

1. Λεμφικά όργανα του αρουραίου

Υλικά και όργανα

Ποντικοί ή αρουραίοι

Ανατομικά ψαλίδια και λαβίδες

Τριβλία Petri

Φυσιολογικός ορός ή ρυθμιστικό διάλυμα αλάτων (PBS)

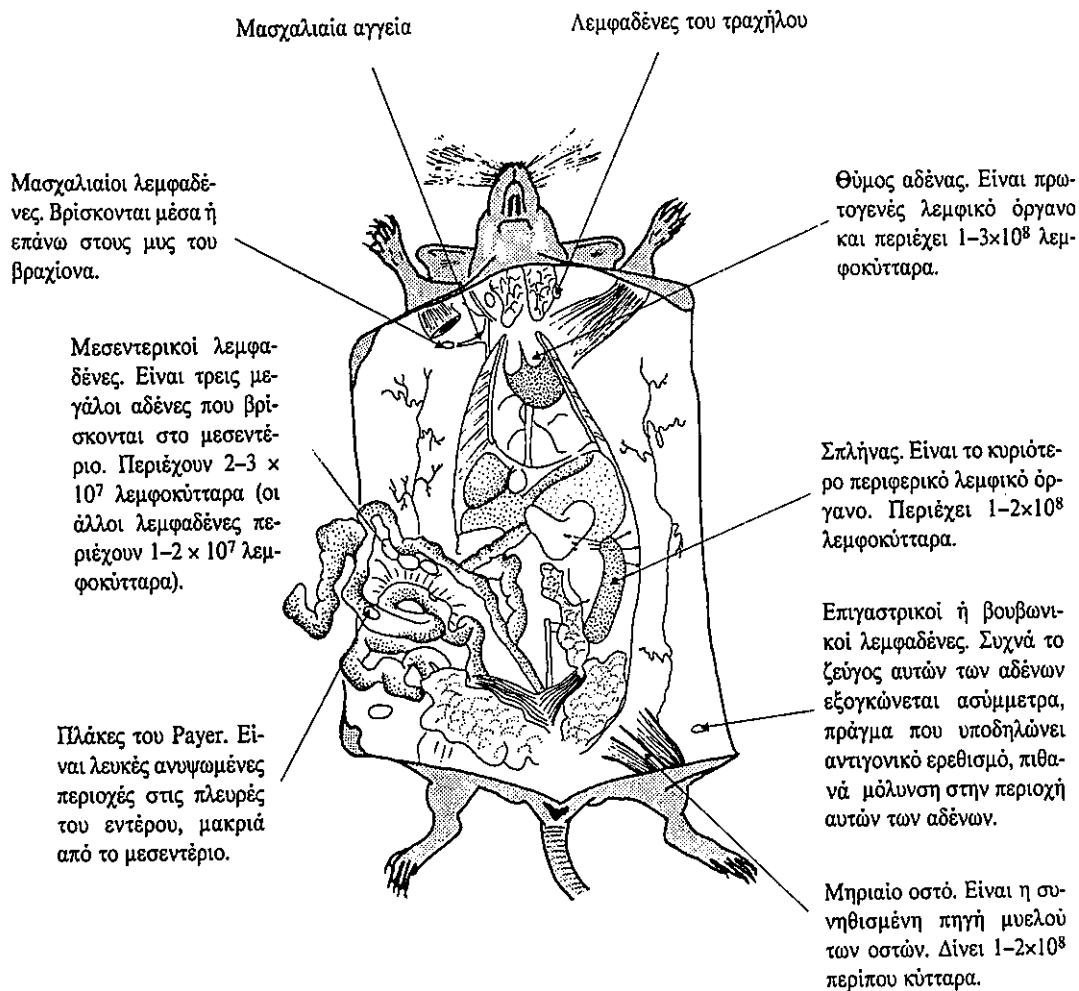
Αλκοόλη 70%

Αιθέρας ή πεντοθάλη

Μέθοδος

1. Θανατώνουμε το ζώο (με κάταγμα ή εξάρθρωση του τραχήλου) ή το αναισθητοποιούμε με αιθέρα ή με ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση πεντοθάλης ή νεμπουτάλης (0,2 ml διαλύματος 0,1 g πεντοθάλης σε 0,5 ml φυσιολογικό ορό).
2. Τοποθετούμε το ζώο ύπτια. Καθαρίζουμε με αλκοόλη την κοιλιακή περιοχή και ανοίγουμε με ψαλίδη όπως φαίνεται στο σχήμα 1.1. Παρατηρούμε τα λεμφικά όργανα πρώτα της κοιλιακής κοιλότητας και ύστερα της πνευμονικής.
3. Ο θύμος αδένας (κεντρικό λεμφικό όργανο) είναι μαλακός δίλοβος ιστός πάνω από την καρδιά. Παίρνουμε τον σπλήνα, τους βουβωνικούς λεμφαδένες (περιφερικά, λεμφικά όργανα) και το θύμο· τοποθετούμε τα όργανα αυτά σε τριβλία Petri, που περιέχουν PBS πάνω σε πάγο.
4. Παρατηρούμε τις πλάκες του Payer και τους μεσεντέριους λεμφαδένες.
5. Παρατηρούμε τα όργανα που περιέχουν κύτταρα (φαγοκύτταρα) του δικτυοενδοθυλιακού συστήματος (ΔΕΣ) όπως το ήπαρ (κύτταρα Küpfer) και τους πνεύμονες (κυψελιδικά μακροφάγα).

Τα κύρια λεμφικά όργανα του αρουραίου ή ποντικού απεικονίζονται στο σχήμα 1.1. Μικρά λεμφοκύτταρα κυκλοφορούν συνεχώς από το αίμα προς τα περιφερικά λεμφικά όργανα π.χ. σπλήνα, τους λεμφαδένες κ.ά. Στα περιφερικά λεμφικά όργανα τα λεμφοκύτταρα καταφθάνουν και από άλλους ιστούς με τη βοήθεια της λέμφου και τελικά επιστρέφουν στο αίμα με τη βοήθεια των λεμφικών αγγείων π.χ. θωρακικό πόρο. Πρέπει να θυμούμαστε ότι η ανοσοβιολογική απόκριση περιλαμβάνει μεγάλες αλλαγές στη κυκλο-



Σχ. 1.1. Τα κυριότερα λεμφικά όργανα του αρουραίου. Ένα από τα κύρια λεμφικά όργανα που δεν φαίνεται στο σχήμα είναι το αίμα.

