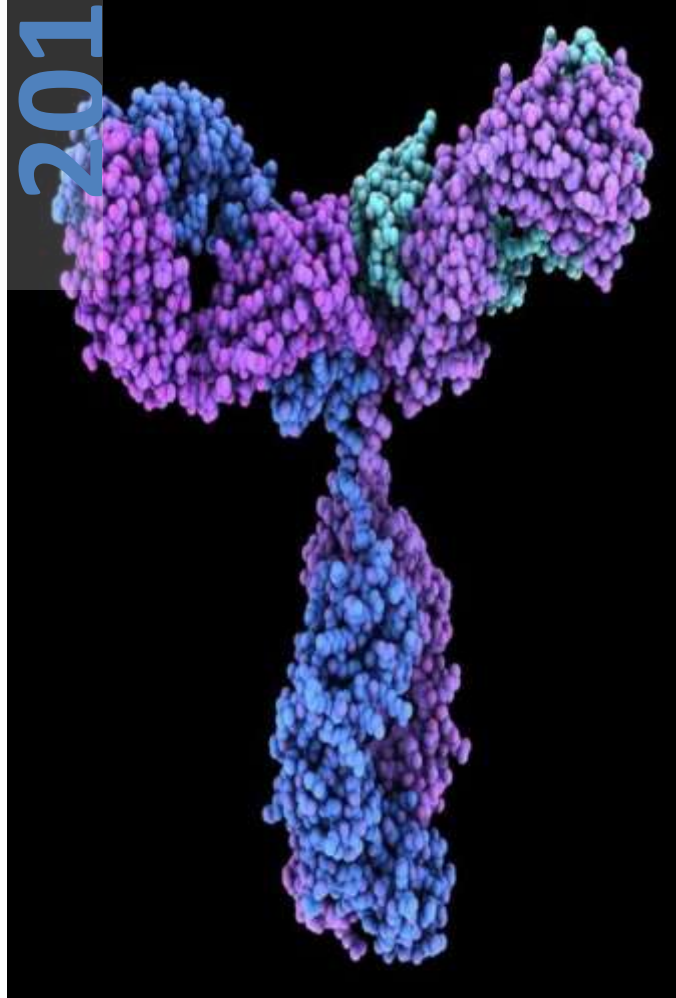




ΙΑΤΡΙΚΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑ

2017



ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΑΝΟΣΟΣΦΑΙΡΙΝΩΝ ΕΝΑΝΤΙ ΚΑΖΕΪΝΗΣ ΣΕ ALZHEIMER

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
ΠΟΡΦΥΡΙΑΔΟΥ ΝΤΙΟΝΑ
ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ: ΕΛΕΥΘΕΡΙΟΥ ΦΑΙΔΡΑ ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΡΙΑ
ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ-ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΚΕΝΤΡΙΚΟ ΝΕΥΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑσελ. 4

- Λειτουργίες νευρικού συστήματος
- Νευρικός ιστός
- Νευρογλοιακά κύτταρα
- Ρόλος της μυελίνης
- Εμμύελες και αμύελες ίνες
- Κατηγορίες νευρώνων

ΕΓΚΕΦΑΛΟΣ.....σελ. 8

- Ανατομία εγκεφάλου
- Μήνιγγες του εγκεφάλου

ΝΟΣΟΣ ALZHEIMERσελ. 11

- Κλινική εικόνα
- Συμπτώματα της νόσου
- Αίτια της νόσου
- Γενετική της νόσου
- Εναπόθεση Αβ αμυλοειδούς πεπτιδίου και πρωτεΐνης tau
- Διάγνωση και θεραπεία
- Επιδημιολογία και πρόληψη
- Ιστορική αναδρομή της νόσου

ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑσελ. 22

- Λεμφοκύτταρα
- Β- λεμφοκύτταρα

ΤΑΞΕΙΣ ΑΝΟΣΟΣΦΑΙΡΙΝΩΝσελ. 24

- Μόριο ανοσοσφαιρίνης
- Αντιγόνα

ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΑ ΑΝΤΙΓΟΝΑσελ. 26

- Καζεΐνη
- Μικκύλια καζεΐνης
- Γενετική της καζεΐνης
- Η καζεΐνη στον ανθρώπινο οργανισμό
- Συσχέτιση της καζεΐνης με παθολογικές καταστάσεις

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....σελ. 38
ΜΕΘΟΔΟΣ ELISA.....σελ. 39
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑσελ. 49
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑσελ. 60
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑσελ. 61

ΣΚΟΠΟΣ

Ο σκοπός της πτυχιακής εργασίας αυτής είναι η διερεύνηση της ύπαρξης αυξημένων συγκεντρώσεων αντισωμάτων έναντι της καζεΐνης (casein), ενός διαιτητικού αντιγόνου σε ασθενείς με νόσο Αλτσχάιμερ και με καρκίνο του μαστού. Ο στόχος είναι δηλαδή να δούμε αν υπάρχει τυχόν σύνδεση της καζεΐνης με αυτές τις νόσους. Η πτυχιακή αυτή έγινε σε συνεργασία με την πτυχιακή του Νοταρά Βασίλη με θέμα την ανίχνευση ανοσοσφαιρινών έναντι καζεΐνης σε δείγματα καρκίνο του μαστού και κάποια σημεία της εργασίας είναι κοινά.

Το πειραματικό μέρος της εργασίας, πραγματοποιήθηκε στα εργαστήρια της Βιοχημείας και Κλινικής Χημείας του τμήματος Ιατρικών Εργαστηρίων, της Σχολής Επαγγελμάτων Υγείας και Πρόνοιας στο Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικού Ίδρυμα Θεσσαλονίκης.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες δίνονται στην Δρ. Ελευθερίου Φαίδρα, Επίκουρη καθηγήτρια Κλινικής Χημείας, για την πολύτιμη βοήθεια τόσο στο ερευνητικό κομμάτι της εργασίας, όσο και στην συνολική εικόνα της, καθώς και για την συνεχή καθοδήγηση της.

ΚΕΝΤΡΙΚΟ ΝΕΥΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

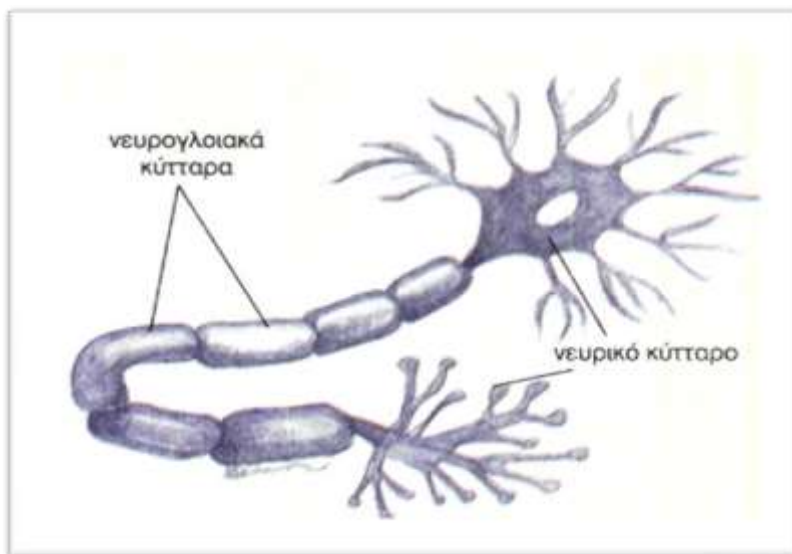
Το νευρικό σύστημα αποτελείται από ένα κεντρικό κι ένα περιφερικό τμήμα. Το κεντρικό ονομάζεται ΚΝΣ, αποτελείται από το νωτιαίο μυελό και τον εγκέφαλο και περιβάλλεται οστά (κρανίο και σπονδυλική στήλη). Το περιφερικό ονομάζεται ΠΝΣ, αποτελείται από τα νεύρα και δεν προστατεύεται από οστά.

ΟΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΤΟΥ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

- Η αποδοχή και μεταφορά αισθητικών πληροφοριών τόσο από το εξωτερικό περιβάλλον όσο και από το υπόλοιπο σώμα της κεντρομόλου μοίρας του ΠΝΣ στο ΚΝΣ.
- Να επεξεργάζεται τις πληροφορίες που προσλαμβάνει στο ΚΝΣ, στο νωτιαίο μυελό για τα αντανακλαστικά και στον εγκέφαλο για τις ανώτερες και τις πιο σύνθετες συμπεριφορές μας.
- Στη ρύθμιση και στον έλεγχο μιας απόκρισης/ απάντησης στα ερεθίσματα που δέχεται μέσω της φυγόκεντρου μοίρας που ΠΝΣ. Η απάντηση αυτή μπορεί να είναι εκούσια όπως το να απομακρυνθούμε από έναν κίνδυνο ή ακούσια όπως το να ιδρώνουμε όταν ζεσταινόμαστε υπερβολικά.

ΝΕΥΡΙΚΟΣ ΙΣΤΟΣ

Ο νευρικός ιστός αποτελείται από νευρικά και νευρογλοιακά κύτταρα (νευρογλοία). Τα νευρικά αυτά κύτταρα μεταδίδουν τις νευρικές ώσεις, που είναι ο κύριος ρόλος του νευρικού ιστού ενώ τα νευρογλοιακά υποβοηθούν αυτήν την λειτουργία θρέφοντας και προστατεύοντας τα νευρικά κύτταρα και διευκολύνοντας τις νευρικές ώσεις.



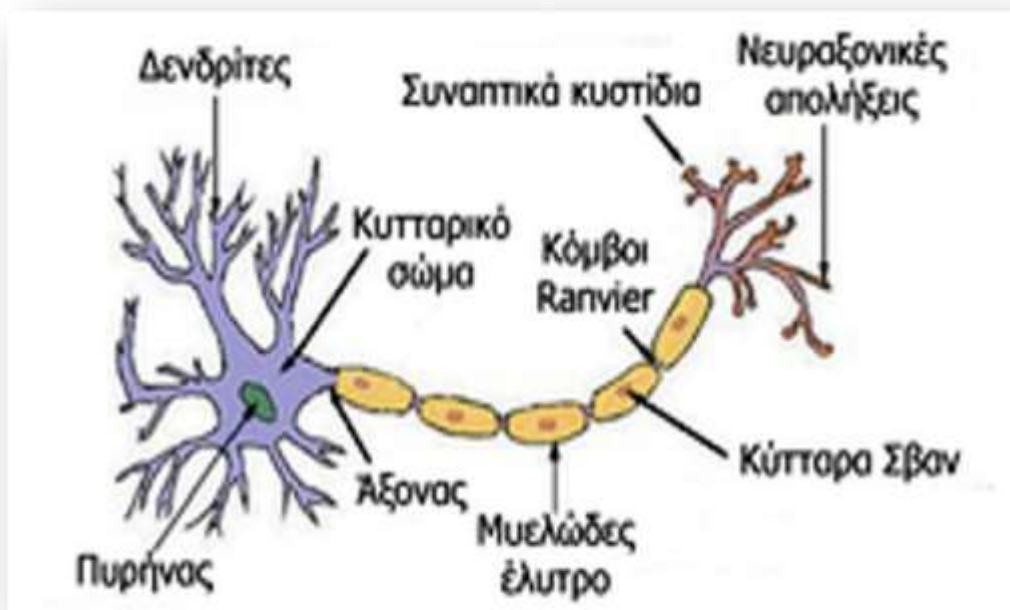
Εικόνα 1

ΝΕΥΡΟΓΛΟΙΑΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ

Τα γλοία κύτταρα που βρίσκονται στο ΠΝΣ ονομάζονται κύτταρα Schwann ενώ τα γλοία κύτταρα που βρίσκονται στο ΚΝΣ ονομάζονται *ολιγοδενδροκύτταρα* (τα οποία παράγουν την μυελίνη) και *αστροκύτταρα* τα οποία δεν παράγουν μυελίνη αλλά θρέφουν τους νευρώνες και τους προστατεύουν από τις τοξικές ουσίες.

ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΜΥΕΛΙΝΗΣ

Τα γλοία κύτταρα προάγουν την μεταφορά της νευρικής ώσης με το να δημιουργούν γύρο από τον νευράξονα των νευρικών κυττάρων μια επικάλυψη μυελίνης για ηλεκτρική μόνωση. Η μυελίνη είναι λιπόφιλη ουσία που ενσωματώνεται στην κυτταρική μεμβράνη (στο εσωτερικό της είναι έντονα λιπόφιλη δηλαδή διώχνει το νερό) των γλοίων κυττάρων. Τα γλοία κύτταρα περιτυλίγουν πολλές φορές την μεμβράνη τους γύρο από τον νευράξονα, δημιουργώντας τα έλυτρα της μυελίνης. Το στρώμα της μυελίνης που περιβάλλει τον νευράξονα δεν είναι συνεχές, διακόπτεται όμως ανά τακτά διαστήματα κατά μήκος του άξονα του νευρικού ιστού. Στα σημεία όπου δεν υπάρχει μυελίνη, ο νευράξονας είναι γυμνός και τα σημεία αυτά ονομάζονται κόμβοι Ranvier. Τα ενεργά δυναμικά δεν περνούν την μυελίνη (μονωτικό υλικό) αλλά κάνουν άλμα από έναν κόμβο Ranvier στον επόμενο, αυξάνοντας έτσι την ταχύτητα διάδοσής τους. Επομένως ο βασικός ρόλος της μυελίνης είναι να αυξάνει την ταχύτητα διάδοσης των ενεργών δυναμικών κατά μήκος της νευρικής ίνας.



Εικόνα 2

ΕΜΜΥΕΛΕΣ ΚΑΙ ΑΜΥΕΛΕΣ ΙΝΕΣ

Υπάρχουν νευρικά κύτταρα των οποίων οι νευρικές ίνες έχουν επικάλυψη μυελίνης και άλλα που δεν έχουν ή έχουν λίγη. Οι νευρικές ίνες που έχουν λέγονται εμμύελες και αυτές που δεν έχουν αμύελες. Η ταχύτητα αγωγής διάδοσης των ενεργών δυναμικών είναι μεγάλη για τις εμμύελες και μικρή για τις αμύελες ίνες.

Η παρουσία της μυελίνης και η διάμετρος της νευρικής ίνας ,ορίζουν την ταχύτητα διάδοσης των νευρικών ώσεων.

Οι νευρώνες αποτελούν το 10% του ΚΝΣ και το υπόλοιπο 90% αποτελείται από τα νευρογλοιακά κύτταρα ή νευρογλοία. Τα νευρογλοία αποτελούν το 50% του όγκου του εγκεφάλου και του νωτιαίου μυελού και επιπλέον παίζουν σημαντικό ρόλο καθώς υποστηρίζουν μεταβολικά και φυσιολογικά τους νευρώνες.

ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΝΕΥΡΩΝΩΝ

- **ΔΙΑΝΕΥΡΩΝΕΣ** α) λειτουργούν ως ολοκληρωτές και τροποποιητές σημάτων, β) ενσωματώνουν ομάδες προσαγωγών και απαγωγών νευρώνων σε αντανακλαστικά κυκλώματα, γ) βρίσκονται εξ ολοκλήρου στο ΚΝΣ και δ) αποτελούν το 99% του συνόλου των νευρώνων.
- **ΠΡΟΣΑΓΩΓΟΙ ΝΕΥΡΩΝΕΣ** α) μεταφέρουν πληροφορίες που συλλέγουν από τους αισθητήρες των περιφερικών τους απολήξεων μέσα στο ΚΝΣ, β) το κυτταρικό σώμα και η μακριά περιφερική αποφυάδα του άξονα βρίσκονται στο ΠΝΣ ενώ η μικρή κεντρική αποφυάδα του άξονα εισέρχεται στο ΚΝΣ και γ) δεν έχουν δένδριτες.
- **ΑΠΑΓΩΓΟΙ ΝΕΥΡΩΝΕΣ** α) μεταφέρουν πληροφορίες έξω από το ΚΝΣ προς τα εκτελεστικά κύτταρα, κυρίως στους μυς αδένες ή άλλους νευρώνες, β) το κυτταρικό σώμα, οι δένδριτες και ένα μικρό μέρος του άξονα βρίσκονται μέσα στο ΚΝΣ. Το μεγαλύτερο μέρος του άξονα βρίσκεται στο ΠΝΣ.

ΕΓΚΕΦΑΛΟΣ

ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΤΟΥ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ

Ο εγκέφαλος είναι υπεύθυνος για την πραγματοποίηση όλων των ανώτερων λειτουργιών του ανθρώπινου οργανισμού. Βρίσκεται μέσα στο κρανίο και συνδέεται στη βάση του κρανίου με το νωτιαίο μυελό μέσα από μία μεγάλη σπή, το ινιακό τρήμα. Η αιμάτωση του εγκεφάλου γίνεται από τους κλάδους των δύο έσω καρωτίδων και των δύο σπονδυλικών αρτηριών.

Ο εγκέφαλος αποτελείται από:

- Τα δύο εγκεφαλικά ημισφαίρια που καταλαμβάνουν ολόκληρη την εξωτερική επιφάνεια.
- Το διάμεσο εγκέφαλο που βρίσκεται στο βάθος των ημισφαιρίων.
- Το εγκεφαλικό στέλεχος που συνδέει τον υπόλοιπο εγκέφαλο με το νωτιαίο μυελό και
- Την παρεγκεφαλίδα που βρίσκεται στη βάση του εγκεφάλου πίσω από το εγκεφαλικό στέλεχος.

Τα δύο εγκεφαλικά ημισφαίρια είναι υπεύθυνα για την κίνηση, την αίσθηση, την σκέψη, την κρίση κλπ. Το εγκεφαλικό στέλεχος περιλαμβάνει το μεσεγκέφαλο, τη γέφυρα και τον προμήκη μυελό.

Στο στέλεχος υπάρχουν ζωτικά νευρικά κέντρα που ρυθμίζουν την αναπνοή και την καρδιακή λειτουργία. Επίσης υπάρχουν άλλα κέντρα που ρυθμίζουν την κινητικότητα των ματιών, των βλεφάρων καθώς και την κινητικότητα και αισθητικότητα του προσώπου, του στόματος, της γλώσσας, του φάρυγγα και του λάρυγγα.

Οι ανώτερες ψυχικές και γνωστικές λειτουργίες όπως σκέψη, αντίληψη, μνήμη, που έχουν ως κέντρο τον φλοιό του εγκεφάλου, εξαρτώνται κυρίως από το δικτυωτό σχηματισμό του εγκεφαλικού στελέχους. Η βλάβη του εγκεφαλικού στελέχους συνεπάγεται διαταραχή της λειτουργίας του δικτυωτού σχηματισμού και συνεπώς δυσλειτουργία ολόκληρου του εγκεφάλου.

