

# Βασικές αρχές ανοσοϊστοχημείας και ανοσοκυτταροχημείας

Δήμητρα Ψάλλα

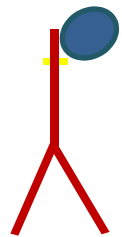
# Ανοσοϊστοχημεία - Ανοσοκυτταροχημεία

- Διάγνωση
- Πρόγνωση
- Απόφαση θεραπευτικών χειρισμών

# Ανοσοϊστοχημεία - Ανοσοκυτταροχημεία

- Ικανοποιητική ευαισθησία- ειδικότητα
- Δυνατότητα εφαρμογής σε αρχειακό υλικό
- Δυνατότητα επαναληψιμότητας
- Εφαρμογή και σε αυτολυμένους - νεκρωμένους - αφαλατωμένους ιστούς

# Ανοσοϊστοχημεία - Ανοσοκυτταροχημεία



Σημασμένο ειδικό  
Αντίσωμα



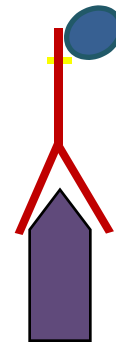
Ειδικό Αντιγόνο-  
στόχος



Χημική  
αντίδραση

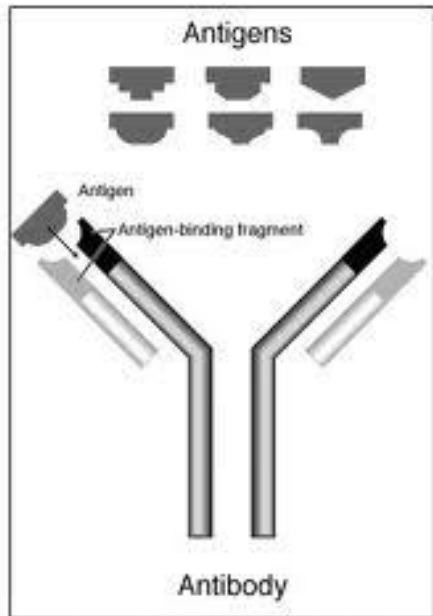


