympho và tiền chất của chúng, ở túi fabricius và tuyến ức. Chức năng của chúng tương tự như butyrophilin - một protein ở tuyến vú của bò.

5.2. Các phân tử MHC và bệnh tật

Chức năng của phân tử MHC là trình diện kháng nguyên cho hệ thống miễn dịch. Một phân tử kháng nguyên chỉ có thể kích thích một đáp ứng miễn dịch khi nó gắn vào rãnh của một phân tử MHC. Nếu không có ít nhất một phân tử gắn vào rãnh của một phân tử MHC thì sẽ không có kích thích đáp ứng miễn dịch (hình 4.9).



Hình 4.9. Tác dụng của các phân tử MHC trong việc điều chỉnh đáp ứng miễn dịch

Chỉ các phân tử có thể gắn vào rãnh của một phân tử MHC mới gây ra đáp ứng miễn dịch. Như vậy gen của MHC mã hoá cho những phân tử đó cũng điều hoà đáp ứng miễn dịch. Điều đó có nghĩa các gene này ảnh hưởng đến tính mẫn cảm của cơ thể đối với những bệnh liên quan đến đáp ứng miễn dịch. Đã có bằng chứng cho thấy có mối liên hệ giữa một số allele của BoLA ở bò với bệnh tăng bạch cầu (leucosis) của động vật này, các tế bào vẩy, u mắt, bệnh lê dạng trùng và sự mẫn cảm với ve *Boophilus microplus*. Bò có BoLA Aw8 có thể có phản ứng dương tính với bệnh tăng bạch cầu, một bệnh do nhiễm virus tăng bạch cầu bò (*Bovine leukemia - BLV*). Với bệnh này, bò có BoLA Aw7 kháng được, còn bò có BoLA Aw12 lại mẫn cảm. Sự tăng sinh của tế bào lympho B và sự biểu thị của khối u ở tế bào này cũng do BoLA kiểm soát. BoLA12 dường như có mối liên hệ với sự mẫn cảm đối với tăng sinh của tế bào lympho B. Mối liên hệ này với locus A của lớp I tương đối yếu so với mối liên hệ giữa tính mẫn cảm với một số allele DRB của lớp II, thí dụ như DRB3. Thực vậy, sự mẫn cảm kéo dài của bệnh tăng bạch cầu là do sự có mặt của glu-arg ở vị trí kết hợp kháng nguyên của DRB3 tại vị trí 70 và 71. Một số allele BoLA có mối liên hệ với tăng đáp ứng bảo vệ không đặc hiệu như tăng số lượng bạch cầu trung tính trong máu và tăng tác dụng gây độc tế bào. Thí dụ: BoLA16 có mối liên quan với sức đề kháng chống bệnh viêm vú. (Sự có mặt của phân tử M' của nhóm máu cũng có mối liên hệ với sức đề kháng đối với bệnh viêm vú. (Thời gian gần đây người ta đã chứng minh rằng quyết định kháng nguyên M' nằm trên Aw16). BoLA -Aw6 và Aw16 thể hiện có liên hệ với đáp ứng cao của kháng thể và BoLAw2 có mối liên hệ với đáp ứng thấp của kháng thể chống albumin huyết thanh ở người. Ngựa phản ứng quá mẫn đối với *Culicodes* - một trạng thái dị ứng khi bị côn trùng đốt do sự có mặt của ELA-Aw7. Có một mối liên hệ rất chặt chẽ giữa ELA-A3, ELA-A15 và ELA.Dw13 với sự tiến triển của khối u ở da.

Phức hợp SLA ảnh hưởng đến các thông số sinh sản như sự rụng trứng, khối lượng và khả năng sống của lợn con, có thể là do vai trò của hydroxylase trong tổng hợp các steroid nằm trên khu vực của lớp III. Khả năng sinh trưởng thấp ở lợn đại bạch có mối liên hệ với SLA-4, SLA-5 và SLA-20.

Tỷ lệ thịt móc hàm cao ở lợn Landrace có mối liên hệ với *SLA-1*, *SLA-15* và *SLA-1B*. Hàm lượng immunoglobulin cũng bị ảnh hưởng một phần của thể đơn bội (hapotype) SLA.

Ngay cả bị nhiễm ấu trùng giun xoắn (*Trichinella-spiralis*) có liên quan đến gene trong phức hợp SLA. Với bệnh marek, trong cùng một điều kiện thì gà có thể đơn bội B², B⁶, B¹⁴ và B²¹ có khả năng kháng lại còn gà có thể đơn bội B¹, B³, B⁵, B¹⁵ và B¹⁹ lại mẫn cảm. Gà có B¹ mẫn cảm cao với bệnh marek, có tỷ lệ chết cao ở gà trưởng thành. Mặt khác chúng lại có đáp ứng yếu đối với *Salmonella pullorum* hoặc albumin huyết thanh của người. So với gia cầm có B², khi nhiễm cầu trùng *Eimeria tenella*, gia cầm có B⁵ có khả năng gây đáp ứng kháng thể tốt hơn và bị tổn thương nhẹ hơn.

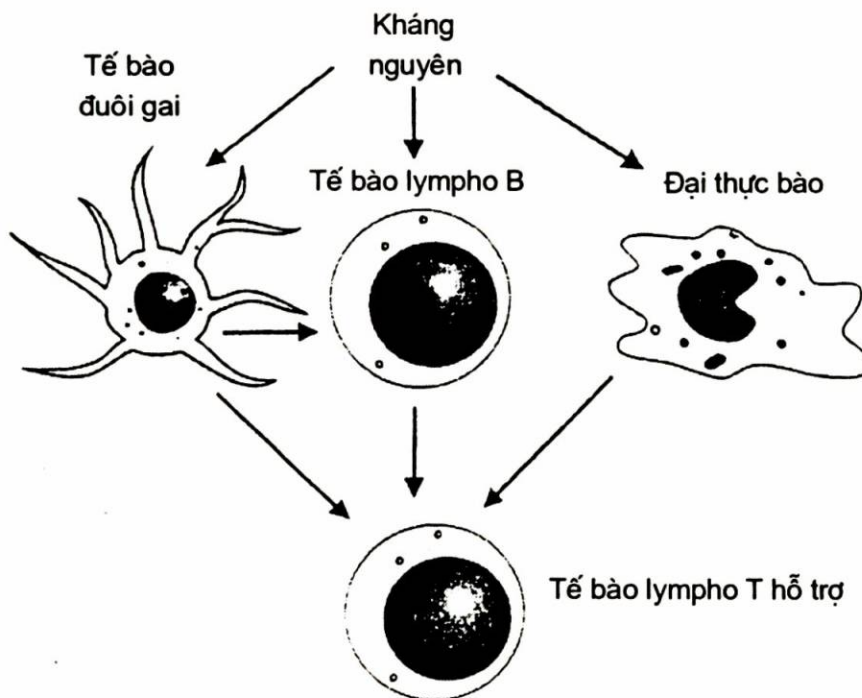
6. XỬ LÝ KHÁNG NGUYÊN

Nếu tất cả chất lạ vào cơ thể bị nuốt toàn bộ, tiêu hoá và phá huỷ bởi đại thực bào thì sẽ không cần và không có kích thích đáp ứng miễn dịch. Tuy nhiên, một số kháng nguyên tồn tại dai dẳng, gây kích thích đáp ứng miễn dịch. Có hai loại kháng nguyên lạ gây đáp ứng miễn dịch.

Loại thứ nhất là vi sinh vật (như vi khuẩn); khi xâm nhập cơ thể thường bị thực bào bởi đại thực bào. Những phần tử lạ này cũng có thể lưu hành trong máu một thời gian. Chúng được gọi là ngoại kháng nguyên và được xử lý bởi tế bào chế biến kháng nguyên chuyên biệt như đại thực bào, tế bào đuôi gai, tế bào lympho B (hình 4.10).

Loại nào trong các tế bào xử lý kháng nguyên được sử dụng lại phụ thuộc vào bản chất kháng nguyên, đường xâm nhập của kháng nguyên và gia súc đã tiếp xúc với kháng nguyên đó trước đây hay chưa.

Loại phần tử lạ thứ hai được tạo ra bên trong cơ thể, được gọi là nội kháng nguyên. Nếu một virus xâm nhập vào trong một tế bào và gene của nó thực hiện quá trình tổng hợp sinh học thì protein mới được sản xuất này cũng là protein nội sinh. Kháng nguyên nội sinh sẽ được tế bào nơi chúng được tạo ra trình diện cho tế bào mẫn cảm kháng nguyên.



Hình 4.10. Ba quần thể tế bào trình diện kháng nguyên chủ yếu

Sự trình diện kháng nguyên cho tế bào của hệ thống miễn dịch là một bước quan trọng trong quá trình tạo đáp ứng miễn dịch. Tế bào miễn cảm kháng nguyên chính là tế bào lympho T sẽ tiến hành nhận dạng kháng nguyên.

6.1. Các tế bào xử lý kháng nguyên

6.1.1. Đại thực bào

Đại thực bào là tế bào xử lý kháng nguyên quan trọng nhất đối với kháng nguyên cơ thể chưa tiếp xúc trước đây. Như vậy, đại thực bào có thể thực bào vi sinh vật khi không có mặt kháng thể để opsonin hoá. Chúng có thể ít quan trọng hơn khi đã có sẵn kháng thể vì khi có kháng thể thì việc xử lý kháng nguyên của tế bào đuôi gai và tế bào lympho B tăng lên. Sau khi được đại thực bào thu nhận, một số kháng nguyên sẽ được chế biến và trình diện cho tế bào của hệ thống miễn dịch.

6.1.2. Tế bào đuôi gai

Việc xử lý kháng nguyên của đại thực bào không có hiệu quả khi rất nhiều kháng nguyên bên trong tế bào bị protease của lysosome phá huỷ. Khi đó phải có một quần thể chuyên biệt các tế bào đơn nhân, gọi là tế bào đuôi gai, tham gia xử lý kháng nguyên.

Tế bào đuôi gai có ở khắp cơ thể nhưng tập trung nhiều trong cơ quan lympho. Chúng có chất tế bào dạng sợi gọi là đuôi gai, có nhân phân thùy và bào tương chứa những hạt đặc trưng gọi là hạt Birbeck. Tế bào đuôi gai gồm nhiều loại như tế bào Langherhan nằm trong da, tế bào kẽ và tế bào đuôi gai hình túi trong tổ chức lympho.

Trong tổ chức lympho (thí dụ lách và hạch lympho) tế bào đuôi gai tạo nên một mạng lưới bắt giữ kháng nguyên một cách hiệu quả. Có hai quần thể tế bào loại này, đó là tế bào kẽ nằm trong khu vực của tế bào lympho T và tế bào đuôi gai dạng túi nằm trong khu vực của tế bào lympho B. Tế bào kẽ có mặt trong tất cả các tổ chức lympho bao gồm cả tuyến ức.

Những tế bào đuôi gai dạng túi có mang phân tử MHC lớp II và receptor cho bề mặt, cho kháng thể trên bề mặt song những tế bào này lại có tác dụng thực bào kém.

Tế bào langherhan là những tế bào đuôi gai cư trú ở thượng bì của da. Chúng bắt giữ và xử lý kháng nguyên xâm nhập qua da, bao gồm những kháng nguyên tiếp xúc tại chỗ ở da (như nhựa của cây thường xuân độc) hoặc các kháng nguyên đưa vào trong da do muỗi đốt. Do vậy tế bào langherhan làm nên dị ứng ở da như phản ứng quá mẫn mủn và viêm da dị ứng do tiếp xúc. Những tế bào này có thể rời khỏi da rồi tập hợp lại trong hạch lympho và tại đó chúng trở thành tế bào kẽ.

Tế bào Veil là những tế bào đuôi gai được phát hiện ở dịch bạch huyết, được chuyển từ tổ chức vào hạch lympho. Chúng có thể đại diện cho dạng quá độ giữa tế bào langherhan và tế bào kẽ. Tế bào đuôi gai trình diện kháng nguyên theo hai cách khác nhau. Ở gia súc chưa tiếp xúc với kháng nguyên, sự trình diện kháng nguyên là một quá trình bị động. Tế bào đuôi gai chỉ có một việc đơn giản đó là cung cấp bề mặt để cho kháng nguyên có thể được trình diện trên đó. Tuy nhiên, tế bào đuôi gai trình diện kháng nguyên cho tế bào lympho T ở trạng thái không hoạt động có hiệu quả hơn nhiều so với

đại thực bào và tế bào lympho B. Đối với gia súc đã từng tiếp xúc với kháng nguyên và có kháng thể, kháng nguyên và kháng thể kết hợp để tạo ra phức hợp kháng nguyên kháng thể (còn gọi là phức hợp miễn dịch). Tế bào đuôi gai hình túi trên khu vực của tế bào lympho B thu nhận các phức hợp miễn dịch này trên bề mặt, xử lý làm phức hợp miễn dịch đó rời ra thành các cấu trúc hạt tròn. Các thể phức hợp miễn dịch này được gọi là Icosome, sẽ gắn với tế bào lympho B sau đó. Tế bào lympho B nuốt kháng nguyên và sau khi xử lý sẽ trình diện nó cho tế bào lympho T miễn cảm với kháng nguyên.

Tế bào đuôi gai có thể giữ kháng nguyên trên bề mặt của chúng hơn 3 tháng. Kháng nguyên được tế bào đuôi gai chế biến là chất kích thích mạnh tế bào lympho T, mạnh gấp mười nghìn lần so với kháng nguyên tự do.

6.1.3. Tế bào lympho B

Một loại tế bào lympho, được gọi là tế bào lympho B, cũng là tế bào xử lý kháng nguyên quan trọng và có hiệu quả. Tế bào lympho B có receptor đặc hiệu có thể kết hợp với toàn bộ các phần tử kháng nguyên. Chúng nuốt và xử lý kháng nguyên trước khi trình diện cho tế bào lympho T (gắn với các phần tử MHC lớp II). Lympho B là những tế bào trình diện kháng nguyên rất có hiệu quả, nhất là cho tế bào lympho T ghi nhớ và tế bào Th1 vì chúng tiết Interleukin 1 (IL-1) và Interleukin 12 (IL-12).

Có thể thấy rõ tầm quan trọng của tế bào lympho B trong việc xử lý kháng nguyên khi động vật có tế bào lympho B bị cạn kiệt. Ở những động vật này đáp ứng của tế bào T bị phá hủy nghiêm trọng.

6.1.4. Các tế bào xử lý kháng nguyên khác

Người ta cho rằng chỉ tế bào xử lý kháng nguyên chuyên biệt mới có khả năng kích thích đáp ứng của tế bào lympho T vì chỉ loại tế bào chuyên biệt này mới có thể cung cấp các tín hiệu đồng kích thích chính xác. Tuy nhiên kháng nguyên còn có thể được xử lý và trình diện bởi nhiều loại tế bào khác nhau, dù rất kém.

Ngoài đại thực bào, tế bào đuôi gai và tế bào lympho B còn có bạch cầu trung tính, bạch cầu ái toan, tế bào nội mô, nguyên bào sợi, tế bào diệt tự nhiên (Natural killer-NK), các tế bào cơ trơn, tế bào hình sao microglia và các tế bào biểu mô (như tế bào biểu mô tuyến ức và tế bào giác mạc mắt) có khả năng trên. Tác dụng của chúng có thể phụ thuộc vào môi trường tại chỗ. Như vậy nguyên bào sợi có thể là các tế bào trình diện kháng nguyên có hiệu quả khi nằm trong cơ quan lympho.

Tế bào nội mô cũng có thể tiếp nhận kháng nguyên, tổng hợp IL-1 và chịu ảnh hưởng của interferon để biểu thị các phần tử MHC lớp II trên bề mặt của chúng. Vì vậy đây cũng có thể là tế bào trình diện kháng nguyên có hiệu quả. Thậm chí tế bào sừng ở da cũng có thể sản xuất yếu tố tương tự IL-1, biểu thị các phần tử MHC lớp II và trình diện kháng nguyên cho tế bào lympho T.

6.2. Xử lý các ngoại kháng nguyên

Trình diện ngoại kháng nguyên là chức năng của phần tử MHC lớp II. Mặc dù tất cả đại thực bào có thể thực bào các phần tử lạ song chỉ có đại thực bào biểu thị phần tử

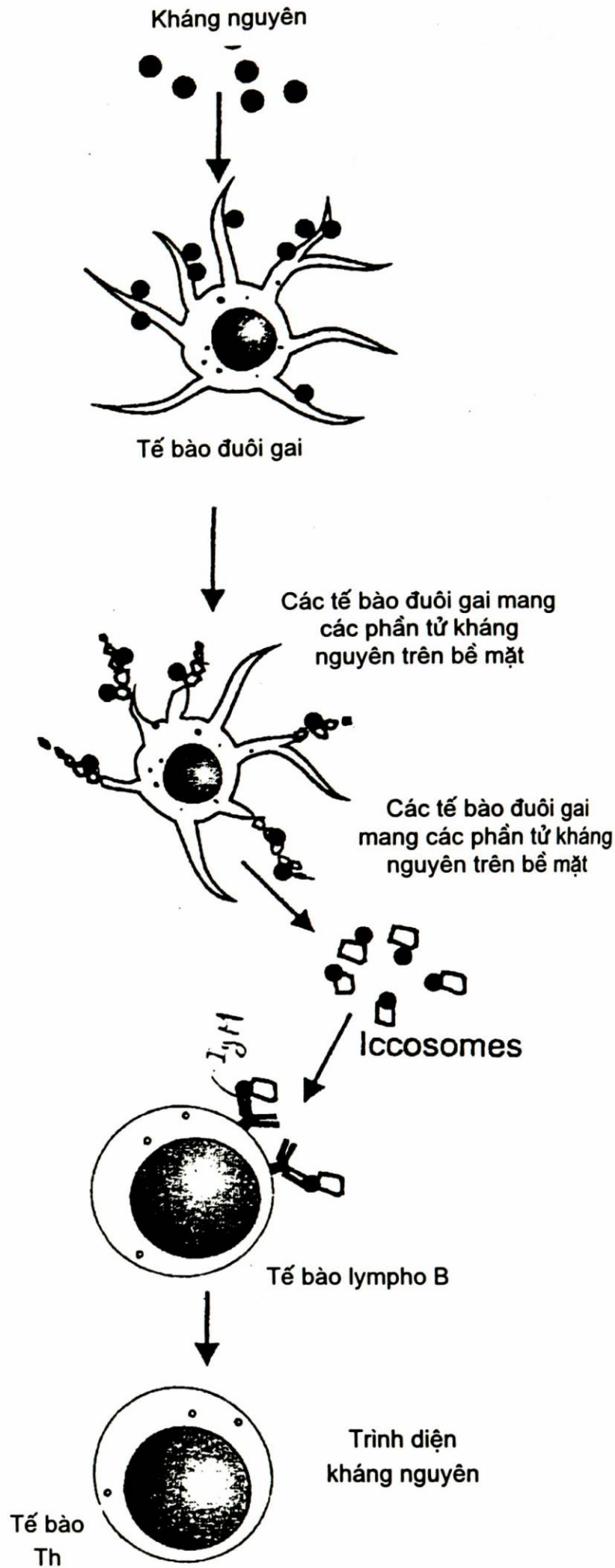
MHC lớp II mới có thể xử lý kháng nguyên cho phép kích thích một đáp ứng miễn dịch. Phân tử MHC lớp II là những receptor gắn với các phần nhỏ của phân tử bị nuốt và trình diện chúng cho tế bào nhận diện kháng nguyên (hình 4.11).

Tế bào nhận diện kháng nguyên này là những quần thể phụ tế bào lympho gọi là T hỗ trợ (helper T cell) vì chúng kích thích đáp ứng miễn dịch.

Tế bào T hỗ trợ chỉ có thể nhận diện một quyết định kháng nguyên lạ và đáp ứng với nó nếu nó được kết hợp với một phân tử MHC của lớp II.

Đại thực bào mang MHC lớp II chiếm ưu thế trong lách, tuyến ức và trong gan. Tuy nhiên một số đại thực bào không biểu thị MHC lớp II khi được hoạt hoá.

Khi được xử lý bằng kháng thể chống các phân tử MHC lớp II, đại thực bào trở nên bị thiếu hụt miễn dịch. Chỉ khi những phân tử MHC lớp II xuất hiện trên đại thực bào thì tế bào này mới có khả năng gây đáp ứng miễn dịch. Đại thực bào điều chỉnh liều kháng nguyên có mặt trên bề mặt của chúng và vì vậy ngăn cản sự phát triển dung nạp miễn dịch không phù hợp. Tế bào T hỗ trợ được kích thích để đáp ứng với kháng nguyên bằng cách tiếp xúc với những liều kháng nguyên thay đổi ở mức độ hẹp. Nếu kháng nguyên được trình diện cho tế bào lympho T không liên kết với các phân tử MHC lớp II, đáp ứng miễn dịch có thể bị tắt và có thể đưa đến dung nạp miễn dịch. Có một số bước



Hình 4.11. Sự trình diện kháng nguyên của tế bào đuôi gai

trong xử lý ngoại kháng nguyên của đại thực bào. Đầu tiên kháng nguyên phải được đại thực bào nuốt và đưa vào trong phagosome. Sau đó phagosome hoà với các hạt chứa protease. Peptide nuốt vào bị cắt ra do tác động của protease thành những mảnh nhỏ. Endosome chứa các mảnh này sẽ kết hợp với endosome khác mang phân tử MHC lớp II mới được tổng hợp. Những hạt trộn lẫn vừa tạo thành tiếp tục di chuyển đến bề mặt tế bào. Trong thời gian đó các mảnh peptide gắn vào rãnh MHC. Rãnh này có thể giữ một chuỗi peptide thẳng kéo dài có chứa 12-24 amino acid nhô ra ở cả hai đầu rãnh. Khi đến bề mặt tế bào, những hạt này hợp nhất (fuse) với màng tế bào và phức hợp peptide MHC được đưa lên bề mặt tế bào sao cho nó có thể được tế bào lympho T nhận diện. Trong suốt quá trình lắp ráp và chuyển các phân tử MHC lớp II chúng liên kết tạm thời với một chuỗi peptide không biến đổi gọi là chuỗi γ . Chuỗi γ gắn với rãnh kết hợp kháng nguyên trên phân tử MHC và sự có mặt của chuỗi γ ngăn cản phân tử MHC lớp II vận chuyển đến màng tế bào ngay khi chúng được tạo ra.

Khác với nhiều protein ở màng tế bào chỉ biểu thị trong vài phút sau khi đi qua thể golgi, phân tử MHC được giữ lại một vài giờ. Chuỗi γ lại đưa trực tiếp những phân tử MHC đến endosome, ở đó chúng liên kết với những mảnh kháng nguyên. Trong endosome, chuỗi γ bị protease giáng hoá để lại một rãnh trống để gắn với peptide lạ đồng thời cũng để cho phức hợp chuyển đến bề mặt tế bào.

Người ta đã tính được mỗi tế bào trình diện kháng nguyên mang khoảng $2-10^5$ phân tử MHC lớp II có khả năng trình diện peptide cho tế bào lympho T. Do một tế bào lympho T có thể được hoạt hóa bằng cách tiếp xúc với phức hợp MHC có 200-300 peptide, một tế bào trình diện kháng nguyên có khả năng trình diện nhiều quyết định kháng nguyên cùng một lúc. Do tế bào lympho hỗ trợ cần phải được kích thích để cho nhiều đáp ứng miễn dịch xảy ra, phân tử MHC lớp II quyết định rất có hiệu quả một đáp ứng miễn dịch sẽ xảy ra hay không đối với bất kỳ quyết định kháng nguyên nào.

Phân tử MHC gắn đặc hiệu với một số peptide chứ không phải với tất cả các peptide được tạo ra trong quá trình xử lý kháng nguyên và bằng cách đó chọn lọc các quyết định kháng nguyên sẽ được trình diện cho tế bào lympho T. Phức hợp peptide - MHC là tín hiệu hoạt hoá tế bào lympho T thông qua receptor kháng nguyên của chúng.

6.3. Xử lý nội kháng nguyên

Có một số kháng nguyên gây ra một đáp ứng miễn dịch nhưng những kháng nguyên này không phải được đại thực bào hoặc tế bào xử lý kháng nguyên khác nuốt vào mà thực sự những kháng nguyên này có nguồn gốc từ trong chính bản thân tế bào đó. Đó là nội kháng nguyên. Thí dụ rõ rệt về nội kháng nguyên là các protein mới được tạo ra trong tế bào nhiễm virus. Protein này khác với ngoại kháng nguyên ở chỗ sau khi bị phân thành các mảnh nhỏ, chúng gắn với phân tử MHC lớp Ia và chuyển đến bề mặt tế

bào. Kháng nguyên gắn vào phân tử MHC lớp Ia kích thích gây ra một đáp ứng miễn dịch của tế bào lympho T gây độc chứ không phải tế bào lympho T hỗ trợ. Những tế bào lympho T gây độc này phá huỷ tế bào nhiễm virus. Sự khác nhau chủ yếu nằm ở bản chất của những phân tử MHC được sử dụng để trình diện kháng nguyên cho tế bào lympho T.

Chức năng của tế bào lympho T trong đáp ứng miễn dịch tế bào là nhận dạng và phá huỷ tế bào không bình thường hoặc protein lạ, điển hình như tế bào nhiễm virus. Virus tiếp quản chương trình tổng hợp protein của tế bào và sử dụng chương trình này để sản xuất protein mới cho chúng. Để khống chế nhiễm virus, tế bào lympho T gây độc phải đáp ứng với protein của virus biểu thị trên bề mặt của tế bào bị nhiễm. Sự đáp ứng này chỉ được thực hiện khi protein của virus được xử lý và mảnh nhỏ của chúng gắn với rãnh của phân tử MHC Ia. Tế bào lympho T gây độc nhận ra phức hợp protein với phân tử MHC lớp Ia này và chỉ khi đó tế bào lympho T gây độc mới phá huỷ tế bào đích bị nhiễm virus.

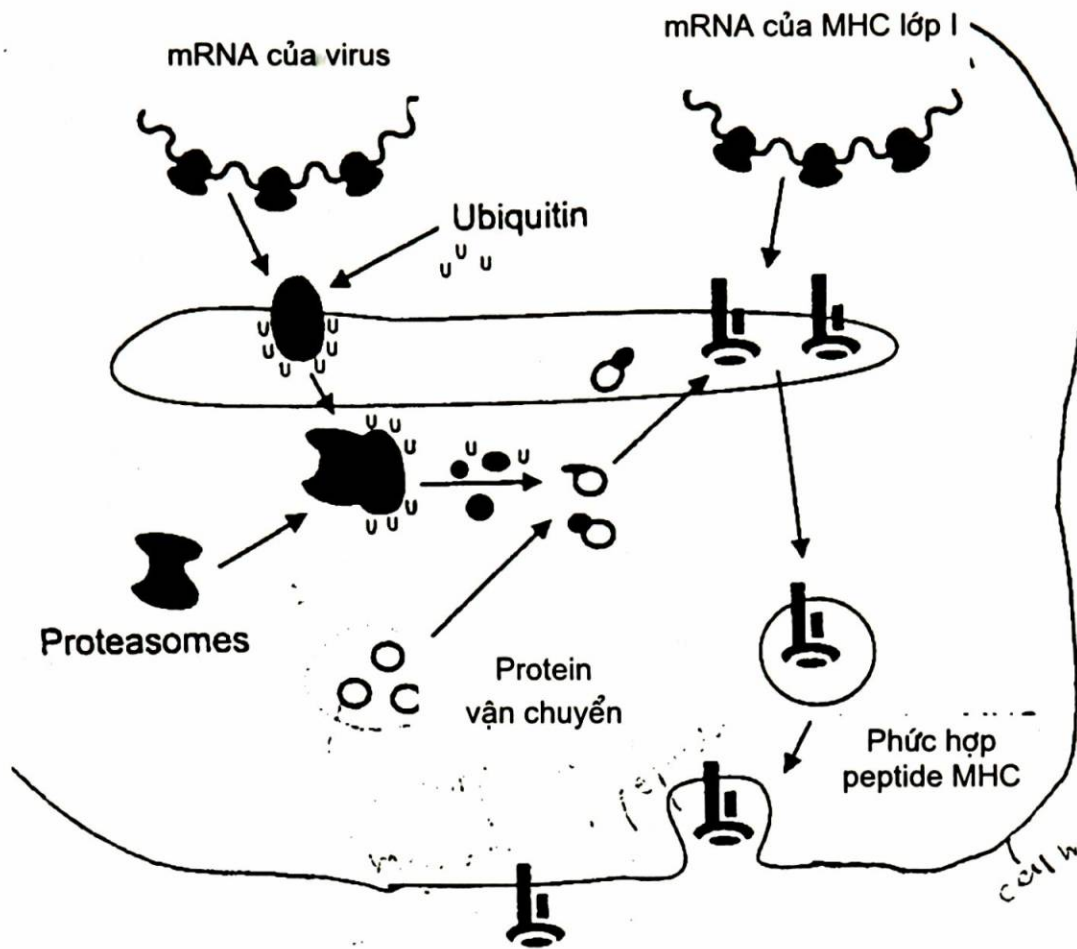
Chính mối liên kết của phân tử MHC Ia với kháng nguyên virus cho phép kiểm soát lượng kháng nguyên có thể được trình diện với tế bào lympho T và như vậy hạn chế sự bão hoà của receptor do tiếp xúc quá mức với protein virus. Chuỗi α của lớp Ia gấp lại tạo ra một rãnh lớn trên bề mặt ngoài cùng. Tuy nhiên rãnh này khác với rãnh ở trên phân tử của lớp II ở chỗ nó được đóng lại ở mỗi đầu bằng những túi sâu và do vậy peptide được gắn vào không thể nhô ra ở đầu của rãnh. Do rãnh này khép lại ở mỗi đầu, phân tử MHC lớp Ia chỉ có thể gắn với peptide chứa khoảng 8-10 amino acid. Tuy nhiên rãnh trên các phân tử lớp Ia và lớp II có chức năng tương tự nhau.

Phân tử MHC lớp Ia gắn với peptide thu được từ nguồn bên trong tế bào. Việc xử lý những peptide này rất khác với các peptide liên kết với phân tử lớp II.

Tế bào tiếp tục phân giải và chế biến lại protein. Vì vậy protein thường bị loại bỏ. Các peptide điều chỉnh không được tích lũy lại và các amino acid có thể được sử dụng cho những mục đích khác. Bước thứ nhất, phân tử protein giáng hoá liên kết với ubiquitin (hình 4.12), một protein nhỏ ổn định.

Thường thường một chuỗi của một số phân tử ubiquitin được bổ sung cho protein đích giống như các hạt trên chuỗi hạt. Một khi liên kết với ubiquitin, protein được đánh dấu để phá huỷ chuỗi ubiquitin này gắn với một phức hợp lớn phân giải protein gọi là proteasome. Proteasome là những phân tử hình ống có chứa khoảng 30 đơn vị nhỏ có 3-4 peptidase (ít nhất một số trong các đơn vị nhỏ này [LMP2 và LMP7] được mã hoá bởi gene nằm trong khu vực lớp II).

Protease đầu tiên mở chuỗi peptide đích, giải phóng ubiquitin để sử dụng lại và chuyển chuỗi peptide vào trung tâm của phân tử protein đó. Tại đây phân tử protein bị cắt thành những mảnh nhỏ và điều đó có nghĩa proteasome đã đồng thời sản xuất nhiều peptide nhỏ từ một phân tử protein.



Phần tử MHC lớp I cùng với các peptide gắn vào

Hình 4.12. Xử lý nội kháng nguyên

Khi một protein bị giáng hóa, peptide tránh sự phân giải tiếp theo bằng cách gắn với protein vận chuyển. Gene điều khiển protein vận chuyển này nằm kế gene điều khiển các đơn vị nhỏ của proteasome được mã hóa trên MHC lớp II. Hai protein vận chuyển đã được xác định là TAP1 và TAP2 (TAP: Transporter for Antigen processing). Những protein này tạo nên một chuỗi đôi gồm hai protein khác nhau, mang các mảnh nhỏ kháng nguyên từ trong bào tương đi qua lưới nội bào để vào trong khoang, nơi có phần tử MHC lớp Ia khu trú. Sau đó một peptide được đặt vào trong rãnh của mỗi phần tử MHC và gắn ở đó với ái lực cao. Người ta cho rằng phần tử MHC lớp Ia được lắp ráp xung quanh những peptide này. Tiếp theo đó phần tử MHC lớp Ia mang peptide đó đến bề mặt tế bào để nhận dạng. Khi phức hợp MHC lớp Ia - peptide đến bề mặt tế bào, peptide kết hợp được biểu hiện trong nhiều giờ. Tính đa hình của protein vận chuyển đã quyết định peptide nào được lắp vào phần tử MHC lớp Ia. Như vậy, phần tử vận chuyển cũng có thể xác định peptide nào sẽ kích thích một đáp ứng miễn dịch và peptide nào không.

6.4. Phản ứng chéo

Thường là hai con đường xử lý kháng nguyên hoàn toàn tách biệt: Ngoại lai và nội sinh. Tuy nhiên, trong một số điều kiện thì một số ngoại kháng nguyên lại có thể đi vào trong bào tương rồi theo con đường nội kháng nguyên để rồi có thể được trình diện trên phần tử MHC lớp I. Các protein sốc nhiệt (heat shock protein - HSP) là những phần tử

liên kết với protein trong bào tương. Trong đại thực bào, protein sốc nhiệt có thể đưa kháng nguyên virus vào bên trong tế bào và chuyển nó theo con đường chế biến nội kháng nguyên. Kháng nguyên này vì vậy gắn với phân tử MHC lớp I và được tế bào lympho T gây độc nhận dạng. Điều này có ý nghĩa quan trọng trong phòng bệnh bằng vaccine virus bởi lẽ kháng nguyên từ virus chết vẫn thể có khả năng gây ra một đáp ứng miễn dịch của tế bào lympho T gây độc.

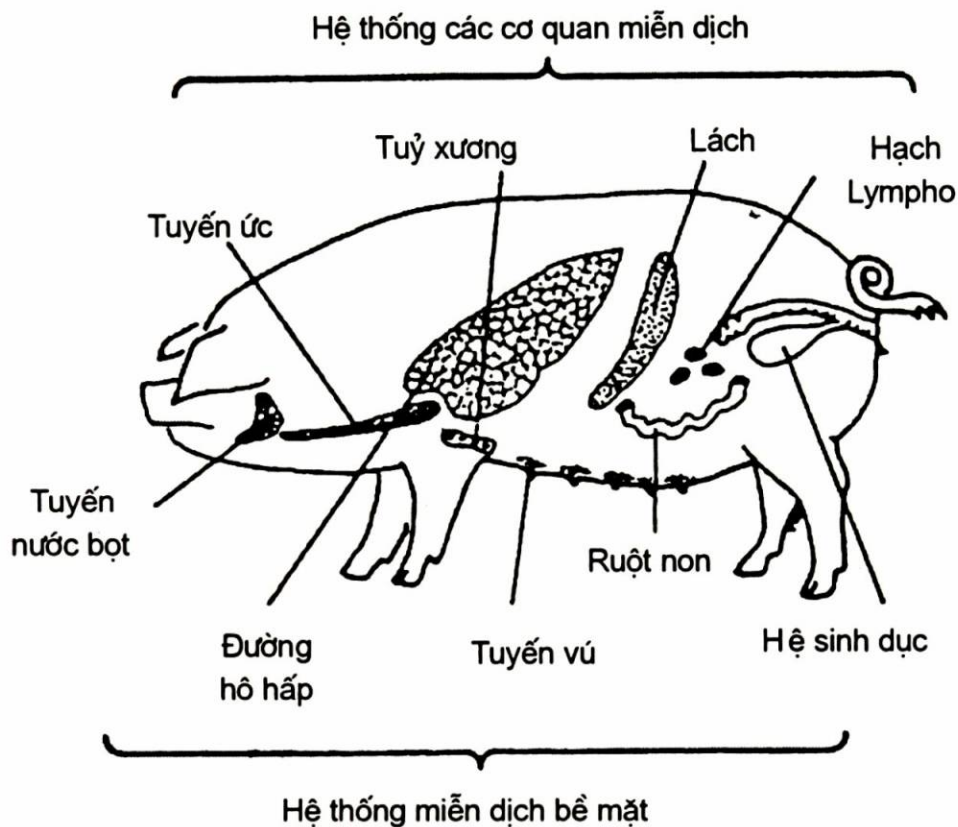
6.5. Các phân tử MHC của lớp Ib

Do thiếu tính đa hình thái, phân tử lớp Ib của MHC chỉ có thể gắn trên phạm vi hạn chế với peptide hoặc phân tử nhỏ khác. Tuy nhiên chúng có tác dụng là receptor đặc hiệu cho kháng nguyên vi sinh vật thường gặp. Thí dụ như M3 là một phân tử lớp Ib của chuột gắn đặc hiệu với amin ở tận cùng của N- formylmethionine trên peptide có nguồn gốc bên ngoài. Cấu trúc này thường gặp ở vi khuẩn. M3 cũng có thể trình diện một peptide của vi khuẩn *Lysteria monocytogenes* cho tế bào lympho T gây độc. CD1b, một phân tử giống như lớp Ib có thể trình diện kháng nguyên của *Mycobacterium* cho một số tế bào lympho T gây độc.

Chương 5

CÁC CƠ QUAN VÀ TẾ BÀO CỦA HỆ THỐNG MIỄN DỊCH

Mặc dù kháng nguyên được đại thực bào, tế bào lympho T và tế bào đuôi gai giữ lại và xử lý nhưng đáp ứng miễn dịch chỉ thực sự tăng lên nhờ tế bào lympho. Đó là những tế bào nhỏ, tròn, chiếm ưu thế trong những cơ quan như lách, hạch lympho và tuyến ức (hình 5.1.a).



Hình 5.1.a. Các tổ chức lympho chủ yếu ở động vật

Tế bào lympho có receptor cho kháng nguyên đặc hiệu vì vậy có thể nhận diện và đáp ứng với kháng nguyên được trình diện. Tế bào lympho có chức năng sản xuất kháng thể và phá huỷ tế bào không bình thường. Những đáp ứng này xảy ra trong cơ quan lympho, nơi có một môi trường đảm bảo cho tương tác có hiệu quả giữa tế bào lympho, tế bào trình diện kháng nguyên và kháng nguyên lạ.

Đồng thời chính đáp ứng miễn dịch cũng cần được điều chỉnh. Tế bào lympho cần được chọn lọc để chúng chỉ có thể phản ứng với kháng nguyên lạ mà không phản ứng với kháng nguyên của bản thân. Cũng tương tự như vậy, đáp ứng của mỗi một tế bào lympho cũng phải được điều chỉnh để đáp ứng đủ nhưng không quá mức đối với sự cần

thiết của cơ thể. Vì vậy có thể phân loại các cơ quan lympho dựa trên vai trò của chúng trong việc sản xuất tế bào lympho, trong việc điều chỉnh sản xuất tế bào lympho và trong việc cung cấp một môi trường thích hợp cho sự tương tác giữa kháng nguyên đã được xử lý với tế bào miễn cảm kháng nguyên.

1. NGUỒN CÁC TẾ BÀO LYMPHO

Ở bào thai tuổi còn non, tế bào nguồn lympho được sản xuất đầu tiên trong màng ối sơ cấp, gan và túi noãn hoàng. Trong những tháng sau của bào thai và động vật trưởng thành, tuỷ xương là nguồn chủ yếu cung cấp tế bào lympho. Tuỷ xương có nhiều chức năng ở động vật có vú trưởng thành. Với tất cả động vật có vú thì đây là cơ quan tạo máu, sản sinh tế bào máu kể cả tế bào lympho. Ở động vật linh trưởng và có thể ở nhiều loài khác, trừ loài nhai lại và lợn, tuỷ xương là cơ quan lympho sơ cấp. Tại đây, tế bào lympho trưởng thành. Cũng giống như lách, gan và hạch lâm ba, tuỷ xương có chứa nhiều đại thực bào và như vậy có thể loại bỏ phần tử lạ ra khỏi máu. Nó cũng là nơi chủ yếu tạo kháng thể. Do có nhiều chức năng, tuỷ xương được chia làm hai phần chủ yếu, phần tạo máu và phần mạch quản.

Phần tạo máu có chứa tiền tế bào của tất cả các tế bào máu, đại thực bào cũng như tế bào lympho với các mạch quản bao quanh. Tế bào mạch quản ở động vật nhiều tuổi hơn thường chứa đầy mỡ và có màu vàng.

Phần mạch quản với nhiều xoang chứa máu có tế bào nội mô đan chéo với các tế bào lưới và đại thực bào.

1.1. Các cơ quan lympho trung tâm

Đây là cơ quan điều chỉnh sự sản xuất và biệt hoá tế bào lympho. Tế bào lympho trưởng thành được phân ra hai quần thể: tế bào lympho T và tế bào lympho B phụ thuộc vào việc chúng trưởng thành ở cơ quan lympho trung tâm nào.

Tế bào lympho T trưởng thành trong tuyến ức (tuyến ức có cả ở chim và động vật có vú). Tế bào lympho B trưởng thành trong một số cơ quan khác, bao gồm túi fabricius ở chim, tuỷ xương ở loài linh trưởng và gặm nhấm, một số mảng peyer ở loài nhai lại và lợn. Tất cả những cơ quan này đã hình thành từ thời kỳ bào thai. Khi động vật trưởng thành, tế bào cuống lympho trong các mạch nối, trong gan bào thai và có thể cả trong tuỷ xương di chuyển đến cơ quan lympho trung tâm.

1.1.1. Tuyến ức (*Thymus*)

Tuyến ức nằm ở trung thất trước. Ở ngựa, trâu, bò, cừu, lợn và gà, tuyến ức kéo dài đến vùng cổ gần tuyến giáp trạng. Kích thước của tuyến này rất thay đổi; tương đối lớn ở gia súc sơ sinh và lớn nhất ở tuổi thành thục; sau tuổi thành thục tuyến teo lại và miền vỏ được thay thế bằng tổ chức mỡ nhưng dấu vết vẫn còn lại ở động vật già.

1.1.1.1. Cấu tạo của tuyến ức

Tuyến ức gồm nhiều thùy trong đó có thừa thớt các tế bào biểu mô; mỗi thùy được bao phủ bởi một bao bằng tổ chức liên kết; phần ngoài của mỗi thùy (phần vỏ) có chứa

dày đặc các tế bào lympho nhưng trong miền tuỷ chứa ít tế bào lympho hơn và một số tế bào biểu mô. Trong miền tuỷ có những thể hình tròn gọi là thể Hassall; thể này có chứa keratin, đôi khi có các mạch quản nhỏ ở trung tâm. Ở trâu bò, chúng có thể chứa nồng độ cao IgA. Mao quản nuôi dưỡng cho miền vỏ của tuyến ức được bao quanh bởi một màng đáy dày và một lớp liên tục các tế bào biểu mô. Hàng rào chắn này ngăn không cho kháng nguyên trong tuần hoàn máu xâm nhập vào miền vỏ tuyến ức.

1.1.1.2. Chức năng của tuyến ức

Cắt tuyến ức ở động vật mới sinh

Chuột bị cắt tuyến ức trong ngày đầu sinh ra sẽ mất khả năng đề kháng với tác nhân gây bệnh và không có khả năng lớn lên; số lượng tế bào lympho trong máu bị giảm mạnh và không có khả năng đáp ứng trong một số loại miễn dịch, thí dụ như chúng không thể thải bỏ được mảnh ghép lạ vì mất toàn bộ khả năng đối với đáp ứng miễn dịch tế bào. Tác dụng của việc cắt tuyến ức ở động vật sơ sinh đối với việc sản xuất kháng thể là rất khác nhau. Đáp ứng kháng thể với một số kháng nguyên albumin trong huyết thanh bò, với hồng cầu cừu bị ức chế rõ rệt, nhưng đáp ứng với polysaccharide của *Staphylococcus pneumoniae* không bị ảnh hưởng. Do vậy polysaccharide của *Staphylococcus pneumoniae* được phân loại là kháng nguyên không phụ thuộc tuyến ức, để phân biệt với kháng nguyên phụ thuộc tuyến ức như hồng cầu cừu hoặc albumin huyết thanh bò. Cắt tuyến ức ở gia súc sơ sinh (có tuyến ức trưởng thành sớm và có thể thực hiện được những chức năng quan trọng trước khi sinh ra) không dẫn đến ảnh hưởng nghiêm trọng như ở chuột phòng thí nghiệm.

Cắt tuyến ức ở động vật trưởng thành

Loại bỏ tuyến ức ở động vật trưởng thành không gây ra ảnh hưởng rõ rệt ngay. Tuy nhiên vài tháng sau cắt tuyến ức ở động vật, kiểm tra lại thấy số lượng và khả năng gây đáp ứng miễn dịch tế bào của tế bào lympho trong tuần hoàn máu giảm xuống; điều đó chứng tỏ tuyến ức vẫn hoạt động ở động vật trưởng thành, tuy nhiên nguồn tế bào nguồn gốc tuyến ức có đời sống dài đã bị kiệt và do đó sau một thời gian triệu chứng của việc bị cắt bỏ tuyến ức được thể hiện rõ ràng.

Kết quả cắt bỏ tuyến ức cho thấy tuyến ức ở động vật sơ sinh là nguồn cung cấp nhiều tế bào lympho cho máu và những tế bào lympho này có tác dụng gây ra đáp ứng miễn dịch tế bào, chúng được gọi là tế bào lympho T. Tiền tế bào lympho T có nguồn gốc thực sự trong tuỷ xương nhưng chuyển nhanh vào tuyến ức. Tại tuyến ức chúng được gọi là thymocyte và phân chia rất nhanh chóng. Phần lớn tế bào mới sản sinh bị chết, chỉ có những tế bào sống sót (khoảng 5% tổng số ở chuột và khoảng 25% ở bê) vẫn ở lại tuyến ức 4-5 ngày trước khi rời khỏi nơi này và tạo thành các quần thể trong cơ quan lympho thứ cấp.

Tế bào lympho T từ tuyến ức được giải phóng vào tuần hoàn máu phải có khả năng tham gia vào đáp ứng miễn dịch chống lại thành phần lạ với cơ thể. Điều này được thực hiện bằng chọn lọc tế bào kháng định và phủ định. Như vậy tuyến ức phá huỷ một cách

chọn lọc những thymocyte đáp ứng với kháng nguyên bản thân đồng thời kích thích sự tăng sinh thymocyte có khả năng đáp ứng với kháng nguyên lạ. Sự loại bỏ thymocyte phản ứng đối với kháng nguyên bản thân trong tuyến ức là điển hình về *sự chết tế bào*.

Hormone của tuyến ức

Nếu đem tổ chức của tuyến ức cấy vào chuột sơ sinh đã cắt bỏ tuyến ức, chức năng của tuyến ức được hồi phục một phần. Như vậy tuyến ức có khả năng tiết các hormone và có chức năng là một tuyến nội tiết. Tế bào biểu mô của tuyến ức giải phóng một số hormone polypeptide có thể tham gia phục hồi một phần chức năng của tuyến ức. Chúng bao gồm các phân tử gọi là Thymosin, Thymopoietin, yếu tố thể dịch của tuyến ức. Thymulin là một octapeptide có chứa kẽm do tế bào biểu mô tuyến ức tiết ra, có thể phục hồi một phần chức năng của tế bào T ở động vật cắt bỏ tuyến ức. Kẽm là chất khoáng chủ yếu đối với sự phát triển của tuyến ức và tế bào T. Động vật thiếu kẽm có đáp ứng miễn dịch tế bào kém. Tế bào biểu mô tuyến ức cũng sản xuất interleukin 1 (IL-1).

1.1.2. Da

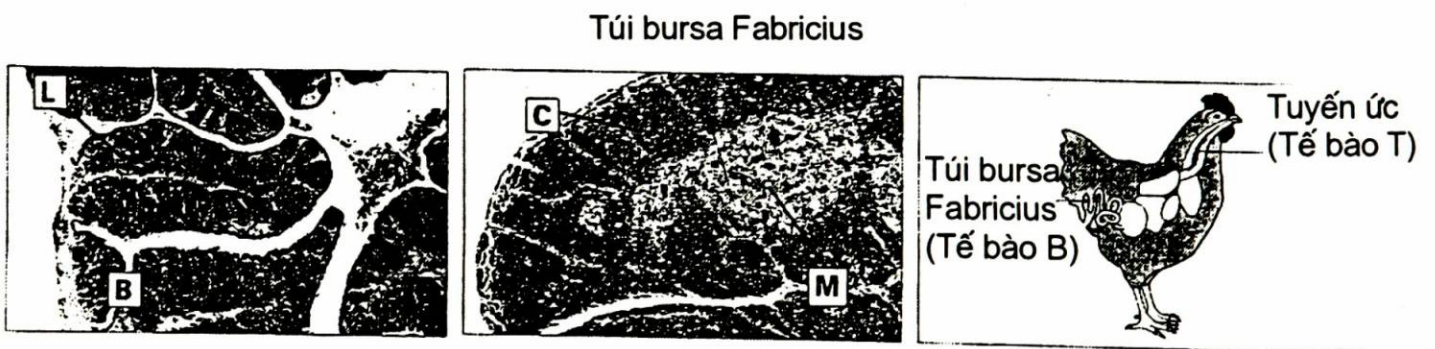
Da có nguồn gốc phôi thai giống như tuyến ức và nó cũng có thể là nơi trưởng thành của tế bào T. Có một số tiểu quần thể tế bào T chỉ có ở da. Những tế bào này tương tác với tế bào sừng và cũng có khả năng trưởng thành trong biểu bì. Tuy nhiên, chúng cũng có tác dụng là một hàng rào chắn bắt giữ kháng nguyên có hiệu quả và các tế bào T này cũng có tác dụng bảo vệ cục bộ.

1.1.3. Túi fabricius

Túi fabricius là một cơ quan chỉ có ở lớp chim. Nó là một túi tròn nằm trên ổ nhóp. Cũng giống như tuyến ức, túi fabricius đạt được kích thước lớn nhất ở gà con 1-2 tuần tuổi và sau đó dần dần thoái biến.

1.1.3.1. Cấu tạo của túi fabricius

Giống như tuyến ức, túi fabricius nằm sâu trong tổ chức biểu mô (hình 5.1b).



Hình 5.1.b. Tuyến ức và túi fabricius-hai cơ quan trung tâm trong hệ thống miễn dịch của chim

L (Các nang lympho), B (Lỗ của túi fabricius), C (phần vỏ), M (phần tuỷ của tuyến ức)

Các tế bào biểu mô này nằm dọc theo một túi rộng được nối với ổ nhóp bằng một ống. Mặt trong túi có nếp gấp những tế bào biểu mô kéo dài vào trong khoang tuyến; các nang lympho nằm rải ở những nếp gấp này, mỗi một nang lympho được chia thành miền

vỏ và miền tuỷ. Miền vỏ có chứa tế bào lympho, tương bào và đại thực bào. Ở phần nối giữa miền vỏ và miền tuỷ có một màng đáy và một màng lưới mạch quản, bên trong màng lưới này là tế bào biểu mô. Tế bào biểu mô trong miền tuỷ được thay thế bằng nguyên bào lympho (lymphoblast) và tế bào lympho ở trung tâm của nang.

1.1.3.2. Chức năng của túi fabricius

Túi fabricius có thể bị loại bỏ bằng phẫu thuật hoặc do nhiễm virus (virus gây nhiễm tuyến fabricius). Tuyến này phát triển khi gà thành thực về tính. Sử dụng testosterone cũng có thể gây teo tuyến. Cắt bỏ tuyến fabricius ở chim dẫn đến việc giảm sản xuất kháng thể và các tương bào sản xuất kháng thể biến mất. Cắt túi fabricius có ảnh hưởng rất ít đến đáp ứng miễn dịch tế bào. Chim bị cắt bỏ túi fabricius sẽ miễn cảm hơn bình thường với bệnh do *Leptospira* và bệnh do *Salmonella* nhưng hiện tượng này không xảy ra đối với những vi khuẩn bị kháng lại bằng miễn dịch tế bào như *Mycobacterium avium*. Các kết quả này cho thấy túi fabricius là cơ quan lympho trung tâm, là nơi trưởng thành và biệt hoá của hệ thống tạo tế bào sinh kháng thể - tế bào lympho B. Tế bào của túi fabricius thực sự cũng giống như tuyến ức ở chỗ những tế bào B của nó tăng trưởng rất nhanh (5% tế bào lympho phân chia trong một giờ). Tuy nhiên, hầu như tất cả tế bào lympho B được sản sinh tại đây đều chết nhanh bằng quá trình chết tế bào. Như vậy, có thể việc tế bào chết phản ánh sự chọn lọc phủ định tế bào B phản ứng với bản thân. Túi fabricius không phải là cơ quan lympho trung tâm đơn thuần, nó có thể bắt giữ kháng nguyên và tổng hợp kháng thể, nó cũng có một tiêu điểm nhỏ của tế bào T ngay ở phía trên nơi mở ra của ống thuộc túi fabricius. Người ta đã chiết xuất được một số hormone từ tuyến fabricius mà quan trọng nhất là bursin - một tripeptide. Bursin hoạt hoá tế bào B nhưng không hoạt hoá tế bào T.

1.1.4. Mảng Payer

Mảng payer trong ruột động vật nhai lại có chức năng là một cơ quan lympho trung tâm. Cừu có hai loại mảng payer. Một loại có ở không tràng còn một loại ở hồi tràng và manh tràng. Mảng payer trong không tràng tồn tại suốt đời của động vật. Mảng payer thuộc hồi manh tràng, ngược lại, đạt được kích thước cực đại và trưởng thành trước khi sinh vào lúc hình thành khả năng bảo vệ để chống lại kháng nguyên từ bên ngoài rồi mất đi khi được 15 tháng tuổi và không còn tìm thấy ở cừu trưởng thành. Hai loại mảng payer này có cấu tạo khác nhau. Mảng payer ở hồi manh tràng bao gồm những tế bào lympho dày đặc, mỗi nang được ngăn cách bởi một vỏ bao liên kết và chỉ chứa tế bào lympho B. Mảng payer của không tràng có các nang lympho hình quả lê được ngăn cách nhau bởi tổ chức liên kết và chứa đến 30% tế bào lympho T. Khi cừu 6 tuần tuổi, các mảng payer ở hồi manh tràng tạo thành một tập hợp tổ chức lympho, chiếm khoảng 1% trọng lượng cơ thể. Chức năng của tế bào thuộc mảng payer của hồi tràng này giống như của tế bào ở túi fabricius. Như vậy nó là nơi tăng sinh của tế bào lympho B nhưng phần lớn chúng trải qua quá trình chết tế bào và chỉ một phần nhỏ được giải phóng vào hệ tuần hoàn. Phẫu thuật cắt bỏ mảng

payer của hồi tràng dẫn đến mất tế bào lympho B trong tuần hoàn và mất khả năng sản sinh kháng thể. Tuỷ xương ở cừu con chứa ít tế bào lympho hơn tuỷ xương ở chuột phòng thí nghiệm và mảng payer hồi manh tràng là nguồn tế bào lympho T quan trọng nhất của loài này. Như vậy, mảng payer hồi manh tràng là cơ quan lympho trung tâm có chức năng tương tự túi fabricius. Lợn cũng có sự khác nhau về chức năng giữa mảng payer của hồi tràng và mảng payer của không tràng. Chúng khác nhau ở sự di trú của tế bào lympho và ở sự thoái hoá sớm của mảng payer hồi tràng so với mảng payer không tràng. Lợn có khoảng 30 mảng payer cấu tạo bình thường và một mảng payer hồi tràng dài không có tế bào lympho T mà có cấu tạo tương tự như ở cừu. Có khả năng mảng payer của hồi tràng lợn đóng vai trò là cơ quan lympho trung tâm.

1.1.5. Tuỷ xương

Tác dụng chuyên hoá của mảng payer hồi manh tràng đã được mô tả ở loài nhai lại và lợn. Với những loài khác, tuỷ xương có thể là cơ quan lympho trung tâm sản xuất tế bào lympho B. Không có vị trí đặc biệt cho sự phát triển của tế bào lympho B trong tuỷ xương, mặc dù người ta cho rằng tiền tế bào lympho B phát triển ở rìa ngoài của tuỷ xương và di chuyển đến trung tâm khi chúng trưởng thành và nhân lên. Chọn lọc phủ định xảy ra tại tuỷ xương vì vậy khoảng 75% tiền tế bào lympho B sản sinh ra bị phá huỷ.

1.2. Cơ quan lympho ngoại vi

Ngược lại với cơ quan lympho trung tâm, cơ quan lympho ngoại vi phát sinh muộn trong thời kỳ bào thai và kéo dài trong suốt đời sống trưởng thành. Chúng đáp ứng với kích thích kháng nguyên và phát triển kém, chỉ có kích thước bình thường ở gia súc không bị nhiễm mầm bệnh. Loại bỏ cơ quan lympho ngoại vi không làm giảm đáng kể khả năng miễn dịch. Cơ quan lympho ngoại vi bao gồm lách, hạch lâm ba và các hạch lâm ba ở ruột, đường hô hấp và sinh dục. Những cơ quan này giàu đại thực bào, tế bào đuôi gai bắt giữ và xử lý kháng nguyên, chứa tế bào lympho B và T có tác dụng điều khiển miễn dịch và vì vậy toàn bộ cấu tạo giải phẫu của chúng cũng thuận lợi cho việc bắt giữ kháng nguyên và tạo cơ hội tối đa để xử lý kháng nguyên rồi trình diện cho tế bào miễn cảm kháng nguyên.

1.2.1. Hạch lympho

1.2.1.1. Cấu tạo hạch lympho

Hạch lympho có hình tròn hoặc hạt đậu, nằm trên đường dẫn của mạch lympho, có thể bắt giữ kháng nguyên được mang đến mạch lympho. Hạch lympho bao gồm một hệ thống màng lưới chứa tế bào lympho, đại thực bào và tế bào đuôi gai, các xoang lympho xuyên qua màng lưới này (hình 5.2).



Hình 5.2. Cấu tạo của hạch lympho

Xoang dưới vỏ nằm ngay dưới vỏ hạch, cấu tạo là tổ chức liên kết. Các xoang khác đi qua thân hạch nhưng thấy rõ nhất là ở miền tuỷ. Mạch lympho hướng tâm đi vào hạch theo chu vi hạch và mạch lympho ly tâm đi ra từ chỗ lõm hay rốn hạch. Mạch quản đi ra đi vào cũng ở rốn hạch. Phần trong của hạch được chia thành miền vỏ ngoài, miền tuỷ và một phần giữa hai miền này gọi là miền cận vỏ. Tế bào lympho B chiếm ưu thế ở miền vỏ, ở đó chúng được sắp xếp thành các nang. Trong những hạch lympho đã được kháng nguyên kích thích, một số tế bào mở rộng để tạo nên cấu tạo đặc biệt gọi là trung tâm mầm. Trung tâm mầm là nơi tế bào lympho B trải qua quá trình đột biến. Trong quá trình này khả năng receptor của kháng nguyên gắn vào kháng nguyên biến đổi một cách ngẫu nhiên. Các tế bào tăng khả năng đáp ứng với kháng nguyên rời khỏi trung tâm mầm tạo thành những quần thể ở cơ quan lympho ngoại vi khác. Tế bào nào giảm khả năng đáp ứng với kháng nguyên sẽ vào quá trình chết tế bào rồi bị đại thực bào loại bỏ. Trung tâm mầm còn là nơi chuyển đổi các lớp globulin miễn dịch và cũng là nơi hình thành các tế bào ghi nhớ. Một số tế bào lympho T có ở miền vỏ và ngay xung quanh mỗi một trung tâm mầm. Tế bào lympho T chiếm ưu thế trong miền cận vỏ. Ở những động vật sơ sinh cắt bỏ tuyến ức và những động vật không có tuyến ức bẩm sinh thì vùng này mất tế bào và vì vậy được xem là vùng phụ thuộc tuyến ức. Tế bào trong miền tuỷ là những lympho B, đại thực bào và tương bào.

1.2.1.2. Sự tuần hoàn của tế bào lympho

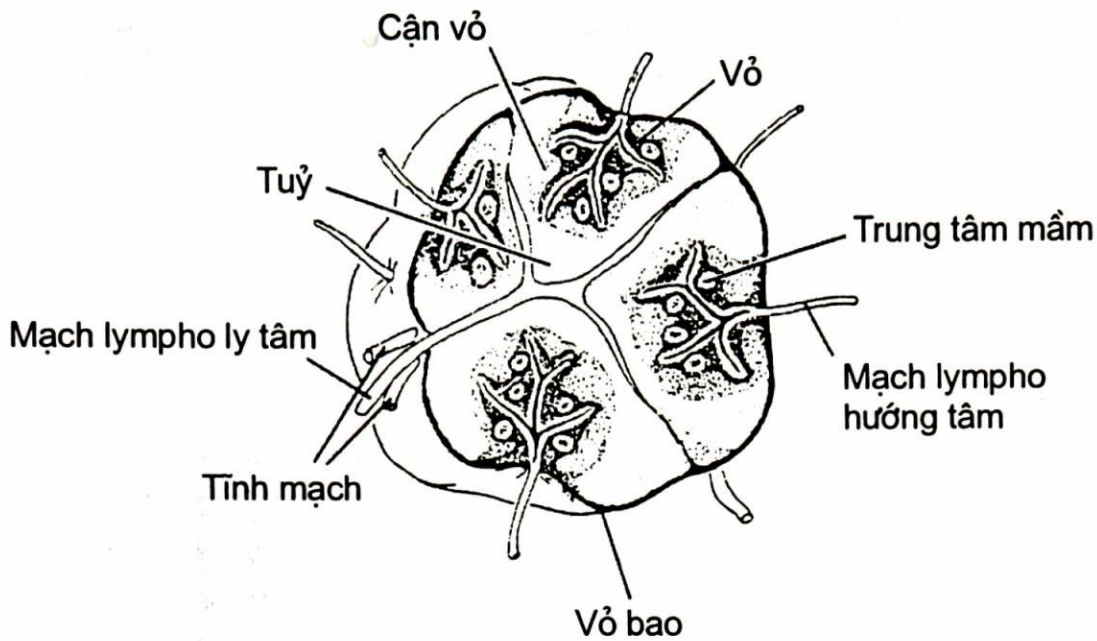
Tế bào lympho di chuyển liên tục giữa các cơ quan lympho và khắp cơ thể. Chúng có thể ở lại một số cơ quan lympho trong nhiều giờ. Khi di chuyển chúng kiểm tra cơ thể về kháng nguyên và cũng là nơi kháng nguyên xâm nhập và gây viêm. Do di chuyển trong máu, chúng có thể xâm nhập vào các cơ quan lympho, sau đó di chuyển qua các tế bào nội mô mạch quản chuyên biệt. Tế bào nội mô này có ở tĩnh mạch nhỏ tất cả các cơ quan lympho ngoại vi trừ lách. Tế bào lympho chiếm ưu thế trong máu là tế bào lympho T. Chúng rời khỏi máu bằng hai con đường. Tế bào T chưa từng gặp kháng nguyên trước

đây gắn vào các tĩnh mạch nhỏ chuyên biệt trong miền cận vỏ của hạch lympho. Tĩnh mạch nhỏ này được gọi là tiểu tĩnh mạch nội mô cao vì chúng có những tế bào nội mô tròn, cao không giống với tế bào nội mô dẹt trong mạch máu khác. Tế bào nội mô cao không được nối bằng những đường nối chặt chẽ nhưng được nối bằng các điểm nối ngắt quãng tạo điều kiện cho sự di chuyển của tế bào lympho giữa những tế bào nội mô cao. Tế bào lympho còn ở trạng thái nguyên vẹn trong tuần hoàn máu sẽ dính với tế bào nội mô cao này và sau đó di chuyển vào hạch. Số lượng và chiều dài của tiểu tĩnh mạch nội mô cao rất thay đổi và do sự hoạt động cục bộ kiểm soát. Như vậy, kháng nguyên kích thích hạch lympho sẽ làm tăng nhanh chiều dài của tĩnh mạch nội mô cao. Tuy nhiên nếu hạch lympho được bảo vệ chống lại kháng nguyên thì tế bào nội mô cao lại có xu hướng mất đi. Không tìm thấy tế bào nội mô cao trong các hạch lympho ở cừu. Ngược lại với những tế bào lympho T trinh khiết còn giữ nguyên trạng thái, tế bào lympho T ghi nhớ rời khỏi dòng máu qua mạch quản trong tổ chức và sau đó được dịch tổ chức đưa đến hạch lympho. 90% tế bào lympho rời khỏi hạch bắt nguồn từ những tế bào đi vào qua tiểu tĩnh mạch nội mô cao, còn khoảng 10% bắt nguồn từ những tế bào đi vào theo đường mạch lympho hướng tâm.

Dòng lympho đi từ tổ chức đến hạch lympho qua mạch lympho hướng tâm và rời khỏi hạch bằng mạch lympho ly tâm. Mạch lympho ly tâm rất giàu tế bào lympho. Những mạch này có thể kết hợp với nhau tạo thành mạch lympho lớn. Mạch lympho lớn nhất là ống ngực, thu nhận các mạch lympho từ phần thấp hơn của cơ thể rồi đổ vào xoang tĩnh mạch trước. Nếu ống ngực được đặt ống thông và dịch bạch huyết bị loại bỏ, số lượng tế bào lympho sẽ giảm nghiêm trọng trong máu (chủ yếu là tế bào lympho T) sau vài giờ. Tế bào lympho T trong vùng cận vỏ cũng mất đi. Sự giảm nhanh tế bào lympho T như vậy cho thấy tế bào lympho của ống ngực bình thường tuần hoàn trở lại hạch lympho qua máu. Lympho B cũng tái tuần hoàn nhưng ở mức độ chậm hơn nhiều so với lympho T. Để đi vào tổ chức lympho qua tĩnh mạch nội mô cao, tế bào lympho trước hết phải gắn với tế bào nội mô nhờ protein kết dính như selectin và integrin. Chất gắn bảo đảm cho tế bào lympho rời khỏi mạch quản ở vị trí phù hợp. Thí dụ L-selectin (CD62L) trên tế bào lympho gắn với các receptor gọi là GlyCAM-1 và CD34 trên tiểu tĩnh mạch trong hạch lâm ba hoặc MAdCAM-1 trong tổ chức lympho ở niêm mạc như mảng Peyer. Sự di chuyển của tế bào lympho qua tiểu tĩnh mạch cao giống với sự di chuyển bạch cầu trung tính trong mạch quản khi viêm. Như vậy các tế bào đầu tiên cuộn lại được hoạt hoá và di chuyển.

1.2.1.3. Sự khác nhau về chủng loại

Lợn nhà và các loại lợn có quan hệ họ hàng (lợn rừng châu Phi và lợn rừng lớn) cũng như voi, hải mã, cá heo có hạch lympho rất khác với những loài khác. Hạch lympho của chúng tập hợp theo hướng để cho miền vỏ của mỗi nang nằm theo hướng trung tâm của hạch và miền tuỷ nằm ở ngoại vi (hình 5.3).



Hình 5.3. Cấu tạo hạch lympho của lợn

Mỗi nang có một mạch lympho hướng tâm đi vào trung tâm của hạch, nghĩa là nó đi sâu vào trong hạch. Nằm bên ngoài vùng vỏ là miền cận vỏ và miền tuỷ. Mạch lympho đi từ miền vỏ ở trung tâm của hạch đến miền tuỷ ở bên ngoài trước khi đi ra thông qua mạch ly tâm làm thoát dịch tại khu vực giữa các nang. Các loài có vú khác có miền vỏ và miền cận vỏ được cấu tạo tương tự. Miền tuỷ có chứa ít xoang nhưng có lưới tế bào dày đặc. Như vậy miền tuỷ là tương đối khó khuếch tán cho những tế bào di chuyển qua đường lympho. Trên thực tế có rất ít tế bào di chuyển qua miền tuỷ vì tế bào lympho T ở những loài này tuần hoàn trong máu rất khác với các loài có vú khác. Tế bào lympho tuần hoàn trong máu đi vào hạch lympho theo cách thông thường nhưng chuyển trở lại máu thông qua tiểu tĩnh mạch nội mô cao của miền cận vỏ, do vậy có rất ít tế bào lympho trong mạch bạch huyết của lợn.

1.2.1.4. Phản ứng của hạch lympho với kháng nguyên

Kháng nguyên lạ nằm trong tổ chức được dịch tổ chức mang đến hạch lympho cục bộ. Số phận của kháng nguyên phụ thuộc vào động vật trước đây đã tiếp xúc với kháng nguyên hay chưa. Hạch lympho có chứa hai hệ thống bắt giữ kháng nguyên riêng biệt. Đại thực bào trong miền tuỷ có thể bắt giữ kháng nguyên khi không có mặt kháng thể, vì vậy chúng tác động tương đối có hiệu quả khi tiếp xúc lần đầu với kháng nguyên. Tế bào đuôi gai trong nang lympho ở miền vỏ hạch cũng có thể bắt giữ kháng nguyên. Chúng tạo thành một màng lưới và kháng nguyên phải đi qua đó khi lọc qua vỏ. Tuy nhiên hiệu quả của màng lưới này phụ thuộc vào sự có mặt của kháng thể cần thiết để cho kháng nguyên kết dính vào tế bào đuôi gai trong quá trình hoạt động. Kháng nguyên đã xử lý được đại thực bào hoặc tế bào đuôi gai trình diện cho tế bào lympho T hoặc B. Khi sự sản xuất kháng thể được kích thích, các thế hệ con cái của tế bào lympho B di chuyển vào miền tuỷ và bắt đầu sản xuất kháng thể. Một số tế bào sản xuất kháng thể này được giải phóng vào trong mạch lympho ly tâm. Ít ngày sau khi xuất hiện kháng thể lần đầu trong miền tuỷ thì xuất hiện các trung tâm mầm trong miền vỏ. Những tế bào phân chia

thường có kích thước tương đối lớn, bắt màu nhạt và dồn tế bào lympho xung quanh vào một lớp vỏ bọc quanh trung tâm mầm. Kháng nguyên nào không kích thích sản xuất kháng thể thì không làm hình thành trung tâm mầm.

Gắn vào tế bào đuôi gai hình túi là những phương tiện bắt giữ kháng nguyên, nhất là khi động vật đã miễn cảm đối với kháng nguyên trước đó chúng từng tiếp xúc. Trong đáp ứng lần sau, trung tâm mầm không rõ như lần đầu là được tạo ra do những tế bào ghi nhớ được hoạt hoá chuyển từ miền vỏ vào miền tuỷ và đi ra theo mạch bạch huyết ly tâm. Đến khi tình trạng này kết thúc, trung tâm mầm lại phát triển trở lại. Khi đáp ứng với kháng nguyên kích thích miễn dịch tế bào chứ không phải miễn dịch dịch thể (ví dụ như ghép da) thì vùng cận vỏ giàu tế bào lympho T phản ứng bằng cách sản xuất những tế bào lớn ưa pyronin. Pyronin là chất nhuộm RNA. Tế bào có bào tương ái pyronin giàu ribosom và có thể là tế bào sản xuất protein. Tế bào lớn ái protein này làm tăng thêm nhiều tế bào lympho tham gia vào đáp ứng miễn dịch tế bào.

1.2.2. Hạch máu

Hạch máu có cấu tạo tương tự hạch lympho gắn liền với mạch máu của gia súc nhai lại và những loài có vú khác. Chức năng chính xác của nó chưa rõ. Tuy nhiên sự phân bố tế bào lympho ở chúng rất giống với sự phân bố ở hạch lympho thông thường. Như vậy chúng có miền vỏ chứa trung tâm mầm và tế bào lympho T. Tế bào lympho T chiếm ưu thế ở trung tâm gắn liền với các xoang bạch huyết. Tuy nhiên có sự khác nhau về đặc điểm của những tế bào lympho T này (có nhiều tế bào lympho T γ/δ + WCI + hơn và ít tế bào lympho T CD8+ hơn) so với hạch lympho thông thường. Như vậy hạch máu có thể có một vai trò riêng nào đấy trong hệ thống miễn dịch.

1.2.3. Lách

Hạch lympho lọc kháng nguyên từ mạch bạch huyết còn lách lọc kháng nguyên từ máu và quá trình lọc này loại bỏ cả kháng nguyên và hồng cầu già. Ngoài ra lách còn có chức năng dự trữ hồng cầu, huyết tiểu cầu và đảm nhiệm chức năng sản xuất hồng cầu ở bào thai. Vì vậy lách được chia làm hai phần, một phần có chức năng dự trữ hồng cầu, bắt giữ kháng nguyên gọi là tuỷ đỏ và phần khác rất giàu tế bào lympho, nơi đáp ứng miễn dịch xảy ra gọi là tuỷ trắng.

1.2.3.1. Cấu tạo của tuỷ trắng

Mạch quản đi qua bó cơ rồi mới vào các vùng chức năng của lách. Ngay khi rời khỏi bó cơ, mỗi động mạch được vây quanh bởi một vỏ bao bằng tổ chức lympho gọi là vỏ bao lympho quanh động mạch và phân nhánh thành các động mạch nhánh có chứa vách dày tạo thành một cấu trúc elip. Vỏ bao lympho quanh động mạch này chứa phần lớn tế bào lympho T và vì vậy những tế bào này bị cạn kiệt sau khi cắt bỏ tuyến ức ở động vật sơ sinh. Rải rác trong vỏ bao này là những nang lympho sơ cấp bao gồm chủ yếu là tế bào lympho B. Khi bị kháng nguyên kích thích thì những nang này phát triển các trung tâm mầm. Mỗi nang được bao quanh bởi một vỏ do lớp tế bào lympho

T tạo thành. Tuỷ trắng được ngăn cách với tuỷ đỏ bằng một xoang viên, một bao lưới và vùng rìa có tế bào.

1.2.3.2. Đáp ứng của lách đối với kháng nguyên

Đưa kháng nguyên vào bằng đường tĩnh mạch, kháng nguyên bị bắt giữ một phần trong lách, tại đó chúng bị đại thực bào trong vùng rìa và xoang tuỷ đỏ bắt giữ. Đại thực bào này mang kháng nguyên đến các nang lympho sơ cấp trong tuỷ trắng và từ đó, sau vài ngày, những tế bào sản xuất kháng thể di chuyển đến tạo thành các quần thể ở vùng rìa và tuỷ đỏ. Chính tại vùng này đã có sự sản xuất kháng thể đầu tiên. Trung tâm mầm cũng hình thành trong những nang lympho sơ cấp. Ở một động vật, việc bắt giữ kháng nguyên trong máu do tế bào đuôi gai (có trong lách) đóng vai trò quan trọng. Trong đáp ứng miễn dịch lần đầu, tế bào sản sinh kháng thể di chuyển từ các nang tại lách đến tuỷ đỏ và vùng rìa rồi sản xuất kháng thể tại đây.

1.2.3.3. Việc giữ lại các tế bào lympho

Khi kháng nguyên đi vào lách hoặc hạch lympho thì tế bào lympho được giữ lại. Đó là những tế bào lympho bình thường chuyển tự do qua các cơ quan này và bây giờ bị giữ lại, không di chuyển được. Cơ chế của quá trình này chưa rõ nhưng có thể là do sự tương tác giữa kháng nguyên và đại thực bào làm giải phóng một yếu tố ảnh hưởng đến sự di chuyển của tế bào lympho. Việc bắt giữ tập trung vào tế bào lympho gần vị trí tích lũy kháng nguyên và do đó đã làm tăng hiệu quả của đáp ứng miễn dịch. Một số chất hỗ trợ cũng phát huy tác dụng bằng cách tăng cường cho quá trình bắt giữ này. Sau 24 giờ hạch lympho giải phóng những tế bào bị bắt giữ ấy và làm tăng hiệu suất tế bào trong khoảng 7 ngày.

1.2.4. Các tổ chức lympho thứ cấp khác

Nơi sản xuất kháng thể không chỉ bao gồm lách và hạch lympho mà còn có tuỷ xương và tổ chức lympho rải rác khắp cơ thể, đặc biệt là trong đường tiêu hoá, hô hấp, sinh dục.

Mặc dù ở rải rác và rất khó xác định nhưng tuỷ xương cũng là tổ chức lympho ngoại vi lớn nhất của cơ thể. Nếu kháng nguyên được đưa vào qua đường tĩnh mạch thì phần lớn chúng bị bắt giữ không chỉ ở gan và lách mà còn cả ở tuỷ xương. Tuy nhiên, trong suốt thời gian đáp ứng miễn dịch lần đầu, kháng thể phần lớn được sản xuất trong lách và hạch lympho. Đến cuối thời gian đáp ứng miễn dịch thì các tế bào ghi nhớ rời khỏi lách và vào tuỷ xương. Khi liều kháng nguyên thứ hai được đưa vào, tuỷ xương sản xuất một lượng lớn kháng thể và là nguồn chủ yếu IgG ở chuột trưởng thành. Có đến 70% kháng thể với một số kháng nguyên là được sản xuất từ tuỷ xương.

2. CÁC TẾ BÀO LYMPHO

Tế bào lympho là những tế bào có chức năng nhận dạng kháng nguyên lạ và gây ra đáp ứng miễn dịch. Có nhiều dạng đáp ứng miễn dịch khác nhau, thí dụ: đáp ứng do kháng thể, đáp ứng miễn dịch tế bào, đáp ứng ghi nhớ, vì vậy có nhiều loại tế bào

lympho khác nhau. Có nhiều quần thể và tiểu quần thể tế bào lympho khác nhau, mỗi loại có chức năng và đặc điểm riêng.

2.1. Cấu tạo của tế bào lympho

Tế bào lympho là những tế bào tròn nhỏ được tìm thấy trong máu và các cơ quan lympho như tuyến ức, lách và hạch lympho. Chúng có đường kính từ 7 đến 15 μ m. Mỗi tế bào lympho có chứa nhân lớn, tròn bắt màu mạnh với thuốc nhuộm hematoxylin; bào tương của chúng có rìa mỏng chứa một số ty lạp thể (mitochondria), ribosom và một bộ máy golgi nhỏ. Quan sát bằng kính hiển vi điện tử thấy bề mặt của một số tế bào lympho trơn nhẵn trong khi một số khác có những phần nhô ra. Cấu tạo không phản ánh được vai trò phức tạp của chúng trong cơ thể. Ở một vài loài có những tế bào lympho tương đối lớn, chứa các hạt bào tương - đó là những quần thể tế bào phụ riêng gọi là tế bào diệt tự nhiên (NK- natural killer).

2.2. Các quần thể tế bào lympho

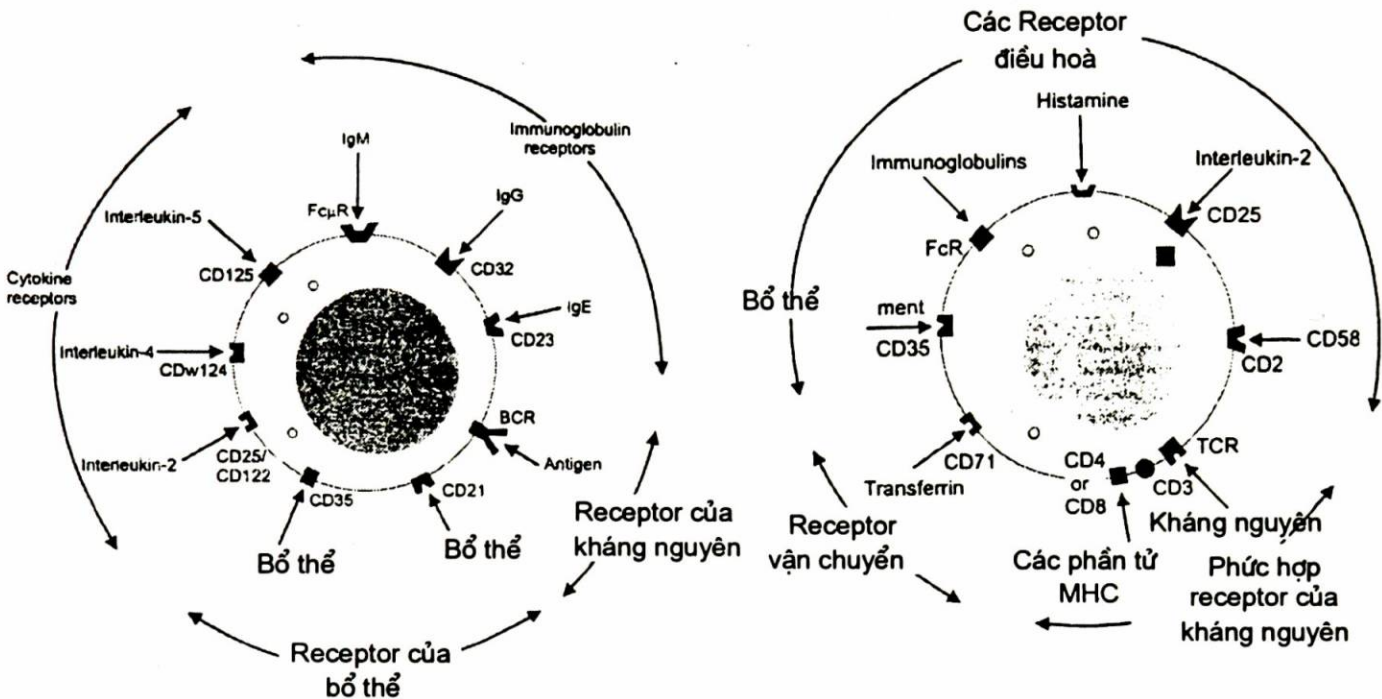
Tế bào lympho nằm rải rác khắp cơ thể. Phần lớn có mặt trong hạch lympho, tuỷ xương và trong lách. Mặc dù có bề ngoài đồng nhất nhưng thực chất chúng là một phức hợp quần thể đa dạng trong đó mỗi loại có chức năng và đặc tính riêng. Không thể nhận dạng chúng dựa vào cấu tạo nhưng có thể nhận ra chúng dựa vào protein trên bề mặt tế bào. Bằng cách phân tích sự biểu thị và chức năng của các protein trên bề mặt có thể thấy những quần thể này rất khác nhau về vị trí, cách phát triển và khác nhau về vai trò trong đáp ứng miễn dịch.

Những nghiên cứu trên động vật cắt bỏ tuyến ức cho thấy cắt tuyến ức ở động vật sơ sinh làm mất một số lớn tế bào lympho. Các tế bào lympho này được gọi là tế bào lympho T. Sau khi rời khỏi tuyến ức lympho T được tích lũy trong vùng cận vỏ của hạch lympho, trong vỏ bao lympho quanh động mạch của lách, trong những khu vực giữa các nang của mảng payer. Ở động vật sơ sinh đã cắt bỏ tuyến ức, tất cả các khu vực này bị mất tế bào lympho T. Từ nghiên cứu này cho thấy tế bào lympho T là thành phần chiếm ưu thế trong tuần hoàn máu (chiếm khoảng 80% tế bào lympho trong máu ngoại vi). Phần lớn trong số đó tuần hoàn liên tục qua các cơ quan lympho và máu. Thí nghiệm tương tự cắt bỏ túi fabricius ở gà cho thấy có tồn tại một quần thể lympho thứ cấp gọi là tế bào lympho B. Tế bào lympho B có nguồn gốc từ tuỷ xương nhưng trưởng thành trong mảng payer hoặc tuỷ xương trước khi chuyển đến cơ quan lympho ngoại vi. Chúng có trong miễn dịch của hạch lympho, trong các nang lympho, trong mảng payer và lách, trong vùng rìa ở tuỷ trắng của lách. Chỉ một phần nhỏ tế bào lympho trong máu là tế bào lympho B. Tuy nhiên, phần lớn tế bào lympho B tái tuần hoàn trong một thời gian dài. Một số tế bào lympho trong máu không thể hiện là tế bào B hoặc T. Chúng là những tế bào thuộc quần thể thứ ba và được gọi là tế bào diệt tự nhiên (NK). Trong nhiều loài có vú, tế bào diệt tự nhiên là những tế bào lympho chứa nhiều hạt lớn có bào tương mở rộng và các hạt bào tương. Tế bào diệt tự nhiên có thể cũng có nguồn gốc từ tế bào nguồn như

tế bào lympho T nhưng không trải qua quá trình biệt hoá ở tuyến ức. Chúng có số lượng ít trong máu nhưng phân bố rộng khắp các cơ.

2.2.1. Các phân tử bề mặt của tế bào lympho

Việc xác định được các protein đặc biệt trên bề mặt của tế bào lympho đã cho phép xác định một cách đầy đủ các tiểu quần thể của tế bào lympho. Tuy nhiên số lượng những phân tử protein này quá nhiều, rất khó đưa ra một hệ thống danh pháp hợp lý. Mỗi phân tử có một tên chung, được quy định là CD (hình 5.4 và 5.5) và hiện tại có 130 CD.



Hình 5.4 và 5.5. Receptor bề mặt của tế bào lympho B (bên trái) và của tế bào lympho T (bên phải), các chất gắn và chức năng của chúng

Các phân tử CD của động vật có hai loại và phần lớn trong số này giống với những CD đã xác định ở những loài khác nhau; tên của các CD ấy cũng giống nhau. Tuy nhiên, có một số phân tử trên bề mặt của một số tế bào lympho của gia súc không giống ở người hoặc chuột. Các phân tử này được đặt tên tóm tắt của loài cùng với đuôi WC, thí dụ BoWC1, BoWC2. Nhìn chung các phân tử CD ở gia súc có chức năng tương tự với chức năng của CD ở người và ở chuột.

2.2.2. Các receptor của kháng nguyên

Cấu trúc bề mặt quan trọng nhất trên tế bào lympho là receptor của kháng nguyên được gọi tắt là TCR (receptor của tế bào lympho T) và BCR (receptor của tế bào lympho B). Cả hai loại đều có cấu tạo phức tạp và có chứa nhiều protein khác nhau. Một số protein được sử dụng để gắn với kháng nguyên; số khác được sử dụng để chuyển tín hiệu. Có hai dạng receptor của tế bào lympho T. Một dạng sử dụng chuỗi α và β (TCR α/β); dạng khác sử dụng chuỗi γ và δ (TCR γ/δ). Có một số dạng receptor của tế bào lympho B sử dụng nhiều chuỗi khác nhau (như γ , μ , α , ϵ , hoặc δ). Receptor của tế bào lympho B khác với receptor của tế bào lympho T vì chúng từ tế bào đổ vào dịch tổ

chức và vào máu, ở đó chúng được gọi là kháng thể. Như vậy kháng thể là những receptor hoà tan đơn giản của tế bào lympho B. CD3 là tên được sử dụng cho phức hợp protein ở receptor của tế bào lympho T có tác dụng truyền tín hiệu. Chúng chuyển tín hiệu từ receptor đến tế bào khi receptor của tế bào lympho T gắn kháng nguyên. Vì vậy CD3 có mặt trên tất cả các tế bào lympho T. Loại protein khác là CD4 chỉ tìm thấy trên tế bào lympho T có chức năng nhận diện kháng nguyên ngoại lai đã được xử lý. Đó là tế bào T hỗ trợ. CD4 là receptor của tế bào lympho T cho các phân tử kháng nguyên phù hợp tổ chức lớp II trên bề mặt của những tế bào trình diện kháng nguyên. Còn CD8 chỉ tìm thấy trên tế bào T gây độc, đó là tế bào lympho T có thể tấn công và giết chết tế bào không bình thường. CD8 là receptor cho phân tử kháng nguyên phù hợp tổ chức lớp I và cần thiết để nhận dạng kháng nguyên nội sinh đã chế biến.

Phần lớn tế bào lympho T của chuột và người chỉ biểu thị CD4 hoặc CD8, hiếm khi biểu thị cả hai. Thí dụ ở người khoảng 65% tế bào lympho T biểu thị CD4 (CD4+), 30% biểu thị CD8 (CD8+) và 5% còn lại của tế bào lympho T không biểu thị cả CD4 và CD8 (CD4- CD8-) nên được xem là âm tính với cả hai loại tế bào. Tỷ lệ CD4+/CD8+ trong máu có thể sử dụng để đánh giá chức năng của tế bào lympho trong lâm sàng. Tăng CD4 cho thấy phản ứng của tế bào lympho tăng do tế bào T hỗ trợ chiếm ưu thế và khi CD8 tăng cho thấy phản ứng của tế bào lympho hỗ trợ giảm. Tỷ lệ giữa CD4 và CD8 khác nhau giữa người và động vật có vú khác. Thí dụ ở loài nhai lại 30% tế bào lympho T có CD4- và CD8- trong khi ở lợn 60% dương tính cả hai (CD4 + CD8+). Một số loài linh trưởng khác, thí dụ khỉ cynomolgus, khoảng 28% tế bào lympho T có CD4+ và 56% có CD8+.

Cũng đã tìm thấy CD45; CD45 đóng một vai trò quan trọng trong kiểm tra truyền tín hiệu do receptor của tế bào lympho T và đã xác định được bốn dạng khác nhau của CD này.

2.2.3. Các phân tử điều khiển chức năng của tế bào lympho

Mỗi protein trên bề mặt tế bào đều có chức năng sinh lý của chúng. Một số là enzyme, một số là protein vận chuyển và phần nhiều là những receptor. Tất cả các tế bào đều sử dụng receptor đặc hiệu để liên lạc với môi trường hoặc với tế bào khác. Chúng cần receptor cho tế bào trình diện kháng nguyên cũng như cho nhiều yếu tố điều chỉnh đáp ứng của tế bào lympho. Những receptor này bao gồm receptor cho cytokin, cho kháng thể và cho các thành phần của bổ thể.

2.2.4. Các receptor của cytokin

Tế bào lympho T có nhiều receptor để cytokin gắn vào. Cytokin rất cần thiết cho việc đáp ứng có hiệu quả với kháng nguyên. Receptor của cytokin bao gồm CD25, một phần của receptor IL-2, CD119, một receptor của interferon và CD120, receptor của TNF.

2.2.5. Các receptor của kháng thể

Tế bào lympho có receptor gắn vào mảnh Fc của các phân tử kháng thể hay FcR. Receptor của Fc đặc hiệu với chuỗi nặng của nhiều kháng thể khác nhau. Như vậy FcγR

gắn vào chuỗi γ của phân tử immunoglobulin G. Có ba Fc γ R khác nhau đã được mô tả, đó là Fc γ R1 (CD64), Fc γ R2 (CD32) và Fc γ R3 (CD16). Receptor cho các lớp kháng thể khác cũng đã được xác định. FcR là glycoprotein có nhiều chuỗi. Một chuỗi thường gắn với kháng thể còn chuỗi khác cần cho truyền tín hiệu. Đôi khi các chuỗi truyền tín hiệu này được receptor khác như TCR sử dụng. CD64 hay Fc γ R1 có trên tế bào đơn nhân, đại thực bào và thấy ít hơn ở bạch cầu trung tính. CD64 gắn IgG với ái lực cao. CD32 hay Fc γ R2 có ái lực vừa phải với IgG và chỉ gắn với phức hợp miễn dịch. CD32 có hai đồng đẳng là B1 và B2. CD32-B1 có trên tế bào lympho B, ở đó nó điều chỉnh chức năng của tế bào. CD32-B2 được tìm thấy trên đại thực bào, có tác dụng tăng cường thực bào và kích thích giải phóng cytokin.

CD16 hay Fc γ R3 gắn vào IgG với ái lực thấp và chỉ gắn vào các phức hợp miễn dịch, được tìm thấy trên bạch cầu hạt, tế bào diệt tự nhiên nhưng không có trên tế bào lympho B. Các dạng CD16 trên bạch cầu hạt và trên tế bào diệt tự nhiên có chức năng khác nhau vì CD16 trên tế bào diệt tự nhiên có thể điều khiển tác dụng gây độc tế bào phụ thuộc kháng thể, còn CD16 trên bạch cầu trung tính không thể gây ra tác dụng này. Tế bào lympho B hoạt hoá (không phải tế bào lympho ở trạng thái nghỉ) mang receptor cho IgM (Fc μ R). Receptor này không thấy có trên tế bào lympho T, bạch cầu đơn nhân hoặc đại thực bào. Gắn vào IgM, nó có thể làm tăng đáp ứng của tế bào lympho với kháng nguyên và tăng cường sự xử lý kháng nguyên.

Fc ϵ RI là receptor của IgE có ái lực cao, được tìm thấy trên tế bào mast. Receptor này đóng vai trò then chốt trong dị ứng. CD23 hay Fc ϵ R2 lại là một receptor của IgE, có trên huyết tiểu cầu, bạch cầu ái toan, đại thực bào, tế bào đuôi gai, tế bào diệt tự nhiên và ngay cả trên tế bào lympho T. Khi được hoạt hoá, tế bào lympho B sẽ giải phóng CD23 hoà tan. CD23 hoà tan này có thể gắn với tế bào B gắn kèm CD23 và cũng làm cho chúng được hoạt hoá. CD23 còn gắn với các tế bào sản xuất IgE và điều chỉnh việc sản xuất IgE.

2.2.6. Các receptor cho bổ thể

Tế bào lympho B có receptor cho bổ thể đã hoạt hoá. Chúng bao gồm CR1 (CD35) gắn với C3b và C4b; CR2 (CD21) gắn vào C3d và C3bi. Tế bào lympho T cũng biểu thị CR1. CD21 có mối liên hệ chặt chẽ với receptor của tế bào lympho B (BCR) và có thể đóng vai trò quan trọng trong kích thích đáp ứng miễn dịch của tế bào lympho B với kháng nguyên bằng cách gắn vào receptor của CD19 trên tế bào T hỗ trợ. Những receptor này đã được xác định ở trâu bò.

2.2.7. Các phân tử kết dính

Phân tử kết dính đóng một vai trò then chốt bảo đảm cho sự tương tác giữa các tế bào có hiệu quả. Như vậy, chúng điều chỉnh tín hiệu giữa các tế bào của hệ thống miễn dịch và kiểm soát sự vận chuyển của tế bào lympho trong tổ chức và giữa các tổ chức. Phân tử kết dính tế bào được tìm thấy trên tế bào lympho bao gồm nhiều thành phần của họ integrin, họ selectin và siêu họ immunoglobulin.

2.2.7.1. Integrin

Tất cả integrin là những chuỗi đôi peptide α/β không đồng nhất. Chuỗi integrin β_1 bao gồm một chuỗi β_1 (CD29) liên kết với các chuỗi α khác nhau gắn với protein được sắp xếp bên ngoài tế bào như fibromectin, laminin và collagen. Tế bào lympho T ở trạng thái nghỉ biểu thị selectin này với mức độ thấp. Hoạt hoá tế bào lympho T sẽ làm tăng sự biểu thị. Gắn chất gắn vào integrin sẽ kích thích hoạt động của tế bào lympho T. Integrin β_2 , CD11a/CD18 biểu thị trên tế bào lympho T. Khi tế bào lympho T tương tác với tế bào trình diện kháng nguyên, CD11a/CD18 của tế bào lympho T liên kết với ICAM-I trên tế bào trình diện kháng nguyên. Mối liên kết này rất quan trọng bảo đảm cho sự nhận diện kháng nguyên đạt hiệu quả. CD11b/CD18 gắn với thành phần bổ thể C3b và CD11c/CD18 gắn với fibrinogen (hình 5.6).

Chuỗi β	Chuỗi α (CD)	Chất gắn
β_2	α_L (CD11a)	ICAM-1, ICAM-2
β_2	α_M (CD11b)	C3b
β_2	α_X (CD11c)	Fibrinogen
β_2	α_d	Chưa biết

Hình 5.6. Họ integrin

2.2.7.2. Selectin

Sự tuần hoàn của tế bào lympho được điều chỉnh nhờ việc gắn các tế bào này với selectin trên vách mạch quản. Tất cả ba loại selectin, P-selectin (CD62P), L-selectin (CD62L), E-selectin (CD62E) điều khiển sự kết dính. P-selectin có trên tế bào nội mô mao quản khi những tế bào này được hoạt hoá trong quá trình viêm. P-selectin gắn với bạch cầu trung tính, tế bào lympho T hoạt hoá và bạch cầu đơn nhân. Chất gắn với P-selectin là CD15s. L-selectin có ở tất cả các loại bạch cầu và điều hành sự gắn của bạch cầu vào tiểu tĩnh mạch nội mô cao trong cơ quan lympho. Chất gắn với L-selectin là các chuỗi phụ carbohydrate của ba glycoprotein, GlyCAM-1, CD34 (hay còn gọi là sialomycin) và MAdCAM-1.

2.2.7.3. Siêu họ immunoglobulin

Cả ba thành phần của họ này là những phân tử kết dính được biểu thị trên tế bào lympho. I-CAM-1(CD34) là chất gắn cho CD11a/CD18 và CD43. Bình thường chất gắn này có trên tế bào đuôi gai và tế bào lympho B. Những cytokin như interferon γ , yếu tố gây huỷ hoại khối u (Tumo necrosis factor - TNF) hoặc IL-1 có tác dụng làm cho nó biểu thị trên những tế bào khác. Như vậy, viêm gây biểu thị CAM-1 trên tế bào nội mô

để tế bào lympho và tế bào đơn nhân kết dính và chuyển vào trong tổ chức viêm. ICAM-1 cũng có tác dụng làm di chuyển tế bào lympho T vào khu vực viêm (phản ứng quá mẫn muộn). I-CAM-2 (CD102) là một protein kết dính gắn vào CD11a/CD18. Không giống như I-CAM-1, I-CAM-2 được biểu thị trên tế bào nội mô không bị kích thích và không tăng lên trong quá trình viêm. I-CAM-3 lại có mặt trên những tế bào lympho ở trạng thái nghỉ, bạch cầu đơn nhân, bạch cầu trung tính và chất gắn của nó cũng là CD11a/CD18.

Các phân tử kết dính khác thuộc siêu họ immunoglobulin là những phân tử kết dính của tế bào mạch quản (VCAM-1) hay CD106. VCAM-1 do chất điều hành viêm như IL-1 và TNF- α trên tế bào nội mô mạch quản tạo ra. Chất gắn của nó là integrin CD49d/CD29 (VLA-4). CD106 đóng vai trò quan trọng trong quá trình viêm bằng cách điều khiển sự kết dính của tế bào lympho và bạch cầu đơn nhân vào vách mạch quản. CD58 và CD2 cũng đã được tìm thấy. CD58 (cũng còn gọi là LFA-2) là chất gắn cho CD2. CD2 chỉ thấy có trên tế bào lympho T (biểu thị trên tế bào hoạt hoá nhiều hơn tế bào ở trạng thái nghỉ) trong khi CD58 được phân bố rộng trên nhiều loại tế bào cho thấy CD58 tạo điều kiện dễ dàng cho tế bào lympho T gắn vào bất kỳ tế bào đích nào chịu sự kiểm soát của nó. CD58 được tìm thấy trên tế bào trình diện kháng nguyên (như đại thực bào), sự liên kết của nó với CD2 làm tăng sự nhận diện kháng nguyên của tế bào lympho T đồng thời kích thích đại thực bào tiết ra IL-1. Sự kết hợp CD2 CD58 cũng xảy ra giữa tế bào lympho của tuyến ức với tế bào biểu mô tuyến ức và giữa tế bào lympho T gây độc với tế bào đích của chúng.

2.2.8. Kháng nguyên phù hợp tổ chức và những phân tử họ hàng

Phần lớn tế bào lympho mang phân tử kháng nguyên phù hợp tổ chức lớp II trên bề mặt. Ngược lại rất ít tế bào lympho T của chuột ở trạng thái nghỉ mang kháng nguyên phù hợp tổ chức lớp II. Cả hai loại tế bào lympho đều biểu thị các phân tử lớp Ia và lớp Ib.

2.2.8.1. CD1

CD1 được biểu thị trên tế bào lympho tuyến ức đang phát triển và trên một số tế bào trình diện kháng nguyên bao gồm tế bào lympho T và tế bào đuôi gai. Chúng có cấu trúc tương tự với một phân tử kháng nguyên phù hợp tổ chức của lớp I và có thể trình diện một số kháng nguyên lipid cho tế bào lympho T.