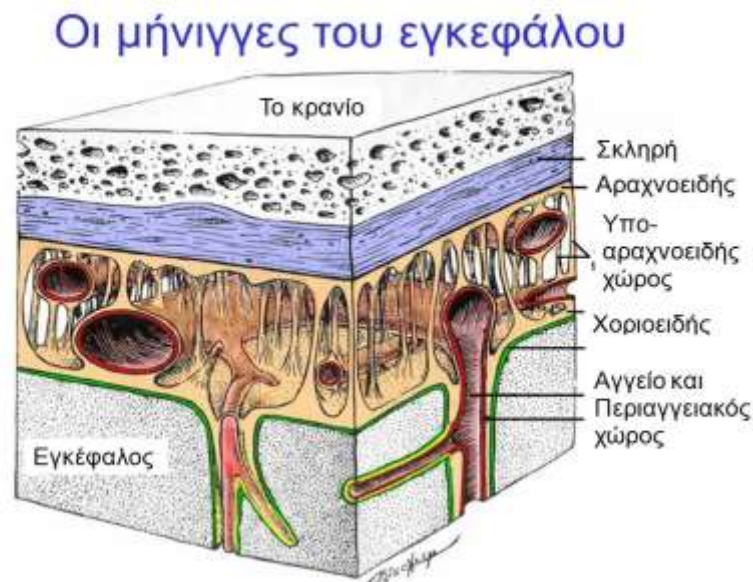
ΟΙ ΜΗΝΙΓΓΕΣ:

Είναι τα περιβλήματα του εγκεφάλου και είναι τρεις:

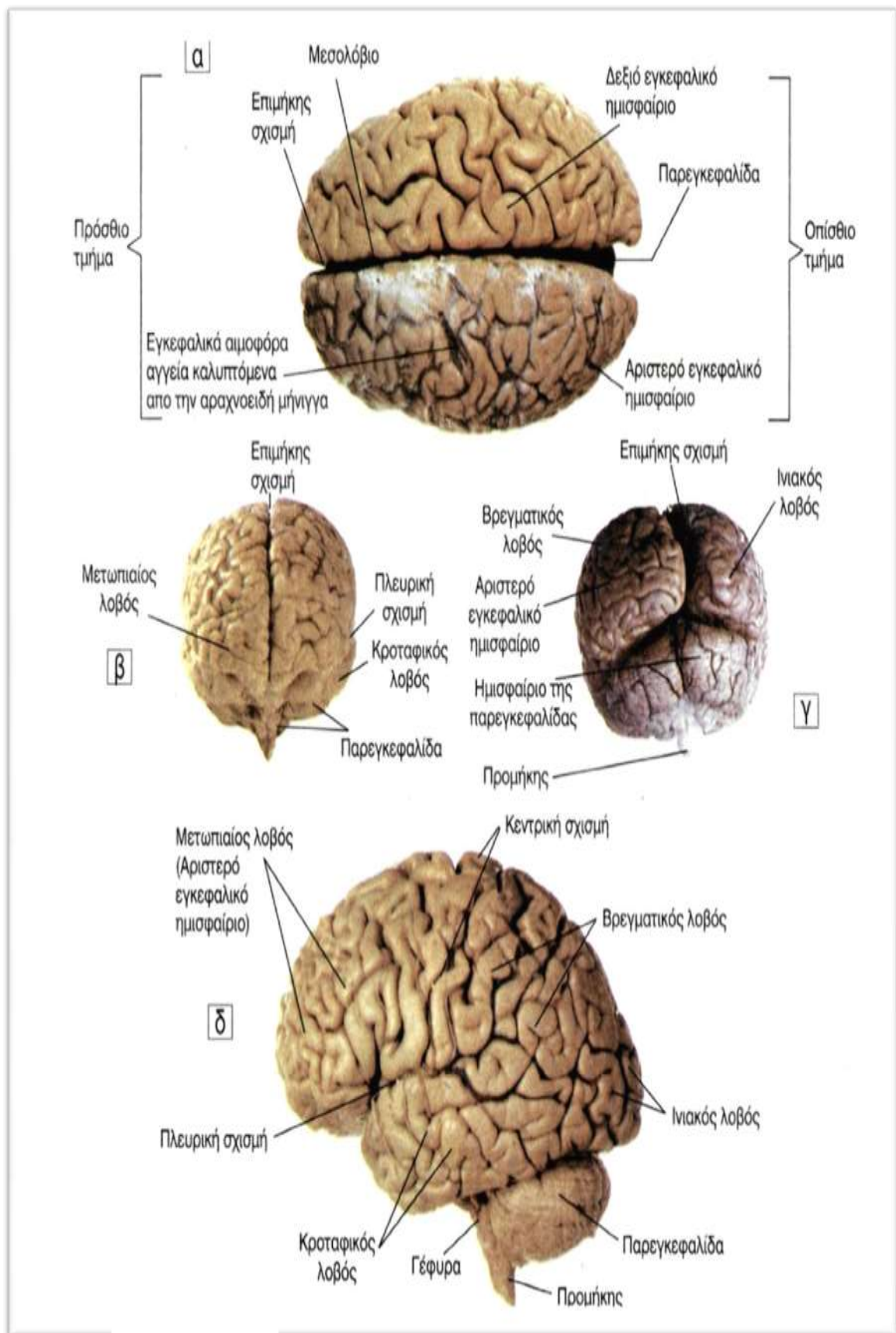
1. η σκληρή μήνιγγα, που χωρίζεται σε δύο πέταλα
2. η αραχνοειδής, είναι λεπτή, διαφανής και χωρίς αγγεία, χωρίζεται από την σκληρά μήνιγγα με τον υποσκληρίδιο χώρο και από την χοριοειδή μήνιγγα με τον υπαραχνοειδή χώρο, ο οποίος περιέχει ΕΝΥ.
3. η χοριοειδής, είναι λεπτή με αγγεία, καταδύεται μέσα στις αύλακες και τις σχισμές του εγκεφάλου.

Όταν μολυνθούν προκαλείται μια φλεγμονή που ονομάζεται μηνιγγίτιδα.

Ανάμεσα στις μήνιγγες παράγεται το εγκεφαλονωτιαίο υγρό το οποίο γεμίζει το χώρο ανάμεσα στον νευρικό ιστό (εγκέφαλο, νωτιαίο μυελό) και τις μήνιγγες/οστά. Το εγκεφαλονωτιαίο υγρό είναι άχρωμο, διαφανές, ελαφρός αλκαλικό, περιέχει όλα τα συστατικά του πλάσματος εκτός από λευκώματα και προστατεύει τον νευρικό ιστό από κακώσεις αποσβένοντας τους κραδασμούς. Παράγεται συνεχώς από τα χοριοειδή πλέγματα μέσα στις κοιλίες του εγκεφάλου και αποχετεύεται στην λεμφική και φλεβική κυκλοφορία. Χρησιμεύει για να αποχετεύει τα βλαβερά προϊόντα από την ανταλλαγή της ύλης από το ΚΝΣ και για να προφυλάσσει το ΚΝΣ από μηχανικές επιδράσεις. Οι μήνιγγες του εγκεφάλου και οι χώροι μεταξύ των μηνίγγων συνεχίζονται στον σπονδυλικό σωλήνα περιβάλλοντας έτσι και τον νωτιαίο μυελό.



Εικόνα 3



Εικόνα 4

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΓΗΡΑΝΣΗΣ

Οι αλλαγές που επέρχονται με την πάροδο της ηλικίας, είναι γενετικά προγραμματισμένες στον οργανισμό όπως και οι αντίστοιχες αναπτυξιακές μεταβολές και εξαντλούνται με συγκεκριμένη αντίστοιχη αλληλουχία. Η γήρανση μπορεί να αποδοθεί σε μια θεμελιώδη σειρά γενετικά προγραμματισμένων γεγονότων που καταστέλλουν ή επιβραδύνουν φυσιολογικά φαινόμενα μετά το τέλος της αναπαραγωγικής ηλικίας. Αυτός ο προγραμματισμός μπορεί να είναι αποτέλεσμα της λειτουργίας εξειδικευμένων γονιδίων και η αλληλουχία αυτή να περιλαμβάνει την ενσωμάτωση σφαλμάτων στο μηχανισμό μεταβολισμού του κυττάρου που δεν είναι εύκολο να διορθωθούν ή να παρουσιάζονται σε μεγαλύτερη συχνότητα με αποτέλεσμα το κύτταρο να μην προλαβαίνει να τα διορθώσει. Τα δύο είδη κυττάρων που δεν εμφανίζουν γήρανση είναι τα γαμετοκύτταρα (ωάριο- σπερματοζωάριο) και τα καρκινικά κύτταρα.

Με την πάροδο της ηλικίας τα νευρικά κύτταρα του εγκεφάλου πεθαίνουν. Η εκφύλιση των νευρικών κυττάρων που προκαλείται με την γήρανση, είναι φυσιολογική. Στους νευρώνες και στα νευρογλοιακά κύτταρα, εμφανίζονται χρωστικές ουσίες που προέρχονται από τα λυσοσώματα, είναι αδρανής παράγωγα του κυτταρικού μεταβολισμού και έχουν λιπώδη σύσταση. Πιθανόν αποτελούν το τελικό προϊόν κάποιου ανεπαρκούς ενζυμικού συστήματος. Η περιεκτικότητα του εγκεφάλου σε νερό από 92%, μειώνεται κατά την γήρανση στο 76% ηλικίας 90 ετών. Άλλες αλλοιώσεις που συμβαίνουν είναι η αύξηση των λιπιδίων στον εγκέφαλο και η μείωση των πρωτεϊνών του εγκεφάλου.

ΝΟΣΟΣ Alzheimer :

Είναι η συνηθέστερη μορφή άνοιας, μια νόσος που εξελίσσεται γρήγορα καταστρέφοντας σημαντικές νοητικές λειτουργίες του εγκεφάλου και την μνήμη. Χαρακτηρίζεται από την εναπόθεση δύο παθολογικών πρωτεϊνών στον εγκέφαλο (στον ιππόκαμπο), την β-αμυλοειδή πρωτεΐνη και της πρωτεΐνης Ταυ που οδηγεί σε δυσλειτουργία και θάνατο των νευρικών κυττάρων. Είναι η πιο κοινή αιτία άνοιας και οδηγεί σε απώλεια πνευματικής λειτουργίας και κοινωνικών δεξιοτήτων.

Στην νόσο αυτήν τα νευρικά κύτταρα εκφυλίζονται και πεθαίνουν προκαλώντας σταθερή μείωση της μνήμης και της διανοητικής λειτουργίας.



Εικόνα 5

ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

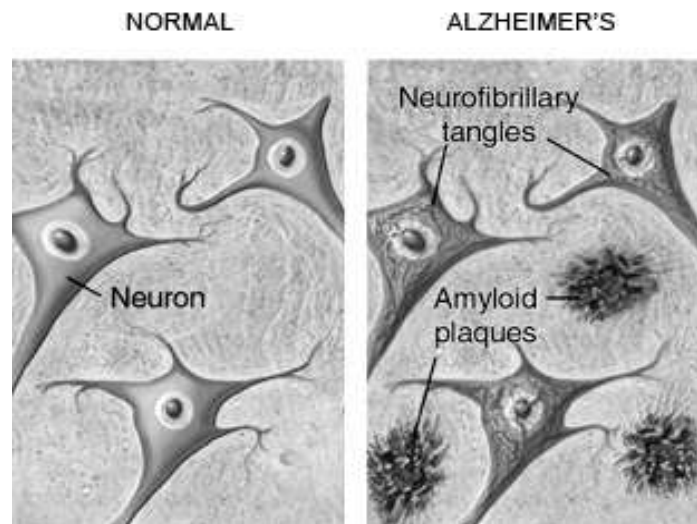
Είναι εκφυλιστική νόσος με συνεχιζόμενη πορεία και η έναρξή της δεν προσδιορίζεται εύκολα. Είναι δυνατόν να σηματοδοτήσουν την έναρξή της ένα συγγυτικό επεισόδιο ή ένας πυρετός μετά από λοίμωξη, μια μετεγχειρητική κατάσταση, μια ήπια κρανιοεγκεφαλική κάκωση ή η τροποποίηση της φαρμακευτικής αγωγής.

ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ

- **Διαταραχή της μνήμης**, είναι το σημαντικότερο σύμπτωμα και εξελίσσεται γρήγορα. Στα αρχικά στάδια διαταράσσονται η λειτουργική και επεισοδιακή μνήμη. Η παλαιά μνήμη διατηρείται καλύτερα από την πρόσφατη. Στην εξέλιξη της νόσου παρατηρείται και διαταραχή της σημασιολογικής μνήμης (η σημασιολογική μνήμη είναι το σύνολο των γνώσεων που έχει ένα άτομο για τον κόσμο. Είναι η ικανότητα αποθήκευσης και ανάκτησης πληροφορίας γύρω από δεδομένα, γεγονότα, γνώσεις και γενικά υλικού που δεν συνοδεύεται από πληροφορία για το που ή πότε ακριβώς έγινε η πρόσληψη αυτών των γνώσεων).
- **Διαταραχές της ικανότητας κατανόησης και έκφρασης του λόγου**. Ο ασθενής λόγω των αφασικών διαταραχών που σταδιακά παρουσιάζονται, στα πρώτα στάδια της νόσου κατανοεί τις λέξεις, αργότερα όμως οι σύνθετες εντολές του είναι ακατανόητες και στη συνέχεια δυσκολεύεται στην ομιλία και στην γραφή. Το λεξιλόγιο του γίνεται φτωχό και ο λόγος του στερεότυπος. Αναζητά την κατάλληλη λέξη, αφήνει στην μέση την πρόταση και ο λόγος του καταλήγει ακατάλυτος. Όσο εξελίσσεται η νόσος παρουσιάζει ηχολαλία επαναλαμβάνοντας την κάθε λέξη.
- **Διαταραχές του γραπτού λόγου**. Διακρίνονται σε διαταραχές πρώιμης και μη πρώιμης εμφάνισης. Οι αγραφίες στη νόσο χωρίζονται σε κεντρικές και περιφερικές. Οι κεντρικές έχουν σχέση με την σημασιολογική έννοια των λέξεων ενώ οι περιφερικές οφείλονται σε βλάβη άλλων λειτουργιών όπως η προσοχή, ο οπτικοχωρικός προσανατολισμός και η ευπρακτική ικανότητα. Ασθενείς με περιφερικού τύπου αγραφία εμφανίζουν την τάση γραφής με κεφαλαία, λάθη τονισμού και σχηματισμού γραμμάτων, λέξεις κακώς σχηματισμένες και κακή ευθυγράμμιση κειμένου.
- **Απραξία**, διακρίνεται σε **α) κατασκευαστική απραξία**, (ο ασθενής αδυνατεί να κατασκευάσει με απλά υλικά οποιοδήποτε σχήμα ή σύνθεση, όταν του παρουσιάζεται το πρότυπο ζητώντας να το αντιγράψει) **β) ιδεοκινητική**, (είναι η αδυναμία στην πραγματοποίηση απλών, στοιχειωδών σκόπιμων κινήσεων, ενώ το ιδεϊκό σχήμα της αιτουμένης κινήσεως παραμένει ακέραιο και ο ασθενής είναι σε θέση να το περιγράψει. Ο αυτόματο-εκούσιος διχασμός είναι ιδιαιτέρως εμφανής καθώς και τα φαινόμενα εμμονής. Η ιδεοκινητική απραξία θυμίζει ως απώλεια ή λήθη της χειρονομίας, τα αντίστοιχα αμνησιακά χάσματα στις αφασίες. Γεγονός που ανάγει την γλωσσολογική λειτουργία της εκλογής σε γενικό τρόπο συμβολικής συμπεριφοράς, όσον αφορά την επιλογή της κατάλληλης έλογης δράσης. Είναι πάντοτε αμφοτερόπλευρη και οφείλεται σε βλάβες στις αριστερές κινητικές φλοιώδεις περιοχές.) **γ) ιδεακή**, (εδώ διαταράσσεται το ολικό ιδεακό σχήμα της κίνησης, ενώ οι επιμέρους δράσεις που το απαρτίζουν παράγονται. Σαν κινητικός αγραμματισμός δηλώνει στο επίπεδο της εκούσιας κινητικότητας, την διαταραχή μιας κινητικής λειτουργικής συνάφειας ανάλογης με εκείνη των νευρογλωσσολόγων για τις αφασίες. Είναι φανερή σε κινήσεις χρησιμοποίησης ενός αντικειμένου πχ στυλό, γι αυτό και θεωρείται αγνωσία χρήσης, δεδομένου ότι ο ασθενής αναγνωρίζει το αντικείμενο και την λειτουργία του, αλλά είναι ανίκανος να το

χρησιμοποιήσει. Παράγεται από εκτεταμένες αριστερές βλάβες κροταφοβρεγματικές και είναι πάντα αμφοτερόπλευρη.) και δ) **απραξία ενδύσεως**. Παρά το γεγονός ότι ο εκτελεστικός μηχανισμός είναι ανέπαφος, δεν υπάρχει παράλυση, αταξία, ο ασθενής είναι ανίκανος να εκτελέσει συγκεκριμένη πράξη.

- **Διαταραχή οπτικοχωρικού προσανατολισμού**, ο ασθενής δυσκολεύεται να βρει το δρόμο για το σπίτι του και δεν μπορεί να δώσει οδηγίες για να κατευθύνει κάποιον σε συγκεκριμένη διεύθυνση. Παρουσιάζει δυσκολία στην χρήση μέσων μεταφοράς και ατυχήματα κατά την οδήγηση.
- **Κινητικές διαταραχές**.
- **Ψυχικές διαταραχές**. Εμφανίζουν αλλαγές στην διάθεση πχ κατάθλιψη, μπορούν να γίνουν επιθετικοί, εμφανίζουν άγχος και φοβίες, ανασφάλεια και αδιαφορία για την εμφάνιση και την προσωπική υγιεινή. Εμφανίζουν αϋπνίες, παραληρήματα όπως καχυποψία έναντι σε ξένους αλλά και οικείους, ψευδαισθήσεις κυρίως οπτικές πχ δικούς τους ανθρώπους από το παρελθόν που δεν βρίσκονται εν ζωή.



Εικόνα 6

ΑΙΤΙΑ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ

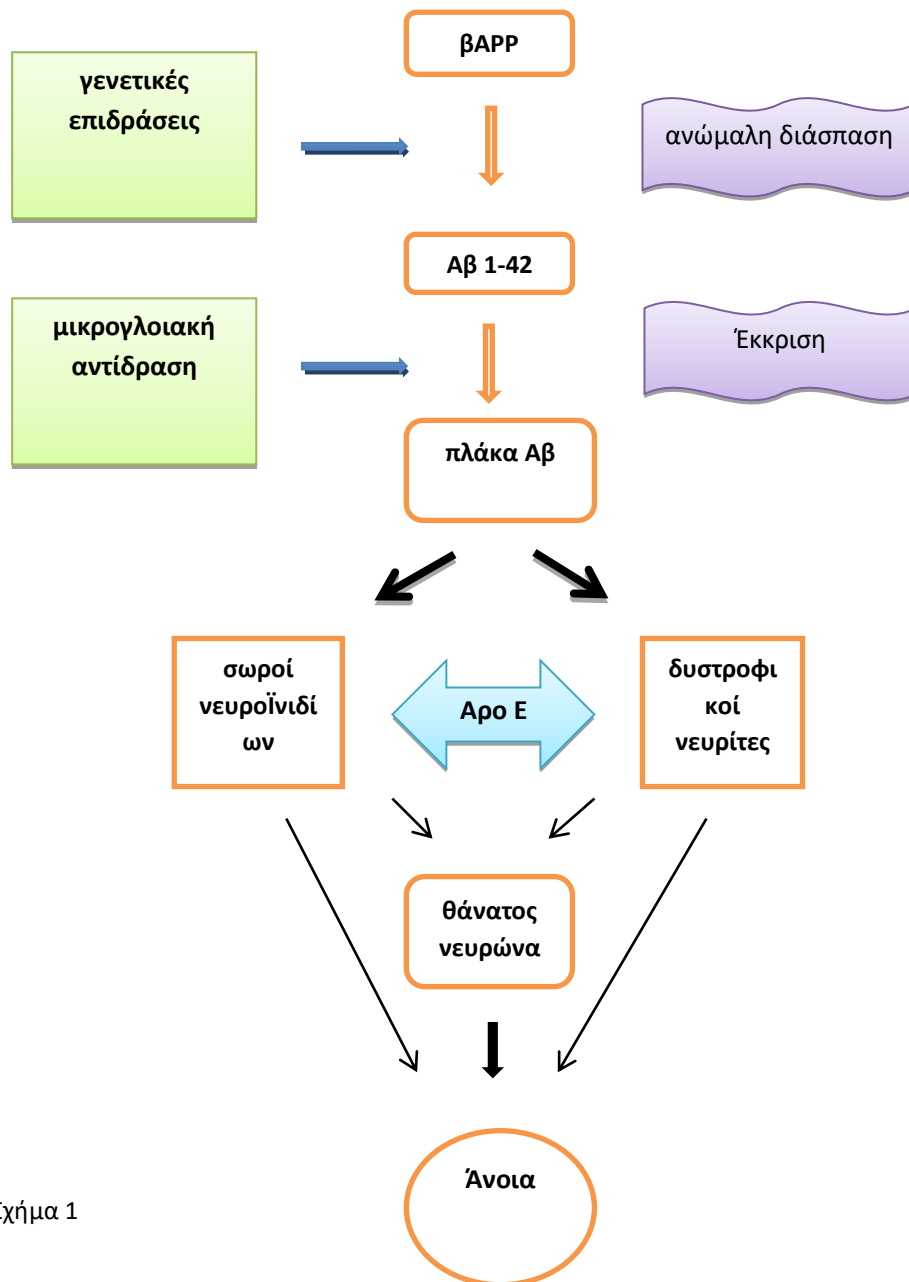
Περιβαλλοντικοί παράγοντες που σχετίζονται με την εμφάνιση της νόσου είναι οι κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις (από πολλαπλούς τραυματισμούς κεφαλής που σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης νόσου). Άλλοι παράγοντες είναι καρδιαγγειακοί, όπως ο ΣΔ, η καθιστική ζωή, αρτηριακή υπέρταση, υπερλιπιδαιμία φαίνεται πως σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου αυτής.

Σημαντικός παράγοντας πρόκλησης της νόσου είναι οι γενετικοί παράγοντες. Στην παθογένεση της νόσου οφείλεται η Αβ αμυλοειδής πρωτεΐνη η οποία σχηματίζεται από την βAPP πρωτεΐνη. Ασθενείς με τρισωμία 21 αναπτύσσουν γρήγορα αλλοιώσεις τύπου Αλτσχάιμερ ως συνέπεια της περίσσειας αμυλοειδούς πρωτεΐνης, η οποία κωδικοποιείται από γονίδιο που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 21.

Η εκδήλωση της νόσου είναι μεταξύ 6^{ης} και 9^{ης} δεκαετίας αλλά υπάρχουν και περιπτώσεις όπου εμφανίζεται πριν την δεκαετία των 50.

Η νόσος αυτή ευθύνεται σε ποσοστό μεγαλύτερο του 50% των περιπτώσεων άνοιας στους ενήλικους. Οι γυναίκες προσβάλλονται πιο συχνά σε σχέση με τους άντρες κι ένα ποσοστό κληρονομείται με αυτοσωμικό επικρατή χαρακτήρα. Σε οικογενείς περιπτώσεις υπάρχει εμπλοκή πολλών γονιδίων όπως το γονίδιο της αμυλοειδούς πρωτεΐνης στο χρωμόσωμα 21, το γονίδιο της πρεσενιλίνης-1 στο χρωμόσωμα 14, το γονίδιο της πρεσενιλίνης-2 στο χρωμόσωμα 8.