Ορατό σύμπλεγμα  
αντιγόνου-  
αντισώματος

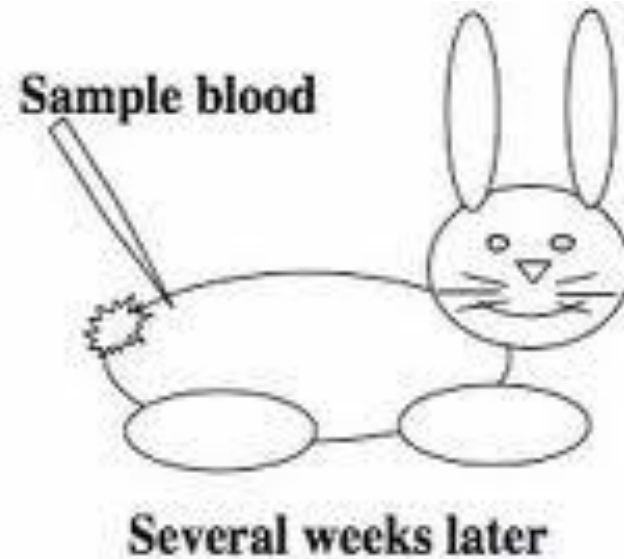


*Σε: ιστούς  
κύτταρα*

*Κοινό, φθορίζον,  
ηλεκτρονικό μικροσκόπιο*

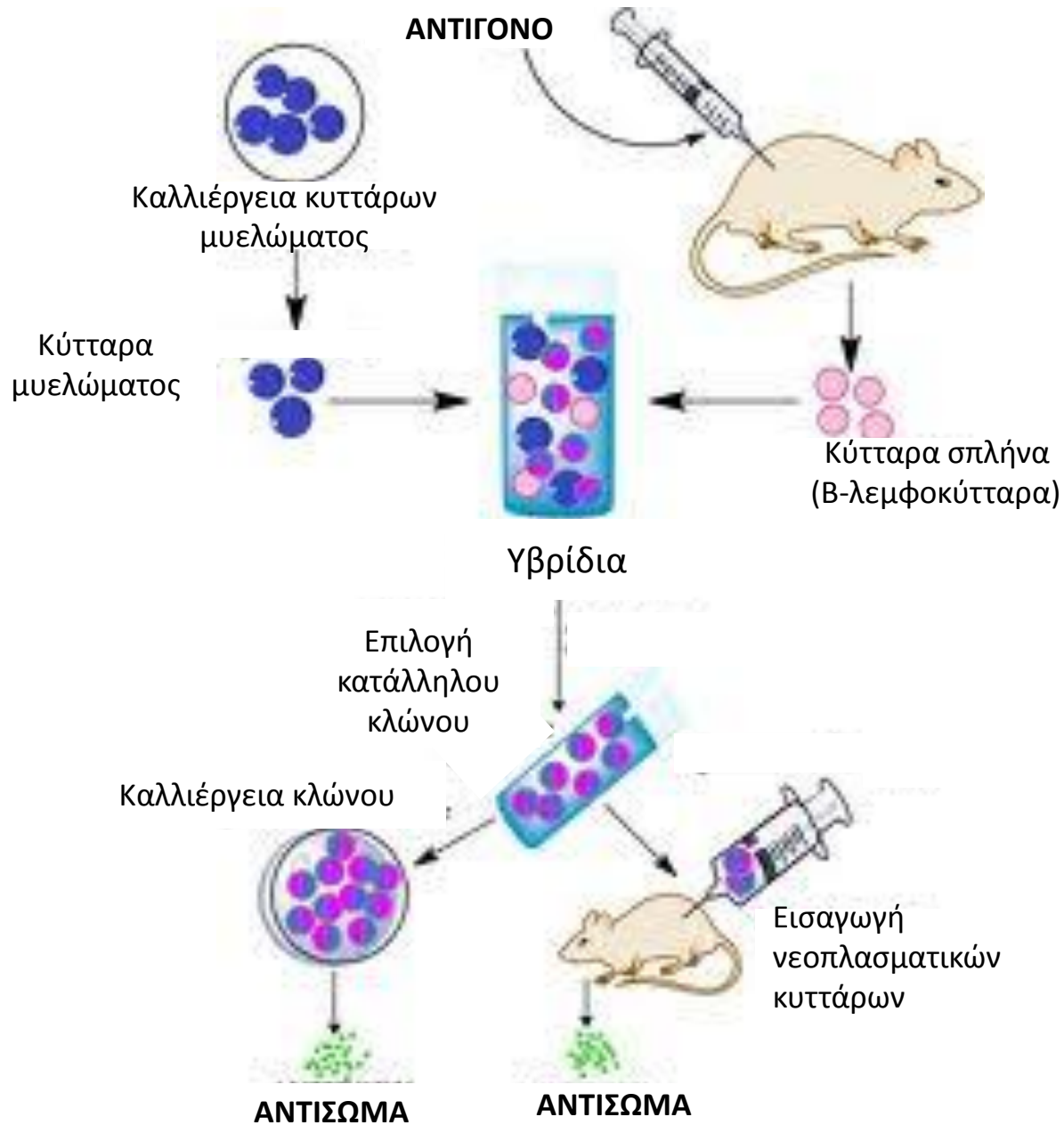


# Παραγωγή αντισωμάτων



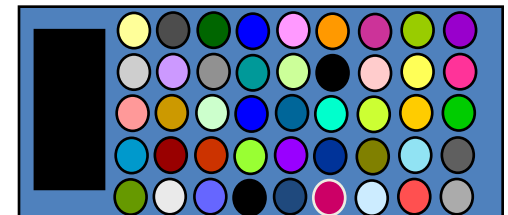
Έκθεση σε αντιγόνο

Παραγωγή αντισωμάτων



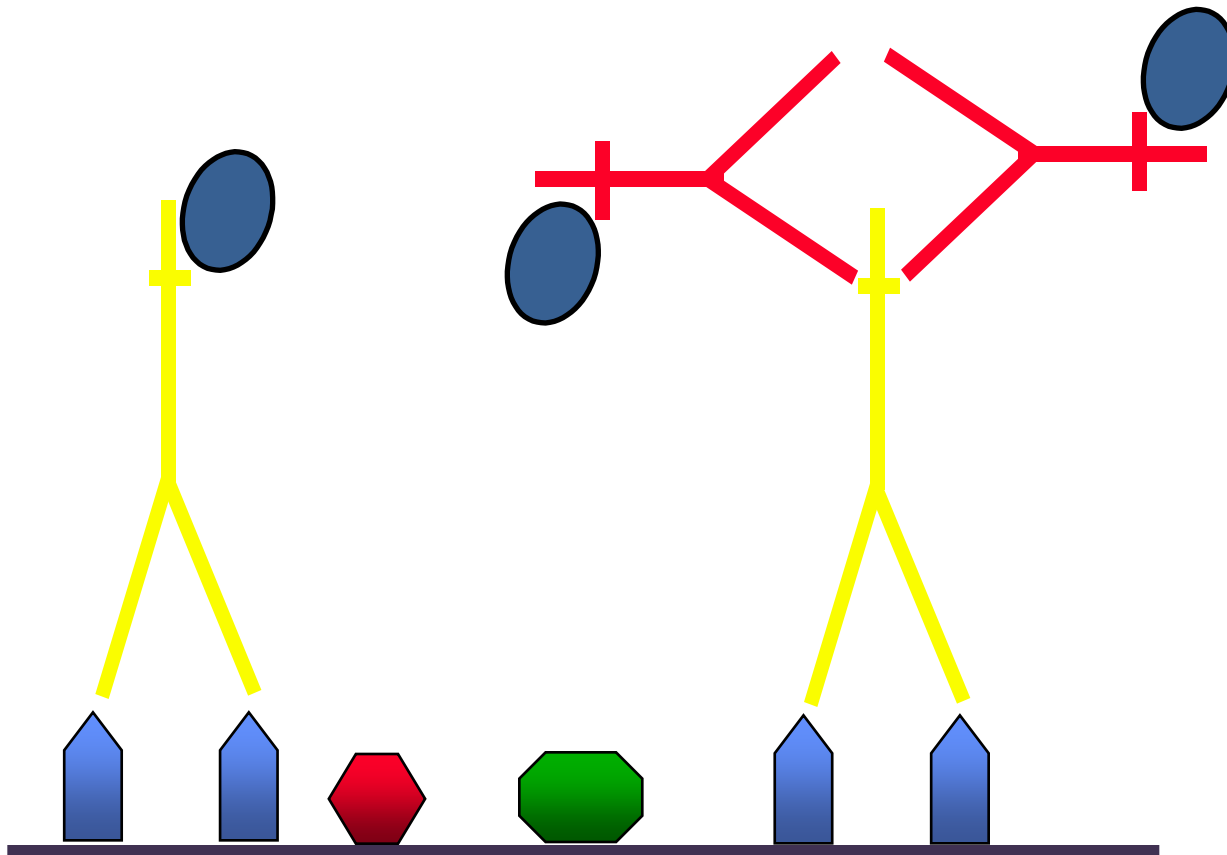
# Μέθοδοι







- Άμεση
- Έμμεση
- Ανοσοσύμπλεγμα υπεροξειδάσης-αντιυπεροξειδάσης (PAP-method)
- Ανοσοενζυμική τεχνική αβιδίνης-βιοτίνης (ABC)
- Τεχνική της επισημασμένης στρεπταβιδίνης-βιοτίνης (LSAB)
- Συζευγμένη πολυμερής αλυσίδα (Envision)
- **Tissue microarrays**
- **Kits**