2.2.8.2. CDw90

CDw90 hay Thy-1 là dấu ấn bề mặt đầu tiên được sử dụng để xác định tế bào lympho T. Sự biểu thị của dấu ấn này rất khác nhau giữa các loài. Chuột có CD này trên tế bào lympho tuyến ức và cả trên tế bào lympho trong máu ngoại vi (riêng chuột cống thì chỉ có ở tế bào lympho tuyến ức). Không tìm thấy những dấu ấn này trên tế bào lympho T trong máu ngoại vi của người. CDw90 còn có ở tế bào của não, tế bào thượng bì, nguyên bào sợi và tế bào lympho trong máu ngoại vi; là thành phần của siêu họ immunoglobulin miễn dịch.

2.2.8.3. Các phân tử chưa hiểu rõ chức năng: WC1

Có một số protein bề mặt tế bào đóng vai trò quan trọng ở một vài loài nhưng không thấy ở người và chuột. Rõ rệt nhất là BoWC1- là chuỗi đôi peptide không đồng nhất có trọng lượng phân tử 215 và 300 kDa. Protein này thuộc họ có nhiều gene và chứa ít nhất 7 thành phần.

Sự thay đổi biểu thị protein bề mặt

Trong những giai đoạn khác nhau của đời sống tế bào, sự biểu thị protein bề mặt trên tế bào lympho là khác nhau. Điều kiện để protein nào được biểu thị lại phụ thuộc vào sự thành thục, trạng thái hoạt hoá và sự biệt hoá của tế bào. Thí dụ, tế bào lympho T chưa trưởng thành ở người có mang cả CD9 và CD10. Khi lympho T trưởng thành trong tuyến ức, CD9 mất đi và các tế bào này lại có CD4+ và CD8. Những tế bào lympho T trưởng thành sau đó được chia thành hai quần thể, một quần thể mang CD4+ CD8- và quần thể khác mang CD 4- CD8+. Ngoài ra, các phenotype trên bề mặt của tế bào lympho sẽ biến đổi sau khi tiếp xúc với kháng nguyên. Như vậy những tế bào lympho T còn ở trạng thái nguyên vẹn biểu thị hàm lượng cao các CD45R và selectin, hàm lượng thấp các CD44. Tế bào ghi nhớ thể hiện ngược lại, có hàm lượng CD45R, L-selectin thấp và CD44 cao.

2.2.9. Sự khác nhau về kháng nguyên bề mặt ở các loài

2.2.9.1. Ở bò

Động vật nhai lại có số lượng lớn các kháng nguyên bề mặt đặc hiệu loài WC1. Không giống như người hoặc chuột, tế bào lympho T trong máu ngoại biên có tỷ lệ cao (15-30% và có thể đến 80% ở bê sơ sinh) CD4- CD8. Phần lớn những tế bào này có receptor của tế bào T với chuỗi γ/δ và biểu thị WC1. Như vậy tế bào lympho T trong tuần hoàn máu ở loài nhai lại ($\gamma/\delta+$, WC1+, CD4-, CD8-) rất khác với tế bào lympho T tìm thấy trong máu của người và chuột ($\alpha/\beta+$, WC1-, CD4+, CD8-). Tế bào lympho ở bò có $\gamma/\delta+$, WC1+ cũng biểu thị CD3 và CD5 nhưng không biểu thị CD2. Tế bào lympho T có WC1+ được tìm thấy với số lượng cao ở da, hạch máu và các phần của tuyến ức. Bò cũng có một quần thể nhỏ có $\gamma/\delta+$, WC1- trong máu. Các tế bào có $\gamma/\delta+$, WC1- chiếm một tỷ lệ cao trong sữa đầu. CD4 chiếm 20- 30% tế bào lympho trong máu động vật nhai lại trưởng thành. Không giống ở người, bò không có CD4 ở đại thực bào.

2.2.9.2. Ở cừu

Tế bào lympho T có chuỗi γ/δ cũng biểu thị OvWC1 (còn gọi là T19 ở cừu) và không biểu thị CD2, CD4 hoặc CD8. OvWC1 là một glycoprotein có trọng lượng phân tử 215 kDa, thành phần của một họ chứa nhiều gene có 50-100 thành phần. Ở cừu non mới sinh ra, lympho T chiếm 60% các tế bào lympho T trong máu ngoại vi; tỷ lệ này giảm xuống đến 30% khi cừu 1 năm tuổi và xuống đến 5-10% khi cừu 5 tuổi. Tỷ lệ CD4/CD8 gần bằng 1 ở cừu trưởng thành. Dựa vào tế bào kế lưu thông người ta đã xác định được hai quần thể tế bào B của cừu. Một quần thể lớn hơn và có nhiều bào tương

hơn, các quần thể tế bào khác chứa những tế bào lympho nhỏ thông thường. Phần lớn các tế bào lympho T có chuỗi γ/δ biểu thị CD25.

2.2.9.3. Ở lợn

Lợn có những protein bề mặt mà loài khác không có. SWC1 có mặt ở phần lớn các tế bào bạch cầu, tế bào lympho T trong trạng thái nghỉ, bạch cầu đơn nhân và bạch cầu hạt nhưng không biểu thị trên tế bào lympho B. Thành phần này được điều chỉnh cho giảm xuống khi tế bào lympho T được hoạt hoá. Lợn cũng là loài duy nhất có tỷ lệ cao tế bào lympho T CD4+ CD8+ ở máu ngoại biên (chiếm đến 60%). Tế bào lympho T dương tính cả hai loại này không biểu thị receptor của IL-2, CD25 và chúng có thể tiêu biểu cho một tập hợp tế bào T ghi nhớ. Tỷ lệ CD4/CD8 là khoảng 1-1,5 ở các loài có vú khác nhưng riêng ở lợn tỷ lệ này chỉ khoảng 0,36. Lợn có một tỷ lệ cao (40-50%) tế bào (CD4- CD8-) trong quần thể các tế bào lympho T. Những tế bào này có thể chia thành các nhóm nhỏ có CD2+ và CD2-. Nhóm có CD2- thường ở trong lách hay hạch lympho và có receptor cho tế bào lympho T có chuỗi α/β . Nhóm có CD4- được tìm thấy trong tế bào biểu mô và có receptor cho tế bào lympho T có các chuỗi γ/δ . Chúng có CD2-, MHC lớp II+ MHC lớp I+, CD43+, CD44+ và SWC1+. Những tế bào này khác với tế bào lympho T thông thường về vòng đời, sự phân phối trong tổ chức, cách thức di chuyển và đáp ứng miễn dịch. Chức năng của chúng vẫn chưa rõ. Chỉ thấy những tế bào này có số lượng không đáng kể trong tuỷ trắng của lách hoặc trong vùng cận vỏ của hạch lympho. Bình thường chúng có trong da, trong các vùng viêm tiêu tan, ở hạch lympho. Cắt bỏ tuyến ức sớm ở lợn làm mất khoảng 95% tế bào âm tính γ/δ và thấy có sự tăng bù những loại tế bào dương tính hai loại này. Đặc điểm đặc biệt của tế bào lympho T ở lợn là biểu thị CD5. Tế bào có CD4+ CD8- và tế bào có CD4+ CD8+ đều biểu thị CD5. Tế bào có CD4- CD8+ trong máu ngoại vi được chia thành hai nhóm nhỏ. Một nhóm không biểu thị CD5 và dường như là quần thể tế bào lympho diệt tự nhiên. Nhóm khác biểu thị CD5 và là tiền thân của các tế bào lympho T gây độc chịu sự hạn chế của MHC.

2.2.9.4. Ở ngựa

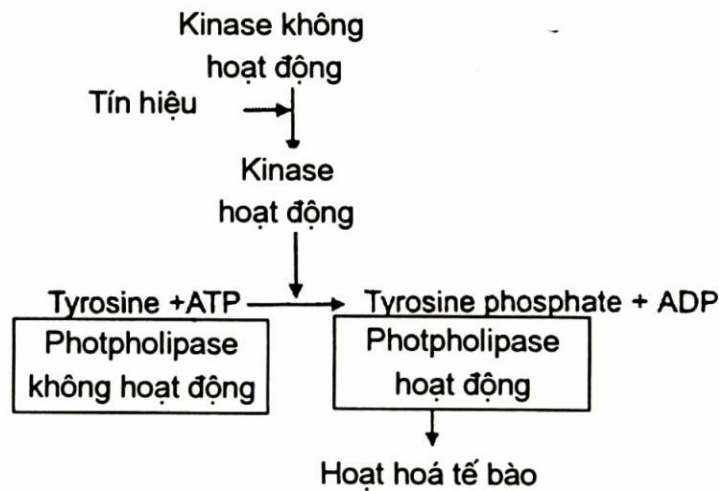
Giống những loài có vú khác, ngựa có các protein trên bề mặt tế bào, chủ yếu là CD4 và CD8. Chúng cũng có hai protein đặc hiệu về loài, đó là EqWC1 và EqWC2. EqWC1 là protein có trọng lượng phân tử 22kDa. Những protein này chiếm khoảng 70% trong các tế bào lympho T của ngựa, 30% trong các tế bào lympho B và 50% trong các bạch cầu hạt. Nó có thể tương ứng với CDw90. EqWC2 là một protein có kích thước lớn, khó xác định, được tìm thấy trên bạch cầu hạt và phần lớn tế bào lympho T.

2.2.9.5. Ở chó và mèo

CD4 của chó được biểu thị trên bạch cầu trung tính và đại thực bào; còn mèo chỉ có CD4 ở một nhóm tế bào lympho T và tiền chất của chúng. Tế bào lympho T có CD5+/CD4+ chiếm 40% và tế bào lympho T có CD5+ CD8+ chiếm 22% trong số tế bào lympho ở máu của chó.

2.2.10. Receptor trên bề mặt tế bào và sự truyền tín hiệu

Đáp ứng miễn dịch là do mối tương tác giữa những tế bào khác nhau. Tế bào cần cảm nhận được những gì xảy ra xung quanh và phản ứng cho phù hợp. Thí dụ bạch cầu trung tính phải có khả năng phát hiện được sự có mặt của vi khuẩn gần đó và di chuyển đến bằng hướng động hoá học. Các quá trình này cần những tế bào có nhiều receptor khác nhau. Khi receptor gắn vào chất gắn thì tín hiệu được chuyển cho tế bào để thay đổi hoạt động của tế bào. Sự biến đổi của một tín hiệu bên ngoài tế bào thành hàng loạt tín hiệu bên trong tế bào được gọi là sự truyền tín hiệu. Những thành phần chính của con đường truyền tín hiệu bao gồm sự hoạt hoá những protein truyền tín hiệu của receptor, sự hoạt hoá thứ cấp của enzyme, sự sản sinh các yếu tố sao chép mới, sự hoạt hoá của gene làm thay đổi phương thức hoạt động của tế bào. Phần lớn các protein trên bề mặt tế bào được chia vào bốn lớp dựa theo cách tác dụng của chúng. Một loại receptor là receptor liên kết, với đường dẫn sử dụng đường dẫn ion do chất dẫn truyền mở ra. Như vậy bản thân receptor này là một đường dẫn và gắn vào chất chủ vận mở đường dẫn để cho ion chuyển qua đó. Receptor liên kết với đường dẫn này được tìm thấy trong tế bào viêm và tế bào miễn dịch nhưng vai trò của chúng vẫn chưa rõ. Loại receptor thứ hai bao gồm những protein tác động (như proteinkinase đặc hiệu của tyrosine sau khi gắn vào chất gắn). Khi chất gắn gắn vào vùng ngoài tế bào, một khu vực kinase trong tế bào được hoạt hoá. Những kinase này phosphoryl hoá phần tyrosine trên protein khác hoặc ngay chính bản thân receptor tự phosphoryl hoá (hình 5.7).

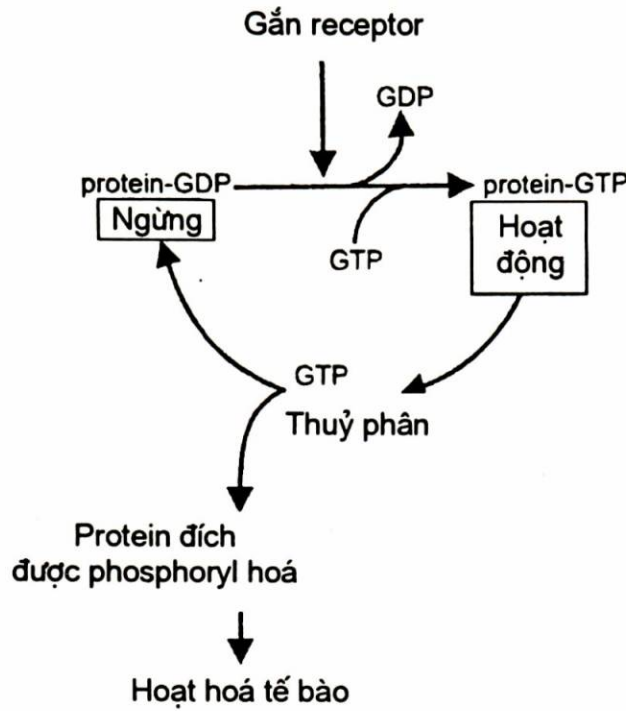


Hình 5.7. Sự phosphoryl hoá tyrosine dẫn đến hoạt hoá tế bào

Sự phosphoryl hoá gây ra hàng loạt biến đổi trong hoạt động của tế bào. Rất nhiều phản ứng của hệ thống miễn dịch thông qua hoạt động của receptor này. Một loại receptor có quan hệ họ hàng gồm những protein không phải tyrosinekinase nhưng có thể hoạt hoá tyrosinekinase gắn với receptor. Loại receptor này cũng được sử dụng rộng rãi ở các tế bào miễn dịch, thí dụ như receptor của tế bào lympho T và receptor của tế bào lympho B.

Lớp thứ ba của receptor nói trên là những receptor liên kết với protein gắn GTP được gắn vào màng (được gọi là protein G). Protein G có tác dụng chuyển đổi hoá học. Khi không hoạt động chúng gắn với guanosine diphosphate (GDP) và khi hoạt động chúng gắn vào guanosine triphosphate (GTP). Như vậy, một khi các receptor này gắn vào chất

gắn của chúng thì có sự biến đổi trong phức hợp receptor- protein G dẫn đến mất GDP và thu được GTP (hình 5.8).



Hình 5.8. Protein G bật tín hiệu kích thích các tế bào hoạt động hoặc ngừng hoạt động

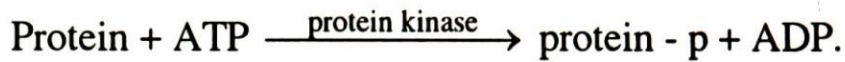
Sau đó protein G được hoạt hoá trên các cơ chất khác rồi ngừng hoạt động sau khi bị thuỷ phân nhanh chóng thành GDP nhờ có enzyme GTPase của chính protein G. Đã xác định được hơn 20 protein G khác nhau và một số đóng vai trò then chốt trong đáp ứng miễn dịch. Đích của protein G có thể bao gồm các đường dẫn ion, các enzyme như adenylase cyclase, phospholipase C và một số proteinkinase. Khi được protein G hoạt hoá, phospholipase C phân cắt lipid gắn vào màng phosphatidylinositol 4,5-bis phosphate (PIP₂) thành hai chất truyền tin, đó là inotrisitol triphosphate và diacylglycerol. Inositol triphosphate gắn vào receptor bên trong tế bào dẫn đến giải phóng Ca²⁺ từ kho dự trữ bên trong tế bào làm cho nồng độ Ca²⁺ tự do trong tế bào tăng lên. Những ion canxi này hoạt hoá rất nhiều protein khác nhau kể cả calmodulin. Diacetylglycerol nằm lại trong màng bào tương và cùng với canxi hoạt hoá một enzyme gọi là proteinkinase C.

Lớp thứ tư của receptor có tác dụng hoạt hoá sphingomyelinase trung tính, sau đó enzyme này thuỷ phân sphingomyelin trong màng tế bào thành ceramide. Ceramide kích thích một proteinkinase của serine- threonine được ceramide hoạt hoá. Proteinkinase này phosphoryl hoá các protein của tế bào. Cơ chế truyền tín hiệu này gặp ở những receptor cho IL-1 và TNF- α .

2.2.11. Sự phosphoryl hoá protein

Phosphoryl hoá là hình thức quan trọng làm biến đổi protein một cách có hồi phục. Tất cả hệ thống truyền tín hiệu tham gia sử dụng chất có năng lượng cao (thí dụ GTP) để

làm thay đổi một protein và chuyển tín hiệu cho tế bào. Sự sinh trưởng tế bào, sự phân chia tế bào và các quá trình quan trọng khác được điều chỉnh nhờ quá trình phosphoryl hoá. Proteinkinase phosphoryl hoá serine, threonine, tyrosine.



Một vài protein chỉ có một amino acid được phosphoryl hoá song một số protein khác lại có nhiều amino acid được phosphoryl hoá. Protein được phosphoryl hoá và không phosphoryl hoá có tác dụng khác nhau. Rất nhiều enzyme được điều chỉnh nhờ có phosphoryl hoá trong quá trình phosphoryl hoá serine hoặc threonine hoạt hoá enzyme. Khử phosphoryl hoá có tác dụng ngược lại. Phosphoryl hoá ba amino acid thiết yếu (serine, threonine và tyrosine) đóng vai trò quan trọng trong việc điều chỉnh nhiều chức năng của tế bào. Khi kiểm tra các protein được phosphoryl hoá, khoảng 90% phosphate được gắn với serine và 10% với threonine. Chỉ khoảng 1/2000 phosphate gắn với tyrosine. Như vậy phosphoryl hoá tyrosine ít khi xảy ra mặc dù nó là cơ chế của gần như tất cả các con đường chuyển tín hiệu.

2.2.12. Các chất gián phân tế bào lympho

Ngoài protein bề mặt, tế bào lympho có thể bị chất kích thích tác động làm cho chúng phân chia. Chất quan trọng nhất trong những protein này là lectin gắn vào glycoprotein trên bề mặt tế bào. Những lectin đó được phân lập từ thực vật. Thí dụ phytohemagglutinin (PHA) lấy từ cây đậu tây đỏ (*phaseolus vulgaris*), concanavalin A lấy từ cây đậu kiếm (*Canavalis ensiformis*) và chất gián phân pokeweed (PVM) lấy từ cây pokeweed (*Phytolacca americana*). Lectin gắn đặc hiệu vào phần đường trên chuỗi phụ của glycoprotein. Thí dụ PHA gắn vào N - acetylgalactosamine, trong khi ConA gắn vào α -manose và α - glucose. Không phải tất cả tế bào lympho đáp ứng như nhau với các lectin. PHA chủ yếu kích thích tế bào lympho T phân chia, nhưng lại có tác dụng yếu đối với tế bào lympho B. ConA cũng là chất gián phân của tế bào lympho T và PWM tác dụng trên cả tế bào T và tế bào B. Mặc dù cơ chế gián phân còn chưa rõ nhưng các chất lectin của thực vật được xem là có tác dụng mở đường dẫn Ca^{2+} ở màng tế bào.

Cách xác định gián phân

Để xác định sự gián phân, tế bào lympho được cấy vào tổ chức mô. Những tế bào lympho này thu được từ máu ngoại vi. Chúng được nuôi cấy ít nhất 24 giờ trước khi bổ sung chất gián phân. Khi đưa chất gián phân vào, tế bào lympho bắt đầu phân chia, tổng hợp DNA mới với sự thu nhận nucleotide sẵn có trong môi trường. Thường một

lượng nhỏ thymidine gắn với chất đồng vị phóng xạ của hydrogen tritium được đưa vào dịch mô. Thymidine chỉ tham gia vào thành phần của DNA đang phân chia. Sau 24 giờ, tách tế bào nuôi cấy khỏi dịch mô bằng cách ly tâm hoặc lọc và tính hoạt tính phóng xạ. Khối lượng chất phóng xạ trong tế bào được xử lý bằng lectin được đem so sánh với khối lượng nuôi cấy tế bào lympho không xử lý. Tỷ lệ này được xem là chỉ số kích thích. Sự thay đổi trong việc sử dụng thymidine đồng vị phóng xạ (một amino acid có đánh dấu bằng đồng vị phóng xạ ^{14}C) cho thấy việc tổng hợp protein của tế bào tăng lên.

Lectin của thực vật là chất gián phân tế bào lympho có hiệu quả nhất. Tuy nhiên, hoạt tính gián phân cũng được phát hiện thấy ở một số nguồn khác. Thí dụ như để kích thích sự phân chia tế bào thì chất chiết từ loài ốc *Helix pomata* có tác dụng với lympho T, còn lipopolysaccharide của vi khuẩn gram âm lại tác dụng với tế bào lympho B. Các chất gián phân quan trọng khác của tế bào lympho B là protease trung tính như trypsin và mảnh Fc của immunoglobulin; vaccine BCG (Bacille Calmetre-guérin, một chủng không có độc lực của *Mycobacterium bovis* được sử dụng để phòng bệnh lao) là chất kích thích gián phân của tế bào lympho T. Những chất gián phân này có thể hỗ trợ cho sự biệt hoá của tế bào lympho B và T. Bằng cách xác định đáp ứng miễn dịch tạo ra sẽ cho thấy khả năng đáp ứng của tế bào lympho B và lympho T với kích thích miễn dịch.

Chương 6

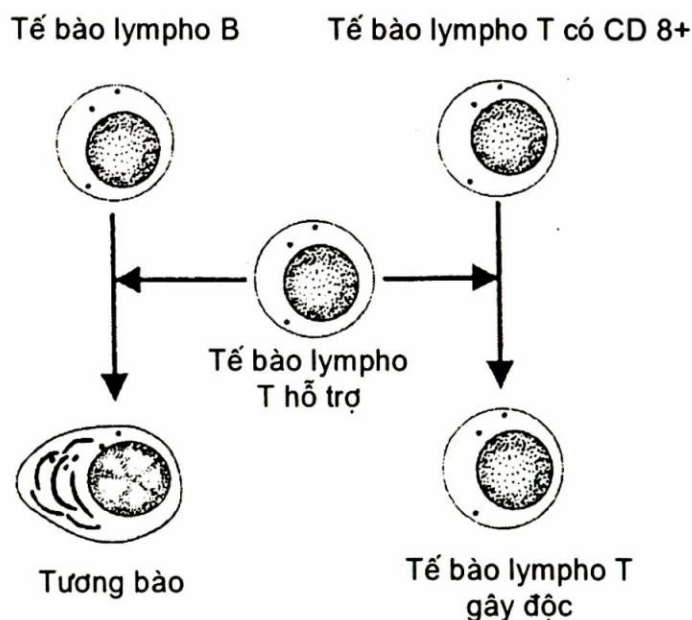
CÁC TẾ BÀO LYMPHO VÀ SỰ ĐÁP ỨNG CỦA CHÚNG VỚI KHÁNG NGUYÊN

1. TẾ BÀO LYMPHO T HỖ TRỢ

1.1. Đặc điểm chung

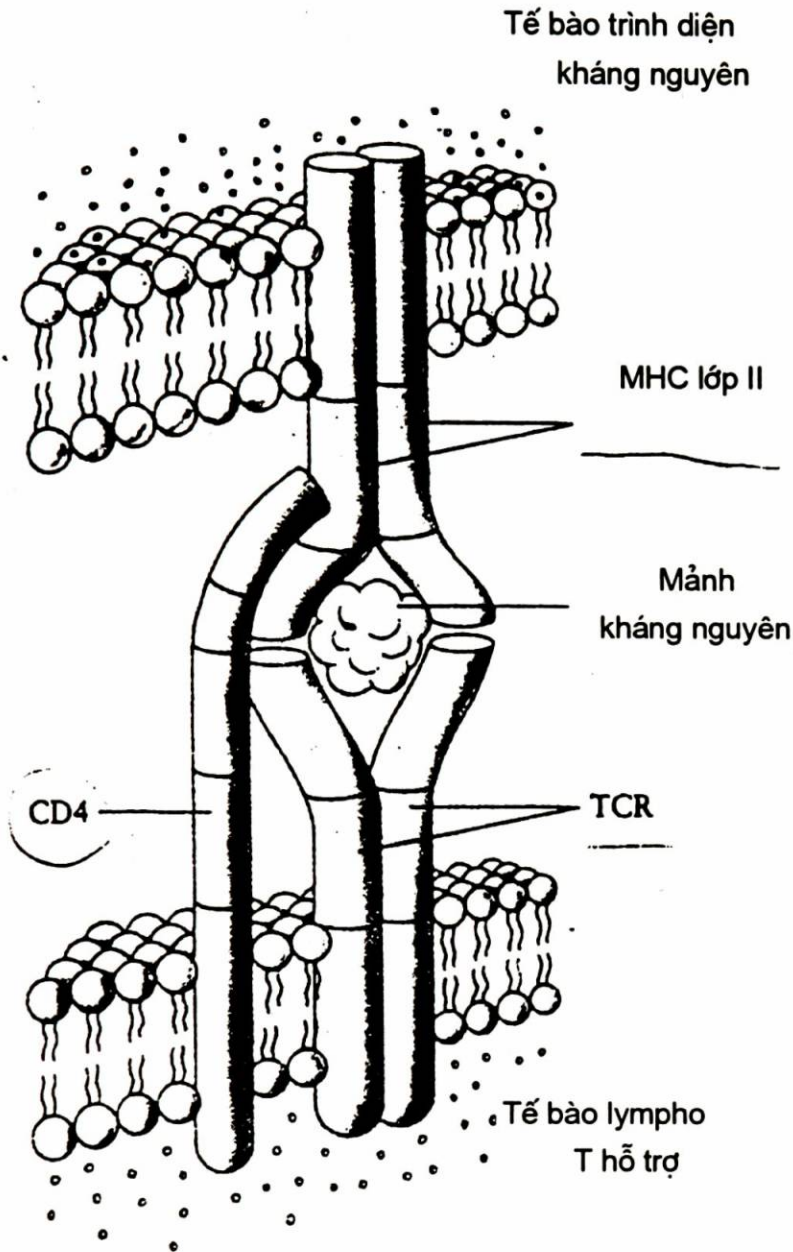
Trong đáp ứng miễn dịch một số tế bào phải có khả năng nhận diện kháng nguyên lạ và sau đó đáp ứng chống lại chúng. Đáp ứng của những tế bào miễn dịch kháng nguyên này phải cho tác dụng hoặc sản xuất kháng thể hoặc sản xuất ra những tế bào có thể tham gia vào đáp ứng miễn dịch tế bào. Chính các tế bào cũng phải có khả năng đáp ứng có hiệu quả hơn khi tiếp xúc lần thứ hai đối với cùng một kháng nguyên. Đó là những tế bào có khả năng ghi nhớ. Quân thể tế bào T miễn dịch với kháng nguyên bao gồm: tế bào lympho T hỗ trợ có chức năng điều hoà miễn dịch, tế bào lympho T gây độc phá huỷ các nội kháng nguyên và tế bào lympho B sản xuất kháng thể để phá huỷ kháng nguyên lạ. Mỗi một loại tế bào này được chọn lọc để kháng nguyên chỉ có thể gắn vào receptor đặc hiệu kích thích sự tăng sinh của chúng.

Những kháng nguyên đã qua xử lý được tế bào đuôi gai, đại thực bào hoặc tế bào lympho B trình diện cho một quân thể tế bào lympho T gọi là T hỗ trợ. Với điều kiện là receptor của chúng gắn với kháng nguyên, những tế bào lympho T hỗ trợ này sẽ đáp ứng bằng cách gây ra một đáp ứng miễn dịch. Tế bào lympho B và tế bào lympho T gây độc không có khả năng đáp ứng với kháng nguyên nếu không được kích thích bởi tế bào lympho T hỗ trợ (hình 6.1).



Hình 6.1. Vai trò trung tâm của tế bào lympho T hỗ trợ trong thúc đẩy đáp ứng miễn dịch

Do vai trò trung tâm của tế bào T hỗ trợ trong đáp ứng với kháng nguyên nên chính bản thân nó cũng được điều hành một cách chặt chẽ. Đáp ứng của tế bào T hỗ trợ được kiểm soát thông qua sự tương tác giữa các tế bào và nhờ protein có tên là cytokin. Một tế bào T hỗ trợ chỉ gắn với một peptide lạ khi nó được trình diện trong mối liên kết cùng với một phân tử kháng nguyên phù hợp tổ chức (MHC) thích hợp (hình 6.2).



Hình 6.2. Sự trình diện một quyết định kháng nguyên cho TCR bởi một phân tử MHC lớp I

Khi rãnh của MHC lớp I đã được peptide lấp đầy thì phức hợp này có thể được receptor phù hợp của tế bào T nhận diện.

1.2. Receptor kháng nguyên của tế bào lympho T

Receptor kháng nguyên của tế bào lympho T (hay TCR) được có mặt trên bề mặt tế bào lympho T. Mỗi tế bào lympho T có khoảng 10.000- 20.000 TCR giống nhau. Do tất cả TCR trên một tế bào giống như nhau nên một tế bào lympho T chỉ kết hợp và đáp ứng với một quyết định kháng nguyên đơn lẻ. Mỗi TCR có hai chuỗi peptide kết hợp với kháng nguyên và chúng có khả năng liên kết với một số lượng lớn các glycoprotein khác. Những glycoprotein này làm khuếch đại tín hiệu sản sinh ra do kết hợp của kháng nguyên với TCR và chuyển nó cho tế bào lympho T. Có hai loại TCR đã được xác định.

Một loại có hai chuỗi γ và δ (γ/δ). Loại khác có hai chuỗi không đồng nhất là α và β (α/β). Ở người, chuột và có thể phần lớn các động vật không nhai lại có khoảng 1% đến 10% tế bào lympho T mang receptor γ/δ ; 99% còn lại của tế bào lympho T mang receptor α/β . Ngược lại, ở loài nhai lại có số lượng tế bào lympho T có TCR (γ/δ) chiếm tỷ lệ cao (60%) trong tổng số tế bào lympho T. Bốn chuỗi peptide của TCR ($\alpha, \beta, \gamma, \delta$) có cấu trúc tương tự nhau nhưng trọng lượng phân tử của chúng khác nhau. Chuỗi α có trọng lượng phân tử trong khoảng 43-49 kDa; con số này ở chuỗi β là 38-44 kDa, ở chuỗi γ là 36-46 kDa và ở chuỗi δ là 40-60 kDa. Sự khác nhau về kích thước là do sự khác nhau về thành phần đường trong công thức hoá học của chúng. Mỗi chuỗi TCR được chia thành bốn khu vực: khu vực tại phần tận cùng là N chứa khoảng 100 amino acid, chuỗi amino acid này cực kỳ biến đổi (vùng V). Khu vực tiếp theo có khoảng 150 amino acid và có chuỗi amino acid không thay đổi gọi là vùng hằng định (vùng C, constant domain). Vùng thứ ba rất nhỏ ở trong màng tế bào chứa 25 amino acid kỵ nước. Phần cuối của vùng hằng định C nằm trong bào tương của tế bào lympho T và rất nhỏ (có khoảng 5-15 amino acid). Một cầu disulfide nối hai chuỗi kết hợp với nhau tại vùng hằng định tạo nên một chuỗi peptide đôi không đồng nhất. Do mỗi TCR có chứa một chuỗi peptide đôi, vùng thay đổi của mỗi chuỗi hợp với nhau tạo nên một rãnh có thể gắn các peptide kháng nguyên. Hình dạng của rãnh kết hợp kháng nguyên rất khác nhau giữa các chuỗi peptide đôi của TCR do khác nhau ở các chuỗi amino acid tại vùng thay đổi. Tính đặc hiệu của sự kết hợp giữa một TCR với một peptide kháng nguyên được quyết định bằng hình dạng receptor do hai vùng thay đổi tạo ra. Mỗi vùng có một khu vực gồm chuỗi amino acid cực kỳ thay đổi. Đây là khu vực tiếp xúc với kháng nguyên và được gọi là vùng cực kỳ thay đổi (hypervariable region) hay vùng xác định bổ sung (CDR- complementarity- determining region). Vị trí kết hợp kháng nguyên của TCR được tạo thành bởi các CDR nằm ở rãnh trên bề mặt của phân tử. Phần còn lại của vùng V có một chuỗi hầu như không thay đổi gọi là vùng khung (frame work region).

1.2.1. Phân hoạt động của TCR

Một động vật cần phải có một quần thể gồm nhiều tế bào lympho T khác nhau có khả năng phản ứng với càng nhiều kháng nguyên lạ càng tốt, đồng thời không phản ứng với kháng nguyên bản thân. Ít nhất có 4 cơ chế tham gia vào quá trình này. Đầu tiên là 'phân hoạt động cơ bản của TCR được xác định nhờ một số gene dòng mầm của TCR. Thứ hai là tại tuyến ức xảy ra sự phá hủy những tế bào lympho T có TCR kết hợp với kháng nguyên bản thân. Thứ ba là cũng tại tuyến ức, quần thể tế bào lympho T sống sót được nhờ chọn lọc khẳng định những tế bào lympho T đáp ứng sau khi tương tác giữa TCR với các phân tử MHC. Như vậy, những tế bào lympho T có receptor không kết hợp với kháng nguyên bản thân được kích thích nhân lên để cuối cùng số lượng của chúng tăng lên trong máu ngoại vi.

1.2.1.1. Các bộ phận chuyển tín hiệu

Kết hợp kháng nguyên cần phải chuyển tín hiệu cho tế bào lympho T để rồi gây ra một đáp ứng thích hợp. Hai chuỗi kết hợp kháng nguyên của TCR luôn luôn liên kết với

một nhóm glycoprotein gọi là CD3. Phức hợp CD3 rất cần thiết để chuyển tín hiệu từ phân tử TCR cho tế bào. CD3 có chứa 4 chuỗi peptide (γ , δ) và 2 chuỗi ϵ . Chuỗi β của TCR nối trực tiếp với CD3 γ và chuỗi α của TCR được nối với CD3 δ . Cả 2 chuỗi của TCR đều nối với CD3 ϵ .

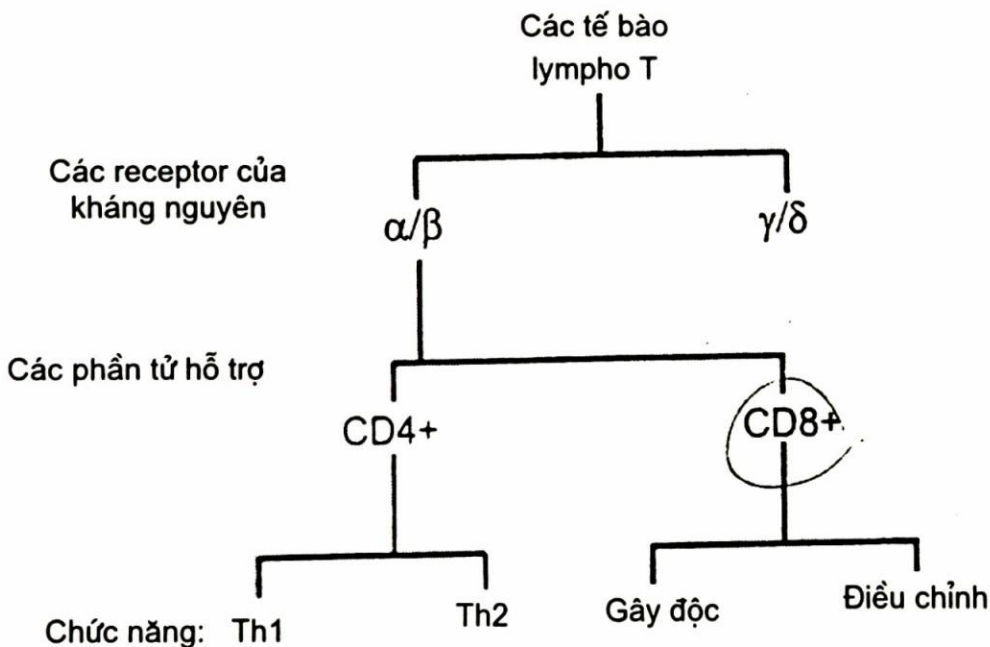
Có 2 chuỗi peptide bổ sung liên kết với TCR và CD3. Các chuỗi này được gọi là ζ (zeta) và η (eta), có cấu trúc và di truyền khác những chuỗi CD3. Khoảng 90% TCR có α/β chứa một chuỗi đôi đồng nhất ζ - ζ , vì vậy phức hợp hoàn chỉnh sẽ chứa α/β - $\gamma\delta\epsilon\epsilon$ - ζ ζ . 10% của TCR còn lại có chuỗi peptide đôi không đồng nhất ζ - η , vì vậy chúng bao gồm α/β - $\gamma\delta\epsilon\epsilon$ - $\zeta\eta$. Các chuỗi đôi ζ - ζ và ζ - η cũng tham gia trong chuyển tín hiệu.

1.2.1.2. Chuỗi *FcεRIγ*

Người ta đã nghĩ rằng sự truyền tín hiệu của TCR chứa α/β được điều hoà của cùng một peptide giống như ở TCR chứa γ/δ nhưng sự thực không phải như vậy. Trong khi TCR chứa α/β sử dụng các chuỗi ζ và η thì phần lớn TCR chứa γ/δ lại sử dụng một peptide gọi là γ . Chuỗi γ tồn tại ở hai dạng là chuỗi peptide đôi đồng nhất và chuỗi peptide đôi không đồng nhất có chuỗi ζ . Như vậy phức hợp hoàn chỉnh hoặc là γ/δ - $\gamma\delta\epsilon\epsilon$ - $\gamma\gamma$ hoặc là γ/δ - $\gamma\delta\epsilon\epsilon$ - $\gamma\zeta$. Nó cũng là bộ phận truyền tín hiệu. Chuỗi γ này được tìm thấy ở receptor có ái lực cao của IgE.

1.2.1.3. CD4 và CD8

Hai peptide liên kết với TCR là CD4 và CD8. CD4 là glycoprotein chuỗi đơn có trọng lượng phân tử 55 kDa và CD8 là chuỗi đôi 68 kDa. Cả hai là thành phần của siêu họ immunoglobulin. Sự có mặt của CD4 hoặc CD8 xác định lớp MHC nào được tế bào T nhận diện (hình 6.3).



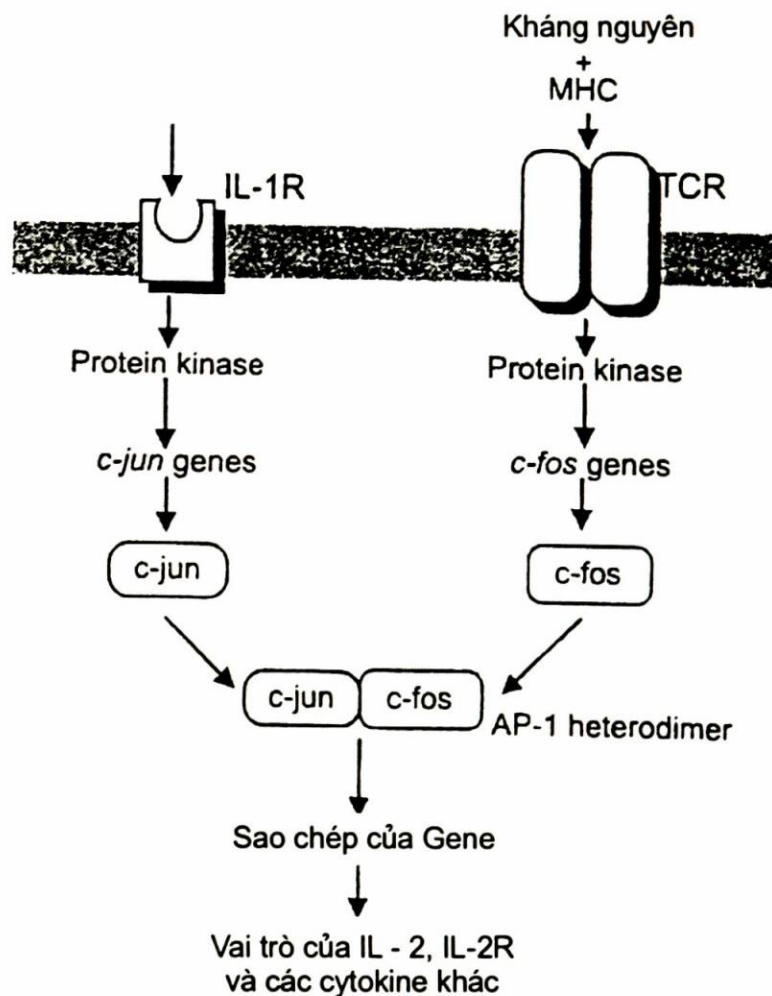
Hình 6.3. Các tế bào lympho T được phân chia thành những quần thể phụ

CD4 có trên tế bào T hỗ trợ (Th) gắn vào các phân tử MHC lớp II và gây ra đáp ứng miễn dịch. CD8 có trên tế bào T gây độc (Tc), có khả năng gắn với MHC lớp I trên tế bào trình diện kháng nguyên và gây đáp ứng gây độc. Tầm quan trọng của CD4 và CD8 là chuyển tín hiệu. Khi CD4 hoặc CD8 liên kết với TCR thì sẽ tăng kích thích tế bào lympho T của một tế bào trình diện kháng nguyên lên 100 lần.

1.2.1.4. Các chất đồng kích thích

Tế bào lympho T hỗ trợ cần sự đồng kích thích để đáp ứng với kháng nguyên. Sự nhận diện một peptide nhờ TCR đặc hiệu chưa đủ để gây ra một đáp ứng ngay cả khi tế bào này liên kết với phức hợp của phân tử MHC lớp II và CD4. Sự thật là chỉ có sự nhận diện kháng nguyên thôi thì có thể dẫn đến dung nạp miễn dịch do hoạt hoá không đầy đủ của các tế bào lympho T. Ngoài kháng nguyên và MHC lớp II còn có hai tín hiệu khác cần thiết cho việc gây ra một đáp ứng miễn dịch tốt nhất. Một tín hiệu bắt nguồn từ các cytokin, đó là interleukin 1(IL-1) và interleukin 12 (IL-12), do tế bào trình diện kháng nguyên tiết ra. Những tín hiệu khác được phát sinh do sự kết hợp giữa tế bào lympho T với tế bào trình diện kháng nguyên và tham gia vào các phân tử kết dính trên bề mặt tế bào.

1.2.1.5. Interleukin 1 và interleukin 12



Hình 6.4. Vai trò của interleukin 1 trong kích thích đáp ứng miễn dịch của tế bào lympho T hỗ trợ

Tế bào lympho T được IL-1 hoặc IL-12 kích thích. Tế bào trình diện kháng nguyên tiết IL-1 và IL-12 là do nhiều kích thích gây ra, bao gồm sự thực bào vi khuẩn, ký sinh trùng hoặc những phân tử lạ khác. Việc tiết các chất này cũng có thể được cảm ứng bằng tế bào lympho T tiếp xúc thông qua những tín hiệu được chuyển qua TCR. Tế bào lympho B tiết cả hai loại cytokin trên nhưng tiết ít hơn và chậm hơn nhiều so với đại thực bào và tế bào đuôi gai. Sau khi được sản xuất từ các tế bào trình diện kháng nguyên, IL-1 hoặc là được tiết vào dịch tổ chức hoặc là vẫn được gắn trên bề mặt tế bào. IL-1 gắn trên màng tế bào cùng với kháng nguyên được trình diện thích hợp có thể kích thích sự phân chia của tế bào lympho T kết dính. IL-1 tác dụng thông qua receptor trên tế bào lympho T để hoạt hoá gene cho yếu tố sao chép *c-jun* (hình 6.4).

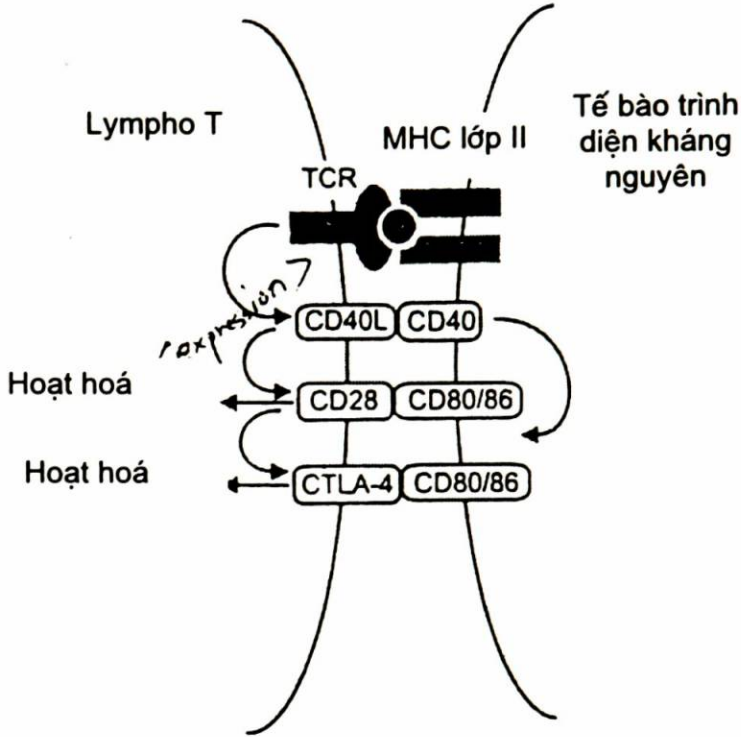
Người ta còn hiểu rất ít về đáp ứng của tế bào lympho T đối với IL-12. Tiểu quần thể tế bào lympho này có thể là tiểu quần thể khác với tiểu quần thể đáp ứng với IL-1.

1.2.1.6. Những phân tử kết dính của tế bào và các tín hiệu đồng kích thích

Ngoài tác dụng của kháng nguyên cũng như IL-1 và IL-12, để có đáp ứng tốt nhất của tế bào T hỗ trợ đòi hỏi tế bào lympho T và tế bào trình diện kháng nguyên phải kết hợp chặt chẽ và tương tác với nhau. Một số cặp phân tử tương tác khác nhau tham gia vào quá trình này. Thí dụ CD2 kết hợp với CD58 và CD11a/18 kết hợp với CD54. Có khả năng là các mối tương tác đó khoá cả hai tế bào tại chỗ để cho tín hiệu có thể chuyển giao giữa những tế bào này. Mối liên lạc có hiệu quả giữa một tế bào T hỗ trợ và một tế bào trình diện kháng nguyên phụ thuộc vào việc tiếp nhận nhiều tín hiệu của mỗi tế bào. Tín hiệu quan trọng nhất trong những tín hiệu này bắt nguồn từ mối tương tác giữa TCR và kháng nguyên gắn vào MHC; những tín hiệu khác là do gắn các phân tử như CD40 và CD28 vào chất gắn của chúng. CD40 là glycoprotein được biểu thị trên tế bào lympho B, tế bào đuôi gai, tế bào nội mô tuyến ức và được tạo ra trên những đại thực bào hoạt hoá; nó gắn vào chất gắn của CD40 (CD40L), một glycoprotein được tìm thấy trên tế bào lympho T đã được hoạt hoá. Kháng nguyên gắn vào TCR làm biểu thị CD40 L của tế bào lympho T. CD40 trên tế bào trình diện kháng nguyên sẽ gắn với chất gắn này và kích thích tế bào lympho T biểu thị CD28. CD28 gắn yếu vào một trong hai glycoprotein có quan hệ họ hàng trên tế bào trình diện kháng nguyên, đó là CD80 (B7-1) trên đại thực bào hay CD86 (B7-2) trên tế bào lympho B (hình 6.5).

Việc gắn như vậy kích thích tế bào lympho T biểu thị CTLA-4. CTLA-4 gắn vào CD80 và CD86. CTLA-4 gắn vào CD80 và CD86 mạnh hơn là gắn với CD28. Việc gắn CD80 hoặc CD86 vào CD28 là cần thiết để hoạt hoá tế bào lympho T. Ngược lại, CD80 hoặc CD86 gắn mạnh vào CTLA-4 tạo ra ức chế hoạt hoá tế bào lympho T. Như vậy các tín hiệu kép cung cấp cho tế bào lympho T thông qua CD28 và CTLA-4 điều chỉnh việc

hoạt hoá tế bào lympho T một cách có hiệu quả. Khi vắng mặt CD28, tế bào lympho T không được hoạt hoá; còn khi vắng mặt CTLA-4 thì sự hoạt hoá tế bào lympho T không được kiểm soát.



Hình 6.5. Đáp ứng của tế bào lympho T

(được điều chỉnh bởi sự kết hợp các chuỗi của những phần tử bề mặt trên tế bào lympho T với các receptor trên bề mặt của phần tử trình diện kháng nguyên; liên kết của CD: 28 với CD: 80 hoặc 86 hoạt hoá tế bào lympho T, liên kết của CTLA với các phần tử này có tác dụng ngược lại)

1.2.2. Sự chuyển tín hiệu

Bước đầu tiên sau khi kháng nguyên gắn vào TCR là chuyển một tín hiệu từ các chuỗi α và β của TCR gắn với kháng nguyên cho chuỗi chuyển tín hiệu của CD3 và chuỗi ζ . Sự chuyển tín hiệu này đưa đến hoạt hoá ba tyrosinekinase trong bào tương: đó là fyn, ick và ZAP-70. Các tyrosinekinase sẽ phosphoryl hoá và như vậy hoạt hoá một phospholipase C của màng tế bào. Phospholipase C thuỷ phân phosphatidylinositol bisphosphate để sản xuất hai chất truyền tin thứ cấp, đó là inositol triphosphate và diacylglycerol. Sau đó inositol triphosphate giải phóng ion canxi từ các cơ quan bên trong tế bào và mở đường dẫn qua màng tế bào để cho Ca^{2+} vào trong tế bào. Lượng canxi trong tế bào tăng lên. Tăng canxi cung cấp một trong hai tín hiệu cần thiết để hoạt hoá tế bào. Canxi cũng có tác dụng làm chuyển proteinkinase C từ trong bào tương tới màng tế bào, ở đó proteinkinase được diacylglycerol hoạt hoá. Ick tyrosinekinase cũng hoạt hoá một con đường được gọi là ras thúc đẩy gene của IL-2 sao chép. Hoạt hoá proteinkinase cũng kích thích một số gene trong tế bào lympho T. Như vậy một số yếu tố sao chép điều chỉnh sự biểu thị gene sẽ được tác động và được hoạt hoá. Những yếu tố này bao gồm NF-kB, AP-3, NF-AT, c-for và c-jun. c-for được cảm ứng do kháng nguyên kích thích TCR, trong khi c-jun được cảm ứng do gắn vào IL-1. Các protein for và jun kết hợp với

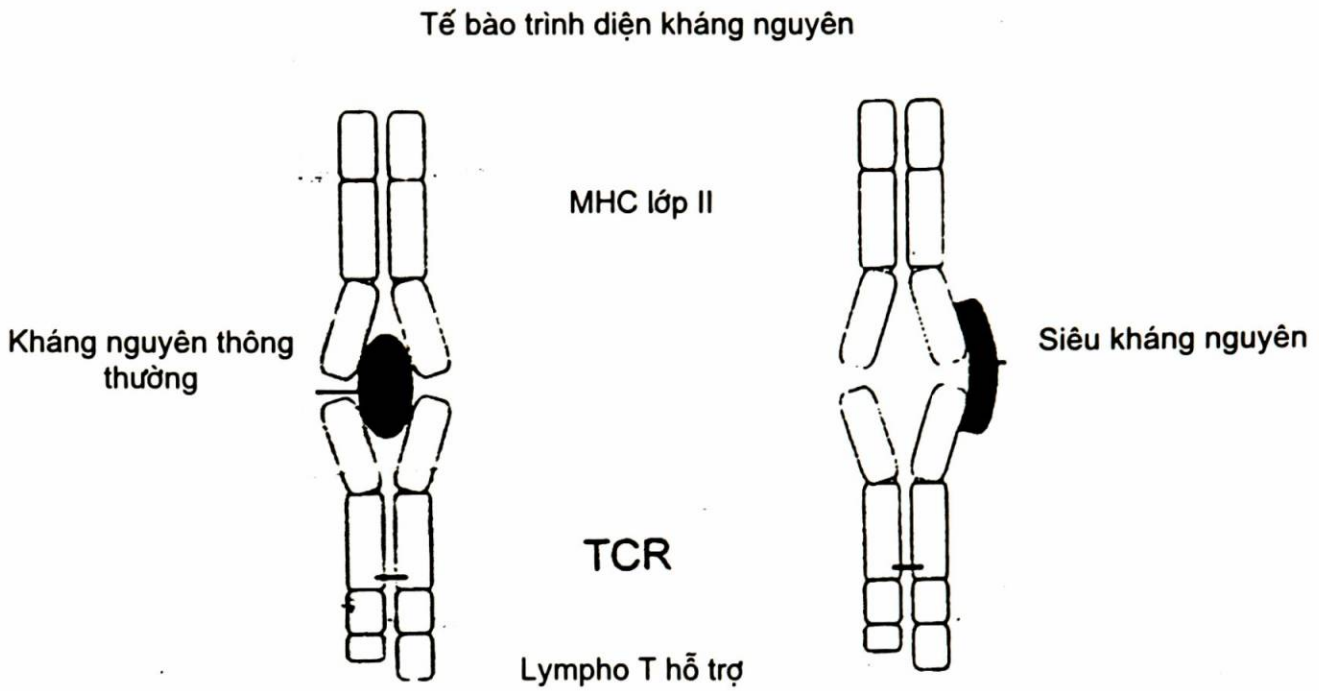
nhau để tạo thành một chuỗi peptide không đồng nhất gọi là AP-1. AP-1 có ái lực mạnh với DNA và có tác dụng là chất điều chỉnh sao chép, gây ra một tín hiệu thứ cấp hoạt hoá các gene cho một số lượng lớn protein mới bao gồm IL-1, IL-2R, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6 và interferon γ . Hiệu quả của màng lưới này là: tế bào lympho T được phóng đại, đi vào chu trình tế bào và tiết nhiều protein mới. Khi tế bào lympho T được hoạt hoá do tiếp xúc với kháng nguyên thích hợp thì chúng cũng biểu thị protein bề mặt là CD71. CD71 kết hợp với transferin, liên kết với sắt của nó. Phức hợp này được chuyển vào trong bào thể (cytosol), ở đó sắt được chuyển cho ferritin trong khi apotransferrin được tái sản xuất trên bề mặt tế bào. Tế bào cần sắt để phân chia. Nó cần thiết để thực hiện những chức năng phù hợp của các vi ống tế bào.

Trên thực tế, tế bào lympho T có thể được hoạt hoá từng phần để chúng biểu thị một phần chứ không phải toàn bộ các chức năng.

1.2.2.1. Các siêu kháng nguyên (Superantigen)

Khi tế bào lympho T tiếp xúc với một kháng nguyên lạ thì thường chỉ có một tỷ lệ nhỏ quần thể (không quá 1/10.000 số tế bào có TCR) có thể kết hợp với kháng nguyên và đáp ứng với kháng nguyên đó. Tuy nhiên, một số protein của vi sinh vật là trường hợp đặc biệt, chúng có thể kích thích phân chia tới tỷ lệ cao hơn 1/5 số tế bào. Những kháng nguyên có tác dụng mạnh này được gọi là siêu kháng nguyên (superantigen). Tất cả các kháng nguyên này có nguồn gốc từ vi sinh vật như *Streptococcus*, *Staphylococcus*, virus gây u vú ở chuột, virus dại và có thể cả virus gây thiếu hụt miễn dịch ở người (HIV). Ở chuột, một số phần tử trên bề mặt (được gọi là các kháng nguyên kích thích tế bào lympho nhỏ) cũng có tác dụng là siêu kháng nguyên. Những siêu kháng nguyên này là siêu kháng nguyên nội sinh, là sản phẩm của các gene của retrovirus hoà nhập. Sự đáp ứng với siêu kháng nguyên không bị hạn chế của MHC, nhưng sự có mặt của MHC lại cần thiết để cho đáp ứng đạt hiệu quả. Các siêu kháng nguyên kết hợp với TCR mang một số vùng V_{β} . Không giống như kháng nguyên thông thường cần phải gắn với một phần tử MHC và một TCR một cách rất chính xác, các siêu kháng nguyên chỉ cần gắn vào vùng V_{β} của TCR và một phần tử lớp II của MHC trên tế bào trình diện kháng nguyên. Do vậy nó liên kết chéo rất chặt tế bào lympho T với tế bào trình diện kháng nguyên. Siêu kháng nguyên không gắn vào rãnh kết hợp kháng nguyên của phần tử MHC lớp II mà gắn vào một nơi khác trên bề mặt của nó (hình 6.6).

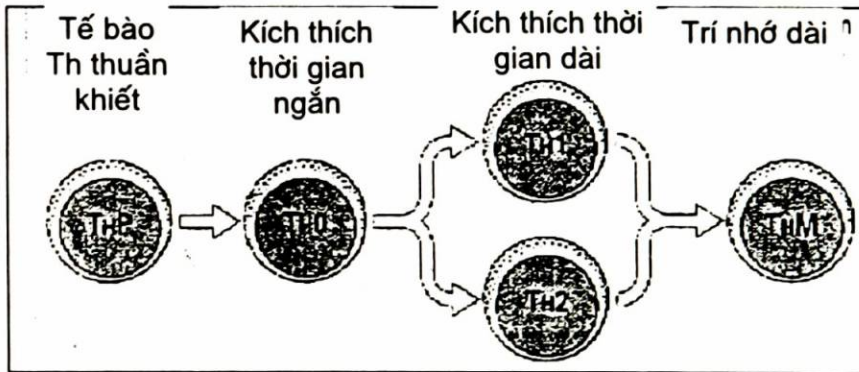
Sự kết hợp rất mạnh này gây ra một đáp ứng mạnh của tế bào lympho T. Đây có thể là một đáp ứng thông thường gắn liền với việc tiết một số lượng lớn cytokin không bình thường hoặc cũng có thể biểu thị hiện tượng dung nạp. Do một tỷ lệ lớn tế bào lympho T bị siêu kháng nguyên kích thích, sự dung nạp này có thể kém đặc hiệu hơn nhiều so với dung nạp do những kháng nguyên thông thường gây ra. Như vậy độc tố ruột của *Staphylococcus* có thể làm mất hoạt tính của phần lớn tế bào lympho T có vùng $V_{\beta}8$. Siêu kháng nguyên có thể kích thích tiết một lượng lớn cytokin gây ra hội chứng sốc do tác dụng độc.



Hình 6.6. Sự khác nhau ở việc kết hợp với TCR của các loại kháng nguyên (kháng nguyên thường gắn vào rãnh giữa chuỗi α , β và siêu kháng nguyên chỉ gắn vào chuỗi β).

1.2.2.2. Các tiểu quần thể tế bào lympho T hỗ trợ

Có hai tiểu quần thể lympho T hỗ trợ riêng mà ta có thể phân biệt bằng hỗn hợp cytokin do chúng tiết ra. Chúng được gọi là tế bào lympho T hỗ trợ 1 (Th1) và tế bào lympho T hỗ trợ 2 (Th2) (hình 6.7).



Hình 6.7. Sự biệt hoá tế bào Th của chuột

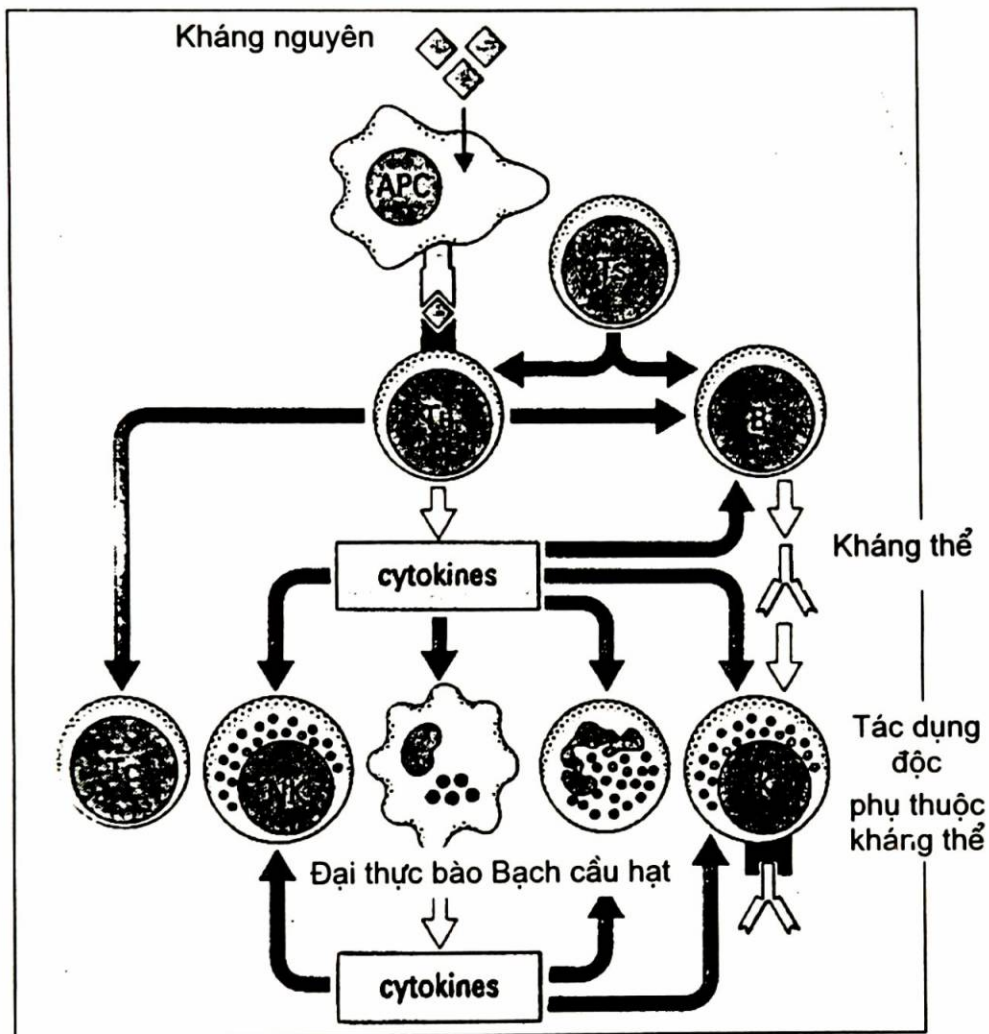
Những tiểu quần thể này đáp ứng với kháng nguyên và chất đồng kích thích do các tế bào trình diện kháng nguyên khác nhau đưa ra, thí dụ tế bào Th2 đáp ứng tốt nhất với kháng nguyên do đại thực bào trình diện và đáp ứng kém hơn với kháng nguyên do tế bào lympho B trình diện. Tế bào Th2 được hoạt hoá đặc biệt do tín hiệu phát sinh qua các phân tử đồng kích thích CD86 (B7-2). Còn tế bào Th1 lại đáp ứng tốt nhất với kháng nguyên do tế bào lympho B trình diện sử dụng các phân tử đồng kích thích CD80 (B7-1). Tỷ lệ của các tế bào trình diện kháng nguyên này có thể quyết định bản chất đáp ứng của tế bào lympho T.

1.2.2.3. Các tế bào lympho

Tế bào Th1 có đặc điểm là tiết IL-2, tiết interferon γ (IFN - γ) và tiết lymphoxin (IFN - β) vài giờ sau khi bị kháng nguyên, CD80 và IL-12, kích thích. Mặc dù những lymphokine này có thể thúc đẩy tế bào lympho B tăng sinh và tiết immunoglobulin (đặc biệt các kháng thể IgM và IgG 2a) nhưng chúng không kích thích sự hình thành kháng thể đặc hiệu.

Tác dụng chủ yếu của những tế bào lympho Th1 hỗ trợ đáp ứng miễn dịch tế bào (như phản ứng quá mẫn muộn và hoạt hoá đại thực bào). Vì vậy chúng làm tăng sức đề kháng của cơ thể với những vi sinh vật nằm trong tế bào (như *Mycobacterium* chẳng hạn).

Tế bào Th1 thiếu receptor của IL-1 và không đáp ứng với IL-1. Tuy nhiên điều nghịch lý là IL-2 có nguồn gốc từ Th1 lại có thể kích thích đại thực bào tiết IL-1 vì vậy làm tăng hoạt hoá tế bào Th2. IL-4 của Th2 điều chỉnh giảm tác dụng của IL-2 trên đại thực bào và ức chế khu vực này (hình 6.8.a).



Hình 6.8.a. Vai trò trung tâm của tế bào Th trong miễn dịch tế bào

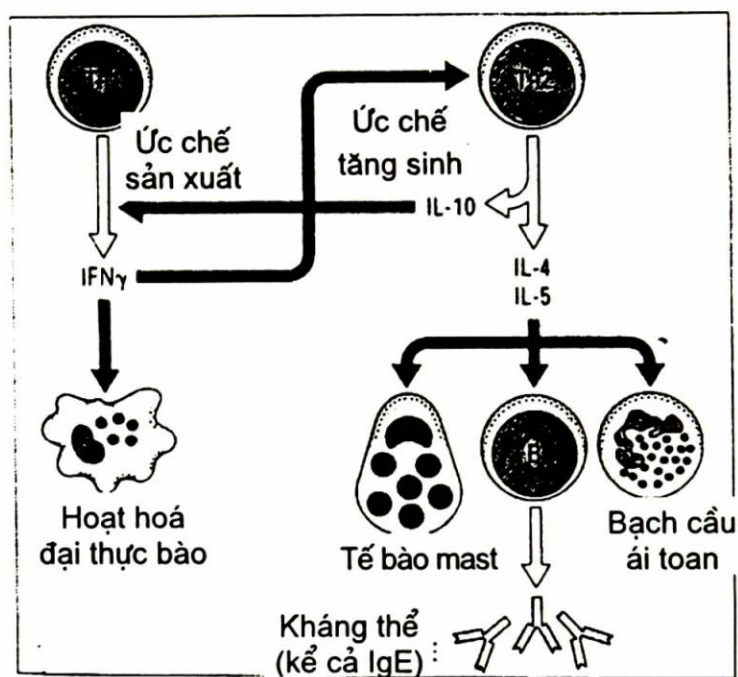
1.2.2.4. Các tế bào Th2

Vài ngày sau khi tiếp xúc với kháng nguyên, tế bào Th2 tiết IL-4, IL-5, IL-10 và IL-13, CD86 và IL-1 (hình 6.8.b).

Hỗn hợp cytokin này kích thích tế bào lympho B tăng sinh và tiết immunoglobulin nhưng không có tác dụng đến phản ứng quá mẫn muộn hoặc những phản ứng khác của miễn dịch tế bào. Cytokin từ tế bào Th2 nuôi cấy có khả năng làm tăng sự sản xuất IgG1 và IgA của tế bào lympho B lên 20 lần và của IgE đến 1000 lần. Đáp ứng của Th2 gắn liền việc tăng miễn dịch với nội ký sinh trùng như giun đũa chó (*Toxocara canis*) nhưng làm giảm sức đề kháng với *Mycobacterium* và vi sinh vật khác nằm trong tế bào. Tế bào Th2 có receptor của IL-1 và cần IL-1 của đại thực bào hoặc tế bào đuôi gai làm chất đồng kích thích.

1.2.2.5. Các tế bào Th0

Quần thể lympho T hỗ trợ thứ ba tiết cytokin tiêu biểu cho cả Th1 và Th2 được gọi là Th0.



Hình 6.8.b. Chọn lọc cơ chế tác động của các tế bào Th1 và Th2

Đây có thể là tiền tế bào của Th1 và Th2 hoặc là tế bào ở giai đoạn quá độ giữa hai quần thể này. Th0 tiết cả IL-2, IL-4, IL-5 và IFN - γ . Một số tế bào tiết IL-2 có thể trở thành tế bào tiết IL-4 sau khi tiếp xúc với kháng nguyên cho thấy có một interleukin thay đổi phenotype từ Th1 thành Th2. Các phân tử kiểm soát sự chuyển đổi này là IL-1 và IL-12. Khi nuôi cấy với sự có mặt của IL-4, tế bào Th0 trở thành tế bào Th2 còn khi nuôi cấy với sự có mặt của IL-12, chúng trở thành tế bào Th1.

1.2.2.6. Các tiểu quần thể tế bào lympho T hỗ trợ ở những loài có vú khác

Mặc dù có ba quần thể tế bào lympho T hỗ trợ rõ rệt ở chuột, ở người nhưng với những gia súc khác thì sự khác biệt không rõ như vậy. Ở bò, một tỷ lệ cao tế bào có CD4+ sản xuất nhiều cytokin bao gồm IL-2, IL-4, IL-10 và INF- γ và như vậy chúng giống với Th0. Tuy nhiên, tế bào lympho T ở người và bò thúc đẩy đáp ứng miễn dịch tế bào với kháng nguyên của *Mycobacterium* có phenotype giống Th1 và chủ yếu tiết IL-2 và IFN - γ . Ngược lại, tế bào lympho T của người và bò đáp ứng với kháng nguyên gây

dị ứng hoặc kháng nguyên của giun sán như sán lá gan (*Fasciola hepatica*) lại giống như Th2 và tiết IL-4.

1.2.2.7. Các tế bào lympho T có chuỗi Gamma và Delta

Khoảng 1 -3% tế bào lympho trong máu ngoại vi của người và chuột ; 60% của loài nhai lại có TCR chứa chuỗi γ và δ . Người và chuột có tế bào lympho T chưa trưởng thành mang TCR gắn γ/δ . Những tế bào này có khả năng di chuyển từ tuyến ức ra tạo thành quần thể ở da, tuyến vú, cơ quan sinh sản và thành ruột. Tế bào lympho T có γ/δ có thể phá huỷ nhiều loại tế bào đích khác nhau như hồng cầu gà, tế bào nhiễm *Mycobacterium* và một số tế bào trong bệnh bạch cầu. Chúng tiêu biểu cho dòng tế bào bảo vệ đầu tiên tham gia vào quá trình chống lại một số vi khuẩn. Tế bào lympho T của người và của chuột lại kém đa dạng hơn và có thể ít quan trọng. Ngược lại, các chuỗi γ/δ ở loài nhai lại có tỷ lệ cao trong quần thể tế bào lympho T và có khả năng kết hợp phong phú với nhiều kháng nguyên cho thấy chúng có vai trò rất quan trọng về chức năng. Ở loài nhai lại, các chuỗi γ của TCR khác nhau về sự đồng nhất của chúng trong cấu tạo so với ở người và chuột; tuy nhiên các chuỗi δ thì lại tương tự. Tế bào lympho T có γ/δ ở cừu trưởng thành trong tuyến ức, thu được WC1 và chuyển vào vùng tuỷ; tại đó chúng liên kết với các tiểu thể của tuyến ức. Rời khỏi tuyến ức, những tế bào này lại tiếp tục tái tuần hoàn ở các bề mặt biểu mô như biểu mô da, biểu mô ruột và máu. Như vậy chúng chuyển qua hạch lympho từ mạch lympho hướng tâm đến mạch ly tâm và trở lại máu qua dòng lympho. Những tế bào này nằm chủ yếu ở các phần da gần với lớp đáy của biểu bì, ở da gần với nang lông và tuyến bã nhờn. Thường thì chúng không có ở vùng da được lông bao phủ nhưng có với số lượng lớn ở vùng da không có lông. Biểu mô ruột chứa nhiều tế bào này. Chúng cũng có mặt trong biểu mô của mũi, thực quản, khí quản và bàng quang. Người ta cho rằng tế bào lympho T có γ/δ tùy thuộc vào hình thức chọn lọc khẳng định hay phủ định như đã áp dụng đối với tế bào lympho T có α/β ở loài nhai lại; chính những tế bào có γ/δ này có đáp ứng ưu thế trong số các tế bào lympho cho thấy chúng có khả năng nhận diện kháng nguyên lạ kết hợp với MHC và cũng có thể có tác dụng gây độc. Đã phát hiện thấy những tế bào lympho T có TCR chứa γ/δ xâm nhập vào tổn thương của mụn mủ và xung quanh nang sán dây *Taenia hydatigena* trong gan. Tế bào lympho T của lợn có 3 dạng TCR, riêng có γ/δ dựa vào đồng dạng của chuỗi γ có trọng lượng phân tử 37, 38 và 46 kDa. Tế bào lympho T có γ/δ có thể là tiểu quần thể lympho T trong tập hợp các tế bào lympho T tuần hoàn của lợn (nơi có nhiều tế bào lympho là những tế bào có CD4- CD8-). Có thể số lượng cao tế bào có CD4- CD8 ở lợn và loài nhai lại là bình thường, nhưng số lượng cao của những tế bào này ở chuột và người lại là không bình thường. Tế bào lympho T có γ/δ có thể cần thiết để cho một đáp ứng miễn dịch tế bào sớm ở động vật mà immunoglobulin của nó không qua được nhau thai.

1.2.2.8. Những con đường khác

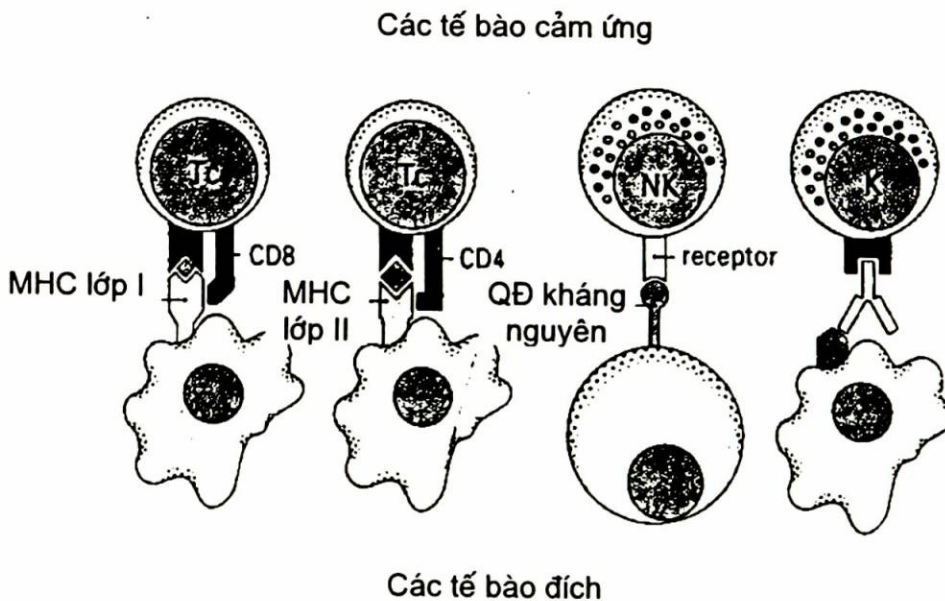
Ngoài con đường hoạt hoá đã nêu còn có những con đường khác hoạt hoá tế bào lympho T. Đường quan trọng nhất là thông qua CD2. Kháng thể chống CD2 có thể dễ dàng làm tế bào lympho T phân chia. CD2 kết hợp với CD58 ở tế bào bên cạnh, CD58 cùng với chất đồng kích thích có thể hoạt hoá tế bào có CD2+. Do CD2 xuất hiện sớm trong quá trình phát triển nên nó có thể hoạt hoá những tế bào chưa phát triển phức hợp TCR-CD3. Con đường này có thể tạo khả năng cho đáp ứng của các tế bào đối với kháng nguyên bằng con đường thông thường. Hoạt hoá tế bào lympho T ở người thông qua con đường của CD2 có thể làm biểu thị receptor của IL-2 và IFN γ . Những protein bề mặt khác tham gia kích thích tế bào lympho T bao gồm CDw90 (Thy-1), CD59 và CD 28. Kháng thể đối với bất kỳ phân tử nào trong những phân tử này cũng đều có thể thúc đẩy tế bào lympho T phân chia.

2. CHỨC NĂNG CỦA TẾ BÀO LYMPHO T VÀ TÁC DỤNG PHÁ HUỖ CÁC KHÁNG NGUYÊN LIÊN KẾT VỚI TẾ BÀO

Kháng thể được tế bào lympho B sản xuất, có khả năng kết hợp và nhanh chóng loại bỏ những kháng nguyên tự do trong máu. Tuy nhiên, không phải phân tử lạ chỉ khu trú trong dịch ngoại bào. Tất cả các virus và nhiều vi khuẩn có thể sinh trưởng bên trong tế bào - nơi kháng thể không đến được vì vậy mà kháng thể ít có tác dụng trong việc chống những vi sinh vật này. Chúng được loại bỏ bởi hai quá trình: Một là các tế bào chứa vi sinh vật ấy bị tiêu diệt rất nhanh và do vậy tác nhân gây nhiễm không kịp sinh trưởng; hai là tế bào bị nhiễm biến đổi hoặc bị hoạt hoá làm cho chính nó có khả năng tiêu diệt vi sinh vật đang ở trong tế bào. Cả hai quá trình này chịu sự điều khiển trực tiếp hoặc gián tiếp của tế bào lympho T; kháng nguyên gây ra đáp ứng này là nội kháng nguyên.

2.1. Các nội kháng nguyên

Mỗi lần một protein được một tế bào sản xuất, chế biến rồi được đưa đến các phân tử MHC lớp I trên bề mặt tế bào (hình 6.9).



Hình 6.9. Tác dụng gây độc tế bào

Nếu peptide đó không được tế bào lympho T nhận diện thì không gây ra đáp ứng. Tuy nhiên, nếu phức hợp peptide - MHC kết hợp với TCR thì một đáp ứng sẽ xảy ra. Tế bào lympho T đáp ứng với nội kháng nguyên biểu thị CD8 trên bề mặt. CD8 là chất gắn đặc hiệu cho các phân tử MHC lớp I.

2.2. Chết tế bào

Các tế bào có quá trình chết tế bào. Số lượng tế bào mới được sản xuất ra tương đương với số tế bào chết đi. Như vậy một động vật phải có khả năng loại bỏ những tế bào già, tế bào chết và tế bào không bình thường. Có thể thấy chết tế bào không phải ngẫu nhiên mà là một quá trình chủ động được xác định rõ, phản ánh một số đặc điểm gọi là chết sinh lý (apoptosis). Chết sinh lý có các đặc điểm riêng khác với chết bệnh lý hoặc hoại tử. Thí dụ tế bào đang hấp hối do chết sinh lý có chất nhiễm sắc của nhân đặc lại sát với màng tế bào; tế bào nhăn nheo lại do mất nước và tách khỏi những tế bào xung quanh. Cuối cùng các thành phần trong nhân cũng như bào tương biến đổi hình thành những phần đặc trưng gọi là các thể gây chết để rồi chúng nhanh chóng bị đại thực bào gắn đó thực bào, phá huỷ. Những tế bào trên vỡ ra không giải phóng các chất chứa tế bào; và sự thực bào vừa nói trên không dẫn đến viêm. Do vậy chết sinh lý tế bào không làm tổn thương đến tế bào hoặc tổ chức kề bên. Chết sinh lý tế bào do nhiều tác nhân gây ra, thường gặp trong sự phát triển của cơ thể, ở đó các yếu tố sinh trưởng ngừng tác động. Trong miễn dịch thể hiện rõ rệt nhất là tác dụng gây độc do tế bào lympho T gây ra. Một số vi sinh vật lại gây nên biến đổi quá trình với mục đích riêng của chúng, ví dụ như vi khuẩn *Shigella flexneri* gây chết sinh lý những đại thực bào bị nhiễm. Hiện tượng đầu tiên trong chết sinh lý tế bào là tăng canxi bên trong tế bào, làm hoạt hoá các enzyme, khởi xướng một loạt biến đổi về cấu trúc, bao gồm một endonuclease làm rối loạn DNA của tế bào. Một đặc điểm đặc trưng của chết sinh lý tế bào là phá vỡ DNA thành một số lượng lớn các phân tử có trọng lượng phân tử thấp chứa khoảng 200 cặp bazơ. Việc DNA vỡ thành nhiều mảnh nhỏ có tác dụng cô đặc chất nhiễm sắc. Các enzyme khác được hoạt hoá bao gồm protease làm giáng hoá protein của bào tương và xương. Chết tế bào là hiện tượng phụ thuộc năng lượng và cần nguồn năng lượng như ATP.

2.2.1. Các đáp ứng gây độc của tế bào lympho T

Khi một tế bào có kháng nguyên nội sinh được tế bào lympho T có CD8+ nhận diện thì sẽ có một đáp ứng làm chết sinh lý tế bào trình diện kháng nguyên đó. Vì vậy những tế bào lympho T đó được gọi là tế bào lympho T gây độc. Tế bào này bảo vệ cơ thể bằng cách phá huỷ phần tử lạ (tế bào từ mảnh ghép lạ) hoặc những tế bào đã bị biến đổi (như tế bào nhiễm virus).

Tế bào lympho T gây độc có khả năng gây chết sinh lý bất kỳ tế bào nào mà nó nhận diện. Đây là một quá trình được kiểm soát chặt chẽ vì ít nhất cần có hai và có thể ba tế bào tương tác mới cho đáp ứng của tế bào lympho T có hiệu quả. Chúng bao gồm một tế bào biểu thị nội kháng nguyên trên bề mặt (tế bào đích), tế bào T gây độc có CD8+ và một tế bào Th. Tế bào lympho T gây độc này nhận hai tín hiệu chủ yếu. Đầu tiên IL-2 được tế bào Th1 tiết ra. IL-2 gắn vào receptor trên tế bào lympho T có CD8+ làm cho chúng tạo ra nhiều receptor hơn cho IL-2. Tín hiệu thứ hai bắt nguồn từ phức

hợp của MHC lớp I với nội kháng nguyên của tế bào bị biến đổi kết hợp với phức hợp TCR- CD8 của tế bào lympho T. Sự kết hợp của những tín hiệu này làm DNA tổng hợp và phân chia. Các tế bào lympho T đáp ứng phân chia, cuối cùng biệt hoá thành những quần thể tế bào ghi nhớ và tế bào gây độc. Tế bào lympho T gây độc lớn hơn tế bào lympho T chưa bị kích thích và ưa pyronin phản ánh sự có mặt của nhiều ribosom và khả năng tổng hợp protein của chúng.

Một khi được hoạt hoá đầy đủ, tế bào lympho T gây độc sẽ gây chết sinh lý ở tế bào đích của chúng thông qua hai con đường. Con đường thứ nhất là do sự tham gia của một protein gọi là Perforin. Con đường thứ hai là do một receptor (CD95 hay fas) trên bề mặt tế bào điều khiển. Các tác dụng trên chỉ xảy ra trong khoảng cách rất ngắn và phải có sự tiếp xúc sinh lý giữa tế bào lympho T gây độc và tế bào đích của nó. Khi hai con đường này bị phá hỏng, tác dụng độc của tế bào lympho T bị mất hoàn toàn.

2.2.1.1. Con đường perforin

Gây chết sinh lý tế bào ở tế bào đích qua con đường này được chia thành hai pha: kết dính, chết tế bào.

Pha kết dính

Tế bào lympho T gây độc cần phải gắn vào tế bào đích của chúng để gây chết. Tế bào lympho T gây độc có CD8 là một phần của phức hợp TCR. Khi TCR kết hợp với một peptide gắn với phân tử MHC lớp I thì phân tử CD8 kết hợp với phân tử MHC lớp I này. Kết hợp ấy cần thiết để đáp ứng của tế bào lympho T gây độc có hiệu quả. Trong thí nghiệm đã phát hiện thấy kháng thể chống CD8 phong toả sự nhận diện tế bào đích. Tác dụng phong toả của kháng thể chống CD8 này có thể được khắc phục bằng cách tăng hoặc nồng độ MHC hoặc kháng nguyên trên bề mặt của tế bào đích. Như vậy có thể vai trò của phân tử CD8 đơn giản là làm tăng sự kết hợp giữa tế bào lympho T với tế bào đích của nó. Nếu receptor của tế bào lympho T có ái lực rất cao đối với tế bào đích thì CD8 có thể không cần thiết chút nào. Trong trường hợp này TCR một mình có thể cung cấp cho cả kháng nguyên và bản thân MHC tính đặc hiệu trên tế bào biểu thị nó.

Ngoài tín hiệu từ phức hợp kháng nguyên – MHC - CD8, để có đáp ứng tốt nhất thì tế bào lympho T gây độc cần thiết một tín hiệu bổ sung được chuyển từ nó đến tế bào đích. Cũng như tế bào lympho T hỗ trợ có CD4, tế bào lympho T gây độc có CD8 sẽ được hoạt hoá tốt nhất khi receptor trên bề mặt CD28 của nó kết hợp với CD86 trên tế bào đích. Tín hiệu bổ sung tạo ra từ kết hợp CD28-CD86 có thể làm cho tế bào lympho T gây độc giết chết tế bào đích ngay cả khi không có IL-2 của tế bào Th1. Các khối u hoặc tế bào nhiễm virus biểu thị CD86 sẽ miễn cảm với tác dụng gây chết của tế bào lympho T gây độc hơn nhiều so với những tế bào đích không biểu thị phân tử này và do đó khối u biểu thị CD86 nhanh chóng bị phá huỷ bởi tế bào lympho T gây độc. Sự kết dính bổ sung giữa tế bào lympho T gây độc với tế bào đích của chúng cũng được các liên kết giữa CD2 và CD58, CD11a/CD18 và ICM-1 điều khiển.

Các chất chứa của tế bào lympho T gây độc

Hạt của tế bào lympho T gây độc có hai loại; hạt loại I có dày đặc những hạt điện tử; hạt loại II có nhiều nang nhỏ. Hai phân tử cần thiết cho quá trình gây độc là Perforin và granzyme kết hợp với proteoglycan ở hạt loại I.

Perforin

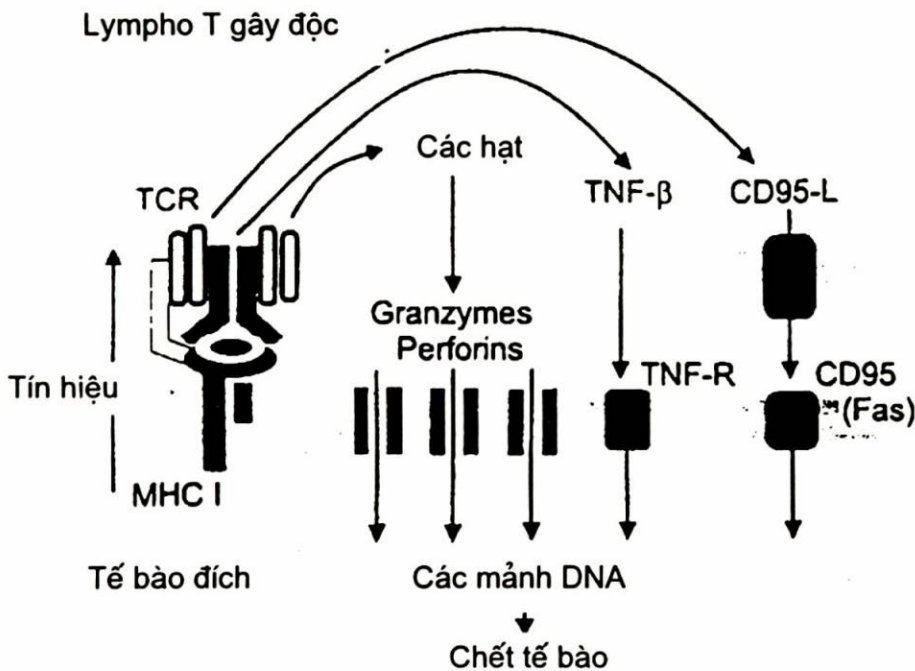
Perforin có trong hạt loại 1 của tế bào lympho T gây độc. Chúng cũng có trong tế bào diệt tự nhiên nhưng không có trong đại thực bào hoặc bạch cầu hạt. Perforin là những protein trùng hợp có ở màng ngoài của tế bào đích tạo ra một cấu trúc lớn, có dạng vòng gọi là phức hợp tấn công màng (MAC- membrane attack complex). Hai perforin đã được xác định là: perforin P1 gây ra những tổn thương lớn ở màng tế bào đích (16nm) và perforin P2 (được tìm thấy ở tế bào diệt tự nhiên) gây ra những tổn thương nhỏ (5-7nm). Perforin có quan hệ họ hàng với C9, có tác dụng tương tự như C9 (một phần tử hình thành phức hợp tấn công màng của bổ thể).

Granzyme

Granzyme là một họ có ít nhất 11 esterase, chiếm khoảng 90% toàn bộ chất chứa hạt trong các hạt loại I. Granzyme có thể gây chết sinh lý nếu chúng vào được trong tế bào; chất này tác dụng thông qua phức hợp tấn công màng (MAC) của perforin.

Tác dụng gây chết tế bào

Khởi xướng chết sinh lý của tế bào đích gọi là tác dụng gây chết (lethal hit). Bước thứ nhất trong quá trình này xảy ra vài phút sau khi tế bào lympho T kết hợp với tế bào đích do phức hợp các hạt trong tế bào lympho T và bộ máy golgi chuyển đến vị trí tiếp xúc. Sau khi tế bào lympho T tiếp xúc với tế bào đích và cung cấp tín hiệu thích hợp, hạt của tế bào lympho T được giải phóng tại khu vực tiếp xúc tế bào. Khi hạt tiếp xúc với tế bào đích, perforin và granzyme của chúng được giải phóng. Perforin trùng hợp ngay (khoảng 12-18 chuỗi perforin đơn tập hợp với nhau) thành polyperforin và gắn vào màng tế bào đích để hình thành phức hợp tấn công màng. Sau đó granzyme vào trong tế bào đích (có thể là xuyên qua lỗ giữa phức hợp tấn công màng). Granzyme làm tăng nhanh Ca^{2+} trong tế bào và phân DNA của tế bào đích thành các mảnh nhỏ (hình 6.10).



Hình 6.10. Cơ chế của tác dụng gây độc do tế bào lympho T

Sự phân chia này là do hoạt hoá một nuclease ở tế bào đích. Vài giây sau khi tiếp xúc giữa tế bào lympho T với tế bào đích, các cơ quan nội bào và nhân của tế bào đích thể hiện những biến đổi chết tế bào. Tế bào lympho T sau đó tách rời ra và tiếp tục di chuyển để tìm tế bào đích khác. Song tại sao tế bào lympho T gây độc không bị phá huỷ trong quá trình gây chết này thì vẫn còn là vấn đề chưa được sáng tỏ. Có thể là perforin có định hướng cẩn thận đối với tế bào đích hoặc là các hạt chất hướng đến tế bào đích nhờ TCR.

2.2.1.2. Con đường CD95

Chết sinh lý tế bào là một quá trình rất quan trọng trong hoạt động bình thường của hệ thống miễn dịch. Như vậy, việc phá huỷ tế bào lympho tuyến ức (thymocyte) có phản ứng với bản thân ở động vật, tác dụng gây độc của cytokin của tế bào lympho T có CD8+ và yếu tố gây hoại tử khối u (TNF) trên tế bào đích được điều khiển bởi quá trình chết sinh lý này. Trong quá trình ấy, một glycoprotein gian bào có trọng lượng phân tử 45 kDa gọi là CD95 hay fas đóng vai trò chủ yếu. Khi được gắn vào chất gắn thích hợp, CD95 truyền tín hiệu cho một tế bào làm cho tế bào đó bị chết sinh lý.

Chất gắn của CD95 hay của fas (CD95L) là một protein gian bào có họ hàng với TNF và được biểu thị trên tế bào lympho T hoạt hoá (chủ yếu là tế bào lympho T có CD8+) cũng như tế bào diệt tự nhiên. Khi có sự kết hợp giữa tế bào biểu thị CD95L với tế bào đích biểu thị CD95 sẽ đưa đến hậu quả là làm cho tế bào đích chết. CD95L vì vậy là yếu tố gây chết và CD95 là receptor của nó. Hệ thống CD95 có vai trò điều khiển tác dụng gây độc do tế bào lympho T. Như vậy tế bào lympho T gây độc CD8+ biểu thị nồng độ cao CD95L và có thể gây chết tế bào khi chúng tiếp xúc với tế bào đích CD95+. Biểu thị của CD95 trên tế bào đích là điều kiện tiên quyết cho tế bào lympho T gây độc phá huỷ tế bào đích. Hệ thống CD95 cũng điều khiển sự phát triển tế bào lympho T. Ở chuột, nếu gene mã hoá cho CD95 bị đột biến gây thiếu hụt tăng sinh tế bào lympho thì không thấy biểu thị CD95 trên tế bào lympho tuyến ức của chúng. Do vậy tế bào lympho tuyến ức không bị chết sinh lý (chọn lọc phủ định) và được giải phóng vào các cơ quan lympho ngoại vi; ở đó chúng tăng sinh quá mức và gây ra bệnh tại những cơ quan này. Do tế bào phản ứng với bản thân không bị phá huỷ, rất nhiều trong số chúng phản ứng với kháng nguyên bản thân và cuối cùng là những chuột này bị mắc bệnh tự miễn dịch.

2.2.1.3. Những con đường khác

TNF- β , một cytokin do tế bào lympho T gây độc tiết ra có thể có cách tác dụng tương tự cách tác dụng của CD95L. Được sản xuất từ tế bào lympho T bị kích thích của kháng nguyên, TNF- β tác dụng theo hai cách. Nó có thể hoặc kết hợp với một protein gọi là LT β trên màng tế bào lympho T để hình thành một phức hợp giết chết tế bào đích khi tiếp xúc, hoặc dạng tiết gắn với một trong hai receptor trên tế bào đích và gây chết tế bào. Receptor của TNF được biểu thị ở phần lớn các loại tế bào. Sự biến đổi gây chết khởi đầu 2 hoặc 3 giờ sau. Sau 16 giờ, hơn 90% các tế bào đích tiếp xúc với TFN bị chết.

Sự điều hoà tác dụng gây độc

Khi một tế bào lympho T gây độc gặp một tế bào đích, điều kiện tiên quyết phải là cả hai tế bào này có chung các phân tử MHC lớp I. Đây là một ví dụ về tính hạn chế của MHC và phản ánh sự cần thiết để tế bào lympho T nhận dạng kháng nguyên trên tế bào đích liên kết với một phân tử MHC lớp I. IL-2, IL-3, IL-4 và IL-6 làm tăng tác dụng của Perforin ở các tế bào lympho T gây độc lên 2-14 lần. TNF- α và IFN- γ tác dụng với mức độ thấp hơn.

2.2.1.4. Tác dụng gây độc do các quần thể tế bào lympho T có CD8

Có hai quần thể tế bào lympho T CD8+ được xác định bằng cytokin do chúng tiết ra. Quần thể T1 có đặc điểm đặc trưng là tiết IFN- γ , trong khi quần thể T2 tiết IL-5. Hai quần thể đều có tác dụng gây độc. Tuy nhiên trong khi tế bào T1 sử dụng cả hai đường gây độc (perforin và CD95) thì tế bào T2 chỉ sử dụng đường perforin. Tác dụng gây độc do perforin điều hành chủ yếu là phá huỷ tế bào nhiễm virus còn đường CD95 được sử dụng để điều hoà sự phát triển của tế bào lympho T.

2.2.1.5. Các cơ chế gây độc khác

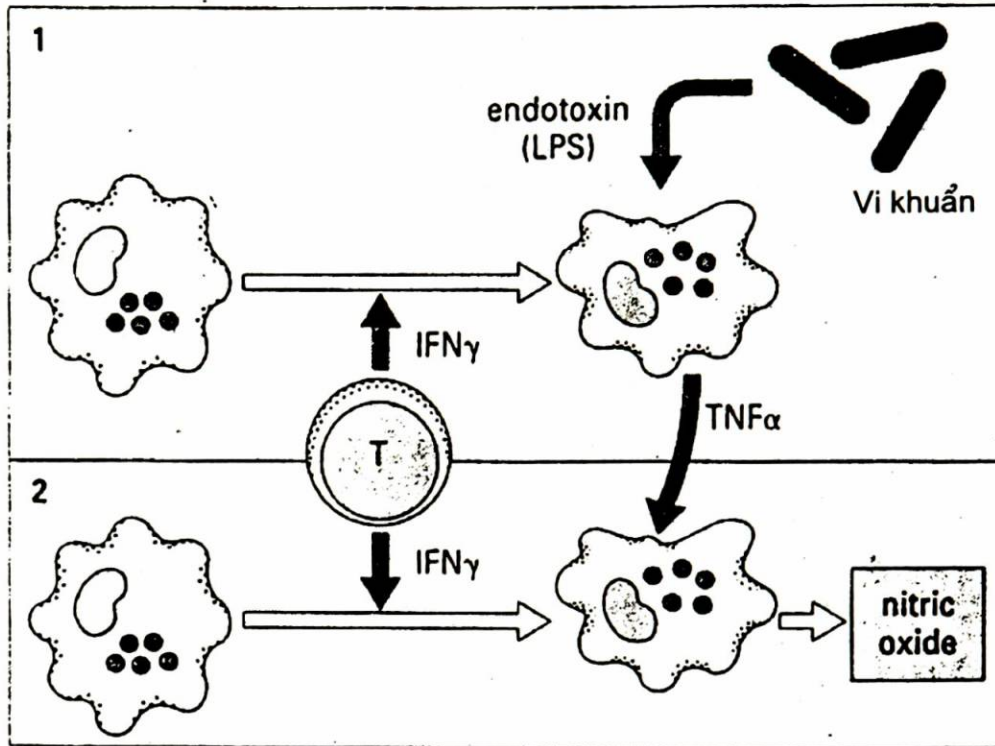
Tác dụng gây độc do tế bào lympho T điều khiển không phải là con đường duy nhất để hệ thống miễn dịch phá huỷ các tế bào không bình thường; còn có cơ chế khác. Tế bào có Fc γ RI hoặc Fc γ RII kết hợp với tế bào đích lạ hoặc vi khuẩn thông qua kháng thể đặc hiệu và trở nên có tác dụng độc. Những tế bào này bao gồm bạch cầu đơn nhân, bạch cầu ái toan, bạch cầu trung tính, tế bào lympho B và tế bào diệt tự nhiên. Cơ chế tác dụng gây độc của những tế bào phụ thuộc kháng thể này vẫn chưa rõ. Tuy nhiên bạch cầu ái toan, bạch cầu trung tính có thể tác dụng thông qua cơ chế hô hấp làm phá huỷ màng của tế bào đích. Tác dụng gây độc do tế bào phụ thuộc kháng thể tác dụng có hiệu quả kém hơn so với tác dụng gây độc do tế bào lympho T trực tiếp điều hành và phải mất ít nhất 6-18 giờ mới có đáp ứng. Sự tham gia của đại thực bào trong phản ứng gây độc do tế bào phụ thuộc kháng thể này tùy thuộc vào mức độ biểu thị FcR và mức độ hoạt hoá của nó. Các cytokin hoạt hoá đại thực bào như IFN- γ hoặc GM-CSF làm tăng tác dụng gây độc do tế bào phụ thuộc kháng thể của đại thực bào nhưng IL-2, IL-3, IL-4, IL-6 và TNF- α không có tác dụng này.

Trong những điều kiện khác, đại thực bào có thể phá huỷ tế bào đích trong một quá trình chậm không phụ thuộc kháng thể. Thí dụ khi thực bào vi khuẩn hoặc ký sinh trùng, đại thực bào giải phóng nitric oxide và TNF- α . Nitric oxide có tác dụng gây độc đối với vi khuẩn và tế bào ung thư gần đó. TNF- α có tác dụng gây độc đối với một số khối u. Tác dụng gây độc không đặc hiệu của đại thực bào có thể là do tiết C3b, các peroxide hoặc protease gây độc.

2.3. Phản ứng miễn dịch do các tế bào khác điều hành

Tiêu diệt tế bào bị nhiễm bằng cách gây chết tế bào là cơ chế bảo vệ chủ yếu, nhưng đôi khi không cần thiết đến mức độ cao như vậy mà chỉ cần đủ để hoạt hoá một tế bào bị nhiễm để nó có thể tự bảo vệ mình. Các vi khuẩn như *Listeria monocytogenes*, vi khuẩn

lao *Mycobacterium tuberculosis*, vi khuẩn gây sẩy thai truyền nhiễm *Brucella abortus* và một số nguyên sinh động vật như *Toxoplasma gondii* có thể sống sót và nhân lên trong đại thực bào bình thường. Khi đó kháng thể cũng như kháng huyết thanh không có tác dụng đối với vi sinh vật nhưng lúc này truyền tế bào lympho lại cho tác dụng bảo vệ. Tác dụng bảo vệ cơ thể chống nhiễm vi sinh vật như vậy là do hoạt hoá đại thực bào sau khi kích thích các tế bào Th1 (hình 6.11).



