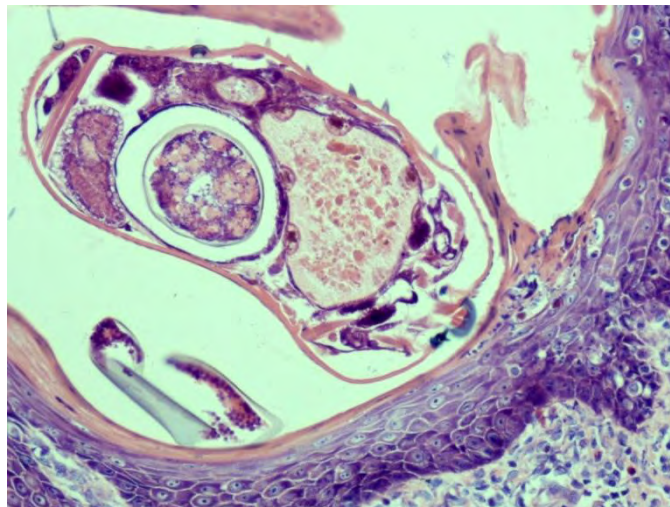




ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ  
ΑΝΑΤΟΜΙΚΗΣ

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**Παθολογοανατομική μελέτη της σαρκοπτικής  
ψώρας στις αίγες**



**ΛΙΑΚΟΥ ΖΩΗ**  
**ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΣ-ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΟΣ**

**Καρδίτσα, 2015**

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗΣ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΣΑΡΚΟΠΤΙΚΗΣ ΨΩΡΑΣ ΣΤΙΣ ΑΙΓΕΣ**

**ΛΙΑΚΟΥ ΖΩΗ**

**ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΣ-ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΟΣ**

**ΚΑΡΔΙΤΣΑ, 2015**

Η ΠΑΡΟΥΣΑ ΕΡΕΥΝΑ ΕΧΕΙ ΣΥΓΧΡΗΜΑΤΟΔΟΤΗΘΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΥΡΩΠΑΪΚΗ ΈΝΩΣΗ (ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ - ΕΚΤ) ΚΑΙ ΑΠΟ ΕΘΝΙΚΟΥΣ ΠΟΡΟΥΣ ΜΕΣΩ ΤΟΥ ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ «ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ» ΤΟΥ ΕΘΝΙΚΟΥ ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΟΥ ΠΛΑΙΣΙΟΥ ΑΝΑΦΟΡΑΣ (ΕΣΠΑ) – ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΧΡΗΜΑΤΟΔΟΤΟΥΜΕΝΟ ΈΡΓΟ: ΗΡΑΚΛΕΙΤΟΣ ΙΙ . ΕΠΕΝΔΥΣΗ ΣΤΗΝ ΚΟΙΝΩΝΙΑ ΤΗΣ ΓΝΩΣΗΣ ΜΕΣΩ ΤΟΥ ΕΥΡΩΠΑΪΚΟΥ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟΥ ΤΑΜΕΙΟΥ.



**Τριμελής συμβουλευτική επιτροπή:**

**Τόντης Δημήτριος,**

Αναπληρωτής Καθηγητής Τμήματος Κτηνιατρικής, Π.Θ. (επιβλέπων)

**Κουκούλης Γεώργιος,**

Καθηγητής Τμήματος Ιατρικής, Π.Θ. (μέλος)

**Παπαδόπουλος Ηλίας,**

Αναπληρωτής Καθηγητής Τμήματος Κτηνιατρικής, Α.Π.Θ. (μέλος)

**Επταμελής εξεταστική επιτροπή:**

**Ιωάννου Μαρία,**

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Τμήματος Ιατρικής, Π.Θ.

**Κουκούλης Γεώργιος,**

Καθηγητής Τμήματος Ιατρικής, Π.Θ.

**Παπαδόπουλος Ηλίας,**

Αναπληρωτής Καθηγητής Τμήματος Κτηνιατρικής, Α.Π.Θ.

**Παπαϊωάννου Νικόλαος,**

Καθηγητής Τμήματος Κτηνιατρικής, Α.Π.Θ.

**Σαμαρά Μαρία,**

Επίκουρ. Καθηγήτρια Τμήματος Ιατρικής, Π.Θ.

**Σαριδομιχελάκης Εμμανουήλ,**

Αναπληρωτής Καθηγητής Τμήματος Κτηνιατρικής, Π.Θ.

**Τόντης Δημήτριος,**

Αναπληρωτής Καθηγητής Τμήματος Κτηνιατρικής, Π.Θ.

# Pathology of sarcoptic mange in goats

## Abstract

**Introduction:** Sarcoptic mange of goats is caused by the mite *Sarcoptes scabiei* var. *caprae* and is one of the most important ectoparasitic diseases of goats in Greece. Although the clinical and pathological aspects of scabies have been well described in humans and various animal species, cutaneous pathology of the disease in goats has not been studied in detail. The aim of our research was to study the dermatopathology and moreover to assess the cellular immune response and the expression of various cytokeratins in skin lesions of naturally and experimentally infested goats with sarcoptic mange, using histopathological and immunohistochemical techniques.

**Materials and Methods:** Selected cases of 40 goats (23 kids/ 17 goats), from 4 herds, naturally infested by sarcoptic mange were studied. Multiple superficial skin scrapings confirmed the diagnosis. 6 mm punch biopsies were taken under local anesthesia, from lesional areas of the skin. In addition, skin biopsies of 10 healthy goats of 5 different body regions were studied. Human skin biopsies were also used as controls for the immunohistochemistry. For the experimental study, six kids (2-3 months old) and 6 adult goats (1-3 years old) were experimentally infested at the face and the back with 50–100 mites of *Sarcoptes scabiei* var. *caprae*. Four animals (2 kids and 2 goats) were used as controls. Skin biopsies were taken under local anesthesia from the developing lesions on d2, d4, d8, d12, d18, d25, d33, d40, d50, d60, d75 and d90 respectively. Each tissue sample was cut into two pieces with a sterile scalpel. One half was fixed in 10% formalin whereas the second half was fixed in a non-aldehyde zinc salts fixative. Samples were then embedded in paraffin and processed routinely (stained with Hematoxylin/Eosin and Giemsa), while serial sections from each block were incubated with monoclonal antibodies against T-cell subpopulations (CD3, CD4, CD8,  $\gamma\delta$ ), B cells (CD21), dendritic cells (CD1b), macrophages (CD68) and various cytokeratins. In particular, the immunohistochemical expression of three broad-spectrum cytokeratin markers, AE1-AE3 (for cytokeratins 1-8, 10, 13-16 and 19), MNF-116 (for cytokeratins 5, 6, 8, 17, 19) and 34BE12 (for cytokeratins 1, 5, 10, and 14) and of cytokeratins CK5/6, CK7, CK14 and CK19 was evaluated.

**Results:** The immunohistochemical study of normal skin (kids and goats) did not reveal the presence of any lymphocyte subpopulations in the epidermis, whereas in the dermis T-lymphocytes (CD3+) and their subsets (CD4+, CD8+, WC-1+  $\gamma\delta$ ), dendritic cells (CD1+) and macrophages (CD68+) were observed, especially perivascularly, while no (CD21+) B-lymphocytes were detected. In normal caprine skin, cytokeratins AE1/AE3 and 34BE12 are expressed in all layers of the epidermis. Cytokeratin MNF116 is expressed in the basal and the spinous layer whereas cytokeratins 5/6, 14 and 19 are confined to the basal layer of the epidermis. The epithelium of the sweat glands is stained by cytokeratins AE1/AE3, MNF116, 34BE12 and CK7 while myoepithelial cells of sweat glands express cytokeratin 5/6. Cytokeratins AE1/AE3 and 5/6 are located in the outer and inner sheath of hair follicles, whereas the outer sheath of hair follicles also expresses MNF116, 34BE12, CK14 and CK19. Sebaceous gland cells are stained by cytokeratins AE1/AE3, MNF116, 34BE12, CK5/6, CK14 and CK19.

In naturally and experimentally infested goats, macroscopic lesions included alopecia, pustules, thick crusting and fissures. Histopathological lesions of the skin included orthokeratotic and parakeratotic hyperkeratosis, spongiosis, crusting, subcorneal and intraepidermal pustules, presence of various stages of the parasite (from few to numerous) and hypergranulosis. Epidermal hyperplasia, with acanthosis or pronounced rete ridge formation was present in many biopsies.

The study of lymphocytic infiltrate in the dermis of naturally infested goats showed a predominance of the CD3+ lymphocytic population while CD21+ cells were sparse. The inflammatory patterns were mainly perivascular and less frequently dermoepidermal or diffuse. In dermal infiltrate, a predominance of CD4+ over CD8+ T cells was observed. The CD4/CD8 ratio of lesional skin was  $4.03 \pm 1.54/1$ . The  $\gamma\delta$ + lymphocytes were expressed significantly. Numerous cells expressing CD1b+ and CD68+ cells were found both in superficial and deep dermis, especially perivascular. In epidermis, exocytosis of numerous CD3+,  $\gamma\delta$ + T lymphocytes and fewer CD8+ was observed, especially in areas around mites.

In experimentally infested goats, an intense immunoinflammatory response dominated by a substantial infiltrate of lymphocytes, accompanied by eosinophils, was recorded from 2nd day post infestation to the completion of the experiment. Immunohistochemistry indicated that by 2nd day, numbers of CD3+, CD8+ and  $\gamma\delta$ + in epidermis had increased significantly compared to controls ( $p < 0.05$ ). Moreover, there was an increased exocytosis of CD3+, CD8+, and  $\gamma\delta$  T cells located in areas with *Sarcoptes scabiei* compared to areas without mites. In the dermis, a progressive increase of CD3+, CD4+,  $\gamma\delta$ + T-lymphocytes was gradually observed until d90, compared to controls ( $p < 0.05$ ). The predominant cells in the inflammatory infiltrate were in all cases CD4+ T cells. Especially in early days of experimental infestation, the CD8+ T-lymphocytes increased significantly. The distribution of all lymphocyte subpopulations in dermis was initially perivascular and throughout the course of time became more diffuse. In dermis, the CD4+/CD8+ ratio gradually changed from  $1.92 \pm 0.53$  at 2nd day post infestation to  $4.09 \pm 1.88$  at the 90th day of experiment. It should be noted that in the dermis of kids,  $\gamma\delta$ + cells increased significantly ( $p < 0.005$ ) in comparison to goats from the 12th to the 90th day post infestation. The skin immune response, in both kids and adult goats, was similar in the two areas of infection (face, back), since a statistically significant difference in the number of lymphocytes during infection, was not reported in those areas ( $p > 0,005$ ). Furthermore, CD21+ cells were absent. In scabietic skin of naturally and experimentally infested goats, as the degree of epidermal hyperplasia increased, there was an altered expression of CKMNF116, CK5/6, CK19, CK14 in most layers of the suprabasal epithelium. No difference was observed in immunostaining of CKAE1/AE3, CK34BE12 and CK7 keratins.

**Discussion:** The findings of this study emphasize that mange infestation stimulates the upregulation of T-lymphocyte subpopulations and antigen-presenting cells at lesional skin. Mites and their derived products cause early recruitment and substantial activation of different T-lymphocyte subpopulations (CD4+, CD8+ and  $\gamma\delta$ + cells) in the skin. Especially, the  $\gamma\delta$ + T cells respond, by proliferation during early and chronic phases of infestation, in an age dependent manner. The high counts of  $\gamma\delta$ + T lymphocytes in kids compared to adult goats, suggests that the skin immune system of young animals relies additionally on  $\gamma\delta$ + lymphocytes as the parasitic infestation progresses. The altered expression of some cytokeratins in scabietic lesions reflects the occurrence of modifications in the differentiation of keratinocytes correlated with

the observed epidermal hyperplasia. Moreover, this study establishes the value of a panel of anti-human keratin monoclonal antibodies cross-reacting with the caprine skin, which can be applied to routine dermatohistopathology of goats. The expression of cytokeratins can be valuable for the study of epithelial differentiation and the characterization of lesions in other goat skin diseases.

**Keywords:** *Sarcoptes scabies* var *caprae*, goats, immunohistochemistry, lymphocytes, cytokeratins, caprine skin.

# Παθολογοανατομική μελέτη της σαρκοπτικής ψώρας στις αίγες

## Περίληψη

**Εισαγωγή:** Η σαρκοπτική ψώρα στις αίγες προκαλείται από το παράσιτο *Sarcoptes scabiei* var. *caprae* και αποτελεί μια από τις πιο σημαντικές εξωπαρασιτώσεις των αιγών στην Ελλάδα. Αν και οι κλινικές και παθολογοανατομικές πτυχές του νοσήματος έχουν περιγραφεί λεπτομερώς στον άνθρωπο και σε διάφορα θηλαστικά, το ίδιο δεν ισχύει και για τις αίγες. Ο σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η παθολογοανατομική μελέτη της σαρκοπτικής ψώρας στις αίγες και ειδικότερα, η αξιολόγηση της κυτταρικής ανοσολογικής απόκρισης στο δέρμα και της έκφρασης ποικίλων κυτοκερατινών, τόσο σε φυσικά περιστατικά σαρκοπτικής ψώρας σε εκτροφές όσο και μετά από πειραματική μόλυνση, με τη χρήση ιστοπαθολογικών και ανοσοϊστοχημικών μεθόδων.

**Υλικά και Μέθοδοι:** Συνολικά μελετήθηκαν 40 περιπτώσεις φυσικών περιστατικών αιγών με σαρκοπτική ψώρα (23 ερίφια και 17 αίγες) από 4 εκτροφές. Έγινε λήψη πολλαπλών ξεσμάτων δέρματος για την επιβεβαίωση της διάγνωσης και στη συνέχεια, λήφθηκαν 6 mm punch βιοψίες από τις δερματικές αλλοιώσεις, υπό τοπική αναισθησία. Επιπρόσθετα, μελετήθηκαν οι βιοψίες δέρματος 5 διαφορετικών ανατομικών περιοχών από 10 υγιείς αίγες. Βιοψίες δέρματος ανθρώπου χρησιμοποιήθηκαν συγκριτικά επίσης ως μάρτυρες κατά τη χρήση ανοσοϊστοχημικών μεθόδων. Για την πειραματική μόλυνση, 6 απογαλακτισθέντα ερίφια (2-3 μηνών) και 6 ενήλικες αίγες (1-3 ετών), μολύνθηκαν στο επιρρίνιο και τη ράχη με το στέλεχος *Sarcoptes scabiei* var. *caprae* (150-200 ακάρεα/ μολύνουσα δόση). Ως μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν 4 υγιή ζώα (2 ερίφια και 2 αίγες). Η λήψη των βιοψιών δέρματος από τις αναπτυσσόμενες αλλοιώσεις πραγματοποιήθηκε στις ημέρες d2, d4, d8, d12, d18, d25, d33, d40, d50, d60, d75 και d90 μετά την μόλυνση. Το ήμισυ του βιοψτικού υλικού μονιμοποιήθηκε σε ουδέτερο ρυθμιστικό φορμόλης 10%, ενώ το δεύτερο ήμισυ ιστοτεμάχιο μονιμοποιήθηκε σε διάλυμα αλάτων ψευδαργύρου. Τα δείγματα στη συνέχεια εγκλείστηκαν σε παραφίνη και μελετήθηκαν ιστολογικά (χρώσης ηωσίνης/ αιματοξυλίνης και Giemsa), ενώ για την ανοσοϊστοχημική μελέτη διαδοχικές τομές επώσθησαν με μονοκλωνικά αντισώματα έναντι των T λεμφοκυτταρικών πληθυσμών (CD3, CD4, CD8, γδ), B κυτάρων (CD21), δενδριτικών κύτταρων (CD1b), μακροφάγων (CD68) και διάφορων κυτοκερατινών. Επιπλέον, αξιολογήθηκε η ανοσοϊστοχημική έκφραση τριών δεικτών κυτοκερατινών ευρέος φάσματος, AE1-AE3 (για τις κυτοκερατίνες 1-8, 10, 13-16 και 19), MNF-116 (για τις κυτοκερατίνες 5, 6, 8, 17, 19) και 34BE12 (για τις κυτοκερατίνες 1, 5, 10, και 14) και τις κυτοκερατίνες CK5/6, CK7, CK14 και CK19.

**Αποτελέσματα:** Η ανοσοϊστοχημική μελέτη στο φυσιολογικό δέρμα των εριφίων και αιγών δεν αποκάλυψε την παρουσία κανενός υποπληθυσμού λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα, ενώ στο χόριο του υγιούς δέρματος παρατηρήθηκαν T-λεμφοκύτταρα (CD3+) και οι υποπληθυσμοί τους (CD4+, CD8+, WC1+ γδ), δενδριτικά κύτταρα (CD1+) και μακροφάγα (CD68+) κυρίως περιαγγειακά, ενώ δεν παρατηρήθηκαν B-λεμφοκύτταρα (CD21+). Στο υγιές δέρμα των αιγών, οι κυτοκερατίνες AE1/AE3 και 34BE12 εκφράζονται σε όλες τις στιβάδες της επιδερμίδας. Η κυτοκερατίνη MNF116 εκφράζεται στη βασική και στην ακανθωτή στιβάδα, ενώ οι κερατίνες 5/6, 14 και 19

εκφράζονται στη βασική στιβάδα. Το επιθήλιο των ιδρωτοποιών αδένων είναι θετικό για τις κυτοκερατίνες AE1/AE3, MNF116, 34BE12 και CK7 ενώ τα μυοεπιθηλιακά κύτταρα των ιδρωτοποιών αδένων εκφράζουν την κυτοκερατίνη 5/6. Οι κυτοκερατίνες AE1/AE3 και 5/6 εντοπίζονται τόσο στον εσωτερικό όσο και στον εξωτερικό κολεό του θυλάκου της τρίχας, ο οποίος επιπλέον εκφράζει τις κυτοκερατίνες MNF116, 34BE12, CK14 και CK19. Οι σμηγματογόνοι αδένες παρουσιάζουν θετική ανοσοχρώση για τις κερατίνες AE1/AE3, MNF116, 34BE12, CK5/6, CK14 και CK19.

Οι μακροσκοπικές αλλοιώσεις τόσο των φυσικών όσο και των πειραματικών περιστατικών σαρκοπτικής ψώρας, περιελάμβαναν αλωπεκία, φλύκταινες, υπερκεράτωση, λειχηνοποίηση, ενώ ορισμένα ζώα εμφάνιζαν ρωγμές. Οι ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις περιελάμβαναν ορθοκερατωτική και παρακερατωτική υπερκεράτωση, σπογγίωση, εφελκιδοποίηση, υποκεράτινες και ενδοεπιδερμικές μικροφλύκταινες, παρουσία παρασίτων σε διάφορα στάδια του βιολογικού κύκλου (λίγα έως πολυάριθμα) και υπερκόκκωση. Η επιδερμική υπερπλασία με ακάνθωση και το σχηματισμό επιδερμικών καταδύσεων ήταν παρούσα σε πολλές βιοψίες.

Στα φυσικά περιστατικά, τα ευρήματα της μελέτης του φλεγμονώδους διηθήματος στο χόριο των αιγών αφορούσαν κυρίαρχη έκφραση των CD3+ T-λεμφοκυττάρων, ενώ τα CD21+ ανιχνεύτηκαν σπάνια. Το φλεγμονώδες πρότυπο κατανομής ήταν κυρίως περιαγγειακό και λιγότερα συχνά δερμοεπιδερμικό ή διάχυτο. Στο φλεγμονώδες διήθημα του χορίου, παρατηρήθηκε κυριαρχία των CD4+ σε σχέση με τα CD8+ T κύτταρα. Η αναλογία CD4/CD8 ήταν  $4.03 \pm 1.54/1$ . Τα γδ+ λεμφοκύτταρα εκφράζονταν σε μεγάλο βαθμό. Πολλά κύτταρα που εξέφραζαν CD1b+ και CD68+ εντοπίστηκαν στο επιπόλη και εν τω βάθει χόριο, κυρίως περιαγγειακά. Στην επιδερμίδα, παρατηρήθηκε σημαντική εξοκύτωση των CD3+, γδ+ λεμφοκυττάρων και σε μικρότερο βαθμό των CD8+, ειδικά σε περιοχές όπου εντοπίζονταν παράσιτα. Στις αίγες που μολύνθηκαν πειραματικά, η έντονη ανοσολογική απόκριση που χαρακτηρίζονταν από σημαντική λεμφοκυτταρική διήθηση συνοδευόμενη από εωσινόφιλα παρατηρήθηκε από τη δεύτερη ημέρα της μόλυνσης μέχρι την ολοκλήρωση του πειράματος. Η ανοσοϊστοχημική διερεύνηση έδειξε ότι από την δεύτερη ημέρα της μόλυνσης, οι αριθμοί των CD3+, CD8+ και γδ+ κυττάρων στην επιδερμίδα αυξήθηκαν σημαντικά σε σχέση με τους μάρτυρες ( $p < 0.05$ ). Επιπρόσθετα, αυξημένη εξοκύτωση των CD3+, CD8+ και γδ T κυττάρων εντοπίστηκε σε περιοχές με *Sarcoptes scabiei* σε σχέση με εκείνες χωρίς τα παράσιτα. Στο χόριο, μια προοδευτική αύξηση των CD3+, CD4+, γδ+ T λεμφοκυττάρων παρατηρήθηκε έως και την 90η ημέρα μετά την πειραματική μόλυνση, σε σχέση με τους μάρτυρες ( $p < 0.05$ ). Τα κύτταρα που κυριαρχούσαν στο φλεγμονώδες διήθημα ήταν σε όλες τις περιπτώσεις CD4+ T κύτταρα. Ειδικά, τα CD8+ T λεμφοκύτταρα αυξήθηκαν σημαντικά τις πρώτες ημέρες της πειραματικής μόλυνσης. Η κατανομή όλων των λεμφοκυτταρικών υποπληθυσμών ήταν αρχικά περιαγγειακή και κατά τη διάρκεια της μόλυνσης έγινε διάχυτη. Στο χόριο, η αναλογία των CD4+/CD8+ σταδιακά μεταβλήθηκε από  $1.92 \pm 0.53$  την δεύτερη ημέρα της μόλυνσης σε  $4.09 \pm 1.88$  την 90η ημέρα. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι στο χόριο των εριφίων, τα γδ+ κύτταρα αυξήθηκαν σημαντικά ( $p < 0.005$ ) σε σχέση με τις ενήλικες αίγες από την 12η ημέρα έως και την 90η ημέρα μετά την μόλυνση. Η ανοσολογική απόκριση του δέρματος, τόσο στα ερίφια όσο και στις ενήλικες αίγες, ήταν παρόμοια στις δύο περιοχές μόλυνσης (επίρρινο, ράχη), μιας και δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στον αριθμό των λεμφοκυττάρων κατά τη διάρκεια της μόλυνσης στις περιοχές αυτές ( $p > 0,005$ ). Επιπρόσθετα, δεν ανιχνεύτηκαν CD21+ κύτταρα. Στο δέρμα με σαρκοπτική ψώρα τόσο των φυσικών περιστατικών όσο και εκείνων που



προέκυψαν με πειραματική μόλυνση, καθώς ο βαθμός της επιδερμίδικης υπερπλασίας αυξανόταν, παρατηρήθηκε έκφραση των κερατινών CKMNF116, CK5/6, CK19, CK14 σε πολλές κυτταρικές σειρές της ακανθωτής στιβάδας ενώ δεν παρατηρήθηκαν αλλαγές στην έκφραση των κερατινών CKAE1/AE3, CK34BE12 και CK7.

**Συζήτηση:** Συμπερασματικά, τα ευρήματα της μελέτης δείχνουν ότι η σαρκοπτική ψώρα διεγείρει την αύξηση της έκφρασης T λεμφοκυτταρικών υποπληθυσμών και αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων στις βιοψίες δέρματος με αλλοιώσεις. Τα παράσιτα και τα παραγόμενα προϊόντα τους, προκαλούν την ταχεία στρατολόγηση και την ενεργοποίηση των διαφορετικών T λεμφοκυτταρικών υποπληθυσμών (CD4+, CD8+ and γδ+ κύτταρα) στο δέρμα. Ειδικότερα, τα γδ+ T κύτταρα πολλαπλασιάζονται τόσο κατά τη διάρκεια των αρχικών όσο και των χρόνιων σταδίων της νόσου, με τρόπο που εξαρτάται από την ηλικία των αιγών. Οι υψηλοί αριθμοί των γδ+ T λεμφοκυττάρων στα ερίφια, συγκρινόμενοι με των ενήλικων αιγών, υποδεικνύουν ότι το ανοσοποιητικό σύστημα των νεαρότερων ζώων βασίζεται επιπρόσθετα στα γδ+ λεμφοκύτταρα καθώς εξελίσσεται η παρασιτική μόλυνση. Σε ό,τι αφορά στην τροποποιημένη έκφραση ορισμένων κυτοκερατινών στις δερματικές αλλοιώσεις της σαρκοπτικής ψώρας, αυτή αντανακλά την ύπαρξη αλλαγών στον τρόπο διαφοροποίησης των κερατινοκυττάρων και σχετίζεται με την παρατηρούμενη επιδερμίδικη υπερπλασία. Η έκφραση διάφορων κερατινών μπορεί να συντελέσει στην μελέτη της επιθηλιακής διαφοροποίησης και στο χαρακτηρισμό αλλοιώσεων του δέρματος της αίγας και σε άλλες δερματοπάθειες. Επιπρόσθετα, η παρούσα μελέτη καθιερώνει την χρήση μιας σειράς μονοκλωνικών αντισωμάτων ειδικότητας ανθρώπου, που παρουσιάζουν διασταυρούμενη αντίδραση στο δέρμα αιγών, και μπορούν έτσι να εφαρμοστούν στη δερματοιστοπαθολογία των αιγών.

**Keywords:** *Sarcoptes scabies var caprae*, αίγες, ανοσοϊστοχημεία, λεμφοκύτταρα, κυτοκερατίνες, δέρμα

## **Ευχαριστίες**

*Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στα εργαστήρια Παθολογικής Ανατομικής της Κτηνιατρικής και Ιατρικής σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας υπό την επίβλεψη του Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Τόντη Δημήτριου.*

*Η παρούσα έρευνα έχει συγχρηματοδοτηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο - ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) – Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: Ηράκλειτος II. Επένδυση στην κοινωνία της γνώσης μέσω του Ευρωπαϊκού Κοινωνικού Ταμείου.*

*Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Αναπληρωτή Καθηγητή Παθολογικής Ανατομικής της Κτηνιατρικής σχολής, κ. Τόντη Δημήτριο και τον Καθηγητή Παθολογικής Ανατομικής της Ιατρικής σχολής, κ. Κουκούλη Γεώργιο για την ουσιαστική υποστήριξη και την πολύτιμη καθοδήγησή τους κατά τη διάρκεια της συνεργασίας μας.*

*Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον κ. Δούκα Δημήτριο (Δρ. κτηνίατρο, Συμβασιούχο διδάσκοντα στο εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής) για την εξαιρετική βοήθεια του από τη στιγμή της ανάθεσης του θέματος έως την ολοκλήρωση της διατριβής. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Κατσιούλη Αντώνιο (Στατιστικολόγος στο εργαστήριο επιδημιολογίας της Ιατρικής σχολής του πανεπιστημίου Θεσσαλίας) για την στατιστική ανάλυση των δεδομένων της παρούσας μελέτης.*

*Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου, τους πολυαγαπημένους μου γονείς Βασίλη και Δάφνη, τη γιαγιά μου Μαρίκα και ιδιαίτερα την αδελφή μου Μαρία, για την αγάπη, την συναισθηματική και ηθική τους στήριξη σε κάθε μου βήμα.*

## Περιεχόμενα

<b>Κεφάλαιο 1: Η σαρκοπτική ψώρα στα θηλαστικά</b>	<b>13</b>
1.1 Εισαγωγή	13
1.2 Μορφολογία του <i>Sarcoptes scabiei</i>	15
1.3 Βιολογικός κύκλος του <i>Sarcoptes scabiei</i>	15
1.4 Επιδημιολογία της σαρκοπτικής ψώρας	16
1.5 Μετάδοση της σαρκοπτικής ψώρας	17
1.6 Ειδικότητα ξενιστή	18
1.7 Παθογενετικοί μηχανισμοί της σαρκοπτικής ψώρας	20
1.8 Κλινικο-παθολογοανατομικές μορφές της σαρκοπτικής ψώρας	22
1.9 Μακροσκοπικές αλλοιώσεις της σαρκοπτικής ψώρας	24
1.10 Ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις της σαρκοπτικής ψώρας	25
1.11 Κυτταρική ανοσία - Ανοσοφαινότυπος δερματικών αλλοιώσεων της σαρκοπτικής ψώρας	28
1.12 Χυμική ανοσία στη σαρκοπτική ψώρα	31
1.13 Παράγοντες που επηρεάζουν την ανοσολογική απόκριση του ξενιστή	33
1.14 Διάφορες επιδράσεις της σαρκοπτικής ψώρας στα ζώα	35
1.14.1 Ανάπτυξη και αναπαραγωγική ικανότητα	35
1.14.2 Αιματολογικές και βιοχημικές παράμετροι	36
1.14.3 Πρωτεΐνες οξείας φάσης	37
1.14.4 Οξειδωτικό στρες	37
1.14.5 Βακτηριακές επιμολύνσεις	38
1.15 Διάγνωση της σαρκοπτικής ψώρας	39
1.16 Η σαρκοπτική ψώρα ειδικά στις αίγες	40
<b>Κεφάλαιο 2: Ανοσολογικοί μηχανισμοί του δέρματος των θηλαστικών</b>	<b>42</b>
2.1 Η δομή του υγιούς δέρματος στις αίγες	42
2.2 Η χρήση της ανοσοϊστοχημείας στο δέρμα	44
2.3 Ο ανοσολογικός ρόλος των κυττάρων του δέρματος	46
2.4 Κυτταρικοί πληθυσμοί του ανοσοποιητικού συστήματος στην επιδερμίδα	47
2.4.1 Τ λεμφοκύτταρα και οι υποπληθυσμοί τους	47
2.4.2 Κύτταρα Langerhans	50
2.4.3 Κερατινοκύτταρα	51
2.5 Κυτταρικοί πληθυσμοί του ανοσοποιητικού συστήματος στο χόριο του δέρματος	53
2.5.1 αβ Τ κύτταρα	53
2.5.2 γδ Τ κύτταρα	53
2.5.3 Δενδριτικά κύτταρα του χορίου του δέρματος	55
2.5.4 Ενδοθηλιακά κύτταρα αγγείων χορίου δέρματος	56
2.5.5 Σιτευτικά κύτταρα	56
2.5.6 Ιστιοκύτταρα	57
2.5.7 Ινοβλάστες- Ινοκύτταρα	57
2.6 Κερατίνες και ανοσοποιητικό σύστημα του δέρματος	58
2.7 Ανοσολογικές αντιδράσεις στο δέρμα μετά από αντιγονικό ερεθισμό	60
2.7.1 Μηχανισμοί φυσικής (μη ειδικής) ανοσίας	60
2.7.2 Μηχανισμοί επίκτητης (ειδικής) ανοσίας	62
<b>Κεφάλαιο 3: Σκοπός της έρευνας</b>	<b>68</b>
<b>Κεφάλαιο 4: Υλικά και Μέθοδοι</b>	<b>70</b>
4.1 Φυσικά περιστατικά σαρκοπτικής ψώρας σε αίγες	70
4.1.1 Ζώα που χρησιμοποιήθηκαν	70
4.1.2 Λήψη ξεσμάτων και παρασιτολογικός έλεγχος	71
4.1.3 Λήψη βιοψιών δέρματος	71
4.1.4 Μονιμοποίηση ιστών και ιστολογική επεξεργασία	72
4.1.5 Ιστοχημικές χρώσεις βιοψιών δέρματος	72
4.1.6 Ανοσοϊστοχημικές χρώσεις βιοψιών δέρματος	73

4.1.7 Μορφομετρική μελέτη	79
4.1.8 Στατιστική ανάλυση	79
4.2 Πειραματική μόλυνση σαρκοπτικής ψώρας σε απογαλακτισθέντα ερίφια και ενήλικες αίγες με <i>Sarcoptes scabiei</i> var <i>caprae</i>	80
4.2.1 Ζώα που χρησιμοποιήθηκαν	80
4.2.2 Πειραματική μόλυνση	81
4.2.3 Λήψη ξεσμάτων και παρασιτολογικός έλεγχος	81
4.2.4 Λήψη βιοψιών δέρματος	81
4.2.5 Μονιμοποίηση ιστών και ιστολογική επεξεργασία	81
4.2.6 Ιστοχημικές χρώσεις βιοψιών	81
4.2.7 Ανοσοϊστοχημικές χρώσεις βιοψιών δέρματος	82
4.2.8 Μορφομετρική μελέτη	82
4.2.9 Στατιστική ανάλυση	82
<b>Κεφάλαιο 5: Αποτελέσματα</b>	<b>83</b>
5.1 Ανοσοφαινότυπος υγιούς δέρματος της αίγας	83
5.2 Αποτελέσματα μελέτης των φυσικών περιστατικών αιγών με σαρκοπτική ψώρα	87
5.2.1 Παρασιτολογικός έλεγχος	87
5.2.2 Μακροσκοπικές αλλοιώσεις	89
5.2.3 Ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις	91
5.2.4 Ευρήματα ανοσοϊστοχημικής μελέτης του δέρματος φυσικών περιστατικών αιγών με σαρκοπτική ψώρα	93
5.2.4.α Ποιοτική ανάλυση κυτταρικών υποπληθυσμών ανοσοποιητικού συστήματος	93
5.2.4.β Ποσοτική ανάλυση κυτταρικών υποπληθυσμών ανοσοποιητικού συστήματος	98
5.2.4.γ Ποιοτική ανάλυση της έκφρασης κερατινών στα φυσικά περιστατικά σαρκοπτικής ψώρας σε σύγκριση με το υγιές δέρμα αιγών	108
5.3 Αποτελέσματα της πειραματικής μελέτης	118
5.3.1 Παρασιτολογικός έλεγχος	118
5.3.2 Μακροσκοπικές αλλοιώσεις του δέρματος στα ερίφια	118
5.3.3 Μακροσκοπικές αλλοιώσεις του δέρματος στις αίγες	121
5.3.4 Ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις του δέρματος στα ερίφια	122
5.3.5 Ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις του δέρματος στις αίγες	128
5.3.6 Ευρήματα ανοσοϊστοχημικής μελέτης	134
5.3.6α Ποιοτική ανάλυση των κυτταρικών υποπληθυσμών του ανοσοποιητικού συστήματος	134
5.3.6β Ποσοτική ανάλυση των κυτταρικών υποπληθυσμών του ανοσοποιητικού συστήματος	144
5.3.6γ Ποιοτική ανάλυση της έκφρασης κερατινών κατά την πειραματική μόλυνση	161
<b>Κεφάλαιο 6: Συζήτηση</b>	<b>174</b>
6.1 Δερματικές αλλοιώσεις της σαρκοπτικής ψώρας στην αίγα	174
6.1.α Μακροσκοπικές αλλοιώσεις του δέρματος	174
6.1.β Ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις του δέρματος	175
6.2 Ανάπτυξη ανοσοϊστοχημικών τεχνικών στο δέρμα της αίγας	177
6.3 Ανοσοφαινότυπος του υγιούς δέρματος της αίγας	180
6.4 Έκφραση κερατινών στο υγιές δέρμα της αίγας	183
6.5 Ανοσοφαινότυπος δερματικών αλλοιώσεων αίγας με σαρκοπτική ψώρα	186
6.5.1 Έκφραση των αβ T κυττάρων στην σαρκοπτική ψώρα	186
6.5.2 Έκφραση των γδ κυττάρων στην σαρκοπτική ψώρα	187
6.5.3 Έκφραση των B κυττάρων στην σαρκοπτική ψώρα	192
6.6 Μεταβολή της έκφρασης των κερατινών αιγών στο δέρμα με σαρκοπτική ψώρα	192
<b>Συμπεράσματα</b>	<b>195</b>
<b>Βιβλιογραφία</b>	<b>197</b>

# Κεφάλαιο 1: Η σαρκοπτική ψώρα στα θηλαστικά

---

## 1.1 Εισαγωγή

Η σαρκοπτική ψώρα είναι μια κνησμώδης, μεταδοτική δερματοπάθεια που προκαλείται από το ακάρι *Sarcoptes scabiei* (Acariformes: Sarcoptidae) (Fain, 1978). Το παράσιτο *Sarcoptes scabiei* κατατάσσεται στη συνομοταξία *Arthropoda*, ομοταξία *Arachnida*, τάξη *Acarina*, υποτάξη *Sarcoptiformes* (*Astigmata*), οικογένεια *Sarcoptidae* (Bornstein και συν., 2001). Οι κυρίαρχες εκδηλώσεις του νοσήματος προκαλούνται από φλεγμονώδεις και αλλεργικές αντιδράσεις στα προϊόντα των ακάρεων (Walton and Currie, 2007) ενώ εάν δε δοθεί θεραπευτική αγωγή, μπορεί να οδηγήσει στο θάνατο λόγω βακτηριακής σηψαιμίας (Mounsey και συν., 2013).

Η σαρκοπτική ψώρα έχει αναγνωριστεί ως δερματοπάθεια εδώ και τουλάχιστον 3000 έτη (Burgess, 1994). Μια πρώτη αναφορά στο παράσιτο καταγράφεται στο Λευιτικό (13:1-8) της Παλαιάς Διαθήκης. Ο Αριστοτέλης πιστεύεται ότι ήταν ο πρώτος που εντόπισε ακάρεα της σαρκοπτικής ψώρας, τα οποία περιγράφει ως "ψείρες της σάρκας" (Walton and Currie, 2007). Στη ρωμαϊκή εποχή, υπάρχουν πολλές αναφορές για ποικίλες θεραπείες της σαρκοπτικής ψώρας σε ζώα. Παρόλα αυτά, η περαιτέρω κατανόηση της αιτιολογίας της σαρκοπτικής ψώρας ήρθε με την εφεύρεση του μικροσκοπίου από τον Zacharias Jansen (1590) και την μικροσκοπική παρατήρηση του παρασίτου από τον Giovanni Cosimo Bonomo (1663-1696) (Roncalli, 1987). Στον Latrille (1802) αποδίδεται το όνομα του παρασίτου *Sarcoptes scabiei* από τις ελληνικές λέξεις σάρξ και κόπτω και τη λατινική λέξη scabere (= κνησμός) ενώ ο Linnaeus (1758) ονόμασε το παράσιτο *Acarus siro* var. *scabiei* (Fain, 1968). Η πρώτη ακριβής απεικόνιση του ακάρεος έγινε από τον Σουηδό φυσιολόγο DeGeer (1778) ενώ ο Ferdinand Ritter von Hebra στη Βιέννη, ήταν ο πρώτος δερματολόγος με εκτενείς αναφορές για την σαρκοπτική ψώρα. Μάλιστα, μελετώντας περιπτώσεις ασθενών, περιέγραψε τον βιολογικό κύκλο και τα στάδια της μόλυνσης του παρασίτου ενώ υπέθεσε ότι οι ποικιλίες του παρασίτου που εντοπίζονταν σε ζώα και ανθρώπους, ανήκαν ουσιαστικά σε ένα είδος (Currer και συν., 2011).

Τα τελευταία χρόνια, έχουν πραγματοποιηθεί πολυάριθμες μελέτες με αντικείμενο διαφορετικές πτυχές της βιολογίας του *S. scabiei* όπως η ειδικότητα του ξενιστή, ο βιολογικός του κύκλος, η μετάδοση, η επιδημιολογία, η θεραπευτική αντιμετώπιση, η παθολογία και η ανοσολογική απόκριση διάφορων ξενιστών.

Μια πιο προσεκτική εξέταση της σχέσης ξενιστή-παρασίτου μπορεί να προσφέρει νέες και σημαντικές πληροφορίες για το πώς η ασθένεια επηρεάζει τους πληθυσμούς των ζώων. Η λεπτομερής περιγραφή της παθογένειας του δέρματος στην περίπτωση της σαρκοπτικής ψώρας είναι απαραίτητη για το μελλοντικό σχεδιασμό ανοσοθεραπευτικών στρατηγικών για την ασθένεια αυτή. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε αποτελεσματικές προτάσεις για την προστασία των ευάλωτων ατόμων στην σαρκοπτική ψώρα, στη βελτίωση του επιπέδου υγείας σε μειονεκτούσες κοινότητες και στην καλύτερη διαχείριση της σαρκοπτικής ψώρας στην κτηνιατρική (Mounsey και συν., 2013).

Η παθολογία της σαρκοπτικής ψώρας του ανθρώπου έχει μελετηθεί εκτενώς και έχει αποτελέσει πρότυπο για αντίστοιχες μελέτες του νοσήματος σε άλλα είδη κατοικίδιων θηλαστικών και αντιστρόφως, όπως στο σκύλο (Arlian και συν., 1997), στα κουνέλια (Arlian και συν., 1994), στο χοίρο (Sheahan, 1975; Van Neste και Staquet, 1986) αλλά και σε άγρια ζώα όπως στον ηβηρικό λύκο (Oleaga και συν. 2011), στα ρακούν (Fitzgerald και συν., 2004), στις αλεπούδες (Little και συν. 1998) και στους φασκωλόμυες (Skerratt, 2003). Μέχρι τώρα, στην διεθνή βιβλιογραφία, όσον αφορά τα πρόβατα, έχουν δημοσιευτεί μελέτες για την κλινική εικόνα και την παθολογοανατομική της νόσου, καθώς και για την αρνητική επίδραση στην αναπαραγωγική δραστηριότητα, την ανάπτυξη και τις αποδόσεις των ζώων (Fthenakis και συν., 2001). Αντιθέτως, όσον αφορά τις αίγες, υπάρχουν περιορισμένες μελέτες για το νόσημα.

## 1.2 Μορφολογία του *Sarcoptes scabiei*

Το *S.scabiei* είναι ένα παράσιτο λευκωπό και ημισφαιρικό με 4 ζεύγη πολύ κοντών ποδιών με μέγεθος που κυμαίνεται από 250 έως 400 μm. Τα ενήλικα άτομα *S. scabiei* (αρσενικά και θηλυκά) έχουν ημισφαιρικό εξωσκελετό. Οι διαστάσεις του θηλυκού είναι 0,4x0,3mm, ενώ το αρσενικό είναι λίγο πιο μικρό 0,2x0,15mm. Το ενήλικο θηλυκό έχει μήκος 320-520μm, ενώ το αρσενικό 200-280μm. Σε κάθε παράσιτο διακρίνονται το γναθόσωμα (ψευδοκεφαλή) και το ιδιόσωμα (με την έδρα στο απώτερο άκρο του). Η ραχιαία επιφάνεια φέρει χιτινώδη πλάκα με βραχείς άκανθες, ενώ στην κοιλιακή επιφάνεια εκφύονται 4 ζεύγη ποδιών, τα οποία είναι κοντά και χονδρά. Τα πόδια του 1<sup>ου</sup> και 2<sup>ου</sup> ζεύγους καταλήγουν σε σικύες, σχήματος βεντούζας, τα πόδια το 3<sup>ου</sup> ζεύγους καταλήγουν σε μαστίγια και τα πόδια του 4<sup>ου</sup> ζεύγους καταλήγουν, αναλόγως με το φύλο, σε σικύες (θηλυκό) ή μαστίγια (αρσενικό). Ανάμεσα στο 4<sup>ο</sup> ζεύγος ποδιών στα αρσενικά εντοπίζεται ο γεννητικός πόρος. Τα αυγά του *S.scabiei* είναι ωοειδή με μήκος περίπου 100-150μm, στο εσωτερικό των οποίων αναπτύσσεται προνύμφη. Μορφολογικά, οι προνύμφες έχουν 3 ζεύγη άκρων σε αντίθεση με τις νύμφες (πρωτονύμφες, τριτονύμφες) και τα ενήλικα άτομα (Pence και Ueckermann 2002, Walton και Currie 2007).

## 1.3 Βιολογικός κύκλος του *Sarcoptes scabiei*

Ο βιολογικός κύκλος του *S.scabiei* περιλαμβάνει τα στάδια: i) ενήλικα άτομα (αρσενικά & θηλυκά), ii) αυγά, iii) προνύμφες, iv) πρωτονύμφες και v) τριτονύμφες. Η γονιμοποίηση του ενήλικου θηλυκού από το ενήλικο αρσενικό συμβαίνει στην επιφάνεια της επιδερμίδας, σε εγκολπώσεις της κερατίνης στιβάδας (molts). Τα θηλυκά ακάρεα ορύσσουν στοές στην κερατίνη στιβάδα με σκοπό να γεννήσουν τα αυγά τους. Τα θηλυκά γεννούν 2-3 αυγά την ημέρα μέχρι το θάνατό τους, ο οποίος συμβαίνει συνήθως σε 1-2 μήνες (Arlian και Vyszenski-Moher, 1988).

Τα αυγά εκκολάπτονται και εμφανίζονται οι προνύμφες, οι οποίες προχωρούν μέσα στην κερατίνη στιβάδα της επιδερμίδας, δημιουργώντας μικρές εγκολπώσεις ή σήραγγες. Οι προνύμφες μετατρέπονται σε νύμφες και έπειτα σε ενήλικα άτομα. Τα ενήλικα αρσενικά γονιμοποιούν τα ενήλικα θηλυκά και ο κύκλος αρχίζει από την αρχή (Arlian, 1989).

Η ανάπτυξη ενός αυγού σε ενήλικο άτομο χρειάζεται 10,06-13,16 ημέρες για τα αρσενικά και 9,93-13,03 ημέρες για τα θηλυκά. Η διάρκεια του σταδίου της νύμφης κυμαίνεται από 3,22 έως 4,20 ημέρες. Η διάρκεια του σταδίου της πρωτονύμφης για τα θηλυκά και τα αρσενικά ήταν 2,40-3,40 και 2,33-3,33 ημέρες αντίστοιχα ενώ η διάρκεια του σταδίου της τριτονύμφης για τα θηλυκά και τα αρσενικά ήταν 2,22-3,22 και 2,42-3,42 ημέρες αντίστοιχα (Arlan και Vyszenski-Moher, 1988).

Έρευνες που μελέτησαν τον χρόνο διείσδυσης των παρασίτων στο δέρμα του ξενιστή, έδειξαν ότι τα ενήλικα θηλυκά ακάρεα χρειάστηκαν 31 λεπτά (+/- 15 λεπτά), τα ενήλικα αρσενικά 17 λεπτά (+/- 7.2 λεπτά) ενώ οι νύμφες και οι προνύμφες είχαν τον ταχύτερο χρόνο διείσδυσης με τις προνύμφες να διεισδύουν στο δέρμα του ξενιστή σε 9 λεπτά ( +/- 2,5 λεπτά ) (Arlan και συν., 1984a).

## 1.4 Επιδημιολογία της σαρκοπτικής ψώρας

Η σαρκοπτική ψώρα είναι μια μεταδοτική ασθένεια που επηρεάζει σε παγκόσμιο επίπεδο πληθυσμούς ανθρώπων και ζώων (Walton and Currie, 2007). Στον άνθρωπο, ο ακριβής αριθμός των περιπτώσεων της σαρκοπτικής ψώρας παγκοσμίως δεν είναι γνωστός, αλλά εκτιμάται ότι φτάνει τα 300 εκατομμύρια (Chosidow, 2006). Ο επιπολασμός της σαρκοπτικής ψώρας το 2010 υπολογίζεται στο 1,5% του παγκόσμιου πληθυσμού (Hay και συν., 2014) ενώ η ετήσια οικονομική επιβάρυνση για την διαχείριση της στις Η.Π.Α φτάνει τα \$10.4 εκατομμύρια (Owusu-Edusei και συν., 2009). Στην αγροτική Ινδία, το ποσοστό προσβολής φτάνει έως και 70%, ενώ σε περιοχές του Νότιου Ειρηνικού κυμαίνεται από 18 έως και 42% (Hay και συν., 2012). Στην Αυστραλία, ο επιπολασμός της σαρκοπτικής ψώρας είναι ιδιαίτερα υψηλός σε απομακρυσμένες κοινότητες Αβοριγίνων ιθαγενών στο τροπικό βορρά, ιδιαίτερα στα παιδιά, ενώ παρατηρούνται χαμηλά ποσοστά ακολούθησης της θεραπευτικής αγωγής (La Vincente και συν., 2009).

Η σαρκοπτική ψώρα είναι ικανή να προκαλέσει ζωνόσους σε περιοχές μεγάλης έκτασης με υψηλό επιπολασμό και ποσοστά θνησιμότητας (Fernandez-Moran και συν., 1997; Skerratt και συν., 1998; Soulsbury και συν., 2007). Οι Pence και Ueckermann (2002) ανέφεραν ότι επιδημίες της ψώρας σε ορισμένα είδη, συμβαίνουν σε κύκλους των 30-45 ετών, λόγω της εμφάνισης ενός πιο παθογόνου στελέχους του παρασίτου.



## 1.5 Μετάδοση της σαρκοπτικής ψώρας

Τα ακάρεα που απομακρύνονται από τους ξενιστές, έχουν την ικανότητα να ανιχνεύσουν την οσμή και την θερμότητα ενός νέου ξενιστή (Arlian και συν., 1984c). Εργαστηριακά πειράματα που αφορούσαν τα παράσιτα *Sarcoptes scabiei* var. *canis* και *Sarcoptes scabiei* var. *hominis*, έδειξαν ότι ο χρόνος επιβίωσης μακριά από τους ξενιστές εξαρτάται από την θερμοκρασία περιβάλλοντος και τη σχετική υγρασία. Πιο συγκεκριμένα, ο μακρύτερος χρόνος επιβίωσης σχετίζεται με χαμηλότερες θερμοκρασίες και υψηλότερη σχετική υγρασία. Τα ακάρεα της σαρκοπτικής ψώρας, σε αντίθεση με άλλα ακάρεα, δεν μπορούν να χρησιμοποιήσουν το νερό που βρίσκεται στους υδρατμούς του αέρα και για αυτό αφυδατώνονται όταν βρίσκονται μακριά από τον ξενιστή. Τα ακάρεα ήταν ικανά να επιβιώνουν για 24-36 ώρες μακριά από τον ξενιστή σε θερμοκρασία δωματίου, ενώ διατηρούσαν την ικανότητα τους να μολύνουν ένα νέο ξενιστή (Arlian et al. 1984a). Επιπρόσθετα, βρέθηκε ότι η επιβίωση των αυγών ήταν συγκρίσιμη με αυτή των αρσενικών παρασίτων, ενώ η επιβίωση των νυμφών ήταν συγκρίσιμη με αυτή των θηλυκών παρασίτων. Τα θηλυκά παράσιτα και οι νύμφες επιβίωναν για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα από τα αρσενικά και τα αυγά (Arlian και συν., 1989)

Παράγοντες που επηρεάζουν τη μετάδοση των ακάρεων της σαρκοπτικής ψώρας στους ανθρώπους είναι οι συνθήκες διαβίωσης (Walton and Currie, 2007). Παλαιότερες υποθέσεις ότι η σαρκοπτική ψώρα μεταδίδεται εξαιτίας των άσχημων συνθηκών υγιεινής και του συνωστισμού έχουν αποδειχθεί αναληθείς, μια και κρούσματα σαρκοπτικής ψώρας παρατηρούνται και σε εύπορα άτομα-οικογένειες με υψηλό επίπεδο συνθηκών υγιεινής (Arlian και συν., 1988).

Η σαρκοπτική ψώρα μπορεί να εξαπλωθεί μέσω της άμεσης επαφής των ατόμων ή της έμμεσης επαφής με αντικείμενα μολυσμένα με ακάρεα. Συνήθως μεταδίδεται με τη στενή προσωπική επαφή και μάλιστα η σεξουαλική μετάδοση αποτελεί τον ευκολότερο τρόπο για την εξάπλωση της (Monsel και Chosidow, 2012). Πολλαπλά κρούσματα σαρκοπτικής ψώρας που παρατηρούνται σε γηροκομεία και νοσοκομεία οφείλονται περισσότερο στη στενή επαφή μεταξύ των ασθενών και στην ύπαρξη ανοσοκατεσταλμένων ατόμων (Jimenez-Lucho και συν., 1995).

Επιπρόσθετα, η σαρκοπτική ψώρα μπορεί να μεταδοθεί στον άνθρωπο μέσω της επαφής με μολυσμένα ζώα (Bornstein και συν., 2001). Κρούσματα σαρκοπτικής ψώρας έχουν καταγραφεί σε άτομα που ήρθαν σε επαφή με μολυσμένους σκύλους (Gallegos και συν., 2014), αίγες (Menzano και συν., 2007), σαμουά (Menzano και συν., 2004), αλεπούδες (Birk και συν., 1999) και φασκωλόμυες (Skerratt και Beveridge, 1999). Οι μολύνσεις σε αυτές τις περιπτώσεις είναι συνήθως αυτοπεριοριζόμενες (Walton και Currie, 2007).

## 1.6 Ειδικότητα ξενιστή

Τα ακάρεα της σαρκοπτικής ψώρας αναφέρονται ως παραλλαγές βάσει του ξενιστή από τον οποίο απομονώθηκαν, π.χ *Sarcoptes scabiei* var. *canis* (Bornstein και συν., 2001). Φαίνεται ότι οι άνθρωποι υπήρξαν οι αρχικοί ξενιστές του *S. scabiei*, ενώ άλλοι ξενιστές, όπως είναι τα οικόσιτα ζώα και τα είδη άγριων κυνιδών μολύνθηκαν δευτερογενώς (Fain, 1968).

Ενώ η πειραματική μεταφορά των ακάρεων μεταξύ διαφορετικών ξενιστών υποδεικνύει κάποια εξειδίκευση ως προς τον ξενιστή, δεν έχει προκύψει ξεκάθαρο συμπέρασμα για το εάν τα παράσιτα που μολύνουν τον άνθρωπο αποτελούν το ίδιο είδος με εκείνα που εντοπίζονται στα ζώα (Zhao και συν., 2015). Μοριακές αναλύσεις με την χρήση δεικτών μικροδορυφορικού DNA του *S. scabiei* έδειξαν ότι τα ακάρεα που απομονώθηκαν από σκυλιά και ανθρώπους παρουσίασαν γενετικές διαφορές (Walton και συν., 1999). Αντίθετα, η ανάλυση αλληλουχιών ριβοσωμικού DNA, δεν ανέδειξε διαφορές μεταξύ ακάρεων που προήλθαν από διαφορετικούς ξενιστές και γεωγραφικές περιοχές, υποδηλώνοντας ότι το γένος *Sarcoptes* είναι μονοεπιλεκτικό και τα ακάρεα του *S. scabiei* αποτελούν προσαρμοσμένες παραλλαγές στον κάθε ξενιστή ενός μόνου είδους (Zahler και συν., 1999).

Μοριακοί δείκτες όπως οι rDNA ITS2, mtDNA 16S, και COX1 οι οποίοι χρησιμοποιούνται συχνά στην ταξινόμηση και ταυτοποίηση διαφορετικών ειδών, δεν έχουν εφαρμοστεί με επιτυχία για το *S. scabiei*, λόγω των τεχνικών δυσκολιών στην εκχύλιση του DNA μεμονωμένων ακάρεων τα οποία έχουν μικρό μέγεθος σώματος και υψηλά επίπεδα χιτίνης, της δυσκολίας απόκτησης μεγάλου αριθμού παράσιτων και των χαμηλών ποσοστών επιτυχίας της ενίσχυσης αλληλουχιών με PCR (Alasaad και συν., 2009).

Έχει αποδειχθεί ότι τα ακάρεα άλλων θηλαστικών μπορούν να μολύνουν τους ανθρώπους σε πειραματικό περιβάλλον ή μέσω επαναλαμβανόμενης στενής επαφής. Ακάρεα *Sarcoptes scabiei* var. *canis* που ελήφθησαν από σκύλο και τοποθετήθηκαν σε ανθρώπινο δέρμα για 96 ώρες δημιούργησαν σήραγγες και παρήγαγαν αυγά που αναπτύχθηκαν κανονικά (Estes και συν., 1983). Οι Arlian και συν., (1984a) εκτέλεσαν παρόμοια πειράματα χρησιμοποιώντας ακάρεα σκύλου και ανθρώπου. Τα ακάρεα απομακρύνθηκαν από τους ξενιστές τους (σκύλο ή άνθρωπο) για 96 ώρες, με 12 περιόδους μίας ώρας εναλλασσόμενης ψύξης και κανονικής θερμοκρασίας δωματίου. Μετά από 96 ώρες, τα ακάρεα εξακολουθούσαν να διατηρούν την ικανότητα διείσδυσης και μόλυνσης του δέρματος κουνελιών. Αν και το προηγούμενο εύρημα δεν είναι πιθανό να συμβεί με φυσικό τρόπο, τα αποτελέσματα της έρευνας δείχνουν ότι τα ακάρεα της σαρκοπτικής ψώρας μπορούν να αλλάξουν ξενιστές σε πειραματικά πρωτόκολλα.

Ξενιστές που διαφέρουν κατά πολύ ταξινόμικά δεν είναι εύκολο να προσβληθούν από τα ακάρεα *Sarcoptes scabiei*, αλλά ακόμα και εάν συμβεί, οι αλλοιώσεις είναι συνήθως αυτοπεριοριζόμενες (Estes και συν., 1983). Βέβαια, παρόμοιες ανοσολογικές αποκρίσεις και δερματικές αλλοιώσεις έχουν παρατηρηθεί σε πειράματα διασταυρούμενης μόλυνσης διαφορετικών ξενιστών (Arlian και συν., 1994).

Η μελέτη του Bornstein (1991) έδειξε το *Sarcoptes scabiei*, που προέρχονταν από άγριες κόκκινες αλεπούδες (*Vulpes vulpes*) προκάλεσε αυτοπεριοριζόμενη σαρκοπτική ψώρα σε πειραματικώς μολυσμένους σκύλους φυλής Beagle. Στη μελέτη των Abu-Samra και συν., (1984) οι αίγες που μολύνθηκαν πειραματικά με το *Sarcoptes scabiei* var *ovis* παρουσίασαν τις τυπικές δερματικές αλλοιώσεις της σαρκοπτικής ψώρας, ενώ παράσιτα όλων των σταδίων του βιολογικού κύκλου εντοπίστηκαν σε ξέσματα.

Στην μελέτη του Lavin και συν., (2000) τα σαμούα (*Rupicapra pyrenaica parva*) που μολύνθηκαν με *Sarcoptes scabiei* var. *caprae*, παρουσίασαν τυπικές μακροσκοπικές και ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις της σαρκοπτικής ψώρας.

## 1.7 Παθογενετικοί μηχανισμοί της σαρκοπτικής ψώρας

Στα πρώτα στάδια του αποικισμού της επιδερμίδας ενός νέου ξενιστή, το άκαρι *Sarcoptes scabiei* εκκρίνει ουσίες με ικανότητα λύσης του ιστού και δημιουργεί σημεία εισόδου στην επιδερμίδα (Arlan και συν., 1984a). Τα ακάρεα ορύσσουν σήραγγες στην κεράτινη στιβάδα του ξενιστή, ενώ τρέφονται με ζωντανά κύτταρα και με πλάσμα του αίματος το οποίο περιέχει συστατικά του συμπληρώματος και διαχέεται από τα αγγεία του χορίου στην επιδερμίδα. Έχει βρεθεί ότι για να προστατεύσει το παράσιτο το εντερικό του επιθήλιο από τη δράση του συμπληρώματος, εκκρίνει σε αυτό αναστολές του συμπληρώματος. Οι αναστολές του συμπληρώματος του ακάρεος περιλαμβάνουν πρωτεάσες σερίνης (SMIPP-Ss, Scabies Mite Inactivated Protease Paralogues), όπως οι I1 και D1, οι οποίες αναστέλλουν την ενεργοποίηση του συμπληρώματος μέσω του εναλλακτικού μονοπατιού (Bergstrom και συν., 2009). Επιπλέον, η μελέτη των σερπινών (SMSB3 και SMSB4) έδειξε ότι παρεμβαίνουν σε διάφορα στάδια της ενεργοποίησης του συμπληρώματος. Ειδικότερα, η SMSB4 δρα κατά τα πρώτα στάδια της ενεργοποίησης του συμπληρώματος, μειώνοντας τις εναποθέσεις του C4b στο κλασικό και εναλλακτικό μονοπάτι του συμπληρώματος, και αναστέλλοντας έτσι την τελική εναπόθεση των C3b και C9 (Mika και συν., 2012).

Μελέτες εντοπισμού έδειξαν ότι αυτά τα μόρια δεν εκκρίνονται μόνο στο έντερο αλλά και εξωτερικά στις σήραγγες μαζί με τα περιττώματα των ακάρεων. Αυτό το εύρημα υποδηλώνει ότι τα ακάρεα της σαρκοπτικής ψώρας προκαλούν αναστολή της τοπικής ενεργοποίησης του συμπληρώματος ευνοώντας έτσι την εγκατάσταση βακτηρίων (Swe και συν., 2014). Η μελέτη των Swe και Fischer (2014) έδειξε ότι η SMSB4 προώθησε την επιβίωση και την ανάπτυξη του *S. aureus* με τη μείωση της οψωνινοποίησης, της φαγοκυττάρωσης και της χημειοταξίας ουδετερόφιλων του ξενιστή. Επιπλέον μερικά μέλη της οικογένειας των SMIPP-Ss ( I1 και D1), καθώς και οι δύο σερπίνες SMSB3 και SMSB4 προώθησαν την ανάπτυξη του *S. pyogenes* in vitro (Mika και συν., 2012).

Μελέτες δείχνουν ότι πρωτεΐνες του παρασίτου με ανοσορυθμιστικές ιδιότητες που δεν έχουν χαρακτηριστεί ακόμα, ευνοούν την εισβολή του στο δέρμα του ξενιστή καταστέλλοντας διαδικασίες της φλεγμονής (έκκριση κυτοκινών, χημειοκινών και μορίων προσκόλλησης) που προωθούνται στα κύτταρα του δέρματος

(κερατινοκύτταρα, ινοβλάστες, ενδοθηλιακά κύτταρα) και παίζουν ρόλο στην εμφάνιση καθυστερημένης ανοσολογικής απόκρισης στην πρωτογενή μόλυνση με το *S. scabiei*. (Walton, 2010). Ειδικότερα, σε κυτταροκαλλιέργειες ανθρώπινων κερατινοκυττάρων και ινοβλαστών, βρέθηκε ότι μη ταυτοποιημένα συστατικά του *S. scabiei* var. *canis* μειώνουν την έκφραση του ανταγωνιστή του υποδοχέα της IL-1 (interleukin-1 receptor antagonist, IL-1ra) και αυξάνουν την έκκριση της IL-6, του αυξητικού παράγοντα του αγγειακού ενδοθηλίου (vascular endothelial cell growth factor, VEGF) και του διεγερτικού παράγοντα αποικιών κοκκιοκυττάρων (granulocyte colony stimulating factor, G-CSF) (Arliau και συν., 2003). Σε κυτταροκαλλιέργειες ανθρώπινων μικροαγγειακών ενδοθηλιακών κύτταρων, βρέθηκε ότι μη ταυτοποιημένα συστατικά του *S. scabiei* var. *canis* αναστέλλουν την έκφραση της E-selectin και του αγγειακού μορίου προσκόλλησης 1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1) ενώ μειώνουν την έκκριση της IL-8 (Elder και συν., 2006). Επιπρόσθετα, το παράσιτο μειώνει την έκκριση της IL-8 από τα κερατινοκύτταρα και τους ινοβλάστες και του GM-CSF από τους ινοβλάστες, ακόμα και παρουσία προφλεγμονώδων κυτοκινών (IL-1a, IL-1b, TNF-a και IL-17) (Mullins και συν., 2009). Σε ποντίκια που πρώτα είχαν ανοσοποιηθεί και στη συνέχεια μολυνθεί με τα ακάρεα, παρατηρήθηκε υποδιπλάσια αύξηση της IFN- $\gamma$  στα λεμφοκύτταρα του σπλήνα και των λεμφαδένων, σε σχέση με τα ανοσοποιημένα ποντίκια, γεγονός που υποδηλώνει ότι τα παράσιτα παράγουν πρωτεΐνες με ανασταλτική δράση στην παραγωγή της IFN- $\gamma$  (Lalli και συν., 2004).

Η αποτελεσματική ανοσολογική απόκριση του δέρματος στο παράσιτο ξεκινά με την κινητοποίηση των δενδριτικών αντιγονοπαραρυσιαστικών κυττάρων (APC) στην επιδερμίδα (LCs) και το χόριο (DCs) και στη συνέχεια με την ενεργοποίηση των T λεμφοκυττάρων και την έκκριση αντισωμάτων από τα B λεμφοκύτταρα στον άνθρωπο (Walton, 2007), στο σκύλο (Arliau και συν., 1996). Μετά από αυτό το στάδιο, υπάρχουν σημαντικές διαφορές στις αντιδράσεις του ξενιστή με βάση την ικανότητα του ανοσοποιητικού του συστήματος να ξεκινήσει μια αντίδραση υπερευαισθησίας. Αυτό εξαρτάται από προηγούμενη έκθεση του ξενιστή στο άκαρι και από τη σωστή λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος (Pence και Ueckermann, 2002).

## 1.8 Κλινικο-παθολογοανατομικές μορφές της σαρκοπτικής ψώρας

Τα συμπτώματα της σαρκοπτικής ψώρας στον άνθρωπο εμφανίζονται 4-8 εβδομάδες μετά την μόλυνση, συνέπεια των αντιδράσεων καθυστερημένης υπεραισθησίας. Επομένως, τα άτομα που έχουν προσβληθεί μπορούν να μεταδώσουν την ασθένεια για ένα μεγάλο χρονικό διάστημα πριν την διάγνωση. Η κύρια κλινική εικόνα οφείλεται στις σήραγγες που ορύσσει το παράσιτο σε χαρακτηριστικές περιοχές του σώματος, στο σοβαρό κνησμό που παρατηρείται ιδιαίτερα τη νύχτα, και δευτερευόντως στην παρουσία ενός μη ειδικού εξάνθηματος (Fischer και συν., 2012).

Έχουν αναγνωριστεί δύο κύριες μορφές της σαρκοπτικής ψώρας, η κλασική και η υπερκερατωτική ή νορβηγικού τύπου (Norwegian scabies). Στην πλειοψηφία των περιπτώσεων, η μόλυνση με το παράσιτο οδηγεί στη κλασική μορφή της σαρκοπτικής ψώρας όπου το παρασιτικό φορτίο είναι χαμηλό (περίπου 10-15 παράσιτα). Ο έντονος κνησμός, το ερύθημα και η δημιουργία φυσαλίδων, βλατίδων και φλυκταινών σχετίζονται άμεσα με τη δράση των παρασίτων. Επιπρόσθετα, ένα πιο εκτεταμένο εξάνθημα μπορεί να εμφανιστεί σε ποικίλες περιοχές του σώματος, που μπορεί να οφείλεται σε αντιδράσεις υπεραισθησίας λόγω της δημιουργίας ανοσοσυμπλόκων (Arlian, 1989).

Μία σοβαρή μορφή της σαρκοπτικής ψώρας στον άνθρωπο, είναι η υπερκερατωτική. Ο υπερκερατωτικός τύπος χαρακτηρίζεται από την έντονη υπερκεράτωση και την παρουσία μεγάλου παρασιτικού πληθυσμού (χιλιάδες ακάρεα) στο δέρμα του ξενιστή. Οι ασθενείς εμφανίζουν χαρακτηριστικές υπερκερατωτικές εφελκίδες που καλύπτουν εκτεταμένες περιοχές του δέρματος. Ο κνησμός ως κλινικό σύμπτωμα είναι ήπιος ή απουσιάζει. Έχουν αναφερθεί περιπτώσεις υπερκερατωτικής σαρκοπτικής ψώρας με χιλιάδες παράσιτα ανά gr δέρματος (Walton και συν., 2008). Λόγω του αυξημένου παρασιτικού φορτίου, οι ασθενείς είναι εξαιρετικά μολυσματικοί. Η υπερκερατωτική ψώρα προκαλείται από το ίδιο είδος παρασίτου υπεύθυνο για την κλασική μορφή της ψώρας ενώ η εξέλιξη σε αυτήν τη μορφή της ασθένειας δεν είναι συχνή (Center for Disease Control, 2010).

Τα άτομα που αποτυγχάνουν να ελέγξουν τη μόλυνση, αναπτύσσουν σοβαρή υπερκεράτωση που συνοδεύεται από υψηλό παρασιτικό φορτίο, αυξημένα επίπεδα ανοσοσφαιρινών και εωσινοφιλία. Η γενετική προδιάθεση που σχετίζεται με την ανθεκτικότητα στο *S. scabiei* στον άνθρωπο εξαρτάται από την έκκριση της IgE στην Th2 απόκριση και της ιντερφερόνης- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) στην Th1 απόκριση (Walton, 2010).

Στο περιφερικό αίμα ασθενών με υπερκερατωτική ψώρα, ανιχνεύθηκαν σε υψηλά επίπεδα οι IL-4, IL-5 και IL-13 και σε χαμηλότερα η IFN- $\gamma$ , σε σχέση με ασθενείς που έπασχαν από την κλασική μορφή της νόσου, γεγονός που υποστηρίζει την παρουσία Th2 ανοσολογικής απόκρισης στην υπερκερατωτική ψώρα, οδηγώντας στα υψηλά επίπεδα IgE και την αύξηση των σιτευτικών κυττάρων (Walton και συν., 2004). Οι ασθενείς με υπερκερατωτική ψώρα έχουν πολύ υψηλές συγκεντρώσεις ολικής ανοσοσφαιρίνης IgE και IgG, με Th2 ανοσολογική απόκριση στην μόλυνση ενώ ο κύριος υποπληθυσμός λεμφοκυττάρων που εντοπίζεται είναι των CD8<sup>+</sup> T κυττάρων, γεγονός που μπορεί να προκαλέσει απορυθμισμένη απόπτωση των κερατινοκυττάρων και επιδερμική υπερπλασία (Walton, 2010). Στη μελέτη των Roberts και συν., (2005) σε δείγμα 78 ασθενών, περισσότεροι από τους μισούς ασθενείς με υπερκερατωτική ψώρα είχαν σημαντική εωσινοφιλία (58%) και αυξημένα επίπεδα IgE (96%), με επίπεδα της IgE έως και 17 φορές πάνω από το φυσιολογικό.

Η υπερκερατωτική ψώρα (νορβηγικός τύπος) σχετίζεται με υποκείμενη ανοσοκαταστολή και συνήθως εμφανίζεται σε ανοσοκατεσταλμένα άτομα (Grabowski και συν., 2004). Κρούσματα υπερκερατωτικής ψώρας έχουν αναφερθεί σε ανθρώπους που έχουν μολυνθεί με τον HIV (Ramachandran και συν., 2008), τον T-λεμφοτρόπο ιό τύπου 1 (HTLV-1) (Blas και συν., 2005) ή που λαμβάνουν ανοσοκατασταλτική φαρμακευτική αγωγή μετά από μεταμόσχευση οργάνων (Samrathkumar και συν., 2010), σε ηλικιωμένους (Chan και συν., 2000), σε παιδιά με σύνδρομο Down (Fonseca και συν., 2014) ή παραπληγία (Erbil και συν., 2007). Όμως, έχουν καταγραφεί και περιπτώσεις σε άτομα με φυσιολογικό ανοσοποιητικό σύστημα (Walton και συν., 2004). Το γεγονός ότι εμφανίζεται συχνά σε οικογένειες υποδεικνύει την ύπαρξη γενετικής προδιάθεσης (Roberts και συν., 2005).

Στο χοίρο, η υπερκερατωτική ψώρα αφορά συνήθως μικρό αριθμό ενήλικων ζώων στις εκτροφές και οι αλλοιώσεις εντοπίζονται κυρίως στα αυτιά, στο λαιμό και τα κάτω άκρα ενώ περιέχουν μεγάλο αριθμό παρασίτων (Goyena και συν., 2013). Η

σοβαρότητα της νόσου σχετίζεται με την αυξημένη έκφραση των Th2 κυτοκινών IL-4 και IL-13 και των Th17 κυτοκινών IL-17 και IL-23 (Mounsey και συν., 2015).

Όσον αφορά στο σκύλο και στη γάτα, έχουν αναφερθεί μεμονωμένες περιπτώσεις υπερκερατωτικής ψώρας (Gross και συν., 2005). Ειδικότερα, για τις γάτες, το νόσημα χαρακτηρίζεται από ελάχιστο ή καθόλου κνησμό ενώ συνήθως προέρχεται από την επαφή με μολυσμένους σκύλους ή αλεπούδες (Malik και συν., 2006).

Η υπερκερατωτική ψώρα παρατηρείται πιο συχνά σε άγρια ζώα (Pence και Ueckermann, 2002). Σε νυκτερευτές (*Nyctereutes procyonoides*) με υπερκερατωτική ψώρα, η μόλυνση χαρακτηρίζονταν από υψηλά ποσοστά θνησιμότητας λόγω σηψαιμίας (Nakagawa και συν., 2009).

Δεν υπάρχουν μέχρι σήμερα δημοσιεύσεις σχετικά με την διάγνωση περιστατικών υπερκερατωτικής ψώρας στα πρόβατα και στις αίγες (Δούκας, 2014).

## 1.9 Μακροσκοπικές αλλοιώσεις της σαρκοπτικής ψώρας

Οι κυριότερες μακροσκοπικές δερματικές αλλοιώσεις της σαρκοπτικής ψώρας διακρίνονται στις εξής:

1. στις πρωτογενείς αλλοιώσεις, που είναι οι σήραγγες και οι φυσαλίδες και συνδέονται άμεσα με την παρουσία ακάρεων. Οι σήραγγες ακολουθούν μια σιγμοειδή πορεία, μήκους περίπου 5-15mm, ενώ διαβρώσεις, αιμορραγικές εφελκίδες και αλωπεκία ακολουθούν τις αρχικές αλλοιώσεις (Bornstein και συν., 2001).

2. στις δευτερογενείς αλλοιώσεις οι οποίες είναι αποτέλεσμα του κνησμού, της αλλεργικής ευαισθητοποίησης του ατόμου καθώς και των δευτερογενών λοιμώξεων των βλαβών του δέρματος (Walton και Currie, 2007).