# Άμεση μέθοδος

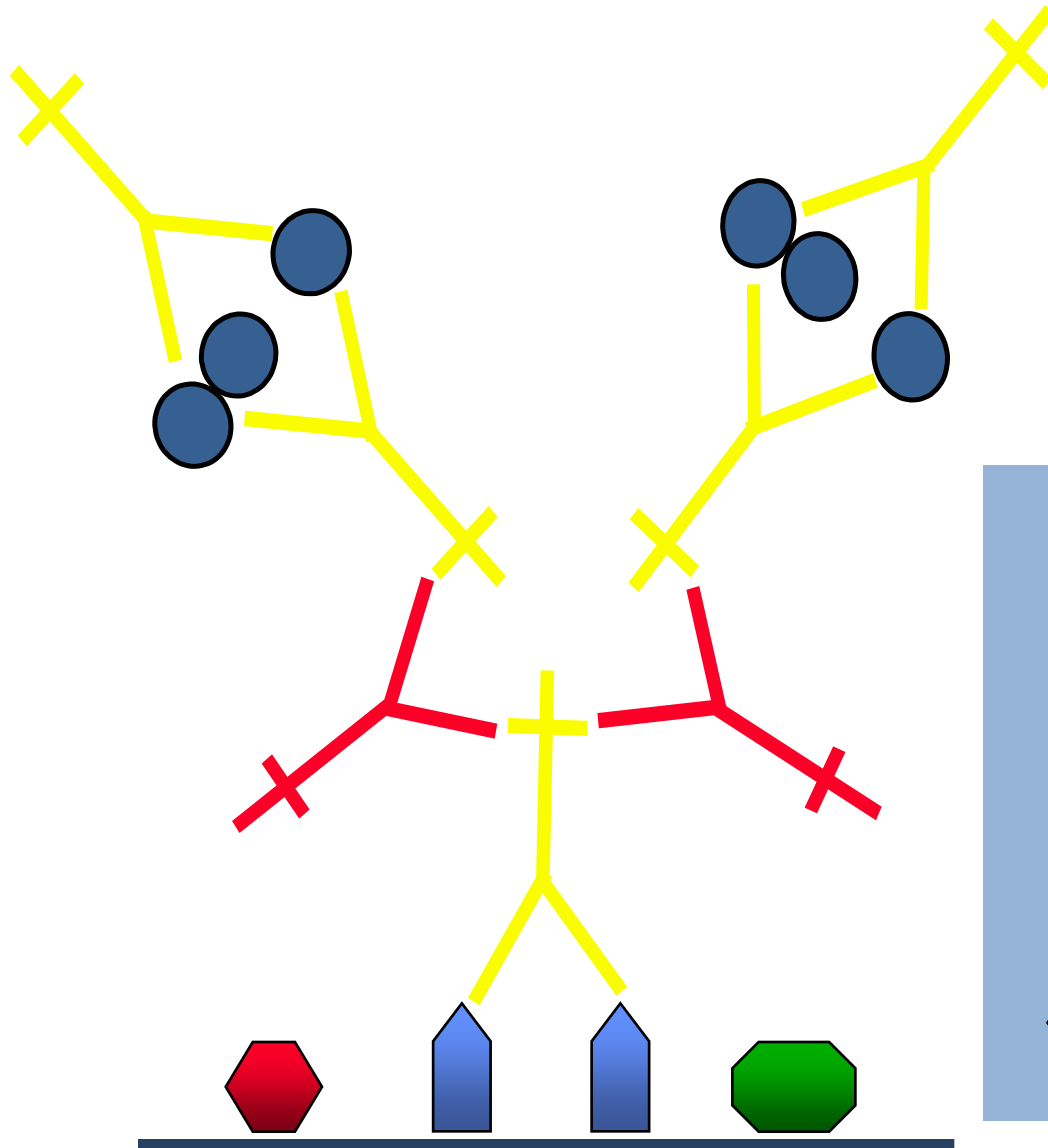
# Έμμεση μέθοδος



-  Μη σημασμένο Αντίσωμα
-  Σημασμένο  $\alpha$  Αντίσωμα
-  Σημασμένο  $\beta$  Αντίσωμα
-    Αντιγόνα



# Υπεροξειδάσης-Αντιυπεροξειδάσης PAP



PAP σύμπλεγμα

Αντίσωμα «γέφυρα»