Στο παρακάτω σχήμα βλέπουμε απλά το πώς η παθολογική επεξεργασία της γλυκοπρωτεΐνης της κυτταρικής επιφάνειας (βAPP, πρόδρομη μορφή της β-αμυλοειδούς), η οποία κωδικοποιείται από γονίδιο του χρωμοσώματος 21, προκαλεί την παραγωγή της Αβ αμυλοειδούς πλάκας χαρακτηριστικό της νόσου Αλτσχάιμερ. Το πώς αλληλεπιδρά η Αρο Ε και ο σχηματισμός των νευροϊνιδιακών σωρών παραμένει ακόμη άγνωστο.



Σχήμα 1

- « Γίνεται ανώμαλη διάσπαση της πρόδρομης γλυκοπρωτεΐνης αμυλοειδούς λόγω γενετικών επιδράσεων
- Αποτέλεσμα αυτού η παραγωγή αμυλοειδούς πρωτεΐνης, προκαλείται μικρογλοιακή αντίδραση και έκκριση της παθολογικής πρωτεΐνης
- Δημιουργούνται πλάκες αμυλοειδούς
- Αυτές οδηγούν στη δημιουργία σωρών και δυστροφικών νευρίτες, σε αυτό συμβάλει η απολιποπρωτεΐνη E με αποτέλεσμα να προκαλείται θάνατος των νευρώνων και τελικά στην άνοια. «

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ

Τα σχετιζόμενα γονίδια που έχουν ταυτοποιηθεί είναι αυτά που κωδικοποιούν την πρόδρομη πρωτεΐνη β αμυλοειδούς, την πρεσενιλίνη-1 και πρεσενιλίνη-2 (PSEN1, PSEN2, APP). Οι μεταλλάξεις σε αυτά τα γονίδια οδηγούν σε αυτοσωμική επικρατή νόσο Αλτσχάιμερ. Οι μεταλλάξεις στο γονίδιο που κωδικοποιεί την Αρο Ε (απολιποπρωτεΐνη) δεν σχετίζεται με μονογονιδιακή νόσο Αλτσχάιμερ, αλλά το αλληλόμορφό του επηρεάζει την ηλικία έναρξης των συμπτωμάτων μερικών μονογονιδιακών μορφών της νόσου. Επίσης αυξάνει σε μικρό βαθμό την προδιάθεση. Η Αρο Ε είναι συστατικό διαφορών λιποπρωτεϊνών του πλάσματος. Ένα συγκεκριμένο αλληλόμορφο του γενετικού τόπου της ΑροΕ, είναι το ε4 που αποτελεί παράγοντα κινδύνου ανάπτυξης Αλτσχάιμερ. Το αλληλόμορφο αυτό εμφανίζεται πολύ συχνά σε ασθενείς με την νόσο και σχετίζεται με την πρώιμη εκδήλωση της νόσου. Αποτελεί συστατικό των αμυλοειδών πλακών και η ΑροΕ προσδένει το Αβ πεπτίδιο αμυλοειδούς.

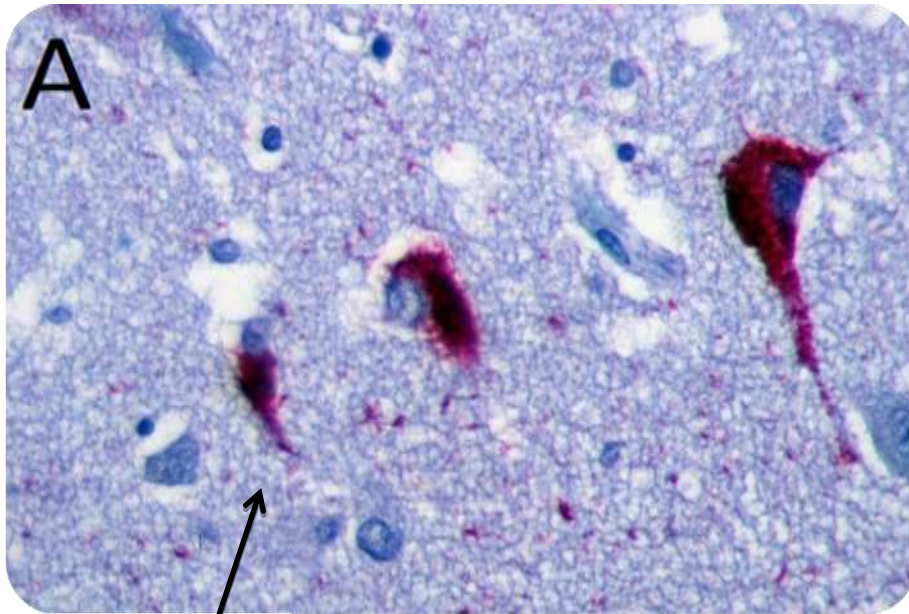
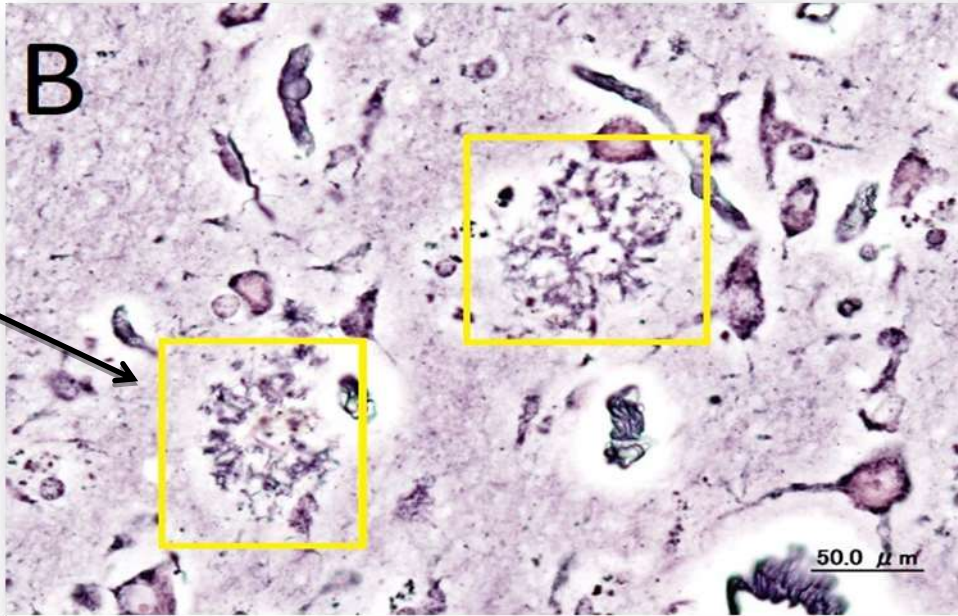
Με την ταυτοποίηση αυτών των γονιδίων έγινε κατανοητή η παθογένεια της μονογονιδιακής μορφής της νόσου.

ΕΝΑΠΟΘΕΣΗ ΑΒ ΑΜΥΛΟΕΙΔΟΥΣ ΠΕΠΤΙΔΙΟΥ ΚΑΙ ΠΡΩΤΕΪΝΗ Tau:

Η σημαντικότερη παθολογική ανωμαλία στον εγκέφαλο είναι η εναπόθεση της β-αμυλοειδούς πεπτιδίου (Αβ) και της Ταυ πρωτεΐνης. Όπως ήδη είπαμε το πεπτίδιο Αβ αμυλοειδής σχηματίζεται από την βAPP, εντοπίζεται στις πλάκες αμυλοειδούς στον εξωκυττάριο χώρο του εγκεφάλου. Οι πλάκες αυτές έχουν και άλλες πρωτεΐνες όπως η απολιποπρωτεΐνη Ε που είναι και η κυριότερη. Η πρωτεΐνη Ταυ συνδέεται με μικροσωληνίσκους και εκφράζεται σε υψηλά επίπεδα στους νευρώνες του εγκεφάλου. Οι υπερφοσφορυλιωμένες μορφές της πρωτεΐνης Ταυ σχηματίζουν τα νευροϊνιδιακά δεμάτια ή αλλιώς σωροί, που εντοπίζονται μέσα στους νευρώνες ασθενών (συχνότερα στους νευρώνες του ιππόκαμπου) σε αντίθεση με τις πλάκες αμυλοειδούς που βρίσκονται εξωκυττάρια. Η φυσιολογική λειτουργία της πρωτεΐνης Ταυ είναι η συγκρότηση και η σταθερότητα των μικροσωληνίσκων. Όταν η Ταυ φοσφορυλιώνεται, όπως στην νόσο Αλτσχάιμερ, τότε η λειτουργία αυτή παύει να επιτελείται. Ο σχηματισμός νευροϊνιδιακών δεματίων αποτελεί αίτιο εκφύλισης των νευρώνων που παρατηρείται στη νόσο Αλτσχάιμερ αλλά οι μεταλλάξεις στο γονίδιο της πρωτεΐνης Ταυ δεν σχετίζονται με το Αλτσχάιμερ αλλά με άλλη αυτοσωμική επικρατή νόσο άνοιας.

Πλάκες
αμυλοειδούς
(εξωκυττάρια)

Εικόνα 7



Νευροϊνιδικοί σωροί στον
ιππόκαμπο

Εικόνα 8

ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Είπαμε πως στην νόσο Αλτσχάιμερ εμφανίζεται ύπουλη παρακμή της μνήμης η οποία εξελίσσεται ταχύτατα αφήνοντας μόνιμες βλάβες σε κεντρικές λειτουργίες του εγκεφάλου. Στις χώρες που είναι ανεπτυγμένες με καλύτερη υγειονομική περίθαλψη και διαβίωση αναφέρουν ανοδικές τάσεις ασθενών με Αλτσχάιμερ μεταξύ των πληθυσμών τους. Συγκεκριμένη διαγνωστική δοκιμασία δεν υπάρχει και η εντόπιση της στα πρώιμα στάδια είναι δύσκολη. Η ακριβής έγκαιρη διάγνωση είναι σημαντική για την γρήγορη έναρξη της θεραπείας, ωστόσο όμως είναι και υποκειμενική και καθορίζεται από νευρολόγους και ψυχιάτρους, ανάλογα με την εμπειρία που έχουν. Απαιτείται ο έλεγχος του ιατρικού ιστορικού του ασθενούς και η αξιολόγηση της διανοητικής κατάστασης στην οποία βρίσκεται.

Η κλινική διάγνωση έχει χαμηλή και αβέβαιη διαγνωστική ακρίβεια και για να γίνει πιο έμπιστη γίνεται με απεικόνιση μαγνητικής ή αξονικής τομογραφίας. Βέβαια οι τεχνικές νευροαπεικόνισης δεν μας δίνουν το επιθυμητό αποτέλεσμα για να διαγνωστεί με σιγουριά και συγκεκριμένα η νόσος Αλτσχάιμερ σε όλους τους ασθενείς. Αποτελεσματικές μέθοδοι στην διάγνωση είναι η τομογραφία με εκπομπή μονού φωτονίου (SPECT) και τομογραφία ποζιτρονίου^{18F}- φθοροδεοξυγλυκόζης (PET) . Έχουν όμως χαμηλή προγνωστική αξία σε ηλικιωμένους κυρίως ασθενείς διότι η εναπόθεση της β- αμυλοειδούς αυξάνεται με την πάροδο της ηλικίας.

Οι βιοδείκτες που υπάρχουν στο ENY έχουν διαγνωστική αξία ακόμα και για την πρόδρομη νόσο Αλτσχάιμερ παρέχοντας έτσι διαγνωστική εικόνα. Η συλλογή του ENY απαιτεί οσφυϊκή παρακέντηση προκαλώντας δυσφορία στον ασθενή.

Η νόσος Αλτσχάιμερ δεν έχει θεραπεία, αλλά υπάρχουν θεραπείες για την αντιμετώπιση των συμπτωμάτων και την προσπάθεια παράτασης της ζωής των ασθενών με την κατάλληλη βοήθεια και περίθαλψη. Οι έρευνες για την θεραπεία συνεχίζονται μέχρι και σήμερα.

ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΠΡΟΛΗΨΗ

Σύμφωνα με ένα άρθρο που δημοσιεύτηκε τον Απρίλιο του 2017, το οποίο περιγράφει το αντίκτυπο της νόσου Αλτσχάιμερ στη δημόσια υγεία, στην επίπτωση, στον επιπολασμό, στο ποσοστό θνησιμότητας, στο κόστος περίθαλψης και το συνολικό αντίκτυπο στους φροντιστές και την κοινωνία. Ερευνάται πως η χρήση των βιολογικών δεικτών επηρεάζει τις εκτιμήσεις του επιπολασμού, της επίπτωσης και της διαδικασίας διάγνωσης της νόσου. Αναφέρετε ότι 5.500.000 αμερικανοί πάσχουν από άνοια τύπου Αλτσχάιμερ. Υπολογίζεται ότι μέχρι τα μέσα του αιώνα ο αριθμός ατόμων που ζουν στην Αμερική με την νόσο αυτή θα αυξηθεί στα 13.800.000. Μέχρι το 2050 αναμένεται να αναπτυχθεί νέα περίπτωση άνοιας Αλτσχάιμερ ανά 33 sec , σχεδόν 1.000.000 νέες περιπτώσεις ετησίως. Το 2014 κατέγραψαν >93.000 θανάτους από το Αλτσχάιμερ καθιστώντας το στην 6^η θέση αιτίας θανάτου στην Αμερική. Στο χρονικό διάστημα μεταξύ 2000 και 2014 παρατηρήθηκε μείωση θανάτου λόγο εγκεφαλικού επεισοδίου κατά 21%, καρδιακών παθήσεων κατά 14% και καρκίνο του προστάτη κατά 9% ενώ οι θάνατοι από το Αλτσχάιμερ αυξηθήκαν κατά 89%. Κατά πάσα πιθανότητα ο πραγματικός αριθμός θανάτων λόγω του Αλτσχάιμερ είναι μεγαλύτερος από αυτών που καταγράφεται στα πιστοποιητικά θανάτου. Το 2017, ~700.000 αμερικανοί θα εμφανίσουν την εκφυλιστική νόσο σε ηλικίες άνω των 65 ετών και πολλοί από αυτούς θα αποβιώσουν λόγω των επιπλοκών που προκαλεί.

Οι συνολικές πληρωμές το 2017 για ιατροφαρμακευτική περίθαλψη, μακροχρόνια περίθαλψη και οι υπηρεσίες νοσοκομειακής περίθαλψης για άτομα ηλικίας >65 ετών με άνοια υπολογίζονται σε 259 δισεκατομμύρια δολάρια. Τα τελευταία χρόνια, έχουν γίνει προσπάθειες ανάπτυξης και επικύρωσης των βιοδεικτών, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που ανιχνεύονται με εγκεφαλική απεικόνιση στο αίμα και στο ENY. Αυτές οι προσπάθειες θα μπορούσαν να μετασχηματίσουν την πρακτική της διάγνωσης της νόσου Αλτσχάιμερ από μία που επικεντρώνεται στα γνωστικά και λειτουργικά συμπτώματα σε ένα που ενσωματώνει βιοδείκτες. Αυτή η νέα προσέγγιση θα μπορούσε να προωθήσει τη διάγνωση σε πρώιμο στάδιο της νόσου και να οδηγήσει σε μια πιο ακριβή κατανόηση του επιπολασμού και της επίπτωσης της νόσου.

Στην Ελλάδα υπάρχουν 200.000 άτομα και ο αριθμός αυτός αναμένεται να φτάσει τους 600.000 έως το 2050. Η νόσος αυτή προκαλεί υψηλή υγειονομική δαπάνη λόγω αυξημένων αναγκών για θεραπεία και φροντίδα των ασθενών. Στην Ελλάδα το ετήσιο κόστος το 2010 έφτασε τα 3 δις.

ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ:

Ο Alois Alzheimer γεννήθηκε το 1864 στη Βαυαρία της νότιας Γερμανίας. Σπούδασε ιατρική στο Βερολίνο και αποφοίτησε το 1887. Άρχισε να εργάζεται στο κρατικό άσυλο στη Φρανκφούρτη επικεντρώνοντας την έρευνα στο φλοιό του ανθρώπινου εγκεφάλου. Εκεί ξεκίνησε και την εκπαίδευση του στην ψυχιατρική και την νευροπαθολογία.

Ήταν ο πρώτος νευροπαθολόγος που δημοσίευσε ψυχιατρική μελέτη της εκφυλιστικής νόσου, η οποία αργότερα πήρε και το όνομα του. Περιέγραψε με σαφήνεια τα συμπτώματα της νόσου στις αρχές του 20^{ου} αιώνα και ασχολήθηκε με τα αίτια της νόσου.

Το 1901 ο Δρ. Αλτσχάιμερ ήρθε σε επαφή με την 51χρονη ασθενή Αουγκούστε Ντέτερ στο άσυλο φρενοβλαβών στην Φρανκφούρτη, η οποία παρουσίαζε παράξενα συμπτώματα συμπεριφοράς και μικρή βραχυχρόνια μνήμη. Ασχολήθηκε για τα επόμενα χρόνια με την ασθενή του κάνοντας τους συναδέλφους του να λένε ότι είχε ψύχωση με την περίπτωσή της. Όταν η Ντέτερ απεβίωσε το 1906, ο Αλτσχάιμερ έστειλε τον εγκέφαλό της για μελέτη στο Μόναχο, στο εργαστήριο του γνωστότερου γερμανού ψυχιάτρου Εμίλ Κρεπελίν ο οποίος είχε αναλύσει όσο κανείς την νόσο της σχιζοφρένειας. Εκεί πράγματι πιστοποίησαν την διακριτή παθολογία της νέας νευροεκφυλιστικής νόσου.

Στις 3 Νοεμβρίου το 1906 παρουσίασε την εργασία του στη Βασιλική ψυχιατρική κλινική του πανεπιστημίου του Μόναχο αναλύοντας την άνοια και τη δραστική αλλαγή στη συμπεριφορά της Ντέτερ η οποία είχε φύγει από την ζωή 7 μήνες νωρίτερα. Περιέγραψε την περίπτωση της ως εξής:

« μια γυναίκα ηλικίας 51 ετών ονόματι Αουγκούστα Ντέτερ, εμφάνισε ως πρώτο σύμπτωμα της πάθησης, έντονη ζήλια προς τον άνδρα της. Ακολούθησε προϊούσα απώλεια μνήμης, δεν μπορούσε να βρει το δρόμο της μέσα στο ίδιο της το σπίτι. Μετέφερε αντικείμενα και τα έκρυβε, φώναζε ότι ήθελαν να την σκοτώσουν, κατά περιόδους ήταν σε παραλήρημα και φαινόταν να έχει ακουστικές ψευδαισθήσεις. Η νεκροψία της έδειξε ατροφικό εγκέφαλο χωρίς μακροσκοπικές βλάβες. Τα μεγάλα εγκεφαλικά αγγεία εμφάνιζαν αρτηριοσκλήρυνση. Υπήρχαν περίεργες βλάβες στα νευροϊνίδια τα οποία συνέρχονταν σε παχιές δέσμες στις επιφάνειες των κυττάρων και πολλαπλές μικρές εστίες στον φλοιό που είχαν μια ιδιάζουσα ουσία που ξεχώριζε χωρίς να χρειάζεται να την χρωματίσουνε». Άρα είχε περιγράψει τα νευροϊνιδιακά τολύπια και τις πλάκες αμυλοειδούς.



Dr. Alois Alzheimer

Εικόνα 9

Ο Αλτσχάιμερ έγινε παγκοσμίως γνωστός για τη συνεισφορά του στη νευροεπιστήμη, δεν έμεινε όμως μόνο εκεί. Το 1912 έγινε καθηγητής ψυχιατρικής στο Πανεπιστήμιο του Μπρέσλαου και συνέχισε την έρευνά του σε άλλους τομείς της νευροεπιστήμης, κυρίως στην ιστοπαθολογία του εγκεφαλικού φλοιού ανθρώπων με ψυχιατρικές νόσους. Η νέα του μελέτη δεν έμελλε όμως να καρποφορήσει καθώς ο διαπρεπής ψυχίατρος πέθανε το 1915, σε ηλικία 51 ετών, από καρδιακή προσβολή στο τρένο για το Μπρέσλαου, έπειτα από επιπλοκές της νεφρικής ανεπάρκειας που τον ταλαιπωρούσε.

Κι έτσι η περιγραφή της νόσου με το όνομά του έμεινε η γνωστότερη συνεισφορά του.

ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Το ανοσοποιητικό σύστημα του ανθρώπου είναι ένα αμυντικό σύστημα το οποίο αποτελείται από ομάδες διαφορετικών κυττάρων που έχουν ως στόχο την προστασία του οργανισμού από βλαπτικούς παράγοντες. Διακρίνεται σε φυσική ανοσία και την ειδική.

Η φυσική ανοσία αποτελείται από μηχανισμούς που υπάρχουν ήδη, όπως το δέρμα, οι βλεννογόνοι, τα φαγοκύτταρα, συμπλήρωμα, η φλεγμονή, αποτελώντας έτσι την πρώτη γραμμή άμυνας. Οι μηχανισμοί αυτοί είναι άμεσα κινητοποιημένοι και αντιδρούν με τον ιδιότροπο στις επαναλαμβανόμενες επαφές του οργανισμού με τις ίδιες ουσίες. Αυτό το είδος ανοσίας δεν έχει ειδικότητα και ανοσιακή μνήμη.