Σε άτομα ικανά για απόκριση υπερευαισθησίας, οι αρχικές αλλοιώσεις γίνονται εξαιρετικά κνησμώδεις, ενώ παρατηρείται υπερκεράτωση, αλωπεκία και φλεγμονή στην επιδερμίδα (Bornstein και συν., 2001). Καθώς η νόσος εξελίσσεται, το δέρμα γίνεται παχύτερο λόγω της υπερκεράτωσης, παρουσιάζει πτυχώσεις και αλωπεκία. Καθώς ο κνησμός εντείνεται, μειώνεται ο αριθμός των παρασίτων στον ξενιστή, αλλά προκαλούνται αυτοτραυματικές αλλοιώσεις που οδηγούν σε δευτερογενείς μολύνσεις (Pence και Ueckermann 2002).

Στα παραγωγικά ζώα η εντόπιση των μακροσκοπικών αλλοιώσεων της σαρκοπτικής ψώρας ποικίλλει. Στους χοίρους με σαρκοπτική ψώρα, οι



μακροσκοπικές αλλοιώσεις εντοπίζονται κυρίως στο ρύγχος, στο πτερύγιο των αυτιών και στην κοιλιακή χώρα (Sheahan, 1975). Στην πρόσφατη μελέτη των Goyena και συν., (2013), η κατανομή των αλλοιώσεων της σαρκοπτικής ψώρας στο χοίρο αφορούσε στα αυτιά και την κεφαλή ενώ δεν εντοπίστηκε στην εσωτερική πλευρά των άκρων και στους μαστικούς αδένες.

Στα βοοειδή, οι μακροσκοπικές αλλοιώσεις παρατηρούνται στην κεφαλή, στην ωμοπλατιαία χώρα και στη ράχη (Visser και συν., 2013). Στο πρόβατο οι αλλοιώσεις εντοπίζονται στο επιρρίνιο, στο άνω χείλος και γύρω από τους μυκτήρες, στα άκρα, στα πτερύγια των αυτιών και το όσχεο (Fthenakis και συν., 2001; Δούκας, 2014).

Στην αίγα, οι αλλοιώσεις εντοπίζονται πιο συχνά στο κεφάλι, αλλά μπορούν να αναπτυχθούν και σε οποιαδήποτε άλλη περιοχή του δέρματος (Menzano και συν., 2007; Δούκας, 2014). Στη μελέτη των Asghar και συν., (2011) ακάρεα απομονώθηκαν σε μεγάλα ποσοστά από τις περιοχές του επιρρίνιου και των αυτιών αιγών με σαρκοπτική ψώρα.

Η σαρκοπτική ψώρα σε μεμονωμένα ζώα φαίνεται να είναι αυτοπεριοριζόμενη στις αίγες, ενώ στα περισσότερα αναπτύσσεται εκτεταμένη δερματοπάθεια περιοφθαλμικά, στα πτερύγια των αυτιών, στο λαιμό, στο θώρακα, στη ράχη, στο μαστό και το όσχεο (Smith και Sherman, 2009).

## **1.10 Ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις της σαρκοπτικής ψώρας**

Στην μελέτη των Elwood και συν., (2015), στον άνθρωπο, τα ιστοπαθολογικά ευρήματα του συνήθους τύπου σαρκοπτικής ψώρας ήταν η σπογγίωση, η υπερκεράτωση, η ακάνθωση, ο αυξημένος αριθμός εωσινοφίλων, ουδετερόφιλων και λεμφοκυττάρων και το οίδημα του χορίου ενώ παρατηρήθηκαν επίσης μικροθρόμβοι στα αγγεία του χορίου. Το ιστοπαθολογικό εύρημα που χαρακτηρίζει τον υπερκερατωτικό τύπο, είναι ο μεγάλος αριθμός παρασίτων που εντοπίζονται στην επιδερμίδα σε περισσότερα επίπεδα, συνήθως σε οροκυτταρικές εφελκίδες. Η κατανομή του φλεγμονώδους διηθήματος στο χόριο είναι διάχυτη και αποτελείται σχεδόν εξολοκλήρου από λεμφοκύτταρα με κύριο χαρακτηριστικό την παρουσία μεμονωμένων εωσινόφιλων (Pence και συν., 2002).

Τα ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά των αλλοιώσεων της σαρκοπτικής ψώρας στην επιδερμίδα και στο χόριο στα υπόλοιπα θηλαστικά είναι συνήθως παρόμοια με εκείνα που αναφέρονται στον άνθρωπο με χαρακτηριστική την περίπτωση του χοίρου

όπου το φλεγμονώδες διήθημα περιέχει εωσινόφιλα σε αφθονία. Το εύρημα αυτό συνάδει με την παρατήρηση ότι στους χοίρους οι αλλεργικές αντιδράσεις και οι αντιδράσεις καθυστερημένης φάσης συμβαίνουν ταυτόχρονα. Ο Sheahan (1975) ανέφερε ότι το φλεγμονώδες διήθημα της επιδερμίδας φυσικών περιστατικών και πειραματικά μολυσμένων χοίρων με το *S.scabiei* περιείχε κυρίως ουδετερόφιλα και εωσινόφιλα κοντά στις σήραγγες που ορύσσει το παράσιτο. Τα πειραματικά και φυσικά μολυσμένα ζώα είχαν παρόμοιες κυτταρικές διηθήσεις μετά από 7 εβδομάδες μόλυνσης. Τα ουδετερόφιλα και τα εωσινόφιλα εντοπίζονταν στην επιδερμίδα ενώ διάχυτες διηθήσεις που αποτελούνταν κυρίως από εωσινόφιλα και μονοπύρηνια ήταν συχνές στο χόριο. Επιπρόσθετα, πολυάριθμα ιστοκύτταρα εντοπίζονταν γύρω από μικρού μεγέθους αγγεία του χορίου στις χρόνιες αλλοιώσεις με υπερκεράτωση.

Στη πειραματική μόλυνση σε νεογέννητα χοιρίδια των Morsy και Gaafar (1989), τα κύτταρα που έκκριναν IgG αυξήθηκαν σημαντικά ακολουθούμενα από τα κύτταρα που έκκριναν IgM και IgA. Τα κύτταρα που έκκριναν IgM κυριαρχούσαν σε μεγαλύτερης ηλικίας χοίρους. Τα αποτελέσματα της μελέτης υποδεικνύουν ότι το φλεγμονώδες διήθημα περιείχε πλασμοκύτταρα που έκκριναν αντισώματα. Η ιστοπαθολογική μελέτη των Goyena και συν. (2013) σε χοίρους με σαρκοπτική ψώρα, έδειξε την παρουσία παρασίτων και φλεγμονώδους διηθήματος που αποτελούνταν από λεμφοκύτταρα, ουδετερόφιλα και εωσινόφιλα.

Στο σκύλο, οι κύριες ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις του συνήθους τύπου σαρκοπτικής ψώρας στην επιδερμίδα είναι: ορθοκερατωτική και παρακερατωτική υπερκεράτωση, μέτρια έως έντονη ακάνθωση και σπογγίωση, οροκυτταρικές εφελκίδες και ενδοεπιδερμικά αποστημάτια. Επίσης, στην κερατίνη στιβάδα εντοπίζονται συνήθως ακάρεα ή αυγά. Σε περιοχές της επιδερμίδας στις οποίες δεν εντοπίζονται ακάρεα, παρατηρείται ακάνθωση, ήπια σπογγίωση και ορθοκερατωτική υπερκεράτωση ενώ οι εστίες παρακερατωτικής υπερκεράτωσης είναι σπάνιες (Morris και συν., 1996). Στο χόριο, το φλεγμονώδες διήθημα αποτελείται κυρίως από εωσινόφιλα πολυμορφοπύρηνια, λεμφοκύτταρα (συχνά περιαγγειακά) καθώς και λίγα ιστοκύτταρα. Μπορεί να υπάρχει ήπιο έως μέτριο οίδημα. Ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρηνια και πλασμοκύτταρα μπορεί να κυριαρχούν στο φλεγμονώδες διήθημα σε βιοψίες από θέσεις με επιδερμικές διαβρώσεις. Συχνά παρατηρείται υπερπλασία των σμηγματογόνων αδένων και διάταση των αποκρινών αδένων, που συνδέονται επίσης με χρόνια αυτοτραυματισμό (Gross και συν., 2005).

Οι ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις στο δέρμα αιγών με σαρκοπτική ψώρα περιλαμβάνουν εφελκίδες με σημαντικό αριθμό παρασίτων, έντονο οροκυτταρικό εξίδρωμα, ορθοκερατωτική υπερκεράτωση, παρακερατωτική υπερκεράτωση (παρακεράτωση), ακάνθωση, ακανθόλυση, επιδερμικά αποστημάτια, οίδημα και παρουσία φλεγμονώδων διηθήσεων στο χόριο. Οι αλλοιώσεις των ευαισθητοποιημένων αιγών οι οποίες διαφέρουν ποιοτικά σε σχέση με εκείνες των μη ευαισθητοποιημένων αιγών, αναπτύσσονται πιο γρήγορα, και χαρακτηρίζονται από την παρουσία οροκυτταρικού εξιδρώματος στην επιδερμίδα και εωσινοφιλικών διηθήσεων στο χόριο (Tarigan, 2003). Οι αλλοιώσεις των μη ευαισθητοποιημένων αιγών αναπτύσσονται με βραδύτερο ρυθμό και καταλήγουν σε σοβαρή σαρκοπτική ψώρα που εντοπίζεται σε όλο το σώμα (Tarigan, 2002).

Κατά τους Ahmad και συν. (1990), η ιστοπαθολογική εξέταση του δέρματος αιγών με σαρκοπτική ψώρα στα αρχικά στάδια της μόλυνσης δείχνει μέτρια ποσότητα εξιδρώματος, εστιακή υπερκεράτωση και υπερπλασία της επιδερμίδας και μέτρια εστιακή διήθηση μονοκύτταρων στο επιπολής χόριο. Οι ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις όπως η υπερκεράτωση (ορθοκερατωτική και παρακερατωτική) και η ακάνθωση γίνονται πιο έντονες με την εξέλιξη της νόσου.

Σύμφωνα με τον Tarigan (2003), το φλεγμονώδες διήθημα στο δέρμα αιγών με σαρκοπτική ψώρα αποτελείται κυρίως από μακροφάγα και λεμφοκύτταρα με διάχυτη κατανομή, ενώ παρατηρείται υπερπλασία των σμηγματογόνων αδένων. Επιπρόσθετα, παράσιτα εντοπίζονται σε σήραγγες, μέσα στο εξίδρωμα, αλλά και βαθύτερα στην κεράτινη στιβάδα της επιδερμίδας.

## 1.11 Κυτταρική ανοσία - Ανοσοφαινότυπος δερματικών αλλοιώσεων της σαρκοπτικής ψώρας

Στον άνθρωπο, οι αντιδράσεις της κυτταρικής ανοσίας στα αντιγόνα του *S. scabiei* χαρακτηρίζεται από ένα μεικτό φλεγμονώδες διήθημα το οποίο αποτελείται από λεμφοκύτταρα (κυρίως Τ κύτταρα και σε μικρότερο βαθμό Β κύτταρα) πλασμοκύτταρα, ιστιοκύτταρα (μακροφάγα), εωσινόφιλα και ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα στο χόριο, στη χόριο-επιδερμική σύνδεση και τις περιαγγειακές περιοχές. Το φλεγμονώδες διήθημα αρχικά αποτελείται από λίγα κύτταρα τα οποία πληθαίνουν όλο και περισσότερο με την πάροδο του χρόνου και την ένταση της μόλυνσης. Το φλεγμονώδες διήθημα αναπτύσσεται αρχικά περιαγγειακά και στη συνέχεια εξαπλώνεται μέσα στο χόριο και την επιδερμίδα (Falk και Eide, 1981; Falk και Matre, 1982).

Είναι προφανές ότι οι σχετικές αναλογίες κάθε τύπου κυττάρου στο φλεγμονώδες διήθημα ποικίλλουν σημαντικά μεταξύ των διαφορετικών μελετών και μεταξύ διαφορετικών ασθενών που συμμετείχαν στις μελέτες. Οι διαφορές στην αναφερόμενη σύνθεση του φλεγμονώδους διηθήματος πιθανώς να αντικατοπτρίζουν τους διαφορετικούς τύπους υπερευαισθησίας μεταξύ των ασθενών, τη χρονική διάρκεια της μόλυνσης από το άκαρι, τη θέση της βλάβης όπου εξετάστηκε η διήθηση (π.χ. επιδερμίδα, χοριο-επιδερμική σύνδεση, χόριο, περιαγγειακή περιοχή κλπ), τις διαφορές στις ηλικίες των ασθενών (π.χ. ηλικιωμένοι, ανοσοκατασταλμένοι) (Falk και Eide, 1981).

Ειδικότερα, το φλεγμονώδες διήθημα σε χρόνιες αλλοιώσεις της σαρκοπτικής ψώρας φαίνεται να συνίσταται κυρίως από μονοπύρρηνα κύτταρα (πιθανώς Τ κύτταρα), μακροφάγα και πλασμοκύτταρα. Τα αρχικά στάδια των αντιδράσεων της κυτταρικής ανοσίας περιέχουν περισσότερα ουδετερόφιλα ενώ οι διηθήσεις των αντιδράσεων της όψιμης φάσης περιέχουν εωσινόφιλα (Falk και Matre, 1982).

Οι Van Neste και Lachapelle (1981) αναφέρουν ότι οι βιοψίες της υπερκερατωτικής σαρκοπτικής ψώρας χαρακτηρίζονται από πυκνές κυτταρικές διηθήσεις λεμφοκυττάρων και ιστιοκυττάρων στην χοριο-επιδερμική σύνδεση. Οι βιοψίες δέρματος αβορίγιων της Αυστραλίας με υπερκερατωτική σαρκοπτική ψώρα έδειξαν μεγάλους αριθμούς λεμφοκυττάρων και εωσινόφιλων στο χόριο.

Επιπρόσθετα, υπήρχε ισχυρή παρουσία T λεμφοκυττάρων (CD45+, CD3+) ενώ δεν εντοπίστηκε κανένα B κύτταρο και μόνο παροδικά ανευρίσκονταν μακροφάγα.

Σε άλλη μελέτη της υπερκερατωτικής σαρκοπτικής ψώρας, ανιχνεύτηκαν σημαντικά μεγαλύτεροι αριθμοί κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων (CD8+) σε σύγκριση με το ελάχιστο αριθμό T βοηθητικών λεμφοκυττάρων (CD4+) στο φλεγμονώδες διήθημα. Επίσης, παρατηρήθηκε έντονη ανοσοχρώση για την φλεγμονώδη κυτοκίνη IL-1 $\beta$  και την αντιφλεγμονώδη κυτοκίνη TGF- $\beta$ 1, ενώ δεν ανιχνεύτηκαν οι κυτοκίνες IRAP, IL-10 και TNF- $\alpha$ . (Walton και συν., 2008).

Όσο αφορά τον σκύλο, η μελέτη των Stemmer και συν., (1996) έδειξε ότι κατά την ευαισθητοποίηση, τα κύτταρα της επιδερμίδας και του χορίου που εξέφραζαν τους δείκτες MHC τάξης II, CD1a, CD3, CD4, CD8, CD11c και CD45A αυξήθηκαν σημαντικά. Οι συγκεντρώσεις των κυττάρων που εξέφραζαν τα αντιγόνα που αναφέρθηκαν προηγουμένως μειώθηκαν σημαντικά κατά τη διάρκεια της θεραπείας και της ανάρρωσης. Λίγα B λεμφοκύτταρα εντοπίστηκαν στις αλλοιώσεις της σαρκοπτικής ψώρας. Οι κυτταρικές διηθήσεις περιείχαν πολλά T λεμφοκύτταρα που περιελάμβαναν τους υποπληθυσμούς CD4+ και CD8+ ενώ τα κύτταρα Langerhans συμμετείχαν ενεργά στους μηχανισμούς ανοσολογικής απόκρισης (Stemmer και συν., 1996).

Τα αποτελέσματα της μελέτης των Arlian et al (1996b) στο σκύλο, έδειξαν ότι δεν υπήρχαν κύτταρα που να εκφράζουν το δείκτη CD21 στην επιδερμίδα ενώ ελάχιστα CD21+ λεμφοκύτταρα ανιχνεύτηκαν στο χόριο κατά την διάρκεια και των δυο πειραματικών μολύνσεων. Ανώριμα T (CD45RA+) και κυτταροτοξικά (CD8+) λεμφοκύτταρα ήταν παρόντα σε ποικίλες πυκνότητες στο φλεγμονώδες διήθημα στην επιδερμίδα, στο χόριο και στο επιθήλιο των τριχικών θυλάκων, χωρίς σημαντικές διαφορές ως προς την πυκνότητα και την συχνότητα εμφάνισης κατά τις δύο πειραματικές μολύνσεις. Τα CD4+ λεμφοκύτταρα ήταν άφθονα με διακυμάνσεις στο φλεγμονώδες διήθημα της επιδερμίδας, του χορίου και του τριχικού θύλακα κατά την πρωτογενή πειραματική μόλυνση (φάση ευαισθητοποίησης) ενώ αποτελούσαν τον κυρίαρχο τύπο κυττάρων νωρίς κατά την επαναμόλυνση. Η πυκνότητα των CD4+ κυττάρων στο φλεγμονώδες διήθημα ήταν μεγαλύτερη κατά την επαναμόλυνση σε σύγκριση με την πρωτογενή μόλυνση. Ο αυξημένος αριθμός των CD4+ λεμφοκυττάρων κατά την διάρκεια της επαναμόλυνσης αναδεικνύει τον σημαντικό τους ρόλο στην πετυχημένη ανοσολογική απόκριση η οποία οδήγησε στην ανθεκτικότητα του ξενιστή στη μόλυνση με το παράσιτο.

Οι φασκωλόμυες (*wombats*, *Vombatus ursinus*) με σοβαρή σαρκοπτική ψώρα παρουσίασαν σημαντική φλεγμονώδη κυτταρική απόκριση στο επιπολής χόριο. Πιο συγκεκριμένα, υπήρχαν πολλά ουδετερόφιλα, εωσινόφιλα, T λεμφοκύτταρα και ιστιοκύτταρα, ενώ σποραδικά εντοπίζονταν B λεμφοκύτταρα και πλασμοκύτταρα. Για τους φασκωλόμυς που μολύνθηκαν πειραματικά με το *S. scabiei* (μολυσματική δόση: 1000-5000 παράσιτα) υπήρχε μια φάση επαγωγής, η οποία χαρακτηριζόταν από την απουσία φλεγμονώδους διηθήματος για τουλάχιστον 12 ημέρες μετά την μόλυνση. Υπήρχε μια σημαντική αύξηση των T λεμφοκυττάρων και των πλασμοκυττάρων στο χόριο σε σχέση με τους μάρτυρες. Τα ουδετερόφιλα, τα εωσινόφιλα και τα ιστιοκύτταρα αυξήθηκαν, αλλά αυτή η αύξηση δεν ήταν στατιστικά σημαντική συγκρινόμενη με τους μάρτυρες. Τα T λεμφοκύτταρα ήταν παρόντα με ένα σχετικά μεγάλο ποσοστό της φλεγμονώδους απόκρισης τόσο στα φυσικά περιστατικά με σαρκοπτική ψώρα, όσο και σε αυτά που μολύνθηκαν με το *S. scabiei* πειραματικώς, γεγονός που αντανάκλα την ανάπτυξη των αντιδράσεων καθυστερημένης υπερευαισθησίας τύπου IV. Στους φασκωλόμυς που ζουν στη φύση με σοβαρή υπερκεράτωση, εντοπίστηκαν εωσινόφιλα, υποδεικνύοντας ότι οι αντιδράσεις άμεσης υπερευαισθησίας τύπου I μπορεί να αναπτύσσονται μετά την απόκριση τύπου IV. Η απουσία πλασμοκυττάρων και B λεμφοκυττάρων στα *wombats* που ζουν στη φύση με σοβαρή υπερκερατωτική σαρκοπτική ψώρα έρχεται σε αντίθεση με τον εντοπισμό τους σε *wombats* που μολύνθηκαν πειραματικά με το *S. scabiei*, γεγονός που υποδηλώνει την πιθανότητα ανάπτυξης ανοσολογικής ανοχής και μείωση της χυμικής ανοσίας (Skerratt, 2003).

Η ανοσοϊστοχημική μελέτη του μολυσμένου δέρματος των σαμουά (*Rupicapra rupicapra* L.) με το *S. scabiei* έδειξε ότι το φλεγμονώδες διήθημα αποτελούνταν από μακροφάγα, CD3+ λεμφοκύτταρα, σιτευτικά κύτταρα και ινοβλάστες (Rode και συν., 1998).

Η μόλυνση με το *S. scabiei* προκάλεσε μια σημαντική αύξηση στον αριθμό των σιτευτικών κυττάρων στο χόριο του δέρματος νυκτερευτών (*raccoon dogs*, *Nyctereutes procyonoides*) με σαρκοπτική ψώρα (Noviana και συν., 2004).

## 1.12 Χυμική ανοσία στη σαρκοπτική ψώρα

Αρκετές μελέτες έχουν ανιχνεύσει ανοσοσφαιρίνες και εναποθέσεις συμπληρώματος στις δερματικές αλλοιώσεις και στους ορούς αίματος ασθενών ανθρώπων με σαρκοπτική ψώρα. Στις μελέτες του Falk (1980) και των Morsy και συν., (1993) οι ασθενείς με σαρκοπτική ψώρα είχαν αυξημένα επίπεδα ολικής IgE, IgM και IgG και σχετικά χαμηλά επίπεδα IgA. Οι αλλαγές που παρατηρούνται στις IgG, IgM και IgE είναι το αποτέλεσμα της δράσης της χυμικής ανοσίας στο παράσιτο και στα μεταβολικά προϊόντα του ή σε δευτερογενείς μολύνσεις που αναπτύσσονται. Η μείωση της IgA πιθανόν να οφείλεται στην παρέμβαση του παρασίτου στην σύνθεση της. Στη μελέτη των Walton και συν., (2008) σε ιθαγενείς αβορίγινες της Αυστραλίας με υπερκερατωτική σαρκοπτική ψώρα, παρατηρήθηκαν αυξημένη IgG ( $> 30 \text{ g L}^{-1}$ ) και πολύ υψηλά επίπεδα συνολικής IgE ( $> 100.000 \mu\text{g L}^{-1}$ ) στο αίμα. Επίσης, έχει ανιχνευτεί C3 σε ασθενείς με τυπική και υπερκερατωτική σαρκοπτική ψώρα (Frentz και συν., 1977; Hoefling και Schroeter, 1980; Van Neste και Lachapelle, 1981).

Στη μελέτη των Arlian και συν., (1996b) σκύλοι που μολύνθηκαν με το *S. scabiei* var. *canis* παρουσίασαν αυξημένες συγκεντρώσεις ολικής ανοσοσφαιρίνης, IgG και IgM.

Στη μελέτη του Sheahan (1975) οι πειραματικώς μολυσμένοι χοίροι με το *S. scabiei* είχαν αυξημένα επίπεδα γ ανοσοσφαιρίνης στο αίμα μετά από 7 εβδομάδες μόλυνσης.

Στη μελέτη των Rodriguez-Cadenas και συν., (2010) μετρήθηκαν οι IgG και IgE του ορού προβάτων μετά από πρωτογενή και δευτερογενή μόλυνση με *Sarcoptes scabiei* var. *ovis*. Η πρωτογενής μόλυνση χαρακτηρίστηκε από την ανάπτυξη δερματικών αλλοιώσεων σε όλα τα πρόβατα, την ανίχνευση ακάρεων στο 70% των ξεσμάτων και αυξημένα επίπεδα IgG και μέτρια αλλά συνεχόμενη αύξηση της IgE. Η ορομετατροπή των IgG και IgE ανιχνεύτηκε με ELISA στο 90% και 60% των προβάτων 8 εβδομάδες μετά την μόλυνση. Κατά την επαναμόλυνση, τα πειραματόζωα ανέπτυξαν μικρότερες σε έκταση δερματικές αλλοιώσεις ενώ παράσιτα δεν ανιχνεύτηκαν 8 ημέρες μετά την μόλυνση, υποδεικνύοντας την ανάπτυξη ανοσίας. Σε σύγκριση με την πρωτογενή μόλυνση, η αύξηση της IgG ήταν παροδική ενώ τα επίπεδα της IgE την δεύτερη εβδομάδα ήταν υψηλότερα.

Σε πειραματική μόλυνση προβάτων με το *S. scabiei*, παρατηρήθηκε προοδευτική αύξηση των ανοσοσφαιρινών IgG, καθώς οι αλλοιώσεις επεκτείνονταν και το νόσημα γινόταν χρόνια (Δούκας, 2014).

Σε πειραματική μόλυνση αιγών με το *S. scabiei*, η παραγωγή ειδικής για το παράσιτο IgG έλαβε χώρα 30 ημέρες μετά την πρώτη μόλυνση ενώ η μέγιστη ποσότητα της IgG παρατηρήθηκε τη 50<sup>η</sup> ημέρα μετά την μόλυνση. Τα επίπεδα της IgE αυξήθηκαν με αργό ρυθμό κατά την πρώτη μόλυνση και μειώθηκαν άμεσα μετά την χορήγηση θεραπευτικής αγωγής με ivermectin. Στη δεύτερη και τρίτη επαναμόλυνση, όμως, τα επίπεδα της IgE αυξήθηκαν σε μεγαλύτερο βαθμό και με μεγαλύτερη ταχύτητα (Tarigan, 2004).

Στη μελέτη των Tarigan και Huntley (2005) αξιολογήθηκε η ανοσολογική απόκριση που αναπτύσσεται σε αίγες μετά από την ανοσοποίηση τους με διαλυτές πρωτεΐνες του *S. scabiei*. Η πειραματική μόλυνση προκάλεσε σαρκοπτική ψώρα σε όλα τις αίγες ενώ δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στην σοβαρότητα των δερματικών αλλοιώσεων μεταξύ εμβολιασμένων και μη εμβολιασμένων πειραματόζωων. Ο εμβολιασμός με τα κλάσματα των πρωτεϊνών του παρασίτου είχε σαν αποτέλεσμα την υψηλή συγκέντρωση IgG στον ορό όλων των αιγών αλλά απέτυχε να επάγει την έκκριση της IgE, όπως προσδιορίστηκε με Elisa. Η απουσία ανάπτυξης ανοσίας στα εμβολιασμένα ζώα σύμφωνα με τους ερευνητές μπορεί να οφειλόταν στην απουσία της προστατευτικής δράσης της IgE.



### 1.13 Παράγοντες που επηρεάζουν την ανοσολογική απόκριση του ξενιστή

Σε φυσικό περιβάλλον με υψηλές θερμοκρασίας και συχνές βροχοπτώσεις όπου ευνοείται η ανάπτυξη πλούσιας βλάστησης και επομένως καλύτερης ποιότητας ζωοτροφής, παρατηρήθηκε χαμηλός επιπολασμός της σαρκοπτικής ψώρας λόγω της **καλύτερης θρέψης** των ζώων (Ogundiyi και συν., 2012). Άλλωστε οι Radostitis και συν., (2000) αναφέρουν ότι η σαρκοπτική ψώρα συνοδεύεται με κακή διατροφή καθώς και διαχειριστικά σφάλματα των παραγωγικών ζώων.

Επίσης, οι Yakhchali και Hosseine (2006) έδειξαν ότι τα περισσότερα κρούσματα σαρκοπτικής ψώρας στα πρόβατα και τις αίγες σε σχέση με την **εποχή**, καταγράφονταν το χειμώνα λόγω της στενής επαφής των ζώων στο στάβλο. Στα σαμουά, ο μέγιστος αριθμός ζώων με ορατές δερματικές αλλοιώσεις της σαρκοπτικής ψώρας παρατηρήθηκε το χρονικό διάστημα Φεβρουάριου με Μάιο ενώ κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού και ειδικότερα τον Αύγουστο και τον Σεπτέμβριο βρέθηκαν οι λιγότερες περιπτώσεις σαρκοπτικής ψώρας σε σαμουά στον Βασκικό κόλπο της Β.Δ Ισπανίας (Fernández-Morán και συν., 1997). Η επιδημιολογική μελέτη των Rossi et al (2007) έδειξε ότι τον Ιανουάριο και τον Φεβρουάριο είχαν το μέγιστο αριθμό κρουσμάτων σαρκοπτικής ψώρας σε σαμουά στην Άλπεις της Β.Α Ιταλίας.

Τα αποτελέσματα της μελέτης των Sarasa και συν., (2010) έδειξαν ότι το **φύλο** επηρέασε την απόκριση της IgG του ιβηρικού αίγαγρου (*Capra pyrenaica*, Schinz 1838) στο *Sarcoptes scabiei*. Πιο συγκεκριμένα, τα θηλυκά είχαν υψηλότερες συγκεντρώσεις IgG στον ορό αίματος κατά την πρωτογενή μόλυνση και την επαναμόλυνση σε σχέση με τα αρσενικά. Επίσης, τα επίπεδα της IgG των αρσενικών που είχαν ξαναεκτεθεί στο παράσιτο ήταν χαμηλότερα σε σχέση με τα αρσενικά μάρτυρες.

Οι Pérez et al (2011) μελέτησαν τη σχέση μεταξύ της επιφάνειας των αλλοιώσεων της σαρκοπτικής ψώρας και **του παρασιτικού φορτίου** στον ιβηρικό αίγαγρο, λαμβάνοντας υπόψη την ηλικία, το φύλο και την ημερομηνία αιχμαλωσίας. Η εκτιμώμενη επιφάνεια του δέρματος με αλλοιώσεις ήταν αποτελεσματικός δείκτης για την πρόβλεψη του παρασιτικού φορτίου. Σε όλες τις εποχές το παρασιτικό φορτίο αυξήθηκε, καθώς αυξήθηκε και η επιφάνεια του δέρματος με τις αλλοιώσεις. Αίγαγροι με παρόμοια έκταση αλλοιώσεων είχαν μεγαλύτερο παρασιτικό φορτίο την

άνοιξη (π.χ για ένα ζώο με αλλοιώσεις στο 75% του δέρματος του, το παρασιτικό φορτίο ήταν 4.4 φορές μεγαλύτερο την άνοιξη σε σχέση με τις υπόλοιπες εποχές).

Τα αποτελέσματα της μελέτης των Sarasa και συν., (2010) στον ιβηρικό αίγαγρο (*Capra pyrenaica*, Schinz 1838) έδειξαν ότι η **προηγούμενη έκθεση** αύξησε την απόκριση της IgG στην μόλυνση με το *Sarcoptes scabiei*. Σε σκύλους, η επαναμόλυνση προκάλεσε ταχύτερες αποκρίσεις των ουδετερόφιλων, των πλασμοκυττάρων και των σιτευτικών κυττάρων σε σχέση με την φάση ευαισθητοποίησης (Arlian και συν., 1996). Στη μελέτη του Bornstein (1991) όταν 6 σκύλοι πειραματόζωα φυλής Beagle επαναμολύνθηκαν με ακάρεα από άγριες κόκκινες αλεπούδες (*Vulpes vulpes*) 2 μήνες μετά την πρωτογενή μόλυνση, ο χρόνος επώασης μειώθηκε στις 3 ημέρες σε σύγκριση με τις 6-13 ημέρες επώασης της πρωτογενούς μόλυνσης. Επίσης, πρόβατα που επαναμολύνθηκαν για δεύτερη φορά με το *S. scabiei* παρουσίασαν μικρότερης σοβαρότητας δερματικές αλλοιώσεις (Rodriguez-Cadenas και συν., 2010). Τέλος, σε κουνέλια, μετά την επαναμόλυνση με το παράσιτο, παρατηρήθηκε ταχύτερη στρατολόγηση των ουδετερόφιλων (Arlian και συν., 1994).

## 1.14 Διάφορες επιδράσεις της σαρκοπτικής ψώρας στα ζώα

### 1.14.1 Ανάπτυξη και αναπαραγωγική ικανότητα

Τα παράσιτα μπορεί να μειώσουν την διαθεσιμότητα των θρεπτικών συστατικών εξαιτίας της μείωσης της απορρόφησης τους και της πρόσληψης τροφής. Χοίροι με σαρκοπτική ψώρα είχαν μικρότερο ρυθμό ανάπτυξης σε σχέση με τους υγιείς (Davies, 1995) ενώ βοοειδή με σαρκοπτική ψώρα είχαν χαμηλότερο σωματικό βάρος, χαμηλότερη μέση αύξηση του σωματικού βάρους, μικρότερη απόδοση μετατροπής της τροφής καθώς και αυξημένο βάρος επινεφριδίων και λεμφαδένων (προωμοπλατταίοι και μηριαίοι) (Rehbein και συν., 2003). Επιπρόσθετα, η μελέτη των Serrano και συν., (2007) έδειξε ότι η σαρκοπτική ψώρα έχει αρνητική επίδραση στην σκελετική ανάπτυξη. Πιο συγκεκριμένα, βρέθηκε ότι οι ιβηρικοί αίγαγροι (*Capra pyrenaica*) με σαρκοπτική ψώρα είχαν μικρότερου μεγέθους μετατάρσια οστά και αργό ρυθμό οστεοποίησης.

Στην μελέτη των Fthenakis και συν., (2001) παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στο συνολικό αριθμό αρνιών που γεννήθηκαν από προβατίνες με σαρκοπτική ψώρα (μολυσμένες προβατίνες 1.2; υγιείς μάρτυρες 1.6), στο συνολικό αριθμό αρνιών που επέζησαν μετά τη γέννα (μολυσμένες προβατίνες 1.2; υγιείς μάρτυρες 1.5) και στο βάρος των νεογέννητων αρνιών (από μολυσμένες προβατίνες 3.33 kg; υγιείς μάρτυρες, 4.53 kg) σε συνθήκες φυσιολογικής αναπαραγωγής ενώ άλλες παράμετροι που σχετίζονται με την αναπαραγωγή όπως η συχνότητα ζευγαρώματος, οι αποβολές και ο οίστρος δεν επηρεάστηκαν.

Η μελέτη των Sarasa και συν., (2011) συσχέτισε την σαρκοπτική ψώρα με τη μείωση της μάζας των όρχεων του ιβηρικού αίγαγρου, γεγονός που υποστηρίζει την υπόθεση ότι ο παρασιτισμός αποτελεί σημαντικό παράγοντα στην ανάπτυξη των γονάδων των αρσενικών θηλαστικών. Ειδικότερα, η μειωμένη μάζα των όρχεων έχει σαν αποτέλεσμα την υποβάθμιση της ποιότητας του σπέρματος και συνεπώς τη μειωμένη αναπαραγωγική ικανότητα.

### 1.14.2 Αιματολογικές και βιοχημικές παράμετροι

Σε σκύλους που μολύνθηκαν πειραματικά με το *S. scabiei*, από τις 36 αιματολογικές παραμέτρους που μελετήθηκαν μόνο οι τιμές για την καθίζηση ερυθροκυττάρων απέκλιναν σημαντικά από τα φυσιολογικά όρια. Οι μολυσμένοι σκύλοι παρουσίασαν χαμηλή αιμοσφαιρίνη και μειωμένο αιματοκρίτη και ταυτόχρονα αυξημένα επίπεδα λευκοκυττάρων και ουδετερόφιλων ( $p < 0.01$ ) μετά από 8 εβδομάδες μετά τη μόλυνση (Arlan και συν., 1995).

Στη μελέτη των Ogundiyi και συν., (2012), δεν υπήρχε σημαντική διαφορά μεταξύ των μολυσμένων με σαρκοπτική ψώρα και των υγιών αιγών και προβάτων σε ό,τι αφορά στον κυτταρικό όγκο, στην αιμοσφαιρίνη και στα ερυθροκύτταρα. Η μολυσμένη ομάδα είχε υψηλότερα επίπεδα λευκοκυττάρων. Τα ουδετερόφιλα, τα εωσινόφιλα, τα βασεόφιλα και τα μονοκύτταρα δεν επηρεάστηκαν από το επίπεδο υγείας των ζώων. Τέλος, υπήρχαν σημαντικές διαφορές στη συγκέντρωση ολικής πρωτεΐνης, νατρίου και καλίου.

Σε φυσικά περιστατικά αιγών με σαρκοπτική ψώρα, οι συγκεντρώσεις της αιμοσφαιρίνης, του συμπιεσμένου όγκου κυττάρων (PCV, packed cell volume) και του ολικού αριθμού ερυθροκυττάρων μειώθηκαν σημαντικά σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες. Οι τιμές της αλβουμίνης και ο λόγος αλβουμίνης/ σφαιρινών ήταν χαμηλές ενώ η συγκέντρωση των σφαιρινών, της αμινοτρανσφεράσης της αλανίνης (ALT, Alanine aminotransferase), της κρεατινίνης και της ουρίας αυξήθηκαν στις αίγες που ήταν μολυσμένες με το παράσιτο. Η σύγκριση της μέσης τιμής δεικτών οξειδωτικού στρες μεταξύ υγιών αιγών και αιγών με σαρκοπτική ψώρα έδειξε ότι υπήρχε σημαντική αύξηση στη συγκέντρωση του νιτρικού οξειδίου του ορού και της υπεροξειδάσης των λιπιδίων στα ερυθροκύτταρα ενώ τα επίπεδα της ανηγμένης γλουταθειόνης των ερυθροκυττάρων ήταν πολύ χαμηλά (De και Dey, 2010).

Οι συγκεντρώσεις των ολικών πρωτεϊνών, των  $\gamma$  σφαιρινών και της IgG ήταν υψηλότερες σε σαμούα (*Rupicapra pyrenaica*) με σαρκοπτική ψώρα σε σχέση με τα υγιή (Lastras και συν., 2000).

Σε υγιείς αίγαγρους της Ισπανίας (*Capra pyrenaica*) από μη προσβεβλημένες περιοχές, οι συγκεντρώσεις της αλβουμίνης, της  $\alpha_2$  σφαιρίνης και της IgG βρέθηκαν χαμηλότερες σε σχέση με υγιή ζώα που εντοπίστηκαν σε περιοχές με κρούσματα σαρκοπτικής ψώρας. Διαφορές στην συγκέντρωση της IgG μεταξύ υγιών και

αίγαγρων με σαρκοπτική ψώρα της ίδιας περιοχής δεν παρατηρήθηκαν (Lastras και συν., 2000).

Τέλος, στα κογιότ με σαρκοπτική ψώρα παρατηρήθηκαν σημαντικές μειώσεις στις α σφαιρίνες και στην αλβουμίνη ενώ αυξήθηκε η γ σφαιρίνη (Pence και συν., 1983).

### 1.14.3 Πρωτεΐνες οξείας φάσης

Οι πρωτεΐνες οξείας φάσης που εντοπίζονται στον ορό του αίματος (APP, acute phase proteins) αυξάνονται σε μια πληθώρα καταστάσεων: σε λοιμώξεις, φλεγμονώδεις εξεργασίες, εγκαύματα, πολλαπλές κακώσεις, αυτοάνοσα νοσήματα και νεοπλάσματα. Παράγονται από τα ηπατοκύτταρα κάτω από την επίδραση των κυτοκινών και κυρίως υπό την επίδραση της ιντερλευκίνης IL-1, της IL-6 και του TNF- $\alpha$  (Yoshizaki, 2011). Στην μελέτη των Rahman και συν., (2010) οι συγκεντρώσεις 4 APPs, περιλαμβανομένων των amyloid A, haptoglobin (Hp),  $\alpha$ 1-acid glycoprotein (AGP) και ceruloplasmin (Cp) σε ορούς αίγαγρων των Άλπεων (*Capra ibex*) με σαρκοπτική ψώρα βρέθηκαν αυξημένες. Μάλιστα, τα επίπεδα των SAA και AGP, αυξήθηκαν κατά δέκα φορές ενώ οι υπόλοιπες δύο (Hp και Cp), αυξήθηκαν κατά 2 με 5 φορές σε σχέση με τα υγιή ζώα.

### 1.14.4 Οξειδωτικό στρες

Οι φλεγμονώδεις αντιδράσεις που προκαλεί η σαρκοπτική ψώρα μπορεί να οδηγήσουν σε αύξηση της παραγωγής των αντιδραστικών ειδών οξυγόνου (ROS, reactive oxygen species) και των αντιδραστικών ειδών αζώτου (RNS, reactive nitrogen species). Παρά το γεγονός ότι το δέρμα διαθέτει μια ποικιλία αντιοξειδωτικών μηχανισμών, παρατηρούνται σημαντικές αλλαγές στους δείκτες οξειδωτικού στρες σε βουβάλια με σαρκοπτική ψώρα (Dimri και συν., 2008b) καθώς και χοίρους (Dimri και συν., 2014).

Ειδικότερα, στους χοίρους με σαρκοπτική ψώρα παρατηρήθηκαν αυξημένα επίπεδα υπεροξειδίων των λιπιδίων (LPO, lipid peroxides), μειωμένα επίπεδα ανηγμένης γλουταθειόνης (GSH, reduced glutathione), υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (GPx, glutathione peroxidase), υπεροξειδικής δισμουτάσης (SOD, superoxide dismutase), ασκορβικού οξέος, ψευδαργύρου και χαλκού (Dimri και

συν., 2014). Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και στα βουβάλια με σαρκοπτική ψώρα. Πιο συγκεκριμένα, τα επίπεδα των LPO αυξήθηκαν, ενώ τα ένζυμα SOD και CAT μειώθηκαν σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες. Επιπρόσθετα, οι συγκεντρώσεις του ψευδαργύρου, χαλκού και α-τοκοφερόλης μειώθηκαν σημαντικά (Dimigi και συν., 2008b).

#### 1.14.5 Βακτηριακές επιμολύνσεις

Οι Walton και Currie (2007) αναφέρουν ότι η σαρκοπτική ψώρα μπορεί να έχει σαν αποτέλεσμα τη δευτερογενή βακτηριακή μόλυνση του δέρματος (βακτηριακή δερματίτιδα ή πυόδερμα), που μπορεί να οδηγήσει σε σηψαιμία και τελικά σε θάνατο.

Τόσο στρεπτόκοκκοι όσο και σταφυλόκοκκοι έχουν βρεθεί σε σήραγγες και κοπρανώδες υλικό του *Sarcoptes scabiei* var. *hominis*, γεγονός που υποδηλώνει κάποιο ρόλο των ακάρεων στην εισαγωγή βακτηρίων στον ξενιστή (McCarthy και συν., 2004).

Σηπτικό σύνδρομο λόγω πνευμονίας καταγράφηκε ως αιτία θανάτου σε νυκτερευτές (*Nyctereutes procyonoides*) με υπερκερατωτική σαρκοπτική ψώρα στην Ιαπωνία (Nakagawa και συν., 2009). Φαίνεται ότι το *S.scabiei* εκκρίνοντας αναστολείς του συμπληρώματος, δημιουργεί το κατάλληλο μικροπεριβάλλον για την εγκατάσταση και τον πολλαπλασιασμό των αυτών των βακτηρίων, υπεύθυνων για την εμφάνιση πυοδέρματος (Swe και συν., 2014).

## 1.15 Διάγνωση της σαρκοπτικής ψώρας

Υπάρχουν πολλοί τρόποι για τη διάγνωση της σαρκοπτικής ψώρας, αλλά ο πιο κοινός είναι η λήψη ξεσμάτων δέρματος, η προσθήκη διαλύματος υδροξειδίου του καλίου στα ξεσμάτα, η τοποθέτηση υλικού σε μια αντικειμενοφόρα πλάκα και η παρατήρηση του δείγματος μέσω μικροσκοπίου για την παρουσία ακάρεων (Katsumata, 2006).

Οι Yoshizumi και Harada (2009), βρήκαν έναν άλλο τρόπο για τη διάγνωση της σαρκοπτικής ψώρας στον άνθρωπο, χωρίς την χρήση ενός μικροσκοπίου. Πιο συγκεκριμένα, αφορά την εύρεση “σημεία αφύπνισης” (wake signs) του ακάρεος στο δέρμα που μπορεί να γίνει με γυμνό μάτι. Το σημείο έχει σχήμα Y και σχετίζεται με τη βλάβη που προκαλείται όταν το θηλυκό άκαρι ορύσσει σήραγγες μέσα στο δέρμα.

Η μέθοδος ELISA μπορεί να εφαρμοστεί σε διαφορετικές κλινικές πρακτικές αλλά και σε επιδημιολογικές μελέτες. Ένα εμπορικό διαγνωστικό τεστ ELISA το οποίο χρησιμοποιεί αντισώματα έναντι αντιγόνων του *Sarcoptes scabiei* var *vulpes* έχει εφαρμοστεί στο χοίρο (Bornstein και Zakrisson, 1993a) και στο σκύλο (Bornstein και Zakrisson, 1993b). Η μέθοδος ELISA βρέθηκε να έχει μεγαλύτερη διαγνωστική ευαισθησία (87.6%) σε σχέση με την τεχνική των ξεσμάτων (62.8%) αλλά μικρότερη ειδικότητα (95.9% vs. 100%) στα πρόβατα (Rodríguez-Cadenas και συν., 2010).

Η τεχνική της PCR (polymerase chain reaction, αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης) έχει χρησιμοποιηθεί τα τελευταία χρόνια για την ανίχνευση και ταυτοποίηση γενετικού υλικού του *Sarcoptes scabiei*. Αυτή εφαρμόζεται σε βιοπτικό υλικό που λαμβάνεται από το δέρμα του ξενιστή, ακόμη και όταν το δείγμα δεν περιέχει παράσιτα *Sarcoptes scabiei*, αλλά μόνο τμήματά τους όπως τις δομές του εξωσκελετού των ακάρεων ή σκύβαλα (Bezold και συν., 2001; Naz και συν., 2013).

## 1.16 Η σαρκοπτική ψώρα ειδικά στις αίγες

Παγκοσμίως, η αιγοτροφία και ο πληθυσμός των αιγών αυξάνεται σε σύγκριση με των προβάτων. Ανάμεσα στις χώρες της ευρωπαϊκής ένωσης, η Ελλάδα κατέχει από τις σημαντικότερες θέσεις. Ειδικότερα, η χώρα κατατάσσεται πρώτη στην παραγωγή κατσικίσιου γάλακτος ενώ είναι η μόνη ανεπτυγμένη χώρα στον κόσμο όπου η παραγωγή αγελαδινού γάλακτος είναι μικρότερη από εκείνη των μικρών μηρυκαστικών (de Rancourt και συν., 2006).

Παρά τον αυξανόμενο αριθμό των εκτρεφόμενων αιγών, λίγες είναι εκείνες οι μελέτες που αφορούν στον επιπολασμό των παρασιτικών νοσημάτων, όπως είναι η σαρκοπτική ψώρα, και τον αντίκτυπο που έχουν στην παραγωγικότητα και την ευζωία των αιγών (Cornall και Wall, 2015). Η μόλυνση των αιγών με εξωπαράσιτα αποτελεί κύρια αιτία δερματικών αλλοιώσεων ενώ μπορεί να προκαλέσει σοβαρά οικονομικά προβλήματα στην αιγοτροφία (Chanie και συν., 2010). Παρά το γεγονός ότι το ζώο με σαρκοπτική ψώρα εξακολουθεί να έχει όρεξη, η απώλεια βάρους είναι σημαντική, ενώ η εξάντληση που παρατηρείται πιθανόν να οφείλεται στην αποχή από τη βόσκηση και το συνεχή κνησμό που προκαλείται από το παράσιτο (Nwoha, 2011).

Η σαρκοπτική ψώρα αποτελεί μία από τις πιο σημαντικές εξωπαρασιτώσεις στις αίγες με αρνητικές συνέπειες στην ποιότητα του κρέατος, στην παραγωγή γάλακτος και δερμάτων (De και Dey, 2010). Η σαρκοπτική ψώρα στις αίγες χαρακτηρίζεται από υψηλό επιπολασμό. Στη μελέτη των Asghar και συν., (2011) το *S. scabiei* ήταν το πιο συχνό παράσιτο που ανιχνεύτηκε ενώ η μόλυνση έφτασε το 6,5% των αιγών που αποτέλεσαν το δείγμα μελέτης (n=370). Στη μελέτη των Dorny και συν., (1994) το *S. scabiei* βρέθηκε στο 18.6% των εξεταζόμενων αιγών προκαλώντας τις σοβαρότερες δερματικές αλλοιώσεις σε σύγκριση με άλλα παράσιτα όπως τα *Chorioptes texanus*, *Psoroptes cuniculi*, *Demodex canis var. caprae*. Υψηλός επιπολασμός της σαρκοπτικής ψώρας παρατηρήθηκε και στη μελέτη των Ogundiyi και συν., (2012) σε 5 γεωγραφικά διαμερίσματα της Νιγηρίας. Μάλιστα, οι αίγες ήταν 6.23 φορές πιο επιρρεπείς στη μόλυνση με το παράσιτο σε σχέση με τα πρόβατα (0.08%). Στη μελέτη των Lusat και συν., (2009) παρατηρήθηκαν κρούσματα σαρκοπτικής ψώρας, στο 21% των αιγοτροφικών μονάδων που ελέγχθηκαν στο



Ηνωμένο Βασίλειο, ενώ ο αναποτελεσματικός έλεγχος μπορεί να οδηγήσει σε επαναλαμβανόμενα κρούσματα στα κοπάδια.

Έχουν καταγραφεί περιπτώσεις σαρκοπτικής ψώρας στις αίγες με υψηλά ποσοστά θνησιμότητας στην Ιταλία, στις οποίες η πηγή μόλυνσης ήταν αίγαγροι *Rupicapra rupicapra* (Menzano και συν., 2007). Στην Ελλάδα αν και δεν υπάρχουν επαρκείς επιδημιολογικές μελέτες, έχουν αναφερθεί περιπτώσεις σαρκοπτικής ψώρας σε αίγες (Δούκας, 2014). Μάλιστα, σε μια κτηνοτροφική μονάδα καταγράφηκε ποσοστό θνησιμότητας που έφτασε το 57% (Giadinis και συν., 2011).

# Κεφάλαιο 2: Ανοσολογικοί μηχανισμοί του δέρματος των θηλαστικών

---

## 2.1 Η δομή του υγιούς δέρματος στις αίγες

Η επιδερμίδα αποτελείται από τέσσερις στοιβάδες, την βασική στιβάδα, την ακανθωτή στιβάδα, την κοκκώδη στιβάδα και την κεράτινη στιβάδα. Η επιδερμίδα είναι λεπτή και αποτελείται από 2 έως 5 στρώματα εμπύρηνων κυττάρων. Περιοχές με αυξημένο πάχος επιδερμίδας περιλαμβάνουν το επιρρίνιο, το ρύγχος, το μέτωπο, στις οπλές, τα κέρατα, το μαστό και γύρω από τον πρωκτό ενώ το αντί αποτελεί την περιοχή με την λεπτότερη επιδερμίδα (Sar και συν., 1966; Scott και συν., 1984).

Η κεράτινη στιβάδα αποτελείται από επιπεδωμένα, απύρρηνα κύτταρα (πετάλια), με κεραμωτή αλληλουχία. Τα κύτταρα της κεράτινης στιβάδας, συνενώνονται σταθερά μεταξύ τους και δημιουργούν φραγμό προς το περιβάλλον προσδίδοντας στο δέρμα μία σημαντική ιδιότητα, την αδιαπερατότητα (Sar και συν., 1966; Scott και συν., 1984).

Η κοκκώδης στιβάδα αποτελείται από εμπύρρηνα ελλειπτικά ή ατρακτοειδή κύτταρα και περιέχει βασεόφιλα κοκκία κερατοϋαλίνης. Περιέχει επίσης λιπίδια τα οποία αποβάλλονται στο μεσοκυττάριο διάστημα και συμβάλλουν στην κυτταρική συνοχή κυττάρων (Sar και συν., 1966). Η ακανθωτή στιβάδα αναφέρεται έτσι διότι τα δεσμοσώματα που συνδέουν τα κύτταρα μεταξύ τους, μοιάζουν με άκανθες. Αποτελείται από 2-4 στοιχεία εμπύρηνων κυττάρων (Sar και συν., 1966; Scott και συν., 1984).

Η βασική στιβάδα αποτελείται από ένα στίχο εμπύρηνων επιθηλιακών κυττάρων ορθογωνίου σχήματος, τα οποία διατάσσονται το ένα δίπλα στο άλλο. Τα κύτταρα της βασικής στιβάδας παρουσιάζουν μιτώσεις, πολλαπλασιάζονται και προωθούνται προς τις ανώτερες στιβάδες, με τελικό σκοπό να σχηματίσουν την κεράτινη στιβάδα (Sar και συν., 1966; Scott και συν., 1984).

Στο χόριο εντοπίζονται ινοβλάστες, οι οποίοι συνθέτουν τριών ειδών ίνες, τις κολλαγόνες, τις ελαστικές και τις δικτυωτές ίνες. Επίσης, υπάρχουν πρωτεογλυκάνες,

νευρικές απολήξεις, αιμοφόρα αγγεία, λεμφαγγεία, ορθωτήρες μύες, και ποικίλα κύτταρα όπως μαστοκύτταρα, μακροφάγα και λεμφοκύτταρα. Ειδικότερα, το εντω βάθει χόριο περιέχει πυκνά διατεταγμένες ίνες κολλαγόνου και ελαστίνης και μικρές ποσότητες βλεννίνης κυρίως γύρω από τα αγγεία (Scott και συν., 1984).

Τα εξαρτήματα του δέρματος περιλαμβάνουν τις τρίχες, τους σμηγματογόνους και τους ιδρωτοποιούς αδένες. Στις αίγες, οι τρίχες φύονται μέσα στους θύλακες οι οποίοι διακρίνονται σε εμμύελους πρωτογενείς και σε αμύελους δευτερογενείς. Ανάλογα με τη φυλή που ανήκει, οι δευτερογενείς θύλακοι είναι περισσότεροι σε σχέση με τους πρωτογενείς σε αναλογία που κυμαίνεται από 3:1 έως 25:1. Τρεις με έξι δευτερογενείς τριχικοί θύλακοι συνδέονται με τρεις πρωτογενείς. Οι αίγες φυλής Beetal και Gaddi δεν έχουν καθόλου δευτερογενείς τριχικούς θύλακους. Κάθε πρωτογενής τριχικός θύλακος συνδέεται με σμηγματογόνους αδένες, ιδρωτοποιούς αδένες και ορθωτήρες μύες. Οι δευτερογενείς θύλακοι συνδέονται μόνο με σμηγματογόνους αδένες (Scott και συν., 1984).

Οι σμηγματογόνοι αδένες στις αίγες, εντοπίζονται κυρίως στο κεφάλι, στο επιρρίνιο, στη βάση των κεράτων και των χηλών και την περιοχή γύρω από τον πρωκτό (Scott και συν., 1984). Στα αρσενικά, η αύξηση του μεγέθους ειδικών σμηγματογόνων αδένων που εντοπίζονται κυρίως στη βάση των κεράτων και της ουράς, κατά την περίοδο αναπαραγωγής συνοδευόμενη από την χαρακτηριστική οσμή τους, σχετίζεται με τα υψηλά επίπεδα τεστοστερόνης. Οι τροποποιημένοι αυτοί αδένες αναγνωρίζονται εύκολα λόγω των εωσινοφιλικών στοιχείων που παρατηρούνται στη χρώση εωσίνης-αιματοξυλίνης εξαιτίας της πληθώρας των μιτοχονδρίων και είναι απόντες από τις θηλυκές αίγες και τα αρσενικά που έχουν υποστεί στειρώση (Van Lancker και συν., 2005). Η χορήγηση τεστοστερόνης σε στειρωμένα αρσενικά είχε σαν αποτέλεσμα την αύξηση των σμηγματογόνων αδένων, την έκκριση φερομόνων και την αύξηση της δραστηριότητας των υποδοχέων ανδρογόνων και της 5alpha-reductase ειδικά από τους αδένες που εντοπίζονται στην κεφαλή των αιγών (Wakabayashi και συν., 2000). Οι σμηγματογόνοι αδένες που εντοπίζονται στη βάση των κεράτων είναι μεγαλύτεροι σε μέγεθος σε σχέση με αδένες άλλων ανατομικών περιοχών ενώ οι εκφορητικοί πόροι τους συνήθως καταλήγουν σε τριχικούς θύλακους αλλά και κατευθείαν στην επιφάνεια του δέρματος (Chukwu και Ihemelandu, 1989).

Οι αποκρινείς ιδρωτοποιοί αδένες των αιγών συναντώνται στα βλέφαρα, στην άλω των θηλών, στο μαστό, στην περιπρωκτική περιοχή και στη γεννητική περιοχή. Επεκτείνονται τόσο στο χόριο, όσο και στον υποδόριο ιστό και οι πόροι τους εκβάλλουν στα τριχοθυλάκια. Η έκκριση των ιδρωτοποιών αδένων στις αίγες εξαρτάται από την κυκλοφορία των γεννητικών ορμονών και τη ζέστη, ενώ διεγείρεται από την χορήγηση επινεφρίνης και νορεπινεφρίνης. Στις αίγες, οι μεροκρινείς ιδρωτοποιοί αδένες εντοπίζονται κυρίως στην ρινοχειλική περιοχή (Scott και συν., 1984).

Η έκφραση του VEGF (Vascular endothelial growth factor, παράγοντας αύξησης του ενδοθηλίου των αγγείων) ο οποίος δρα ως μιτογόνος παράγοντας των ενδοθηλιακών κυττάρων των αγγείων έχει σαν αποτέλεσμα την κατάλληλη αγγείωση των πρωτογενών και δευτερογενών τριχικών θυλάκων και την σωστή ανάπτυξη της τρίχας. Έχει βρεθεί ότι ο VEGF εκφράζεται στο βολβό της τρίχας, στους σμηγματογόνους και ιδρωτοποιούς αδένες και στην επιδερμίδα ενώ στο αναγενές και στο τελογενές στάδιο ανάπτυξης της τρίχας, η συγκέντρωση του ήταν υψηλότερη στους δευτερογενείς τριχικούς θυλάκους αιγών (Zhang και συν., 2013).

Τα κάλλαια αποτελούν εξειδικευμένα εξαρτήματα του δέρματος που συνήθως εντοπίζονται στην τραχηλική περιοχή των αιγών. Αποτελούνται από χόνδρο, λείο μυϊκό ιστό, συνδετικό ιστό, νεύρα και αιμοφόρα αγγεία. Η παρουσία τους εξαρτάται από την ύπαρξη ενός αυτοσωμικού επικρατούς γονιδίου ενώ η ακριβής λειτουργία τους είναι άγνωστη (Smith και Sherman, 2009).

## 2.2 Η χρήση της ανοσοϊστοχημείας στο δέρμα

Η ανοσοϊστοχημεία αποτελεί τομέα της ιστοπαθολογίας και ασχολείται με την αναγνώριση φυσιολογικών ή παθολογικών συστατικών των κυττάρων και των ιστών. Αποτελεί μια ομάδα ανοσοσεσημασμένων εργαστηριακών τεχνικών που συνδυάζουν την ιστοπαθολογία με την ανοσολογία και τη χημεία. Η ανοσοϊστοχημεία επιτρέπει τον εντοπισμό και την ποσοτικοποίηση της έκφρασης των προς μελέτη αντιγόνων *in situ* με την χρήση ειδικών αντισωμάτων εναντίον των αντιγόνων-στόχων, τα οποία είναι συνδεδεμένα με ειδικές χρωστικές που καθιστούν έτσι ορατές τις θέσεις εντοπισμού των αντιγόνων αυτών (Νακοπούλου, 1999).

Η ουσιαστική ανάπτυξη της ανοσοϊστοχημείας άρχισε όταν οι Coons και συν., (1941) κατόρθωσαν να συνδέσουν αντισώματα με φθορίζουσα χρωστική, την ισοθειοκυανική φλουροσκεΐνη, αναπτύσσοντας έτσι τη μέθοδο του ανοσοφθορισμού. Τα διάφορα όμως μειονεκτήματα που παρουσιάζουν οι τεχνικές του ανοσοφθορισμού, οδήγησαν στην ανάπτυξη καινούριων τεχνικών οι οποίες βασίζονταν στην χρησιμοποίηση ενζύμων που εφαρμόζονται στους ιστούς μετά την σύνδεση αντιγόνου- αντισώματος, χρωματίζοντας έντονα τις θέσεις εντόπισης τους, για να γίνουν ορατές με το κοινό μικροσκόπιο. Οι τεχνικές αυτές ονομάζονται ανοσοενζυμικές και οι πιο σημαντικές είναι η τεχνική της ανοσοϋπεροξειδάσης (PAP μέθοδος), της αβιδίνης-βιοτίνης και της στρεπταβιδίνης. Τα ένζυμα που χρησιμοποιούνται κυρίως είναι η υπεροξειδάση του υδρογόνου, η αλκαλική φωσφατάση και η οξειδάση της γλυκόζης (Νακοπούλου, 1999).

Χαρακτηριστικό γνώρισμα της μεθόδου της ανοσοϋπεροξειδάσης είναι η σύνδεση των αντισωμάτων με το ένζυμο υπεροξειδάση. Η υπεροξειδάση συνδέεται πριν από την εφαρμογή της με το αντίσωμα της (αντιυπεροξειδάσης) σχηματίζοντας κυκλικό σύμπλεγμα σε αναλογία 3 μορίων υπεροξειδάσης προς 2 μόρια αντιυπεροξειδάσης. Ο πρώτος και δεύτερος αντιορός δεν είναι συνδεδεμένος ενώ το σύμπλεγμα υπεροξειδάσης- αντιυπεροξειδάσης αποτελεί την τρίτη σειρά. Η αντιυπεροξειδάση προέρχεται από το ίδιο ζωικό είδος που προέρχεται και το πρωτογενές αντίσωμα. Η εφαρμογή της μεθόδου γίνεται άμεσα ή έμμεσα, αφού προηγηθεί σειρά μη συνδεδεμένων αντισωμάτων εναντίον του αντιγόνου στόχου για την έμμεση μέθοδο. Η αναγνώριση των αντιγόνων με το κοινό μικροσκόπιο επιτυγχάνεται τελικά με την χρήση χρωμογόνων, συνηθέστερο από τα οποία είναι η διαμινοβενζιδίνη (DAB). Η DAB πολυμερίζεται με την παρουσία υπεροξειδάσης και  $H_2O_2$  σχηματίζοντας αδιάλυτο πολυμερές που εντοπίζεται στις θέσεις αντιγόνου-αντισώματος δίνοντας ένα καφέ χρώμα στο μικροσκόπιο. Οι μοριακές μεταβολές της DAB οδηγούν στο σχηματισμό σταθερού χρώματος, που δεν είναι διαλυτό σε οργανικούς διαλύτες. Στη συνέχεια, οι τομές τοποθετούνται σε διάλυμα αιματοξυλίνης για να καθοριστούν τα υπόλοιπα μορφολογικά χαρακτηριστικά των κυττάρων (Key και συν., 2006).

Το μεγάλο πλεονέκτημα της μεθόδου αυτής είναι η δυνατότητα χρησιμοποίησης του πρωτογενούς αντισώματος σε μεγάλη αραιώση, ελαττώνοντας έτσι το βαθμό σύνδεσης με ανεπιθύμητα αντιγόνα των ιστών. Επίσης, η μέθοδος αυτή μειώνει την πιθανότητα αποσύνδεσης των αντισωμάτων από τα αντιγόνα, επειδή όλες οι

αντιγονικές θέσεις δέσμευσης τους είναι κορεσμένες και περιορίζει το βαθμός της μη ειδικής χρώσης (Νακοπούλου, 1999).

## 2.3 Ο ανοσολογικός ρόλος των κυττάρων του δέρματος

Το δέρμα όντας το μεγαλύτερο όργανο του σώματος, συντελεί στην εξασφάλιση της δομικής ακεραιότητας και ταυτόχρονα επιτρέπει την επικοινωνία με το εξωτερικό περιβάλλον. Αυτή η πολύ καλά συντονισμένη ισορροπία μεταξύ προστασίας έναντι των παθογόνων και της αμφίδρομης ανταλλαγής σημάτων παρέχεται από ένα δίκτυο δομικών, κυτταρικών και μοριακών στοιχείων, το οποίο αποτελεί τον δερματικό φραγμό (Kupfer και Fuhlbrigge, 2004). Μία από τις πιο σημαντικές λειτουργίες του δέρματος είναι η διατήρηση του φραγμού, η εξουδετέρωση παθογόνων μικροοργανισμών, αλλά και η κατάλληλη ρύθμιση της επιδιόρθωσης του ιστού (Shaykhiev και Bals, 2007).

Το ανοσοποιητικό σύστημα του δέρματος (SIS - Skin Immune System) αποτελείται από τα επιδερμοτρόπα Τ-λεμφοκύτταρα, τα κύτταρα Langerhans και τα κερατινοκύτταρα που εντοπίζονται στην επιδερμίδα, και μια μεγάλη ποικιλία άλλων κυττάρων που εντοπίζονται στο χόριο όπως τα δενδριτικά κύτταρα του χορίου, τα μακροφάγα, τα πολυμορφοπύρρηνα ουδετερόφιλα, τα σιτευτικά κύτταρα, και οι ινοβλάστες (Yager, 1992; Baker, 2007).

Οι διάφοροι κυτταρικοί πληθυσμοί του δέρματος συνεισφέρουν τόσο στην φυσική όσο και στην επίκτητη ανοσία (Bos, 2005). Διαχωρίζονται σε εγκατεστημένα στο δέρμα (resident), στρατολογημένα (recruited) και επανακυκλοφορούντα (recirculating) κύτταρα (Girolomoni και συν., 2006). Για παράδειγμα, τα εωσινόφιλα στρατολογούνται στο δέρμα μόνο σε παθολογικές καταστάσεις σε αντίθεση με τα Τ λεμφοκύτταρα τα οποία βρίσκονται εγκατεστημένα σε μικρούς αριθμούς και κυκλοφορούν μεταξύ του δέρματος και των λεμφαδένων (Baker, 2007).

Οι αντιδράσεις της φυσικής ανοσίας είναι τυπικά γρήγορες, χωρίς διακριτική ικανότητα ενώ δεν διαθέτουν μηχανισμούς μνήμης. Σε αντίθεση, οι αντιδράσεις της επίκτητης ανοσίας παρουσιάζουν σημαντικό βαθμό ειδικότητας και μνήμης ενώ απαιτούν για την ανάπτυξη τους σημαντικό χρονικό διάστημα (Bangert και συν., 2011). Τα κύτταρα της φυσικής ανοσίας περιλαμβάνουν τα κερατινοκύτταρα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα σιτευτικά κύτταρα, τα μακροφάγα, τα ιστιοκύτταρα, τα εωσινόφιλα, τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα, τα φυσικά κυτταροκτόνα κύτταρα

(NK cells) και τα γδ T λεμφοκύτταρα. Τα κύτταρα της επίκτητης ανοσίας αποτελούνται από τα αβ T λεμφοκύτταρα, τα B λεμφοκύτταρα και τα δενδριτικά κύτταρα (Girolomoni και συν., 2006).

Η κτηνιατρική ανοσολογία έχει σημειώσει σημαντική ανάπτυξη τα τελευταία χρόνια, αλλά οι μελέτες που αφορούν στο ανοσολογικό σύστημα των αιγών είναι περιορισμένες σε σύγκριση με τα υπόλοιπα κατοικίδια και παραγωγικά ζώα, λόγω της έλλειψης κατάλληλων αντιδραστηρίων και ειδικών μοριακών τεχνικών όπως η ανάπτυξη μονοκλωνικών αντισωμάτων για την αναγνώριση επιφανειακών δεικτών των κυττάρων του ανοσοποιητικού και η ταυτοποίηση και ο χαρακτηρισμός ομόλογων γονιδίων που συμμετέχουν στους ανοσολογικούς μηχανισμούς. Είναι ενδεικτικό ότι μόλις πρόσφατα επετεύχθη η μοριακή και φυλογενετική ανάλυση των Th1 κυτοκινών της αίγας (Shebannavar και Rasool, 2015).

## **2.4 Κυτταρικοί πληθυσμοί του ανοσοποιητικού συστήματος στην επιδερμίδα**

### **2.4.1 T λεμφοκύτταρα και οι υποπληθυσμοί τους**

Ένας μικρός αριθμός T κυττάρων εντοπίζεται στην επιδερμίδα του υγιούς δέρματος (Baker, 2007). Εντοπίζονται κυρίως στη βασική και ακανθωτή στιβάδα, συνήθως κοντά σε κύτταρα Langerhans, και στον εξωτερικό κολεό του τριχικού θυλάκου (Foster και συν., 1990). Στην πλειοψηφία τους είναι CD8<sup>+</sup> και CD45RO<sup>+</sup> κύτταρα μνήμης (Yager, 1992). Τα T λεμφοκύτταρα μπορεί να είναι είτε αβ<sup>+</sup> είτε γδ<sup>+</sup>.

Οι αντιγονικοί υποδοχείς των αβ T-κυττάρων (TCRs) είναι ειδικά μεμβρανικά μόρια, μέσω των οποίων τα T κύτταρα προσδέονται σε αντιγόνα που παρουσιάζονται μέσω των MHC μορίων (Janeway και συν., 2001). Ο υποδοχέας αβ TCR αποτελείται από ένα ετεροδιμερές δύο μεμβρανικών πολυπεπτιδικών αλυσίδων (α και β) ομοιοπολικά συνδεδεμένων με δισουλφιδικούς δεσμούς που συνδέονται ως μοριακό σύμπλεγμα με τμήματα του μορίου CD3. Η κυτταροπλασματική περιοχή των CD3 μορίων περιέχει μια πολύ καλά συντηρημένη αλληλουχία η οποία είναι απαραίτητη για την μεταφορά του σήματος ενεργοποίησης (ITAM: μοτίβο ενεργοποίησης ανοσοϋποδοχέων που βασίζεται στις τυροσίνες), μετά την πρόσδεση του συμπλόκου MHC-πεπτιδίου. Η σύνδεση με το αντιγόνο οδηγεί στην

φωσφορυλίωση υπολειμμάτων τυροσίνης των ITAMs με την ενεργοποίηση κινασών, γεγονός που αποτελεί το πρώτο βήμα στο σηματοδοτικό μονοπάτι της ενεργοποίησης του TCR (von Boehmer, 2004).

Τα αβ T-κύτταρα δεν αναγνωρίζουν διαλυτά αντιγόνα αλλά μόνο αντιγονικά πεπτίδια που παρουσιάζονται στην επιφάνεια συνοδών (αντιγονοπαρουσιαστικών) κυττάρων, συνδεδεμένα με πρωτεΐνες του MHC. Διακρίνονται σε δυο διακριτούς υποπληθυσμούς, στα αβ T βοηθητικά και στα αβ T κυτταροτοξικά, ανάλογα με την έκφραση των μορίων CD4 και CD8 στην κυτταρική μεμβράνη. Τα CD4 (μονομερές) και CD8 (ετεροδιμερές) μόρια είναι διαμεμβρανικές γλυκοπρωτεΐνες, οι οποίες λειτουργούν ως συνεργικά μόρια τα οποία σταθεροποιούν την αλληλεπίδραση του υποδοχέα των T λεμφοκυττάρων (TCR) με τα σύμπλοκα αντιγονικών πεπτιδίων-MHC μορίων των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων. Κύρια λειτουργία τους είναι η μεταβίβαση του σήματος μετά την αναγνώριση του αντιγόνου (Bangert και συν., 2011).

Ενώ τα αβ T λεμφοκύτταρα προσδένονται σε αντιγονικά πεπτίδια που παρουσιάζονται μέσω των MHC μορίων, τα γδ T λεμφοκύτταρα έχουν την ικανότητα να προσδένονται άμεσα σε γλυκοπρωτεΐνες παθογόνων χωρίς τη συμμετοχή των MHC μορίων (Ferreira και συν., 2013). Ο γδ TCR δομικά μοιάζει περισσότερο με την ανοσοσφαιρίνη Ig παρά με τον αβ TCR. Πιο συγκεκριμένα, η περιοχή 3 που προσδιορίζει την συμπληρωματικότητα CDR3, και αποτελεί την κύρια περιοχή πρόσδεσης του αντιγόνου του γδ TCR, είναι περισσότερο όμοια με την περιοχή πρόσδεσης της Ig παρά με την CDR3 του αβ TCR. Η πλειοψηφία των αβ TCRs αναγνωρίζουν μόνο ένα μοναδικό αντιγονικό πεπτίδιο ενώ η δομή του γδ TCR επιτρέπει την πρόσδεση μεγαλύτερης ποικιλίας αντιγονικών επίτοπων (Ferreira και συν., 2013).

Τα γδ T λεμφοκύτταρα αποκρίνονται άμεσα σε μοριακά πρότυπα που σχετίζονται με παθογόνα (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) χωρίς τη βοήθεια των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων, αυξάνοντας την έκφραση των PAMP υποδοχέων όπως είναι οι Toll-like υποδοχείς (Hedges και συν., 2005). Ειδικότερα, τα γδ T λεμφοκύτταρα ενεργοποιούνται από μη πεπτιδικά φωσφοαντιγόνα (π.χ πυροφωσφορικό οξύ) τα οποία αποτελούν μεταβολικά προϊόντα της σύνθεσης των ισοπρενοειδών λιπιδίων, λιπίδια και μη επεξεργασμένα πεπτίδια (ικές πρωτεΐνες, πρωτεΐνες θερμικού σοκ). Για την αναγνώριση τέτοιων μη πεπτιδικών αντιγόνων δεν χρησιμοποιούνται τα συμβατικά μονοπάτια επεξεργασίας των αντιγόνων. Το γεγονός



ότι τα γδ T λεμφοκύτταρα αναγνωρίζουν μια διαφορετική κατηγορία αντιγόνων υποδεικνύει το συμπληρωματικό τους ρόλο σε σχέση με τα αβ T λεμφοκύτταρα (Zheng και συν., 2013).

Τα γδ T λεμφοκύτταρα φαινομενικά μπορούν να εκτελέσουν πολλές από τις λειτουργίες των αβ T λεμφοκυττάρων, αλλά επιπρόσθετα εμφανίζουν και μοναδικές δραστηριότητες όπως η κυτταρολυτική καταστροφή των κύτταρων που βρίσκονται υπό στρες ή σε μετασχηματισμό, η ρύθμιση της φλεγμονής και της ανοσοαπόκρισης σε παθογόνα και η ρύθμιση της διαφοροποίησης των επιθηλιακών κυττάρων (Kaufmann, 1996). Τα γδ T λεμφοκύτταρα υποστηρίζουν την ανάπτυξη και την διατήρηση των επιθηλιακών κυττάρων εκφράζοντας κυτοκίνες, όπως ο ειδικός αυξητικός παράγοντας των κερατινοκυττάρων (KGF) (Havran, 2000).