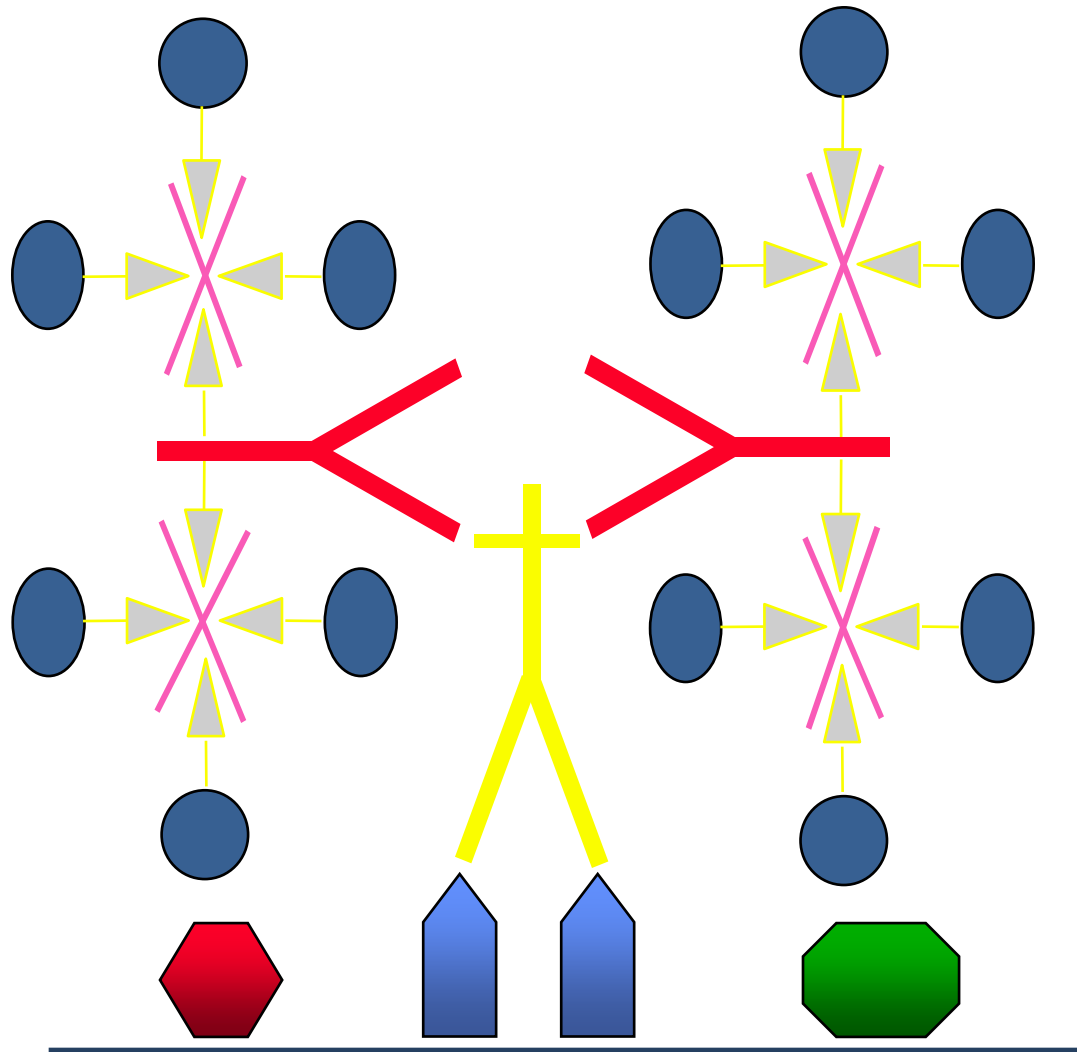


ά Αντίσωμα



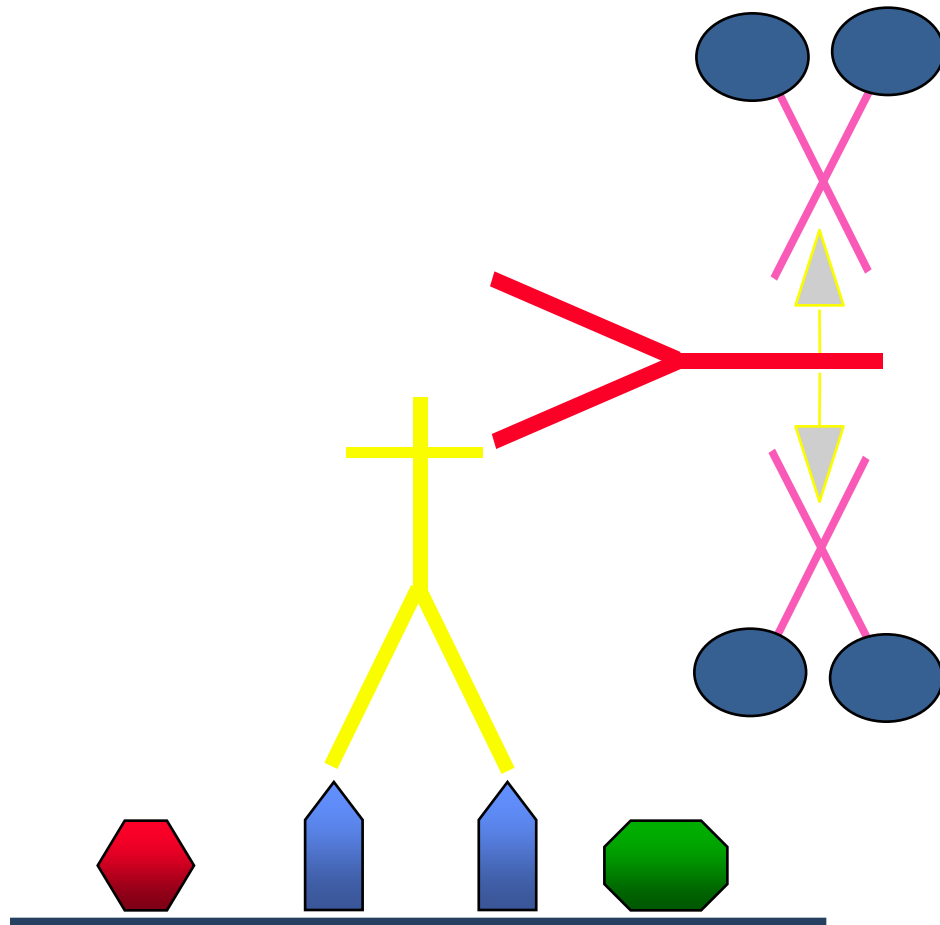
Αντιγόνα

# Σύμπλεγμα Αβιδίνης-Βιοτίνης (ABC)



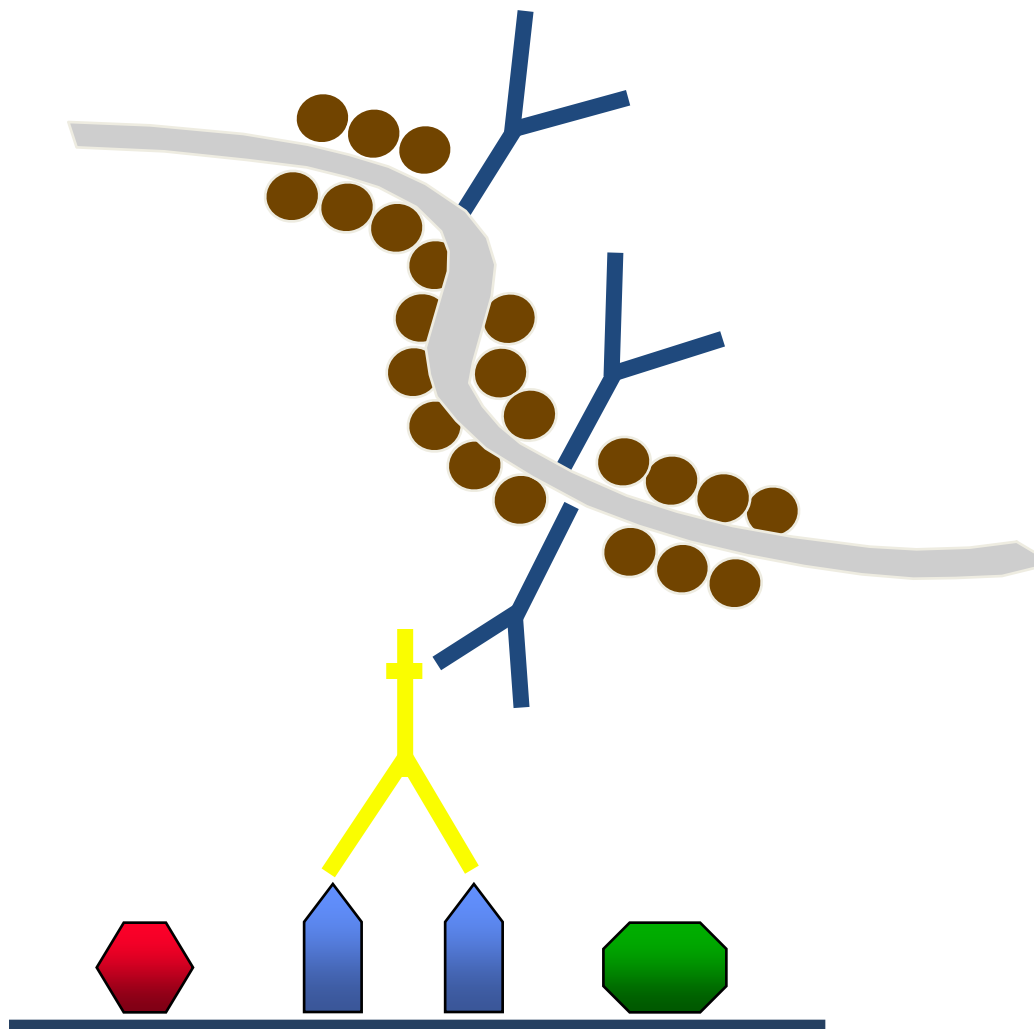
-  Αβιδίνη
-  Βιοτίνη - Υπεροξειδάση
-  Αντίσωμα ενωμένο με βιοτίνη
-  ά Αντίσωμα
-  Αντιγόνα

# Επισημασμένη Στρεπταβιδίνη-Βιοτίνη (LSAB)



-  Στρεπταβιδίνη – Υπεροξειδάση
-  Αντίσωμα ενωμένο με βιοτίνη
-  ά Αντίσωμα
-  Αντιγόνα

# Συζευγμένη πολυμερής αλυσίδα (EnVision+/PO)



Dextran  
Ig-PO  
Complex

ά Αντίσωμα

Αντιγόνα

The legend defines the components: a grey polymer chain with brown beads represents the Dextran Ig-PO Complex; a yellow Y-shape represents the antibody (ά Αντίσωμα); and various colored shapes (blue, green, red) represent antigens (Αντιγόνα).