Ειδική ή επίκτητη ανοσία χωρίζεται σε ενεργητική ανοσία και παθητική. Η ενεργητική επέρχεται μετά από φυσική λοίμωξη και έχει μακρά διάρκεια ενώ η παθητική επέρχεται μετά από ανοσοποίηση του οργανισμού όπως χορήγηση ορού πχ αντιτετανικός. Επίσης ανάλογα με τα κύτταρα που συμμετέχουν διακρίνεται σε χυμική ανοσία για την οποία υπεύθυνα είναι τα Β-λεμφοκύτταρα που παράγουν τα αντισώματα και την κυτταρική ανοσία, για την οποία υπεύθυνα είναι τα Τ-λεμφοκύτταρα. Η ειδική ανοσία χαρακτηρίζεται από ειδικότητα και κυτταρική μνήμη.

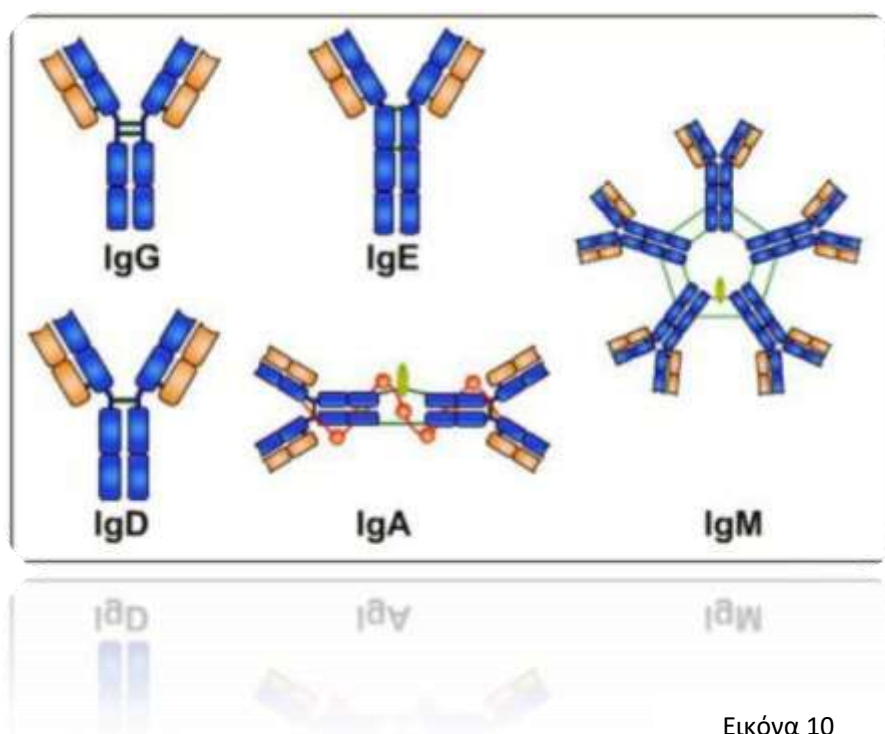
Τα κύτταρα του ανοσολογικού συστήματος κυκλοφορούν στο αίμα, στη λέμφο στα λεμφικά όργανα ως αθροίσματα και διάσπαρτα σε ιστούς. Όλα τα κύτταρα παράγονται στον μυελό των οστών από αρχέγονο αιμοποιητικό κύτταρο το οποίο διαφοροποιείται σε κύτταρα λεμφικής σειράς από την οποία προέρχονται τα λεμφοκύτταρα και σε κύτταρα μυελικής σειράς από την οποία προέρχονται τα μονοπύρηννα (μακροφάγα), πολυμορφοπύρηννα, μεγακαρυοκύτταρα και ερυθροκύτταρα.

ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ

Διακρίνονται ανάλογα με την ικανότητά τους να αναγνωρίζουν αντιγονικούς επίτοπους και είναι υπεύθυνα για την ειδικότητα και την μνήμη της ειδικής ανοσίας. Χωρίζονται σε μικρά (Τ-λεμφοκύτταρα) και μεγάλα (Β-λεμφοκύτταρα). Ένας ακόμα υποπληθυσμός λεμφοκυττάρων είναι οι φυσικοί φονείς (NKs) των οποίων κύρια λειτουργία είναι η φυσική ανοσία. Οι διαφορές των Τ και Β λεμφοκυττάρων είναι κυρίως λειτουργικές.

Β ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ

Τα Β λεμφοκύτταρα κυκλοφορούν στο αίμα, έχουν μεμβρανικούς πρωτεϊνικούς υποδοχείς στην επιφάνεια τους όπως μόρια ανοσοσφαιρινών τα οποία όταν έρθουν σε επαφή με αντιγονικό επίτοπο προκαλείται η παραγωγή των πλασματοκυττάρων τα οποία παράγουν τις ανοσοσφαιρίνες και τα κύτταρα μνήμης. Τα κύτταρα μνήμης παραμένουν αδρανή μέχρι την επόμενη επαφή του οργανισμού στο ίδιο αντιγόνο και ενεργοποιούνται τότε με πιο ισχυρή και γρήγορη ανοσιακή απάντηση. Οι ανοσοσφαιρίνες είναι γλυκοπρωτεΐνες που βρίσκονται ως μεμβρανικές πρωτεΐνες στην επιφάνεια των Β λεμφοκυττάρων. Βρίσκονται επίσης σε διαλυτή μορφή στο πλάσμα (γ-σφαιρίνες κυρίως).



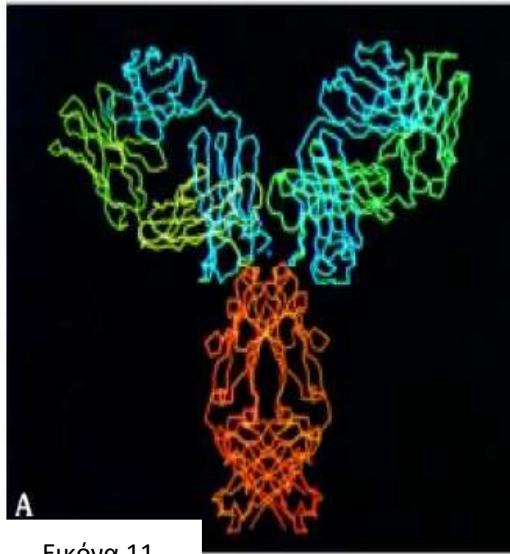
Εικόνα 10

ΤΑΞΕΙΣ ΑΝΟΣΟΣΦΑΙΡΙΝΩΝ

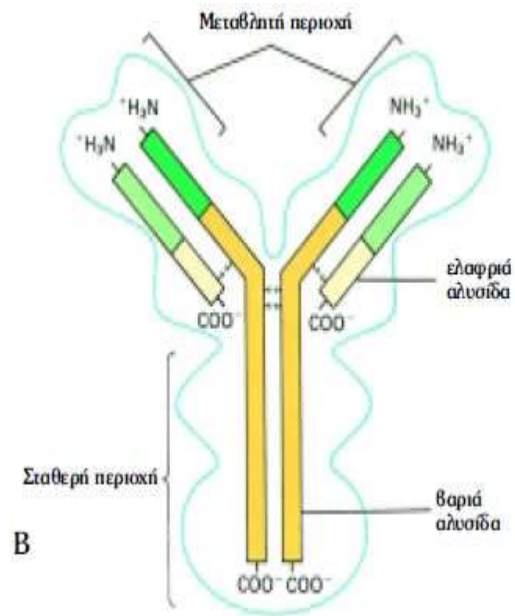
1. **IgG:** κύρια ανοσοσφαιρίνη του ορού, αποτελεί το 75% των ανοσοσφαιρινών του ορού. Η κύρια λειτουργία τους είναι να απομακρύνουν λοιμογόνους παράγοντες, να καταστρέφουν τις τοξίνες τους, να συμβάλλουν στην ενεργοποίηση της φαγοκυττάρωσης και του συμπληρώματος και διαπερνούν των πλακούντα σε αντίθεση με τις άλλες τάξεις ανοσοσφαιρινών προσφέροντας έτσι μια άμυνα στο νεογέννητο τους πρώτους μήνες ζωής.
2. **IgM:** αποτελούν το 5-10% των ανοσοσφαιρινών του ορού και παράγονται πρώτοι σε επαφή με το αντιγόνο. Η παρουσία τους δηλώνει πρόσφατη λοίμωξη. Είναι μεγάλομόριο (πενταμερές) και η κυριότερη ανοσοσφαιρίνη που παράγεται στο έμβρυο και στο τέλος του πρώτου έτους της ζωής φθάνει τις τιμές του ενήλικα.
3. **IgA:** αποτελεί έως και το 15% των ανοσοσφαιρινών του ορού, βρίσκεται και σε εκκρίσεις του σώματος όπως σάλιο, ιδρώτας κ.α. βοηθώντας έτσι στην τοπική άμυνα αυτών των περιοχών.
4. **IgE:** η ποσότητα τους στον ορό είναι πολύ μικρή (<0,1%) και αυξάνονται σε παρασιτικές λοιμώξεις και σε αλλεργικές αντιδράσεις.
5. **IgD:** βρίσκεται σε μικρή ποσότητα στον ορό (<1%), παίζουν ρόλο στην άμυνα του οργανισμού και παράγονται από πλασματοκύτταρα μετά από ερέθισμα αντιγόνου και εκκρίνονται στο αίμα και στα υγρά των ιστών.

ΤΟ ΜΟΡΙΟ ΤΗΣ ΑΝΟΣΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ

Κάθε ανοσοσφαιρίνη αποτελείται από 4 πολυπεπτιδικές αλυσίδες, δυο ελαφριές (L) και δυο βαριές (H). Οι βαριές έχουν διπλάσιο μοριακό βάρος από τις ελαφριές. Οι ελαφριές αλυσίδες διακρίνονται σε κ ή λ αλυσίδες αλλά κάθε μόριο αποτελείται από όμοιες ελαφριές αλυσίδες (είτε δυο κ είτε δυο λ αλυσίδες). Οι βαριές αλυσίδες διακρίνονται και αυτές σε 5 τύπους όπου κάθε μόριο έχει δυο όμοιες βαριές αλυσίδες. Ο τύπος της βαριάς αλυσίδας καθορίζει και την τάξη της ανοσοσφαιρίνης (G,M,D,E,A).



Εικόνα 11



Ο χώρος ανάμεσα στην βαριά και ελαφριά αλυσίδα είναι η περιοχή σύνδεσης με τον αντιγονικό επίτοπο. Οι βαριές αλυσίδες διατάσσονται δίπλα ή μια στην άλλη σχηματίζοντας γράμμα Υ. Κάθε μια ελαφριά διατάσσεται παράλληλα και προς την πλευρά της κάθε βαριάς αλυσίδας. Οι αλυσίδες ενώνονται με δισουλφιδικούς δεσμούς οι οποίοι αποτελούνται από δυο άτομα θείου (S). Το σημείο όπου σχηματίζεται η γωνία μεταξύ του κορμού και του σκέλους Υ, λέγεται αρθρωτή περιοχή, η οποία προσδίδει ευλυγισία στο μόριο και επιτρέπει την αλλαγή του ανοίγματος των δυο βραχιόνων και τη δυνατότητα σύνδεσης με περισσότερους από έναν επίτοπο, που απέχουν μεταξύ τους. Τα σταθερά τμήματα των ανοσοσφαιρινών διαθέτουν την ίδια σύσταση τόσο στις βαριές όσο και στις ελαφριές αλυσίδες ενώ τα μεταβλητά τμήματα έχουν διαφορετική σύσταση για κάθε είδος αντισώματος. Τα μεταβλητά τμήματα είναι αυτά που προσδίδουν την ειδικότητα στα αντισώματα και συνδέουν ένα συγκεκριμένο αντιγόνο. Ο τρόπος με τον οποίος συγκροτείται ο αντιγονικός επίτοπος ανάμεσα στις αγκύλες της βαριάς και ελαφριάς αλυσίδας είναι σαν να κρατάει κάποιος ένα αντικείμενο ανάμεσα στα δυο του χέρια με την αντιπαράθεση των δακτύλων των χεριών.

ΑΝΤΙΓΟΝΑ

Αντιγόνα είναι πρωτεϊνικά μόρια που όταν έρθουν σε επαφή με τον ανθρώπινο οργανισμό είναι ικανά να προκαλέσουν την παραγωγή αντισωμάτων έναντι αυτών.

ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΑ ΑΝΤΙΓΟΝΑ

Ξέρουμε ήδη πως ένα αντιγόνο είναι ξένο μόριο που προκαλεί την απόκριση του ανοσοποιητικού συστήματος, όπως για παράδειγμα τα βακτήρια που είναι πιθανά αντιγόνα. Κάποιες φορές ένα τσίμπημα μελισσών μπορεί να είναι ένα αντιγόνο. Έτσι, θα μπορούσαμε να πούμε πως οποιοδήποτε συστατικό των τροφίμων είναι ένα πιθανό αντιγόνο (δηλαδή διαιτητικό αντιγόνο).

Η πιο βασική λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος, είναι να προστατεύει τον οργανισμό από ξένους εισβολείς. Δυστυχώς όμως η διάκριση των αντιγόνων ως επικίνδυνα αντιγόνα όπως είναι τα βακτήρια ή τα παράσιτα, και αθώους εισβολείς όπως το γρασίδι, η σκόνη ή ακόμα και ωφέλιμους όπως το αγελαδινό γάλα, τα αυγά, ψάρια, και άλλες τροφές που περιέχουν χρήσιμα συστατικά, δεν είναι εφικτή. Κάθε τροφή είναι ένα σύνθετο μείγμα χιλιάδων διαφορετικών μορίων όπως θρεπτικών ουσιών και πολλών εν δυνάμει αντιγονικών μορίων. Οι διαφορετικοί τύποι των αντιγόνων που υπάρχουν στις τροφές μπορούν να προκαλέσουν την ανοσιακή απάντηση του οργανισμού.

Το θέμα των διαιτητικών αντιγόνων είναι κάτι αρκετά νέο που έχει αρχίσει να προσελκύει το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας. Γενικά, τα διαιτητικά αντιγόνα είναι κάποια αντιγόνα που μπορούν να εισέλθουν στον οργανισμό του ανθρώπου μέσω της διατροφής του και να συμβάλλουν, ενδεχομένως, στην εμφάνιση κάποιου αυτοάνοσου νοσήματος.

Σε γενικές γραμμές τα αντιγόνα των τροφών είναι αβλαβή, αλλά μπορούν να αναγνωριστούν ως ξένα μόρια από τον οργανισμό και να προκαλέσουν την παραγωγή αντισωμάτων έναντι αυτών των συστατικών. Η μελέτη και ο χαρακτηρισμός της χυμικής απόκρισης έναντι των αντιγόνων των τροφίμων έχει καταστεί ενδιαφέρον εξαιτίας της πιθανής σημασίας των αντισωμάτων έναντι των διαιτητικών αντιγόνων σε κλινικές δοκιμές που διεξάγονται για την ανίχνευση ανοσολογικών ασθενειών σχετιζόμενων με τα τρόφιμα. Τα αντισώματα κατά των διαιτητικών αντιγόνων συνήθως παράγονται σε υγιείς ανθρώπους. Αυτή η χυμική απάντηση μπορεί να ανιχνευθεί τόσο στον ορό όσο και στις εκκρίσεις. Ο χαρακτηρισμός αυτής της αντίδρασης μπορεί να είναι χρήσιμος για την καλύτερη κατανόηση των ανοσολογικών μεταβολών που σχετίζονται με την τροφή. Τα τελευταία χρόνια έχει αναφερθεί η εμφάνιση των IgG σε διαφορετικά διαιτητικά αντιγόνα στον ορό αίματος. Επίσης και η παρουσία των IgA στο μητρικόγάλα και στο σάλιο. Υπάρχει μια συναίνεση του επιστημονικού κλάδου στο ότι κλώνοι B κυττάρων ειδικοί για διαιτητικά αντιγόνα επεκτείνονται στο έντερο και μεταναστεύουν σε άλλες απομακρυσμένες περιοχές του βλεννογόνου, όπου εκκρίνουν την IgA.

Τα εμπορικά τρόφιμα αποτελούνται από πολλά συστατικά, με αποτέλεσμα να δυσχεραίνει ο προσδιορισμός των συστατικών που μπορούν να προκαλέσουν διαταραχή. Το πιο συνήθες συστατικό που προκαλεί αλλεργική αντίδραση είναι μια πρωτεΐνη.

Τα πιο διαδεδομένα διαιτητικά αντιγόνα είναι τα εξής:

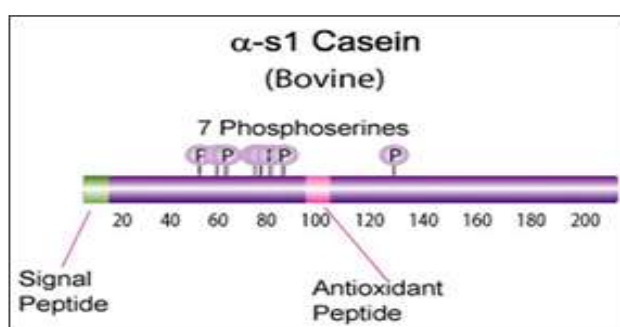
- Η **καζεΐνη**, μια πρωτεΐνη που βρίσκεται στο γάλα, η οποία έχει συσχετιστεί με την διπολική διαταραχή και την σχιζοφρένεια (είναι η πρωτεΐνη με την οποία ασχοληθήκαμε σε αυτήν την πτυχιακή)
- Η γλουτένη, πρωτεΐνη που βρίσκεται στο σιτάρι, στο κριθάρι και στη σίκαλη, και κυρίως ένα εκ των συστατικών της, η γλιαδίνη που προκαλεί μια αυτοάνοση διαταραχή του λεπτού εντέρου, την κοιλιοκάκη, σε γενετικά προδιατεθειμένα άτομα
- Η αλβουμίνη βόειου ορού (BSA, Bovine Serum Albumin), που φαίνεται να υπάρχει σε αυξημένα επίπεδα σε ασθενείς με διαβήτη τύπου 1
- Το Neu5GC (N-Glycolylneuraminic acid) είναι ένα σιαλικό οξύ που βρίσκεται σχεδόν σε όλα τα θηλαστικά εκτός του ανθρώπου και έχει συσχετιστεί με την θυρεοειδίτιδα Hashimoto αλλά και με διάφορους τύπους καρκίνου, καρδιαγγειακά νοσήματα και βακτηριακές λοιμώξεις.

ΚΑΖΕΪΝΗ

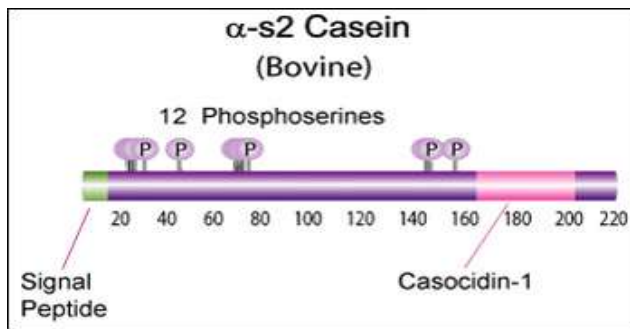
Το αντιγόνο που μελετάμε σε αυτήν την πτυχιακή είναι η καζεΐνη του γάλακτος, η οποία είναι και η κύρια πρωτεΐνη του πηγμάτος του γάλα. Στα περισσότερα είδη γάλακτος, ακόμα και του ανθρώπου υπάρχουν 3 ή 4 είδη καζεΐνης, στον άνθρωπο όμως η περιεκτικότητα είναι χαμηλότερη. Στο αγελαδινό γάλα το 80% των πρωτεϊνών είναι οι καζεΐνες. Αυτές οι καζεΐνες είναι διακριτά μόρια και έχουν παρόμοια δομή. Στην ομάδα της καζεΐνης ανήκουν 4 υποομάδες (φωσφοπρωτεΐνες):

1. αs1 casein
2. αs2 casein
3. β- casein
4. κ- casein

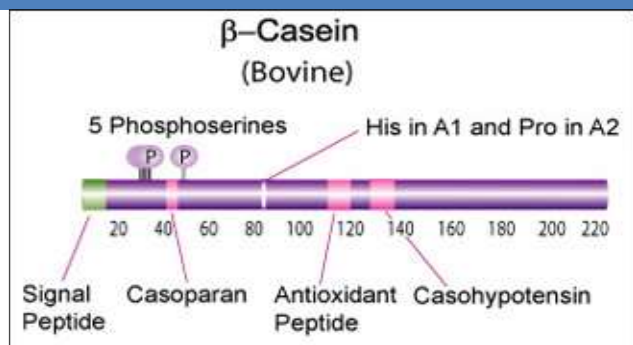
Η β καζεΐνη είναι κυρίαρχη στο ανθρώπινο γάλα και αυτή η αναλογία επιτρέπει στο 80% του σιδήρου να απορροφηθεί, πράγμα που είναι σημαντικό διότι ο σίδηρος είναι προοριζόμενος για να τον δεσμεύσει η λακτοφερίνη που εμποδίζει την ανάπτυξη των σιδηροεξαρτώμενων βακτηριδίων στο ΓΕΣ.