Η παρουσία ενδοεπιδερμικών T-λεμφοκυττάρων στο υγιές δέρμα έχει καταγραφεί στον άνθρωπο (Bos και συν., 1987), στο σκύλο (Sinke και συν., 1997), στο ποντίκι (Mueller και συν., 2014), στο πρόβατο (Gorrell και συν., 1995; McElroy και συν., 1998), στα βοοειδή (Hein και Dudler, 1997) και στα αλπακά (Clark και συν., 2013). Θα πρέπει να σημειωθεί ότι στην επιδερμίδα ανθρώπινων εμβρύων δεν έχουν ανιχνευτεί T λεμφοκύτταρα (Di Nuzzo και συν., 2009).

Στην επιδερμίδα του σκύλου, έχουν εντοπιστεί κυρίως CD8+ κύτταρα (Sinke και συν., 1997). Στην υγιή επιδερμίδα του προβάτου, ανιχνεύτηκαν περισσότερα CD8+ κύτταρα σε σχέση με τα CD4+ (Gorrell και συν., 1995). Παρόμοια αποτελέσματα βρέθηκαν και στα βοοειδή (Hein και Dudler, 1997). Αντιθέτως, στην υγιή επιδερμίδα της γάτας και του αλόγου δεν έχουν ανιχνευτεί λεμφοκυτταρικοί υποπληθυσμοί (Tranchina et al 2010α; Tranchina και συν., 2010β). Οι λόγοι για τις διαφορές που παρατηρούνται στα ενδοεπιδερμικά T κύτταρα δεν είναι γνωστοί.

Μία ειδική κατηγορία γδ T κυττάρων με δενδριτική μορφολογία που έχουν εντοπιστεί στην υγιή επιδερμίδα ποντικών, σε άμεση επαφή με γειτονικά κερατινοκύτταρα, είναι τα T δενδριτικά κύτταρα της επιδερμίδας (DETCs, Dendritic epidermal T cells). Δε θα πρέπει να συγχέονται με τα κύτταρα Langerhans και τα δενδριτικά κύτταρα του χορίου. Εκφράζουν έναν ειδικό TCR που αποτελείται από τις αλυσίδες Vγ3 and Vδ1 ενώ αποτελούν την πρώτη γραμμή άμυνας στην περίπτωση της μόλυνσης ή του τραυματισμού της επιδερμίδας. Τα DETCs εκκρίνουν χημειοκίνες που στρατολογούν φλεγμονώδη κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος στην επιδερμίδα και έτσι συνεισφέρουν στην αντιμετώπιση της

φλεγμονής ενώ παράγουν επίσης αυξητικούς παράγοντες των κερατινοκυττάρων που ενισχύουν την επούλωση του τραύματος (Macleod και Havran, 2011).

Τα DETCs συνεισφέρουν στην ομοιόσταση της επιδερμίδας παράγοντας σε μικρές ποσότητες κυτοκίνες και αυξητικούς παράγοντες που βοηθούν στην επιβίωση των κερατινοκυττάρων. Στην περίπτωση της μόλυνσης ή του τραυματισμού, τα κερατινοκύτταρα που έχουν υποστεί βλάβη, εκφράζουν ένα μέχρι στιγμής άγνωστο αντιγόνο το οποίο αναγνωρίζεται μέσω του TCR από τα DETCs. Στη συνέχεια, τα DETCs ενεργοποιούνται και εκκρίνουν μεγάλες συγκεντρώσεις φλεγμονωδών μορίων (χημειοκίνες και κυτοκίνες) που συμμετέχουν στην επικοινωνία μεταξύ των DETCs, των κερατινοκυττάρων και των κυττάρων Langerhans και ρυθμίζουν την ανοσολογική απόκριση (Toulon και συν., 2009).

Η ανασκόπηση της διεθνούς βιβλιογραφίας έδειξε απουσία μελετών που να διερευνούν την παρουσία λεμφοκυτταρικών υποπληθυσμών στο υγιές δέρμα της αίγας, τόσο στην επιδερμίδα όσο και στο χόριο.

#### **2.4.2 Κύτταρα Langerhans**

Τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα Langerhans αναγνωρίζονται με την ανίχνευση υποδοχέων Fc και C3 και αντιγόνων συνδεδεμένων με MHC II μόρια στην επιφάνειά τους. Τα LCs μπορούν να διακριθούν από άλλα κύτταρα με βάση την έκφραση της  $Ca^{2+}$ -εξαρτωμένης λεκτίνης langerin (CD207). Η langerin είναι μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη που σχετίζεται με τα κοκκία Birbeck. Τα κοκκία Birbeck, η λειτουργία των οποίων δεν είναι γνωστή, είναι ραβδόμορφες δομές με κεντρική εγκάρσια γράμμωση και ένα σφαιρικό κυστίδιο στο ένα άκρο, που μοιάζουν με "ρακέτα του τένις" και είναι αφθονότερα κοντά στη συσκευή Golgi. Η πρόσληψη παθογόνων που περιέχουν μαννόζη από τα κύτταρα Langerhans φαίνεται να εξαρτάται από την langerin (Romani και συν., 2010).

Επιπρόσθετα μόρια, όπως ο δείκτης CD1a, τα μόρια MHC II, τα λευκοκυτταρικά αντιγόνα (HLA)-DR, HLA-DQ, και HLA-DP, όπως και η CD39 (adenosine triphosphatase, ATPase) επιτρέπουν την αναγνώριση των κυττάρων LCs της επιδερμίδας (Schuster και συν., 2009).

Στην επιδερμίδα, τα κύτταρα Langerhans αγκυροβολούν σε γειτονικά κερατινοκύτταρα με την μεσολάβηση της E-cadherin (Mayumi και συν., 2013). Τα ώριμα LCs χαρακτηρίζονται από την σημαντική έκφραση MHC II, συνδιεγερτικών

μορίων και την παραγωγή σημαντικής ποσότητας κυτοκινών με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση των Τ λεμφοκυττάρων (de Jong και συν., 2010).

Πρόσφατες μελέτες έδειξαν την ύπαρξη langerin (+) κυττάρων Langerhans στην επιδερμίδα χοίρων με τον εξής ανοσοφαινότυπο CD172a +CD1+CD16-CD163-CADM1-CD207+MHCII+ (Nfon και συν., 2008; Marquet και συν., 2011). Στο σκύλο, τα Langerhans κύτταρα είναι MHCII+CD1c+CD11b-CD11c+CD14-CD80+CD206- (Summerfield και συν., 2014).

Η έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία επηρεάζει την ικανότητα μετανάστευσης και αντιγονοπαρουσίασης των κυττάρων Langerhans στο πρόβατο (Dandie και συν., 1998). Στο υγιές δέρμα προβάτων, η ποσοτικοποίηση των κυττάρων Langerhans με τον ενζυμικό δείκτη ακετυλοχολινεστεράση (Acetylcholinesterase, AchE) ήταν καλύτερη σε σχέση με την ανοσοϊστοχημική μελέτη με μονοκλωνικά αντισώματα έναντι των δεικτών CD1 (20.27) και MHC Class II (49.1 και 28.1) μορίων. (Townsend και συν., 1997).

Στη φυσιολογική επιδερμίδα των βοοειδών, έχουν ανιχνευτεί MHC II+ κύτταρα Langerhans, με τους δενδρίτες τους να εντοπίζονται μεταξύ των κερατινοκυττάρων (Bryan και συν., 1988; Romero-Palomo και συν., 2013).

Στη φυσιολογική επιδερμίδα αιγών, κύτταρα Langerhans έχουν ανιχνευτεί με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σύμφωνα με την μορφολογία τους και την παρουσία των κοκκίων Birbeck τα οποία θα πρέπει να σημειωθεί ότι δεν ήταν πολυάριθμα (Constantino και Jefferies, 1993).

Η ανασκόπηση της διεθνούς βιβλιογραφίας έδειξε απουσία ανοσοϊστοχημικών μελετών που να διερευνούν την παρουσία των κυττάρων Langerhans στην υγιή επιδερμίδα της αίγας.

### **2.4.3 Κερατινοκύτταρα**

Η ομοίωση της επιδερμίδας στηρίζεται στον αυστηρό έλεγχο του πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης των κερατινοκυττάρων τα οποία μεταναστεύουν από την βασική στις υπερκείμενες στιβάδες, όπου σταματούν να διαιρούνται και υφίστανται τελική διαφοροποίηση. Κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας, τα κερατινοκύτταρα εκφράζουν ποικίλες πρωτεΐνες.

Τα κερατινοκύτταρα αποτελούν το βασικό τύπο κυττάρων της επιδερμίδας δημιουργώντας έναν αποτελεσματικό φραγμό στην είσοδο παθογόνων

μικροοργανισμών, πρωτεϊνικών αντιγόνων και χημικών ουσιών. Έχουν την ικανότητα να ανθίστανται σε υψηλές μηχανικές πιέσεις και να παρουσιάζουν υψηλή ελαστικότητα (Lulevich και συν., 2010).

Τα κερατινοκύτταρα εκφράζουν διαφορετικούς υποδοχείς αναγνώρισης προτύπων (Pattern Recognition Receptors, PRRs) όπως οι Toll-like receptors (TLRs), το μόριο CD1d και ένα κερατινικό υποδοχέα δέσμευσης μαννόζης (KcMR), που συνεισφέρουν μετά από ενεργοποίηση στους μηχανισμούς της φυσικής ανοσίας (Pivaresi και συν., 2004).

Τα υγιή κερατινοκύτταρα εκφράζουν κυτοκίνες σε μικρό βαθμό, όπως οι IL-1, IL-7, IL-6 και ο παράγοντας TGF- $\beta$  (transforming growth factor) (Baker, 2007). Τα κερατινοκύτταρα περιέχουν σημαντικές ποσότητες βιολογικώς ενεργής IL-1 $\alpha$  και ανώριμης IL-1 $\beta$ , γεγονός που τους επιτρέπει να αντιδράσουν άμεσα στον τραυματισμό της επιδερμίδας (Murphy και συν., 2000). Στα κερατινοκύτταρα εντοπίζονται υποδοχείς της IL-6, δίνοντας έτσι τη δυνατότητα σε αυτά να αποκριθούν με αυτοκρινή τρόπο. Στα κερατινοκύτταρα όλων των στοιβάδων της επιδερμίδας εκφράζεται ο υποδοχέας του TNF- $\alpha$ , TNF-R1 (Baker, 2007).

Επιπρόσθετα, τα υγιή κερατινοκύτταρα παράγουν σε μικρές ποσότητες αυξητικούς παράγοντες όπως οι EGF (epithelial growth factor), TGF- $\beta$  και KGF (keratinocyte growth factor) καθώς και τους αντίστοιχους υποδοχείς τους, οι οποίοι δρώντας με αυτοκρινή ή παρακρινή τρόπο, ρυθμίζουν την διαφοροποίηση και τον πολλαπλασιασμό των κερατινοκυττάρων. Στην υγιή επιδερμίδα, τα κερατινοκύτταρα εκφράζουν μόνο MHC I μόρια στην επιφάνεια τους (Baker, 2007).

Τέλος, τα κερατινοκύτταρα αποτελούν στο υγιές δέρμα την κύρια πηγή αντιμικροβιακών πεπτιδίων (Cathelicidins και b-Defensins), τα οποία παράγονται στην κοκκώδη στιβάδα και στη συνέχεια μεταφέρονται στην κεράτινη στιβάδα (Afshar και Gallo, 2013).

## 2.5 Κυτταρικοί πληθυσμοί του ανοσοποιητικού συστήματος στο χόριο του δέρματος

### 2.5.1 αβ Τ κύτταρα

Η πλειοψηφία των Τ λεμφοκυττάρων στο υγιές χόριο εντοπίζεται περιαγγειακά ή κοντά σε εξαρτήματα του δέρματος. Είναι κυρίως αβ Τ λεμφοκύτταρα και περιλαμβάνουν υποπληθυσμούς των CD4<sup>+</sup> και CD8<sup>+</sup> καθώς και CD45RO<sup>+</sup> κυττάρων μνήμης (Baker, 2007; Yager, 1992).

Στο σκύλο και στα βοοειδή, τα CD4<sup>+</sup> υπερτερούν σε σχέση με τα CD8<sup>+</sup> κύτταρα στο χόριο (Sinke και συν., 1997; Hein και Dudler, 1997). Το ίδιο παρατηρείται και στο πρόβατο (McElroy και συν., 1998) με τα CD4<sup>+</sup> να εντοπίζονται κυρίως περιαγγειακά στο επιπολής και σε μικρότερη συχνότητα στο εντω βάθει χόριο (Gorrell και συν., 1995).

### 2.5.2 γδ Τ κύτταρα

Στο υγιές δέρμα του ανθρώπου, τα γδ λεμφοκύτταρα αποτελούν μικρό ποσοστό των CD3<sup>+</sup> λεμφοκυττάρων στο χόριο (<5%) αλλά παίζουν έναν αναπόσπαστο ρόλο στην άμυνα του ξενιστή απέναντι σε παθογόνους μικροοργανισμούς, στην ανοσοεπιτήρηση και στην ομοίωση του ανοσοποιητικού συστήματος (Hocker και συν., 2013). Τα γδ λεμφοκύτταρα του χορίου εκφράζουν τον υποδοχέα Vγ4Vδ4 TCR, και εκκρίνουν μεγάλες ποσότητες IL-17A (Sumariga και συν., 2011). Ο ρόλος των γδ λεμφοκυττάρων που εκκρίνουν IL-17 έχει εξεταστεί σε ποικίλα μοντέλα μόλυνσης και αυτοανοσίας. Πιο συγκεκριμένα, τα γδ κύτταρα του χορίου που εκκρίνουν IL-17 φαίνεται να συμμετέχουν σε αυτοάνοσα νοσήματα όπως η ψωρίαση στον άνθρωπο (Zheng και συν., 2013).

Στα βοοειδή, τα λεμφοκύτταρα του υγιούς χορίου αποτελούνται κατά πλειοψηφία από TCR γδ κύτταρα με ικανότητα αναγνώρισης υψηλής ποικιλίας αντιγόνων (Hein και Dudler, 1997).

Σε υγιή πρόβατα, τα T19<sup>+</sup> γδ κύτταρα, εντοπίζονται κυρίως περιαγγειακά στο επιπολής χόριο (Gorrell και συν., 1995). Στη μελέτη των McElroy και συν., (1998), τα WC1<sup>+</sup> γδ κύτταρα αποτελούσαν τον πολυπληθέστερο Τ κυτταρικό υποπληθυσμό (ακολουθούσαν τα CD4<sup>+</sup> και CD8<sup>+</sup> κύτταρα) ενώ ο αριθμός τους εξαρτιόταν από

την ηλικία των προβάτων και την παρουσία ερίου στις θέσεις δειγματοληψίας. Στην μελέτη των van den Broek και συν., (2005) στα πρόβατα, τα γδ κύτταρα αποτελούσαν επίσης τον κυρίαρχο υποπληθυσμό T κυττάρων στο χόριο περιαγγειακά ακολουθούμενα από τα CD45RA+ λεμφοκύτταρα. Κατά τους Geherin και συν., (2013) τα επανακυκλοφορούντα γδ κύτταρα του προβάτου εκκρίνουν IFN- $\gamma$  και IL-17 ενώ μεταναστεύουν στο δέρμα μέσω των CCR6 και του προσδέτη της E-selectin και απομακρύνονται από αυτό ανεξάρτητα από τα CCR7-CCL21, σε αντίθεση με τα αβ κύτταρα.

Σε ότι αφορά στα πρόβατα, ο ρόλος των γδ λεμφοκυττάρων στην ανοσοπαθολογοανατομική του δέρματος έχει αναφερθεί σε εργασία που αφορά στον καταρροϊκό πυρετό, προσπαθώντας να εξηγήσει μέρος του μηχανισμού «διαχείμασης» του ιού ενδοκυτταρικά, καθώς και της ιστικής αντίδρασης (Takamatsu et al., 2003). Στη μελέτη των Jorundsson και συν. (1999), παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση των γδ λεμφοκυττάρων σε δερματίτιδα εξ επαφής μετά την έκθεση σε δινιτροβενζόλιο. Στη μελέτη των Bowles και συν. (1992), στο χόριο του δέρματος προβάτων που είχαν μολυνθεί με την αυστραλιανή μύγα *Lucilia cuprina*, οι αριθμοί των γδ T κυττάρων αυξήθηκαν σημαντικά τόσο στην πρωτογενή όσο και στη δευτερογενή μόλυνση σε σχέση με τους μάρτυρες. Επίσης, μόλυνση προβάτων με το *Psoroptes ovis* είχε σαν αποτέλεσμα την σημαντική αύξηση των γδ κυττάρων μετά από την 4<sup>η</sup> έως και την 21<sup>η</sup> ημέρα της μόλυνσης (van den Broek και συν., 2005). Αύξηση του αριθμού των γδ κυττάρων στο χόριο παρατηρήθηκε σε πρόβατα που είχαν μολυνθεί με το *Hyalomma anatolicum anatolicum* (Borpana και συν., 2005) και με τον ιό της ευλογιάς (Gulbahar και συν., 2006).

Σε χοίρους με τυπική και υπερκερατωτική σαρκοπτική ψώρα, τα γδ λεμφοκύτταρα παρουσίασαν σημαντική αύξηση από την πρώτη εβδομάδα της πειραματικής μόλυνσης (Liu και συν., 2014).

Η ενεργοποίηση και ο πολλαπλασιασμός των γδ λεμφοκυττάρων παρατηρούνται σε πολλές μολυσματικές ασθένειες και συνδέονται με την εξέλιξη και την πρόγνωση τους (Zheng και συν., 2013). Ενδείξεις για τον θετικό ρόλο των γδ κυττάρων που εκκρίνουν IL-17 καταγράφονται σε ποντίκια που είχαν μολυνθεί με το *Mycobacterium bovis*, στα οποία παρατηρήθηκε αυξημένη στρατολόγηση ουδετερόφιλων. Επιπρόσθετα, σε ποντίκια στα οποία η ικανότητα των γδ κυττάρων να παράγουν IL-17A είχε εξαλειφθεί, παρατηρήθηκαν αλλοιώσεις μεγαλύτερης έκτασης με υψηλότερο βακτηριακό φορτίο και χαμηλότερο επίπεδα ουδετερόφιλων

(Sumaria και συν., 2011).

Επίσης, σε νεογέννητα χοιρίδια που είχαν εμβολιαστεί με το *M. Bovis* BCG (Bacillus Calmette-Guerin), τα γδ λεμφοκύτταρα αυξήθηκαν σημαντικά ενώ ταυτόχρονα παράγαγαν υψηλά επίπεδα IFN-γ (Lee και συν., 2004).

Στα βοοειδή, ο ρόλος των γδ λεμφοκυττάρων έχει εξεταστεί στις περιπτώσεις της μόλυνσης με *M. Bovis*, *M. avium paratuberculosis* και *Theileria parva* (Guzman και συν., 2012).

Θα πρέπει να σημειωθεί η απουσία δεδομένων στη διεθνή βιβλιογραφία σε ότι αφορά στην έκφραση των γδ λεμφοκυττάρων τόσο στο υγιές δέρμα της αίγας όσο και σε διάφορες δερματοπάθειες. Στις αίγες, αυξημένα επίπεδα γδ T λεμφοκυττάρων έχουν καταγραφεί στη μόλυνση με τα παράσιτα *Haemonchus contortus* (Pérez και συν., 2008), *Fasciola hepatica* (Zafra και συν., 2009), *Schistosoma bovis* (Lindberg και συν., 1999) και *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, (Lybeck και συν., 2013).

### 2.5.3 Δενδριτικά κύτταρα του χορίου του δέρματος

Παρόμοια με τα κύτταρα Langerhans της επιδερμίδας, τα δενδριτικά κύτταρα του χορίου (DDCs, Dermal DCs) αποτελούν έναν άλλον υποπληθυσμό κυττάρων που απαντάται στο χόριο, τόσο σε φυσιολογικές συνθήκες όσο και σε καταστάσεις φλεγμονής, και είναι ικανός να ενεργοποιεί το ανοσοποιητικό σύστημα. Εντοπίζονται κυρίως κοντά σε αγγεία, ενώ εκφράζουν τις εξής μεμβρανικές πρωτεΐνες CD1b, CD1c, CD11c, CD1d, CD36, CD205, MHCII και την υπομονάδα A του παράγοντα XIIIa. Η διάκριση τους από τα κύτταρα Langerhans στηρίζεται στην απουσία έκφρασης της langerin και των κοκκίων Birbeck (Valladeau και Saeland., 2005).

Στον άνθρωπο, πολλές μελέτες έδειξαν ότι τα DDCs διαθέτουν χαρακτηριστικά των μακροφάγων και των δενδριτικών κυττάρων ταυτόχρονα, όπως η ικανότητα για αποτελεσματική φαγοκυττάρωση, αντιγονοπαρουσίαση, μετανάστευση και ενεργοποίηση των T λεμφοκυττάρων. Τα DDCs εκφράζουν τους δείκτες CD209 (DC-specific intercellular adhesion molecule 3-grabbing non integrin molecule [SIGN]) και CD206 (macrophage mannose receptor [MMR]) (Zaba και συν., 2009).

Όσον αφορά στα ζώα και ειδικότερα στο σκύλο, τα DDCs διαχωρίζονται από τα κύτταρα Langerhans (CD1c+, CD11c+, CD80+, MHCII+) με την επιπρόσθετη έκφραση του δείκτη CD11b (Ricklin και συν., 2010). Στα βοοειδή, τα DDCs

εκφράζουν τους δείκτες MHCII και CD1b (Romero-Palomo και συν., 2013). Στο πρόβατο, τα CD1b+MHCII+ DDCs διαχωρίζονται σε δύο κατηγορίες, τα CD172+CD26+ και τα CD172-CD26- (Summerfield και συν., 2015). Θα πρέπει να σημειωθεί η απουσία ανοσοϊστοχημικών μελετών για την ανίχνευση των δενδριτικών κυττάρων του χορίου στην αίγα.

#### **2.5.4 Ενδοθηλιακά κύτταρα αγγείων χορίου δέρματος**

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων του δέρματος, γίνονται αποδέκτες των προφλεγμονωδών κυτταροκινών (IL-1, TNF-α) που παράγονται από τα κερατινοκύτταρα. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να αυξάνεται η έκφραση των μορίων προσκόλλησης όπως το διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης 1 (Intercellular Adhesion Molecule 1, ICAM-1), η E-selectin και το μόριο προσκόλλησης των αγγειακών κυττάρων 1 (Vascular cell adhesion molecule, VCAM-1). Αυτά τα μόρια προσκόλλησης προάγουν αρχικά την προσκόλληση και στη συνέχεια τη μετανάστευση των λευκοκυττάρων από τα αγγεία προς τους ιστούς, ιδιαίτερα των κοκκιοκυττάρων και των T-λεμφοκυττάρων (Yager, 1992).

Επιπρόσθετα, ο παράγοντας VEGF (Vascular endothelial growth factor) που παράγεται από τα κερατινοκύτταρα επάγει την σύνθεση των PDGF και EGF από τα ενδοθηλιακά κύτταρα μέσω των υποδοχέων του VEGF, kdr και flt-1 (Baker, 2007).

#### **2.5.5 Σιτευτικά κύτταρα**

Τα σιτευτικά κύτταρα (mast cells) του χορίου συμβάλλουν στον έλεγχο της διαπερατότητας των αγγείων, ενώ για τη δράση τους δεν απαιτείται ενεργοποίηση των T-λεμφοκυττάρων (Yager, 1992). Τα σιτευτικά κύτταρα διαθέτουν μεγάλο αριθμό κυτταροπλασματικών κοκκίων και έχουν την ικανότητα να απελευθερώνουν σημαντικές ποσότητες κυτοκινών, αυξητικών παραγόντων και προφλεγμονωδών μεσολαβητών όπως οι πρωτεάσες και η ισταμίνη. Πρωτεάσες σερίνης με ιδιότητες με ομοιάζουν εκείνες της τρυπτάσης και της χυμοτρυψίνης εντοπίζονται στα κοκκία των σιτευτικών κυττάρων (Pejler και συν., 2010). Η έκκριση των ουσιών που βρίσκονται στα κοκκία ενεργοποιείται με την πρόσδεση του συμπλόκου αντιγόνο-IgE μέσω του Fc τμήματος της ανοσοσφαιρίνης. Τα σιτευτικά κύτταρα πιθανόν να παίζουν ρόλο



στην απομάκρυνση των παρασίτων, κατά τη διάρκεια οξέων βακτηριακών μολύνσεων και στην επούλωση τραυμάτων (Stone και συν., 2010).

### **2.5.6 Ιστιοκύτταρα**

Στο χόριο εντοπίζονται διάσπαρτα και μονοκύτταρα/μακροφάγα με ατρακτοειδή ή δενδριτική μορφολογία περιαγγειακά και περιεξαρτηματικά γνωστά ως ιστοκύτταρα. Μπορούν να ανιχνεύουν παθογόνα άμεσα χάρη στους υποδοχείς αναγνώρισης δομών (pattern recognition receptors, PRRs) και με την έκφραση των FcγRIII/CD16 και C3bR/CD35, μπορούν να φαγοκυτταρώνουν ανοσοσύμπλοκα. Αυτή η διαδικασία συνοδεύεται με την έκκριση αντιμικροβιακών ενζύμων όπως η μυελοπεροξειδάση και η ελαστάση και την παραγωγή ριζών υπεροξειδίου ( $O_2^-$ ). Επιπρόσθετα, λειτουργούν και ως APCs (με μικρότερη αποτελεσματικότητα σε σχέση με τα δενδριτικά κύτταρα) που επεξεργάζονται τα αντιγόνα και τα παρουσιάζουν στην επιφάνειά τους σε μορφή αναγνωρίσιμη από τα T-κύτταρα (Bangert και συν., 2011).

### **2.5.7 Ινοβλάστες- Ινοκύτταρα**

Οι ινοβλάστες είναι κύτταρα μεσεγχυματικής προέλευσης που εντοπίζονται στον συνδετικό ιστό και παράγουν πρωτεΐνες όπως το κολλαγόνο, η τενασκίνη και η φιμπρονεκτίνη. Παίζουν σημαντικό ρόλο στην επούλωση τραυμάτων, στη ρύθμιση της διαφοροποίησης και του πολλαπλασιασμού των κερατινοκυττάρων μέσω της παραγωγής κυτοκινών (IL-1a, IL-1β, IL-6, TGF-β) και αυξητικών παραγόντων (KGF, IGF-1). Οι ινοβλάστες εκφράζουν υποδοχείς για τις Th2 κυτοκίνες IL-4 και IL-13 οι οποίες προωθούν την παραγωγή κολλαγόνου και αναστέλλουν την παραγωγή μεταλλοπρωτεϊνών (Baker, 2007).

## 2.6 Κερατίνες και ανοσοποιητικό σύστημα του δέρματος

Βασικά δομικά στοιχεία των κερατινοκυττάρων είναι οι κερατίνες οι οποίες είναι υπεύθυνες για το σχηματισμό των ενδιάμεσων ινιδίων του κυτταροσκελετού. Οι κερατίνες διακρίνονται στις τύπου I (όξινες, 40-55 kDa) και στις τύπου II (ουδέτερες ή βασικές, 56-70 kDa). Έχουν αναγνωριστεί 28 κερατίνες τύπου I (K9 - K10, K12-K20, K23 - K28, K31 - K40) και 26 τύπου II (K1-K8, K71 - K86) (Bragulla και Homberger, 2009).

Οι κερατίνες αποτελούν βασικό κομμάτι της επιθηλιακής διαφοροποίησης (Owens and Lane, 2003), ενώ ταυτόχρονα συνιστούν το σκελετό με τον οποίο το κύτταρο επιτυγχάνει να ανθίσταται στο μηχανικό στρες, να διατηρεί τη δομική ακεραιότητα, να εξασφαλίζει μηχανική αντοχή, να αντέχει τις διακυμάνσεις της υδροστατικής πίεσης και να αναπτύσσει πολικότητα (Gu και Coulombe, 2007). Τα προηγούμενα επιτυγχάνονται χάρη στην αλληλεπίδραση των κερατινών με μεγάλη ποικιλία πρωτεϊνών (Kirfel και συν., 2002), όπως οι πρωτεΐνες θερμικού σοκ (Yamazaki et al. 2012), τα δεσμοσωμάτια και τα ημιδεσμοσωμάτια (Coulombe και Omary, 2002) καθώς και οι μικροσωληνίσκοι (Oriolo και συν., 2007).

Εκτός από τις μηχανικές ιδιότητες που προσδίδουν, τα τελευταία χρόνια έχουν αναδειχτεί νέες λειτουργίες των κερατινών. Οι κερατίνες μπορούν να δράσουν ως ρυθμιστές σηματοδοτικών μονοπατιών, αφού έχουν την ικανότητα πρόσδεσης σε κινάσες και φωσφατάσες (Pargamio και Jorgano, 2002). Επίσης, οι κερατίνες ρυθμίζουν αποπτωτικά σήματα και προστατεύουν από το μεταβολικό στρες (Oshima, 2002), ενώ ρυθμίζουν τον κυτταρικό κύκλο και την μετάφραση μέσω των 14-3-3 πρωτεϊνών (Kim et al., 2006). Οι κερατίνες συμμετέχουν στη μεταφορά κυστιδίων της μεμβράνης στο κυτταρόπλασμα των επιθηλιακών κυττάρων (Planko και συν., 2007), ενώ επηρεάζουν την κατάλληλη κατανομή μεμβρανικών πρωτεϊνών στα επιθηλιακά κύτταρα (Kim και Coulombe, 2007). Τα ινίδια κερατίνης επηρεάζουν το μεταβολισμό μέσω της ρύθμισης της πρωτεϊνοσύνθεσης και της κυτταρικής ανάπτυξης (Gu και Coulombe, 2007), ενώ παίζουν βασικό ρόλο και στην επούλωση τραύματος μέσω ενδοκυττάρων σηματοδοτικών μονοπατιών (Kim και συν., 2006).

Οι κερατίνες συμμετέχουν ενεργά στην διαδικασία πολλαπλασιασμού των κερατινοκυττάρων, είτε ενισχύοντας είτε καταστέλλοντας τη μιτωτική δραστηριότητα (Suter και συν., 2009).

Στο υγιές δέρμα, η κερατίνη 14 μαζί με την κερατίνη 5 εκφράζονται στην βασική στιβάδα της επιδερμίδας και είναι απαραίτητες για την διατήρηση της ακεραιότητας της αφού αποτελούν τα κύρια συστατικά των ημιδεσμοσωματίων (Coulombe και Omary, 2002). Καθώς τα κερατινοκύτταρα κινούνται προς τα πάνω και διαφοροποιούνται, τα επίπεδα των K5/K14 μειώνονται σταδιακά ενώ εκφράζονται ετεροδιμερή K1/K10. Η K14 αποτελεί δείκτη των διαιρούμενων κερατινοκυττάρων της βασικής στιβάδας (Omary και συν., 2004). Οι κερατίνες K5 και K14 συνεισφέρουν στην διατήρηση της βασικής στιβάδας της επιδερμίδας, ρυθμίζοντας τα κυτταρικά μονοπάτια μεταγωγής σημάτων της PI3K/Akt στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και του Notch1 στην κυτταρική διαφοροποίηση (Alam και συν., 2011).

Οι ακριβείς μοριακοί μηχανισμοί μέσω των οποίων οι κερατίνες επιτυγχάνουν στις ποικίλες βιολογικές λειτουργίες τους δεν είναι ακόμα γνωστοί. Επιπρόσθετα, πολλά ερωτήματα παραμένουν αναπάντητα, όπως ο σκοπός ύπαρξης της μεγάλης ποικιλίας των κυτοκερατινών και της ιστοειδικής τους έκφρασης καθώς και η ανίχνευση παραγόντων ρύθμισης της έκφρασης τους (Vaidya και Kanojia, 2007).

Η μεταβολή της έκφρασης των κερατινών σε διάφορες φλεγμονώδεις δερματοπάθειες, σε σχέση με το φυσιολογικό δέρμα, έχει αποτελέσει αντικείμενο μελέτης κυρίως στον άνθρωπο. Αλλαγές στην έκφραση των κυτοκερατινών έχουν παρατηρηθεί σε παθολογικές καταστάσεις και αφορούν κυρίως την επούλωση τραυμάτων και τη ψωρίαση, που χαρακτηρίζονται από αυξημένο πολλαπλασιασμό των κυττάρων της επιδερμίδας. Οι αλλαγές περιλαμβάνουν την πρόωρη εμφάνιση δεικτών τελικής διαφοροποίησης, την καθυστέρηση της σύνθεσης ορισμένων κερατινών και την εμφάνιση κερατινών που δεν εκφράζονται στην υγιή επιδερμίδα (Vaidya και Kanojia, 2007). Ειδικότερα, η κερατίνη 16 εκφράζεται και στο υγιές δέρμα ασθενών με ψωρίαση και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης της υποκλινικής μορφής της νόσου (Bhawan και συν., 2004).

Από την ενδελεχή ανασκόπηση της διεθνούς βιβλιογραφίας προκύπτει ότι δεν υπάρχουν δεδομένα σε σχέση με την έκφραση των κερατινών στο δέρμα των αιγών.

## 2.7 Ανοσολογικές αντιδράσεις στο δέρμα μετά από αντιγονικό ερεθισμό

### 2.7.1 Μηχανισμοί φυσικής (μη ειδικής) ανοσίας

Οι αρχικές ανοσολογικές αντιδράσεις περιλαμβάνουν την αναγνώριση σημάτων stress από τα εγκατεστημένα κύτταρα του δέρματος, όπως είναι τα κερατινοκύτταρα, τα κύτταρα Langerhans και τα δενδριτικά κύτταρα του χορίου. Καταρχάς, η ενεργοποίηση των κερατινοκυττάρων σε καταστάσεις στρες, έχει σαν αποτέλεσμα την δραματική αύξηση της παραγωγής και της απελευθέρωσης της IL-1. Η ενεργοποίηση της caspase-1 από παράγοντες όπως οι τοξίνες, η υπεριώδης ακτινοβολία και οι χημικές ουσίες, οδηγεί στην πρωτεόλυση της πρόδρομης μορφής της IL-1 και τη μετατροπή της στην ενεργή της μορφή (Nestle και συν., 2009). Η IL-1 είναι μια πλειοτροπική κυτοκίνη η οποία δρώντας ως προφλεγμονώδες ερέθισμα στα εγκατεστημένα κύτταρα του δέρματος, προωθεί την στρατολόγηση λεμφοκυττάρων, μονοκυττάρων και κοκκιοκυττάρων από την κυκλοφορία (Salmon και συν., 1994). Τα στρατολογημένα ουδετερόφιλα και τα σιτευτικά κύτταρα του χορίου σε συνδυασμό με τα κερατινοκύτταρα, συνεισφέρουν στην παραγωγή αντιμικροβιακών πεπτιδίων που προκαλείται από την ενεργοποίηση υποδοχέων αναγνώρισης προτύπων (pattern recognition receptors), όπως είναι οι Toll-like υποδοχείς (TLRs), οι υποδοχείς μανόζης και οι ελικάσες (Afshar και Gallo, 2013). Ειδικότερα, οι TLR1 έως 6 και 9 εντοπίζονται στα κερατινοκύτταρα και όταν ενεργοποιούνται, διεγείρουν την έκκριση προφλεγμονώδων κυτοκινών όπως οι TNF-α και IL-8, αντιμικροβιακών πεπτιδίων HBD-2 και HBD-3, της επαγόμενη συνθάση οξειδίου του αζώτου (inducible Nitric Oxide Synthase iNOS) και των ιντερφερόνων τύπου I (INFs) (Lebre και συν., 2007).

Μετά από επαφή με μικρόβια ή με μικροβιακά παράγωγα, ενεργοποιείται και μεταναστεύει στον πυρήνα ο παράγοντας NF-kB και φλεγμονώδεις κυτταροκίνες εκκρίνονται από τα κερατινοκύτταρα, κατά τρόπο εξαρτώμενο από τους TLRs υποδοχείς (Pivarcsi και συν., 2004).

Τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρηνα προσέρχονται στον τόπο της φλεγμονής, από τις πρώτες κιόλας ώρες του ιστικού τραυματισμού. Εκφράζουν, μεταξύ άλλων, στην επιφάνειά τους Fc-υποδοχείς για την ανοσοσφαιρίνη IgG (CD16) και υποδοχείς για τα κλάσματα του ενεργοποιημένου συμπληρώματος C3b, δηλαδή τους παράγοντες

που προκαλούν την οψωνοποίηση και συνθέτουν την συνθάση του μονοξειδίου του αζώτου (NOS) (Tizard, 2009).

Τα μεγάλα κοκκώδη λεμφοκύτταρα ή φυσικά κυτταροκτόνα κύτταρα (NK-κύτταρα) (large granular lymphocytes ή natural killer cells or null cells), που χαρακτηρίζονται από τον ανοσοφαινότυπο CD3<sup>-</sup>, CD56<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD94<sup>+</sup>, και CD161<sup>+</sup>, αποτελούν επίσης σημαντικό κομμάτι της φυσικής ανοσίας (Raulet, 2004). Οι κύριες λειτουργίες των NK-κυττάρων είναι αφενός η αναγνώριση και η λύση κυττάρων μολυσμένων με ιούς παράσιτα ή βακτήρια, και αφετέρου η λύση κυττάρων καλυμμένων με IgG. Η λύση αυτών των κυττάρων πραγματοποιείται με την μεσολάβηση κυτοκινών όπως η IFN- $\gamma$  ή μηχανισμούς που βασίζονται στη δράση των perforin/granzyme ή Fas/FasL (Bangert και συν., 2011).

Τέλος, δεν πρέπει να παραγνωρίζεται και ο ρόλος των γδ T λεμφοκυττάρων, τα οποία συμμετέχουν κυρίως σε μηχανισμούς φυσικής ανοσίας (Zheng και συν., 2013). Τα γδ T λεμφοκύτταρα συμμετέχουν στους μηχανισμούς της φυσικής ανοσίας προωθώντας την στρατολόγηση ουδετερόφιλων και μονοκυττάρων μέσω της IL-17 (Tay και συν., 2014). Η παραγωγή της IL-17 προωθείται από την παρουσία της IL-23 και την παρουσία αβ T κυττάρων.

Επιπρόσθετα, τα γδ T λεμφοκύτταρα παρουσιάζουν ευρεία κυτταρολυτική δραστηριότητα χρησιμοποιώντας μηχανισμούς που βασίζονται στη δράση των perforin/granzyme ή Fas/FasL ενώ παράγουν αντιμικροβιακά πεπτίδια όπως τα cathelicidin/LL37, ενισχύοντας έτσι την άμυνα του επιθηλίου απέναντι σε παθογόνα (Ferreira και συν., 2013).

Τέλος, τα γδ T λεμφοκύτταρα παράγουν τον αυξητικό παράγοντα των κερατινοκυττάρων (KGF, keratinocyte growth factor), αναδεικνύοντας έτσι το ρόλο τους στη διατήρηση της ακεραιότητας του δέρματος και της επούλωσης τραυμάτων (O'Brien και Born, 2015).

## 2.7.2 Μηχανισμοί επίκτητης (ειδικής) ανοσίας

Μετά την εισαγωγή ενός πρωτεϊνικού αντιγόνου ή απτενίου στο δέρμα, αυτό παραλαμβάνεται από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (κύτταρα Langerhans επιδερμίδας, δενδριτικά κύτταρα χορίου) (Meyer και συν., 2007; Deane και συν., 2009). Τα κύτταρα Langerhans αποκτούν πρόσβαση σε αντιγόνα που συναντούν στην επιδερμίδα με το να επεκτείνουν τους δενδρίτες τους διαμέσου των επιδερμικών δεσμοσωματίων. Τα LCs της επιδερμίδας αποκρίνονται σε ερεθίσματα όπως είναι τα προϊόντα των παθογόνων μέσω των υποδοχέων TLRs που εκφράζονται στην επιφάνεια τους και εκφράζουν IL-1 $\beta$  και άλλες ανοσορυθμιστικές κυτοκίνες και χημειοκίνες. Τα δενδριτικά κύτταρα του χορίου με παρόμοιο τρόπο ανιχνεύουν μοριακά πρότυπα παθογόνων μικροοργανισμών (PAMPs) με αποτέλεσμα να εκκρίνουν προφλεγμονώδεις κυτοκίνες (Kubo και συν., 2009).

Στη συνέχεια, στα κύτταρα Langerhans και στα δενδριτικά του χορίου, αυξάνεται η έκφραση των MHC II μορίων στην επιφάνεια τους, γεγονός που ενισχύει την αντιγονοπαρουσιαστική τους ικανότητα. Αυτά τα ενεργοποιημένα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα, μπορούν να ενεργοποιήσουν τα εγκατεστημένα T κύτταρα και να μεταναστεύσουν από το δέρμα μέσω προσαγωγών λεμφαγγείων στα επιπολής λεμφογάγγλια (Kubo και συν., 2009).

Κατά τη διάρκεια αυτής της μετανάστευσης, τα LCs μειώνουν την έκφραση μορίων ή δομών υπεύθυνων για την πρόσληψη και την επεξεργασία του αντιγόνου αλλά και για την πρόσδεση των LCs στα κερατινοκύτταρα (π.χ υποδοχείς Fc, E-cadherin) ενώ αυξάνουν την έκφραση μορίων απαραίτητων για την ενεργή διέγερση και μετανάστευση των T κυττάρων (π.χ CD40, CD80, CD83, CD86). Οι κυτοκίνες TNF- $\alpha$  και IL-1 $\beta$  είναι απαραίτητες για την μετανάστευση των LCs, ενώ η IL-10 αποτελεί αναστολέα αυτής. Ένα σημαντικό εμπόδιο για την μετανάστευση των LCs προς τα λεμφαγγεία αποτελεί η βασική μεμβράνη της επιδερμίδας. Τα LCs πιθανόν προσκολλώνται σε αυτήν μέσω α6 υποδοχέων ιντεγκρίνης ενώ παράγουν πρωτεολυτικά ένζυμα όπως είναι η τύπου IV κολλαγενάση (MMP-9) (Ratzinger και συν., 2002).

Η παρουσίαση των αντιγόνων μέσω των MHC II μορίων στην επιφάνεια των LCs έχει σαν αποτέλεσμα τη μεταφορά του πρωταρχικού σήματος στα T κύτταρα μέσω της ενεργοποίησης του υποδοχέα των T κυττάρων. Αυτό το γεγονός είναι αρκετό για την παραγωγική ενεργοποίηση των μη ευαισθητοποιημένων (naïve) T κυττάρων τα

οποία όμως απαιτούν και δευτερογενή σήματα, τα οποία περιλαμβάνουν την έκκριση κυτοκινών και την παρουσία συνδιεγερτικών μεμβρανικών μορίων (Igyártó και Kaplan, 2013).

Μετά την αλληλεπίδραση με τα κύτταρα Langerhans, τα μέχρι τότε μη ευαισθητοποιημένα (naïve) T-λεμφοκύτταρα ενεργοποιούνται εκφράζοντας πλέον τον παράγοντα cutaneous lymphocyte antigen (CLA) και ένα διακριτό σετ υποδοχέων χημειοκινών (Robert και συν. 1999). Αυτές οι αλλαγές διευκολύνουν τη μετανάστευση τους στην περιοχή του δέρματος που το αντιγόνο έχει εισέλθει μέσω μηχανισμών χημειοταξίας (Robert και συν. 1999, Deane και συν, 2009).

Συγκεκριμένα, λαμβάνει χώρα η διαφοροποίηση και ο πολλαπλασιασμός αυτών των CD4+ T-λεμφοκυττάρων σε τρεις διακριτούς κλώνους τα Th-1, Th-2 και Th-17 κύτταρα, ανάλογα με το είδος των διαμεσολαβούμενων κυτταροκινών. Τα Th1 CD4+ κύτταρα παράγουν IL-2, IFN- $\gamma$  και TNF- $\beta$  και προάγουν την κυτταρική ανοσία. Τα Th1 κύτταρα, με την απελευθέρωση της IFN- $\gamma$ , ενεργοποιούν τα μακροφάγα, αναστέλλουν την ανάπτυξη των παθογόνων και προωθούν την ενεργοποίηση των CD8+ κυτταροτοξικών T λεμφοκυττάρων (Lalli και συν., 2004).

Τα CD8+ λεμφοκύτταρα ανάλογα με το είδος των εμπλεκόμενων κυτταροκινών αναπτύσσουν κυτταροτοξική δράση έναντι των κυττάρων του οργανισμού που φέρουν τα εξωγενή αντιγόνα και αποτελούν τους κύριους μεσολαβητές της κυτταρικής ανοσίας. Από τη στιγμή που θα ενεργοποιηθούν πλήρως, τα CD8+ T κύτταρα εγκαταλείπουν τα λεμφικά όργανα και αναζητούν μολυσμένα κύτταρα. Τα CD8+ κυτταροτοξικά T-κύτταρα είναι ικανά να προκαλούν άμεση λύση κυττάρων που παράγουν ξένα αντιγόνα (Broege και συν., 2011). Όταν αναγνωρίσουν το σύμπλοκο MHC1-αντιγόνου εκφρασμένο σε άλλο κύτταρο και οι TCR του είναι κατελιημένοι, τότε καταστρέφει το κύτταρο- στόχο μέσω της μιας εκ των δύο οδών της απόπτωσης. Η μία οδός, η οδός της περφορίνης, περιλαμβάνει την έκκριση πρωτεϊνών που ονομάζονται περφορίνες και κοκκιοένζυμα ενώ με την οδό CD95 (fas) καταστρέφονται τα κύτταρα μέσω ενός υποδοχέα θανάτου. Η οδός της περφορίνης χρησιμοποιείται κυρίως για την καταστροφή μολυσμένων με ιούς κυττάρων ενώ η οδός CD95 για την καταστροφή ανεπιθύμητων κυττάρων. Και στις δύο οδούς απαιτείται φυσική επαφή μεταξύ του κυττάρου στόχου και του CD8+ T κυττάρου (Shresta και συν., 1998). Η δράση των περφορινών των κυτταροτοξικών κυττάρων αυξάνεται σημαντικά από τις IL-2, IL-3, IL-4, IL-6, TNF- $\alpha$  και IFN- $\gamma$  (Tizard, 2009).

Μια σημαντική λειτουργία των φαγοκυττάρων είναι η παραγωγή μεγάλων ποσοτήτων κυτοκινών για την αντιμετώπιση των παθογόνων όπως οι IL-1, IL-6, TNF-α, IL-8, IL-12, και IL-10. Οι κυτοκίνες των μακροφάγων (κυρίως IL-1 και TNF-α) προκαλούν συνάθροιση των κυττάρων της φλεγμονής στο σημείο της βλάβης ενώ συγχρόνως επιτείνουν την ενεργοποίηση των βοηθητικών T-κυττάρων. Η αλληλεπίδραση μακροφάγων και λεμφοκυττάρων αποτελεί καθοριστικό παράγοντα ενίσχυσης της ειδικής ανοσιακής απάντησης (Tizard, 2009).

Τα Th2 CD4+ κύτταρα παράγουν IL-4, IL-5, IL-6, IL-13 και IL-15 και ενισχύουν την χυμική ανοσία. Έτσι, ενεργοποιούνται τα B-λεμφοκύτταρα στα λεμφογάγγλια και διαφοροποιούνται σε πλασμοκύτταρα, τα οποία παράγουν αντισώματα (αρχικά IgM και προοδευτικά IgE και IgG) έναντι του συγκεκριμένου αντιγόνου (Deane και συν, 2009). Τα αντισώματα αυτά απελευθερώνονται στην αιματική κυκλοφορία και μέσω αυτής καταλήγουν στην περιοχή του δέρματος που εντοπίζονται τα αντιγόνα. Ο μεταγραφικός παράγοντας GATA-3 φαίνεται να είναι απαραίτητος για την εγκαθίδρυση βασικών χαρακτηριστικών των Th2 κυττάρων όπως είναι η έκφραση των γονιδίων των IL-4, IL-5, και IL-13. Επίσης, τα Th2 CD4+ κύτταρα προωθούν τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των εοσινοφίλων και των σιτευτικών κυττάρων (Tindemans και συν., 2014).

Τα Th17 κύτταρα χαρακτηρίζονται από την έκκριση της IL-17. Η IL-17 ενισχύει την άμυνα του ξενιστή ενάντια σε παθογόνα με την ενίσχυση της παραγωγής αντιμικροβιακών παραγόντων και άλλων αντιφλεγμονωδών κυτοκινών, που οδηγούν στην στρατολόγηση ουδετερόφιλων και μακροφάγων στη θέση εντοπισμού της φλεγμονής. Ο μεταγραφικός παράγοντας ROR (RAR-related orphan nuclear receptor) που σχετίζεται με τις Th17 αποκρίσεις ρυθμίζει την έκφραση των IL-17, IL-23R, and CCR6 στα Th17 κύτταρα (Korn και συν., 2009). Η διαφοροποίηση των Th17 κυττάρων βασίζεται στην IL-23, καθώς επίσης και στις IL-1β και IL-6 ενώ αναστέλλεται από τις IFN-γ και IL-4, μέσω ενός αλληλορυθμιστικού μηχανισμού. Τα Th17 κύτταρα ασκούν τις λειτουργίες παράγοντας σημαντικές κυτοκίνες όπως οι IL-17A, IL-17F, IL-26 και IL-22. Μία από τις γνωστές λειτουργίες της IL-22 είναι η επαγωγή του πολλαπλασιασμού των κερατινοκυττάρων που οδηγεί σε υπερπλασία της επιδερμίδας. Η δράση των Th17 κυττάρων στον άνθρωπο έχει συσχετιστεί με αυτοάνοσα νοσήματα όπως η ψωρίαση και ο ερυθματώδης λύκος (Fouser και συν., 2008).



Επιπρόσθετα, θα πρέπει να σημειωθεί ο ρόλος των γδ Τ λεμφοκυττάρων στους μηχανισμούς της ειδικής ανοσίας. Ειδικότερα, τα γδ Τ λεμφοκύτταρα ενεργοποιούν την ωρίμαση των δενδριτικών κυττάρων που έχουν μολυνθεί με παθογόνα μέσω των CD1 μορίων (Ferreira και συν., 2013). Τα γδ λεμφοκύτταρα παίζουν και το ρόλο αντιγονοπαρουσιαστικού κυττάρου στα αβ Τ λεμφοκύτταρα (CD4+ και CD8+ Τ κύτταρα). Ειδικότερα, επεξεργάζονται αποτελεσματικά ποικίλα αντιγόνα και παρέχουν συνδιεγερτικά σήματα που προωθούν τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των παρθένων αβ λεμφοκυττάρων.

Επίσης, τα γδ λεμφοκύτταρα βοηθούν τα Β λεμφοκύτταρα με την έκφραση του CXCR5 (CXC-chemokine receptor 5) να παράγουν IgM, IgG και IgA ανοσοσφαιρίνες συνεισφέροντας έτσι στη χυμική ανοσία (Wu και συν., 2014).

Επίσης, τα γδ Τ λεμφοκύτταρα έχουν τη δυνατότητα παραγωγής διαφορετικών Th1 κυτοκινών όπως η ιντερφερόνη γ (IFN-γ) και ο παράγοντας νέκρωσης όγκων α (tumor necrosis factor, TNF-α) αλλά και αυξητικών παραγόντων όπως ο αυξητικός παράγοντας ομοιάζων στην ινσουλίνη-1 (Insulin-like growth factor 1, IGF-1). Επιπρόσθετα εκκρίνουν Th2 κυτοκίνες, όπως η IL-4 και η IL-10, η οποία ρυθμίζει τον πολλαπλασιασμό των CD8<sup>+</sup> Τ λεμφοκυττάρων και την έκκριση του TNF-α από τα ενεργοποιημένα CD8<sup>+</sup> λεμφοκύτταρα (Wu και συν., 2014).

Τελικά, στην περιοχή του δέρματος που είχαν εισέλθει τα αντιγόνα, λαμβάνει χώρα η αδρανοποίηση-καταστροφή τους μέσω παράλληλων και συμπληρωματικών μηχανισμών: α) κυτταροτοξικότητας β) φαγοκυττάρωσης (δράση μακροφάγων) και γ) οψωνινοποίησης και καταστροφής των ανοσοσυμπλόκων. Οι μηχανισμοί αυτοί έχουν ως αποτέλεσμα την προοδευτική μείωση του πλήθους των αντιγόνων στο δέρμα (εφόσον δεν υπάρχει συνεχής εισροή αντιγόνων). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την προοδευτική μείωση των κυτταροκινών, επιτρέποντας τη δράση παραγόντων με ανοσοπεριοριστική δράση. Επιπλέον, μειώνεται η έκφραση των μορίων προσκόλλησης στα ενδοθηλιακά κύτταρα και προοδευτικά περιορίζεται η χημειοταξία CD4<sup>+</sup> και CD8<sup>+</sup> λεμφοκυττάρων στην περιοχή (Yager, 1992; Tizard, 2009).

Σε περιπτώσεις που δεν επιτυγχάνεται η εξουδετέρωση των βλαπτικών παραγόντων κατά τη φάση ευαισθητοποίησης πχ. αντιγόνα που λόγω της φύσης τους είναι αδύνατη η καταστροφή και απομάκρυνσή τους (μετάζωα παράσιτα) ή/και υπάρχει διαρκής αντιγονική διέγερση με συνεχή εισροή υπερπληθυσμού αντιγόνων, οι αντιδράσεις επίκτητης ανοσίας παρατείνονται και επιπλέκονται, οπότε

χαρακτηρίζονται πλέον ως αντιδράσεις υπερευαισθησίας. Επιπλέον, αυτές οι αντιδράσεις αφορούν και άτομα με δυσλειτουργικούς ανοσολογικούς μηχανισμούς πχ. λόγω γονιδιακών αιτιών (αυτοάνοσα νοσήματα). Τελικά, αναπτύσσονται στους ιστούς αλλοιώσεις που είναι αποτέλεσμα των αντιδράσεων υπερευαισθησίας και όχι της άμεσης επίδρασης του βλαπτικού παράγοντα (Yager, 1992; Tizard, 2009, Nestle και συν., 2009).

Η αντίδραση υπερευαισθησίας τύπου-I αναπτύσσεται όταν υπάρχει ευαισθητοποίηση με παραγωγή ανοσοσφαιρίνης IgE έναντι συγκεκριμένου αντιγόνου και μόρια IgE έχουν δεσμευτεί στους υποδοχείς των σιτευτικών κυττάρων. Η επανέκθεση στο αντιγόνο (νέα έκθεση μετά την παρέλευση χρονικού διαστήματος ή παρατεταμένη έκθεση) απολήγει στην αποκοκκίωση των σιτευτικών κυττάρων και την απελευθέρωση διαβιβαστών (ισταμίνη, σεροτονίνη, προσταγλανδίνη D2, λευκοτριένια κλπ.). Χαρακτηρίζεται από δυο φάσεις: α) την άμεση φάση («αναφυλαξία»), κατά την οποία συμβαίνουν σύσπαση των λείων μυϊκών ινών, αύξηση της διαπερατότητας των αγγείων (πομποί, οίδημα κλπ.) και β) την όψιμη φάση, κατά την οποία συσσωρεύονται στο δέρμα εωσινόφιλα και CD4+ λεμφοκύτταρα. Η αποκοκκίωση των εωσινοφίλων στις θέσεις φλεγμονής έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση των MBP (major basic protein, μείζονα βασική πρωτεΐνη) και ECP (eosinophil cationic protein, εωσινοφιλική κατιονική πρωτεΐνη). Πρόκειται για παράγοντες που είναι βλαπτικοί για τα κερατινοκύτταρα, αλλά και προκαλούν ξανά την αποκοκκίωση των σιτευτικών κυττάρων (Yager, 1992, Tizard, 2009).

Η αντίδραση υπερευαισθησίας τύπου-II στο δέρμα αφορά τα αυτοάνοσα νοσήματα πχ. σύμπλεγμα πέμφιγα. Χαρακτηρίζεται από την παραγωγή αντισωμάτων κατά των κυτταρικών μεμβρανών και την επακόλουθη καταστροφή τους, φαινόμενο που διαρκώς είναι σε εξέλιξη (Yager, 1992; Tizard, 2009).

Η αντίδραση υπερευαισθησίας τύπου-III είναι το αποτέλεσμα της εναπόθεσης ανοσοσυμπλεγμάτων σε δομικά στοιχεία του δέρματος, τα οποία έχουν δημιουργηθεί *in situ* στο δέρμα ή έχουν καταλήξει σε αυτό με την αιματική κυκλοφορία (Yager, 1992; Tizard, 2009).

Η αντίδραση υπερευαισθησίας τύπου-IV διαχωρίζεται σε: α) κλασική υπερευαισθησία όψιμου τύπου, η οποία διαμεσολαβείται από CD4+ λεμφοκύτταρα που εκκρίνουν κυτταροκίνες υπεύθυνες για τη συσσώρευση μακροφάγων και το σχηματισμό κοκκιωμάτων (κοκκιωματώδης φλεγμονή) β) κυτταροτοξικότητα

οφειλόμενη σε T-λεμφοκύτταρα, η οποία διαμεσολαβείται από CD4+ λεμφοκύτταρα που εκκρίνουν κυτταροκίνες υπεύθυνες για τη συσσώρευση κυτταροτοξικών T-λεμφοκυττάρων (CD8+ λεμφοκύτταρα) στο δέρμα πχ. αλλεργική από επαφή δερματίτιδα (Yager, 1992; Jorudson και συν. 1999, Kupper και συν., 2004; Tizard, 2009).

### 2.7.3 Αλληλεπιδράσεις μεταξύ φυσικής και επίκτητης ανοσίας

Τα κερατινοκύτταρα με την έκκριση επιπρόσθετων κυτοκινών επιδρούν στην ενεργοποίηση και τον πολλαπλασιασμό των T λεμφοκυττάρων (μέσω των IL-1, IL-15 και IL-18), στην καταστολή της ανοσολογικής αντίδρασης (μέσω των IL-10 και TGF-β), στην διαφοροποίηση των κυττάρων Langerhans (μέσω των IL-1, GM-CSF, TNF-α, IL-10, IL-15) και την μετατόπιση της λεμφοκυτταρικής απόκρισης σε αντιδράσεις τύπου 1 (μέσω των IL-12, IL-18), ή T17 (μέσω της IL-23) (Bangert και συν., 2011). Μία ακόμα σημαντική κυτοκίνη που εκκρίνουν τα κερατινοκύτταρα είναι οι IL-6 (Baker, 2007). Η IL-6 διεγείρει την ενίσχυση του πολλαπλασιασμού των B και T κυττάρων, την διαφοροποίηση των B λεμφοκυττάρων και την παραγωγή ανοσοσφαιρινών, καθώς και την διέγερση κυτταροτοξικών και NK κυττάρων. Στα κερατινοκύτταρα εντοπίζονται υποδοχείς της IL-6, δίνοντας έτσι τη δυνατότητα σε αυτά να αποκριθούν με αυτοκρινή τρόπο. Η IL-6 προωθεί τον πολλαπλασιασμό των κερατινοκυττάρων, ενώ υψηλή έκφραση της παρατηρείται στην ψωρίαση (Kueger και συν., 1991).

Οι ινοβλάστες του χορίου ανταποκρινόμενοι στις κυτταροκίνες των κερατινοκυττάρων ενισχύουν την αντίδραση της επιδερμίδας με την παραγωγή IL-1, IL-6 και TNF-α. Οι κυτταροκίνες αυτές επηρεάζουν την διαπερατότητα κυττάρων φλεγμονής (πχ. μακροφάγα, ουδετερόφιλα και εωσινόφιλα πολυμορφοπύρηνα) διαμέσου των ενδοθηλιακών κυττάρων των αγγείων και τη χημειοταξία προς την επιδερμίδα (Yager, 1992).

Επίσης, τα γδ T λεμφοκύτταρα εκφράζουν τον υποδοχέα χημειοκινών CCR6, του οποίου ο συνδέτης CCL20 εκφράζεται στα κερατινοκύτταρα της επιδερμίδας, στα ενδοθηλιακά και στα δενδριτικά κύτταρα κατά την φλεγμονή (O'Brien και Born, 2015).

## Κεφάλαιο 3: Σκοπός της έρευνας

---

Σκοπός της έρευνας στα πλαίσια της διδακτορικής διατριβής είναι η παθολογοανατομική μελέτη της νόσου, ιδίως της παθογένειας, της ιστικής και ανοσιακής αντίδρασης των αιγών στον αιτιολογικό παράγοντα *S.scabiei*. Μέχρι τώρα στη διεθνή βιβλιογραφία, υπάρχουν πολύ περιορισμένες αναφορές για τη σαρκοπτική ψώρα στις αίγες και αφορούν στην κλινική εικόνα και την κλασική δερματοιστοπαθολογία.

Η έρευνα περιλαμβάνει την μελέτη του νοσήματος στις αίγες τόσο σε φυσικά περιστατικά σαρκοπτικής ψώρας σε εκτροφές, όσο και μετά από πειραματική μόλυνση, με τη χρήση ιστοπαθολογικών τεχνικών και κυρίως ανοσοϊστοχημικών μεθόδων με σκοπό την κατανόηση του συστήματος ανοσίας του δέρματος των αιγών απέναντι στο *S. scabiei*. Ειδικότερα, οι στόχοι αναφέρονται επιγραμματικά παρακάτω:

1. Συστηματική ανασκόπηση της σχετικής διεθνούς βιβλιογραφίας, μέσω της ανεύρεσης των μελετών που περιλαμβάνουν δεδομένα για την σαρκοπτική ψώρα στα θηλαστικά, για το δέρμα των αιγών και το ανοσοποιητικό σύστημα του δέρματος (λέξεις κλειδιά: pathology of sarcoptic mange, caprine skin, skin immune system).
2. Περιγραφή των μακροσκοπικών και ιστοπαθολογικών αλλοιώσεων της σαρκοπτικής ψώρας σε φυσικά περιστατικά αιγών και ιδίως κατά την εξέλιξή τους σε πειραματική μόλυνση ειφίων και αιγών με το *Sarcoptes scabiei* var *caprae*.
3. Χαρτογράφηση των κυτταρικών στοιχείων του SIS του υγιούς δέρματος των αιγών.
4. Διερεύνηση του ανοσοφαινότυπου των δερματικών αλλοιώσεων της σαρκοπτικής ψώρας τόσο σε φυσικά περιστατικά αιγών όσο και μετά από πειραματική μόλυνση με το *S.scabiei* και συσχέτιση με δεδομένα από άλλα ζώα.
5. Μελέτη του ρόλου των γδ T λεμφοκυττάρων στο SIS τόσο στο υγιές δέρμα όσο και στις δερματικές αλλοιώσεις της σαρκοπτικής ψώρας .

6. Μελέτη της έκφρασης διαφόρων κερατινών τόσο στο υγιές δέρμα των αιγών όσο και στο δέρμα ζώων με σαρκοπτική ψώρα τόσο σε φυσικά περιστατικά όσο και μετά από πειραματική μόλυνση.

# Κεφάλαιο 4: Υλικά και Μέθοδοι

---

## 4.1 Φυσικά περιστατικά σαρκοπτικής ψώρας σε αίγες

### 4.1.1 Ζώα που χρησιμοποιήθηκαν

Εξετάστηκαν συνολικά 4 εκτροφές (3 αιγών και προβάτων και 1 αιγών) σε χρονικό διάστημα 2 ετών στην Περιφέρεια Θεσσαλίας με γνωστό ιστορικό σαρκοπτικής ψώρας στις οποίες δεν έγιναν θεραπευτικές παρεμβάσεις από τον κτηνοτρόφο για τουλάχιστον 4 μήνες. Πιο συγκεκριμένα, ζώα που πιθανόν έλαβαν τοπική ακαρεοκτόνα αγωγή τους τελευταίους 4 μήνες ή συστηματική ακαρεοκτόνα αγωγή τους τελευταίους 8 μήνες αποκλείονταν από τη μελέτη.

Η κλινική εξέταση των ζώων, πάντοτε με την συνδρομή κτηνιάτρου, αφορούσε τη γενικότερη κατάσταση της υγείας των ζώων και επικεντρώθηκε στην παρουσία δερματικών αλλοιώσεων. Σε κάθε επίσκεψη σε συγκεκριμένη εκτροφή (φθινόπωρο και χειμώνας), επιλέγονταν αντιπροσωπευτικός αριθμός από τα ζώα που έφεραν μακροσκοπικές αλλοιώσεις στο δέρμα. Συνολικά εξετάστηκαν 40 περιπτώσεις αιγών με σαρκοπτική ψώρα (23 ερίφια και 17 αίγες), κυρίως θηλυκά και λιγότερα αρσενικά ζώα. Επιπλέον, χρησιμοποιήθηκαν 4 κλινικά υγιείς αίγες ως ζώα μάρτυρες, προκειμένου να ληφθούν βιοψίες φυσιολογικού δέρματος. Η φωτογράφιση των ζώων έγινε με χρήση ψηφιακής φωτογραφικής μηχανής Nikon.

Η σταδιοποίηση της σαρκοπτικής ψώρας έγινε με βάση την κατανομή των μακροσκοπικών αλλοιώσεων στα ακόλουθα τέσσερα πρότυπα κατανομής (Δούκας, 2014):

- **πρότυπο κατανομής 1:** αλλοιώσεις μόνο στο κεφάλι (συνήθως διάσπαρτες).
- **πρότυπο κατανομής 2:** διάσπαρτες αλλοιώσεις στο κεφάλι και τον κορμό σε ποικίλους συνδυασμούς, που οριοθετούνται σαφώς και υπάρχουν ευδιάκριτες φυσιολογικές περιοχές.

- **πρότυπο κατανομής 3:** διάσπαρτες αλλοιώσεις στο κεφάλι, τον κορμό και τα άκρα σε ποικίλους συνδυασμούς, που οριοθετούνται σαφώς και υπάρχουν ευδιάκριτες φυσιολογικές περιοχές σε ποικίλη έκταση.
- **πρότυπο κατανομής 4:** διάσπαρτες αλλοιώσεις στο κεφάλι και τον κορμό και τα άκρα σε ποικίλους συνδυασμούς και επιπλέον στο περίνεο, στο δέρμα του μαστού ή του οσχέου (οι αλλοιώσεις οριοθετούνται σαφώς και υπάρχουν ευδιάκριτες φυσιολογικές περιοχές σε ποικίλη έκταση).

Επιπρόσθετα, για την αρχική ανάπτυξη και ολοκλήρωση των ανοσοϊστοχημικών τεχνικών χρησιμοποιήθηκαν βιοψίες λεμφαδένων και δέρματος οι οποίες λήφθηκαν από 6 υγιείς αίγες (3 ερίφια και 3 αίγες).

#### 4.1.2 Λήψη ξεσμάτων και παρασιτολογικός έλεγχος

Από κάθε περιοχή άμεσης γειννίας της λήψης των βιοψιών πραγματοποιήθηκε ταυτόχρονα ξέσμα με τη χρήση νυστεριού, μετά την επάλειψη με παραφινέλαιο επιφάνειας περίπου 1-2 cm<sup>2</sup>. Το υλικό τοποθετήθηκε σε πλαστικό περιέκτη και μεταφέρθηκε σε συνθήκες περιβάλλοντος εργαστηρίου. Το υλικό επιστρώθηκε σε αντικειμενοφόρες πλάκες με παραφινέλαιο και παρατηρήθηκε στο οπτικό μικροσκόπιο για παρουσία ή όχι μορφολογικών στοιχείων του *Sarcoptes scabiei var caprae* (ενήλικα, προνύμφες, αυγά, σκύβαλα).

#### 4.1.3 Λήψη βιοψιών δέρματος

Από κάθε ζώο λήφθηκαν 1- 4 βιοψίες ανάλογα με την έκταση των αλλοιώσεων με βάση το πρότυπο κατανομής. Από κάθε υγιές ζώο μάρτυρα λήφθηκαν βιοψίες από το δέρμα του επιρρίνιου, του πτερυγίου του αυτιού, της ράχης, της κοιλιακής χώρας και του ποδιού. Η λήψη των βιοψιών έγινε με τη χρήση punch βιοψίας 8mm (Kruuze, Germany) μετά από εφαρμογή τοπικής αναλγησίας με υδροχλωρική λιδοκαΐνη (xylocaine 2%).

#### **4.1.4 Μονιμοποίηση ιστών και ιστολογική επεξεργασία**

Κάθε βιοψία κόπηκε σε δύο ιστοτεμάχια, από τα οποία το πρώτο τοποθετήθηκε σε ουδέτερο ρυθμιστικό διάλυμα φορμόλης 10% (Merck, Germany) ενώ το δεύτερο τοποθετήθηκε σε μονιμοποιητικό διάλυμα με βάση τα άλατα ψευδαργύρου (ZSF = Zinc Salt Fixative, pH 6,5).

Το μονιμοποιητικό διάλυμα Zinc Salt Fixative, pH 6.5 παρασκευάστηκε ως εξής: Αρχικά, παρασκευάστηκε διάλυμα 0.1M Tris buffer, pH 7.4 (IL) με τον ακόλουθο τρόπο: σε 1000 ml αποσταγμένου νερού προστέθηκαν 12.1 g (THAM, TRIZMA) Tris Base και 81.5 ml HCL 1N. Ρυθμίστηκε το pH στο 7,4. Στη συνέχεια, για την παρασκευή του μονιμοποιητικού με άλατα ψευδαργύρου ακολουθήθηκε η εξής διαδικασία: σε 1000 ml 0.1M Tris buffer, pH 7.4 προστέθηκαν 0.5g Calcium Acetate, 5.0g Zinc Acetate και 5.0g Zinc Chloride. Το τελικό pH πρέπει να βρίσκεται μεταξύ 6.5 και 7.0. Το μονιμοποιητικό αποθηκεύεται σε θερμοκρασία δωματίου.

Μετά την παραμονή των βιοψιών στα 2 μονιμοποιητικά διαλύματα για 12-24 ώρες ακολουθήθηκε η συνήθης διαδικασία αφυδάτωσης σε διαλύματα αλκοολών (χρήση ιστοκινέτας) και έγκλειση σε κύβους παραφίνης. Στη συνέχεια με την βοήθεια μικροτόμου Leica, παρασκευάστηκαν τομές πάχους 5 μm οι οποίες τοποθετήθηκαν σε θετικά φορτισμένες αντικειμενοφόρες πλάκες (Superfrost, Menzel, Wiesbaden, Germany).

#### **4.1.5 Ιστοχημικές χρώσεις βιοψιών δέρματος**

Στις τομές (υλικό φορμόλης) εφαρμόστηκαν οι ιστοχημικές χρώσεις εωσίνης-αιματοξυλίνης και Giemsa (για την μελέτη εωσινόφιλων) με σκοπό την ιστοπαθολογική μελέτη των αλλοιώσεων του δέρματος των αιγών με σαρκοπτική ψώρα σε όλα τα ιστολογικά παρασκευάσματα παραφίνης.



#### 4.1.6 Ανοσοϊστοχημικές χρώσεις βιοψιών δέρματος

Οι ανοσοϊστοχημικές τεχνικές της παρούσας μελέτης στηρίχτηκαν στην μέθοδο πολυμερών δεξτράνης και περιελάμβαναν τα εξής στάδια:

- αποπαραφίνωση των τομών,
- ενυδάτωση,
- ανάδειξη αντιγονικού επιτόπου (antigen retrieval) για τους ιστούς που μονιμοποιήθηκαν με φορμόλη,
- αναστολή ενδογενούς υπεροξειδάσης,
- δέσμευση πρωτογενούς αντισώματος,
- δέσμευση δευτερογενούς αντισώματος,
- δέσμευση χρωμογόνου,
- χρώση αιματοξυλίνης

Πιο συγκεκριμένα, με τη χρήση μικροτόμου παρασκευάστηκαν πολλαπλές σειριακές τομές 5 μm από τον κάθε κύβο παραφίνης οι οποίες καθλώθηκαν σε ηλεκτροστατικά φορτισμένες αντικειμενοφόρες πλάκες και τοποθετήθηκαν σε κλίβανο θερμοκρασίας 65<sup>0</sup>C overnight. Την επόμενη ημέρα ακολούθησε η εμφύσηση των τομών σε διάλυμα ξυλόλης για 30 min και η ενυδάτωση τους σε κατιούσα σειρά αλκοολών. Για την ανοσοϊστοχημική μελέτη χρησιμοποιήθηκαν ένα πολυκλωνικό αντίσωμα (pAb) από κουνέλι κατά του CD3 του ανθρώπου (Cell Marque) και 14 μονοκλωνικά αντισώματα (mAbs) κατά των CD4, CD8, WC1, CD1, CD21, CD68, Cytokeratin AE1/AE3, Cytokeratin MNF116, Cytokeratin 5/6, Cytokeratin 19, Cytokeratin 14, Cytokeratin High Molecular Weight, Cytokeratin 7. Τα μονοκλωνικά αντισώματα CD4, CD8, WC1, CD1, CD21 σύμφωνα με τα φυλλάδια δεδομένων των εταιρειών, εμφανίζουν διασταυρούμενη αντίδραση με τους ιστούς της αίγας. Στη παρούσα μελέτη ως θετικοί μάρτυρες (τομές υγιούς δέρματος και λεμφαδένα αίγας και ανθρώπου) χρησιμοποιήθηκαν ιστοί που δείχνουν θετικότητα για το κάθε αντίσωμα σύμφωνα με τις οδηγίες των εταιριών παρασκευής των αντισωμάτων, ενώ αρνητικοί μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν τομές στις οποίες παραλήφθηκε η επώαση με το πρωτογενές αντίσωμα.