# Αντισώματα

## Μονοκλωνικά-πολυκλωνικά

Antibody affinity

Cross reactivity

Stability

Antibody reaction rate

Χειρισμοί

Τίτλος

Διάλυση

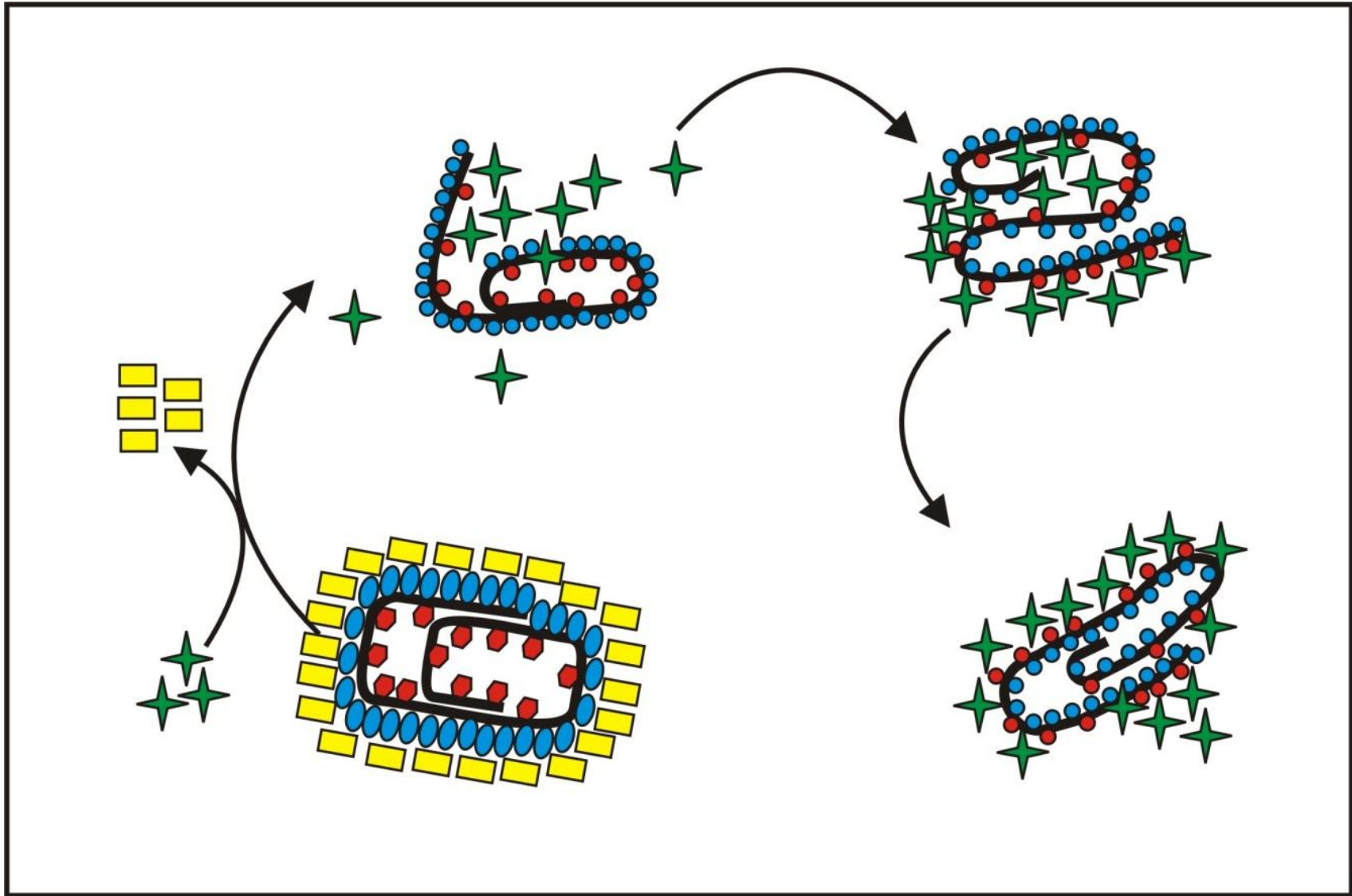
Επώαση

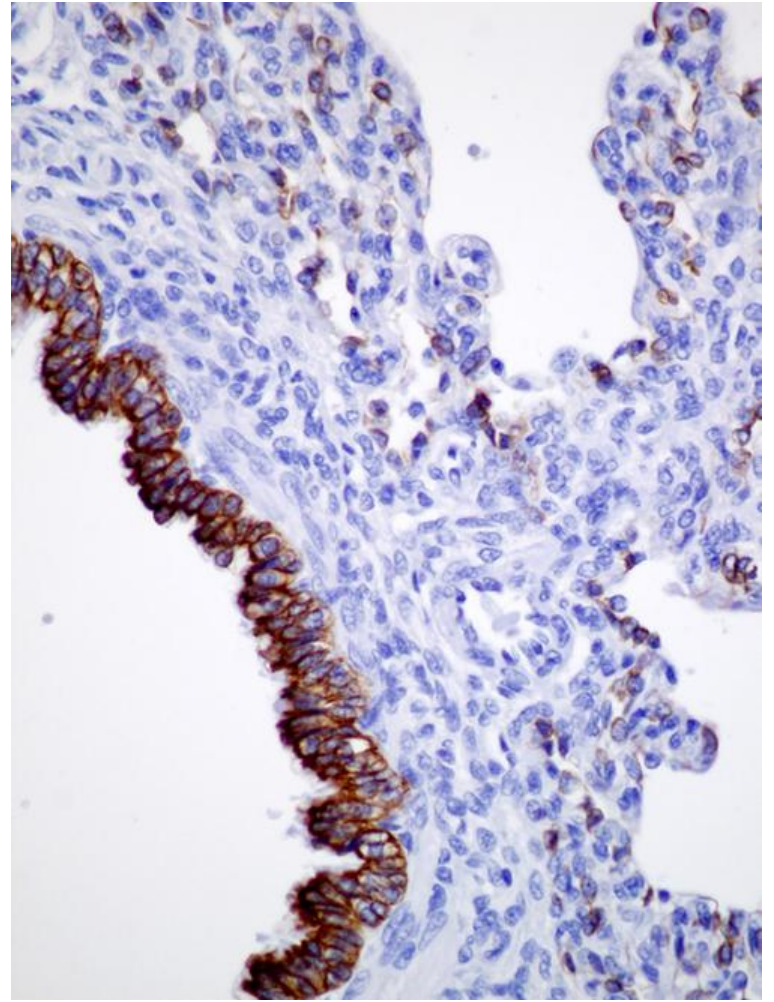
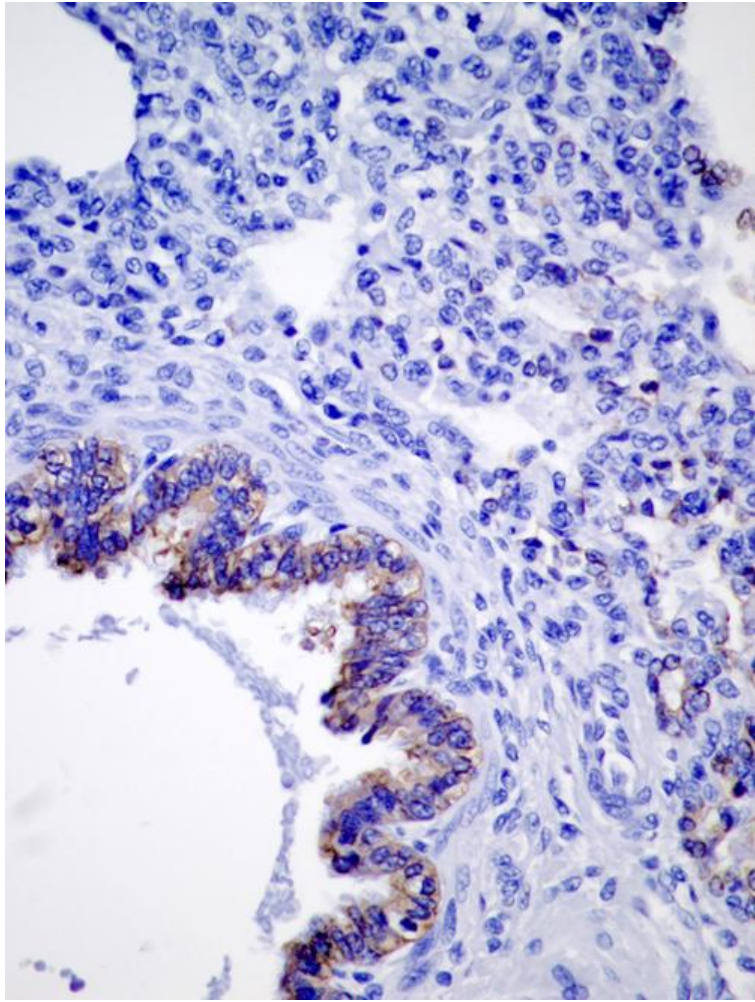
# Αποκάλυψη-ανάκτηση επιτόπων