φορία των αντιγονοδραστικών λεμφοκυττάρων όταν τα ειδικά μικρά λεμφοκύτταρα ερεθιστούν από αντιγόνο, θα αφήσουν την ανακυκλοφορία τους και θα μαζευτούν στο μέρος της μεγαλύτερης συγκέντρωσης του αντιγόνου.

Έχουν πιστοποιηθεί διάφοροι υποπληθυσμοί τόσο στα Τ όσο και στα Β-λεμφοκύτταρα. Οι διάφοροι υποπληθυσμοί διαφέρουν μεταξύ τους στη λειτουργία τους και στα κυτταροεπιφανειακά τους αντιγόνα. Στο μικροσκόπιο τα Τ και Β λεμφοκύτταρα δεν ξεχωρίζουν.

1.1. Σύνθεση αίματος

Το αίμα αποτελείται από υγρό που περιέχει τα λευκοκύτταρα, τα ερυθροκύτταρα και τα αιμοπετάλια. Το υγρό είναι υδατικό διάλυμα αλάτων, υδατανθράκων και πρωτεϊνών. Η ολική ποσότητα του αίματος στο σώμα ενός ζώου αποτελεί συνήθως το 1/12 του βάρους του. Ο μέσος άνθρωπος έχει 6-7 κιλά αίμα (αουραίος 100 g έχει περίπου 6,3 ml αίματος). Τα κύτταρα αποτελούν κάτι λιγότερο από το 50% του όγκου του αίματος.

Αν από το αίμα αφαιρεθούν τα κύτταρα παραμένει το πλάσμα. Αν από το πλάσμα αφαιρεθεί η ινική παραμένει ο ορός. Το αίμα μόλις το πάρουμε από κάποιο ζώο θα πήξει μέσα σε μερικά λεπτά. Ο σχηματισμός του θρόμβου είναι σύνθετη διεργασία κατά την οποία μία πρωτεΐνη το ινωδογόνο, μετατρέπεται με τη δράση πολλών ενζύμων και Ca^{++} σε αδιάλυτη ινική. Τα περισσότερα κύτταρα του αίματος παγιδεύονται στο θρόμβο της ινικής, ο οποίος ζαρώνει μετά από μερικές ώρες σε χαμηλή θερμοκρασία και ελευθερώνει τον ορό που είναι διαφανές κιτρινωπό υγρό. Ο σχηματισμός θρόμβου εμποδίζεται αν το αίμα αναμιχθεί με κιτρικό νάτριο, οξαλικό κάλλιο, ηπαρίνη ή άλλες χημικές ουσίες. Τα δύο πρώτα αντιπηκτικά εμποδίζουν το σχηματισμό θρόμβου γιατί αντιδρούν με τα ιόντα Ca^{++} και σχηματίζουν αδιάλυτα άλατα· επίσης η ηπαρίνη που είναιθειικός πολυσακχαρίτης εμποδίζει το σχηματισμό θρομβίνης. Όταν το αίμα που περιέχει αντιπηκτικό φυγοκεντρηθεί, τα κύτταρα κάθονται και αφήνουν διαυγές υπερκείμενο, το πλάσμα, το οποίο περιέχει ακόμα το ινωδογόνο.