**Πίνακας 1: Τεχνικά χαρακτηριστικά των αντισωμάτων που χρησιμοποιήθηκαν.**

Πρωτοπαγές Αντίσωμα	Κλώνος	Ξενιστής	Ισότυπος ανοσοσφαιρίνης	Εταιρεία	Κωδικός	Επίτοποι που ανιχνεύονται
CD3	Πολυκλωνικό	Rabbit anti human	N/A	Cell Marque	103A-7	T-λεμφοκύτταρα
CD4	44.38	Mouse anti sheep	IgG2a	Serotec	MCA22 13	T βοηθητικά λεμφοκύτταρα
CD8	38.65	Mouse anti sheep	IgG2a	Serotec	MCA22 16	T κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα
WC1	CC15	Mouse anti bovine	IgG2a	Serotec	MCA83 8S	Ωριμα γδ λεμφοκύτταρα
CD1	20.27	Mouse anti sheep	IgG1	Serotec	MCA22 12	Δενδριτικά κύτταρα
CD21	CC21	Mouse anti bovine	IgG1	Serotec	MCA14 24G	Ωριμα B-λεμφοκύτταρα
CD68	EBM11	Mouse anti human	IgG1	Dako	M0718	Μακροφάγα
Cytokeratin cocktail	AE1/AE3	Mouse anti human	IgG1/k & IgG1/k	Cell Marque	313M16	AE1:Κυτοκερατίνες 10, 14, 15, 16, 19. AE3: Κυτοκερατίνες 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 8.
Cytokeratin	MNF116	Mouse anti human	IgG1	Dako	N1523	Κυτοκερατίνες 5, 6, 8, 17, 19
Cytokeratin 5/6	D5/16 B4	Mouse anti human	IgG1	Dako	M7237	Κυτοκερατίνες 5, 6
Cytokeratin 19	b170	Mouse anti human	IgG1	Novocastra	NCL-CK19	Κυτοκερατίνη 19
Cytokeratin 14	LL002	Mouse anti human	IgG3	Novocastra	NCL-L-LL002	Κυτοκερατίνη 14
Cytokeratin High Molecular Weight	34Be12	Mouse Anti-Human	IgG1	Cell Marque	334M-86	Κυτοκερατίνες 1, 5, 10, και 14
Cytokeratin 7	OV-TL 12/30	Mouse Anti-Human	IgG1	Cell Marque	307M-96	Κυτοκερατίνη 7

**Πίνακας 2: Συνθήκες επώασης των πρωτογενών αντισωμάτων που χρησιμοποιήθηκαν.**

Πρωτοταγές Αντίσωμα	Αραίωση	Χρόνος Επώασης	Θερμοκρασία Επώασης	Θετικός μάρτυρας	Εντοπισμός Χρώσης
CD3	1/50	30 min	R.T	Λεμφαδένας	Μεμβρανική
CD4	1/100	60 min	R.T	Λεμφαδένας	Μεμβρανική
CD8	1/100	60 min	R.T	Λεμφαδένας	Μεμβρανική
WC1	1/250	30 min	R.T	Λεμφαδένας	Μεμβρανική
CD1	1/200	30 min	R.T	Λεμφαδένας	Μεμβρανική
CD21	1/100	30 min	R.T	Λεμφαδένας	Μεμβρανική
CD68	1/100	30 min	R.T	Λεμφαδένας	Μεμβρανική
Cytokeratin cocktail	1/100	30 min	R.T	Δέρμα	Κυτταροπλασματική
Cytokeratin MNF116	1/50	30 min	R.T	Δέρμα	Κυτταροπλασματική
Cytokeratin 5/6	1/50	30 min	R.T	Δέρμα	Κυτταροπλασματική
Cytokeratin 19	1/50	30 min	R.T	Δέρμα	Κυτταροπλασματική
Cytokeratin 14	1/50	30 min	R.T	Δέρμα	Κυτταροπλασματική
Cytokeratin High Molecular Weight	1/50	30 min	R.T	Δέρμα	Κυτταροπλασματική
Cytokeratin 7	1/50	30 min	R.T	Δέρμα	Κυτταροπλασματική

Η δέσμευση των ειδικών αντισωμάτων ανιχνεύθηκε σε κάθε περίπτωση με το σύστημα Real Envision Detection System, Peroxidase/DAB+ Rabbit/Mouse (Dako, K5007). Το σύστημα ανίχνευσης Envision βασίστηκε στη χρήση πολυμερών δεξτράνης που επιτρέπουν την πρόσδεση μεγάλου αριθμού ενζυμικών μορίων υπεροξειδάσης στο δευτερογενές αντίσωμα, με αποτέλεσμα την αυξημένη ευαισθησία, την ελαχιστοποίηση της μη ειδικής χρώσης (background) και την ελάττωση των βημάτων που απαιτούνται. Για την ολοκλήρωση της χρώσης χρησιμοποιήθηκε το χρωμογόνο DAB. Στη θέση του αντιγόνου-στόχου, το σύστημα του υποστρώματος παράγει ένα τελικό προϊόν με ζωηρό καφέ χρώμα. Ακολούθησε χρώση αντίθεσης των πυρήνων με αιματοξυλίνη, αφυδάτωση σε ανιούσα αλκοολών, διαύγαση με εμβάπτιση σε ξυλόλη και επικόλληση καλυπτρίδων για την μικροσκοπική παρατήρηση.

Η αποκάλυψη των αντιγονικών θέσεων για τις τομές που έχουν μονιμοποιηθεί σε ρυθμιστικό διάλυμα φορμόλης περιελάμβανε την εμβάπτιση τομών σε υδατικό διάλυμα Tris EDTA (pH9) το οποίο βρίσκεται στους 98°C για 25 min σε υδατόλουτρο (PT module, Labvision). Το διάλυμα Tris-EDTA Buffer (10mM Tris Base, 1mM EDTA Solution, 0.05% Tween 20, pH 9.0) παρασκευάζεται ως εξής: Σε αποσταγμένο νερό (1000 ml) προστίθενται 1.21 g Tris Base και 0.37 g EDTA. Ρυθμίζεται το pH στο 9 και στη συνέχεια προστίθενται 0.5 ml Tween 20.

Η συγκεκριμένη μέθοδος εφαρμόστηκε για τα αντισώματα CD3, AE1/AE3, MNF116, 5/6, 14, 19, 34Be12, και 7. Οι τομές στη συνέχεια αφέθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου για 20 min. Για τις τομές που είχαν μονιμοποιηθεί σε διάλυμα αλάτων ψευδαργύρου, δεν εφαρμόστηκε το στάδιο ανάκτησης της αντιγονικότητας με θέρμανση. Στη συνέχεια, οι τομές επώαστηκαν για 10 λεπτά σε υδατικό διάλυμα 0,3% υπεροξειδίου του υδρογόνου, για να αδρανοποιηθεί η δραστηριότητα της ενδογενούς υπεροξειδάσης.

Για τις εκπλύσεις χρησιμοποιήθηκε διάλυμα 10X TBS-Tween 20 (0.5M Tris Base, 9% NaCl, 0.5% Tween 20, pH 8.4) το οποίο παρασκευάστηκε ως εξής: Σε αποσταγμένο νερό (1000 ml) προστίθενται 61 g Trizma base, 90 g NaCl. Ρυθμίζεται το pH στο 8.4 χρησιμοποιώντας συμπυκνωμένο HCl και στη συνέχεια προστίθενται 5 ml Tween 20.

Ειδικότερα, για την ανοσοϊστοχημική μελέτη εφαρμόστηκαν τα παρακάτω πρωτόκολλα για το κάθε αντίσωμα:

**ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΩΝ ΧΡΩΣΕΩΝ  
ΓΙΑ ΤΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ CD3, CD4,CD8, γδ, CD1, CD21, CD68**

- Αποπαραφίνωση των τομών (κλίβανος 65<sup>0</sup>C overnight, ζυλόλη 30 min)
- Ενυδάτωση των τομών σε κατιούσα αλκοολών ( 100<sup>0</sup>, 96<sup>0</sup>, 80<sup>0</sup>). Οι τομές παραμένουν αρχικά για 5 min σε απόλυτη αιθυλική αλκοόλη (1000) ( x 2 φορές ) από 2 min στα υπόλοιπα διαλύματα της αιθυλικής αλκοόλης και σε αποσταγμένο νερό για 5 min.
- Κατανάλωση ενδογενούς υπεροξειδάσης σε υδατικό διάλυμα 0,3% υπεροξειδίου του υδρογόνου για 10 min.
- Έκπλυση των τομών με διάλυμα TBST pH=8,4 για τρία πεντάλεπτα
- Επώαση με το πρωτοταγές αντίσωμα για 30 min σε θερμοκρασία δωματίου
- Έκπλυση των τομών με TBST pH=8,4 για 5 min (x2)
- Επώαση για 30 min με το πολυμερές Envision (Dako, K5007)
- Έκπλυση των τομών για 5 min (x 2) με διάλυμα TBST pH=8,4
- Η ανίχνευση των περιοχών δραστικής υπεροξειδάσης πραγματοποιείται με επώαση των τομών σε διάλυμα Tris (pH=6) υπεροξειδίου του υδρογόνου και τετραϋδροχλωρικής 3,3 – διαμινοβενζιδίνης (DAB) για 5 min. Το DAB δίνει ένα καφέ παράγωγο ανθεκτικό στην αλκοόλη και την ζυλόλη.
- Έκπλυση των τομών με απεσταγμένο νερό και χρώση με αιματοξυλίνη Harris για 1 min
- Έκπλυση με νερό βρύσης και απεσταγμένο νερό.
- Αφυδάτωση του ιστού σε ανιούσα αλκοολών ( 80<sup>0</sup>, 96<sup>0</sup>, 100<sup>0</sup>). Σε κάθε διάλυμα ο ιστός παραμένει για 1 περίπου min.
- Διαύγαση των τομών σε ζυλόλη για 5 min και επικόλληση καλυπτρίδων με χρήση διαλυτού στην ζυλόλη μέσου (Entellan Merch, Germany).

## ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΩΝ ΧΡΩΣΕΩΝ

### ΓΙΑ ΤΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ CKAE1/AE3, CKMNF116, CK5/6, CK19, CK14, CK34BE12, CK7

- Αποπαραφίνωση των τομών (κλίβανος 65<sup>0</sup>C overnight, ζυλόλη 30 min)
- Ενυδάτωση των τομών σε κατιούσα αλκοολών (100<sup>0</sup>, 96<sup>0</sup>, 80<sup>0</sup>). Οι τομές παραμένουν αρχικά για 5 min σε απόλυτη αιθυλική αλκοόλη (100<sup>0</sup>) ( x 2 φορές ) από 2 min στα υπόλοιπα διαλύματα της αιθυλικής αλκοόλης και σε απεσταγμένο νερό για 5 min.
- Ανάκτηση αντιγόνου με θερμική επεξεργασία του ιστού με τη χρήση υδατόλουτρου (PT module, Labvision). Οι τομές τοποθετούνται στο υδατόλουτρο σε ρυθμιστικό διάλυμα Tris-EDTA (10mM Tris Base, 1mM EDTA, 0.05% Tween 20, pH 9.0) το οποίο βρίσκεται στους 98<sup>0</sup>C για 25 min. Στη συνέχεια, οι τομές παραμένουν στο διάλυμα σε θερμοκρασία δωματίου για 20 min.
- Έκπλυση των τομών με απεσταγμένο νερό για 2 min
- Κατανάλωση ενδογενούς υπεροξειδάσης σε υδατικό διάλυμα 0,3% υπεροξειδίου του υδρογόνου για 10 min.
- Έκπλυση των τομών με διάλυμα TBST pH=8,4 για τρία πεντάλεπτα
- Επώαση με το πρωτοταγές αντίσωμα για 30 min σε θερμοκρασία δωματίου
- Έκπλυση των τομών με TBST pH=8,4 για 5 min (x2)
- Επώαση για 30 min με το πολυμερές Envision (Dako, K5007)
- Έκπλυση των τομών για 5 min (x 2) με διάλυμα TBST pH=8,4
- Η ανίχνευση των περιοχών δραστικής υπεροξειδάσης πραγματοποιείται με επώαση των τομών σε διάλυμα Tris (pH=6) υπεροξειδίου του υδρογόνου και τετραϋδροχλωρικής 3,3 – διαμινοβενζιδίνης (DAB) για 5 min. Το DAB δίνει ένα καφέ παράγωγο ανθεκτικό στην αλκοόλη και την ζυλόλη.
- Έκπλυση των τομών με απεσταγμένο νερό και χρώση με αιματοξυλίνη Harris για 1 min
- Έκπλυση με νερό βρύσης και απεσταγμένο νερό.
- Αφυδάτωση του ιστού σε ανιούσα αλκοολών ( 80<sup>0</sup>, 96<sup>0</sup>, 100<sup>0</sup>). Σε κάθε διάλυμα ο ιστός παραμένει για 1 περίπου min.
- Διαύγαση των τομών σε ζυλόλη για 5 min και επικόλληση καλυπτρίδων με χρήση διαλυτού στην ζυλόλη μέσου (Entellan Merch, Germany).

#### 4.1.7 Μορφομετρική μελέτη

Τα ιστολογικά παρασκευάσματα παρατηρήθηκαν και φωτογραφήθηκαν με μικροσκόπιο Νικον Eclipse E-200 με ενσωματωμένη κάμερα και το σύστημα ιστομορφομετρίας Νικον Digital System Fi1-L2 (NIKON, Japan).

Ο ποσοτικός προσδιορισμός της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης των λεμφοκυτταρικών υποπληθυσμών πραγματοποιήθηκε σε σειριακές τομές ως εξής: σε κάθε τομή σε μεγέθυνση 20X, με τη χρήση ορθογώνιου παραλληλογράμμου grid διαστάσεων 871 $\mu$ m X 651  $\mu$ m, γινόταν καταμέτρηση των κυττάρων με θετική ανοσοϊστοχημική χρώση σε 3 γειτονικά οπτικά πεδία με αυξημένη κυτταροβρίθεια. Οι αριθμοί των θετικά βαμμένων κυττάρων ανά τομή καταγράφονταν ξεχωριστά για την επιδερμίδα και το χόριο (τροποποιημένη μέθοδος από Arlian και συν., 1997).

#### 4.1.8 Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με το λογισμικό SPSS 21.0 για Windows (SPSS Inc, Chicago, USA). Ο έλεγχος κανονικότητας έγινε με τη στατιστική δοκιμασία Kolmogorov-Smirnov. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων των κυτταρικών πληθυσμών στην επιδερμίδα και το χόριο δίδονται ως μέσες τιμές (mean values) με τη σταθερή τους απόκλιση (standard deviation) (mean  $\pm$  standard deviation). Το T Student και το Mann-Whitney U τεστ χρησιμοποιήθηκαν για τη σύγκριση μεταξύ δύο ποσοτικών μεταβλητών με κανονική και μη-κανονική κατανομή, αντίστοιχα. Σε όλους τους ελέγχους, στατιστικώς σημαντικές θεωρήθηκαν οι συσχετίσεις για τις οποίες οι τιμές του παρατηρούμενου επιπέδου σημαντικότητας (p) ήταν μικρότερες ή ίσες με 0,05 ( $p \leq 0,05$ ).

## 4.2 Πειραματική μόλυνση σαρκοπτικής ψώρας σε απογαλακτισθέντα ερίφια και ενήλικες αίγες με *Sarcoptes scabiei var caprae*

### 4.2.1 Ζώα που χρησιμοποιήθηκαν

Στην πειραματική μόλυνση χρησιμοποιήθηκαν 6 απογαλακτισθέντα ερίφια (ηλικίας 2-3 μηνών) και 6 ενήλικες αίγες (1-3 ετών) που μολύνθηκαν με το στέλεχος *Sarcoptes scabiei var caprae*. Επιπλέον, 2 ερίφια και 2 αίγες χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες. Ειδικότερα, τα πειραματόζωα ομαδοποιήθηκαν ως εξής:

α) Ομάδα 1: 6 ερίφια, στα οποία η μολύνουσα δόση τοποθετήθηκε στο δέρμα της ράχης και του προσώπου

β) Ομάδα 2: 6 αίγες, στις οποίες η μολύνουσα δόση τοποθετήθηκε στο δέρμα της ράχης

γ) Ομάδα 3: 2 ερίφια και 2 αίγες τα οποία χρησίμευαν ως υγιείς μάρτυρες.

Κάθε ομάδα ζώων του πειράματος σταβλίστηκε σε ξεχωριστό χώρο με ελεύθερη πρόσβαση σε τροφή και νερό με βάση τις προαπαιτούμενες συνθήκες ευζωίας των ζώων, όπως ορίζονται από την ελληνική και ευρωπαϊκή νομοθεσία (Άδεια πειραματισμού από το Τμήμα Υγείας Ζώων της Διεύθυνσης Κτηνιατρικής της Περιφερειακής Ενότητας Καρδίτσας με Αρ.Πρωτ: 1226/ 11/3/2013). Προηγήθηκε κλινική εξέταση των ζώων που αφορούσε στην γενικότερη κατάσταση της υγείας τους και επικεντρώθηκε στην παρουσία ή μη δερματικών αλλοιώσεων ώστε να αποκλειστούν από τη μελέτη. Τα πειραματόζωα τοποθετήθηκαν σε περιφραγμένο χώρο και η διατροφή τους αποτελούνταν από αποξηραμένο τριφύλλι, κριθάρι, καλαμπόκι και χλόη της περιοχής.

Το μολυσματικό υλικό λήφθηκε από δύο φυσικά περιστατικά αιγών με έντονες αλλοιώσεις σαρκοπτικής ψώρας (προηγήθηκε δειγματοληπτικό ξέσμα από κάθε ασθενή αίγα και μικροσκοπική επιβεβαίωση της ύπαρξης ζωντανών ακάρεων των δύο φύλων και διαφορετικών αναπτυξιακών σταδίων του *Sarcoptes scabiei*). Στις συγκεκριμένες αίγες έγινε ευθανασία με υπερδοσία dolethal. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε απόξεση με νυστέρι όλων των περιοχών του δέρματος που έφεραν μακροσκοπικές αλλοιώσεις. Το υλικό από τα ξέσματα μοιράστηκε σε δόσεις του ίδιου μεγέθους (20 gr) ώστε τελικά να σχηματιστούν μολύνουσες δόσεις με κατά προσέγγιση περίπου 150-200 ακάρεα/ μολύνουσα δόση.



#### **4.2.2 Πειραματική μόλυνση**

Η πειραματική μόλυνση των εριφίων έγινε με βάση τη μέθοδο που έχει περιγραφεί από τους *Lavin και συν., 2000*. Η μολύνουσα δόση τοποθετήθηκε σε αποστειρωμένη γάζα και καθηλώθηκε αμφοτερόπλευρα στο δέρμα της ράχης και του προσώπου σε κάθε πειραματόζωο με την βοήθεια επιδέσμων (*Abu-Samra και συν., 1984; Lavin και συν., 2000; Δούκας, 2014*). Το υλικό παρέμεινε καθηλωμένο για 18-24 ώρες, οπότε και αφαιρέθηκαν οι επιδέσμοι. Οι ίδιοι χειρισμοί πραγματοποιήθηκαν και στα πειραματόζωα - υγιείς μάρτυρες (control), με την εξαίρεση ότι η γάζα που καθηλώθηκε στο δέρμα δεν έφερε την μολύνουσα δόση.

#### **4.2.3 Λήψη ξεσμάτων και παρασιτολογικός έλεγχος**

Από κάθε περιοχή άμεσης γεινίασης της θέσης λήψης βιοψιών, λήφθηκε επιπρόσθετα ξέσμα με τη χρήση νυστεριού μετά την επάλειψη με παραφινέλαιο επιφάνειας περίπου 1 cm<sup>2</sup> σε προεπιλεγμένες ημερομηνίες μετά τη μόλυνση (d25, d50, d75 και d90).

#### **4.2.4 Λήψη βιοψιών δέρματος**

Η λήψη των βιοψιών δέρματος πραγματοποιήθηκε 21 ημέρες πριν από την μόλυνση καθώς και τις ημέρες d2, d4, d8, d12, d18, d25, d33, d40, d50, d60, d75 και d90 μετά την μόλυνση. Από κάθε ασθενές ζώο λήφθηκε μια βιοψία δέρματος από τις περιοχές που έφεραν μακροσκοπικές αλλοιώσεις και κάθε φορά πιο περιφερικά. Από τα υγιή ζώα μάρτυρες λήφθηκαν βιοψίες από τις αντίστοιχες περιοχές για σύγκριση.

#### **4.2.5 Μονιμοποίηση ιστών και ιστολογική επεξεργασία**

Η μονιμοποίηση των ιστοτεμαχίων και η ιστολογική επεξεργασία των βιοψιών δέρματος έγινε όπως αναφέρεται στην υποενότητα 4.1.4.

#### **4.2.6 Ιστοχημικές χρώσεις βιοψιών**

Οι ιστοχημικές χρώσεις εφαρμόστηκαν όπως αναφέρονται παραπάνω στην υποενότητα 4.1.5.

#### **4.2.7 Ανοσοϊστοχημικές χρώσεις βιοψιών δέρματος**

Για την ανοσοϊστοχημική μελέτη εφαρμόστηκαν τα πρωτόκολλα για το κάθε αντίσωμα που έχουν αναφερθεί παραπάνω στην υποενότητα 4.1.6.

#### **4.2.8 Μορφομετρική μελέτη**

Η ποσοτική εκτίμηση της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης των ανωτέρω παραμέτρων έγινε με την ίδια μορφομετρική ανάλυση που περιγράφηκε παραπάνω στην υποενότητα 4.1.7.

#### **4.2.9 Στατιστική ανάλυση**

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με το λογισμικό SPSS 21.0 για Windows και το στατιστικό πακέτο STATA 13.0. Ο έλεγχος κανονικότητας έγινε με τη στατιστική δοκιμασία Kolmogorov-Smirnov και τα αποτελέσματα των μετρήσεων των κυτταρικών πληθυσμών στην επιδερμίδα και το χόριο δίδονται ως μέσες τιμές με τη σταθερή τους απόκλιση. Το T Student και το Mann-Whitney U τεστ χρησιμοποιήθηκαν για τη σύγκριση μεταξύ δύο ποσοτικών μεταβλητών με κανονική και μη-κανονική κατανομή, αντίστοιχα.

Η ανάλυση των δεδομένων μεταξύ των ηλικιακών υποομάδων (ερίφια/ αίγες) και μεταξύ των διαφορετικών θέσεων μόλυνσης (επιρρίνιο/ ράχη) κατά την διάρκεια της πειραματικής μόλυνσης, έγινε με τη χρήση γενικευμένων μοντέλων παλινδρόμησης (Generalized linear models) εφαρμόζοντας το Wald test. Σε όλους τους ελέγχους, στατιστικώς σημαντικές θεωρήθηκαν οι συσχετίσεις για τις οποίες οι τιμές του παρατηρούμενου επιπέδου σημαντικότητας ( $p$ ) ήταν μικρότερες ή ίσες με 0,05 ( $p \leq 0,05$ ).

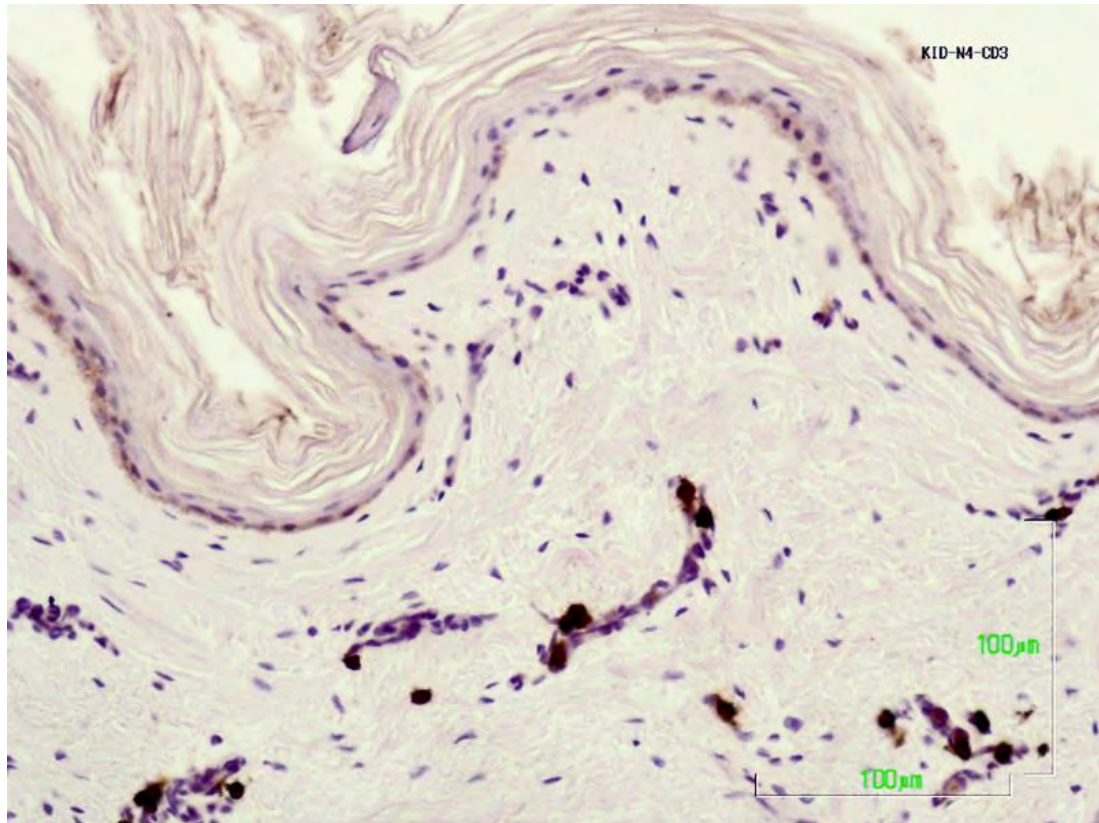
# Κεφάλαιο 5: Αποτελέσματα

## 5.1 Ανοσοφαινότυπος υγιούς δέρματος της αίγας

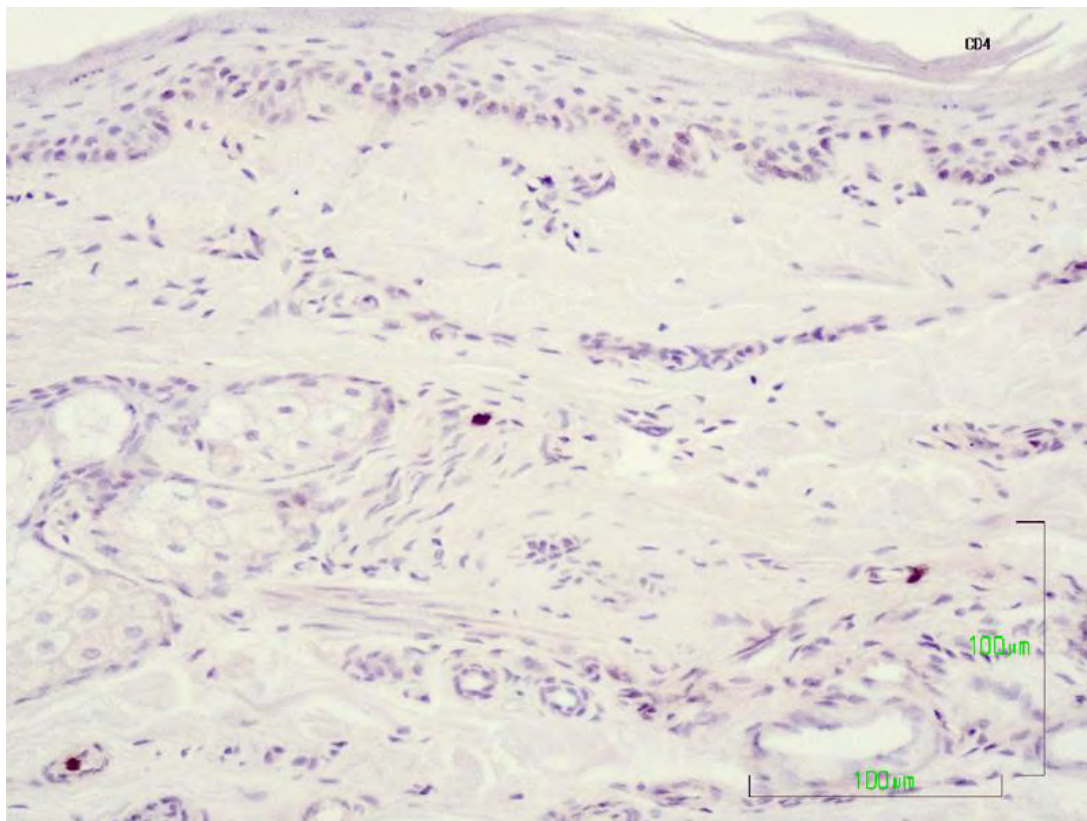
Η ανοσοϊστοχημική μελέτη στο φυσιολογικό δέρμα των εριφίων και αιγών δεν αποκάλυψε την παρουσία κανενός υποπληθυσμού λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα. Σε αντιδιαστολή με την επιδερμίδα, στο χόριο του υγιούς δέρματος παρατηρήθηκαν T-λεμφοκύτταρα (CD3+) καθώς και οι υποπληθυσμοί τους (CD4 +, CD8 +, WC+1 γδ). Η εντόπισή τους ήταν κυρίως περιαγγειακή και αφορούσε περισσότερο τα αγγεία του επιπολής και λιγότερο του εντωβάθει χορίου. Τα WC1+ γδ T λεμφοκύτταρα αποτέλεσαν τον κυριότερο υποπληθυσμό, ακολουθούμενα από τα CD8+ και CD4+. Όσον αφορά τα B-λεμφοκύτταρα (CD21+) η ανοσοϊστοχημική μελέτη δεν αποκάλυψε την παρουσία τους στο χόριο του υγιούς δέρματος. Τα CD1+ και CD68+ κύτταρα εντοπίστηκαν σποραδικά, κυρίως περιαγγειακά στο επιπολής χόριο.

**Πίνακας 3: Μέση τιμή των λεμφοκυττάρων στο χόριο του υγιούς δέρματος (σε διάφορες ανατομικές χώρες του σώματος) εριφίων και αιγών.**

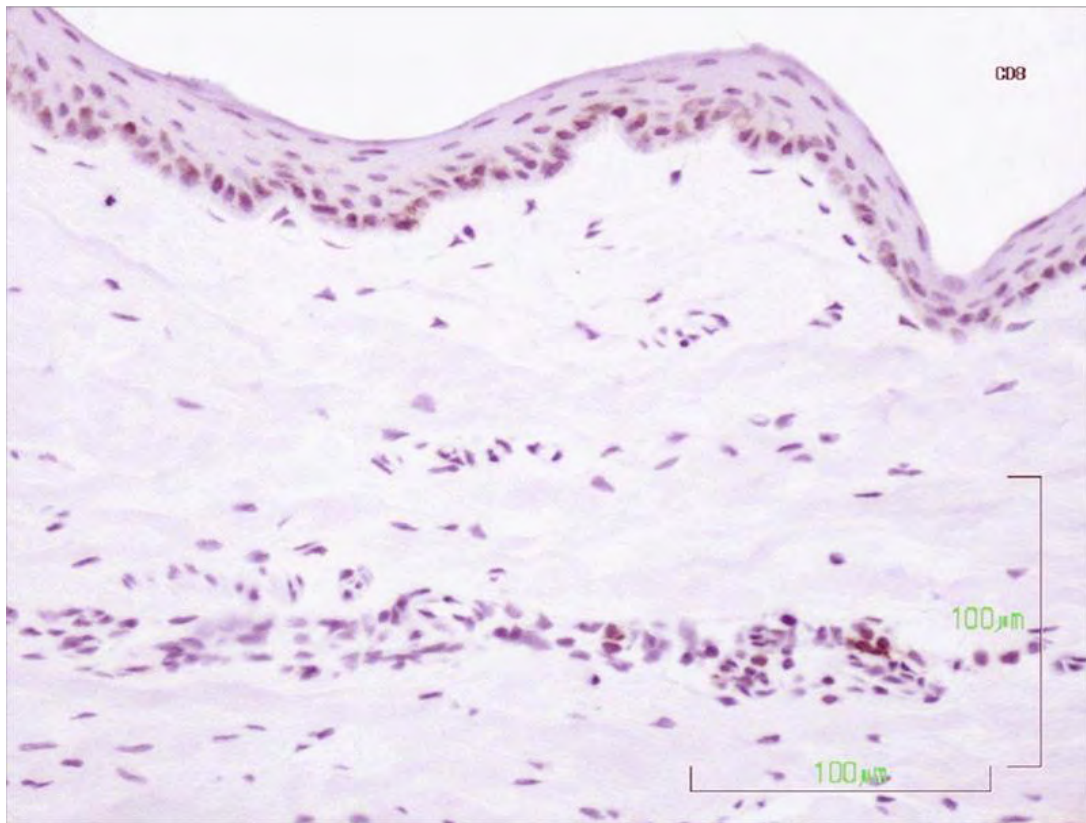
<b>Ερίφια (2-3 μηνών) (n=3)</b>	<b>CD3</b>	<b>CD4</b>	<b>CD8</b>	<b>WC1</b>	<b>CD21</b>
δέρμα επιρρίνιου	9,33±6,65	0,66±1,15	2,33±1,53	4,33±1,52	0
« πτερυγίου αυτιού	6,33±1,52	0±0	1,66±0,58	2,66±0,57	0
« ράχης	6,01±4,35	0,33±0,57	1,00±0,43	1,33±1,52	0
« κοιλιακής χώρας	8,6±6,02	1,33±1,52	1,34±0,57	5,2±4,9	0
« ποδιού	9,33±4,04	0±0	1,66±1,15	4,00±1,73	0
<b>Αίγες (1-3 ετών) (n=3)</b>	<b>CD3</b>	<b>CD4</b>	<b>CD8</b>	<b>WC1</b>	<b>CD21</b>
δέρμα επιρρίνιου	9,00±6,92	0,34±0,58	3,00±1,00	3,33±4,15	0
« πτερυγίου αυτιού	3,66±2,08	0,43±0,56	1,33±0,58	2,66±1,15	0
« ράχης	5,66±2,81	0,23±0,67	1,24±0,58	2,46±0,52	0
« κοιλιακής χώρας	8,66±3,21	1,00±1,03	2,66±0,57	4,00±1,82	0
« ποδιού	9,02±3,00	0,53±0,57	3,00±1,00	4,34±2,08	0



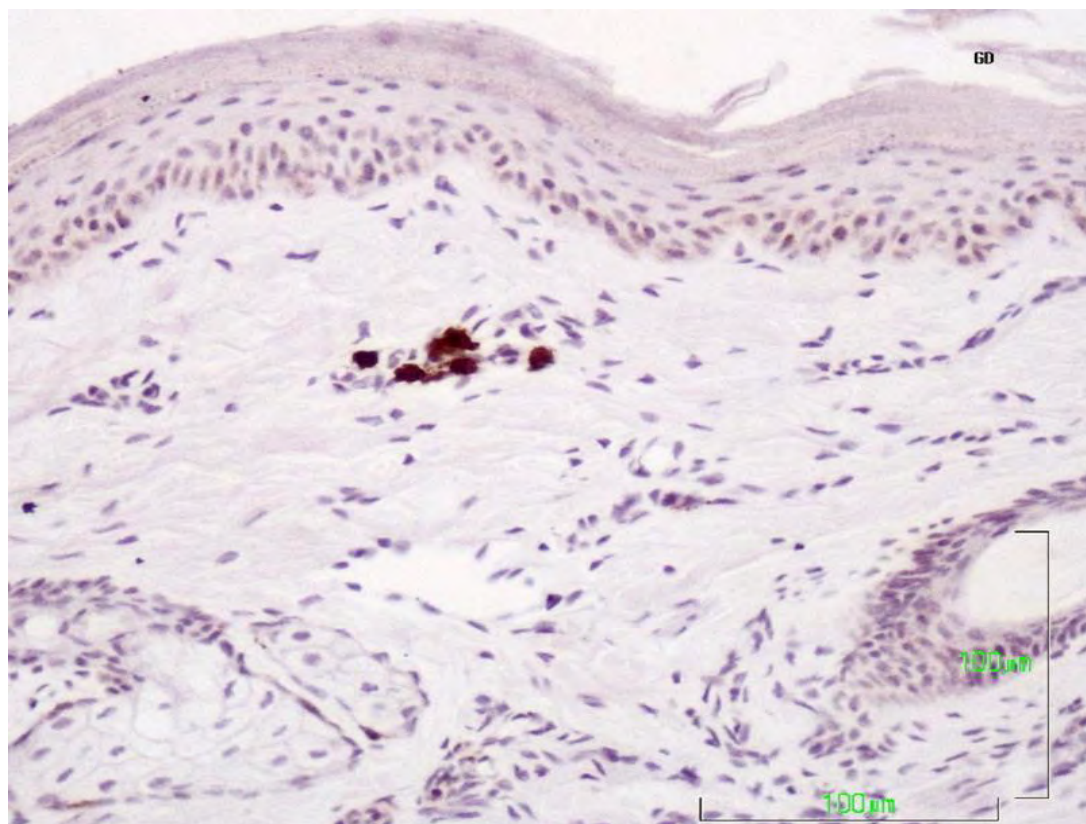
**Εικόνα 1:** Βιοψία υγιούς δέρματος αίγας. Ανοσοϊστοχημική χρώση CD3+ λεμφοκυττάρων σε τομή παραφίνης (x100).



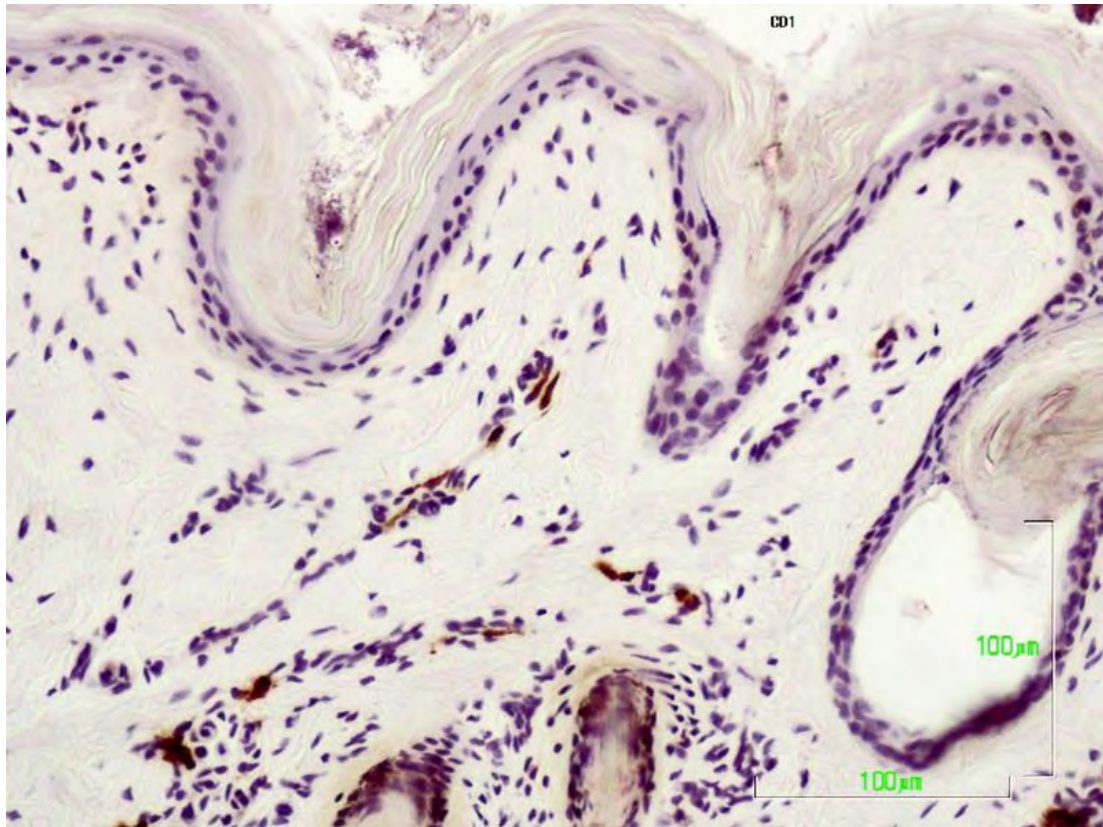
**Εικόνα 2:** Βιοψία υγιούς δέρματος αίγας. Ανοσοϊστοχημική χρώση CD4+ λεμφοκυττάρων σε τομή παραφίνης (x100).



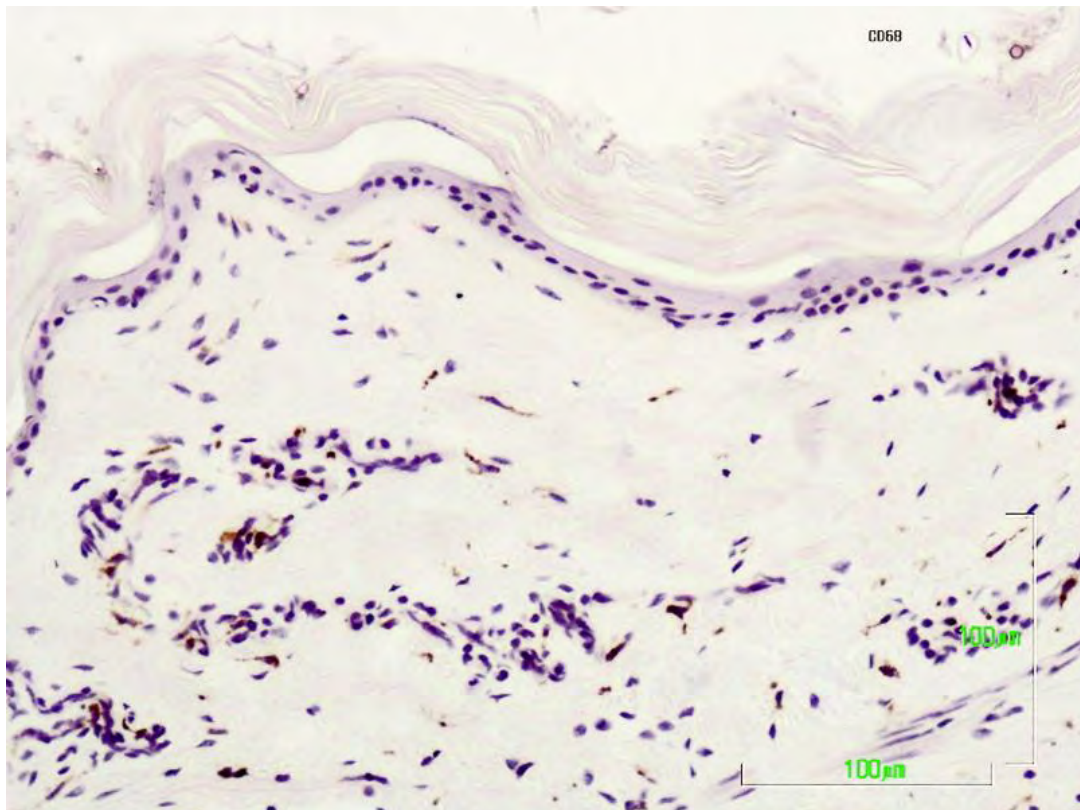
**Εικόνα 3: Βιοψία υγιούς δέρματος αίγας. Ανοσοϊστοχημική χρώση CD8+ λεμφοκυττάρων σε τομή παραφίνης (x100).**



**Εικόνα 4: Βιοψία υγιούς δέρματος αίγας. Ανοσοϊστοχημική χρώση WC1+ γδ λεμφοκυττάρων σε τομή παραφίνης (x100).**



Εικόνα 5: Βιοψία υγιούς δέρματος αίγας. Ανοσοϊστοχημική χρώση CD1+ κυττάρων σε τομή παραφίνης (x100).



Εικόνα 6: Βιοψία υγιούς δέρματος αίγας. Ανοσοϊστοχημική χρώση CD68+ κυττάρων σε τομή παραφίνης (x100).

## 5.2 Αποτελέσματα μελέτης των φυσικών περιστατικών αιγών με σαρκοπτική ψώρα

Συνολικά ταυτοποιήθηκαν 40 περιπτώσεις αιγών με σαρκοπτική ψώρα (23 ερίφια και 17 αίγες) σε 4 εκτροφές που εξετάστηκαν.

**Πίνακας 4:** Σύνολο φυσικών περιστατικών αιγών με σαρκοπτική ψώρα ανά εκτροφή.

Κωδικός εκτροφής αιγών	Πληθυσμός εκτροφής	Ζώα μολυσμένα με σαρκοπτική ψώρα	Ηλικία ασθενών ζώων
EA-01	23	5	(4 ερίφια, 1 αίγα)
EA-02	45	11	(8 ερίφια, 4 αίγες)
EA-03	100	9	(3 ερίφια, 5 αίγες)
EA-04	54	15	(8 ερίφια, 7 αίγες)

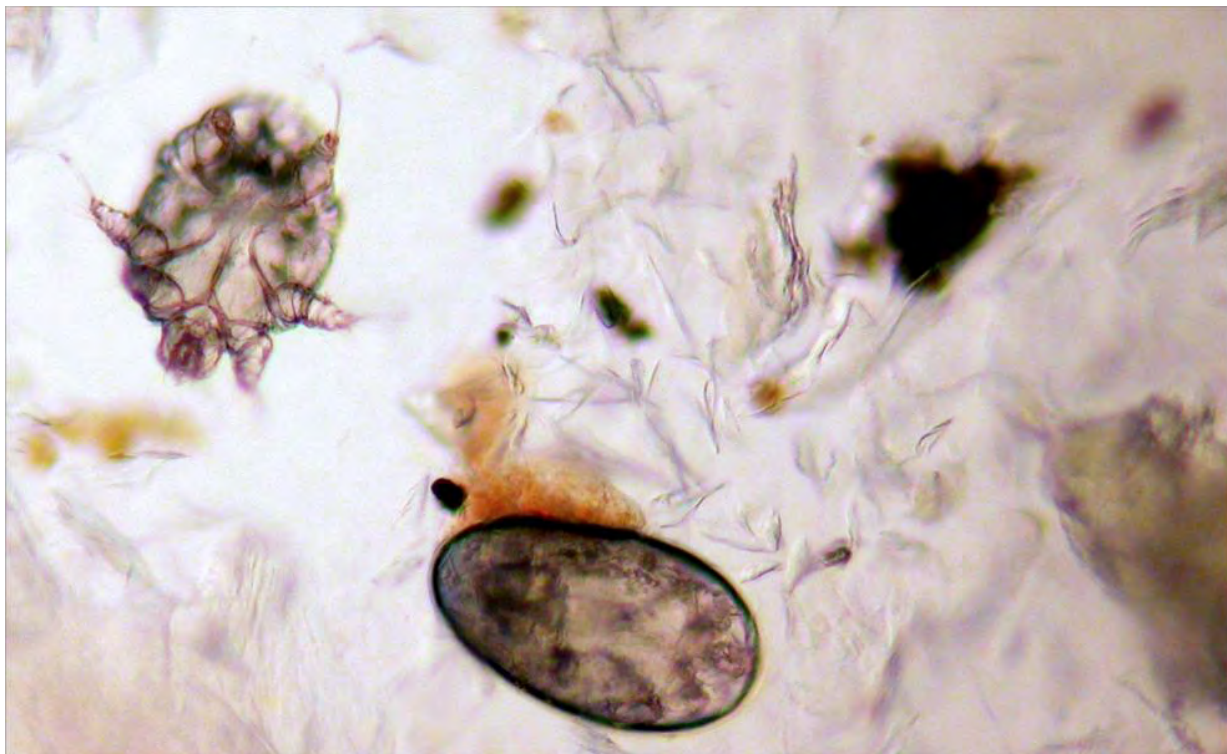
### 5.2.1 Παρασιτολογικός έλεγχος

Σε όλα τα φυσικά περιστατικά (n=40) κατά την μικροσκοπική παρατήρηση του υλικού των ξεσμάτων ανιχνεύτηκαν ακάρεα του *Sarcoptes scabiei* σε ποικίλα αναπτυξιακά στάδια (αυγά, προνύμφες, νύμφες, ενήλικα) με τα ιδιαίτερα μορφολογικά τους χαρακτηριστικά.

**Πίνακας 5:** Αποτελέσματα παρασιτολογικού ελέγχου στο υλικό των ξεσμάτων δέρματος επιφάνειας 1 cm<sup>2</sup> από τα φυσικά περιστατικά αιγών με σαρκοπτική ψώρα.

Ερίφια	Αριθμός ακάρεων <i>S.scabiei</i>	Αίγες	Αριθμός ακάρεων <i>S.scabiei</i>		
1	22	+++	1	14	++
2	18	++	2	18	++
3	15	++	3	22	+++
4	8	+	4	12	++
5	13	++	5	16	++
6	26	+++	6	6	+
7	6	+	7	24	+++
8	24	+++	8	11	++
9	15	++	9	26	+++
10	12	++	10	8	+
11	14	++	11	14	++
12	15	++	12	15	++
13	18	++	13	6	+
14	17	++	14	17	++
15	9	+	15	9	+
16	5	+	16	15	++
17	11	++	17	11	++
18	23	+++			
19	18	++			
20	4	+			
21	12	++			
22	16	++			
23	8	+			

\*Αριθμός ακάρεων σε υλικό των ξεσμάτων δέρματος επιφάνειας 1 cm<sup>2</sup>: - = απουσία ακάρεων, + = <10 ακάρεα, ++ = 10–20 ακάρεα, +++ = >20 ακάρεα



**Εικόνα 7:** Υλικό ξεσμάτων όπου διακρίνεται προνύμφη και αυγό *S.scabiei*



**Εικόνα 8:** Υλικό ξεσμάτων όπου διακρίνεται ενήλικο *S.scabiei*.



## 5.2.2 Μακροσκοπικές αλλοιώσεις

Με βάση τα πρότυπα κατανομής που έχουν προταθεί σε προγενέστερη Διδακτορική Διατριβή που έχει εκπονηθεί στο Εργαστήριο Παθολογικής ανατομικής του Τμήματος Κτηνιατρικής Π.Θ. (Δούκας, 2014) τα 40 φυσικά περιστατικά υπό μελέτη μπορεί να ταξινομηθούν ως εξής:

**Πίνακας 6: Πρότυπα κατανομής δερματικών αλλοιώσεων της σαρκοπτικής ψώρας των φυσικών περιστατικών που εξετάστηκαν.**

Πρότυπα κατανομής		Ερίφια	Αίγες	Συνολικά ζώα
1	Αλλοιώσεις μόνο στο κεφάλι (συνήθως διάσπαρτες)	11	7	16
2	Διάσπαρτες αλλοιώσεις στο κεφάλι και τον κορμό σε ποικίλους συνδυασμούς, που οριοθετούνται σαφώς και υπάρχουν ευδιάκριτες φυσιολογικές περιοχές.	8	11	19
3	Διάσπαρτες αλλοιώσεις στο κεφάλι, τον κορμό και τα άκρα σε ποικίλους συνδυασμούς, που οριοθετούνται σαφώς και υπάρχουν ευδιάκριτες φυσιολογικές περιοχές σε ποικίλη έκταση.	2	3	5

Οι μακροσκοπικές αλλοιώσεις σε φυσικά περιστατικά αιγών (αριθμός ζώων: 40) με σαρκοπτική ψώρα χαρακτηρίζονταν από υποτρίχωση, αλωπεκία, φλύκταινες, υπερκεράτωση, παχιές εφελκίδες με αποφολίδωση και λειχνοποίηση, ενώ ορισμένα εμφάνιζαν ρωγμές. Επίσης, σε μεμονωμένα ζώα παρατηρήθηκαν και αυτοτραυματικές αλλοιώσεις, αποτέλεσμα της εκδήλωσης κνησμού.



**Εικόνα 9:** Φυσικό περιστατικό αίγας με εστίες σαρκοπτικής ψώρας στο δέρμα του επιρρινίου και της ράχης. Παρατηρείται έντονη αλωπεκία.



**Εικόνα 10:** Φυσικό περιστατικό αίγας με σαρκοπτική ψώρα στο δέρμα του επιρρινίου. Παρατηρείται έντονη εφελκιδιοποίηση.



**Εικόνα 11:** Φυσικό περιστατικό εριφίου με εστίες σαρκοπτικής ψώρας στο δέρμα του επιρρινίου, της ράχης και του αυτιού.



**Εικόνα 12:** Φυσικό περιστατικό εριφίου με εστίες σαρκοπτικής ψώρας στο δέρμα του επιρρινίου και της ράχης.



**Εικόνα 13:** Φυσικό περιστατικό αίγας με σαρκοπτική ψώρα. Παρατηρούνται χαρακτηριστικές έντονες ρωγμές.

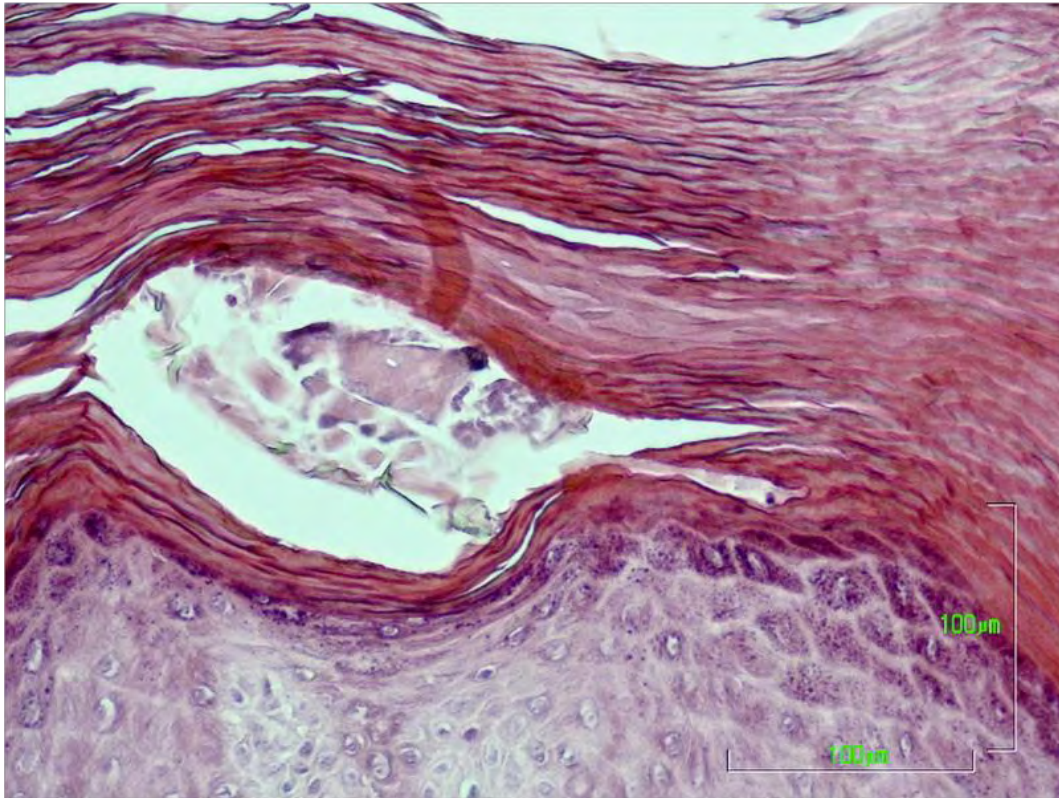


**Εικόνα 14:** Φυσικό περιστατικό αίγας με έντονες αλλοιώσεις σαρκοπτικής ψώρας και ευρέως εκτεταμένη κατανομή.

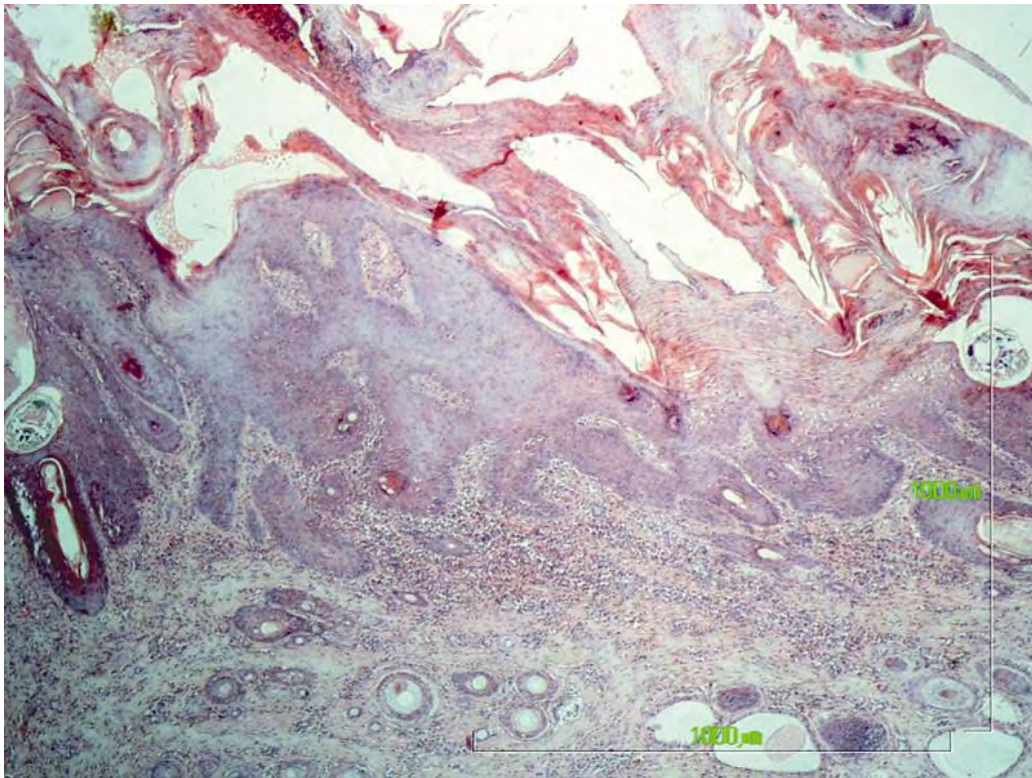
### 5.2.3 Ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις

Οι ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις που παρατηρήθηκαν στην επιδερμίδα φυσικών περιστατικών περιελάμβαναν σοβαρή ορθοκερατωτική και εστιακή παρακερατωτική υπερκεράτωση, πολυεστιακή εφελκιδοποίηση, υποκεράτινα και ενδοεπιδερμικά μικροαποστημάτια, ενδοκεράτια και υποκεράτια παρουσία παρασίτων σε πολλά εξελικτικά στάδια (από μεμονωμένα έως άφθονα παράσιτα), εστίες υπερκόκκωσης, ενδοκυτταρικό και μεσοκυττάριο οίδημα έως έντονη σπογγίωση. Σε αρκετές βιοψίες παρατηρήθηκε επίσης υπερπλασία της επιδερμίδας, με ακάνθωση έως σημαντική ψευδοεπιθηλωματώδη υπερπλασία. Επιπλέον στην επιδερμίδα παρατηρήθηκε πολυεστιακή διήθηση από εωσινόφιλα και/ή πολλά ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρηνια (με σχηματισμό μικροαποστηματίων σε ορισμένες βιοψίες) σε συνδυασμό με την σημαντική εξωκύτωση λεμφοκυττάρων (διάχυτη ή επικεντρωμένη σε περιοχές όπου υπήρχαν παρόντα ακάρεα *Sarcoptes*).

Όσον αφορά το χόριο η κατανομή του φλεγμονώδους διηθήματος ήταν κυρίως περιαγγειακή (επιπολής μέχρι βαθιά) και χοριοεπιδερμική, λιγότερο διάχυτη, και σπανιότερα κατά εστίες περιεξαρτηματική. Ο τύπος κυττάρων που κυριαρχούσε στο φλεγμονώδες διήθημα ήταν λεμφοκύτταρα και λιγότερο εωσινόφιλα, ενώ παρατηρήθηκαν και περιστατικά χρόνιας σαρκοπτικής ψώρας με έντονη περιαγγειακή εωσινοφιλική δερματίτιδα. Τα πλασμοκύτταρα, τα ιστιοκύτταρα και τα σιτευτικά κύτταρα συμμετείχαν στο φλεγμονώδες διήθημα ελάχιστα ή απουσίαζαν.



**Εικόνα 15:** Βιοψία δέρματος από την ραχιαία περιοχή αίγας με έντονες μακροσκοπικές αλλοιώσεις (φυσικό περιστατικό σαρκοπτικής ψώρας). Διακρίνεται ενήλικο *Sarcoptes* χαμηλά στην κεράτινη στιβάδα, ορθοκερατωτική υπερκεράτωση και υπερκόκκωση. Χρώση αιματοξυλίνης-εωσίνης (x400).

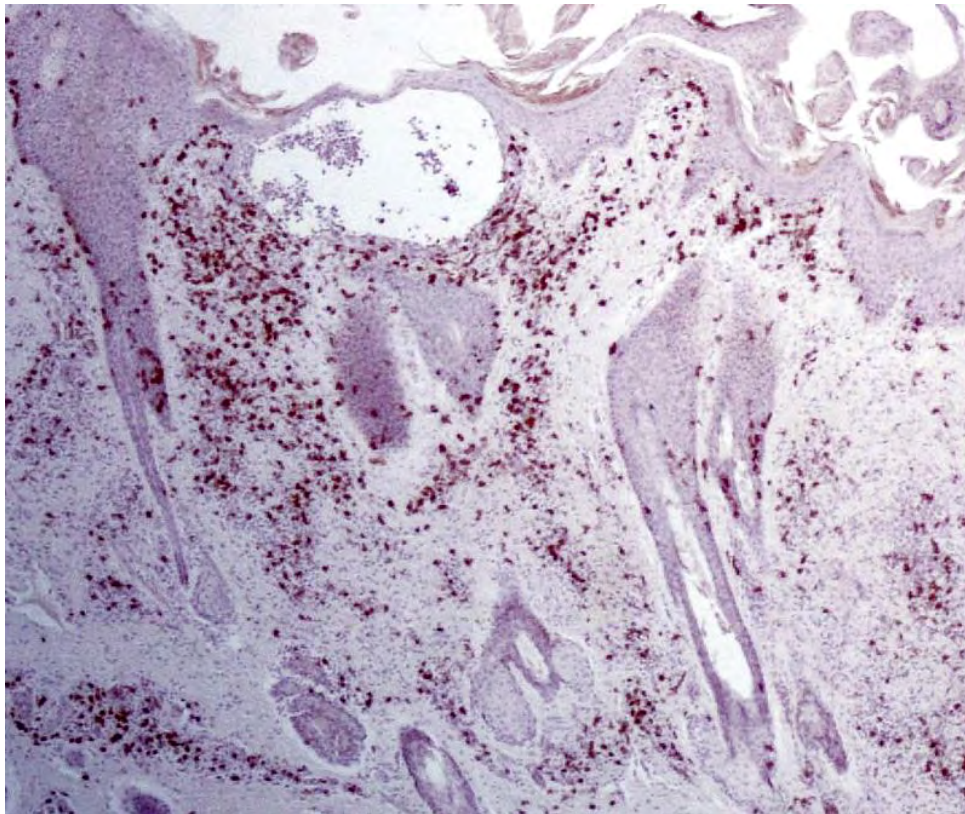


**Εικόνα 16:** Βιοψία δέρματος από τη ραχιαία περιοχή αίγας (φυσικό περιστατικό σαρκοπτικής ψώρας). Διακρίνονται δύο ακάρεα *Sarcoptes*, υπερκεράτωση, υπερπλασία της επιδερμίδας και έντονη φλεγμονώδης διήθηση στο χόριο. Χρώση αιματοξυλίνης-εωσίνης (x40).

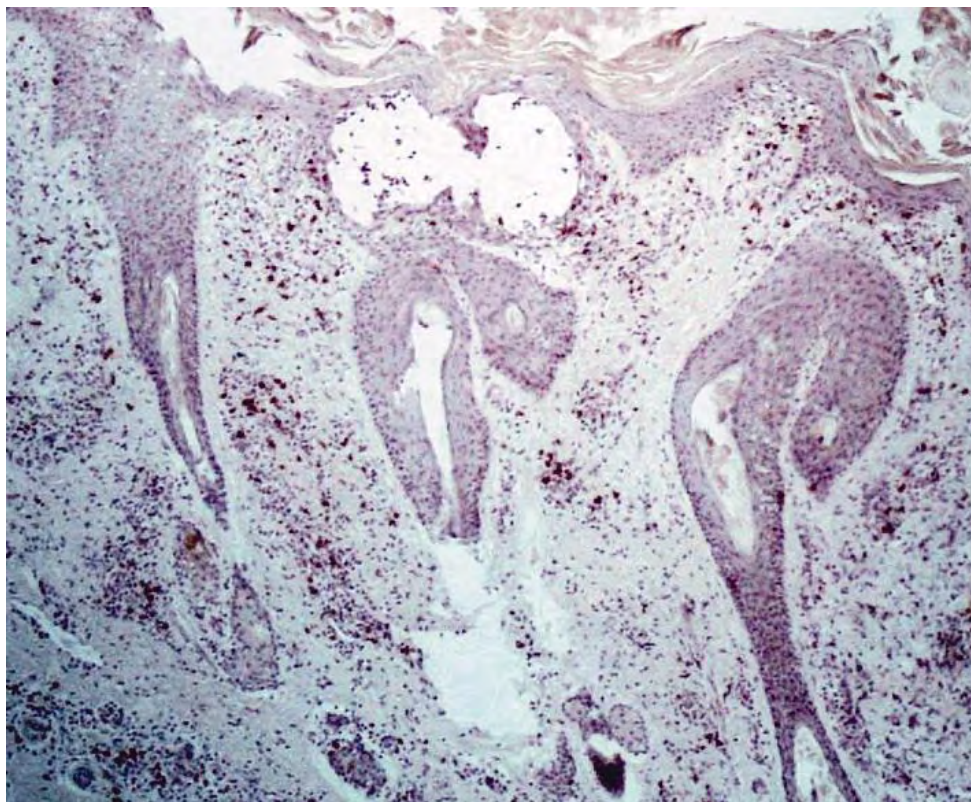
## 5.2.4 Ευρήματα ανοσοϊστοχημικής μελέτης του δέρματος φυσικών περιστατικών αιγών με σαρκοπτική ψώρα

### 5.2.4.α Ποιοτική ανάλυση κυτταρικών υποπληθυσμών του ανοσοποιητικού συστήματος

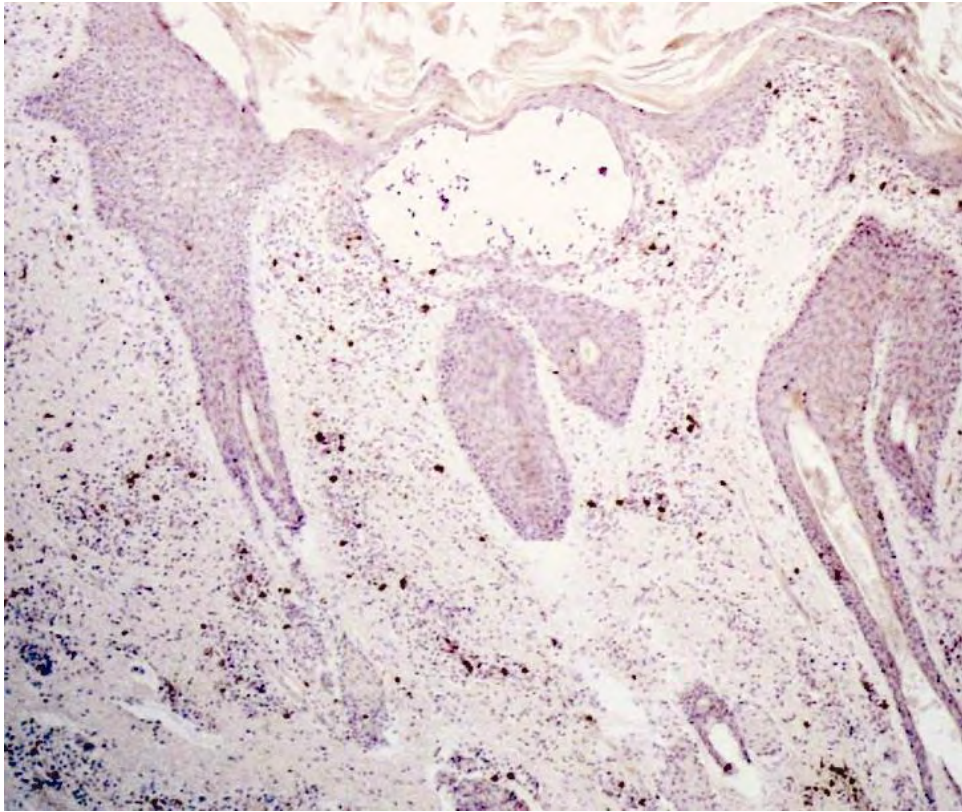
Τα ευρήματα της ανοσοϊστοχημική μελέτης βιοψιών δέρματος από χρόνια περιστατικά σαρκοπτικής ψώρας στις αίγες αφορούσαν κυρίαρχη έκφραση των CD3+ T-λεμφοκυττάρων, τόσο την επιδερμίδα όσο και στο χόριο (κατανομή λειχηνοειδής, διάχυτη, οζώδης, περιαγγειακή). Η εξωκύτωση λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα αφορούσε τόσο CD4+ βοηθητικά λεμφοκύτταρα όσο και CD8+ και γδ λεμφοκύτταρα σε μεγαλύτερο βαθμό. Κυρίαρχη ήταν η συμμετοχή των CD4+ λεμφοκυττάρων στο φλεγμονώδες πρότυπο κατανομής στο χόριο σε σχέση με τα CD8+ και τα γδ λεμφοκύτταρα λεμφοκύτταρα. Στο χόριο επίσης παρατηρήθηκαν μεμονωμένα CD21+ λεμφοκύτταρα. Τα CD1+ και CD68+ κύτταρα εντοπίστηκαν στην επιδερμίδα, αλλά κυρίως ήταν περιαγγειακά στο επιπολής χόριο.



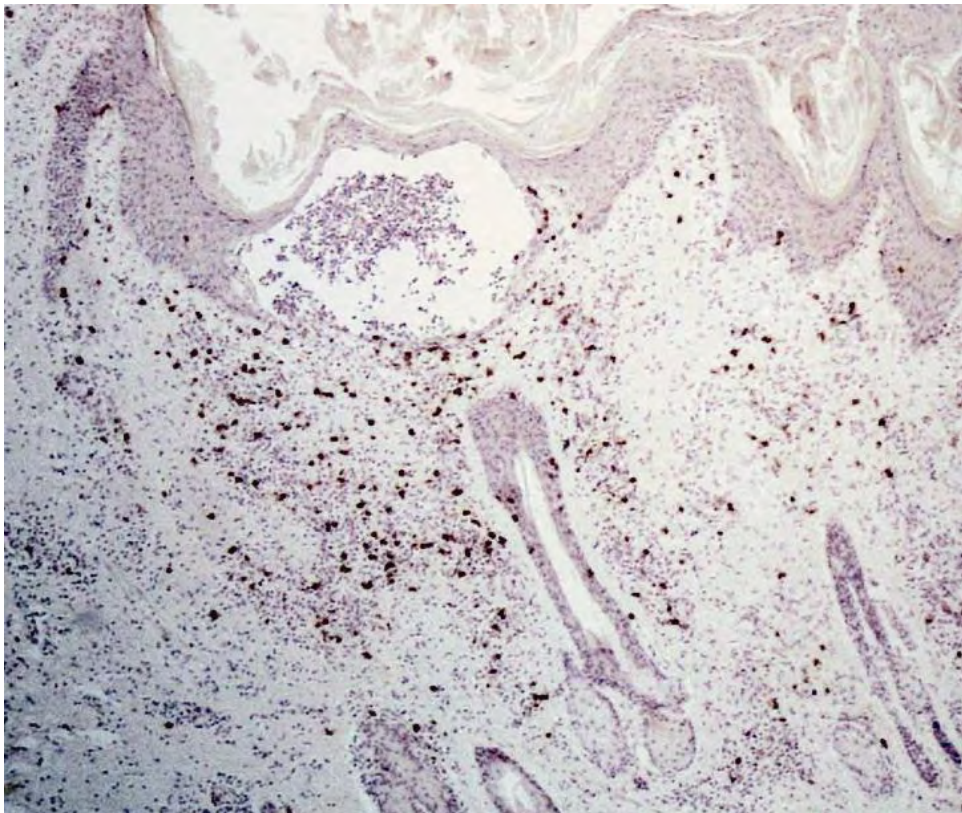
**Εικόνα 17:** Βιοψία δέρματος από τη ραχιαία περιοχή εριφίου (φυσικό περιστατικό σαρκοπτικής ψώρας). Διακρίνεται η έντονη εξοκύττωση CD3+ λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα ιδίως γύρω από την φλύκταινα. Ανοσοϊστοχημική χρώση σε τομή παραφίνης (x100).



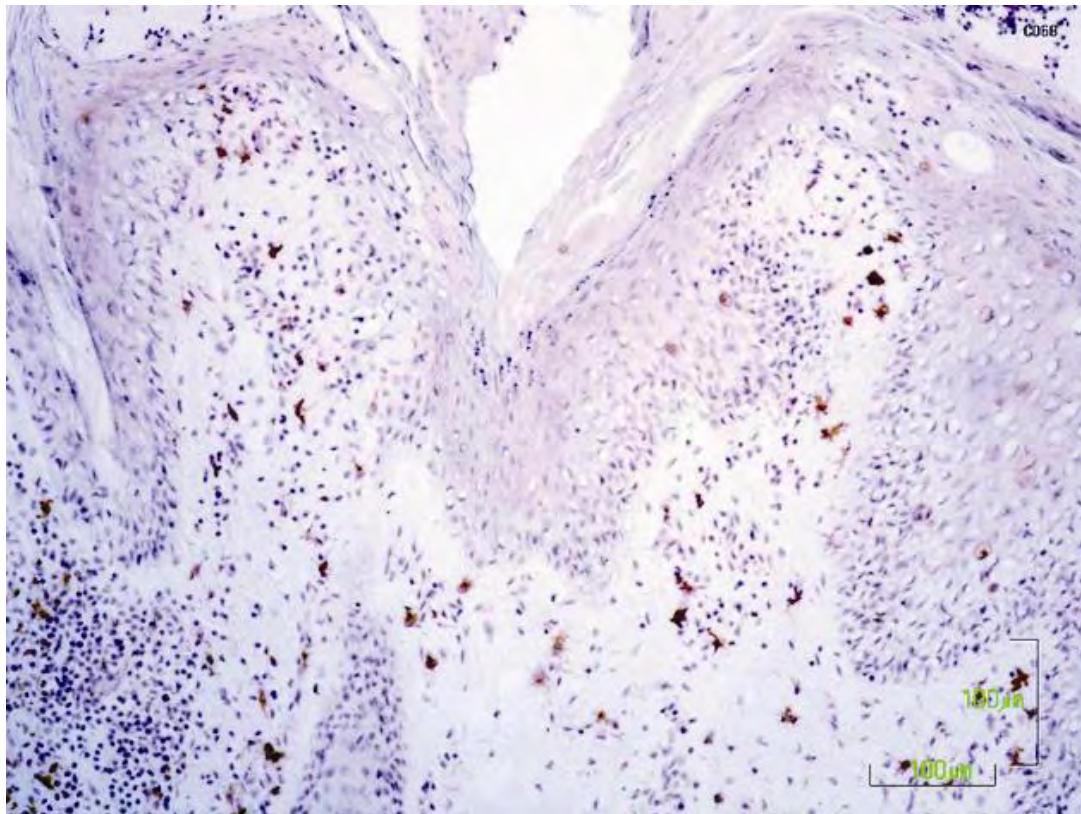
**Εικόνα 18:** Βιοψία δέρματος από τη ραχιαία περιοχή εριφίου (φυσικό περιστατικό σαρκοπτικής ψώρας). Η εικόνα αφορά στην κατανομή των CD4+ λεμφοκυττάρων σε σύγκριση με την προηγούμενη εικόνα (17) και προέρχεται από σειριακή της τομή. Διακρίνεται η έντονη διήθηση του χορίου από CD4+ λεμφοκύτταρα. Ανοσοϊστοχημική χρώση σε τομή παραφίνης (x100).