Hình 6.11. Sự hoạt hoá đại thực bào cần sự tương tác của một số lymphokin

Bình thường, đại thực bào ở động vật chưa được kích thích thì không có khả năng tiêu diệt vi sinh vật. Khả năng thu được như vừa nêu trên của đại thực bào xuất hiện ở động vật đã bị nhiễm vi sinh vật khoảng 10 ngày. Sự hoạt hoá do cytokin của tế bào Th1, interferon γ và IL-2 gây ra. IFN- γ là chất gây hoạt hoá mạnh đại thực bào và đặc biệt có hiệu quả khi được bổ sung bằng cách tiếp xúc với các sản phẩm của vi sinh vật như nội độc tố, muramyl dipeptide và carbohydrate của vách tế bào (lucan, mannan). Nhiều khi sự hoạt hoá là một quá trình có nhiều giai đoạn. Thí dụ, interferon khởi xướng việc hoạt hoá đại thực bào trong phản ứng viêm đầu tiên, tiếp theo đó những đại thực bào đã khởi động này lại được các sản phẩm của vi khuẩn hoạt hoá.

IL-2 cũng có tác dụng hoạt hoá đại thực bào. Đại thực bào có IL-2R có thể được hoạt hoá không cần phải kích thích. Đại thực bào được IL-2 hoạt hoá tiết IL-1 β , TNF- α , IL-6 và IL-8 với số lượng tăng dần. Chúng cũng phát triển tác dụng gây độc chống khối u không phải do perforin điều hành. Sự hoạt hoá đại thực bào bởi IL-2 bị ức chế của IFN- γ , TGF- β và IL-4. Tế bào Th1 và tế bào diệt tự nhiên làm tăng tác dụng hoạt hoá đại thực bào của IFN- γ còn tế bào Th2 lại ức chế tác dụng này. Thí dụ cytokin có nguồn gốc đại thực bào như TNF- α và IL-12 kích thích tế bào diệt tự nhiên tiết IFN- γ . Các IFN- γ có nguồn gốc từ tế bào diệt tự nhiên này lại hoạt hoá đại thực bào. Đồng thời kháng

nguyên được đại thực bào trình diện cho tế bào Th1 sẽ kích thích tế bào lympho tiết IFN- γ và IL-2 nhiều hơn. IL-2 làm tăng khả năng hoạt động của TNF- α , IL-12 và kích thích tế bào diệt tự nhiên nhiều hơn nữa làm tăng IFN- γ và làm tăng hoạt hoá đại thực bào. Quá trình này cuối cùng bị tác dụng của IL-4, IL-10 và IL-13 (do tế bào Th2 tiết ra) điều chỉnh cho giảm xuống. Đại thực bào hoạt hoá tăng tiết protein. Chúng giải phóng TNF- α cũng như protease tác dụng cục bộ để hoạt hoá các thành phần của bổ thể, đồng thời tiết interferon, IL-1 cũng như thromboplastin, prostaglandin, fibronectin, chất hoạt hoá plasminogen và các thành phần bổ thể C2 và B. IL-12 cũng được tiết làm tăng sự phát triển của tế bào Th1. Đại thực bào hoạt hoá sẽ biểu thị nhiều hơn những phân tử MHC lớp I trên bề mặt và khả năng chế biến kháng nguyên của chúng cũng tăng lên.

Đại thực bào được hoạt hoá sẽ to ra, xì xì hơn, tạo giả túc nhiều hơn và tăng ẩm bào. Chúng di chuyển nhanh hơn trong đáp ứng với kích thích hướng động hoá học; chứa nhiều enzyme của lysosome cũng như các chất chuyển hoá do hô hấp và có khả năng thực bào tốt hơn những tế bào bình thường. Đại thực bào hoạt hoá tăng khả năng tiêu diệt vi sinh vật khu trú trong tế bào hoặc khối u bằng cách sản sinh nitric oxide. Nitric oxide có thể phá huỷ tế bào khối u gần đó và ký sinh trùng nằm trong tế bào. Đại thực bào do IFN- γ hoạt hoá có thể ức chế sự sinh trưởng của một số vi khuẩn trong tế bào bằng cách điều chỉnh giảm sút. Chúng làm giảm sút do điều chỉnh giảm receptor của transferin (CD71) của chính mình làm cho transferin được đưa vào tế bào ít hơn dẫn đến giảm dự trữ feritin trong tế bào (feritin là protein dự trữ sắt ở đại thực bào). Tất cả những biến đổi này đưa đến kết quả cuối cùng là làm tăng khả năng tiêu diệt vi sinh vật của tế bào.

Ở người và chuột một tỷ lệ lớn tế bào lympho T có chuỗi γ/δ nhận diện được *Mycobacterium*. Những tế bào lympho T có chuỗi γ/δ được vi khuẩn lao (*Mycobacterium tuberculosis*) hoạt hoá biểu thị IL-2R, tiết IL-2 và có thể làm tiêu tan tế bào bị nhiễm *Mycobacterium tuberculosis*.

2.4. Phản ứng quá mẫn muộn

Khi tiêm một số kháng nguyên vào cơ thể một động vật đã mẫn cảm thì sau nhiều giờ sẽ có một đáp ứng viêm xảy ra tại vị trí tiêm. Phản ứng quá mẫn muộn này không thể truyền từ con vật mẫn cảm sang con vật bình thường bằng huyết thanh. Phản ứng đó là do tế bào lympho T điều khiển và là do sự tương tác giữa kháng nguyên tiêm vào với những tế bào lympho T được mẫn cảm. Một thí dụ rõ rệt về phản ứng quá mẫn muộn này là phản ứng ở da của một cá thể bị lao khi tiêm kháng nguyên tuberculin vào nội bì.

2.5. Các tế bào lympho T ghi nhớ

Khi tế bào lympho T đáp ứng với kháng nguyên bằng cách sản xuất tế bào lympho T gây độc thì tế bào lympho T ghi nhớ cũng được tạo ra. Khác với tế bào lympho T bình thường, tế bào lympho T ghi nhớ có một số kháng nguyên khác trên bề mặt tế bào và tiết ra một hỗn hợp các cytokin khác nhau; đồng thời biểu thị CD2 và CD11/CD18 nhiều hơn so với tế bào lympho T bình thường. Tế bào lympho T ghi nhớ đáp ứng mạnh hơn

với kích thích của TCR. Tuy nhiên chúng tiết IL-2 ít hơn và ít tăng sinh hơn. Do đáp ứng với virus ở động vật non thường dẫn đến miễn dịch kéo dài, người ta cho rằng trí nhớ miễn dịch đã được giữ ở những tế bào có đời sống dài này.

3. TẾ BÀO LYMPHO B

Hệ thống miễn dịch được chia làm hai phần dựa vào sự cần thiết để nhận diện các phân tử lạ khác nhau xâm nhập vào cơ thể. Một số phân tử lạ xâm nhập vào cơ thể và phát triển trong dịch ngoại bào. Những kháng nguyên lạ này bị hệ thống kháng thể tiêu diệt. Kháng thể do tế bào lympho B sản xuất. Tế bào lympho B được tìm thấy trong miễn dịch của hạch bạch huyết, trong vùng rìa của lách, trong tuỷ xương và trong mảng Peyer của ruột. Chỉ một lượng nhỏ tế bào lympho B tuần hoàn trong máu. Mỗi tế bào lympho B mang những receptor cho kháng nguyên giống như nhau. Do tất cả các receptor trên một tế bào giống như nhau, mỗi tế bào chỉ gắn và đáp ứng với một quyết định kháng nguyên. Những receptor này được sản sinh trong quá trình phát triển của tế bào lympho B. Nếu một tế bào lympho B gặp một quyết định kháng nguyên, nó sẽ gắn với kháng nguyên bằng receptor thích hợp và sẽ phản ứng bằng cách sản xuất kháng thể.

3.1. Các receptor của kháng nguyên trên tế bào Lympho B

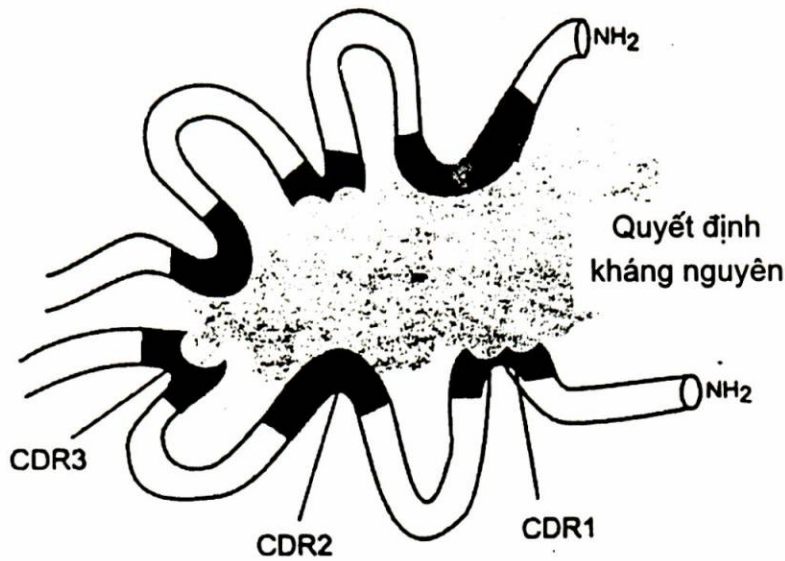
Mỗi tế bào lympho B có khoảng 200.000 - 500.000 receptor của kháng nguyên (BCR). Ngoài kết hợp với kháng nguyên đặc hiệu và chuyển tín hiệu gây ra đáp ứng của tế bào lympho B, BCR còn điều hành việc thực bào kháng nguyên, làm phân giải protein kháng nguyên và biểu thị các mảnh peptide trên phân tử MHC lớp II. Tế bào lympho B như vậy có hai chức năng. Chúng đáp ứng với kháng nguyên bằng cách sản xuất kháng thể đồng thời còn có tác dụng là những tế bào trình diện kháng nguyên. BCR là một phức hợp glycoprotein thuộc họ immunoglobulin. BCR thuộc cùng một loại receptor giống như TCR. Cũng giống như TCR, BCR có thể chia thành hai thành phần khác nhau, một thành phần kết hợp với kháng nguyên, còn thành phần kia thì chuyển tín hiệu thích hợp cho tế bào lympho B. Tuy nhiên không giống như TCR, BCR có thể kết hợp với kháng nguyên khi được giải phóng từ bề mặt của tế bào lympho B. Kháng thể là dạng hoà tan của BCR do tế bào lympho B tiết vào các dịch của cơ thể. Tất cả chúng đều thuộc một loại protein gọi là globulin miễn dịch (Immunoglobulin).

3.1.1. Bộ phận kết hợp kháng nguyên

Cấu trúc của BCR hoặc immunoglobulin hoà tan là một glycoprotein 160 kDa có 4 chuỗi polypeptide. Hai trong số những chuỗi này có trọng lượng phân tử trong khoảng 50 và 60 kDa, gọi là chuỗi nặng. Còn hai chuỗi khác chỉ khoảng 25 kDa được gọi là chuỗi nhẹ (hình 6.12.a).

Mỗi đôi chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ này giống nhau. Vùng có tận cùng C của chuỗi nặng được lồng vào một lớp lipide kép ở trên bề mặt của tế bào lympho B. Chuỗi nhẹ có chiều dài chỉ bằng một nửa chuỗi nặng và được nối với nửa có tận cùng N của chuỗi nặng bằng cầu nối disulfide làm cho phân tử này có hình chữ Y. Góc của chữ Y (mảnh Fc) gắn vào tế bào lympho B. Nhánh của chữ Y (mảnh Fab) kết hợp với kháng nguyên.

Các vị trí kết hợp kháng nguyên tạo nên một rãnh giữa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ. Như vậy khác với TCR, mỗi BCR có hai vị trí kết hợp kháng nguyên.



Hình 6.12.a. Vị trí kết hợp kháng nguyên trên phân tử immunoglobulin

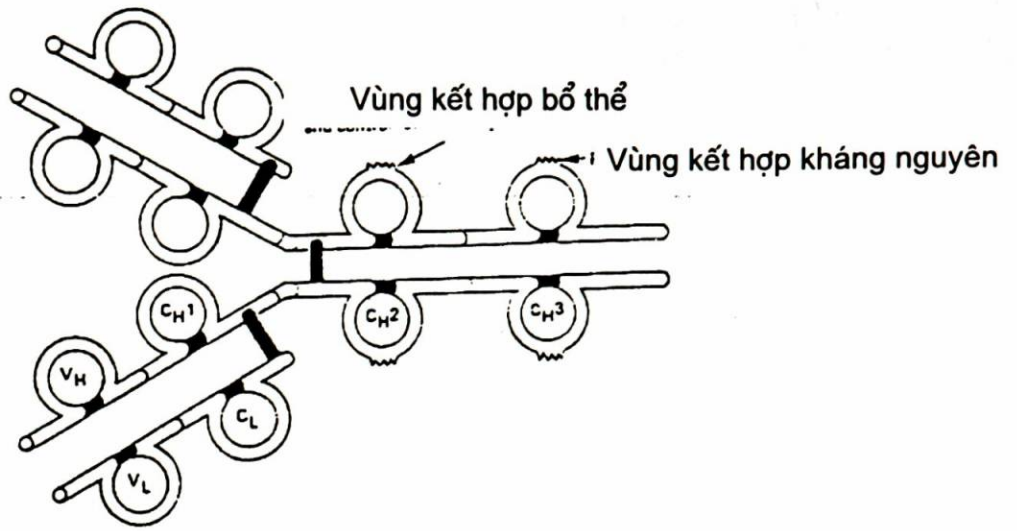
3.1.1.1. Các chuỗi nhẹ

Mỗi chuỗi nhẹ có hai khu vực, mỗi một khu vực có khoảng 110 amino acid. Các chuỗi amino acid ở khu vực có tận cùng là C của mỗi chuỗi nhẹ thì giống nhau; ngược lại, các chuỗi amino acid trong khu vực có tận cùng N lại khác nhau. Do vậy những khu vực này của chuỗi nhẹ được gọi là vùng hằng định (C_L) và vùng thay đổi (V) tương ứng. Có hai loại chuỗi nhẹ khác nhau, được gọi là κ (kappa) và λ (lamda), có các chuỗi amino acid rất khác nhau. Tỷ lệ của chuỗi κ so với λ trong immunoglobulin khác nhau giữa các loài. Chuột và chuột cống có 95% chuỗi κ trong khi mèo và chó có 90% là chuỗi λ . Bò và ngựa có 95% là chuỗi λ .

3.1.1.2. Các chuỗi nặng

Chuỗi nặng của một immunoglobulin điển hình có khoảng 450- 500 amino acid. Chuỗi amino acid của khu vực có tận cùng N rất thay đổi và gọi là vùng thay đổi (V_H). Các vùng còn lại khác nhau rất ít về chuỗi và tạo nên vùng hằng định (C_H) (hình 6.12.b).

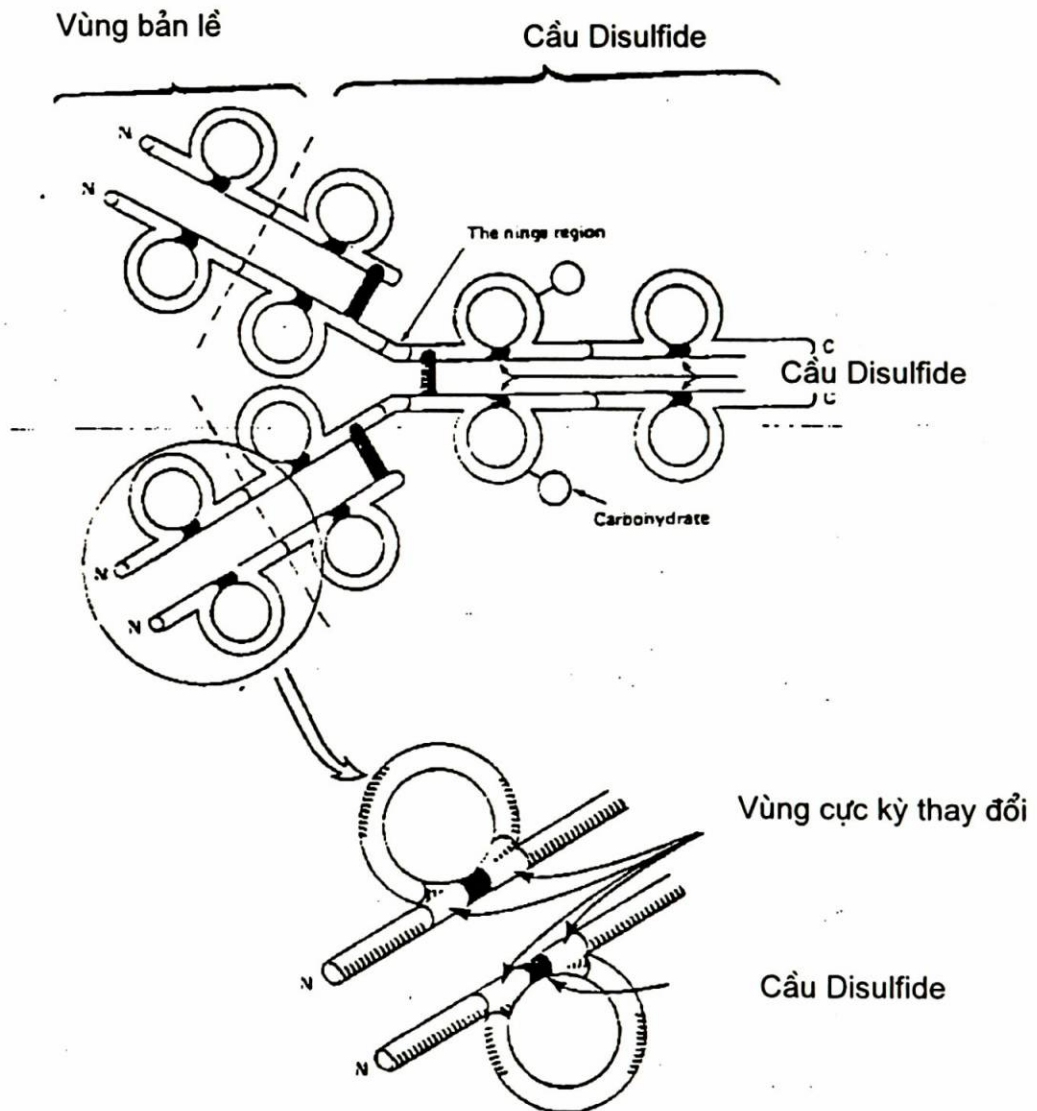
Có 5 chuỗi nặng khác nhau của immunoglobulin được gọi là α , γ , δ , ϵ và μ . Những chuỗi này xác định lớp immunoglobulin. Các immunoglobulin có hai chuỗi nặng α gọi là immunoglobulin A (IgA). Các immunoglobulin có hai chuỗi nặng γ gọi là IgG. Có hai lớp immunoglobulin tác dụng là BCR trên tế bào lympho B chưa trưởng thành. Mỗi đơn vị của IgM có hai chuỗi nặng μ và IgD có hai chuỗi nặng δ . Khi có một đáp ứng miễn dịch được tạo ra và tế bào lympho B bắt đầu đáp ứng bằng cách thay đổi các chuỗi nặng ở BCR. Trong lách và hạch lympho, tế bào lympho B được kích thích ngừng sản xuất BCR, sử dụng chuỗi nặng γ để tạo IgG. Trên bề mặt cơ thể, tế bào lympho B sử dụng chuỗi nặng α để sản xuất IgA và chuỗi nặng ϵ để sản xuất IgE.



Hình 6.12.b. Các khu vực trên một phân tử IgG

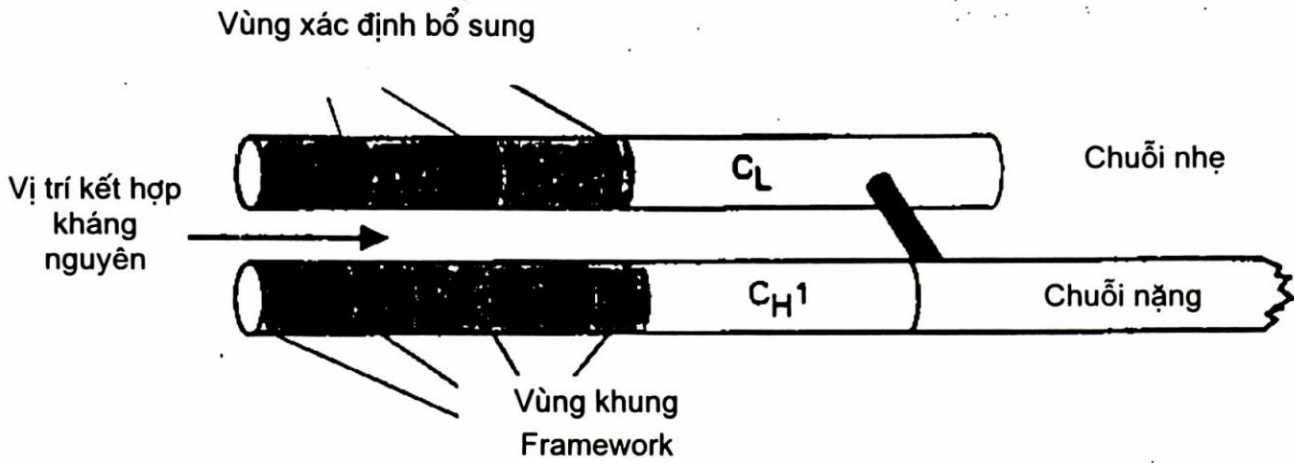
3.1.2. Vùng thay đổi

Các chuỗi amino acid ở phần lớn các khu vực trong vùng V của immunoglobulin của cả chuỗi nặng và chuỗi nhẹ có hai đặc điểm rõ rệt. Đặc điểm thứ nhất: sự biến đổi về chuỗi được đóng khung trong ba vùng nhỏ hơn trong toàn bộ khu vực thay đổi (hình 6-13). Đó là vùng cực kỳ thay đổi (hypervariable region).



Hình 6.13. Các khu vực trên một phân tử IgG

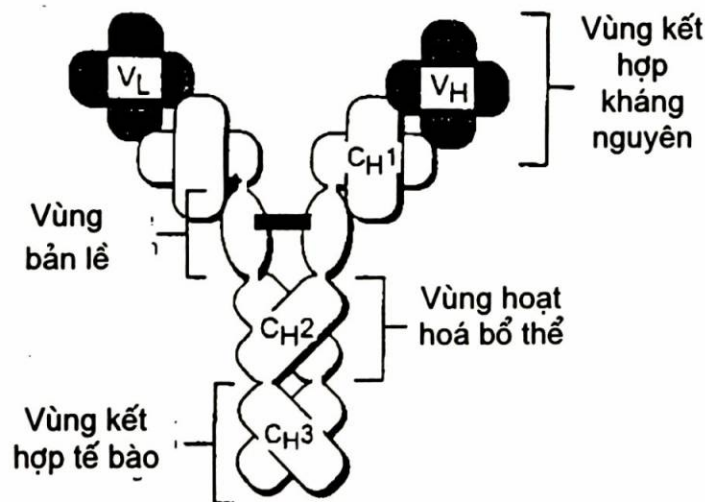
Đặc điểm thứ hai là giữa các vùng cực kỳ thay đổi có các phần tương đối hằng định gọi là vùng khung (frame work region). Vùng cực kỳ thay đổi xác định hình dạng của vị trí kết hợp kháng nguyên, vùng này còn được gọi là paratope và quyết định immunoglobulin sẽ kết hợp với quyết định kháng nguyên nào, còn được gọi là vùng xác định bổ sung (CDR- complementarity determining region). Mỗi CDR tương đối ngắn, chỉ có 6-10 amino acid. Mỗi khu vực của vùng V gấp lại theo cách để cho CDR tiếp xúc được với kháng nguyên (hình 6.12.a và 6.14).



Hình 6.14. Sự sắp xếp các vùng xác định bổ sung và vùng khung

3.1.3. Vùng hằng định

Có ba khu vực hằng định trong chuỗi nặng λ . Chúng được gắn vào cuối phân tử cùng N, đó là các vùng C_{H1} , C_{H2} , C_{H3} . Sự sắp xếp này cũng tương tự ở chuỗi α . Chuỗi ϵ và μ còn có một vùng hằng định bổ sung gọi là C_{H4} . Do vậy các khu vực trong mảnh Fc của IgM và IgE lớn hơn của IgG và IgA. Chuỗi nặng là chuỗi đôi trong đó các khu vực đi với nhau thành từng cặp để tạo thành những vùng chuyên biệt trong phân tử immunoglobulin. Những khu vực đôi này có thể làm thành một cấu trúc mà phân tử kháng thể có thể sử dụng chức năng sinh học của chúng. Như vậy V_H và V_L tạo ra một vùng đôi để kết hợp kháng nguyên còn C_{H1} và C_L có tác dụng hiệp đồng cùng với nhau để ổn định vị trí kết hợp kháng nguyên. Các khu vực cặp đôi C_{H2} của IgG có một vị trí để hoạt hoá bổ thể và một vị trí để kết hợp với receptor của mảnh Fc trên tế bào thực bào (hình 6.15).



Hình 6.15. Sơ đồ của một phân tử IgG

Cấu trúc của chuỗi nặng cũng có tác dụng điều chỉnh việc truyền IgG qua nhau thai và tác dụng gây độc tế bào do kháng thể điều khiển. Tuy nhiên, tác dụng này có thể là do hoạt động kết hợp của một số khu vực.

3.1.4. Vùng bản lề

Một đặc điểm quan trọng của BCR và kháng thể là các khu vực của mảnh Fab có chứa những vị trí kết hợp kháng nguyên có thể di động và có thể dao động tự do xung quanh trung tâm của phân tử như dao động của bản lề. Vùng bản lề này bao gồm một khu vực nhỏ khoảng 12 amino acid nằm giữa C_H1 và C_H2 , chứa một lượng lớn các phân ưa nước và proline. Những phân ưa nước này làm cho chuỗi peptide không gấp lại và như vậy làm cho vùng này dễ dàng tiếp cận với enzyme phân giải protein. Protease có thể phân cắt phân tử kháng thể chính tại vùng này. Đây cũng là vùng có cầu disulfide giữa các chuỗi. Proline, do hình dạng của nó, tạo ra một cung 90° khi được lồng vào trong chuỗi polypeptide. Các amino acid có thể quay tự do xung quanh cầu nối peptide. Proline xếp cách nhau một cách chặt chẽ tạo ra một khớp nối vạn năng và các chuỗi immunoglobulin có thể dao động tự do xung quanh nó.

3.1.5. Bộ phận chuyển tín hiệu

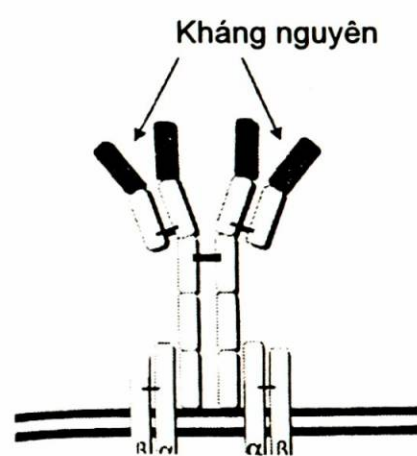
Các immunoglobulin receptor của tế bào lympho B không thể truyền tín hiệu do trong bào tương chỉ chứa ba amino acid. Tuy nhiên, khu vực C_H4 của receptor này và các khu vực trong màng liên kết với chuỗi peptide đôi không đồng nhất Ig- α (CD79a) và Ig- β (CD79b) có những khu vực mở rộng trong bào tương và có tác dụng là chất truyền tín hiệu (hình 6.16).

Ig- α và Ig- β là những protein có trọng lượng phân tử 47 và 37 kDa. Các chuỗi Ig- β giống nhau, còn các chuỗi Ig- α khác nhau về mối liên kết đường với chuỗi nặng μ , γ và δ nên có đường chuyển tín hiệu riêng.

Ig- α và Ig- β là thành phần của siêu họ immunoglobulin. Chúng có khu vực C gắn với khu vực tận cùng là N trên chuỗi nặng của BCR. Phần nằm trong bào tương của phân tử Ig- α và Ig- β cũng như CD3 và các chuỗi ζ của TCR có chuỗi amino acid giống nhau. Chuỗi này gắn liền với một số tyrosinkinase.

3.1.6. Sự chuyển tín hiệu

Kháng nguyên gắn vào BCR, đặc biệt là nếu hai receptor được nối chéo sẽ hoạt hoá tyrosinkinase và làm phosphoryl hoá một số protein khác như phospholipase C và có thể cả protein G. Cũng như ở TCR, các phản ứng này được điều chỉnh bởi tyrosinephosphate của CD45, tiếp theo đó thuỷ phân phosphatidylinositol và huy động canxi làm hoạt hoá proteinkinase C và hoạt hoá sự sao chép của một số gene, bao gồm phân tử MHC lớp II, transferrin, receptor CD71 và các yếu tố sao chép *c-fos* và *c-myc*. Cần có hai tín hiệu trở lên cho việc



Hình 6.16. Cấu tạo của một BCR hoàn chỉnh (có bộ phận kết hợp kháng nguyên và các bộ phận chuyển tín hiệu)

cảm ứng tế bào lympho B để chúng tăng sinh vì riêng liên kết chéo các receptor của kháng nguyên thì không đủ tác dụng. Tiếp theo, sự kết hợp của CD19, CD40, IL2 hoặc IL4 cũng như sự tiếp xúc với tế bào lympho T hỗ trợ cần thiết để hoạt hoá đầy đủ tế bào lympho B. Điều đó cho thấy kháng nguyên cung cấp tín hiệu để hoạt hoá tế bào lympho B và T (đang ở trạng thái nghỉ) đi vào chu trình gián phân; các tín hiệu tiếp theo (như IL2 và IL4) sẽ làm cho những tế bào đã được hoạt hoá đó đi vào giai đoạn phân chia.

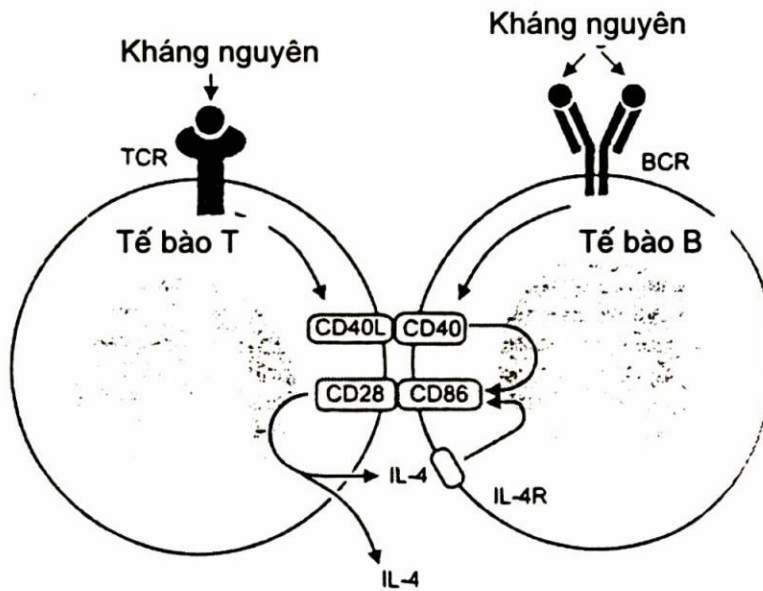
3.2. Sự đồng kích thích

3.2.1. Phức hợp CD19/CD21

Mặc dù BCR phải kết hợp với kháng nguyên để tế bào lympho B được kích thích, tuy nhiên không chỉ cần riêng sự kết hợp này mà còn cần một số tín hiệu bổ sung giữa các tế bào. Có thể kể đến như tín hiệu được chuyển giữa CD19 trên bề mặt tế bào lympho B với CD21 trên tế bào lympho T hỗ trợ. Sự chuyển tín hiệu này xảy ra gần với BCR để cho tín hiệu được sản sinh ra từ các receptor có tác dụng hiệp đồng với nhau. Sự kết hợp giữa BCR với CD19/CD21 làm tăng sự bền vững của mối tương tác và làm giảm ngưỡng kích thích ở receptor của kháng nguyên khoảng 100 lần.

3.2.2. Phức hợp CD40/CD40L

Tín hiệu thứ ba cần thiết cho hoạt động tốt nhất của tế bào lympho B được tế bào lympho T hỗ trợ cung cấp (hình 6.17).



Hình 6.17. Chuỗi phản ứng xảy ra khi một tế bào lympho B tương tác với một tế bào lympho T hỗ trợ

CD40 có trên các tế bào trình diện kháng nguyên như tế bào lympho B, tế bào đuôi gai và đại thực bào được hoạt hoá. CD40L có trên tế bào lympho T hỗ trợ được hoạt hoá. CD40L kết hợp với CD40 trên bề mặt tế bào lympho B và liên kết với cytokin như IL-4 để hoạt hoá tế bào lympho B. Tín hiệu được tế bào lympho tiếp nhận này là tín hiệu chủ yếu cho sự hoạt động và sống sót của nó. Chuyển tín hiệu do CD40 điều khiển đưa đến sản xuất Bcl-2, một phân tử ngăn cản hiện tượng chết tế bào (Apoptosis) của tế bào lympho B. Chức năng của BCR tương tự với TCR ở nhiều khía cạnh. Thí dụ CD 19 có

chức năng receptor tương tự CD4 và CD8. Tất cả đều là thành phần của siêu họ immunoglobulin. Mỗi thành phần đó liên kết với một tyrosinekinase và đóng vai trò làm giảm ngưỡng kích thích của kháng nguyên đối với receptor. Receptor cho kháng nguyên của tế bào lympho B có khả năng kết hợp với kháng nguyên giống như các phân tử kháng thể. Nó có thể kết hợp với những phân tử kháng nguyên tự do còn nguyên vẹn trong dịch thể. Sự kết hợp này khác với TCR. TCR chỉ có thể kết hợp và đáp ứng đối với kháng nguyên đã được xử lý và trình diện trên phân tử MHC. Sự khác nhau về khả năng nhận diện kháng nguyên của tế bào lympho B và tế bào lympho T quan trọng ở chỗ tế bào lympho B đáp ứng mạnh hơn nhiều với nhiều kích thích kháng nguyên khác nhau so với tế bào lympho T. Như vậy, kháng thể không chỉ trực tiếp chống những sản phẩm được phân giải của kháng nguyên mà còn chống lại các phân tử kháng nguyên nguyên vẹn. Có nghĩa là mối tương tác kháng nguyên kháng thể phụ thuộc vào cấu trúc ba chiều của kháng nguyên. Kháng thể kháng những phân tử kháng nguyên nguyên vẹn sẽ chỉ kết hợp với phân tử kháng nguyên nguyên vẹn đó và không thể gắn với phân tử protein đã bị phân giải (thí dụ như protein được sản sinh ra do chế biến của đại thực bào).

3.3. Tế bào lympho T hỗ trợ và tế bào lympho B

Loại bỏ tuyến ức hoặc tuyến fabricius ở động vật sơ sinh sẽ hạn chế khả năng đáp ứng miễn dịch. Loại bỏ tuyến ức gây suy giảm cả miễn dịch tế bào và miễn dịch dịch thể, trong khi loại bỏ tuyến fabricius ở chim chỉ ức chế miễn dịch dịch thể. Để tế bào lympho B đáp ứng tốt nhất còn cần thiết có tế bào Th. CD4 trên bề mặt tế bào lympho T hỗ trợ lại cần thiết để đáp ứng với những peptide nguồn gốc từ ngoài vào gắn trên phân tử MHC lớp II ở tế bào trình diện kháng nguyên. Tế bào lympho T đáp ứng có CD4+ này hoạt hoá tế bào lympho B đặc hiệu với kháng nguyên qua hai giai đoạn riêng biệt: Ở giai đoạn đầu, tế bào lympho B tiếp xúc với tế bào lympho T được điều khiển của kháng nguyên. Kháng nguyên gắn vào MHC và CD19 là rất cần thiết. Ở giai đoạn hai, tế bào lympho T hỗ trợ giải phóng cytokin, thí dụ interleukin 4 kích thích sự biệt hoá của tế bào lympho B.

3.3.1. Giai đoạn 1: Mối tương tác giữa tế bào lympho B và T

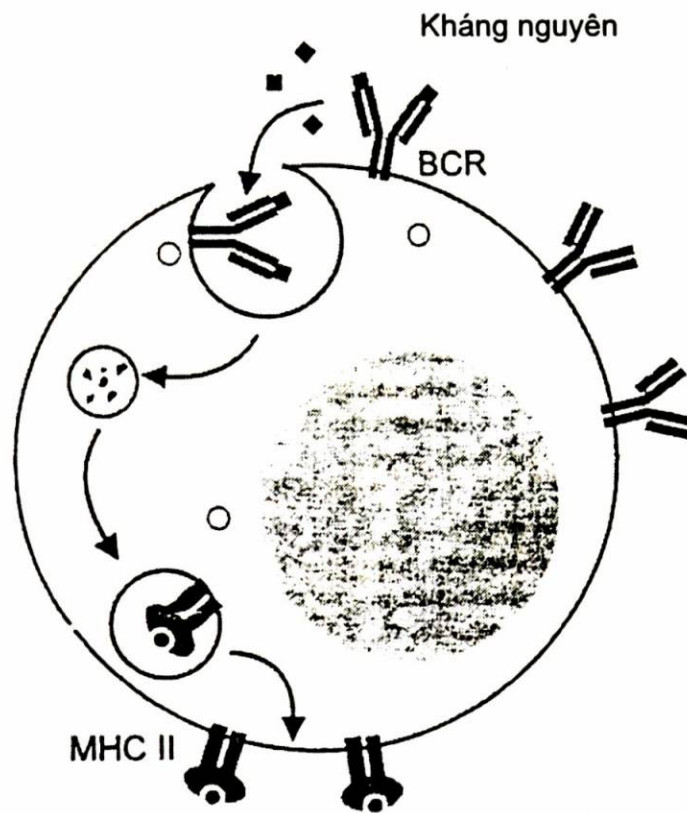
Tế bào lympho B cần có sự tiếp xúc với tế bào lympho T hỗ trợ để đáp ứng với kháng nguyên. Sự tiếp xúc này xảy ra giữa những phân tử MHC lớp II và kháng nguyên. Tín hiệu thứ hai cần thiết để cho mối tương tác giữa tế bào lympho B và T là CD19 trên bề mặt tế bào lympho B liên kết với CD21 trên tế bào lympho T. CD40 trên tế bào lympho B cũng cần phải gắn với CD40L trên tế bào lympho T. Sự phối hợp giữa tế bào Th và tế bào lympho B do phân tử MHC trên tế bào lympho B điều khiển chỉ được thực hiện khi các tế bào Th và tế bào lympho B có cùng loại MHC lớp II. Tế bào lympho B nuốt, xử lý và trình diện kháng nguyên cho tế bào lympho T hỗ trợ thông qua phân tử MHC lớp II trên tế bào lympho B và phức hợp TCR trên tế bào Th. Sự tương tác này không chỉ hoạt hoá tế bào Th mà cả tế bào lympho B.

Nếu chỉ có sự tương tác giữa MHC và TCR thì không thể đưa đến nhiều kết quả như vậy giữa tế bào lympho B và T. Tế bào lympho B và T có thể nhận diện những quyết

định kháng nguyên khác nhau trên một phân tử kháng nguyên. Tế bào lympho T nhận diện quyết định kháng nguyên đã chế biến còn tế bào lympho B nhận diện những phân tử kháng nguyên nguyên vẹn hoặc bán kháng nguyên (hapten). Như vậy, sự hỗ trợ của các tế bào lympho T cho lympho B cần cho sự nhận diện kết hợp, ít nhất cho hai quyết định kháng nguyên trên phân tử kháng nguyên. Khi tế bào lympho B được hoạt hoá, các đáp ứng thứ cấp của chúng có thể xảy ra không cần sự nhận diện kết hợp.

Việc xử lý kháng nguyên của tế bào lympho B

Lympho B là tế bào trình diện kháng nguyên có hiệu quả vì chúng có thể kết hợp đặc hiệu với kháng nguyên thông qua BCR. Tế bào lympho B nuốt và phân chia kháng nguyên thành những phần nhỏ trước khi kết hợp với phân tử MHC lớp II và trình diện kháng nguyên cho tế bào lympho T hỗ trợ, đồng thời biểu thị CD86 và tiết IL-1, IL-12 (hình 6.18).



Hình 6.18. Sự chế biến nội kháng nguyên của tế bào lympho B

Mỗi tế bào lympho B chỉ kết hợp với một kháng nguyên. Tác dụng này làm cho chúng có hiệu quả hơn nhiều so với đại thực bào, có thể nuốt bất kỳ phân tử lạ nào chúng gặp. Cytokin làm tăng cường biểu thị các phân tử MHC lớp II, làm tăng sự trình diện kháng nguyên của tế bào lympho B.

3.3.2. Giai đoạn 2: Sự hoạt hoá bởi cytokin

Có hai tiểu quần thể tế bào lympho T hỗ trợ, Th1 và Th2, có đặc điểm sinh trưởng khác nhau, đáp ứng theo những cách khác nhau với cytokin và điều quan trọng nhất là tiết ra hỗn hợp cytokin khác nhau. Có thể loại tế bào trình diện kháng nguyên khác nhau (đại thực bào, tế bào đuôi gai v.v...) hoạt hoá tiểu quần thể tế bào lympho T hỗ trợ khác nhau và gây ra những loại đáp ứng miễn dịch khác nhau. Tế bào Th2 có tác dụng hỗ trợ

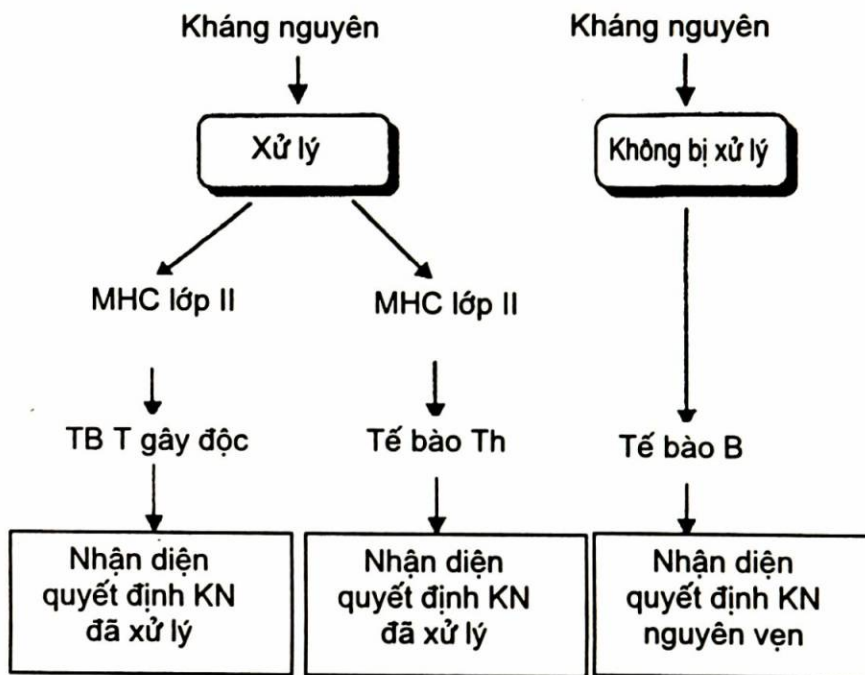
tốt nhất cho sự sản xuất kháng thể của tế bào lympho B bằng cách tăng cường tổng hợp một số lớp và lớp phụ immunoglobulin. Ngược lại, tế bào Th1 có tác dụng tốt nhất trong hỗ trợ đáp ứng miễn dịch tế bào.

Tế bào Th1 tiết IL-2 và IFN- γ , mặc dù thúc đẩy tế bào lympho B tăng sinh và tiết immunoglobulin đa dòng, song chúng không kích thích sản xuất kháng thể đặc hiệu. Ngược lại, các tế bào Th2 tiết IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 và IL-13 làm tăng mạnh sự sản xuất IgG1, IgA và IgE.

Các interleukin kích thích tế bào lympho B

Interleukin2

IL-2 được tế bào Th1 tiết ra đáp ứng với kháng nguyên thích hợp và IL-12, dù tế bào lympho B ở trạng thái nghỉ biểu thị rất ít receptor của IL-2 (IL-2 R). Sự có mặt của IL-2 kích thích làm xuất hiện receptor của IL-2 nhiều hơn. IL-2 cùng với kháng nguyên và tế bào lympho T gây ra đáp ứng của tế bào lympho B. Phối hợp ba kích thích này làm cho tế bào lympho B to ra và bắt đầu phân chia (hình 6.19).



Hình 6.19. Cách nhận dạng kháng nguyên của TCR và BCR

Những kích thích này hoạt hoá tế bào lympho B nhưng bản thân chúng không kích thích sự sản sinh kháng thể. Để hoàn thành quá trình hoạt hoá tế bào lympho B, đáp ứng này cần phải có tác dụng của IL-4, IL-5 và IL-6 trên tế bào Th2. Các phân tử này gắn vào tế bào lympho B hoạt hoá và kích thích thêm để tăng cường sự phân chia của chúng và làm cho chúng biệt hoá thành tương bào sản xuất immunoglobulin.

Interleukin 4

Interleukin 4 do tế bào lympho Th2 hoạt hoá tiết ra để kích thích sự sinh trưởng và biệt hoá của tế bào lympho B hoạt hoá. IL-4 cũng làm tăng biểu thị các phân tử MHC lớp II, CDw90 (Thy-1) và Fc γ R. Nó cũng làm cho tế bào lympho B chuyển đổi các lớp

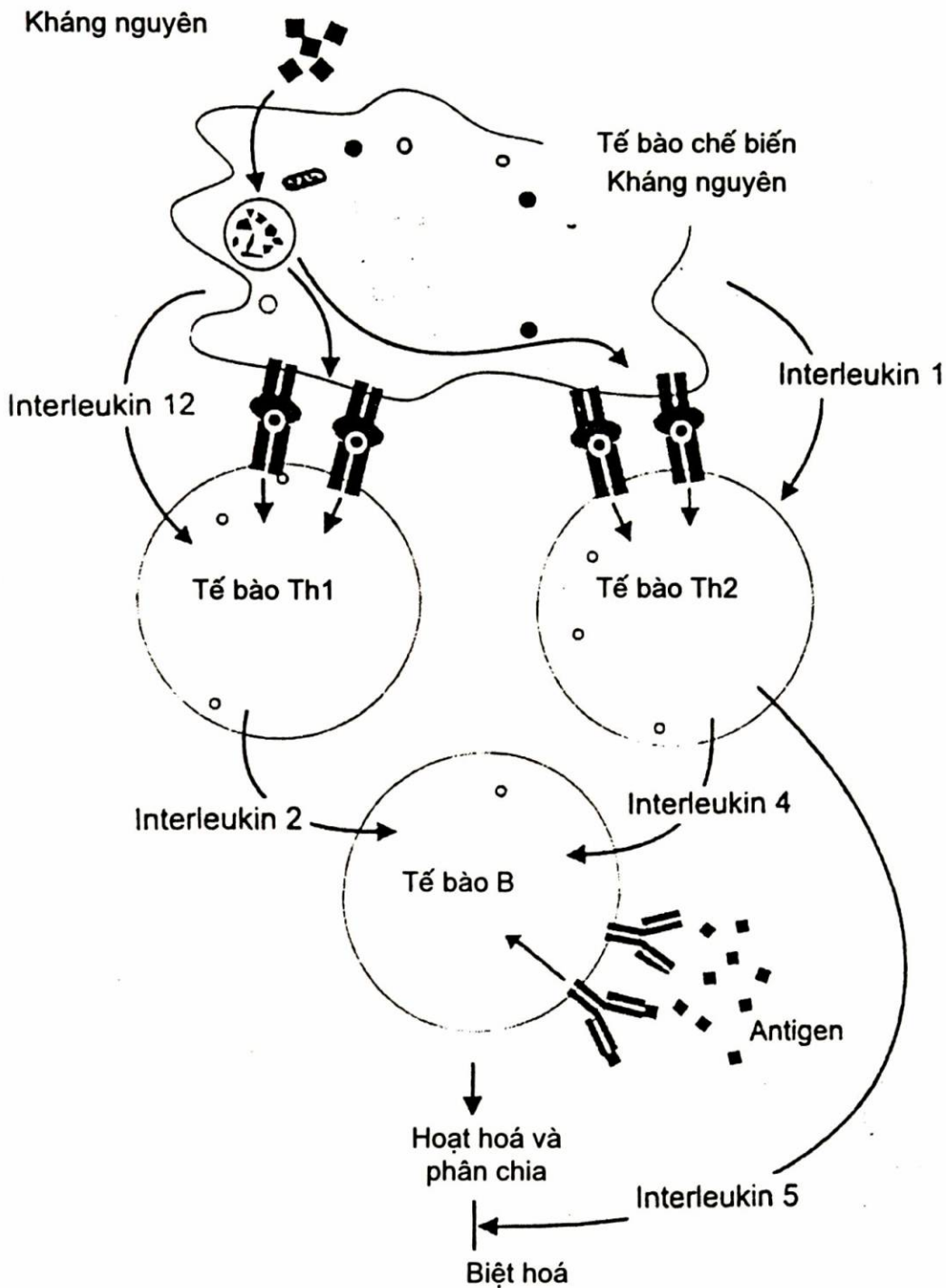
để sản xuất IgG1 hoặc IgE, trong khi ức chế sản xuất IgG3 và IgG2b. Sự hoạt hoá IL-4 bị IFN- γ (có tác dụng sinh học đối kháng) ức chế. Do vậy, tế bào Th1 tiết IFN- γ có thể ức chế tổng hợp IgE. IL-1 làm tăng tác dụng tăng sinh của IL-4 trên tế bào lympho B.

Interleukin 5

IL-5 do tế bào Th2 tiết ra, có tác dụng trên tế bào lympho B làm tăng sự biệt hoá những tế bào này thành tương bào, tăng biểu thị IL-2R, kích thích sản xuất IgG, IgM, tăng sản IgE. IL5 làm tăng sản xuất IgA một cách chọn lọc trên tế bào lympho B ở ruột.

3.4. Đáp ứng của tế bào lympho B đối với kháng nguyên

BCR khác với TCR ở chỗ chúng có thể kết hợp với kháng nguyên chưa chế biến (hình 6.20).



Hình 6.20. Vai trò của các cytokin trong kích thích đáp ứng của tế bào lympho B

Khi một tế bào lympho B chín gặp kháng nguyên gắn trên receptor ở bề mặt của nó đồng thời có kích thích thích hợp của tế bào lympho T hỗ trợ thì nó phân chia và biệt hoá. Những tế bào lympho B đáp ứng sẽ mất các BCR của IgD và tiết ra IgM đặc hiệu để cảm ứng kháng nguyên. Do tiếp tục đáp ứng, các tế bào lympho B sản xuất immunoglobulin này chuyển sự sản xuất của vùng hằng định trong chuỗi nặng từ μ vào γ , ϵ hoặc α , trong khi giữ nguyên vùng thay đổi. Do vậy chúng có thể sản xuất immunoglobulin các lớp khác nhau mà không thay đổi tính đặc hiệu của kháng nguyên.

Khi kháng nguyên xâm nhập vào cơ thể, chúng có thể chỉ kết hợp trực tiếp với một tế bào lympho B có receptor thích hợp. Thuật ngữ clonotype được sử dụng để mô tả một dòng tế bào lympho B có một BCR duy nhất có khả năng đáp ứng đối với một quyết định kháng nguyên riêng biệt. Ở động vật sơ sinh có một số lượng tương đối nhỏ clonotype nhưng số lượng này sẽ tăng lên khi động vật thành thục về tính. Có thể là tăng clonotype như vậy phản ánh một điều là phải có nhiều BCR thì mới có khả năng đáp ứng. Tăng các clonotype này là do sử dụng một cách có thay đổi trên các bộ gene V. Ở một động vật trưởng thành, số lượng tế bào ở mỗi clonotype xác định là rất thay đổi do sự tiếp xúc với nhiều kháng nguyên khác nhau trong đời sống của động vật. Tuy nhiên, khi tuổi cá thể tăng lên thì số clonotype được sử dụng nhiều nhất cũng sẽ tăng lên. Với kháng nguyên hiếm gặp thì có thể có ít tế bào (khoảng 10 tế bào đáp ứng trong lách hoặc tuỷ xương), nhưng với kháng nguyên thường gặp thì có thể có nhiều tế bào (khoảng 10^4 tế bào).

Ở chuột, mỗi tế bào lympho B ở trạng thái nghỉ có mang cả BCR của IgD và IgM trên bề mặt với số lượng phân tử IgD nhiều hơn IgM tới 10 lần. Những tế bào lympho B chưa được kích thích này có thể tiết một lượng nhỏ IgM chuỗi đơn vào môi trường một cách tự phát. Khi kháng nguyên kết hợp với BCR của các immunoglobulin với sự có mặt của tế bào lympho T hỗ trợ, IL-2 hoặc IL-4, thì một tín hiệu được chuyển vào trong tế bào (các BCR của IgD gây ra tín hiệu mạnh hơn BCR của IgM). Tín hiệu này cuối cùng dẫn đến tăng biểu thị BCR của immunoglobulin, các phân tử MHC lớp II, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, TNF- α , TGF- β và bắt đầu quá trình làm tế bào lympho B phân chia. Một tế bào lympho B được kích thích thích hợp sẽ to lên và phân chia nhiều lần. Tế bào thế hệ sau của nó phát triển lưới nội mô thô dẫn đến việc tăng tốc độ tổng hợp của chúng và bắt đầu tiết một số lượng lớn immunoglobulin. Sau một vài ngày tế bào này chuyển sang tổng hợp immunoglobulin lớp khác. Sự chuyển đổi ấy xảy ra trong khi tế bào lympho B ở trung tâm mầm và dẫn đến sự thay đổi từ sản xuất IgM sang sản xuất IgG, IgA hoặc IgE. Tính đặc hiệu của kháng thể sản xuất ra không thay đổi. Sự thay đổi lớp protein được IL-2, TNF- α và TGF- β kiểm soát. IL-4 điều khiển tế bào lympho B của chuột sản xuất IgG1 và IgE, trong khi điều khiển tế bào lympho B của người sản xuất IgG4 và IgE. Tuy nhiên chỉ có IL-4 thì không đủ để chuyển lớp immunoglobulin mà cần phải có thêm tín hiệu bổ sung thì mới hoàn thành quá trình này. Ở người, tín hiệu bổ sung có được do tiếp xúc của tế bào lympho B với tế bào lympho T thông qua CD40 và chất gắn của CD này. Ở chuột, tín hiệu thứ hai có thể là IL-5. INF- γ kích thích tế bào lympho B chuyển thành IgG 2a ở người và

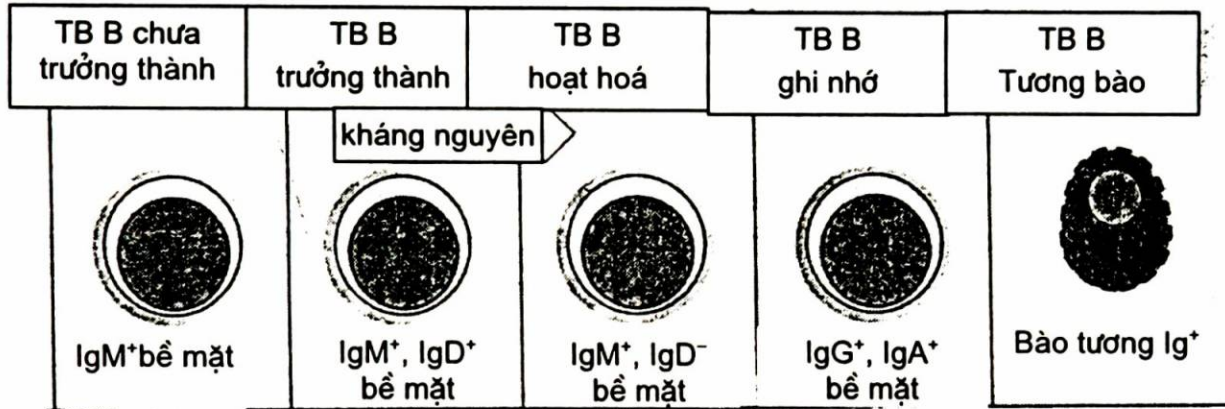
thành IgG3 ở chuột, đồng thời hạn chế tác dụng của IL-4. Khi một đáp ứng diễn ra, ái lực của kháng thể với kháng nguyên dần dần tăng lên. Việc tăng như vậy là do đột biến di truyền và do sự chọn lọc trong những quần thể tế bào lympho B.

3.4.1. Các kháng nguyên không phụ thuộc tuyến ức

Một số kháng nguyên có thể kích thích tạo kháng thể với sự vắng mặt của tế bào lympho T hỗ trợ, đó là kháng nguyên không phụ thuộc tuyến ức và là các chuỗi polyme nhắc lại như polysaccharide của *Escherichia coli* và các chuỗi polyme của flagellin ở *Salmonella* hay polysaccharide của *Pneumococcus*. Kháng nguyên không phụ thuộc tuyến ức gắn trực tiếp với tế bào lympho B. Do là những chuỗi polyme nhắc lại, chúng đồng thời liên kết chéo với một số BCR và gây kích thích làm tăng sinh một số tế bào lympho B. Kháng nguyên không phụ thuộc tuyến ức có đặc điểm là chỉ kích thích sinh ra IgM ở tế bào lympho B, không làm sản sinh tế bào ghi nhớ (do chúng không làm tế bào lympho T hỗ trợ tạo ra cytokin) và vì vậy không thể làm chuyển lớp immunoglobulin được.

3.4.2. Tương bào

Tương bào phát triển từ tế bào lympho B đáp ứng với kháng nguyên (hình 6.21).



Hình 6.21. Sự biệt hoá tế bào lympho B

Tế bào này có hình thái trung gian giữa tế bào lympho và tiền tương bào (Plasmablast), có ở những vùng có sự hợp tác giữa tế bào lympho B và T. Vì vậy tế bào plasmablast nằm trong vùng giữa vỏ và cận vỏ của hạch lympho và trong vùng vỏ ngoài của lách. Những tương bào phát triển đầy đủ chuyển khỏi những nơi này và được phân phối khắp cơ thể. Tương bào có số lượng nhiều nhất trong lách, trong miền tuỷ hạch lympho và trong tuỷ xương. Chúng có hình bầu dục, đường kính 8-9 μ , nhân tròn nằm lệch tâm cùng với chất nhiễm sắc (chromatin) phân bố không đều. Tương bào có bào tương lớn giàu lưới nội mô thô, bắt màu mạnh với thuốc nhuộm bazơ và pyronin, có bộ máy Golgi bắt màu nhạt. Chúng có thể sản xuất ra một triệu phân tử immunoglobulin trong một giờ và những immunoglobulin này được tiết ra ngay khi vừa được tạo thành. Immunoglobulin do tương bào sản xuất có tính đặc hiệu kháng nguyên giống như BCR ban đầu trên tế bào lympho mẹ. Tương bào được biệt hoá không thể phân chia được nữa

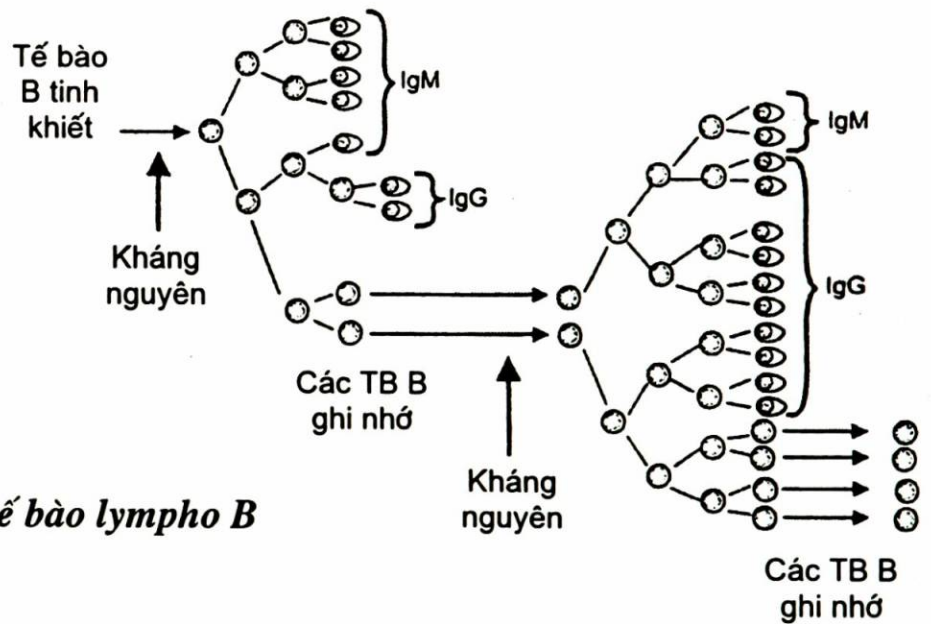
và cuối cùng chết. Ở chuột, vòng đời của chúng khoảng 3 ngày đến 4 tuần. Mất tương bào không làm giảm ngay nồng độ kháng thể trong huyết thanh vì immunoglobulin được tiết ra sẽ giảm xuống rất chậm qua quá trình dị hoá.

3.4.3. Các tế bào ghi nhớ

Nguyên nhân các đáp ứng miễn dịch sơ cấp kết thúc vì nhiều tế bào lympho B và tương bào bị loại bỏ do quá trình chết tế bào (Apoptosis). Tuy nhiên, nếu tất cả các tế bào bị chết thì sự ghi nhớ miễn dịch sẽ không được lưu lại mà phải có một số tế bào lympho B sống sót để trở thành những tế bào ghi nhớ. Sự sống sót này chịu sự kiểm soát của một gene gọi là bcl-2. bcl-2 có ở tế bào ghi nhớ nhưng không có ở tế bào lympho B đời sống ngắn và tương bào. Sự hoạt hoá gene bcl-2 và biểu thị sản phẩm của nó làm cho tế bào thoát được sự chết tế bào và rồi biệt hoá thành tế bào ghi nhớ. Như vậy gene bcl-2 là gene bảo đảm cho những tế bào trên sống sót và tồn tại lâu vì nó đã ngăn cản quá trình chết tế bào của tế bào này.

Tế bào ghi nhớ duy trì những tế bào mẫn cảm với kháng nguyên để triệu tập chúng trong lần tiếp xúc sau với kháng nguyên. Có thể có hai loại tế bào ghi nhớ. Một quần thể bao gồm những tế bào nhỏ, khi ở trạng thái nghỉ thì có đời sống dài, sản xuất IgG. Tế bào này không giống như tương bào, không có hình thái đặc trưng nhưng giống với tế bào lympho nhỏ khác. Khi tiếp xúc với kháng nguyên chúng tăng sinh và biệt hoá thành tương bào và không bị đột biến về di truyền. Loại thứ hai của quần thể tế bào ghi nhớ bao gồm những tế bào lớn đang phân chia, sản xuất IgM. Những tế bào này tồn tại kéo dài trong trung tâm mầm và ở đó chúng tiếp tục sống tùy thuộc vào IL-2 và kháng nguyên trên tế bào đuôi gai hình túi.

Đưa kháng nguyên vào lần thứ hai sẽ có một lượng lớn tế bào ghi nhớ đáp ứng với kháng nguyên (hình 6.22.).



Hình 6.22. Đáp ứng của tế bào lympho B

Do vậy đáp ứng miễn dịch thứ phát nhanh hơn, mạnh hơn nhiều so với đáp ứng miễn dịch lần đầu và trong đó IgG chiếm ưu thế hơn IgM (IgM đặc trưng cho đáp ứng miễn dịch lần đầu).

3.4.4. Trung tâm mầm

Sự phát triển của các trung tâm mầm trong cơ quan lympho ngoại vi như hạch lympho và lách song song với sự phát triển của tế bào ghi nhớ. Những trung tâm mầm này là nơi nhiều sự kiện quan trọng xảy ra trong đời sống của tế bào lympho B. Chúng là nơi tăng sinh của tế bào do tác động của kháng nguyên, là nơi xảy ra đột biến di truyền, chọn lọc phủ định và khẳng định của quần thể tế bào lympho B. Tế bào lympho B được kháng nguyên và tế bào lympho T hỗ trợ kích thích di chuyển đến trung tâm mầm khoảng 6 ngày sau khi đáp ứng bắt đầu; ở đó chúng phân chia nhanh. Những tế bào lớn đang phân chia này làm cho trung tâm mầm trong các bộ phận tổ chức mô bào có bề ngoài màu nhạt. Trong suốt giai đoạn phân chia của tế bào lympho B, các gene trong vùng V của BCR đột biến ở tỷ lệ khoảng 1 đột biến/1 lần phân chia. Sự đột biến di truyền làm sản sinh một số lượng lớn tế bào lympho B. Các BCR của chúng khác với BCR của tế bào mẹ. Khi những tế bào này đã được phát triển thành dòng, chúng chuyển đến vùng ngoại vi của trung tâm mầm và thời gian cần cho quá trình này là khoảng 10-20 ngày; ở đó chúng gặp kháng nguyên trên tế bào đuôi gai. Kháng nguyên được tế bào đuôi gai hình túi giữ lại trong trung tâm mầm. Do đột biến di truyền, một số tế bào lympho B trong trung tâm mầm sẽ kết hợp với kháng nguyên này với ái lực mạnh hơn nhưng có thể là số lớn sẽ kết hợp yếu hơn với kháng nguyên. Việc đột biến về di truyền làm cho ái lực của BCR với kháng nguyên mạnh hơn, những tế bào lympho B có receptor này sẽ phân chia nhiều hơn và rời khỏi trung tâm mầm để tạo thành tương bào hoặc tế bào ghi nhớ. Tuy nhiên số lớn các BCR đột biến thể hiện giảm sự kết hợp với kháng nguyên. Tế bào có các receptor này sẽ bị chết tế bào và phần còn lại sẽ bị đại thực bào loại bỏ. Như vậy tế bào lympho B rời khỏi trung tâm mầm là quần thể khác với quần thể tế bào đi vào trung tâm đó.

Ngoài đột biến di truyền của các gene V của BCR thì BCR còn chịu sự chuyển đổi lớp immunoglobulin trong trung tâm mầm. Trong đáp ứng lần đầu, chính tại đây tế bào lympho B chuyển BCR của IgM thành những lớp Ig khác. Sự chuyển đổi như vậy vào khoảng thời gian tế bào lympho B chịu sự đột biến di truyền và được các cytokin IL-4, IL-5, INF- γ và TGF- β của tế bào Th điều khiển.

3.5. Các tế bào lympho B-1

Có một tiểu quần thể lympho B mang kháng nguyên bề mặt CD5. CD5 là receptor, chất gắn của nó là CD72. Tế bào có CD5+ cũng được gọi là tế bào lympho B-1. Hơi khác tế bào lympho thông thường, chúng ở trong xoang phúc mạc và phế mạc, có khả năng tự tái sinh. Tế bào lympho B-1 có khả năng là dòng tế bào lympho B riêng từ các tiền tế bào trong gan hoặc mạc nối của bào thai chứ không phải trong tuỷ xương. Nói một cách khác, chúng có thể ở trạng thái tự làm mới do tiếp xúc đặc biệt với kháng nguyên. Tế bào lympho B-1 có thể đóng vai trò quan trọng trong một số bệnh tự miễn dịch như viêm khớp dạng thấp.

Chương 7

CÁC CYTOKIN VÀ HỆ THỐNG MIỄN DỊCH

Tế bào của hệ thống miễn dịch điều khiển đáp ứng miễn dịch bằng việc chuyển tín hiệu giữa các tế bào. Protein điều chỉnh này được gọi chung là cytokin. Trước đây người ta thường gọi cytokin do tế bào lympho tiết ra là lymphokin và do đại thực bào tiết ra là monokin, nhưng gọi như vậy không hợp lý vì cytokin hiếm khi do một loại tế bào riêng lẻ tiết ra. Cytokin khác với hormone thông thường ở một số khía cạnh quan trọng, chẳng hạn như chúng tác dụng trên nhiều tế bào tổ chức khác nhau còn hormone thông thường có xu hướng chỉ tác dụng trên một cơ quan đích. Có thể thấy như đại thực bào tiết ít nhất 4 cytokin IL-1, IL-6, IL-12 và TNF- α ; các cytokin dường như có tác dụng sinh học giống nhau, như IL-1, IL-6, TNF- α , TNF- β và protein của đại thực bào ở trạng thái viêm 1 α (MPI-1 α) đều có thể gây sốt. Như vậy sự tương tác giữa các tế bào trong hệ thống miễn dịch được nhiều cytokin khác nhau điều khiển.

1. DANH PHÁP CỦA CYTOKIN

Tên gọi của cytokin trên bất kỳ mối quan hệ nào đều có tính chất hệ thống giữa những protein này. Chúng được đặt tên theo nguồn gốc của tế bào hoặc các phản ứng sinh học xác định chúng.

Interleukin là những cytokin điều chỉnh mối tương tác giữa các tế bào lympho và bạch cầu khác, được đánh số theo thứ tự chúng được phát hiện ra. Interleukin là các hỗn hợp protein không đồng nhất và ít có đặc điểm chung trừ tên gọi.

1.1. Interferon (IFN)

IFN là các protein được tổng hợp nhằm đáp ứng với virus qua kích thích miễn dịch hoặc bằng nhiều kích thích hoá học khác nhau. Chúng ức chế sự sao chép của virus bằng cách tác động đến RNA và đến sự tổng hợp protein của virus. Có năm loại interferon đã được xác định: Interferon α (INF- α), Interferon β (TNF- β), Interferon gamma (INF- γ), Interferon omega (INF- ω) và interferon tau (INF- τ).

1.2. Yếu tố huỷ hoại khối u

Có hai cytokin họ hàng, một loại có nguồn gốc từ đại thực bào và một loại có nguồn gốc từ tế bào lympho T. Giống như tên gọi, cả hai loại đều có khả năng gây chết tế bào cho một số tế bào khối u.

Nhiều cytokin lại có tác dụng là yếu tố sinh trưởng, kích thích tế bào phát triển. Chúng có vai trò quan trọng là đảm bảo cung cấp đầy đủ tế bào cho sự bảo vệ cơ thể.

1.3. Chemokin

Chemokin là một họ protein đóng vai trò quan trọng trong quá trình viêm. Một chemokin điển hình là interleukin 8 (IL-8).

2. CHỨC NĂNG CỦA CYTOKIN

Cytokin tác dụng trên nhiều tế bào đích khác nhau. Thí dụ chúng có thể gắn vào receptor sản sinh ra chúng để rồi có tác dụng tiết tự động từ chính chúng; hoặc cũng có thể gắn vào receptor trên tế bào gần với tế bào ban đầu và do đó có tác dụng cận tiết. Chúng cũng có thể tác dụng ở khắp cơ thể và ảnh hưởng đến tế bào ở xa (tác dụng nội tiết). Khi cytokin gắn vào receptor trên tế bào đích, chúng có thể có nhiều tác dụng đến hoạt động của tế bào. Thí dụ chúng có thể tác động làm tế bào đích phân chia và biệt hoá hoặc cũng có thể kích thích receptor hoặc sản xuất các sản phẩm protein khác; hoặc cũng có khi chúng lại ức chế các tác dụng này, ức chế sự phân chia, biệt hoá hoặc tổng hợp protein mới. Mỗi cytokin tác dụng trên những tế bào đích khác nhau, gây ra đáp ứng khác nhau ở mỗi tế bào đích và đáp ứng như vậy gọi là đa hướng (pleiotropy). Các tính chất của cytokin thể hiện chúng có tác dụng đa hướng. Khi nhiều cytokin khác nhau tác dụng trên cùng một tế bào đích gọi là tác dụng thừa (Redundancy). Chức năng của tế bào lympho B chịu ảnh hưởng của IL-2, IL-4, IL-5 và IL-6. Một số cytokin hoạt động tốt nhất khi kết hợp với các cytokin khác, đó là tác dụng hiệp đồng. Tác dụng hiệp đồng có thể xảy ra khi hai cytokin cùng đồng thời tác dụng trên một tế bào đích. Kết hợp IL-4 và IL-5 kích thích tế bào lympho B chuyển sang sản xuất IgE. Tác dụng hiệp đồng cũng có thể xảy ra liên tiếp khi một cytokin tác dụng đến receptor làm sản xuất cytokin khác. Thí dụ IL-1 tác dụng trên tế bào lympho B làm biểu thị receptor của IL-2. Cuối cùng, một số cytokin có thể có tác dụng đối kháng với những cytokin khác. Thí dụ rõ nhất của tác dụng đối kháng này là tác dụng đối kháng lẫn nhau giữa IL-4 và INF- λ .

3. CẤU TẠO CỦA CYTOKIN

Các cytokin có thể xếp thành 4 nhóm cấu tạo. Họ lớn nhất là những cytokin nhóm 1 bao gồm IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-10, IL-11, IL-13, GSF, M-CSF, GM-CSF và các interferon. Tất cả các phân tử này đều có cấu trúc 4 đường xoắn ốc α tập hợp lại với nhau. Chúng cũng có thể được chia nhỏ hơn nữa dựa vào chiều dài của chuỗi. Thí dụ IL-2, IL-3, IL-4, IL-7 và IL-9 có các chuỗi ngắn. IL-6, IL-10 và IL-11 có các chuỗi dài. Yếu tố huỷ hoại khối u (TNF), họ IL-1 và TGF- β là các cytokin nhóm 2 với đặc điểm có cấu trúc chuỗi dài β . Cytokin nhóm 3 là những protein nhỏ có cả đường xoắn ốc và chuỗi β . Chúng bao gồm các chemokin (IL-8, MIP, MCP) và những phân tử có quan hệ gần gũi. Cytokin nhóm 4 có cấu trúc lắp ghép, hỗn hợp của nhiều cấu trúc khác nhau. IL-12 thuộc nhóm này. Nhóm 1 tham gia vào điều hoà miễn dịch hoặc tạo máu. Cytokin nhóm 2 có vai trò chủ yếu trong sinh trưởng và điều hoà tổ chức tế bào, quá trình chết tế bào và đáp ứng đối với tổn thương giai đoạn cấp tính. Cytokin nhóm 3 tham gia vào quá trình viêm. Hoạt động của cytokin nhóm 4 phụ thuộc vào các tiểu phần

của chúng. IL-12 là dấu ấn của cấu trúc nhóm 1 và receptor của những chất tạo máu, tác dụng giống như cytokin nhóm 1.

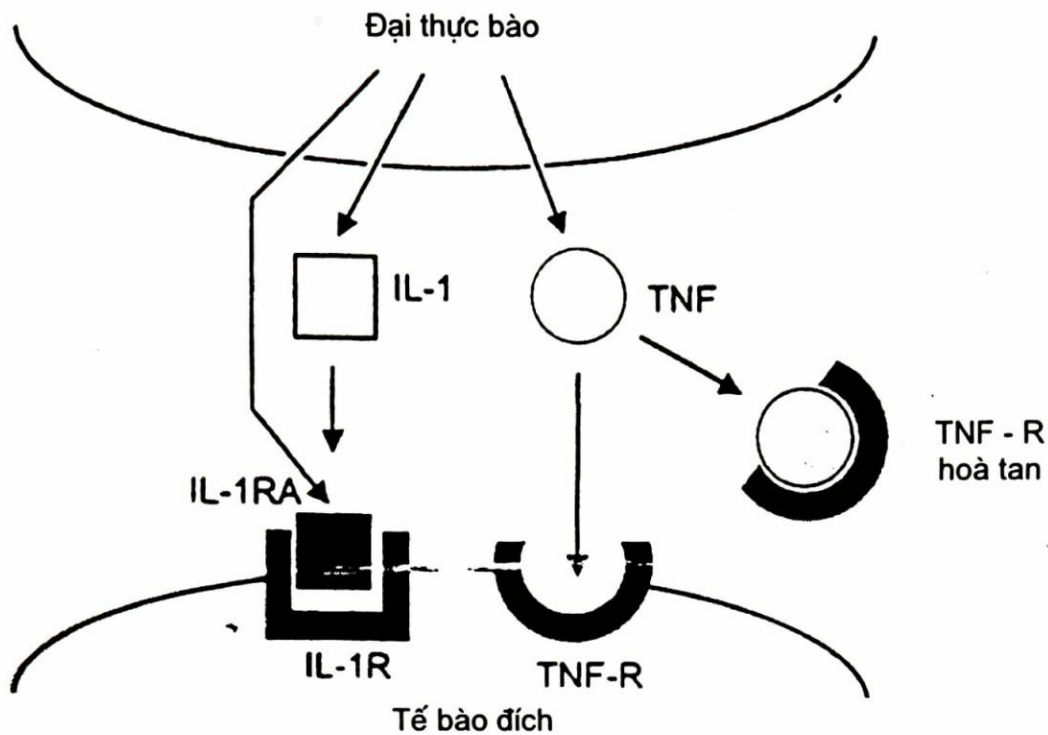
4. RECEPTOR CỦA CYTOKIN

Receptor của cytokin là những protein của màng bao gồm cả khu vực bên trong và bên ngoài tế bào. Chúng thường có ít nhất hai đơn vị chức năng, một gắn vào chất gắn và một để chuyển tín hiệu; 2 đơn vị đó có thể ở trên cùng một peptide hoặc không. Receptor của những cytokin này có thể được phân thành 4 họ chính dựa vào cấu trúc và hoạt tính của chúng. Họ receptor của interferon, họ receptor kinase, họ receptor của yếu tố sinh trưởng thần kinh và họ receptor bảy nhịp. Họ receptor cytokin interferon là lớn nhất, bao gồm IL-2R β , IL-3R α , IL-4R, IL-5R α , IL-7R α , IL-9R, IL-12R, G-CSFR, GM-CSFR, IFN- α/β R, IFN- γ R và IL-10R. Chúng cũng có chuỗi β chung với các receptor của IL-2, IL-5, của GM-CSFR và chuỗi γ chung với các receptor của IL-2, IL-4, IL-7, IL-9 và IL-15. Tất cả các thành phần của họ này có một hoặc hai khu vực ngoài tế bào đặc trưng có chứa một số cystein. Các receptor này thường chỉ gắn vào một chất gắn và rất nhiều trong số đó tồn tại ở những dạng có ái lực cao và ái lực thấp. Họ các receptor kinase có chung khu vực bên trong tế bào. Trong nhiều trường hợp chúng tồn tại ở dạng chuỗi peptide đơn, được tạo ra chuỗi đôi khi hoạt hoá. TGF- β R thuộc họ này.

TNF - một họ receptor của các yếu tố sinh trưởng thần kinh, trong cấu tạo có chứa protein màng tế bào và có một số khu vực giàu cystein nhắc lại. Ngược lại, cấu trúc của các khu vực trong bào tương rất ít giống nhau nên hoạt tính sinh học của chất gắn với nó rất đa dạng. Chúng không chỉ gắn vào TNF- α và TNF- β mà còn gắn vào các phần tử gây độc có quan hệ họ hàng như fas và CD40L. Gắn chất gắn vào những receptor này có thể gây ra chết tế bào. Họ receptor bảy nhịp, như tên của nó, có cấu trúc quay vào và quay ra qua màng tế bào 7 lần. Chúng bao gồm receptor cho IL-8, các chemokin khác cũng như các receptor cho C5a và yếu tố hoạt hoá huyết tiểu cầu. Tín hiệu do những receptor này điều khiển chịu sự điều hoà của Protein G.

5. ĐIỀU HOÀ CÁC CYTOKIN

Cytokin được điều chỉnh bằng nhiều cách - bằng việc điều chỉnh biểu thị của các receptor, bằng tác dụng đối kháng receptor, bằng các protein gắn đặc hiệu hoặc bằng các cytokin có tác dụng đối kháng. Đáp ứng của tế bào lympho T đối với IL-2 được quyết định chủ yếu bởi mức độ biểu thị IL-2R ở tế bào đích. Receptor được biểu thị rất ít trên tế bào lympho T ở trạng thái nghỉ nhưng nó được bắt đầu tổng hợp và biểu thị khi tế bào này hoạt hoá. Điều chỉnh tác dụng của IL-1 bằng hoạt động của các đối kháng receptor (IL-1 RA). Đây là một dạng IL-1 gắn vào receptor của IL-1 nhưng không kích thích chuyển tín hiệu, vì vậy nó ức chế có hiệu quả hoạt động của IL-1 hoạt động (hình 7.1).

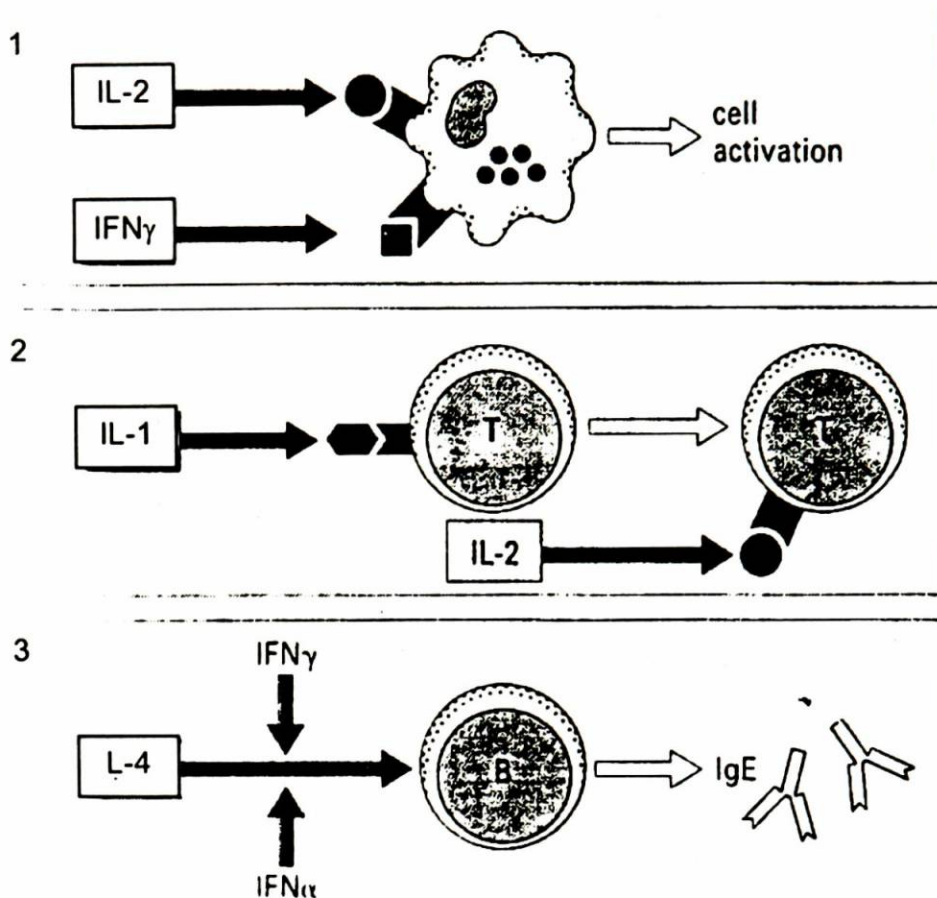


Hình 7.1. Kiểm soát hoạt động của các cytokin

Một số cytokin có thể kết hợp với một số protein đặc hiệu trong dịch của cơ thể. Chúng ở dạng receptor hoà tan. Đã xác định được những dạng hoà tan của IL-2R, TNFR-1, TNFR-2 và IL-6R. Phức hợp chuỗi α của IL-6R hoà tan cùng với IL-6 tạo thành một cấu trúc có hoạt tính sinh học. IL-6 cũng có thể kết hợp với nhiều protein khác nhau của huyết tương như albumin và các thành phần của bổ thể. Tuy nhiên, thường gặp hơn là receptor hoà tan có thể làm thay đổi thời gian bán thải và sự phân phối của cytokin.

Những cytokin như IL-1 và TGF- α có thể gắn vào các chất glycosaminoglycan như heparin hoặc CD44 trong tổ chức liên kết. Đây là nguồn chứa những phân tử có thể sử dụng được hoặc các phân tử cytokin được hấp thu có thể xếp theo cách để làm tăng hoạt tính sinh học của chúng.

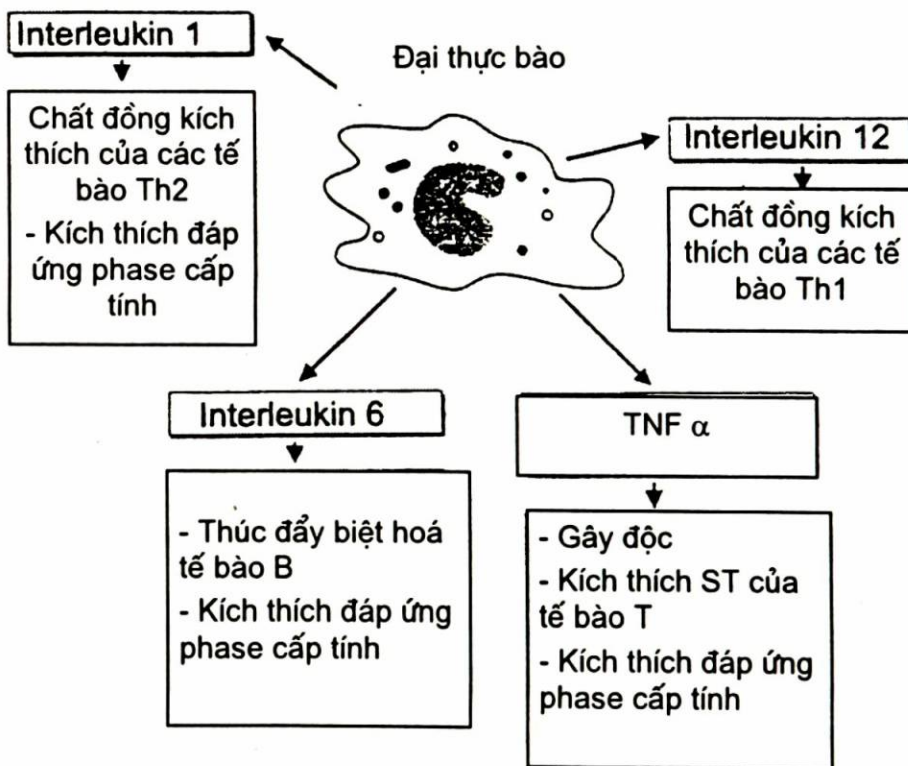
Cách quan trọng nhất để điều chỉnh chức năng cytokin là thông qua tác dụng đối kháng của những cytokin khác. Thí dụ tác dụng đối kháng của INF- γ và IL-4 về sản xuất IgE (hình 7.2). IL-4 kích thích tế bào lympho B chuyển sang sản xuất IgE trong khi INF- γ ức chế sản xuất IgE. INF- γ đối kháng với TGF- β trong tổng hợp collagen và TGF- β đối kháng với IL-1 trong sản xuất collagen.



Hình 7.2. Mối tương tác giữa các cytokin

6. CÁC CYTOKIN ĐƯỢC SẢN XUẤT CHỦ YẾU DO ĐẠI THỰC BÀO

Đại thực bào sản xuất bốn cytokin chủ yếu đó là IL-1, IL-6, IL-12 và TNF- α (hình 7.3).



Hình 7.3. Các cytokin chủ yếu do đại thực bào tiết ra

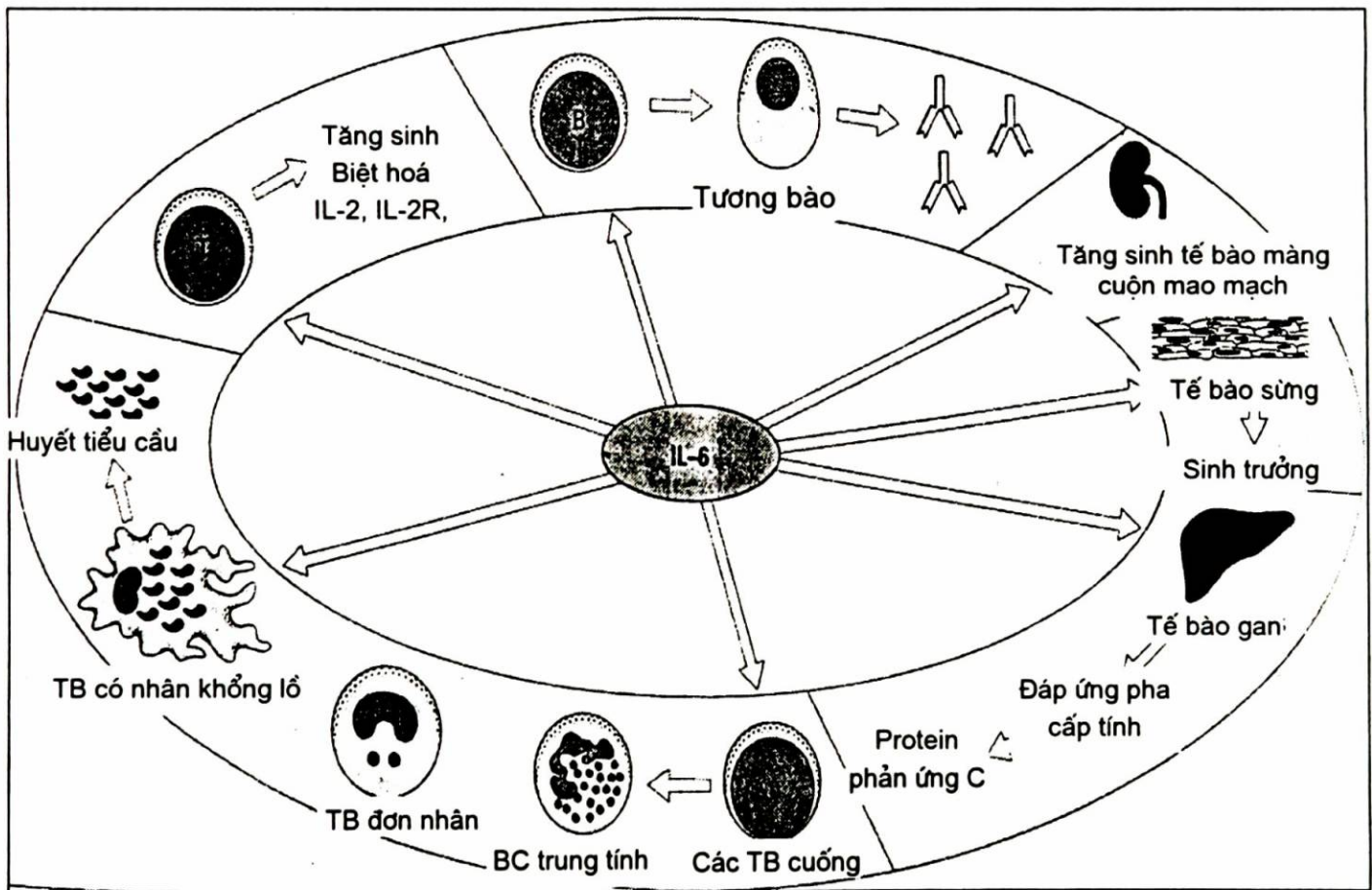
Những cytokin này được sản xuất do tác dụng của nhiều kích thích khác nhau như vi khuẩn và sản phẩm của nó (như nội độc tố - endotoxin), leucotriene, các thành phần hoạt hoá bề mặt, các phức hợp miễn dịch, TNF, GM-CSF và bản thân IL-1. Tất cả những cytokin này có tác dụng rộng tương tự nhau.

6.1. Interleukin 1

Có ba IL-1 khác nhau: IL-1 α , IL-1 β và IL-1RA. Nguồn sản xuất ra chúng chủ yếu là đại thực bào hoạt hoá, ngoài ra còn có tế bào langerhan, lympho T, lympho B, tế bào diệt tự nhiên, bạch cầu trung tính, bạch cầu ái toan, tế bào đuôi gai, các nguyên bào sợi, tế bào sừng, tế bào nội mô mạch máu. IL-1 tác dụng trên tế bào lympho T, lympho B, tế bào diệt tự nhiên, bạch cầu trung tính, bạch cầu ái toan, tế bào đuôi gai, các nguyên bào sợi, tế bào nội mô, tế bào gan và bạch cầu đơn nhân. IL-1 α và IL-1 β là những chất đồng kích thích chủ yếu của tế bào Th2. Chúng cùng kích thích một đáp ứng ở giai đoạn cấp tính. Ngược lại, IL-1RA trở về sinh học, lại gắn vào type 1 của IL-1R và tác dụng là một đối kháng receptor, không gây ra tín hiệu.

6.2. Interleukin 6

IL-6 không chỉ do đại thực bào sản xuất mà còn được sản xuất từ tế bào lympho B và T, tế bào đệm của tuỷ xương, tế bào nội mô, nguyên bào sợi, tế bào sừng và tế bào của màng mạch. Nó tác dụng trên tế bào lympho B và T, tế bào gan và tế bào đệm của tuỷ xương. IL-6 làm tăng cường sản xuất IL-2, IL-2R và biệt hoá tế bào lympho T (hình 7.4.a).



Hình 7.4.a. Tác dụng của IL-6

Nó là đồng yếu tố với IL-1 trong tổng hợp IgM và với IL-5 trong tổng hợp IgA; là chất kích thích sản xuất các protein của tế bào gan ở giai đoạn cấp tính và có tác dụng là chất gây sốt.

6.3. Interleukin 12

Interleukin 12 có nguồn chủ yếu là đại thực bào hoạt hoá; có tác dụng làm tăng cường hoạt động của tế bào Th1 bằng cách gây tiết IL-2, INF- γ , thúc đẩy sự tăng sinh, tác dụng gây độc của tế bào diệt tự nhiên và tế bào lympho T. Tác dụng thứ phát của nó là ức chế sản xuất IgE bằng cách ức chế tổng hợp IL-4. IL-12 liên kết với TNF- α làm tăng tiết các immunoglobulin của tế bào lympho B và kích thích sản xuất tế bào diệt tự nhiên do lymphokin hoạt hoá (LNK).

6.4. Yếu tố gây huỷ hoại khối u α (TNF- α)

TNF- α được tiết ra ở đại thực bào, tế bào lympho T, tế bào lympho B, nguyên bào sợi và nó tác dụng trên hầu hết các tế bào có nhân. TNF- α là chất điều hành nhiều chức năng miễn dịch và viêm, điều chỉnh sự sinh trưởng của nhiều loại tế bào. Nó cũng có tác dụng hoạt hóa đại thực bào và như tên đã đề cập, nó có thể gây chết một số tế bào khối u.

7. CÁC CYTOKIN CHỦ YẾU DO TẾ BÀO LYMPHO T SẢN XUẤT

Tế bào lympho T hỗ trợ sản xuất nhiều cytokin khác nhau. Chúng được chia thành hai nhóm chủ yếu, nhóm do tế bào Th1 sản xuất và nhóm do tế bào Th2 sản xuất. Nói chung cytokin có nguồn gốc từ tế bào Th1 có hoạt tính sinh học đối kháng với các hoạt tính của cytokin có nguồn gốc từ tế bào Th2. Như vậy Th1 và Th2 được điều chỉnh bằng sự cân bằng giữa hai nhóm này.

7.1. Cytokin được sản xuất chủ yếu do các tế bào Th1

IL-12 được sản xuất từ đại thực bào, tế bào lympho B, tế bào đuôi gai và vai trò là kích thích đặc hiệu hoạt động của tế bào Th1. Hai cytokin chủ yếu được tế bào Th1 sản xuất là IL-2 và INF- γ . Tế bào Th1 cũng tiết ra TNF- β .

7.2. Interleukin 2

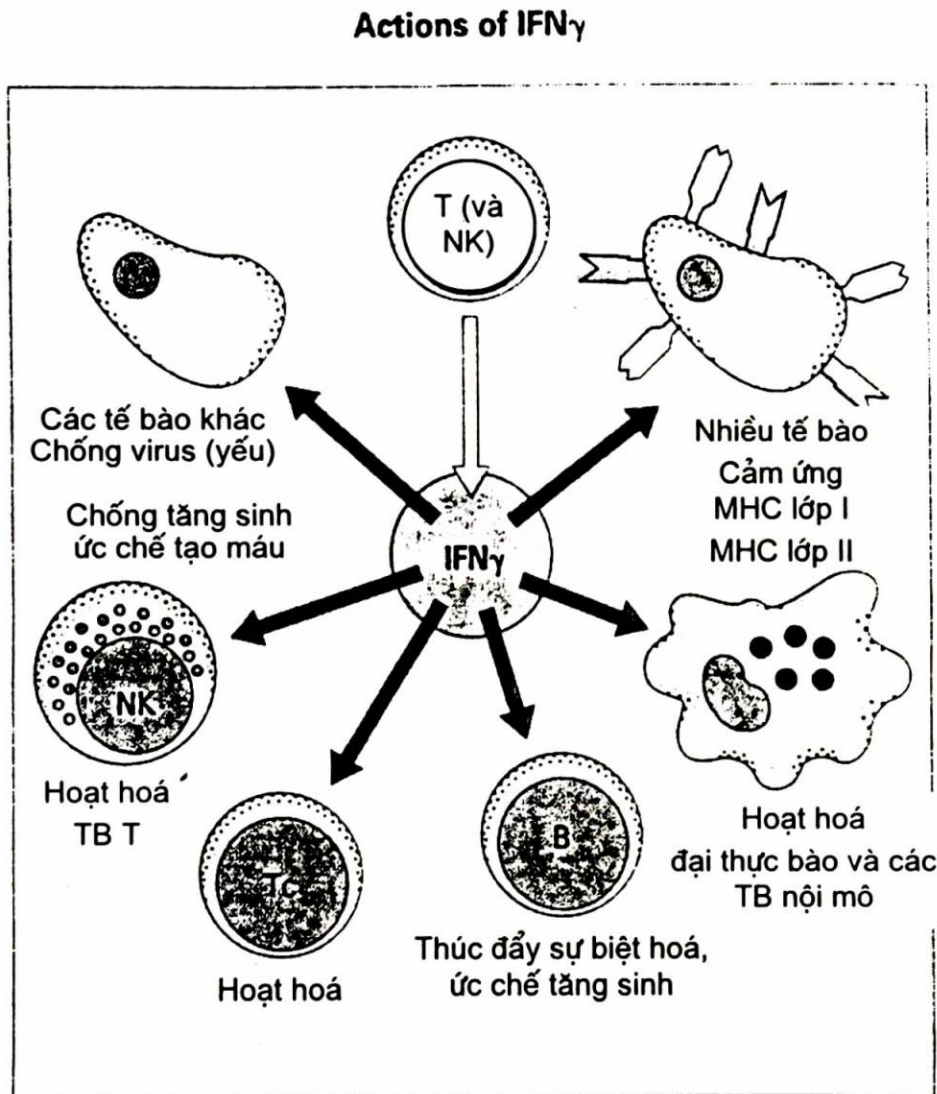
IL-2 chỉ do tế bào Th1 sản xuất. Tế bào đích của nó là đại thực bào, tế bào lympho T, tế bào lympho B, tế bào diệt tự nhiên. Receptor của IL-2 là chuỗi ba peptide không đồng nhất, chuỗi α (CD25), chuỗi β (CD122) và chuỗi γ . Sự kết hợp khác nhau của những chuỗi này tạo ra các dạng receptor khác nhau của IL-2. Phức hợp các chuỗi β và γ gắn vào IL-2 với ái lực thấp. Sự có mặt của chuỗi α cần thiết để gắn với ái lực cao. Tế bào lympho B có khoảng 1000 receptor có ái lực cao và 10.000 receptor có ái lực thấp. Tế bào lympho T chỉ có receptor ái lực cao. Bạch cầu đơn nhân biểu thị chuỗi β và γ và như vậy chúng có thể bị kích thích của IL-2 ngay cả khi ở trạng thái nghỉ. Sự đột biến về di truyền ở chuỗi IL-2R γ ở chó gây ra bệnh thiếu hụt miễn dịch. IL-2 hoạt hoá tế bào lympho T hỗ trợ, lympho T gây độc, tế bào lympho B và tế bào diệt tự nhiên. Để đáp ứng

với IL-2 thì tế bào lympho T trước hết phải được kháng nguyên và IL-12 hoạt hoá. IL-2 tác động làm cho tế bào lympho T tăng sinh và là thành phần chủ yếu của đáp ứng miễn dịch. IL-2 cũng tác động làm tăng sự sinh trưởng của tế bào lympho B và kích thích có giới hạn việc tổng hợp immunoglobulin.