## Επίτοπος-στόχος

- Κυτταρόπλασμα
- Πυρήνα
- Κυτταρική μεμβράνη

- Πέψη του ιστού με πρωτεολυτικά ένζυμα
- Επεξεργασία με μικροκύματα
- Έκθεση σε υψηλή θερμοκρασία και πίεση







# Background

- Υδρόφοβοι δεσμοί
- Ηλεκτροστατικές δυνάμεις
- Δραστηριότητα ενδογενών ενζύμων
- Διάχυση του αντιγόνου
- Διασταυρούμενες αντιδράσεις

# Μάρτυρες

Απαραίτητοι για τη σωστή αξιολόγηση των αποτελεσμάτων

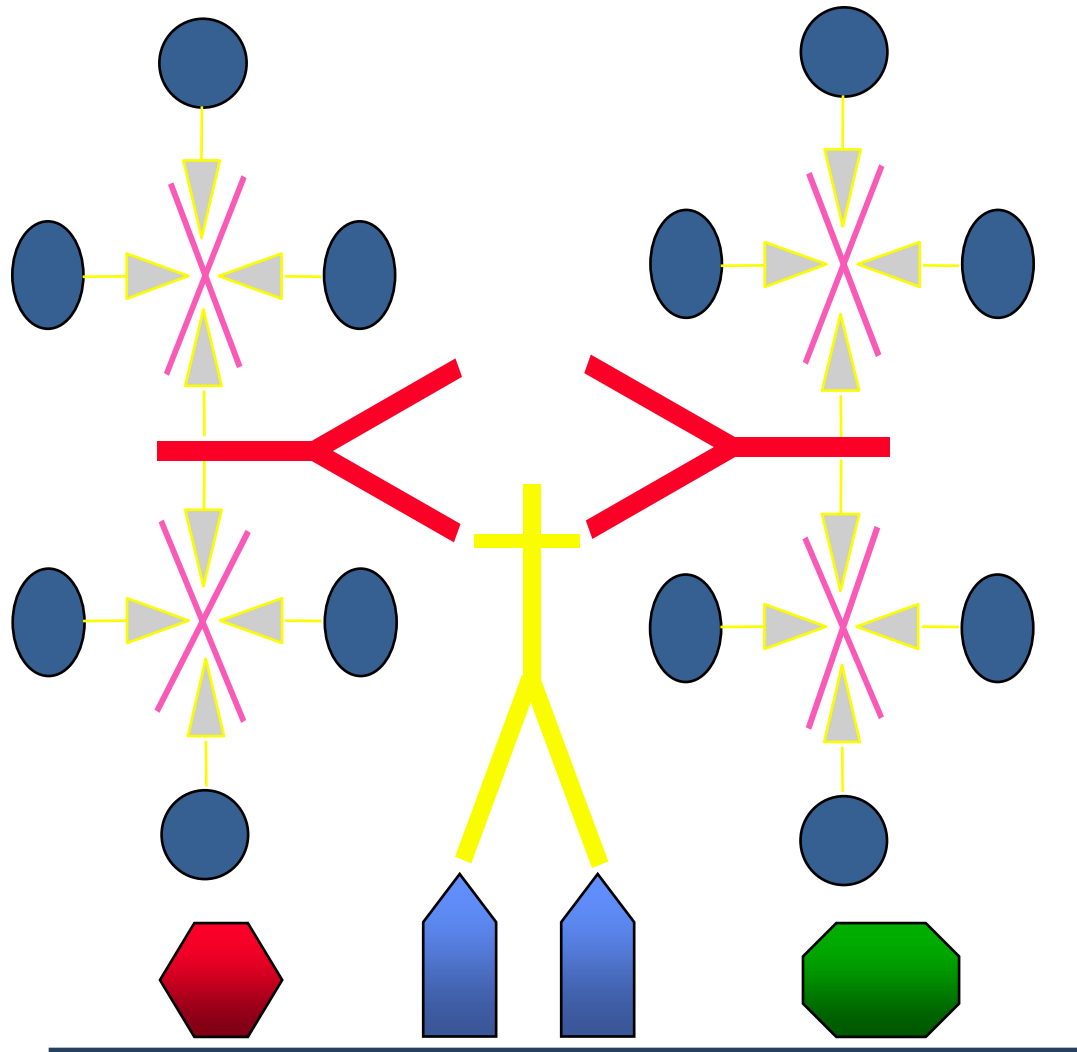
- Ιστός θετικός για το αντιγόνο στόχος
- Ιστός αρνητικός για το αντιγόνο στόχος
- Ιστός θετικός για το αντιγόνο στόχος – παράλειψη επεξεργασίας με το πρωτογενές αντίσωμα