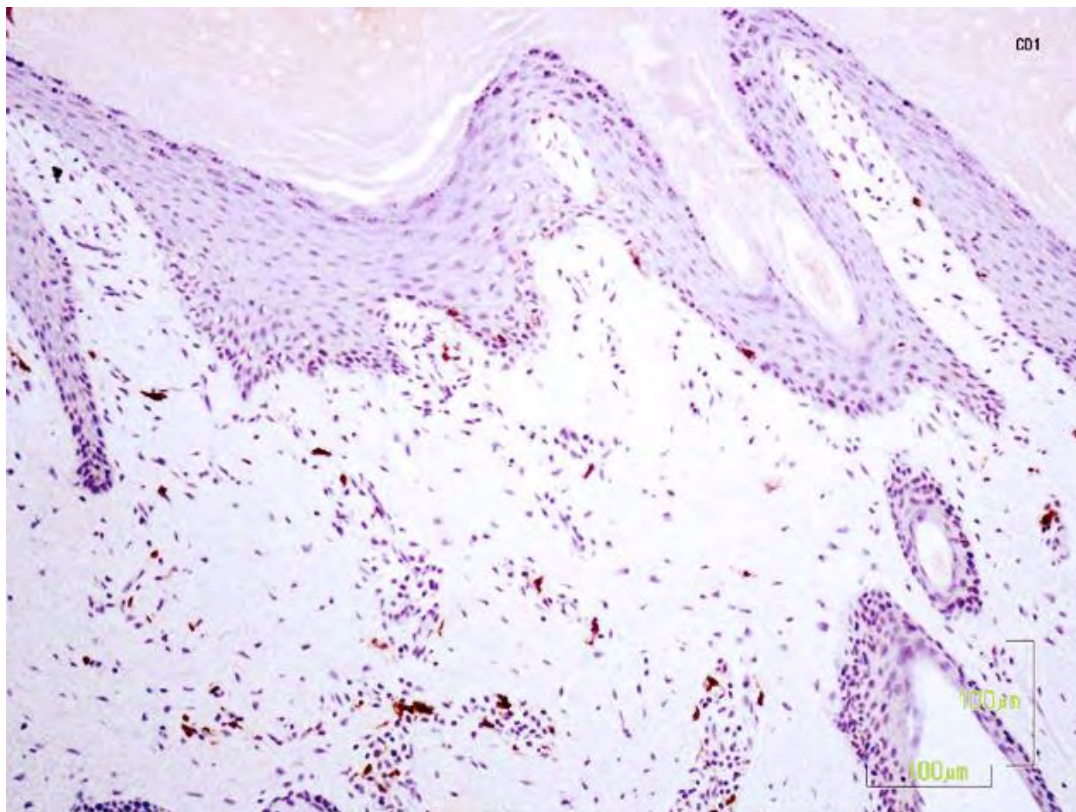
**Εικόνα 19:** Βιοψία δέρματος από τη ραχιαία περιοχή εριφίου (φυσικό περιστατικό σαρκοπτικής ψώρας). Η εικόνα αφορά στην κατανομή των CD8+ λεμφοκυττάρων σε σύγκριση με τις προηγούμενες εικόνες (17, 18) και προέρχεται από σειριακή τομή. Διακρίνεται η εξωκύττωση CD8+ λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα γύρω από την φλύκταινα. Ανοσοϊστοχημική χρώση σε τομή παραφίνης (x100).



**Εικόνα 20:** Βιοψία δέρματος από τη ραχιαία περιοχή εριφίου (φυσικό περιστατικό σαρκοπτικής ψώρας). Η εικόνα αφορά στην κατανομή των WC1+ γδ λεμφοκυττάρων (σε σύγκριση με τις προηγούμενες εικόνες 17, 18, 19 και προέρχεται από σειριακή τομή βάθους). Διακρίνεται η εξωκύττωση γδ λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα γύρω από την φλύκταινα. Ανοσοϊστοχημική χρώση σε τομή παραφίνης (x100).

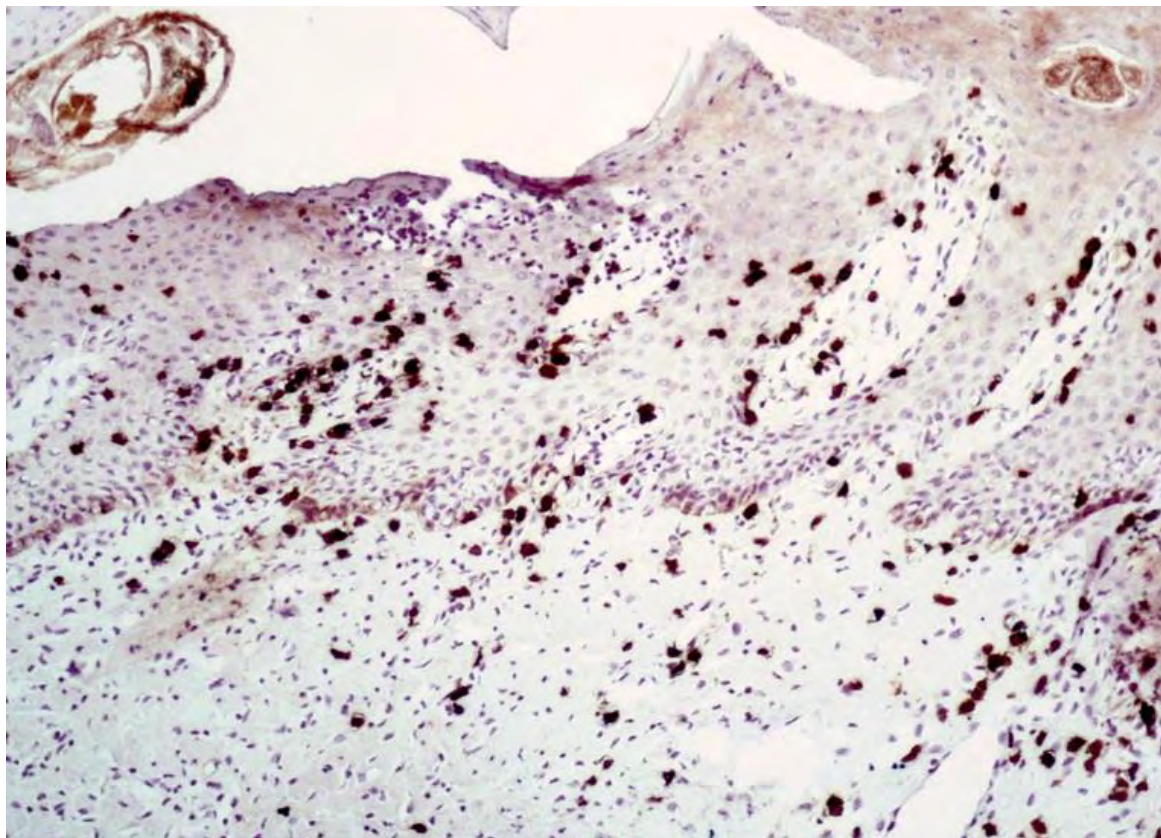


**Εικόνα 21:** Βιοψία δέρματος της ραχιαίας περιοχής εριφίου (φυσικό περιστατικό σαρκοπτικής ψώρας). Ανοσοϊστοχημική χρώση CD68+ κυττάρων σε τομή παραφίνης (x100).

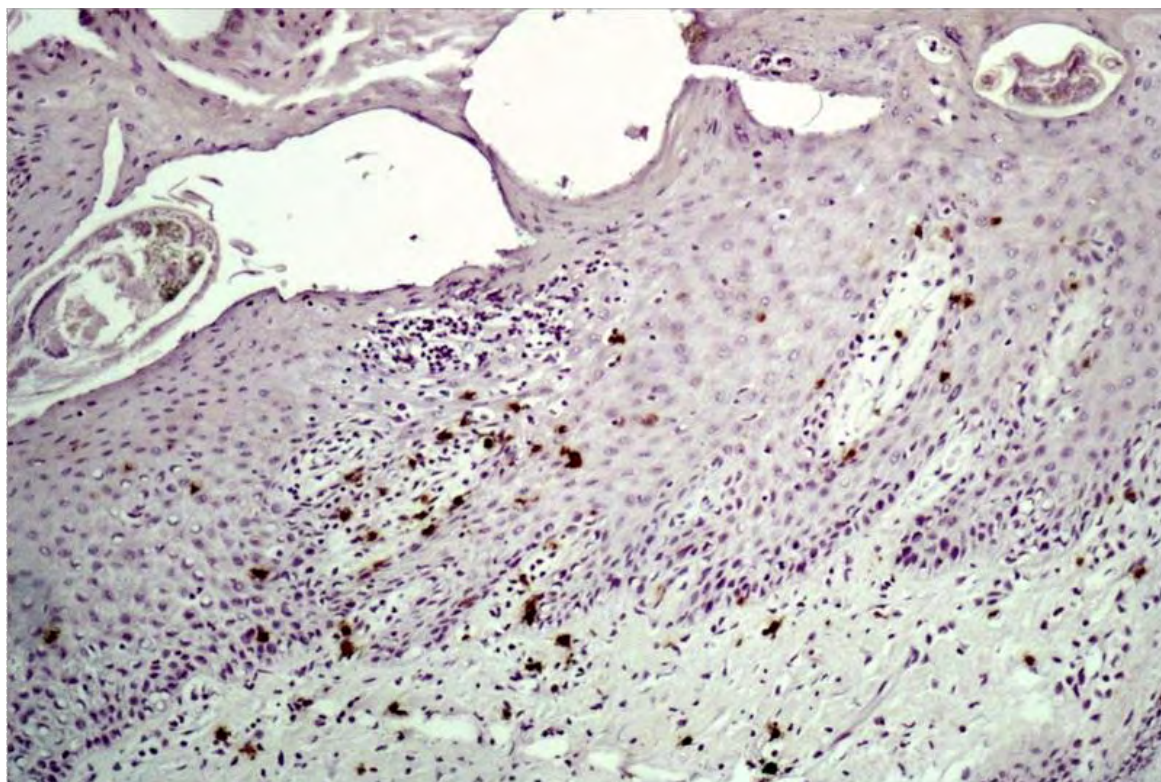


**Εικόνα 22:** Βιοψία δέρματος της ραχιαίας περιοχής εριφίου (φυσικό περιστατικό σαρκοπτικής ψώρας). Ανοσοϊστοχημική χρώση CD1+ κυττάρων σε τομή παραφίνης (x100).





**Εικόνα 23:** Βιοψία δέρματος επιρρινίου αίγας (φυσικό περιστατικό σαρκοπτικής ψώρας). Διακρίνεται η έντονη εξωκύτωση των CD3+ λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα κοντά στην περιοχή εντοπισμού του παρασίτου και η διήθηση τους στο επιπολής χόριο. Ανοσοϊστοχημική χρώση σε τομή παραφίνης (x400).

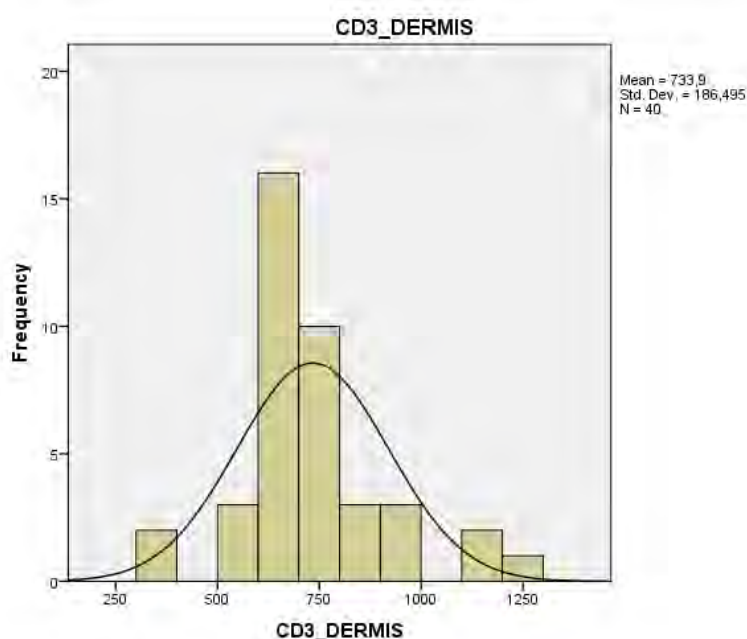


**Εικόνα 24:** Βιοψία δέρματος επιρρινίου αίγας (φυσικό περιστατικό σαρκοπτικής ψώρας). Η εικόνα αφορά στην κατανομή των WC1+ γδ λεμφοκυττάρων σε σύγκριση με την προηγούμενη εικόνα (23) και προέρχεται από σειριακή της τομή. Διακρίνεται η εξωκύτωση WC1+ γδ λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα γύρω από την περιοχή εντοπισμού του παρασίτου. Ανοσοϊστοχημική χρώση σε τομή παραφίνης (x400).

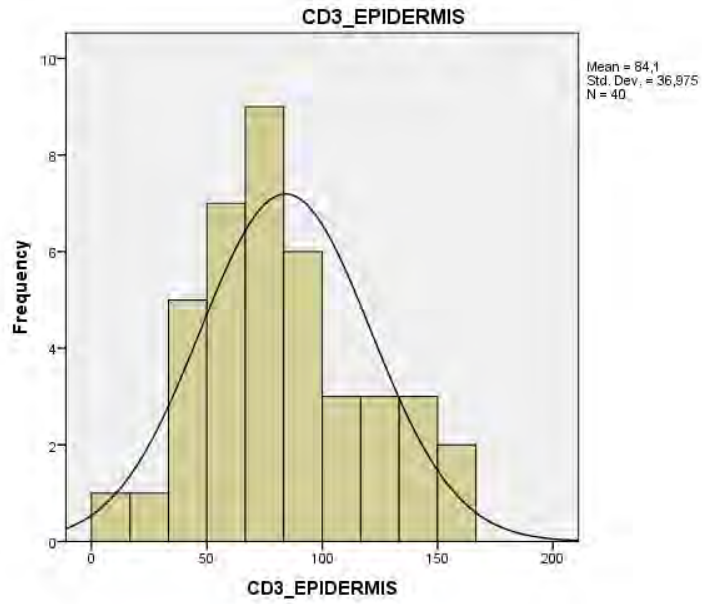
## 5.2.4β Ποσοτική ανάλυση κυτταρικών υποπληθυσμών του ανοσοποιητικού συστήματος

**Στο χόριο**, ο μέσος όρος των CD3+ λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα ήταν  $733,9 \pm 186,495$  (min=311, max=1258), των CD4+ λεμφοκυττάρων  $425,47 \pm 117,596$  (min=193, max=732), των CD8+ λεμφοκυττάρων  $112,32 \pm 47,283$  (min=44, max=316) και των WC1+ γδ λεμφοκυττάρων  $166,15 \pm 45,349$  (min=89, max=274) (cells±SD/ grid). Η μέση αναλογία των CD4/CD8 στο χόριο  $4,0973 \pm 1,21$  (min=2,06; max=8,06).

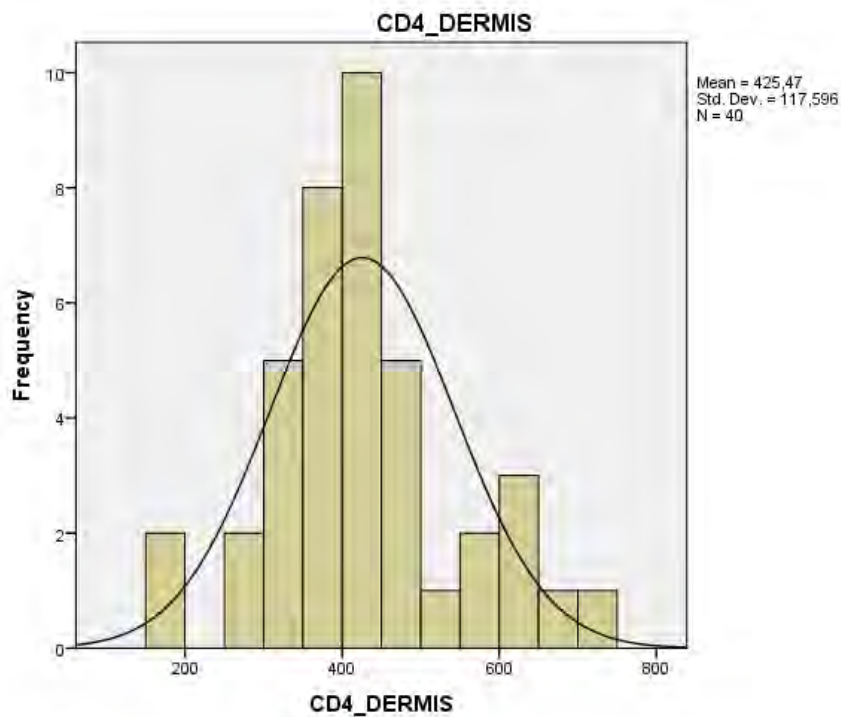
**Στην επιδερμίδα**, ο μέσος όρος των CD3+ λεμφοκυττάρων ήταν  $84,10 \pm 36,975$  (min=5, max=164), των CD4+ λεμφοκυττάρων  $4,75 \pm 7,922$  (min=0, max=33), των CD8+ λεμφοκυττάρων  $23,82 \pm 13,555$  (min=2, max=55) και των WC1+ γδ λεμφοκυττάρων  $19,52 \pm 11,451$  (min=1, max=44) (cells±SD/ grid).



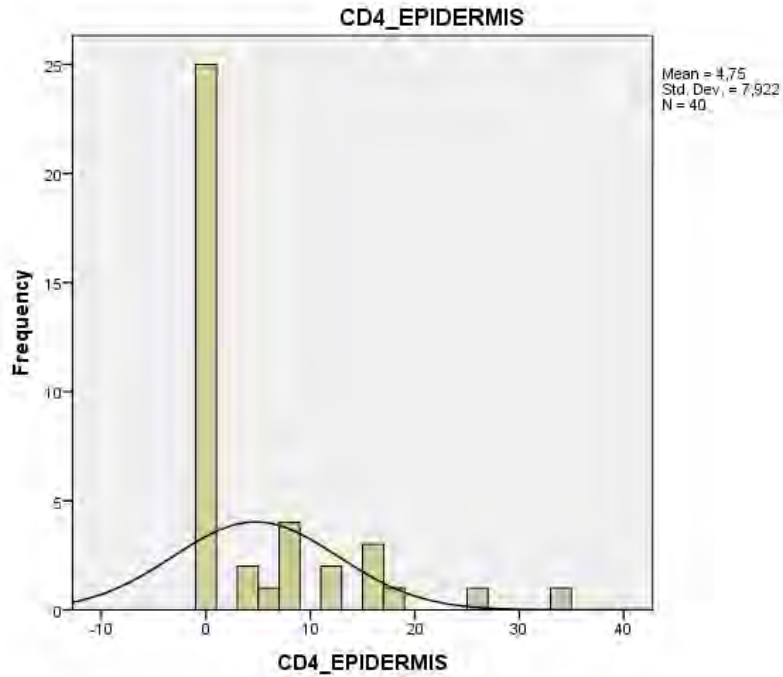
**Γράφημα 1:** Ιστόγραμμα συχνοτήτων των CD3+ λεμφοκυττάρων στο χόριο φυσικών περιστατικών αγών με σαρκοπτική ψώρα (n=40). Ο μέσος όρος τους ήταν  $733,9 \pm 186,495$  (cells±SD/ grid).



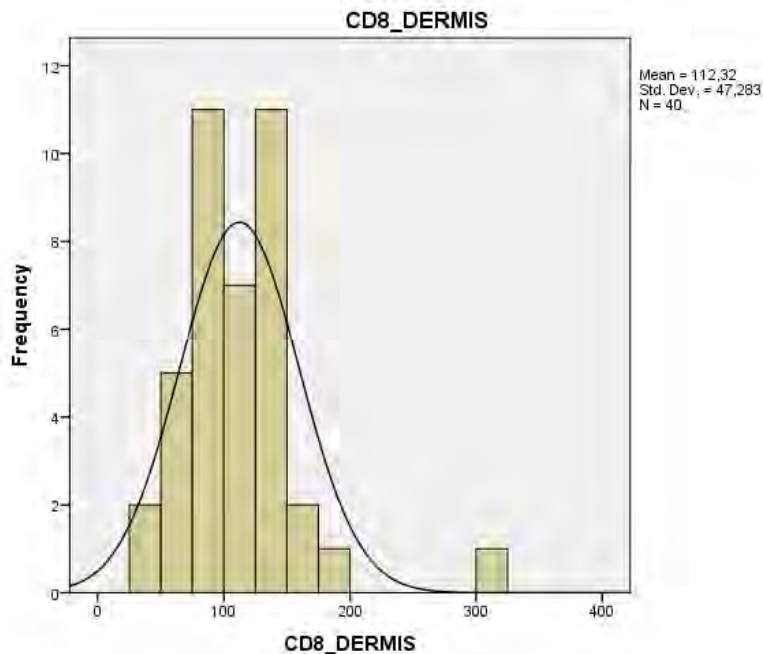
**Γράφημα 2:** Ιστόγραμμα συχνοτήτων των CD3+ λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα φυσικών περιστατικών αγών με σαρκοπτική ψώρα (n=40). Ο μέσος όρος τους ήταν  $84,10 \pm 36,975$  (cells $\pm$ SD/ grid).



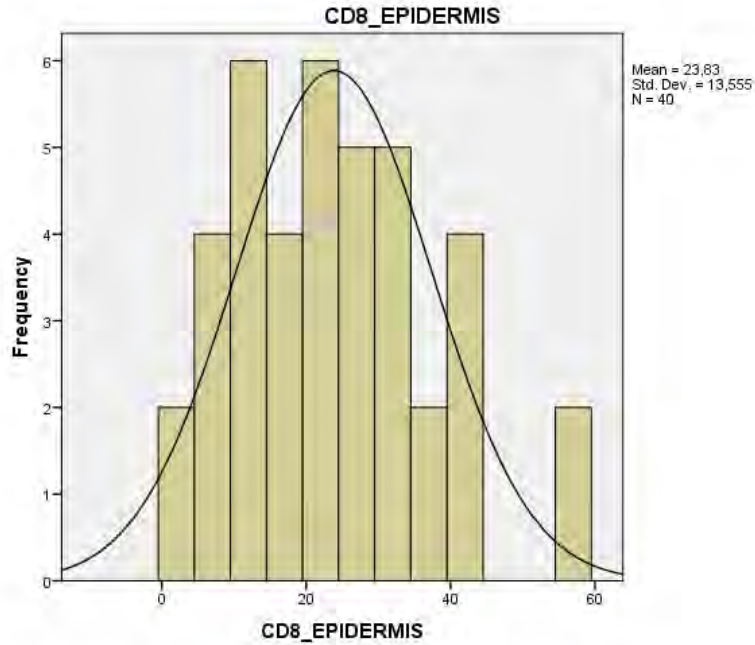
**Γράφημα 3:** Ιστόγραμμα συχνοτήτων των CD4+ λεμφοκυττάρων στο χόριο φυσικών περιστατικών αγών με σαρκοπτική ψώρα (n=40). Ο μέσος όρος τους ήταν  $425,47 \pm 117,596$  (cells $\pm$ SD/ grid).



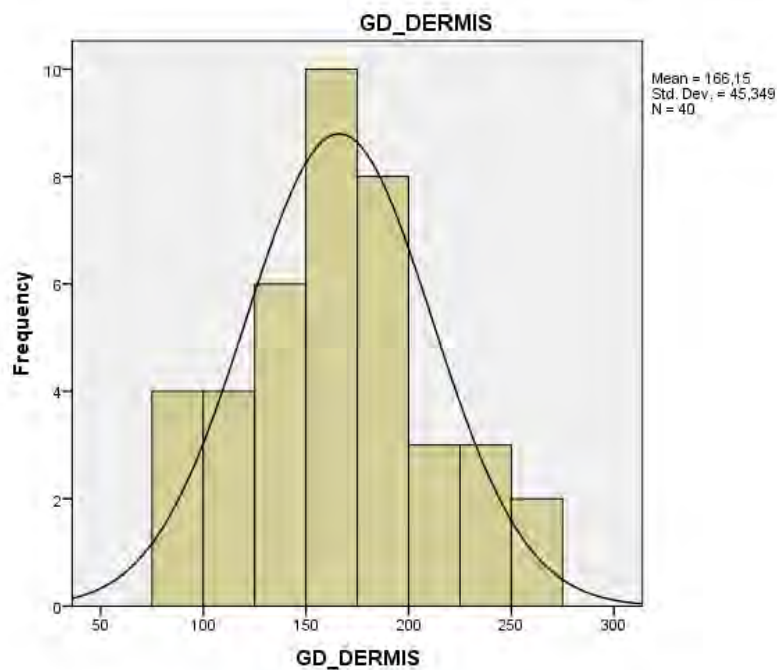
**Γράφημα 4:** Ιστόγραμμα συχνοτήτων των CD4+ λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα φυσικών περιστατικών αιγών με σαρκοπτική ψώρα (n=40). Ο μέσος όρος τους ήταν  $4,75 \pm 7,922$  (cells $\pm$ SD/ grid).



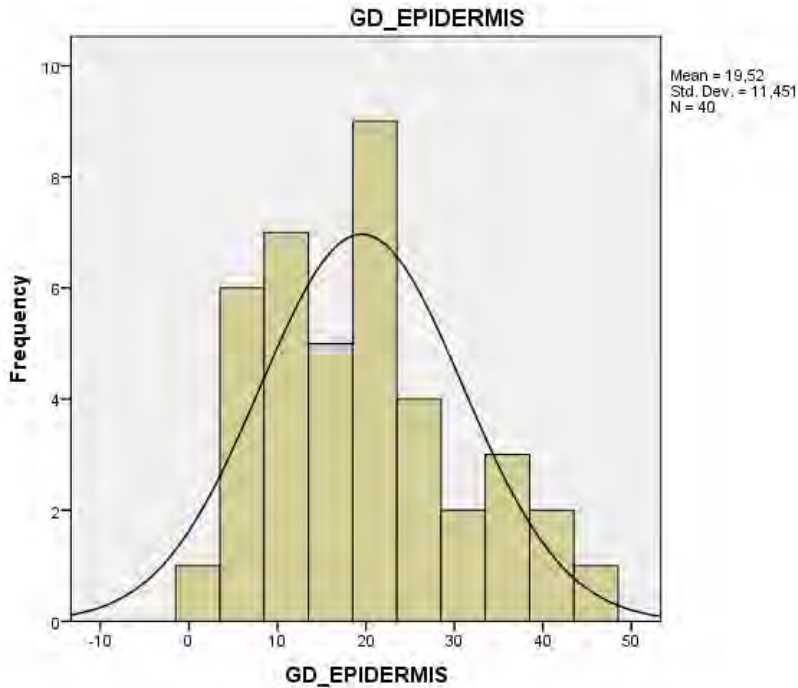
**Γράφημα 5:** Ιστόγραμμα συχνοτήτων των CD8+ λεμφοκυττάρων στο χόριο φυσικών περιστατικών αιγών με σαρκοπτική ψώρα (n=40). Ο μέσος όρος τους ήταν  $112,32 \pm 47,283$  (cells $\pm$ SD/ grid).



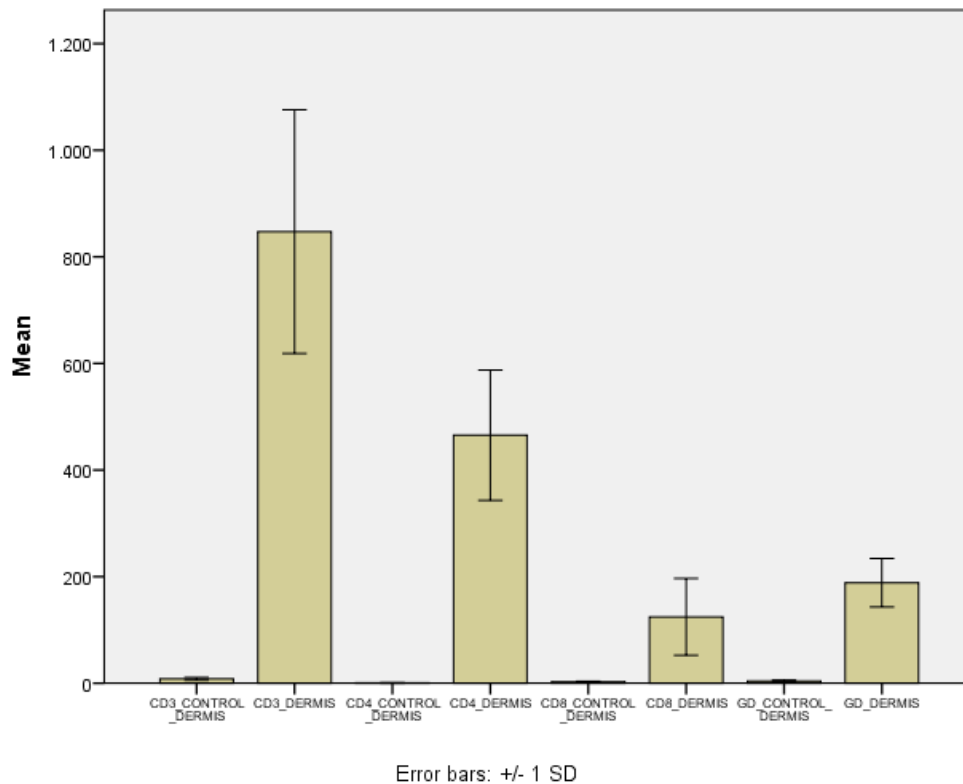
**Γράφημα 6:** Ιστόγραμμα συχνοτήτων των CD8+ λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα φυσικών περιστατικών αιγών με σαρκοπτική ψώρα (n=40). Ο μέσος όρος τους ήταν 23,83±13,55 (cells±SD/ grid).



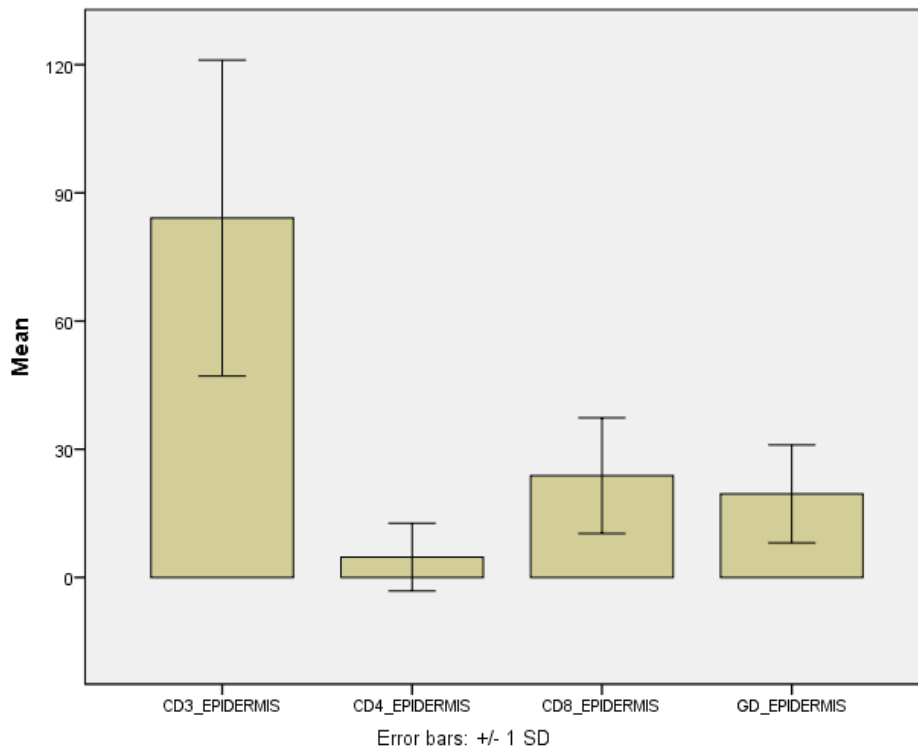
**Γράφημα 7:** Ιστόγραμμα συχνοτήτων των WC1+ γδ λεμφοκυττάρων (GD) στο χόριο φυσικών περιστατικών αιγών με σαρκοπτική ψώρα (n=40). Ο μέσος όρος τους ήταν 166,15±45,349 (cells±SD/ grid).



**Γράφημα 8:** Ιστόγραμμα συχνότητων των WC1+ γδ λεμφοκυττάρων (GD) στην επιδερμίδα φυσικών περιστατικών αιγών με σαρκοπτική ψώρα (n=40). Ο μέσος όρος τους ήταν 19,52±11,451 (cells±SD/ grid).



**Γράφημα 9:** Μέσοι όροι των CD3+, των CD4+, CD8+ και WC1+ γδ λεμφοκυττάρων (GD) στο χόριο φυσικών περιστατικών αιγών με σαρκοπτική ψώρα (n=40) σε σχέση με τους μέσους όρους των υγιών μαρτύρων (cells±SD/ grid).



**Γράφημα 10: Μέσοι όροι των CD3+, των CD4+, CD8+ και WC1+ γδ λεμφοκυττάρων (GD) στην επιδερμίδα φυσικών περιστατικών αιγών με σαρκοπτική ψώρα (n=40) (cells±SD/ grid). Στους υγιείς μάρτυρες παρατηρήθηκε μηδενική εξωκύτωση στην επιδερμίδα των CD3+, των CD4+, CD8+ και WC1+ γδ λεμφοκυττάρων.**

Τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης έδειξαν ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ της ομάδας των φυσικών περιστατικών με σαρκοπτική ψώρα και της ομάδας των υγιών μαρτύρων για τις παραμέτρους CD3+ (χόριο και επιδερμίδα,  $p < 0,01$ ) των CD4+ (χόριο,  $p < 0,01$ ), CD8+ (χόριο και επιδερμίδα,  $p < 0,01$ ) και WC1+ γδ λεμφοκυττάρων (χόριο και επιδερμίδα,  $p < 0,01$ ). Δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά για τα CD4+ λεμφοκύτταρα της επιδερμίδας ( $p = 0,025$ ) μεταξύ της ομάδας των φυσικών περιστατικών και των controls.

**Πίνακας 7: Αποτελέσματα στατιστικής ανάλυσης (Mann Whitney Test και T test) για τις ομάδες των φυσικών περιστατικών αιγών με σαρκοπτική ψώρα και των υγιών μαρτύρων.**

	Φυσικά περιστατικά					Controls					p-value
	Mean	SD	Median	Percentile 25	Percentile 75	Mean	SD	Median	Percentile 25	Percentile 75	
<b>CD3 ΧΟΡΙΟ</b>	734	186	680	646	780	8	3	9	6	10	<0,001**
<b>CD4 ΧΟΡΙΟ</b>	425	118	412	371	466	1	1	1	0	1	<0,001**
<b>CD8 ΧΟΡΙΟ</b>	112	47	105	84	132	3	1	3	2	3	<0,001**
<b>γδ ΧΟΡΙΟ</b>	166	45	170	134	192	4	2	4	3	5	<0,001*
<b>CD3 ΕΠΙΔΕΡΜΙΔΑ</b>	84	37	82	61	103	0	0	0	0	0	<0,001**
<b>CD4 ΕΠΙΔΕΡΜΙΔΑ</b>	5	8	0	0	8	0	0	0	0	0	0,025**
<b>CD8 ΕΠΙΔΕΡΜΙΔΑ</b>	24	14	22	14	34	0	0	0	0	0	<0,001**
<b>γδ ΕΠΙΔΕΡΜΙΔΑ</b>	20	11	20	10	26	0	0	0	0	0	<0,001**

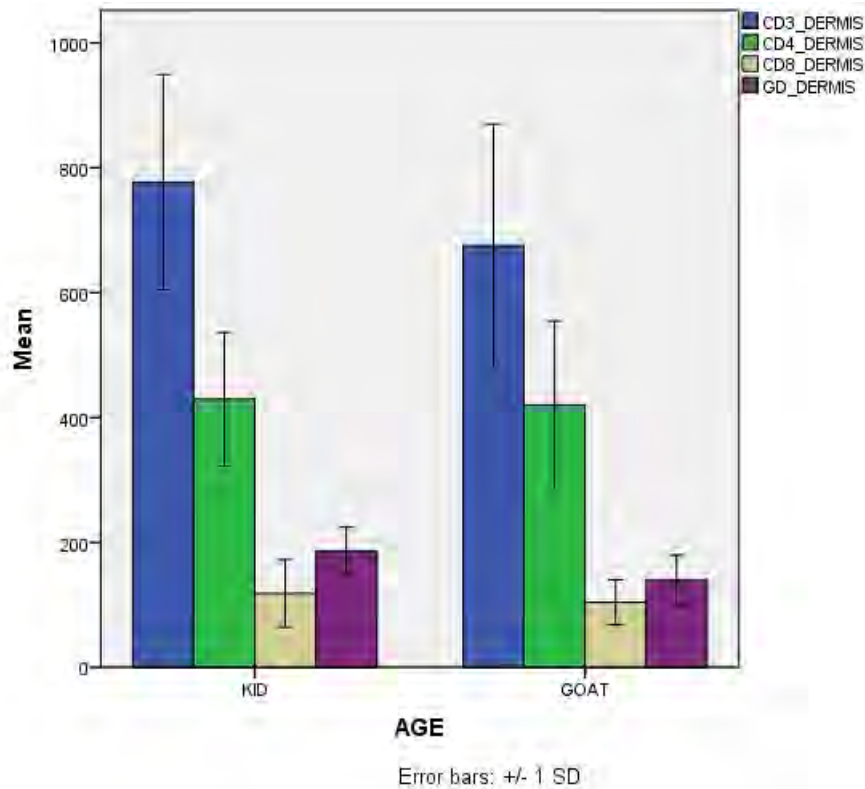
\**t-test*

\*\**Mann-Whitney test*

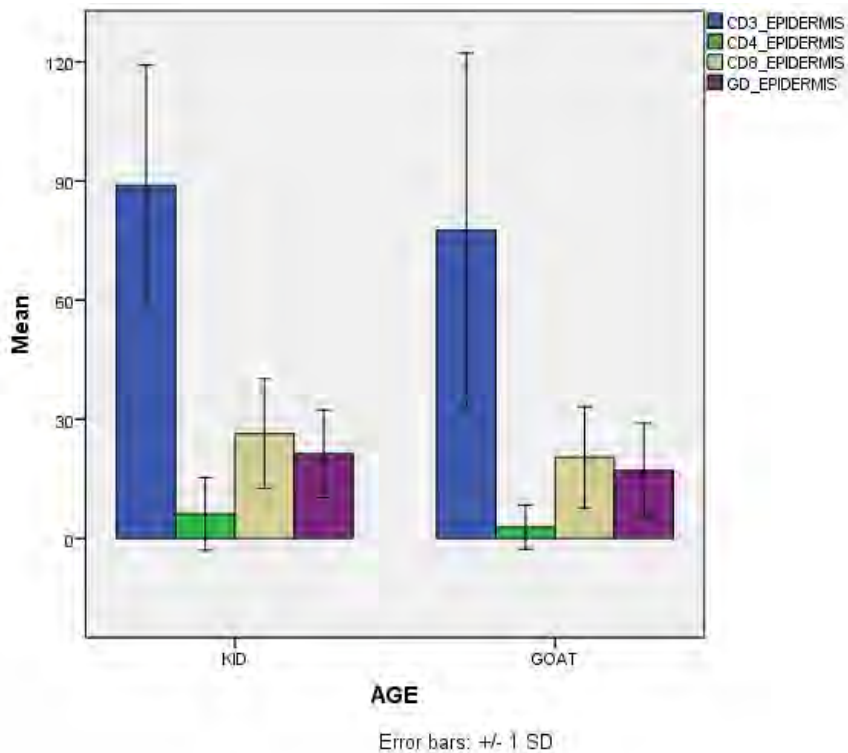
**Στα ερίφια** (n=23), ο μέσος όρος των CD3+ λεμφοκυττάρων στο χόριο ήταν 776,87±172,413 (min=589, max=1258), 429,43±106,691 (min=268, max=651), των CD8+ λεμφοκυττάρων 118,35±54,133 (min=48, max=316) και των WC1+ γδ λεμφοκυττάρων 185,91±38,611 (min=129, max=274) (cells±SD/ grid). Η μέση αναλογία των CD4/CD8 στο χόριο 4,0086±1,33105 (min=2,06; max=8,06). Στην επιδερμίδα, ο μέσος όρος των CD3+ λεμφοκυττάρων ήταν 88,91±30,282 (min=36, max=155), των CD4+ λεμφοκυττάρων 6,17±9,153 (min=0, max=33), των CD8+ λεμφοκυττάρων 26,35±13,865 (min=7, max=55) και των WC1+ γδ λεμφοκυττάρων 21,30±11,051 (min=4, max=44) (cells±SD/ grid).

**Στις ενήλικες αίγες** (n=17), ο μέσος όρος των CD3+ λεμφοκυττάρων στο χόριο ήταν 675,76±194,058 (min=311, max=1151), των CD4+ λεμφοκυττάρων 420,12±134,177 (min=193, max=732), των CD8+ λεμφοκυττάρων 104,18±36,020 (min=44, max=168) και των WC1+ γδ λεμφοκυττάρων 139,41±40,519 (min=89, max=209) (cells±SD/ grid). Η μέση αναλογία των CD4/CD8 στο χόριο 4,2173±1,05351 (min=2,06; max=8,06). Στην επιδερμίδα, ο μέσος όρος των CD3+ λεμφοκυττάρων ήταν 77,59±44,646 (min=5, max=164), των CD4+ λεμφοκυττάρων 2,82±5,559 (min=0, max=18), των CD8+ λεμφοκυττάρων 20,41±12,728 (min=2, max=44) και των WC1+ γδ λεμφοκυττάρων 17,12±11,874 (min=1, max=42) (cells±SD/ grid).

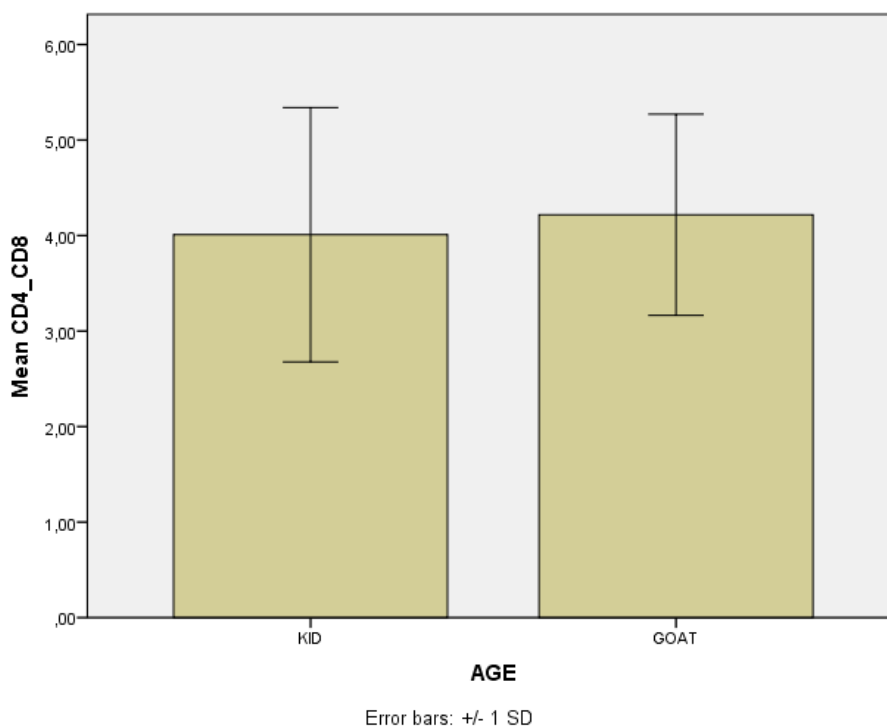




**Γράφημα 11:** Μέσοι όροι των CD3+, των CD4+, CD8+ και WC1+ γδ λεμφοκυττάρων στο χόριο φυσικών περιστατικών αγών (n=17) και εριφίων (n=23) με σαρκοπτική ψώρα (cells±SD/ grid).



**Γράφημα 12:** Μέσοι όροι των παραμέτρων CD3, CD4, CD8 και γδ λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα φυσικών περιστατικών αγών (n=17) και εριφίων (n=23) με σαρκοπτική ψώρα (cells±SD/ grid).



**Γράφημα 13: Μέσοι όροι της αναλογίας CD4/CD8 στο χόριο φυσικών περιστατικών φυσικών περιστατικών αιγών (n=17) και εριφίων (n=23) με σαρκοπτική ψώρα.**

Τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης έδειξαν ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ηλικιακών ομάδων των φυσικών περιστατικών με σαρκοπτική ψώρα, όσο αφορά μόνο την τιμή των γδ λεμφοκυττάρων στο χόριο. Πιο συγκεκριμένα, τα ερίφια με σαρκοπτική ψώρα παρουσίασαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερα επίπεδα γδ λεμφοκυττάρων στο χόριο σε σχέση με τις αίγες (p=0,003).

**Πίνακας 8: Αποτελέσματα στατιστικής ανάλυσης (Mann Whitney Test και T test) για τις ομάδες των αιγών και των εριφίων με σαρκοπτική ψώρα.**

	Ερίφια					Αίγες					p-value
	Mean	SD	Median	Percentile 25	Percentile 75	Mean	SD	Median	Percentile 25	Percentile 75	
<b>CD3 Χόριο</b>	777	172	747	657	875	676	194	655	631	747	0,052**
<b>CD4 Χόριο</b>	429	107	412	342	462	420	134	410	379	470	0,815*
<b>CD8 Χόριο</b>	118	54	115	86	128	104	36	99	81	134	0,594**
<b>γδ Χόριο</b>	186	39	174	164	202	139	41	128	103	182	0,003**
<b>CD3 Επιδερμ.</b>	89	30	83	66	102	78	45	76	44	110	0,345*
<b>CD4 Επιδερμ</b>	6	9	0	0	12	3	6	0	0	4	0,250**
<b>CD8 Επιδερμ</b>	26	14	25	15	35	20	13	22	10	32	0,174*
<b>γδ Επιδερμ</b>	21	11	21	15	28	17	12	12	9	24	0,258*

\**t-test*

\*\**Mann-Whitney test*

Τέλος, δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις ανατομικές περιοχές με αλλοιώσεις από τις οποίες λήφθηκαν οι βιοψίες για καμία παράμετρο που αναλύθηκε (CD3+ χορίου και επιδερμίδας, CD4+ χορίου και επιδερμίδας, CD8+ χορίου και επιδερμίδας και WC1+ γδ χορίου και επιδερμίδας).

#### **5.2.4.γ Ποιοτική ανάλυση της έκφρασης κερατινών στα φυσικά περιστατικά σαρκοπτικής ψώρας σε σύγκριση με το υγιές δέρμα αιγών**

Η ανοσοϊστοχημική μελέτη στο φυσιολογικό δέρμα των εριφίων και αιγών που εξετάστηκαν έδειξε ότι:

1. η κυτοκερατίνη AE1/AE3 εκφράζεται σε όλες τις στιβάδες της επιδερμίδας, στον τριχικό θύλακο (εκτός από στέλεχος και βολβό τρίχας), στους σμηγματογόνους αδένες και το επιθήλιο των ιδρωτοποιών αδένων.
2. η κυτοκερατίνη MNF116 εκφράζεται στη βασική και στην ακανθωτή στιβάδα της επιδερμίδας (2-3 στιβάδες κυττάρων), στον εξωτερικό κολεό του τριχικού θύλακου, στους σμηγματογόνους αδένες και το επιθήλιο των ιδρωτοποιών αδένων.
3. η κυτοκερατίνη 34BE12 εκφράζεται σε όλες τις στιβάδες της επιδερμίδας, στον εξωτερικό κολεό του τριχικού θύλακου, στους σμηγματογόνους αδένες και το επιθήλιο των ιδρωτοποιών αδένων.
4. η κυτοκερατίνη 5/6 εκφράζεται στη βασική στιβάδα της επιδερμίδας, στον εξωτερικό κολεό του τριχικού θύλακου και εσωτερικό κολεό, στους σμηγματογόνους αδένες και στα μυοεπιθηλιακά των ιδρωτοποιών αδένων.
5. η κυτοκερατίνη 7 εκφράζεται μόνο στο επιθήλιο των ιδρωτοποιών αδένων
6. η κυτοκερατίνη 14 εκφράζεται μόνο στη βασική στιβάδα της επιδερμίδας, στον εξωτερικό κολεό του τριχικού θύλακου και στους σμηγματογόνους αδένες.
7. η κυτοκερατίνη 19 εκφράζεται μόνο στη βασική στιβάδα της επιδερμίδας, στον εξωτερικό κολεό του τριχικού θύλακου και στους σμηγματογόνους αδένες.

Στους παρακάτω πίνακες συνοψίζονται τα ανοσοϊστοχημικά ευρήματα της έκφρασης των κυτοκερατινών στην υγιή επιδερμίδα των αιγών.

**Πίνακας 9: Ανοσοϊστοχημικός εντοπισμός των κυτοκερατινών στην επιδερμίδα υγιών αιγών.**

Αντίσωμα	Κλώνος	Επιδερμίδα			
		Βασική στιβάδα	Ακανθωτή στιβάδα	Κοκκώδης στιβάδα	Κεράτινη στιβάδα
Cytokeratin	AE1/AE3	+	+	+	+
Cytokeratin	MNF116	+	+	-	-
Cytokeratin High Molecular Weight	34Be12	+	+	+	+
Cytokeratin 5/6	D5/16 B4	+	-	-	-
Cytokeratin 7	OV-TL 12/30	-	-	-	-
Cytokeratin 14	LL002	+	-	-	-
Cytokeratin 19	b170	+	-	-	-

**Πίνακας 10: Ανοσοϊστοχημικός εντοπισμός των κυτοκερατινών στα εξαρτήματα του δέρματος υγιών αιγών.**

Αντίσωμα	Κλώνος	Εσωτερικό έλτρο τριχικού θυλάκου			Εξωτερικό έλτρο τριχικού θυλάκου			Ιδρωτοποιοί αδένες	Σμηγματογόνοι αδένες	Μητρικά κύτταρα βολβού
		Χοάνη	Ισθμός	Κατώτερο τμήμα	Χοάνη	Ισθμός	Κατώτερο τμήμα			
Cytokeratin	AE1/AE3	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Cytokeratin	MNF116	+	+	-	+	+	+	+	+	-
Cytokeratin High Molecular Weight	34Be12	+	+	-	+	+	+	+	+	-
Cytokeratin 5/6	D5/16 B4	+	+	-	+	+	+	+	+	-
Cytokeratin 7	OV-TL 12/30	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Cytokeratin 14	LL002	-	-	-	+	+	-	-	+	-
Cytokeratin 19	b170	+	+	-	+	+	+	-	+	-

\*μόνο τα μυοεπιθηλιακά κύτταρα των ιδρωτοποιών αδένων

Η ανοσοϊστοχημική διερεύνηση συγκεκριμένων κερατινών στο δέρμα αιγών με σαρκοπτική ψώρα έδειξε αξιοσημείωτες διαφορές για κάποιες από αυτές σε σχέση με την αντίστοιχη έκφραση τους στο υγιές δέρμα. Συγκεκριμένα, διαπιστώθηκε ότι σε σύγκριση με το υγιές δέρμα, καθώς αυξάνεται το πάχος της επιδερμίδικης υπερπλασίας στο δέρμα των ζώων με σαρκοπτική ψώρα, υπάρχει αυξημένη έκφραση των κερατινών CKMNF116, CK14, CK19 σε περισσότερες από μια σειρές κυττάρων της ακανθωτής στιβάδας. Όσον αφορά τις κερατίνες CKAE1/AE3, CK34BE12, CK7 δεν παρατηρήθηκαν διαφορές ως προς την έκφραση τους ανάμεσα στο υγιές δέρμα και στο δέρμα με σαρκοπτική ψώρα. Επιπρόσθετα, δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στην έκφραση όλων των εξεταζόμενων κερατινών στα εξαρτήματα του δέρματος με σαρκοπτική ψώρα (τριχικοί θύλακοι, σμηγματογόνοι αδένες, ιδρωτοποιοί αδένες) σε σχέση με το υγιές.

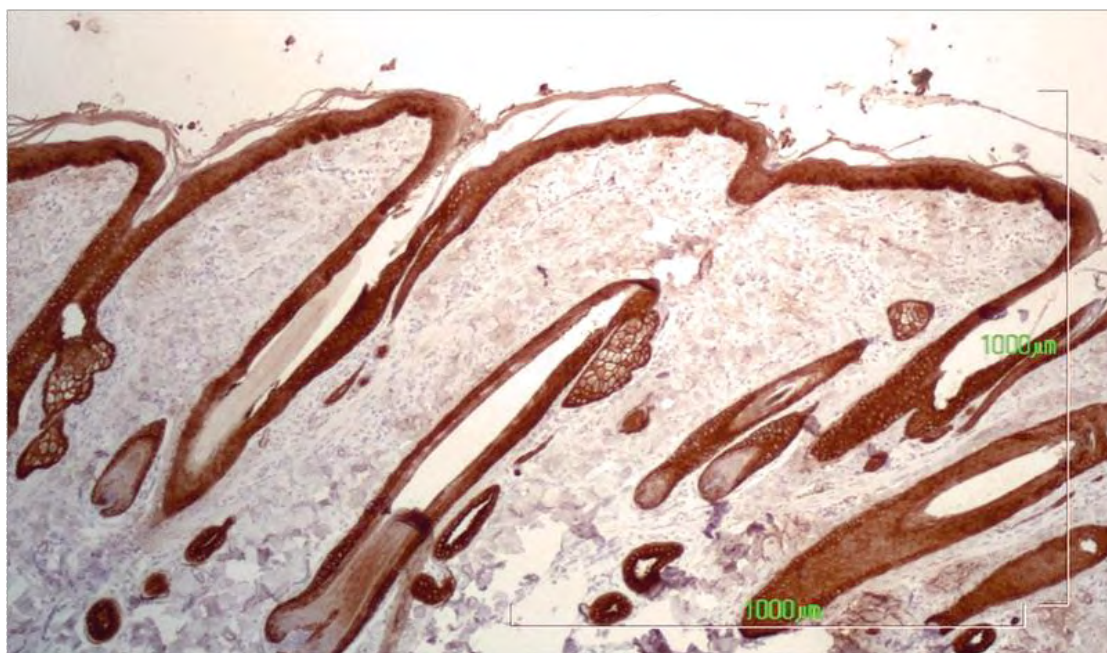
**Πίνακας 11: Ανοσοϊστοχημικός εντοπισμός των κυτοκερατινών στην επιδερμίδα αιγών με σαρκοπτική ψώρα.**

Αντίσωμα	Κλώνος	Επιδερμίδα			
		Βασική στιβάδα	Ακανθωτή στιβάδα	Κοκκώδης στιβάδα	Κεράτινη στιβάδα
Cytokeratin	AE1/AE3	+	+	+	+
Cytokeratin	MNF116	+	+	-	-
Cytokeratin High Molecular Weight	34Be12	+	+	+	+
Cytokeratin 5/6	D5/16 B4	+	+	-	-
Cytokeratin 7	OV-TL 12/30	-	-	-	-
Cytokeratin 14	LL002	+	+	-	-
Cytokeratin 19	b170	+	+	-	-

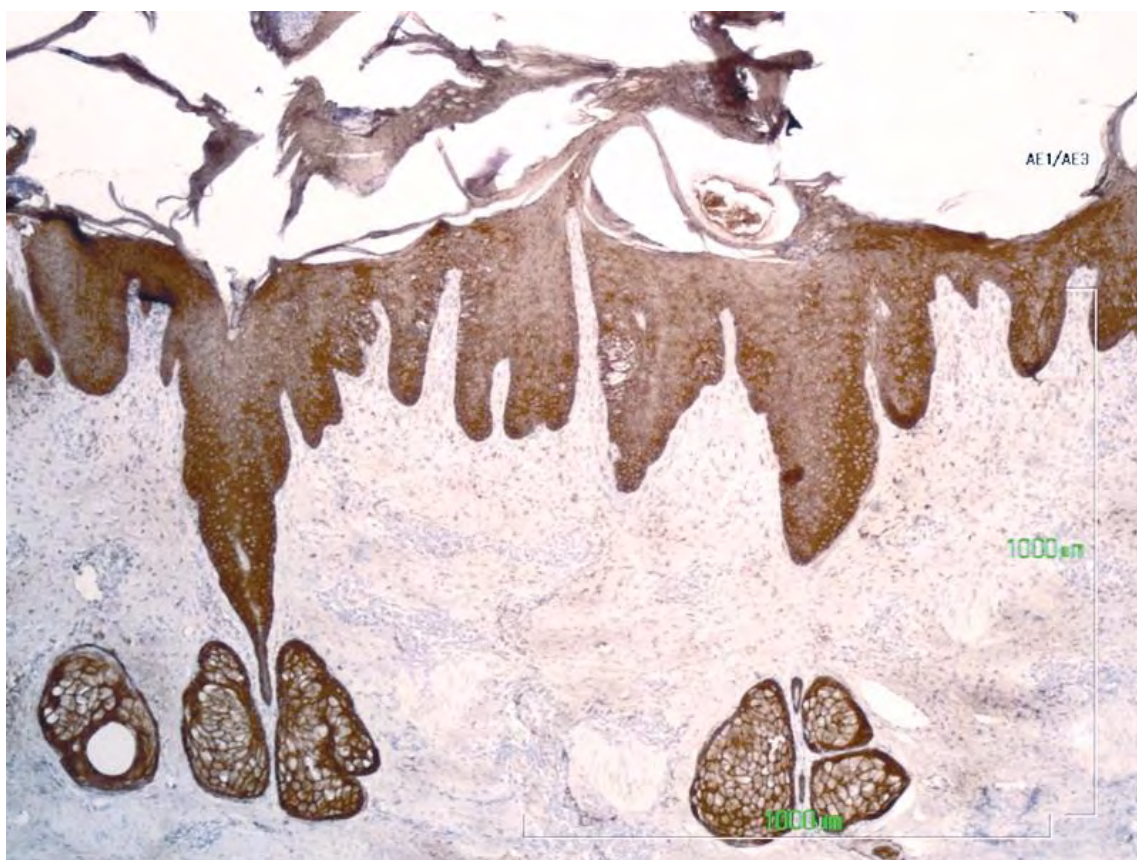
**Πίνακας 12: Ανοσοϊστοχημικός εντοπισμός των κυτοκερατινών στα εξαρτήματα του δέρματος αιγών με σαρκοπτική ψώρα.**

Αντίσωμα	Κλώνος	Μητρικά κύτταρα βολβού	Εσωτερικό έλυτρο τριχικού θυλάκου			Εξωτερικό έλυτρο τριχικού θυλάκου			Σμηγματογόνοι αδένες	Ιδρωτοποιοί αδένες
			Χοάνη	Ισθμός	Κατώτερο τμήμα	Χοάνη	Ισθμός	Κατώτερο τμήμα		
Cytokeratin	AE1/AE3	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Cytokeratin	MNF116	-	+	+	-	+	+	+	+	+
Cytokeratin High Molecular Weight	34Be12	-	+	+	-	+	+	+	+	+
Cytokeratin 5/6	D5/16 B4	-	+	+	-	+	+	+	+	+
Cytokeratin 7	OV-TL 12/30	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Cytokeratin 14	LL002	-	-	-	-	+	+	-	+	-
Cytokeratin 19	b170	-	+	+	-	+	+	+	+	-

\*μόνο τα μυοεπιθηλιακά κύτταρα των ιδρωτοποιών αδένων

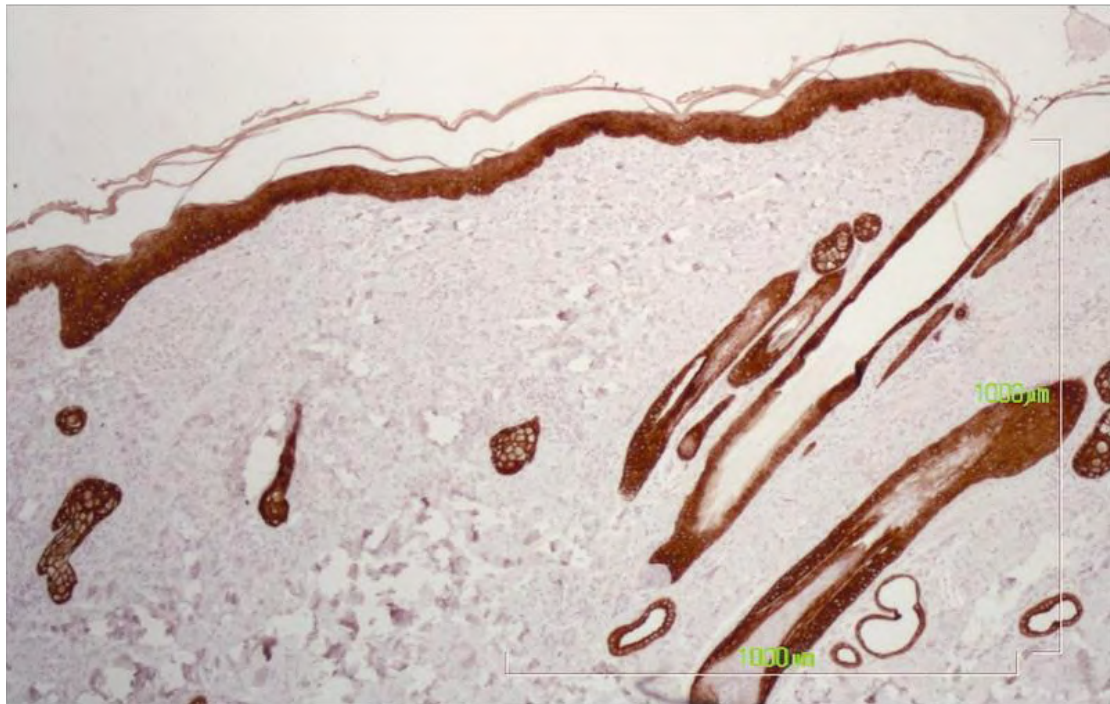


**Εικόνα 25:** Βιοψία υγιούς δέρματος αίγας. Ανοσοϊστοχημική χρώση κυτοκερατίνης ΑΕ1/ΑΕ3 σε τομή παραφίνης (x40).

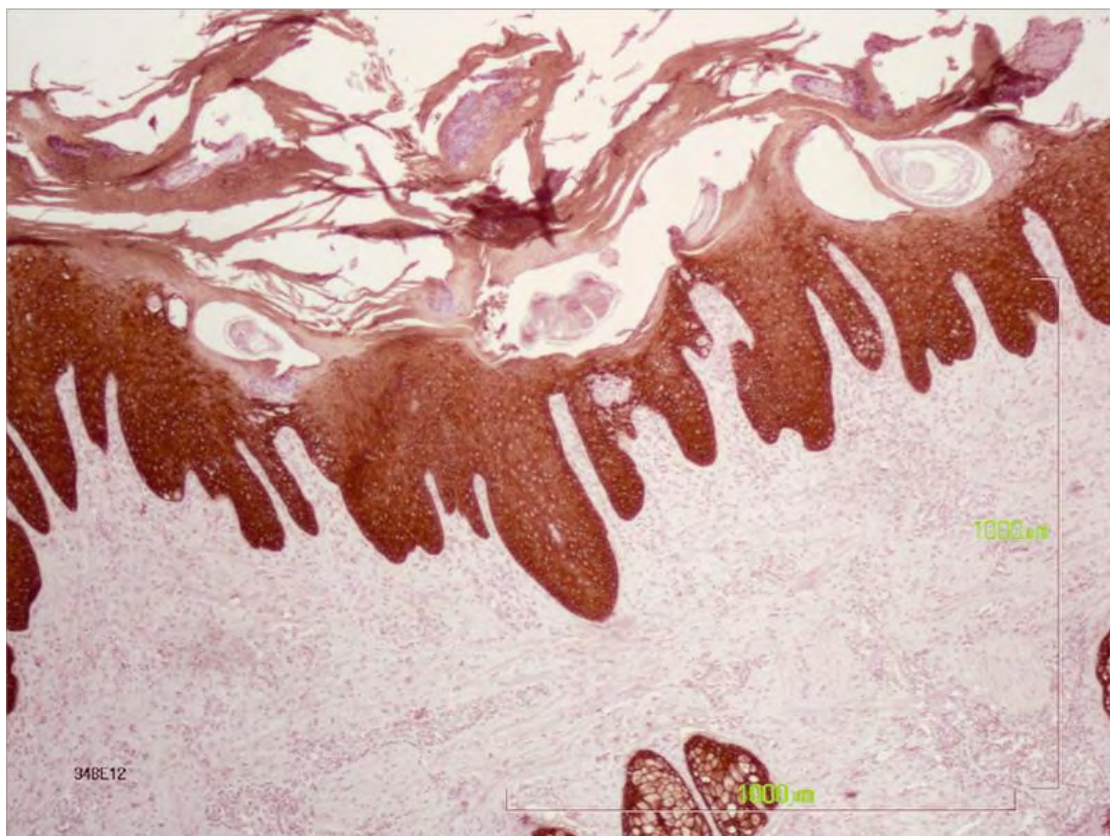


**Εικόνα 26:** Βιοψία δέρματος από την ραχιαία περιοχή αίγας (φυσικό περιστατικό σαρκοπτικής ψώρας). Ανοσοϊστοχημική χρώση κυτοκερατίνης ΑΕ1/ΑΕ3 σε τομή παραφίνης (x40).

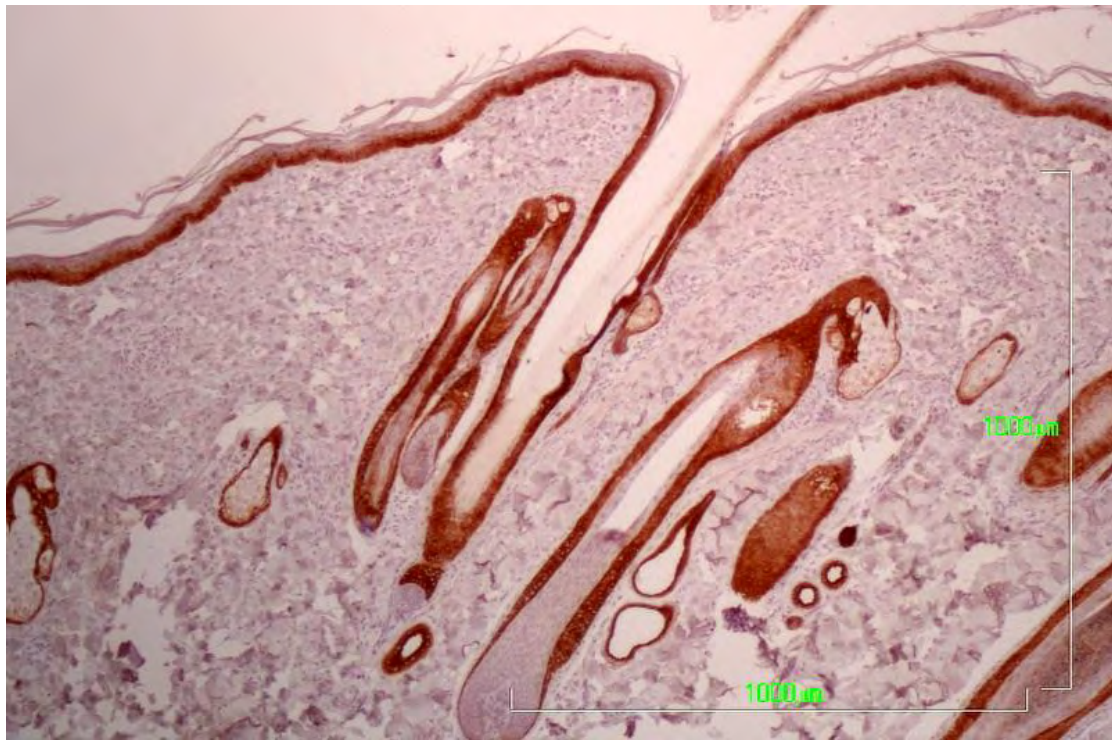




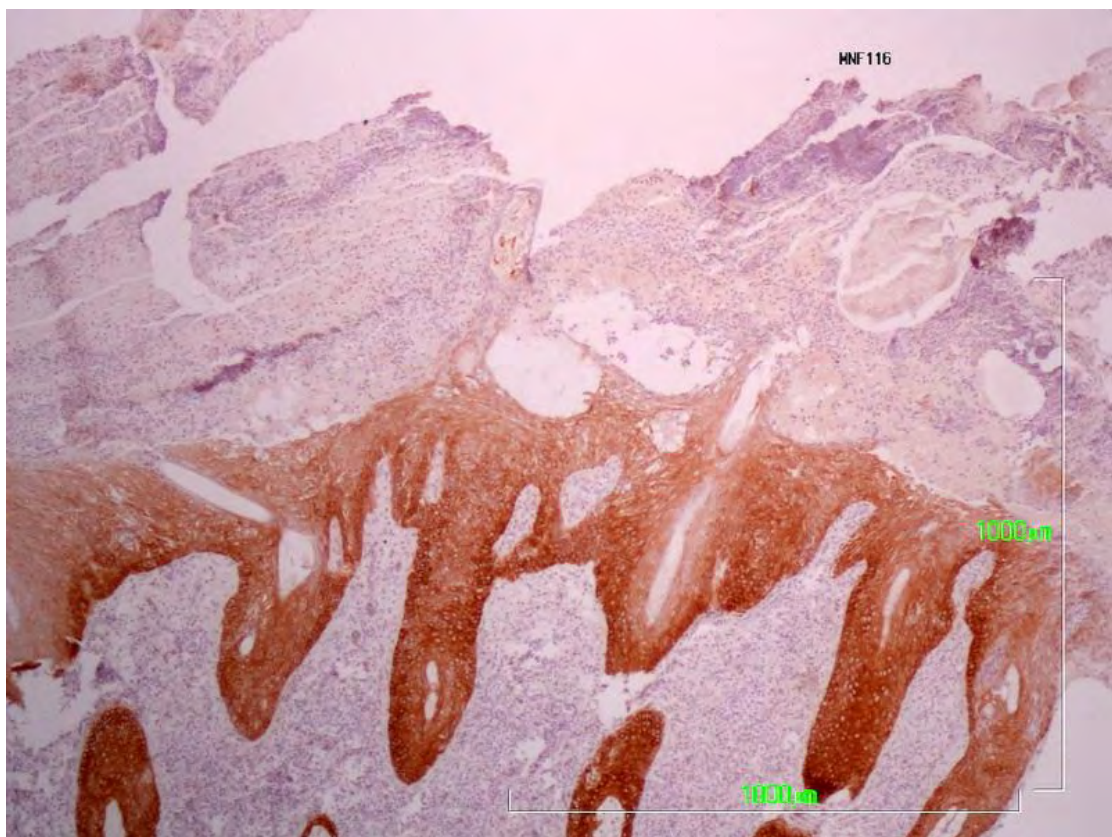
**Εικόνα 27:** Βιοψία υγιούς δέρματος εριφίου. Ανοσοϊστοχημική χρώση κυτοκερατίνης 34BE12 σε τομή παραφίνης (x40).



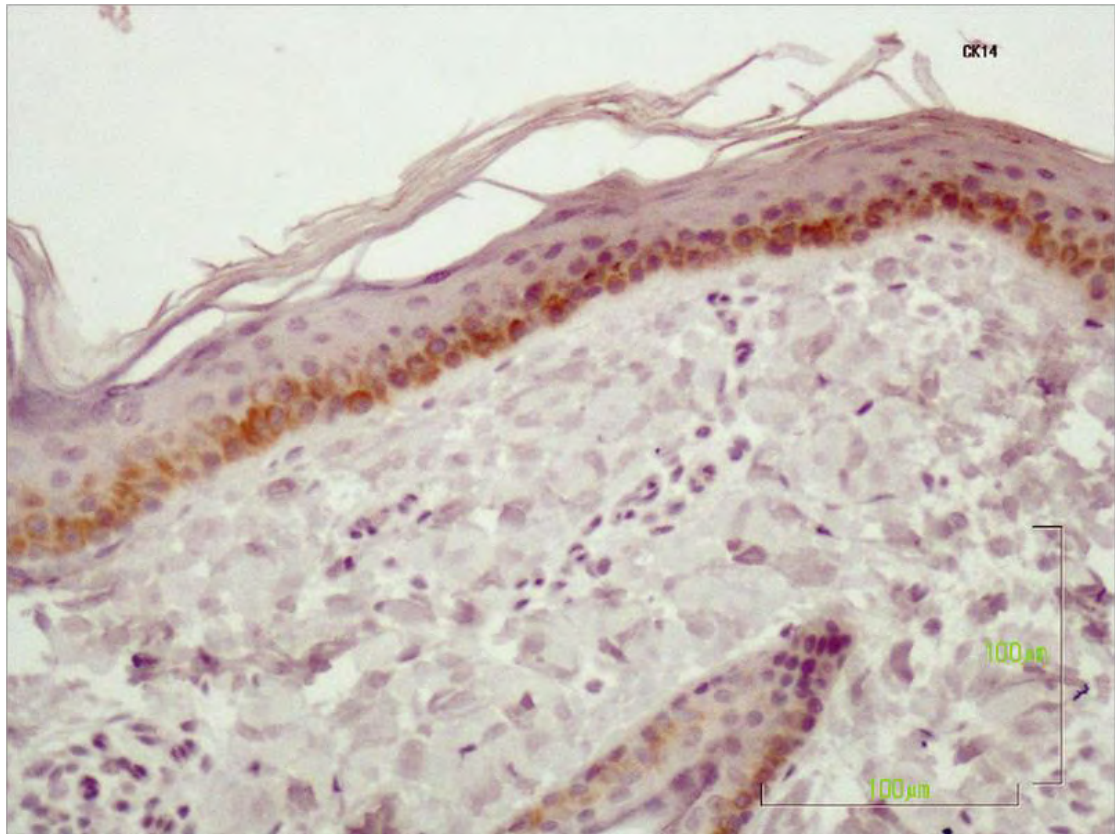
**Εικόνα 28:** Βιοψία δέρματος από την ραχιαία περιοχή εριφίου (φυσικό περιστατικό σαρκωτικής ψώρας). Ανοσοϊστοχημική χρώση κυτοκερατίνης 34BE12 σε τομή παραφίνης (x40).