Tác động trên tế bào Th1 và tế bào diệt tự nhiên: IL-2 kích thích sự tăng sinh và tác dụng gây độc, tạo ra tế bào diệt tự nhiên do lymphokin hoạt hoá (LAK). IL-2 cũng tác động làm sản xuất INF- γ , IL-5 và điều chỉnh sự biểu thị receptor của TNF- α . IL-2 có thể hoạt hoá đại thực bào, kích thích chúng tiết cytokin và tăng tác dụng gây độc chống tế bào ung thư và vi sinh vật nằm trong tế bào.

7.3. Interferon γ (IFN- γ)

IFN- γ không chỉ được sản xuất từ tế bào Th1 mà còn từ một số tế bào lympho T có CD8+ và tế bào diệt tự nhiên. IFN- γ kích thích tế bào lympho B ở chuột sản xuất IgG2a và IgG3, IgG1, IgG2b và IgE ở mức độ thấp hơn. Nó làm tế bào lympho T tăng sản xuất các phân tử MHC lớp I nhưng không làm tăng sản xuất các phân tử MHC lớp II (hình 7.4.b).



Hình 7.4b. Sự hoạt hoá IFN γ

Chất này tác động tế bào Th1 sản xuất cả IL-2 và IL-2R, tác động tế bào Th2 ức chế sản xuất IL-4 và do vậy ức chế sản xuất IgE.

IFN- γ làm tăng hoạt động của một số tế bào diệt tự nhiên. Tế bào diệt tự nhiên đáp ứng với kháng nguyên bằng cách sản xuất IFN- γ để hoạt hoá một số tế bào diệt tự nhiên dẫn đến tiết IFN và hoạt hoá những tế bào diệt tự nhiên khác.

IFN- γ làm hoạt hoá đại thực bào và làm tăng mạnh khả năng diệt vi sinh vật bị thực bào. Nó cũng làm tăng sự thực bào do kháng thể điều hành cũng như các phản ứng gây độc của miễn dịch tế bào phụ thuộc kháng thể.

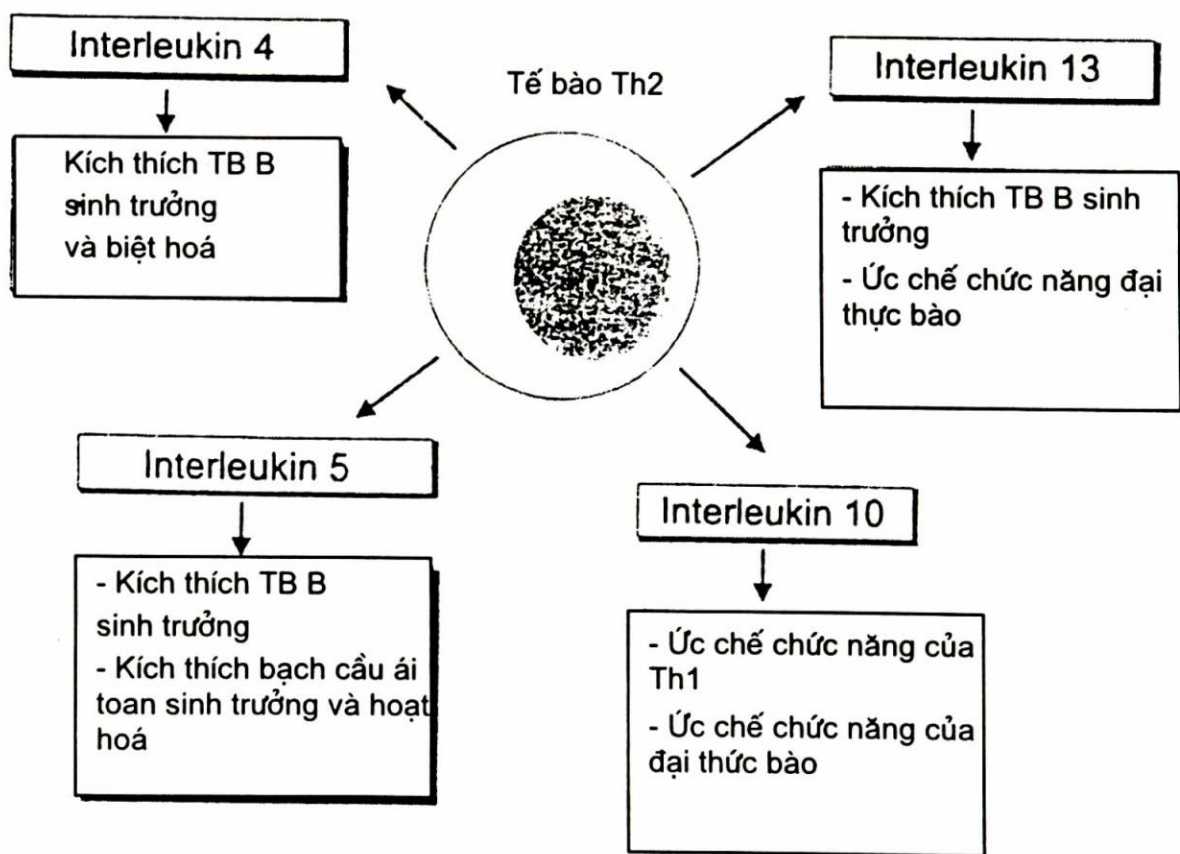
IFN- γ làm tăng biểu thị của MHC lớp I trên các dòng của các tế bào khối u, làm xuất hiện phân tử MHC lớp II trên tế bào nội mô, tế bào sừng, tế bào tuỷ, một số tế bào đuôi gai và nguyên bào sợi cũng như trên đại thực bào. Nó cũng làm tăng biểu thị của phân tử MHC lớp I và lớp II trên tế bào nhiễm virus. Trong quá trình thải bỏ mảnh ghép, tế bào lympho T tiết interferon, các phân tử MHC lớp II được tạo ra trên tế bào nội mô của mảnh ghép và tất cả những sản phẩm đó làm tăng cường độ thải bỏ mảnh ghép. Interferon cũng làm tăng tổng hợp sản phẩm MHC lớp III của bạch cầu đơn nhân.

7.4. Yếu tố huỷ hoại khối u β (TNF- β)

TNF- β được sản xuất từ tế bào Th1 và tế bào lympho T có CD8+ hoạt hoá. Nó có thể được tiết ra ở dạng hoà tan hoặc ở dạng vẫn còn liên kết với một protein khác - lymphotoxin β (LT β) ở màng tế bào lympho T. TNF- β gây chết tế bào khối u và hoạt hoá bạch cầu trung tính, đại thực bào, tế bào nội mô và tế bào lympho B.

Các cytokin chủ yếu do tế bào Th2 sản xuất

Tế bào Th2 tiết ra một hỗn hợp cytokin bao gồm IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 và IL-13 có tác dụng hỗ trợ cho tế bào lympho B sản xuất immunoglobulin (hình 7.5).



Hình 7.5. Các cytokin chủ yếu do tế bào Th2 tiết ra

Những tế bào đó được đồng kích thích của IL-1 để sản xuất các cytokin nói trên.

7.5. Interleukin 4 (IL-4)

IL-4 chủ yếu do tế bào Th2 sản xuất và tác động đến tế bào lympho B, lympho T, đại thực bào, tế bào nội mô, nguyên bào sợi và tế bào mast. IL-4 kích thích sự sinh trưởng và biệt hoá của tế bào lympho B. Ở chuột và gia súc, nó tác động đến tế bào lympho B làm tế bào này chuyển sang sản xuất IgE – một Ig có vai trò chủ yếu trong các phản ứng dị ứng. IL-4 đẩy mạnh sự phát triển của tế bào lympho T ở trạng thái không hoạt động thành tế bào lympho T gây độc. Nó cũng có thể làm tế bào lympho T hỗ trợ lớn lên khi không có mặt của IL-2. IL-4 có tác dụng hỗn hợp đối với đại thực bào, đó là điều chỉnh làm giảm IL-1, IL-6 và tiết TNF- α nhưng làm tăng biểu thị các phân tử MHC lớp II, tăng khả năng trình diện kháng nguyên và tác dụng gây độc.

Tác dụng của IL-4 bị IFN- γ trung hoà. IFN- γ ức chế việc tổng hợp IgE, sự tăng sinh của tế bào lympho B và sự biểu thị Th1 trên tế bào lympho T. Nhưng ngược lại, IL-4 lại làm tăng những quá trình trên. IFN- γ làm tăng tiết IL-1, IL-6 và TNF- α của đại thực bào trong khi tất cả các tác dụng đó đều bị IL-4 ức chế. Tuy nhiên, cả IL-4 và IFN- γ đều làm tăng biểu thị của MHC lớp II trên đại thực bào.

7.6. Interleukin 5

IL-5 do tế bào Th2, tế bào mast và bạch cầu ái toan sản xuất. Ở chuột (nhưng ở người thì không), nó cũng làm tăng sự sinh trưởng tế bào lympho B, tăng tổng hợp IgE và biểu thị của Fc ϵ RII (CD23). IL-5 cũng tác động đến tế bào lympho T gây độc, kích thích sinh trưởng và biệt hoá các tiền tế bào của bạch cầu ái toan trong tuỷ xương.

7.7. Interleukin 9

IL-9 do tế bào Th2 sản xuất, có tác dụng làm tăng trưởng một số dòng tế bào lympho T hỗ trợ và các tế bào mast có nguồn gốc tuỷ xương, làm tăng tác dụng của IL-4 đối với sản xuất IgE.

7.8. Interleukin 10

Không chỉ được sản xuất từ nguồn chính là tế bào Th2, IL-10 còn được các tế bào Th0, một số tế bào lympho B, đại thực bào, tế bào sừng sản xuất. Đích của IL-10 là tế bào Th1, tế bào lympho B, đại thực bào, tế bào diệt tự nhiên, tế bào mast, tế bào lympho tuyến ức. Nó còn được gọi là yếu tố ức chế tổng hợp cytokin vì có khả năng ức chế đại thực bào hoạt hoá tiết IL-1, IL-6, TNF- α và các gốc oxygen phản ứng, điều chỉnh giảm sự biểu thị MHC lớp II và kích thích sản xuất IL-1RA. IL-10 cũng là chất đồng kích thích các tế bào lympho B, tế bào lympho tuyến ức (thymocyte) và tế bào mast.

7.9. Interleukin 13

IL-13 chỉ được tế bào Th2 sản xuất. Tác dụng sinh học của nó tương tự tác dụng của IL-4 vì nó tác động đến tế bào lympho B, đại thực bào và bạch cầu trung tính thông qua receptor có cùng tính chất với IL-4R. IL-13 ức chế chức năng của đại thực bào, điều

chính giảm biểu thị Fc γ R và làm giảm sản xuất IL-1, IL-6, IL-12 và nitric oxide. Nó kích thích tế bào lympho B tăng sinh, làm tăng tiết IgG4 và IgE, kích thích bạch cầu trung tính sản xuất IL-1RA và như vậy có tác dụng chống viêm.

7.10. Interleukin 17

IL-17 được tế bào lympho T có CD4+ sản xuất mặc dù chưa được xác định chính xác là tiểu quần thể Th1 hay Th2. Chức năng của IL-17 là làm tăng cường sản xuất IL-6 và IL-8 và biểu thị ICAM1 của nguyên bào sợi.

8. CÁC CHEMOKIN

Chemokin là một họ có ít nhất 14 protein nhỏ được chia thành các họ phụ α và β . Thành phần quan trọng nhất của họ α là IL-8. Các thành phần của tiểu họ β là protein 1 của đại thực bào trong phản ứng viêm (Macrophage inflammatory protein- MIP-1), protein có tác dụng hướng động hoá học đối với bạch cầu đơn nhân (Monocyte chemoattractant- MCP) và protein RANTES..

8.1. Chemokin α

IL-8 do nguyên bào sợi, đại thực bào, bạch cầu hạt, tế bào nội mô, tế bào gan và tế bào sừng sản xuất. Nó tác động lên bạch cầu trung tính, bạch cầu ái kiềm và tế bào lympho. IL-8 là chất hướng động hoá học đối với bạch cầu trung tính, bạch cầu ái kiềm, một số tế bào lympho T. IL-8 hoạt hoá bạch cầu trung tính, làm tăng biểu thị của CD11/CD18, giải phóng các hạt, kích thích hô hấp và giải phóng leucotrien.

8.2. Chemokin β

MIP 1- α và 1 β do đại thực bào, tế bào lympho T và B, tế bào mast và bạch cầu trung tính sản xuất. Đích của chúng là bạch cầu đơn nhân, bạch cầu ái toan, tế bào lympho T và B. MIP -1 β thu hút tế bào lympho T có CD4+ và MIP -1 α thu hút tế bào lympho B, bạch cầu ái toan, tế bào lympho T gây độc. MCP do đại thực bào, tế bào lympho T, các nguyên bào sợi, tế bào sừng và tế bào nội mô sản xuất. Nó là chất hướng động hoá học và hoạt hoá bạch cầu đơn nhân, kích thích các bạch cầu này hô hấp và giải phóng enzyme của lysosom. RANTES do tế bào lympho T và đại thực bào sản xuất, là chất hướng động hoá học đối với bạch cầu đơn nhân, bạch cầu ái toan và một số tế bào lympho T. Chất này hoạt hoá bạch cầu ái toan và kích thích bạch cầu ái kiềm giải phóng histamine .

9. CÁC CYTOKIN CHỐNG VIRUS

9.1. Interferon

Interferon loại 1 là một họ glycoprotein do tế bào nhiễm virus tiết ra, có tác dụng bảo vệ bằng việc chống lại sự xâm nhập của virus vi khuẩn và nguyên sinh động vật vào tế bào khác. IFN- α được tế bào lympho, bạch cầu đơn nhân, đại thực bào sản xuất. IFN- β do nguyên bào sợi sản xuất và IFN- ω do tế bào lympho, bạch cầu đơn nhân và tế bào

của lá nuôi (Trophoblast) sản xuất; còn IFN- τ lại do tế bào của lá nuôi (Trophoblast) ở loài nhai lại sản xuất. Tất cả chúng đều có thể tác dụng đến tế bào nhiễm virus để ức chế sinh trưởng của virus và hoạt hoá đại thực bào. Interferon của các tế bào lá nuôi có tác dụng điều hoà miễn dịch đối với nhau thai và thai.

9.2. Interleukin 16 (IL-16)

IL-16 là một protein 13 kDa ở dạng chuỗi đôi peptide đồng nhất, do tế bào lympho T có CD8+ tiết ra. Chất này gắn với tế bào lympho T thông qua CD4 và ức chế sự sao chép của virus gây thiếu hụt miễn dịch ở người và khỉ. Nó cũng là chất hướng động hoá học đối với các tế bào lympho.

10. CÁC YẾU TỐ SINH TRƯỞNG

Một nhóm lớn glycoprotein kiểm soát sự tăng sinh và trưởng thành của các tế bào máu chủ yếu. Mỗi một loại glycoprotein này được nhiều loại tế bào sản xuất và trong nhiều trường hợp, chúng tác động đến nhiều tế bào đích khác nhau. Có một số yếu tố sinh trưởng ảnh hưởng đến sự phát triển của tiền tế bào trong tuỷ xương.

10.1. Interleukin 3

IL-3 có nguồn gốc từ tế bào lympho T hoạt hoá (cả Th1 và Th2), bạch cầu ái toan và tế bào mast. Nó kích thích sự sinh trưởng và trưởng thành của tế bào nguồn của tuỷ xương và vì vậy làm tăng bạch cầu ái toan, bạch cầu trung tính và bạch cầu đơn nhân trong máu. Chúng cũng có khả năng kích thích làm hoạt hoá và biệt hoá tế bào mast và bạch cầu ái kiềm, hoạt hoá bạch cầu ái toan, tăng cường tác dụng độc và tác dụng thực bào, thúc đẩy tế bào lympho B tiết immunoglobulin.

10.2. Interleukin 7

IL-7 do tuỷ xương, tế bào lách, tế bào đệm của tuyến ức sản xuất. Nó tác động đến tế bào lympho tuyến ức (thymocyte), tế bào lympho T, tế bào lympho B và tế bào lympho nguồn. IL-7 còn có khả năng làm tăng sinh tiền tế bào lympho B, tế bào lympho tuyến ức (thymocyte), tế bào lympho T và kiểm soát hoạt động của tế bào lympho nguồn. Nó cũng hỗ trợ tạo ra tế bào lympho T gây độc từ tế bào lympho tuyến ức (thymocyte) và có thể tác động tạo ra tế bào diệt tự nhiên hoạt hoá ở chuột và người.

10.3. Interleukin 11

IL-11 do tế bào đệm của tuỷ xương và nguyên bào sợi sản xuất. IL-11 khi liên kết với IL-6 kích thích sự sinh trưởng của một số dòng tế bào lympho; còn khi liên kết với IL-3 sẽ kích thích tạo ra các cụm tế bào nhân khổng lồ và làm tăng cường sản xuất protein pha cấp tính của tế bào gan.

10.4. Interleukin 14

IL-14 do tế bào lympho T và một số tế bào lympho B phát triển ác tính sản xuất. Nó tác động làm tăng tế bào lympho B, ức chế tiết các immunoglobulin và mở rộng chọn lọc một số tiểu quần thể tế bào lympho B.

10.5. Interleukin 15

IL-15 bắt nguồn từ đại thực bào hoạt hoá, tế bào biểu mô và các dòng nguyên bào sợi. Tác dụng của nó tương tự tác dụng của IL-2. IL-15 có tác dụng là yếu tố sinh trưởng của tế bào lympho T và tế bào diệt tự nhiên. Nó làm tăng sinh cả các tế bào lympho T hỗ trợ, lympho T gây độc và tạo ra tế bào diệt tự nhiên hoạt hoá.

10.6. Yếu tố kích thích cụm tế bào hạt (G-CSF)

G-CSF do đại thực bào, tế bào nội mô và nguyên bào sợi sản xuất, có vai trò điều khiển sự trưởng thành của tiền tế bào thành bạch cầu trung tính trưởng thành và sự sản xuất superoxide của bạch cầu trung tính.

10.7. Yếu tố kích thích cụm các đại thực bào

Các glycoprotein này được sản sinh từ tế bào lympho T, đại thực bào, nguyên bào sợi, tế bào biểu mô, tế bào nội mô; có vai trò là tiền chất của bạch cầu đơn nhân và tác động làm tăng sinh, biệt hoá tế bào đơn nhân và đại thực bào, làm tăng cường tác dụng gây độc của đại thực bào

10.8. Yếu tố kích thích cụm các bạch cầu hạt và đại thực bào (Granulocyte macrophage colony growth stimulating factor - Gm-CSF)

GM-CSF có nguồn gốc từ tế bào lympho T, đại thực bào, nguyên bào sợi, tế bào nội mô và nó chính là tiền thân của tế bào tuỷ. GM-CSF có tác động kích thích bạch cầu trung tính thực bào, sản xuất superoxide và gây độc, tác động đến bạch cầu ái toan làm tăng sản xuất superoxide và tổng hợp leucotriene C_4 . Nó cũng làm hoạt hoá đại thực bào, làm tăng sản xuất superoxide, thực bào và tác dụng diệt khối u cũng như làm tăng sự biểu thị các phân tử MHC lớp II.

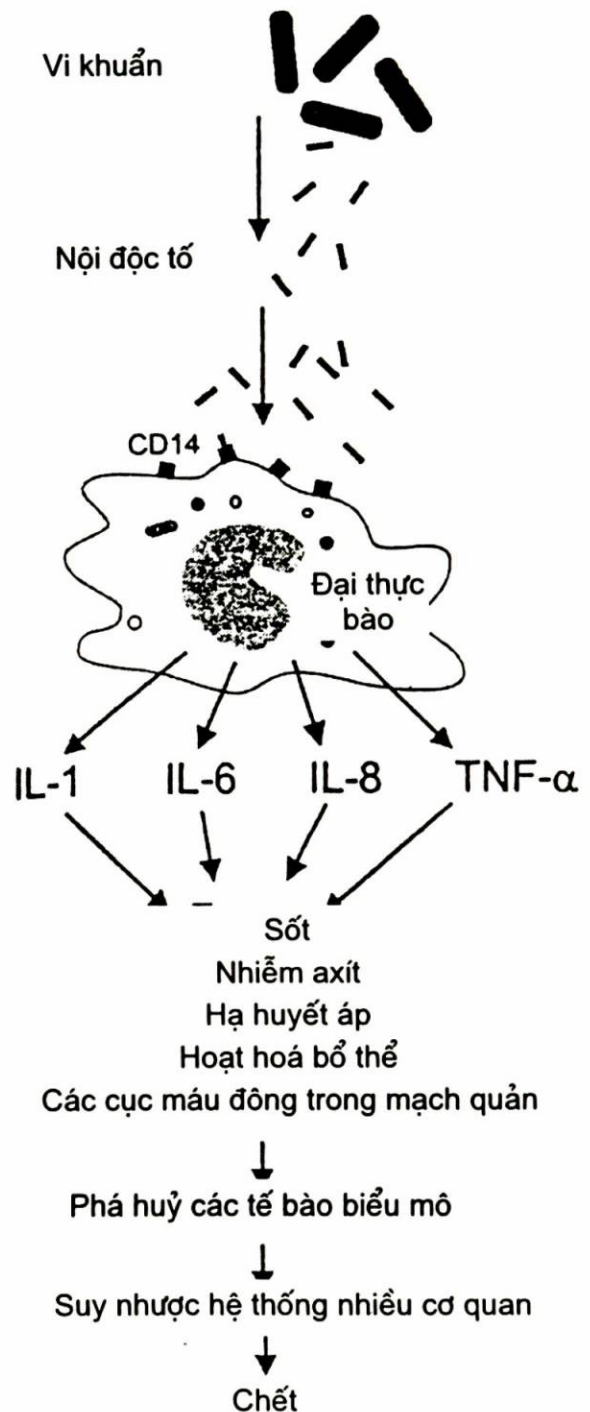
10.9. Yếu tố biến đổi sinh trưởng β

Các yếu tố này gồm năm protein họ hàng. Ba protein trong số đó (TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3) có ở loài có vú. Hai protein còn lại (TGF- β 4, TGF- β 5) được tìm thấy ở gà. Chúng có nguồn gốc từ huyết tiểu cầu, đại thực bào hoạt hoá, bạch cầu trung tính, tế bào lympho B, tế bào lympho T; có đích tác động là tế bào lympho B và tế bào lympho T, đại thực bào và các nguyên bào sợi. TGF- β ức chế sự biểu thị của IL-1R, IL-2R và MHC lớp II, ức chế hô hấp tế bào và ức chế sản xuất IFN- γ , đồng thời cũng ức chế sản xuất các tế bào lympho T gây độc, tế bào diệt tự nhiên, tế bào diệt tự nhiên do lymphokin hoạt hoá, bạch cầu đơn nhân. Nó phong toả sự biệt hoá của bạch cầu đơn nhân và tác dụng gây độc của đại thực bào hoạt hoá, ức chế tăng sinh của tế bào lympho B và tế bào lympho T. Song, chúng cũng có những tác dụng ngược lại với sự ức chế đã mô tả, đó là làm tăng nhiều chức năng miễn dịch, thí dụ kích thích tăng sinh nguyên bào sợi, hướng động hoá học các nguyên bào sợi, bạch cầu đơn nhân và bạch cầu trung tính, kích thích tiết IL-1 và TNF- α của bạch cầu đơn nhân và hoạt động của tế bào lympho T hỗ trợ. Nó chính là yếu tố chủ yếu để chuyển lớp protein sản xuất IgA vì có tác dụng đặc hiệu làm sao chép gene cho chuỗi nặng α .

11. TÁC DỤNG GÂY ĐỘC CỦA CYTOKIN

11.1. Sốc do nhiễm khuẩn huyết

Một số cá thể bị nhiễm vi khuẩn gram âm như *Escherichia coli* hoặc *Salmonella typhi* sẽ có triệu chứng sốt, rét run, đau cơ, đau đầu và buồn nôn. Nặng hơn sẽ có biểu hiện nhiễm độc toan, sốt, giảm huyết áp, giải phóng lactate vào tổ chức, tăng catecholamine trong huyết tương, đông máu rải rác trong mạch quản và tổn thương thận, gan, phổi. Chúng làm tăng tác dụng tiền đông máu của tế bào nội mô, làm tăng cường đông máu trong mạch quản và huyết khối trong mao quản. Nếu nặng, các nhiễm khuẩn này gây suy nhiều hệ thống cơ quan dễ dẫn đến tử vong gọi là sốc do nhiễm khuẩn huyết (hình 7.6).



Hình 7.6. Bệnh lý của sốc do nhiễm khuẩn huyết

Tất cả những tác dụng này do TNF- α gây nên. TNF- α được tiết ra từ đại thực bào do kích thích của nội độc tố. Khi một động vật đề kháng được với nội độc tố thì thấy tế bào của nó không tiết TNF- α . Điều đó chứng minh tác dụng gây độc của vi khuẩn gram âm dường như hoàn toàn là do TNF- α . TNF- α tác dụng trực tiếp đến tế bào nội mô mạch quản, hoạt hoá chúng để tăng biểu thị integrin. Các tế bào này tiết IL-6 và tăng tác dụng tiền đông máu. Sự mẫn cảm của động vật có vú với sốc do nhiễm khuẩn huyết có sự khác nhau giữa các loài. Ở mèo, ngựa, cừu và lợn có một quần thể lớn đại thực bào trong mao quản phổi, do vậy một lượng nhỏ vi khuẩn gram âm hoặc nội độc tố cũng gây ra tổn thương lan rộng ở phổi của chúng. Ngược lại, chó và các động vật phòng thí nghiệm thiếu đại thực bào trong mạch quản phổi và tương đối không mẫn cảm với tổn thương phổi trong sốc do nhiễm khuẩn huyết.

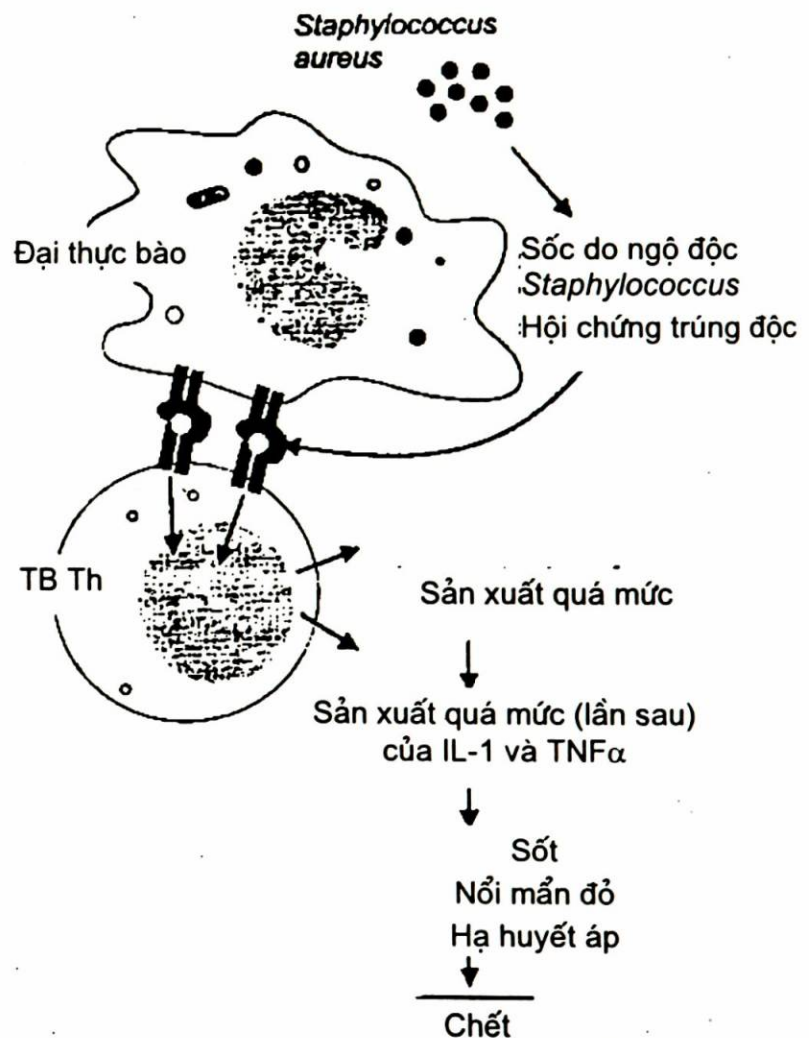
Tác dụng độc không chỉ được sản sinh trong sốc do nhiễm khuẩn mà còn xuất hiện khi động vật tiếp xúc kéo dài với liều dưới mức gây chết của TNF- α . Con vật sút cân, thiếu máu và suy giảm protein. Sút cân là do TNF- α ức chế tổng hợp enzyme cần thiết cho sự thu nhận lipid của tiền tế bào mỡ, làm cho tế bào mỡ trưởng thành mất khả năng dự trữ lipid. TNF- α cũng kích thích dị hoá tế bào cơ và tế bào gan làm gây sút ở cá thể bị ung thư, bệnh nhiễm khuẩn hoặc nhiễm ký sinh trùng mãn tính.

11.2. Sốc do độc tố vi khuẩn

Một số chủng tụ cầu *Staphylococcus aureus* sản xuất độc tố có thể gắn đặc hiệu với một số BCR. Khi gắn như vậy chúng có tác dụng là các siêu kháng nguyên và gây ra đáp ứng miễn dịch của tế bào lympho T (hình 7.7). Những độc tố này có thể gắn và kích thích đến 20% tế bào lympho T của một động vật. Do kích thích này mà tế bào lympho T tiết một số lượng lớn cytokin IL-2 và IFN- γ . Những cytokin này lại kích thích sản xuất TNF- α và IL-1 gây nên sốt, hạ huyết áp dẫn đến sự suy sụp của cơ thể, tổn thương da và tổn thương gan, thận, ruột. Tình trạng này có thể gây chết gọi là hội chứng sốc do độc tố.

11.3. Bệnh do mảnh ghép gây ra đối với vật chủ

Hội chứng khác do sản xuất quá mức cytokin (đặc biệt là TNF- α) là



Hình 7.7. Bệnh lý của hội chứng sốc do độc tố

bệnh mảnh ghép gây ra đối với vật chủ. Tế bào lympho của mảnh ghép tấn công tổ chức của con vật nhận mảnh ghép bằng tác động của TNF- α mà chúng tiết ra gây huỷ hoại niêm mạc dẫn đến ỉa chảy, hoại tử gan và loét niêm mạc.

TN-F không phải là cytokin duy nhất gây độc. Tất cả các cytokin chủ yếu đều có thể gây độc mạnh khi sử dụng hơi quá liều. Như vậy, IL-2 liều thấp làm con vật ốm, gây ra sốt, lạnh và ỉa chảy; còn liều cao gây giảm tiêu cầu, giảm huyết áp, phù phổi và tử vong.

12. CÁC CYTOKIN CỦA VIRUS

Một số virus sản xuất ra protein có liên quan chặt chẽ hoặc ảnh hưởng đến cytokin của động vật có vú. Chúng được gọi là các virokin. Virus đậu bò sản xuất protein ái IL-1 β và cũng có khả năng ức chế protease cần thiết để sản xuất IL-1 β . Enzyme này gọi là IL-1 β . Một gene của virus mã hoá cho một chất ức chế đặc hiệu IL-1 β convertase. Nhờ vậy virus đậu bò có thể ức chế được đáp ứng của IL-1 β . Cả hai cơ chế này có thể làm giảm rõ lượng IL-1 β sẵn có để thúc đẩy đáp ứng miễn dịch. Virus gây Herpes ở người sản xuất một protein có quan hệ chặt chẽ với IL-10 gọi là vIL-10. vIL-10 có vai trò chủ yếu là cytokin ức chế, làm giảm một cách có hiệu quả đáp ứng miễn dịch tế bào do tế bào lympho T điều khiển.

Chương 8

KHÁNG THỂ, BỔ THỂ

Những receptor hoà tan có tác dụng kháng thể, kết hợp đặc hiệu với kháng nguyên làm kháng nguyên bị phá huỷ hoặc bị loại bỏ nhanh - đó là những BCR - là protein receptor chuyên biệt gắn trên bề mặt của tế bào lympho B. Những protein này không chỉ có trên bề mặt của tế bào lympho B. Một khi có đáp ứng miễn dịch, chúng từ tế bào lympho B đổ vào các dịch xung quanh. Kháng thể có trong nhiều dịch của cơ thể nhưng nơi mà chúng có nồng độ cao nhất và dễ dàng thu được nhất là huyết thanh. Kháng thể bảo vệ cơ thể động vật chống lại tác nhân gây bệnh như vi khuẩn, virus và nguyên sinh động vật. Chúng cũng có tác dụng trong một số dịch khác của cơ thể như máu, sữa và ngay cả trên bề mặt cơ thể. Có nhiều lớp immunoglobulin khác nhau, mỗi lớp có tác dụng tốt nhất trong một số môi trường xác định (thí dụ IgA tác dụng trên các bề mặt của cơ thể). Các Ig cũng có thể có tác dụng tốt nhất trên từng nhóm tác nhân gây bệnh xác định, thí dụ IgE có hiệu quả đặc biệt đối với ký sinh trùng.

1. KHÁNG THỂ

Kháng thể là Globulin do cơ thể sinh ra khi có kháng nguyên xâm nhập kích thích, có khả năng kết hợp đặc hiệu với kháng nguyên ấy.

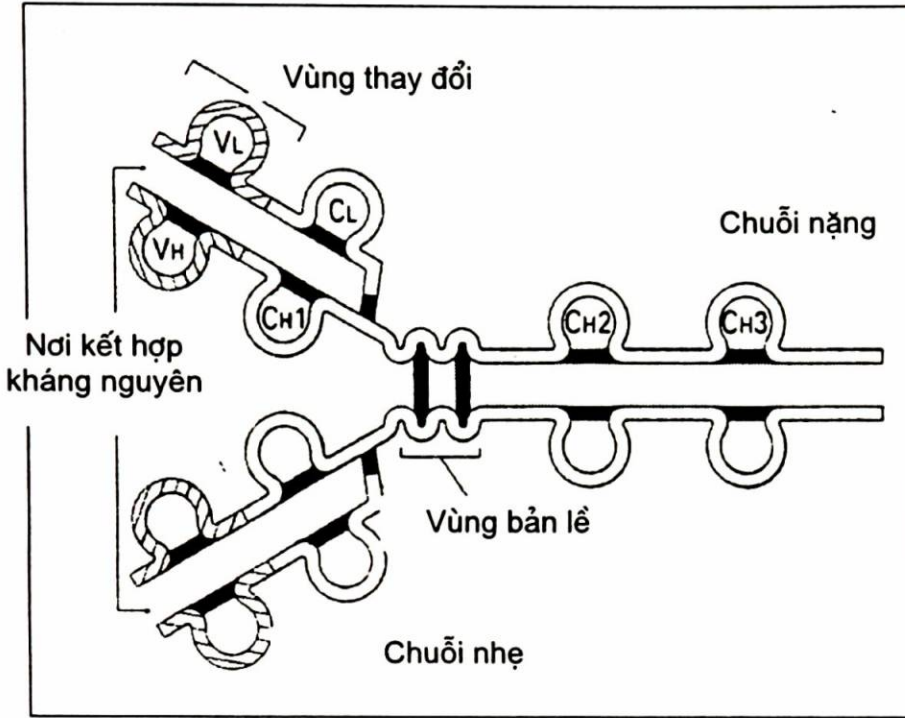
1.1. Bản chất của kháng thể

Kháng thể có thể dễ dàng được tách chiết từ một số dịch của cơ thể như máu hoặc sữa. Phần tử kháng thể là các glycoprotein gọi là immunoglobulin (globulin miễn dịch) viết tắt là Ig. Thuật ngữ immunoglobulin phản ánh cấu trúc không đồng nhất của BCR bao gồm 5 lớp (hay còn gọi là isotype) dựa vào các chuỗi nặng của chúng. Lớp immunoglobulin được tìm thấy có nồng độ cao nhất trong huyết thanh là immunoglobulin G (IgG). Lớp có nồng độ cao thứ hai trong huyết thanh của hầu hết loài có vú là immunoglobulin M (IgM). Lớp có nồng độ immunoglobulin cao thứ ba trong huyết thanh của phần lớn loài có vú là immunoglobulin A (IgA). Tuy nhiên IgA là Immunoglobulin chiếm ưu thế trong dịch tiết như nước bọt, sữa, hoặc dịch ruột. Immunoglobulin D (IgD) chủ yếu là các BCR và rất hiếm khi gặp trong dịch của cơ thể. Không phải động vật có vú nào cũng có Immunoglobulin này. Immunoglobulin E (viết tắt là IgE) có nồng độ thấp trong huyết thanh và tham gia vào các phản ứng dị ứng. Khi điện di huyết thanh thấy protein của nó được tách thành 4 phần chủ yếu (theo chuyển động điện di). Phần tích điện âm có chứa một protein đơn, đồng nhất là albumin. Ba thành phần khác là các α , β và γ globulin. Phần lớn trong số Immunoglobulin ở gần cathode là γ globulin; IgM di chuyển trong số β globulin.

1.1.1. Các lớp globulin

1.1.1.1. Immunoglobulin G

IgG được tương bào sản xuất và tiết ra ở lách, hạch lympho và tuỷ xương. Đây là immunoglobulin có nồng độ cao nhất trong máu và đóng vai trò quan trọng trong các cơ chế bảo vệ do kháng thể. Nó có cấu trúc BCR điển hình với trọng lượng phân tử 180 kDa, có hai chuỗi nhẹ giống nhau và hai chuỗi nặng γ (hình 8.1).

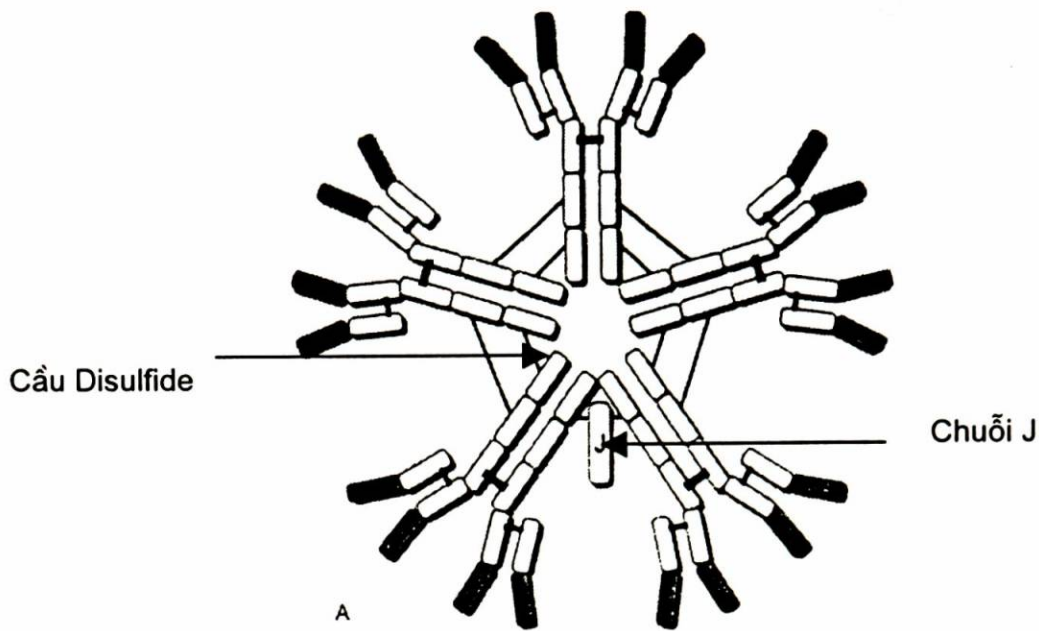


Hình 8.1. Cấu tạo của IgG

Các chuỗi nhẹ có thể là κ hoặc λ . Do là immunoglobulin nhỏ nhất trong các lớp immunoglobulin, IgG có thể thoát ra khỏi mạch quản dễ hơn các lớp immunoglobulin khác. Điều này hết sức quan trọng giúp IgG làm nhiệm vụ trong các tổ chức viêm. Tại ổ viêm, tính thấm thành mạch tăng lên để IgG tham gia vào sự phòng vệ của dịch tổ chức và các bề mặt của cơ thể. IgG dễ dàng kết hợp với kháng nguyên lạ đưa đến hiện tượng ngưng kết và dẫn đến opsonin hoá. IgG có thể hoạt hoá hệ thống bổ thể khi chúng tích lũy đủ trên bề mặt kháng nguyên và sắp xếp hợp lý.

1.1.1.2. Immunoglobulin M

IgM cũng được tương bào sản xuất và tiết ra ở lách, hạch lympho và tuỷ xương; có nồng độ cao thứ hai trong số các Ig ở hầu hết huyết thanh loài có vú. Khi tác dụng là một BCR trên tế bào lympho B, IgM là một chuỗi peptide đơn 180 kDa. Tuy nhiên dạng tiết của IgM là một polypeptide. Phân tử IgM polypeptide (có trọng lượng phân tử là 900 kDa) bao gồm năm tiểu đơn vị 180 kDa nối với nhau bằng các cầu disulfide theo kiểu vòng (hình 8.2). Phân tử IgM có một chuỗi polypeptide giàu cystein (gọi là chuỗi J). Mỗi một chuỗi đơn IgM có cấu trúc là một immunoglobulin thông thường, có chứa hai chuỗi nhẹ K , hoặc hai chuỗi nhẹ λ và hai chuỗi nặng μ . Mỗi chuỗi μ khác với chuỗi γ là có vùng hằng định thứ tư bổ sung (C_H4) cũng như là một đoạn 20 amino acid trên vùng có tận cùng C nhưng nó không có vùng bản lề, nơi kết hợp bổ thể. Vùng hoạt hoá bổ thể của IgM nằm trong khu vực C_H4 (hình 8.2).

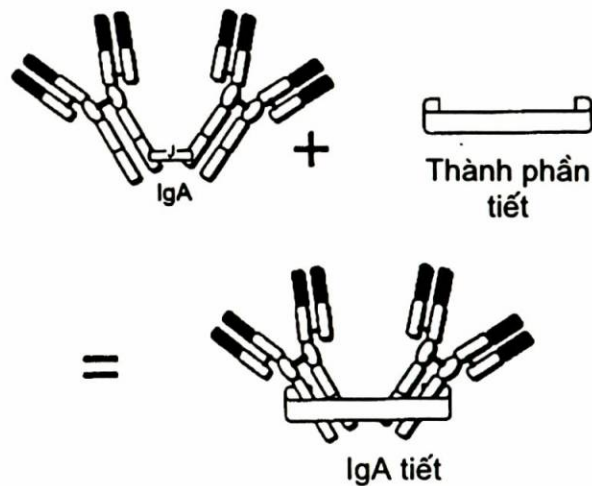


Hình 8.2. Cấu tạo của IgM

IgM là lớp immunoglobulin được hình thành chủ yếu trong đáp ứng miễn dịch lần đầu. Nó cũng được sản xuất trong đáp ứng miễn dịch lần sau nhưng gần như bị IgG lấn át. Tuy được sản xuất với lượng nhỏ, IgM có hiệu quả hơn IgG trong hoạt hoá bổ thể, opsonin hoá, trung hoà virus và phản ứng ngưng kết. Do có kích thước lớn, các phân tử IgM thường chỉ có ở máu. Phân tử IgM ít có vai trò bảo vệ trong các dịch (tổ chức hoặc dịch tiết) và ngay cả trong tổ chức viêm cấp.

1.1.1.3. Immunoglobulin A

IgA được tương bào tiết ra và chủ yếu có ở niêm mạc. Như vậy nó được tạo ra ở vách ruột, đường hô hấp, hệ thống tiết niệu và tuyến vú. Nồng độ IgA trong huyết thanh thường thấp hơn nồng độ của IgG. Phân tử này có trọng lượng là 150 kDa, thường được tiết ở dạng chuỗi peptide đôi. Mỗi cấu trúc IgA chuỗi peptide đôi điển hình có 4 chuỗi, hai chuỗi nhẹ α và hai chuỗi nặng có ba vùng hằng định. Trong IgA, các phân tử được nối với nhau bằng một chuỗi J nối một khu vực C_{H2} của một phân tử với khu vực C_{H3} của một phân tử khác (hình 8.3).

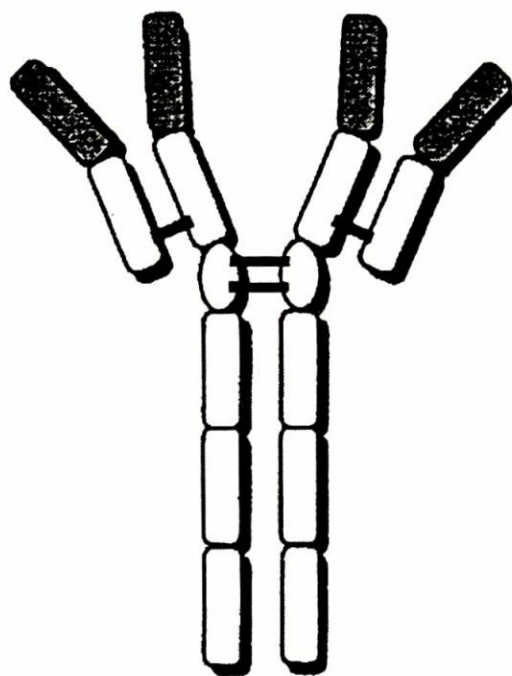


Hình 8.3. Cấu tạo của IgA

Các chuỗi polypeptide đôi khi cũng có trong huyết thanh. IgA được sản xuất ở bề mặt của cơ thể rồi có thể đi qua tế bào nội mô để vào dịch tiết hoặc khuếch tán vào tuần hoàn máu. Như thế phần lớn IgA được sản xuất ở vách ruột sẽ được đưa vào dịch ruột. IgA được vận chuyển qua tế bào biểu mô ruột gắn vào một receptor polypeptide của immunoglobulin 71 kDa (pIgR) hay còn gọi là thành phần tiết. Thành phần tiết kết hợp đồng hoá trị với chuỗi peptide đôi của IgA để tạo ra một phức hợp gọi là IgA tiết (secretary IgA), gọi tắt là SIgA, có vai trò bảo vệ IgA chống lại tác dụng của các protease. IgA tiết là immunoglobulin chủ yếu trong dịch ngoại bào của loài không nhai lại. Như vậy nó rất quan trọng trong tác dụng bảo vệ ruột, đường hô hấp, tuyến vú và mắt chống lại sự xâm nhập của vi sinh vật gây bệnh. IgA không có tác dụng hoạt hoá hệ thống bổ thể và không có tác dụng opsonin. Tuy nhiên nó có thể làm ngưng kết kháng nguyên đặc biệt và trung hoà virus. Cách tác dụng của IgA là ngăn cản sự kết dính của kháng nguyên lên các bề mặt của cơ thể.

1.1.1.4. Immunoglobulin E

IgE cũng giống như IgA, được sản xuất chủ yếu ở tương bào nằm dưới các lớp tế bào ngoài cùng của bề mặt cơ thể. Đây là immunoglobulin có hình chữ Y điển hình, có bốn vùng hằng định trong chuỗi nặng ϵ và có trọng lượng phân tử 190 kDa (hình 8.4).



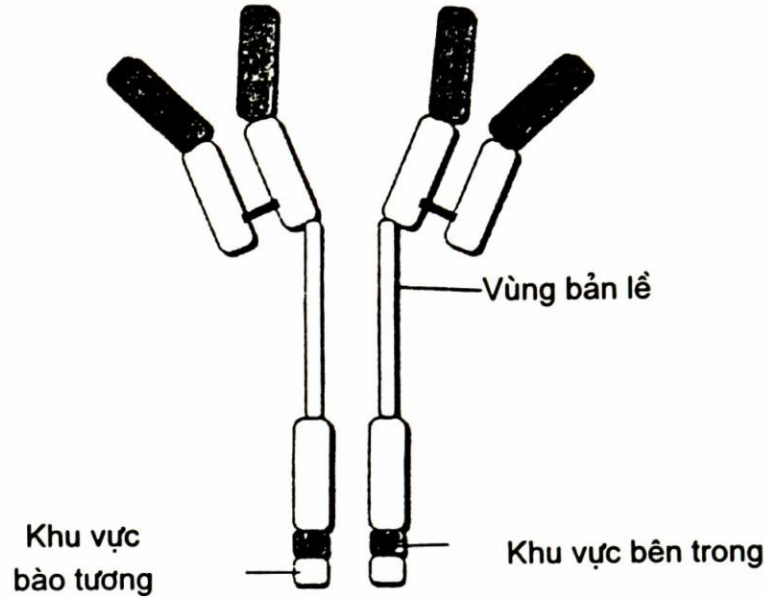
Hình 8.4. Cấu tạo của IgE

Trong huyết thanh kháng thể này có nồng độ rất thấp. Do có nồng độ thấp nên nó không thể tác động đơn giản bằng cách kết hợp hoặc bao phủ kháng nguyên giống như những immunoglobulin khác mà tác dụng bằng cách chuyển tín hiệu. Các phân tử IgE bình thường gắn vào receptor trên tế bào mast và bạch cầu ái kiềm (Fc ϵ R1). Khi kháng nguyên kết hợp với những phân tử này sẽ làm giải phóng nhanh chất gây viêm từ các tế bào trên. Viêm cấp tính hình thành sẽ làm tăng bảo vệ cục bộ và hỗ trợ loại bỏ tác nhân gây bệnh xâm nhập. IgE gây ra phản ứng quá mẫn type I và có tác dụng trong miễn dịch

kháng lại ký sinh trùng đường tiêu hoá. IgE có thời gian bán thải ngắn nhất so với tất cả immunoglobulin (khoảng 2-3 ngày) và dễ bị sức nóng phá huỷ.

1.1.1.5. Immunoglobulin D

IgD do tế bào lympho B tiết ra, chủ yếu là một BCR và chỉ một lượng nhỏ IgD hoà tan được. Phân tử IgD bao gồm hai chuỗi nặng δ có trọng lượng phân tử khoảng 170 kDa. IgD chỉ có hai vùng trong chuỗi nặng vì thiếu vùng C_H2 (hình 8.5).



Hình 8.5. Cấu tạo của IgD

Hai vùng (C_H1 và C_H3) được ngăn cách bởi một vùng bản lề dài. Do vùng bản lề dài này và không có các cầu disulfide giữa các chuỗi nên IgD rất mẫn cảm với tác dụng phân giải của protease. Protease thường được tạo ra khi máu đông. IgD có nồng độ thấp trong huyết tương và không có trong huyết thanh. Không phải loài nào cũng có IgD. IgD có ở người, linh trưởng, chuột cống, chuột và cũng có thể có ở chó nhưng không có ở lợn, thỏ và những loài gia súc khác.

1.1.2. Cấu trúc ba chiều của immunoglobulin

Một phân tử IgG chuỗi đơn gồm có ba vùng hình cầu (hai vùng của mảnh Fab và một vùng của mảnh Fc) được nối bằng một bản lề linh hoạt. Mỗi một vùng hình cầu được tạo nên bởi các khu vực sắp xếp thành từng đôi. Như vậy mỗi khu vực của mảnh Fab có hai khu vực tương tác (V_H - V_L và C_H1 - CL), trong khi các vùng của mảnh Fc có hai hoặc ba vùng sắp xếp thành từng đôi tùy thuộc vào lớp immunoglobulin (C_H2 - C_H2 , C_H3 - C_H3 hay C_H4 - C_H4 ở IgE hoặc IgM). Các chuỗi polypeptide trong mỗi khu vực xoắn lại với nhau rất chặt chẽ. Trong khu vực hình cầu của mảnh Fab có một rãnh nằm giữa hai vùng thay đổi V_H và V_L . Peptide của vùng xác định bổ sung (CDR) nằm dọc theo rãnh và do vậy hình dáng của rãnh thể hiện rất khác nhau. Rãnh này hình thành nên vị trí kết hợp kháng nguyên. Vùng xác định bổ sung ở cả chuỗi nặng và chuỗi nhẹ góp phần vào sự kết hợp của kháng nguyên. Tuy nhiên chuỗi nặng thường đóng góp nhiều nhất. Do immunoglobulin có hai phần giống nhau nên một phân tử immunoglobulin có hai vị trí kết hợp kháng nguyên và có khả năng kết hợp với hai quyết định kháng nguyên

giống nhau. Sự có mặt của vùng bản lề ở giữa mỗi chuỗi nặng làm cho các immunoglobulin rất linh hoạt. Do có hai vị trí kết hợp kháng nguyên trên mỗi khu vực Fab giống nhau, immunoglobulin có thể đồng thời kết hợp chéo với hai quyết định kháng nguyên và làm các vi khuẩn có thể bị ngưng kết. Còn khi phân tử protein hoà tan kết hợp chéo với kháng thể, chúng rời khỏi chất lỏng và tạo thành kết tủa.

1.1.3. Sự khác nhau của các immunoglobulin

1.1.3.1. Các lớp immunoglobulin

Tất cả các immunoglobulin tác dụng là BCR hoặc kháng thể được tạo nên bởi hai chuỗi nặng và hai chuỗi nhẹ. Chuỗi nặng được sử dụng để tạo ra những phần tử này và chúng quyết định immunoglobulin thuộc lớp nào. Như vậy khi các chuỗi γ được sử dụng thì immunoglobulin được tạo ra là IgG. IgM có chuỗi μ ; IgA có chuỗi α . Tuy nhiên immunoglobulin có thể được chia nhỏ thành những lớp phụ. Sự khác nhau về các chuỗi amino acid và về khả năng kết hợp kháng nguyên giữa các chuỗi phụ này rất ít. Thí dụ immunoglobulin ở bò là một hỗn hợp hai lớp phụ IgG1 và IgG2. Khi điện di IgG1 di chuyển nhanh hơn IgG2 và vì vậy có thể phân biệt bằng điện di miễn dịch. Những lớp phụ immunoglobulin này có thể có hoạt tính sinh học khác nhau, thí dụ IgG2 của bò ngưng kết kháng nguyên đặc biệt trong khi IgG1 không có tác dụng này. Đặc tính này có ý nghĩa quan trọng trong chẩn đoán các bệnh nhiễm khuẩn như sẩy thai truyền nhiễm. Tất cả động vật trong một loài sẽ có tất cả các lớp phụ này. Số lượng và tính chất của những lớp phụ này rất thay đổi giữa các loài, thí dụ phần lớn loài có vú chỉ có một hoặc hai lớp phụ IgA nhưng thỏ có thể có trên 13 lớp phụ của IgA.

Allotype

Ngoài sự khác nhau về lớp phụ còn có thể có sự khác nhau về tính thừa kế của cấu trúc immunoglobulin giữa các cá thể. Immunoglobulin của một cá thể có thể khác với một cá thể khác trong cùng loài (hình 8.6).

Những biến thể này gọi là allotype và được xác định về di truyền. Những cá thể đồng hợp tử có cùng allotype trên tất cả các immunoglobulin của một lớp xác định. Các cá thể dị hợp tử một nửa immunoglobulin của chúng mang allotype này và một nửa mang allotype loại khác.

Idiotypic

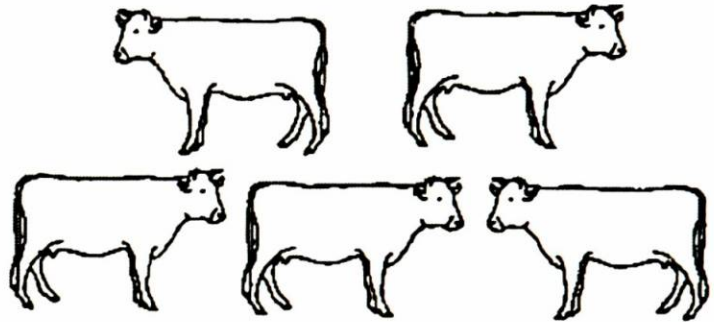
Nhóm thứ ba của các biến thể ở immunoglobulin được tạo ra do những biến đổi chuỗi amino acid trên vùng thay đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ. Các biến thể này gọi là idiotype. Một số idiotype có thể nằm trên vị trí kết hợp kháng nguyên, một số khác nằm trên vùng không kết hợp kháng nguyên của vùng V.

1.1.3.2. Sự sản xuất các chuỗi nặng của immunoglobulin

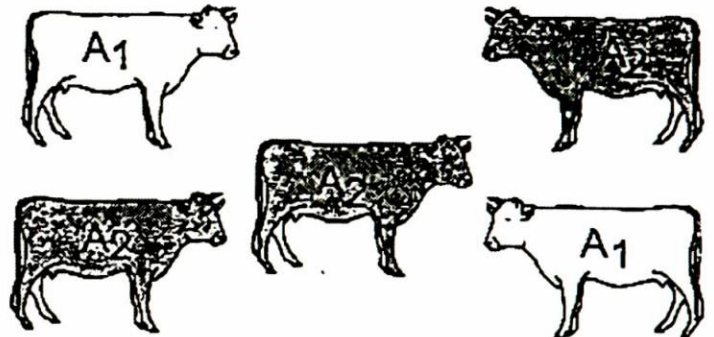
Mỗi một lớp immunoglobulin có chuỗi nặng đặc trưng riêng. Mỗi chuỗi nặng được hai bộ gene riêng khác nhau mã hoá. Một bộ mã hoá cho khu vực biến đổi (tức là mã hoá cho vị trí kết hợp kháng nguyên) trong khi bộ gene kia mã hoá cho khu vực hằng

định. Gene mã hoá cho vùng hằng định ở mỗi chuỗi nặng của immunoglobulin bao gồm một bộ bốn hoặc năm exon. Mỗi exon mã hóa cho một khu vực, đó là khu vực hằng định và vùng bản lề. Vì vậy một gene cho vùng hằng định hoàn chỉnh của một IgM bao gồm năm exon trong khi một gene của vùng hằng định của IgA có bốn exon. Tất cả các gene của vùng hằng định ở chuỗi nặng cùng nằm trên một nhiễm sắc thể. Chúng được sắp xếp theo trật tự 5'-V-C μ -C δ -C γ -C ϵ -C α -3'. Như vậy những gene cho C δ tiếp theo sau nhóm gene cho các chuỗi C μ rồi tới các gene cho C γ v.v... Sự chọn lọc của gene trên vùng thay đổi xảy ra sớm trong quá trình phát triển của tế bào lympho B và một khi đã được chọn lọc thì sự chọn lọc đó không thay đổi nữa. Các gene V được chọn lọc tách khỏi các gene C cho đến khi sự sao chép vào mRNA bắt đầu. Ngược lại, các gene dùng để tạo ra vùng hằng định của chuỗi nặng lại được chọn tương đối muộn và thay đổi khi đáp ứng miễn dịch tăng lên.

Tất cả bò có một bộ hoàn chỉnh các lớp và dưới lớp (ISOTYPE) IgG.1, IgG.2, IgM, IgE



Trong quần thể bò đó có các ALLOTYPE khác nhau
 Một số có IgG2 (A1)
 Những cá thể khác có IgG2 (A2)



Bất kể cá thể nào cũng có một số lượng lớn các IDIOTYPE khác nhau



Hình 8.6. Sự khác nhau về tính thừa hưởng các biến thể của immunoglobulin chủ yếu

1.1.3.3. Sự chuyển lớp immunoglobulin

Trong quá trình đáp ứng của một kháng thể, immunoglobulin có thay đổi lớp, mặc dù khả năng kết hợp kháng nguyên không thay đổi. Sự thay đổi này có thể bằng cách tạo ra và sử dụng gene của chuỗi nặng. Trong đáp ứng của một kháng thể, các lớp

immunoglobulin được tổng hợp theo một chuỗi hầu như không thay đổi. Tế bào lympho B sử dụng gene đầu tiên là C_{μ} để sản xuất BCR của IgM. Những gene còn lại từ 3' đến C_{μ} không được sử dụng đến. Ở người và các động vật sản xuất IgD thì tế bào lympho B sao chép các gene C_{δ} và sau đó sản xuất cả IgM và IgD. Cuối cùng tế bào lympho B đáp ứng chuyển sang sử dụng C_{γ} , C_{α} hoặc C_{ϵ} tổng hợp BCR và các immunoglobulin của một trong những lớp chủ yếu khác (IgG, IgA hoặc IgE). Gene C thừa bị loại bỏ, các gene C cần thiết liên kết trực tiếp với các gene V. Thí dụ, nếu IgM được tổng hợp, các gene V liên kết trực tiếp với các gene C_{μ} . Nếu IgA được tổng hợp thì gene mã hoá cho C_{μ} đến C_{ϵ} bị cắt bỏ và các gene V liên kết trực tiếp với các gene C_{α} . Có một số cách cắt bỏ các gene tác động, cách đơn giản nhất là cuộn lại và loại bỏ. Trong những trường hợp này những đoạn gene V và C tập hợp lại với nhau bằng cách cuộn lại và cắt bỏ DNA tác động, sử dụng một enzyme gọi là recombinase. Có hai tín hiệu cần thiết để khởi xướng sự chuyển lớp immunoglobulin ở tế bào lympho B. Đầu tiên tế bào lympho B phải nhận được một tín hiệu hoạt hoá. Tín hiệu này bắt nguồn từ sự liên kết chéo của CD40 trên tế bào lympho B với chất gắn CD40 L của nó trên tế bào lympho T hỗ trợ. Thứ hai là sự chuyển lớp đặc hiệu phải được xác định. Sự lựa chọn này được cytokin điều chỉnh, nhất là IL-4, TGF- β và IFN- γ . Tín hiệu từ CD40 và kháng nguyên hoạt hoá recombinase trên tế bào lympho B, trong khi các cytokin bằng cách hoạt hoá một số vùng lại hướng mục tiêu recombinase đến khu vực chuyển lớp đặc hiệu.

1.1.3.4. BCR và các immunoglobulin hoà tan

Immunoglobulin có thể tồn tại ở dạng BCR có chuỗi peptide đơn hoặc ở dạng kháng thể tiết. Chuỗi nặng của dạng này gắn vào màng, để một khu vực có tận cùng C (bao gồm các amino acid kỵ nước) ở trong màng. Khu vực này không có ở kháng thể tiết. Sự chuyển đổi giữa hai dạng này phụ thuộc vào sự liên kết khác nhau của các exon. Thí dụ ở DNA mã hoá cho IgM có hai exon ngăn $C_{\mu S}$ và $C_{\mu M}$, $C_{\mu S}$ mã hoá cho khu vực có tận cùng C còn $C_{\mu M}$ thì mã hoá cho khu vực kỵ nước gắn vào màng tế bào lympho. Khi IgM được sản xuất, tất cả các exon của C_{μ} được sao chép đầu tiên. Tuy nhiên để sản xuất IgM của màng, mRNA được phân chia làm cho exon $C_{\mu S}$ mất đi và exon $C_{\mu 4}$ nối trực tiếp với exon $C_{\mu M}$. Để sản xuất IgM tiết, exon $C_{\mu M}$ mất đi và sự dịch mã ngừng lại sau khi $C_{\mu 4}$ và $C_{\mu S}$ được đọc.

1.2. Các immunoglobulin ở vật nuôi

Tất cả loài có vú có bốn immunoglobulin chủ yếu. Đặc điểm cơ bản của mỗi lớp không khác nhau giữa các loài. Tuy nhiên giữa những loài có vú có sự khác nhau về số lượng, loại lớp phụ và allotype có mặt ở mỗi loài.

1.2.1. Ngựa

Ở ngựa có bốn lớp phụ immunoglobulin: IgGa, IgGb, IgGc, IgB và hai dạng IgT, đó là Ta và Tb. Trước đây người ta nghĩ rằng IgT là đồng đẳng của IgA. Đặt tên là T bắt nguồn từ việc quan sát thấy nồng độ của nó cao ở ngựa được sử dụng cho sản xuất

globulin miễn dịch uốn ván (Tetanus). Tuy nhiên phân tích cấu tạo của nó cho thấy đó là một lớp phụ. IgT không hoạt hoá bổ thể của chuột lang và tạo phản ứng kết tủa với các cụm kết tủa đặc trưng. IgM, IgA và IgE cũng đã được xác định ở ngựa.

1.2.2. Bò

IgG của bò được chia thành hai lớp phụ: IgG1 và IgG2. Có thể có hai lớp phụ của IgG2 đó là IgG2a và IgG2b nhưng chưa được khẳng định. IgG1 chiếm 50% IgG trong huyết thanh và là IgG quan trọng vì chiếm ưu thế hơn IgA trong sữa bò. Có sự khác nhau về nồng độ của IgG2 giữa các loại bò. Bò có một receptor độc nhất của Fc trên đại thực bào và bạch cầu trung tính; receptor này có cấu tạo không giống bất kỳ receptor nào của Fc khác và chỉ gắn với IgG2. Hai allotype của IgG2 (G_2A^1 và G_2A^2) và một allotype của IgG1 (G_1A^1) đã được xác định. Allotype B1 được tìm thấy trên chuỗi nhẹ ở một số bò nhưng không phổ biến. Người ta cũng đã xác định được IgE ở bò.

1.2.3. Cừu

Các lớp phụ immunoglobulin ở cừu cũng tương tự ở bò. Cừu có IgG1, IgG2, IgG3. Cũng đã có thông báo về IgG1a của cừu nhưng có thể đây chỉ là allotype. Cừu có IgE và hai lớp phụ của IgA.

1.2.4. Lợn

Lợn có ít nhất năm lớp phụ của IgG: IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3 và IgG4. Các IgG này có được xếp là nhóm phụ không thì vẫn còn là vấn đề phải xem xét vì chúng khác nhau rất ít, thí dụ IgG2a và IgG2b chỉ khác nhau ba amino acid. IgG là immunoglobulin chiếm ưu thế trong huyết thanh (chiếm 85% tổng số immunoglobulin), IgM chiếm khoảng 12% và IgA có chuỗi peptide đôi chiếm khoảng 3% immunoglobulin huyết thanh. Lợn có hai lớp phụ IgA, IgA1 có vùng bản lề gồm 12 amino acid, IgA2 có vùng bản lề chỉ gồm có 2 amino acid. IgE cũng đã được xác định ở lợn. Bốn allotype của IgG và một allotype của IgM đã được báo cáo. Lợn không có IgD.

1.2.5. Chó và mèo

Chó có bốn lớp phụ của IgG: IgG1, IgG2, IgG3 và IgG4. Động vật này cũng có IgA, IgM và IgE. Đây là loài độc nhất có hai lớp phụ IgE, đó là IgE1 và IgE2. Mèo có ít nhất ba và có thể bốn lớp phụ của IgG (IgG1, IgG2, IgG3 và IgG4), một IgM và có thể hai lớp phụ của IgA (IgA1 và IgA2), một kháng thể miễn cảm với nhiệt có lẽ là IgE. Một allotype của IgM đã được xác định ở chó.

1.2.6. Loài linh trưởng

Sử dụng kháng huyết thanh chống lại 4 lớp phụ của IgG ở người đã xác định được các lớp phụ tương tự ở vượn gorilla và orangutan. Tinh tinh (chimpanzee) có ba lớp IgG1, IgG2 và IgG3. Phân tử IgG2 có một quyết định kháng nguyên cũng được phát hiện thấy ở IgG2 và IgG4 người. Khỉ mồm chó (*Papio cyanocephalus*) có bốn lớp phụ IgG nhưng quyết định kháng nguyên của chúng không giống với quyết định kháng nguyên ở người. Khỉ Rhesus có hai lớp phụ của IgM. Tất cả linh trưởng, trừ orangutan, có hai lớp phụ IgA.

2. SỰ KẾT HỢP KHÁNG THỂ VỚI KHÁNG NGUYÊN VÀ ĐẶC ĐIỂM DI TRUYỀN

Vi sinh vật phát triển và biến đổi nhanh chóng, hệ thống miễn dịch cần phải có khả năng đáp ứng không chỉ với những kháng nguyên đang có mà còn với kháng nguyên mới mà vi sinh vật sẽ phát triển. Nghiên cứu về tính đặc hiệu của kháng thể đáp ứng với bán kháng nguyên cho thấy hầu như bất kỳ một phân tử chất hữu cơ nào cũng có thể sử dụng làm bán kháng nguyên và sản xuất kháng thể đặc hiệu với nó. Điều đó có nghĩa là một động vật có thể sản xuất một số lượng khổng lồ các kháng thể khác nhau. Cũng tương tự như vậy trong đáp ứng miễn dịch tế bào. Phạm vi của các đáp ứng miễn dịch đặc hiệu chứng tỏ có một số lượng lớn TCR. Khả năng của BCR hoặc TCR gắn với kháng nguyên được quyết định bởi hình dạng của vị trí kết hợp kháng nguyên. Hình dạng này lại phụ thuộc vào sự gấp lại của các chuỗi peptide được chi phối bởi chuỗi amino acid của nó. Mỗi chuỗi amino acid trên chuỗi peptide có ảnh hưởng đến amino acid gần đó, quyết định sự định hướng của nó. Vì vậy hình dạng cuối cùng của một chuỗi peptide tiêu biểu cho toàn bộ tác dụng của tất cả các amino acid trên chuỗi. Hình dạng của một protein chỉ được quyết định bởi chuỗi amino acid của nó và chuỗi này được quyết định bởi chuỗi bazơ ở DNA mã hoá cho phân tử đó. Thông tin cần thiết để tạo ra các receptor của kháng nguyên được dự trữ ở bộ gene (genome) của một động vật và tất cả những gì cần thiết để receptor được sản xuất là những gene cần thiết được chọn lọc bằng cách tiếp xúc với một quyết định kháng nguyên đặc hiệu. Kết quả là receptor đặc hiệu có thể được tổng hợp thông qua sử dụng RNA thông tin thích hợp.

2.1. Kết hợp kháng nguyên với receptor trên kháng thể

Khi một kháng nguyên và receptor đặc hiệu kết hợp với nhau, chúng tương tác thông qua các nhóm hoá học trên bề mặt của quyết định kháng nguyên và vùng quyết định bổ sung (CDR) của receptor. Chi tiết về quá trình kết hợp này đã được kiểm tra bằng việc sử dụng kháng thể. Nguyên lý kết hợp có thể giống nhau cho cả BCR và TCR. Sự kết hợp của một quyết định kháng nguyên với BCR hoặc TCR là sự kết hợp không đồng hoá trị, vì vậy kết hợp mạnh nhất khi hai thành phần này tiếp cận gần nhau và khi quyết định kháng nguyên và CDR có hình thể phù hợp với nhau. Yêu cầu phù hợp về hình thể này có thể ví như sự phù hợp giữa chìa khoá và ổ khoá. Sự liên kết được tạo ra giữa một kháng nguyên và receptor của nó là liên kết kỵ nước, liên kết hydro. Các mối liên kết hydro được tạo ra khi tương tác giữa receptor với kháng nguyên là O-H-O, N-H-N, O-H-N. Liên kết hydro thường có mặt giữa các protein và những phân tử nước trong dung dịch lỏng, vì vậy liên kết hydro giữa kháng nguyên và receptor của nó đòi hỏi rất ít biến đổi về năng lượng. Liên kết tĩnh điện tạo ra giữa những amino acid mang điện trái dấu có thể góp phần vào sự kết hợp của kháng nguyên với receptor của nó nhưng điện tích trên nhiều nhóm protein thường bị các chất điện giải trung hoà trong dịch lỏng, vì vậy tầm quan trọng của liên kết này chưa được sáng tỏ.

Lực vanderwaal cũng có thể xảy ra khi hai phân tử tiếp cận với nhau. Như vậy kết hợp giữa kháng nguyên với receptor của nó được điều khiển bởi một số kiểu liên kết không đồng hoá trị. Bản thân một liên kết thì tương đối yếu nhưng khi tập hợp lại sẽ làm

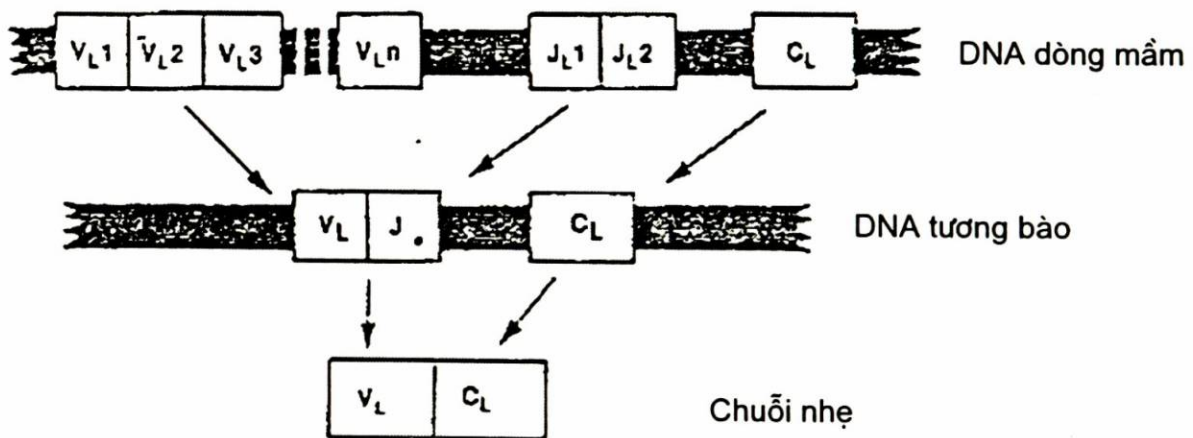
sự kết hợp mạnh lên. Các liên kết này chỉ mạnh khi khoảng cách gần và yếu đi rất nhanh khi khoảng cách tăng lên. Như vậy sự kết hợp mạnh nhất giữa một quyết định kháng nguyên và BCR, hoặc TCR, CDR, sẽ chỉ xảy ra nếu hình dạng của chúng phù hợp hoàn toàn để nhiều liên kết không đồng hoá trị được hình thành. Tuy nhiên kháng nguyên có thể kết hợp với các receptor khi chúng không thật hoàn toàn phù hợp dù rằng số lượng liên kết tạo ra ít và lực liên kết không mạnh.

2.2. Sự đa dạng của kháng thể

Cấu trúc của immunoglobulin được sáng tỏ đã cho thấy tính đặc hiệu của kháng thể là do các quyết định kháng nguyên bổ sung chỉ nằm trên cấu trúc của vùng thay đổi trong chuỗi nặng và chuỗi nhẹ. Những phần tử immunoglobulin được ít nhất hai nhóm gene chủ yếu mã hoá, gene của vùng thay đổi mã hoá cho vùng thay đổi và gene của vùng hằng định mã hoá cho phần còn lại của phân tử này. Tính đặc hiệu của kháng thể là do sự khác nhau trong vùng thay đổi, đặc biệt là trong vùng cực kỳ biến đổi, quyết định. Sự tổng hợp những lớp immunoglobulin khác nhau là do các gene trong vùng hằng định quyết định.

2.2.1. Tính đa dạng của vùng thay đổi (V)

Ít nhất có ba gene cần thiết để tạo ra một chuỗi nhẹ đơn của immunoglobulin. Gene V_L mã hoá cho một khối lượng lớn của vùng thay đổi. Gene C_L mã hoá cho vùng hằng định và gene thứ ba, gene J_L mã hoá cho phần chuỗi nhẹ nối hai vùng. Trong bộ gene (genome) dòng mầm của chuột có một kho khoảng 100-1.000 các gene V_L khác nhau và khoảng 5 gene J_L khác nhau. Ở một động vật, một tế bào lympho B biệt hoá, một trong các gene V_L này và một gene J_L được lựa chọn ngẫu nhiên từ kho này kết hợp với gene C_L . Gene kết hợp ấy sẽ mã hoá cho toàn bộ chuỗi nhẹ (hình 8.7).



Hình 8.7. Cơ sở di truyền của tính đa dạng trong các chuỗi nhẹ của immunoglobulin

Có khoảng 500- 5000 kết hợp $V_L J_L$. Sự kết hợp của V_L với J_L không thật chính xác và có chừng sáu cách khác nhau cho sự kết hợp này. Khả năng ấy làm tăng số lượng kết hợp $V_L J_L$ và vì vậy tăng số lượng vùng thay đổi khác nhau lên khoảng 3000-30.000. Khi

đã trưởng thành, tế bào lympho B chuyển sang sản xuất chỉ chuỗi nhẹ do các gene chọn lọc của nó mã hoá.

Đặc điểm di truyền ở vùng thay đổi của chuỗi nặng cũng tương tự. Giữa gene V_H và V_L có gene bổ sung gọi là gene D. Có khoảng 300-500 gene V_H khác nhau, một số gene D và một số gene J_H . Sự kết hợp giữa V_H và D, giữa D và J_H không phải là cố định mà nhiều mối liên kết khác nhau có thể có ở đây, tạo ra một số lượng lớn các kiểu kết hợp $V_H D J_H$ và rồi kết hợp với gene C_H để tạo nên các gene hoàn chỉnh của chuỗi nặng.

Do vị trí kết hợp kháng nguyên kháng thể ở mỗi immunoglobulin nằm trên vùng thay đổi của cả chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, số lượng kết hợp của các gene có thể là rất lớn nên số lượng vị trí kết hợp kháng nguyên khác nhau được động vật tổng hợp là cực kỳ lớn. $V_L J_L$ và $V_H D J_H$ kết hợp với nhau chỉ tại một vị trí trên vùng cực kỳ biến đổi. Người ta chưa hiểu rõ những vùng cực kỳ biến đổi khác được tạo ra bằng cách nào, có thể là do đột biến di truyền ngẫu nhiên trong các gene V khi tế bào lympho B đang trưởng thành. Nếu như vậy thì tính đa dạng của kháng thể còn tăng lên nhiều hơn nữa.

2.2.2. Tính đa dạng của vùng hằng định

Immunoglobulin chiếm ưu thế trong đáp ứng miễn dịch lần đầu là IgM. Trong đáp ứng miễn dịch lần hai với cùng liều lượng kháng nguyên, lớp globulin chính thường được tổng hợp lại là IgG, IgA hoặc IgE cũng có thể được tổng hợp. Sự chuyển đổi này không làm thay đổi tính đặc hiệu của kháng thể. Các bộ gene (genome) của một tế bào sản xuất kháng thể trong vùng hằng định được xếp theo kiểu đường thẳng C_μ - C_γ - C_ϵ - C_α , như đã đề cập trước đây. Gene nào trong số gene này được sử dụng là tùy theo sản xuất lớp globulin nào. Thí dụ khi sản xuất IgM chỉ sử dụng gene C_μ . Khi chuyển sang sản xuất IgG thì gene C_μ bị loại bỏ và C_γ được sử dụng thế vào.

2.3. Hệ thống bổ thể

Khi kháng thể kết hợp với kháng nguyên, chúng thay đổi hình dạng của kháng nguyên và thu được những tính chất mới. Thí dụ phức hợp kháng nguyên kháng thể gắn vào các receptor của Fc trên tế bào thực bào và như vậy có tác dụng của một opsonin. Sự phát triển các tác dụng sinh học mới này là do sự biến đổi về hình dạng trong khu vực Fc của immunoglobulin. Bình thường khu vực Fc bị các khu vực của mảnh Fab che khuất. Khi kháng thể kết hợp với kháng nguyên tại khu vực của Fab, hình dạng của phân tử này biến đổi và khu vực Fc lộ ra. Như vậy những vị trí hoạt động trên khu vực Fc trở nên sử dụng được để thực hiện chức năng sinh học của chúng.

Cơ chế tác dụng thứ hai làm cho các tác dụng của kết hợp kháng nguyên kháng thể thay đổi là sự tăng nồng độ của chúng. Một phân tử immunoglobulin riêng lẻ có thể không có khả năng khởi xướng phản ứng. Tuy nhiên khi một vài phân tử Ig gắn trên bề mặt của một kháng nguyên và nhiều khu vực của Fc lộ ra, kết hợp nhiều kích thích có thể đủ để gây ra những phản ứng tiếp theo.

2.3.1. Khái niệm về bổ thể

Trong cơ thể có một số hệ thống sinh hoá học mà sự hoạt hoá của chúng nếu như không được kiểm soát thì có thể dẫn đến bệnh tật hoặc tử vong. Chúng là các hệ thống như: hệ thống đông máu, hệ thống phân giải fibrin, hệ thống kinin. Khi chúng hoạt hoá quá mức có thể gây ra chảy máu không cầm, huyết khối hoặc tăng tính thấm thành mạch. Tuy nhiên, khi cần thiết các hệ thống này cần được hoạt hoá nhanh chóng. Nếu hệ thống đông máu được hoạt hoá chậm, một động vật có thể chết do chảy máu. Nguyên lý chung của các phản ứng này là: sản phẩm của một phản ứng sẽ xúc tác một phản ứng tiếp. Như vậy sẽ dẫn đến việc mở rộng chuỗi các phản ứng miễn là những sản phẩm trung gian có mặt với số lượng ít, có thời gian bán thải ngắn hoặc dễ dàng bị ức chế để bảo đảm rằng các phản ứng tiếp tục nhanh chóng mà vẫn được kiểm soát. Phản ứng enzyme loại này là chuỗi các phản ứng và thường cần thiết một yếu tố khởi động cho chuỗi phản ứng ấy. Thí dụ như trong hệ thống đông máu, sự hoạt hoá của yếu tố Hageman do bề mặt thay đổi là yếu tố khởi xướng đưa hệ thống này vào hoạt động.

Bổ thể là protein có trong huyết thanh tươi của người và nhiều loại động vật; có khả năng tương tác lẫn nhau và phản ứng với màng tế bào sinh học. Hệ thống bổ thể là một chuỗi enzyme, sự hoạt hoá của nó có khả năng dẫn đến phá huỷ những tế bào hoặc vi sinh vật gây nhiễm. Bổ thể có vai trò quan trọng trong sự phòng vệ của cơ thể nhưng rất cần được kiểm soát chặt chẽ để tránh dẫn đến việc phá huỷ một số lượng lớn tế bào hoặc tổ chức.

2.3.2. Các thành phần của bổ thể

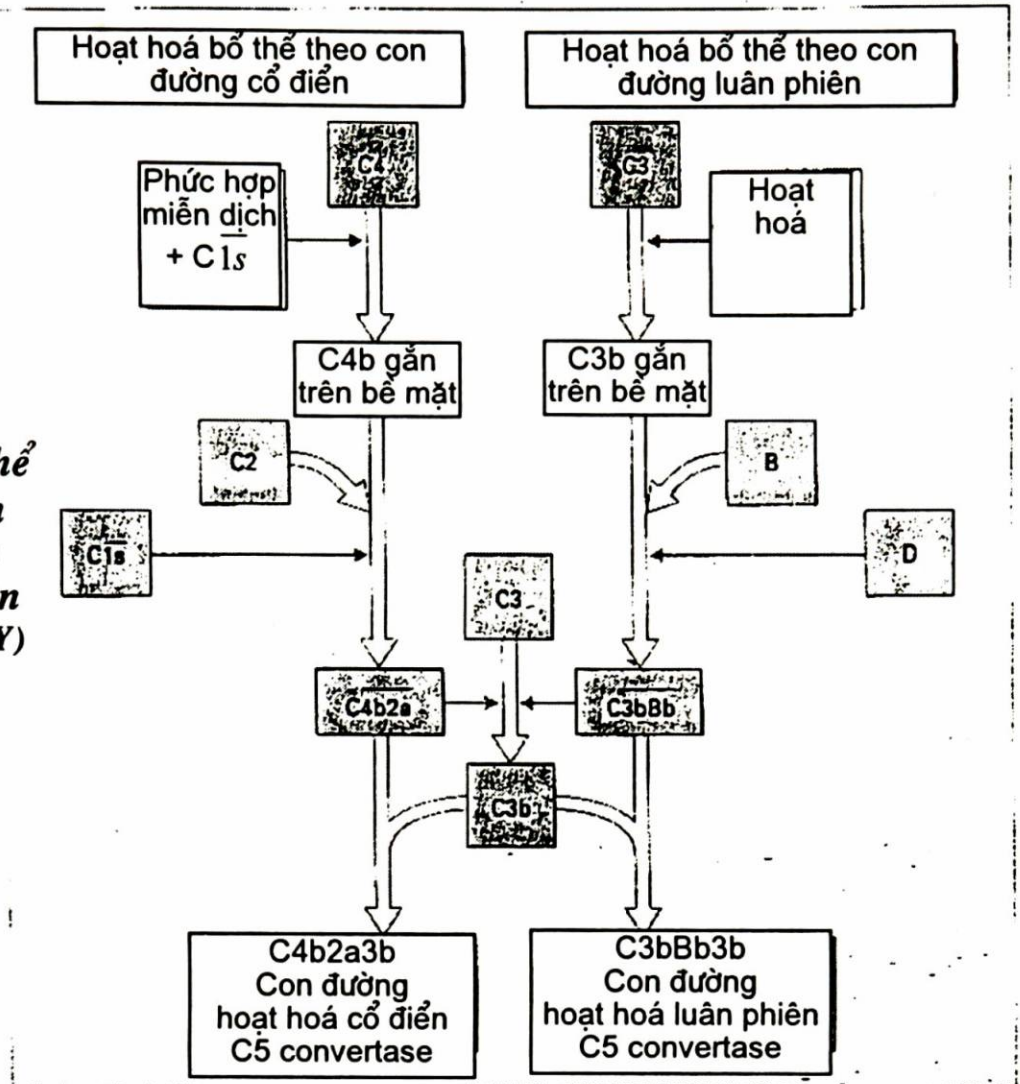
Protein tạo nên bổ thể được đánh số thứ tự theo ký hiệu C, thí dụ C1, C2, C3 hoặc dùng các chữ cái theo alphabet B, D, P. Có ít nhất 19 thành phần như vậy và tất cả đều là protein của huyết thanh. Trọng lượng phân tử của những thành phần này trong khoảng 24 kDa với yếu tố D và 460 kDa với C1q. Nồng độ chúng có trong huyết thanh người là khoảng 30mg C2/ml và 1300mg C3/ml. Các thành phần của bổ thể được tổng hợp ở nhiều nơi khác nhau trong cơ thể. Phần lớn C3, C6, C8 và B được sản xuất ở gan, trong khi C2, C3, C4, B, D, P và I được sản xuất tại đại thực bào. Bạch cầu trung tính dự trữ một số lượng lớn C6 và C7, vì vậy bổ thể là thành phần có sẵn ở vị trí viêm - nơi đại thực bào và bạch cầu trung tính tập trung đến. B, C4 và C2 được các gene trong khu vực của MHC lớp III mã hoá.

2.3.3. Các con đường hoạt hoá bổ thể

2.3.3.1. Hoạt hoá bổ thể theo con đường cổ điển

Hệ thống bổ thể có thể được hoạt hoá qua một số con đường, quan trọng nhất là con đường cổ điển (hình 8.8).

Hình 8.8. Hoạt hoá bổ thể theo con đường cổ điển (CLASSICAL PATHWAY) và con đường luân phiên (ALTERNATIVE PATHWAY)



Thành phần thứ nhất tham gia trong con đường này là cho hoạt hoá bổ thể C1; cấu trúc gồm ba protein: C1q, C1s và C1r. C1q kết hợp với kháng thể ở khu vực V_H2 (nằm trên vùng Fc) của các immunoglobulin với ái lực cao. Hiện tượng này chỉ xảy ra khi immunoglobulin đã kết hợp với kháng nguyên. C1q gắn vào immunoglobulin làm biến đổi hình dạng của phức hợp C1q và sự biến đổi hình thể như vậy lan truyền sang C1r. C1r biến đổi làm lộ ra một vị trí phân giải enzyme cắt các liên kết peptide ở C1s, chuyển phân tử này thành dạng enzyme hoạt động. C1 có thể được hoạt hoá do kết hợp của kháng nguyên với IgM hoặc IgG. Cấu tạo chuỗi polyme của IgM có hai vị trí hoạt hoá bổ thể. Với IgG, để được như vậy thì hai phân tử IgG phải ở gần nhau, điều đó có nghĩa IgG có tác dụng hoạt hoá bổ thể kém hơn IgM. C1 cũng có thể được hoạt hoá trực tiếp của protein bề mặt của một số virus hoặc vi khuẩn như *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*. Tuy được đánh số nhưng thành phần của bổ thể không hoạt động theo trình tự đánh số này. C1 hoạt động tác động đến C4 và C2. C4 và C2 lại tác động đến C3. Đầu tiên C1s tác động đến C4 làm tách ra một thành phần là C4a và để lại thành phần C4b. Sự loại bỏ C4a có tác dụng hoạt hoá một liên kết thioester lộ ra trên C4b làm sản sinh ra nhóm carbonyl phản ứng gắn C4b với bề mặt của tế bào bên cạnh. C4b gắn trên bề mặt tế bào bây giờ lại có tác dụng là vị trí gắn của C2C1s hoạt hoá và cắt C2 thành hai thành phần C2a và C2b và giải phóng C2b. Phần C2a còn lại kết hợp với C4b hình thành C4b2a. C4b2a là một protease mạnh. Chất nền của nó là thành phần thứ ba của bổ thể

C3. C4b2a vì vậy được gọi là enzyme C3 convertase cắt C3 thành hai thành phần C3a và C3b. C4b2a phân huỷ một cách tự nhiên khi C3 phân huỷ.

2.3.3.2. Hoạt hoá bổ thể theo con đường luân phiên

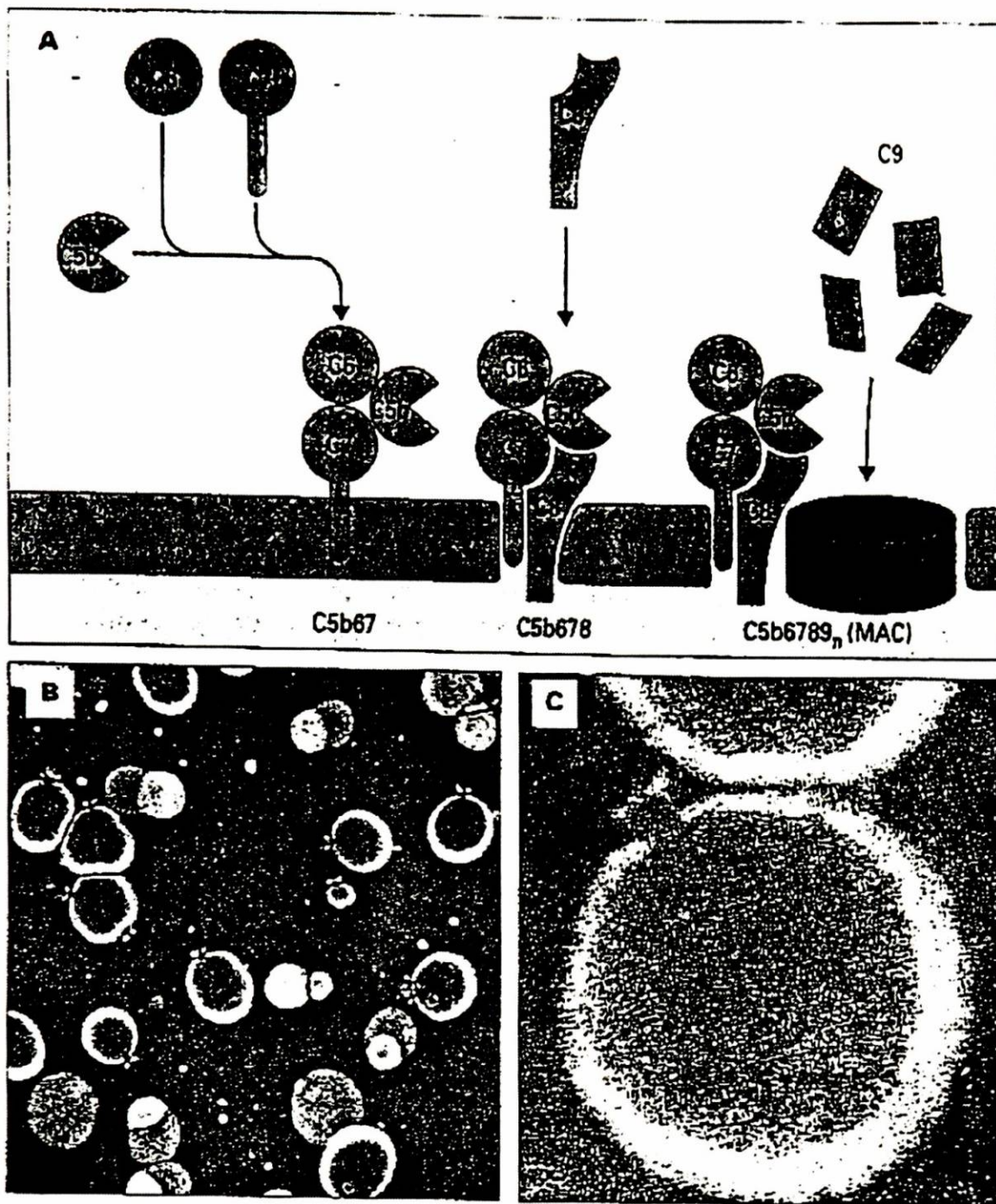
Ngoài con đường cổ điển, bổ thể còn được hoạt hoá theo con đường luân phiên (Alternative pathway) tạo ra C3 convertase khi không có mặt kháng thể nhưng cần sự có mặt của một số bề mặt lạ như vách tế bào của vi khuẩn, nấm hoặc vỏ ngoài của ký sinh trùng đường tiêu hoá.

Bình thường, trong huyết tương C3 phân giải chậm và liên tục thành C3a và C3b. C3b được tạo ra sẽ gắn lên bề mặt tế bào bằng liên kết thioester. Ở điều kiện bình thường, C3b này lại kết hợp với một protein gọi là yếu tố H và bị một protease gọi là yếu tố I làm mất hoạt tính. Hoạt động của yếu tố I phụ thuộc vào sự có mặt của yếu tố H. Sự kết hợp của yếu tố H lại phụ thuộc vào bản chất của bề mặt tế bào. Như vậy sản phẩm của hoạt hoá theo con đường luân phiên bị phá huỷ ngay khi chúng vừa mới được hình thành. Khi yếu tố H tương tác với acid sialic và các polysaccharide trung tính hoặc dạng anion trên bề mặt tế bào thì sự kết hợp của nó với C3b tăng lên, yếu tố I được hoạt hoá và C3b bị phá huỷ. Phần lớn các glycoprotein trên bề mặt tế bào ở loài có vú có chứa nhiều acid sialic vì vậy không gây hoạt hoá bổ thể theo con đường luân phiên. Ngược lại, các bề mặt như vách, polysaccharide của vi khuẩn, virus và những phần tử lạ như bụi amiăng để cho C3 hoạt hoá. Khi có mặt các bề mặt hoạt hoá này, sự kết hợp của yếu tố H với C3b bị ức chế. C3b kết hợp với một protein gọi là yếu tố B để hình thành phức hợp C3bB. Phức hợp này lại bị một protease khác là yếu tố D cắt ra thành ra một thành phần hoà tan gọi là Ba và một phức hợp liên kết C3bBb, C3bBb có tác dụng là một enzyme convertase mạnh. C3bBb có thể phân cắt C3 tạo ra C3b, tuy nhiên C3bBb có thời gian bán thải chỉ khoảng 5 phút. Nếu một protein gọi là yếu tố P (cũng gọi là propeccidin) kết hợp với phức hợp này tạo ra C3bBbP, thời gian bán thải của C3bBb kéo dài đến 30 phút. C3bBb cũng có thể được tạo ra dưới tác dụng của những protease khác (thí dụ như protease của tế bào thực bào hoặc protease được sản sinh từ thrombin trên huyết tiểu cầu) tác động trên C3. Do vậy C3b được tạo ra ở các ổ viêm hoặc trong các khu vực bị huyết khối.

2.3.3.3. Hình thành phức hợp tấn công màng - giai đoạn cuối cùng của hoạt hoá bổ thể

Trong giai đoạn này của quá trình hoạt hoá bổ thể, các thành phần của bổ thể từ dịch lỏng kết tụ lại thành một phức hợp những phân tử lớn gắn vào màng tế bào. Đầu tiên C5 gắn vào C3b trên màng tế bào sau đó nó bị enzyme C5 convertase phân cắt (C5 convertase là một phức hợp ba phân tử C4b2a3b, trong đó C3b liên kết đồng hoá trị với C4b). C5 kết hợp một cách chọn lọc với convertase vì khi kết hợp với C3b nó có hằng số kết hợp cao hơn khi gắn trên bề mặt tế bào khác. Enzyme C5 convertase của con đường luân phiên cũng là một phức hợp ba thành phần C3bBb3b, trong đó C3b liên kết đồng hoá trị với các phân tử khác. C4b2a3b hoặc C3bBb3b cắt C5 giải phóng một peptide nhỏ C5a, có tác dụng gây phản ứng phòng vệ, phần còn lại gắn với C3b gọi là C5b. C5b kết

hợp với C6 và C7 hình thành phức hợp C5b67. Phức hợp C5b67 có thể tách khỏi C3b và gắn vào giữa hai lớp lipid của màng tế bào bên cạnh hoặc các màng tế bào vi khuẩn. Sau đó C8 gắn vào phức hợp này, tiếp theo là nhiều phân tử C9. C9 là protein thuộc họ perforin. Có khoảng 12-18 phân tử C9 cùng kết hợp với phức hợp C5b678 (hình 8.9) hình thành một lỗ ở giữa màng tế bào.



Hình 8.9. Sự dung giải tế bào của bổ thể

Phức hợp trên được gọi là phức hợp tấn công màng. Phức hợp tấn công màng tạo ra một cấu trúc hình tròn ở màng và hình thành một đường dẫn qua màng. Nếu phức hợp này được tạo ra đủ trên màng thì sẽ có tác dụng phân giải thẩm thấu trên tế bào đích. Quan sát dưới kính hiển vi điện tử thấy phức hợp này là một cấu trúc hình vòng nhẫn cùng với một vùng dày đặc các điện tử, giữa và xung quanh là một vòng sáng hơn có nhiều phân tử C9.

2.3.3.4. Con đường hoạt hóa bổ thể có sự tham gia của các protein ái manose

Gần đây con đường thứ ba hoạt hoá hệ thống bổ thể đã được xác định có sự tham gia của các protein ái manose. Khi đại thực bào nuốt vi khuẩn hoặc phân tử lạ, chúng được kích thích tiết ra IL-1, IL-6 và TNF- α . Ba cytokin này tác động và kích thích tế bào gan tiết ra protein pha cấp tính trong đó có protein ái manose. Manose là một thành phần quan trọng của các glycoprotein ở vách tế bào vi khuẩn. Các protein ái manose kết hợp với vi khuẩn trong tuần hoàn máu và có tác dụng là một opsonin mạnh. Nó cũng làm tăng hoạt hoá bổ thể theo con đường luân phiên. Cấu trúc của protein ái manose tương tự cấu trúc của C1q và liên kết với một protease của huyết thanh. Protein ái manose cũng có thể hoạt hoá con đường cổ điển hoạt hoá bổ thể. Ở bò, trâu có ít nhất ba protein ái manose mà một trong số đó gọi là conglutinin. Conglutinin có thể kết hợp với C3 gắn trên màng tế bào và làm ngưng kết các phân tử được C3 bao phủ do C3 có các chuỗi phụ oligosaccharide giàu manose.