Αυτή είναι η πιο διαδεδομένη μορφή στο γάλα βοοειδούς. Αναφέρετε ότι εμφανίζει αντιοξειδωτικές και ριζικές ιδιότητες σάρωσης κι ότι εμπλέκεται στην μεταφορά της καζεΐνης από το ενδοπλασματικό δίκτυο στο σύστημα Golgi. Εικόνα 12



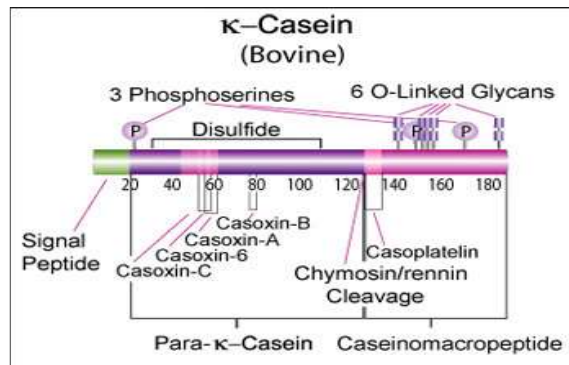
Τα πρωτεολυτικά θραύσματα αυτής της καζεΐνης έχουν αντιβακτηριδιακή δράση. Συγκεκριμένα το θραύσμα της κασοκιδίνης-1 39 αμινοξέων αναστέλλει την ανάπτυξη της *E. coli* και *staph. carnosis*.



Τα θραύσματα αυτής της καζεΐνης εμπλέκονται σε διάφορες βιολογικές διεργασίες όπως για παράδειγμα η ενεργοποίηση της φαγοκυττάρωσης από τα μακροφάγα και η απελευθέρωση του υπεροξειδίου από το πεπτίδιο *casoparan*. Η *casohypotensin* και *casoparan* ίσως εμπλέκονται στην ρύθμιση της βραδυκινίνης. Επίσης έχει αποδειχτεί ότι η *casohypotensin* είναι ισχυρός αναστολέας της ενδο-ολιγοπεπτιδάσης A, η οποία είναι μια ενεργοποιημένη πρωτεάση με θειόλη, ικανή να εποικοδομεί την βραδυκινίνη και την νευροτασίνη, να υδρολύει πεπτίδια που έχουν εγκεφαλίνη για παραγωγή εγκεφαλινών. Οι καζεΐνες αυτές είναι πηγή πεπτιδίων καζομορφίνης που εμφανίζουν δραστικότητα απιοειδούς που δεσμεύεται σε υποδοχείς οπιοειδών.

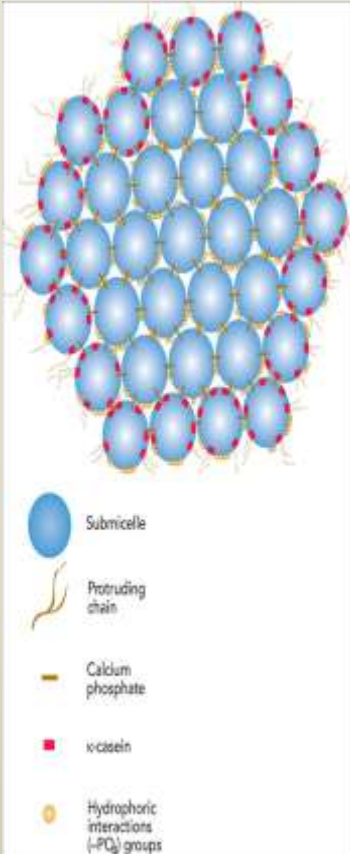
Εικόνα 13

Εικόνα 14



Ο προσανατολισμός της καζεΐνης στην επιφάνεια του μικκυλίου είναι η γέφυρα μεταξύ υδρόφοβων εσωτερικών καζεϊνών και του υδατικού περιβάλλοντος. Όταν γίνεται η πήξη του γάλακτος, η υδρόλυση από την χυμοσίνη ή την ρενίνη απελευθερώνει παρα-κ-καζεΐνη (υδατοδιαλυτό θραύσμα) και καζεΐνομακροπεπτίδιο (υδρόφιλο). Οι casoxinA, B και C έχουν δραστικότητα ανταγωνιστή οπιοειδών. Η C δεσμεύεται στο κλάσμα C3a του συμπληρώματος και η casoplatelina αστέλλει την συσσωμάτωση των PLT.

Το καζεϊνικό μικκύλιο αποτελείται από υπομικκύλια, προεξέχουσες αλυσίδες, φωσφορικό ασβέστιο, κ-καζεΐνη και φωσφορικές ομάδες όπως φαίνεται και στην εικόνα από κάτω.



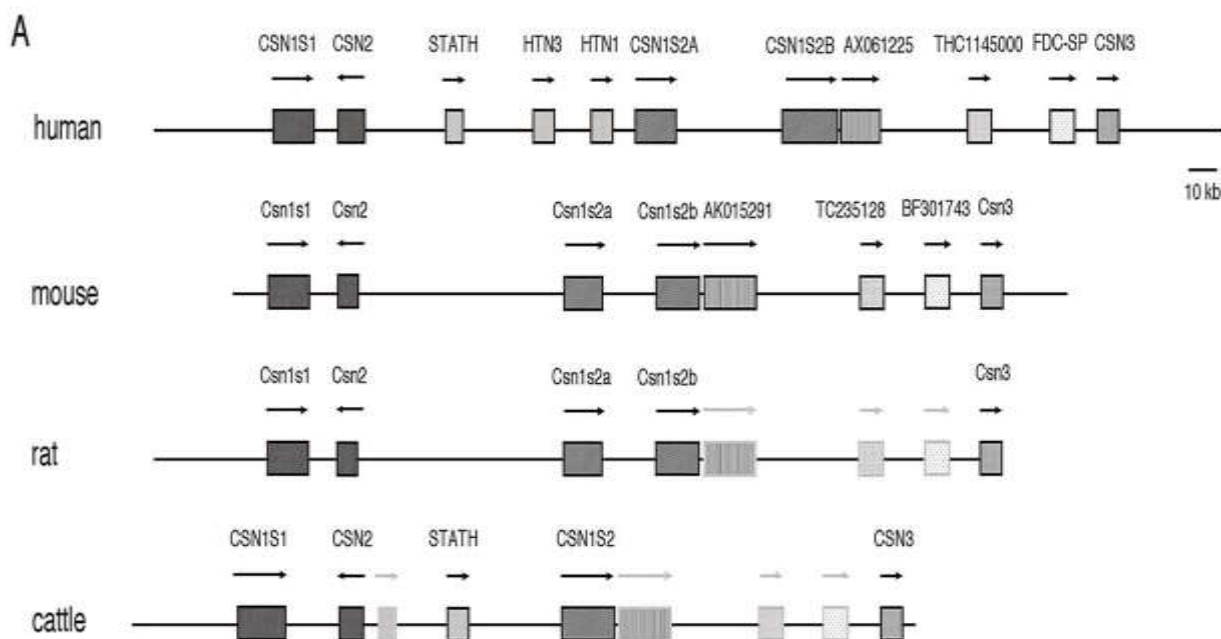
ΜΙΚΚΥΛΙΑ ΚΑΖΕΙΝΗΣ

Οι υποομάδες της καζεΐνης είναι πολύ ετερογενείς και περιλαμβάνουν από 2-8 γενετικές παραλλαγές η καθεμιά τους, με διαφορές μόνο ενός μικρού αριθμού αμινοξέων στις παραλλαγές τους. Η ομοιότητα στις α- και β- καζεΐνες είναι στα αμινοξέα τους τα οποία εστεροποιούνται σε H₃PO₄ (φωσφορικό οξύ) το οποίο δένεται με το Ca (άφθονο στο γάλα), σχηματίζοντας μεταξύ αλλά και εντός των μορίων δεσμούς. Επομένως με αυτόν τον τρόπο γίνεται δυνατή η δημιουργία πολυμερών καζεϊνών που να έχουν πανομοιότυπα ή και διαφορετικά είδη καζεϊνών. Οι φωσφορικές ομάδες και οι υδρόφοβες περιοχές στο καζεϊνικό μόριο είναι άφθονες. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα τα πολυμερή των καζεϊνών να είναι ιδιόμορφα και σταθερά. Τα καζεϊνικά μικκύλια, που είναι μοριακά σύμπλοκα, αποτελούνται από εκατοντάδες ή χιλιάδες μόρια που σχηματίζουν ένα κολλοειδές δ/μα το οποίο δίνει και το λευκό χρώμα στο γάλα.

Στο pH του γάλακτος (6,5-6,7), τα μικκύλια είναι αρνητικά φορτισμένα οπότε απωθούνται, γι αυτό και το γάλα είναι σταθερό γαλάκτωμα (χωρίς ίζημα). Η σημαντικότερη λειτουργία των μικκυλίων αυτών είναι να παρέχουν ρευστότητα στα μόρια της καζεΐνης και να διαλύουν Ρ και Ca.

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΗΣ ΚΑΖΕΪΝΗΣ

Το σύμπλεγμα των γονιδίων της καζεΐνης στα θηλαστικά, περιέχει 3 με 4 εξελικτικά συγγενή γονίδια και ένα γονίδιο συνδεδεμένο με λειτουργική σύνδεση. Για να γίνει κατανοητός ο μηχανισμός που ρυθμίζει το σύμπλεγμα καζεϊνών σε γονιδιακό επίπεδο, κάποιοι μελετητές ξεκίνησαν μια ανάλυση συγκριτικής ακολουθίας πολλαπλών ειδών. Παρόλο το υψηλό επίπεδο απόκλισης στην κωδικοποίηση, οι μελέτες αυτές εντόπισαν μη χαρακτηρισμένα μέλη της οικογένειας ανάμεσα σε δυο είδη και της παρουσίας μη χαρακτηρισμένων γονιδίων σε ορθολογικές θέσεις. Τα 11 γονίδια που αναγνωρίζονται σε αυτήν την περιοχή, κωδικοποιούν εκκριτικές πρωτεΐνες. Έχει παρατηρηθεί η διατήρηση μιας σειράς από μη κωδικοποιημένη περιοχή. Η μια συμπίπτει με ένα στοιχείο που προτάθηκε προηγουμένως ότι είναι σημαντικό για την έκφραση του γονιδίου της β- καζεΐνης σε ανθρώπους και αγελάδες. Οι διατηρημένες περιοχές ίσως έχουν βιολογική σημασία για την ρύθμιση των γονιδίων σε αυτήν την γονιδιακή γειτονία.



Επισκόπηση της οργάνωσης των γονιδίων που εντοπίζονται στην περιοχή του συμπλέγματος των γονιδίων της καζεΐνης σε άνθρωπο, ποντικό, αρουραίο και αγελάδα. Τα ορθολογικά γονίδια υποδεικνύονται με ίδια σκίαση και τα γονίδια των οποίων η παρουσία προβλέπεται με βάση συγκριτική ανάλυση αλλά δεν έχουν επαληθευθεί ή η παρουσίααλληλουχιών που αντιστοιχούν στις βάσεις δεδομένων EST (Expressed Sequence Tags) απεικονίζονται με ανοιχτό γκρι.

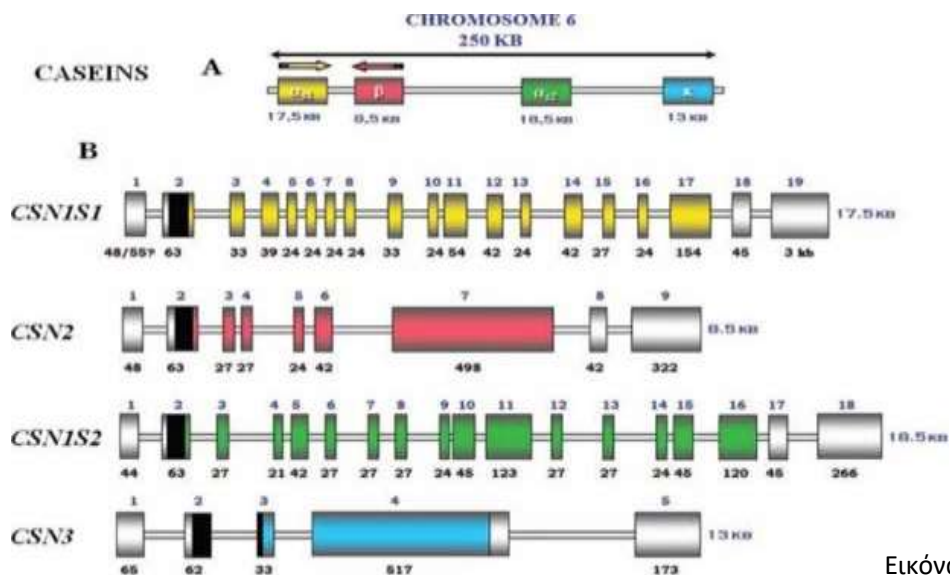
Εικόνα 17

ΚΑΖΕΪΝΗ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ

Το αγελαδινό τυρί περιέχει 4 πρωτεΐνες του τυριού

1. αS1
2. αS2
3. β- καζεΐνη
4. κ- καζεΐνη

Η α-S1 και η β-καζεΐνη είναι αυτά που βρίσκονται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση. Υπάρχουν γενετικές παραλλαγές αυτών των γονιδίων που κωδικοποιούν αυτές τις καζεΐνες, έχουν ταυτοποιηθεί σε διαφορετικά είδη βοοειδών που συχνά συνδέονται με διάφορες παραμέτρους επεξεργασίας γάλακτος και τυριού ή με επιπτώσεις στην υγεία.



Εικόνα 18

Το μητρικό γάλα διαφέρει στην σύνθεση διότι στο ανθρώπινο γονιδίωμα δεν υπάρχει λειτουργικό γονίδιο για την α-S1 καζεΐνη και οι κύριες πρωτεΐνες του είναι η β- και κ- καζεΐνη ενώ στο γάλα βοοειδών είναι η α-S1 και β-καζεΐνη. Οι γενετικές παραλλαγές της καζεΐνης στο γάλα αγελάδος είναι περισσότερο γνωστές σε σχέση με αυτές του ανθρώπου, το ίδιο και οι συνέπειες αυτών των παραλλαγών. Εκτός από τα γονίδια της καζεΐνης ο ανθρώπινος οργανισμός εκφράζει και μια κινάση της συσκευής Golgi η οποία είναι υπεύθυνη για την φωσφορυλίωση των καζεϊνών.

Οι 4 καζεΐνες που αναφέραμε πιο πάνω, αποτελούν το 80% των πρωτεϊνών του γάλακτος αρουραίου και το 50% του ποντικού. Η καζεΐνη και α- λακταλβουμίνη, είναι ειδικοί μοριακοί δείκτες της εκκριτικής δραστηριότητας και του βαθμού διαφοροποίησης των επιθηλιακών κυττάρων μαστικού αδένου.

Ο προσδιορισμός της καζεΐνης με RIA στον ορό ασθενών με κακοήθειες δημιούργησε ανησυχία όσον αφορά στην ιδιαιτερότητα της παραγωγής καζεΐνης ως δείκτη προέλευσης μαστικού αδένα. Το 1976 ανακάλυψαν ανοσοκυτταροχημικά, πρωτεΐνες που έχουν ομοιότητες με την καζεΐνη σε ορισμένους ιστούς όπως του δέρματος, του πνεύμονα, του παγκρέατος, του ενδομητρίου και νεφρών. Σε μια μεταγενέστερη μελέτη που έγινε για την ανίχνευση καζεϊνών και άλλων πρωτεϊνών που μοιάζουν με την καζεΐνη σε διάφορους ιστούς των αρουραίων, με την μέθοδο ανοσοϊστοχημείας και του ανασοαποτυπώματος με συγκεκριμένο αντιγόνο έναντι των α-, β- και γ- καζεϊνών των αρουραίων, απέδειξαν ότι η α2- ουσία που είναι παρόμοιο με την καζεΐνη βρίσκεται στον μαστικό αδένα αλλά και σε άλλα όργανα, παίζοντας ίσως σημαντικό ρόλο ως λειτουργικό μόριο σε αυτά τα όργανα.

Η ακριβής χημική φύση και η φυσιολογική σημασία των πρωτεϊνών που υπάρχουν σε θέσεις εκτός του μαστού και η αντίδραση με αντισώματα έναντι καζεϊνών, δεν είναι ξεκάθαρη. Μέσω ανοσοϊστοχημείας, το υλικό που αντιδράει με αντιορούς αντι-ανθρώπινης καζεΐνης έχει βρεθεί σε διάφορους ιστούς του ανθρώπου, κυρίως:

- στους μαστικούς πόρους αλλά και
- σμηγματογόνους και ιδρωτοποιούς αδένες,
- στο βρογχικό επιθήλιο,
- στους αδένες στην επιφάνεια κάποιων κυψελίδων,
- στην εξωκρινή μοίρα του παγκρέατος,
- σε αδένες του ενδομητρίου σε φάση πολλαπλασιασμού και
- στους συσσωρευμένους απομακρυσμένους σωλήνες του νεφρού.

Η καζεΐνη μπορεί να είναι πρωτεΐνη που δεν είναι ειδική του μαστού και η πρωτεΐνη που της μοιάζει μπορεί να βρίσκεται και σε άλλους ιστούς. Το σημαντικό σε αυτά τα ευρήματα είναι πως η παρουσία των πρωτεϊνών αυτών, αντιδρούν με ανθρώπινους αντιορούς καζεΐνης σε καρκινώματα του πνεύμονα, του ενδομητρίου και του ΓΕΣ (γαστρεντερικός σωλήνας).

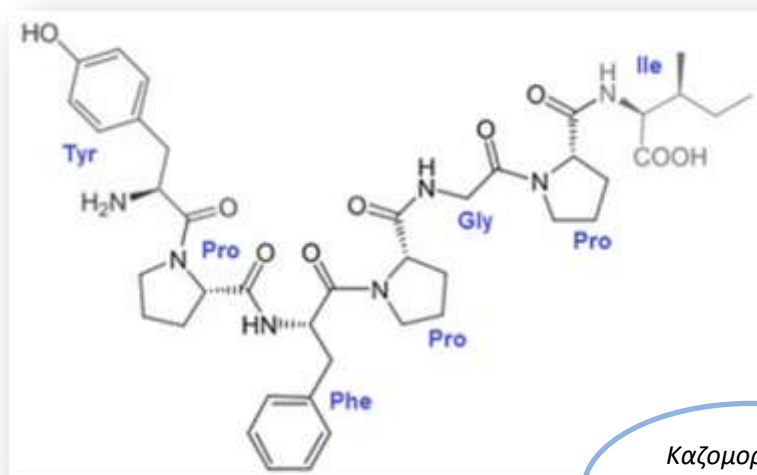
ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΚΑΖΕΪΝΗΣ ΜΕ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ

Οι καζεΐνες μελετώνται για τον ρόλο τους στην υγεία των ανθρώπων. Οι πρωτεΐνες στο αγελαδινό γάλα είναι κοινή πηγή πεπτιδίων που είναι δραστικά. Αυτά τα πεπτίδια απελευθερώνονται με την πέψη των καζεϊνών και πρωτεϊνών του γάλακτος. Το πεπτίδιο β- καζομορφίνη 7 προκύπτει από την *in vitro* γαστροεντερική πρωτεολυτική πέψη των β- καζεϊνικών παραλλαγών Α1 και Β. Είναι ένα βιοενεργό απιοειδές πεπτίδιο το οποίο δεν παρατηρείται στην παραλλαγή Α2. Το υδρολυμένο γάλα που έχει την παραλλαγή Α1 της β- καζεΐνης έχει 4 φορές μεγαλύτερο επίπεδο της καζομορφίνης 7 σε σχέση με το γάλα στην Α2 παραλλαγή. Η αναλογία της

παραγωγής γάλακτος τύπου A1 από αγελάδες σε σχέση με αυτές που παράγουν γάλα τύπου A2 είναι 1:1 στην Ευρώπη. Το γάλα που καταναλώνουμε έχει και τους δυο τύπους της β- καζεΐνης σε διαφορετική όμως αναλογία. Οι πληθυσμοί που καταναλώνουν γάλα τύπου A2 β- καζεΐνης έχουν μικρότερη συχνότητα καρδιαγγειακών νόσων και διαβήτη τύπου 1 σε σχέση με τους πληθυσμούς που καταναλώνουν γάλα β- καζεΐνης τύπου A1.

ΠΕΠΤΙΔΙΟ ΚΑΖΟΜΟΡΦΙΝΗΣ 7

Η καζομορφίνη 7 ευθύνεται για τις γαστρεντερικές διαταραχές όπως πρήξιμο, αυξημένη αποβολή αερίων και διαταραχές στις κενώσεις. Παλιότερες μελέτες έχουν δείξει συσχέτιση της καζομορφίνης 7 με αθηρωσκήληση και αναπνευστικά προβλήματα χωρίς όμως να έχει κατανοηθεί πλήρως ο μηχανισμός δράσης της. Επίσης έχει διατυπωθεί ως πιθανή αιτία του συνδρόμου αιφνίδιου θανάτου των νηπίων. Φαίνεται πως η κατανάλωση γάλακτος με υψηλό επίπεδο της καζομορφίνης 7 σχετίζεται με αυτισμό και σχιζοφρένεια. Αν και έρευνες έχουν δείξει εναλλακτικές θεραπείες και συμπληρώματα, συν την δίαιτα αποκλεισμού από γλουτένη ή καζεΐνη για παιδιά με αυτισμό, η απόδειξη από το 2015 πως αυτές οι δίαιτες έχουν επιπτώσεις στην συμπεριφορά ή την γνωστική και κοινωνική λειτουργία στα παιδιά με αυτισμό, είναι περιορισμένη και ελλιπής.