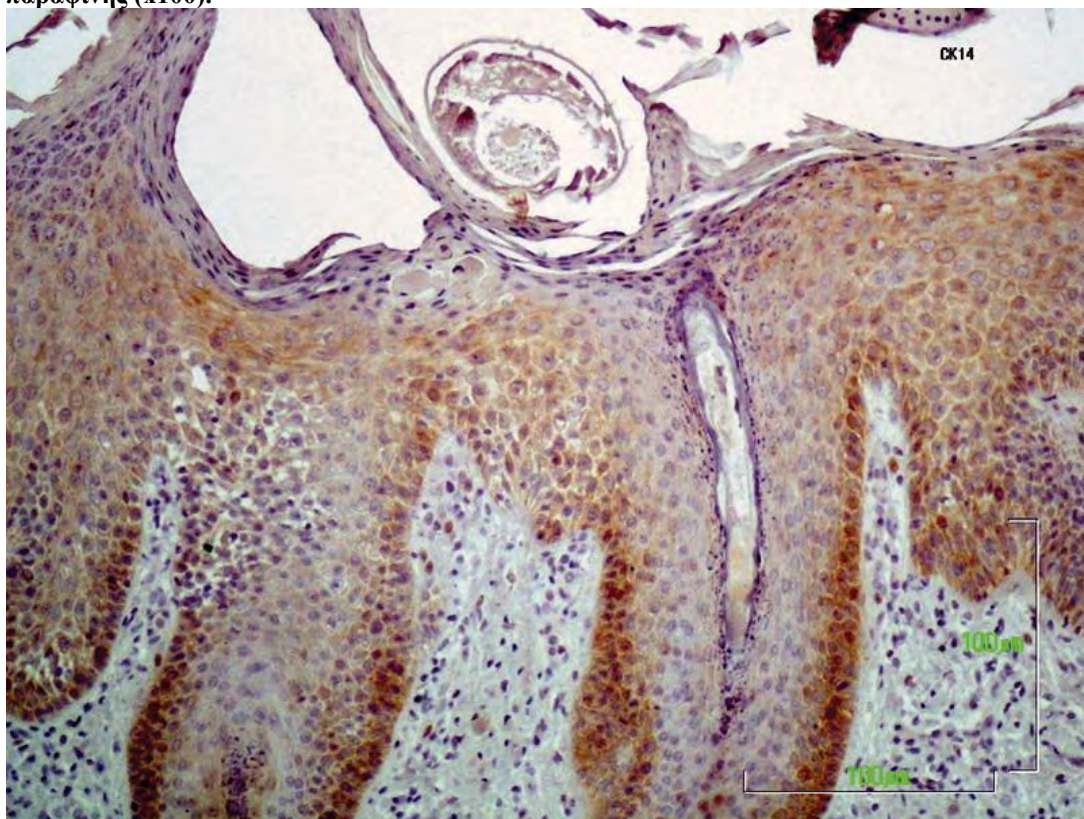
**Εικόνα 29:** Βιοψία υγιούς δέρματος αίγας. Ανοσοϊστοχημική χρώση κυτοκερατίνης MNF116 σε τομή παραφίνης (x40).



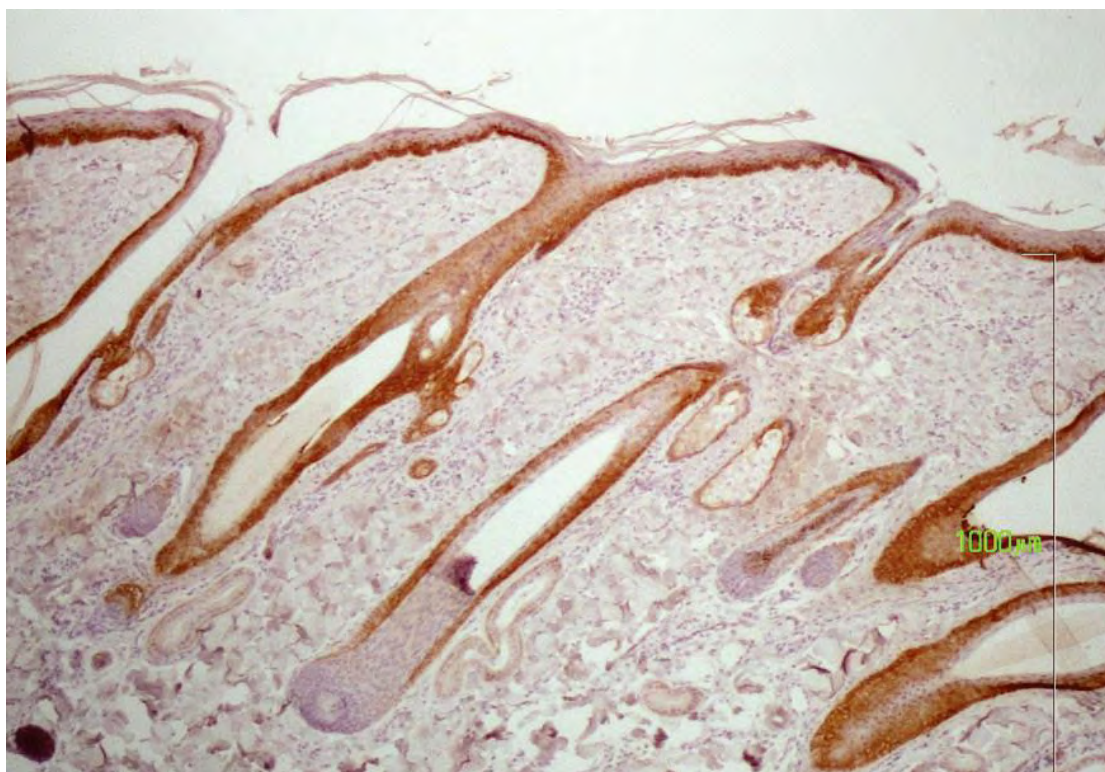
**Εικόνα 30:** Βιοψία δέρματος από την κοιλιακή περιοχή αίγας (φυσικό περιστατικό σαρκωτικής ψώρας). Ανοσοϊστοχημική χρώση κυτοκερατίνης MNF116 σε τομή παραφίνης (x40).



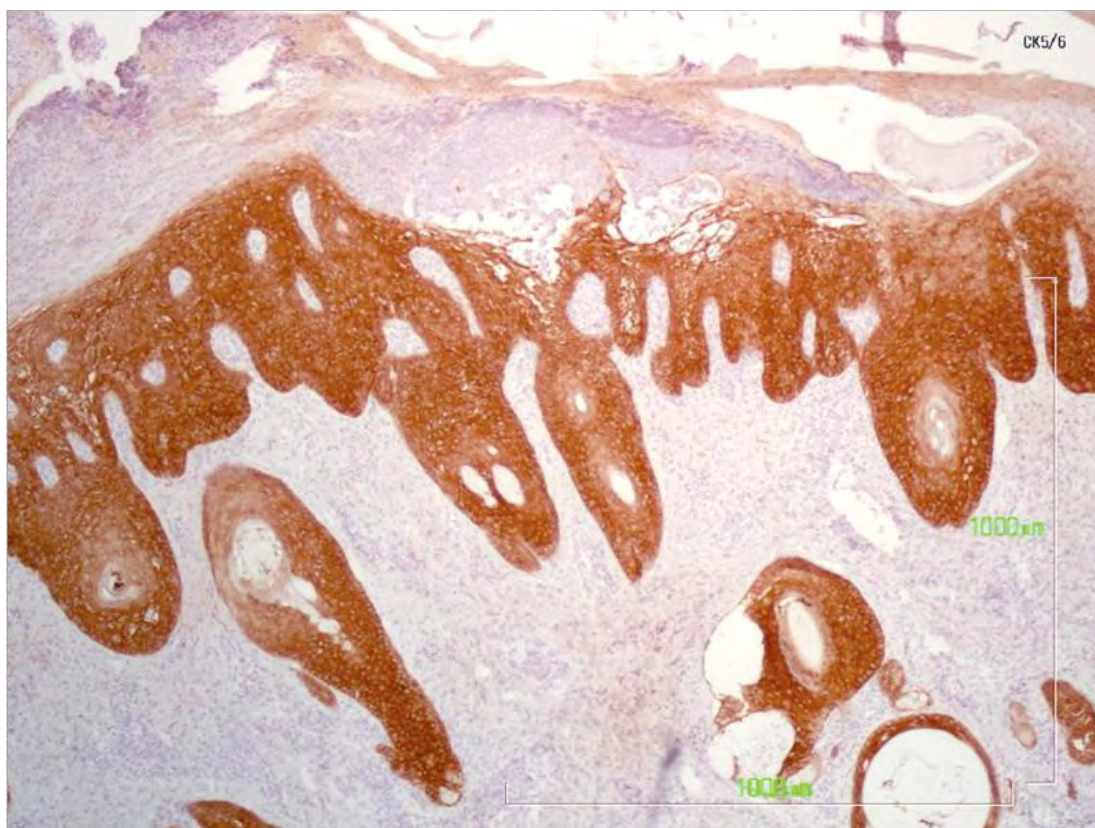
**Εικόνα 31:** Βιοψία υγιούς δέρματος αίγας. Ανοσοϊστοχημική χρώση κυτοκερατίνης 14 σε τομή παραφίνης (x100).



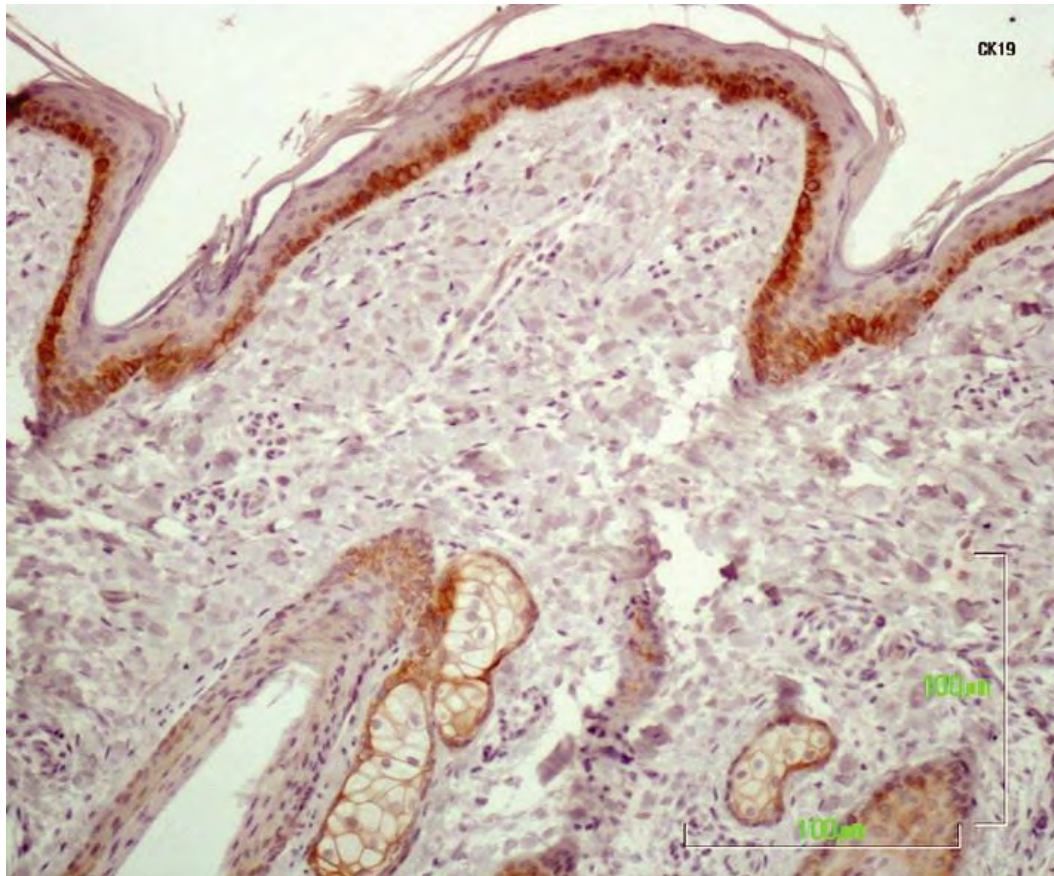
**Εικόνα 32:** Βιοψία δέρματος από την ραχιαία περιοχή εριφίου (φυσικό περιστατικό σαρκοπτικής ψώρας). Ανοσοϊστοχημική χρώση κυτοκερατίνης 14 σε τομή παραφίνης (x100).



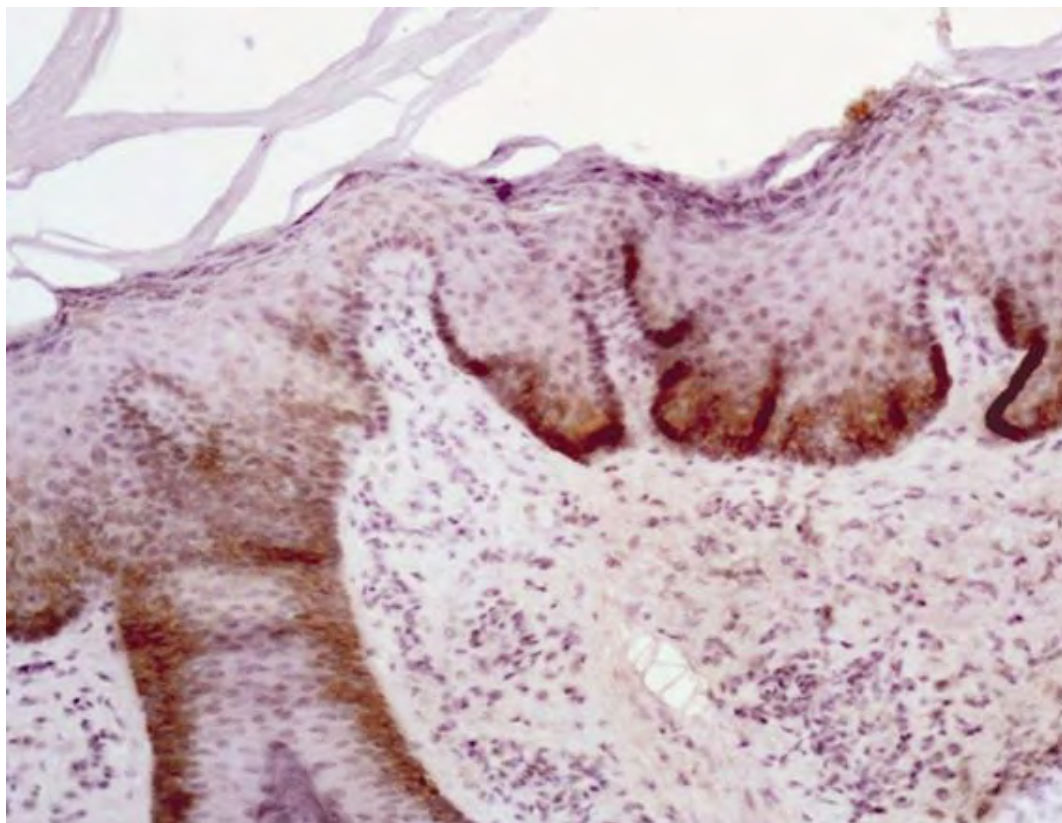
**Εικόνα 33:** Βιοψία υγιούς δέρματος αίγας. Ανοσοϊστοχημική χρώση κυτοκερατίνης 5/6 σε τομή παραφίνης (x40).



**Εικόνα 34:** Βιοψία δέρματος από την ραχιαία περιοχή αίγας (φυσικό περιστατικό σαρκοπτικής ψώρας). Ανοσοϊστοχημική χρώση κυτοκερατίνης 5/6 σε τομή παραφίνης (x40).



**Εικόνα 35:** Βιοψία υγιούς δέρματος αίγας. Ανοσοϊστοχημική χρώση κυτοκερατίνης 19 σε τομή παραφίνης (x100).



**Εικόνα 36:** Βιοψία δέρματος από την ραχιαία περιοχή αίγας (φυσικό περιστατικό σαρκοπτικής ψώρας). Ανοσοϊστοχημική χρώση κυτοκερατίνης 19 σε τομή παραφίνης (x100).

## 5.3 Αποτελέσματα της πειραματικής μελέτης

### 5.3.1 Παρασιτολογικός έλεγχος

Ο παρασιτολογικός έλεγχος απέδειξε ότι η εγκατάσταση *Sarcoptes scabiei var caprae* στα πειραματόζωα (παράλληλη μόλυνση στο δέρμα του επιρρίνιου και της ράχης), ήταν επιτυχής στην ομάδα Α που περιλαμβάνει τα ερίφια και στην ομάδα Β που περιλαμβάνει τις αίγες. Ακάρεια (σε διάφορα στάδια ανάπτυξης) παρατηρούνταν στα ξέσματα από όλα τα ζώα μετά την d25 και μέχρι το τέλος του πειράματος (d90) τόσο στην αρχική εστία όσο και σε περιοχές επέκτασης.

**Πίνακας 13:** Αποτελέσματα παρασιτολογικού ελέγχου σε διάφορες προκαθορισμένες ημερομηνίες στα ζώα του πειραματισμού σε ξέσμα δέρματος επιφάνειας από 1 cm<sup>2</sup> που λήφθηκε, από την περιοχή που εναποτέθηκε η μολύνουσα δόση (δέρμα επιρρίνιου και δέρμα ράχης).

Ομάδα και κωδικός ζώου	έλεγχος ξεσμάτων 25 dpi		έλεγχος ξεσμάτων 50 dpi		έλεγχος ξεσμάτων 90 dpi	
	επιρρίνιο	ράχη	επιρρίνιο	ράχη	επιρρίνιο	ράχη
A20	+ (2)	+ (4)	+ (10)	++ (12)	+ (8)	+ (10)
A21	+ (6)	+ (5)	++ (18)	++ (13)	++ (13)	++ (15)
A22	+ (5)	+ (6)	++ (16)	++ (12)	++ (16)	++ (14)
A23	+ (4)	+ (8)	++ (13)	++ (16)	+ (10)	++ (11)
A24	+ (8)	+ (6)	++ (20)	+++ (25)	++ (16)	+ (10)
A25	+ (1)	+ (8)	++ (14)	++ (15)	++ (12)	++ (12)
B27	+ (2)	+ (4)	++ (16)	++ (18)	++ (14)	++ (15)
B28	+ (6)	+ (7)	++ (10)	++ (16)	++ (18)	+ (9)
B29	+ (8)	+ (3)	+++ (27)	+++ (28)	++ (15)	++ (20)
B30	+ (1)	+ (4)	++ (10)	++ (13)	++ (12)	+ (7)
B41	+ (4)	+ (2)	++ (14)	++ (16)	++ (15)	+ (8)
B42	+ (8)	+ (6)	++ (12)	++ (13)	++ (14)	+ (5)

\*dpi = ημέρα μετά τη μόλυνση ( day post infection)

\*\*Αριθμός ακάρεων σε υλικό των ξεσμάτων δέρματος επιφάνειας 1 cm<sup>2</sup>: - = απουσία ακάρεων, + = 1- 10 ακάρεια, ++ = 11-20 ακάρεια, +++ = >20 ακάρεια

### 5.3.2 Μακροσκοπικές αλλοιώσεις του δέρματος στα ερίφια

Η παρουσία μακροσκοπικών αλλοιώσεων στα ερίφια δεν έγινε αντιληπτή τις πρώτες ημέρες μετά τη μόλυνση. Την 2η ημέρα σε ορισμένα ζώα παρατηρήθηκε ερύθημα στην περιοχή που εναποτέθηκε η μολύνουσα δόση (τόσο στο δέρμα του επιρρίνιου όσο και στο δέρμα της ράχης). Μέχρι την 12η ημέρα παρατηρήθηκε και αλωπεκία, χωρίς όμως να έχουν γίνει αντιληπτές μακροσκοπικά φυσαλίδες και

φλύκταινες. Προοδευτικά όλα τα ζώα εμφάνισαν τόσο στο επιρρίνιο όσο και στη ράχη εφελκίδες και υπερκεράτωση

Μετά την 40η ημέρα οι αλλοιώσεις στα ερίφια τόσο στην κεφαλή όσο και στη ράχη είχαν γίνει όμοιες με αυτές που παρατηρούνται σε χρόνια φυσικά περιστατικά. Οι αλλοιώσεις στις περιοχές που εναποτέθηκε η μολύνουσα δόση επεκτάθηκαν περιμετρικά από την αρχική εστία. Οι αλλοιώσεις στο κεφάλι την ημέρα 40 είχαν πλέον καταλάβει ολόκληρη τη χώρα του επιρρίνιου μέχρι και το δέρμα γύρω από τους μυκτήρες (την ημέρα 60 σε ορισμένα ερίφια η επέκταση αφορούσε και στο κάτω χείλος). Όσον αφορά τις αλλοιώσεις στην περιοχή της ράχης αυτές επεκτάθηκαν ομοίως περιμετρικά της αρχικής εστίας, καταλαμβάνοντας τελικά (ημέρα 60) αμφοτερόπλευρα το δέρμα της ωμοπλαττιαίας χώρας και τμήματος των πλάγιων θωρακικών τοιχωμάτων. Επιπλέον σε 4 ζώα είχε πραγματοποιηθεί επέκταση και στην οσφυϊκή χώρα.

Επιπρόσθετα, μετά την 40η ημέρα άρχισαν να εμφανίζονται εστίες με αλωπεκία, υπερκεράτωση και λειχηνοποίηση σε απομακρυσμένες περιοχές από αυτές στις οποίες εναποτέθηκε αρχικά η μολύνουσα δόση ( πτερύγιο αυτιών και ουρά)

Αξιοσημείωτο είναι ότι ακόμη και στο τέλος του πειράματος (ημέρα 90) δεν κατέστη δυνατή η συνένωση των δύο αρχικών εστιών (επιρρίνιο-ράχη) σε κανένα ερίφιο, παρόλο που στα περισσότερα από αυτά οι αλλοιώσεις είχαν επεκταθεί και στη τραχηλική χώρα. Η εκδήλωση κνησμού έγινε αντιληπτή μετά την 40η ημέρα εβδομάδα από την ημέρα της μόλυνσης με ήπια ένταση. Έτσι, μέχρι και το τέλος του πειράματος στα περισσότερα ερίφια δεν καταγράφηκαν αξιοσημείωτες αυτοτραυματικές αλλοιώσεις.

Με βάση τα πρότυπα μακροσκοπικής κατανομής που έχουν προταθεί σε προηγούμενη διατριβή (Δούκας, 2014), προκύπτει ότι στο τέλος του πειράματος (ημέρα 90) όλα τα ερίφια έφεραν αλλοιώσεις που αντιστοιχούν στο πρότυπο κατανομής 2.



**Εικόνα 37:** Ερίφιο (n21) με δερματικές αλλοιώσεις την ημέρα-2 του πειραματισμού. Παρατηρείται ερύθημα στην περιοχή που εναποτέθηκε η μολύνουσα δόση ακάρεων *Sarcoptes*.



**Εικόνα 38:** Ερίφιο (n21) με δερματικές αλλοιώσεις την ημέρα-33 του πειραματισμού. Παρατηρείται έντονη αλωπεκία και υπερκεράτωση.



**Εικόνα 39:** Ερίφιο (n21) κατά πρόσωπο με δερματικές αλλοιώσεις την ημέρα-90 του πειραματισμού. Παρατηρείται αλωπεκία, εφελκιδοποίηση, υπερκεράτωση και λειχηνοποίηση.



**Εικόνα 40:** Ερίφιο (n21) σε πλάγια θέση με δερματικές αλλοιώσεις την ημέρα-90 του πειραματισμού. Διακρίνεται η εντόνου βαθμού εξέλιξη των αλλοιώσεων κατά την διάρκεια της πειραματικής μόλυνσης.



### 5.3.3 Μακροσκοπικές αλλοιώσεις του δέρματος στις αίγες

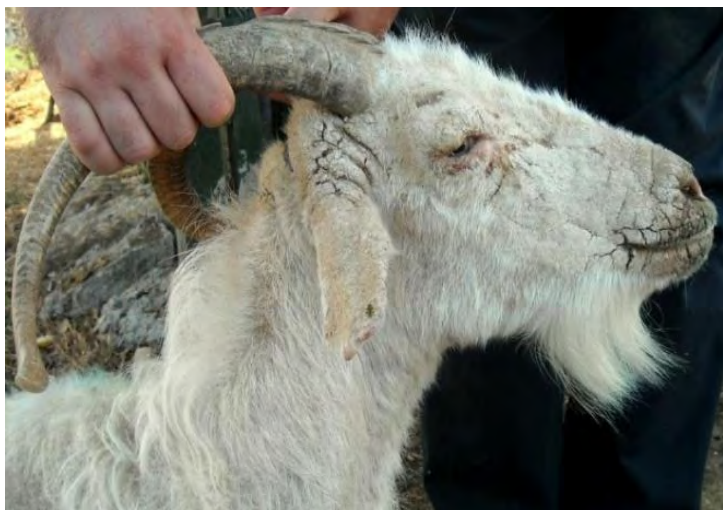
Οι μακροσκοπικές αλλοιώσεις στις αίγες κατά βάση είναι όμοιες με αυτές που παρατηρήθηκαν στα ερίφια και περιγράφονται στην προηγούμενη ενότητα.



**Εικόνα 41:** Αίγα (n29) με δερματικές αλλοιώσεις την ημέρα-2 του πειραματισμού. Παρατηρείται ερύθημα στην περιοχή που εναποτέθηκε η μολύνουσα δόση ακάρεων *Sarcoptes*.



**Εικόνα 42:** Αίγα (n29) με δερματικές αλλοιώσεις την ημέρα-33 του πειραματισμού. Παρατηρείται αλωπεκία, εφελκιδοποίηση και υπερκεράτωση.



**Εικόνα 43:** Αίγα (n29) σε πλάγια όψη με δερματικές αλλοιώσεις την ημέρα-90 του πειραματισμού. Παρατηρείται εφελκιδοποίηση, υπερκεράτωση και λειχηνοποίηση.



**Εικόνα 44:** Αίγα (n29) σε πλάγια θέση με δερματικές αλλοιώσεις την ημέρα-90 του πειραματισμού. Διακρίνεται η έντονη εξέλιξη των αλλοιώσεων κατά την διάρκεια της πειραματικής μόλυνσης.

### 5.3.4 Ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις του δέρματος στα ερίφια

Η εξέλιξη των ιστοπαθολογικών αλλοιώσεων στα ερίφια αφενός στην περιοχή του επιρρίνιου και αφετέρου στην περιοχή της ράχης παρουσιάζεται συγκεντρωτικά στους παρακάτω πίνακες 14 και 15.

Οι αλλοιώσεις στην επιδερμίδα αφορούσαν ορθοκερατωτική υπερκεράτωση σε όλα τα ζώα μετά την ημέρα 8, ενώ σε αρκετά ερίφια παρατηρήθηκαν και εστίες παρακεράτωσης. Η παρουσία οροκυτταρικών εφελκίδων αποτελούσε σταθερό ιστοπαθολογικό εύρημα στα ερίφια τόσο στο επιρρίνιο όσο και στη ράχη, στην πλειονηφία των χρονικών σημείων της δειγματοληψίας. Επιπρόσθετα, θα πρέπει να σημειωθεί ότι εντοπίστηκε μικρός αριθμός ακάρεων *Sarcoptes* στις ιστοπαθολογικές τομές σε κάποιες από τις ημέρες του πειραματισμού. Συχνά ιστοπαθολογικά ευρήματα στα περισσότερα ερίφια ήταν η σπογγίωση και η εξωκύτωση φλεγμονωδών κυττάρων. Τα κυριότερα φλεγμονώδη κύτταρα που εντοπίζονταν στην επιδερμίδα ήταν τα εωσινόφιλα και τα λεμφοκύτταρα. Καθώς η νόσος εξελίσσονταν, ο πληθυσμός τους αυξάνονταν κυρίως κοντά σε περιοχές που εμφανίζονταν ακάρεα. Επιπλέον σε κάποια ερίφια παρατηρήθηκαν ενδοεπιδερμικές φυσαλίδες, ενώ σε περισσότερα ζώα φλύκταινες. Η υπερπλασία της επιδερμίδας χαρακτηριζόταν από επιμήκυνση των επιδερμικών καταδύσεων, από ακάνθωση και υπερκόκκωση, ενώ εικόνα ψευδοεπιθηλιωματώδους υπερπλασίας ήταν εμφανής σε κάποια ερίφια.

Το πρότυπο φλεγμονώδους διήθησης στο χόριο ήταν κυρίως περιαγγειακή είτε βαθειά, σε αρκετά περιστατικά χοριοεπιδερμική, ενώ απουσίαζε η διάχυτη, η ταινιοειδής (band-like) ή οζώδης κατανομή. Τα κύτταρα στο φλεγμονώδες διήθημα ήταν στην πλειονότητά τους, εωσινόφιλα πολυμορφοπύρρηνα, με συμμετοχή ουδετερόφιλων πολυμορφοπύρρηνων, ενώ άφθονα ήταν τα λεμφοκύτταρα. Σπάνια εντοπίζονταν ιστιοκύτταρα και σε λίγες περιπτώσεις πλασμοκύτταρα. Τα εωσινόφιλα εντοπίζονταν σταθερά μετά την 4η ημέρα του πειραματισμού ενώ λεμφοκύτταρα και ουδετερόφιλα παρατηρούνταν από την 2η μέρα της δειγματοληψίας.

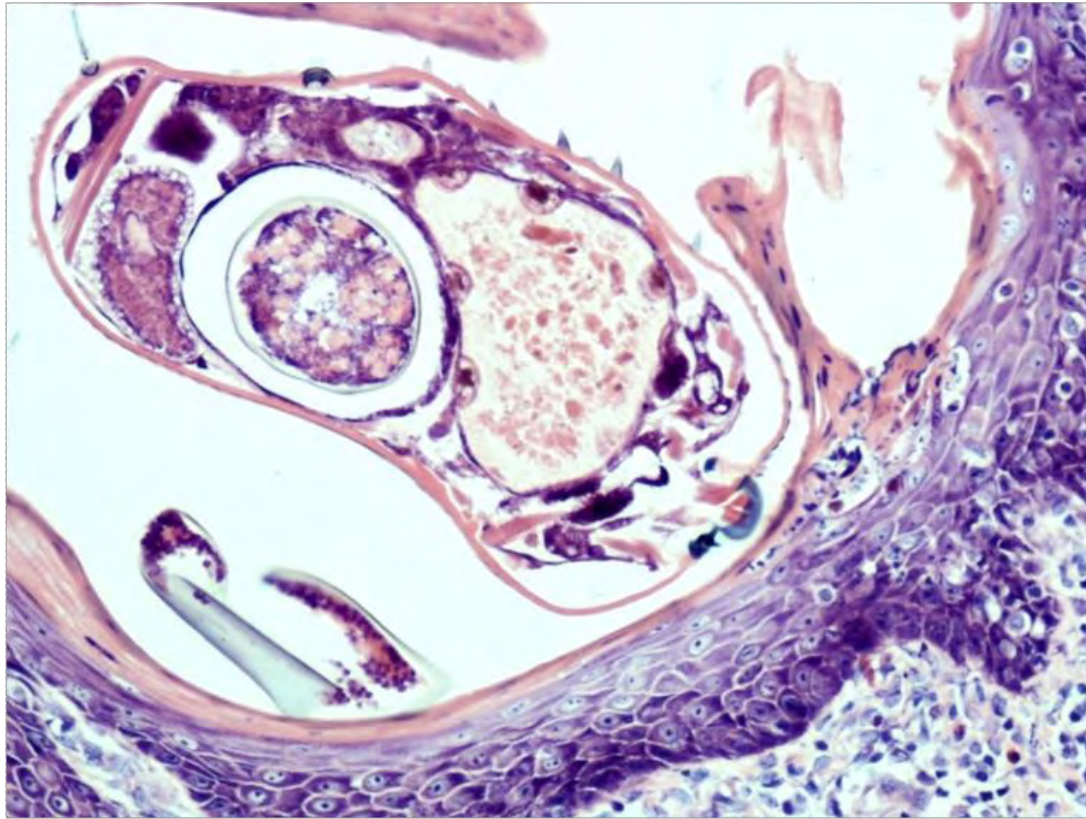
Πίνακας 14: Εξέλιξη των ιστοπαθολογικών αλλοιώσεων κατά τη διάρκεια της πειραματικής μόλυνσης στο επιρρίνιο των εριφίων.

ΕΡΙΦΙΑ (ΕΠΙΡΡΙΝΙΟ, n=6)	D2	D4	D8	D12	D18	D25	D33	D40	D50	D60	D75	D90
<b>Επιδερμίδα</b>												
ορθοκερατωτική υπερκεράτωση	4	5	6	5	6	5	6	6	6	6	6	6
παρακεράτωση			1	4		3	1	6	3	3	3	2
εφελκίδα (οροκυτταρική)	1	3	3	2		3	3	4	4	1	6	4
ακάρεα <i>Sarcoptes</i>	+1 (1)	+1 (2)	+1 (1)					+1 (1)	+1 (1)	+1 (1)		
υπερκόκκωση			1	3	2	3	3	4	1	2	4	4
οίδημα ενδοκυττάριο												
σπογγίωση	1	6	4	5		2	2	5		5	4	1
φυσαλίδες						1						
εξωκύτωση φλεγμ κυττάρων	1	5	6	6	6	4	4	6	5	5	6	6
φλύκταινα		3	3	5	2	1	2	1	3	1	1	
ακανθόλυση – ακανθολυτικά κύτταρα												
επιμήκυνση επιδερμικών καταδύσεων						1			1		1	
ακάνθωση						1		1			1	1
ψευδοεπιθηλιωματώδης υπερπλασία												
δυσκεράτωση ή απόπτωση												
διάφορα: επιδερμικές θηλοειδείς μικροακανθωματώδεις προσεκβολές επιδερμικά «μικροδήγματα»												
<b>Χόριο</b>												
φλεγμ περιαγγειακή επιπολής (+) ή/και βαθειά (B)	6+	6+	6+	6+	6+	4+/2B	4+/2B	4+/2B	3+/3B	3+/3B	4+/2B	2+/4B
φλεγμ χοριοεπιδερμική	1			2	3	1	1	4	3		1	
φλεγμ «ταινιοειδής» (band-like)									2			
φλεγ. διάχυτη (Δ) ή οζώδης (O)												
Εωσινόφιλα πολυμορφοπύρρηνα		3+	6+	5+ /1++	6+	5+ /1++	6+	5+ /1++	6+	3+ /3++	6+	4+ /2++
Ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα	6+	6+	6+	6+	6+	6+	6+	6+	3+/3+ +	6+	6+	6+
Λεμφοκύτταρα	6+	6+	6+	6+	6+	6+	6+	6+	6+	6+	6+	6+
άλλα κύτταρα: Ιστιοκύτταρα (I), Πλασμοκύτταρα (Π)						1Π		2Π/1I				
οίδημα												
ίνωση												
διάφορα : αγγειεκτασία (A), κολλαγονόλυση (K)												
<b>Εξαρτήματα Δέρματος</b>												
τριχοθυλακική κεράτωση												
τριχοθυλακίτιδα: τοιχωματική (T) ή ενδοαυλική (E) ή/και δοθιήνωση (ΔO)		1T							1T			
περιεξαρτηματική φλεγμονή	1	2		5	1	2	1	2	4	3	2	4
φλεγμ σμηγματογόνων αδένων												
φλεγμ αποκρινών ιδρωτοποιών αδένων												
επιθηλιακή υπερπλασία (Y) ή/ & κυστική διάταση (ΚΔ), ατροφία επιθηλίου (A) αποκρινών αδένων							Y	2Y	Y		Y	Y
ακράτεια μελανίνης τριχικών θυλάκων												
διάφορα:												

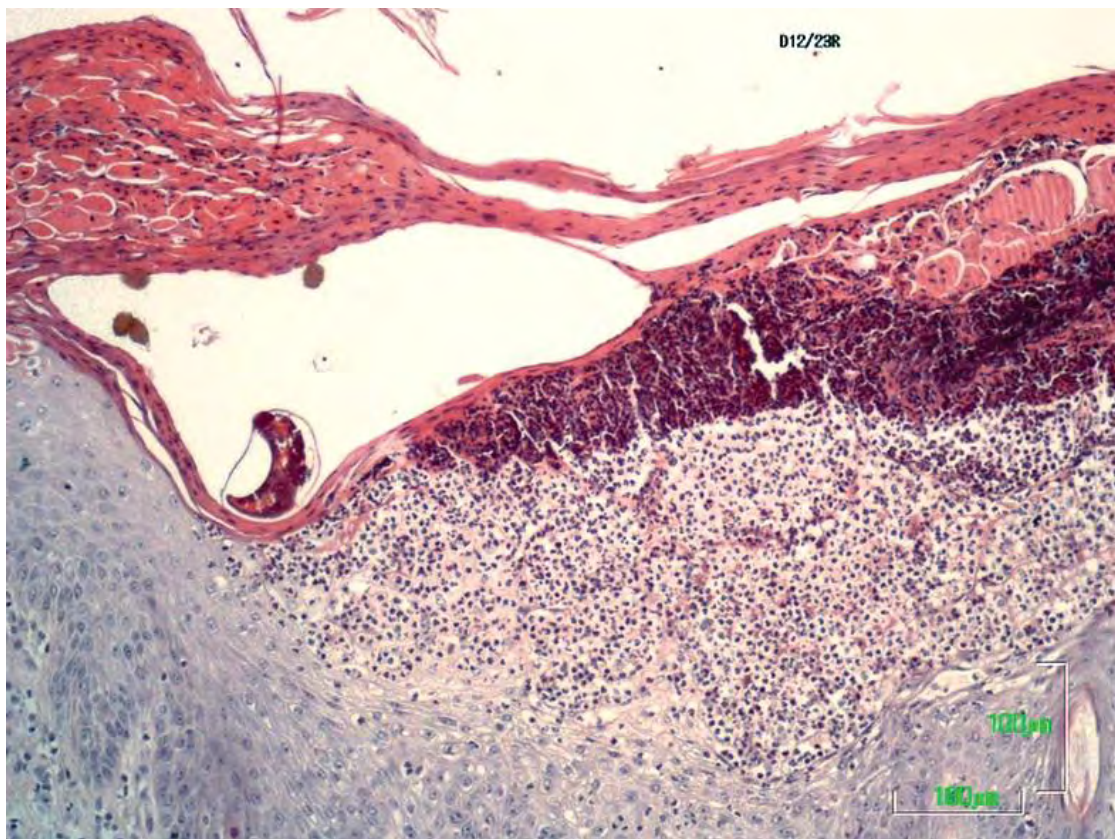
Πίνακας 15: Εξέλιξη των ιστοπαθολογικών αλλοιώσεων κατά τη διάρκεια της πειραματικής μόλυνσης στη ράχη των εριφίων.

ΕΡΙΦΙΑ (ΡΑΧΗ, n=6)	D2	D4	D8	D12	D18	D25	D33	D40	D50	D60	D75	D90
<b>Επιδερμίδα</b>												
ορθοκερατωτική υπερκεράτωση	1	3	6	5	5	4	6	6	5	6	6	6
παρακεράτωση					3	1	1	5	4	3	4	5
εφελκίδα (οροκυτταρική)	1		2	3	3	3	2	3	4	5	4	4
ακάρεα <i>Sarcoptes</i>				+2 (3)				+1 (1)	+1 (3)	+1 (3)		
υπερκόκκωση			1		1	3	4	4	4	3	4	4
οίδημα ενδοκυττάριο												
σπογγίωση	1		2	3	2	1		2	1	1	1	
φυσαλίδες												
εξωκύττωση φλγμ κυττάρων			4	3	5	6	4	5	5	4	4	4
φλύκταινα			3	3	2	3		3	2	1		3
ακανθόλυση – ακανθολυτικά κύτταρα												
επιμήκυνση επιδερμικών καταδόσεων								1		1	3	3
ακάνθωση								2	2	2	3	4
ψευδοεπιθηλιωματώδης υπερπλασία								1			2	1
δυσκεράτωση ή απόπτωση												
διάφορα: επιδερμικές θηλοειδείς μικροακανθωματώδεις προσεκβολές								1	3			
επιδερμικά «μικροδήγματα»												
<b>Χόριο</b>												
φλγμ περιαγγειακή επιπολής (+) ή/και βαθειά (B)	6+	6+	6+	6+	6+	6+	6+	5+ /1B	5+ /1B	3+ /3B	5+ /1B	3+ /3B
φλγμ χοριοεπιδερμική	1			3	2	3	2	3	2		1	1
φλγμ «ταινιοειδής» (band-like)												
φλγ. διάχυτη (Δ) ή οζώδης (Ο)												
Εωσινόφιλα πολυμορφοπύρρηνα		1+	6+	6+	6+	6+	6+	6+	6+	6+	6+	6+
Ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα	4+ /1+ +	6+	6+	6+	6+	6+	6+	6+	6+	6+	6+	6+
Λεμφοκύτταρα	6+	6+	6+	6+	6+	6+	6+	6+	6+	6+	6+	6+
άλλα κύτταρα: Ιστιοκύτταρα (I), Πλασμοκύτταρα (Π)								1Π/1 I				
οίδημα												
ίνωση												
διάφορα : αγγειεκτασία (A), κολλαγονόλυση (K)												
<b>Εξαρτήματα Δέρματος</b>												
τριχοθυλακική κεράτωση												
τριχοθυλακίτιδα: τοιχωματική (T) ή ενδοαυλική (E) ή/και δοθιήνωση (ΔΟ)							T		2E			
περιεξαρτηματική φλεγμονή	1						1		1	1	1	
φλγμ σμηγματογόνων αδένων												
φλγμ αποκρινών ιδρωτοποιών αδένων												
επιθηλιακή υπερπλασία (Y) ή/ & κυστική διάταση (ΚΔ), ατροφία επιθηλίου (Α) αποκρινών αδένων							Y	2Y/1 ΚΔ	2Y	3Y	2Y/ ΚΔ	3Y/2 ΚΔ
ακράτεια μελανίνης τριχικών θυλάκων												
διάφορα:												

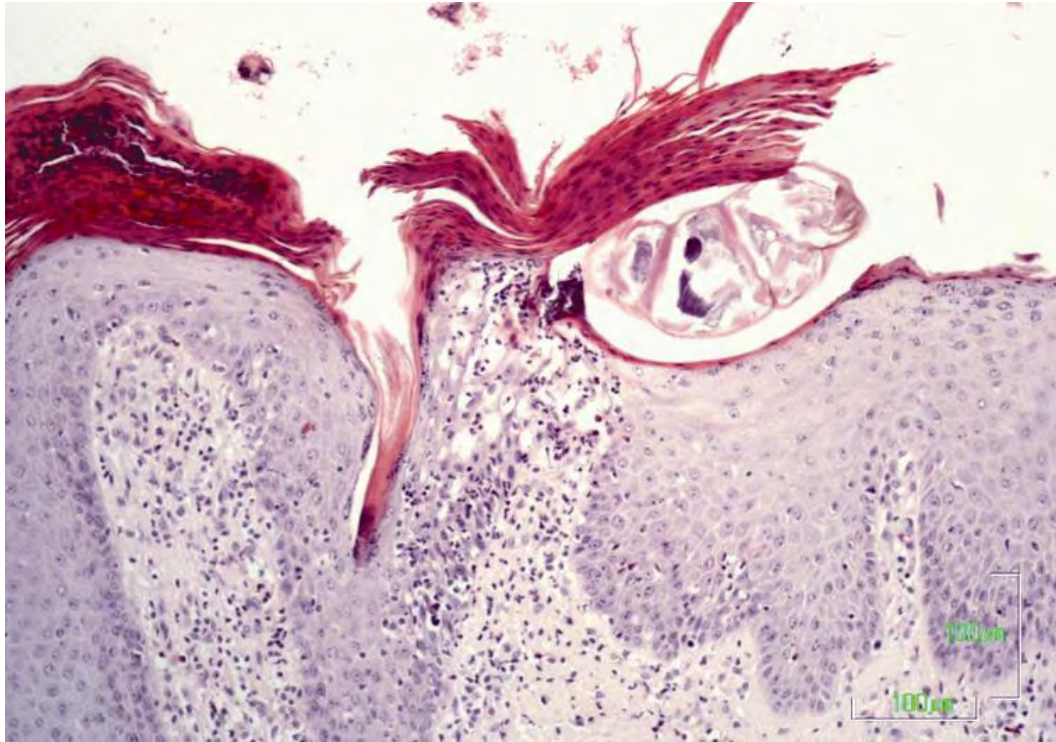
Η φλεγμονή των εξαρτημάτων του δέρματος στα περισσότερα ερίφια ήταν περιεξαρτηματική. Σε λίγα ζώα παρατηρήθηκε τριχοθυλακίτιδα, κυρίως τοιχωματική. Επιθηλιακή υπερπλασία ή/και κυστική διάταξη των αποκρινών ιδρωτοποιών αδένων παρατηρήθηκε σε διάφορες ημέρες του πειραματισμού σε αρκετά από τα πειραματόζωα.



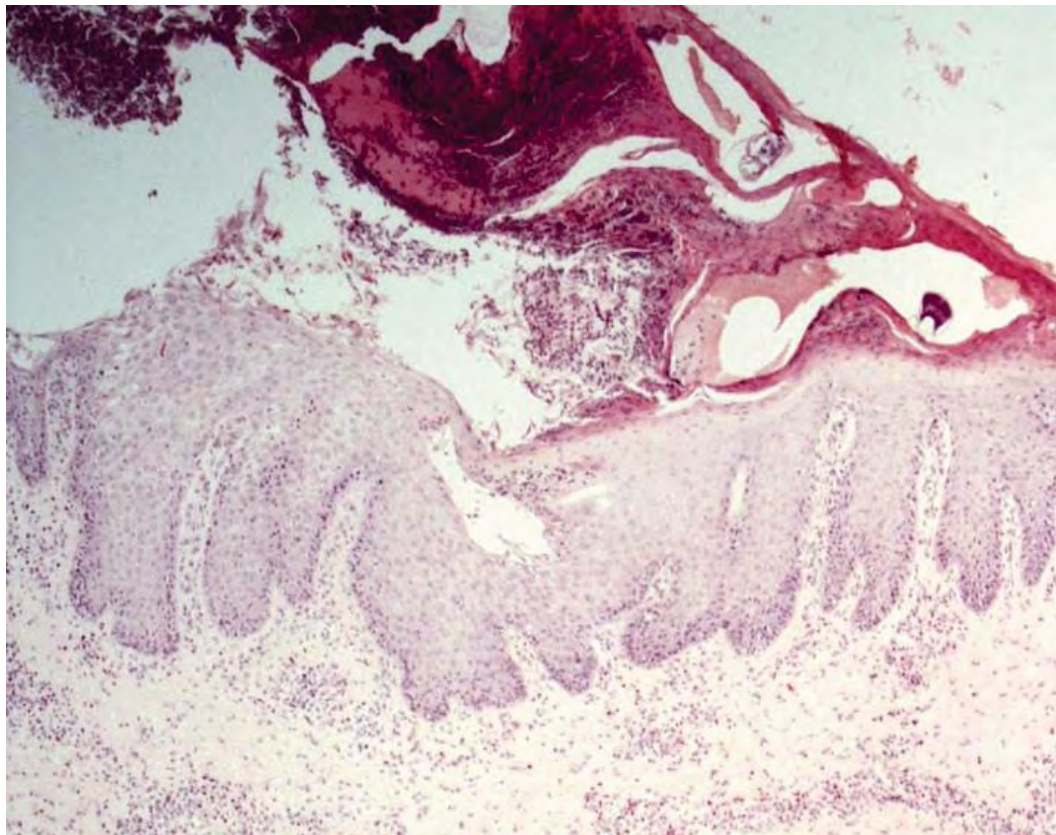
**Εικόνα 45:** Βιοψία δέρματος από την περιοχή του επιρρινίου εριφίου την 12η ημέρα της πειραματικής μόλυνσης. Διακρίνεται θηλυκό παράσιτο *S. scabiei* σε διατομή στην κεράτινη στιβάδα, το αυγό του, ο σχηματισμός μικροφλόκταινας μπροστά από την ψευδοκεφαλή του παρασίτου και η διήθηση της επιδερμίδας από μεμονωμένα εωσινόφιλα. Χρώση Giemsa, (x400).



**Εικόνα 46:** Βιοψία δέρματος από την περιοχή της ράχης εριφίου την 12η ημέρα της πειραματικής μόλυνσης. Διακρίνεται παράσιτο *S. scabiei* σε οροκυτταρική εφελκίδα. Χρώση αιματοξυλίνης-εωσινής (x100).



**Εικόνα 47:** Βιοψία δέρματος από την περιοχή της ράχης εριφίου την 33<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης. Διακρίνεται παράσιτο σε στοά, σπογγίωση και εωσινοφιλική διήθηση. Χρώση αιματοξυλίνης- εωσινής (x200).



**Εικόνα 48:** Βιοψία δέρματος προσώπου εριφίου την 40<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης. Διακρίνεται παράσιτο σε εφελκίδα και αρχόμενη ψευδοεπιθηλιωματώδης υπερπλασία. Χρώση αιματοξυλίνης- εωσινής (x40).

### 5.3.5 Ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις του δέρματος στις αίγες

Η εξέλιξη των ιστοπαθολογικών αλλοιώσεων στις αίγες αφενός στην περιοχή του επιρρίνιου και αφετέρου στην περιοχή της ράχης παρουσιάζεται συγκεντρωτικά στους παρακάτω πίνακες 16 και 17.

Οι αλλοιώσεις στην επιδερμίδα αφορούσαν ορθοκερατωτική υπερκεράτωση σε όλα τα ζώα από την αρχή της μόλυνσης, ενώ στην πλειοψηφία των αιγών παρατηρήθηκαν εστίες παρακεράτωσης. Η παρουσία οροκυτταρικών εφελκίδων αποτελούσε σταθερό ιστοπαθολογικό εύρημα τόσο στο επιρρίνιο όσο και στη ράχη, σε όλες τις ημέρες του πειραματισμού. Επιπρόσθετα, θα πρέπει να σημειωθεί ότι εντοπίστηκε μεγαλύτερος αριθμός ακάρεων *Sarcoptes* στις ιστοπαθολογικές τομές σε αρκετές ημέρες του πειραματισμού, σε σύγκριση με τα ερίφια.

Συχνά ιστοπαθολογικά ευρήματα στις αίγες ήταν η σπογγίωση και η εξωκύττωση φλεγμονωδών κυττάρων. Τα κυριότερα φλεγμονώδη κύτταρα που εντοπίζονταν στην επιδερμίδα ήταν τα εωσινόφιλα και τα λεμφοκύτταρα. Καθώς η νόσος εξελίσσονταν, ο πληθυσμός τους αυξάνονταν κυρίως κοντά σε περιοχές που εμφανίζονταν ακάρεα. Επιπλέον σε κάποιες αίγες παρατηρήθηκαν ενδοεπιδερμικές φυσαλίδες, ενώ σε περισσότερα ζώα φλύκταινες.

Η υπερπλασία της επιδερμίδας χαρακτηρίζονταν από επιμήκυνση των επιδερμικών καταδύσεων, από ακάνθωση και υπερκόκκωση ενώ και η εικόνα της ψευδοεπιθηλιωμάτωσης υπερπλασίας ήταν εμφανής.

Το πρότυπο φλεγμονώδους διήθησης στο χόριο ήταν κυρίως περιαγγειακή είτε βαθειά, σε αρκετά περιστατικά χοριοεπιδερμική, ενώ σε λιγότερα πειραματόζωα εντοπίστηκε η διάχυτη, η ταινιοειδής (band-like), και η οζώδης κατανομή. Τα κύτταρα στο φλεγμονώδες διήθημα ήταν στην πλειονότητά τους, εωσινόφιλα πολυμορφοπύρρηνα, με συμμετοχή ουδετερόφιλων πολυμορφοπύρρηνων, ενώ άφθονα ήταν τα λεμφοκύτταρα. Σπάνια εντοπίζονταν ιστοκύτταρα και πλασμοκύτταρα. Τα εωσινόφιλα εντοπίζονταν σταθερά μετά την 4η ημέρα του πειραματισμού, ενώ λεμφοκύτταρα και ουδετερόφιλα παρατηρούνταν από την 2η μέρα της δειγματοληψίας.

Η φλεγμονή των εξαρτημάτων του δέρματος στα περισσότερα ερίφια ήταν περιεξαρτηματική. Σε λίγα ζώα παρατηρήθηκε τριχοθυλακίτιδα, κυρίως τοιχωματική. Επιθηλιακή υπερπλασία ή/και κυστική διάταξη των αποκρινών ιδρωτοποιών αδένων



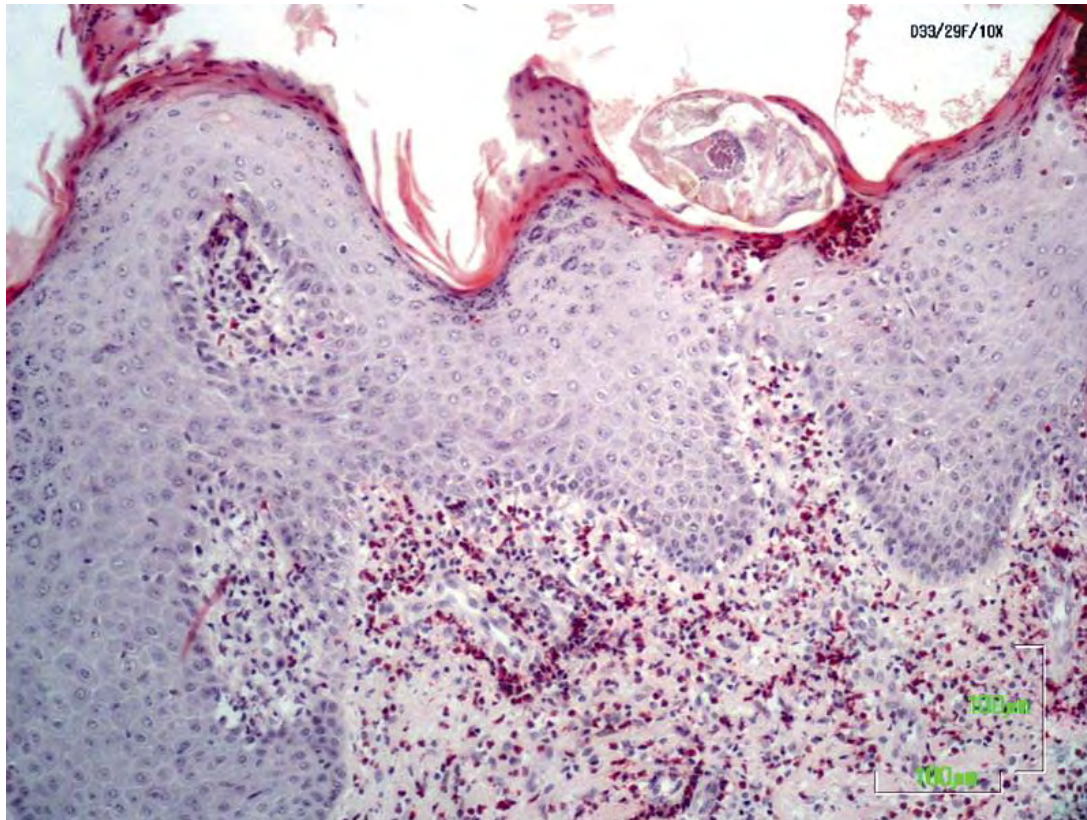
παρατηρήθηκε σε διάφορες ημέρες του πειραματισμού σε αρκετά από τα πειραματόζωα. Τέλος, σε αρκετές από τις αίγες εντοπίστηκε φλεγμονή του ανεκλήρους μυός των τριχών, εύρημα που δεν αναφέρεται συχνά.

Πίνακας 16: Εξέλιξη των ιστοπαθολογικών αλλοιώσεων κατά τη διάρκεια της πειραματικής μόλυνσης στο επιρρίνιο των αιγών.

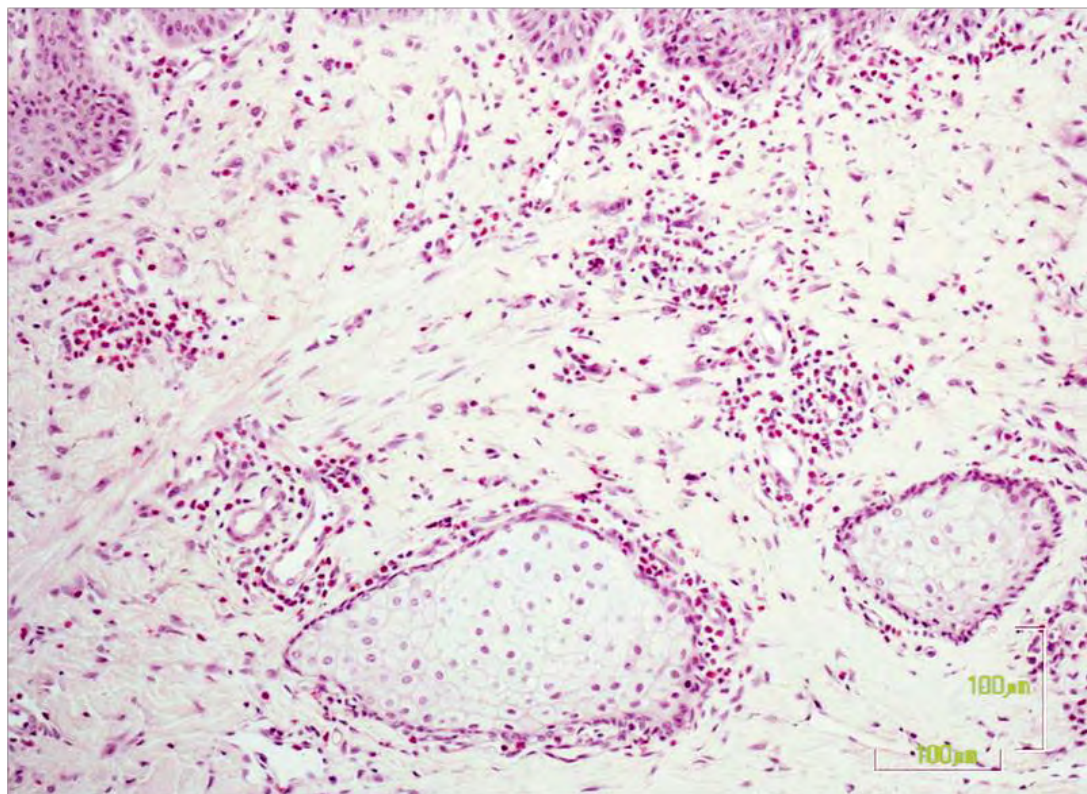
ΑΙΓΕΣ (ΕΠΙΡΡΙΝΙΟ, n=6)	D2	D4	D8	D12	D18	D25	D33	D40	D50	D60	D75	D90
<b>Επιδερμίδα</b>												
ορθοκερατωτική υπερκεράτωση	4	5	6	3	5	5	5	6	6	6	6	6
παρακεράτωση	1	1	2	2	2	2	1	2	4	2	5	3
εφελκίδα (οροκυτταρική)	2	1	1	2	1	3	2	2	3	4	4	4
ακάρεα <i>Sarcoptes</i>		+1 (1)		+2 (5)	+2 (4)	+1 (2)	+1 (3)	+1 (2)	+2 (4)	+1 (1)	+1 (4)	+1 (1)
υπερκόκκωση	0	0	1	4	4	5	3	3	4	5	4	6
οίδημα ενδοκυττάριο												
σπογγίωση	3	1	0	3	2	3	2	2	4	2	3	2
φυσαλίδες						1	1		1		1	
εξωκύτωση φλεγμ κυττάρων	3	3	2	5	5	5	4	6	5	5	5	6
φλύκταινα	1			1	4				2	1		2
ακανθόλυση – ακανθολυτικά κύτταρα												
επιμήκυνση επιδερμικών καταδύσεων				2	4	5	3		3	1	2	1
ακάνθωση			1	4	4	5	4	3	6	4	6	2
ψευδοεπιθηλιωματώδης υπερπλασία												
δυσκεράτωση ή απόπτωση												
διάφορα: επιδερμικές θηλοειδείς μικροακανθωματώδεις προσεκβολές												
επιδερμικά «μικροδήγματα»												
<b>Χόριο</b>												
φλεγμ περιαγγειακή επιπολής (+) ή/και βαθειά (B)	+6	+6	+6	+6	+5/1B	+2/4B	+5/1B	+6	+3/3B	+5/1B	+4/2B	+4/2B
φλεγμ χοριοεπιδερμική	1	1		1	1	2	1	1	3	1	2	2
φλεγμ «ταινιοειδής» (band-like)				1			1	1	3			1
φλεγ. διάχυτη (Δ) ή οζώδης (Ο)									2Δ		1Δ	
Εωσινόφιλα πολυμορφοπύρρηνα		4+	6+	4+ /2++	4+ /2++	4+ /2++	5+ /1++ +	4+ /2++	3+ /3 ++	5+ /1++	4+ /2++	4+ /2++
Ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6
Λεμφοκύτταρα	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6	+6
άλλα κύτταρα: Ιστιοκύτταρα (I), Πλασμοκύτταρα (Π)								1Π/1				1Π
οίδημα												
ίνωση												
διάφορα : αγγειεκτασία (A), κολλαγονόλυση (K)												
<b>Εξαρτήματα Δέρματος</b>												
τριχοθυλακική κεράτωση												
τριχοθυλακίτιδα: τοιχωματική (T) ή ενδοαυλική (E) ή/και δοθιήνωση (ΔΟ)		1T		1T	2T						1T	
περιεξαρτηματική φλεγμονή	2			3	3	3	2	1	4	3	4	1
φλεγμ σμηγματογόνων αδένων												
φλεγμ αποκρινών ιδρωτοποιών αδένων												
επιθηλιακή υπερπλασία (Y) ή/& κυστική διάταση (ΚΔ), ατροφία επιθηλίου (Α) αποκρινών αδένων						3Y	3Y	1Y/ 1ΚΔ	4Y	2Y	2Y/1 ΚΔ	2Y/1 ΚΔ
ακράτεια μελανίνης τριχικών θυλάκων												
διάφορα: φλεγμονή ανελκτήρος μύδς						1						

Πίνακας 17: Εξέλιξη των ιστοπαθολογικών αλλοιώσεων κατά τη διάρκεια της πειραματικής μόλυνσης στη ράχη των αιγών.

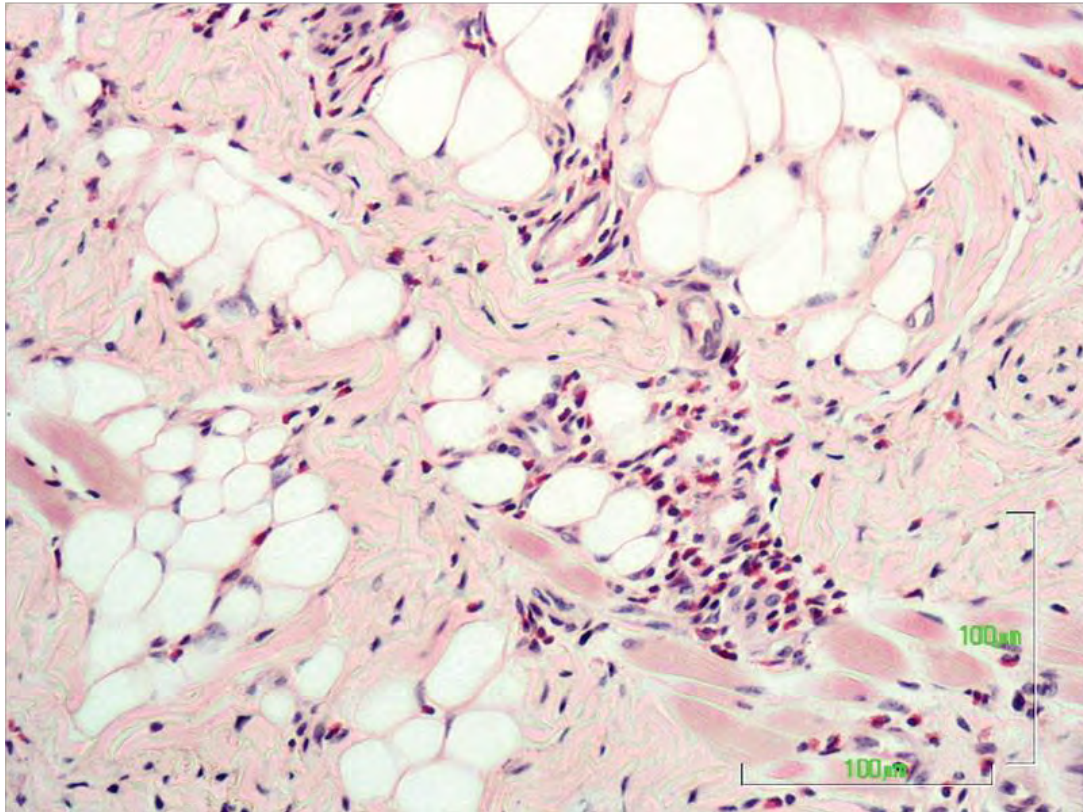
ΑΙΓΕΣ (ΡΑΧΗ, n=6)	D2	D4	D8	D12	D18	D25	D33	D40	D50	D60	D75	D90
<b>Επιδερμίδα</b>												
ορθοκερατωτική υπερκεράτωση	4	4	5	6	4	5	6	6	5	6	6	6
παρακεράτωση			3	3	2	2	3	3	4	5	4	3
εφελκίδα (οροκυτταρική)	1	1	2	4	5	4	1	4	5	3	2	2
ακάρεα <i>Sarcoptes</i>				+2 (4)	+1 (2)		+1 (1)	+1 (2)	+2 (3)	+1 (1)	+1 (2)	+1 (1)
υπερκόκκωση				3	3	4	5	4	4	4	6	5
οίδημα ενδοκυττάριο												
σπογγίωση		1	1		3	3	1	4	3	3	1	3
φυσαλίδες						1			1			1
εξοκύττωση φλεγμ κυττάρων	3	1	5	4	5	4	3	4	6	5	3	5
φλύκταινα				1	1	2		2	4	4	3	3
ακανθόλυση – ακανθολυτικά κύτταρα												
επιμήκυνση επιδερμικών καταδύσεων			1	2	2	3	5	5	5	5	3	5
ακάνθωση			1	2	2	2	4	4	4	3	4	4
ψευδοεπιθηλιωματώδης υπερπλασία					1			2	1		3	2
δυσκεράτωση ή απόπτωση												
διάφορα: επιδερμικές θηλοειδείς μικροακανθωματώδεις προσεκβολές επιδερμικά «μικροδήγματα»								1	1			
<b>Χόριο</b>												
φλεγμ περιαγγειακή επιπολής (+) ή/και βαθεία (B)	5+	6+	6+	6+	6+	4+/2 B	6+	3+/3 B	4+/2 B	6+	4+/ 2B	2+/ 4B
φλεγμ χοριοεπιδερμική	1			1		2	3	3	2	1		
φλεγμ «ταινιοειδής» (band-like)				1					1			
φλεγμ. διάχυτη (Δ) ή οζώδης (Ο)												
Εωσινόφιλα πολυμορφοπύρρηνα		3+	4+	6+	4+ /2++	5+ /1++	5+ /1+ +	4+ /2++	5+ /1++	5+ /1++	6+	6+
Ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα	6+	6+	6+	6+	5+ /1++	5+ /1++	4+ /2+ +	6+	5+ /1++	5+ /1++	6+	6+
Λεμφοκύτταρα	6+	6+	6+	6+	6+	6+	6+	6+	6+	6+	6+	6+
άλλα κύτταρα: Ιστιοκύτταρα (I), Πλασμοκύτταρα (Π)												
οίδημα												
ίνωση												
διάφορα : αγγειεκτασία (A), κολλαγονόλυση (K)												
<b>Εξαρτήματα Δέρματος</b>												
τριχοθυλακική κεράτωση												
τριχοθυλακίτιδα: τοιχωματική (T) ή ενδοαυλική (E) ή/και δοθιήνωση (ΔΟ)		1E		T	2T			T				
περιεξαρτηματική φλεγμονή				1	1	1	2	2	1	2		2
φλεγμ σμηγματογόνων αδένων												
φλεγμ αποκρινών ιδρωτοποιών αδένων												
επιθηλιακή υπερπλασία (Y) ή/ & κυστική διάταση (ΚΔ), ατροφία επιθηλίου (Α) αποκρινών αδένων							2Y	3Y	5Y	3Y	3Y/ 3K Δ	1Y/2K Δ
ακράτεια μελανίνης τριχικών θυλάκων												
διάφορα: φλεγμονή ανελκτήρος μυός								3	2	2	3	



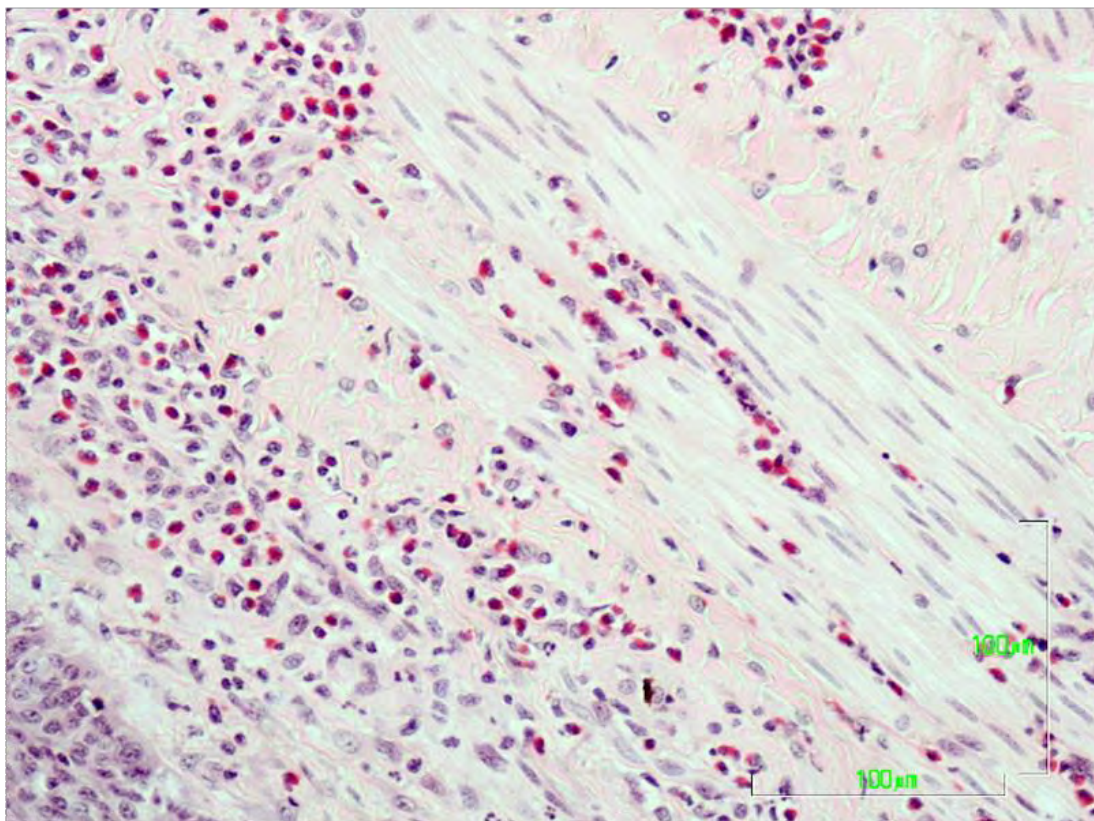
**Εικόνα 49:** Βιοψία δέρματος προσώπου αίγας την 33η ημέρα της πειραματικής μόλυνσης. Διακρίνεται έντονη εωσινοφιλική συσώρευση πολυμορφοπύρηνων στο επιπολής χόριο και σχηματισμός μικροαποστηματίου κοντά στο παράσιτο καθώς και παρακεράτωση στην επιδερμίδα. Χρώση αιματοξυλίνης- εωσίνης (x100).



**Εικόνα 50:** Βιοψία δέρματος επιρρίνιου αίγας την 50<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης. Παρατηρείται περιεξαρτηματική φλεγμονή (γύρω από τους ιδρωτοποιούς και σμηγματογόνους αδένες). Διακρίνεται επίσης στο επιπολής χόριο, χοριοεπιδερμική και περιαγγειακή φλεγμονή (διήθηση από εωσινόφιλα). Χρώση αιματοξυλίνης- εωσίνης (x100).



**Εικόνα 51:** Βιοψία δέρματος επιρρίνιου αίγας την 50<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης. Διακρίνεται έντονη περιαγγειακή φλεγμονή στο εντω βάθει χόριο και διήθηση εωσινόφιλων ανάμεσα στα λιποκύτταρα. Χρώση αιματοξυλίνης- εωσίνης (x100).