2.4. Sự điều hoà hệ thống bổ thể

Bổ thể được hoạt hoá có thể gây nguy hiểm nên quá trình này buộc phải được kiểm soát chặt chẽ. Việc điều hoà hệ thống bổ thể thực hiện qua các protein kiểm soát. Chất quan trọng điều hành con đường hoạt hoá cổ điển là chất làm bất hoạt C1 (C1.INH). C1.INH kiểm soát sự lắp ráp C4b2a bằng cách phong toả hoạt động của C1r và C1s hoạt động. Ở người thiếu C1.INH bẩm sinh sẽ có lượng C2 bị hoạt hoá và C2a được sản xuất quá mức. C2a là một kinin làm tăng tính thấm thành mạch mà triệu chứng lâm sàng có thể quan sát thấy: đó là phù ở vùng xung quanh miệng, cổ, mặt do dịch thoát vào tổ chức. Nếu có phù thanh quản, bệnh nhân dễ bị ngạt thở.

Nhiều protein có tác dụng điều chỉnh C3 và C5 convertase. Thí dụ CD55 hay yếu tố làm tăng sự huỷ hoại là một glycoprotein được biểu thị trên hồng cầu, bạch cầu trung tính, tế bào lympho, bạch cầu đơn nhân, tiểu cầu và tế bào nội mô. CD55 kết hợp với convertase và làm tăng tốc độ phân huỷ. Người ta cho rằng chức năng của các protein điều chỉnh này là bảo vệ những tế bào bình thường khỏi bị tấn công của bổ thể. Làm tăng tốc độ giáng hoá của convertase còn do một số protein khác như yếu tố H và protein ái C4 (được phát hiện thấy trong huyết tương), CD35 (CR) và CD46 (được phát hiện thấy trên màng tế bào).

Kiểm soát phức hợp C5b6789 là do ba protein: vitronectin, clusterin và CD59 hay còn gọi là protectin. Chúng đều có tác dụng ức chế lắp ghép C5b678 và trùng hợp C9.

Các receptor của bổ thể

Có bốn receptor trên bề mặt tế bào của C3: CR1 (CD35), CR2 (CD21), CR3 (CD11a/CD18) và CR4 (CD11c/CD18). CR1 gắn vào C3b, C4b cũng như những sản phẩm phân giải của C3b, iC3b. Chúng có mặt trên hồng cầu, bạch cầu trung tính, bạch cầu ái toan, bạch cầu đơn nhân, đại thực bào, các tế bào lympho B và một số tế bào lympho T của loài linh trưởng. Trong máu, có tới 90% CR1 ở trên hồng cầu. Ở loài linh trưởng, CR1 có vai trò loại bỏ các phức hợp miễn dịch khỏi máu. Khi thiếu hụt một số thành phần bổ thể hoặc receptor của bổ thể sẽ gây nên tích lũy các phức hợp miễn dịch

dẫn đến huỷ hoại tổ chức. Thí dụ bệnh nhân lupus ban đỏ (Lupus erythematosus) thiếu CR1 và vì vậy không có khả năng loại bỏ các phức hợp miễn dịch. Ở chó thiếu C3 cũng có tổn thương ở cầu thận mà nguyên nhân là do tổn động phức hợp miễn dịch.

CR2 được phát hiện thấy ở phần lớn các tế bào lympho B nhưng không thấy trên đại thực bào và bạch cầu trung tính. Nó gắn vào một sản phẩm phân giải của C3 gọi là C3d.

CR3 (CD11a/CD18) là một integrin gắn vào iC3bm; chất này được tìm thấy trên đại thực bào, bạch cầu trung tính và tế bào diệt tự nhiên. Người, bò hoặc chó khi thiếu hụt CR3 di truyền có thể bị mắc các bệnh truyền nhiễm tái phát ở tình trạng nặng.

CR4 (CD11c/CD18) được tìm thấy trên bạch cầu trung tính, tế bào lympho T, tế bào diệt tự nhiên, một số huyết tiểu cầu và đại thực bào. Nó gắn với một số thành phần phân giải của C3.

2.5. Các hậu quả khác của hoạt hoá bổ thể

Hệ thống bổ thể đóng vai trò quan trọng trong bảo vệ vật chủ bằng cách ly giải vi sinh vật xâm nhập và tham gia trong phản ứng viêm. Nếu phản ứng viêm quá mức thì hệ thống bổ thể có thể làm tổn thương tổ chức.

Vai trò của bổ thể trong Opsonin hoá

Tế bào thực bào có cả FcR và CR1. Do vậy các phân tử bổ thể và kháng thể bao phủ đều có thể bị thực bào. Nếu vì một lý do nào đấy các phân tử này không bị nuốt thì bạch cầu trung tính có thể bị cảm ứng tiết ra các enzyme của lysosom. Enzyme này khi giải phóng vào tổ chức sẽ gây viêm và làm tổn thương tổ chức.

Vai trò của bổ thể trong điều hoà miễn dịch

Thiếu hụt các thành phần trong con đường cổ điển hoạt hoá bổ thể thì đáp ứng miễn dịch sẽ giảm xuống. Mất C3 gây ức chế tạo kháng thể và phong toả sự khu trú của phức hợp miễn dịch trên tế bào đuôi gai hình túi ở trung tâm mầm. Các thành phần của C3 điều chỉnh sự tăng sinh của tế bào lympho B thông qua CR2 (CD21). CR2 là chất gắn cho CD19 và như vậy nó cũng là một thành phần của con đường đồng kích thích tế bào lympho B.

Vai trò của bổ thể trong hướng động hoá học

Hoạt hoá bổ thể tạo ra một số peptide có tác dụng hướng động hoá học bao gồm C5a, C5b67. C5b67 là chất hướng động hoá học chỉ dành cho bạch cầu trung tính và bạch cầu ái toan, trong khi C5a thu hút không chỉ bạch cầu trung tính và bạch cầu ái toan mà còn cả đại thực bào và bạch cầu ái kiềm. Thu hút bạch cầu trung tính, C5a kích thích hô hấp của bạch cầu, kết tụ chúng và điều chỉnh làm tăng CR1, CD11a/CD18 và CD11c/CD18.

Vai trò của bổ thể trong phản ứng viêm

C3a và C5a được gọi là anaphylatoxin, làm co cơ trơn của khí quản và ruột. Phản ứng này có thể là do leucotrien bị ức chế bởi các chất ức chế lipoxygenase. C3a và C5a cũng làm mất hạt tế bào mast, kích thích huyết tiểu cầu giải phóng histamine và

serotonin. Các amine này làm tăng tính thấm của thành mạch, giải phóng các enzyme của lysosome từ bạch cầu trung tính và thromboxane từ đại thực bào.

2.6. Đặc tính di truyền của bổ thể

Các thành phần của bổ thể, cũng giống như những protein khác, có nhiều dạng allel hoạt động khác nhau với số lượng khác nhau giữa các thành phần và các loài. C1, C2 và yếu tố B được các gene của MHC lớp II mã hoá. C4 ở chó được ghi mã ở một locus đơn có ít nhất 5 allotype. Trọng lượng phân tử của C4 ở chó rất thay đổi với mỗi allotype do sự khác nhau về kích thước của chuỗi γ . Chó có hàm lượng thấp C4 trong huyết thanh thường mắc bệnh viêm đa khớp. C4 ở mèo và C4 của ngựa có ít nhất bốn allotype khác nhau.

Các gene cho C4BP, CD55, CD21, CD46 và yếu tố H liên kết với một nhóm gene gọi là nhóm gene điều hoà hoạt hoá bổ thể. Nhóm gene này mã hoá cho tất cả C3 convertase. Yếu tố H của bò có ba phenotype điện di, được hai gene đồng trội ở locus của nhiễm sắc thể điển hình mã hoá. C3 của ngựa có 6 phenotype điện di được kiểm soát của ba allele đồng trội ở locus điển hình. Hai allotype của C3 ở chó đã được xác định ở một locus riêng biệt. C6 của chó có 7 allotype được thừa hưởng ở các allele đồng trội. C6 của lợn có 14 allotype được kiểm soát của 5 allele điển hình đồng trội. 11 allotype của C7 đã được xác định ở chó; chúng được thừa hưởng ở hai locus. Một allele không hoạt động cũng đã được xác định.

2.7. Sự thiếu hụt bổ thể

Sự thiếu hụt C3

Thiếu thành phần bổ thể C3 bẩm sinh làm tăng sự miễn cảm đối với nhiễm khuẩn và bệnh thường nặng. Người ta đã mô tả tình trạng thiếu C3 bẩm sinh ở một đàn chó spaniel của Anh thừa kế một tính trạng di truyền lặn điển hình. Ở những chó này không phát hiện được C3, có hàm lượng IgG thấp hơn bình thường và giảm khả năng sản xuất kháng thể; có xu hướng sản xuất IgM nhiều hơn và sản xuất IgG ít hơn. Chúng bị mắc nhiễm khuẩn huyết tái phát, viêm phổi, viêm tử cung có mủ và nhiễm khuẩn vết thương. Các vi khuẩn gây bệnh thường là *Clostridium*, *Pseudomonas*, *E.coli* và *Klebsiella*. Một số trong những chó đó bị bệnh, bị thoái hoá hạt và bị viêm cầu thận làm tăng sinh màng tế bào.

Thiếu hụt yếu tố H ở chó

Yếu tố H là thành phần quan trọng của hoạt hoá bổ thể theo con đường luân phiên. Bình thường nó làm mất hoạt tính C3b ngay khi nó được tạo ra và vì vậy ngăn cản hoạt hoá bổ thể quá mức theo con đường luân phiên. Nếu một động vật không sản xuất được yếu tố H, C3b sẽ sản sinh quá mức. Thiếu yếu tố H là một tính trạng di truyền lặn ở lợn Yorkshire. Những lợn bị bệnh dường như khoẻ mạnh bình thường lúc sinh ra và phát triển bình thường trong một vài tuần. Tuy nhiên cuối cùng chúng phát triển kém, ngừng sinh trưởng, bị thiếu máu và chết do suy thận. Thời gian sống trung bình là 37 ngày, tối đa là 72 ngày. Mổ tử thi thấy có nhiều điểm xuất huyết lấm tấm trên bề mặt thận kèm

theo teo các gai thận. Quan sát qua kính hiển vi thấy màng đáy của cầu thận dày lên. Dưới kính hiển vi điện tử thấy lắng đọng dày đặc các điện tử ở màng đáy cầu thận. Phản ứng huỳnh quang miễn dịch gián tiếp cho thấy có nhiều C3 lắng đọng nhưng không có immunoglobulin ở màng đáy. C3 có thể được tìm thấy trước khi sinh nhưng không quan sát thấy những biến đổi về hình thái 5 ngày trước khi sinh. C3 không có trong huyết tương của những lợn này. Các thành phần cuối của bổ thể tăng cao. Những lợn con viêm thận dường như thiếu toàn bộ yếu tố H. Nếu truyền máu có yếu tố H thì tiến triển của bệnh chậm lại và thời gian sống của lợn con tăng lên, trung bình 82 ngày và tối đa 375 ngày.

Thiếu hụt những thành phần khác của bổ thể

Ngược với tác dụng nghiêm trọng của việc thiếu C3, sự thiếu hụt bẩm sinh các thành phần bổ thể khác ở súc vật thí nghiệm và người lại không gây tử vong. Đã thấy cá thể thiếu C6 và C7 vẫn khoẻ mạnh bình thường (như lợn thiếu C6 chẳng hạn). Có thể các thành phần cuối này của bổ thể không quan trọng về mặt sinh học. Tuy nhiên những cá thể khác thiếu yếu tố P, C5 hoặc C6 có thể bị viêm màng não tái phát do vi khuẩn.

Chương 9

ĐIỀU HOÀ ĐÁP ỨNG MIỄN DỊCH

Hệ thống miễn dịch là một hệ thống bảo vệ rất tinh tế, có thể nhận diện và đáp ứng với tác nhân lạ xâm nhập vào cơ thể và có thể thu được các kỹ năng để khi tiếp xúc lần sau với tác nhân đó thì sẽ đáp ứng nhanh hơn, hiệu quả hơn. Tuy nhiên, có những nguy cơ cho cơ thể trong đáp ứng miễn dịch, đó là nguy cơ phá huỷ các thành phần bình thường của cơ thể. Vì vậy đáp ứng miễn dịch cần phải đảm bảo sao cho chỉ tấn công những phần tử lạ hoặc tổ chức không bình thường và dung nạp đối với tổ chức bình thường. Ngoài ra các đáp ứng miễn dịch cần được điều hoà chặt chẽ để chúng được bảo đảm cả về chất lượng và số lượng.

Do cả tế bào lympho B và T đều tạo ra receptor kết hợp với kháng nguyên, việc sản xuất những tế bào phản ứng với bản thân là điều không tránh khỏi. Một động vật không thể kiểm soát được các chuỗi amino acid, vì vậy không kiểm soát được tính đặc hiệu của các receptor này. Do vậy cần phải loại bỏ hoặc kìm hãm những tế bào lympho có khả năng phát triển các receptor gắn với kháng nguyên bản thân.

1. DUNG NẠP MIỄN DỊCH

Dung nạp miễn dịch là trạng thái không đáp ứng của cơ thể đối với một kháng nguyên đặc biệt. Điểm quan trọng nhất của dung nạp là sự dung nạp đối với kháng nguyên bản thân, không cho cơ thể có đáp ứng miễn dịch chống lại các tổ chức của bản thân nó.

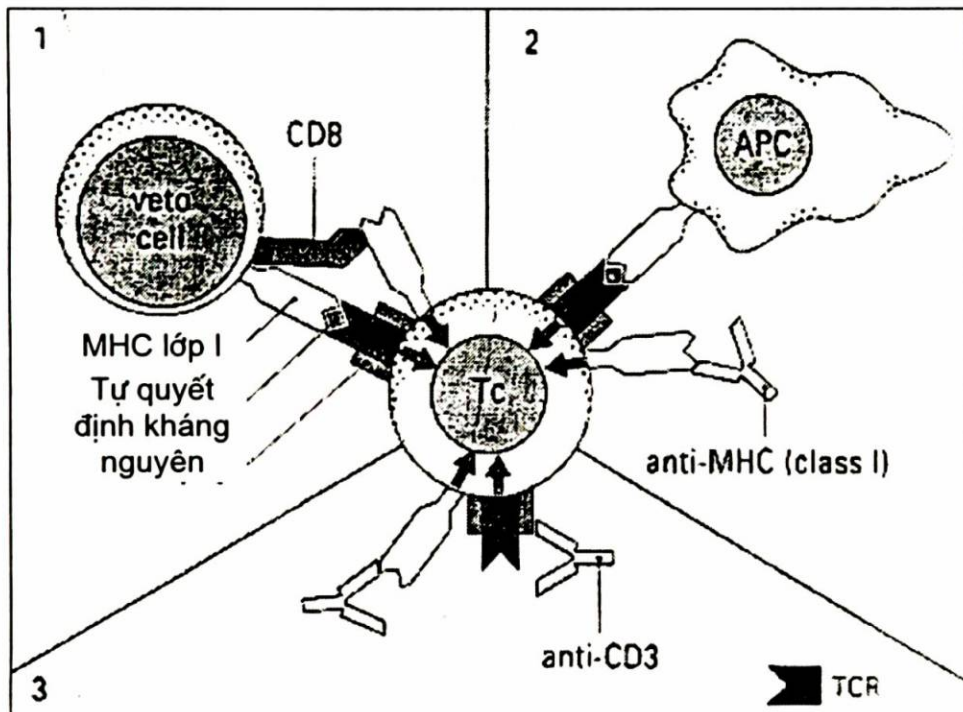
Ngay sau khi tính đặc hiệu của kháng thể được hình thành, người ta đã nhận thấy có một cơ chế nào đó ngăn cản sự hình thành tự kháng thể. Năm 1938, Traub đã gây ra sự dung nạp đặc hiệu bằng cách tiêm vào bào thai chuột virus viêm màng não và gây nhiễm virus này kéo dài suốt đời sống của chuột. Không giống như chuột bình thường, những chuột được tiêm này không sản sinh ra các kháng thể trung hoà như khi tiêm virus ở thời kỳ chuột trưởng thành. Năm 1945, Owen đã tiến hành thí nghiệm trên bê và nhận thấy: Ở thời kỳ có thai các bê sinh đôi không cùng một trứng, các mạch máu trong nhau thai có thể hoà lẫn với nhau và chúng trao đổi với nhau tế bào nguồn trong tuỷ xương. Vì vậy mỗi bê có chứa một hỗn hợp các hồng cầu, trong đó một số là của chính bản thân nó, một số là của chung hai thai. Những bê này có sự dung nạp suốt đời dù chúng khác nhau về di truyền và vì vậy khác nhau về tính kháng nguyên. Mỗi bê dung nạp hoàn toàn với các hồng cầu của bê sinh đôi cùng với nó. Burner và Fenner nhận định rằng hiện tượng này xảy ra là do mỗi bê đã được tiếp xúc với tế bào lạ trong thời kỳ còn là bào thai. Trong khoảng thời gian đó các tế bào miễn cảm với kháng nguyên trở nên dung nạp mà bình thường những hồng cầu của con bê không có quan hệ thân thuộc hẳn sẽ bị loại bỏ

nếu được truyền vào sau khi sinh. Theo những tác giả này, thời điểm gặp kháng nguyên là yếu tố rất quan trọng quyết định sự đáp ứng và nhận diện kháng nguyên không phải của bản thân. Giả thuyết này hợp lý vì hệ thống miễn dịch thường được kiểm soát bằng những thành phần của bản thân trước khi sinh và chỉ sau này mới bằng kháng nguyên không phải của bản thân. *MeDawar* đã tiến hành thí nghiệm tiêm tế bào lách của chuột chủng A cho chuột chủng khác cùng loài nhưng khác nhau về di truyền. Khi chuột chủng thứ hai trưởng thành chúng tiếp nhận mảnh ghép da từ chuột chủng A nhưng không tiếp nhận da từ chủng khác không liên quan. Hiện tượng này được sáng tỏ hơn qua thuyết chọn lọc dòng của Burnet (1957). Theo thuyết này, một tế bào lympho miễn dịch đặc biệt (tế bào T hoặc B đặc biệt) được kháng nguyên chọn lọc sau đó phân chia tạo ra một dòng các tế bào đời sau có toàn bộ tính đặc hiệu giống nhau. Kháng nguyên gặp sau khi sinh ra dòng đó sẽ hoạt hoá các dòng đặc hiệu của tế bào lympho. Ngược lại khi kháng nguyên gặp trước khi phân chia ra dòng tế bào này sẽ dẫn đến loại bỏ dòng đặc hiệu với chúng và Burnet gọi đó là dòng tế bào cấm.

1.1. Sự dung nạp miễn dịch ở tuyến ức đối với tế bào lympho T

Chọn lọc các tế bào lympho T

Khả năng đáp ứng của tế bào lympho T với kháng nguyên phụ thuộc vào sự hợp lý của TCR. Dung nạp sẽ xảy ra nếu một động vật thiếu tế bào lympho T có receptor đặc hiệu cho kháng nguyên đó (hình 9.1).



Hình 9.1. Loại bỏ dòng tế bào phản ứng với bản thân

Có sự chọn lọc phủ định tế bào lympho T mang receptor cho kháng nguyên bản thân và có thể phá huỷ các đáp ứng tự miễn dịch.

Chọn lọc phủ định

Chọn lọc phủ định xảy ra trong tuyến ức. Thời điểm và mức độ của sự chọn lọc này phụ thuộc vào ái lực của TCR với kháng nguyên bản thân. Tế bào lympho T kết hợp với

kháng nguyên bản thân với ái lực cao bị loại bỏ sớm hơn và triệt để hơn tế bào có ái lực thấp. Chọn lọc phủ định xảy ra khi TCR trên tế bào lympho tuyến ức (thymocyte) gắn với những quyết định kháng nguyên trên tế bào trình diện kháng nguyên hoặc tế bào biểu mô tuyến ức và gây chết tế bào lympho tuyến ức.

Các siêu kháng nguyên gắn vào một vùng V β đặc hiệu của một TCR chuỗi α/β . Một số retrovirus sản xuất siêu kháng nguyên như kháng nguyên MI. Những retrovirus này có thể gây nhiễm tinh dịch hoặc tế bào trứng rồi hoà nhập vào bộ gene (genome) của động vật. Trong thực tế nhiều chuột hoặc người có thể mang một số virus trong bộ gene (genome) nhưng không bị bệnh. Protein do virus hoà nhập này tạo ra là những tự kháng nguyên. Người ta nhận thấy những chuột mang các retrovirus này mất hết tế bào lympho T có TCR có thể gắn vào siêu kháng nguyên của virus. Sự có mặt của tự kháng nguyên, trong trường hợp này là các siêu kháng nguyên của virus, sẽ dẫn đến loại bỏ hoàn toàn TCR có thể gắn với nó.

Nồng độ kháng nguyên ảnh hưởng đến sự chọn lọc phủ định. Nếu nồng độ của một kháng nguyên đặc hiệu cao, nhiều TCR trên mỗi tế bào lympho tuyến ức bị chiếm chỗ. Mức độ gắn như vậy có thể làm sản sinh một tín hiệu gây chết tế bào và như vậy chọn lọc phủ định được thực hiện. Ngược lại nếu nồng độ của kháng nguyên thấp, các kháng nguyên này chỉ chiếm một số TCR trên tế bào lympho tuyến ức. Tín hiệu này có thể gây ra chọn lọc khẳng định và tăng sinh các tế bào lympho T của tuyến ức.

Làm suy yếu dòng

Do dung nạp bản thân là rất quan trọng cho sự tồn tại nên cơ thể không thể chỉ dựa vào chọn lọc phủ định tế bào lympho T tuyến ức để bảo đảm kìm hãm tất cả các tế bào lympho T phản ứng với bản thân. Khi có tế bào lympho T nào thoát khỏi tuyến ức thì nó sẽ lại bị những tế bào khác phong toả. Loại phong toả này nhằm làm suy yếu dòng (là sự làm suy yếu một dòng lympho T, sự phong toả đặc hiệu kéo dài do kháng nguyên phụ thuộc vào các tín hiệu chuyển cho tế bào lympho T). Chỉ một kháng nguyên gắn vào TCR riêng lẻ thì không đủ gây ra đáp ứng của tế bào lympho T. Sự chiếm chỗ TCR bởi một phức hợp peptide của MHC không có các tín hiệu đồng kích thích bổ sung sẽ dẫn đến suy yếu dòng. Thí dụ, các chất lỏng protein bình thường có chứa một số phân tử kết tụ; những phân tử kết tụ này dễ dàng bị đại thực bào bắt, xử lý và như vậy có tính gây miễn dịch cao. Nhưng nếu dung dịch của một protein như vậy, thí dụ gammaglobulin của bò, được ly tâm với tốc độ cao để loại bỏ các phân tử kết tụ thì dung dịch còn lại không có chất kết tụ sẽ gây ra dung nạp miễn dịch khi tiêm cho thỏ trưởng thành. Sự dung nạp này có tính đặc hiệu kháng nguyên vì chỉ hướng đến gammaglobulin của bò. Sự dung nạp này là hậu quả của sự suy nhược dòng do tế bào lympho T hỗ trợ mãn cảm với kháng nguyên tiếp xúc với kháng nguyên tự do (không gắn với đại thực bào). Tế bào lympho T hỗ trợ không nhận được các tín hiệu đồng kích thích bình thường. Các tín hiệu này nhờ kết hợp của CD80 hoặc CD86 trên tế bào trình diện kháng nguyên với CD28 trên tế bào lympho T cung cấp.

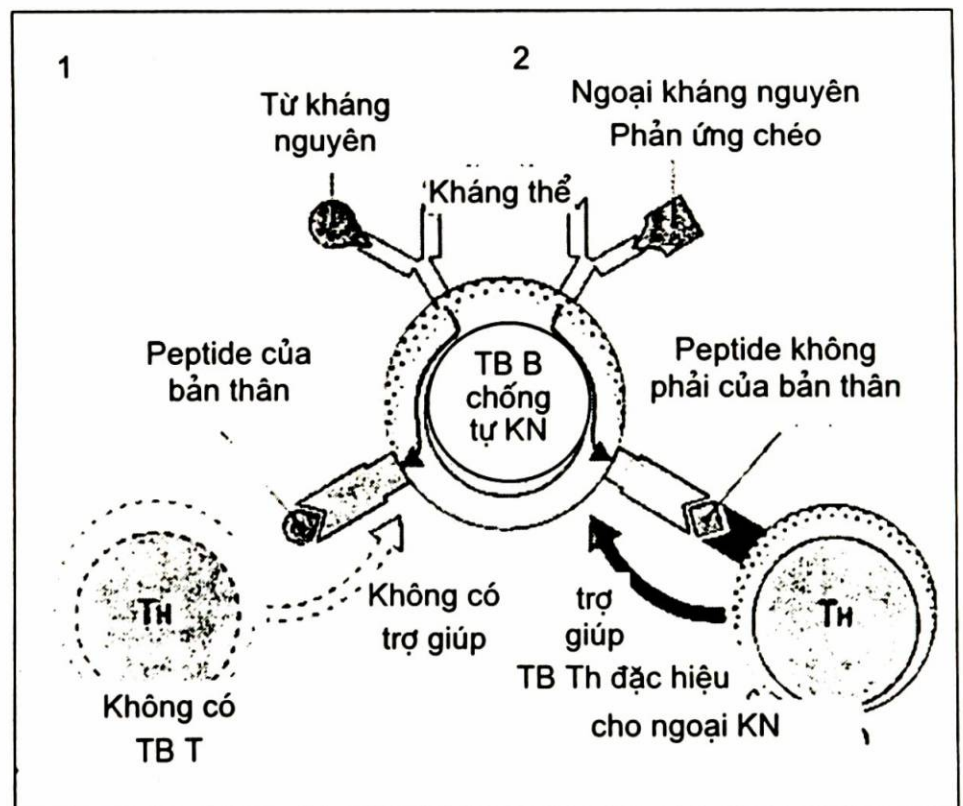
Phức hợp peptide của MHC gắn vào TCR có tác dụng làm hoạt hoá tyrosinkinase và phospholipase C của tế bào lympho T, đồng thời làm tăng Ca^{2+} bên trong màng tế bào.

Tuy nhiên sự kết hợp ấy chưa đủ để hoạt hoá đầy đủ tế bào này. Bình thường có một gene ức chế làm tế bào ở trạng thái không hoạt động. Chỉ khi IL-1 gắn vào receptor của tế bào và CD28 kết hợp với CD80 thì gene ức chế sẽ không được cảm ứng để phát huy tác dụng và do đó tế bào được hoạt hoá. Các tế bào Th1 bị suy nhược không sản xuất IL-2, mặc dù một lượng nhỏ IL-2 có thể được phát hiện cùng với nồng độ kháng nguyên cao hơn bình thường 30 - 100 lần. Sản xuất IL-3 giảm xuống khoảng 87% và IFN- γ giảm 33%. Sự suy nhược tế bào có thể kéo dài một vài tuần. Do liều cao kháng nguyên làm hình thành một dạng dung nạp làm tê liệt miễn dịch. Dạng này có thể là dạng suy nhược dòng. Liều cao kháng nguyên có thể làm cho tế bào trình diện kháng nguyên tránh tiếp xúc trực tiếp với tế bào lympho T hỗ trợ và làm cho các tế bào lympho T này suy nhược.

1.2. Sự dung nạp của tế bào lympho B

Không giống như TCR, tính đa dạng của kháng thể được tạo ra trong quần thể tế bào lympho B qua hai thời kỳ. Thời kỳ thứ nhất nhờ có sự sắp xếp lại các bộ phận gene trong cơ quan lympho trung tâm, thời kỳ thứ hai do đột biến di truyền ở trung tâm mầm trong cơ quan lympho ngoại vi. Như vậy tế bào lympho B có một số cơ hội để trở thành tế bào phản ứng với kháng nguyên bản thân và chúng có thể có trong các cơ quan lympho. Tế bào này không sản xuất tự kháng thể. Nếu tất cả các thành phần cần thiết để cho tế bào lympho B đáp ứng với kháng nguyên (thí dụ tế bào trình diện kháng nguyên, tế bào lympho T hỗ trợ) hoặc nếu tế bào lympho T điều hoà miễn dịch ở trạng thái hoạt động thì tế bào lympho B không có khả năng đáp ứng có hiệu quả với kháng nguyên và vì vậy dường như nó không hoạt động. Do đáp ứng phụ thuộc vào tế bào lympho T hỗ trợ, tế bào lympho B không có khả năng sản xuất tự kháng thể chủ yếu là do không có tế bào lympho T hỗ trợ chứ không phải do chính những biến đổi của tế bào lympho B (hình 9.2).

Hình 9.2. Đáp ứng của lympho B với tự kháng nguyên hoặc ngoại kháng nguyên



Trong nhiều điều kiện thì chính tế bào lympho T (chứ không phải tế bào lympho B dung nạp) có thể kích thích sản xuất kháng thể bằng cách sử dụng hoặc các quyết định kháng nguyên phản ứng chéo hoặc các phân tử lạ để kích thích những tế bào lympho T hỗ trợ chưa dung nạp. Như vậy có những cơ chế khác cũng được sử dụng để đảm bảo cho tế bào lympho B dung nạp. Những cơ chế này bao gồm việc xoá bỏ dòng khi các tế bào chưa trưởng thành (clonal abortion), làm suy nhược dòng (clonal anergy), làm cạn kiệt dòng (clonal exhaustion) và phong toả receptor của tế bào lympho B.

Xoá bỏ dòng lúc chưa trưởng thành

Tế bào lympho B có thể được dung nạp một khi chúng đã sắp xếp các gene khu vực V của chúng có hiệu quả và chuyển sang biểu thị IgM trên bề mặt nếu gặp kháng nguyên trước khi chúng trưởng thành. Khi chúng gắn chặt vào kháng nguyên bản thân, BCR sẽ chuyển một tín hiệu làm ngừng phát triển và gây chết tế bào sau 1-3 ngày. Một quần thể tế bào lympho B chưa trưởng thành có thể được dung nạp với lượng kháng nguyên bằng 1/1000.000 cần thiết để tạo ra quần thể tế bào lympho B trưởng thành dung nạp. Sự xoá bỏ dòng chỉ xảy ra nếu tế bào lympho B gặp kháng nguyên sớm trong quá trình phát triển ở tuỷ xương. Các cơ chế khác xoá bỏ tế bào lympho B ở ngoại biên tái phản ứng với bản thân là cần thiết để phong toả những tế bào tái phản ứng với bản thân do đột biến. Tham gia cơ chế này là sự làm suy nhược dòng.

Làm suy nhược dòng

Cũng giống như ở các tế bào lympho T, việc suy nhược dòng xảy ra nếu tế bào lympho B không nhận được những kích thích thích hợp. Tuy nhiên tế bào lympho B rất khó duy trì trạng thái dung nạp và sẽ phục hồi trạng thái hoạt động khá nhanh nếu không có các bước để duy trì sự dung nạp. Làm cho tế bào lympho B chưa trưởng thành suy nhược dễ hơn đối với tế bào lympho B trưởng thành. Thí dụ immunoglobulin ở động vật non không thể tái sinh các immunoglobulin bề mặt sau khi bao phủ kháng nguyên và đại thực bào ở động vật sơ sinh trình diện kháng nguyên cho tế bào lympho kém hơn. Các tế bào lympho B phản ứng với bản thân cần kết hợp với kháng nguyên ở ngưỡng có tính chất quyết định để được dung nạp và như vậy sẽ làm mất hoạt động tế bào lympho B có ái lực cao. Có thể là tế bào lympho B có ái lực thấp không trở thành dung nạp được sẽ ít có khả năng gây ra bệnh tự miễn dịch. Do ái lực thấp, kháng thể sản xuất ra sẽ không làm tổn thương tổ chức.

Sự cạn kiệt dòng

Tế bào lympho B chịu sự kích thích nhiều lần của kháng nguyên để biệt hoá thành tương bào có đời sống ngắn. Nếu tất cả tế bào lympho B phát triển thành tương bào thì sẽ không còn tế bào lympho B ghi nhớ để đáp ứng với kháng nguyên xâm nhập lần sau.

Phong toả receptor của tế bào lympho B

Một số kháng nguyên chuỗi polyme (như polysaccharide của phế cầu khuẩn *Pneumococcus*) có thể gắn bền vững với receptor của tế bào lympho B. Chúng làm đông

cứng màng tế bào lympho B và phong toả bất kỳ đáp ứng nào của tế bào này. Tế bào lympho B sẽ hồi phục khi kháng nguyên bị loại bỏ.

Dung nạp không hoàn toàn

Dung nạp không cần thiết phải hoàn toàn và nó có thể được tạo ra trong các phân lựa chọn của hệ thống miễn dịch, thí dụ có khi dung nạp đáp ứng với một lớp immunoglobulin. Tế bào lympho B sản xuất IgE dễ dàng gây dung nạp hơn tế bào sản xuất IgG hoặc IgM. Do vậy có thể làm giảm mẫn cảm với dị ứng bằng cách làm giảm sự mẫn cảm của tiêm kháng nguyên.

Khoảng thời gian dung nạp miễn dịch

Khoảng thời gian dung nạp phụ thuộc vào sự tồn tại kéo dài của kháng nguyên và khả năng sản xuất tế bào mẫn cảm kháng nguyên mới. Khi kháng nguyên được chuyển hoá, dung nạp sẽ yếu đi. Nếu kháng nguyên tồn tại kéo dài (như ở bê sinh đôi không cùng hợp tử) thì dung nạp sẽ tồn tại kéo dài. Đó là vì sự có mặt liên tục của kháng nguyên, tế bào mẫn cảm với kháng nguyên mới tạo thành sẽ bị gây chết tế bào vào lúc receptor của chúng gắn vào kháng nguyên bản thân. Các biện pháp thúc đẩy hoạt động của tuỷ xương như chiếu tia liều thấp sẽ làm yếu nhanh sự dung nạp, còn nếu xử lý bằng thuốc ức chế miễn dịch thì có tác dụng ngược lại. Có thể làm mất dung nạp đối với một số tự kháng nguyên như thyreoglobulin bằng cách sử dụng kháng nguyên với các chất bổ trợ mạnh, thí dụ như chất bổ trợ freud.

2. SỰ ĐIỀU HOÀ MIỄN DỊCH

Dung nạp không phải là cơ chế điều hoà miễn dịch duy nhất được cơ thể sử dụng. Mức độ của miễn dịch cũng cần phải điều chỉnh. Đáp ứng miễn dịch không đủ có thể dẫn đến thiếu hụt miễn dịch và làm tăng sự mẫn cảm đối với bệnh nhiễm khuẩn. Đáp ứng quá mức có thể làm tiến triển một số bệnh như thoái hoá bột. Không kiểm soát được sự tăng sinh của tế bào lympho trong thời gian đáp ứng miễn dịch có thể đưa đến việc phát triển những khối u tế bào lympho. Không kiểm soát được đáp ứng miễn dịch của bào thai có thể dẫn đến sẩy thai. Để bảo vệ được cơ thể thì chính các đáp ứng miễn dịch phải được kiểm soát chặt chẽ cả về số lượng và chất lượng và như vậy phải có cơ chế điều hoà miễn dịch.

2.1. Kháng nguyên điều hoà miễn dịch

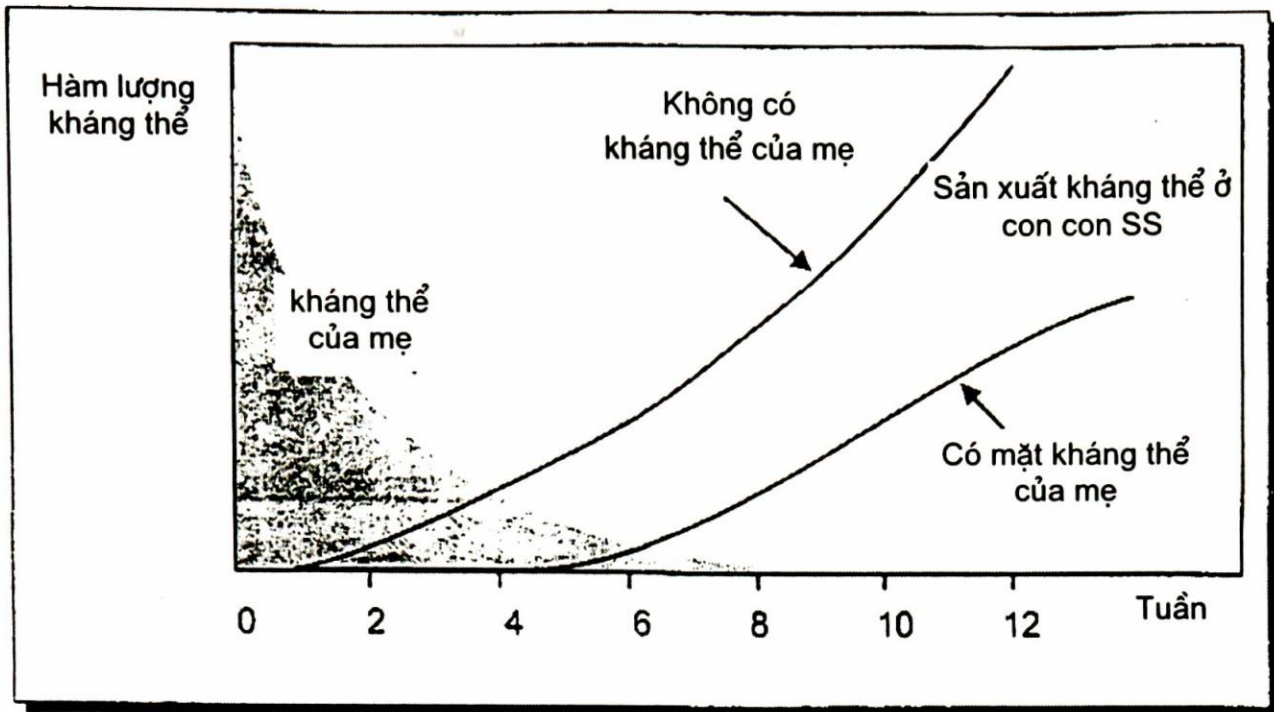
Đáp ứng miễn dịch do kháng nguyên điều khiển. Các đáp ứng chỉ bắt đầu khi tiếp xúc với kháng nguyên và một khi kháng nguyên bị loại bỏ thì đáp ứng miễn dịch cũng ngừng lại. Nếu kháng nguyên tồn tại dai dẳng, các kích thích tồn tại và vì vậy đáp ứng miễn dịch kéo dài. Như vậy một đáp ứng miễn dịch kéo dài dễ xảy ra sau khi gây miễn dịch bằng kháng nguyên khó được chuyển hoá (như các polysaccharide của vi khuẩn hoặc các kháng nguyên được đưa vào trong dung môi dầu hoặc các chất bổ trợ không tan để cho kháng nguyên không thể bị thải trừ nhanh).

Sự chế biến kháng nguyên và điều hoà miễn dịch

Bản chất của miễn dịch có thể khác nhau tại những bộ phận khác nhau của cơ thể. Tế bào langherhan đặc biệt dường như thích hợp để thúc đẩy phản ứng quá mẫn muộn, trong khi tế bào đuôi gai hình túi kích thích tế bào lympho B trong các nang lympho. Có thể là tế bào langherhan thích hợp nhất với việc trình diện kháng nguyên cho tế bào Th1 còn tế bào đuôi gai hình túi thích hợp trình diện kháng nguyên cho tế bào Th2. Chất bổ trợ cũng ảnh hưởng đến loại đáp ứng miễn dịch thông qua tác dụng của chúng trên tế bào trình diện kháng nguyên. Lipid gắn vào kháng nguyên protein thường gây ra phản ứng quá mẫn muộn chứ không phải là sản xuất kháng thể và khu trú trong các khu vực của tế bào lympho T chứ không phải ở các khu vực của tế bào lympho B trong tổ chức lympho. Kháng nguyên không phụ thuộc tế bào lympho T không cần sự hỗ trợ của tế bào lympho T vì chúng có rất nhiều quyết định kháng nguyên và có thể kích thích mạnh tế bào lympho B. Tuy nhiên chúng có thể kích thích tế bào lympho B một cách quá mức và gây dung nạp miễn dịch.

2.2. Kháng thể điều hoà đáp ứng miễn dịch

Các kháng thể hoặc phức hợp miễn dịch có tác dụng kiểm chế đáp ứng miễn dịch. Nói chung IgG có khả năng ức chế sản xuất cả IgG và IgM; nhưng IgM lại có khuynh hướng ức chế sự tổng hợp tiếp IgM. Kháng thể đặc hiệu có khuynh hướng ức chế đáp ứng miễn dịch đặc hiệu tốt hơn những immunoglobulin không đặc hiệu. Thí dụ rõ rệt nhất là phương pháp sử dụng Ig để phòng bệnh dung huyết của trẻ em sơ sinh. Trong bệnh này người mẹ thiếu kháng nguyên Rh sản xuất kháng thể kháng Rh trên hồng cầu bào thai. Nếu kháng thể kháng Rh người mẹ này được cung cấp (bằng kháng huyết thanh) chống lại kháng nguyên này vào thời điểm tiếp xúc của người mẹ với hồng cầu của bào thai lúc sinh ra, người mẹ đó sẽ hoàn toàn bị ức chế sản xuất kháng thể chống Rh. Các thông tin phản hồi ngược chiều này trên tế bào lympho B là do tế bào này có các receptor Fc γ RII có thể gắn với kháng thể. Nếu kháng thể này kết hợp với một kháng nguyên cũng gắn vào một BCR, hai receptor này trở thành liên kết chéo. Sự liên kết chéo này kéo hai receptor lại gần nhau. Do sự kết tụ này, các phần tử truyền tín hiệu của chúng tương tác với nhau và phần tyrosin then chốt được phosphoryl hoá ngăn cản dòng canxi đi vào và như vậy ngăn cản hoạt hoá tế bào. Con đường này là cơ chế thông tin phản hồi, bằng cách đó sự hoạt hoá tế bào lympho B được kháng thể điều chỉnh và ngăn cản các đáp ứng không được kiểm soát của tế bào lympho B. Trong những bệnh có hàm lượng immunoglobulin cao (ở bệnh nhân bị u tuỷ chằng hạn) cơ chế phản hồi này ức chế tổng hợp immunoglobulin bình thường nên các bệnh nhân bị u tuỷ mãn cảm với nhiễm khuẩn. Một hiện tượng tương tự xảy ra ở động vật sơ sinh thu nhận immunoglobulin một cách thụ động từ con vật mẹ. Sự có mặt các kháng thể của con mẹ này một mặt tạo khả năng bảo vệ cơ thể, mặt khác lại ức chế tổng hợp immunoglobulin và ngăn cản hiệu quả tác dụng của vaccine ở gia súc sơ sinh (hình 9.3).

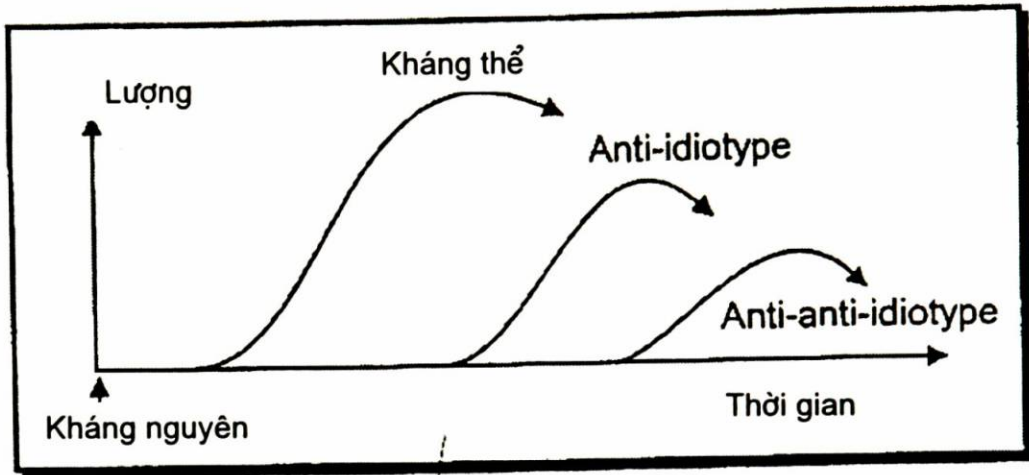
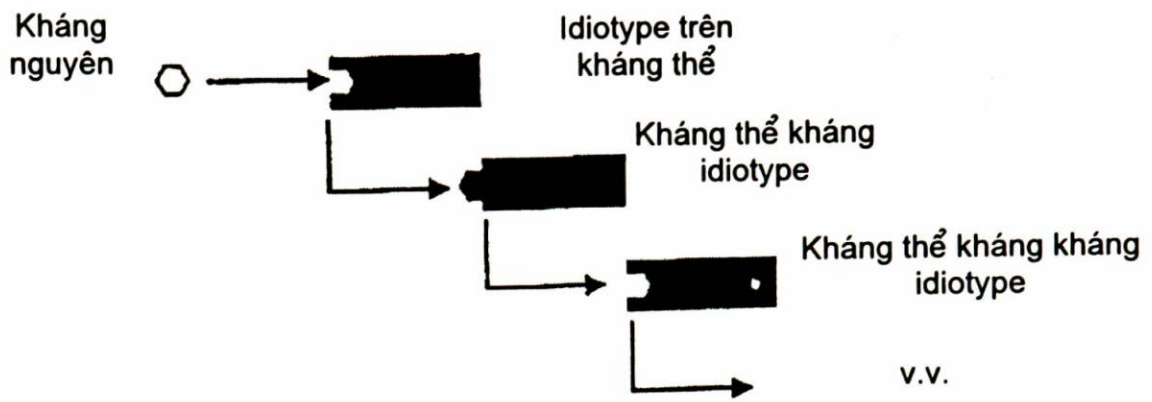


Hình 9.3. Sự có mặt kháng thể của mẹ ở động vật sơ sinh làm chậm việc tổng hợp immunoglobulin

Lớp cũng như số lượng immunoglobulin được sản xuất trong quá trình đáp ứng miễn dịch cũng được điều hoà. Phần lớn các tế bào lympho B chưa được kích thích có cả receptor của IgM và IgD trên bề mặt. Trong quá trình đáp ứng miễn dịch những tế bào này chuyển sang sản xuất IgM, IgG, IgA hoặc IgE và sự chuyển lớp này được cytokin, sản phẩm từ tế bào lympho T hỗ trợ, kiểm soát. Ở động vật tiếp nhận kháng nguyên không phụ thuộc tế bào lympho T thì không có việc chuyển từ sản xuất IgM sang sản xuất IgG và đáp ứng cho nồng độ IgM thấp sẽ tồn tại kéo dài. Cắt tuyến ức ở chim sơ sinh cũng có thể làm cho chúng không thể chuyển lớp từ IgM sang IgG cho thấy đó là do hoạt động của túi fabricius.

Màng lưới idiotype

Các phân tử immunoglobulin có cấu trúc khác nhau nằm ở vùng thay đổi của cả chuỗi nhẹ và chuỗi nặng; ở đó chúng tạo thành những vị trí kết hợp kháng nguyên. Sự khác nhau về cấu trúc này được gọi là idiotope. Thuật ngữ chung cho tất cả các quyết định (idiotope) trên một phân tử immunoglobulin gọi là idiotype. Immunoglobulin tạo ra trong quá trình đáp ứng của kháng thể có mang các idiotype mới. Trong quá trình đáp ứng miễn dịch có một số lượng lớn immunoglobulin đặc hiệu, mỗi loại đều có idiotype riêng, sẽ được sản xuất. Những idiotype chưa được nhận dạng trước đây sẽ bị tế bào miễn cảm kháng nguyên xem là phân tử lạ và sẽ kích thích sản xuất kháng thể chống idiotype. Các kháng thể kháng idiotype này có thể kháng lại idiotype bất kỳ nơi nào trên khu vực thay đổi của immunoglobulin. Một số có thể hướng đến vị trí kết hợp kháng nguyên trên immunoglobulin và vì vậy giống hình dạng của một kháng nguyên (hình 9.4).



Hình 9.4. Các quyết định kháng nguyên Idiotyp trên một immunoglobulin của tự kháng nguyên kích thích một đáp ứng miễn dịch

Một số kháng thể kháng idiotyp có thể hướng đến chống các idiotope bên ngoài vị trí kết hợp kháng nguyên vì vậy không có chung các quyết định kháng nguyên với kháng nguyên.

Idiotyp trên kháng thể kháng idiotyp mới này cũng có thể được xem là phần tử lạ và vì vậy kích thích sản sinh kháng thể kháng lại các kháng thể kháng idiotyp. Quá trình này diễn ra đã tạo nên một mạng lưới phức hợp phản ứng tương tác giữa idiotyp và kháng idiotyp. Mỗi phản ứng trong số này có thể làm tăng cường hoặc ức chế đáp ứng miễn dịch. Thí dụ các kháng thể kháng idiotyp có thể tác dụng như một kháng nguyên làm tăng đáp ứng của tế bào lympho B vì chúng gắn vào receptor của kháng nguyên thuộc tế bào lympho B và kích thích receptor này. Kháng thể kháng idiotyp cũng có tác dụng ức chế đáp ứng miễn dịch bằng cách liên kết chéo BCR và FcR. Tác dụng ức chế của kháng thể idiotyp có thể chiếm ưu thế trong điều kiện bình thường và vì vậy có tác dụng làm tắt đáp ứng miễn dịch. Receptor của kháng nguyên trên tế bào lympho T có cấu trúc khác nhau có thể đóng vai trò là quyết định kháng nguyên idiotyp trên các vùng thay đổi của nó cho thấy tế bào lympho T có thể chịu sự điều hoà của kháng thể kháng idiotyp.

3. CHỨC NĂNG CỦA CÁC TẾ BÀO ĐIỀU HOÀ MIỄN DỊCH

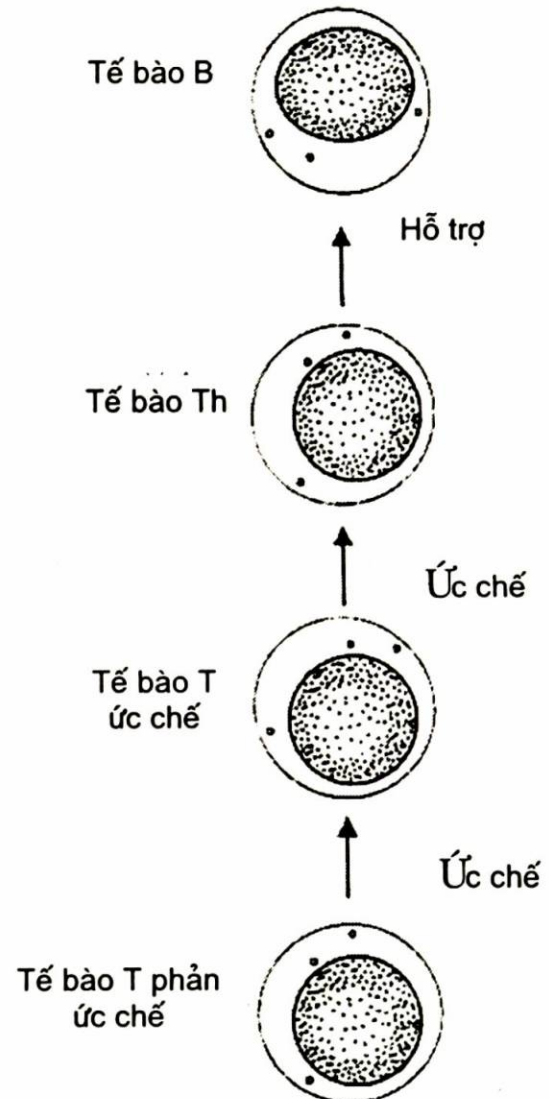
Rất nhiều trong số những tế bào tham gia đáp ứng miễn dịch có chức năng điều hoà miễn dịch, đó là tế bào lympho T, đại thực bào, tế bào diệt tự nhiên. Một số trong chúng có tác dụng làm tăng đáp ứng miễn dịch. Bình thường, tế bào lympho T CD4+ là tế bào lympho T hỗ trợ làm tăng đáp ứng miễn dịch; những tế bào khác, đặc biệt là tế bào lympho T CD8+, có thể ức chế đáp ứng miễn dịch.

3.1. Tế bào lympho T ức chế

Do rất khó tìm thấy các quần thể tế bào lympho T ức chế nên nhiều nhà miễn dịch cho rằng có thể không tồn tại một dòng tế bào ức chế riêng biệt. Một số ức chế có thể do chức năng đối kháng của hai quần thể tế bào T hỗ trợ Th1 và Th2. Thí dụ INF- γ (do Th1 giải phóng) có thể phong toả sản xuất IgE. IL-10 (được Th2 giải phóng) có tác dụng ức chế sản xuất IL-12 của đại thực bào và như vậy ức chế Th1 sản xuất cytokin. IL-4 có thể ức chế tăng sinh của tế bào lympho B do IL-2 điều hành.

Tuy nhiên các tế bào lympho T CD8+ cũng tiết ra cytokin điển hình của tế bào Th1 hoặc Th2. Vì vậy tế bào lympho T CD8+ tiết IL-10 có thể là tế bào có tác dụng ức chế mạnh. Người ta nhận thấy những con lợn dung nạp với mảnh ghép lạ ở thận thì dường như có tế bào sản xuất một lượng lớn không bình thường IL-10. Những cơ chế tác dụng ức chế khác có thể là kích thích tế bào lympho T gây độc của tế bào trình diện kháng nguyên, thí dụ như tế bào lympho B. Một số tế bào lympho T gây độc được hạn chế của MHC lớp II và như vậy có thể gây chết tế bào ở tế bào lympho B trình diện kháng nguyên theo cách thông thường.

Trong thực tế chưa có khả năng phân biệt tế bào lympho T ức chế với tế bào lympho T gây độc. Tuy nhiên, người ta cho rằng có thể phân biệt được tế bào lympho T ức chế và tế bào lympho T gây độc ở người qua biểu thị CD11b. Ở chuột cũng đã xác định được các dòng tế bào ức chế không có tác dụng gây độc. Tế bào ức chế rất khác nhau, không chỉ có tế bào lympho T ức chế mà còn có đại thực bào ức chế, tế bào ức chế tự nhiên. Những tế bào này có thể ức chế hoạt động của tế bào lympho T hỗ trợ, tế bào lympho T gây độc thậm chí cả hoạt động của tế bào trình diện kháng nguyên. Tuy nhiên rất khó xác định bản chất của tế bào ức chế.



Hình 9.5. Tế bào phản ức chế ức chế đặc hiệu các tế bào ức chế làm cho đáp ứng miễn dịch được giải toả

3.2. Ức chế miễn dịch của đại thực bào

Các yếu tố ức chế có nguồn gốc đại thực bào bao gồm prostaglandin, nitric oxide và các chất chuyển hoá của phản ứng oxy hoá. Bình thường, tác dụng ức chế của đại thực bào chịu sự đối kháng của IL-1, nhưng tác dụng này được IFN- γ làm tăng lên. Trong một số điều kiện, tế bào lympho T có thể tác động đến đại thực bào trình diện kháng nguyên để ngăn cản sự nhận diện kháng nguyên. Khi đó, tế bào lympho T và tế bào đích của chúng cần phải tương hợp ở khu vực MHC lớp I. Cơ chế tác dụng của chúng vẫn chưa rõ, tuy nhiên người ta cho rằng tế bào lympho T ức chế phong toả chuyển hoá ở tế bào trình diện kháng nguyên.

3.3. Tế bào ức chế tự nhiên

Tế bào ức chế tự nhiên là những tế bào lympho có hạt lớn tiết protein có tác dụng gây ức chế tế bào. Chúng ức chế sự tăng sinh của tế bào lympho B và tế bào lympho T cũng như ức chế sản xuất immunoglobulin. Bình thường tế bào ức chế tự nhiên có trong tuỷ xương và lách của động vật sơ sinh. Hoạt tính của tế bào ức chế tự nhiên tăng mạnh ở những động vật có phản ứng của mảnh ghép đối với vật chủ.

3.4. Hoạt động của các tế bào ức chế

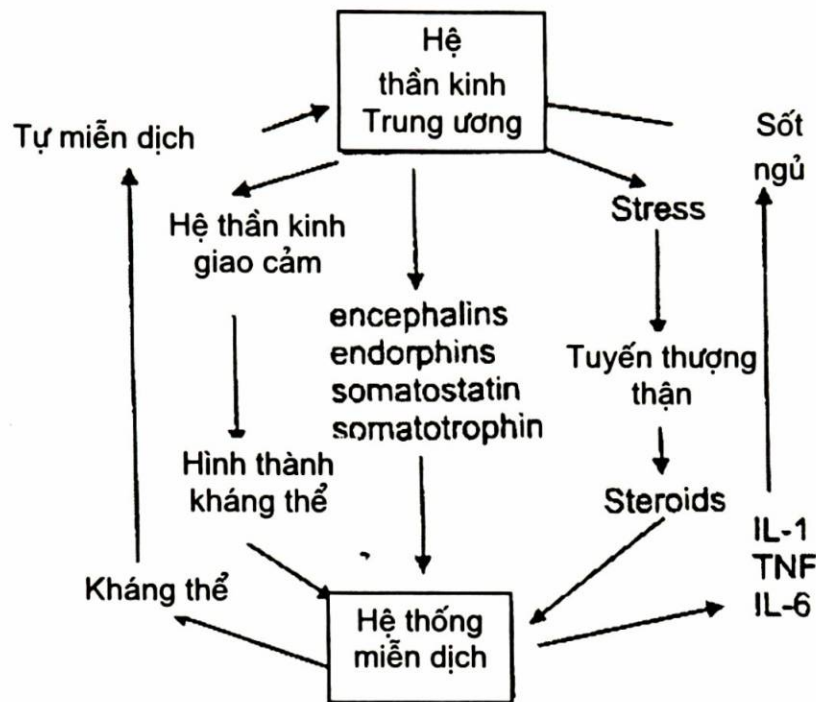
Tế bào ức chế tham gia vào hầu hết các khâu của đáp ứng miễn dịch. Người ta cho rằng tế bào ức chế đặc hiệu kháng nguyên bằng cách cạnh tranh kháng nguyên, gây thiếu đáp ứng miễn dịch ở động vật sơ sinh, ức chế miễn dịch sau chấn thương, bỏng hoặc phẫu thuật. Một số trường hợp tăng immunoglobulin trong máu và ức chế các đáp ứng đối với chất gián phân tế bào. Tế bào ức chế đặc hiệu kháng nguyên tạo ra dung nạp miễn dịch do liều thấp kháng nguyên, do kháng nguyên không kết tụ và còn gây ra tình trạng không đáp ứng miễn dịch do các phân tử MHC lớp II điều khiển. Những tế bào ức chế đặc hiệu này ức chế sự loại bỏ khối u và kìm hãm việc sẩy thai. Cũng thấy chúng hoạt động ở những cá thể không đáp ứng với vi khuẩn lao xâm nhập.

3.5. Các tế bào phản ức chế

Có thể trung hoà một cách chọn lọc những tế bào lympho T ức chế cảm ứng kháng nguyên được đưa vào bằng đường uống bởi một quần thể tế bào biểu mô ruột gọi là tế bào phản ức chế (hình 9.5). Do hoạt động của những tế bào này mà một đáp ứng miễn dịch có thể tiếp tục ở vách ruột trong khi tại các bộ phận khác thì đáp ứng này bị ức chế. Tế bào phản ức chế không phải là tế bào lympho T hỗ trợ. Chúng có các kháng nguyên bề mặt khác nhau. Tế bào lympho T hỗ trợ được hạn chế của MHC lớp II, trong khi tế bào phản ức chế không chịu sự hạn chế này. Đã nghiên cứu thấy tế bào phản ức chế có TCR chuỗi γ/δ , trong khi TCR của tế bào lympho T hỗ trợ có chuỗi α/β . Khi một kháng nguyên đưa vào cơ thể bằng cách cho uống có thể xảy ra hiện tượng dung nạp miễn dịch. Động vật có thể hoàn toàn không phản ứng với kháng nguyên đó khi kháng nguyên vào không qua đường tiêu hóa. Tuy nhiên tổ chức lympho ở ruột vẫn miễn cảm đầy đủ với kháng nguyên ấy. Dung nạp là do tế bào ức chế nhưng tổ chức lympho ở ruột vẫn giữ đáp ứng với kháng nguyên vì chúng có tế bào phản ức chế. Nhờ cơ chế này mà tránh được đáp ứng toàn thân với kháng nguyên trong thức ăn trong khi vẫn đảm bảo được đáp ứng bảo vệ cục bộ tại ruột. Sự phản ức chế cũng hỗ trợ sự phục hồi ức chế do bỏng nặng. Mất tế bào T phản ức chế có thể dẫn đến thiếu hụt miễn dịch nghiêm trọng.

4. ĐIỀU HOÀ MIỄN DỊCH CỦA THẦN KINH VÀ NỘI TIẾT

Trạng thái về tinh thần, nhất là khi bị stress, ảnh hưởng đáng kể đến bệnh nhiễm khuẩn (hình 9.6).



Hình 9.6. Sự điều khiển của hệ thần kinh trung ương đối với hệ thống miễn dịch

Người hoặc động vật chịu ức chế hoặc stress có thể bị giảm chức năng miễn dịch. Stress ức chế đáp ứng của tế bào T với chất gián phân tế bào, ức chế hoạt động của tế bào diệt tự nhiên và việc biểu thị IL-2R trên tế bào lympho.

Stress ở gia súc hoặc động vật hoang dại có thể gây ra thiếu hụt miễn dịch. Hiện tượng này có thể gặp khi cai sữa sớm cho lợn con, hoặc khi chúng đánh nhau để phân cấp trong đàn.

Hệ thống thần kinh điều hoà chức năng miễn dịch theo hai cách: Những sợi thần kinh giao cảm được phân phối trực tiếp đến tổ chức lympho, từ những sợi chi phối mạch quản đến những sợi trực tiếp tới tế bào lympho. Hệ thống thần kinh trực tiếp hoặc gián tiếp kiểm soát lượng các hormone khác nhau, đặc biệt là corticoid, hormone sinh trưởng, thyroxine và adrenaline. Tế bào lympho biểu thị receptor cho nhiều hormone, chất dẫn truyền thần kinh và các peptide thần kinh bao gồm những receptor cho steroid, catecholamine (Adrenaline và nor adrenaline), các chất nội sinh có vai trò như thuốc phiện (Endorphin, enkephalin), chất P và các peptide của ruột có tác dụng vận mạch. Tế bào lympho có sự biểu thị và đáp ứng rất khác nhau, vì vậy hiệu quả của các chất dẫn truyền thần kinh cũng khác nhau. Tuy nhiên corticoid, endorphin và enkephalin có tầm quan trọng đặc biệt trong điều hoà miễn dịch. Những chất này đều là chất ức chế miễn dịch *in vivo*. Tác dụng của endorphin *in vitro* phụ thuộc vào liều sử dụng, có thể ức chế hoặc làm tăng chức năng miễn dịch. Corticoid có tác dụng chủ yếu là kiểm soát các thông tin ngược chiều đối với đáp ứng miễn dịch.

Chương 10

PHẢN ỨNG HUYẾT THANH XÁC ĐỊNH KẾT HỢP KHÁNG NGUYÊN KHÁNG THỂ

Thông thường có hai cách chẩn đoán miễn dịch học trong phòng xét nghiệm. Cách thứ nhất là sử dụng kháng thể đặc hiệu để phát hiện và xác định kháng nguyên. Cách thứ hai là sử dụng kháng kháng thể trong huyết thanh xác định phức hợp kháng nguyên - kháng thể; giúp cho chẩn đoán hoặc định lượng kháng nguyên. Các phản ứng huyết thanh được dùng cho chẩn đoán huyết thanh học.

Các kỹ thuật chẩn đoán huyết thanh được chia làm ba loại:

1. Phản ứng kết hợp nguyên phát xác định trực tiếp sự kết hợp kháng nguyên với kháng thể.
2. Phản ứng kết hợp thứ phát xác định sự tương tác giữa kháng nguyên và kháng thể invitro. Phương pháp này kém nhạy hơn phản ứng kết hợp nguyên phát nhưng đơn giản và dễ tiến hành.
3. Loại phản ứng phức tạp nhất, đó là phản ứng kết hợp bậc ba xác định tác dụng bảo vệ thực sự của các kháng thể ở động vật.

1. CÁC CHẤT PHẢN ỨNG SỬ DỤNG TRONG CÁC PHẢN ỨNG HUYẾT THANH

Nguồn kháng thể phổ biến nhất dùng trong những phản ứng này là huyết thanh; huyết thanh được dự trữ bằng đông lạnh. Bỏ thể trong máu được loại bỏ (khi cần) bằng cách đun nóng 56⁰C trong 30 phút.

1.1. Bỏ thể

Bỏ thể là một thành phần bình thường trong huyết thanh tươi, riêng bỏ thể của chuột lang lại có khả năng gây dung huyết mạnh. Nếu huyết thanh được cất trong đông lạnh thì khi cần đến để cho tan chảy rồi dùng ngay. Không nên dùng huyết thanh tan chảy nhiều lần.

1.2. Kháng kháng thể (Antiglobulin)

Immunoglobulin là những protein phức tạp, có tác dụng là kháng nguyên khi tiêm cho động vật khác loài. Thí dụ immunoglobulin tinh khiết của chó đem tiêm cho thỏ sẽ sinh kháng thể đặc hiệu chống lại immunoglobulin này. Chúng là kháng kháng thể (Antiglobulin). Tùy thuộc vào mức độ tinh khiết của immunoglobulin tiêm vào mà thu được kháng kháng thể không đặc hiệu (kháng lại tất cả các lớp immunoglobulin) hoặc kháng kháng thể đặc hiệu (chỉ kháng lại một lớp immunoglobulin). Kháng kháng thể được sử dụng trong nhiều phản ứng miễn dịch.

1.3. Kháng thể đơn dòng (monoclonal antibody)

Kháng thể đơn dòng lấy từ các tế bào lai (hybridoma), rất tinh khiết và đặc hiệu, có thể sử dụng làm chất phản ứng hoá học. Kháng thể đơn dòng có thể sử dụng thay thế kháng huyết thanh thông thường trong các phản ứng miễn dịch.

2. PHẢN ỨNG KẾT HỢP NGUYÊN PHÁT

Phản ứng kết hợp nguyên phát được thực hiện bằng cách để cho kháng nguyên kết hợp với kháng thể và sau đó xác định phức hợp miễn dịch được tạo thành. Đồng vị phóng xạ, thuốc nhuộm huỳnh quang hoặc enzyme đánh dấu được sử dụng cho việc xác định này.

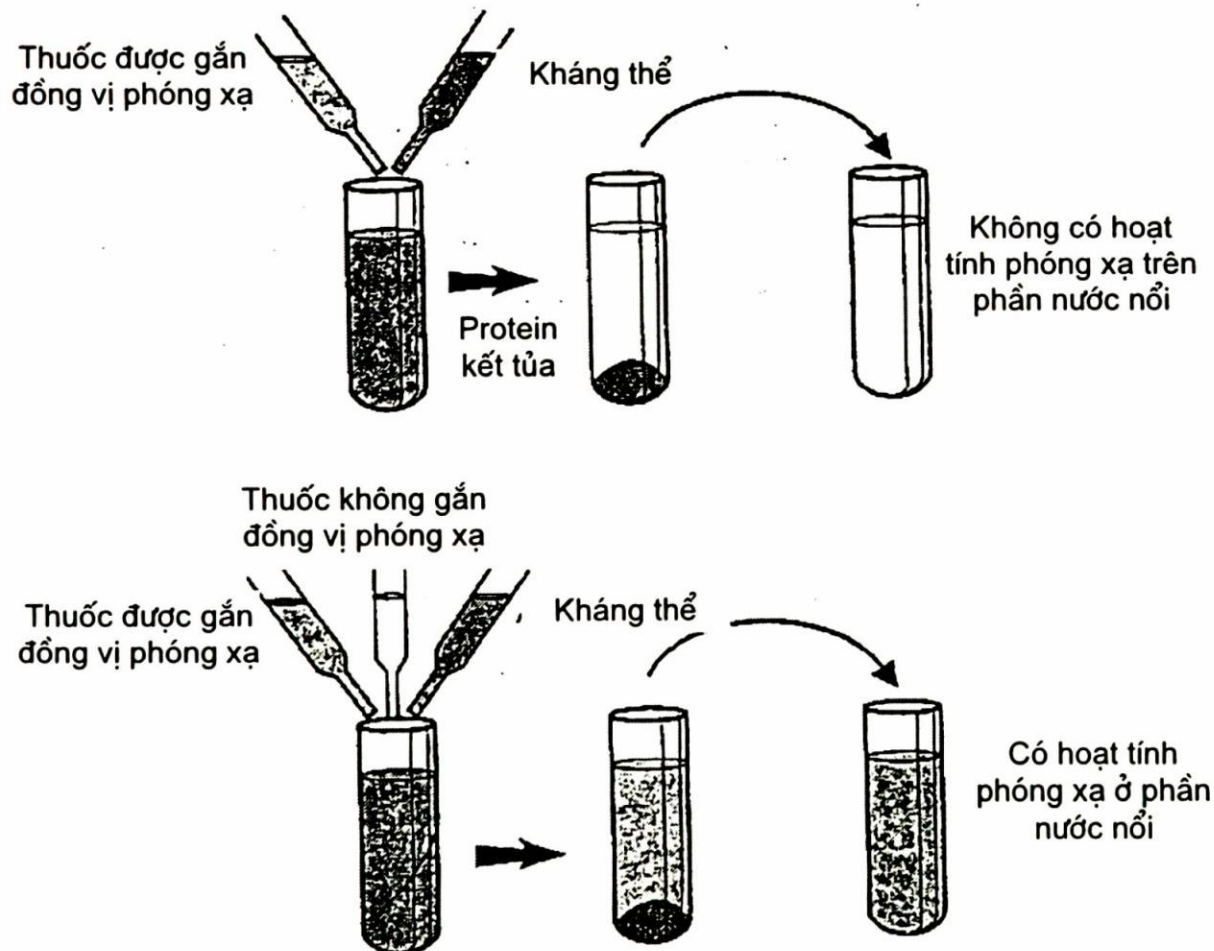
2.1. Phản ứng miễn dịch phóng xạ

2.1.1. Phản ứng miễn dịch phóng xạ phát hiện kháng thể

Đây là phản ứng kết hợp nguyên phát được sử dụng để xác định hàm lượng IgE đặc hiệu ở động vật bị dị ứng. Trong kỹ thuật này, kháng nguyên đã được gắn vào các đĩa cellulose. Khi đĩa đó được nhúng vào huyết thanh của con bệnh, kháng thể đặc hiệu có trong huyết thanh sẽ kết hợp với kháng nguyên. Rửa kháng nguyên thừa rồi nhúng tiếp đĩa vào dung dịch có chứa kháng kháng thể gắn phóng xạ (anti IgE). Kháng kháng thể sẽ kết hợp với kháng thể đã gắn vào kháng nguyên trước đó. Đo lượng phóng xạ được sử dụng sẽ xác định được hoạt tính của kháng thể trong huyết thanh.

2.1.2. Phản ứng miễn dịch phóng xạ phát hiện kháng nguyên

Phản ứng miễn dịch cạnh tranh dựa vào nguyên lý là kháng nguyên không đánh dấu sẽ đẩy kháng nguyên đánh dấu phóng xạ ra khỏi phức hợp miễn dịch (hình 10.1).



Hình 10.1. Nguyên lý của phản ứng miễn dịch phóng xạ

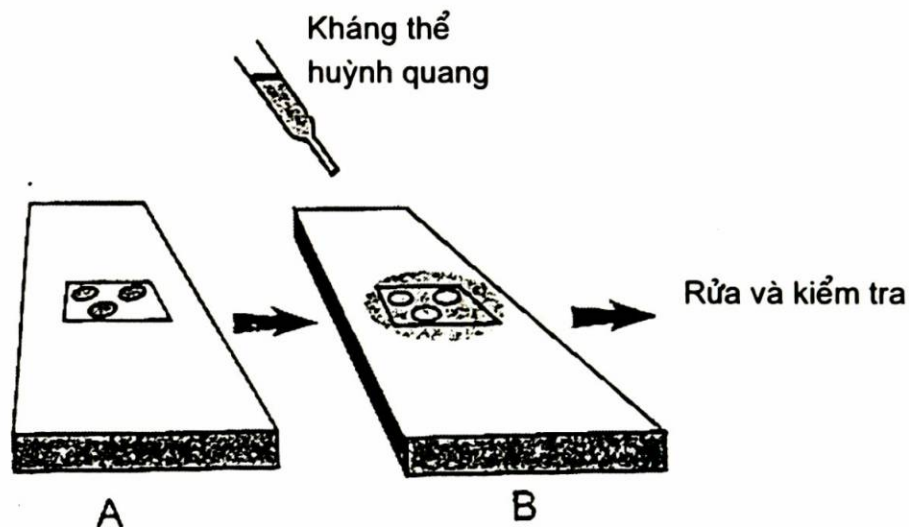
Chúng là những phản ứng rất nhạy được sử dụng để phát hiện một lượng kháng nguyên vô cùng nhỏ. Kháng nguyên được gắn đồng vị phóng xạ như tritium (^3H), carbon 14 hoặc iodine 125. Khi kháng nguyên gắn phóng xạ được trộn lẫn với kháng thể đặc hiệu, chúng kết hợp để tạo thành phức hợp miễn dịch có thể kết tủa. Chất phóng xạ ở chất lỏng nổi lên trên xác định lượng kháng nguyên không kết hợp. Nếu bổ sung kháng nguyên không gắn phóng xạ vào hỗn hợp gồm kháng nguyên gắn phóng xạ và kháng thể tự do thì nó sẽ cạnh tranh với kháng nguyên đánh dấu tại vị trí kết hợp kháng nguyên; do sự cạnh tranh đó mà một số kháng nguyên đánh dấu sẽ không thể kết hợp với kháng thể; kết quả là lượng phóng xạ ở phần chất lỏng nổi lên trên bề mặt sẽ tăng lên. Lập một đường cong tiêu chuẩn về lượng kháng nguyên đánh dấu phóng xạ đã biết thì từ đường cong đó có thể xác định được lượng kháng nguyên trong mẫu kiểm tra.

2.2. Phản ứng miễn dịch huỳnh quang

Thuốc nhuộm huỳnh quang được sử dụng làm chất đánh dấu trong phản ứng kết hợp nguyên phát, chất quan trọng nhất là fluorescein isothiocyanate (FITC). FITC là hợp chất có màu vàng có thể gắn vào kháng thể mà không làm ảnh hưởng đến phản ứng. Khi được chiếu bằng tia tử ngoại, FITC phát ra ánh sáng màu xanh. Kháng thể gắn FITC được sử dụng trong phản ứng kháng thể huỳnh quang trực tiếp và gián tiếp.

2.2.1. Phản ứng kháng thể huỳnh quang trực tiếp

Phản ứng này được sử dụng để xác định sự có mặt của kháng nguyên. Kháng thể chống một kháng nguyên đặc hiệu (như vi khuẩn hoặc virus) đã được gắn với FITC. Kháng nguyên vi sinh vật được cố định trên phiến kính và được ủ với kháng huyết thanh đã gắn thuốc nhuộm huỳnh quang, sau đó rửa để loại bỏ kháng huyết thanh thừa (không tham gia vào phản ứng kháng nguyên kháng thể trên) (hình 10.2).



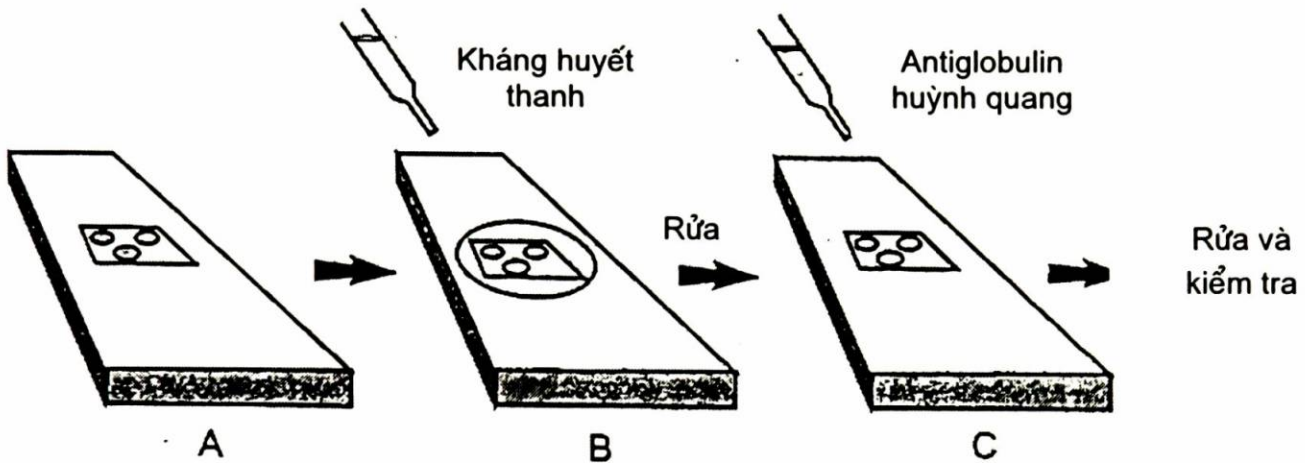
Hình 10.2. Phản ứng kháng thể huỳnh quang trực tiếp

Khi quan sát bằng kính hiển vi nền đen với tia tử ngoại sẽ thấy phức hợp vi sinh vật kết hợp với kháng thể gắn huỳnh quang phát sáng huỳnh quang. Sử dụng phản ứng này cho phép xác định được vi khuẩn khi chúng có số lượng ít, thí dụ phát hiện vi khuẩn phôi lao *Mycobacterium paratuberculosis* trong phân gia súc hoặc khi tìm *Fusobacterium*

necrophorum, *Listeria monocytogenes* hoặc các vi khuẩn thuộc loại *Clostridium* trong mẫu xét nghiệm. Phản ứng này cũng được sử dụng để phát hiện virus sinh trưởng trong tổ chức tế bào hoặc ở các tổ chức của gia súc bị nhiễm như não bị nhiễm virus dại hoặc các tế bào bị nhiễm virus tăng bạch cầu của mèo.

2.2.2. Phản ứng miễn dịch huỳnh quang gián tiếp

Phản ứng miễn dịch huỳnh quang gián tiếp được sử dụng để phát hiện kháng thể trong huyết thanh hoặc xác định kháng nguyên trong tổ chức tế bào nuôi cấy. Trong phản ứng xác định kháng thể thường sử dụng những mẫu kháng nguyên phết trên phiến kính. Ủ chúng trong tủ ấm cùng huyết thanh nghi có kháng thể với những kháng nguyên này và sau đó rửa để loại bỏ huyết thanh thừa (còn lại kháng thể kết hợp với kháng nguyên) (hình 10.3).

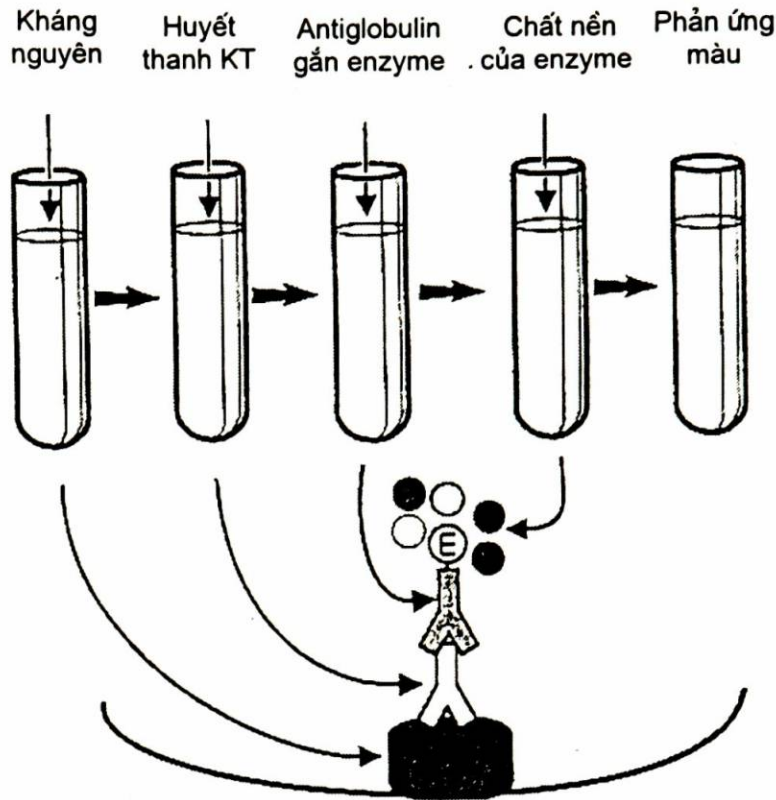


Hình 10.3. Phản ứng kháng thể huỳnh quang gián tiếp

Những kháng thể đã kết hợp này có thể được nhìn thấy sau khi ủ tiếp với kháng globulin gắn với FTTC. Cuối cùng lại rửa để loại bỏ globulin thừa, đọc dưới kính hiển vi huỳnh quang, sự phát huỳnh quang cho thấy có kháng thể trong huyết thanh kiểm tra. Lượng kháng thể trong huyết thanh đó có thể được định lượng bằng nồng độ pha loãng khác nhau của kháng nguyên. Phản ứng này tiện lợi hơn phản ứng trực tiếp. Do mỗi phân tử kháng thể kết hợp với kháng nguyên sẽ kết hợp với một vài kháng globulin đã gắn huỳnh quang nên sự phát sáng huỳnh quang sẽ rõ hơn phản ứng trực tiếp. Cũng tương tự, bằng cách sử dụng kháng globulin đặc hiệu cho mỗi lớp immunoglobulin, lớp kháng thể đặc hiệu có mặt trong huyết thanh có thể được xác định.

2.3. Phản ứng miễn dịch đánh dấu enzyme

Phản ứng miễn dịch đánh dấu enzyme (ELISA) là kỹ thuật quan trọng nhất thường được sử dụng trong thú y. Cùng với các phản ứng kết hợp nguyên phát khác, ELISA có thể được sử dụng để phát hiện kháng thể hoặc kháng nguyên. Trong phản ứng ELISA gián tiếp để phát hiện kháng thể, các lỗ trên đĩa polystyrene được phủ bằng dung dịch kháng nguyên (hình 10.4).

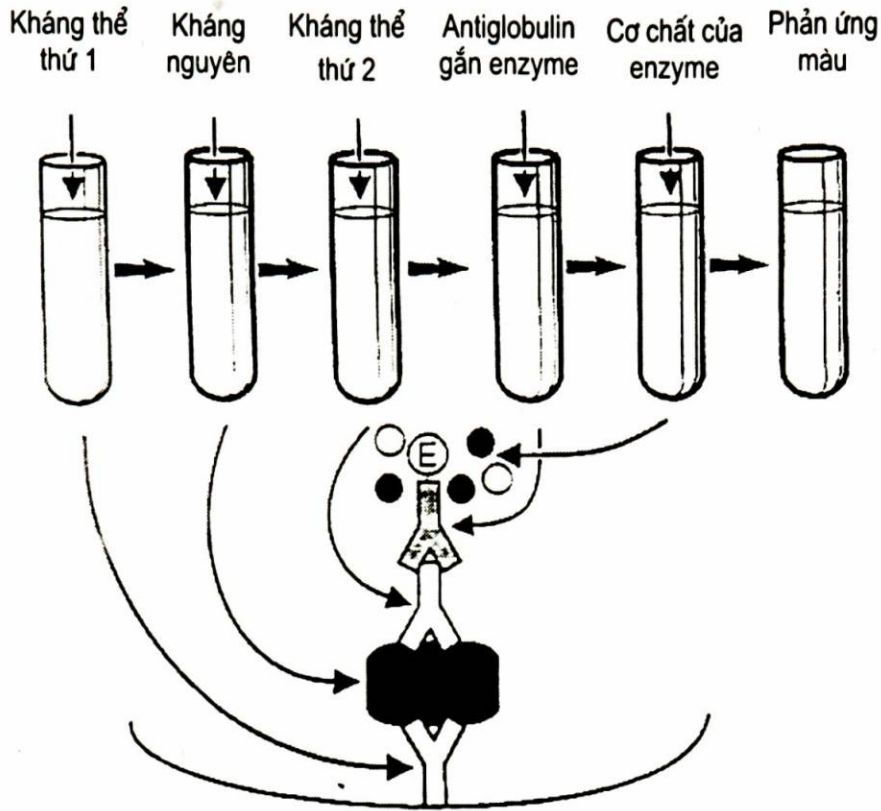


Hình 10.4. Phản ứng ELISA gián tiếp

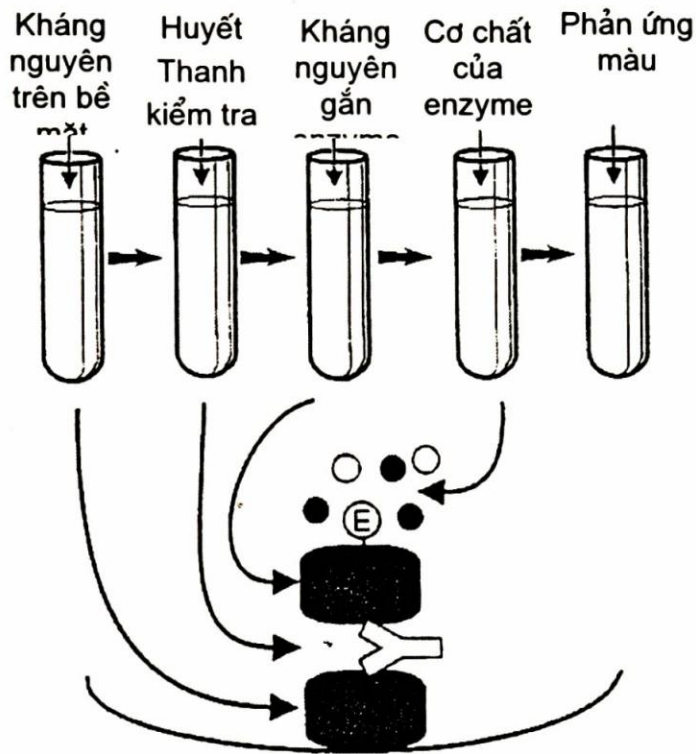
Các protein được gắn rất chắc vào polystyrene. Vì vậy, khi kháng nguyên không kết hợp bị loại bỏ sau khi rửa thì các lỗ vẫn còn được phủ một lớp kháng nguyên và được bảo quản cho đến khi cần. Huyết thanh cần kiểm tra được nhỏ vào lỗ để cho kháng thể trong huyết thanh kết hợp với kháng nguyên đã gắn ở đó. Sau khi ủ ấm đem rửa để loại bỏ kháng thể không kết hợp. Kháng thể kết hợp tại đó được xác định bằng cách bổ sung một kháng globulin gắn với enzyme. Cuối cùng thêm vào cơ chất phù hợp (cơ chất tương ứng bị phân giải bởi enzyme này) và đọc kết quả qua sự xuất hiện màu. Cường độ của màu xuất hiện tỷ lệ với lượng kháng thể kết hợp gắn với enzyme. Cường độ của màu xuất hiện có thể đánh giá bằng mắt thường hoặc tốt hơn nữa là bằng máy so màu.

Cải tiến phương pháp này, kỹ thuật ELISA sandwich đã được dùng để phát hiện kháng nguyên. Phản ứng này sử dụng các ống nghiệm polystyrene cùng với kháng thể đặc hiệu (kháng thể bắt giữ); sau đó bổ sung dung dịch kháng nguyên để kháng nguyên kết hợp với kháng thể bắt giữ, rồi lại bổ sung kháng thể đặc hiệu, cuối cùng thêm vào đó kháng globulin gắn enzyme và cơ chất như đã mô tả trong phản ứng ELISA gián tiếp (hình 10.5).

Trong phản ứng này cường độ của màu tương quan trực tiếp với lượng kháng thể kết hợp. Do loại phản ứng này có hình thành (cho phép xác định) các lớp kháng thể, kháng nguyên, kháng thể nên được gọi là phản ứng ELISA sandwich, thường dùng phát hiện virus trong tuần hoàn máu ở mèo bị bệnh tăng bạch cầu (leukemia). Phương pháp cải tiến khác là sử dụng bộ kit chẩn đoán. Kháng nguyên được gắn vào đĩa trước khi làm phản ứng. Kháng thể làm phản ứng được bổ sung tiếp, sau khi rửa bổ sung một kháng nguyên có đánh dấu. Kháng thể kết hợp với kháng nguyên đã đánh dấu được gắn trên đĩa (hình 10.6).



Hình 10.5. Phản ứng ELISA sandwich



Hình 10.6. Phản ứng ELISA bắt giữ kháng nguyên

Phản ứng ELISA cũng có thể được tiến hành như sử dụng một dụng cụ lọc mà dụng cụ lọc ấy được phủ kháng thể và dùng để phát hiện kháng nguyên. Kỹ thuật này thường sử dụng cho chẩn đoán virus tăng bạch cầu ở mèo và bệnh virus gây thiếu hụt miễn dịch ở mèo. Sự tiện lợi của kỹ thuật này là kháng thể gắn vào một phần của dụng cụ lọc, trong khi các phân đối chứng dương tính và âm tính có thể đặt tại những điểm khác trên dụng cụ đó. Đọc kết quả nhờ có các điểm bắt màu, so sánh với đối chứng dương tính và

âm tính ở bên cạnh. Phản ứng ELISA được sử dụng để kiểm tra các dịch nhiều hơn là kiểm tra máu, thí dụ kiểm tra virus gây tăng bạch cầu mềo trong nước bọt và nước mắt.

3. PHẢN ỨNG KẾT HỢP THỨ CẤP

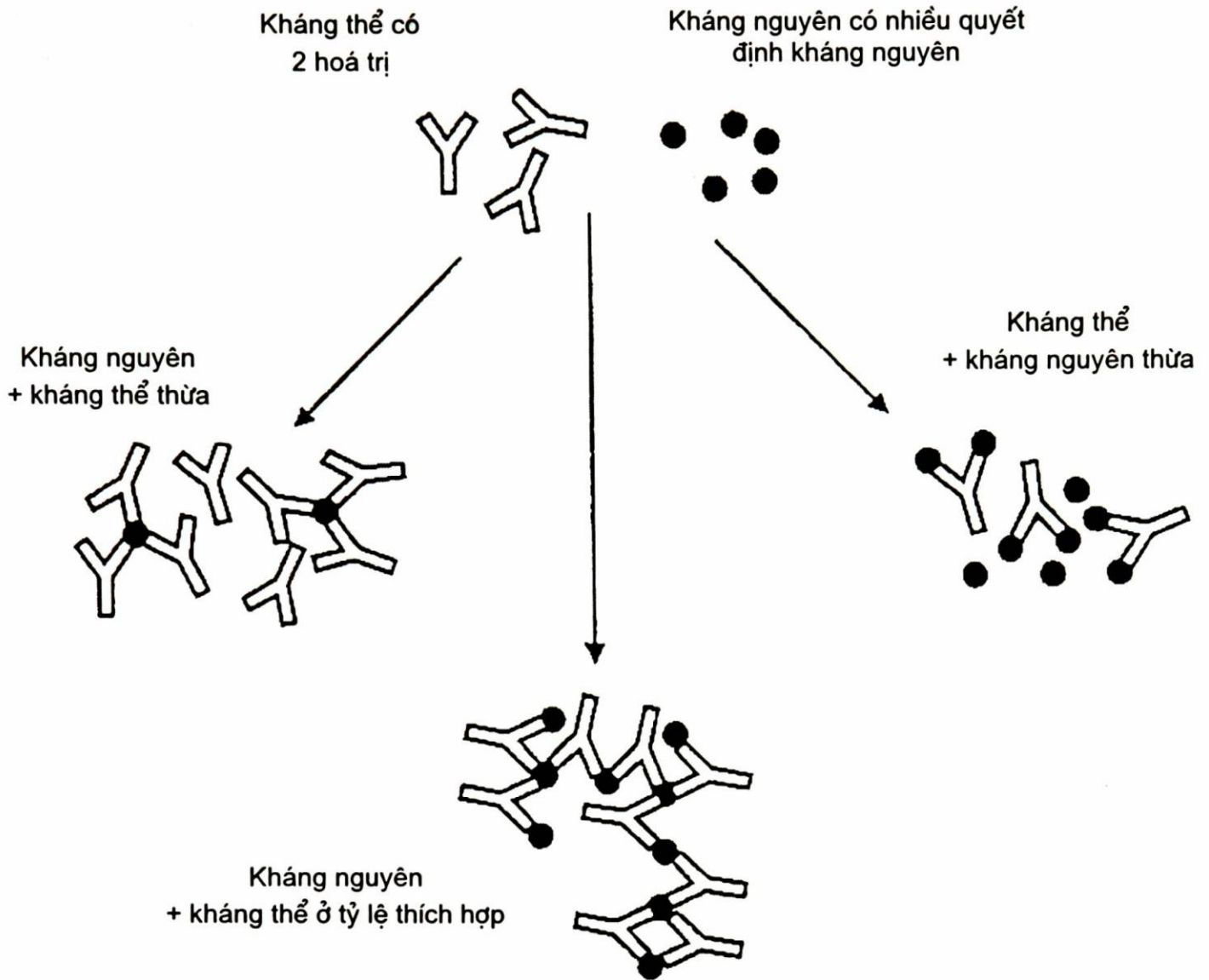
Phản ứng giữa kháng nguyên và kháng thể có thể có tiếp theo một phản ứng thứ cấp. Trong dung dịch, nếu kháng thể kết hợp với kháng nguyên có thể tạo nên ngưng kết. Khi kháng nguyên là những chất đặc biệt (thí dụ vi khuẩn hoặc tế bào máu...) thì kháng thể sẽ làm cho chúng cụm lại thành từng đám. Nếu kháng thể hoạt hoá bổ thể theo con đường cổ điển và kháng nguyên nằm trên mặt tế bào thì có thể dẫn đến sự dung giải tế bào.

3.1. Phản ứng kết tủa

Một dung dịch kháng nguyên hoà tan trộn lẫn với một kháng huyết thanh; vài phút sau trong dung dịch có vẩn, rồi các vẩn đó kết tủa lại và sau khoảng một giờ lắng xuống đáy ống nghiệm. Cụm ngưng kết đó chứa phức hợp kháng nguyên kháng thể. Dù lượng kháng nguyên tăng lên nhưng trộn lẫn với lượng kháng thể không đổi thì lượng kết tủa vẫn chỉ xảy ra với hàm lượng kháng nguyên-kháng thể tương đương nhau. Khi nồng độ kháng nguyên thấp hơn thì tạo kết tủa không rõ. Tăng dần kháng nguyên thấy lượng kết tủa cũng tăng dần và sự đồng biến ấy chỉ có khi kháng nguyên tăng đến một mức nào đó. Tiếp tục thêm kháng nguyên hơn nữa, kết tủa dần dần giảm xuống (hình 10.7).

Riêng ở ngựa thì khác, đó là hình thành cụm kết tủa rõ ở nồng độ kháng nguyên thấp bởi tính chất lớp phụ của IgG. Ở giai đoạn đầu của phản ứng này chỉ một lượng nhỏ kháng nguyên tạo phức với kháng thể và có rất ít kết tủa lắng xuống. Trong ống nghiệm, cả kháng nguyên và kháng thể tạo phức hoàn toàn, không còn thấy chúng trên bề mặt chất lỏng và do vậy có nhiều kết tủa. Đây chính là trạng thái cân bằng về tỷ lệ giữa kháng nguyên và kháng thể ở mức tối ưu. Khi thừa kháng nguyên, rất ít kết tủa được tạo thành, vẫn có phức hợp miễn dịch hoà tan và vẫn còn kháng nguyên tự do trên bề mặt chất lỏng.

Có những hiện tượng đó vì các kháng thể thường có hoá trị hai, một lần chỉ có thể liên kết chéo với hai quyết định kháng nguyên. Phức hợp kháng nguyên thường là đa hoá trị. Khi có kháng thể thừa, mỗi phân tử kháng nguyên được kháng thể bao phủ sẽ không thể liên kết chéo và như vậy ngăn cản kết tủa. Khi các chất phản ứng ở tỷ lệ thích hợp nhất, liên kết kháng nguyên - kháng thể hình thành nên các liên kết chéo, tạo nên một mạng lưới. Mạng lưới này không hoà tan và sẽ kết tủa. Trong hỗn hợp có kháng nguyên thừa, mỗi phân tử kháng thể kết hợp với hai phân tử kháng nguyên, không còn khả năng liên kết chéo tiếp tục, không thể tạo thành mạng lưới, các phức hợp này rất nhỏ có khả năng hoà tan nên không có kết tủa. Tế bào thực bào đơn nhân có khả năng thực bào và loại bỏ rất có hiệu quả các phức hợp trên khi kháng nguyên-kháng thể cân bằng nhau hoặc khi thừa kháng thể. Phức hợp miễn dịch nhỏ được tạo thành khi thừa kháng nguyên ít bị các tế bào thực bào loại bỏ, chúng lắng đọng lại trong thành mạch, trong các cuộn mao mạch và thường gây ra phản ứng quá mẫn.



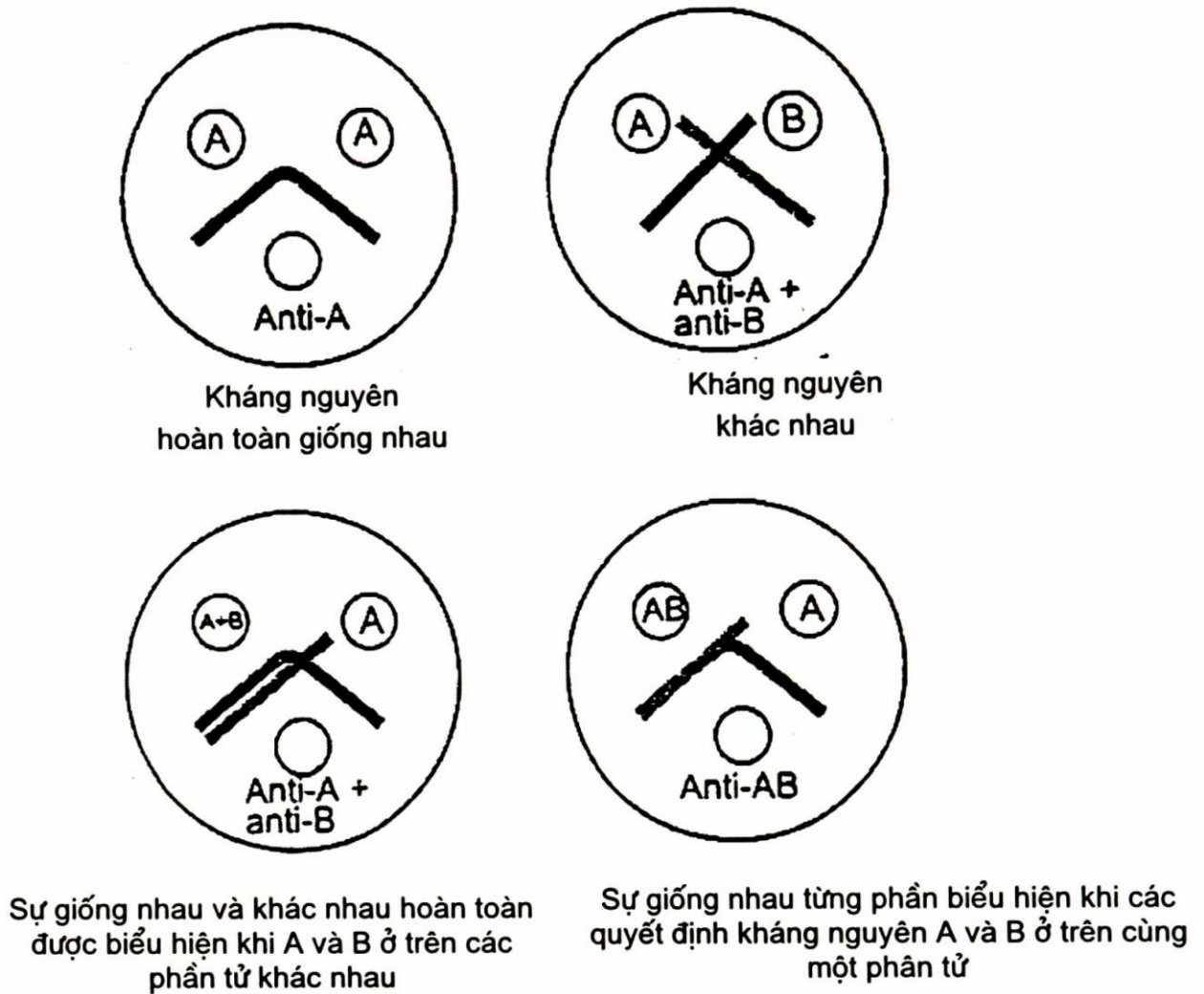
Hình 10.7. Phản ứng kết tủa

3.1.1. Phản ứng khuếch tán miễn dịch

Một phương pháp đơn giản chứng minh sự ngưng kết kháng nguyên kháng thể là phản ứng khuếch tán miễn dịch hay sự khuếch tán trên gel. Người ta tạo hai lỗ tròn có đường kính khoảng 5 mm, cách nhau khoảng 1cm trên lớp thạch. Một lỗ được đổ đầy kháng nguyên hoà tan, lỗ kia cho kháng huyết thanh; chất phản ứng sẽ khuếch tán ra xung quanh lỗ. Nơi các chất phản ứng gặp nhau ở tỷ lệ thích hợp nhất, một đường ngưng kết màu trắng đục sẽ xuất hiện. Nếu dung dịch có chứa lượng kháng nguyên và kháng thể khác nhau thì nơi có tỷ lệ thích hợp của mỗi thành phần sẽ ở trên những vị trí khác nhau. Do vậy sẽ có đường ngưng kết riêng và tách rời cho mỗi cặp kháng nguyên và kháng thể tương tác. Kỹ thuật này có thể sử dụng để xác định mối quan hệ giữa các kháng nguyên (hình 10.8).