# Ένζυμα-Χρωμογόνα

Μετατροπή άχρωμης ουσίας επισήμανσης  
(χρωμογόνο) σε ορατή

Peroxidase	3', Diaminobenzidine (DAB) 3', Amino-9-ethylcarbazole (AEC)
Phosphatase	New Fuchsin
Glucose oxidase	Tetranitro blue tetrazolium

# Σύμπλεγμα Αβιδίνης-Βιοτίνης (ABC)



-  Αβιδίνη
-  Βιοτίνη - Υπεροξειδάση
-  Αντίσωμα ενωμένο με βιοτίνη
-  Α Αντίσωμα
-  Αντιγόνα

# Διάγνωση

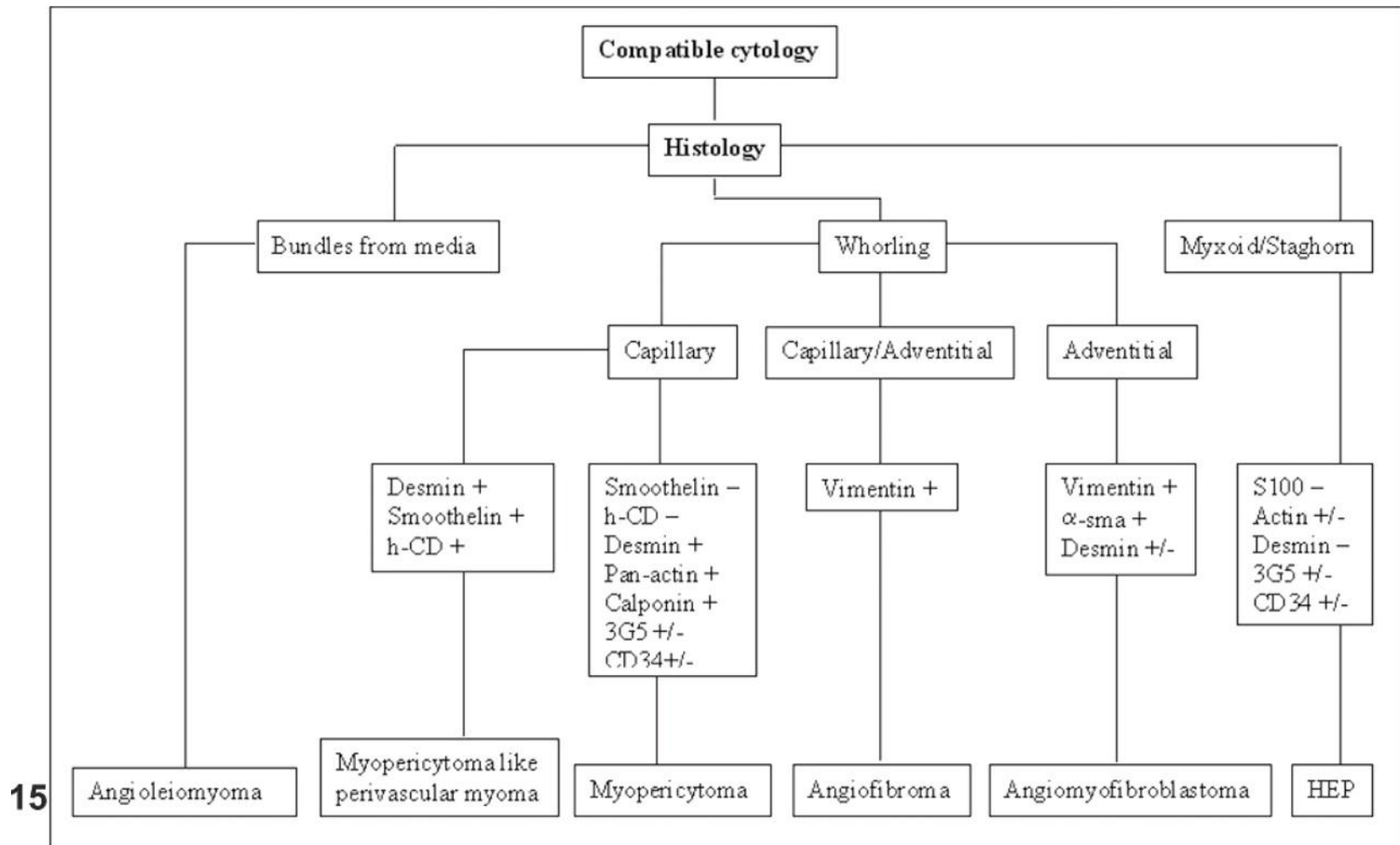
- Λοιμώδεις παράγοντες  
Ιοί, βακτήρια, παράσιτα, μύκητες
- Διάγνωση νεοπλασμάτων  
Χαρακτηριστικά κυττάρων  
Ινίδια, κοκκία, πρωτεΐνες
- Δείκτες κακοήθειας

*Ειδικά για διάγνωση-πρόγνωση νεοπλασμάτων*

*Προεπιλεγμένες ομάδες αντισωμάτων*

*Αλγοριθμική ερμηνεία*

**Fig. 15. Diagnostic algorithm for the differential diagnosis of canine Perivascular Wall Tumor.**



Avallone G et al. *Vet Pathol* 2007;44:607-620