1.1.1. Οροπρωτεΐνες

Οι πρωτεΐνες του ορού αποτελούν το 6-7% του βάρους του ορού. Ο ορός φυσιολογικού ατόμου περιέχει αρκετές πρωτεΐνες που διακρίνονται από τις ηλεκτροφορητικές τους ιδιότητες, το μοριακό τους βάρος και τη διαλυτότητά τους στο νερό, σε διάφορους ηλεκτρολύτες και στην αλκοόλη. Όταν ο ορός ηλεκτροφορηθεί ξεχωρίζουν αρκετά κλάσματα που εξαρτώνται από την ταχύτητα και κατεύθυνση της μετακίνησής τους. Εάν το διάλυμα παραμείνει σε pH 8,5, οι λευκωματίνες (αλβουμίνες) μεταναστεύουν

πιο γρήγορα προς το θετικό ηλεκτρόδιο γιατί έχουν πιο ισχυρό αρνητικό ηλεκτρικό φορτίο. Μετά από αυτές έρχονται οι σφαιρίνες με τη σειρά: άλφα, βήτα και γάμμα. Οι σφαιρίνες αποτελούν το 50% των πρωτεϊνών του ορού. Οι γ-σφαιρίνες με μ.β. 150-160.000 είναι οι περισσότερες στον άνθρωπο, πίθηκο και κουνέλι. Το μ.β. της ορο-αλβουμίνης είναι 69.000. Εξαιλάτωση του ορού με θειϊκό αμμώνιο καθιζάνει τις σφαιρίνες ενώ οι αλβουμίνες παραμένουν στο διάλυμα. Οι φυσιολογικές σφαιρίνες βοηθούν στη διατήρηση της ωσμωτικής πίεσης του αίματος και των ιστών και παίρνουν μέρος στη διατροφή των κυττάρων (κατασκευή του πρωτοπλάσματος).

1.1.2. Κύτταρα αίματος

Το αίμα φυσιολογικού ατόμου περιέχει μεταξύ 4.500.000 και 5.500.000 ερυθροκύτταρα σε κάθε κυβικό χιλιοστόμετρο. Τα κύτταρα αυτά έχουν διάμετρο 7,5 μm και πάχος 2 μm. Σχηματίζονται στο μυελό των οστών και έχουν μέσο όρο ζωής 100-120 ημέρες.

Ο ολικός αριθμός των λευκοκυττάρων του αίματος του ανθρώπου είναι μεταξύ $5-8 \times 10^6/\text{ml}$. Στα ποντίκια ο ολικός αριθμός λευκοκυττάρων κειμενεται μεταξύ $4-12 \times 10^6/\text{ml}$ ενώ τα λεμφοκύτταρα από $3-10 \times 10^6/\text{ml}$. Τα λευκοκύτταρα είναι διαφόρων ειδών και ταξινομούνται ανάλογα με το μέγεθός τους (7μ-22μ), την παρουσία και τύπο κοκκίων, σχήμα του πυρήνα και χαρακτηριστήρα του κυτταροπλάσματος. Τα ποσοστά τους στο αίμα είναι αρκετά σταθερά: Α: στον άνθρωπο, Β: στο ποντίκι.

	A	B
Πολυμορφοσπύρηνα ουδετερόφιλα	50-70%	25%
Βασεόφιλα	0,5-1%	< 0,1%
Ηωζινόφιλα	1-5%	2%
Λεμφοκύτταρα	20-30%	65%
Μονοκύτταρα	2-6%	8%

Τα κύτταρα αυτά, συμπεριλαμβανομένων και των ερυθροκυττάρων, προέρχονται από τα στελεχιαία ή βλαστικά κύτταρα στο μυελό των οστών.

1.2. Μορφολογία κυττάρων λεμφικών οργάνων και αίματος

Η μορφολογική εξέταση κυττάρων από τον θύμο (κεντρικό λεμφικό όργανο) και σπλήνα ή αίμα (πολύ σημαντικά περιφερικά λεμφικά όργανα) ποντικού ή αρουραίου, θα γίνει με χρώση τους.