Khi kháng nguyên được cho vào hai giếng và kháng thể được cho vào một giếng sẽ hình thành các đường thẳng giữa mỗi giếng kháng nguyên và giếng kháng thể. Nếu cả hai đường này nối lại thì có nghĩa là hai kháng nguyên đó giống nhau. Nếu như hai đường cắt chéo thì hai kháng nguyên hoàn toàn khác nhau. Nếu các đường này nhập lại hình thành như cựa gà thì có sự giống nhau từng phần và điều đó chứng tỏ có một số

quyết định kháng nguyên chỉ có trên kháng nguyên này mà không có trên kháng nguyên kia. Phản ứng Coggin là một phương pháp khuếch tán trên thạch được sử dụng để phát hiện kháng thể kháng virus gây bệnh thiếu máu ở ngựa. Trong phản ứng này kháng nguyên chiết xuất từ lách ngựa hoặc mô bào kết hợp với kháng thể trong huyết thanh sẽ tạo ra một đường kết tủa trên thạch. Phản ứng tương tự cũng được sử dụng để xác định các virus gây bệnh tăng bạch cầu ở bò.



Hình 10.8. Phản ứng miễn dịch khuếch tán trên thạch

3.1.2. Kỹ thuật miễn dịch khuếch tán lan toả

Nếu một dung dịch kháng nguyên khuếch tán vào trong thạch, trong đó có kháng huyết thanh đặc hiệu, một vòng nhẫn kết tủa sẽ được tạo thành xung quanh giếng kháng nguyên. Khu vực của vòng nhẫn này tương quan trực tiếp với lượng kháng nguyên trong giếng. Ta có thể tìm được một đường cong tiêu chuẩn khi sử dụng một lượng kháng nguyên đã biết và đem đối chiếu vòng nhẫn tạo ra bởi kháng nguyên chưa biết với đường cong này để xác định kháng nguyên mới.

3.1.3. Kỹ thuật điện di miễn dịch và các kỹ thuật tương tự

Dù các kỹ thuật khuếch tán trên thạch tạo ra một đường kết tủa riêng cho mỗi hệ thống kháng nguyên kháng thể trong hỗn hợp nhưng việc tách ra tất cả các thành phần trong hỗn hợp là một việc khó khăn.

Một kỹ thuật cũng trên nguyên lý này nhưng cho phép tách được các thành phần, đó là thực hiện tách phức hợp kháng nguyên bằng điện di trước khi thực hiện khuếch tán miễn dịch. Kỹ thuật này gọi là điện di miễn dịch, được sử dụng để xác định các protein trong dịch lỏng cơ thể. Kỹ thuật điện di miễn dịch đòi hỏi điện di phức hợp kháng nguyên trên thạch theo một hướng. Sau đó cắt trên thạch một đường lõm về một phía song song với đường của các protein tách ra. Kháng huyết thanh được đặt vào trong đường rãnh này và sau đó khuếch tán. Khi các kháng thể khuếch tán gặp kháng nguyên thì một đường cong kết tủa được tạo ra. Một vòng cung kết tủa hình thành cho mỗi một thành phần trong phức hợp kháng nguyên. Kỹ thuật này được sử dụng để xác định sự vắng mặt của một protein bình thường trong huyết thanh có thể xảy ra ở các động vật bị thiếu hụt bẩm sinh một số thành phần của bộ thể. Nó cũng được sử dụng để phát hiện số lượng của một thành phần vượt quá mức, thí dụ ở động vật bị u tuỷ. Nếu thay việc để khuếch tán thụ động vào thạch có chứa kháng huyết thanh như trong kỹ thuật khuếch tán lan toả, kháng nguyên được đưa vào trong thạch có chứa kháng huyết thanh bằng điện di, vòng nhẫn ngưng kết chung quanh lỗ sẽ biến dạng thành hình tên lửa. Chiều dài của rocket tỷ lệ với lượng kháng nguyên đưa vào trong mỗi lỗ và đó chính là kỹ thuật điện di hình tên lửa.

3.2. Phản ứng ngưng kết

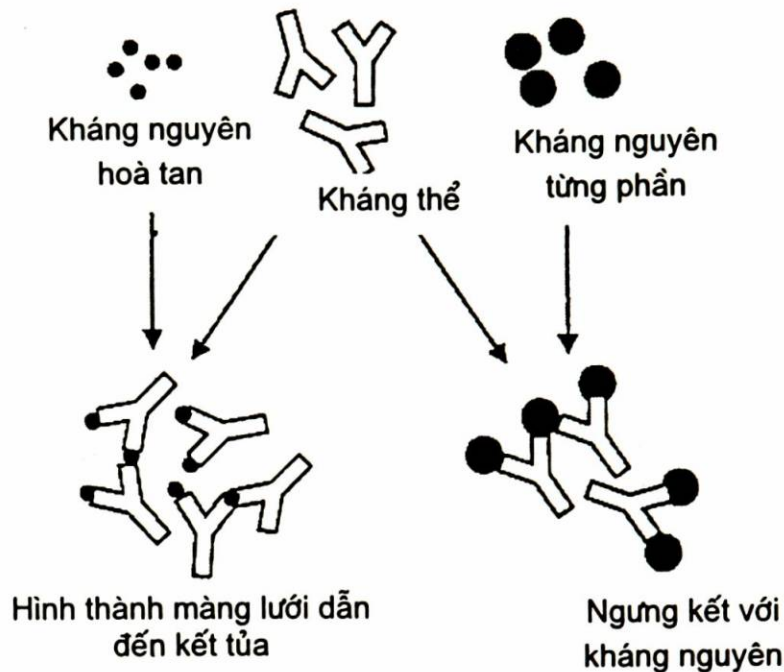
3.2.1. Phản ứng ngưng kết chủ động

Do có hoá trị hai nên kháng thể có thể ngưng kết chéo với các kháng nguyên, đặc biệt là vi khuẩn hoặc các hồng cầu lỵ và ngưng kết lại. Các kháng thể có khả năng gây ngưng kết khác nhau, thí dụ IgM gây ngưng kết tốt hơn IgG. Nếu thêm nhiều kháng thể vào huyền dịch kháng nguyên thì có thể là mỗi phân kháng nguyên được nhiều kháng thể bao phủ và phản ứng ngưng kết bị ức chế. Sự không phản ứng ở nồng độ kháng thể cao gọi là prozone. Nguyên nhân khác hình thành prozone là sự có mặt của các kháng thể không có khả năng gây ngưng kết. Kháng thể không gây ngưng kết cũng được gọi là kháng thể không hoàn toàn. Nguyên nhân của việc không có ngưng kết chưa hoàn toàn hiểu rõ. Có thể là các quyết định kháng nguyên gây phản ứng nằm sâu trong bề mặt lớp vỏ của tiểu phân kháng nguyên, sâu đến mức sự kết hợp chéo không thể xảy ra. Có ý kiến khác cho rằng chúng chỉ có khả năng di chuyển hạn chế trong vùng bản lề làm cho chúng chỉ có một hoá trị hoạt động.

3.3.2. Phản ứng ngưng kết thụ động

Do phản ứng ngưng kết nhạy hơn nhiều so với phản ứng kết tủa nên đôi khi người ta chuyển phản ứng kết tủa thành phản ứng ngưng kết có hiệu quả hơn. Quá trình này được thực hiện bằng cách gắn kháng nguyên hoà tan với các tiểu phân như hồng cầu, vi khuẩn hoặc các hạt chất dẻo. Hồng cầu là đối tượng tốt nhất sử dụng cho mục đích này; kỹ thuật sử dụng hồng cầu được kháng nguyên bao phủ gọi là phản ứng ngưng kết hồng cầu thụ động. Một kỹ thuật ngưng kết hồng cầu hiện đại được sử dụng là sử dụng kháng thể đơn dòng có hai chức năng. Kháng thể này được tạo ra bằng cách làm vỡ các liên kết giữa hai chuỗi nặng để cho hai nửa giống nhau được tạo thành. Sau đó hai nửa của các

globulin miễn dịch khác nhau lại được nối với nhau để tạo ra một phân tử có thể nối chéo hai quyết định kháng nguyên khác nhau. Thí dụ một kháng thể đơn dòng có hai chức năng có thể được sản xuất, ở đó một vị trí kết hợp kháng nguyên chống hồng cầu chó trong khi vị trí khác chống giun chỉ trưởng thành (*Dirofilaria immitis*) (hình 10.9).



Hình 10.9. Mối quan hệ giữa ngưng kết và kết tủa

Khi kháng thể này được trộn với toàn bộ máu của chó bị nhiễm giun chỉ thì nó kết hợp chéo kháng nguyên của giun chỉ với hồng cầu và phản ứng ngưng kết hồng cầu này có thể nhìn thấy rõ sau vài phút.

3.3. Phản ứng ngưng kết hồng cầu và ngăn ngưng kết hồng cầu

Một số virus có khả năng kết hợp và làm ngưng kết hồng cầu loài có vú và chim. Phản ứng ngưng kết hồng cầu do virus gây ra có thể sử dụng để xác định một virus chưa biết. Sự ngăn ngưng kết hồng cầu của virus có thể là phương pháp để xác định một virus hoặc nồng độ của kháng thể trong huyết thanh. Các virus gây ngưng kết hồng cầu bao gồm *Orthomyxovirus*, *Paramyxovirus*, *Alphavirus*, *Flavivirus*, *Bunyavirus*, cũng như một số *Adenovirus*, *Reovirus*, *Parvovirus* và *Coronavirus*. Ngoài ra còn có một số vi sinh vật khác như *Mycoplasma* (*Mycoplasma gallisepticum*).

3.4. Phản ứng kết hợp bổ thể

Hoạt hoá bổ thể theo con đường cổ điển do kháng thể kết hợp với kháng nguyên làm sản sinh một phức hợp tấn công màng tế bào có khả năng phá vỡ màng tế bào. Nếu kháng thể gắn với hồng cầu, hồng cầu có thể bị phá vỡ và phân giải. Phản ứng này được sử dụng để xác định hàm lượng kháng thể trong huyết thanh, gọi là phản ứng cố định bổ thể. Phản ứng cố định bổ thể được thực hiện theo hai phần, đầu tiên kháng nguyên và huyết thanh kiểm tra (đã loại bỏ bổ thể bằng cách đun nóng ở 56°C) được ủ ấm với huyết thanh chuột lang (huyết thanh chuột lang thường được sử dụng nhất vì bổ thể của nó dung giải hồng cầu cừu). Sau khi hỗn hợp kháng nguyên kháng thể phản ứng (cần sự tham gia của bổ thể), lượng bổ thể tự

do còn lại được xác định bằng một hệ thống chỉ thị (bao gồm hồng cầu cừu được bao phủ kháng thể). Nếu không có sự kết hợp kháng nguyên kháng thể, có nghĩa là hồng cầu không được sử dụng vào phức hợp ấy thì chúng sẽ tham gia vào phản ứng sau đó (kết hợp giữa hồng cầu cừu và kháng thể bao phủ) và các hồng cầu này bị ly giải (dung dịch trở nên đỏ trong) - đó là kết quả âm tính (thể hiện bổ thể không được hoạt hoá và như vậy kháng thể không có trong huyết thanh kiểm tra) (hình 10.10).

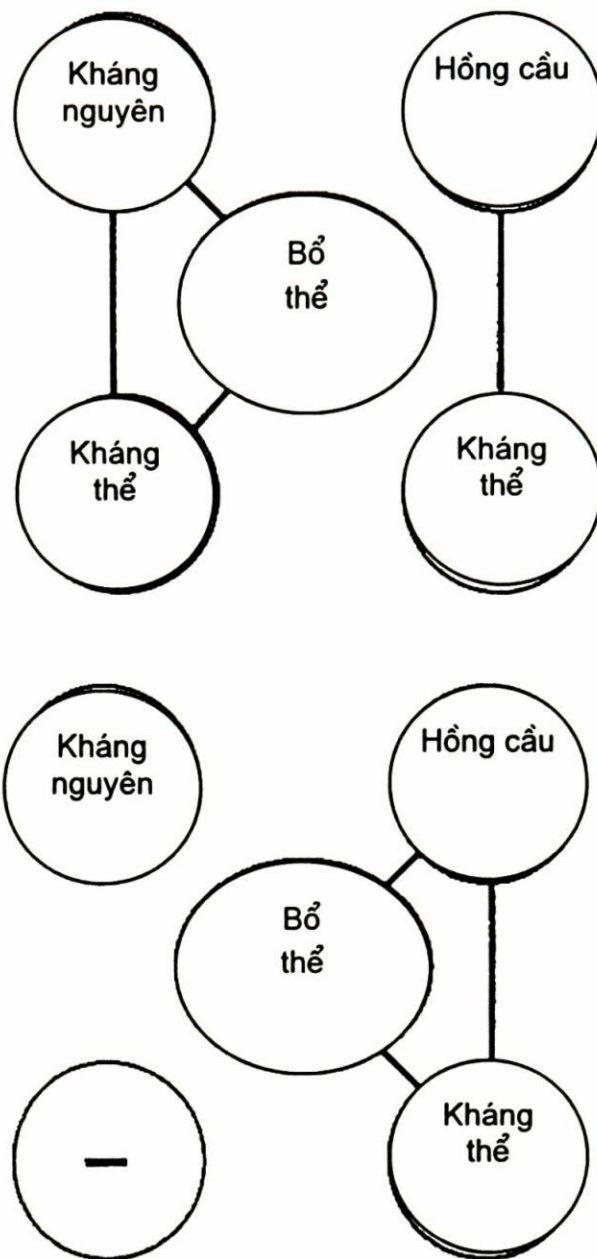
Không có dung giải (trong huyền dịch vẫn có hồng cầu) chứng tỏ có kháng thể - có nghĩa là kết quả dương tính vì có kết hợp kháng nguyên kháng thể và phức hợp này đã cố định bổ thể, vì vậy không còn bổ thể để sang hệ thống chỉ thị để dung giải hồng cầu.

3.5. Phản ứng ở cơ thể sống

Nếu một vi sinh vật hoặc kháng nguyên có hoạt tính sinh học, kháng thể có thể trung hoà hoạt tính này. Các hoạt tính sinh học đó bao gồm sự dung giải hồng cầu, sự phân giải các tế bào có nhân, khả năng gây bệnh hoặc tử vong cho động vật. Những phản ứng đó có xu hướng biến động theo liều lượng kháng nguyên hoặc vi sinh vật trên một giới hạn rộng và với mức độ rất khác nhau. Do vậy kết quả chỉ từ phản ứng trung hoà dương tính hoặc âm tính riêng lẻ thường không có ý nghĩa. Thí dụ 0,003 mg độc tố uốn ván có thể giết chết một số chuột thí nghiệm nhưng phải cần đến liều gấp năm liều này mới giết chết toàn bộ chuột trong nhóm đó. Còn liều thấp nhất của độc tố uốn ván có khả năng giết chết toàn bộ súc vật trong nhóm (liều gây chết tối thiểu- minimum lethal dose, MLD) thì lại rất khác nhau. Cũng rất khó xác định được liều cao nhất độc tố uốn ván không giết chết toàn bộ súc vật thí nghiệm. Phương pháp chính xác nhất để xác định liều gây chết của một độc tố là liều gây chết 50% của nhóm súc vật thí nghiệm (được gọi là LD_{50}). Cũng tương tự, liều bổ thể làm dung giải 50% huyền dịch hồng cầu được gọi là CH_{50} . Liều vi sinh vật gây nhiễm 50% súc vật là ID_{50} . Liều chỉ gây nhiễm 50% tế bào tổ chức là $TCID_{50}$ và liều kháng huyết thanh hoặc vaccine bảo vệ 50% súc vật được công cường độc gọi là PD_{50} .

Phản ứng trung hoà

Phản ứng trung hoà xác định khả năng của kháng thể trung hoà hoạt tính sinh học của một kháng nguyên khi chúng được trộn lẫn invitro. Các phản ứng này có thể được sử



Hình 10.10. Nguyên lý của phản ứng kết hợp bổ thể

dụng để xác định độc tố của vi khuẩn như độc tố của *Clostridium perfringens* hoặc của *Staphylococcus*.

Sau khi kháng thể đặc hiệu đã kết hợp và phong toả các vị trí gắn quan trọng trên tế bào thì sự xâm nhiễm của virus bị ức chế. Hiện tượng này là cơ sở của phản ứng trung hoà dùng để xác định virus chưa biết hoặc kháng thể chống virus đặc hiệu. Phản ứng trung hoà rất nhạy và rất đặc hiệu, kháng huyết thanh với coliphage T4 sẽ trung hoà tác dụng dung giải *Escherichia coli* do phage vì kháng thể phong toả receptor trên đuôi của phage nên ngăn cản phage gắn vào vi khuẩn. Một kháng thể đơn lẻ cũng đủ để gây ra tác dụng phong toả này và như vậy phản ứng trung hoà phage cho phép phát hiện một lượng rất nhỏ kháng thể (khoảng 0,00005 mg kháng thể).

4. ÁP DỤNG CÁC PHẢN ỨNG MIỄN DỊCH VÀO CHẨN ĐOÁN

Sự có mặt của kháng thể trong huyết thanh cho thấy đã có sự tiếp xúc trước đó với một quyết định kháng nguyên. Tuy nhiên điều đó không có nghĩa là có nhiễm khuẩn hoặc đã mắc bệnh do vi sinh vật có kháng nguyên đó. Một đáp ứng miễn dịch với vi sinh vật xâm nhập sẽ sinh kháng huyết thanh đặc hiệu. Kháng huyết thanh này chứa một tập hợp các kháng thể khác nhau. Tính đặc hiệu của kháng huyết thanh phản ánh rõ rệt tính đặc hiệu của quần thể kháng thể. Thí dụ, mặc dù huyết thanh của ngựa khoẻ mạnh nhất cũng có thể chứa các kháng thể kháng *Salmonella typhimurium* và điều đó không có nghĩa là phần lớn ngựa đã bị bệnh do *Salmonella*. Sự có mặt của các kháng thể đối với một vi sinh vật trong một mẫu huyết thanh đơn thường ít có ý nghĩa chẩn đoán. Khi ít nhất hai mẫu được lấy cách nhau 1 đến 3 tuần và hiệu giá kháng thể chống *Salmonella* tăng lên 4 lần thì mới có ý nghĩa chẩn đoán (và chẩn đoán cần kết hợp với các triệu chứng lâm sàng). Một điều cần quan tâm nữa là các kết quả của phản ứng huyết thanh có thể không đúng do sai sót về kỹ thuật hoặc có thể do sai từ các mẫu đối chứng trong chẩn đoán. Có thể có hai loại sai lệch, đó là kết quả dương tính giả hoặc âm tính giả. Một phản ứng trong đó có một tỷ lệ dương tính giả cao được xem là không đặc hiệu, còn một phản ứng có một tỷ lệ kết quả âm tính giả cao được xem là không nhạy. Người ta đã đưa ra tiêu chuẩn để xem xét mức độ các sai lệch giúp phân biệt các phản ứng dương tính với phản ứng âm tính. Nếu tiêu chuẩn này được điều chỉnh để cho số lượng các kết quả dương tính giả giảm xuống, sẽ gặp tỷ lệ các kết quả âm tính giả tăng lên và ngược lại. Như vậy các phản ứng có độ nhạy cao có khuynh hướng không đặc hiệu và các phản ứng đặc hiệu thường lại không nhạy. Xây dựng một tiêu chuẩn để đọc kết quả của phản ứng và từ đó xác định độ nhạy và độ đặc hiệu, kết quả dương tính và âm tính giả của phản ứng nhờ quy trình của phản ứng. Người ta mong muốn xây dựng một tiêu chuẩn để sử dụng cho đọc kết quả (trên cơ sở trong một phản ứng lý tưởng), bao gồm cả độ nhạy và đặc hiệu tuyệt đối. Tuy nhiên các phản ứng lý tưởng như vậy thường là không có. Sự tiện lợi hay không trong việc đọc kết quả hay đánh giá độ nhạy, mức độ đặc hiệu của mỗi phản ứng chẩn đoán miễn dịch thay đổi tùy theo yêu cầu riêng của người nghiên cứu, bản chất của kháng nguyên sử dụng, sự phức tạp, tính nhạy, tính đặc hiệu của mỗi phương pháp.

Chương 11

MIỄN DỊCH THỤ ĐỘNG VÀ MIỄN DỊCH CHỦ ĐỘNG

1. MIỄN DỊCH THỤ ĐỘNG

1.1. Khái niệm

Khi sinh ra, một động vật có vú vừa rời khỏi tử cung vô khuẩn là vào ngay một môi trường có nhiều vi sinh vật. Để bảo tồn sự sống, động vật sơ sinh phải có khả năng khống chế được sự xâm nhập của vi sinh vật trong một khoảng thời gian ngắn. Những loài có thời gian mang thai ngắn (như chuột...) thì hệ thống miễn dịch của bào thai có thể phát triển chưa đầy đủ. Những động vật có thời gian chữa dài (như nhiều gia súc) thì mặc dù hệ thống miễn dịch đã phát triển đầy đủ ở thời điểm sinh ra song nó lại không thể hoạt động được ở mức độ như của động vật trưởng thành trong vài tuần đầu. Nói chung, chúng cần được hỗ trợ trong việc bảo vệ bản thân ở giai đoạn này.

Sự hỗ trợ tạm thời được cung cấp từ mẹ là kháng thể và tế bào lympho T. Đây chính là miễn dịch thụ động tự nhiên.

Còn có miễn dịch thụ động nhân tạo, như khi truyền globulin hoặc tiêm kháng huyết thanh chẳng hạn.

1.2. Sự phát triển của hệ thống miễn dịch trong bào thai

1.2.1. Sự phát triển của hệ thống miễn dịch ở một số loài

Sự phát triển của hệ thống miễn dịch ở bào thai của động vật có vú theo một trình tự nhất định. Đầu tiên là tuyến ức và tiếp theo là các cơ quan lympho ngoại vi. Những tế bào có chứa globulin miễn dịch có mặt ngay sau khi lách và hạch lympho xuất hiện, nhưng kháng thể (nếu có) lại thường chỉ có ở giai đoạn muộn hơn trong đời sống của bào thai. Khả năng đáp ứng của bào thai với kháng nguyên phát triển rất nhanh sau khi các cơ quan lympho xuất hiện nhưng không phải tất cả các kháng nguyên có khả năng như nhau trong kích thích tổ chức lympho. Hệ thống miễn dịch hoàn thiện theo nhiều bước nhằm giúp cho bào thai đáp ứng với nhiều kháng nguyên hơn. Khả năng tăng đáp ứng miễn dịch tế bào cũng diễn ra cùng trong thời gian sản xuất kháng thể.

1.2.1.1. Bê

Hệ thống miễn dịch của bê phát triển sớm trong thời kỳ bào thai. Mặc dù thời gian có chứa của bò là 280 ngày, tuyến ức của của bào thai đã được hình thành ngay sau khi thụ thai 45 ngày. Tuỷ xương và lách xuất hiện vào tuổi thai được 55 ngày. Có hạch lympho khi thai 60 ngày nhưng các mảng payer chỉ đến ngày thứ 175 mới xuất hiện. Quan sát thấy tế bào lympho ở máu ngoại vi bào thai bê 45 ngày tuổi; tế bào lympho B IgM + vào ngày 59 và các tế bào lympho B IgG+ vào ngày 135. Thời điểm tìm thấy

kháng thể trong huyết thanh phụ thuộc vào độ nhạy của các kỹ thuật sử dụng. Phản ứng miễn dịch có thể phát hiện sớm nhất là các phản ứng chống virus (phản ứng trung hoà) có độ nhạy cao. Đã có báo cáo cho biết bào thai bê đáp ứng với *Rotavirus* khi chúng được 73 ngày và với *Parvovirus* khi 93 ngày. Tế bào lympho trong máu của bê có thể đáp ứng với các chất thực vật ngưng kết hồng cầu, concanavalin A (ConA) khoảng giữa ngày 75 và 80 nhưng khả năng này có tính chất tạm thời và mất đi vào lúc gần sinh do hàm lượng steroid cao trong huyết thanh.

1.2.1.2. Cừu

Thời gian chữa của cừu khoảng 145 ngày, tế bào có MHC lớp I dương tính có thể phát hiện được vào ngày 19 và tế bào có MHC lớp II dương tính vào ngày 25 của bào thai. Tuyến ức và hạch lympho có thể có vào ngày thứ 35 và 50 tương ứng sau thụ thai nhưng các mảng peyer chỉ xuất hiện vào lúc 60 ngày. Tế bào lympho trong máu bào thai cừu bắt đầu có vào ngày 32. Tế bào CD4+ và CD8+ xuất hiện trong tuyến ở ngày thứ 35 và 38 tương ứng. Có thể phát hiện globulin miễn dịch bề mặt vào ngày 45 và 50. Receptor C3 xuất hiện vào ngày 120 nhưng receptor của Fc thì chỉ xuất hiện khi động vật sinh ra. Tế bào lympho của gan bào thai có thể đáp ứng với chất ngưng kết hồng cầu của thực vật vào lúc 38 ngày. Cừu con có thể thải bỏ mảnh ghép ở ngày tuổi thứ 77, có thể sản xuất kháng thể chống phage T4 ở ngày 105, chống virus gây viêm đám rối màng mạch bạch huyết não ở ngày 140. Tỷ lệ tế bào T α/β và γ/δ rất khác nhau khi cừu trưởng thành. Như vậy vào thời điểm 1 tháng trước khi sinh có 18% tế bào lympho T trong máu là $\gamma/\delta+$; khoảng 1 tháng sau khi sinh tỷ lệ này lên tới 60%.

1.2.1.3. Lợn con

Thời gian chữa của lợn là 115 ngày. Tuyến ức phát triển sau khi thụ thai khoảng 40 ngày. Bào thai lợn có thể sản xuất kháng thể chống *Parvovirus* vào lúc 58 ngày tuổi và có khả năng thải bỏ mảnh ghép đồng loài gần như cùng thời gian. Các tế bào lympho trong máu có thể đáp ứng với mitogen ở khoảng giữa ngày thứ 48 và 54. Tế bào diệt tự nhiên chỉ phát triển sau khi sinh vài tuần. Số lượng tế bào lympho B trong máu tăng lên một cách đáng kể trong khoảng thời gian ngày thứ 70 và 80. Đáp ứng với kháng nguyên ở bào thai chủ yếu là IgM nhưng bào thai lợn và lợn sơ sinh cũng có thể sản xuất một lượng nhỏ globulin miễn dịch không có chuỗi nhẹ.

1.2.1.4. Ngựa

Thời gian chữa của ngựa khoảng 340 ngày. Các tế bào lympho đầu tiên xuất hiện ở tuyến ức vào khoảng ngày thứ 90, còn trong lách là vào ngày thứ 175. Tế bào lympho trong máu được hình thành ở thời điểm ngày thứ 90. Một số tương bào có thể quan sát thấy vào lúc 240 ngày. Hiện tượng thải ghép, một bệnh do đáp ứng miễn dịch tế bào gây ra, phát triển ở ngày thứ 79 của bào thai ngựa con thiếu hụt miễn dịch được cấy tổ chức. Bào thai ngựa con có thể đáp ứng miễn dịch với coliphage T2 vào lúc 200 ngày sau khi thụ thai và với virus gây viêm màng não ngựa Venezuela vào lúc 230 ngày tuổi (bằng một lượng IgM và IgG trong huyết thanh của chúng).

1.2.1.5. Chó con

Thời gian chữa của chó khoảng 60 ngày. Tuyến ức biệt hoá trong giai đoạn từ ngày thứ 23 đến ngày thứ 33. Tế bào lympho của máu đáp ứng với các chất thực vật ngưng kết hồng cầu vào ngày 45 sau khi thụ thai và những tế bào này có thể có trong hạch lympho khi tuổi thai 45- 50 ngày, trong lách khi tuổi thai 50-55 ngày. Khả năng thải bỏ mảnh ghép đồng loài xảy ra ở ngày tuổi 45 mặc dù quá trình thải bỏ mảnh ghép rất chậm. Trong giai đoạn này chó con có thể chịu dung nạp bằng cách tiêm kháng nguyên vào tử cung ở ngày tuổi thứ 42. Tế bào lympho T từ tuyến ức đi vào các cơ quan lympho ngoại vi và đáp ứng miễn dịch dịch thể ở chó phát triển rất chậm so với những loài gia súc khác.

1.2.1.6. Mèo con

Kết quả nghiên cứu về mèo con còn rất ít. Tế bào lympho B có thể phát hiện được trong gan bào thai 42 ngày tuổi. Bào thai mèo có thể sản xuất IgG và có thể phát hiện được trong huyết thanh của chúng trước khi bú sữa (tuy nhiên có thể đó là kháng thể truyền qua nhau thai).

1.2.1.7. Gà con

Tế bào nguồn có nguồn gốc từ màng lòng đỏ, di chuyển dưới ảnh hưởng của hướng động hoá học đến tuyến ức và túi fabricius trong khoảng ngày thứ 5 đến ngày thứ 7 của thời gian ấp trứng. Các tế bào đó biệt hoá trong tuyến fabricius và các nang trứng phát triển ở ngày tuổi thứ 12. Tế bào lympho có IgM bề mặt có thể được phát hiện trong túi fabricius vào lúc 14 ngày tuổi và kháng thể chống hồng cầu cừu có thể được sản xuất ở khoảng ngày ấp thứ 18; tế bào lympho có IgG bề mặt phát triển vào ngày 21 (khi trứng nở), trong khi các tế bào lympho có IgA đầu tiên thấy được trong ruột ở khoảng ngày thứ 3 đến 7 sau khi nở.

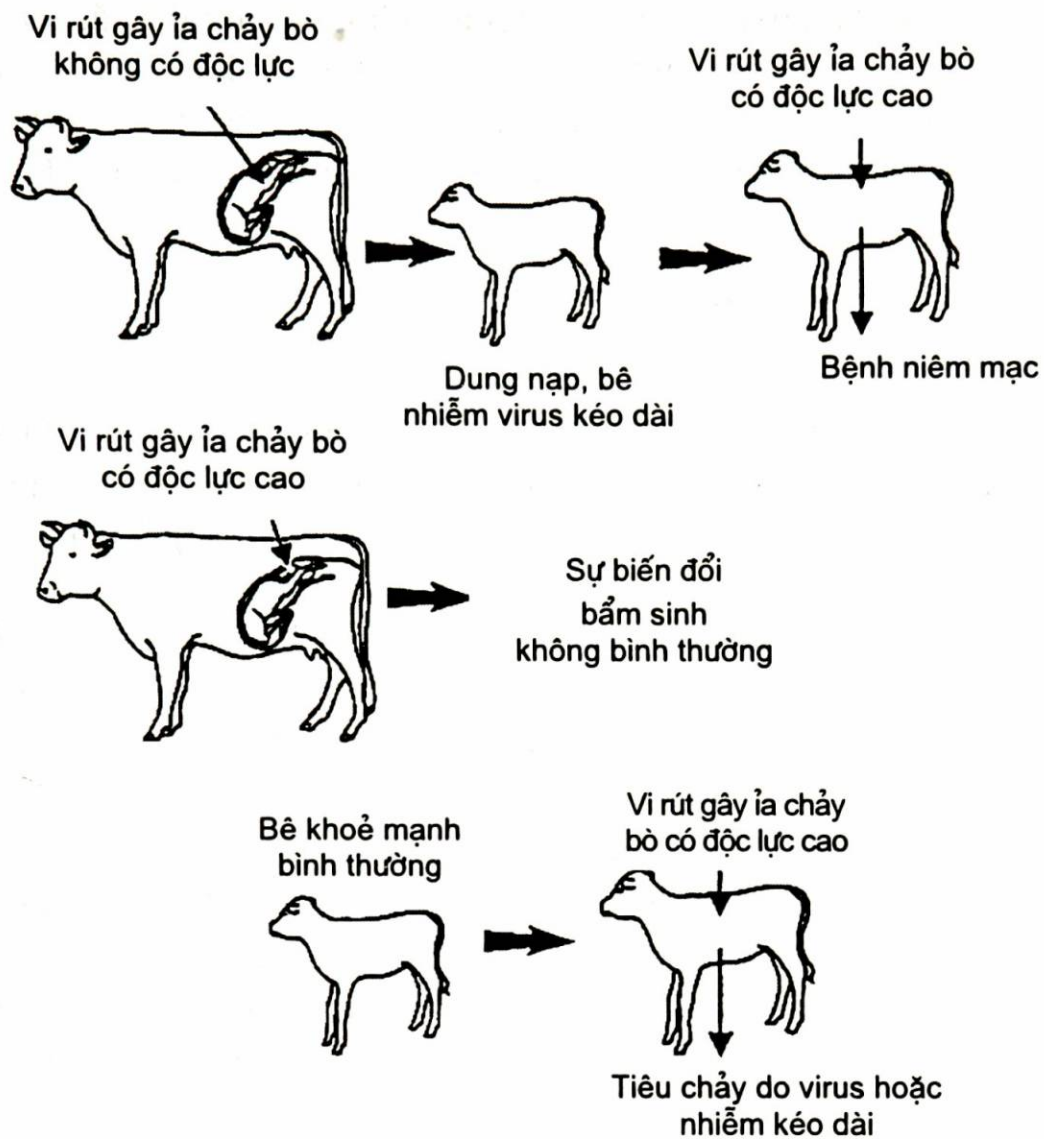
1.2.2. Sự phát triển khả năng thực bào

Khi bào thai lợn ở ngày tuổi 87 đến 90, bạch cầu có khả năng thực bào đầy đủ với các mầm bệnh (như *Staphylococcus aureus*) nhưng chưa có tác dụng diệt khuẩn mà chỉ đạt tới mức độ này như ở con trưởng thành khi chúng 100 ngày tuổi. Gần thời điểm con vật được sinh ra, khả năng thực bào và diệt khuẩn của bạch cầu giảm xuống do tăng hàm lượng glucocorticoid ở bào thai. Sau khi sinh, đại thực bào ức chế các đáp ứng hướng động hoá học và có khả năng hỗ trợ cho sự sinh trưởng của một số virus. Hiện tượng này không có ở động vật trưởng thành. Dần dần chúng thu được tác dụng diệt virus, mặc dù quá trình này dường như chịu ảnh hưởng của tuyến ức. Đại thực bào ở chuột cát bỏ tuyến ức không thu được khả năng này có thể là do thiếu hụt IFN- γ . Động vật sơ sinh cũng thiếu một số thành phần bổ thể dẫn đến tác dụng opsonin hoá kém nên tăng sự miễn cảm với sự nhiễm khuẩn. Sự vận động của bạch cầu trung tính ở ngựa con khác với con mẹ, song tác dụng thực bào và diệt khuẩn của tế bào này ở bào thai không khác ở ngựa

cái trưởng thành. Ngựa vừa sinh ra có rất ít đại thực bào ở mạch quản phổi nhưng trong những ngày sau đó bạch cầu đơn nhân trong máu dính vào tế bào nội mô của mao quản phổi và biệt hoá thành đại thực bào. Như vậy ở lợn sơ sinh phần lớn các phân tử lạ (75%) được loại từ máu vào gan và lách; khi 2 tháng tuổi thì 75% được thực hiện ở phổi. Đại thực bào phế nang của lợn sơ sinh có tác dụng thực bào kém nhưng tác dụng này đạt được cần thiết khi lợn được 7 ngày tuổi.

1.2.3. Sự phát triển của hệ thống miễn dịch và sự nhiễm khuẩn trong tử cung

Bào thai có khả năng chống nhiễm khuẩn kém hơn động vật trưởng thành. Người ta đã chứng minh rằng tổ chức lấy ở bào thai bê 95 ngày tuổi sản xuất interferon α và β với lượng tương tự các tổ chức của bê trưởng thành, còn lượng interferon γ thì ít hơn. Do vậy có một số bệnh có thể nhẹ hoặc biểu hiện không rõ ở con mẹ lại biểu hiện nặng hoặc nguy hiểm ở bào thai (thí dụ như bệnh viêm mũi khí quản truyền nhiễm ở bò (do *bovine herpes virus - BHV-1*), virus gây tiêu chảy ở bò (*bovine virus diarrhea-BHV*), bệnh sởi Đức (*Rubella*) ở người và bệnh nhiễm nguyên sinh động vật (*Toxoplasma*). Nhiễm bệnh trong thời kỳ bào thai thường dẫn đến tăng sản tế bào lympho và tăng lượng globulin miễn dịch, chính vì lẽ đó mà sự có mặt ở mức độ đáng kể các globulin miễn dịch ở động vật sơ sinh chưa bú sữa là chỉ số biểu hiện sự kích thích của kháng nguyên trong tử cung. Nói chung, sự đáp ứng với các vi sinh vật được xác định ở mức độ của các globulin miễn dịch trong bào thai. Thí dụ lợn con bị nhiễm virus trước ngày thứ 55 của thời kỳ mang thai thường bị sẩy thai và thai gổ, nhưng nếu nhiễm sau 72 ngày chữa thì thường có kháng thể cao với *Parvovirus* và sống sót. Bê nhiễm virus gây tiêu chảy bò trước khi sinh thì hay bị bệnh nặng, ngược lại nếu bị nhiễm sau khi sinh thì bệnh thường nhẹ. Nếu bê bị nhiễm virus gây tiêu chảy ở khoảng thời gian ngày thứ 125 đến 180 khi mang thai thì có thể làm chết bào thai do thai bị biến đổi nặng (như tiểu não kém phát triển, tổn thương mắt bao gồm teo võng mạc, viêm dây thần kinh thị giác, loạn sản võng mạc, tuyến ức không phát triển hoặc phát triển kém, myeline của tuỷ sống phát triển không bình thường). Tổn thương khác do nhiễm virus gây tiêu chảy bò có thể là: xương hàm dưới ngắn, teo nhỏ. Khi bào thai bê khoảng 100-120 ngày tuổi nhiễm virus gây tiêu chảy bê type không gây độc tế bào có thể dẫn đến nhiễm virus dai dẳng do bê có sự dung nạp với virus. Những bê này bị nhiễm virus huyết nhưng do trạng thái dung nạp nên không có kháng thể chống virus. Chúng thải virus qua chất thải của cơ thể. Có thể có kháng thể trung hoà sau khi gây miễn dịch bằng vaccine sống (dù serotype khác với serotype của virus nhiễm kéo dài này). Dù tiêm vaccine nhưng virus ban đầu vẫn tồn tại dai dẳng làm những con bê đó lớn chậm và thường chết do nhiễm khuẩn như viêm phổi trước khi trưởng thành. Virus gây tiêu chảy bò thường có ái lực với tế bào lympho và ức chế sự đáp ứng đối với mitogen. Chúng cũng phong toả chức năng thực bào và diệt khuẩn của bạch cầu trung tính. Khi bê bình thường nhiễm chủng virus gây tiêu chảy bò không gây độc thì chúng sẽ bị mắc ở thể á cấp tính hoặc tiêu chảy do virus (hình 11.1).



Hình 11.1. Mối quan hệ giữa nhiễm virus gây tiêu chảy ở bò kéo dài cùng với nhiễm virus gây tiêu chảy ở bò dung nạp miễn dịch

Còn nếu bê nhiễm dai dẳng type gây độc tế bào thì sẽ có viêm niêm mạc và có khi con vật chết do tổn thương niêm mạc cấp tính; có thể phân lập được cả virus gây độc và không gây độc tại đây. Ngoài tổn thương tại niêm mạc được xem là do tác dụng gây độc trực tiếp của virus gây tiêu chảy bò còn bị các tổn thương viêm cầu thận... do phức hợp miễn dịch gây ra. Nguồn nhiễm thứ phát vi khuẩn gây tiêu chảy bò có thể do gia súc khác bị nhiễm mới, cũng có thể do tiêm vaccine sống, hoặc cũng có thể do đột biến virus ở con vật bị nhiễm virus kéo dài. Do bê bị nhiễm dai dẳng đến lúc trưởng thành và rồi chúng lại nhân giống nên tình trạng nhiễm virus có thể tồn tại dai dẳng, đến cả đời sau; những bê đó trở thành bê lành mang trùng. Nghiên cứu về dịch tễ học cho thấy 0,4 - 1,7% bò ở Mỹ bị nhiễm virus như vậy.

1.3. Đáp ứng miễn dịch ở động vật sơ sinh

Từ môi trường vô trùng trong tử cung bước ra môi trường có nhiều vi sinh vật, các gia súc non có khả năng tạo đáp ứng miễn dịch ngay từ lúc mới sinh. Tuy nhiên, bất kỳ đáp ứng miễn dịch nào được gia súc non tạo ra cũng là một đáp ứng sơ cấp, cần có thời gian dài cho việc hình thành kháng thể, đồng thời hàm lượng kháng thể được tạo ra vẫn

còn thấp. Vì vậy nếu không được cung cấp miễn dịch hỗ trợ thì gia súc sơ sinh có thể bị chết do vi sinh vật, ngay cả với những vi sinh vật ít nguy hiểm cho động vật trưởng thành. Sự hỗ trợ miễn dịch này được con mẹ cung cấp thông qua sữa đầu. Các tế bào lympho cũng có thể được truyền cho bào thai qua nhau thai hoặc cho động vật sơ sinh thông qua sữa đầu.

1.3.1. Sự truyền miễn dịch từ con mẹ cho con con

1.3.1.1. Sự truyền miễn dịch cho bào thai

Đường truyền kháng thể của con mẹ cho bào thai do cấu trúc của nhau thai quyết định. Ở người và linh trưởng, do cấu trúc của nhau thai, máu của con mẹ và con con tiếp xúc trực tiếp với lá nuôi. Loại nhau thai như vậy cho phép IgG mà không cho phép IgA hoặc IgE chuyển qua bào thai. IgG đi vào máu của bào thai và con sơ sinh có thể có lượng IgG tương đương với con mẹ. Nhau thai của chó và mèo có tế bào biểu mô của màng đệm tiếp xúc với nội mô mao quản của con mẹ. Trong các loài này chỉ một lượng nhỏ IgG (5-10%) có thể truyền từ con mẹ cho con con, phần lớn được truyền qua sữa đầu.

Biểu mô của màng đệm nhau thai loài nhai lại tiếp xúc trực tiếp với các tổ chức của tử cung, còn lợn và ngựa có tế bào biểu mô của nhau thai và tế bào biểu mô màng đệm nhau thai của con con tiếp xúc với tế bào biểu mô nguyên vẹn của tử cung. Trong trường hợp này thì đường chuyển globulin miễn dịch hoàn toàn bị trở ngại, động vật sơ sinh của các loài đó phải hoàn toàn trông đợi vào kháng thể được tiếp nhận từ sữa đầu.

1.3.1.2. Sự tiết sữa, sữa đầu, thành phần của sữa và sữa đầu

Sữa đầu do tuyến vú tiết ra và sự tiết này sẽ tăng lên ở vài tuần cuối của thời kỳ có thai dưới ảnh hưởng của estrogen và progesterone, giàu IgG và IgA nhưng cũng chứa cả IgM và IgE. Globulin miễn dịch chiếm ưu thế trong sữa đầu của phần lớn các gia súc là IgG (chiếm khoảng 65 -90% toàn bộ lượng kháng thể). IgA và các globulin miễn dịch khác thường có ít nhưng cũng là thành phần rất quan trọng. Trong quá trình tiết sữa, ở giai đoạn sau, sữa đầu chuyển thành sữa và có sự khác nhau về tỷ lệ các Ig trong sữa giữa các loài. Trong sữa đầu và sữa của linh trưởng và người, IgA chiếm ưu thế. Còn ở lợn và ngựa, IgG chiếm ưu thế trong sữa đầu nhưng giảm xuống nhanh khi quá trình tiết sữa tiếp tục. Ở loài nhai lại, IgG1 là lớp globulin miễn dịch chiếm ưu thế trong cả sữa và sữa đầu. Tất cả IgG, phần lớn IgM và khoảng 50% IgA trong sữa đầu của bò có nguồn gốc từ huyết thanh. Ngược lại, trong sữa chỉ 30% IgG và 10% IgA có nguồn gốc này. Phần còn lại của các Ig được sản xuất tại vú. Sữa đầu cũng chứa thành phần tiết của IgA (cả dạng tự do và dạng kết hợp).

1.3.2. Hấp thu sữa đầu

Sau khi sinh, gia súc non sớm bú sữa rồi sữa này được hấp thu trong ruột non. Bê bú sữa tự nhiên tiêu hoá trung bình khoảng 2 lít sữa đầu, một số con có thể tiêu hoá đến 6 lít. Trong những gia súc non này mức độ hoạt động phân giải protein trong đường tiêu hoá rất thấp và sau đó lại bị giảm hơn nữa do chất ức chế trypsin trong sữa đầu, vì vậy

các protein của sữa đầu không bị giáng hoá và được sử dụng làm thức ăn, đến ruột non nguyên vẹn. Globulin của sữa đầu gắn với receptor Fc chuyên biệt trên tế bào biểu mô ruột của động vật sơ sinh. Receptor này là chuỗi peptide đôi không đồng nhất của MHC lớp Ib chứa một chuỗi lớn microglobulin α và β_2 . Receptor của Fc có ở tất cả các động vật có vú và rất giống receptor Fc ở túi lòng đỏ của gà. Khi gắn vào receptor của Fc, globulin miễn dịch được tế bào biểu mô thu nhận thông qua ẩm bào và chuyển qua những tế bào này vào trong ống dẫn dưỡng chấp hoặc cũng có thể vào mao quản ruột. Cuối cùng các globulin miễn dịch được hấp thu, đến hệ thống tuần hoàn và như vậy gia súc sơ sinh đã nhận được globulin miễn dịch được truyền từ con mẹ. Với những gia súc khác nhau, thời gian hấp thu và sự chọn lọc tại ruột là rất khác nhau. Ở ngựa và lợn, sự hấp thu protein có chọn lọc; IgM và IgG được ưu tiên hấp thu, IgA được giữ lại trong ruột. Ở loài nhai lại, ruột không có khả năng chọn lọc mà tất cả immunoglobulin được hấp thu rồi IgA dần dần được loại thải. Lợn con và có thể các động vật non khác có chứa một lượng lớn thành phần tiết tự do trong ruột, IgA và IgM (ở mức độ thấp hơn trong sữa đầu) có thể gắn với thành phần tiết, dẫn đến ức chế hấp thu. Thời gian ruột có thể hấp thu protein là khác nhau giữa các loài và các lớp. Nói chung, khả năng hấp thu cao nhất là ngay sau khi sinh rồi giảm xuống sau khoảng 6 giờ, điều đó có thể do tế bào ruột hấp thu immunoglobulin dần được thay thế nhiều hơn bởi quần thể những tế bào trưởng thành. Khoảng thời gian hấp thu dài hay ngắn là vấn đề còn chưa được thống nhất giữa các tác giả nghiên cứu. Thông thường tất cả các lớp immunoglobulin sẽ giảm xuống tương đối thấp sau khoảng 24 giờ. Sữa đầu ăn vào được hấp thu nhanh, nếu cho ăn sữa đầu muộn thì thời gian hấp thu kéo dài hơn. Được cho ăn cùng một lượng như nhau nhưng khi có mặt con mẹ thì bê hấp thu immunoglobulin tốt hơn. Những động vật không bú sữa thường có một hàm lượng immunoglobulin vô cùng thấp trong huyết thanh. Sự hấp thu immunoglobulin đạt được kết quả tốt ngay sau khi cung cấp immunoglobulin huyết thanh cho chúng (đặc biệt là IgG) với mức độ xấp xỉ mức độ ở con vật trưởng thành. Do bản chất của quá trình hấp thu, hàm lượng immunoglobulin đạt tới mức cao nhất thường ở thời điểm 12-24 giờ sau khi sinh. Sau khi sự hấp thu ngừng lại, các kháng thể thụ động thu được sẽ giảm xuống qua việc trao đổi chất thông thường. Tốc độ giảm này có sự khác nhau giữa các lớp immunoglobulin và phụ thuộc vào nồng độ immunoglobulin ban đầu. Khi sự hấp thu ở ruột diễn ra thì đồng thời có thể có protein niệu do các protein (như β lactoglobulin và polypeptide) chỉ được hấp thu với một lượng rất ít rồi được thải trừ qua nước tiểu. Ngoài ra cầu thận của động vật sơ sinh có khả năng cho qua những phân tử lớn nên nước tiểu của động vật sơ sinh loài nhai lại cũng có các phân tử immunoglobulin nguyên vẹn. Hiện tượng protein niệu sẽ tự kết thúc cùng với sự kết thúc của quá trình hấp thu ở ruột. Tuyến sữa dần dần chuyển từ tiết sữa đầu sang tiết sữa. Sữa ở loài nhai lại rất giàu cả IgG1 và IgA, còn ở loài không nhai lại giàu IgA. Trong những tuần đầu sau khi sinh, khi sự tiêu hoá protein còn kém, các immunoglobulin này có thể có mặt trên khắp chiều dài của ruột và trong phân của gia súc non. Khi khả năng tiêu hoá của ruột tăng lên, chỉ còn phân tử IgA nguyên vẹn được thải ra. Chính điều này giúp cho IgA là yếu tố quan trọng nhất chống nhiễm khuẩn tại

ruột. Lượng IgA trong ruột có thể khá lớn, thí dụ lợn con 3 tuần tuổi nhận được 1,6 g hàng ngày từ sữa lợn mẹ.

1.4. Những nguyên nhân ảnh hưởng tới sự truyền kháng thể từ mẹ sang con

1.4.1. Nguyên nhân

IgG có trong sữa đầu giúp động vật non chống nhiễm khuẩn huyết. IgA hoặc IgG trong sữa cũng cần thiết để bảo vệ con vật chống bệnh đường ruột. Không có cả hai yếu tố này sẽ ảnh hưởng đến sự đề kháng của động vật non với vi sinh vật. Ngoài ra còn có những hiện tượng chưa được hiểu rõ như cừu con không được sử dụng sữa đầu sẽ bị giảm bạch cầu trung tính và bạch cầu trung tính cũng không đủ khả năng thực bào như bạch cầu trung tính ở động vật được nuôi bằng sữa đầu. Đáp ứng viêm ở những động vật này bị ức chế. Có ba nguyên nhân chính làm cho sự truyền sữa đầu không đủ:

Thứ nhất là con mẹ sản xuất không đủ sữa đầu hoặc sản xuất sữa đầu có chất lượng kém.

Thứ hai, sữa đầu sản xuất đủ nhưng động vật sơ sinh không thu nhận đủ.

Thứ ba, có thể không hấp thu được sữa đầu ở ruột non mặc dù con vật thu nhận đủ.

1.4.1.1. Không sản xuất được sữa đầu

Do tuyến vú đã tiết sữa đầu từ trong giai đoạn cuối của thời kỳ có thai hoặc do đẻ non mà có thể tiết sữa đầu không đủ cho con sử dụng. Việc tiết sữa đầu đủ chất lượng cũng có thể mất đi ở những động vật tiết sữa quá sớm khi còn chưa đủ độ trưởng thành hoặc tiết sữa nhỏ giọt quá mức của tuyến vú trước khi sinh.

1.4.1.2. Không tiêu hóa được sữa đầu

Có thể thấy ở cừu và lợn đẻ nhiều con tuy có tăng lượng sữa đầu sản xuất ra nhưng không đủ số lượng cho con con. Hoặc có thể do nuôi con kém, một hiện tượng thường có ở những con mẹ tuổi còn non chưa có kinh nghiệm nuôi con. Cũng có thể do con yếu, bú sữa kém hoặc do vấn đề khác như đầu vú con mẹ tổn thương hoặc hàm con con bị khuyết tật.

1.4.1.3. Không hấp thu được sữa đầu

Không hấp thu được sữa đầu tại ruột non là nguyên nhân chủ yếu ở bất kỳ loài nào. Ngay cả khi nuôi dưỡng tốt, khoảng 25% ngựa con sơ sinh vẫn không hấp thu đủ số lượng globulin miễn dịch. Ngựa con cần ít nhất 400mg/dl IgG trong huyết thanh để đảm bảo khả năng bảo vệ, nếu thấp hơn mức này thì nguy cơ bị nhiễm khuẩn sẽ tăng lên. Khi hàm lượng IgG không đạt được 200mg/dl thì con vật dễ bị nhiễm khuẩn nặng.

1.4.2. Chẩn đoán xác định không truyền được miễn dịch thụ động

Chỉ có thể đánh giá hiệu quả sự truyền miễn dịch thụ động ở thời điểm 18h sau khi sinh, lúc mà sự hấp thu kháng thể chủ yếu đã hoàn thành ở con vật non. Có nhiều kỹ thuật khác nhau để kiểm tra globulin miễn dịch nhưng tiết kiệm nhất là phương pháp đo độ đục bằng sulfate kẽm. Sulfate kẽm trộn với huyết thanh ngựa con sẽ làm globulin

ngưng kết và kết quả có thể đọc được bằng mắt thường hoặc bằng máy so màu. Khi miễn dịch từ sữa đầu hoàn toàn không được truyền thì hỗn hợp phản ứng vẫn giữ nguyên độ trong. Khi huyết thanh có hàm lượng globulin miễn dịch lớn hơn 400mg IgG, sulfate kẽm làm kết tủa globulin miễn dịch và hỗn hợp trở nên đục. Độ đục tối ưu của hỗn hợp được đọc bằng máy so màu. Có một số kỹ thuật khác cũng tương tự như phản ứng ngưng kết bằng cách sử dụng natri sulfite và glutaraldehyde.

Phản ứng khuếch tán miễn dịch phóng xạ là phương pháp chính xác hơn cả về mức độ đặc hiệu và cho phép định lượng được IgG. Huyết thanh kiểm tra được so sánh với tiêu chuẩn bằng cách đo đường kính kết tủa được tạo ra trên gel thạch có chứa kháng huyết thanh đặc hiệu kháng IgG của ngựa. Khi hàm lượng IgG dưới 200mg/dl phản ánh tình trạng ngựa con thiếu khả năng được truyền kháng thể thụ động; hàm lượng IgG nằm trong khoảng 200-400mg/dl thể hiện tình trạng thiếu một phần khả năng này. Song phương pháp có nhược điểm là giá thành đắt và phải mất 18-24h mới có kết quả.

Phương pháp thứ ba xác định hàm lượng IgG là sử dụng phản ứng kết tủa có các hạt chất dẻo. Hạt chất dẻo được bao phủ bằng kháng IgG của ngựa. Khi có mặt IgG chúng kết tủa lại. Phản ứng được hoàn tất sau khoảng 10 phút, có thể sử dụng máu mà không nhất thiết phải sử dụng huyết thanh ngựa. Kỹ thuật ELISA cũng được dùng để xác định IgG trong huyết thanh ngựa con. Kết quả được xác định bằng việc so cường độ màu trong phản ứng của huyết thanh kiểm tra với cường độ màu trong phản ứng với immunoglobulin chuẩn.

1.4.3. Điều trị triệu chứng không truyền được kháng thể thụ động

Nói chung khi ngựa con có hàm lượng immunoglobulin/400mg/dl thì khoẻ mạnh, không cần điều trị. Ngựa con trên ba tuần tuổi có hàm lượng immunoglobulin khoảng 200-400mg/dl cũng có thể vẫn khoẻ mạnh song cần được theo dõi cẩn thận và điều trị bằng kháng sinh ngay khi xuất hiện các triệu chứng nhiễm khuẩn đầu tiên. Cần điều trị cho bất kỳ ngựa con nào mất khả năng được truyền miễn dịch thụ động hoàn toàn hoặc ngựa con dưới ba tuần tuổi có một phần không được truyền kháng thể thụ động. Nếu ngựa con dưới 5h tuổi bị thiếu hụt miễn dịch một phần thì cần điều trị bằng cách cho uống sữa đầu. Dùng 2-3 lít sữa đầu, cho uống bằng chai hoặc ống thông dạ dày, chia thành 3-4 liều cách nhau một giờ. Sữa đầu này không được phép có kháng thể chống hồng cầu ngựa, thường được lấy từ ngựa cái ở độ tuổi cao hơn độ tuổi ngựa có khả năng tiết sữa đầu; bảo quản trong đông lạnh (-15 đến 20°C) và dùng dần được khoảng một năm. Nếu sữa đầu dự trữ không có sẵn, có thể sử dụng sữa đầu tươi. Với ngựa con lớn hơn 15 giờ tuổi thì phải truyền máu tĩnh mạch với liều lượng sử dụng được tính toán cụ thể cho từng trường hợp và hàm lượng 600mg IgG/dl là hàm lượng tối thiểu để đạt được hiệu quả mong muốn. Tuy nhiên, trong điều kiện không thể tính được thì sử dụng 20ml máu/kg thể trọng hoặc sử dụng khoảng một lít máu là đủ số lượng. Máu phải vô khuẩn, đựng trong chai lớn tiệt trùng có heparin hoặc natri citrate. Sử dụng máu bằng cách để hồng cầu lắng xuống lấy phần huyết thanh và bảo quản đông lạnh cho đến khi sử dụng. Trước và sau khi sử dụng, phải kiểm tra vi sinh vật và kháng thể chống hồng cầu trong huyết thanh. Trong khi truyền huyết thanh phải theo dõi các phản ứng có hại.

Với bê không được truyền kháng thể thụ động thì cũng cần điều trị tương tự. Những bê 24-40h tuổi có hàm lượng IgG trong huyết thanh dưới 1000mg/dl sẽ có tỷ lệ chết cao hơn 2 lần so với bê có hàm lượng IgG cao hơn. Truyền miễn dịch qua sữa đầu rất quan trọng cho sự sống của động vật non nhưng cũng có thể gây ra nhiều vấn đề phức tạp. Nếu con mẹ có miễn dịch chống hồng cầu của bào thai, các kháng thể trong sữa đầu có thể phá huỷ nhiều hồng cầu ở động vật sơ sinh gây ra dung huyết.

1.5. Truyền miễn dịch tế bào trong sữa

Số lượng tế bào trong sữa đầu lợn nái là $2,5 \times 10^6/\text{ml}$. 10% trong số các tế bào này là tế bào lympho; 70-90% là tế bào lympho T. Tỷ lệ CD4/CD8 là khoảng 0,57 (hơi thấp hơn tỷ lệ trong máu: 0,8). Số lượng tế bào lympho trong sữa đầu của bò có thể đến $1 \times 10^6/\text{ml}$, trong đó khoảng 1/2 số này là tế bào lympho T (trong sữa hầu như có rất ít tế bào lympho).

Tế bào lympho của sữa đầu có thể sống đến 36h trong ruột của bê sơ sinh và một số chui qua vách ruột đến ống dẫn sữa và hạch lympho ở mạc treo ruột. Cũng đã tìm thấy bằng chứng có thể truyền miễn dịch tế bào cho động vật sơ sinh theo cách này. Như vậy sự miễn cảm với tuberculin, một phản ứng quá miễn do tế bào lympho T gây ra, có thể truyền cho bê từ các bò cái có tuberculin dương tính. Những bê uống sữa đầu có tế bào lympho T bài tiết vi khuẩn ít hơn nhiều so với những bê nhận sữa đầu không có tế bào T.

Hàm lượng kháng thể đặc hiệu IgA và IgM chống E.coli trong huyết thanh của bê sơ sinh được nhận tế bào trong sữa đầu cao hơn ở những bê không được nhận. Những bê thu nhận sữa đầu có tế bào lympho T có phản ứng với kháng nguyên ngoại lai mạnh hơn, thí dụ phản ứng với hồng cầu cừ. Cơ chế bảo vệ này vẫn chưa được hiểu rõ. Hai giờ sau khi uống sữa đầu có tế bào lympho T, trong máu lợn con xuất hiện tế bào lympho của lợn mẹ. Tế bào lympho đã chui qua biểu mô ruột ở tá tràng và hồi tràng. Lợn con thu nhận sữa đầu này tăng đáp ứng với ConA và điều đó cho thấy những tế bào trong sữa đầu có một số tác dụng làm thay đổi khả năng đáp ứng miễn dịch.

2. MIỄN DỊCH CHỦ ĐỘNG

Miễn dịch chủ động cũng bao gồm miễn dịch chủ động tự nhiên và miễn dịch chủ động nhân tạo. Miễn dịch chủ động tự nhiên có được sau khi cơ thể bị mắc bệnh nhiễm trùng hoặc tiếp xúc với kháng nguyên nào đó, như sau khi bị bệnh quai bị, thương hàn... Miễn dịch chủ động nhân tạo có được sau khi cơ thể được dùng vaccine chẳng hạn.

Miễn dịch chủ động có nhiều ưu điểm so với miễn dịch thụ động. Miễn dịch này cho thời gian bảo vệ kéo dài, có tác dụng nhắc lại trí nhớ miễn dịch và tăng khả năng đáp ứng khi tiếp xúc kháng nguyên lần hai. Vì vậy một vaccine lý tưởng để gây miễn dịch chủ động là phải tạo ra miễn dịch mạnh, kéo dài. Miễn dịch chủ động không những được tạo ra ở động vật được gây miễn dịch mà cả cho bào thai của nó. Để thu được miễn dịch mạnh, vaccine không được có tác dụng phụ có hại. Một vaccine lý tưởng là phải rẻ tiền, ổn định và phải kích thích được đáp ứng miễn dịch có thể tương đương với đáp ứng miễn dịch do bệnh nhiễm tự nhiên tạo ra. Ngoài những yêu cầu đó thì một vaccine hiệu quả cần có 4 tiêu chuẩn quan trọng. Thứ nhất, tế bào trình diện kháng nguyên phải được kích

thích để chúng chế biến kháng nguyên có hiệu quả và giải phóng interleukin thích hợp; thứ hai, cả tế bào lympho T và B cần được kích thích để tạo ra một số lượng lớn tế bào ghi nhớ; thứ ba, tế bào lympho T hỗ trợ và lympho T gây độc phải được tạo ra đối với một số quyết định kháng nguyên ở vaccine để khắc phục sự đa hình thái của kháng nguyên phù hợp tổ chức MHC lớp II và sự khác nhau về các tính chất của quyết định kháng nguyên. Cuối cùng, kháng nguyên cần phải tồn tại kéo dài ở những vị trí thích hợp trong tổ chức lympho để đủ thời gian cho tế bào sản xuất kháng thể được tạo ra và tác dụng bảo vệ càng kéo dài càng tốt. Rất nhiều vaccine không đạt được hiệu lực cần thiết có thể do không đạt được một hoặc nhiều trong những tiêu chuẩn này.

2.1. Các loại vaccine

2.1.1. Vaccine sống và vaccine vô hoạt (vaccine chết)

2.1.1.1. Khái niệm

Hai điều kiện tiên quyết của một vaccine lý tưởng, đó là tính kháng nguyên mạnh đồng thời không có tác dụng phụ có hại, thường không đi đôi với nhau. Như vậy các vi sinh vật sống, đặc biệt là virus có tác dụng là nội kháng nguyên và có khuynh hướng gây ra một đáp ứng miễn dịch mà các tế bào lympho T gây độc chiếm ưu thế. Đáp ứng này là thích hợp nhất chống virus nhưng cũng có thể gây hại do tác dụng độc còn lại và bản thân vaccine virus có thể gây bệnh. Ngược lại, vaccine chết có tác dụng là kháng nguyên ngoại lai, chúng được chế biến và kích thích các đáp ứng, trong đó tế bào lympho T hỗ trợ CD4+ chiếm ưu thế. Vaccine này có thể không phải là dạng tốt nhất đối với một số tác nhân gây bệnh nhưng an toàn hơn.

Trong thực tế các ưu, nhược điểm của vaccine sống và vaccine chết được thể hiện rõ ở vaccine phòng bệnh sẩy thai truyền nhiễm bò. Bị mắc bệnh này cần phải tiêm vaccine để khống chế bệnh. Tuy nhiên vi khuẩn có thể sống và tồn tại bên trong đại thực bào. Do vậy, việc hoạt hoá đại thực bào là cần thiết để khống chế vi khuẩn này mặc dù kháng thể cũng góp phần kháng bệnh. Bệnh nhiễm khuẩn *Brucella* được khống chế tốt nhất bởi đáp ứng miễn dịch tế bào nhờ tế bào lympho T. Vi sinh vật sống có khả năng hoạt hoá đại thực bào tốt hơn vi sinh vật vô hoạt; đại thực bào nuốt *Brucella* sống sẽ tiết ra nhiều loại cytokin hơn các đại thực bào nuốt *Brucella* chết. Như vậy một vaccine có chứa chủng *Brucella* sống nhưng không có độc lực sẽ cho hiệu quả cao trong khống chế bệnh này. Người ta đã sử dụng vaccine sống (chủng 19) của *Brucella*, một chủng giảm độc không còn khả năng gây bệnh, tạo ra miễn dịch dài và có hiệu lực tốt phòng bệnh sẩy thai truyền nhiễm ở bò, mặc dù không phòng được hoàn toàn. Một vaccine sống cải tiến khác cũng đã được sử dụng, vaccine *Brucella melitensis* phòng sẩy thai truyền nhiễm ở dê, cừu. Ưu nhược điểm của vaccine này cũng giống như vaccine chế từ chủng 19 nhưng vaccine chế từ chủng 19 có thể gây ra phản ứng toàn thân, sưng tại nơi tiêm, sốt cao, ủ rũ, kém ăn và giảm lượng sữa sau khi sử dụng. Chủng 19 cũng có thể gây sẩy thai ở bò và tuy không có độc lực đối với bò cái tơ nhưng vaccine này lại có thể gây viêm tinh hoàn bò đực và gây sốt lán sóng cho người. Một tỷ lệ nhỏ bò tiêm vaccine vẫn bị nhiễm chủng 19 kéo dài nhiều tháng. Để thanh toán bệnh sẩy thai truyền nhiễm cần phải phát hiện sớm gia súc bị bệnh bằng chẩn đoán huyết thanh học.

Do các nhược điểm có trong vaccine chủng 19 nên vaccine chết *Brucella* được xử lý bằng formol (chủng 4520) được sử dụng cùng với chất bổ trợ, đó là huyền dịch nước trong dầu. Vaccine này chỉ bảo vệ được bò trong thời gian dưới 1 năm. Phản ứng miễn dịch đối với vaccine này có thể dễ dàng phân biệt với phản ứng miễn dịch do nhiễm vi khuẩn tự nhiên gây ra bởi vaccine không có một số kháng nguyên như ở các chủng có độc lực. Vaccine đã được sử dụng thành công trong những đàn gia súc bị nhiễm bệnh nặng ở Anh. Các gia súc chưa bị nhiễm được tiêm vaccine đồng thời với việc loại bỏ gia súc đã mắc bệnh. Ưu điểm của vaccine là an toàn và tương đối dễ bảo quản. Nhược điểm của một số vaccine sống là có thể còn chứa độc lực và chúng có thể chuyển thành các type có độc lực đầy đủ hoặc lây sang gia súc chưa được tiêm vaccine. Những nhược điểm này chưa thấy có ở chủng 19. Tuy nhiên, khi sử dụng chất bổ trợ ở vaccine chết để làm tăng tính kháng nguyên thì lại có thể gây ra phản ứng cục bộ nặng nề; liều cao có thể gây phản ứng quá mẫn ở một số cá thể. Điều quan trọng nhất là vaccine sống tạo miễn dịch tốt hơn vaccine chết; virus của vaccine sống có thể xâm nhập vào tế bào vật chủ và làm sản sinh interferon có tác dụng bảo vệ sớm cho các động vật mẫn cảm. Hiệu lực cao của vaccine vi sinh vật sống cũng có thể do sự phân bố đặc biệt của vi sinh vật sống trong cơ thể cũng như do sự biến đổi về sinh vật hoá học.

2.1.1.2. Phương pháp làm giảm độc lực vi sinh vật chế vaccine

Làm vô hoạt

Khi sử dụng vi sinh vật sống để làm vaccine thì những vi sinh vật này cần phải có tính kháng nguyên càng giống vi sinh vật sống càng tốt. Phương pháp thô như giết chết vi sinh vật bằng nhiệt gây biến tính nhiều protein nên không đạt yêu cầu trên. Nếu chất hoá học được sử dụng, điều chủ yếu là chúng phải ít làm biến đổi kháng nguyên có tác dụng kích thích miễn dịch bảo vệ. Chất hoá học thường sử dụng cho mục đích này là formaldehyde tác dụng đến các nhóm amino và amide ở protein và các nhóm amino không liên kết với hydrogen ở trong kiềm purine và pyrimidine của acid nucleic để tạo nên mối liên kết chéo và vì vậy tạo ra một sự bền vững về cấu trúc. Protein cũng có thể được làm biến tính nhẹ bằng cách xử lý với acetone hoặc alcohol. Các chất alkyl hoá liên kết chéo các chuỗi amino acid có tác dụng giết chết vi sinh vật mà vẫn giữ cho protein bề mặt của vi sinh vật không bị biến đổi, không làm thay đổi tính kháng nguyên. Các chất alkyl hoá như ethylene oxide, ethyleneimide, acethylethyleneimide và β -propiolactone đã được sử dụng trong điều chế vaccine thú y (nhiều vaccine vi khuẩn chết hoặc giải độc tố được sản xuất bằng cách sử dụng những chất này). Một số vaccine có thể chứa nhiều thành phần, thí dụ vaccine chống *Pasteurella hemolytica* chứa cả vi khuẩn chết và độc tố leukotoxin đã làm vô hoạt.

Làm giảm độc

Các vi khuẩn sống có độc lực không thể sử dụng làm vaccine. Chúng phải được làm giảm độc lực để sao cho dù vẫn còn sống nhưng không còn khả năng gây bệnh. Phương pháp thường được sử dụng là nuôi cấy vi sinh vật trong điều kiện không bình thường làm cho chúng mất tính thích nghi ở vật chủ thông thường. Thí dụ chủng vi khuẩn lao BCG

của *Mycobacterium bovis* đã được làm mất độc lực do cấy chuyển trong suốt 13 năm ở môi trường có chứa mật. Chủng nhiệt thán chế vaccine được làm mất độc lực bằng cách nuôi cấy trên thạch có huyết thanh ở điều kiện giàu CO₂ để làm mất khả năng hình thành giáp mô. Vi khuẩn *Brrucella abortus* chủng 19 được nuôi cấy trong điều kiện thiếu dinh dưỡng. Vi khuẩn cũng có thể được làm mất độc lực bằng cách tác động đến gene, thí dụ vaccine sống *Pasteurella hemolytica* và *Pasteurella multocida* được chế bằng cách nuôi cấy với streptomycin; vi khuẩn đột biến trở nên phụ thuộc vào streptomycin để sinh trưởng. Như vậy khi vaccine này được sử dụng cho một gia súc, thiếu streptomycin sẽ làm vi khuẩn chết (nhưng chỉ sau khi đã kích thích đáp ứng miễn dịch bảo vệ). Trong khi vi khuẩn có thể bị mất độc lực do nuôi cấy trong điều kiện không bình thường thì virus có thể được giảm độc bằng cách nuôi cấy trên tế bào hoặc loài mà chúng không thích nghi. Thí dụ virus gây dịch tả trâu bò có thể được làm giảm độc bằng cách nuôi cấy trên thỏ để cuối cùng chế được vaccine sử dụng virus gây bệnh dịch tả trâu bò không còn độc lực. Virus gây bệnh ở loài có vú, thí dụ chủng virus dại *Flury*, cũng có thể được giảm độc bằng cách nuôi cấy trên trứng, đã trở nên mất độc lực với chó và mèo. Thường làm giảm độc virus bằng cách nuôi cấy kéo dài trong tổ chức của các loài thuộc đối tượng sử dụng vaccine nhằm hạn chế tác dụng phụ do chất ở tổ chức lạ. Khi nuôi cấy virus trên tế bào chúng không thích nghi sẽ đưa đến việc giảm độc virus. Thí dụ như virus sài chó tấn công các tổ chức lympho; để chế vaccine, người ta nuôi cấy chúng nhiều lần trên tế bào thận chó và độc lực của virus mất đi. Hoặc không sử dụng virus được giảm độc nhân tạo mà người ta lại sử dụng những vi sinh vật có tính kháng nguyên giống nhau nhưng có khả năng gây miễn dịch cho loài khác, thí dụ virus sởi có thể được sử dụng để phòng bệnh sài chó hoặc virus gây tiêu chảy bò có thể sử dụng để phòng dịch tả lợn. Trong một số điều kiện có thể sử dụng các virus có độc lực đầy đủ để gây miễn dịch (như người Trung Quốc đã tiến hành với bệnh đậu bò). Tiêm vaccine chống mụn loét truyền nhiễm ở cừu thuộc loại hình này. Bệnh mụn loét truyền nhiễm là bệnh do virus gây nên nhiều vết sẹo xung quanh miệng khiến cừu không ăn được. Bệnh ít gây phản ứng toàn thân; cừu được hồi phục hoàn toàn sau một vài tuần và để lại miễn dịch. Lấy vẩy từ sẹo khô nhiễm virus bôi vào chỗ xước ở đùi con vật. Nhiễm virus cục bộ không gây tác dụng có hại cho cừu và chúng lại được tạo miễn dịch bền vững. Tuy nhiên, vì gia súc được gây miễn dịch như vậy có thể làm lây bệnh nên phải cách ly chúng khỏi đàn chưa tiêm vaccine trong một vài tuần.

2.1.2. Sử dụng vaccine

Vaccine được sử dụng theo liều tiêu chuẩn và không tính liều theo trọng lượng hoặc tuổi gia súc (số lượng các tế bào miễn cảm kháng nguyên không phụ thuộc tầm vóc gia súc lớn hay nhỏ). Tiêm vaccine dưới da hoặc bắp thịt là phương pháp thường sử dụng nhất và đơn giản nhất. Biện pháp này rất tốt khi sử dụng trên một số lượng nhỏ gia súc và với những bệnh mà miễn dịch toàn thân đóng vai trò quan trọng. Tuy nhiên khi miễn dịch cục bộ là quan trọng thì sử dụng vaccine thích hợp nhất là tại vị trí vi sinh vật có khả năng xâm nhập. Vì vậy vaccine nhỏ mũi sử dụng cho phòng bệnh viêm mũi khí quản ở bò hoặc mèo, bệnh viêm phế quản truyền nhiễm và bệnh Newcastle của gia cầm.

Khi số lượng gia súc lớn, có thể sử dụng khí dung để gia súc trong toàn đàn có thể hít vào, như dùng vaccine sài chó và vaccine phòng bệnh Newcastle cho gia cầm. Vaccine còn được cho vào thức ăn hoặc nước uống như vaccine phòng bệnh Newcastle, viêm thanh khí quản truyền nhiễm và bệnh viêm não truyền nhiễm ở gia cầm. Để phòng bệnh cho cá và tôm có thể đưa vaccine vào môi trường nơi chúng sống.

2.1.2.1. Chất bổ trợ

Để chế vaccine có hiệu quả cần phải sử dụng chất bổ trợ để làm tăng đáp ứng miễn dịch đối với kháng nguyên. Chất vô hoạt làm tăng cường miễn dịch do chúng giữ lại kháng nguyên ở những vị trí có thể tiếp cận với tế bào lympho phản ứng và cảm ứng tế bào trình diện kháng nguyên khiến tế bào này biểu thị các phân tử đồng kích thích như CD 80.

Rất nhiều hợp chất đã được sử dụng làm chất bổ trợ. Hệ thống miễn dịch đáp ứng với sự có mặt kháng nguyên và đáp ứng kết thúc khi kháng nguyên bị loại bỏ. Có thể làm chậm tốc độ loại bỏ kháng nguyên bằng cách trộn lẫn nó với chất bổ trợ không hoà tan rồi tiêm vào súc vật. Hỗn hợp này tạo nên một kho chứa. Các chất bổ trợ được sử dụng là hydroxide nhôm, phosphate nhôm, sulfate kali nhôm. Khi kháng nguyên được trộn với một trong những muối này rồi tiêm cho súc vật, một u hạt giàu đại thực bào được hình thành. Kháng nguyên trong các u hạt này thấm rất chậm vào cơ thể làm cho kích thích kháng nguyên kéo dài. Kháng nguyên bình thường chỉ kéo dài một vài ngày song có thể được giữ lại trong cơ thể một vài tuần khi dùng kỹ thuật trên. Chất bổ trợ dự trữ chỉ ảnh hưởng đến đáp ứng miễn dịch lần đầu và rất ít ảnh hưởng đến miễn dịch nhắc lại lần sau. Một phương pháp khác là đưa kháng nguyên vào trong huyền dịch nước trong dầu gọi là chất bổ trợ freund không hoàn toàn. Dầu kích thích một đáp ứng viêm cục bộ kéo dài và vì vậy một u hạt hoặc áp xe được tạo thành xung quanh vị trí tiêm. Kháng nguyên được lọc chậm từ huyền dịch. Các giọt dầu cũng được mang đến những vị trí khác thông qua hệ thống lympho. Nếu đưa vi khuẩn đã bị giết chết (như trực khuẩn lao *Mycobacterium tuberculosis* chẳng hạn) vào trong chất bổ trợ freund không hoàn toàn làm cho chất bổ trợ trở nên có tác dụng mạnh thì khi đó chất bổ trợ này được gọi là chất bổ trợ freund hoàn toàn. Không chỉ chất bổ trợ freund hoàn toàn tạo nên một khu vực dự trữ mà trực khuẩn lao có chứa hợp chất gọi là muramyl dipeptide (MDP) (n-acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutamyl) cũng như vậy. MDP tác dụng trên đại thực bào kích thích sản xuất interleukin 1(IL-1). IL-1 kích thích đáp ứng của tế bào lympho T hỗ trợ và vì vậy làm tăng miễn dịch. Chất bổ trợ freund hoàn toàn hoạt động tốt nhất khi tiêm dưới da hoặc tiêm nội bì với liều kháng nguyên tương đối thấp. Nó có tác dụng đặc hiệu kích thích hoạt động của tế bào lympho T nên chỉ làm tăng đáp ứng đối với kháng nguyên phụ thuộc tuyến ức. Chất bổ trợ hoàn toàn làm tăng sản xuất IgG hơn là IgM, ức chế sự dung nạp miễn dịch, tạo điều kiện thuận lợi cho phản ứng quá mẫn muộn, làm tăng nhanh loại bỏ mảnh ghép và làm tăng sức đề kháng với khối u. Nó cũng làm tăng cường tác dụng thực bào và tác dụng gây độc của đại thực bào. Chất bổ trợ dầu có thể gây ra một số tác dụng không tốt ở gia súc được sử dụng làm thực phẩm cho người vì dầu có thể làm hỏng thịt. Mặt khác, *Mycobacterium* trong chất bổ trợ sẽ gây ra phản ứng

dương tính với tuberculin. Những sản phẩm vi khuẩn khác, như nội độc tố, có tác dụng của chất bổ trợ làm tăng sự hình thành kháng thể nếu được sử dụng đồng thời với kháng nguyên. Chúng không có tác dụng đến phản ứng quá mẫn muộn nhưng có thể làm mất sự dung nạp và có tác dụng kích thích miễn dịch trong đề kháng không đặc hiệu chống nhiễm khuẩn. Nội độc tố cũng kích thích đại thực bào sản xuất IL-1. Vi khuẩn yếm khí *corynebacteria* cũng có tác dụng làm tăng sản xuất IL-1 để hoạt hoá tế bào lympho T hỗ trợ nên chúng làm tăng tác dụng kháng khuẩn và chống khối u. Saponin cũng được dùng làm chất bổ trợ ở vaccine nhiệt thán và vaccine lở mồm long móng. Hiện tại những chất bổ trợ được sử dụng rộng rãi nhất trong thú y là các muối không tan như hydroxide nhôm, phosphate nhôm, sulfate kali nhôm. Chúng được sản xuất dưới dạng huyền dịch keo và kháng nguyên được hấp phụ vào đó. Mặc dù chúng gây ra một u hạt nhỏ ở nơi tiêm nhưng những chất này không gây ra tác dụng không tốt đối với thịt làm thực phẩm cho người.

2.1.2.2. Vaccine hỗn hợp

Để tiện lợi người ta đã chế vaccine hỗn hợp nhiều loại vi sinh vật, thí dụ trong bệnh hô hấp của bò có thể sử dụng vaccine có chứa virus gây viêm mũi khí quản bò (bovin rhinotracheitis (BHV-1), virus gây tiêu chày bò (BVD), virus á cúm *parainfluenza-3*. Các hỗn hợp này được sử dụng khi chưa chẩn đoán rõ căn nguyên và có thể phòng được một số bệnh, giảm thiệt hại về kinh tế. Chỉ có thể tiêm vaccine chứa những vi sinh vật sau: *virus sài chó*, *canine adenovirus 1*, *canine adenovirus 2*, *canine parvovirus 2*, *canine parainfluenza virus*, *Leptospira bacterin*. Vào cơ thể, các kháng nguyên khác nhau trong hỗn hợp sẽ có hiện tượng cạnh tranh. Chế vaccine cần tính toán cẩn thận và cải tiến hỗn hợp cho phù hợp. Không hỗn hợp vaccine một cách bừa bãi vì thành phần này có thể chiếm ưu thế trong hỗn hợp so với các thành phần khác và làm ảnh hưởng đến đáp ứng với thành phần khác. Một số nhà khoa học đã đặt câu hỏi liệu vaccine hỗn hợp sẽ cho tác dụng bảo vệ tốt hơn hay làm tăng nguy cơ gây ra các tác dụng có hại? Nhiều nghiên cứu đã tiến hành nhưng không chứng minh được rõ ràng các hậu quả có hại. Chưa tìm thấy trường hợp nào hệ thống miễn dịch hoạt động quá tải do tiêm vaccine đa giá. Vaccine cần được kiểm tra để bảo đảm sao cho các thành phần trong hỗn hợp cho một đáp ứng miễn dịch đầy đủ.

2.1.2.3. Lịch tiêm vaccine

Mặc dù không thể đưa ra lịch chính xác cho mỗi một vaccine sử dụng trong thú y, nhưng cần có một số nguyên tắc chung cho phương pháp này. Do động vật sơ sinh được bảo vệ một cách thụ động nhờ kháng thể mẹ nên vaccine không có hiệu quả trong thời kỳ đầu khi con vật mới sinh ra. Để cho miễn dịch cần thiết ở giai đoạn này thì con mẹ có thể tiêm vaccine vào giai đoạn sau của thời kỳ có thai để cho hàm lượng kháng thể đạt được cao nhất trong thời gian hình thành sữa đầu.

Khi động vật sinh ra, miễn dịch chủ động chỉ đạt được hiệu quả khi miễn dịch thụ động đã suy giảm. Do không dự đoán được chính xác thời điểm hết miễn dịch mẹ cho nên phải tiêm vaccine cho động vật non ít nhất hai lần. Tiêm lần thứ hai vào lúc 5 tuần

tuổi cho chó và mèo vào lúc 6 tháng tuổi cho những động vật lớn hơn. Trong một số bệnh, như nhiễm parvovirus 2 ở chó, miễn dịch của con mẹ có thể kéo dài đến 20 tuần tuổi và là trở ngại chính cho việc gây miễn dịch chủ động ở chó con.

Khoảng cách giữa các lần tiêm vaccine rất khác nhau. Vaccine vô hoạt gây ra miễn dịch yếu nên đòi hỏi sử dụng vaccine thường xuyên, có thể là 6 tháng một lần. Vaccine sống thường gây miễn dịch kéo dài nên chỉ cần sử dụng 2 hoặc 3 năm một lần. Khoảng cách giữa các liều tiêm vaccine cũng do bệnh đó xác định. Với bệnh xảy ra mang tính chất mùa vụ nên tiêm vaccine đón trước thời điểm có khả năng phát dịch, thí dụ vaccine phòng bệnh nhiệt thán có thể tiêm vào mùa xuân. Nhiều nước đã sử dụng vaccine phòng bệnh ung khí thán cho cừu trước khi thả chúng ra đồng cỏ.

2.2. Đánh giá hiệu lực của vaccine

Để đánh giá hiệu lực của một vaccine thì trước hết phải tiêm vaccine cho động vật và sau đó thử công cường độc và xác định tỷ lệ phần trăm động vật được tiêm vaccine sống sót. Đồng thời phải xác định tỷ lệ sống sót của những động vật đối chứng không tiêm vaccine sau khi thử công cường độc. Hiệu lực thực sự của một vaccine được tính toán cụ thể như sau:

$$\text{Hiệu lực} = \frac{\% \text{ đối chứng chết} - \% \text{ được tiêm vaccine chết}}{\% \text{ đối chứng chết}}$$

Thí dụ công cường độc giết chết 80% động vật đối chứng và 40% động vật đã được tiêm vaccine thì hiệu lực của vaccine sẽ là:

$$\frac{80 - 40}{80} = 50\%$$

Một vaccine có hiệu quả khi hiệu lực ít nhất phải đạt 80%.

2.3. Tiêm vaccine không tạo được miễn dịch

Có nhiều lý do làm cho vaccine không tạo được miễn dịch ở súc vật. Một số trường hợp do vaccine không có hiệu lực. Có thể đó là vì vaccine gồm những chủng vi sinh vật không phù hợp hoặc không có kháng nguyên phù hợp. Có thể là phương pháp sản xuất đã phá hỏng các quyết định kháng nguyên hoặc có thể kháng nguyên không đủ trong vaccine. Những nguyên nhân này thường không phổ biến. Vấn đề đáng quan tâm hơn là vaccine không kích thích được miễn dịch bảo vệ. Cần phải sử dụng vaccine cho đúng. Một vaccine sống có thể chết do bảo quản; sử dụng kháng sinh cùng với vaccine vi sinh vật sống; sử dụng hoá chất để khử trùng syringe tiêm vaccine hoặc sử dụng cồn quá mức để sát trùng da trước khi tiêm. Đôi khi vaccine được đưa vào cơ thể động vật không qua đường sử dụng thông thường thì có thể không gây được miễn dịch. Khi sử dụng vaccine cho một đàn gia cầm có số lượng lớn thường người ta dùng đường khí dung hoặc cho vào nước uống nhưng nếu vaccine phân phối không đều qua đường khí dung hoặc khi cho uống mà một số gia cầm không chịu uống thì chúng không tiếp nhận đủ vaccine.

Ngay cả khi sử dụng đủ liều vaccine nhưng cũng có thể động vật không thu được miễn dịch nếu đã ủ bệnh trước khi tiêm. Đáp ứng miễn dịch là một quá trình sinh học. Không tạo được miễn dịch một cách tuyệt đối và không thể gây được miễn dịch như nhau đối với từng cá thể trong một quần thể được tiêm vaccine. Do chịu ảnh hưởng của nhiều yếu tố di truyền và các yếu tố môi trường mà đáp ứng miễn dịch của một quần thể động vật luôn có xu hướng phân phối bình thường, có nghĩa là phần lớn động vật đáp ứng miễn dịch với kháng nguyên ở mức trung bình, một số sẽ đáp ứng mạnh và một tỷ lệ nhỏ có đáp ứng kém. Nhóm đáp ứng kém có thể không thu được miễn dịch bảo vệ đủ chống lại bệnh dù đã được sử dụng vaccine có hiệu lực. Vì vậy không thể đảm bảo 100% trong một quần thể động vật thu được bảo vệ do tiêm vaccine. Mức độ của bộ phận không phản ứng này trong quần thể sẽ rất khác nhau với các vaccine và điều quan trọng là nó phụ thuộc vào bản chất bệnh. Với các bệnh nhiễm vi sinh vật ở mức độ cao thì miễn dịch của đàn chống lại bệnh rất kém, bệnh có thể lây truyền nhanh và dễ dàng (như bệnh lở mồm long móng), gia súc không được miễn dịch sẽ dễ bị mắc bệnh. Ngược lại, các bệnh lây lan ít (như bệnh dại) thì khi có 70% gia súc được miễn dịch đã có thể đủ để phong toả sự lây lan bệnh trong đàn.

Nhóm thứ hai tiêm vaccine không thu được hiệu quả đó là khi đáp ứng miễn dịch bình thường bị ức chế. Thí dụ khi gia súc bị nhiễm ký sinh trùng nặng hoặc những gia súc thiếu dinh dưỡng có thể bị ức chế miễn dịch và do đó không nên tiêm vaccine. Một số bệnh nhiễm virus gây ra tình trạng ức chế miễn dịch mạnh; stress, đang mang thai, lạnh hoặc nóng quá, mệt mỏi, thiếu dinh dưỡng... dẫn đến làm tăng sản xuất các hormone steroid gây giảm đáp ứng miễn dịch bình thường. Cũng phải kể đến một nguyên nhân rất quan trọng khiến cho việc sử dụng vaccine không đạt hiệu quả bảo vệ đó là sự có mặt của kháng thể thụ động ở gia súc non do mẹ truyền như đã đề cập trước đây.

2.4. Một số tác hại gặp phải khi sử dụng vaccine

Sử dụng vaccine không phải hoàn toàn vô hại. Độc lực và độc tố còn lại của vaccine; dị ứng, tác dụng đối với thân kinh và gây hại cho bào thai là những hậu quả có thể gặp; hoặc khi cơ thể bị thiếu hụt miễn dịch sẽ không thu được kết quả cần có. Cán bộ thú y cần phải sử dụng vaccine của cơ sở sản xuất đã được cấp giấy phép và cần tuân theo sự chỉ dẫn của cơ sở sản xuất. Trước khi sử dụng vaccine cần xem xét đến tác dụng có hại và mức độ của những tác hại đó. Cho đến nay phản ứng có hại thường gặp là những phản ứng cục bộ. Một dạng trung gian của tác dụng gây độc là tổn thương do một số hoá chất trong vaccine vô hoạt gây ra, thí dụ như formaldehyde. Cũng gặp những tác hại do gia súc phản ứng mạnh với người tiêm vaccine. Hay gặp nhất là sưng cục bộ tại nơi phản ứng; nơi sưng có thể cứng hoặc phù; sờ thấy nóng. Các triệu chứng này thường xuất hiện sau khi tiêm vaccine 1 ngày và kéo dài khoảng 1 tuần. Ít trường hợp tiến triển thành áp xe, thông thường nơi tiêm chỉ để lại dấu vết rất nhỏ. Một số vaccine dại gây ra rụng lông tại vị trí tiêm. Vaccine chế từ vi khuẩn gram âm chết có thể gây độc thực sự do có mặt của nội độc tố và có thể gây sốc, kém ăn, giảm bạch cầu. Mặc dù những phản ứng đó chỉ là tạm thời song thường gây khó khăn cho con đực. Vaccine cũng có khi gây sảy

thai ở con cái. Như vậy cần thận trọng khi tiêm vaccine cho gia súc có thai trừ trường hợp vaccine đó được xem là không có nguy cơ gây hại. Một số virus có thể trở thành cường độc sau khi tiêm vaccine, thí dụ như sau khi tiêm vaccine herpesvirus để phòng bệnh sốt châu Phi ở ngựa. Bệnh niêm mạc có thể tiến triển ở bê sau tiêm vaccine phòng bệnh tiêu chảy do virus. Viêm não sau tiêm vaccine sài chó rất hiếm gặp nhưng có thể xảy ra sau khi tiêm vaccine sống. Gia súc biểu hiện triệu chứng kích thích, hoạt động mất phối hợp, co giật hoặc một số triệu chứng thần kinh khác. Cơ chế sinh bệnh chưa rõ, nhưng có thể là do độc lực còn lại làm tăng tính miễn cảm hoặc do vaccine kích thích trạng thái tiềm ẩn của Paramyxovirus. Một số vaccine có thể ức chế nhẹ miễn dịch, thí dụ có những vaccine Parvovirus sống làm giảm nhẹ sự tạo phôi bào của tế bào lympho hoặc làm giảm tế bào lympho trong máu một số chó con. Nhưng không phải tất cả các chủng *Canine parvovirus 2* đều gây ra ức chế miễn dịch, vì vậy rất khó xác định mức độ quan trọng của vấn đề này. Có bằng chứng cho thấy vaccine đa giá virus của chó có thể làm giảm số lượng tế bào lympho trong máu và giảm đáp ứng của chó với mitogen trong một thời gian ngắn. Một số vaccine hỗn hợp có thể lại gây ra ức chế miễn dịch ở khoảng thời gian từ 5 - 11 ngày sau khi tiêm, như vaccine kết hợp canine *adenovirus 1*, *adenovirus 2* với virus sài chó đặc biệt ức chế sản sinh các phôi bào của tế bào lympho. Cơ chế này chưa biết rõ. Thời gian ngắn của trạng thái thiếu hụt miễn dịch có thể không gây hậu quả quan trọng về mặt lâm sàng. Ngoài độc lực và độc tố, vaccine còn có thể gây ra phản ứng quá mẫn type I. Phản ứng quá mẫn type I không chỉ đáp ứng với các kháng nguyên gây miễn dịch mà còn cả với những kháng nguyên khác có trong vaccine như kháng nguyên của trứng hoặc kháng nguyên từ tổ chức tế bào nuôi cấy. Tất cả các dạng phản ứng quá mẫn thường hay xảy ra khi tiêm nhiều kháng nguyên và thường là do sử dụng vaccine vô hoạt. Phản ứng quá mẫn type I đáp ứng ngay lập tức với kháng nguyên sau khi tiếp xúc với kháng nguyên vài phút hoặc vài giờ. Nếu phản ứng xảy ra sau sử dụng vaccine 2 hoặc 3 giờ thì không phải là phản ứng quá mẫn type I.

Phản ứng quá mẫn type III cũng gây ra tác hại, như gây phản ứng viêm cục bộ mạnh ở nơi tiêm hoặc có thể gây rối loạn ở mạch quản (như ban xuất huyết). Có khi gặp phản ứng type III xảy ra ở mắt chó sử dụng vaccine phòng viêm gan chó do *adenovirus 1*.

Phản ứng quá mẫn type IV cũng đã gặp do đáp ứng với vaccine, thường là hình thành u hạt ở nơi tiêm; có thể là do đáp ứng với chất bổ trợ tích tụ lại có chứa keo phèn hoặc dầu. Vaccine có chứa chất bổ trợ dung môi dầu gây ra các tổn thương rộng hơn và kéo dài hơn tại vị trí tiêm so với vaccine có chứa keo phèn hoặc hydroxide nhôm. Những tổn thương này có thể hình thành nên u hạt hoặc áp xe vô khuẩn và nếu da tại đó nhiễm bẩn thì áp xe đó có thể bị nhiễm trùng.

Trong một số điều kiện nào đó, việc sử dụng vaccine lại gây ra bệnh tự miễn dịch, thí dụ vaccine đại chứa một số tổ chức thần kinh có thể gây ra bệnh viêm não tự miễn. Đã thấy trường hợp viêm đa dây thần kinh ở chó sau khi sử dụng vaccine đa giá gồm *parvovirus* gây viêm gan và virus sài chó. Cơ chế chính xác của hội chứng này vẫn còn chưa rõ.

Chương 12

ĐỀ KHÁNG VỚI VI SINH VẬT

1. MIỄN DỊCH CHỐNG VI KHUẨN

Môi trường có rất nhiều vi khuẩn nhưng phần lớn trong số chúng không gây bệnh. Nhiều vi khuẩn có lợi cho động vật vì chúng duy trì trạng thái cân bằng trên bề mặt cơ thể, làm nên một hàng rào sinh học ngăn cản sự xâm nhập của vi sinh vật gây bệnh. Chúng cũng giúp tiêu hoá cellulose trong thức ăn, tổng hợp một số vitamine. Tuy nhiên, nhiều vi khuẩn có khả năng gây bệnh, như vi khuẩn uốn ván *Clostridium tetani*, *Clostridium perfringens* (thường được tìm thấy trong hệ vi sinh vật đường ruột của ngựa) và *Bordetella bronchiseptica* (có trong mũi, thanh quản của lợn khoẻ). Vì vậy nhiễm bệnh do vi khuẩn gây bệnh có trên bề mặt cơ thể là có thể xảy ra. Sự tiến triển của bệnh có liên quan đến nhiều yếu tố, bao gồm sức đề kháng của vật chủ, sự có mặt của tổ chức hoại tử, nơi khu trú phù hợp của vi khuẩn, khả năng gây bệnh (độc lực) của vi khuẩn. Khi sự cân bằng giữa sức đề kháng của cơ thể và độc lực của vi khuẩn bị phá vỡ thì con vật mắc bệnh.

1.1. Cơ chế sinh bệnh trong nhiễm khuẩn

Vi khuẩn có thể gây bệnh bằng nhiều cơ chế, nhưng nói chung chúng giải phóng độc tố hoặc xâm nhập và nhân lên làm phá huỷ tế bào bình thường của vật chủ. Độc tố của vi khuẩn được chia thành hai nhóm: ngoại độc tố được sản xuất trong bào tương vi khuẩn (exotoxin) và nội độc tố có nguồn gốc từ vách tế bào vi khuẩn gram âm thí dụ như *Salmonella* (endotoxin). Bản chất và tầm quan trọng của đáp ứng miễn dịch chống lại các vi khuẩn có độc tố rất khác nhau tùy thuộc vào nguồn độc tố.

1.1.1. Cơ chế sinh bệnh do vi khuẩn có ngoại độc tố

Ngoại độc tố được sản xuất trong bào tương vi khuẩn. Độc tố có tác dụng lên tế bào được gọi là cytotoxin; leukotoxin tác động trên bạch cầu; neurotoxin tác động đến tế bào thần kinh. Một trong những bệnh đáng chú ý nhất do ngoại độc tố gây ra là bệnh uốn ván. *C. tetani* là vi khuẩn yếm khí tuyệt đối, chỉ phát triển ở những khu vực thiếu oxygen (thường là nơi tổ chức bị huỷ hoại). Độc tố uốn ván là độc tố gây co giật Tetanospasmin được giải phóng từ vi khuẩn ở dạng tiền độc tố và được protease hoạt hoá. Độc tố do vi khuẩn tiết ra đi dọc theo các dây thần kinh đến hạch tuỷ sống; tại đây nó tác động đến đường dẫn truyền ức chế và phong toả các synape ức chế. Do sự phong toả này gây co giật cơ và cuối cùng dẫn đến hiện tượng liệt cơ. Khả năng gây ức chế thần kinh cũng gặp ở độc tố của vi khuẩn *Clostridium botulinum*. Độc tố này được hấp thu nguyên vẹn sau khi tiêu hoá thức ăn bị nhiễm khuẩn và có thể gây tử vong do làm liệt hô hấp. Liều độc tố của botulinum cần thiết để gây ức chế thần kinh vô cùng thấp. Loại ngoại độc tố khác

là α toxin của *C. perfringens* là một phospholipide có thể gây dung huyết và huỷ hoại tổ chức, tạo điều kiện cho vi khuẩn phát triển và xâm nhập vào cơ thể. Độc tố của vi khuẩn nhiệt thán lại tác động theo cách khác, đó là kích thích đại thực bào sản xuất các gốc oxy hoá, các cytokin như IL- β và TNF- α gây ra sốc toàn thân và tử vong.