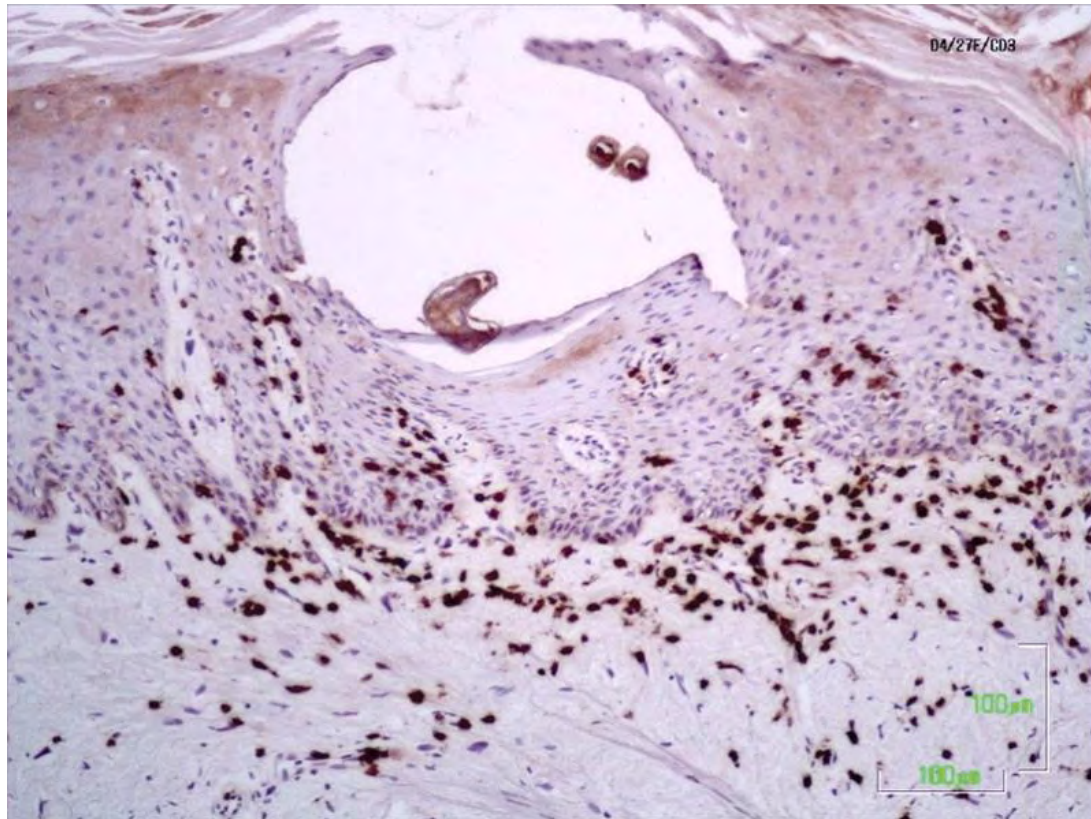
**Εικόνα 52:** Βιοψία δέρματος από την ραχιαία περιοχή αίγας την 50<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης. Διακρίνεται φλεγμονή του ανεκκτήρος μυός, περιαγγειακή φλεγμονή και έντονη διήθηση εωσινόφιλων. Χρώση αιματοξυλίνης- εωσίνης (x100).

### 5.3.6 Ευρήματα ανοσοϊστοχημικής μελέτης

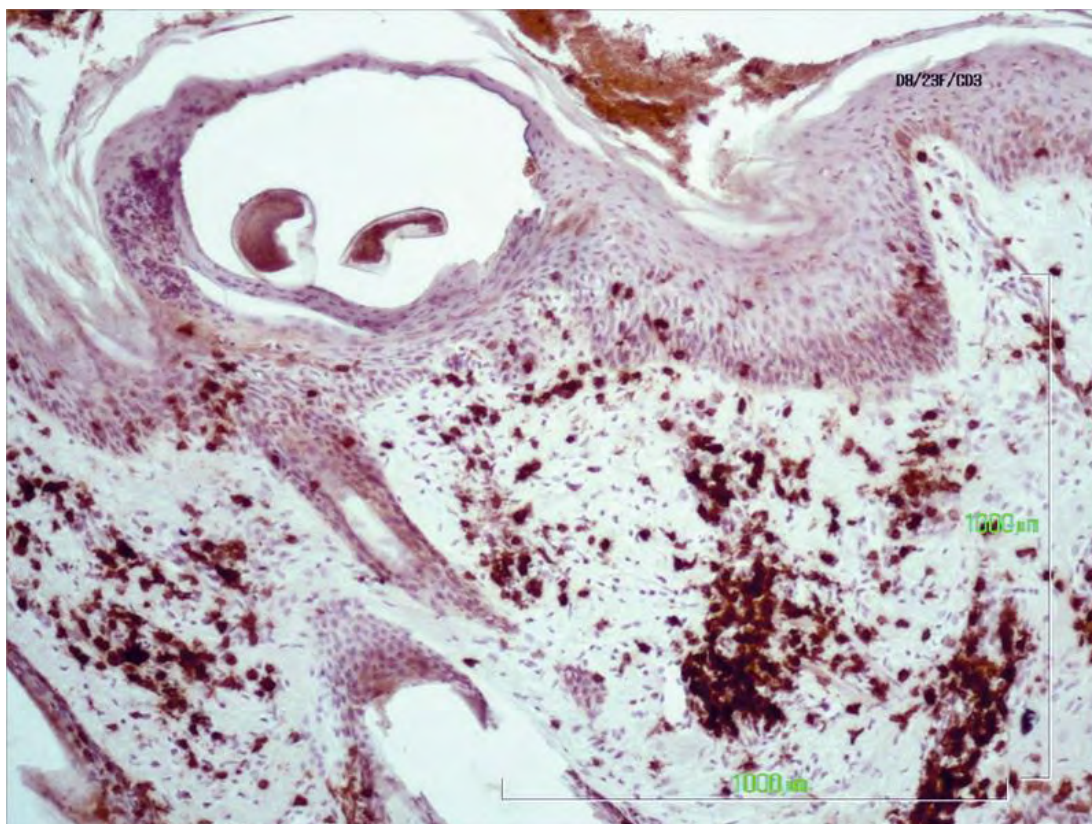
#### 5.3.6α Ποιοτική ανάλυση των κυτταρικών υποπληθυσμών του ανοσοποιητικού συστήματος

Στο χόριο, τα κυρίαρχα κύτταρα στο φλεγμονώδες διήθημα ήταν CD3+ T-λεμφοκύτταρα, με κατανομή αρχικά περιαγγειακή και στη συνέχεια περισσότερο διάχυτη. Σε όλα τα πειραματόζωα παρατηρήθηκε προοδευτικά μια συνεχής αύξηση των CD3+ T-λεμφοκυττάρων από την 2η ημέρα μέχρι και τον τερματισμό του πειράματος την 90η ημέρα. Τα CD4+ T-λεμφοκύτταρα κατανέμονταν αρχικά κυρίως στο επιπολής χόριο και περιαγγειακά. Κατά την εξέλιξη της πειραματικής μόλυνσης, η κατανομή τους έγινε περισσότερο διάχυτη. Τα CD8+ T-λεμφοκύτταρα παρουσίασαν σημαντική αύξηση ειδικά τις πρώτες μέρες της πειραματικής μόλυνσης. Η κατανομή των CD8+ T-λεμφοκυττάρων στο χόριο αρχικά ήταν περιαγγειακή και αφορούσε επίσης τη χοριοεπιδερμική ζώνη, για να εξελιχθεί σε περισσότερο διάχυτη με τη χρονιότητα της νόσου. Τα WC1+ γδ T-λεμφοκύτταρα στο χόριο παρουσίασαν προοδευτική αύξηση μέχρι και την ολοκλήρωση του πειράματος.

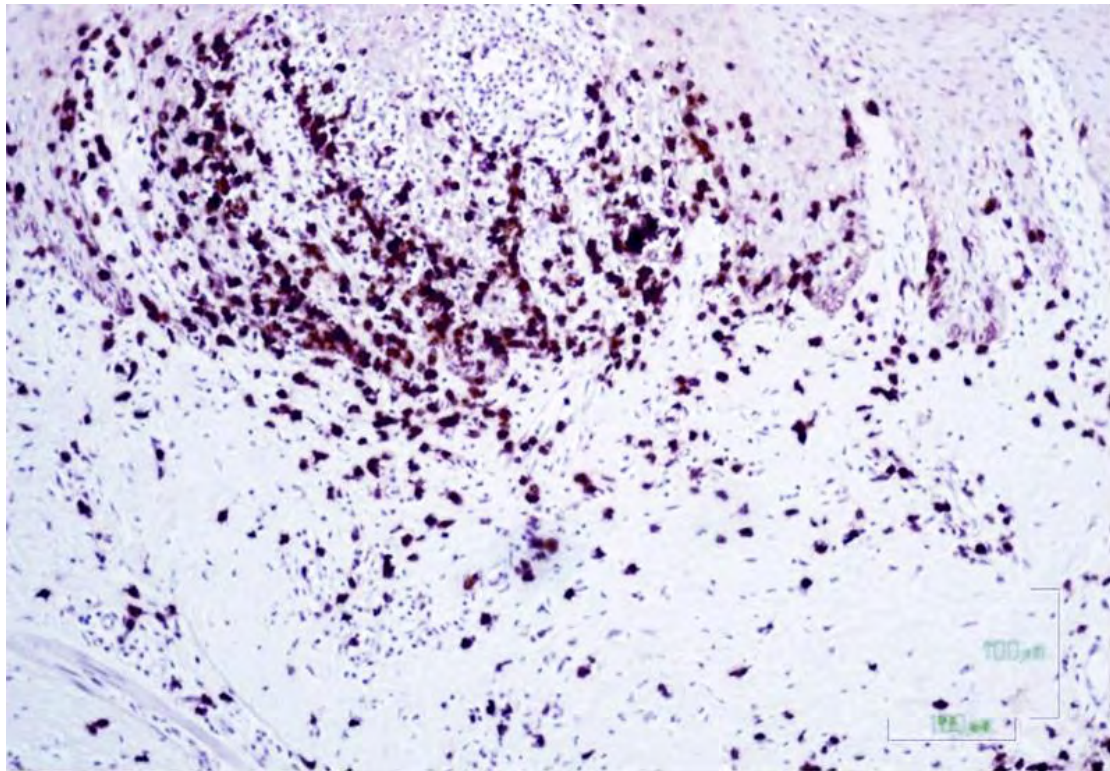
Στην επιδερμίδα, ιδιαίτερα χαρακτηριστική ήταν η αυξημένη εξωκύττωση των CD3+, CD8+, και γδ T-λεμφοκυττάρων σε περιοχές όπου εντοπίζονταν παράσιτα *Sarcoptes scabiei* ή αλλοίωση (φλύκταινες, φυσαλίδες, σπογγίωση, σήραγγες του παρασίτου). Μεμονωμένα CD4+ κύτταρα ανιχνεύθηκαν στην επιδερμίδα.



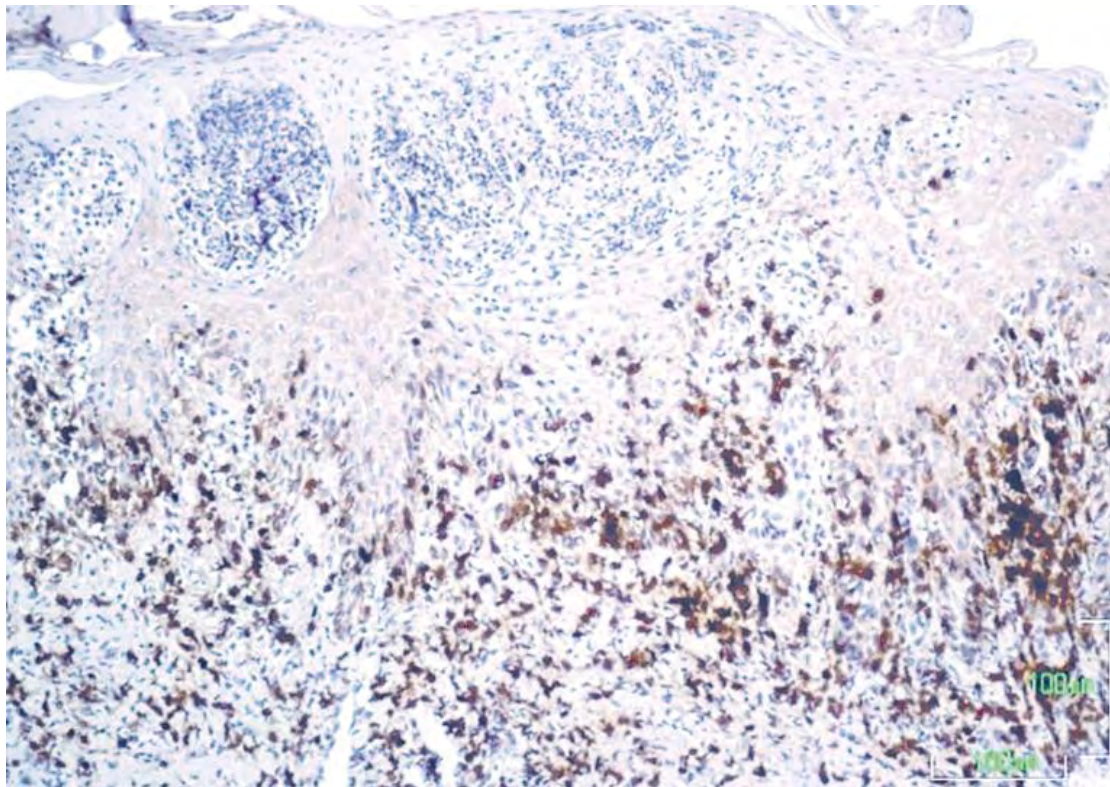
**Εικόνα 53:** Βιοψία δέρματος προσώπου αίγας την 4<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης. Διακρίνεται η εξωκύττωση των CD3+ λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα κοντά στην περιοχή εντοπισμού του παρασίτου και η διήθηση τους στη χοριοεπιδερμική ζώνη. Ανοσοϊστοχημική χρώση σε τομή παραφίνης (x100).



**Εικόνα 54:** Βιοψία δέρματος προσώπου αίγας την 8<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης. Διακρίνεται η εξωκύττωση των CD3+ λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα κοντά στην περιοχή εντοπισμού του παρασίτου και η περιαγγειακή κατανομή των CD3+ λεμφοκυττάρων στο επιπολής χόριο. Ανοσοϊστοχημική χρώση σε τομή παραφίνης (x40).

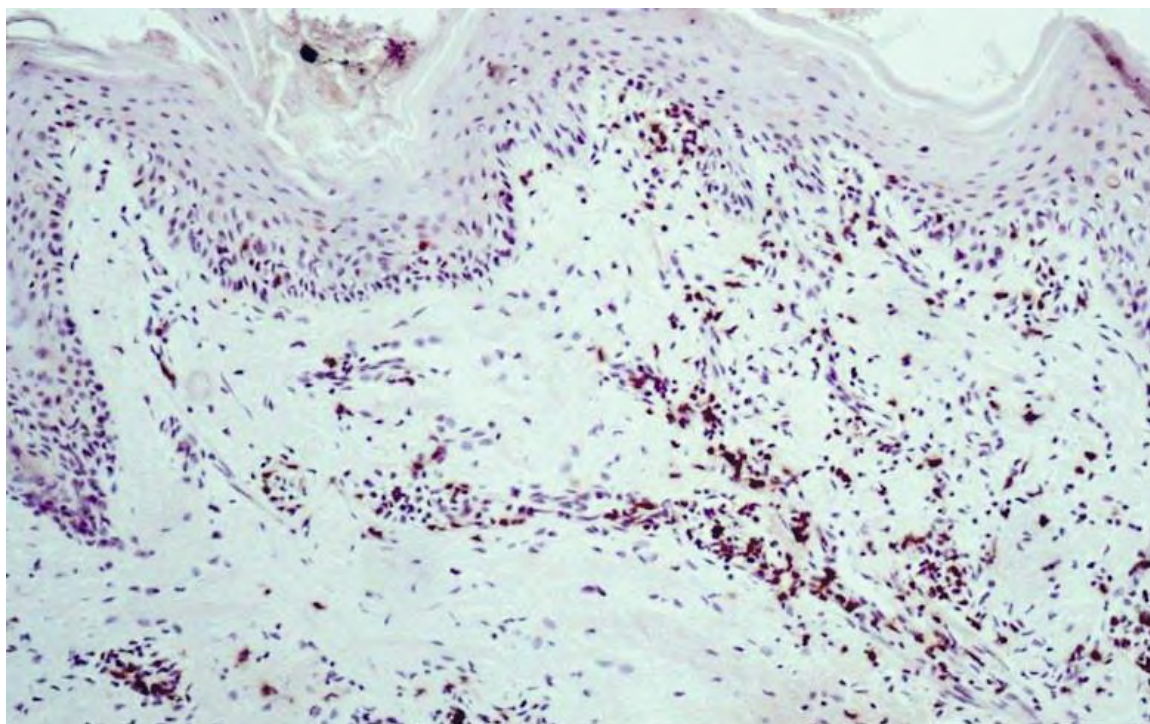


**Εικόνα 55:** Βιοψία δέρματος προσώπου αίγας την 40<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης. Διακρίνεται η έντονη εξωκύττωση των CD3+ λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα κοντά στην περιοχή εντοπισμού ενδοεπιδερμικών φουσαλίδων. Ανοσοϊστοχημική χρώση σε τομή παραφίνης (x100).

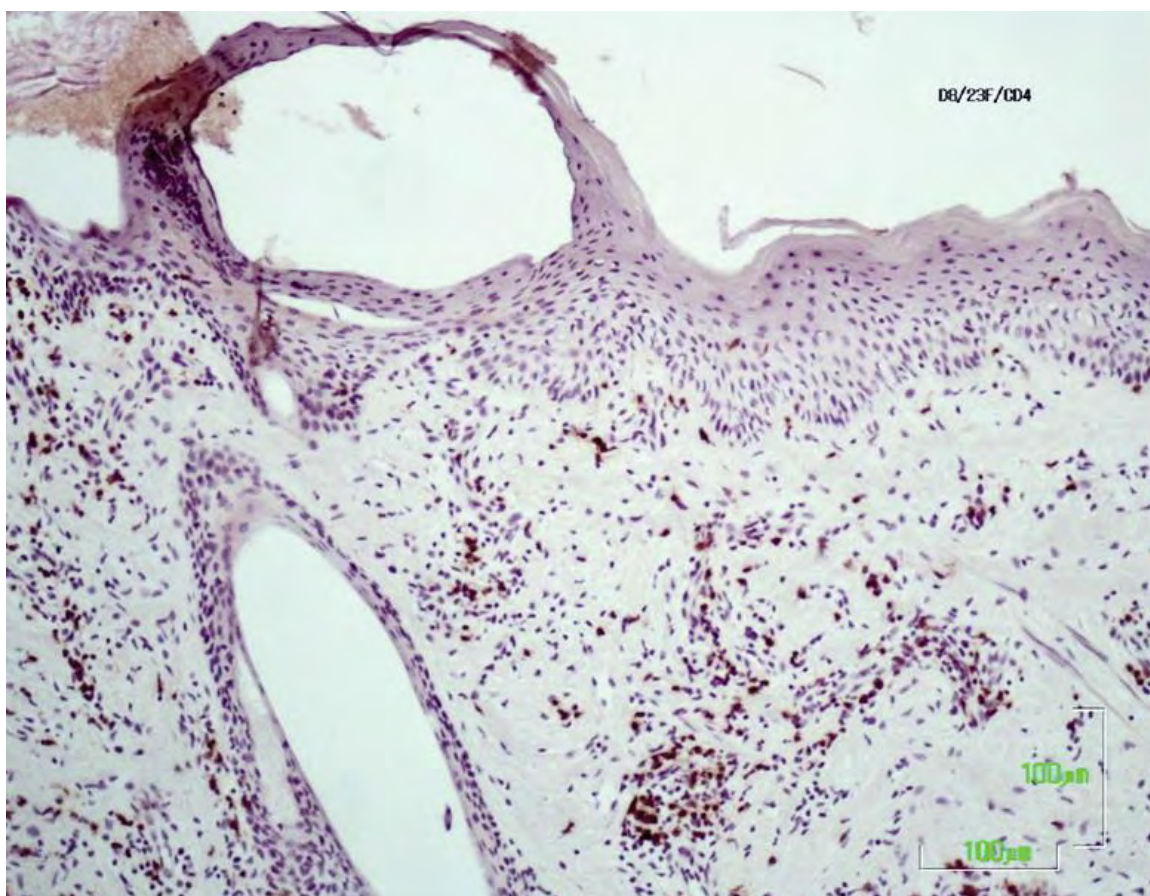


**Εικόνα 56:** Βιοψία δέρματος προσώπου αίγας την 75<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης. Διακρίνεται η έντονη εξωκύττωση των CD3+ λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα κοντά στην περιοχή εντοπισμού ενδοεπιδερμικών αποστημάτων (φλύκταινες) και η διάχυτη διήθηση τους στο επιπολής χόριο. Ανοσοϊστοχημική χρώση σε τομή παραφίνης (x100).

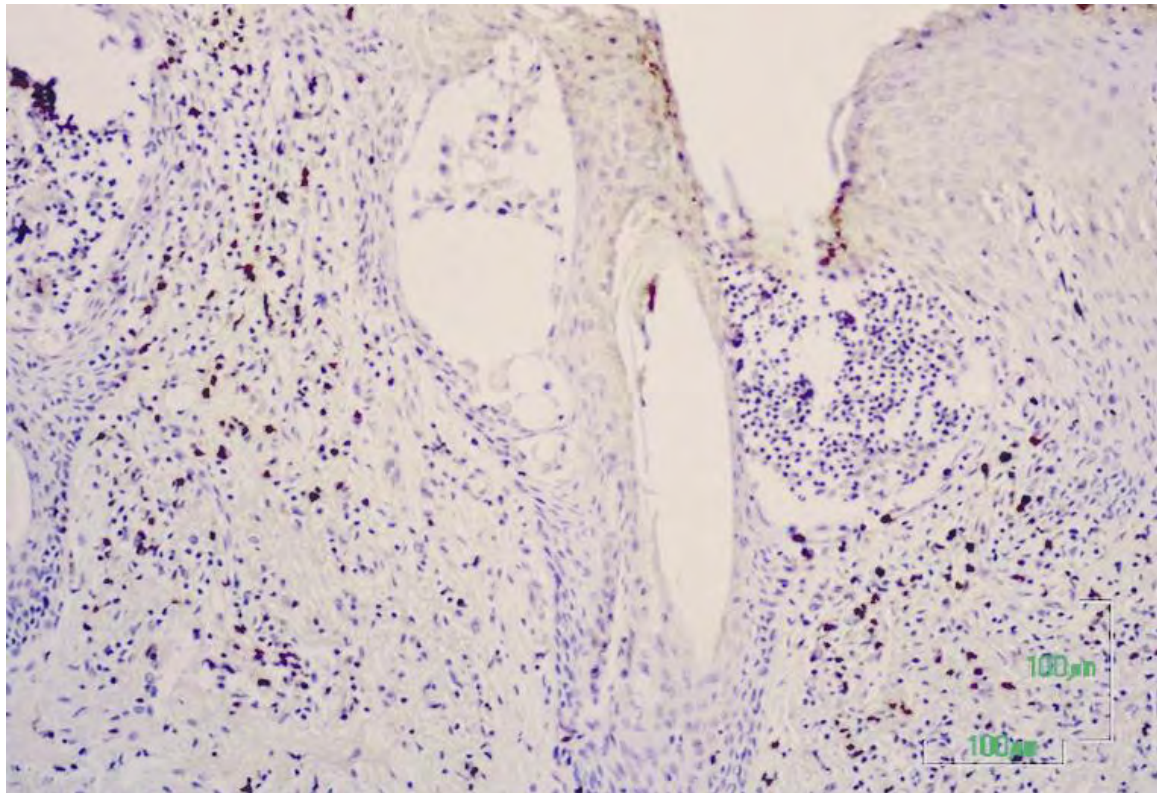




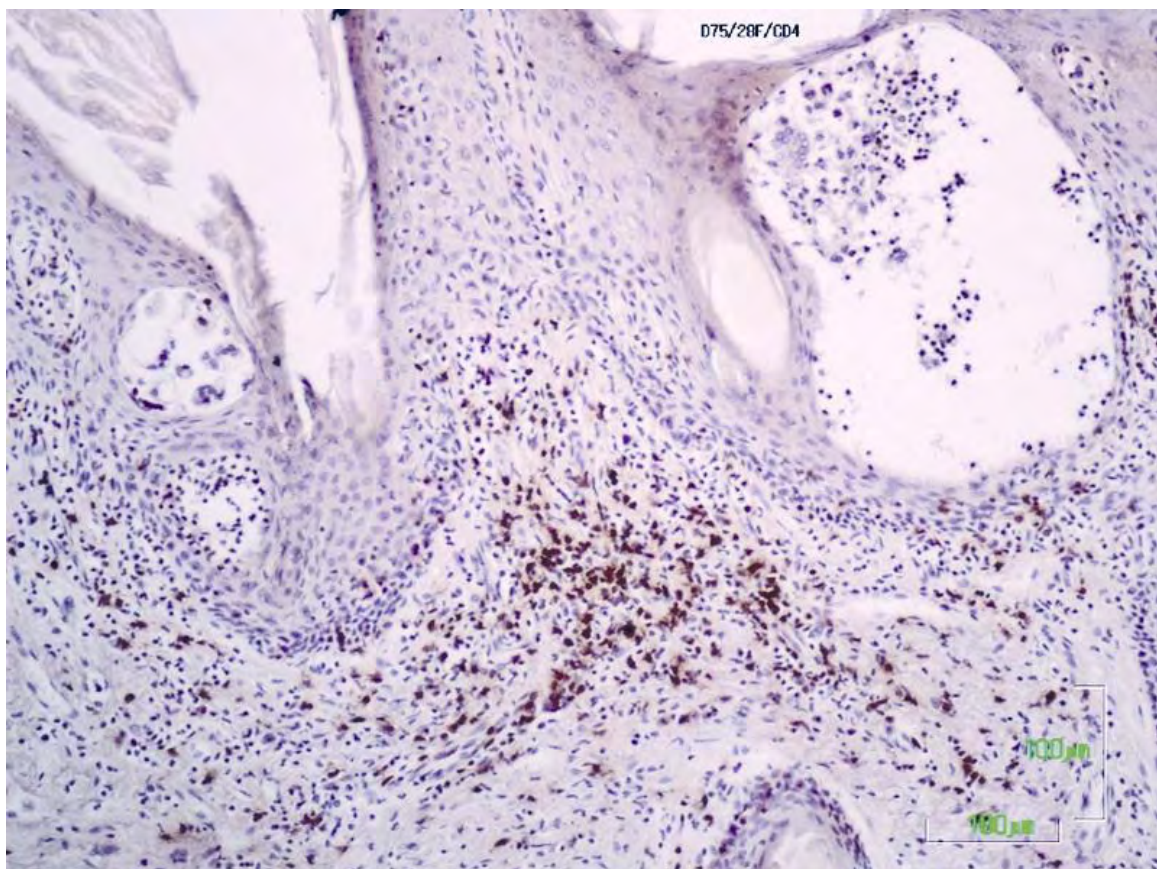
**Εικόνα 57:** Βιοψία δέρματος από την ραχιαία περιοχή εριφίου την 2<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης. Διακρίνεται η περιαγγειακή διήθηση των CD4+ λεμφοκυττάρων στο επιπολής χόριο. Ανοσοϊστοχημική χρώση σε τομή παραφίνης (x100).



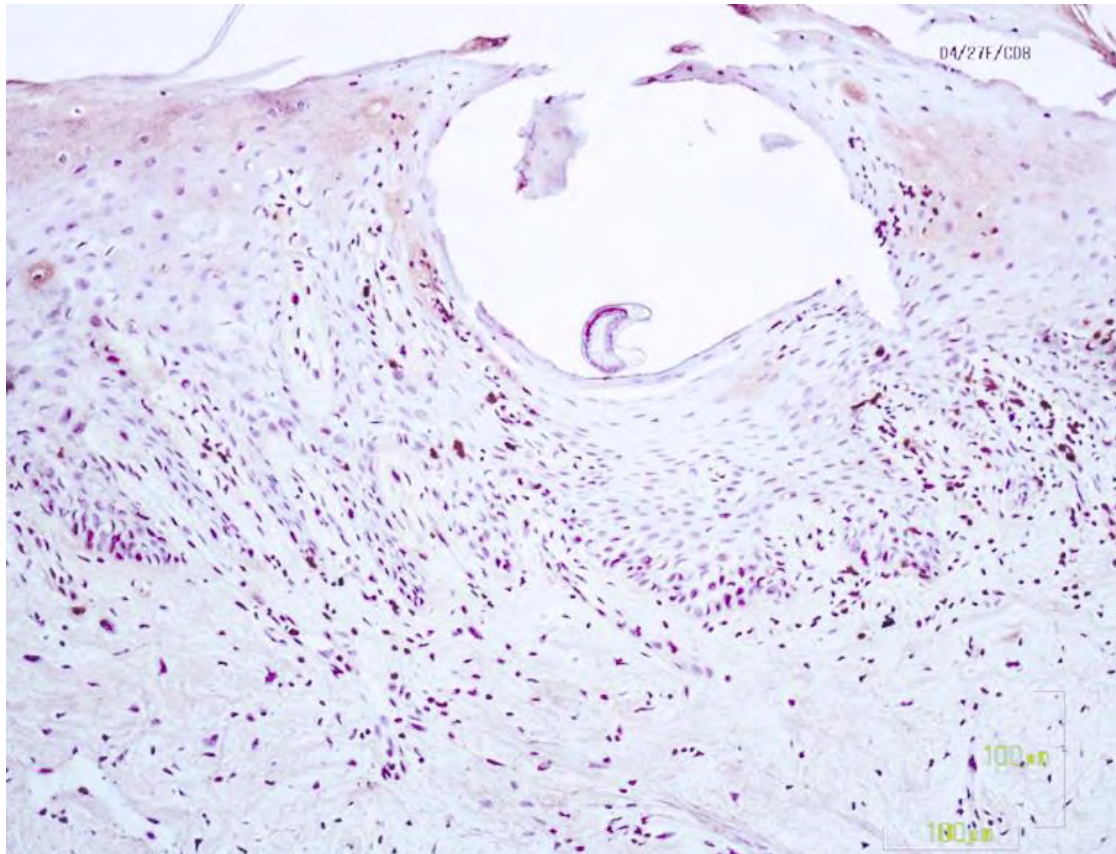
**Εικόνα 58:** Βιοψία δέρματος από το επιρρύνιο εριφίου την 8<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης. Ανοσοϊστοχημική χρώση CD4+ λεμφοκυττάρων τομή παραφίνης (x100).



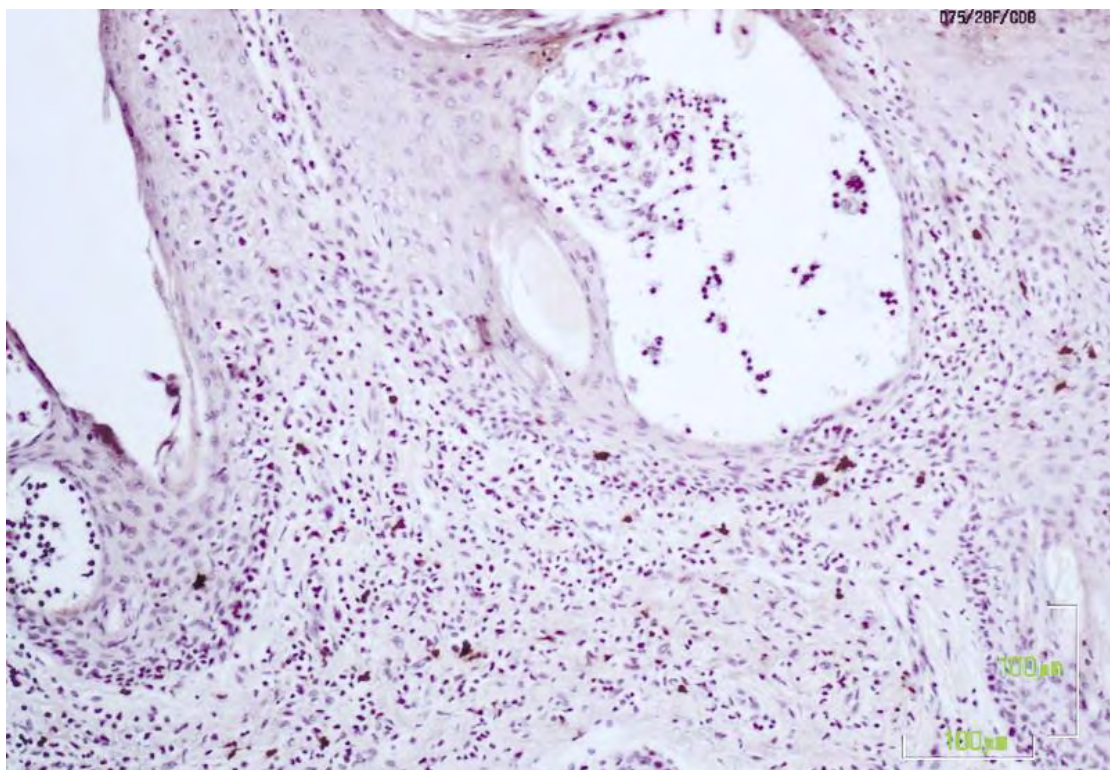
**Εικόνα 59:** Βιοψία δέρματος από το επιρρύνιο αίγας την 25<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης. Ανοσοϊστοχημική χρώση CD4+ λεμφοκυττάρων σε τομή παραφίνης (x100).



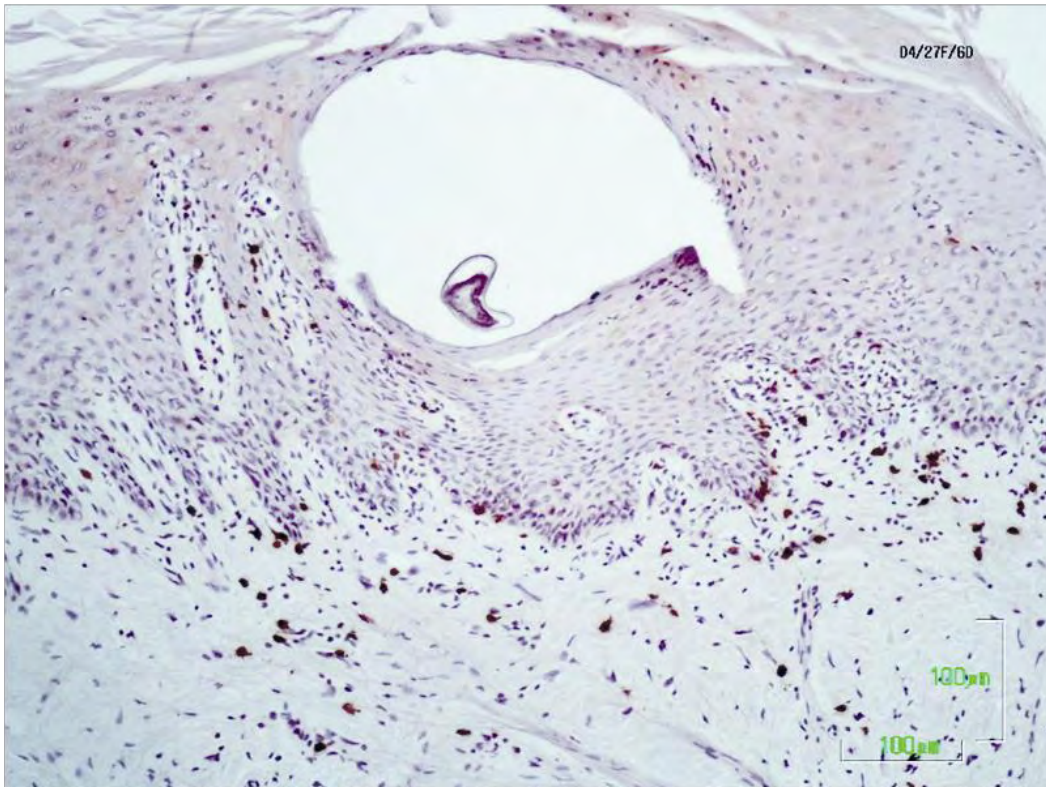
**Εικόνα 60:** Βιοψία δέρματος προσώπου αίγας την 75<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης. Ανοσοϊστοχημική χρώση CD4+ λεμφοκυττάρων σε τομή παραφίνης (x100).



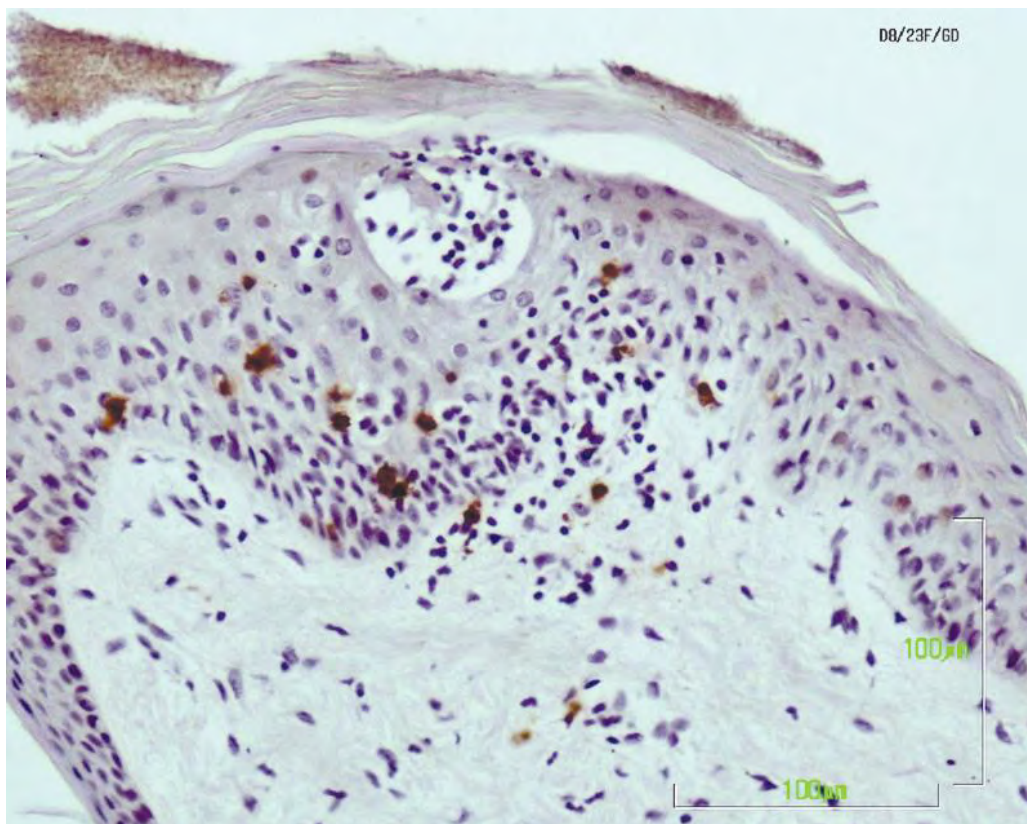
**Εικόνα 61:** Βιοψία δέρματος από το επιρρύνιο αίγας την 4<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης. Διακρίνεται η εξωκύττωση των CD8+ λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα κοντά στην περιοχή εντοπισμού του παρασίτου και η διήθηση τους στη χοριοεπιδερμική ζώνη. Ανοσοϊστοχημική χρώση σε τομή παραφίνης (x100).



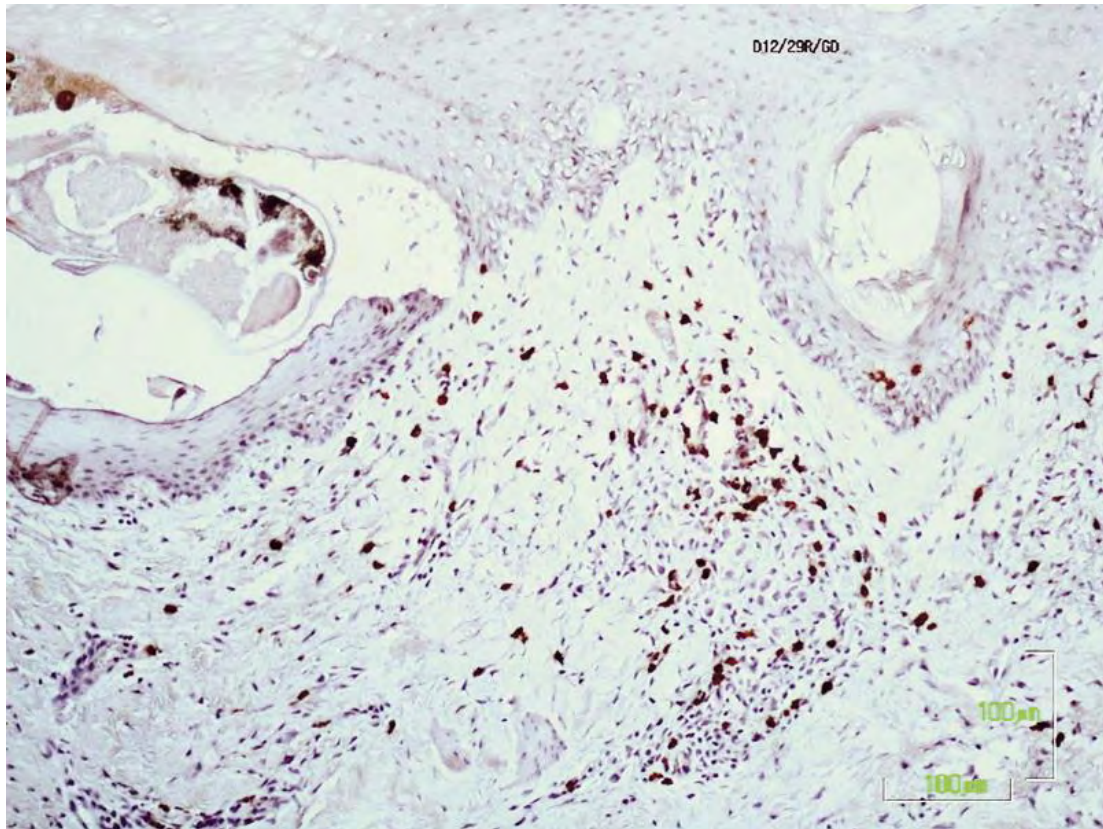
**Εικόνα 62:** Βιοψία δέρματος από το επιρρύνιο αίγας την 75<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης. Διακρίνεται η εξωκύττωση CD8+ λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα κοντά στην περιοχή εντοπισμού φυσαλίδας και η διήθηση τους στο επιπολής χόριο. Ανοσοϊστοχημική χρώση σε τομή παραφίνης (x100).



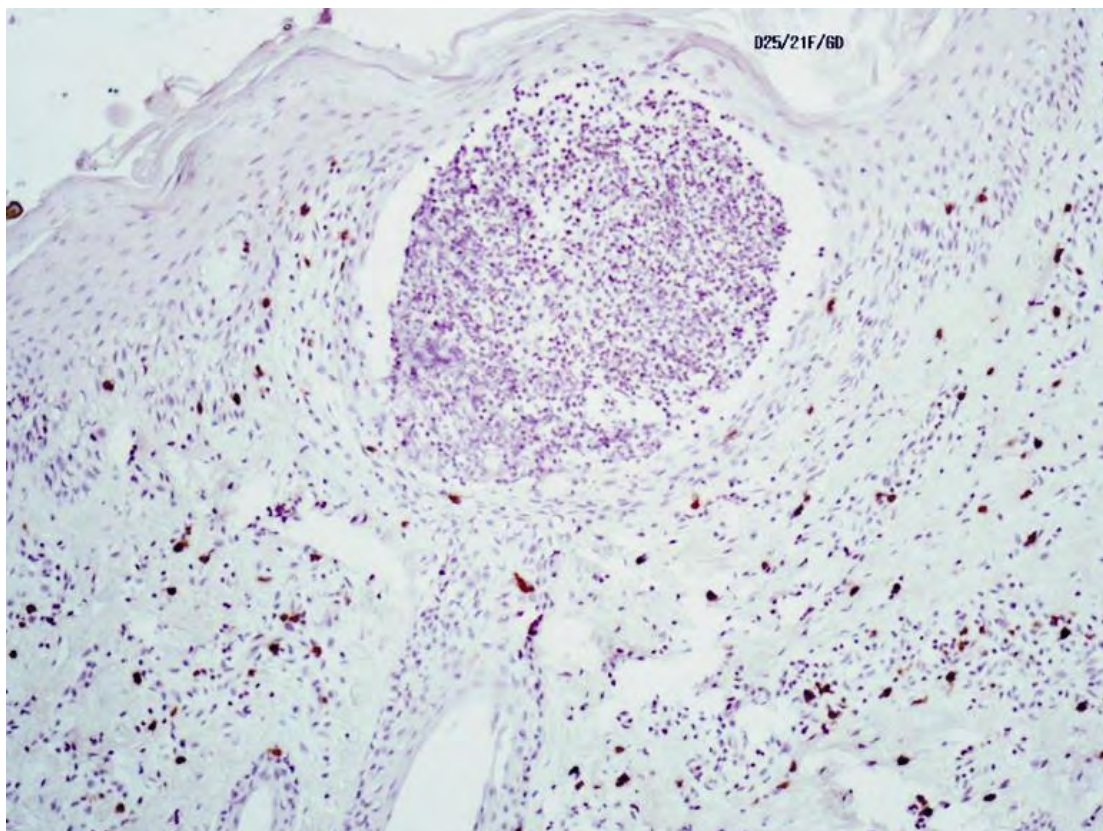
**Εικόνα 63:** Βιοψία δέρματος από το επιρρύνιο αίγας την 4<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης. Διακρίνεται η εξωκύτωση των WC1+ γδ λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα, στην περιοχή εντοπισμού του παρασίτου και η διήθηση τους στο επιπολής χόριο. Ανοσοϊστοχημική χρώση σε τομή παραφίνης (x100).



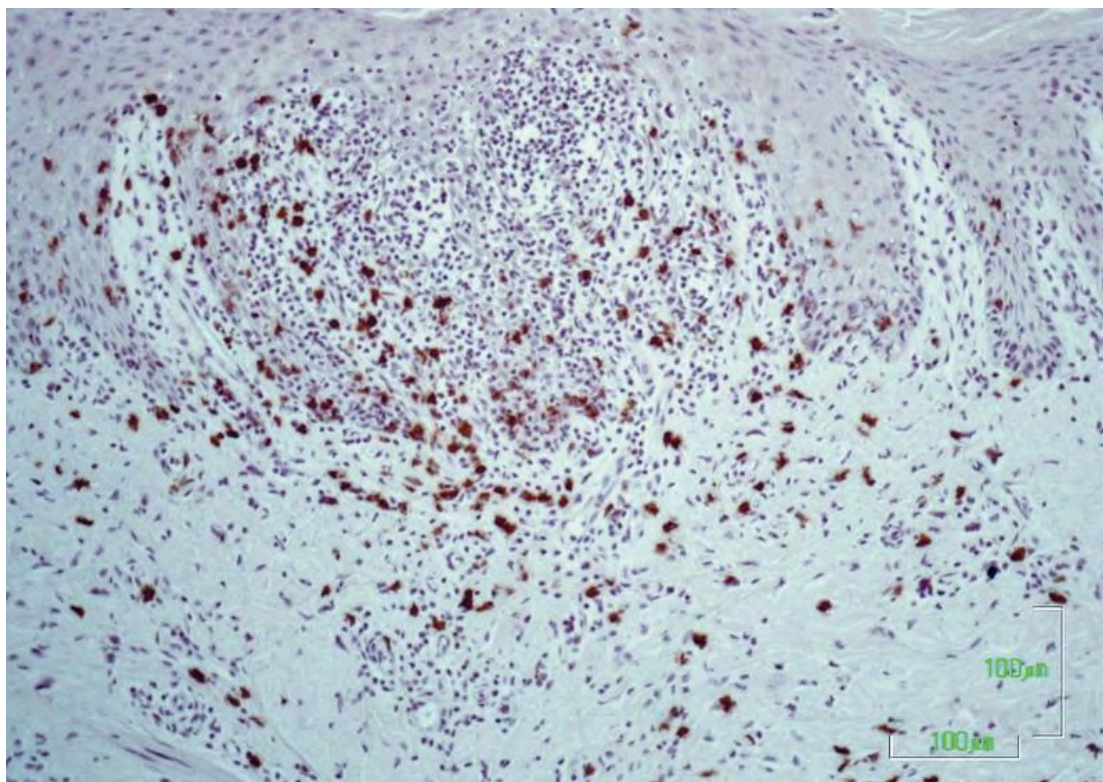
**Εικόνα 64:** Βιοψία δέρματος από το επιρρύνιο εριφίου την 8<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης. Διακρίνεται η εξωκύτωση των WC1+ γδ λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα, γύρω από την μικροφουσαλίδα. Ανοσοϊστοχημική χρώση σε τομή παραφίνης (x400).



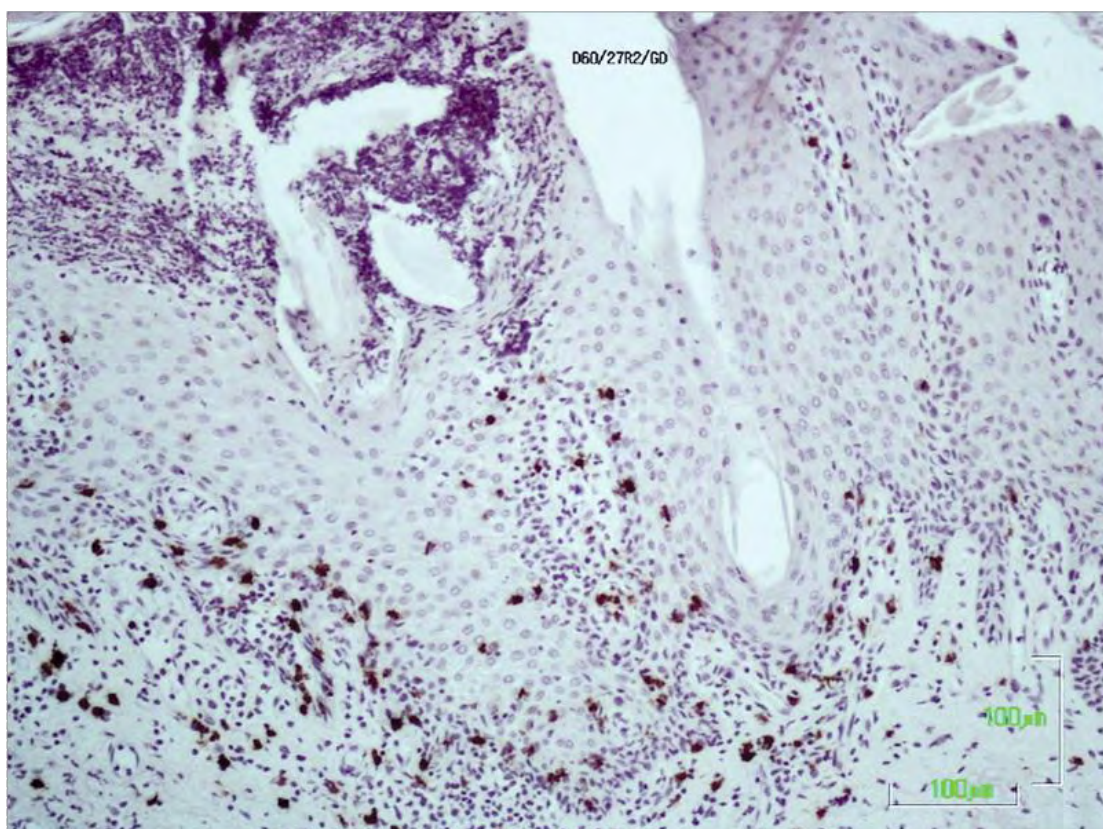
**Εικόνα 65:** Βιοψία δέρματος από την ραχιαία περιοχή αίγας την 12<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης. Διακρίνεται η διήθηση των WC1+ γδ λεμφοκυττάρων κυρίως στο επιπολής χόριο καθώς και η εξωκόπτωση τους στην επιδερμίδα και στην περιοχή εντοπισμού του παρασίτου. Ανοσοϊστοχημική χρώση σε τομή παραφίνης (x100).



**Εικόνα 66:** Βιοψία δέρματος από το επιρρίνιο εριφίου την 25<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης. Διακρίνεται η εξωκόπτωση των WC1+ γδ λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα γύρω από την φλόκτανα και η διήθηση τους στο επιπολής χόριο. Ανοσοϊστοχημική χρώση σε τομή παραφίνης (x100).



**Εικόνα 67:** Βιοψία δέρματος από το επιρρίνιο αίγας την 40<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης. Διακρίνεται η έντονη εξοκύττωση των WC1+ γδ λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα κοντά στην περιοχή εντοπισμού ενδοεπιδερμικών φουσαλίδων. Ανοσοϊστοχημική χρώση σε τομή παραφίνης (x100).



**Εικόνα 68:** Βιοψία δέρματος από την ραχιάια περιοχή αίγας, την 60<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης. Διακρίνεται η εξοκύττωση των WC1+ γδ λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα, σε περιοχές κοντά στην φλύκταινα και η διήθηση τους στο επιπολής χόριο. Ανοσοϊστοχημική χρώση σε τομή παραφίνης (x100).

Η αναλογία των CD4+ T-λεμφοκυττάρων προς τα CD8+ T-λεμφοκύτταρα ιδιαίτερα σε τομές με παρουσία παρασίτου, ήταν σαφώς υπέρ των CD4+ T-λεμφοκυττάρων.

Τα CD21a+ κύτταρα εμφανίζονταν σε πολύ μικρό ποσοστό στο φλεγμονώδες διήθημα με διάσπαρτη κατανομή στο εντοβόθει χόριο, κυρίως μετά την 50η ημέρα μετά τη μόλυνση.

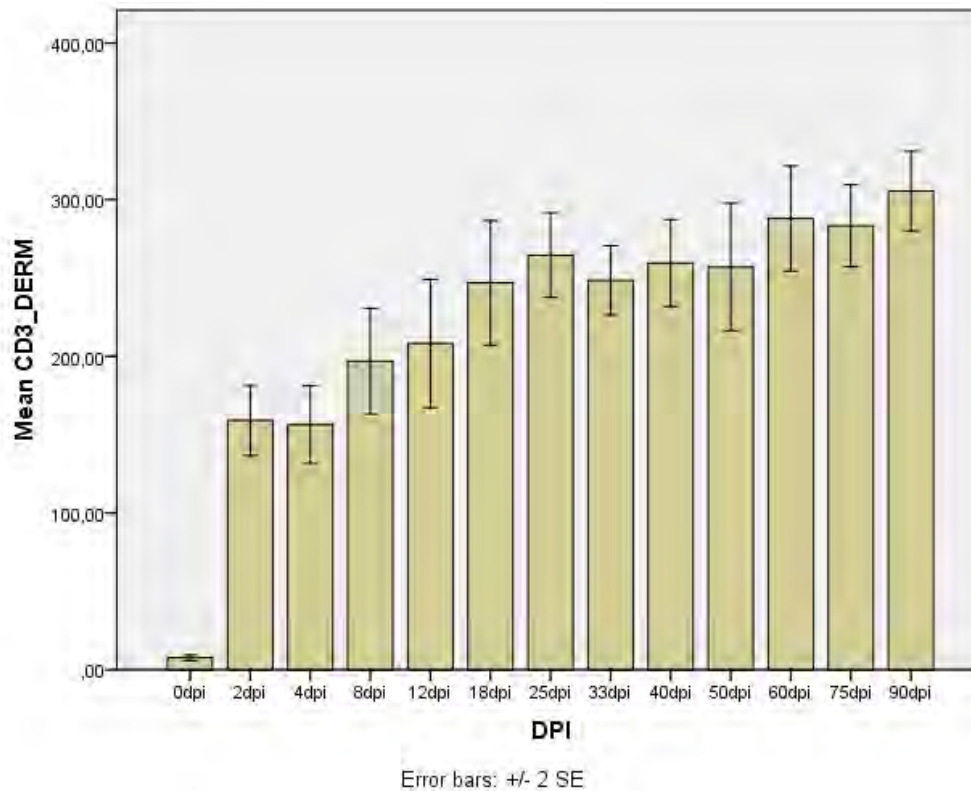
### 5.3.6β Ποσοτική ανάλυση των κυτταρικών υποπληθυσμών του ανοσοποιητικού συστήματος

Πίνακας 18: Εξέλιξη των μέσων όρων (M.O±SD) των υποπληθυσμών των T-λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα και το χόριο, συνολικά για όλα τα πειραματόζωα κατά τη διάρκεια της πειραματικής μόλυνσης.

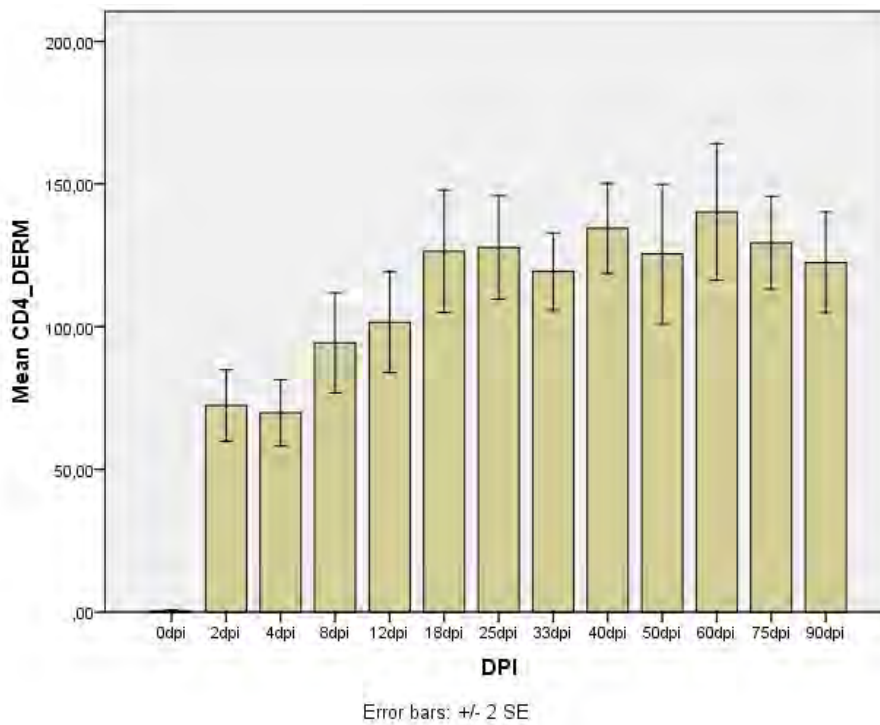
	Χόριο				Επιδερμίδα			
	CD3	CD4	CD8	WC1	CD3	CD4	CD8	WC1
<b>Control</b>	7,68±4,43	0,4±0,81	1,84±1,067	3,32±2,57	0,44±2,2	0,24±1,2	0±0	0±0
<b>2dpi</b>	159,25±25,07*	72,41±15,56*	38,91±8,47*	35,3±6,63*	18,91±5,48*	0,37±1,83	10,12±5,57*	6,08±4,23*
<b>4dpi</b>	156,37±30,89*	69,83±14,48*	36,7±11,15*	30,45±8,9*	10,66±6,36*	2,08±2,91	5,16±3,22*	1,66±2,14
<b>8dpi</b>	197±41,15*	94,36±21,19*	43,77±9,46*	33,09±7,57*	23,13±6,09*	1,04±1,75	10,59±3,54*	8,5±5,87*
<b>12dpi</b>	208,22±46,10*	101,59±21,44*	46,95±13,8*	39,36±17,31*	33,09±8,24*	0,95±1,83	18,40±5,83*	9,95±7,73*
<b>18dpi</b>	247,0±46,29*	126,41±26,45*	52,04±10,62*	43,83±12,89*	41,45±16,26*	3,21±7,22	20,12±7,54*	13,12±4,41*
<b>25dpi</b>	264,66±33,17*	127,75±22,39*	50,58±8,75*	52,12±12,84*	40,16±13,06*	4,25±6,19*	21,54±8,81*	10,12±5,1*
<b>33dpi</b>	248,41±27,50*	119,33±16,25*	45,20±6,56*	61,25±11,17*	37,41±9,89*	1,5±2,7	18,58±5,84*	14,12±4,31*
<b>40dpi</b>	259,62±33,91*	134,54±19,91*	44,91±11,52*	62,21±14,68*	41,37±13,01*	3,25±4,34*	20,79±9,51*	14,45±4,39*
<b>50dpi</b>	257,04±49,82*	125,54±30,65*	36,66±9,89*	58,58±16,05*	73,37±40,04*	6,04±6,81*	34,45±19,305*	30,5±19,58*
<b>60dpi</b>	288±41,17*	140,2±29,68*	38,5±10,3*	67,08±14,87*	65,45±25,2*	8,37±8,77*	29,12±15,66*	24,5±8,82*
<b>75dpi</b>	283,33±32,11*	129,41±20,91*	35,41±9,89*	66,29±14,89*	68,25±20,64*	5,58±7,34*	31,37±17,13*	24,16±6,97*
<b>90dpi</b>	305,58±31,26*	122,5±21,53*	32,95±7,68*	67,04±16,32*	69,58±19,81*	7,5±4,33*	32,04±16,71*	25,79±6,25*

\* Στατιστικά σημαντική αύξηση σε σύγκριση με τα controls (p < 0.05).

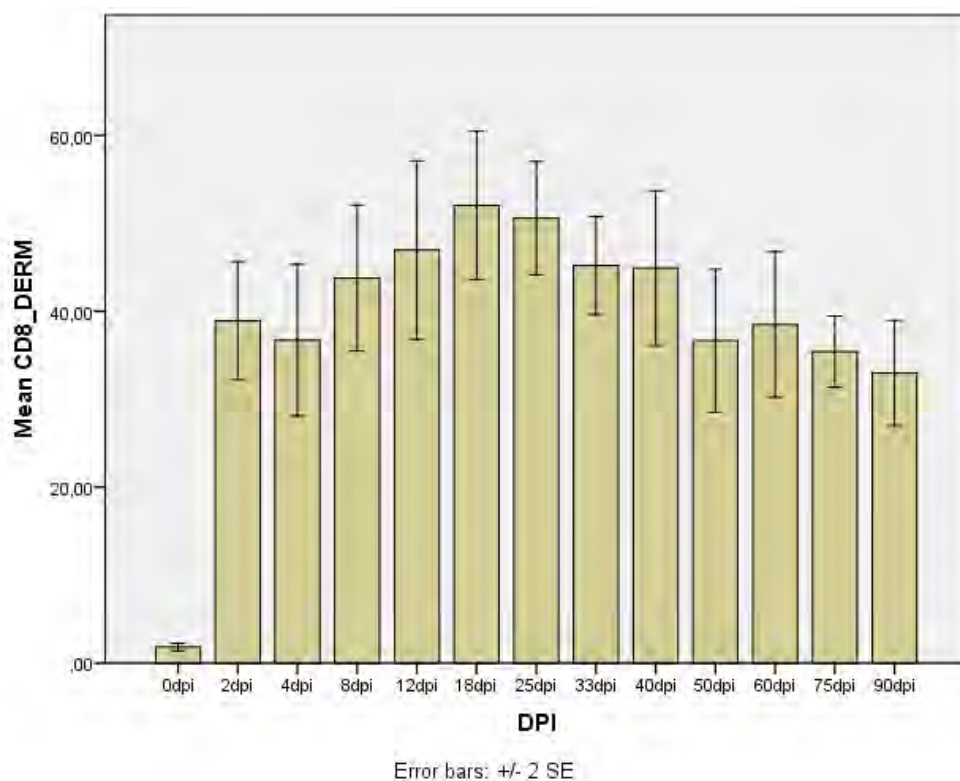




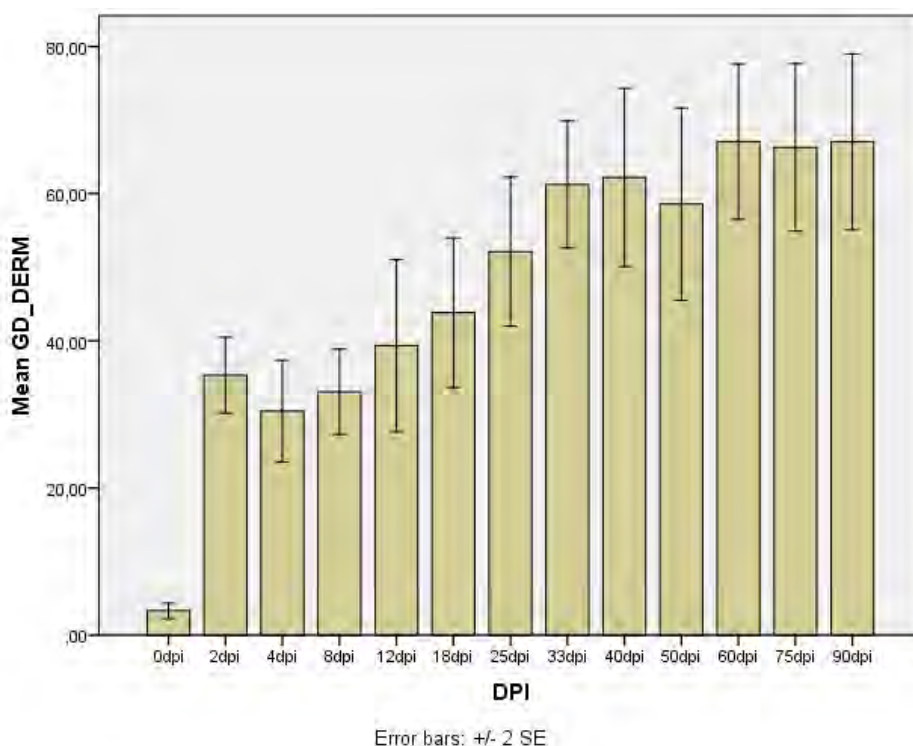
**Γράφημα 14.** Απεικόνιση των CD3+ λεμφοκυττάρων στο χόριο (μέση τιμή) αγών κατά την εξέλιξη του πειραματισμού. Οι τιμές αντιστοιχούν σε grid με εμβαδό 0,567 mm<sup>2</sup> (διαστάσεις 0,871mm x 0,651 μm).



**Γράφημα 15.** Απεικόνιση των CD4+ λεμφοκυττάρων στο χόριο (μέση τιμή) αγών κατά την εξέλιξη του πειραματισμού. Οι τιμές αντιστοιχούν σε grid με εμβαδό 0,567 mm<sup>2</sup> (διαστάσεις 0,871mm x 0,651 μm).



**Γράφημα 16:** Απεικόνιση των CD8+ λεμφοκυττάρων στο χόριο (μέση τιμή) αγών κατά την εξέλιξη του πειραματισμού. Οι τιμές αντιστοιχούν σε grid με εμβαδό 0,567 mm<sup>2</sup> (διαστάσεις 0,871mm x 0,651 μm).

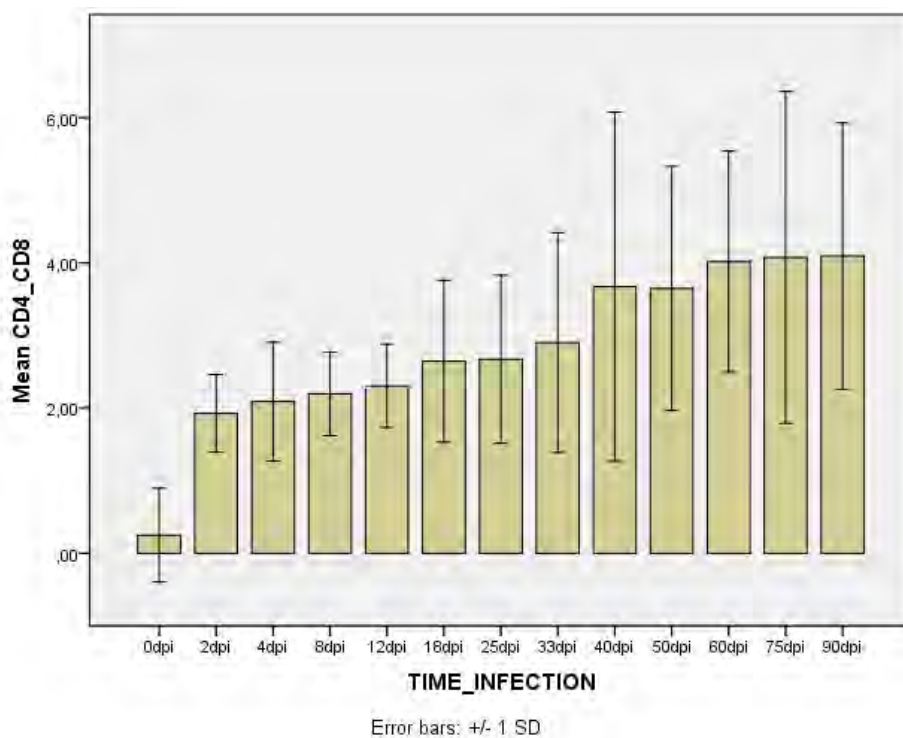


**Γράφημα 17:** Απεικόνιση των WC1+ γδ λεμφοκυττάρων (GD) στο χόριο (μέση τιμή) αγών κατά την εξέλιξη του πειραματισμού. Οι τιμές αντιστοιχούν σε grid με εμβαδό 0,567 mm<sup>2</sup> (διαστάσεις 0,871mm x 0,651 μm).

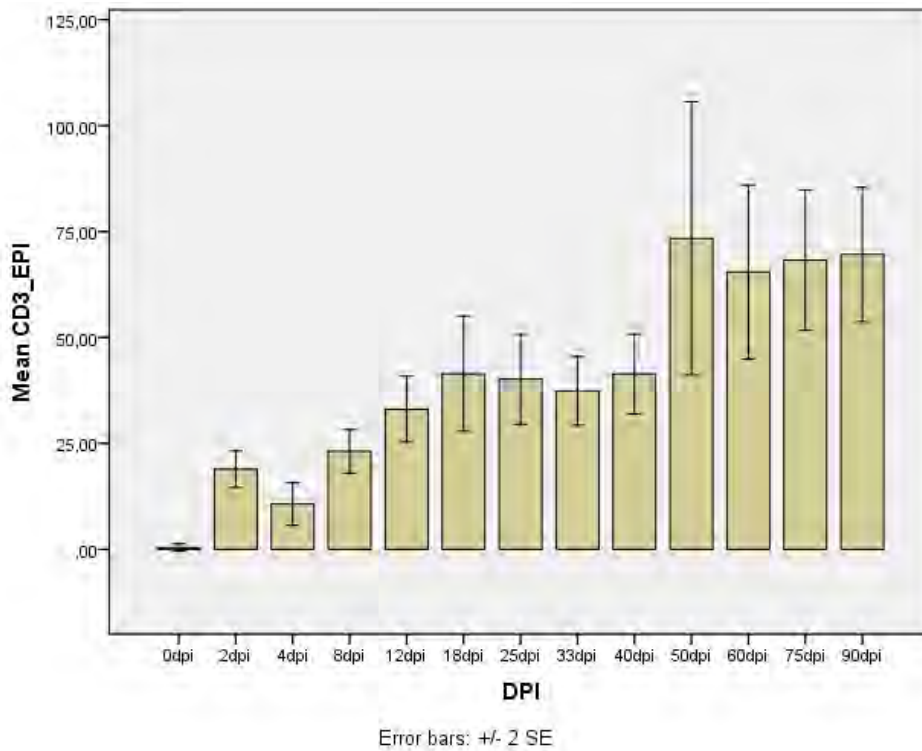
Η αναλογία CD4+/CD8+ λεμφοκυττάρων στο χόριο μεταβλήθηκε προοδευτικά από  $0,25 \pm 0,64 / 1$  στο υγιές δέρμα σε  $4,09 \pm 1,88$  την 90<sup>η</sup> ημέρα του πειραματισμού, όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα.