Καζομορφίνη 7

Εικόνα 19

ΔΙΑΒΗΤΗΣ ΤΥΠΟΥ 1

Υπάρχει υπόνοια πως το αγελαδινό γάλα σε πρώιμη κατανάλωση μπορεί να γίνει αιτία εμφάνισης διαβήτη τύπου 1 κι αυτό γιατί εκθέτει το ανοσοποιητικό σύστημα σε μια ξένη πρωτεΐνη που είναι ικανή για ανοσολογική διασταυρούμενη αντίδραση

με ένα αντιγόνο που υπάρχει στα κύτταρα του παγκρέατος. Έτσι έγινε in vitro μελέτη από κάποιους ερευνητές για την απόκριση των περιφερικών λεμφοκυττάρων στην β- καζεΐνη. Έτσι πήραν δείγματα 47 ασθενών με πρόσφατη εμφάνιση του διαβήτη τύπου 1, 36 ασθενών φυσιολογικών και 10 ασθενών με αυτοάνοση νόσο θυρεοειδούς. Στα αποτελέσματα φάνηκε πως υπάρχει αύξηση πολλαπλασιασμού των T- λεμφοκυττάρων έναντι της β- καζεΐνης του αγελαδινού γάλακτος στους ασθενείς με τον διαβήτη με σημαντική διαφορά στο μέσο δείκτη διέγερσης σε σχέση με τους υγιείς και τους ασθενείς με αυτοάνοση νόσο θυρεοειδούς. Παρατηρήθηκε θετική ανταπόκριση έναντι της β- καζεΐνης σε 24 από τους 47 ασθενείς με διαβήτη τύπου 1, σε έναν υγιή στους 36 ασθενείς και καμία ανταπόκριση στους ασθενείς με την αυτοάνοση νόσο. Οπότε η συσχέτιση του διαβήτη τύπου 1 με την πρώιμη κατανάλωση του γάλακτος μπορεί να εξηγηθεί με την δημιουργία ειδικής ανοσοαπόκρισης στην β- καζεΐνη. Η έκθεση στο αγελαδινό γάλα προκαλεί κυτταρική και χυμική ανοσοαπόκριση έναντι της β- καζεΐνης η οποία μπορεί να αντιδράσει με ένα αντιγόνο των β- κυττάρων του παγκρέατος.

ΔΙΠΟΛΙΚΗ ΔΙΑΤΑΡΑΧΗ

Μια μελέτη το 2010, ερεύνησε αν τα αντισώματα έναντι των καζεϊνών του αγελαδινού γάλακτος έχουν κάποια συσχέτιση με την διπολική διαταραχή κι αν οι ασθενείς αυτοί είχαν διαφορετικούς επιτόπους της καζεΐνης σε σχέση με τα controls. Σε 75 δείγματα ασθενών με διπολική διαταραχή και 65 δείγματα φυσιολογικών δειγμάτων, με ανοσοπροσδιορισμό σε στερεά φάση, μετρήθηκαν τα επίπεδα της IgG έναντι της καζεΐνης του γάλακτος. Τα αντιψυχωτικά φάρμακα ή και το λίθιο που παίρνουν οι ασθενείς αυτοί δεν επηρέασαν σημαντικά τα επίπεδα της ανοσοσφαιρίνης αυτής έναντι της καζεΐνης και οι τιμές της συσχετίστηκαν με την σοβαρότητα της μανίας και όχι με τα καταθλιπτικά συμπτώματα. Το συμπέρασμα ήταν πως τα IgG έναντι της καζεΐνης σε διπολική διαταραχή, το ιστορικό των ψυχωτικών συμπτωμάτων και ο βαθμός σοβαρότητας της μανίας, δηλώνουν ότι η άνοση ενεργοποίηση που σχετίζεται με την καζεΐνη μπορεί να σχετίζεται με τα συστατικά της ψύχωσης και της μανίας σε αυτή τη διαταραχή.

ΚΑΖΕΪΝΗ ΚΑΙ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΚΑΡΚΙΝΟΥ

Η σχέση της καζεΐνης με διάφορες μορφές του καρκίνου μελετήθηκε σε πολλές έρευνες για το αν μπορεί να θεωρηθεί δυνητικά καρκινογόνο πρωτεΐνη. Πολλές έρευνες δεν έδειξαν κάποια συσχέτιση, μια από αυτές που έγιναν όμως, διαπίστωσε πως η κατανάλωση αγελαδινού γάλακτος συνδέεται με μειωμένη ανοσολογική λειτουργία στα παιδιά, πράγμα που μπορεί να οδηγήσει σε συχνές λοιμώξεις. Σε μια

άλλη μελέτη που έγινε στον ασιατικό πληθυσμό, διαπίστωσε πως η συχνότητα εμφάνισης καρκίνου είναι 1 στους 100.000 ενώ στο δυτικό πληθυσμό 1 στους 12. Επομένως συνεπάγεται η συσχέτιση πως η κατανάλωση γάλακτος με τον καρκίνο αλλά και με άλλες ασθένειες μιας και στην Ασία η κατανάλωση γάλακτος είναι σε χαμηλό επίπεδο σε σχέση με αυτή στη δύση. Μια άλλη μελέτη που έγινε με ανοσοϊστοχημική χρώση χρησιμοποιώντας 4 μονοκλωνικά αντισώματα έναντι της ανθρώπινης β- καζεΐνης για να αναλυθεί η έκφραση αυτής της πρωτεΐνης σε ευρύ φάσμα φυσιολογικών ιστών, σε 127 όγκους του μαστού και σε μια ετερογενή ομάδα 42 κακοηθειών με άλλη ιστογένεση. Ο ιστός που χρωματίστηκε φυσιολογικά από τα αντισώματα ήταν ο μαστικός αδένας σε προχωρημένη εγκυμοσύνη, στην γαλουχία και μετά την γαλουχία. Οι όγκοι που δεν προερχόντουσαν από τον μαστικό αδένες δεν χρωματίστηκαν. Τα ανοσοϊστοχημικά αποτελέσματα υποστηρίχτηκαν από δεδομένα ανοσοαποτύπωσης και η έκφραση της β- καζεΐνης δεν παίζει κανένα ρόλο ως δείκτης στη διάγνωση ή την παρακολούθηση του καρκίνου του μαστού στον άνθρωπο.

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Υψηλές συγκεντρώσεις αντισωμάτων έναντι αντιγόνων διαιτητικής έχουν διαπιστωθεί σε έναν αριθμό εκφυλιστικών, αυτοάνοσων ή αδιευκρίνιστης αιτιολογίας νοσημάτων, αν και ο μηχανισμός συσχέτισης των αντισωμάτων με τη νόσο δεν έχει διευκρινιστεί. Η καζεΐνη βρίσκεται μεταξύ των αντιγόνων αυτών και αντισώματα έναντι αυτής έχουν παρατηρηθεί σε ασθενείς με ψυχικές διαταραχές όπως διπολική διαταραχή και σχιζοφρένια. Είναι γνωστό ότι αντισώματα ανιχνεύονται στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό. Επίσης, αντισώματα μπορεί να περάσουν από τον εγκέφαλο στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό και να ανιχνευτούν σε μικρές συγκεντρώσεις και στον ορό. Παρ' ότι ο εγκεφαλονωτιαίος φραγμός δεν επιτρέπει φυσιολογικά τη διέλευση αντισωμάτων, αυτό μπορεί να γίνει σε πολύ μικρή ηλικία και σε παθολογικές καταστάσεις. Έτσι, έχει αρχίσει να διερευνάται η συσχέτιση εγκεφαλοδραστικών αντισωμάτων με διάφορες παθολογικές καταστάσεις.

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η διερεύνηση ύπαρξης αντισωμάτων έναντι της καζεΐνης στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό ασθενών με νόσο Alzheimer.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΑ

Για την επίτευξη του πειραματικού μέρους, χρησιμοποιήθηκε εγκεφαλονωτιαίο υγρό από ανθρώπους σε διάφορα στάδια με Alzheimer, από ανθρώπους με σακχαρώδη διαβήτη, με θαλασσαιμίες και φυσιολογικό πληθυσμό. Τα δείγματα των ατόμων αυτών, από την λήψη μέχρι και την φύλαξη τους (σε κατάψυξη) αντιμετωπίστηκαν με μεγάλη ευαισθησία και φροντίδα ώστε να μπορέσουμε να διασφαλίσουμε την ποιότητα των αποτελεσμάτων.

Όλα τα χημικά αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν ήταν αναλυτικώς καθαρά και ήταν αντιδραστήρια των εταιρειών MERCK, FLUK και RedelDeHaen.

Για την επίτευξη του πειράματος, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος ELISA και συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκαν πλάκες μικροτιτλοδότησης 96 πηγαδιών, επίπεδου πυθμένα, χαμηλής και υψηλής συνδετικής ικανότητας της εταιρείας Greiner-bio-one (ELISA-PLATE, Microlon,96E, flat-bottom, medium binding / high binding).

ΜΕΘΟΔΟΙ

Για τον προσδιορισμό αντισωμάτων έναντι της αλβουμίνης χρησιμοποιήθηκε έμμεση ELISA. Για το σκοπό αυτό, χρησιμοποιήθηκαν πλάκες ELISA 96 θέσεων, μεσαίας και υψηλής ικανότητας σύνδεσης και το αντιγόνο ακινητοποιήθηκε στον πυθμένα των πηγαδιών της πλάκας (coating). Στη συνέχεια, προστέθηκε αλβουμίνη των βοοειδών (BSA) ως ουδέτερη πρωτεΐνη για να καλύψει τυχόν εναπομείναντα σημεία του πυθμένα στα οποία δεν συνδέθηκε αντιγόνο (Blocking). Ακολούθησε η προσθήκη του εγκεφαλονωτιαίου υγρού ως πηγή του προς προσδιορισμό αντισώματος. Σε ένα επόμενο στάδιο προστέθηκε δευτερεύον αντίσωμα, anti-human IgG συνδεδεμένο με υπεροξειδάση και ακολούθησε προσθήκη του υποστρώματος της υπεροξειδάσης για την παραγωγή έγχρωμου προϊόντος. Επιπλέον, τις επόμενες μέρες μετά από πλύση προστέθηκε ως δευτερεύον αντίσωμα το anti-human IgM και anti-human IgA συνδεδεμένα με υπεροξειδάση και ακολούθως συνεχίστηκε η διαδικασία με προσθήκη του υποστρώματος της υπεροξειδάσης για την παράγωγη έγχρωμου προϊόντος.

Αναλυτικά τα στάδια που ακολουθήθηκαν ήταν τα εξής:

Coating

- Προσθήκη 100 μl διαλύματος 32 μg/ml καζεΐνης σε ρυθμιστικό διάλυμα ανθρακικών 0.05M pH 9.6 σε κάθε πηγαδάκι της πλάκας.
- Σε 8 πηγαδάκια προστέθηκε ανθρώπινη ανοσοσφαιρίνη IgG ως θετικός μάρτυρας επιτυχίας της μεθόδου σε συγκεντρώσεις 500 ng/ml, 333 ng/ml, 250 ng/ml, 125 ng/ml, 63 ng/ml και 32 ng/ml.
- Κάλυψη της επιφάνειας με παραφιλ ή αυτοκόλλητη μεμβράνη και παραμονή σε θερμοκρασία δωματίου για 16-24 ώρες.
- Απομάκρυνση του διαλύματος και πλύση με δισαπεσταγμένο νερό δύο φορές.

Blocking

- Προσθήκη σε κάθε πηγαδάκι 200 μl διαλύματος που περιέχει 0.1% αλβουμίνη των βοοειδών σε PBS [80ml αποσταγμένο νερό, 20ml 5x PBS(137 mMNaCl, 2.7 mMKCl, 10 mMNa₂HPO₄, 2mMKH₂PO₄) και 1gr BSA albumin], pH 7.2.
- Κάλυψη της επιφάνειας με παραφιλ ή αυτοκόλλητη μεμβράνη και παραμονή σε θερμοκρασία δωματίου για 2 ώρες.
- Απομάκρυνση του διαλύματος και πλύση με δισαπεσταγμένο νερό δύο φορές.

Σύνδεση αντισώματος

- Δημιουργώ διάλυμα PBST [1x PBS (100ml 5x PBS, 400ml αποσταγμένο νερό), twin (250μl / 500ml PBST)]
- Σε διάλυμα 100 ml PBST προσθέτω 0,1gr οωαλβουμίνης (δηλαδή 1gr/ml)
- Σε 80 Eppendorf προσθέτω 1ml από το παραπάνω διάλυμα και 200μl από τα προς εξέταση δείγματα (σε κάθε Eppendorf διαφορετικό δείγμα).
- Σε κάθε πηγαδάκι προσθέτω 100ml αντίστοιχα από τα Eppendorf.
- Κάλυψη της επιφάνειας με παραφιλ ή αυτοκόλλητη μεμβράνη και παραμονή σε θερμοκρασία δωματίου για 1 ώρα.
- Απόρριψη του διαλύματος, πλύση με διάλυμα πλύσης, PBST, τρεις φορές και τρεις φορές με δισαπεσταγμένο νερό.

Σύνδεση δευτερεύοντος αντισώματος

- Προσθήκη 100 μl κατάλληλης αραιώσης δευτερεύοντος αντισώματος σε PBST (η αραιώση συνιστάται από την εταιρεία).
- Κάλυψη της επιφάνειας με παραφιλ ή αυτοκόλλητη μεμβράνη και παραμονή σε θερμοκρασία δωματίου για 1 ώρα.
- Απόρριψη του διαλύματος, πλύση με διάλυμα πλύσης, PBST, τρεις φορές και τρεις φορές με δισαπασταγμένο νερό.

Προσθήκη του υποστρώματος της υπεροξειδάσης

Για την αντίδραση υπεροξειδάσης χρησιμοποιήθηκε ως υπόστρωμα διμέθυλοβενζιδίνη, TMB, παρουσία υπεροξειδίου του υδρογόνου (100μl/well), το οποίο μετατρέπεται από την υπεροξειδάση σε έγχρωμο προϊόν πράσινου χρώματος που μπορεί να προσδιορισθεί στα 630 nm. Μετά τον τερματισμό της αντίδρασης με προσθήκη HCl 1N, το χρώμα του προϊόντος μετατρέπεται σε κίτρινο και μπορεί να προσδιορισθεί στα 450 nm.

TMB

Για 10 ml προστίθενται:

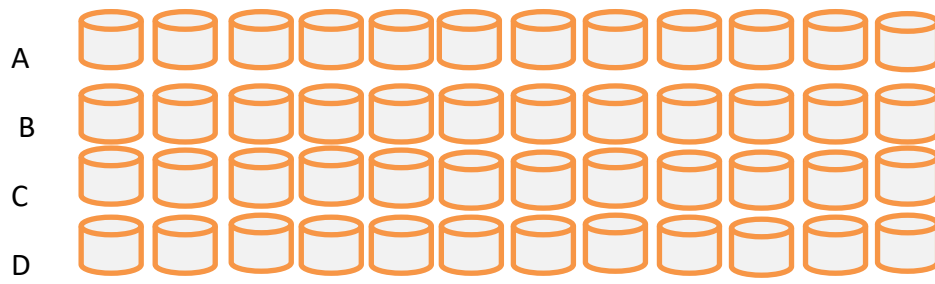
0.5 ml ρυθμιστικό κιτρικών 0.2 M, pH 3.3

0.25 ml 2 mg/ml TMB (σε EtOH)

9.25 ml νερό

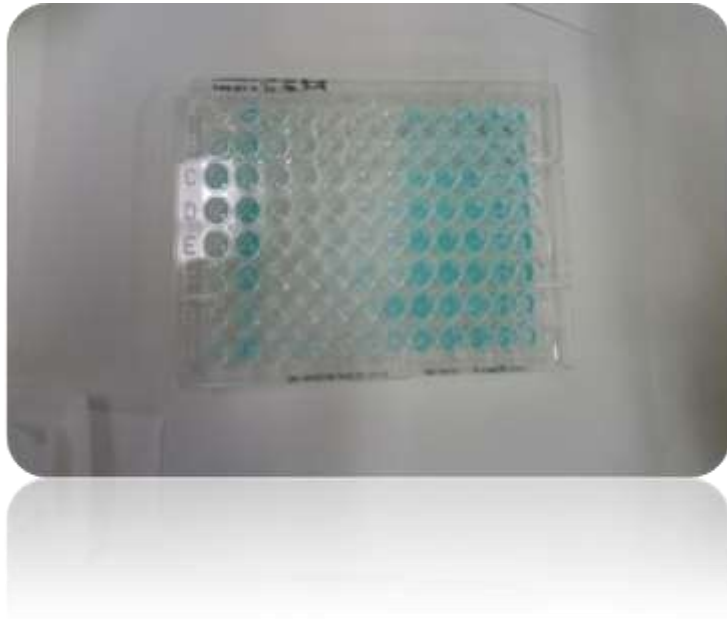
+25 μl 3% H₂O₂

Για τον υπολογισμό ενδεικτικών ποσοτικών αποτελεσμάτων, από τις απορροφήσεις που έδωσαν τα πηγαδάκια στα οποία καθηλώθηκαν διάφορες συγκεντρώσεις ανοσοσφαιρινών κατασκευάστηκαν πρότυπες καμπύλες. Μια σειρά από πρότυπες παρατίθενται ενδεικτικά παρακάτω.



100μl διαλύματος με 32μg/ml του αντιγόνου καζεΐνης





μέτρηση A1 στα 620 nm → προσθήκη 100 μλ/μα τερματισμού



2^η μέτρηση στα 450 nm

ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ IgG ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ

Πίνακας 1. Συγκέντρωση IgG αντισωμάτων (μg/ml) στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό
(χρήση πλάκας ασθενούς σύνδεσης - medium binding)

ΔΕΙΓΜΑ	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΣΕμg/ml
22 Φ	840
5 Φ	760
15 Φ	39
21 Φ	37
8 Φ	33
7 Φ	24
49 Φ	31
9 Φ	90
12 Φ	90
6 Φ	585
15 Φ	29

60 H	33
16 H	24
45 H	30
4 H	39
27 H	34
70 H	880
13 H	28
63 H	15
32 M	27
71 M	36
67 M	300
36 M	38
23 M	39
25 M	25
66 M	95
41 M	29
3 Σ	26
65 Σ	31
17 Σ	33
53 Σ	417
47 Σ	296
58 Σ	88
54 Σ	102000
37 Σ	24000

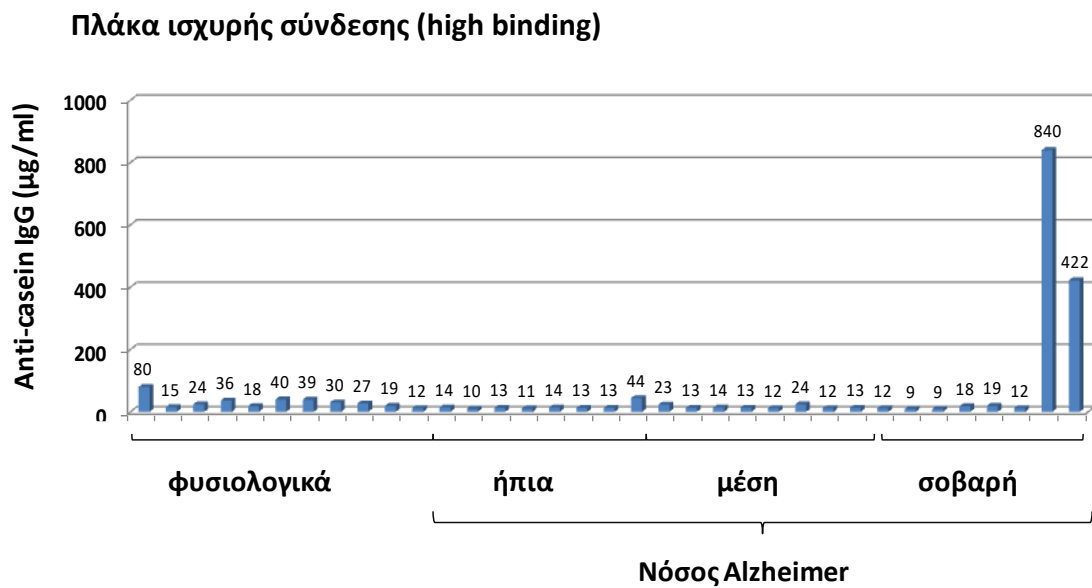
Πίνακας 2. Συγκέντρωση IgG αντισωμάτων (μg/ml) στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (χρήση πλάκας ισχυρής σύνδεσης - high binding)

ΔΕΙΓΜΑ	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΣΕμg/ml
22 Φ	80
5 Φ	15
15 Φ	24
21 Φ	36
8 Φ	18
7 Φ	40
49 Φ	39
9 Φ	30
12 Φ	27
6 Φ	19
15 Φ	12

60 H	14
16 H	10
45 H	13
4 H	11
27 H	14
70 H	13
13 H	13
63 H	44
32 M	23
71 M	13
67 M	14
36 M	13
23 M	12
25 M	24
66 M	12
41 M	13
3 Σ	12
65 Σ	9
17 Σ	9
53 Σ	18
47 Σ	19
58 Σ	12
54 Σ	840
37 Σ	422

ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

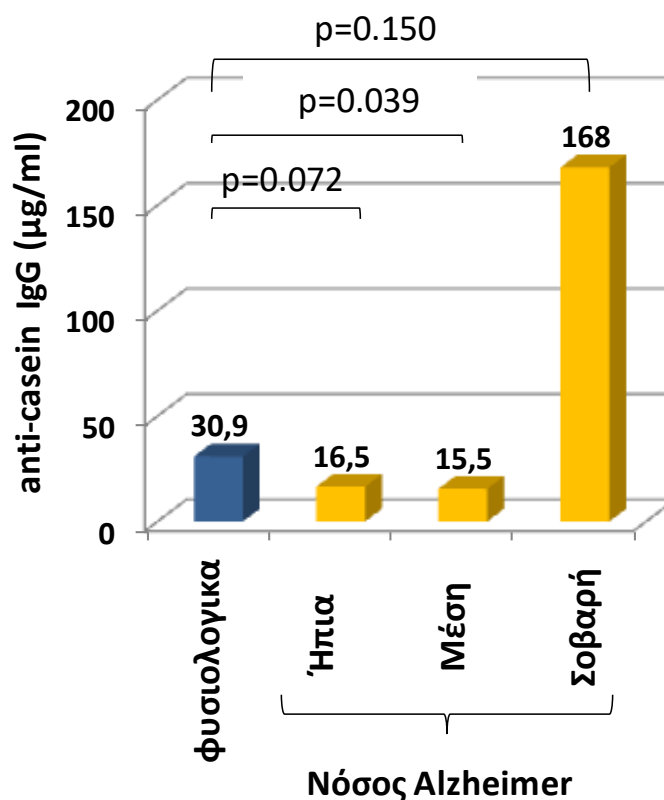
Η στατιστική ανάλυση έγινε με το student's t-test για να δούμε αν οι διαφορές μεταξύ δυο ομάδων είναι σημαντικές. Η μέθοδος προσδιορίζει την πιθανότητα, η παρατηρούμενη διαφορά να μην είναι στατιστικώς σημαντική. Όταν η προσδιοριζόμενη πιθανότητα p είναι πολύ μικρή (<0.05), η διαφορά μπορεί να θεωρηθεί στατιστικώς σημαντική.