1.1.2. Cơ chế bệnh sinh do vi khuẩn có nội độc tố gây ra

Khi vi khuẩn xâm nhập vào tổ chức của một động vật, chúng thường gây ra viêm cấp tính. Đáp ứng này xảy ra sau một vài phút và không đòi hỏi tác động của hệ thống miễn dịch. Những tế bào đáp ứng với vi khuẩn bao gồm bạch cầu trung tính, bạch cầu đơn nhân và tế bào nội mô. Các thành phần của vi khuẩn gây ra đáp ứng viêm chủ yếu là nội độc tố (endotoxin, lipopolysaccharide-LPS) của vi khuẩn. Nội độc tố tác động lên bạch cầu trung tính làm hoạt hoá integrin, tác động lên tế bào nội mô làm hoạt hoá selectin và tác động trên đại thực bào làm sản xuất cytokin.

Vách của vi khuẩn gram âm bao gồm một phức hợp polysaccharide, lipide và protein. Đó là thành phần của LPS và gây nên tác dụng điển hình của một nội độc tố. LPS bao gồm một oligosaccharide gắn với lipide A. Oligosaccharide gồm hai vùng, một polysaccharide lõi và một polysaccharide của kháng nguyên thân O. Khuẩn lạc của vi khuẩn gram âm có hai dạng, dạng S trơn nhẵn gồm những vi khuẩn có chứa đầy đủ độc lực và toàn bộ cấu trúc bề mặt như đã mô tả ở trên; dạng khuẩn lạc R gồm những vi khuẩn thiếu polysaccharide của kháng nguyên thân O ở mặt ngoài. Vì vậy dạng khuẩn lạc R trên thạch có bề mặt không sáng và khi ở trong nước muối thì vi khuẩn kết tụ lại; những vi khuẩn này có xu hướng thiếu độc lực và một số đã được sử dụng chế vaccine. Các biến chủng như vậy bao gồm chủng 45/20 của vi khuẩn gây sẩy thai truyền nhiễm *Brucella abortus* và chủng 51 của *Salmonella dublin*.

LPS không tác dụng trực tiếp lên tế bào. Trước hết nó gắn với CD14, một protein huyết tương có trên bạch cầu trung tính và bạch cầu đơn nhân. Mỗi phân tử CD14 gắn với một hoặc hai phân tử LPS. Một protein huyết thanh gọi là protein ái lipopolysaccharide (lipopolysaccharide binding protein- LBP) làm tăng khả năng gắn của LPS với CD14. LBP tác dụng là chất xúc tác và chuyển số lượng lớn LPS cho CD14. Khi vào trong huyết tương, LPS được chuyển cho CD14 hoà tan ngay lập tức. Sau đó LPS tách khỏi CD14 và gắn với các lipoprotein. Khi gắn vào lipoprotein tác dụng độc mất đi. CD14 cũng chuyển trực tiếp LPS cho màng tế bào, ở đó nó phát huy tác dụng sinh học của mình. CD14 không chỉ gắn vào LPS mà còn gắn vào lipoarabinomanans của *Mycobacterium*, chuỗi polyme trong acid manuronic của *Pseudomonas* vào peptidoglycan ở *Staphylococcus aureus* và các phần vách của vi khuẩn gram dương khác. Cả CD14 và LPS là những phân tử chủ yếu nhận diện vi khuẩn ở tổ chức và gây ra viêm cục bộ. LPS đóng vai trò quan trọng trong sốc do nhiễm khuẩn huyết. Như vậy LPS tương tác với các tế bào thực bào đơn nhân thông qua CD14 và kích thích đại thực bào tiết ra ba nhóm chất điều hành viêm, đó là những cytokin IL-1, IL-6; chất chuyển hoá của oxygen và nitrogen phản ứng như O_2^- , H_2O_2 , OH^- , NO và các chất chuyển hoá của acid arachidonic như leucotrien, prostaglandin. Chúng gây ra tất cả các triệu chứng lâm sàng trong hội chứng gọi là sốc do nhiễm khuẩn huyết.

Nhiễm vi khuẩn gram âm làm cho gia súc ủ rũ và sốt. Nhiễm khuẩn nặng hơn dẫn đến nhiễm toan, sốt, hạ huyết áp, giải phóng lactate vào tổ chức, tăng catecholamin trong huyết tương, đông máu rải rác trong mạch quản, tổn thương gan, thận, tổn thương phổi, làm suy yếu chức năng nhiều cơ quan, tăng hoạt động tiền đông máu, thúc đẩy sự đông máu trong mạch quản và sự hình thành huyết khối trong mao quản.

Nếu hai liều LPS được tiêm cho thỏ, một liều tiêm nội bì vài giờ sau tiêm tiếp liều thứ hai vào tĩnh mạch thì sau 2-3 giờ sẽ có một phản ứng xuất huyết mạnh tại vị trí tiêm lần thứ nhất. Phản ứng này là do sự hình thành huyết khối và nhồi huyết cục bộ tại nơi tiêm nội bì, được gọi là phản ứng *Shwartzman*. Tiêm lần đầu kích thích sản xuất IL-12, TNF- γ dẫn đến làm hoạt hoá đại thực bào cục bộ. Tiêm LPS lần thứ hai làm giải phóng nhiều cytokin có tác dụng gây viêm dẫn đến phản ứng này. Nếu cả hai liều nội độc tố được tiêm tĩnh mạch cách nhau một vài giờ sẽ có đông máu rải rác trong mạch quản và có thể dẫn đến hoại tử vỏ thận hai bên. Phản ứng này được gọi là phản ứng *Swatzman* và nó có thể góp phần vào cơ chế sinh bệnh do vi khuẩn gram âm gây ra.

1.1.3. Cơ chế bệnh sinh do vi khuẩn xâm nhập

Bệnh có thể do vi khuẩn xâm nhập và phá huỷ tổ chức. Sự phá huỷ do tổn thương mạch quản gây ra huyết khối và nhồi huyết dẫn đến giải phóng enzyme của vi khuẩn gây huỷ hoại tổ chức hoặc làm cạn kiệt chất chuyển hoá cục bộ. Một số vi khuẩn có thể tiết hyaluronidase phân giải acid hyaluronic trong tổ chức liên kết mở ra khoảng trống giữa các tế bào và tạo điều kiện để vi khuẩn lan xa. Những vi khuẩn khác tiết ra enzyme phân giải fibrin như streptokinase gây rối loạn đông máu; collagenase, elastase phá vỡ cấu trúc của tổ chức liên kết. Một số protein của vi khuẩn cũng có thể tiêu hoá immunoglobulin hoặc thành phần của bề mặt tế bào. Những vi khuẩn khác (như *Staphylococcus*) giải phóng coagulase hình thành cục máu đông tạo điều kiện cho vi khuẩn sinh trưởng phát triển. Trong khi một số vi khuẩn xâm nhập vào tổ chức ngoại bào nhờ việc sử dụng protease thì một số vi khuẩn khác lại khu trú bên trong tế bào. Đáng chú ý nhất trong số đó là vi khuẩn gây sẩy thai truyền nhiễm *B. abortus*, vi khuẩn lao *Mycobacterium tuberculosis*, vi khuẩn phó lao *Mycobacterium paratuberculosis*, *Corynebacterium*, *Pseudotuberculosis*, *Listeria monocytogenes*, *Rodococcus* và một số *Salmonella*. Chúng sinh trưởng bên trong đại thực bào và được phân phối khắp cơ thể; cuối cùng làm đại thực bào vỡ ra do số lượng vi khuẩn tăng cao.

1.2. Cơ chế kháng khuẩn

Có ba loại đề kháng của cơ thể đối với vi khuẩn. Trước hết là sự không mẫn cảm của loài, thí dụ gà có khả năng đề kháng với vi khuẩn sẩy thai truyền nhiễm do không mẫn cảm với vi khuẩn này. Loại đề kháng thứ hai là do các phân tử ức chế không đặc hiệu. Loại thứ ba là do các đáp ứng miễn dịch đặc hiệu. Trong những cơ chế trên, đáp ứng miễn dịch đặc hiệu đóng vai trò quan trọng nhất, do vậy sẽ mắc những hậu quả nặng nề khi hệ thống miễn dịch của một động vật hoạt động không hiệu quả.

1.2.1. Một số “yếu tố chung” ảnh hưởng đến sức đề kháng

Một yếu tố chung ảnh hưởng đến sức đề kháng là di truyền. Sự lan truyền bệnh trong đàn trước hết sẽ loại bỏ những động vật mẫn cảm nhưng để lại con vật nào có khả năng đề kháng và rồi chúng sẽ nhân lên. Bằng các chương trình nhân giống thích hợp cho phép phát triển những giống động vật hoặc có khả năng đề kháng cao hoặc mẫn cảm với các bệnh nhất định. Với kháng nguyên đưa vào bằng đường kết mạc thấy bò u (*Bos primigenus indicus*) đáp ứng tốt hơn bò châu Âu (*Bos primigenus taurus*), sức đề kháng tăng lên với *Moraxella* ở bò u. Đề kháng loại này là nhờ một số thể đơn bội của MHC.

Nhóm các yếu tố thứ hai không đặc hiệu ảnh hưởng đến sức kháng bệnh là hormone. Thyroxine, liều thấp steroid và estrogen có thể kích thích miễn dịch, trong khi liều cao steroid, testosterone và progesterone gây ức chế miễn dịch (Như vậy nói chung con cái có xu hướng đáp ứng với nhiễm khuẩn tốt hơn con đực). Ở những động vật bị stress, lượng steroid tăng lên có thể gây ức chế miễn dịch và tạo điều kiện cho bệnh phát triển. Ảnh hưởng của stress thấy ở bò được vận chuyển trong điều kiện không thuận lợi với một thời gian dài. Chúng mắc viêm phổi rồi bội nhiễm vi khuẩn tụ huyết trùng *Pasteurella multocida*. Một thí dụ khác là viêm ruột do *Salmonella* ở ngựa, một bệnh có thể do stress (như phẫu thuật ngoại khoa) gây ra.

Các nhân tố không đặc hiệu khác ảnh hưởng đến khả năng kháng bệnh là dinh dưỡng. Suy dinh dưỡng làm tăng rõ rệt tính mẫn cảm với bệnh nhiễm khuẩn. Cân bằng âm protein ở những gia súc bị nhiễm ký sinh trùng nặng có khi gây ra đáp ứng miễn dịch có hại vì vậy chỉ nên tiêm vaccine cho những gia súc này khi bệnh nhiễm ký sinh trùng đã giảm.

1.2.2. Yếu tố hoá học

Khả năng đề kháng sự xâm nhập của vi khuẩn tại vết thương là nhờ có mặt của những phân tử kháng khuẩn trong tổ chức mà quan trọng nhất là lysozyme. Lysozyme có trong tổ chức và trong tất cả các dịch lỏng của cơ thể trừ dịch não tuỷ, mồ hôi và nước tiểu. Người ta cho rằng nó không có trong bạch cầu trung tính của bò nhưng có nồng độ cao trong nước mắt và lòng trắng trứng. Vách của vi khuẩn gram dương bao gồm peptidoglycan (các chuỗi N-acetylglucosamine và acid N-acetylmuramic nối chéo với nhau bằng các chuỗi phụ peptide ngắn). Lysozyme phân chia những peptidoglycan này. Lysozyme cũng có thể phá huỷ một số vi khuẩn gram âm do liên kết với bề mặt. Enzyme này có nồng độ cao trong lysosome của bạch cầu trung tính và vì vậy được tích lũy nhiều tại các ổ viêm cấp tính (kể cả khu vực vi khuẩn xâm nhập). pH tối ưu đối với hoạt tính của lysozyme (pH 3-6) dễ dàng đạt được ở vị trí viêm cũng như trong phagosome. Lysozyme còn là chất opsonin mạnh tạo điều kiện dễ dàng cho sự thực bào khi không có mặt kháng thể đặc hiệu. Acid béo tự do cũng là những chất ức chế vi khuẩn phát triển. Nói chung, acid béo không bão hoà như acid oleic có khuynh hướng là chất diệt khuẩn đối với vi khuẩn gram dương, còn acid béo bão hoà là những chất diệt nấm. Một số peptide và protein kháng khuẩn giàu lysin và arginin đã được phân lập từ tế bào và tổ chức của loài có vú. Nói chung chúng có nguồn gốc từ các protein được tiêu

hoá do giải phóng enzyme phân giải protid từ bạch cầu trung tính hoặc huyết tiểu cầu. β -lysin, một polypeptide hoạt động chống vi khuẩn nhiệt thán (*Bacillus anthracis*) và *Clostridia* được giải phóng từ huyết tiểu cầu do tương tác với phức hợp miễn dịch. Bạch cầu của ngựa chứa một số peptide giàu cystein có hoạt tính chống vi khuẩn gây bệnh chủ yếu ở ngựa. Một trong những yếu tố quan trọng cho sự xâm nhập của vi khuẩn là hàm lượng sắt trong dịch cơ thể. Nhiều vi khuẩn như *S. aureus*, *Escherichia coli*, *Pasteurella multocida* và *M. tuberculosis* cần sắt để sinh trưởng. Tuy nhiên trong cơ thể phần lớn sắt liên kết với những protein ái sắt như transferrin, lactoferrin, haptoglobin và ferritin. Khi có vi khuẩn xâm nhập thì sự hấp thu sắt ở ruột ngừng lại. Interleukin 1 (IL-1) của đại thực bào làm cho tế bào gan bài tiết transferrin và haptoglobin; lượng sắt đưa vào gan tăng cao làm giảm lượng sắt sẵn có và ngăn cản vi khuẩn xâm nhập. Tình trạng tương tự cũng xảy ra ở tuyến vú khi đáp ứng với sự xâm nhập của vi khuẩn. Bạch cầu trung tính của sữa giải phóng lactoferrin dự trữ. Mặc dù sắt bị mất, một số vi khuẩn như *M. tuberculosis*, *E.coli* vẫn có thể xâm nhập cơ thể vì chúng tổng hợp được các protein rất ái sắt. Những protein này kéo sắt từ protein của huyết thanh để sử dụng cho vi khuẩn. Trong tình trạng hàm lượng sắt huyết thanh tăng cao như thiếu máu dung huyết, động vật có thể miễn cảm hơn với nhiễm khuẩn. Sự sản sinh các chất chuyển hoá trong phản ứng oxy hoá và các chất chuyển hoá của nitric oxide rất cần thiết cho bạch cầu trung tính và đại thực bào phá huỷ vi khuẩn. Cũng tương tự như vậy, interferon cũng như bổ thể được hoạt hoá theo con đường luân phiên có vai trò quan trọng trong diệt khuẩn như đã đề cập trước đây.

1.2.3. Các gene kiểm soát sự đề kháng tự nhiên đối với sự xâm nhập của vi khuẩn

Động vật có sức đề kháng tự nhiên với vi sinh vật gây bệnh. Sức đề kháng tự nhiên này đóng vai trò quan trọng, quyết định sự xâm nhập của vi khuẩn và sự phát triển một đáp ứng miễn dịch. Nghiên cứu trên chuột cho thấy sức đề kháng với *Salmonella typhimurium* được một gene gọi là Nramp kiểm soát. Gene này đã được xác định ở người, chuột, cừu, hươu đỏ và bò rừng (Bison). Nramp1 chỉ biểu thị trên đại thực bào.

Nramp1 dường như ảnh hưởng đến sức đề kháng của bò với bệnh nhiễm khuẩn do vi khuẩn gây sẩy thai truyền nhiễm *Brucella* gây ra. Những bò đề kháng với vi khuẩn này sản xuất Nramp1, nitric oxide synthase và nitric oxide nhiều hơn bò miễn cảm với *Brucella* và chúng ít bị sẩy thai do vi khuẩn này. Sự khác nhau giữa các allele đề kháng và miễn cảm dường như do sự thay thế chuỗi nucleotide trên gene Nramp. Chức năng của Nramp chưa được hiểu rõ nhưng có vẻ như nó tác động đến bước đầu tiên trong quá trình hoạt hoá đại thực bào. Chuột thiếu hụt gene Nramp sản xuất nitric oxide ít hơn bình thường cho thấy Nramp1 tham gia vào sự điều chỉnh những tín hiệu của sản xuất nitric oxide. Tuy nhiên đây không phải là tất cả vì vi khuẩn sẩy thai truyền nhiễm *Brucella abortus* có thể có khả năng đề kháng với tác dụng gây chết của nitric oxide.

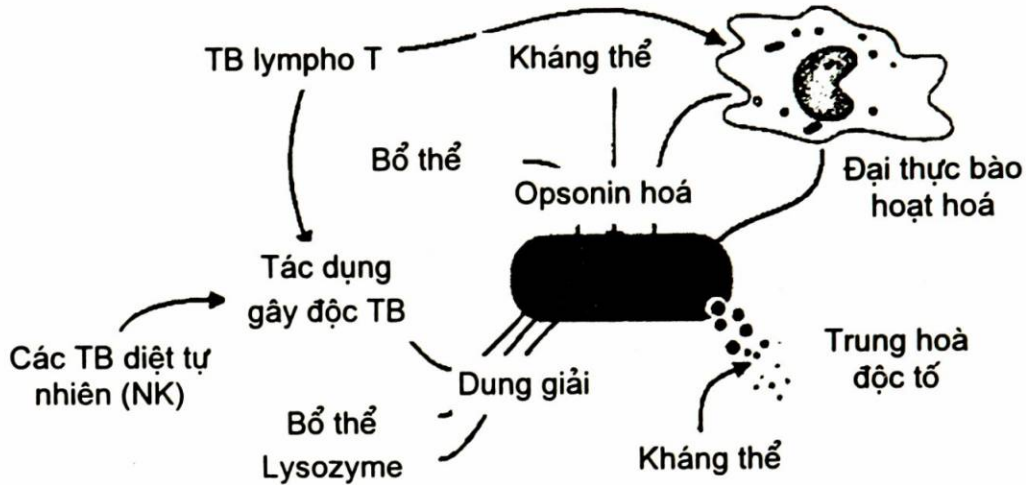
1.3. Miễn dịch đặc hiệu đối với vi khuẩn

Có 5 cơ chế đáp ứng miễn dịch đặc hiệu trong chống nhiễm khuẩn:

- Trung hoà độc tố hoặc enzyme bằng kháng thể (hình 12.1).

- Giết chết vi khuẩn nhờ kháng thể, bổ thể và enzyme.
- Opsonin hoá của kháng thể và bổ thể dẫn đến thực bào và phá huỷ vi khuẩn.
- Phá huỷ vi khuẩn bên trong tế bào nhờ đại thực bào hoạt hoá.
- Trực tiếp giết chết vi khuẩn bởi các tế bào lympho T gây độc và các tế bào diệt tự nhiên.

Vai trò của mỗi quá trình này phụ thuộc vào vi khuẩn liên quan và cơ chế gây bệnh của chúng.



Hình 12.1. Đáp ứng miễn dịch bảo vệ cơ thể chống sự xâm nhập của vi khuẩn

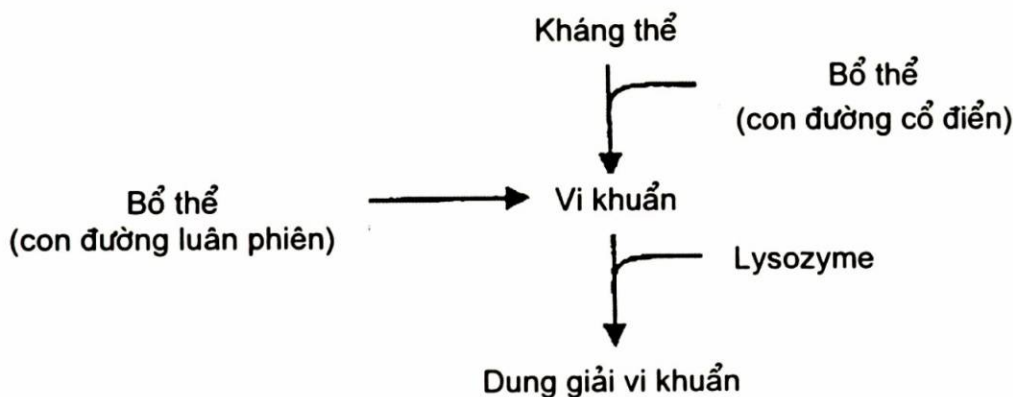
1.3.1. Miễn dịch đối với vi khuẩn nằm ngoài tế bào

Trong những bệnh do vi khuẩn nằm ngoài tế bào gây ra như clostridia, nhiệt than (*B. anthracis*) đáp ứng miễn dịch không chỉ loại bỏ các vi khuẩn xâm nhập mà còn trung hoà độc tố của chúng. Tuy nhiên tiêu diệt những vi khuẩn này là khó nếu chúng nằm trong một khối tổ chức hoại tử. Kháng thể có thể dễ dàng trung hoà ngoại độc tố của vi khuẩn. Việc trung hoà này xảy ra khi kháng thể ngăn cản độc tố gắn vào receptor trên tế bào đích. Vì vậy quá trình trung hoà là sự cạnh tranh giữa kháng thể và độc tố với receptor. Một khi độc tố đã kết hợp với receptor thì kháng thể khó có khả năng phân ly kết hợp nữa.

Bảo vệ cơ thể chống lại vi khuẩn xâm nhập thường là do kháng thể tác động trực tiếp đến kháng nguyên bề mặt của vi khuẩn. Để thực bào có hiệu quả thì bề mặt của vi khuẩn phải được bao phủ một lớp opsonin cho bạch cầu trung tính hoặc đại thực bào nhận diện. Các opsonin này chủ yếu là kháng thể và sản phẩm phân giải của bổ thể C3. Vi khuẩn gram dương hoạt hoá bổ thể làm lắng đọng các thành phần của C3 trên bề mặt của chúng. Kháng thể không chỉ có vai trò là opsonin mà còn làm tăng sự lắng đọng của C3 bằng cách hoạt hoá bổ thể theo con đường cổ điển. Kháng thể trực tiếp chống kháng nguyên vỏ (K) có thể trung hoà tính chất chống thực bào của vỏ, opsonin vi khuẩn và để cho tế bào thực bào tiêu diệt vi khuẩn. Với những vi khuẩn thiếu vỏ thì kháng thể trực tiếp chống kháng nguyên thân O lại đóng vai trò là opsonin. Một tác dụng bảo vệ tinh tế hơn xảy ra khi kháng thể được sản xuất chống các chủng *E.coli* K88 hoặc K99 mang

kháng nguyên pili (F4) hoặc (F5). Trong trường hợp này kháng thể tác động đến sự biểu thị của kháng nguyên pili và cuối cùng có khả năng loại bỏ chất liệu di truyền (plasmid) mã hoá cho những kháng nguyên này. Khi kháng nguyên kết dính bị loại bỏ thì những chủng E.coli này không thể bám vào vách ruột và như vậy không còn khả năng gây bệnh nữa. Tầm quan trọng của vỏ vi khuẩn trong miễn dịch thể hiện rõ ở vi khuẩn nhiệt thán. Vi khuẩn nhiệt thán có chứa cả vỏ và ngoại độc tố. Miễn dịch kháng độc tố có khả năng bảo vệ nhưng phát triển chậm. Ngoài ra sự sản xuất độc tố có xu hướng kéo dài vì những vi khuẩn này được bao bọc lại và vì thế các tế bào thực bào không có khả năng loại bỏ nó. Do vậy tử vong thường là không thể tránh khỏi ở gia súc không được tiêm vaccine. Vaccine phòng nhiệt thán chế từ chủng không có vỏ nhưng có độc tố. Dùng vi khuẩn ở dạng nha bào nảy mầm thì các vi khuẩn không có vỏ bao này sẽ bị tế bào thực bào loại bỏ trước khi độc tố được tổng hợp (nhưng tất nhiên là sau khi miễn dịch được kích thích).

Trong khi một số vi khuẩn bị bạch cầu trung tính hoặc đại thực bào hoặc cả hai tiêu diệt thì một số khác bị tiêu diệt khi tự do trong tuần hoàn máu. Vi khuẩn có thể bị kháng thể hoặc sự hoạt hoá bổ thể theo con đường cổ điển tiêu diệt. Ở những động vật không miễn cảm, vi khuẩn bị tiêu diệt bởi sự hoạt hoá bổ thể theo con đường luân phiên. Vách tế bào vi khuẩn thiếu acid sialic, yếu tố H không hoạt hoá và như vậy làm sản xuất convertase của con đường luân phiên (C3bBbP). Do vậy vi khuẩn hoặc được opsonin hoá hoặc bị phân giải. Tầm quan trọng của con đường này thấy rõ trong trường hợp bò nhiễm Mycoplasma, trong đó vi sinh vật gây bệnh và không gây bệnh có thể được phân biệt dựa trên khả năng hoạt hoá bổ thể theo con đường luân phiên. Mycoplasma gây bệnh hoạt hoá con đường này (hình 12.2).



Hình 12.2. Cơ chế dung giải vi khuẩn gram âm do bổ thể và lysozyme

Hoạt hoá bổ thể cuối cùng dẫn đến hình thành một phức hợp tấn công màng có chứa nhiều C9. Phức hợp tấn công màng một mình không đủ tiêu diệt vi khuẩn gram âm. Một khi gắn vào màng ngoài của vi khuẩn, phức hợp tấn công màng tạo điều kiện thuận lợi cho lysozyme. Lysozyme tác dụng đến màng trong của vi khuẩn và làm chúng bị phân giải.

Đáp ứng của protein sốc nhiệt

Rất nhiều protein trong tế bào được cảm ứng do stress (nhiệt độ tăng, tiếp xúc với các gốc oxygen, độc tố như kim loại nặng, chất ức chế tổng hợp protein hoặc nhiễm

virus). Ở nhiệt độ bình thường, protein sốc nhiệt có trong tất cả các vi sinh vật với hàm lượng thấp. Các stress nhẹ, như sốt nhẹ, sẽ cảm ứng làm sản xuất protein sốc nhiệt và làm tăng hàm lượng của chúng một cách đáng kể. Thí dụ chúng tăng từ 1,5% đến 15% so với tổng số protein trong stress do E.coli. Chúng tăng ngưỡng về nhiệt độ làm cho các tế bào hoặc vi sinh vật có thể hoạt động ở nhiệt độ cao hơn bằng cách bảo vệ quá trình sao chép và dịch mã của tế bào. Có ba protein sốc nhiệt chủ yếu của vi khuẩn: HSP90, HSP70, HSP60.

Khi một vi khuẩn bị thực bào và bị quá trình hô hấp trong bạch cầu trung tính làm sản xuất protein sốc nhiệt của vi khuẩn. HPS 60 là kháng nguyên chủ yếu và là kháng nguyên chiếm ưu thế trong nhiễm *Mycobacteria*, *Treponema* và *Borrelia*. Các protein này có tính kháng nguyên mạnh do một số lý do: thứ nhất là chúng được sản xuất nhiều ở cơ thể vật chủ bị nhiễm khuẩn; thứ hai, chúng dễ dàng được tế bào trình diện kháng nguyên xử lý và thứ ba là hệ thống miễn dịch có số lượng lớn hơn bình thường những tế bào có khả năng đáp ứng với protein sốc nhiệt. Ngoài ra tế bào lympho T có TCR với chuỗi γ/δ sẽ nhận diện rõ hơn các quyết định kháng nguyên trên protein sốc nhiệt như HSP 65 của *Mycobacterium bovis*. Tất cả những điều trên cho thấy đáp ứng chống protein sốc nhiệt là sự bảo vệ chủ yếu của cơ thể chống vi khuẩn gây bệnh.

1.3.2. Miễn dịch đối với vi khuẩn nằm trong tế bào

Một số vi khuẩn như vi khuẩn sảy thai truyền nhiễm (*Brucella abortus*), vi khuẩn lao (*Mycobacterium tuberculosis*), *Campylobacter jejuni*, *Rodococcus equi*, *Listeria monocytogenes*, *Corynebacterium Pseudotuberculosis* và *Salmonella* có thể sinh trưởng dễ dàng bên trong đại thực bào. Ngoài ra *L. monocytogenes* có thể di chuyển từ tế bào này đến tế bào khác mà không cần phải tiếp xúc với dịch ngoại bào. Vi khuẩn sử dụng những cách tác động khác nhau để chúng sống sót trong đại thực bào. Một số sử dụng vỏ ngoài để chống lại enzyme của lysosome. Số khác lại có khả năng bảo đảm cho chúng không bao giờ tiếp xúc với enzyme này. Thí dụ *Mycobacteria*, *Aspergillus flavus*, *Brucella abortus* và *Chlamydia psittaci* ngăn cản lysosome kết hợp với phagosome; như vậy, lysosome vẫn phân phối trong bào tương mà vi khuẩn cũng vẫn tiếp tục sinh trưởng trong bào tương. Cơ chế thứ ba để tránh sự tiêu diệt là tránh khỏi phagosome và tồn tại tự do trong bào tương. Phương thức này được một số *Mycobacteria* và *Listeria monocytogenes* sử dụng.

Khả năng chống lại vi khuẩn bên trong tế bào là nhờ hoạt hoá đại thực bào. Mặc dù bình thường, đại thực bào ở động vật chưa được miễn dịch không có khả năng tiêu diệt những vi khuẩn này song chúng sẽ thu được khả năng ấy sau 10 ngày cơ thể bị nhiễm khuẩn và đại thực bào được hoạt hoá. Sự hoạt hoá này là do IFN- γ và IL-2 được giải phóng từ tế bào Th1 miễn cảm. Đáp ứng của tế bào này là không đặc hiệu, đặc biệt là trong nhiễm khuẩn *Listeria*, đại thực bào được hoạt hoá có khả năng tiêu diệt một lượng lớn các vi khuẩn có sức đề kháng bình thường. Như vậy một động vật nhiễm *Listeria monocytogenes* khỏi bệnh sẽ tăng khả năng đề kháng với vi khuẩn lao *Mycobacterium tuberculosis*. Sự tăng sinh các đại thực bào hoạt hoá này thường trùng với sự xuất hiện

phản ứng quá mẫn muộn với kháng nguyên tiêm nội bì. Miễn dịch bảo vệ chống lại vi khuẩn này không được tạo ra với vi khuẩn chết mà chỉ có khi vaccine chế từ vi khuẩn sống. Sự khác nhau đó là do sự kích thích khác nhau của vi khuẩn sống và vi khuẩn chết với các quần thể tế bào lympho T hỗ trợ. Nhiễm *B. abortus* sống kích thích tế bào Th1 tiết IFN- γ . Miễn dịch của chuột với các chất chiết protein của *Brucella* làm cho tế bào Th2 tiết ra IL-4. *L. monocytogenes* hoặc *B. abortus* sống làm đại thực bào tiết ra TNF- α . Ngược lại, vi khuẩn *Brucella* chết kích thích sản xuất IL-1 ở mức độ cao hơn vi khuẩn sống. Sự đề kháng chống lại vi khuẩn nội bào thường chỉ trong một thời gian ngắn, chỉ tồn tại khi vi khuẩn sống vẫn còn trong cơ thể (trừ trường hợp với vi khuẩn lao: có tồn tại một trí nhớ miễn dịch kéo dài).

Nếu trong một bệnh nhiễm khuẩn thấy vaccine chết không tạo ra được miễn dịch tốt, hàm lượng kháng thể không tương quan với sức đề kháng và phản ứng quá mẫn là do các kháng nguyên vi khuẩn thì khi đó phải xem đến vai trò quan trọng của miễn dịch tế bào.

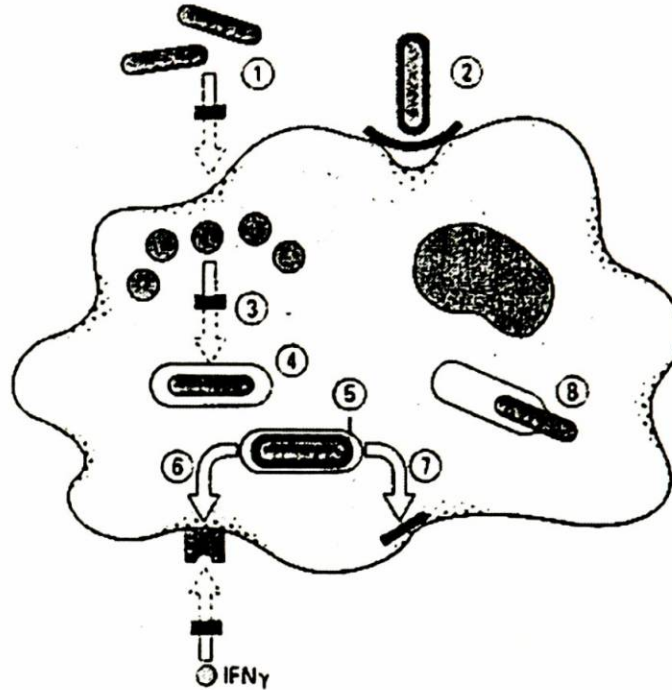
1.3.3. Tiến triển của bệnh nhiễm khuẩn do đáp ứng miễn dịch

Một đáp ứng miễn dịch sẽ ảnh hưởng rõ rệt đến tiến triển nặng nhẹ của bệnh. Đáp ứng tốt nhất là giúp con vật khỏi bệnh. Tuy nhiên, trong trường hợp không khỏi thì quá trình nhiễm khuẩn có thể diễn biến phức tạp, phụ thuộc vào đáp ứng tế bào hay đáp ứng kháng thể. Như vậy tế bào T hỗ trợ với vai trò khống chế bệnh nên có ảnh hưởng đến quá trình của bệnh. Như đã mô tả trước đây, đáp ứng tế bào cần thiết để khống chế các bệnh do vi khuẩn nằm trong tế bào. Chỉ có các tế bào hoạt hoá mới có thể ngăn cản được sự sinh trưởng của những vi khuẩn này. Sự hoạt hoá đại thực bào đòi hỏi tế bào Th1 sản xuất IL-2 và IFN- γ . Khi đại thực bào được hoạt hoá chúng có thể hạn chế sự nhiễm khuẩn trong một khu vực nhất định hoặc loại bỏ được nhiễm khuẩn này. Ngược lại, nếu đáp ứng miễn dịch với các vi khuẩn đó không đạt được kết quả mong muốn thì Th2 sẽ được kích thích; đáp ứng tế bào không phát triển được, đại thực bào không được hoạt hoá và dẫn đến bệnh mãn tính. Thí dụ bệnh hủi có hai dạng: dạng hủi lành tính và dạng hủi ác tính. Hủi lành tính có đặc điểm là vi khuẩn sinh trưởng phát triển ít, đáp ứng miễn dịch tế bào mạnh với các đại thực bào hoạt hoá và đáp ứng kháng thể thấp đối với trực khuẩn. Ngược lại hủi ác tính có đặc điểm là vi khuẩn phát triển mạnh, hàm lượng kháng thể cao và đáp ứng miễn dịch tế bào yếu. Tiên lượng của bệnh hủi thể ác tính xấu hơn nhiều so với hủi lành tính. Cũng tương tự như vậy với bệnh johnie của cừu, ở một số gia súc có tiến triển bệnh ác tính. Nơi ruột bị tổn thương có một lượng lớn vi khuẩn và về tổ chức học thấy có ít đáp ứng miễn dịch tế bào. Ngược lại, ở cừu có thể tiến triển lành tính thì nơi tổn thương chứa rất ít vi khuẩn nhưng có nhiều tế bào lympho. Ở người bị mắc hủi thể ác tính, trong đáp ứng miễn dịch có huy động các tế bào Th2 nhiều hơn nên IL-4 và IL-10 được sản xuất. IL-10 làm giảm sản xuất IL-12 nên lại làm tế bào Th1 giảm tiết IFN- γ . Do IFN- γ cần thiết để hoạt hoá đại thực bào nên khi giảm tiết yếu tố này sẽ làm giảm khả năng khống chế vi khuẩn khu trú trong tế bào như vi khuẩn hủi (*Mycobacterium leprae*). Ngược lại ở những bệnh nhân tiến triển dạng hủi lành tính thì tế bào Th1 chiếm ưu thế trong đáp ứng miễn dịch. Đại thực bào tại các tổn thương này

được IL-2 và IFN- γ cũng như các cytokin có nguồn gốc đại thực bào IL-1, TNF- α và IL-6 hoạt hoá. Tương tự như vậy, ở cừu bị bệnh johne, những con mắc bệnh thể lành tính có tế bào lympho T đáp ứng nhiều hơn với kháng nguyên, sản xuất IL-2 và IFN- γ nhiều hơn những con mắc thể ác tính. Ngược lại, cừu mắc thể ác tính có lượng kháng thể cao hơn. Như vậy, cừu bị bệnh johne thể lành tính tạo được miễn dịch có tế bào Th1 chiếm ưu thế trong khi cừu mắc thể ác tính chủ yếu là những đáp ứng của tế bào Th2.

1.4. Sự tránh thoát miễn dịch của vi khuẩn

Vi khuẩn cũng giống như tất cả ký sinh trùng có thể phát triển các cơ chế để chúng tránh thoát được các đáp ứng miễn dịch (hình 12.3):



Hình 12.3. Cơ chế tránh thoát miễn dịch của vi khuẩn

1. Vi khuẩn có thể tiết độc tố ức chế hướng động hoá học.
2. Vi khuẩn có vỏ hoặc vỏ ngoài ức chế sự bám dính của đại thực bào
3. Vi khuẩn giải phóng yếu tố ức chế các cơ chế diệt khuẩn sau đó
4. Vi khuẩn tiết catalase phân giải H₂O₂
5. Vi khuẩn có vỏ ngoài có sức đề kháng cao
6. Vi khuẩn lao cũng giải phóng chất ức chế khả năng của đại thực bào đáp ứng với tác dụng hoạt hoá của IFN- γ .
7. Các tế bào bị nhiễm, cũng có thể mất khả năng gây nhiễm do các tế bào trình diện kháng nguyên
8. Vi sinh vật tránh thoát phagosome, nhân lên trong bào tương

Vỏ chống thực bào cùng với sự sinh trưởng của vi sinh vật trong tế bào sẽ cản trở sự tiêu diệt vi khuẩn. Protein M của *Staphylococcus equi* làm giảm sự opsonin hoá bằng cách tác động đến sự lắng đọng của bổ thể trên bề mặt vi khuẩn. Protein M của *Streptococcus pyogenes* có thể kết hợp với fibrinogen làm che khuất vị trí kết hợp bổ thể của C3. Nó cũng có thể gắn vào yếu tố H và hoạt hoá yếu tố I, làm bất hoạt C3b kết hợp. Các vi khuẩn như *E.coli*, vi khuẩn lao (*M. tuberculosis*) và trực khuẩn mủ xanh (*Pseudomonas aeruginosa*) tiết ra những phân tử ức chế sự thực bào của bạch cầu trung

tính. *S. aureus* có thể ức chế sự hướng động hoá học và thực bào bằng cách sản sinh độc tố như streptolysin O làm phân giải màng tế bào của bạch cầu trung tính. Đáng chú ý nhất là *Pasteurella haemolytica* tiết ra độc tố giết chết đại thực bào phế nang của động vật nhai lại và các tế bào lympho của cừu (loại độc tố bạch cầu leukotoxin này đã được đưa vào trong vaccine phòng bệnh tụ huyết trùng có hiệu quả) và *Moraxella bovis* tiết ra leucotoxin gây độc cho bạch cầu trung tính của bò. *Haemophilus pleuropneumoniae* tiết ra độc tố giết chết đại thực bào của lợn. *Mycoplasma mycoides* và có thể cả các *Mycoplasma* khác né tránh đáp ứng miễn dịch bằng nhiều cách khác nhau do gây độc đối với tế bào lympho T của bò. Độc tố nấm aflatoxin cũng là chất ức chế miễn dịch làm giảm sức đề kháng của gia cầm đối với vi khuẩn *Salmonella* và tụ huyết trùng *Pasteurella multocida*.

Các vi khuẩn khác ức chế tác dụng diệt khuẩn của tế bào một cách tinh tế hơn. Thí dụ sắc tố caroten đóng vai trò tạo màu sắc ở *S. aureus* có khả năng làm ngừng tác động của oxygen và giúp vi khuẩn sống sót. *S. aureus* ức chế thực bào bằng protein A trên bề mặt của nó. Protein A gắn vào khu vực Fc của phân tử IgG ngăn cản immunoglobulin gắn vào receptor trên tế bào thực bào và opsonin hoá vi khuẩn. Vi khuẩn tụ huyết trùng (*P. multocida*) và *Haemophilus somnus* cũng có khả năng ức chế hô hấp. Một số vi khuẩn né tránh sự tiêu diệt của bổ thể bằng cách ngăn cản sự hoạt hoá bổ thể theo con đường luân phiên.

S. typhimurium có gene Rck tạo sự kháng lại tác dụng dung giải của bổ thể bằng cách ngăn cản phức hợp tấn công màng của bổ thể gắn vào màng ngoài của vi khuẩn. Các vi khuẩn khác có cấu trúc bề mặt tác động đến convertase của C3. Những hình thức khác được vi khuẩn gây bệnh sử dụng là sản xuất protease đặc hiệu với IgA như protease của *Haemophilus influenzae* và *Streptococcus pneumoniae* sinh ra. *P. aeruginosa* tiết protease phân giải và phá huỷ IL-2. *Campylobacter fetus*, một vi khuẩn bình thường cư trú trong đường sinh dục của bò đực và bò cái, lại có cách là biến đổi kháng nguyên thường xuyên. Đáp ứng miễn dịch cục bộ tiêu diệt phần lớn các vi khuẩn và vẫn để lại một số trong quần thể đó những quyết định kháng nguyên mới (khác với các quyết định kháng nguyên cũ). Quần thể còn lại này sẽ nhân lên và sau đó bị một đáp ứng miễn dịch thứ cấp loại bỏ, rồi lại để lại một bộ phận của quần thể có loại kháng nguyên thứ ba. Quá trình này có thể lặp đi lặp lại trong một thời gian dài dẫn đến nhiễm khuẩn dai dẳng.

1.5. Một số hậu quả có hại của đáp ứng miễn dịch chống vi khuẩn

Mặc dù đáp ứng miễn dịch có lợi vì thường loại bỏ được vi khuẩn xâm nhập, tuy nhiên không phải bao giờ cũng như vậy. Đáp ứng miễn dịch ảnh hưởng đến quá trình của bệnh nhưng không có tác dụng chữa bệnh, trong một số trường hợp còn có thể làm bệnh trầm trọng thêm. Hậu quả có hại của đáp ứng miễn dịch thể hiện ở các loại phản ứng quá mẫn. Phản ứng quá mẫn cục bộ type I đôi khi gặp ở cừu được tiêm vaccine *Fusobacterium necrophorus* chống bệnh thối móng. Song, trong trường hợp này, cũng có thể phản ứng quá mẫn giúp ngăn cản bệnh tái phát.

Phản ứng type II có thể gặp ở những động vật thiếu máu do mắc *Salmonella*. Trong trường hợp này, lipopolysaccharide được giải phóng từ vi khuẩn dung giải sẽ được hồng cầu hấp thu. Và rồi đáp ứng miễn dịch tiếp theo chống vi khuẩn và sản phẩm của chúng lại sẽ phá huỷ hồng cầu. Hiện tượng thiếu máu tương tự cũng gặp ở bệnh leptospirosis nhưng cơ chế còn chưa rõ. Kháng thể của động vật nhiễm bệnh gây ngưng kết hồng cầu bình thường của động vật ấy trước khi bị bệnh.

Phản ứng quá mẫn type III góp phần gây viêm khớp ở lợn bị mắc bệnh lợn đóng dấu hoặc tiến triển các tổn thương do vi khuẩn lao (*M. tuberculosis*) ở bệnh johne của cừu. Trong bệnh lợn đóng dấu, kháng nguyên của vi khuẩn có khuynh hướng khu trú trong các khớp xương, hình thành phức hợp miễn dịch dẫn đến viêm khớp. Bởi vậy, dùng kháng huyết thanh để gây miễn dịch thụ động nhằm điều trị bệnh nhưng lại có thể làm nặng thêm viêm khớp ở động vật nhiễm bệnh này. Trong bệnh johne ở cừu, phản ứng type I hoặc type III xảy ra ở niêm mạc ruột có thể làm tăng tiết dịch và gây tiêu chảy. Tuy nhiên, có thể những tổn thương tại ruột ấy có nguyên nhân rất phức tạp vì có thể gây tiêu chảy cho bê bình thường bằng truyền huyết tương hoặc bạch cầu, mặt khác dùng các chất kháng histamine lại có thể giảm tiêu chảy. Phản ứng quá mẫn type III có khi gây ra ban xuất huyết ở ngựa trong đó tổn thương do phức hợp miễn dịch có thể gây ra bởi đáp ứng miễn dịch với *S. equi*.

Đáp ứng tế bào rõ ràng là có lợi song nhiều khi cũng góp phần gây ra các u hạt khi bị nhiễm khuẩn mạn tính. Việc phát triển các u hạt lớn, một mặt có lợi là tạo bức ngăn cản vi khuẩn xâm nhập và như vậy ngăn cản chúng lây lan nhưng mặt khác cũng có thể gây ra những tác dụng có hại, đó là làm nên những u hạt ở tổ chức không bị nhiễm khuẩn. Nếu các u hạt này phát triển ở khí phế quản hoặc tại các mạch quản lớn thì có thể gây ra những tổn thương nghiêm trọng.

1.6. Một số vaccine chống vi khuẩn

1.6.1. Giải độc tố

Miễn dịch chống uốn ván cơ bản là sự trung hoà độc tố. Tiêm cho động vật giải độc tố uốn ván trong huyền dịch hydroxide nhôm, sau 10 - 14 ngày sẽ cho miễn dịch bảo vệ. Người ta lo ngại rằng sử dụng trước globulin miễn dịch có thể ảnh hưởng đến miễn dịch chống giải độc tố. Tuy nhiên thực tế không phải như vậy và có thể sử dụng đồng thời cả hai mà không bị ảnh hưởng gì, có lẽ vẫn thường xuyên cần một lượng nhỏ globulin miễn dịch để bảo vệ động vật.

Một số vaccine thú y kết hợp cả giải độc tố và vi khuẩn chết (xử lý bằng formon toàn bộ môi trường nuôi cấy) với liều tiêm một lần. Các sản phẩm loại này được sử dụng làm vaccine phòng *Clostridium hemolyticum* và *C. perfringens*. Xử lý bằng trypsin có thể làm tăng tính kháng nguyên của vaccine. Thường dùng chất bổ trợ là keo phèn đối với giải độc tố của hầu hết các vi khuẩn *Clostridium* hoặc độc tố do tụ cầu.

Bacterin

Bacterin là thuật ngữ sử dụng để chỉ vaccine vi khuẩn chết. Người ta thường giết chết vi khuẩn bằng formaldehyde và bổ sung keo phèn hoặc hydroxide nhôm. Miễn dịch

tạo ra chỉ tồn tại trong một thời gian ngắn, thường không quá một năm, đôi khi ngắn hơn. Vaccine phòng bệnh lợn đốm dậu có tác dụng bảo vệ trong 4 - 5 tháng và Bacterin của *S. equi* cho thời gian miễn dịch dưới 1 năm. Bacterin có thể được cải tiến bằng cách bổ sung các kháng nguyên gây miễn dịch tinh khiết vào vi khuẩn chết, ví dụ như bacterin phòng bệnh *E.coli* đường ruột được làm tăng hiệu lực bằng việc bổ sung kháng nguyên pili của chủng K88 hoặc K99. Kháng thể với các kháng nguyên này ngăn cản *E.coli* bám vào tế bào niêm mạc ruột và như vậy góp phần quan trọng trong đáp ứng bảo vệ. Cũng tương tự, bacterin của *Pasteurella* được làm tăng sinh trong giải độc tố bạch cầu (leukotoxoid) cho hiệu lực tốt hơn đối với bacterin bình thường. Các thành phần tinh khiết của vi khuẩn như kháng nguyên bề mặt của *P. hemolytica* cũng là những thành phần có hiệu lực của vaccine. Một vấn đề khó khăn gặp phải, đặc biệt khi sử dụng bacterin của *coliform* và *Campylobacter* là ở tính đặc hiệu về chủng. Mỗi loài vi sinh vật có một số loại kháng nguyên khác nhau; để sử dụng vaccine có hiệu quả đòi hỏi phải sử dụng chủng cần thiết, lưu hành ở mỗi vùng để gây miễn dịch. Khắc phục khó khăn này, người ta sử dụng vaccine chuồng (autogenous vaccine). Chúng là các bacterin chứa những vi sinh vật thu được từ động vật ở trại chăn nuôi có bệnh xảy ra hoặc từ chính các động vật nhiễm khuẩn. Những vaccine này sẽ rất có hiệu quả nếu được chế cẩn thận vì bacterin chứa tất cả các kháng nguyên cần thiết để gây miễn dịch bảo vệ tại địa phương. Để thay thế vaccine chuồng, một số bacterin đa giá có chứa một hỗn hợp nhiều loại kháng nguyên đã ra đời, thí dụ bacterin phòng bệnh leptospirosis thường chứa đến 5 type huyết thanh. Loại bacterin này mặc dù có tác dụng nhưng có thể kém hiệu lực vì chỉ một số loại kháng nguyên trong đó thích hợp ở từng điều kiện nhất định.

Một bước tiến quan trọng trong phát triển vaccine chống vi khuẩn gram âm là sử dụng kháng nguyên thân. Như đã đề cập trước đây, lớp ngoài của vách tế bào vi khuẩn gram âm có LPS chứa các oligosaccharide (kháng nguyên O) rất biến đổi gắn với polysaccharide và lipide A. Kháng nguyên thân O rất khác nhau giữa các vi khuẩn gram âm khác loài và khác giống vì vậy một đáp ứng miễn dịch chống lại kháng nguyên O này có thể không chống lại được vi khuẩn mang kháng nguyên O khác. Ngược lại, polysaccharide của thân lại tương tự như nhau giữa các vi khuẩn gram âm khác loài và khác giống nên một đáp ứng miễn dịch trực tiếp chống lại cấu trúc thân chung này có khả năng chống được nhiều vi khuẩn gram âm khác nhau.

Chủng đột biến của *E.coli* (J5) và *Salmonella typhimurium* (Rc) đã được sử dụng với nguồn kháng nguyên O. J5 thiếu uridine diphosphate galactose 4- epimerase nên vi khuẩn này tạo ra một chuỗi phụ oligosaccharide không hoàn toàn và mất phần lớn cấu trúc LPS bên ngoài. Gây miễn dịch bằng J5 tạo ra được miễn dịch chống *E. coli*, *Klebsiella*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *H. influenzae* (type B) và *S. typhimurium*. J5 đã được báo cáo là có tác dụng miễn dịch bảo vệ bê chống lại vi khuẩn *S. typhimurium*, *E.coli* và có tác dụng chống viêm vú do *coliform*.

1.6.2. Vaccine vi khuẩn sống

Có thể nói thành công nhất của vaccine sống hiện nay là vaccine chủng 19 của vi khuẩn gây sẩy thai *B. abortus*. Ngoài ra còn có vaccine phòng bệnh nhiệt thán. Vaccine

nhiệt thán trước đây sử dụng kỹ thuật pasteur, nuôi cấy vi khuẩn ở nhiệt độ tương đối cao (42-43°C) nhằm làm giảm độc lực. Vaccine nhiệt thán hiện tại có đột biến về vỏ ít hơn và vẫn giữ khả năng hình thành nha bào. Nó được chế ở dạng huyền dịch nha bào với saponin. Vaccine chế từ *S. dublin* (chủng 51) được sử dụng tại châu Âu cho miễn dịch tốt ở bê 2- 4 tuần tuổi. Như đã đề cập trước đây, miễn dịch đối với *Salmonella* chủ yếu là miễn dịch tế bào và tương đối không đặc hiệu. Do vậy chủng 51 (*S. dublin*) cũng có thể tạo miễn dịch bảo vệ chống *S. typhimurium*.

Vaccine phòng bệnh viêm màng phổi truyền nhiễm bò là vaccine sống giảm độc lực chế từ vi khuẩn được nuôi cấy ở trứng; bằng đường tiêm vaccine vào đỉnh đuôi của bò sẽ cho miễn dịch tốt. Tuy nhiên, đáp ứng với vaccine làm bò rất mệt, thường thấy đuôi chúng rũ xuống. Mức độ nặng nhẹ của phản ứng trên thường tương quan với mức độ miễn dịch sản sinh ra. Vaccine có tính độc yếu cho miễn dịch bảo vệ kém và vaccine có tính độc mạnh cho khả năng bảo vệ tốt. Miễn dịch tốt được tạo ra bằng cách tiêm vaccine dưới da và nếu cần thiết thì hạn chế các phản ứng sau đó bằng tylosin.

1.7. Chẩn đoán huyết thanh bệnh nhiễm khuẩn

Phản ứng ngưng kết thường được sử dụng rộng rãi để chẩn đoán bệnh nhiễm khuẩn, đặc biệt là bệnh do vi khuẩn gram âm như bệnh do vi khuẩn sẩy thai truyền nhiễm (*Brucella*), *Salmonella*. Phản ứng ngưng kết thường sử dụng là chuẩn độ huyết thanh (kháng thể) kháng lại các huyền dịch kháng nguyên chuẩn. Vi khuẩn không có kháng nguyên giống nhau nhưng chúng có dấu ấn của nhiều kháng nguyên khác nhau. Vi khuẩn di động có kháng nguyên lông (H) và sự ngưng kết của kháng thể với kháng nguyên lông sẽ tạo ra các cụm ngưng kết giống như bông. Ngưng kết của kháng nguyên thân O làm hình thành các cụm ngưng kết chặt vì vậy hình thành những hạt mịn. Rất nhiều vi khuẩn có một số kháng nguyên O, kháng nguyên H cũng như kháng nguyên vỏ (K) và kháng nguyên pili (F). Bằng cách sử dụng kháng nguyên đặc hiệu có thể xác định được cấu trúc kháng nguyên và phân loại nó, như người ta đã phân loại được khoảng 2400 type huyết thanh của *Salmonella*.

Kháng nguyên lông (H) bị nhiệt phá huỷ trong khi kháng nguyên O chịu nhiệt và vì vậy vẫn giữ nguyên vẹn ở vi khuẩn bị giết bằng nhiệt. Tính chịu nhiệt của kháng nguyên K rất thay đổi. Kháng nguyên L của *E.coli*, một kháng nguyên vỏ không chịu nhiệt trong khi kháng nguyên K chịu nhiệt. *Salmonella typhi* có kháng nguyên Vi mặc dù chịu nhiệt nhưng lại bị nhiệt loại ra khỏi tế bào vi khuẩn. Sự có mặt của kháng nguyên K hoặc Vi ở một vi khuẩn làm cho kháng nguyên O không ngưng kết được và do đó phản ứng ngưng kết không xảy ra. Khi vi khuẩn có dạng khuẩn lạc thô (R) thì không tạo ra được huyền dịch bền vững và vì vậy không cho phép định type bằng phản ứng ngưng kết.

Phản ứng ngưng kết vi khuẩn có thể thực hiện trên phiến kính, trong ống nghiệm hoặc trên đĩa chất dẻo. Phản ứng ngưng kết trong ống nghiệm thường sử dụng để chẩn đoán bệnh do *Salmonella*, *Brucella* hoặc do *Campylobacter* gây ra. Phản ứng ngưng kết trên phiến kính thường dùng cho kiểm tra kháng nguyên *Brucella* từ vi khuẩn *Brucella*

được giết chết và nhuộm màu rồi đưa vào chất đệm acid (pH 3,6). Chất nhuộm ở đây thường là chất đỏ bengal (rose bengal) hoặc hỗn hợp tinh thể tím và xanh sáng để dễ dàng đọc kết quả của phản ứng. Ở pH thấp như vậy thì phản ứng ngưng kết không đặc hiệu do kháng thể IgM bị loại bỏ. Phản ứng ngưng kết của *Brucella* trên đĩa có chất đệm đặc hiệu đến 99% và nhạy cảm đến 95% đã được sử dụng rộng rãi giúp loại trừ được bệnh sẩy thai truyền nhiễm do *Brucella* gây ra ở nhiều nước. Bệnh bạch lỵ do *Salmonella pullorum* ở gia cầm có thể chẩn đoán bằng phản ứng ngưng kết trên phiến kính, trong đó vi khuẩn bị giết chết được nhuộm bằng tím gentian và trộn lẫn với toàn bộ máu gà. Nếu có kháng thể, hiện tượng ngưng kết dễ dàng quan sát thấy. Bệnh Leptospirosis được chẩn đoán bằng phản ứng ngưng kết đọc dưới kính hiển vi. Kỹ thuật này ưu tiên để phát hiện IgM nên giúp phát hiện các vụ dịch mới xảy ra, đồng thời giúp phân biệt rất tốt giữa động vật bị nhiễm khuẩn với động vật được tiêm vaccine. Huyết thanh không phải là nguồn kháng thể duy nhất cho chẩn đoán. Nếu nhiễm khuẩn có tính chất cục bộ và ở nông thì có kháng thể trong một số dịch khác của cơ thể như sữa, dịch âm đạo hoặc dịch mũi. Phản ứng phát hiện sự có mặt của kháng thể *Brucella* trong sữa sẽ cho ngưng kết hình vòng nhẫn. Sữa tươi được trộn với vi khuẩn nhuộm hematoxylin hoặc tryphenyl tetrazolium rồi để cố định. Nếu có kháng thể, đặc biệt là IgM hoặc IgA, vi khuẩn sẽ ngưng kết thành cụm và dính vào các giọt mỡ nhỏ của sữa làm thành dạng kem có màu thuốc nhuộm nổi lên bề mặt. Nếu không có kháng thể thì vi khuẩn nhuộm màu sẽ phân tán trong sữa, kem vẫn nổi lên nhưng giữ màu trắng.

2. MIỄN DỊCH ĐỐI VỚI NẤM

Sự phòng vệ đầu tiên chống lại sự gây nhiễm của nấm (như *Candida* hoặc *Aspergillus*) là hoạt hoá bổ thể theo con đường luân phiên dẫn đến hoạt hoá bạch cầu trung tính để bạch cầu trung tính nuốt các sợi nấm xâm nhiễm. Do kích thước, bạch cầu trung tính không thể nuốt toàn bộ nấm xâm nhập. Tuy nhiên bằng cách giải phóng enzyme vào dịch của tổ chức, bạch cầu trung tính có thể phá huỷ các sợi nấm để rồi những phần nhỏ của nấm hoặc bào tử có thể bị đại thực bào hoặc tế bào diệt tự nhiên nuốt và phân huỷ.

Nhiễm nấm chỉ có thể được giải quyết bằng cơ chế miễn dịch tế bào do tế bào lympho T điều khiển. Như vậy, khi *Aspergillus* ký sinh trong tế bào hoặc khi thiếu hụt tế bào lympho T thì bệnh nấm thường tiến triển hoặc trở thành mạn tính. Tế bào lympho T tác động bằng cách hoạt hoá đại thực bào và bằng cách thúc đẩy sự phát triển của tế bào thượng bì cũng như tế bào sừng. Một số tế bào lympho T và tế bào diệt tự nhiên có thể gây độc với nấm men như *Cryptococcus neoformans* và *Candida albican*. Phản ứng quá mẫn type IV đối với kháng nguyên nấm không phải là ít gặp.

Vaccine phòng bệnh nấm đồng tiền, *Microporum canis*, là vaccine chết có chất bổ trợ có khả năng làm giảm tỷ lệ nhiễm nấm cho mèo khoẻ và làm giảm tổn thương cho mèo đang bị nhiễm. Đây là bệnh nhiễm nấm mà nhiều mèo có thể tự khỏi. Tuy nhiên

bệnh đường như có khả năng tồn tại dai dẳng ở một số cá thể, đặc biệt là ở giống mèo lông dài. Bệnh có thể trở thành mãn tính do không tạo được miễn dịch.

3. MIỄN DỊCH CHỐNG VIRUS

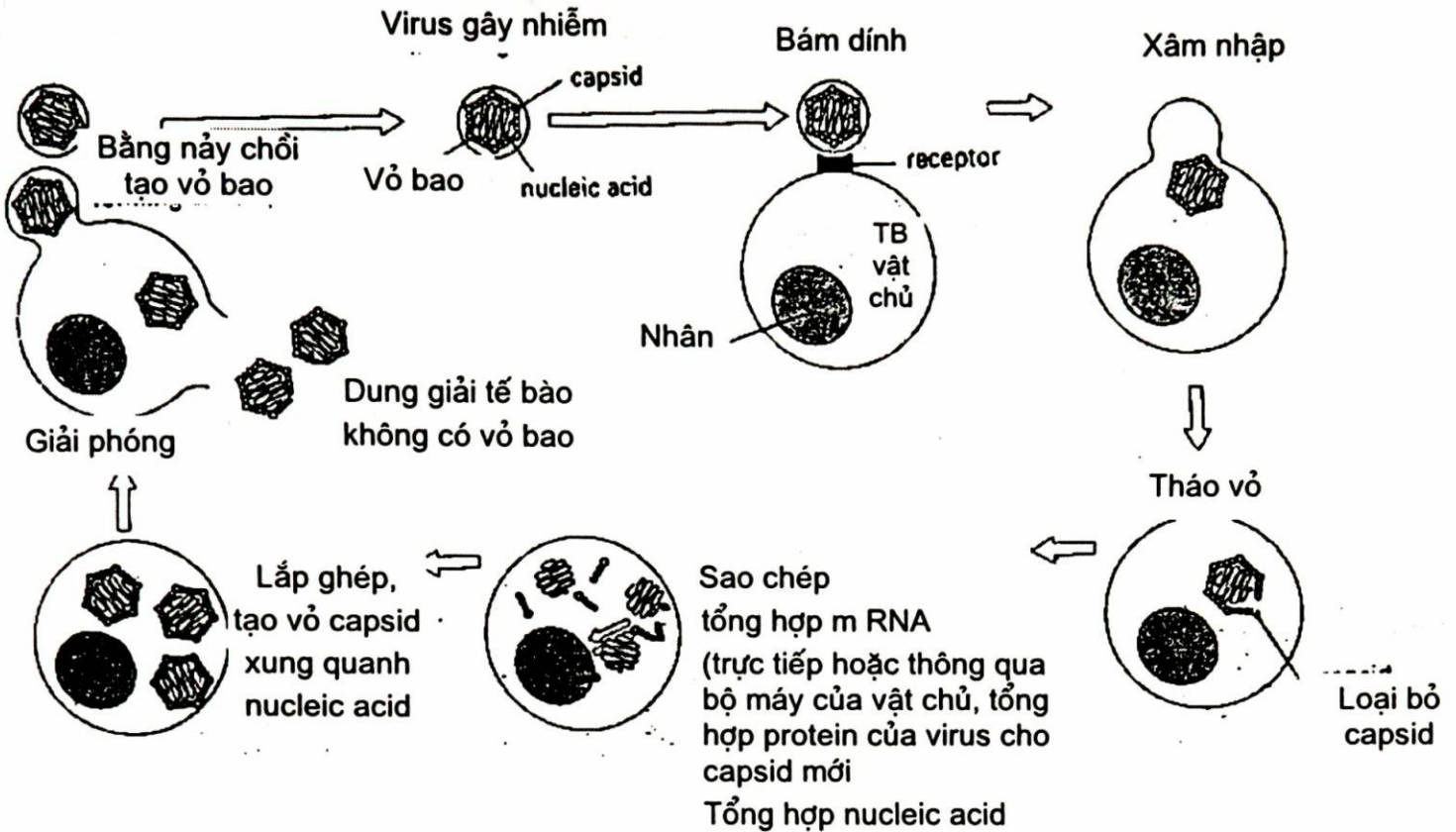
Virus bắt buộc phải sống trong tế bào và số phận của chúng cũng sẽ bị đe dọa với đáp ứng miễn dịch. Cả virus và vật chủ chịu một sự chọn lọc và thích nghi nghiêm ngặt. Virus có khả năng chọn lọc để thoát khỏi đáp ứng miễn dịch của vật chủ và đồng thời vật chủ lại lựa chọn để kháng lại bệnh do virus gây ra, vì vậy thường có một mối tương quan nghịch giữa diễn biến của bệnh với độc lực của virus. Trong một bệnh nhiễm virus mà sự thích nghi của vật chủ đối với virus rất kém thì bệnh có xu hướng diễn biến nặng. Thí dụ rõ rệt là ở bệnh dại. Bệnh dại gây ra tử vong không thể tránh khỏi ở chó, mèo, ngựa và trâu bò vì những động vật này không phải là vật chủ tự nhiên của chúng nhưng ở những vật chủ tự nhiên, đặc biệt là dơi, chồn hôi, virus có thể tồn tại dai dẳng và thải vào nước bọt suốt trong thời gian dài mà không gây bệnh. Một số bệnh khác thuộc loại này như bệnh do virus cường độc *Newcastle* (bệnh này phòng bằng vaccine rất có hiệu quả). Khi vật chủ và virus thích nghi được với nhau nhiều hơn thì dù bệnh có thể diễn biến nặng nhưng tỷ lệ chết không cao và virus có thể tồn tại dai dẳng, tiếp tục gây hại do đột biến kháng nguyên. Có thể nêu một ví dụ của loại nhiễm virus này là bệnh do virus lở mồm long móng và virus cúm. Sử dụng vaccine phòng các bệnh này rất khó do sự đa dạng của kháng nguyên virus.

Với số virus có khả năng thích nghi cao hơn thì hệ thống miễn dịch không có khả năng loại bỏ chúng nên thường gây ra nhiễm virus dai dẳng, ví dụ như bệnh thiếu máu truyền nhiễm ở ngựa, bệnh AIDS ở người. Thậm chí virus biến đổi ngay trong khi cơ thể đang nhiễm bệnh và chúng thường xuyên thoát khỏi hệ thống miễn dịch. Sử dụng vaccine phòng những bệnh này thường không hiệu quả. Do sự thích nghi của bệnh, virus có thể gây bệnh ở dạng tiềm ẩn và bệnh diễn biến thường nhẹ, không gây tử vong. Bệnh nhiễm herpesvirus được xếp vào loại này. Virus thích nghi tốt nhất là khi bộ gene của nó hoà nhập vào bộ gene của vật chủ. Những bệnh này gặp ở các động vật phòng thí nghiệm và ở một số vật nuôi như mèo.

3.1. Cấu trúc và kháng nguyên của virus

Virus bao gồm lõi là acid ribonucleic được bao quanh là một lớp các tiểu phần protein lặp lại. Lớp protein này được gọi là capsid và các tiểu đơn vị của nó được gọi là capsomer. Virus cũng có thể được bao quanh bởi một vỏ bao, gồm các lipoprotein có nguồn gốc một phần từ tế bào của vật chủ. Một số virus có cấu trúc rất phức tạp (thí dụ như virus đậu) trong khi một số virus khác lại tương đối đơn giản (thí dụ virus gây bệnh lở mồm long móng). Kháng thể có thể được sản xuất để chống lại tất cả các quyết định kháng nguyên nằm cả bên trong và trên bề mặt của virus. Kháng thể chống các thành phần của nucleoprotein thường không có ý nghĩa quan trọng về mặt miễn dịch bảo vệ nhưng có vai trò nhất định trong chẩn đoán.

3.2. Cơ chế bệnh sinh trong nhiễm virus



Hình 12.4. Quá trình nhiễm virus và sự sao chép của virus trong tế bào chủ

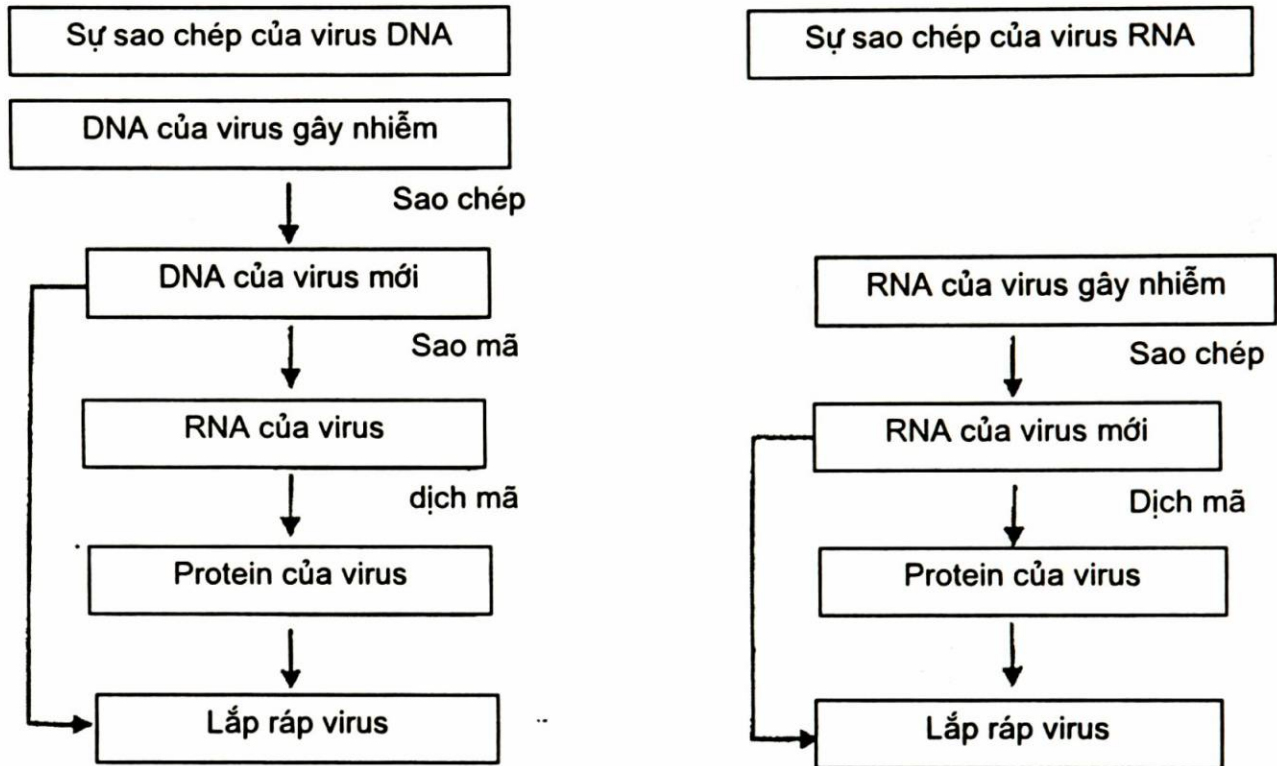
Sự xâm nhập của một virus vào tế bào vật chủ bắt đầu khi virus gắn vào receptor trên bề mặt tế bào. Hiện tượng này được gọi là sự bám dính. Receptor không phải tạo ra để làm tiện lợi cho virus mà chúng có một số tác dụng sinh lý trên các tế bào bình thường. Virus đại gắn vào receptor của acetylcholine, chất dẫn truyền thần kinh. Rhinovirus (gây cảm lạnh) gắn vào integrin trên bề mặt tế bào. Bản chất, số lượng và sự phân phối các receptor của tế bào vật chủ xác định vai trò của vật chủ và tính kích thích tổ chức của một virus. Vào trong tế bào, capsid của virus vỡ ra giải phóng acid nucleic vào bào tương, đây là quá trình tháo vỏ. Gene của virus bắt đầu quá trình sao chép (hình 12.4).

Đầu tiên là tổng hợp DNA, RNA; việc tổng hợp protein của tế bào vật chủ bị ức chế vì chỉ có các thông tin di truyền của virus được thể hiện. Việc nhân bản có sự khác nhau giữa các virus. Thí dụ herpesvirus chứa DNA, sự sao chép bắt đầu từ DNA cho số lượng bản sao DNA tăng lên. Sau đó thông tin lại được sao chép sang RNA thông tin để cuối cùng là việc dịch mã cho protein mới của vỏ capsid. Protein mới được lắp ráp với axit nucleic thành hạt virus mới, đó là những virion hoàn chỉnh. Tế bào của vật chủ cũng sao chép acid nucleic của virus vì vậy một lượng lớn DNA của virus được sản xuất. Nếu không có vỏ bao, khi các tế bào nhiễm virus bị phân huỷ thì các virion giải phóng acid nucleic vào môi trường. Nếu có vỏ bao, virion rời khỏi tế bào bằng cách nảy chồi trên mặt tế bào. Màng tế bào bao bọc xung quanh chúng có tác dụng là một vỏ bao mới. Virion được giải phóng lại có thể gây nhiễm vào tế bào bên cạnh.

Khi một virus chứa RNA (chứ không phải là DNA) thì sự sao chép của nó hơi khác. Đối với phần lớn virus chứa RNA, như virus gây bệnh Newcastle và virus lở mồm long

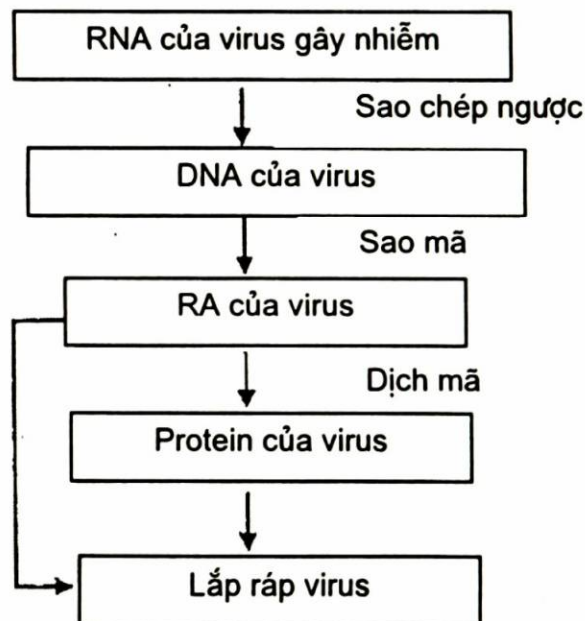
móng thì quá trình nhân lên không sử dụng DNA. Ở bệnh nhiễm virus lở mồm long móng, chuỗi RNA đơn của virus được sử dụng làm khuôn để tổng hợp một chuỗi RNA bổ sung nhỏ. Sau đó các chuỗi RNA nhỏ này được sử dụng để tổng hợp chuỗi bổ sung mới rồi từ đó dịch mã thành protein của virus. Với virus chứa RNA sợi đôi thì chúng chỉ sử dụng một giai đoạn trong quá trình sao chép.

Ở những virus RNA khác thì RNA của virus gây nhiễm bổ sung cho RNA vừa mới tổng hợp của virus và sẽ được dịch mã thành protein của virus (hình 12.5).



Hình 12.5. Cơ chế sao chép của virus DNA và RNA

Có cơ chế khác được sử dụng ở một số virus gây khối u và virus gây thiếu hụt miễn dịch (hình 12.6.a.), đó là retrovirus.



Hình 12.6.a. Cơ chế sao chép của retrovirus

Trước hết, RNA của chúng được sao chép ngược vào DNA nhờ enzyme sao chép ngược transcriptase. DNA mới hình thành của virus chuyển vào nhân tế bào và sau đó hoà nhập vào bộ gene của tế bào vật chủ ở dạng tiền virus. DNA của tiền virus lại được dịch mã vào RNA cũng như có khả năng tự sao chép. Protein được tổng hợp và RNA tạo thành virion mới hoàn toàn. Sự biến đổi ở tế bào nhiễm virus có khi là rất nhỏ, có khi chỉ phát hiện được nhờ các kháng nguyên mới trên bề mặt tế bào. Tuy nhiên, đôi khi có những biến đổi lớn và đưa đến hoặc dung giải tế bào hoặc biến đổi ác tính và phát triển khối u.

3.3. Các cơ chế kháng virus

3.3.1. Cơ chế phòng vệ không đặc hiệu

Cơ chế miễn dịch không đặc hiệu tác động đến quá trình nhiễm của nhiều loại virus. Thí dụ enzyme trong dịch ruột và mật có khả năng phá huỷ một số virus. Họ các protein ái carbohydrate, collectin có thể gắn vào glycoprotein trên bề mặt của virus, ức chế sự tương tác giữa vật chủ và virus.

3.3.2. Interferon

Interferon là cytokin được giải phóng từ tế bào vài giờ sau khi virus xâm nhập và sau vài ngày nồng độ cao interferon có thể đạt được *in vivo* khi mà đáp ứng miễn dịch sơ cấp đã phát triển. Thí dụ bò tiếp nhận herpesvirus-1 qua đường tĩnh mạch sẽ có lượng cao nhất interferon trong huyết thanh sau 2 ngày, sau đó giảm xuống nhưng vẫn có thể phát hiện được sau 7 ngày. Ngược lại, kháng thể thường chỉ phát hiện được trong huyết thanh ở thời điểm 5- 6 ngày sau khi nhiễm virus.

Như đã mô tả, interferon là một glycoprotein có trọng lượng phân tử 20- 34 kDa. Chúng có 2 loại chính.

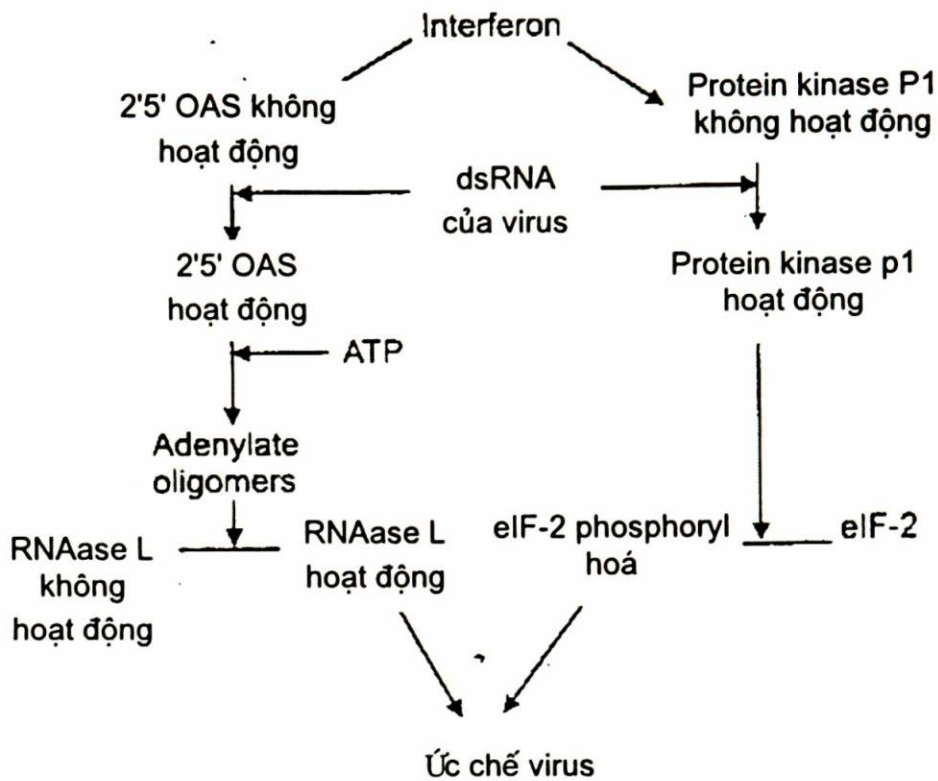
Loại 1 bao gồm interferon α (INF- α), một họ có số lượng lớn các phân tử khác nhau nguồn gốc bạch cầu (18 phân tử khác nhau ở người, 12 ở lợn và bò, 4 ở ngựa, 2 ở chó); interferon β (INF- β) có nguồn gốc từ các nguyên bào sợi nhiễm virus (5 ở bò và lợn, 1 ở chó và người); INF- ω hay còn gọi là INF- α I; dạng thứ tư của interferon, interferon τ (INF- τ) đã được phân lập từ lá nuôi của động vật nhai lại.

Interferon loại 2 bao gồm một protein, interferon γ (INF- γ), một cytokin có nguồn gốc từ các tế bào lympho T bị kháng nguyên kích thích. Interferon này bền ở pH 2,0 trong khi interferon loại 1 không bền ở pH thấp.

Có thể kiểm tra được tác dụng kháng virus của interferon. Thí dụ, các mẫu interferon được bổ sung vào tổ chức cấy nguyên bào sợi ở những độ pha loãng khác nhau và ủ ấm trong 18- 24 giờ. Các lớp nguyên bào sợi được rửa và sau cùng bổ sung một lượng virus gây viêm miệng bò. Sau ủ ấm 48 giờ, đem nhuộm màu và tìm virus có hình gậy trong lớp nguyên bào sợi, thấy lượng virus trong lớp tế bào này giảm rõ dưới tác dụng của interferon.

Tác dụng chống virus

Interferon được tế bào nhiễm virus tiết ra và gắn vào receptor có trên tế bào bên cạnh (hình 12.6.b).



Hình 12.6.b. Cơ chế chống virus của interferon

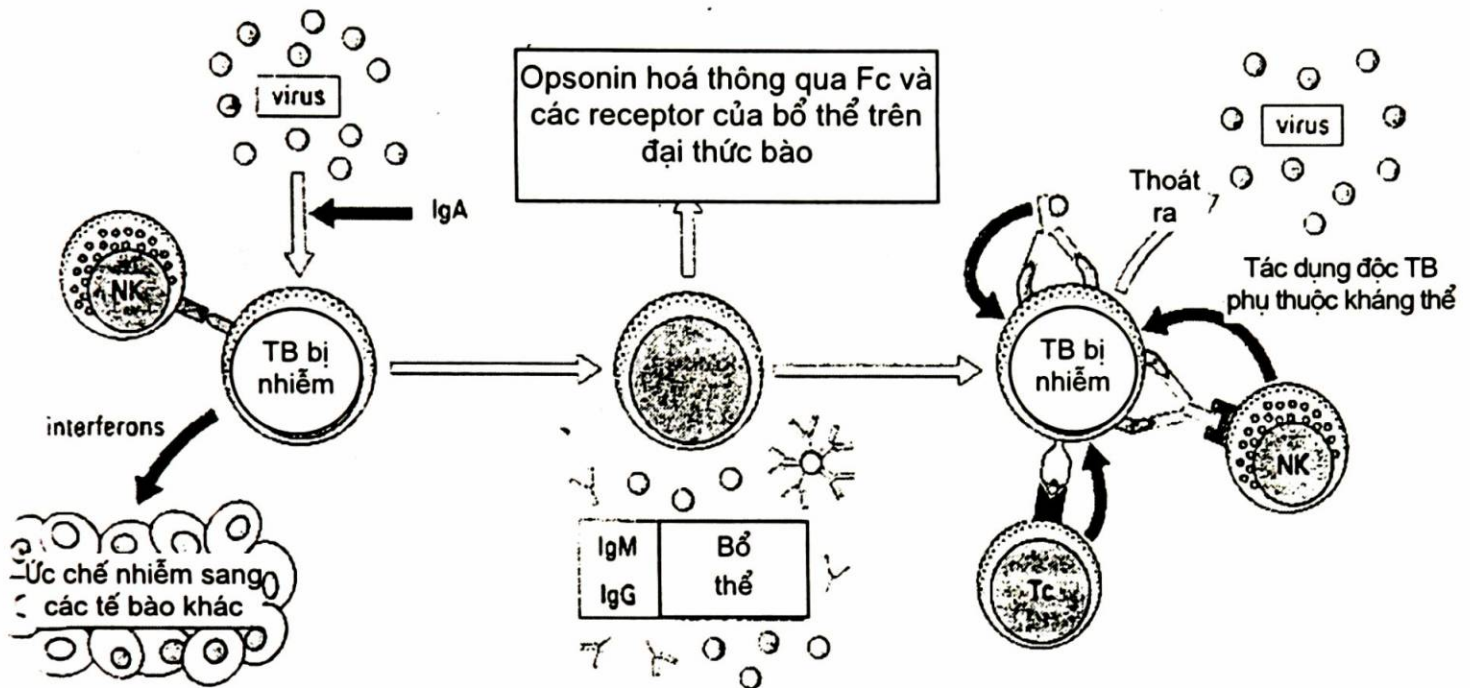
Interferon loại I có chung một receptor (CD ω 1 18), còn INF- γ sử dụng receptor khác (CD ω 1 19). Chúng gắn vào các receptor này làm giảm nhiễm virus sau vài phút và hiệu quả này đạt được cao nhất sau 5-8 giờ. Interferon kích thích sản xuất nhiều protein mới trong đó có protein có hoạt tính kháng virus. Một trong những protein này là 2'5'-oligoadenylate synthase (2'5'OAS), một enzyme được RNA chuỗi đôi có nguồn gốc virus hoạt hoá. 2'5'OAS đã hoạt hoá sẽ tác dụng trên ATP tạo ra các chuỗi adenylate oligomer. Sau đó những oligomer này hoạt hoá một endoribonuclease tiềm ẩn của tế bào (latent endoribonuclease- RNAase-L). Khi đã được hoạt hoá, RNAase-L sẽ phân chia mRNA và vì vậy ức chế tổng hợp protein. Protein khác là nitric oxide synthase được tác động của INF- γ (đặc biệt là ở đại thực bào) hoạt hoá. Nhờ enzyme này, nitric oxide có tác dụng chống virus, ngăn cản virus sinh trưởng trong đại thực bào được interferon hoạt hoá. Một protein thứ ba là proteinkinase có vai trò phosphoryl hoá một yếu tố khởi động là eIF-2. Phosphoryl hoá eIF-2 ức chế tổng hợp protein của virus bằng cách ngăn cản RNA chuỗi đôi của virus kéo dài ra. Protein thứ tư được gọi là protein Mx có vai trò ức chế sự dịch mã từ mRNA của virus. Khả năng của tế bào trong việc sản xuất interferon có sự khác nhau. Bạch cầu nhiễm virus, đặc biệt là đại thực bào và các tế bào lympho sản xuất INF- α ; nguyên bào sợi nhiễm virus sản xuất INF β còn tế bào lympho T được kháng nguyên kích thích là nguồn INF- γ chủ yếu. Một số loại tế bào khác (như tế bào thận) là những tế bào sản xuất một lượng nhỏ interferon.

Ngoài các virus sống hoặc bất hoạt là những chất kích thích quan trọng nhất trong sản xuất interferon, interferon còn có thể được tạo ra nhờ nội độc tố vi khuẩn, một số chất ngưng kết hồng cầu của thực vật (phytohemagglutinin) và một số polyme tổng hợp, tác động bằng cách bắt chước tác dụng RNA của virus. Một trong những polyme có tác dụng mạnh nhất là acid isosinic và acid citidilic.

3.4. Miễn dịch đặc hiệu với virus

3.4.1. Kháng thể

Do là protein, vỏ capsid cũng như vỏ bao của virus có tính kháng nguyên và đáp ứng miễn dịch chống virus được tạo ra chủ yếu là chống lại những protein này (hình 12-7).



Hình 12.7. Sự bảo vệ của vật chủ chống virus xâm nhập

Kháng thể có thể ngăn cản sự xâm nhập tế bào bằng cách phong toả virus hấp phụ vào tế bào đích, bằng cách kích thích đại thực bào để những tế bào này thực bào virus, bằng cách khởi động sự dung giải virus của bổ thể hoặc ngưng kết virus và như vậy làm giảm số lượng các đơn vị nhiễm virus. Sự kết hợp của kháng thể với virus bản thân không diệt virus vì sự tách phức hợp virus - kháng thể có thể giải phóng virus gây nhiễm. Sự trung hoà virus chỉ hạn chế ở những khu vực kháng thể đến được, thí dụ mặc dù gà con của gà mẹ đã được miễn dịch với bệnh Newcastle sẽ có khả năng kháng lại virus gây bệnh toàn thân nhưng gà con vẫn mắc cảm với virus này cục bộ ở đường hô hấp vì chúng không có miễn dịch cục bộ. Kháng thể không chỉ trực tiếp kháng lại kháng nguyên ở virion tự do mà còn trực tiếp kháng lại kháng nguyên trên bề mặt tế bào bị nhiễm và có thể làm những tế bào này bị phá huỷ. Tế bào nhiễm virus ở bệnh Newcastle, bệnh dại, bệnh do virus gây tiêu chảy bò, viêm phế quản gia cầm, bệnh u bạch cầu mèo cũng bị kháng thể tiêu diệt. Kháng thể có thể phá huỷ tế bào nhiễm virus không chỉ thông qua sự dung giải tế bào của bổ thể mà còn thông qua tác dụng gây độc tế bào phụ thuộc kháng thể. Những tế bào gây độc này bao gồm tế bào lympho, đại thực bào, bạch cầu trung tính có receptor Fc có thể gắn vào tế bào đích được kháng thể bao phủ.

Immunoglobulin có tác dụng trung hoà virus là IgG và IgM trong huyết thanh và IgA trong dịch tiết. Có thể là IgE cũng có vai trò trong miễn dịch bảo vệ vì thiếu hụt IgE ở người làm tăng sự mẫn cảm với nhiễm vi sinh vật đường hô hấp. Trong miễn dịch chống nhiễm vi sinh vật gây bệnh, IgG là immunoglobulin quan trọng nhất về mặt số lượng còn IgM quan trọng hơn về mặt chất lượng.

Mặc dù phần lớn virus gây nhiễm tế bào bằng cách gắn trực tiếp vào receptor trên tế bào đích song một số lại gắn gián tiếp do sử dụng các phân tử trung gian. Như vậy một số virus được kháng thể bao phủ gắn vào tế bào thông qua receptor Fc. Việc gắn này làm dễ dàng hơn cho sự thu nhận virus và như vậy làm tăng khả năng nhiễm virus, thí dụ như trong bệnh viêm phúc mạc truyền nhiễm của mèo và bệnh do virus gây thiếu hụt miễn dịch ở người.

3.4.2. Miễn dịch tế bào

Mặc dù kháng thể và bổ thể có thể trung hoà virus tự do và phá huỷ tế bào nhiễm virus song miễn dịch tế bào vẫn đóng vai trò quan trọng nhất trong khống chế các bệnh nhiễm virus. Điều này có thể thấy rất rõ ở người bị thiếu hụt miễn dịch. Họ thiếu khả năng tạo ra đáp ứng miễn dịch do kháng thể và bị nhiễm khuẩn tái phát nặng song lại có xu hướng đáp ứng bình thường với vaccine đậu và có thể khỏi các bệnh quai bị, sởi, bệnh bại liệt trẻ em hoặc bệnh cúm. Ngược lại, những người thiếu hụt bẩm sinh đáp ứng miễn dịch do tế bào lympho T thường có khả năng kháng được với nhiễm khuẩn nhưng mẫn cảm với bệnh do virus gây ra; thậm chí có thể chết do tiêm chủng vaccine thông thường (thí dụ vaccine đậu).

Kháng nguyên virus có thể có trên tế bào bị nhiễm rất lâu trước khi các thế hệ con cháu của virus được sản sinh. Những kháng nguyên này được biểu thị khi tế bào tổng hợp protein theo mã hóa của virus. Được đưa đến bề mặt tế bào, chúng gắn với các phân tử MHC lớp I. Khi đó tế bào nhiễm virus được nhận diện là phân tử lạ và bị loại bỏ. Mặc dù kháng thể, bổ thể và tác dụng gây độc tế bào phụ thuộc kháng thể là những cơ chế chủ yếu, thông qua đó virus bị tiêu diệt nhưng tác dụng gây độc do tế bào lympho T lại giữ vai trò mấu chốt mà qua cơ chế này tế bào nhiễm virus bị phá huỷ. Tế bào lympho T gây độc biểu thị perforin nhận diện peptide của virus khi liên kết với MHC lớp I. Chúng phá huỷ tế bào nhiễm virus và loại bỏ virus. Một số kháng nguyên virus có tác dụng là siêu kháng nguyên gắn mạnh vào chuỗi V_{β} của TCR. Bằng cách đó nucleocapsid của virus đại gắn vào V_{β} 8 của tế bào lympho T, kích thích hoạt động của tế bào này. Virus đại có thể kích thích tế bào Th2 làm tăng đáp ứng miễn dịch với virus đại và ở đây đôi khi có cả đáp ứng của tế bào lympho B.

Khi nghiên cứu về tác dụng gây độc chống tế bào khối u và tế bào nhiễm virus người ta nhận thấy tế bào lympho bình thường vẫn có một tác dụng gây độc đáng kể ngay cả khi chưa được mẫn cảm. Tác dụng gây độc tự nhiên này là do quần thể thứ ba của tế bào lympho được gọi là tế bào diệt tự nhiên. Hoạt động của chúng chịu kích thích của $INF-\gamma$ và tăng lên ngay sau khi nhiễm virus một thời gian ngắn, tạo khả năng bảo vệ cơ thể trước khi phát triển tác dụng gây độc đặc hiệu của tế bào lympho T.

Đại thực bào cũng có tác dụng chống virus một cách đáng kể. Virus dễ dàng bị đại thực bào bắt và phá huỷ. Nếu virus không phải là loại gây bệnh nhưng có khả năng sinh trưởng trong đại thực bào thì sẽ dẫn đến tình trạng nhiễm virus kéo dài và khi đó đại thực bào phải được hoạt hoá để loại bỏ virus. Như vậy, miễn dịch do đại thực bào đã được INF- γ hoạt hoá cũng biểu thị một số đặc điểm của một vài bệnh do virus gây ra, thí dụ như đại thực bào ở gia cầm được gây miễn dịch chống virus đậu song cũng tăng tác dụng chống virus gây bệnh Newcastle và lại có tác dụng ngăn cản sự nhân lên của *Salmonella gallinarum*, một tính chất không phải của đại thực bào ở trạng thái bình thường.

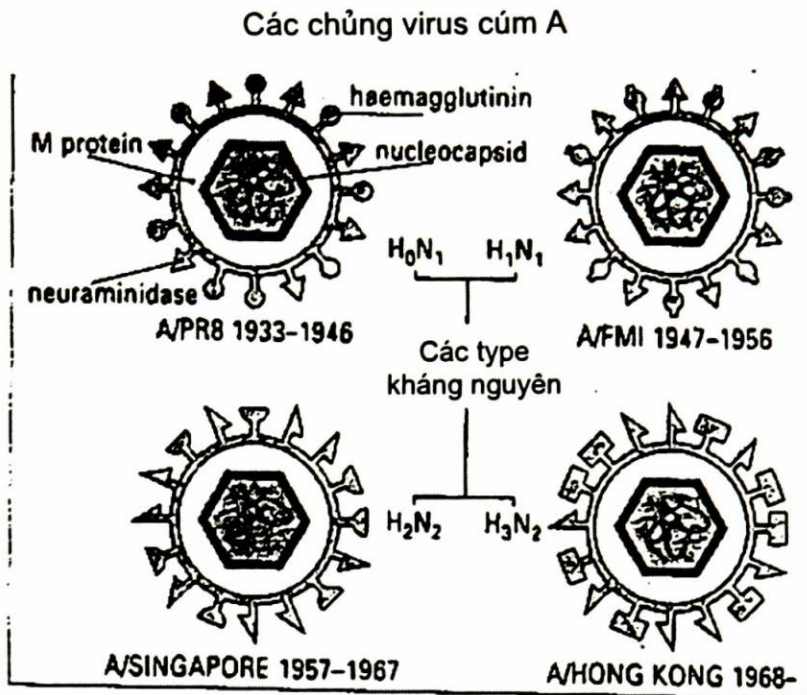
Khoảng thời gian duy trì trí nhớ miễn dịch rất khác nhau. Kháng thể chống virus có thể tồn tại nhiều năm ngay cả khi không có mặt virus. Mặt khác, tế bào lympho T gây độc tồn tại lâu có thể gây nguy hiểm nên chúng bị loại bỏ do quá trình chết tế bào ngay sau khi virus bị loại bỏ. Tuy nhiên những tế bào lympho T ghi nhớ có nguồn gốc từ cùng một quần thể tương tự như tế bào lympho T gây độc lại tồn tại với thời gian không xác định. Một số virus như herpesvirus có thể tồn tại trong suốt đời sống của động vật rồi tái kích thích miễn dịch định kỳ. Kháng nguyên của virus cũng có thể tồn tại lâu dài trên bề mặt của một số tế bào đuôi gai trình diện kháng nguyên.

3.5. Sự tránh thoát miễn dịch của virus

Mối quan hệ giữa virus và vật chủ là quá trình được thiết lập trên cơ sở thích ứng lẫn nhau để bảo đảm sự tồn tại lâu dài của cả hai. Sự thích ứng này không đạt được sẽ dẫn đến hoặc virus hoặc vật chủ bị loại bỏ và sự tử vong của vật chủ cũng có nghĩa là loại bỏ virus. Một trong những cách virus có thể tránh thoát đáp ứng miễn dịch là nhờ ức chế miễn dịch. Việc ức chế miễn dịch cũng có khi dẫn đến nhiễm virus thứ phát do thiếu hụt miễn dịch. Khía cạnh khác của sự thích ứng là virus tránh sự giảm độc của hệ thống miễn dịch. Một trong những cơ chế đơn giản nhất của virus để tránh thoát miễn dịch là chúng biến đổi tính kháng nguyên. Có thể thấy rõ điều này ở virus cúm type A và *Lentivirus*.

Virus cúm có tố ngưng kết hồng cầu (hemagglutinin) và neuraminidase trên vỏ bao của chúng. Có 15 tố ngưng kết hồng cầu và 9 neuraminidase khác nhau ở virus cúm type A và chúng được xác định dựa vào hệ thống danh pháp tiêu chuẩn. Tố ngưng kết hồng cầu (hemagglutinin) ở virus cúm lợn được gọi là H1 và Neuraminidase của nó được gọi là N1. Hai type phụ của virus cúm ngựa A/equine/prague/56 có H7 và N7, A/equine/Hong Kong/92 có H3 và N8. Virus cúm A lưu hành rộng trong quần thể. Qua đột biến và chọn lọc, tố ngưng kết hồng cầu và neuraminidase dần dần biến đổi cấu trúc và cuối cùng có sự biến đổi đáng kể về tính kháng nguyên của virus. Sự biến đổi dần dần đó được gọi là *sự lạc dòng* của kháng nguyên về mặt di truyền (Antigenic drift). Sự biến đổi này của kháng nguyên rất chậm đủ cho virus tồn tại kéo dài trong quần thể nhiều năm. Ngoài sự biến đổi chậm đó, virus cúm còn có sự biến đổi kháng nguyên đột ngột tạo nên một chủng mới. Sự biến đổi như vậy không phải là do đột biến gây ra mà có thể do sự tái tổ hợp giữa hai chủng virus. Chính sự xuất hiện của các virus cúm này với cấu trúc kháng nguyên hoàn toàn mới gây nên các vụ dịch bùng phát ở người và gia cầm.

Ngược lại, ngựa và lợn là những vật nuôi trong thời gian không lâu cùng với sự sinh sản liên tục một số lớn gia súc non miễn cảm với mầm bệnh virus làm cho virus cúm vẫn gây được bệnh mà không cần có sự biến đổi kháng nguyên. Tuy nhiên, trong số virus cúm, cúm ngựa và lợn biến đổi rất chậm, hiện nay đã thấy virus cúm ngựa H3N8, các chủng A/Fontainebleau/79 hoặc A/Hong kong/1/02 rất khác biệt với chủng ban đầu A/Miami/1/63 (hình 12.8).