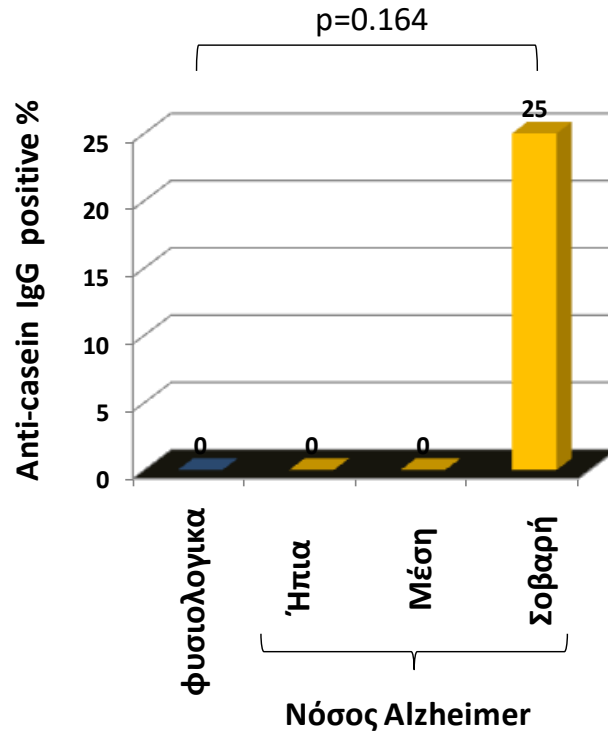
Εικόνα 1. Συγκεντρώσεις IgG αντισωμάτων έναντι της καζεΐνης στον φυσιολογικό πληθυσμό (δείγματα 1-11), στους ασθενείς με ήπια κατάσταση Alzheimer (δείγματα 12-19), με μέση σοβαρότητα Alzheimer (δείγματα 20-27) και σοβαρή νόσο Alzheimer (δείγματα 28-35), σε πλάκα υψηλής συνδετικής ικανότητας.

Πίνακας 1. Μέση συγκέντρωση IgG αντισωμάτων έναντι της καζεΐνης (μg/ml) στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό σε φυσιολογικά και παθολογικά δείγματα (χρήση πλάκας ισχυρής σύνδεσης - high binding)

	Μέση τιμή	Διάμεση τιμή	SD	ελάχιστο	μέγιστο	P
Φυσιολογικά	30.9	27.0	18.9	12.0	80.0	
Ήπια	16.5	13.0	11.2	10.0	44.0	0.072
Μέτρια	15.5	13.0	4.99	12.0	24.0	0.039
Σοβαρή	168	15.0	307	9.00	840	0.150



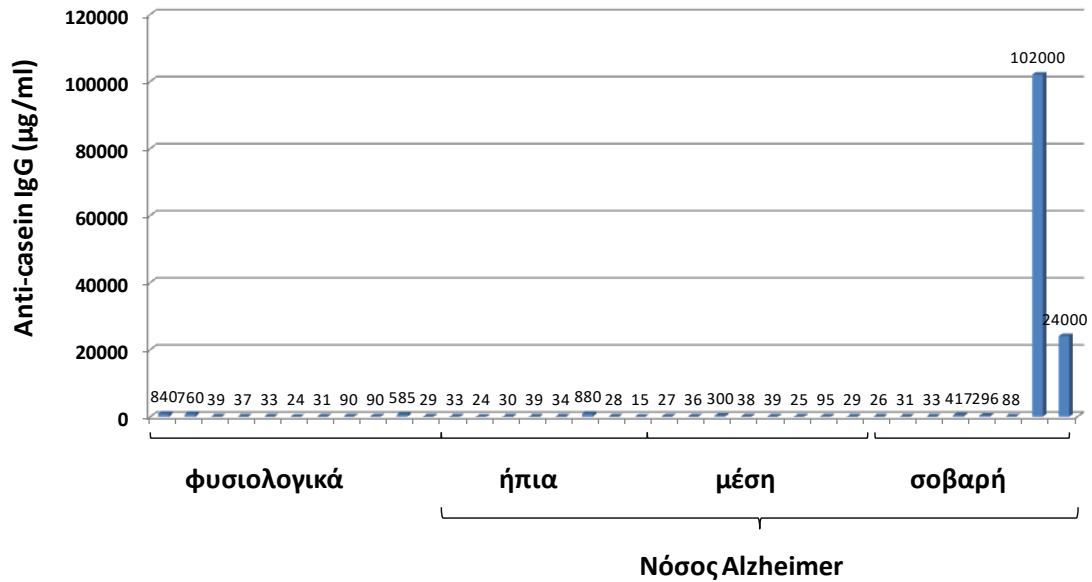
Εικόνα 2. Μέση συγκέντρωση των IgG αντισωμάτων έναντι της καζεΐνης στον φυσιολογικό πληθυσμό και στους πληθυσμούς με ήπια, μέση και σοβαρή καταστάσεων της νόσου Alzheimer (p* student t-τεστ)



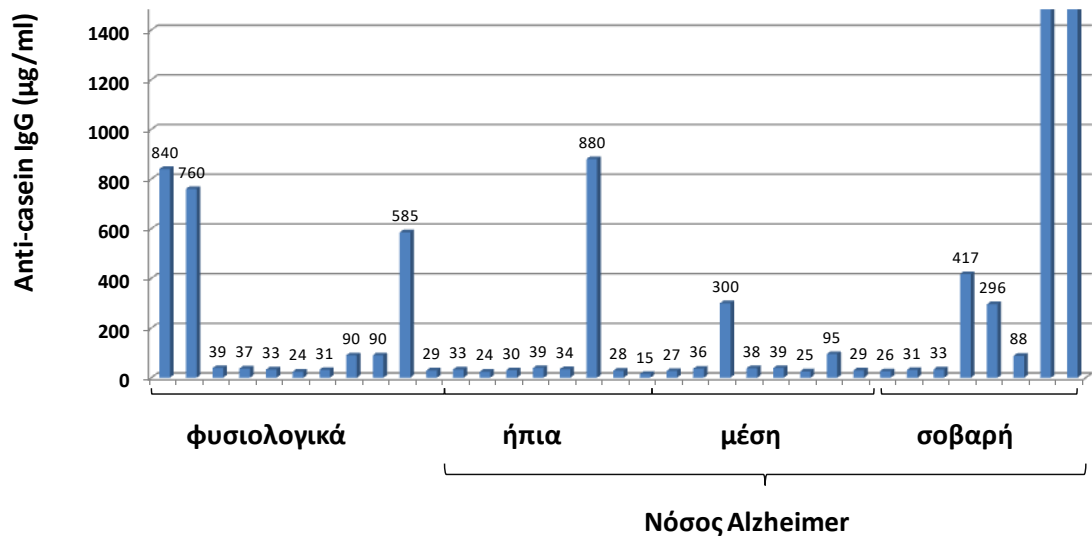
Εικόνα 3. Ποσοστό θετικών δειγμάτων σε IgG αντισώματα έναντι της καζεΐνης στον φυσιολογικό πληθυσμό και σε πληθυσμούς με ήπια, μέση και σοβαρή καταστάσεων της νόσου Alzheimer. Τα αποτελέσματα προέκυψαν με χρήση πλάκας υψηλής συνδετικής ικανότητας.

Πλάκα μέσης συνδετικής ικανότητας

A



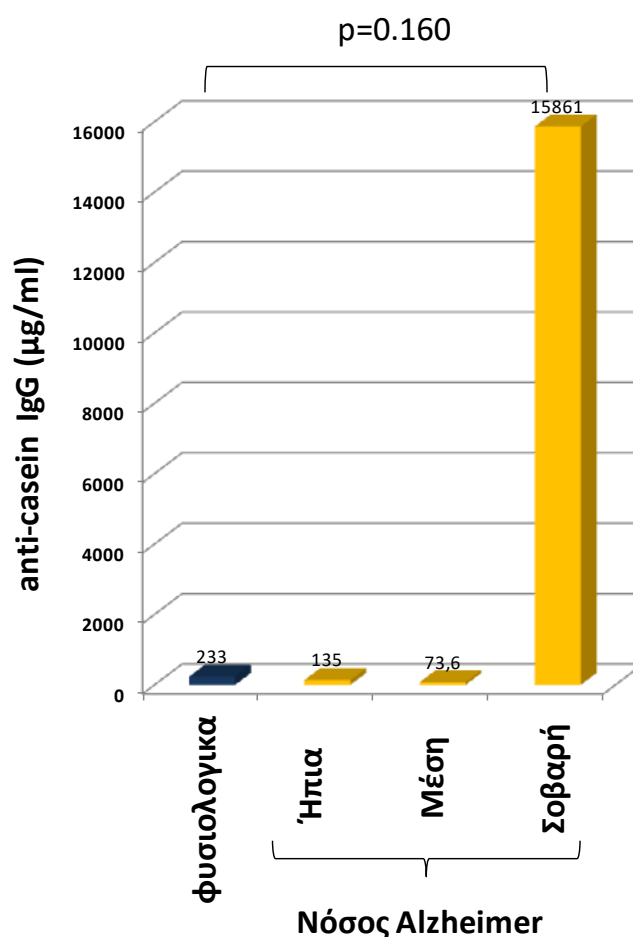
B



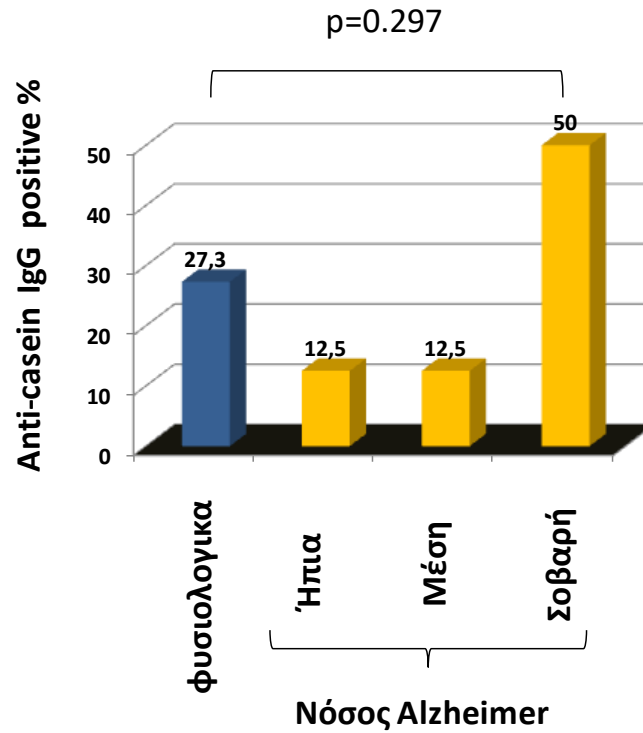
Εικόνα 4. Συγκεντρώσεις IgG αντισωμάτων έναντι της καζεΐνης στον φυσιολογικό πληθυσμό (δείγματα 1-11), στους ασθενείς με ήπια κατάσταση Alzheimer (δείγματα 12-19), με μέση σοβαρότητας Alzheimer (δείγματα 20-27) και σοβαρή νόσο Alzheimer (δείγματα 28-35), σε πλάκα μέσης συνδετικής ικανότητας.

Πίνακας 2. Μέση συγκέντρωση IgG αντισωμάτων έναντι της καζεΐνης (μg/ml) στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό σε φυσιολογικά και παθολογικά δείγματα (χρήση πλάκας μέσης ικανότητας σύνδεσης - medium binding)

	Μέση τιμή	Διάμεση τιμή	SD	ελάχιστο	μέγιστο	P
Φυσιολογικά	233	325	39.0	24.0	840	
Ήπια	135	301	31.5	15.0	880	0.520
Μέτρια	73.6	94.2	37.0	25.0	300	0.200
Σοβαρή	15861	35790	192	26.0	102000	0.160



Εικόνα 5. Μέση συγκέντρωση των IgG αντισωμάτων έναντι της καζεΐνης στον φυσιολογικό πληθυσμό και στους πληθυσμούς με ήπια, μέση και σοβαρή καταστάσεων της νόσου Alzheimer (p^* student t-τεστ), με χρήση πλάκας μέσης συνδετικής ικανότητας.



Εικόνα 6. Ποσοστό θετικών δειγμάτων σε IgG αντισώματα έναντι της καζεΐνης στον φυσιολογικό πληθυσμό και σε πληθυσμούς με ήπια, μέση και σοβαρή καταστάσεων της νόσου Alzheimer. Τα αποτελέσματα προέκυψαν με χρήση πλάκας χαμηλής συνδετικής ικανότητας.

Μικρές συγκεντρώσεις IgM και IgA αντισωμάτων προσδιορίστηκαν σε όλες τις ομάδες χωρίς στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ αυτών.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Με βάση τα αποτελέσματα που προέκυψαν τόσο από τη χρήση της πλάκας υψηλής συνδετικής ικανότητας όσο και από τη χρήση της πλάκας χαμηλής συνδετικής ικανότητας, η μέση συγκέντρωση IgG αντισωμάτων έναντι της καζεΐνης στους ασθενείς με σοβαρή νόσο Alzheimer ήταν πολύ μεγαλύτερη έναντι του φυσιολογικού πληθυσμού. Ωστόσο, το αποτέλεσμα δε θεωρείται στατιστικώς σημαντικό λόγω του χαμηλού αριθμού δειγμάτων και της μη ομοιόμορφης κατανομής των τιμών στους ασθενείς με Alzheimer. Με βάση τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τη χρήση της πλάκας υψηλής συνδετικής ικανότητας, αν συγκέντρωση ίση με τη μέση τιμή +2SD του φυσιολογικού πληθυσμού θεωρηθεί ως το κατώτατο όριο για το χαρακτηρισμό ενός δείγματος ως θετικού, 25% των ασθενών σε σοβαρή νόσο ήταν θετικά σε αντισώματα έναντι της καζεΐνης σε αντίθεση με τα μηδενικά θετικά δείγματα που παρατηρήθηκαν στον φυσιολογικό πληθυσμό όπως και στους ασθενείς με ήπια και μέσης σοβαρότητας νόσο. Το αποτέλεσμα δε θεωρήθηκε στατιστικώς σημαντικό, λόγω του μικρού αριθμού δειγμάτων (8 δείγματα σοβαρής νόσου και 11 φυσιολογικά), $p=0,164$. Μικρή διαφοροποίηση της εικόνας παρατηρήθηκε όταν χρησιμοποιήθηκε η μέση συνδετικής ικανότητας πλάκα. Υψηλότερες συγκεντρώσεις αντισωμάτων και μεγαλύτερη συχνότητα θετικών δειγμάτων παρατηρήθηκαν σε όλες τις ομάδες. Και στην περίπτωση αυτή υψηλότερη μέση συγκέντρωση και υψηλότερη συχνότητα θετικών δειγμάτων παρατηρήθηκε στους ασθενείς με σοβαρή νόσο αλλά το αποτέλεσμα και πάλι δε θεωρήθηκε στατιστικώς σημαντικό. Η διαφοροποίηση πιθανώς οφείλεται στον διαφορετικό τρόπο πρόσθεσης του αντιγόνου στον πυθμένα της πλάκας καθώς η μέση συνδετικής ικανότητας πλάκα ευνοεί την πρόσδεση λιγότερο υδρόφιλων μορίων ή περιοχών μακρομορίων.

Τα αποτελέσματα δείχνουν μια τάση θετικής συσχέτισης με τη νόσο, αλλά η έρευνα πρέπει να συνεχιστεί για την εξασφάλιση ασφαλέστερου και στατιστικώς σημαντικού αποτελέσματος.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Εργαστήριο Φυσιολογίας II 2009-2010 Συμπληρωματικά φυλλάδια Παύλου Ρήγα <http://www.teiath.gr/userfiles/akanellou/phys2%20fyll1%20kns.pdf>
2. Dr. Arnaoutoglou Nikitas Researcher in cognitive sciences <http://www.psyxiatros.gr/%ce%bd%cf%8c%cf%83%ce%bf%cf%82-alzheimer/>
3. ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΚΕΝΤΡΙΚΟΥ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΟΜΙΛΟΣ AngeliniandAngeliniPharmaHellas <http://www.angelini.gr/wps/wcm/connect/gr/Home/Therapeutic+areas/Central+Nervous+System+%28CNS%29/Anatomy+Physiology/Anatomy+1>
4. Βιολογία 1^{ης} Γενικού Λυκείου Υπουργείο Παιδείας Δια Βίου Μάθησης Και Θρησκευμάτων Παιδαγωγικό Ινστιτούτο ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΣ ΕΚΔΟΣΗΣ ΔΙΔΑΚΤΙΚΩΝ ΒΙΒΛΙΩΝ ΑΘΗΝΑ Κεφ. 9 ΝΕΥΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ Ομάδα Συγγραφής Δρ. ΚΑΣΤΟΡΙΝΗΣ ΑΝΤΩΝΗΣ (βιολόγος, εκπαιδευτικός δευτεροβάθμιας εκπαίδευσης) ΚΩΣΤΑΚΗ- ΑΠΟΣΤΟΛΟΠΟΥΛΟΥ ΜΑΡΙΑ (βιολόγος, MSc Ωκεανογραφίας, αγωγής υγείας, εκπαιδευτικός δευτεροβάθμιας) Δρ. ΜΠΑΡΩΝΑ- ΜΑΜΑΛΗ ΦΩΤΕΙΝΗ (βιολόγος, εκπαιδευτικός δευτεροβάθμιας) Δρ. ΠΕΡΑΚΗ ΒΑΣΙΛΙΚΗ (βιολόγος, πρόεδρος παιδαγωγικού ινστιτούτου) Δρ. ΠΙΑΡΟΓΛΟΥ ΠΕΡΙΚΛΗΣ (βιολόγος, εκπαιδευτικός δευτεροβάθμιας) <http://ebooks.edu.gr/modules/ebook/show.php/DSGL-A105/321/2155,7812/>
5. http://www.epal-elvenizelou.gr/sites/default/files/course_files/2015-2016/to_neyriko_systima.pdf
6. <https://eclass.teicrete.gr/modules/document/file.php/YN106/10.pdf>
7. ΕΤΑΙΡΕΙΑ ALZHEIMER ΑΘΗΝΩΝ 2002-2017 Η ΑΝΟΙΑ ΚΑΙ Η ΝΟΣΟΣ ALZHEIMER- Η ΕΠΙΔΗΜΙΑ ΣΤΟΝ 21^ο ΑΙΩΝΑ <http://www.alzheimerathens.gr/index.php/alzheimer>
8. Dr. Arnaoutoglou Nikitas, PhD, Researcher in Cognitive sciences Νόσος Alzheimer <https://www.psyxiatros.gr/%CE%BD%CF%8C%CF%83%CE%BF%CF%82-alzheimer/>
9. Σημασιολογική μνήμη αρχείο pdf <https://repository.kallipos.gr/bitstream/11419/3243/3/Kef.%2034.pdf>
10. ΤΥΠΟΙ ΔΥΣΠΡΑΞΙΑΣ ΑΠΟ ΤΗΝ ΣΚΟΠΙΑ ΤΗΣ ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΑΣ . ΖΟΥΡΝΑΣ- ΠΑΠΑΓΕΩΡΓΙΟΥ 13 Σεπτεμβρίου 2010. Προσέγγιση Εταιρεία Ειδικής Αγωγής <http://www.proseggisi.gr/%CF%84%CF%85%CF%80%CE%BF%CE%B9-%CE%B4%CF%85%CF%83%CF%80%CF%81%CE%B1%CE%BE%CE%B9%CE%B1%CF%83-%CE%BD%CE%B5%CF%85%CF%81%CE%BF%CE%BB%CE%BF%CE%B3%CE%B9%CE%B1/>
11. Τι είναι η νόσος Αλτσχάιμερ (βίντεο) <https://www.youtube.com/watch?v=kwT2syCu50>
12. The Global Voice on Dementia. Alzheimer 's Disease International, Alois Alzheimer <https://www.alz.co.uk/alois-alzheimer>