Hình 12.8. Sự lạc dòng kháng nguyên và sự biến đổi kháng nguyên ở virus cúm

Việc biến đổi kháng nguyên diễn ra nhanh hơn ở *Lentivirus*, căn nguyên gây thiếu máu truyền nhiễm ngựa. Sau khi khỏi bệnh ngựa biểu hiện khoẻ mạnh trong nhiều tuần hoặc nhiều tháng. Bệnh có thể tái phát, nhất là khi ngựa bị gây yếu. Sự tái phát có thể theo chu kỳ cách nhau 2- 8 tuần với đặc điểm các triệu chứng mắc trong lần sau có xu hướng nhẹ hơn lần trước. Sốt nhẹ hơn và thiếu máu cũng nhẹ hơn. Virus gây thiếu máu truyền nhiễm cũng giống như các *Lentivirus* có đột biến ngẫu nhiên ở mức độ cao sinh những biến chủng khác nhau về tính kháng nguyên. Sự sống sót của các biến chủng này phụ thuộc sự có mặt của kháng thể trung hoà trong huyết thanh ngựa. Kháng thể trung hoà virus và do đó chấm dứt giai đoạn nhiễm virus huyết. Tuy nhiên các biến chủng của virus gây thiếu máu truyền nhiễm ngựa xuất hiện ngẫu nhiên và nhanh, kháng thể chưa thể có để trung hoà nên virus gây những triệu chứng lâm sàng tái phát. Kháng thể được hình thành, dần dần, phổ tác dụng của kháng thể trong huyết thanh ngựa trở nên rất rộng và nhiễm virus huyết giảm xuống mức thấp. Khi đó, để phân lập được virus, cần phải lấy một lượng lớn tổ chức.

Hình thức thứ hai về sự thích ứng của virus có thể thấy rõ ở bệnh dịch tả lợn hoặc bệnh viêm não viêm khớp của dê. Mặc dù gia súc bị nhiễm tăng đáp ứng miễn dịch đối với virus này nhưng kháng thể tạo ra không có khả năng trung hoà virus. Dê bị mắc virus gây viêm não viêm khớp sẽ sản xuất một lượng lớn kháng thể chống vỏ bao nhưng chỉ sinh ra một lượng không đáng kể kháng thể trung hoà. Ở những dê đó dường như

không có khả năng nhận diện và không đáp ứng được với các quyết định kháng nguyên để trung hoà virus. Tuy không có kháng thể trung hoà, kháng thể gắn với virion để cho các virion này được opsonin hoá và được đại thực bào đưa nhanh vào trong tế bào. Song virus này lại sao chép và nhân lên trong đại thực bào, điều đó có nghĩa kháng thể đã tác động tích cực trong khâu trước lại có tác dụng tạo điều kiện để thúc đẩy sự sao chép của virus trong giai đoạn sau. Đây chính là một thí dụ về sự làm tăng nhiễm virus do kháng thể. Tiêm vaccine chống virus gây viêm não viêm khớp ở dê chỉ làm cho bệnh nặng thêm.

Maedi-visna, một bệnh phức hợp miễn dịch của cừu (maedi là viêm phổi mãn tính, visna là bệnh thần kinh mãn tính do nhiễm cùng loại virus) do *Lentivirus* gây ra. Nghiên cứu bệnh này cho thấy cơ chế thứ ba giúp virus tránh thoát sự phá huỷ của kháng thể. Trong bệnh nhiễm maedi-visna kháng thể trung hoà được sản xuất chậm. Kháng thể này không làm giảm được số lượng virus huyết. Dường như chúng có ái lực thấp với các quyết định kháng nguyên và phải mất ít nhất 20 phút để gắn vào virus và 30 phút để trung hoà nó. Ngược lại, virus đó lại chỉ mất 2 phút để xâm nhập tế bào, có nghĩa là virus có thể lan truyền giữa các tế bào nhanh hơn tốc độ chúng bị trung hoà. Virus maedi-visna có thể xâm nhập vào bạch cầu đơn nhân và đại thực bào và trong phần lớn các tế bào này sự sao chép của virus ngừng lại sau khi RNA của nó đã được sao chép ngược vào DNA của tiền virus. Điều đó làm cho tế bào bị nhiễm virus kéo dài và không biểu thị kháng nguyên của virus, không gây ra sự tấn công miễn dịch. Maedi-visna thâm nhiễm nặng vào các cơ quan như phổi, tuyến vú và hệ thống thần kinh trung ương cùng với tế bào lympho (cả $CD4+$ và $CD8+$) và đại thực bào. Sự ức chế miễn dịch làm giảm mức độ tổn thương do hậu quả của phản ứng miễn dịch. Người ta cho rằng đại thực bào nhiễm virus kéo dài sẽ kích thích tế bào lympho T giải phóng cytokin. Cytokin đó lại làm chậm quá trình trưởng thành của bạch cầu đơn nhân thành đại thực bào và như vậy hạn chế sự sao chép của virus. Chúng cũng làm tăng biểu thị của MHC lớp II trên đại thực bào và vì vậy làm tăng sinh tế bào lympho T trên diện rộng và tăng sản tế bào lympho kéo dài.

Nếu như đáp ứng miễn dịch với vi khuẩn diễn ra trong khoảng thời gian ngắn thì miễn dịch chống virus trong nhiều trường hợp lại kéo dài. Người ta chưa hiểu rõ lý do tại sao, song thấy chúng có mối liên quan với sự tồn tại kéo dài của virus trong tế bào, ở dạng sao chép chậm hoặc không sao chép, ví dụ như với herpesvirus. Thường rất khó phân lập được virus này ở gia súc đã khỏi bệnh nhưng sau đó một thời gian, đặc biệt là khi cá thể đó bị stress, thì bệnh do herpesvirus lại tái phát. Trong thời gian mang trùng này của con vật không thể phân lập được virus. Acid nucleic của virus tồn tại kéo dài trong tế bào vật chủ nhưng sự sao chép của nó bị phong toả và protein của virus không được sản xuất. Virus tồn tại kéo dài có thể làm tăng đáp ứng miễn dịch định kỳ và theo cách này tạo ra miễn dịch kéo dài đối với virus. Đáp ứng miễn dịch trong trường hợp này tuy không loại bỏ được virus nhưng có thể ngăn cản được sự tiến triển về lâm sàng của bệnh và vì vậy có tác dụng bảo vệ. Ức chế miễn dịch hoặc stress có thể làm cho bệnh phát ra ở gia súc nhiễm virus kéo dài. Mối liên hệ giữa stress và sự tiến triển của một số

bệnh virus đã được hiểu rõ. Có thể do mức độ sản xuất hormone steroid tăng lên khi bị stress đã gây ra ức chế miễn dịch làm hoạt hoá virus tiềm ẩn hoặc tạo điều kiện thuận lợi cho việc nhiễm virus từ bên ngoài.

3.6. Hậu quả có hại của đáp ứng miễn dịch chống virus

Đáp ứng miễn dịch chống virus trong một số trường hợp là không có lợi. Thí dụ virus gây bệnh đường hô hấp bò có thể gây ra đáp ứng sản xuất IgE đặc hiệu dẫn đến phản ứng quá mẫn type I ở phổi; và mức độ nặng nhẹ của bệnh do virus gây bệnh hô hấp bò có mối liên quan trực tiếp với hàm lượng IgE.

Việc kháng thể phá huỷ tế bào nhiễm virus có thể gây ra phản ứng quá mẫn type II, mặc dù bình thường phản ứng này có lợi nhưng điều đó cũng có thể làm bệnh nặng thêm. Mức độ của tổn thương này ở tổ chức phụ thuộc vào mức độ xâm nhập của virus. Trong một số bệnh, virus gây ra rất ít sự huỷ hoại tế bào, phần lớn tổn thương tổ chức là do sự tấn công của miễn dịch. Thí dụ rõ rệt gặp ở viêm não trong bệnh sài chó. Ở đây có hiện tượng mất myelin lan rộng tại neuron thần kinh. Mất myelin trong bệnh sài chó mãn tính là do đáp ứng chống virus cục bộ. Đại thực bào có rất nhiều ở tổn thương não; chúng nuốt các phức hợp miễn dịch và những tế bào bị nhiễm virus, giải phóng các gốc tự do và sản phẩm độc khác. Chính những sản phẩm độc này phá huỷ tế bào gần đó, đặc biệt là gây giảm tế bào thần kinh đệm sản xuất myelin của neuron thần kinh dẫn đến làm mất bao myelin.

Người ta cho rằng một số viêm não mất myelin gặp ở chó là do bệnh tự miễn dịch. Phần lớn gia súc mắc hội chứng này sản xuất kháng thể chống protein của myelin và gây ra sự huỷ hoại tổ chức. Tuy nhiên vai trò của những kháng thể này còn chưa rõ. Lượng kháng thể không có quan hệ với diễn biến bệnh. Nhưng nói chung gia súc có lượng kháng thể cao là những gia súc khỏi bệnh. Mặt khác, một số kháng huyết thanh ở gia súc bị bệnh có thể gây ra mất myelin trong mô não nuôi cấy.

Tổn thương do type III (gây ra do phức hợp miễn dịch) thường gặp ở bệnh nhiễm virus, đặc biệt trong những bệnh nhiễm virus huyết kéo dài. Thí dụ bệnh viêm cầu thận do hậu quả của sự lắng đọng phức hợp miễn dịch ở cầu thận; là biến chứng gặp ở các bệnh thiếu máu truyền nhiễm ngựa, bệnh tăng bạch cầu mèo, bệnh dịch tả lợn, bệnh viêm niêm mạc do virus gây tiêu chảy ở bò, bệnh nhiễm adenovirus ở chó, bệnh viêm phúc mạc truyền nhiễm ở mèo. Viêm mạch quản phát sinh do sự lắng đọng của phức hợp miễn dịch khắp hệ thống mạch quản, gặp trong bệnh thiếu máu truyền nhiễm ngựa và trong viêm động mạch do virus ở ngựa.

Chó bị nhiễm adenovirus I (bệnh viêm gan truyền nhiễm chó) có cả biểu hiện viêm màng bồ đào và viêm cầu thận. Viêm bồ đào làm mắt có màu xanh là triệu chứng khi chó bị nhiễm virus tự nhiên và cả khi chó được tiêm vaccine sống adenovirus giảm độc. Viêm màng bồ đào là do phức hợp miễn dịch (có virus, kháng thể trong buồng trước của mắt và trong kết mạc, bồ thể hoạt hóa và hậu quả cuối là việc tích lũy các bạch cầu trung tính). Bạch cầu trung tính giải phóng enzyme phá huỷ tế bào biểu mô của kết mạc, gây phù và đục kết mạc. Trong bệnh này có thể khoảng 90% chó mắc bệnh tự khỏi.

3.7. Một số vaccine chống virus

Do thiếu hoá trị liệu để điều trị bệnh do virus ở vật nuôi, người ta đã chế được nhiều vaccine phòng bệnh nhiễm virus có hiệu lực hơn là phòng bệnh do vi khuẩn. Nhiều vaccine virus giảm độc đã ra đời, nhiều vaccine virus sống đã được sử dụng.

Vaccine virus sống cải tiến thường gây miễn dịch tốt nhưng sử dụng chúng cũng có thể gặp nguy hiểm, trong đó điều quan trọng nhất là độc lực còn dư lại. Đã gặp bệnh dại lâm sàng ở một số chó sau khi sử dụng vaccine giảm độc cáy chuyển nhiều lần qua trứng (chủng Flury) và ở mèo sau khi sử dụng vaccine virus sống cải tiến chủng SAD (ERA). Một số chủng virus gây viêm mũi khí quản truyền nhiễm bò và vaccine herpesvirus 1 ở ngựa khi sử dụng cho bò cái hoặc ngựa cái có thai có thể gây sảy thai. Thường là độc lực còn lại ở những vaccine này gây bệnh tương đối nhẹ. Vaccine Calcivirus phòng bệnh viêm mũi khí quản; nhỏ mũi nhỏ mắt vaccine này có thể gây viêm giác mạc và viêm mũi trong một thời gian ngắn ở mèo. Vaccine virus sống cải tiến chống bệnh gumboro, một số vaccine chống parvovirus 2 ở chó, một số vaccine chống virus gây tiêu chảy ở bò có thể gây ra tình trạng ức chế miễn dịch nhẹ.

Các tác dụng phụ này được xem là không quan trọng lại có thể có ý nghĩa rất quan trọng trong chăn nuôi gà giò công nghiệp do làm gà sinh trưởng chậm lại, gây ra những thiệt hại về kinh tế. Hai chủng virus vaccine viêm phế quản truyền nhiễm đã được sử dụng ở Mỹ. Chủng Massachusetts gây bệnh nhẹ nhưng kích thích miễn dịch tốt. Chủng Connecticut không gây bệnh nhưng tác dụng gây miễn dịch kém. Vì vậy nói chung để làm giảm tình trạng tiến triển xấu thì trước hết nên sử dụng chủng Connecticut, sau đó sử dụng vaccine chủng Massachusetts nhắc lại. Cũng tương tự hai chủng virus vaccine của virus gây bệnh Newcastle, chủng Lasota có tác dụng gây miễn dịch tốt nhưng có thể gây những tác dụng có hại. Ngược lại chủng B1 được xem là ít gây hại hơn nhưng tác dụng gây miễn dịch kém hơn đặc biệt là sử dụng cho uống. Do những vấn đề này người ta đã cố gắng làm giảm đến mức tối thiểu độc lực còn dư lại của virus. Một trong những phương pháp này là sử dụng chủng đột biến mất cảm với nhiệt. Chủng Ts của herpesvirus 1 ở bò chỉ sinh trưởng ở nhiệt độ thấp hơn một ít so với nhiệt độ bình thường của cơ thể. Khi virus này được sử dụng nhỏ mũi nó có khả năng cư trú trong niêm mạc mũi tương đối mát nhưng không có khả năng xâm nhập vào nơi khác trong cơ thể. Như vậy vaccine có thể kích thích đáp ứng miễn dịch cục bộ chống virus. Một thí dụ khác về vaccine giảm độc di truyền là vaccine chống bệnh giả dại sử dụng chủng virus bị loại bỏ gene của thymidine kinase.

Một số vaccine virus có thể tồn tại kéo dài ở gia súc nào đó được sử dụng và có thể gây ra tình trạng mang trùng kéo dài. Tình trạng này thường là do herpesvirus. Người ta cũng e ngại rằng sử dụng rộng rãi vaccine virus cải tiến có thể gieo mầm virus vào trong các quần thể vật nuôi và có thể gây những hậu quả có hại về sau. Một biện pháp khác phục những vấn đề do vaccine virus cải tiến gây ra là tăng sử dụng vaccine vô hoạt và vaccine tiểu đơn vị. Vaccine vô hoạt có tác dụng rất tốt là vaccine chống bệnh lở mồm long móng, vaccine phòng bệnh dại, vaccine phòng bệnh giả dại. Vaccine tiểu đơn vị được chế có đặc điểm về di truyền chống trực tiếp kháng nguyên của vỏ bao gp70. Các vaccine này có thể so sánh với vaccine sống cải tiến và đảm bảo không còn độc lực.

3.8. Chẩn đoán huyết thanh các bệnh nhiễm virus

3.8.1. Phản ứng để phát hiện và xác định virus

Các phản ứng đơn giản nhất và sử dụng rộng rãi nhất để phát hiện virus là kỹ thuật sử dụng kháng thể huỳnh quang trực tiếp và gián tiếp. Phản ứng này có thể sử dụng để xác định virus trong tổ chức của gia súc bị nhiễm. Nếu không thể tiến hành được các phản ứng này thì cần phải nuôi cấy virus ở động vật thí nghiệm, thai gà, tổ chức nuôi cấy mô để cung cấp đủ kháng nguyên cho phản ứng. Một khi có đủ lượng virus thì có thể xác định bằng phản ứng với kháng huyết thanh đặc hiệu. Phản ứng thường dùng cho mục đích này là phản ứng kháng thể huỳnh quang, phản ứng ELISA, phản ứng ngưng kết hồng cầu, phản ứng trung hoà virus, phản ứng kết tủa trên gel thạch. Sử dụng phản ứng nào là tùy thuộc vào bản chất của virus cần chẩn đoán. Phản ứng ngưng kết hồng cầu là kỹ thuật đơn giản và được sử dụng ưu tiên nếu virus là loại gây ngưng kết hồng cầu. Tuy nhiên phản ứng này có xu hướng đặc hiệu về chủng. Phản ứng kết hợp bổ thể có xu hướng đặc hiệu về nhóm và như vậy những phản ứng này có thể xác định giống của virus. Ngược lại phản ứng trung hoà rất đặc hiệu về chủng vì vậy là loại tốt nhất để phân loại các type phụ chứ không phải để xác định giống. Tuy nhiên có hiện tượng ngoại lệ, thí dụ virus gây viêm miệng có chủng Newjersey và chủng Indian không có miễn dịch chéo trong phản ứng kết hợp bổ thể.

Một kỹ thuật phổ biến để phát hiện kháng nguyên hoặc kháng thể là phản ứng ELISA sử dụng kháng nguyên hoặc kháng thể gắn vào màng lọc. Phản ứng này có ưu điểm là cả đối chứng dương và đối chứng âm được thể hiện cùng với huyết thanh kiểm tra trên một giếng. Ngoài huyết thanh thì máu toàn phần, huyết tương hoặc nước bọt cũng có thể được sử dụng là nguồn kháng nguyên hoặc kháng thể.

3.8.2. Kính hiển vi điện tử miễn dịch

Trong kỹ thuật này, kháng thể đặc hiệu được sử dụng để làm tăng độ đậm độ virus trước khi đưa vào quan sát dưới kính hiển vi điện tử. Thí dụ, một mẫu phân được ly tâm lấy phần nổi ở trên có chứa virus. Sau đó dùng sóng âm để làm vỡ các cụm ngưng kết rồi cho kháng thể đặc hiệu với virus cần tìm và sau đó ủ ấm một thời gian. Dịch lỏng lại được ly tâm lại lần nữa. Các hạt virus đã kết hợp với kháng thể đặc hiệu sẽ lắng xuống đáy được soi bằng kính hiển vi điện tử sau khi nhuộm. Việc quan sát thấy kháng thể trong các cụm ngưng kết cho phép xác định được virus tương ứng.

3.8.3. Các phản ứng phát hiện và xác định kháng thể kháng virus

Nhìn chung, những kỹ thuật thường sử dụng nhất để xác định kháng thể kháng virus là phản ứng ngưng kết hồng cầu, phản ứng ELISA gián tiếp, phản ứng miễn dịch huỳnh quang, phản ứng khuếch tán trên thạch, phản ứng kết hợp bổ thể và phản ứng trung hoà virus. Ba phản ứng đầu tiên hành không mấy khó khăn và được sử dụng nhiều. Phản ứng kết hợp bổ thể, phản ứng trung hoà rất đặc hiệu song lại phức tạp nên ít được sử dụng.

4. MIỄN DỊCH ĐỐI VỚI KÝ SINH TRÙNG

Một ký sinh trùng xâm nhập cơ thể không phải bao giờ cũng gây rối loạn cho ký chủ. Trên quan điểm miễn dịch, một ký sinh trùng phát huy được tác dụng tối ưu khi xâm nhập cơ thể nếu nó hoà nhập với vật chủ đến mức không còn được xem là phần tử lạ nữa. Ngược lại với bệnh nhiễm trùng cấp tính do vi khuẩn hoặc virus gây ra trong một thời gian ngắn, nhiễm ký sinh trùng nguyên sinh động vật hoặc giun sán lại thường kéo dài và có thể mãn tính. Nhiều ký sinh trùng sử dụng con đường chuyển hoá hoặc con đường điều khiển của vật chủ để phục vụ cho nó. Thí dụ một số ký sinh trùng nguyên sinh động vật lợi dụng các yếu tố sinh trưởng của vật chủ để thúc đẩy sự sinh trưởng của chúng. Những yếu tố sinh trưởng của biểu mô và interferon- γ (INF- γ) có thể gắn vào receptor ở *Trypanosoma brucei* và thúc đẩy sự sinh trưởng của ký sinh trùng này. Cũng như vậy, IL-2 và GM-CSF có thể gắn vào receptor ở *Leishmania amazonensis* và thúc đẩy sự sinh trưởng tiền lông roi của chúng. Ký sinh trùng có chung các cytokin như vậy phản ánh trong quá trình tiến hóa lâu đời chúng có mối liên hệ với nhau và điều đó cũng nói lên những thích nghi của chúng chống lại tác động của hệ thống miễn dịch.

4.1. Miễn dịch đối với nguyên sinh động vật

4.1.1. Miễn dịch không đặc hiệu đối với nguyên sinh động vật

Cho đến nay, các cơ chế đề kháng với nguyên sinh động vật chưa được hoàn toàn sáng tỏ; có lẽ chúng hoạt động tương tự như trong các bệnh do virus hoặc vi khuẩn. Sự ảnh hưởng của loài có thể là quan trọng nhất. Thí dụ *T. brucei*, *Trypanosoma congolense*, *Trypanosoma vivax* dường như không gây bệnh cho động vật ăn cỏ hoang dại ở miền đông châu Phi nhưng lại có độc lực cao đối với bò nhà. Cũng tương tự, cầu trùng rất đặc hiệu với vật chủ. *Toxoplasma gondii* trong những thời kỳ có bào tử (dạng tachyzoite) có thể gây nhiễm bất kỳ loài có vú nào nhưng ở giai đoạn bào tử hình cầu thì chỉ gây nhiễm các loại thú thuộc họ mèo (thí dụ mèo, hổ).

Sự khác nhau về loài phản ánh ảnh hưởng của di truyền tinh tế hơn. Thí dụ một số bò châu Phi thể hiện có khả năng đề kháng tốt hơn với bệnh nhiễm Trypanosome. Có thể là do sự chọn lọc các động vật có sức đề kháng tốt nhất qua nhiều năm. Thí dụ rõ rệt nhất về sự đề kháng được quyết định do di truyền là bệnh thiếu máu hồng cầu lưỡi liềm. Những cá thể mắc bệnh hồng cầu lưỡi liềm (được di truyền) có hemoglobin S (HbS) trong đó nhánh valine thay thế nhánh acid glutamic có trong hemoglobin bình thường. Sự biến đổi ở chuỗi phân tử hemoglobin do sự thay thế này làm cho phân tử hemoglobin bị khử oxygen, kết tủa khi bị khử, làm biến dạng hồng cầu và dẫn đến tăng số lượng hồng cầu bị vỡ. Những cá thể đồng hợp tử gene của hồng cầu lưỡi liềm sẽ chết khi còn non vì thiếu máu. Cá thể dị hợp tử gene này cũng bị thiếu máu nhưng không thiếu nặng bằng khi bị đồng hợp tử; đồng thời trong quá trình sống của những cá thể này (ở miền tây của Trung Phi) HbS lại giết chết ký sinh trùng sốt rét *Plasmodium falciparum* nên chúng đề kháng được với bệnh sốt rét. Do vậy, ở tuổi sinh sản, các cá thể này có xu hướng sống sót nhiều hơn so với những cá thể bình thường để rồi trong quá trình tiến hóa lâu dài, sự đột biến ấy được duy trì ở quần thể những người này ở mức độ cao.

4.1.2. Miễn dịch đặc hiệu đối với nguyên sinh động vật

Sự sống sót của ký sinh trùng ở động vật có khả năng miễn dịch đã làm cho nhiều nhà nghiên cứu trước đây kết luận rằng khả năng kích thích miễn dịch của ký sinh trùng là kém. Sự thực không phải như vậy, phần lớn ký sinh trùng có đầy đủ tính kháng nguyên, nhưng để thích ứng đối với đời sống ký sinh, chúng có các cơ chế để sống sót khi có đáp ứng miễn dịch của ký chủ. Nguyên sinh động vật kích thích cả đáp ứng miễn dịch dịch thể và miễn dịch tế bào, trong đó kháng thể không chế mức độ ký sinh trùng trong máu và trong dịch tổ chức còn đáp ứng miễn dịch tế bào chủ yếu là chống lại các ký sinh trùng khu trú bên trong tế bào.

Kháng thể trong huyết thanh chống kháng nguyên bề mặt của nguyên sinh động vật có thể opsonin hoá, ngưng kết hoặc cố định chúng. Kháng thể cùng với bổ thể và tế bào gây độc có thể giết chết ký sinh trùng. Một số kháng thể có thể ức chế enzyme làm sự sao chép của chúng bị cản trở. Trong bệnh nhiễm *Trichomonas foetus* và *Trichomonas vaginalis* có kích thích đáp ứng kháng thể cục bộ bằng việc sản xuất nhiều IgE. Phản ứng quá mẫn cục bộ type I tuy làm tăng sự mệt mỏi, khó chịu cho cơ thể nhưng bằng việc làm tăng tính thấm thành mạch đã tạo điều kiện thuận lợi cho kháng thể IgG đến nơi nhiễm ký sinh trùng làm chúng không di chuyển được và bị loại thải.

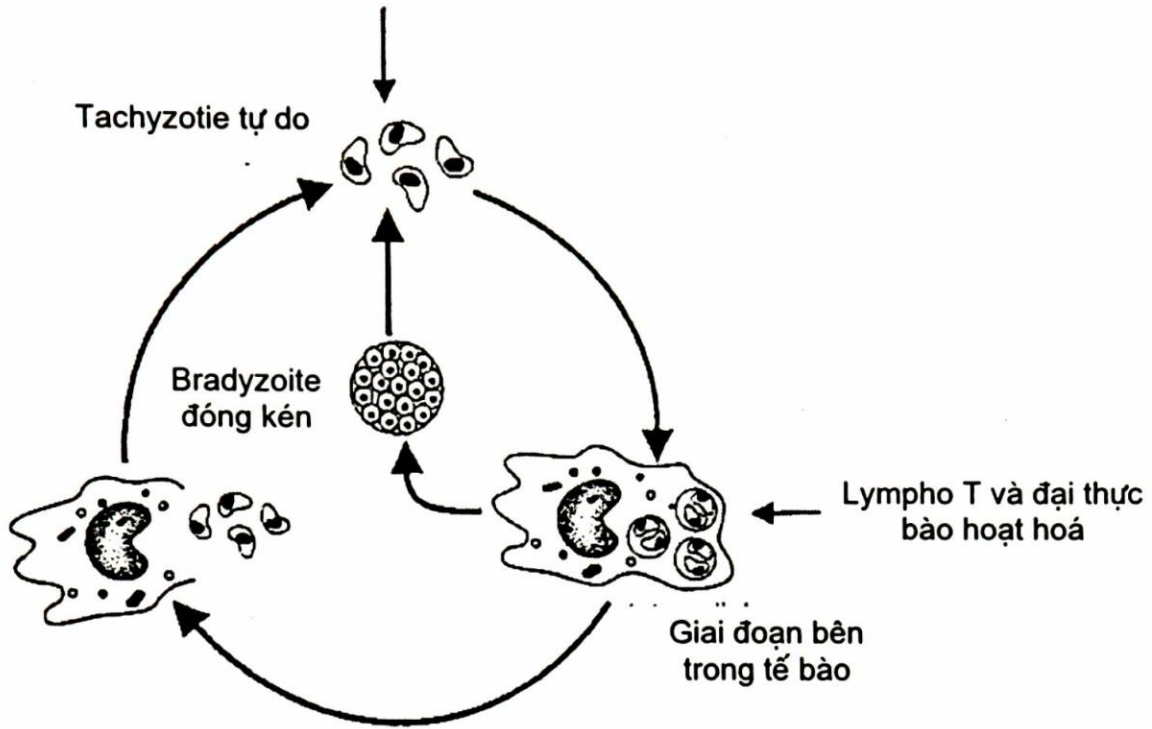
Trong bệnh do babesia gây ra, khi bào tử xâm nhập hồng cầu đã làm hoạt hoá bổ thể theo con đường luân phiên. Hồng cầu bị nhiễm đưa kháng nguyên của Babesia vào trong màng tế bào làm sản sinh kháng thể opsonin hóa hồng cầu, dẫn đến việc chúng bị loại bỏ bởi hệ thống bạch cầu đơn nhân. Ngoài đáp ứng miễn dịch dịch thể, hồng cầu cũng có thể bị phá huỷ bởi đáp ứng miễn dịch tế bào phụ thuộc kháng thể. Các phức hợp kháng thể opsonin kháng nguyên của babesia trên bề mặt hồng cầu bị nhiễm sau đó có thể được đại thực bào và tế bào lympho gây độc nhận diện. Tế bào lympho gây độc có thể rất quan trọng trong giai đoạn đầu của bệnh khi số lượng hồng cầu bị nhiễm còn ít.

T.gondii là ký sinh trùng sống bắt buộc trong tế bào. Các giai đoạn bào tử thể tachyzoite đều sinh trưởng trong tế bào và đến khi số lượng vi sinh vật đó trở nên nhiều, tế bào bị vỡ ra; bào tử thể tachyzoite được giải phóng sẽ xâm nhập vào tế bào khác. Chúng vào tế bào bằng cơ chế giống như thực bào.

Bình thường, bào tử thể tachyzoite của *Toxoplasma* xâm nhập vào đại thực bào sẽ không bị phá huỷ. Trong quá trình thực bào bình thường, khi một phần tử ký sinh trùng đã bị bao vây trong phagosome thì lysosome chuyển vào trong bào tương và enzyme chuyển vào những khoảng trống xung quanh ký sinh trùng. Hiện tượng này không xảy ra ở đại thực bào đã thực bào *Toxoplasma*. Trong trường hợp này, lysosome có thể chuyển đến phagosome nhưng không kết hợp được với nó. Do vậy bào tử thể tachyzoite của *Toxoplasma* có thể sinh trưởng bên trong tế bào, tránh được kháng thể hoặc lysozyme của lysosome.

Bình thường có cả kháng thể hoặc đáp ứng miễn dịch tế bào xảy ra khi cơ thể tiếp xúc với *Toxoplasma*. Kháng thể cùng với bổ thể phá huỷ vi sinh vật tự do trong dịch của cơ thể (hình 12.9), làm giảm sự lan truyền vi sinh vật giữa các tế bào.

Kháng thể và bổ thể



Hình 12.9. Hệ thống miễn dịch kiểm soát các giai đoạn trong vòng đời của *Toxoplasma gondii*

Tuy nhiên chúng có tác dụng rất ít với dạng ký sinh trùng nằm trong tế bào. Ký sinh trùng khu trú trong tế bào bị đáp ứng miễn dịch tế bào phá huỷ tương tự như đáp ứng miễn dịch đối với *Listeria monocytogens* và *Mycobacteria*. Tế bào được miễn cảm tiết ra IFN- γ đáp ứng với nucleoprotein của *Toxoplasma* làm cho chúng có thể giết chết ký sinh trùng nằm trong tế bào bằng cách kết hợp lysosome - phagosome. Một số tế bào lympho T cũng có thể giải phóng cytokin tác động trực tiếp đến sự sao chép của *Toxoplasma*. Ngoài ra tế bào lympho T gây độc có thể tiêu diệt các bào tử thể tachyzoite của *Toxoplasma* và tế bào nhiễm *Toxoplasma*. Theo cách này đáp ứng miễn dịch do kháng thể và đáp ứng miễn dịch tế bào hoạt động kết hợp với nhau để có thể loại bỏ bào tử thể tachyzoite của ký sinh trùng này. Tuy nhiên bào tử thể tachyzoite của *T.gondii* có thể biến đổi thành dạng nang có chứa bào tử thể bradyzoite. Dạng nang này dường như không có tính gây miễn dịch và không kích thích đáp ứng viêm. Có thể là thời kỳ hình thành nang này không được nhận diện là phần tử lạ. Hoạt hoá đại thực bào bởi cytokin rất quan trọng đối với bệnh do nguyên sinh động vật gây ra khi chúng có khả năng đề kháng với sự phá huỷ bên trong tế bào. Một trong những con đường phá huỷ quan trọng nhất ở những tế bào được hoạt hoá này là sản xuất oxide nitric (NO) từ arginine. Gốc nitrogen được tạo thành của NO do tương tác với gốc oxygen phản ứng có tác dụng gây chết cho nhiều nguyên sinh động vật nằm trong tế bào.

Ở bệnh nhiễm *Theileria parva* của bò các bào tử xâm nhập vào tế bào lympho nhiều hơn. Ký sinh trùng có thể xâm nhập cả tế bào lympho T có chuỗi α/β và γ/δ cũng như tế bào lympho B. Sau đó ký sinh trùng kích thích các đường chuyển tín hiệu dẫn đến sự hoạt hoá không kiểm soát được của proteinkinase gọi là caseinkinase II làm sản xuất IL-

2 và IL-2R. Do vậy những tế bào bị nhiễm tiết IL-2 lại kích thích sự sinh trưởng của chúng. Sự sinh trưởng của tế bào sẽ bị ngừng lại nếu việc sản xuất IL-2 bị phong tỏa. Do giai đoạn liệt sinh của Theileria phát triển bên trong tế bào lympho, tế bào lympho to lên hình thành nguyên bào lympho và bắt đầu tăng sinh. Do ký sinh trùng có thể phân chia đồng thời với tế bào của ký chủ nên các dòng tế bào có mang ký sinh trùng được mở rộng dần. Ở phần lớn bò hiện tượng này có thể dẫn đến tình trạng bệnh nặng và tử vong. Tuy nhiên một số bò có thể khỏi bệnh và có miễn dịch bền vững. Trong chúng, tế bào lympho T gây độc CD8+ giết chết các nguyên bào lympho. Phản ứng này được hạn chế của MHC cho thấy tế bào lympho T gây độc nhận diện kháng nguyên bề mặt do ký sinh trùng sản sinh trong sự kết hợp với phân tử MHC lớp I.

Trong một số bệnh do nguyên sinh động vật, nhất là các bệnh cầu trùng, cơ chế của miễn dịch bảo vệ vẫn còn chưa sáng tỏ. Thí dụ nhiễm chủng cầu trùng gà đường tiêu hoá *Eimeria maxima* cho miễn dịch có khả năng phòng được tái nhiễm. Đáp ứng miễn dịch này ức chế sự sinh trưởng của bào tử thể dinh dưỡng, giai đoạn xâm nhập đầu tiên trong tế bào biểu mô ruột. Tác dụng ức chế này có thể hồi phục vì các giai đoạn ngừng sinh trưởng này có thể chuyển cho động vật bình thường. Kháng thể chống *E.maxima* có thể phát hiện dễ dàng trong huyết thanh gà bị nhiễm và những tế bào thực bào ở gia cầm này có thể có khả năng nuốt các noãn nang cầu trùng. Hiệu quả của đáp ứng miễn dịch cục bộ trong những trường hợp này là chưa rõ mặc dù người ta đã xác định có sự đề kháng khi sử dụng IgA cho uống. Với việc cắt bỏ tuyến ức hoặc tuyến fabricius hay sử dụng huyết thanh chống tế bào lympho đều không thay đổi đáng kể quá trình bệnh thí nghiệm.

Miễn dịch chống cầu trùng đường ruột cũng có ở loài có vú. Nhiễm cầu trùng ở cừu và giai đoạn hình cầu của *T.gondii* ở mèo kích thích một cách có hiệu quả đáp ứng miễn dịch, có khả năng ngăn được tái nhiễm. Mèo thải noãn nang của *Toxoplasma* khoảng 3 tuần sau khi nhiễm và cùng với thời gian xuất hiện kháng thể trong huyết thanh. Tuy nhiên người ta chưa hoàn toàn hiểu rõ những kháng thể này có ức chế sự sản xuất noãn nang hay không. Trong nhiều năm người ta đã cho rằng đặc điểm chung của nhiều bệnh nhiễm nguyên sinh động vật là hiện tượng premunition. Premunition là thuật ngữ sử dụng để mô tả sự đề kháng sau khi nhiễm vi sinh vật nguyên phát đã trở thành mãn tính và sức đề kháng này chỉ đạt được khi ký sinh trùng tồn tại kéo dài trong ký chủ. Thí dụ có những bò nhiễm *Babesia* đề kháng được với bệnh này. Nếu tất cả ký sinh trùng bị loại bỏ khỏi gia súc thì sự đề kháng ngay lập tức suy yếu đi. Song, nghiên cứu của nhiều tác giả đã cho thấy không hoàn toàn như vậy. Thí dụ bò đã được chữa khỏi bệnh do *Babesia* gây ra bằng hoá học trị liệu đã có khả năng đề kháng với cùng chủng gây bệnh này trong vài năm nhưng không đề kháng được với các chủng khác. Cắt bỏ lách cũng sẽ làm cho bệnh cảnh lâm sàng nặng lên. Lách không chỉ là nguồn kháng thể trong bệnh này mà còn có tác dụng loại bỏ hồng cầu bị nhiễm. Ngừng chức năng này bằng việc cắt bỏ lách sẽ làm cho bệnh diễn biến trở lại.

4.1.3. Sự tránh thoát miễn dịch của nguyên sinh động vật

Phần lớn ký sinh trùng nguyên sinh động vật đều có các cơ chế để tránh thoát tác dụng của đáp ứng miễn dịch. Những cơ chế này tương tự những cơ chế được các loại vi

sinh vật khác sử dụng. Thí dụ *T.gondii* có thể tránh khỏi việc gắn vào bạch cầu trung tính để khỏi bị thực bào. Nhiều nguyên sinh động vật gây ra sự ức chế miễn dịch. Thí dụ, *T. parva* xâm nhập và phá huỷ tế bào lympho T. Những nguyên sinh động vật khác như *Trypanosome* có thể thúc đẩy sự phát triển của tế bào lympho ức chế hoặc làm cho tế bào lympho B hoạt động suy giảm. Ức chế miễn dịch do ký sinh trùng gây ra có thể làm tăng khả năng sống sót của ký sinh trùng. Thí dụ *Babesia bovis* có tác dụng ức chế miễn dịch đối với bò. Do vậy ký chủ trung gian của nó, ve *Boophilus microplus*, có khả năng sống sót tốt hơn ở bò bị nhiễm *Babesia*. Do vậy bò bị nhiễm có nhiều ve hơn bò khoẻ mạnh bình thường không bị nhiễm bệnh, khả năng lan truyền *B. bovis* do đó tăng lên. Tuy nhiên việc ức chế miễn dịch do ký sinh trùng gây ra có thể dẫn đến tử vong của gia súc do nhiễm vi khuẩn thứ phát vì vậy việc ức chế đó không phải luôn luôn có lợi cho ký sinh trùng. Hiện tượng này gặp ở bệnh nhiễm *Trypanosome* ở bò; bò thường chết vì viêm phổi do vi khuẩn hoặc nhiễm khuẩn huyết vì hậu quả của ức chế miễn dịch.

Ngoài ức chế miễn dịch, nguyên sinh động vật còn có hai kỹ thuật tránh đáp ứng miễn dịch một cách hiệu quả, một là trở thành không có tính kháng nguyên và hai là phát triển khả năng làm biến đổi kháng nguyên bề mặt nhanh chóng và nhắc lại. Thí dụ về vi sinh vật không còn tính kháng nguyên là giai đoạn hình thành nang của *T.gondii* như đã đề cập trước đây, dường như trạng thái này không kích thích đáp ứng của vật chủ. Một số nguyên sinh động vật có thể trở nên không có tính kháng nguyên bằng cách che khuất chúng bởi các kháng nguyên của ký chủ. Thí dụ *Trypanosoma theileri* ở bò và *Trypanosoma lewisi* ở chuột cống. Cả hai *Trypanosoma* này đều không gây bệnh, tồn tại trong máu của động vật bị nhiễm vì chúng được bao bọc bởi một lớp protein huyết thanh của ký chủ nên không được xem là phần tử lạ. *T. brucei* cũng có thể hấp phụ các protein huyết thanh hoặc hồng cầu của ký chủ vì vậy không còn tính kháng nguyên hoạt động.

Mặc dù không có tính kháng nguyên được xem là bước cuối cùng trong quá trình tránh thoát miễn dịch, nhiều nguyên sinh động vật, đặc biệt là *Trypanosome* còn có cách biến đổi kháng nguyên trên phạm vi rộng. Trong trường hợp bò bị nhiễm *Trypanosome* gây bệnh như *T.vivax*, *T.congolense*, *T.brucei*, kiểm tra ký sinh trùng trong máu với những khoảng cách thời gian nhất định thấy lượng ký sinh trùng trong máu rất thay đổi. Thời kỳ có lượng ký sinh trùng cao trong máu thay đổi xen kẽ đều đặn với thời kỳ có ít hoặc không thể phát hiện được. Huyết thanh lấy từ động vật bị nhiễm sẽ có kháng thể chống *Trypanosome* phân lập trước thời điểm lấy máu nhưng không chống lại được *Trypanosome* phát triển sau đó. Mỗi thời kỳ có lượng ký sinh trùng cao trong máu phù hợp với sự tăng sinh một quần thể *Trypanosome* cùng với kháng nguyên glycoprotein mới trên bề mặt. Sự loại bỏ quần thể này của kháng thể làm giảm nhanh lượng ký sinh trùng trong máu. Tuy nhiên trong quần thể ký sinh trùng sống sót, một số biểu thị glycoprotein bề mặt mới và có thể sinh trưởng mà không gặp sự cản trở nào. Do vậy một quần thể mới phát sinh và tạo ra một thời kỳ khác có lượng ký sinh trùng cao trong máu. Sự dao động theo chu kỳ này của ký sinh trùng với các đỉnh cao được biểu diễn trên đồ thị phản ánh sự xuất hiện những ký sinh trùng có protein bề mặt mới có thể tiếp diễn trong nhiều tháng. Glycoprotein bề mặt biến đổi là những kháng nguyên bề mặt chủ yếu

của các ký sinh trùng này. Glycoprotein bề mặt biến đổi được sản xuất sớm trong bệnh nhiễm *Trypanosome* và có xu hướng phát triển các chuỗi có thể dự đoán được. Tuy nhiên do nhiễm ký sinh trùng tiến triển, sản xuất glycoprotein bề mặt biến đổi trở nên ngẫu nhiên hơn. *Trypanosome* nuôi cấy cũng thể hiện sự biến đổi tính kháng nguyên một cách tự nhiên, cho thấy biến đổi glycoprotein bề mặt không cần phải có kháng thể kích thích. Dưới kính hiển vi điện tử người ta có thể quan sát thấy glycoprotein bề mặt biến đổi làm thành một vỏ khoác phủ lên bề mặt của *Trypanosome*. Sự biến đổi đó là: glycoprotein biến đổi trên vỏ khoác cũ mất đi và thay thế vào đó bằng glycoprotein bề mặt biến đổi khác về tính kháng nguyên. Phân tích quá trình này cho thấy *Trypanosome* có chứa một số lượng lớn gene cho glycoprotein bề mặt biến đổi. Chỉ một gene của glycoprotein bề mặt biến đổi hoạt động trong mỗi liên hệ với hàng loạt gene khác có quan hệ gần gũi điều chỉnh sự biểu thị của nó. Ký sinh trùng có một tập hợp khoảng 1000 gene không hoạt động mã hoá cho glycoprotein bề mặt biến đổi. Sự biến đổi kháng nguyên xảy ra do thay thế một gene hoạt động của glycoprotein bề mặt biến đổi bằng một gene trong tập hợp những gene không hoạt động. Chỉ cần một phần nhỏ các glycoprotein bề mặt biến đổi tiếp xúc với kháng thể của vật chủ, thậm chí không cần thiết phải biến đổi hoàn toàn một phân tử. Thay thế quyết định kháng nguyên tiếp xúc là đủ để sự biến đổi kháng nguyên có hiệu quả. Đầu tiên ký sinh trùng thay thế hoàn toàn các gene của glycoprotein bề mặt biến đổi, sau đó thay thế từng phần và những điểm đột biến tạo nên tính đặc hiệu mới của kháng nguyên.

Không chỉ bệnh do *Trypanosome* gây ra là bệnh nhiễm nguyên sinh động vật có sự biến đổi kháng nguyên bề mặt mà trong bệnh do *Babesia* cũng thấy chúng gây tái phát dường như có tính kháng nguyên khác với chủng ban đầu. Sự biến đổi kháng nguyên còn gặp ở bệnh sốt rét mặc dù mức độ biến đổi kháng nguyên và sự khác nhau giữa các kháng nguyên là rất ít.

Do ký sinh trùng nguyên sinh động vật cần phải tránh thoát đáp ứng miễn dịch nên chúng xâm nhập nhiều hơn vào cá thể bị ức chế miễn dịch. Ký sinh trùng ở trạng thái tương đối không kích thích đáp ứng miễn dịch như dạng nang của *T.gondii* hoặc *Cryptosporidium bovis* lại có thể biến đổi thành dạng hoạt động hơn, gây bệnh nặng hơn cho động vật bị ức chế miễn dịch. Vì lý do này nên bệnh cấp tính do *Toxoplasma* hoặc *Cryptosporidium* thường xảy ra ở người bị ức chế miễn dịch (bệnh nhân đang điều trị ung thư hoặc mắc bệnh AIDS...).

4.1.4. Hậu quả có hại gặp trong miễn dịch với nguyên sinh động vật

Đáp ứng miễn dịch chống nguyên sinh động vật có thể dẫn đến phản ứng quá mẫn. Những phản ứng này góp phần quan trọng vào cơ chế sinh bệnh của bệnh do nguyên sinh động vật gây ra. Những phản ứng quá mẫn type I là đặc điểm của bệnh nhiễm *Trichomonas*, gây kích thích và viêm cục bộ đường sinh dục. Phản ứng gây độc type II rất quan trọng ở bệnh nhiễm *Babesia* và *Trypanosome* do chúng gây ra tình trạng thiếu máu. Trong bệnh do *Babesia* các hồng cầu nhiễm ký sinh trùng mang kháng nguyên có nguồn gốc ký sinh trùng trên bề mặt và vì vậy được nhận diện là phân tử lạ rồi bị loại bỏ

do dung huyết và thực bào. Còn ở bệnh do *Trypanosome* gây ra, những ký sinh trùng bị phá huỷ hoặc phức hợp miễn dịch hình thành trước đây gắn vào hồng cầu, kích thích sự loại bỏ miễn dịch và như vậy góp phần làm thiếu máu. Phức hợp miễn dịch được hình thành không chỉ trên hồng cầu mà trong một số trường hợp, còn có ở toàn thân gây viêm mạch quản, viêm cầu thận (phản ứng quá mẫn type III). Một hậu quả khác của bệnh nhiễm *Trypanosome* là làm tăng mạnh số lượng tế bào tiết IgM không đặc hiệu với ký sinh trùng. Hàm lượng cao IgM được phát hiện thấy trong máu chuột, người, thỏ và bò bị nhiễm. Hiện tượng này là do hoạt hoá tế bào lympho B đa dòng. Tuy nhiên một số kháng thể được sản xuất có tác dụng chống lại các tự kháng nguyên, đó là những phần tử giống như yếu tố gây bệnh thấp khớp và kháng thể chống tế bào lympho tuyến ức, ss DNA, hồng cầu và huyết tiểu cầu. Ở bò bị nhiễm *T. congolense*, những tế bào lympho B được kích thích này cũng biểu thị BoCD5. Như đã đề cập trước đây, tế bào lympho B CD5+ được nhiều tác giả xem là một dòng khác với tế bào lympho B thông thường. Cơ chế của sự kích thích tế bào lympho này vẫn còn chưa rõ.

Có thể là phản ứng quá mẫn type IV góp phần vào phản ứng viêm xảy ra khi nang *Toxoplasma* bị phân giải và giải phóng bào tử thể tachyzoite. Chất chiết của *T. gondii* nếu sử dụng tiêm nội bì cho động vật bị nhiễm sẽ làm chậm phản ứng quá mẫn và do đó được sử dụng để chẩn đoán bệnh này.

4.1.5. Sử dụng vaccine chống nguyên sinh động vật

Hiện nay, mới chỉ có vaccine phòng bệnh hiệu quả với *Babesia*, *Theileria* và *Toxoplasma*. Các loài *Babesia* gồm một nhóm nhiều vi sinh vật khác nhau ký sinh trong hồng cầu (gây thiếu máu) và có ký chủ trung gian là ve. Nhiều yếu tố tạo nên sức đề kháng của động vật với bệnh do *babesia* gây ra như yếu tố di truyền (bò Zebu có khả năng đề kháng bệnh tốt hơn bò châu Âu), tuổi (bò có sức kháng tốt trong 6 tháng đầu sau khi sinh). Sau mắc bệnh do *babesia* động vật vẫn có sự đề kháng tốt, phòng được tái phát. Miễn dịch này được xem là premunity. Để có miễn dịch, nên gây nhiễm cho bê non vì trong giai đoạn này chúng vẫn còn tương đối không mẫn cảm với bệnh. Ký sinh trùng được sử dụng làm vaccine đầu tiên được làm giảm độc bằng cách chuyển nhiều lần qua bê đã cắt bỏ lách và sau đó chuyển toàn bộ máu cho con nhận. Việc truyền máu từ bê này cho bê khác có thể gây sản sinh kháng thể với hồng cầu lạ và làm khó khăn cho truyền máu lần sau cũng như gây dung huyết ở bê sinh ra từ bò cái đã được mẫn cảm. Thường phải dùng hoá học trị liệu để khống chế chúng. Một biện pháp khác nhằm tạo sự đề kháng của bò nhiễm *T. parva* bằng cách gây nhiễm chúng với các bào tử thể có độc lực đã được xử lý bằng tetracycline.

Các nhà khoa học cũng đã cố gắng để tạo ra miễn dịch phòng bệnh nhiễm cầu trùng gà. Việc nhiễm cầu trùng sống có thể tạo ra miễn dịch bảo vệ. Dùng một lượng nhỏ nhắc lại nhiều lần noãn nang sống cầu trùng tạo được miễn dịch bảo vệ nhưng lại có thể gây ra phản ứng nghiêm trọng khiến phải sử dụng thuốc điều trị bệnh cầu trùng. Để có bất kỳ miễn dịch nào với ký sinh trùng cũng phải dựa vào toàn phần của ký sinh trùng. Noãn nang giảm độc bằng phóng xạ ion đã được sử dụng; toàn bộ vòng đời của nó không bị

phóng xạ làm gián đoạn. Một số vaccine tái tổ hợp chống cầu trùng *Eimeria tenella* cũng đã được thử nghiệm thành công.

Nhiễm *T. gondii* nguyên phát sẽ tạo được miễn dịch mạnh ở động vật. Ở New Zealand, vaccine sống *Toxoplasma* có chứa chủng S48 đã giúp phòng bệnh do *Toxoplasma* cho cừu. Chủng này được tạo ra bằng cách tiêm truyền qua chuột thí nghiệm trong một thời gian dài và chúng đã mất khả năng phát triển bào tử thể bradyzoite hoặc mất khả năng hình thành các giai đoạn sinh sản trong vòng đời của nó. Có thể tạo miễn dịch ở mèo cho khả năng phòng bệnh ít nhất trong 18 tháng. Tuy nhiên nhược điểm của vaccine này là chỉ giữ được hiệu lực trong 7- 8 ngày và lại có khả năng gây nhiễm cho người.

4.2. Miễn dịch chống giun sán

Ở loài có vú, hệ thống miễn dịch không đạt được hiệu quả rõ rệt trong việc đề kháng đối với giun sán mà có khi lại gây hại vì đáp ứng miễn dịch khống chế ký sinh trùng là do IgE.

Hệ thống miễn dịch hầu như không khống chế được bệnh do giun sán. Các ký sinh trùng này đã thích nghi đối với đời sống ký sinh bắt buộc của chúng. Sự thích nghi đó làm cho chúng vượt qua được đáp ứng miễn dịch hoặc là né tránh được đáp ứng miễn dịch và sự sống của chúng phụ thuộc vào sự thích nghi với ký chủ. Do vậy ký sinh trùng loại này chỉ gây bệnh nhẹ hoặc gây thể bán cấp tính, hiếm khi gây tử vong. Chỉ khi xâm nhập vào vật chủ mà chúng không có khả năng thích nghi hoàn toàn hoặc với số lượng quá lớn thì chúng mới có thể gây bệnh cấp tính. Đặc điểm của bệnh do giun sán là có những cá thể có thể chứa một số lượng lớn ký sinh trùng. Nhiều động vật chứa một số ít giun sán nhưng một số động vật lại có thể chứa một số lượng lớn. Chúng nhiễm nặng giun sán là do ảnh hưởng của yếu tố di truyền, hành vi, thức ăn, môi trường. Tình trạng đó đã phản ánh sự khác nhau về sự miễn cảm hoặc đề kháng của động vật.

4.2.1. Cơ chế phòng vệ do miễn dịch không đặc hiệu

Ảnh hưởng đến quá trình nhiễm giun sán không chỉ từ ký chủ mà còn do ảnh hưởng của các loại giun sán với ký chủ đó. Sự có mặt của giun sán trưởng thành trong ruột có thể làm chậm sự phát triển các giai đoạn ấu trùng tiếp theo của cùng một loài giun sán ấy, thí dụ bê bị nhiễm *Cysticercus bovis* là đang có khả năng tăng đề kháng với chính ký sinh trùng này. Cũng tương tự, cừu có thể thu được khả năng đề kháng với sán dây *Echinococcus granulosus* nên khi tăng một số lượng trứng lên nhiều lần không làm bệnh nhiễm nặng thêm. Lượng trứng ban đầu lại kích thích loại bỏ lượng trứng tiếp theo. Sự cạnh tranh giữa các loài giun sán về nơi ký sinh, dinh dưỡng trong đường ruột sẽ xác định số lượng, vị trí và thành phần của một quần thể giun sán ở một động vật.

Những yếu tố ảnh hưởng đến nhiễm giun sán là tuổi, giới tính, các yếu tố về di truyền của ký chủ. Ảnh hưởng của tuổi và giới tính đến nhiễm giun sán dường như do hormone là chủ yếu. Ở những động vật có chu kỳ sinh sản mang tính mùa vụ thì chu kỳ sinh sản của ký sinh trùng cũng có xu hướng đồng bộ với chu kỳ sinh sản của vật chủ.

Thí dụ cừ cái tăng số lượng trứng trong phân vào mùa xuân trùng với thời gian đẻ và bắt đầu tiết sữa của cừ. Tương tự như vậy, sự phát triển của ấu trùng được bò nuốt vào từ đầu mùa đông có xu hướng bị ức chế cho đến tận mùa xuân, một hiện tượng được gọi là sống ngâm (hypobiosis). Ấu trùng giun đũa chó *Toxaca canis* có thể di hành từ chó cái bị nhiễm đến gan của bào thai và gây bệnh cho bào thai. Khi sinh ra, từ phân của chó con bị nhiễm lại tái nhiễm cho mẹ của chúng qua đường tiêu hoá.

Có thể thấy sự liên quan giữa sự đề kháng và di truyền trong bệnh nhiễm giun sán. Cừ có hemoglobin A kháng với *Hemonchus contortus* và *Ostertagia circumcincta* cao hơn cừ có hemoglobin B. Nguyên nhân của tình trạng này đến nay vẫn chưa rõ. Tuy nhiên cừ có HbA tạo ra được một phản ứng tự khỏi bệnh tốt hơn và đáp ứng miễn dịch tốt hơn với nhiều kháng nguyên khác. Một thí dụ khác là so sánh với bò châu Âu thì khả năng đề kháng với *Cooperia oncophora* ở bò Zebu tốt hơn. Trong nhiều trường hợp sự đề kháng với giun sán có liên quan với MHC. Bò có chứa BoLaw7 và A36 thường có ít trứng trong phân; ngược lại bò có Aw3 thì xu hướng có số lượng nhiều trứng trong phân. Một số thể đơn bội của MHC cũng có thể có mối liên hệ với hàm lượng kháng thể chống *Ostertagia*; phức hợp SLA đã được xác định ở một số dòng lợn có tầm vóc rất nhỏ do vậy tác dụng của MHC đối với miễn dịch có thể là quan trọng. Trong một nghiên cứu cho thấy cơ của lợn tầm vóc nhỏ mang thể đơn bội cc bị nhiễm ấu trùng giun xoắn *Trichinella spiralis* thấp hơn 50% so với lợn có thể đơn bội dd hoặc ad. Các lợn có tầm vóc rất nhỏ này có ít nhất một bản sao của allele a thể hiện khả năng giết chết các ấu trùng trong cơ tăng lên (47% lợn mang allele a đáp ứng với *Trichinella* so sánh với 8% ở lợn thiếu allele này). Đáp ứng này là nhờ các tế bào lympho và đại thực bào chiếm ưu thế trong phản ứng tế bào xung quanh mỗi ấu trùng.

4.2.2. Miễn dịch đặc hiệu với giun sán

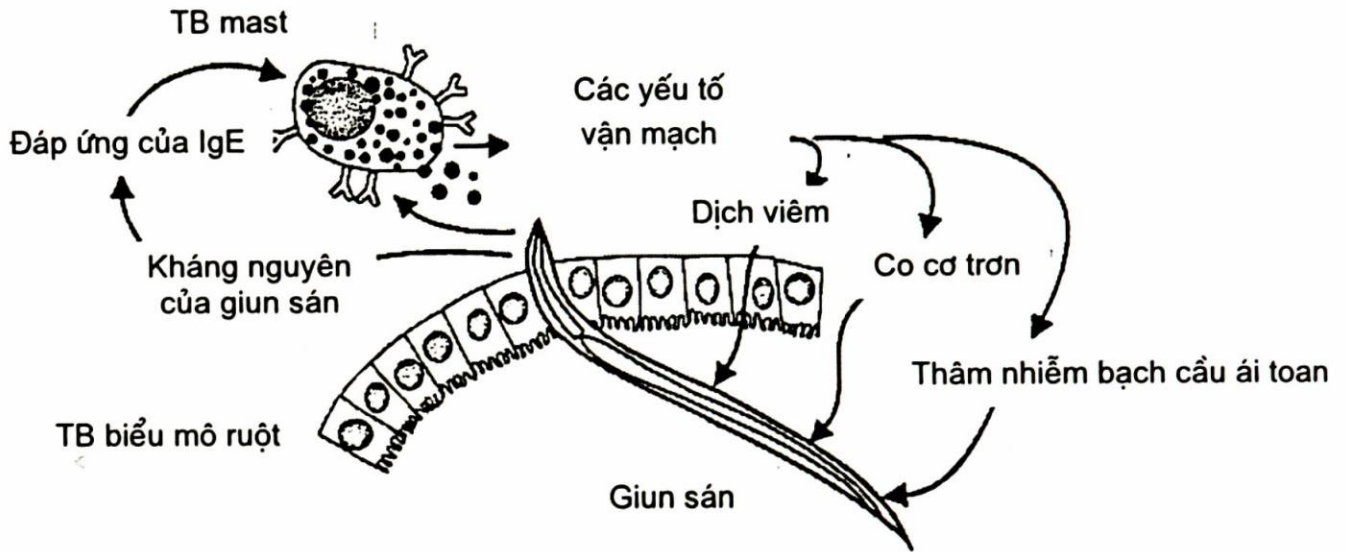
Giun sán thường được phát hiện thấy ở hai nơi trong cơ thể: ấu trùng ở tổ chức và dạng trưởng thành trong đường tiêu hoá, hô hấp. Rõ ràng là đáp ứng miễn dịch có tác dụng tối ưu ở các vị trí là khác nhau một cách đáng kể. Giun sán thường có vỏ ngoài dày bằng sừng (cuticle) để bảo vệ màng tế bào dưới biểu bì của giun tròn. Một số giun tròn cũng có vỏ ngoài lỏng lẻo làm cho chúng có thể dễ dàng tháo bỏ vỏ khi xâm nhập cơ thể.

4.2.3. Miễn dịch dịch thể

Mặc dù các lớp kháng thể IgM, IgA và IgG thường được sản xuất để đáp ứng với kháng nguyên của giun sán nhưng lớp immunoglobulin quan trọng nhất trong đề kháng với giun sán vẫn là IgE. Kháng nguyên của giun sán dường như tăng cường thúc đẩy hoạt hoá các tế bào Th2 do vậy hàm lượng IgE thường tăng cao ở những cá thể nhiễm giun sán. Rất nhiều trường hợp nhiễm giun sán có kèm theo triệu chứng đặc trưng của phản ứng quá mẫn type I, bao gồm tăng bạch cầu ái toan, phù, viêm da nổi mẩn đỏ. Thí dụ lợn nhiễm giun đũa *Ascaris suum* có phản ứng dị ứng ở da với kháng nguyên ký sinh trùng tiêm vào cũng như mất hạt các tế bào mast của niêm mạc ruột. Ngoài ra nhiều trường hợp nhiễm ký sinh trùng giun sán như giun kết hạt (*Oesophagostomum*), giun

lươn (*Strongyloides*), sán dây (*Taenia*), sán lá (*Fasciola*) thường có phản ứng da dương tính đối với kháng nguyên giun sán.

Mặc dù việc sản xuất IgE và dị ứng do IgE gây nên tình trạng khó chịu nhưng chúng có lợi cho việc khống chế giun sán. Hiện tượng này gặp trong các phản ứng tự khỏi ở cừu nhiễm giun tròn đường tiêu hoá, đặc biệt là *H. contortus*. Nằm sâu trong niêm mạc ruột và dạ múi khế, giun này tiết ra các dị ứng nguyên gây ra phản ứng quá mẫn type I ở nơi nhiễm ký sinh trùng tại ruột (hình 12.10).



Hình 12.10. Đề kháng của cơ thể chống giun sán

Sự kết hợp kháng nguyên của giun sán và IgE vào tế bào mast dẫn đến mất hạt tế bào mast và giải phóng chất gây co mạch. Các chất này kích thích co bóp cơ trơn và làm tăng tính thấm thành mạch, làm co bóp mạnh cơ trơn của ruột, tăng tính thấm của mao quản ở ruột, gây thoát dịch vào lòng ruột. Kết quả là làm cho giun không bám được vào ruột và phần lớn bị đẩy ra ngoài. Ở cừu vừa khỏi bệnh, lượng kháng thể gây phản ứng phòng vệ động dương tính ở da cao và sử dụng kháng nguyên của giun sán sẽ gây ra phản ứng phòng vệ cấp tính, khẳng định vai trò của phản ứng quá mẫn type I trong hiện tượng này. Phản ứng tương tự cũng gặp ở bệnh nhiễm sán lá gan của bê. Khi lượng kháng thể gây phản ứng phòng vệ của da dương tính đạt đỉnh cao cũng là thời điểm giun bị đẩy ra ngoài.

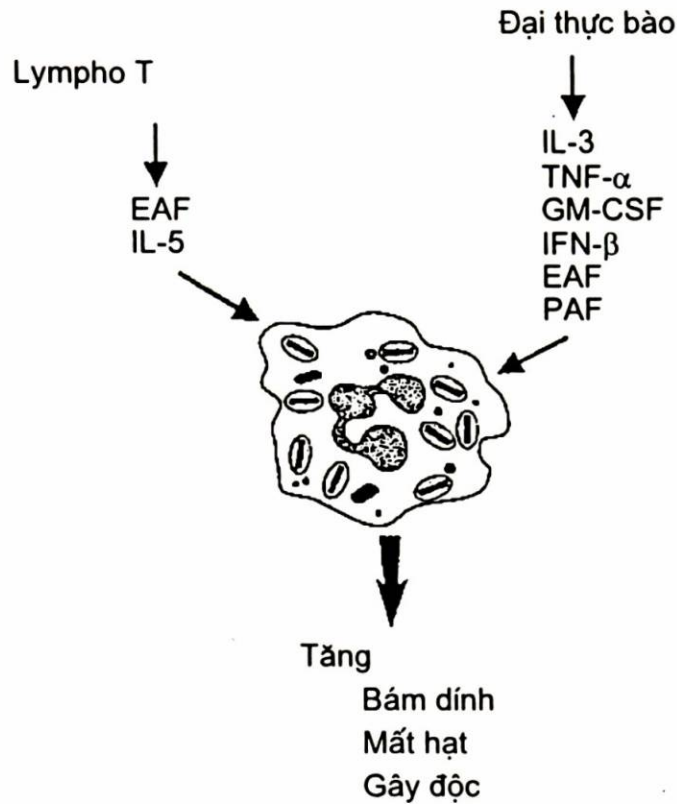
Đại thực bào, tiểu cầu, bạch cầu ái toan có chứa FcεR (CD23) nên chúng có thể gắn vào ký sinh trùng đã được bao phủ bằng IgE và việc gắn đó khiến các tế bào này được hoạt hoá. Đại thực bào gắn vào ấu trùng giun sán thông qua IgE chứng tỏ enzyme của lysosome tăng cao và tăng sản xuất các chất chuyển hoá của các gốc oxygen phản ứng, interleukin1 (IL-1), leukotriene, prostaglandin và yếu tố hoạt hoá tiểu cầu (platelet-activating factor, PAF). Mạng lưới này làm tăng sự phá huỷ giun sán.

Bạch cầu ái toan được thu hút nhờ phần tử hướng động hoá học được giải phóng từ tế bào mast. Những phần tử này cũng huy động bạch cầu ái toan từ tuỷ xương dẫn đến giải phóng một số lượng lớn bạch cầu ái toan vào máu. Vì vậy tăng bạch cầu ái toan là đặc điểm đặc trưng của bệnh nhiễm giun sán. Số lượng bạch cầu ái toan có thể tăng 10-

30 lần ở chuột bị nhiễm ký sinh trùng đường ruột do sản xuất IL-5 của tế bào Th2 tăng lên.

Các enzyme của bạch cầu ái toan và sự phá huỷ ký sinh trùng

Một trong những chức năng của bạch cầu ái toan là phá huỷ giun sán. Do có receptor Fc, bạch cầu ái toan gắn vào ký sinh trùng đã được kháng thể bao phủ. Khi gắn vào ký sinh trùng thì chúng mất hạt và các chất chứa trong hạt này được giải phóng vào vỏ của giun sán (hình 12.11).

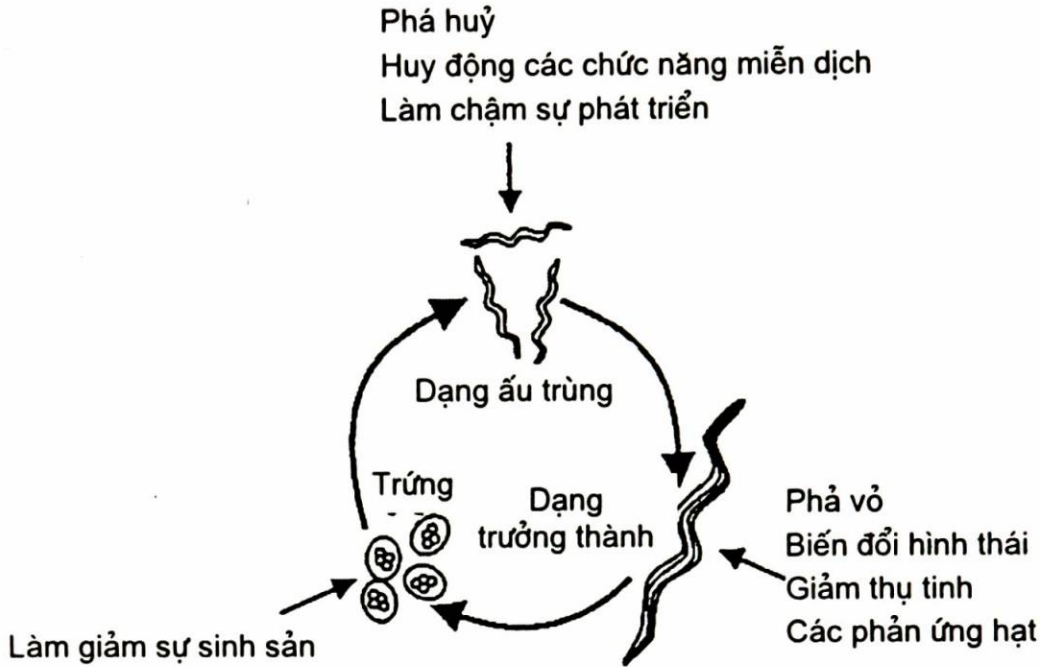


Hình 12.11. Các yếu tố tham gia hoạt hoá bạch cầu ái toan

Đó là các sản phẩm của hoạt động hô hấp như superoxide, hydrogen peroxide và các gốc tự do khác được sản sinh từ peroxidase và enzyme phân giải của bạch cầu ái toan như lysophospholipase và phospholipase. Khuynh hướng giải phóng peroxidase ra bên ngoài tế bào của những tế bào này cho thấy vai trò chủ yếu của chúng là ngăn cản ký sinh trùng xâm nhập vào tổ chức. Protein cơ bản chủ yếu (major basic protein, MBP), phân lõi trong suốt của các hạt đặc hiệu chỉ cần nồng độ rất thấp cũng có thể phá huỷ lớp vỏ của *Schistosoma*, sán lá *Fasciola* và giun xoắn *Trichinella*. Protein mang cation của bạch cầu ái toan là một ribonuclease có tác dụng gây chết đối với giun sán. Độc tố thần kinh (Neurotoxin) có nguồn gốc bạch cầu ái toan cũng là một ribonuclease có tác dụng gây độc nhẹ cho giun sán.

Mặc dù đáp ứng chống giun sán của bạch cầu ái toan phụ thuộc IgE có thể là cơ chế đề kháng quan trọng nhất chống giun sán song các lớp immunoglobulin khác cũng tham gia trong miễn dịch bảo vệ. Các cơ chế này bao gồm tác động của kháng thể trung hoà protease mà ấu trùng sử dụng để xuyên qua tổ chức, các phức hợp miễn dịch do kháng thể kết hợp với sản phẩm loại thải và sản phẩm tiết phong toả lỗ hậu môn và miệng của

ấu trùng, kháng thể tác động trực tiếp chống kháng nguyên ngăn cản sự tháo vỏ và ức chế sự phát triển của ấu trùng. Một trong những tác nhân gây miễn dịch bảo vệ chống sán lá gan *Fasciola hepatica* ở cừu là enzyme glutathione-S-transferase. Đường của những enzyme khác cũng có thể bị kháng thể phong toả, tác dụng đến sán trưởng thành làm ngừng đẻ trứng hoặc tác động đến sự phát triển cấu trúc giải phẫu của giun sán (hình 12.12).



Hình 12.12. Tác dụng của đáp ứng miễn dịch trong các giai đoạn phát triển của giun sán

Ostertagia ostertagi cái không thể phát triển được mép âm hộ khi sinh trưởng trong bê miễn dịch. Cũng tương tự, dạng gai nhỏ có thể biến đổi ở *Cooperia* đực khi chúng ở trong ký chủ đã miễn dịch.

Ở đây, tác dụng của IgG ít quan trọng. Hiện tượng này đã thấy trong bệnh nhiễm sán dây *E.granulosus*. Một số chó bị nhiễm sán xuất kháng thể IgG chống các kháng nguyên đầu sán và kháng thể tiết sớm vào khoảng 5-10 ngày sau khi nhiễm. Tuy nhiên không có mối tương quan giữa nhiễm sán và hàm lượng kháng thể này. Hơn nữa có đến 60% chó bị nhiễm sán tự nhiên không sản xuất kháng thể IgG, kể cả chó bị nhiễm đến 20.000 sán.

4.2.4. Miễn dịch tế bào

Nhiều giun sán ký sinh, đặc biệt là giai đoạn chúng di hành trong tổ chức, được xem như là mảnh ghép lạ. Tuy nhiên chúng không bị loại bỏ nhanh bằng đáp ứng miễn dịch tế bào. Sự sống sót của chúng là nhờ sự thích nghi chúng có được trong tổ chức ký chủ là loài có vú. Kháng nguyên của giun sán nói chung có tác dụng kích thích tế bào Th2. Tuy nhiên đáp ứng với tế bào Th1 cũng có thể xảy ra và do vậy tế bào lympho T gây độc cũng có thể tấn công giun sán nằm sâu trong niêm mạc ruột hoặc có giai đoạn phát triển kéo dài trong tổ chức. Thí dụ như phản ứng miễn dịch tế bào thể hiện ở miễn dịch đối

với giun xoắn *T. spiralis* và giun xoắn *Trichostrongylus colubriformis*; trong phản ứng với *T. spiralis*, miễn dịch có thể chuyển cho động vật khoẻ mạnh bình thường bằng tế bào lympho. Động vật bị nhiễm thể hiện phản ứng quá mẫn muộn với kháng nguyên của giun tiêu nội bì. Phản ứng invitro đối với miễn dịch tế bào như sản xuất lymphokin và tăng sinh tế bào lympho cũng dương tính ở động vật bị nhiễm. Trong trường hợp nhiễm *T. colubriformis* miễn dịch có thể chuyển từ con vật được miễn dịch sang con vật bình thường bằng cả tế bào và huyết thanh, còn vị trí bám của giun lại lệ thuộc vào sự thâm nhiễm của tế bào lympho.

Tế bào lympho ở cừu bị nhiễm *H. contortus* giải phóng cytokin và tạo tế bào mầm để đáp ứng với kháng nguyên của giun và miễn dịch này có thể chuyển cho cừu có cùng gene bằng tế bào lympho miễn dịch.

Tế bào lympho đã được mẫn cảm ức chế hoạt động của giun sán bằng hai cơ chế: cơ chế thứ nhất là phát triển phản ứng quá mẫn muộn thu hút bạch cầu đơn nhân đến nơi ấu trùng xâm nhập và làm cho môi trường tại đó không còn thích hợp cho sự sinh trưởng hoặc di hành của ấu trùng. Cơ chế thứ hai là tế bào lympho T gây độc phá huỷ ấu trùng. Như vậy sử dụng vaccine BCG ở động vật thí nghiệm kích thích tế bào lympho T ức chế sự biến thái của nang sán (thí dụ nang sán của sán dây *E. granulosus*). Ở động vật sử dụng vaccine BCG, các chỗ trống xung quanh nang sán có thể chứa đầy những tế bào lympho lớn. Cũng thường thấy các tế bào lympho lớn kết dính rất chắc với ấu trùng di hành của giun tròn *in vivo*.

Nghiên cứu so sánh giữa cừu có sức đề kháng với *H. contortus* và cừu mẫn cảm với giun này cho thấy có sự khác nhau về chức năng của các tế bào lympho B. Ở cừu có khả năng đề kháng với giun này có tế bào chứa IgA và IgG1 nhiều hơn một cách đáng kể so với cừu mẫn cảm. Cũng thấy sự khác nhau về hoạt động của các tế bào lympho T vì cừu có khả năng đề kháng với loại giun này đáp ứng tốt hơn đối với kháng nguyên phụ thuộc tế bào lympho T (như Albumin của trứng) và xử lý bằng kháng thể đơn dòng đối với CD4 ở cừu có khả năng đề kháng sẽ hoàn toàn làm mất khả năng đề kháng của chúng với *H. contortus*. Số lượng tế bào mast của niêm mạc và bạch cầu ái toan cũng giảm xuống ở cừu được xử lý bằng kháng thể này. Ngược lại, loại bỏ tế bào CD8+ không ảnh hưởng đến sức đề kháng.

4.2.5. Sự né tránh đáp ứng miễn dịch của giun sán

Mặc dù động vật sử dụng một số cơ chế để chống giun sán nhưng đáp ứng miễn dịch thường không đạt được hiệu quả cao. Giun sán có sự thích nghi để sống sót và vẫn hoạt động với sự có mặt của hệ thống miễn dịch có chức năng đầy đủ ở ký chủ. Một số cách né tránh miễn dịch đóng vai trò quan trọng trong sự thích ứng với ký chủ. Chúng có thể mất tính kháng nguyên bằng cách bắt chước các phân tử kháng nguyên của ký chủ hoặc hấp thu kháng nguyên của ký chủ, phong toả kháng thể và dung nạp miễn dịch. Giun sán trở nên mất tính kháng nguyên khi chúng phát triển trong hoạt động của hệ thống miễn dịch. Chọn lọc tự nhiên làm thuận lợi cho ký sinh trùng thể hiện giảm tính kháng nguyên. Cừu đáp ứng kém hơn tỏ với kháng nguyên của *H. contortus*. Một khía

khác của việc mất tính kháng nguyên có thể là giun sán tổng hợp và biểu thị kháng nguyên của ký chủ trên bề mặt của chúng. Chúng tổng hợp các quyết định kháng nguyên phù hợp tổ chức không đa hình thái hoặc các kháng nguyên của nhóm máu để hoà nhập vào kháng nguyên của ký chủ. Rất nhiều sán lá và sán dây có thể tổng hợp được các kháng nguyên nhóm máu của ký chủ.

Các giun sán ở tổ chức cũng có thể giảm tính kháng nguyên một cách có hiệu quả bằng cách hấp phụ các kháng nguyên của ký chủ trên bề mặt của chúng và như vậy che khuất kháng nguyên của ký sinh trùng. Hiện tượng này gặp ở bệnh nhiễm sán dây dạng trưởng thành *Taenia sodium* ở lợn, ký sinh trùng được IgG bao phủ. Người ta cũng chưa rõ là IgG được sán tổng hợp hay là sán tổng hợp receptor gắn với IgG của ký chủ. Các *Cysticercus* cũng hấp phụ các phần tử MHC trên bề mặt của chúng. *Schistosoma* có thể trung hoà tác dụng hoạt hoá bổ thể theo con đường luân phiên bằng cách gắn yếu tố làm tăng tốc độ phân huỷ của ký chủ (decay- accelerating factor, DAF, CD55) ở lớp màng ngoài lipide của chúng.

Các giun sán khác lại tác dụng đến khâu trình diện kháng nguyên. Đại thực bào của động vật bị nhiễm không có tác dụng của tế bào trình diện kháng nguyên. Giun chỉ (*Filaria*) tiết ra chất ức chế có thể phong toả protease của đại thực bào. Sán dây *Taenia taeniaeformis* tiết taeniastatin, một chất ức chế protease làm ức chế tác dụng hướng động hoá học của bạch cầu trung tính, tăng sinh tế bào lympho T và sản xuất IL-2. Một số ký sinh trùng như sán lá gan *F.hepatica* có thể tiết ra protease làm giáng hoá immunoglobulin của ký chủ. Protease này làm sản sinh các phần nhỏ của mảnh Fab có thể gắn với kháng nguyên của ký sinh trùng và che khuất những kháng nguyên này. Chúng cũng làm sản sinh các phần nhỏ của Fc có thể phong toả receptor của tế bào. Sán dây cũng có thể tác động đến hệ thống bổ thể bằng cách tiết ra proteoglycans có thể hoạt hoá bổ thể. Sán dây *E.granulosus* tiết ra chất ức chế của elastase phong toả sự thu hút bạch cầu trung tính của C5a và PAF. Rất nhiều giun sán biểu thị chất chống oxy hoá ở bề mặt như peroxidase dismutase, glutathion peroxidase và glutathion-S- transferase. Những chất này có thể trung hoà hoạt động hô hấp của ký chủ và bảo vệ cấu trúc bề mặt chống lại sự peroxide hoá. Các cơ chế khác nhằm tránh thoát miễn dịch là sự biến đổi tính kháng nguyên. Mặc dù giun sán không phát triển một hệ thống giống như hệ thống gặp trong bệnh do *Trypanosome* gây ra nhưng có sự biến đổi tính kháng nguyên dần dần. Kháng nguyên ở vỏ của ấu trùng giun xoắn *T.spiralis* rất biến đổi sau khi rụng lông. Trong thời kỳ sinh trưởng của chúng ấu trùng này thể hiện sự biến đổi về số lượng trong biểu thị protein của kháng nguyên bề mặt.

Cơ chế khác góp phần vào sự sống sót của giun sán ký sinh là sự ức chế miễn dịch. Cừu bị nhiễm *H.contortus* có thể bị ức chế đặc hiệu vì vậy chúng không phản ứng với *H.contortus* ngay cả khi chúng vẫn còn đáp ứng với kháng nguyên khác không có liên quan. Cơ chế của ức chế miễn dịch này vẫn chưa được sáng tỏ. Giun kết hạt (*Oesophagostomum radiatum*) tiết ra yếu tố hoà tan gây ức chế đáp ứng của tế bào lympho với kháng nguyên và chất gián phân tế bào. Các cơ chế ức chế miễn dịch khác là do tế bào ức chế đặc hiệu gây ra như đã đề cập trong bệnh do giun chỉ hoặc có thể do

sản xuất yếu tố ức chế hoà tan như ở bệnh sán lá. Trong bệnh nhiễm giun sán khác như bệnh do giun xoắn *Trichinella* động vật nhiễm bị ức chế miễn dịch không đặc hiệu. Sự ức chế miễn dịch này được thể hiện ở khả năng đề kháng kém với bệnh khác, đáp ứng kém với vaccine và kéo dài sự sống sót của mảnh ghép ở da.

4.2.6. Sử dụng vaccine chống giun sán

Sử dụng vaccine cần phải dự đoán được đáp ứng miễn dịch của vật chủ sẽ khống chế hoặc phòng như thế nào với bệnh do giun sán. Do đáp ứng miễn dịch của ký chủ đối với giun sán hiệu quả không cao nên người ta không sử dụng rộng rãi vaccine chống giun sán. Mặc dù vậy vaccine tái tổ hợp của sán dây *Taenia ovis* cũng đã được sản xuất ở Mỹ có tác dụng tạo được miễn dịch bảo vệ ở cừu. Vaccine này có chứa kháng nguyên của ấu trùng cùng với chất bổ trợ saponin, kích thích đáp ứng ngăn ký sinh trùng xâm nhập qua vách ruột. Vaccine tạo được miễn dịch bảo vệ ít nhất 12 tháng và khoảng 98% cừu tiêm vaccine thu được miễn dịch bảo vệ. Tương tự các kháng nguyên đơn, vaccine tái tổ hợp đã thể hiện có hiệu lực cao chống sán dây *E.granulosus* ở cừu.

Trước khi phát triển vaccine tái tổ hợp người ta cũng đã thu được một số miễn dịch bảo vệ có hiệu quả bằng cách sử dụng ký sinh trùng sống được chiếu tia phóng xạ trong đó quan trọng nhất là vaccine phòng bệnh viêm phổi do giun phổi *Dictyocaulus viviparus*. Trong vaccine này ấu trùng ở giai đoạn 2 nở ra từ trứng ở tổ chức nuôi cấy được chiếu tia phóng xạ và sau đó chúng được nuôi ở bê. Ấu trùng có thể xâm nhập qua ruột bê nhưng vì không có khả năng phát triển sang giai đoạn 3 nên chúng không đến được phổi để gây bệnh. Trong quá trình này ấu trùng kích thích sự phát triển của kháng thể nên có thể phòng ngừa sự tái nhiễm. Hiệu lực của vaccine này, cũng giống như vaccine khác, phụ thuộc rất nhiều vào thời điểm và liều sử dụng. Nói chung vaccine chống giun sán chưa được sử dụng rộng rãi.

4.2.7. Chẩn đoán huyết thanh bệnh giun sán

Phản ứng miễn dịch không được sử dụng rộng rãi trong chẩn đoán bệnh giun sán. Thường người ta sử dụng phương pháp kiểm tra trứng trong phân vì nó dễ thực hiện và cho kết quả tin cậy. Tuy nhiên có 3 bệnh giun sán quan trọng: nhiễm giun chỉ chó (*Dirofilaria immitis*), ấu trùng di hành của giun đũa chó (*T.canis*) và bệnh nhiễm giun xoắn *Trichinella* không thải trứng qua phân nên chủ yếu sử dụng phản ứng huyết thanh, trong đó phản ứng ELISA cho hiệu quả tốt nhất.

4.3. Miễn dịch đối với các ký sinh trùng loại tiết túc

Khi cắn động vật, tiết túc tiêm nước bọt vào cơ thể con vật bị cắn. Nước bọt này có chứa kháng nguyên và gây ra đáp ứng miễn dịch. Đáp ứng miễn dịch này có ba loại: thứ nhất là một số thành phần của nước bọt có trọng lượng phân tử thấp, không có tác dụng kháng nguyên bình thường. Tuy nhiên, chúng có thể gắn vào các protein của da như collagen và tác dụng là một bán kháng nguyên (hapten) kích thích đáp ứng miễn dịch tế bào. Lần tiếp xúc sau đó những hapten này gây ra phản ứng quá mẫn muộn. Loại đáp ứng thứ hai là kháng nguyên của nước bọt gắn vào tế bào langherhan ở thượng bì và làm

tăng miễn cảm của tế bào ái kiềm, một đáp ứng gắn liền với sản xuất IgG và thâm nhiễm các tế bào ái kiềm. Nếu tế bào ái kiềm bị phá huỷ bởi kháng huyết thanh chống tế bào ái kiềm, sự đề kháng đối với các ký sinh trùng tiết túc này giảm xuống. Loại đáp ứng thứ ba đối với tiết túc là một đáp ứng của IgE gắn liền với phản ứng quá mẫn type I, gây ra viêm cục bộ ở da dẫn đến đau hoặc ngứa. Chỉ cần một trong ba loại đáp ứng này là có thể làm biến đổi da vì vậy da không còn là nguồn thức ăn cho chúng. Tuy nhiên đáp ứng miễn dịch của da như vậy đối với kháng nguyên của nước bọt có thể không có ảnh hưởng nghiêm trọng đến các ký sinh trùng tiết túc. Sự chọn lọc và tiến hoá tự nhiên đã bảo đảm cho ký sinh trùng có thể chịu đựng tốt trước những đáp ứng đó.

Tuy nhiên vẫn có sự khống chế ký sinh trùng tiết túc xâm nhập qua da, thí dụ hạn chế sự xâm nhập của ấu trùng ruồi *Lucilia cuprina*. Lượng IgE ở cừu có khả năng đề kháng với loại ký sinh trùng này cao hơn hẳn ở cừu miễn cảm với bệnh cho thấy sự đề kháng này là do IgE. Khi tiêm các sản phẩm tiết của ấu trùng, những cừu có khả năng đề kháng tạo được đáp ứng viêm tốt hơn và sản sinh nhiều dịch rỉ viêm hơn.

Tuy vaccine không gây được miễn dịch có hiệu quả chống lại ký sinh trùng tiết túc hút máu song có thể khống chế chúng bằng biện pháp khác. Nhiều ký sinh trùng tiết túc lấy máu của ký chủ vào đường tiêu hóa của chúng và sẽ nhận cả immunoglobulin, các thành phần của bổ thể và tế bào. Điều đó cho thấy nếu một động vật đã được miễn dịch với kháng nguyên nội sinh của ký sinh trùng thì ký sinh trùng này có thể bị phá hủy cục bộ và những kháng nguyên đó được gọi là kháng nguyên bị che dấu vì bình thường ký chủ không gặp chúng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO CHÍNH

1. C. Sherris. Jolh và cộng sự (second edition) - Medical Microbiology.
2. Phạm Mạnh Hùng (1984). Miễn dịch học - Nhà xuất bản Khoa học kỹ thuật Hà Nội.
3. Đỗ Ngọc Liên (1999). Miễn dịch học cơ sở - Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Hà Nội
4. Pekman.M, Vergani. D (1997). Basic and clinical immunology. Churchill Livingstone, London, UK.
5. Đỗ Trung Phấn (1979). Miễn dịch trung gian tế bào - Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
6. Roitt.I, Brostoff. J, Male. D (1993) - Publications L.T.D England.
7. Roitt.I (1991). Essential immunology - Blackwell scientific publications – Oxford, England.
8. R.Tizard. Ivan. Veterinary immunology (fifth edition) - Publications Texas L.T.D The United states.
9. Roitt.I Brostoff.J, Male.D(1993), immunology, publication L.T.D England.
10. Nguyễn Quang Tuyên (2003). Miễn dịch học thú y - Nhà xuất bản Nông nghiệp Hà Nội.
11. Nguyễn Văn Ty (2001). Miễn dịch học - Nhà xuất bản Đại học Quốc Gia Hà Nội.

MỤC LỤC

Lời nói đầu	3
Chương 1. SỰ BẢO VỆ CƠ THỂ	5
1. Khái niệm	5
2. Những hình thức bảo vệ cơ thể	5
2.1. Các hàng rào giải phẫu và chức năng của chúng trong bảo vệ cơ thể	5
2.2. Phản ứng viêm	6
2.3. Đáp ứng miễn dịch	6
3. Các hình thức đáp ứng miễn dịch và sự kiểm soát của hệ thống miễn dịch	7
3.1. Đáp ứng miễn dịch dịch thể	7
3.2. Đáp ứng miễn dịch tế bào	9
3.3. Sự kiểm soát của hệ thống miễn dịch	10
3.4. Cơ chế của đáp ứng miễn dịch	10
Chương 2. HOẠT ĐỘNG THỰC BÀO	12
1. Việc bắt giữ các phần tử lạ	12
2. Hệ thống các bạch cầu hạt (hệ thống tuỷ xương)	12
3. Đại thực bào - quần thể tế bào thực bào thứ cấp	20
3.1. Cấu tạo của đại thực bào	20
3.2. Nguồn gốc của đại thực bào	21
3.3. Chức năng của đại thực bào	22
3.4. Hoạt hoá đại thực bào	23
3.5. Các receptor của đại thực bào	23
3.6. Đại thực bào đóng vai trò là tế bào tiết	24
3.7. Đại thực bào và tác dụng hàn gắn vết thương	27
3.8. Số phận của các chất lạ trong cơ thể	27
Chương 3. PHẢN ỨNG VIÊM	30
1. Viêm cấp tính	30
2. Viêm mãn tính	35
3. Phản ứng toàn thân đối với tổn thương tổ chức và viêm	37
Chương 4. KHÁNG NGUYÊN, PHỨC HỢP HÒA HỢP MÔ CHỦ YẾU (MHC) VÀ VAI TRÒ CỦA CHÚNG TRONG XỬ LÝ VÀ TRÌNH DIỆN KHÁNG NGUYÊN	41
1. Định nghĩa kháng nguyên	42

2. Phân loại kháng nguyên	42
2.1. Kháng nguyên vi sinh vật	42
2.2. Kháng nguyên không phải từ vi sinh vật	44
3. Đặc điểm của một kháng nguyên mạnh	45
3.1. Các chất lạ	47
3.2. Các quyết định kháng nguyên	47
3.3. Hapten	48
3.4. Quyết định kháng nguyên protein	49
3.5. Kết hợp hapten-protein	49
4. Phản ứng chéo	50
5. Các receptor trình diện kháng nguyên	51
5.1. Các kháng nguyên phù hợp tổ chức chủ yếu (các phức hợp hoà hợp mô chủ yếu)	51
5.2. Các phần tử MHC và bệnh tật	59
6. Xử lý kháng nguyên	61
6.1. Các tế bào xử lý kháng nguyên	62
6.2. Xử lý các ngoại kháng nguyên	63
6.3. Xử lý nội kháng nguyên	65
6.4. Phản ứng chéo	67
6.5. Các phần tử MHC của lớp Ib	68
Chương 5. CÁC CƠ QUAN VÀ TẾ BÀO CỦA HỆ THỐNG MIỄN DỊCH	69
1. Nguồn các tế bào lympho	70
1.1. Các cơ quan lympho trung tâm	70
1.2. Cơ quan lympho ngoại vi	74
2. Các tế bào lympho	79
2.1. Cấu tạo của tế bào lympho	80
2.2. Các quần thể tế bào lympho	80
Chương 6. CÁC TẾ BÀO LYMPHO VÀ SỰ ĐÁP ỨNG CỦA CHÚNG VỚI KHÁNG NGUYÊN	92
1. Tế bào lympho T hỗ trợ	92
1.1. Đặc điểm chung	92
1.2. Receptor kháng nguyên của tế bào lympho T	93
2. Chức năng của tế bào lympho T và tác dụng phá huỷ các kháng nguyên liên kết với tế bào	104
2.1. Các nội kháng nguyên	104
2.2. Chết tế bào	105
2.3. Phản ứng miễn dịch do các tế bào khác điều hành	109
	251

2.4. Phản ứng quá mẫn muộn	111
2.5. Các tế bào lympho T ghi nhớ	111
3. Tế bào lympho B	112
3.1. Các receptor của kháng nguyên trên tế bào lympho B	112
3.2. Sự đồng kích thích	117
3.3. Tế bào lympho T hỗ trợ và tế bào lympho B	118
3.4. Đáp ứng của tế bào lympho B đối với kháng nguyên	121
3.5. Các tế bào lympho B-1	125
Chương 7. CÁC CYTOKIN VÀ HỆ THỐNG MIỄN DỊCH	126
1. Danh pháp của cytokin	126
2. Chức năng của cytokin	127
3. Cấu tạo của cytokin	127
4. Receptor của cytokin	128
5. Điều hoà các cytokin	128
6. Các cytokin được sản xuất chủ yếu do đại thực bào	130
6.1. Interleukin 1	131
6.2. Interleukin 6	131
6.3. Interleukin 12	132
6.4. Yếu tố gây huỷ hoại khối u α (TNF- α)	132
7. Các cytokin chủ yếu do tế bào lympho T sản xuất	132
7.1. Cytokin được sản xuất chủ yếu do các tế bào Th1	132
7.2. Interleukin 2	132
7.3. Interferon γ (IFN- γ)	133
7.4. Yếu tố huỷ hoại khối u β (TNF- β)	134
7.5. Interleukin 4 (IL-4)	135
7.6. Interleukin 5	135
7.7. Interleukin 9	135
7.8. Interleukin 10	135
7.9. Interleukin 13	135
7.10. Interleukin 17	136
8. Các chemokin	136
8.1. Chemokin α	136
8.2. Chemokin β	136
9. Các cytokin chống virus	136
9.1. Interferon	136
9.2. Interleukin 16 (IL-16)	137
10. Các yếu tố sinh trưởng	137

10.1. Interleukin 3	137
10.2. Interleukin 7	137
10.3. Interleukin 11	137
10.4. Interleukin 14	137
10.5. Interleukin 15	138
10.6. Yếu tố kích thích cụm tế bào hạt (G-CSF)	138
10.7. Yếu tố kích thích cụm các đại thực bào	138
10.8. Yếu tố kích thích cụm các bạch cầu hạt và đại thực bào (Granulocyte macrophage colony growth stimulating factor - Gm- CSF)	138
10.9. Yếu tố biến đổi sinh trưởng β	138
11. Tác dụng gây độc của cytokin	139
11.1. Sốc do nhiễm khuẩn huyết	139
11.2. Sốc do độc tố vi khuẩn	140
11.3. Bệnh do mảnh ghép gây ra đối với vật chủ	140
12. Các cytokin của virus	141
Chương 8. KHÁNG THỂ, BỔ THỂ	142
1. Kháng thể	142
1.1. Bản chất của kháng thể	142
1.2. Các immunoglobulin ở vật nuôi	149
2. Sự kết hợp kháng thể với kháng nguyên và đặc điểm di truyền	151
2.1. Kết hợp kháng nguyên với receptor trên kháng thể	151
2.2. Sự đa dạng của kháng thể	152
2.3. Hệ thống bổ thể	153
2.4. Sự điều hoà hệ thống bổ thể	158
2.5. Các hậu quả khác của hoạt hoá bổ thể	159
2.6. Đặc tính di truyền của bổ thể	160
2.7. Sự thiếu hụt bổ thể	160
Chương 9. ĐIỀU HOÀ ĐÁP ỨNG MIỄN DỊCH	162
1. Dung nạp miễn dịch	162
1.1. Sự dung nạp miễn dịch ở tuyến ức đối với tế bào lympho T	163
1.2. Sự dung nạp của tế bào lympho B	165
2. Sự điều hoà miễn dịch	167
2.1. Kháng nguyên điều hoà miễn dịch	167
2.2. Kháng thể điều hoà đáp ứng miễn dịch	168
3. Chức năng của các tế bào điều hoà miễn dịch	171
3.1. Tế bào lympho T ức chế	171

3.2. Ức chế miễn dịch của đại thực bào	172
3.3. Tế bào ức chế tự nhiên	172
3.4. Hoạt động của các tế bào ức chế	172
3.5. Các tế bào phản ức chế	172
4. Điều hoà miễn dịch của thần kinh và nội tiết	173
Chương 10. PHẢN ỨNG HUYẾT THANH XÁC ĐỊNH KẾT HỢP KHÁNG NGUYÊN KHÁNG THỂ	174
1. Các chất phản ứng sử dụng trong các phản ứng huyết thanh	174
2. Phản ứng kết hợp nguyên phát	175
2.1. Phản ứng miễn dịch phóng xạ	175
2.2. Phản ứng miễn dịch huỳnh quang	176
2.3. Phản ứng miễn dịch đánh dấu enzyme	177
3. Phản ứng kết hợp thứ cấp	180
3.1. Phản ứng kết tủa	180
3.2. Phản ứng ngưng kết	183
3.3. Phản ứng ngưng kết hồng cầu và ngăn ngưng kết hồng cầu	184
3.4. Phản ứng kết hợp bổ thể	184
3.5. Phản ứng ở cơ thể sống	185
4. Áp dụng các phản ứng miễn dịch vào chẩn đoán	186
Chương 11. MIỄN DỊCH THỤ ĐỘNG VÀ MIỄN DỊCH CHỦ ĐỘNG	187
1. Miễn dịch thụ động	187
1.1. Khái niệm	187
1.2. Sự phát triển của hệ thống miễn dịch trong bào thai	187
1.3. Đáp ứng miễn dịch ở động vật sơ sinh	191
1.4. Những nguyên nhân ảnh hưởng tới sự truyền kháng thể từ mẹ sang con	194
1.5. Truyền miễn dịch tế bào trong sữa	196
2. Miễn dịch chủ động	196
2.1. Các loại vaccine	197
2.2. Đánh giá hiệu lực của vaccine	202
2.3. Tiêm vaccine không tạo được miễn dịch	202
2.4. Một số tác hại gặp phải khi sử dụng vaccine	203
Chương 12. ĐỀ KHÁNG VỚI VI SINH VẬT	205
1. Miễn dịch chống vi khuẩn	205
1.1. Cơ chế sinh bệnh trong nhiễm khuẩn	205
1.2. Cơ chế kháng khuẩn	207
1.3. Miễn dịch đặc hiệu đối với vi khuẩn	209

1.4. Sự tránh thoát miễn dịch của vi khuẩn	214
1.5. Một số hậu quả có hại của đáp ứng miễn dịch chống vi khuẩn	215
1.6. Một số vaccine chống vi khuẩn	216
1.7. Chẩn đoán huyết thanh bệnh nhiễm khuẩn	218
2. Miễn dịch đối với nấm	219
3. Miễn dịch chống virus	220
3.1. Cấu trúc và kháng nguyên của virus	220
3.2. Cơ chế bệnh sinh trong nhiễm virus	221
3.3. Các cơ chế kháng virus	223
3.4. Miễn dịch đặc hiệu với virus	225
3.5. Sự tránh thoát miễn dịch của virus	227
3.6. Hậu quả có hại của đáp ứng miễn dịch chống virus	230
3.7. Một số vaccine chống virus	231
3.8. Chẩn đoán huyết thanh các bệnh nhiễm virus	232
4. Miễn dịch đối với ký sinh trùng	233
4.1. Miễn dịch đối với nguyên sinh động vật	233
4.2. Miễn dịch chống giun sán	240
4.3. Miễn dịch đối với các ký sinh trùng loại tiết túc	247
Tài liệu tham khảo chính	249

Chịu trách nhiệm xuất bản
NGUYỄN CAO DOANH
Phụ trách bản thảo
BÍCH HOA - HOÀI ANH
Trình bày, bìa
HỮU HỒNG

NHÀ XUẤT BẢN NÔNG NGHIỆP
167/6 Phương Mai - Đống Đa - Hà Nội
ĐT: (04) 5761075 - 8521940 Fax: 04.5760748

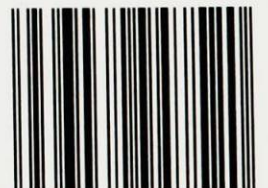
CHI NHÁNH NXB NÔNG NGHIỆP
58 Nguyễn Bình Khiêm - Q1 - Tp. Hồ Chí Minh
ĐT: (08) 8.299521 - 8.297157 Fax: 08.9101036

In 215 bản khổ 19×27cm tại Xưởng in Nhà xuất bản Nông nghiệp. Quyết định in số 132-2007/CXB/765-06/NN Cục Xuất bản cấp ngày 12 tháng 2 năm 2007. In xong và nộp lưu chiểu quý I/2007.

63-630
NN-2007

- 765/06 - 07

GT Miễn dịch học thú y



8 936032 947520

Giá: 101.500đ