13. <https://aniretas.blogspot.gr/search/label/Aloysius%20%22Alois%22%20Alzheimer%20%28%CE%91%CE%BB%CE%BF%CE%90%CF%83%CE%B9%CE%BF%CF%82%20%CE%86%CE%BB%CF%84%CF%83%CF%87%CE%AC%CE%B9%CE%BC%CE%B5%CF%81%29>
14. Spencer A. W. Lee, Luciano A. Sposato, Vladimir Hachinski and Lauren E. Cipriano: Alzheimer's Research & Therapy 2017 <https://alzres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13195-017-0243-0>
15. From the journal Analyst : S. Mordechai, E. Shufan, B. S. Porat Katz and A. Salman : Early diagnosis of Alzheimer's disease using infrared spectroscopy of isolated blood samples followed by multivariate analyses
 - a. <http://pubs.rsc.org//content/articlelanding/2017/an/c6an01580h/unauth#!divAbstract>
16. Alzheimer's & Dementia: Volume 13, Issue 4, April 2017 : 2017 Alzheimer's disease facts and figures
 - a. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1552526017300511>
17. https://www.google.gr/search?q=%CE%B1%CE%BD%CE%BF%CF%83%CE%BF%CF%83%CF%86%CE%B1%CE%B9%CF%81%CE%B9%CE%BD%CE%B7&client=firefox-b&dcr=0&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEWijrv287vrWAhULOxQKHVb0AjIQ_AUICigB&biw=1152&bih=731#imgrc=MCfuRbYSfg8XfM
18. Πτυχιακή εργασία της Παπαδοπούλου Ειρήνης του τμήματος Ιατρικών Εργαστηρίων ΑΤΕΙΘ 2017 με θέμα 'Προσδιορισμός αντισωμάτων έναντι καζεΐνης του γάλακτος αγελάδος και συσχέτιση με παθολογικές καταστάσεις'
19. Πτυχιακή Εργασία του Καραντάη Ιρφάν της σχολής φυσικοθεραπείας ΑΤΕΙΘ 2009 με θέμα ' Άνοια τύπου Άλτσχάιμερ φυσιοθεραπευτική προσέγγιση' http://eureka.lib.teithe.gr:8080/bitstream/handle/10184/4569/Karadai_Irfan.pdf?sequence=6
20. ιatronet άρθρο του Καπαρός Γεώργιος Νευρολόγος , δημοσίευση 22/01/2008
21. FOOD-INFO Since 1999 Πρωτεΐνες του γάλακτος
 - a. <http://www.food-info.net/gr/protein/milk.htm>
22. https://www.google.gr/search?q=%CE%BA%CE%B1%CE%B6%CE%B5%CF%8A%CE%BD%CE%B9%CE%BA%CE%B1+%CE%BC%CE%B9%CE%BA%CE%BA%CF%85%CE%BB%CE%B9%CE%B1&client=firefox-b&dcr=0&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwi_ndHrqv_WAhUCkRQKHTtmBL0Q_AUICygC&biw=1152&bih=731#imgdii=x7zj9VIw9eC CmM:&imgrc=-9QEqhAU9gIYaM:εικόνα σελ. 28
23. Σημειώσεις Δρ. Μήτκα Στέλλα καθηγήτρια κλινικής χημεία και ιατρικής μικροβιολογίας Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων ΑΤΕΙΘ. Εργαστηριακή διάγνωση Ιώσεων
24. Σημειώσεις της Δρ. Αναστασία Ορφανού- Ταλιαδούρου, Ιατρός Μικροβιολόγος Καθηγήτριας ΑΤΕΙΘ 2007 Ορολογικές και Ανοσολογικές Εξετάσεις στα Αυτοάνοσα Νοσήματα
25. William J Marshall, Stephen K Bangert 6^η αγγλική έκδοση- 3^η ελληνική έκδοση Κλινική Χημεία Εκδόσεις Π Χ Πασχαλίδης 2011 σε συνεργασία με τον εκδοτικό οίκο ELSEVIER Limited
26. Δρ. Χρήστος Πέτρου Δρ. Φαίδρα Ελευθερίου Βιοχημεία. Εκδόσεις University Studio Press 2007

27. ROBERT L. NUSSBAUM, RODERICK R. MCLNNES, HUNTINGTON F. WILLARD: GENETICS IN MEDICINE. ΙΑΤΡΙΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ Copyright 2011 ελληνική έκδοση Π. Χ. ΠΑΣΧΑΛΙΔΗΣ Α.Ε.
28. J.C.E. UNDERWOOD, S.S. CROSS: ΓΕΝΙΚΗ ΚΑΙ ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗ. Copyright 2009 αγγλική έκδοση και 2011 ελληνική έκδοση ΠΑΡΙΣΙΑΝΟΥ Α.Ε ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΕΚΔΟΣΕΙΣ
29. Παυλάτου Μ. ΑΕ Καθηγήτρια Μικροβιολογίας Πανεπιστημίου Αθηνών, Επί Τιμή Διευθύντρια των Εργαστηρίων του ΓΝΑ «Αλεξάνδρα», Επίτιμος Πρόεδρος της Ελληνικής Εταιρίας Ανοσολογίας, «ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑ». σελ. ΙΑΤΡΙΚΕΣ ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΛΙΤΣΑΣ, 4^η έκδοση, 2004
30. Άννα Καρακάση- Γαρδούνη, Χαράλαμπος Λ. Κατσούλας, Στυλιανός Α. Μιχαηλίδης Ανοσολογία έκδοση 2008 Τομέας Υγείας και Πρόνοιας
31. THOMAS J. KINDT national institutes of Health, RICHARD A. GOLDSBY Amherst college, BARBARA A. OSBORNE university of Massachusetts at Amherst. Kuby IMMUNOLOGY W.H. Freeman and Company / New York copyright 2013
32. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ , Ε. Δ. Κατρίτση (καθηγητ.ιατρικήςσχολής Πανεπ. Αθηνών) Δ. Αν. Κελέκη (καθηγητ.ακτινολογίας Πανεπ. Αθηνών) Η. Δ. Κούβελα (καθηγητ. πειραματικής φυσιολογίας Πανεπ. Πατρών) Ζ' ανατύπωση 2009
33. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ Δρ. ΙΩΑΝΝΗΣ ΧΑΤΖΗΜΠΟΥΓΙΑΣ (ιατρός ιστοπαθολόγος - κυτταρολόγος, καθηγητής ανατομικής) 5^η έκδοση 2009 από τις εκδόσεις GMD DESIGN
34. ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ, Κωνσταντίνος Βαρσαμίδης (καθηγητής φυσιολογίας) εκδόσεις University Studio Press 1^η έκδοση 2001, ανατύπωση 2006 και 2008
35. https://www.google.gr/search?client=firefox-b&dcr=0&biw=1152&bih=731&tbm=isch&sa=1&ei=wqIKWuD7GcGb6ATJ75CADA&q=casein+protein+chemical+structure&oq=casein+protein+&gs_l=psy-ab.1.4.0i19k1I10.16049.16049.0.23130.1.1.0.0.0.161.161.0j1.1.0...0...1.1.64.psy-ab..0.1.159...0.0CzF4TbCADk#imgsrc=QV00Im3f4QH4FM: εικόνα 12
36. https://www.google.gr/search?client=firefox-b&dcr=0&biw=1152&bih=731&tbm=isch&sa=1&ei=wqIKWuD7GcGb6ATJ75CADA&q=casein+protein+chemical+structure&oq=casein+protein+&gs_l=psy-ab.1.4.0i19k1I10.16049.16049.0.23130.1.1.0.0.0.161.161.0j1.1.0...0...1.1.64.psy-ab..0.1.159...0.0CzF4TbCADk#imgdii=PmW9HrbuUNIkTM:&imgsrc=QV00Im3f4QH4FM: εικόνα 11
37. https://www.google.gr/search?client=firefox-b&dcr=0&biw=1152&bih=731&tbm=isch&sa=1&ei=wqIKWuD7GcGb6ATJ75CADA&q=casein+protein+chemical+structure&oq=casein+protein+&gs_l=psy-ab.1.4.0i19k1I10.16049.16049.0.23130.1.1.0.0.0.161.161.0j1.1.0...0...1.1.64.psy-ab..0.1.159...0.0CzF4TbCADk#imgsrc=pk6bPBVLd2BeWM: εικόνα 10

38. https://www.google.gr/search?client=firefox-b&dcr=0&biw=1152&bih=731&tbm=isch&sa=1&ei=wqIKWuD7GcGb6ATJ75CADA&q=casein+protein+chemical+structure&oq=casein+protein+&gs_l=psy-ab.1.4.0i19k1I10.16049.16049.0.23130.1.1.0.0.0.161.161.0j1.1.0...0...1.1.64.psy-ab..0.1.159...0.0CzF4TbCADk#imgrc=nMQ-Wd9JnZThQM: εικόνα 11
39. https://www.google.gr/search?client=firefox-b&dcr=0&biw=1152&bih=731&tbm=isch&sa=1&ei=wqIKWuD7GcGb6ATJ75CADA&q=casein+protein+chemical+structure&oq=casein+protein+&gs_l=psy-ab.1.4.0i19k1I10.16049.16049.0.23130.1.1.0.0.0.161.161.0j1.1.0...0...1.1.64.psy-ab..0.1.159...0.0CzF4TbCADk#imgrc=eWJ7N7JRjEM9RM: β
καζομορφίνη 7
40. https://www.google.gr/search?client=firefox-b&dcr=0&biw=1152&bih=731&tbm=isch&sa=1&ei=wqIKWuD7GcGb6ATJ75CADA&q=casein+protein+chemical+structure&oq=casein+protein+&gs_l=psy-ab.1.4.0i19k1I10.16049.16049.0.23130.1.1.0.0.0.161.161.0j1.1.0...0...1.1.64.psy-ab..0.1.159...0.0CzF4TbCADk#imgrc=-6a6I3KPL5IdLM: τύπος καζείνης
41. https://www.google.gr/search?q=%CE%BD%CE%B5%CF%85%CF%81%CE%BF%CE%B3%CE%BB%CE%BF%CE%B9%CE%B1%CE%BA%CE%B1+%CE%BA%CF%85%CF%84%CF%84%CE%B1%CF%81%CE%B1&client=firefox-b&dcr=0&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwiWgd3JmMDXAhXkQpoKHQnjAWAQ_AUICigB&biw=1152&bih=731#imgrc=Qf5HjnSjM0HouM:
εικόνα 2
42. <https://neurologos.gr/alzheimer-symptomata-stadia-aitia-therapeia/> Α.Π.
Μούστρης MD, MSc νευρολόγος νόσος Αλτσχάιμερ
43. https://www.google.gr/search?q=%CE%95%CE%9D%CE%91%CE%A0%CE%9F%CE%98%CE%95%CE%A3%CE%97+%CE%91%CE%B2+%CE%91%CE%9C%CE%A5%CE%9B%CE%9F%CE%95%CE%99%CE%94%CE%9F%CE%A5%CE%A3+%CE%A0%CE%95%CE%A0%CE%A4%CE%99%CE%94%CE%99%CE%9F%CE%A5+%CE%9A%CE%91%CE%99+%CE%A0%CE%A1%CE%A9%CE%A4%CE%95%CE%AA%CE%9D%CE%97+Tau:&client=firefox-b&dcr=0&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjR7qqwrsbXAhXkDpoKHeE-AYoQ_AUICygC&biw=1152&bih=731#imgrc=UF_jvLTq8XH3eM: εικόνα
πλάκες αμυλοειδούς
44. https://www.google.gr/search?q=%CE%95%CE%9D%CE%91%CE%A0%CE%9F%CE%98%CE%95%CE%A3%CE%97+%CE%91%CE%B2+%CE%91%CE%9C%CE%A5%CE%9B%CE%9F%CE%95%CE%99%CE%94%CE%9F%CE%A5%CE%A3+%CE%A0%CE%95%CE%A0%CE%A4%CE%99%CE%94%CE%99%CE%9F%CE%A5+%CE%9A%CE%91%CE%99+%CE%A0%CE%A1%CE%A9%CE%A4%CE%95%CE%AA%CE%9D%CE%97+Tau:&client=firefox-b&dcr=0&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjR7qqwrsbXAhXkDpoKHeE-AYoQ_AUICygC&biw=1152&bih=731#imgrc=nBDPwptJ_2s28M: εικόνα
νευροϊνδιακοί σωροί
45. http://www.physics.csbsju.edu/stats/t-test_bulk_form.html student's t-test

46. Γερμενής Α. Παθολόγος-Ανοσολόγος, Αναπληρωτής Διευθυντής Ανοσολογικό Τμήμα και Εθνικό Κέντρο Ιστοσυμβατότητας ΠΓΝΑ «Γ. Γεννηματάς», Επιστημονικός Συνεργάτης Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, «ΙΑΤΡΙΚΗ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑ» ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΠΑΠΑΖΗΣΗ, 2000
47. Houghton Mifflin Company. Immunoglobulin M. The American Heritage Dictionary of the English Language, Fourth Edition. Accessed on 12 Oct. 2007
48. Ελληνική Ομοσπονδία για τον Διαβήτη: Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου 1
49. Diabetes Research Institute Foundation; What is Type 1 Diabetes? <https://www.diabetesresearch.org/what-is-type-one-diabetes>
50. Hassan R, Remaley AT, Sampson ML, et al. Detection and quantitation of serum mesothelin, a Tumor marker for patients with mesothelioma and ovarian cancer. *Clinical Cancer Research*. 2006;12(2):447–453. [[PubMed](#)]
51. Scholler N, Crawford M, Sato A, et al. Bead-based ELISA for validation of ovarian cancer early detection markers. *Clinical Cancer Research*. 2006;12(7):2117–2124. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)]
52. McIntosh MW, Drescher C, Karlan B, et al. Combining CA 125 and SMR serum markers for diagnosis and early detection of ovarian carcinoma. *Gynecologic Oncology*. 2004;95(1):9–15. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)]
53. Denhardt DT, Noda M. Osteopontin expression and function: role in bone remodeling. *Journal of cellular biochemistry. Supplement*. 1998;30-31:92–102. [[PubMed](#)]
54. Vaidya AP, Parnes AD, Seiden MV. Rationale and clinical experience with epidermal growth factor receptor inhibitors in gynecologic malignancies. *Curr Treat Options Oncol*. 2005;6:103–114. [[PubMed](#)]
55. Maurizi M, Almadori G, Ferrandina G, et al. Prognostic significance of epidermal growth factor receptor in laryngeal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer*. 1996;74:1253–1257. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)]
56. Fischer-Colbrie J, Witt A, Heinzl H, et al. EGFR and steroid receptors in ovarian carcinoma: comparison with prognostic parameters and outcome of patients. *Anticancer Res*. 1997;17:613–619. [[PubMed](#)]
57. Kersemaekers AM, Fleuren GJ, Kenter GG, et al. Oncogene alterations in carcinomas of the uterine cervix: overexpression of the epidermal growth factor receptor is associated with poor prognosis. *Clin Cancer Res*. 1999;5:577–586. [[PubMed](#)]
58. Mellon K, Wright C, Kelly P, Horne CH, Neal DE. Long-term outcome related to epidermal growth factor receptor status in bladder cancer. *J Urol*. 1995;153:919–925. [[PubMed](#)]
59. Nicholson RI, Gee JM, Harper ME. EGFR and cancer prognosis. *Eur J Cancer*. 2001;37(Suppl 4):S9–S15. [[PubMed](#)]
60. Maihle NJ, Baron AT, Barrette BA, et al. EGF/ErbB receptor family in ovarian cancer. *Cancer Treat Res*. 2002;107:247–258. [[PubMed](#)]
61. Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Αθήνας, 2014. Σταμάτης Μπογιατζής. «Εργαστήριο Επιστήμης Υλικών II. Ενότητα 8: Απομόνωση της καζεΐνης από το γάλα και ιδιότητές της». Έκδοση: 1.0. Αθήνα 2014. Διαθέσιμο από τη δικτυακή διεύθυνση: ocp.teiath.gr.

62. Mohd Younus Bhat, Tanveer Ali Dar and Laishram Rajendrakumar Singh «Casein Proteins: Structural and Functional Aspects» DOI: 10.5772/64187
63. [Pich A](#), [Bussolati G](#), [Carbonara A](#). Immunocytochemical detection of casein and casein-like proteins in human tissues] [HistochemCytochem](#). 1976 Aug;24(8):940-7.
64. [Poulsen NA](#), [Bertelsen HP](#), [Jensen HB](#), [Gustavsson F](#), [Glantz M](#), [Månsson HL](#), [Andrén A](#), [Paulsson M](#), [Bendixen C](#), [Buitenhuis AJ](#), [Larsen LB](#). The occurrence of noncoagulating milk and the association of bovine milk coagulation properties with genetic variants of the caseins in 3 Scandinavian dairy breeds. [J Dairy Sci](#). 2013 Aug;96(8):4830-42. doi: 10.3168/jds.2012-6422. Epub 2013 Jun 5.
65. Χρήστος Ζαβός, Γαστρεντερολόγος, «Ποια πρωτεΐνη του αγελαδινού γάλακτος ευθύνεται για γαστρεντερικές διαταραχές;» Πρώτη καταχώρηση: Τετάρτη, 3 Σεπτεμβρίου 2014, 15:58 <http://peptiko.gr>
66. Stanisław Kamiński, Anna Cieślińska, Elżbieta Kostyra Polymorphism of bovine beta-casein and its potential effect on human health September 2007, Volume 48, [Issue 3](#), pp 189–198 Kamiński, S., Cieślińska, A. & Kostyra, E. [J Appl Genet](#) (2007) 48: 189. doi:10.1007/BF03195213
67. Lange, KW; Hauser, J; Reissmann, A (November 2015). "Gluten-free and casein-free diets in the therapy of autism.". [Current opinion in clinical nutrition and metabolic care](#). **18** (6): 572–5. doi:10.1097/mco.0000000000000228. PMID 26418822.
68. Millward C, Ferriter M, Calver S, Connell-Jones G (2008). "[Gluten- and casein-free diets for autistic spectrum disorder](#)". [Cochrane Database Syst Rev](#) (Systematic Review) (2): CD003498. doi:10.1002/14651858.CD003498.pub3. PMC 4164915 PMID 18425890.
69. [A. Pich](#), [M.D.G. Bussolati](#), [M.D.F. DiCarlo](#), [M.D.](#) Production of Casein and the Presence of Estrogen Receptors in Human Breast Cancer [J Natl Cancer Inst](#) (1977) 58 (5): 1483-1484. DOI:<https://doi.org/10.1093/jnci/58.5.1483> Published: 01 May 1977
70. Jiřina Bártková, Joy Burchell, Jiří Bártek, Bořivoj Vojtěšek, Joyce Taylor-Papadimitriou, Aleš Rejthar, Zdenka Stašková, Jan Kovařík «Lack of β-Casein production by human breast tumours revealed by monoclonal antibodies» [European Journal of Cancer](#) **October 1987** Volume 23, Issue 10, Pages 1557–1563 DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0277-5379\(87\)90100-3](http://dx.doi.org/10.1016/0277-5379(87)90100-3)
71. ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΤΗΣ ΔΕΣΠΟΙΝΑ ΜΗΛΑ 2017 «ΤΟ ΓΑΛΑ ΣΤΗ ΖΩΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ ΚΑΙ ΝΟΣΗΛΕΥΤΙΚΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ» Τμήμα Νοσηλευτικής σχολής επαγγελματιών υγείας και πρόνοιας ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΔΥΤΙΚΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ
72. Hansotto Reiber and Peter Lange. [CLIN. CHEM.](#)37/7, 1153-1160(1991) Quantification of Virus-Specific Antibodies in Cerebrospinal Fluid and Serum: Sensitive and Specific Detection of Antibody Synthesis in Brain. [CLINICAL CHEMISTRY](#), Vol.37, No.7, 1991 1153

73. B. Diamond, G. Honig, S. Mader, L. Brimberg, and B.T. Volpe. Brain-Reactive Antibodies and Disease. *Annu Rev Immunol.* 2013 ; 31: 345–385.