**Πίνακας 19:** Εξέλιξη της αναλογίας των CD4/CD8 λεμφοκυττάρων στο χόριο κατά την πειραματική μόλυνση.

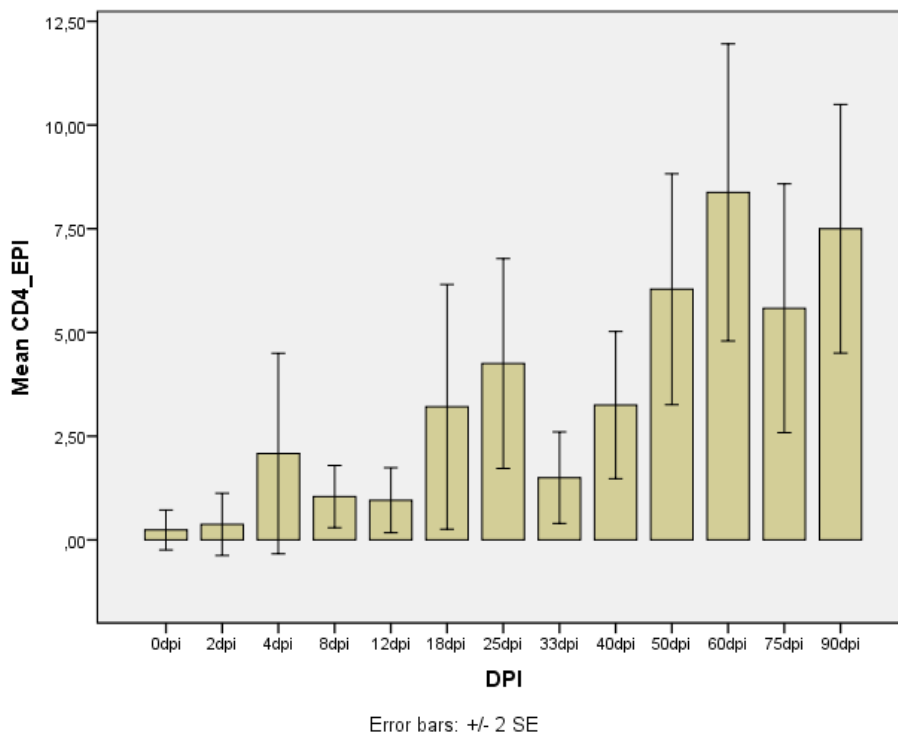
CD4_CD8	Mean	Std. Deviation
0dpi	,2500	,64550
2dpi	1,9258	,53505
4dpi	2,0890	,82028
8dpi	2,1970	,57655
12dpi	2,3059	,57322
18dpi	2,6446	1,11565
25dpi	2,6730	1,15747
33dpi	2,9017	1,51349
40dpi	3,6700	2,40481
50dpi	3,6477	1,68064
60dpi	4,0165	1,52401
75dpi	4,0748	2,28581
90dpi	4,0950	1,83291



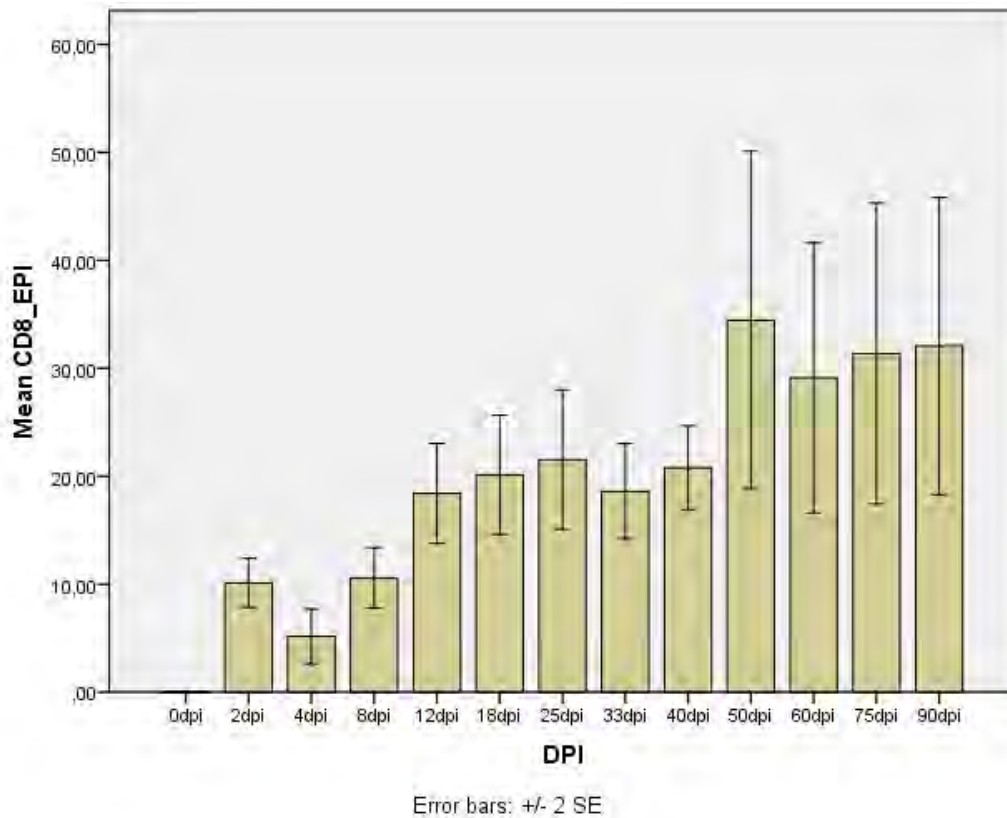
**Γράφημα 18:** Απεικόνιση της αναλογίας CD4/CD8 (μέση τιμή) στο χόριο αγών κατά την εξέλιξη του πειραματισμού. Οι τιμές αντιστοιχούν σε grid με εμβαδό  $0,567 \text{ mm}^2$  (διαστάσεις  $0,871 \text{ mm} \times 0,651 \text{ mm}$ ).



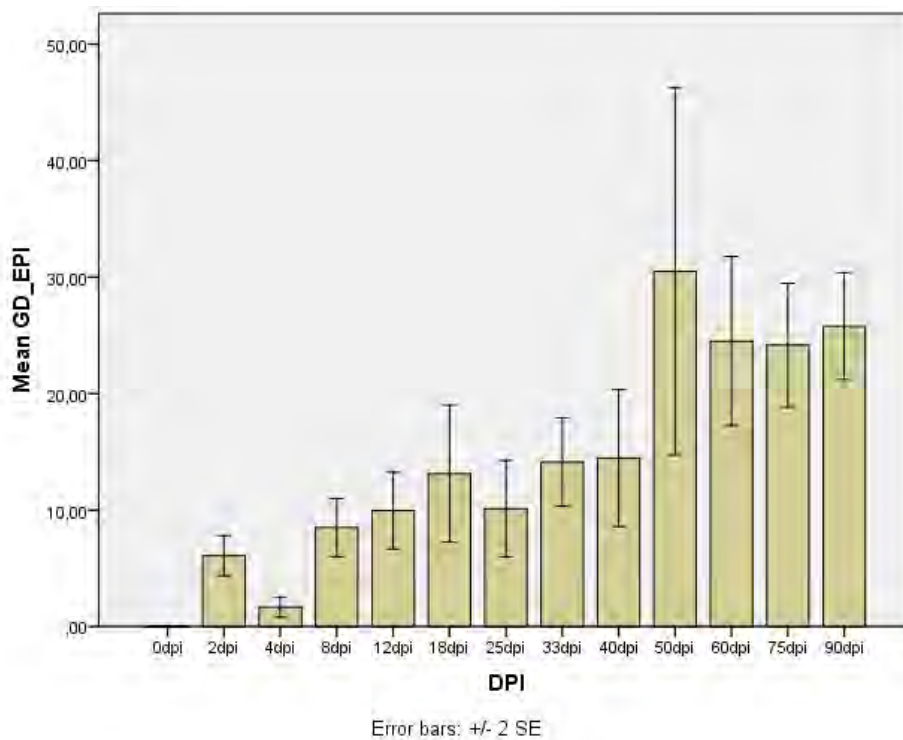
**Γράφημα 19:** Απεικόνιση των CD3+ λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα (μέση τιμή) αιγών κατά την εξέλιξη του πειραματισμού. Οι τιμές αντιστοιχούν σε grid με εμβαδό 0,567 mm<sup>2</sup> (διαστάσεις 0,871mm x 0,651 μm).



**Γράφημα 20:** Απεικόνιση των CD4+ λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα (μέση τιμή) αιγών κατά την εξέλιξη του πειραματισμού. Οι τιμές αντιστοιχούν σε grid με εμβαδό 0,567 mm<sup>2</sup> (διαστάσεις 0,871mm x 0,651 μm).



**Γράφημα 21:** Απεικόνιση των CD8+ λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα (μέση τιμή) αγών κατά την εξέλιξη του πειραματισμού. Οι τιμές αντιστοιχούν σε grid με εμβαδό 0,567 mm<sup>2</sup> (διαστάσεις 0,871mm x 0,651 μm).



**Γράφημα 22:** Απεικόνιση των WC1+ γδ λεμφοκυττάρων (GD) στην επιδερμίδα (μέση τιμή) αγών κατά την εξέλιξη του πειραματισμού. Οι τιμές αντιστοιχούν σε grid με εμβαδό 0,567 mm<sup>2</sup> (διαστάσεις 0,871mm x 0,651 μm).

Η εξέλιξη των υποπληθυσμών των Τ-λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα και το χόριο για κάθε ηλικιακή ομάδα απεικονίζεται στους παρακάτω πίνακες και στα παρακάτω γραφήματα (Μ.Ο±SD).

**Πίνακας 20: Εξέλιξη των μέσων όρων (Μ.Ο±SD) των υποπληθυσμών των Τ-λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα και το χόριο των εριφίων, κατά τη διάρκεια της πειραματικής μόλυνσης.**

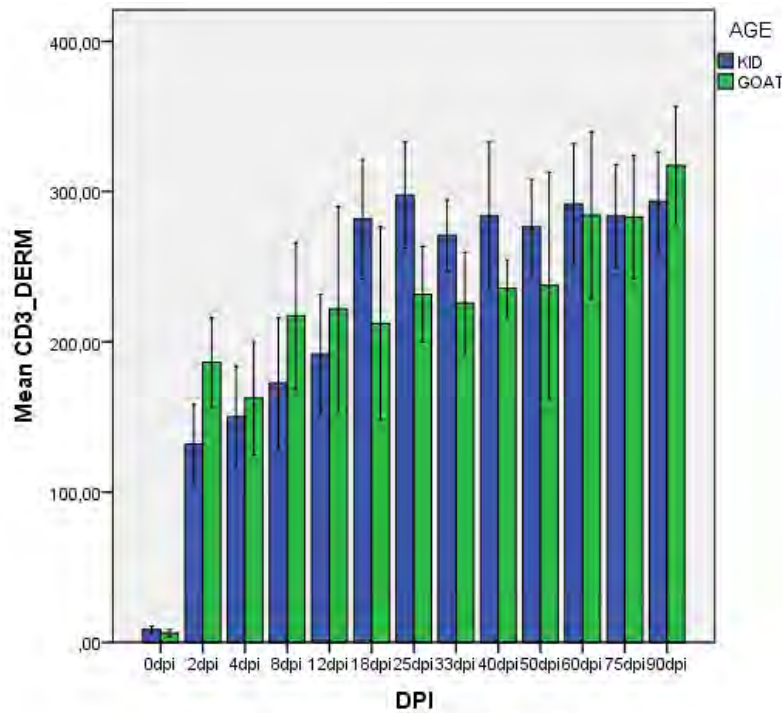
ΕΡΙΦΙΑ	Χόριο				Επιδερμίδα			
	CD3	CD4	CD8	WC1	CD3	CD4	CD8	WC1
<b>Control</b>	8,5±4,80	0,43±0,089	1,75±1,06	3,81±2,73	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0
<b>2dpi</b>	132,08±23,75*	53,58±8,06*	32,83±8,42*	35,00±6,90*	17,58±6,02*	0,0±0,0	9,16±3,10*	5,91±2,81*
<b>4dpi</b>	150,16±29,48*	68,66±13,57*	36,75±11,49*	35,5±9,39*	9,83±7,78*	2,75±3,99	3,83±2,13*	1,91±2,53
<b>8dpi</b>	172,6±34,61*	78,1±16,40*	35,3±7,42*	40,8±7,73*	24,5±7,01*	1,2±1,98	11,0±3,76*	8,9±5,74*
<b>12dpi</b>	191,9±31,91*	93,5±16,2*	41,10±8,38*	45,10±14,87*	32,10±8,78*	0,8±1,47	19,10±5,06*	9,2±4,36*
<b>18dpi</b>	281,75±34,94*	135,5±18,27*	56,83±8,32*	64,58±7,31*	39,25±14,66*	1,25±2,33	20,5±5,22*	11,91±6,86*
<b>25dpi</b>	297,66±30,17*	144,25±22,21*	56,83±8,6*	70,5±10,26*	28,5±12,69*	2,08±2,44	12,33±5,97*	10,0±6,67*
<b>33dpi</b>	271,0±20,99*	118,83±23,65*	45,0±8,03*	75,83±5,42*	36,58±8,31*	0,33±1,15	15,58±5,11*	16,66±5,51*
<b>40dpi</b>	283,66±43,41*	146,25±22,29*	48,33±14,22*	77,58±15,68*	35,25±11,35*	3,75±2,15	17,91±4,73*	10,16±7,63*
<b>50dpi</b>	276,5±27,67*	122,16±23,73*	36,66±8,22*	74,5±14,33*	33,41±19,04*	2,33±2,17	14,5±8,95*	13,66±9,19*
<b>60dpi</b>	291,66±34,62*	122,25±21,70*	33,16±7,80*	79,0±14,73*	32,33±13,06*	4,33±3,22	9,58±7,92*	14,0±5,81*
<b>75dpi</b>	283,58±29,54*	131,16±18,87*	33,08±5,87*	75,66±16,11*	56,16±15,46*	8,0±7,23*	18,75±7,20*	22,83±6,48*
<b>90dpi</b>	293,67±28,87*	138,16±14,34*	35,58±7,59*	81,08±15,67*	60,5±14,58*	9,16±7,13*	20,16±6,73*	24,41±6,30*

\* Στατιστικά σημαντική αύξηση σε σύγκριση με τα controls ( $p < 0.05$ ) (Mann-Whitney test/ T test).

**Πίνακας 21: Εξέλιξη των μέσων όρων (M.O±SD) των υποπληθυσμών των T-λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα και το χόριο των αιγών, κατά τη διάρκεια της πειραματικής μόλυνσης.**

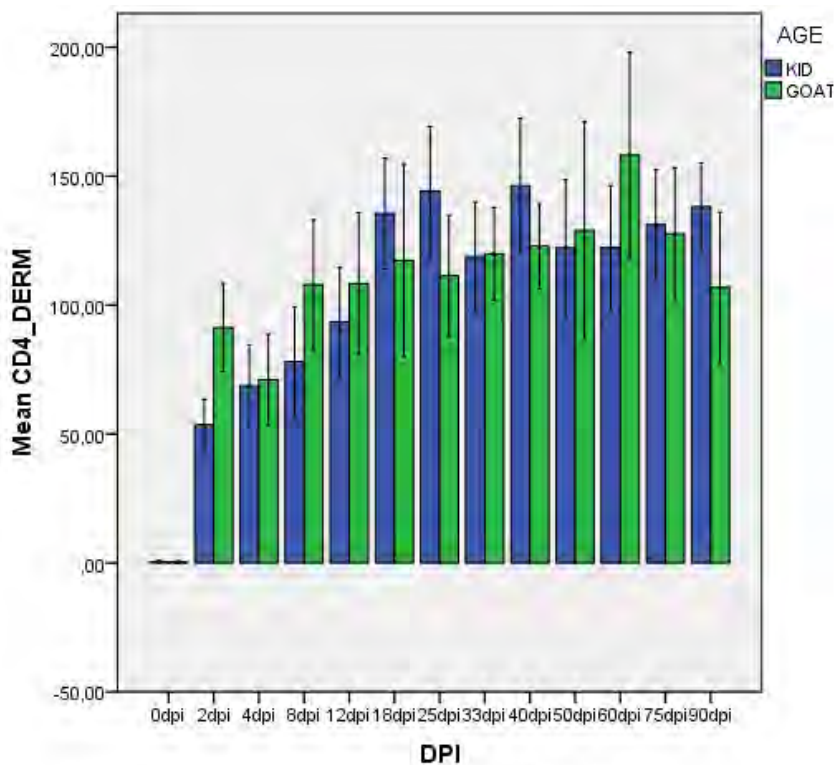
ΑΙΓΕΣ	Χόριο				Επιδερμίδα			
	CD3	CD4	CD8	WC1	CD3	CD4	CD8	WC1
<b>Control</b>	6,22±3,45	0,33±0,70	2,00±1,12	2,44±2,12	0,0±0,0	0±0	0±0	0±0
<b>2dpi</b>	186,41±51,37*	91,25±29,81*	45,00±14,72*	35,66±11,85*	20,25±9,02*	0,75±2,59	11,08±5,07*	6,25±3,76*
<b>4dpi</b>	162,58±65,18*	71,0±30,54*	36,67±21,76*	25,41±12,88*	11,50±9,99*	1,41±2,91	6,5±7,75*	1,41±1,72
<b>8dpi</b>	217,33±84,36*	107,91±43,42*	50,83±20,81*	26,67±8,69*	22,00±10,75*	0,91±1,62	10,25±6,63*	8,16±6,22*
<b>12dpi</b>	221,83±118,11*	108,33±47,61*	51,83±28,37*	34,58±27,09*	33,91±18,58*	1,08±2,15	17,83±11,86*	11,86±5,18*
<b>18dpi</b>	212,25±111,37*	117,33±64,68*	47,25±23,22*	23,08±12,32*	43,67±38,48*	5,16±9,05*	19,75±16,68*	14,33±17,02*
<b>25dpi</b>	231,67±55,12*	111,25±40,74*	44,33±11,13*	33,75±11,99*	51,83±22,66*	6,41±7,08*	30,75±15,45*	10,25±7,28*
<b>33dpi</b>	225,83±58,46*	119,83±31,12*	45,41±12,63*	46,67±19,10*	38,25±23,66*	2,66±3,31	21,58±11,95*	11,58±8,75*
<b>40dpi</b>	235,58±32,97*	122,83±28,55*	41,50±14,22*	46,83±19,63*	47,5±23,87*	2,75±4,65	23,66±9,74*	18,75±13,36*
<b>50dpi</b>	237,58±130,46*	128,91±72,96*	36,67±23,75*	42,67±28,15*	113,33±90,54*	9,75±6,35*	54,41±44,09*	47,33±46,50*
<b>60dpi</b>	284,33±96,13*	158,16±68,97*	43,83±24,09*	55,16±14,34*	98,58±47,41*	12,41±9,29*	48,67±22,70*	35,00±17,52*
<b>75dpi</b>	283,08±71,05*	127,66±44,31*	37,75±7,20*	56,91±18,40*	80,33±46,31*	3,16±6,91*	44,00±23,75*	25,50±13,86*
<b>90dpi</b>	317,50±67,53*	136,83±50,65*	30,33±15,84*	53,00±19,08*	78,67±46,39*	5,83±7,45*	43,91±23,6*	27,16±11,52*

\* Στατιστικά σημαντική αύξηση σε σύγκριση με τα controls (p < 0.05) (Mann-Whitney test/ T test).



Error bars: +/- 2 SE

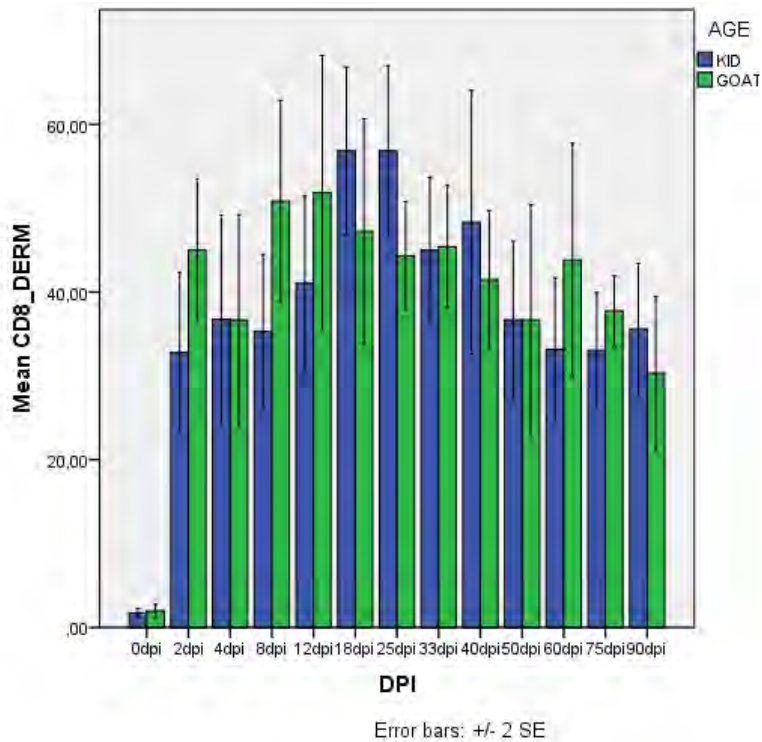
**Γράφημα 23:** Συγκριτική απεικόνιση των CD3+ λεμφοκυττάρων στο χόριο (μέση τιμή) εριφίων και αγών κατά την εξέλιξη του πειραματισμού. Οι τιμές αντιστοιχούν σε grid με εμβαδό 0,567 mm<sup>2</sup> (διαστάσεις 0,871mm x 0,651 μm).



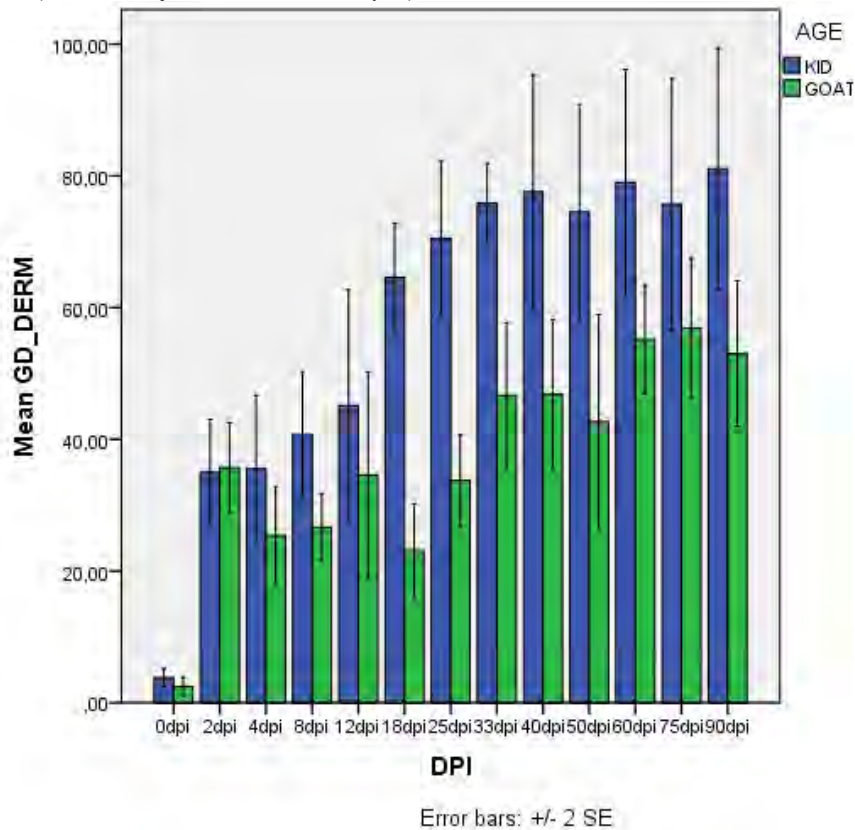
Error bars: +/- 2 SE

**Γράφημα 24:** Συγκριτική απεικόνιση των CD4+ λεμφοκυττάρων στο χόριο (μέση τιμή) εριφίων και αγών κατά την εξέλιξη του πειραματισμού. Οι τιμές αντιστοιχούν σε grid με εμβαδό 0,567 mm<sup>2</sup> (διαστάσεις 0,871mm x 0,651 μm).

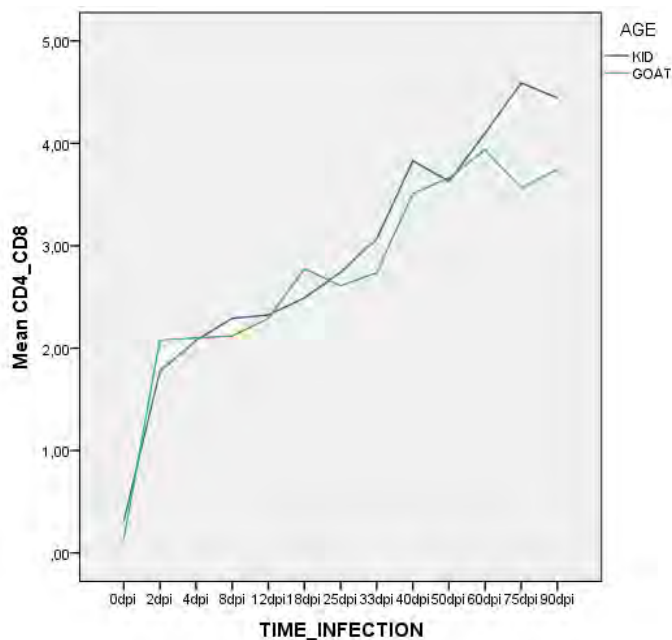




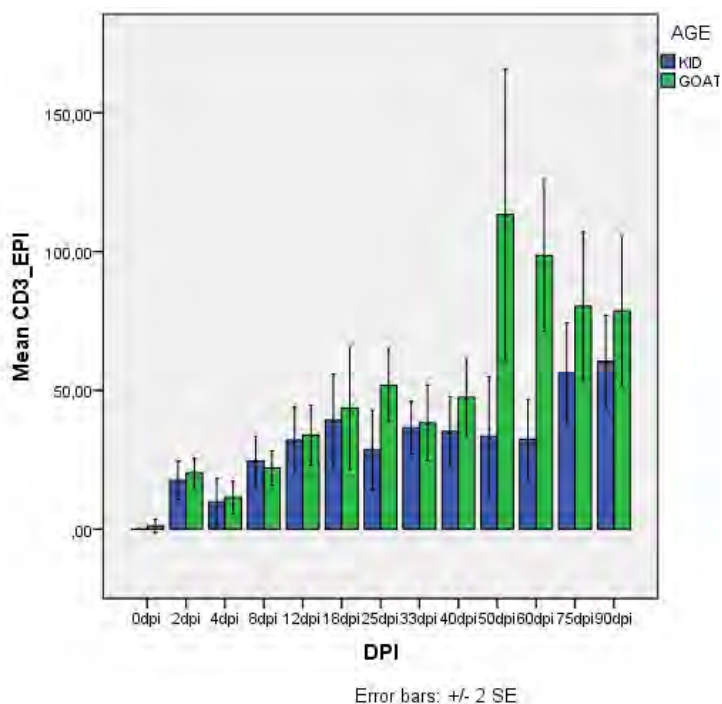
**Γράφημα 25:** Συγκριτική απεικόνιση των CD8+ λεμφοκυττάρων στο χόριο (μέση τιμή) εριφίων και αγών κατά την εξέλιξη του πειραματισμού. Οι τιμές αντιστοιχούν σε grid με εμβαδό 0,567 mm<sup>2</sup> (διαστάσεις 0,871mm x 0,651 μm).



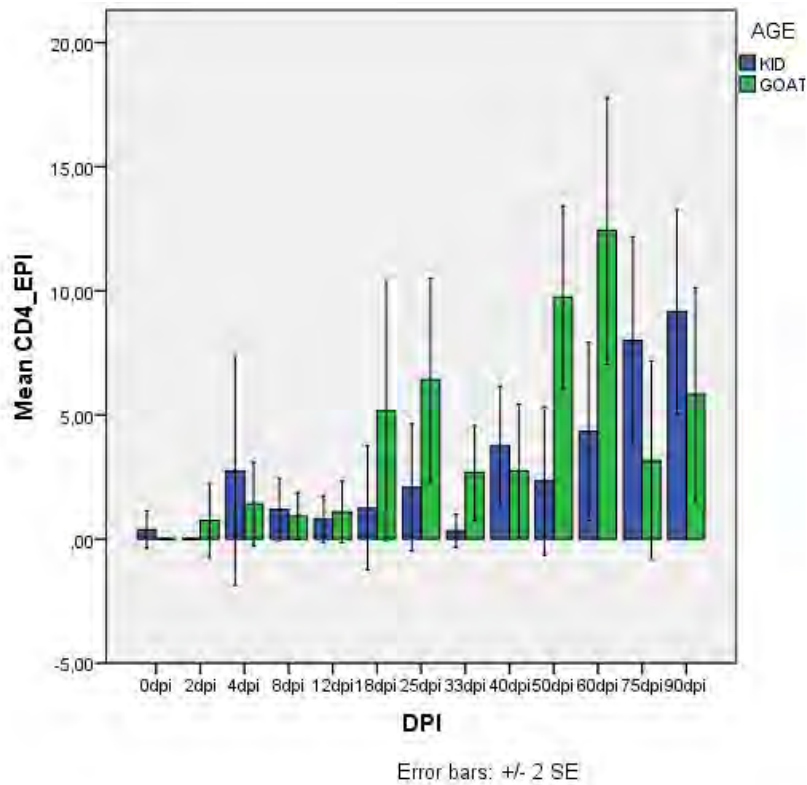
**Γράφημα 26:** Συγκριτική απεικόνιση των WC1+ γδ λεμφοκυττάρων (GD) στο χόριο (μέση τιμή) εριφίων και αγών κατά την εξέλιξη του πειραματισμού. Οι τιμές αντιστοιχούν σε grid με εμβαδό 0,567 mm<sup>2</sup> (διαστάσεις 0,871mm x 0,651 μm).



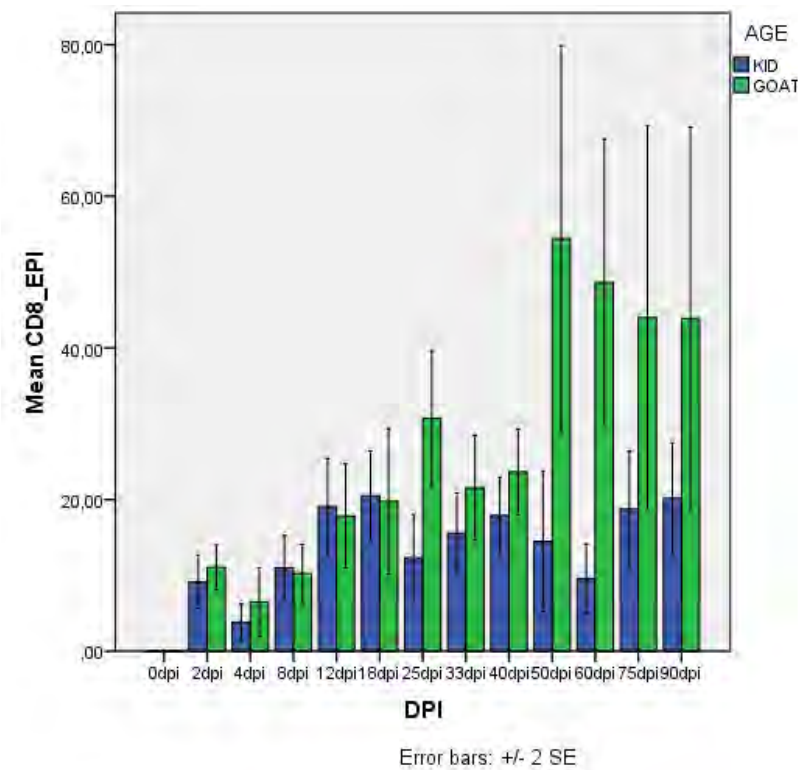
**Γράφημα 27:** Συγκριτική απεικόνιση της αναλογίας CD4+/CD8+ λεμφοκυττάρων στο χόριο (μέση τιμή) εριφίων και αιγών κατά την εξέλιξη του πειραματισμού.



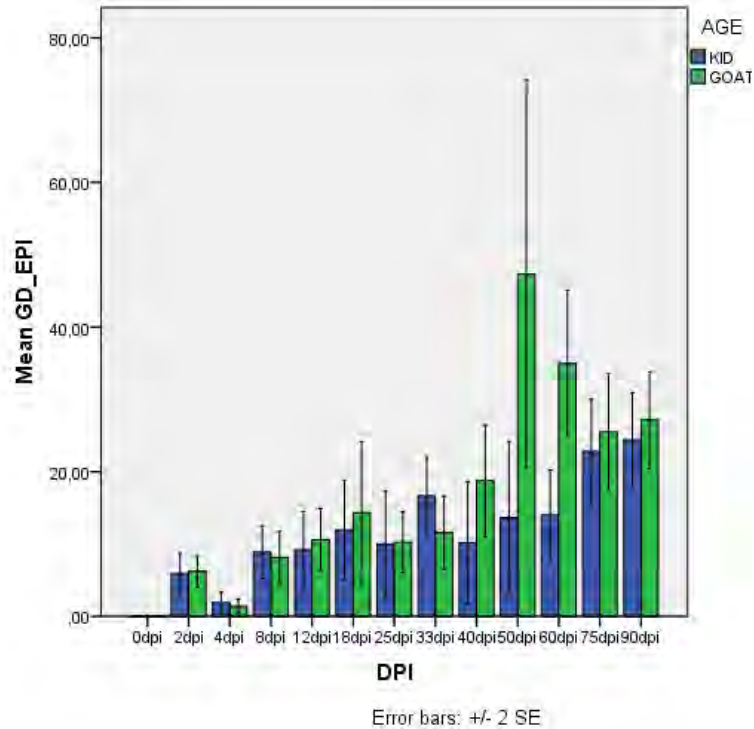
**Γράφημα 28:** Συγκριτική απεικόνιση των CD3+ λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα (μέση τιμή) εριφίων και αιγών κατά την εξέλιξη του πειραματισμού. Οι τιμές αντιστοιχούν σε grid με εμβαδό 0,567 mm<sup>2</sup> (διαστάσεις 0,871mm x 0,651 μm).



**Γράφημα 29:** Συγκριτική απεικόνιση των CD4+ λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα (μέση τιμή) εριφίων και αγών κατά την εξέλιξη του πειραματισμού. Οι τιμές αντιστοιχούν σε grid με εμβαδό 0,567 mm<sup>2</sup> (διαστάσεις 0,871mm x 0,651 μm).



**Γράφημα 30:** Συγκριτική απεικόνιση των CD8+ λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα (μέση τιμή) εριφίων και αγών κατά την εξέλιξη του πειραματισμού. Οι τιμές αντιστοιχούν σε grid με εμβαδό 0,567 mm<sup>2</sup> (διαστάσεις 0,871mm x 0,651 μm).



**Γράφημα 31:** Συγκριτική απεικόνιση των WC1+ γδ λεμφοκυττάρων (GD) στην επιδερμίδα (μέση τιμή) εριφίων και αιγών κατά την εξέλιξη του πειραματισμού. Οι τιμές αντιστοιχούν σε grid με εμβαδό 0,567 mm<sup>2</sup> (διαστάσεις 0,871mm x 0,651 μm).

Στην επιδερμίδα των αιγών, παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε σχέση με τα ερίφια στα CD3+ και CD8+ κύτταρα την 25η, 50η και 60η ημέρα μετά την μόλυνση, στα CD4+ την 50η ημέρα μετά την μόλυνση και στα WC1+ την 50η και 60η ημέρα μετά την μόλυνση ( $p < 0,005$ ). Οι διαφορές στην επιδερμίδα φαίνεται να σχετίζονται με το αυξημένο παρασιτικό φορτίο και την παρουσία αλλοιώσεων (φλύκταινες, φυσαλίδες, σπογγίωση, ακάνθωση) και ακάρεων.

Πίνακας 22: Σύγκριση των μέσων όρων των λεμφοκυτταρικών πληθυσμών της επιδερμίδας κατά τη διάρκεια της πειραματικής μόλυνσης σε σχέση με την ηλικία (ερίφια, αίγες).

		CD3 ΕΠΙΔΕΡΜΙΔΑ		CD4 ΕΠΙΔΕΡΜΙΔΑ		CD8 ΕΠΙΔΕΡΜΙΔΑ		γδ WC1 ΕΠΙΔΕΡΜΙΔΑ	
		Wald Chi- Square	Sig.	Wald Chi- Square	Sig.	Wald Chi- Square	Sig.	Wald Chi- Square	Sig.
2 dpi	(Intercept)	452,063	0,000	1,6	,132	315,796	0,000	128,037	0,000
	Ηλικία	,261	,609	0,834	,225	,533	,465	,030	,864
4 dpi	(Intercept)	122,702	0,000	1,817	,178	72,674	0,000	5,909	,015
	Ηλικία	,317	,573	,915	,339	2,079	,149	,012	,913
8 dpi	(Intercept)	821,382	0,000	,023	,881	414,944	0,000	173,972	0,000
	Ηλικία	,241	,624	,180	,671	,093	,761	,070	,791
12 dpi	(Intercept)	883,170	0,000	,151	,698	553,992	0,000	200,074	0,000
	Ηλικία	,095	,757	,422	,516	,098	,754	,451	,502
18 dpi	(Intercept)	776,653	0,000	3,601	,058	851,953	0,000	216,289	0,000
	Ηλικία	,105	,746	2,100	,147	,036	,849	,141	,707
25 dpi	(Intercept)	<b>1281,181</b>	<b>0,000</b>	22,311	,000	<b>623,508</b>	<b>0,000</b>	207,434	0,000
	Ηλικία	<b>8,652</b>	<b>,003</b>	4,517	,034	<b>14,980</b>	<b>,000</b>	,001	,981
33 dpi	(Intercept)	1275,119	0,000	,016	,900	622,647	0,000	407,668	0,000
	Ηλικία	,048	,826	4,894	,027	1,951	,162	1,948	,163
40 dpi	(Intercept)	722,960	0,000	17,963	,000	823,174	0,000	114,712	0,000
	Ηλικία	1,167	,280	,317	,573	1,742	,187	1,559	,212
50 dpi	(Intercept)	<b>923,142</b>	<b>0,000</b>	<b>37,506</b>	<b>,000</b>	<b>450,716</b>	<b>0,000</b>	410,240	<b>0,000</b>
	Ηλικία	<b>14,221</b>	<b>,000</b>	<b>9,963</b>	<b>,002</b>	<b>11,585</b>	<b>,001</b>	10,330	<b>,001</b>
60 dpi	(Intercept)	<b>590,465</b>	<b>0,000</b>	41,222	,000	<b>230,806</b>	<b>0,000</b>	446,994	<b>0,000</b>
	Ηλικία	<b>11,200</b>	<b>,001</b>	2,765	,096	<b>15,584</b>	<b>,000</b>	10,376	<b>,001</b>
75 dpi	(Intercept)	841,454	0,000	15,601	,000	205,068	0,000	947,663	0,000
	Ηλικία	1,522	,217	1,283	,257	3,309	,069	,285	,593
90 dpi	(Intercept)	982,784	0,000	81,535	0,000	228,917	0,000	1255,487	0,000
	Ηλικία	,945	,331	1,052	,305	3,011	,083	,339	,561

Στο χόριο των εριφίων, τα WC1+ κύτταρα αυξήθηκαν σε στατιστικά σημαντικό βαθμό ( $p < 0,005$ ), σε σχέση με τις αίγες από την 12η έως την 90η ημέρα μετά την μόλυνση.

**Πίνακας 23: Σύγκριση των μέσων όρων των λεμφοκυτταρικών πληθυσμών του χορίου κατά τη διάρκεια της πειραματικής μόλυνσης σε σχέση με την ηλικία (ερίφια, αίγες).**

		CD3 ΧΟΡΙΟ		CD4 ΧΟΡΙΟ		CD8 ΧΟΡΙΟ		γδ WC1 ΧΟΡΙΟ	
		Wald Chi-Square	Sig.	Wald Chi-Square	Sig.	Wald Chi-Square	Sig.	Wald Chi-Square	Sig.
2 dpi	(Intercept)	4471,190	0,000	3238,477	0,000	1153,999	0,000	1804,228	0,000
	Ηλικία	5,192	,023	12,719	,015	2,153	,142	,013	,910
4 dpi	(Intercept)	3508,550	0,000	3699,299	0,000	1043,170	0,000	816,134	0,000
	Ηλικία	1,367	,242	,795	,373	,492	,483	,910	,340
8 dpi	(Intercept)	2736,694	0,000	1726,652	0,000	1287,958	0,000	2694,676	0,000
	Ηλικία	1,310	,252	2,210	,137	3,051	,081	9,968	,319
12 dpi	(Intercept)	2591,229	0,000	2394,674	0,000	1293,783	0,000	<b>550,160</b>	<b>0,000</b>
	Ηλικία	,131	,717	,245	,621	,537	,464	<b>,993</b>	<b>,002</b>
18 dpi	(Intercept)	4263,132	0,000	2623,099	0,000	2046,496	0,000	<b>2062,699</b>	<b>0,000</b>
	Ηλικία	2,058	,151	,201	,654	1,055	,304	<b>37,201</b>	<b>,000</b>
25 dpi	(Intercept)	22344,913	0,000	4187,122	0,000	7308,896	0,000	<b>9449,701</b>	<b>0,000</b>
	Ηλικία	11,548	,010	2,505	,114	6,181	,013	<b>91,841</b>	<b>0,000</b>
33 dpi	(Intercept)	12225,067	0,000	6883,924	0,000	4337,465	0,000	<b>3203,375</b>	<b>0,000</b>
	Ηλικία	3,345	,067	,005	,942	,006	,937	<b>11,308</b>	<b>,001</b>
40 dpi	(Intercept)	12632,887	0,000	7014,262	0,000	1849,081	0,000	<b>2239,076</b>	<b>0,000</b>
	Ηλικία	3,531	,060	2,225	,136	,743	,389	<b>8,488</b>	<b>,004</b>
50 dpi	(Intercept)	44175,014	0,000	11358,741	0,000	4721,511	0,000	<b>3839,435</b>	<b>0,000</b>
	Ηλικία	2,790	,095	,663	,415	,309	,578	<b>8,770</b>	<b>,003</b>
60 dpi	(Intercept)	9380,540	0,000	3430,864	0,000	902,670	0,000	<b>4330,047</b>	<b>0,000</b>
	Ηλικία	,181	,670	1,769	,183	,975	,323	<b>10,148</b>	<b>,001</b>
75 dpi	(Intercept)	12909,846	0,000	6301,549	0,000	2802,892	0,000	<b>8009,435</b>	<b>0,000</b>
	Ηλικία	,000	,986	,049	,825	,960	,327	<b>9,275</b>	<b>,002</b>
90 dpi	(Intercept)	13056,214	0,000	3621,859	0,000	1095,123	0,000	<b>3194,762</b>	<b>0,000</b>
	Ηλικία	,607	,436	2,600	,107	,572	,449	<b>8,252</b>	<b>,004</b>

Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο θέσεων της μόλυνσης (επιρρίνιο, ράχη) σε καμία από τις παραμέτρους που εξετάστηκαν (CD3, CD4, CD8, WC1 χορίου και επιδερμίδας).

**Πίνακας 24: Σύγκριση των μέσων όρων των λεμφοκυτταρικών πληθυσμών της επιδερμίδας κατά τη διάρκεια του πειραματισμού σε σχέση με την θέση μόλυνσης (ράχη, επιρρίνιο).**

		CD3 ΕΠΙΔΕΡΜΙΔΑ		CD4 ΕΠΙΔΕΡΜΙΔΑ		CD8 ΕΠΙΔΕΡΜΙΔΑ		γδ WC1 ΕΠΙΔΕΡΜΙΔΑ	
		Wald Chi- Square	Sig.	Wald Chi- Square	Sig.	Wald Chi- Square	Sig.	Wald Chi- Square	Sig.
2 dpi	(Intercept)	490,354	0,000	,090	,764	344,951	0,000	134,400	0,000
	Θέση μόλυνσης	,011	,916	. <sup>a</sup>		,018	,895	,345	,557
4 dpi	(Intercept)	155,705	0,000	,239	,625	58,831	,000	3,198	,074
	Θέση μόλυνσης	1,760	,185	6,048	,014	,120	,729	5,149	,023
8 dpi	(Intercept)	739,539	0,000	,339	,560	386,173	0,000	142,139	0,000
	Θέση μόλυνσης	,680	,410	3,539	,060	,009	,926	2,192	,139
12 dpi	(Intercept)	750,107	0,000	,899	,343	501,582	0,000	180,969	0,000
	Θέση μόλυνσης	2,330	,127	2,377	,123	1,350	,245	,437	,509
18 dpi	(Intercept)	702,011	0,000	2,356	,125	622,860	0,000	313,456	0,000
	Θέση μόλυνσης	7,423	,006	27,892	,000	1,618	,203	10,375	,001
25 dpi	(Intercept)	818,488	0,000	14,226	,000	389,496	0,000	251,105	0,000
	Θέση μόλυνσης	22,052	,000	8,469	,004	69,490	,000	2,044	,153
33 dpi	(Intercept)	1206,076	0,000	,093	,760	485,515	0,000	284,290	0,000
	Θέση μόλυνσης	7,378	,007	3,748	,053	9,172	,002	3,634	,057
40 dpi	(Intercept)	700,321	0,000	16,740	,000	747,157	0,000	124,203	0,000
	Θέση μόλυνσης	1,938	,164	,282	,595	1,776	,183	1,488	,223
50 dpi	(Intercept)	631,610	0,000	57,679	,000	392,109	0,000	321,372	0,000
	Θέση μόλυνσης	1,441	,230	,000	,999	3,068	,080	,947	,330
60 dpi	(Intercept)	452,260	0,000	60,873	,000	150,067	0,000	353,418	0,000
	Θέση μόλυνσης	5,816	,016	1,790	,181	8,926	,003	,845	,358
75 dpi	(Intercept)	740,205	0,000	23,410	,000	128,200	0,000	1006,560	0,000
	Θέση μόλυνσης	,312	,576	14,224	,000	,130	,719	,522	,470
90 dpi	(Intercept)	846,650	0,000	73,956	0,000	139,220	0,000	1254,442	0,000
	Θέση μόλυνσης	,128	,720	4,522	,033	,037	,847	,171	,679

**Πίνακας 25: Σύγκριση των μέσων όρων των λεμφοκυτταρικών πληθυσμών του χορίου κατά τη διάρκεια του πειραματισμού σε σχέση με την θέση μόλυνσης (ράχη, επιρρίνιο).**

		CD3 XOPIO		CD4 XOPIO		CD8 XOPIO		γδ WC1 XOPIO	
		Wald Chi-Square	Sig.	Wald Chi-Square	Sig.	Wald Chi-Square	Sig.	Wald Chi-Square	Sig.
2 dpi	(Intercept)	3446,505	0,000	1656,511	0,000	1109,179	0,000	1727,047	0,000
	Θέση μόλυνσης	,271	,602	,573	,449	3,652	,056	3,297	,069
4 dpi	(Intercept)	2392,795	0,000	3182,482	0,000	776,800	0,000	804,654	0,000
	Θέση μόλυνσης	,811	,368	,527	,468	,510	,475	1,726	,189
8 dpi	(Intercept)	2514,257	0,000	1516,235	0,000	1006,016	0,000	1384,168	0,000
	Θέση μόλυνσης	2,395	,122	3,018	,082	,286	,593	1,612	,204
12 dpi	(Intercept)	2411,440	0,000	2351,098	0,000	1177,087	0,000	535,213	0,000
	Θέση μόλυνσης	,004	,950	,035	,852	,120	,729	,054	,816
18 dpi	(Intercept)	3920,717	0,000	2481,307	0,000	1950,814	0,000	623,898	0,000
	Θέση μόλυνσης	,194	,659	,458	,498	,456	,500	2,925	,087
25 dpi	(Intercept)	10097,319	0,000	3144,110	0,000	4116,281	0,000	1133,838	0,000
	Θέση μόλυνσης	,437	,509	2,526	,112	1,177	,278	3,024	,082
33 dpi	(Intercept)	10557,726	0,000	6901,312	0,000	4507,537	0,000	2122,356	0,000
	Θέση μόλυνσης	,305	,580	,038	,845	,195	,659	,005	,945
40 dpi	(Intercept)	9382,573	0,000	5868,811	0,000	1830,296	0,000	1315,044	0,000
	Θέση μόλυνσης	1,940	,164	7,375	,007	1,701	,192	,171	,680
50 dpi	(Intercept)	33058,303	0,000	8324,133	0,000	3536,022	0,000	3470,594	0,000
	Θέση μόλυνσης	,244	,622	,458	,499	,176	,675	,026	,873
60 dpi	(Intercept)	9325,004	0,000	2939,603	0,000	846,031	0,000	2781,051	0,000
	Θέση μόλυνσης	,900	,343	,125	,723	,123	,726	6,877	,009
75 dpi	(Intercept)	12982,769	0,000	6288,718	0,000	2723,521	0,000	4462,693	0,000
	Θέση μόλυνσης	,096	,757	1,118	,290	,213	,644	,162	,687
90 dpi	(Intercept)	12504,609	0,000	3402,062	0,000	1112,296	0,000	1785,857	0,000
	Θέση μόλυνσης	,395	,530	,421	,517	,039	,843	,037	,847



### 5.3.6γ Ποιοτική ανάλυση της έκφρασης των κερατινών κατά την πειραματική μόλυνση

Στην παρούσα εργασία, η ανοσοϊστοχημική χρώση για τις κυτοκερατίνες 14, 5/6 και 19 στο υγιές δέρμα αφορούσε μόνο την βασική στιβάδα της επιδερμίδας. Στις περισσότερες βιοψίες των πρώτων ημερών της πειραματικής μόλυνσης (2-8 dpi) οι οποίες χαρακτηρίζονταν από απουσία επιδερμικής υπερπλασίας, η ανοσοϊστοχημική έκφραση των κυτοκερατινών περιοριζόταν στη βασική στιβάδα και σε μερικά κύτταρα της ακανθωτής. Στις βιοψίες με μέτρια υπερπλασία της επιδερμίδας (12-18 dpi), η κατανομή των κερατινών αφορούσε τη βασική στιβάδα και τα κατώτερα τμήματα της ακανθωτής ενώ στην πλειοψηφία των βιοψιών με υψηλή υπερπλασία της επιδερμίδας, (33-90 dpi), η ανοσοϊστοχημική χρώση παρατηρούνταν στη βασική και σε ολόκληρη την ακανθωτή στιβάδα.

Στις βιοψίες των πειραματόζων χωρίς την παρουσία ιστοπαθολογικών αλλοιώσεων (φυσαλίδες, φλύκταινες, σπογγίωση) ή ακάρεων, η ανοσοϊστοχημική έκφραση εκτείνονταν και σε σειρές κυττάρων των κατώτερων τμημάτων της ακανθωτής στιβάδας. Η ένταση της χρώσης των κυτοκερατινών όμως ήταν πιο έντονη στη βασική στιβάδα. Οι βιοψίες δέρματος των πειραματόζων στις οποίες παρατηρούνταν ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις (σπογγίωση, φυσαλίδες, φλύκταινες,) ή ακάρεα, η κατανομή των κυτοκερατινών αφορούσε στην πλειοψηφία των περιπτώσεων ολόκληρη την ακανθωτή στιβάδα. Όσο αφορά την ένταση της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης, αυτή ήταν πιο έντονη στα ανώτερα τμήματα της ακανθωτής σε σχέση με τη βασική στιβάδα.

Η κερατίνη MNF116 στην υγιή επιδερμίδα των αιγών εκφράζεται στην βασική στιβάδα και σε 2-3 στιβάδες κυττάρων της ακανθωτής. Στις βιοψίες των πειραματόζων όπου παρατηρούνταν αυξημένη υπερπλασία της επιδερμίδας (25-90 dpi) ή ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις και ακάρεα, η κερατίνη MNF116 εκφράζονταν με αυξημένη ένταση χρώσης σε ολόκληρη την ακανθωτή στιβάδα.

Για τις υπόλοιπες κερατίνες (AE1/AE3, 34BE12, 7) δεν παρατηρήθηκαν αλλαγές στην έκφραση τους στο δέρμα αιγών με σαρκοπτική ψώρα σε σχέση με το υγιές. Τέλος, δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στην έκφραση των κυτοκερατινών ανάμεσα στις ηλικιακές ομάδες και στις περιοχές των δειγματοληψιών (επιρρίνιο, ράχη).

**Πίνακας 26:** Έκφραση της κυτοκερατίνης 14 στην επιδερμίδα της ράχης εριφίων κατά την πειραματική μόλυνση (n=6)

CYTOKERATIN 14 (LL002)							
dpi	Βασική στιβάδα	Ακανθωτή στιβάδα	Κοκκώδης στιβάδα	Κεράτινη στιβάδα	Υπερπλασία	Κατανομή χρώσης	Παρουσία Αλλοίωσης
02	6+	5-/1+	-	-	-	1E/ 5Δ	+1
04	6+	6-	-	-	-	6Δ	
08	6+	4+/2++	-	-	-	2E/4Δ	+2
12	6+	3+/3++	-	-	3↓/3↔	3E/3Δ	+3
18	6+	3+/3++	-	-	4↓/2↔	3E/3Δ	+3
25	6+	3+/3++	-	-	3↔/3↑	3E/3Δ	+3
33	6+	2+/4++	-	-	2↔/4↑	2E/4Δ	+2
40	6+	2+/3++	-	-	2↔/4↑	3E/3Δ	+3
50	6+	2+/4++	-	-	2↔/4↑	4E/2Δ	+4
60	6+	1+/5++	-	-	1↔/5↑	5E/1Δ	+5
75	6+	6++	-	-	6↑	4E/2Δ	+4
90	6+	6++	-	-	6↑	4E/2Δ	+4

\*Υπερπλασία επιδερμίδας -: φυσιολογικό (1-5 σειρές κυττάρων), ↓: ήπια υπερπλασία (6-12 σειρές κυττάρων), ↔: μέτρια υπερπλασία (12-18 σειρές κυττάρων), ↑: έντονη υπερπλασία (18-30 σειρές κυττάρων).

\*\* Δ: διάχυτη κατανομή της χρώσης E: εστιακή κατανομή της χρώσης

**Πίνακας 27:** Έκφραση της κυτοκερατίνης 14 στην επιδερμίδα του επιρρίνιου εριφίων κατά την πειραματική μόλυνση (n=6)

CYTOKERATIN 14 (LL002)							
dpi	Βασική στιβάδα	Ακανθωτή στιβάδα	Κοκκώδης στιβάδα	Κεράτινη στιβάδα	Υπερπλασία	Κατανομή χρώσης	Παρουσία Αλλοίωσης
02	6+	5-/1+	-	-	-	1E /5Δ	+1
04	6+	3-/3+	-	-	-	3E/3Δ	+3
08	6+	3+/3++	-	-	-	3E/3Δ	+3
12	6+	+4/2++	-	-	6↓	2E/4Δ	+2
18	6+	6+	-	-	4↓//2↔	6Δ	-
25	6+	3+/ 3++	-	-	3↔H/3↑	3E/3Δ	+3
33	6+	3+/ 3++	-	-	3↔H/3↑	3E/3Δ	+3
40	6+	2+/ 4++	-	-	2↔H/ 4↑	4E/2Δ	+4
50	6+	1+/ 5++	-	-	1↔H/ 5↑	4E/2Δ	+4
60	6+	++6	-	-	6↑	1E/5Δ	+1
75	6+	++6	-	-	6↑	6Δ	+6
90	6+	++6	-	-	6↑	4E/2Δ	+4

\*Υπερπλασία επιδερμίδας -: φυσιολογικό (1-5 σειρές κυττάρων), ↓: ήπια υπερπλασία (6-12 σειρές κυττάρων), ↔: μέτρια υπερπλασία (12-18 σειρές κυττάρων), ↑: έντονη υπερπλασία (18-30 σειρές κυττάρων).

\*\* Δ: διάχυτη κατανομή της χρώσης E: εστιακή κατανομή της χρώσης

Πίνακας 28: Έκφραση της κυτοκερατίνης 14 στην επιδερμίδα της ράχης αιγών κατά την πειραματική μόλυνση (n=6)

CYTOKERATIN 14 (LL002)							
dpi	Βασική στιβάδα	Ακανθωτή στιβάδα	Κοκκώδης στιβάδα	Κεράτινη στιβάδα	Υπερπλασία	Κατανομή χρώσης	Παρουσία Αλλοίωσης
02	6+	5-/1+	-	-	6-	1E /5Δ	+1
04	6+	5-/1+	-	-	6-	1E /5Δ	+1
08	6+	4+/2++	-	-	1↓/5-	2E /4Δ	+2
12	6+	2+/4++	-	-	2↓/4-	4E /2Δ	+4
18	6+	1+/5++	-	-	4↓/2↔	5E /1Δ	+5
25	6+	2+/4++	-	-	3↔/3↑	4E /2Δ	+4
33	6+	1+/5++	-	-	1↔/5↑	1E /5Δ	+1
40	6+	2+/4++	-	-	1↔/5↑	4E /2Δ	+4
50	6+	1+/5++	-	-	1↔/5↑	5E /1Δ	+5
60	6+	1+/5++	-	-	1↔/5↑	3E /2Δ	+3
75	6+	3+/3++	-	-	3↔/3↑	2E /4Δ	+2
90	6+	1+/5++	-	-	1↔/5↑	1E /5Δ	+2

\*Υπερπλασία επιδερμίδας -: φυσιολογικό (1-5 σειρές κυττάρων), ↓: ήπια υπερπλασία (6-12 σειρές κυττάρων), ↔: μέτρια υπερπλασία (12-18 σειρές κυττάρων), ↑: έντονη υπερπλασία (18-30 σειρές κυττάρων).

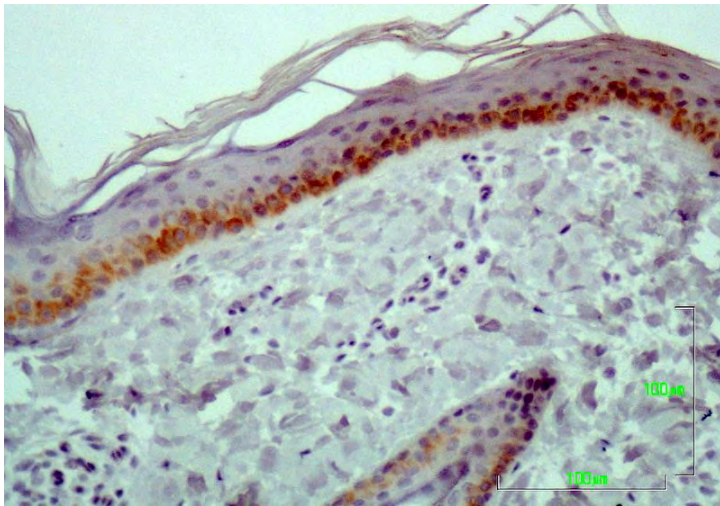
\*\* Δ: διάχυτη κατανομή της χρώσης E: εστιακή κατανομή της χρώσης

Πίνακας 29: Έκφραση της κυτοκερατίνης 14 στην επιδερμίδα του επιρρίνιου αιγών κατά την πειραματική μόλυνση (n=6)

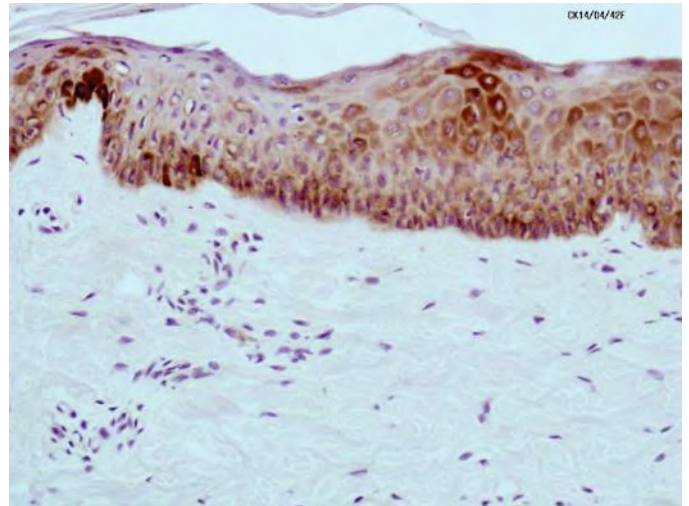
CYTOKERATIN 14 (LL002)							
dpi	Βασική στιβάδα	Ακανθωτή στιβάδα	Κοκκώδης στιβάδα	Κεράτινη στιβάδα	Υπερπλασία	Κατανομή χρώσης	Παρουσία Αλλοίωσης
02	6+	6-	-	-	-	2E/4Δ	+2
04	6+	4-/2+	-	-	-	2E/4Δ	+2
08	6+	5+/1++	-	-	-	1E/5Δ	+1
12	6+	2+/4++	-	-	2↓/4-	2E/4Δ	+2
18	6+	5+/1++	-	-	2↓/4↔	1E/5Δ	+1
25	6+	+3/3++	-	-	5↔/1↑	3E/3Δ	+3
33	6+	3+/3++	-	-	3↔/3↑	2E/4Δ	+2
40	6+	4+/2++	-	-	2↔H/↑	2E/4Δ	+2
50	6+	3+/+++3	-	-	3↔/3↑	3Δ/3E	+3
60	6+	1+/5++	-	-	1↔/5↑	4E/2Δ	+4
75	6+	2+/4++	-	-	2↔/4↑	6Δ	+4
90	6+	1+/5++	-	-	1↔/5↑	6Δ	+4

\*Υπερπλασία επιδερμίδας -: φυσιολογικό (1-5 σειρές κυττάρων), ↓: ήπια υπερπλασία (6-12 σειρές κυττάρων), ↔: μέτρια υπερπλασία (12-18 σειρές κυττάρων), ↑: έντονη υπερπλασία (18-30 σειρές κυττάρων).

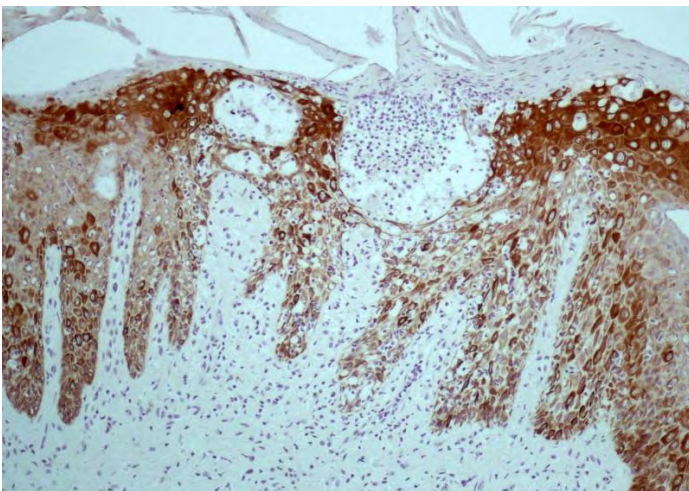
\*\* Δ: διάχυτη κατανομή της χρώσης E: εστιακή κατανομή της χρώσης



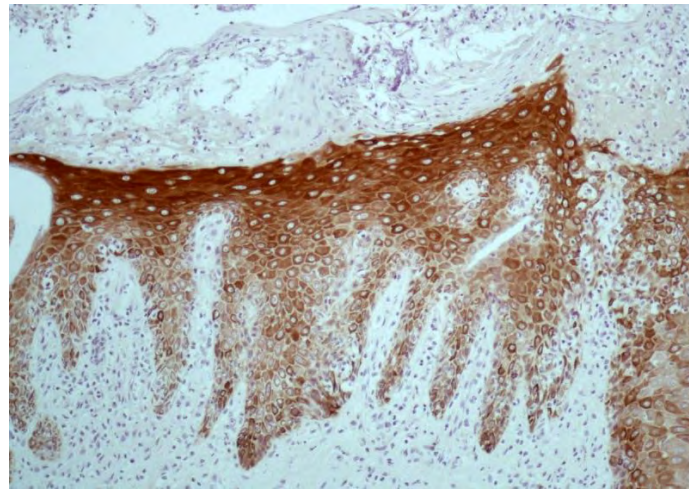
**Εικόνα 69:** Ανοσοϊστοχημική χρώση κυτοκερατίνης 14 σε φυσιολογική επιδερμίδα αίγας (x100).



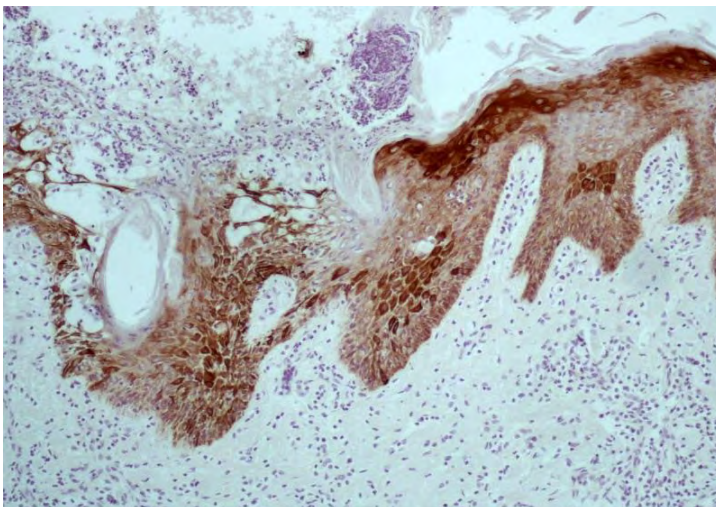
**Εικόνα 70:** Ανοσοϊστοχημική χρώση κυτοκερατίνης 14 σε βιοψία επιρρινίου αίγας την 4<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης (x100).



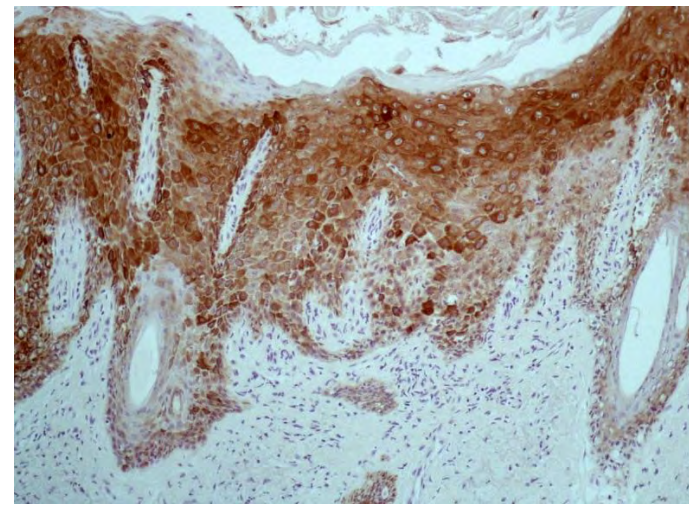
**Εικόνα 71:** Ανοσοϊστοχημική χρώση κυτοκερατίνης 14 σε βιοψία επιρρινίου αίγας την 18<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης (x100).



**Εικόνα 72:** Ανοσοϊστοχημική χρώση κυτοκερατίνης 14 σε βιοψία επιρρινίου αίγας την 25<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης (x100).



**Εικόνα 73:** Ανοσοϊστοχημική χρώση κυτοκερατίνης 14 σε βιοψία επιρρινίου αίγας την 40<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης (x100).



**Εικόνα 74:** Ανοσοϊστοχημική χρώση κυτοκερατίνης 14 σε βιοψία επιρρινίου αίγας την 90<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης (x100).

**Πίνακας 30:** Έκφραση της κυτοκερατίνης 19 στην επιδερμίδα της ράχης εριφίων κατά την πειραματική μόλυνση (n=6)

CYTOKERATIN 19 (b170)							
dpi	Βασική στιβάδα	Ακανθωτή στιβάδα	Κοκκώδης στιβάδα	Κεράτινη στιβάδα	Υπερπλασία	Κατανομή χρώσης	Παρουσία Αλλοίωσης
02	6+	6-	-	-	-	1E/ 5Δ	+1
04	6+	6-	-	-	-	6Δ	
08	6+	4+/2++	-	-	-	2E/4Δ	+2
12	6+	3+/3++	-	-	3↓/3↔	3E/3Δ	+3
18	6+	3+/3++	-	-	4↓/2↔	3E/3Δ	+3
25	6+	3+/3++	-	-	3↔/3↑	3E/3Δ	+3
33	6+	2+/4++	-	-	2↔/4↑	2E/4Δ	+2
40	6+	2+/3++	-	-	2↔/4↑	3E/3Δ	+3
50	6+	2+/4++	-	-	2↔/4↑	4E/2Δ	+4
60	6+	1+/5++	-	-	1↔/5↑	5E/1Δ	+5
75	6+	6++	-	-	6↑	4E/2Δ	+4
90	6+	6++	-	-	6↑	4E/2Δ	+4

\*Υπερπλασία επιδερμίδας -: φυσιολογικό (1-5 σειρές κυττάρων), ↓: ήπια υπερπλασία (6-12 σειρές κυττάρων), ↔: μέτρια υπερπλασία (12-18 σειρές κυττάρων), ↑: έντονη υπερπλασία (18-30 σειρές κυττάρων).

\*\* Δ: διάχυτη κατανομή της χρώσης E: εστιακή κατανομή της χρώσης

**Πίνακας 31:** Έκφραση της κυτοκερατίνης 19 στην επιδερμίδα του επιρρίνιου εριφίων κατά την πειραματική μόλυνση (n=6)

CYTOKERATIN 19 (b170)							
dpi	Βασική στιβάδα	Ακανθωτή στιβάδα	Κοκκώδης στιβάδα	Κεράτινη στιβάδα	Υπερπλασία	Κατανομή χρώσης	Παρουσία Αλλοίωσης
02	6+	6-	-	-	-	1E /5Δ	+1
04	6+	6-	-	-	-	3E/3Δ	+3
08	6+	3+/3++	-	-	-	3E/3Δ	+3
12	6+	+4/2++	-	-	6↓	2E/4Δ	+2
18	6+	6+	-	-	4↓//2↔	6Δ	-
25	6+	3+/ 3++	-	-	3↔/3↑	3E/3Δ	+3
33	6+	3+/ 3++	-	-	3↔/3↑	3E/3Δ	+3
40	6+	2+/ 4++	-	-	2↔/ 4↑	4E/2Δ	+4
50	6+	1+/ 5++	-	-	1↔/ 5↑	4E/2Δ	+4
60	6+	++6	-	-	6↑	1E/5Δ	+1
75	6+	++6	-	-	6↑	6Δ	+6
90	6+	++6	-	-	6↑	4E/2Δ	+4

\*Υπερπλασία επιδερμίδας -: φυσιολογικό (1-5 σειρές κυττάρων), ↓: ήπια υπερπλασία (6-12 σειρές κυττάρων), ↔: μέτρια υπερπλασία (12-18 σειρές κυττάρων), ↑: έντονη υπερπλασία (18-30 σειρές κυττάρων).

\*\* Δ: διάχυτη κατανομή της χρώσης E: εστιακή κατανομή της χρώσης

Πίνακας 32: Έκφραση της κυτοκερατίνης 19 στην επιδερμίδα της ράχης αιγών κατά την πειραματική μόλυνση (n=6)

CYTOKERATIN 19 (b170)							
dpi	Βασική στιβάδα	Ακανθωτή στιβάδα	Κοκκώδης στιβάδα	Κεράτινη στιβάδα	Υπερπλασία	Κατανομή χρώσης	Παρουσία Αλλοίωσης
02	6+	6-	-	-	6-	1E /5Δ	+1
04	6+	6-	-	-	6-	1E /5Δ	+1
08	6+	4+/2++	-	-	1↓/5-	2E /4Δ	+2
12	6+	2+/4++	-	-	2↓/4-	4E /2Δ	+4
18	6+	1+/5++	-	-	4↓/2↔	5E /1Δ	+5
25	6+	2+/4++	-	-	3↔/3↑	4E /2Δ	+4
33	6+	1+/5++	-	-	1↔/5↑	1E /5Δ	+1
40	6+	2+/4++	-	-	1↔/5↑	4E /2Δ	+4
50	6+	1+/5++	-	-	1↔/5↑	5E /1Δ	+5
60	6+	1+/5++	-	-	1↔/5↑	3E /2Δ	+3
75	6+	3+/3++	-	-	3↔/3↑	2E /4Δ	+2
90	6+	1+/5++	-	-	1↔/5↑	1E /5Δ	+2

\*Υπερπλασία επιδερμίδας -: φυσιολογικό (1-5 σειρές κυττάρων), ↓: ήπια υπερπλασία (6-12 σειρές κυττάρων), ↔: μέτρια υπερπλασία (12-18 σειρές κυττάρων), ↑: έντονη υπερπλασία (18-30 σειρές κυττάρων).

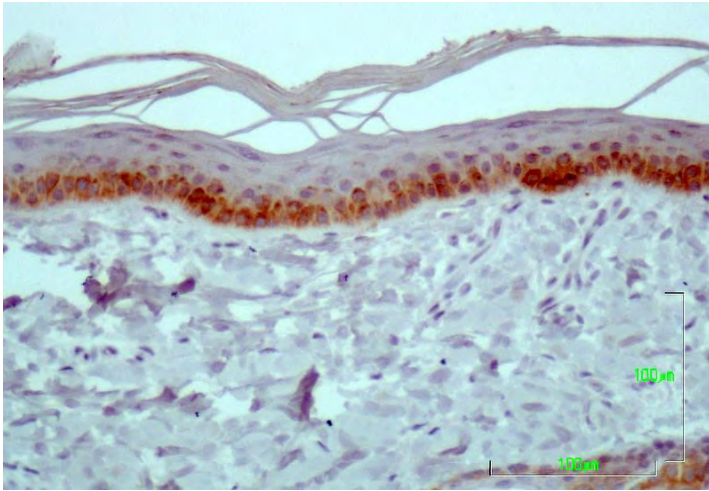
\*\* Δ: διάχυτη κατανομή της χρώσης E: εστιακή κατανομή της χρώσης

Πίνακας 33: Έκφραση της κυτοκερατίνης 19 στην επιδερμίδα του επιρρίνιου αιγών κατά την πειραματική μόλυνση (n=6)

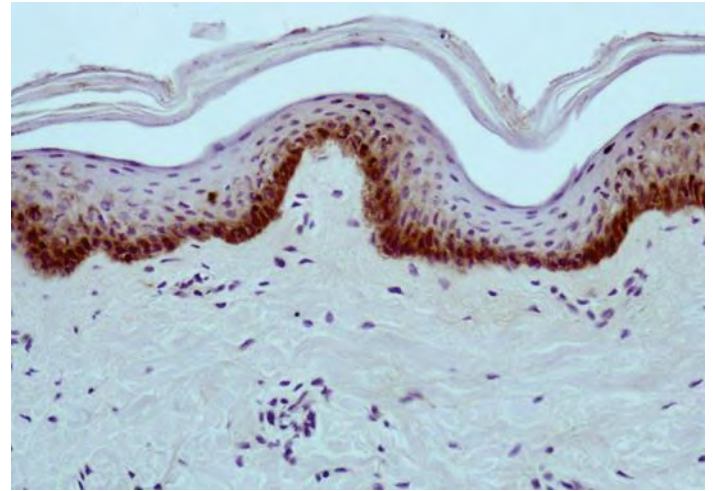
CYTOKERATIN 19 (b170)							
dpi	Βασική στιβάδα	Ακανθωτή στιβάδα	Κοκκώδης στιβάδα	Κεράτινη στιβάδα	Υπερπλασία	Κατανομή χρώσης	Παρουσία Αλλοίωσης
02	6+	6-	-	-	-	2E/4Δ	+2
04	6+	6-	-	-	-	2E/4Δ	+2
08	6+	5+/1++	-	-	-	1E/5Δ	+1
12	6+	2+/4++	-	-	2↓/4-	2E/4Δ	+2
18	6+	5+/1++	-	-	2↓/4↔	1E/5Δ	+1
25	6+	+3/3++	-	-	5↔/1↑	3E/3Δ	+3
33	6+	3+/3++	-	-	3↔/3↑	2E/4Δ	+2
40	6+	4+/2++	-	-	2↔/4↑	2E/4Δ	+2
50	6+	3+/+++3	-	-	3↔/3↑	3Δ/3E	+3
60	6+	1+/5++	-	-	1↔/5↑	4E/2Δ	+4
75	6+	2+/4++	-	-	2↔/4↑	6Δ	+4
90	6+	1+/5++	-	-	1↔/5↑	6Δ	+4

\*Υπερπλασία επιδερμίδας -: φυσιολογικό (1-5 σειρές κυττάρων), ↓: ήπια υπερπλασία (6-12 σειρές κυττάρων), ↔: μέτρια υπερπλασία (12-18 σειρές κυττάρων), ↑: έντονη υπερπλασία (18-30 σειρές κυττάρων).

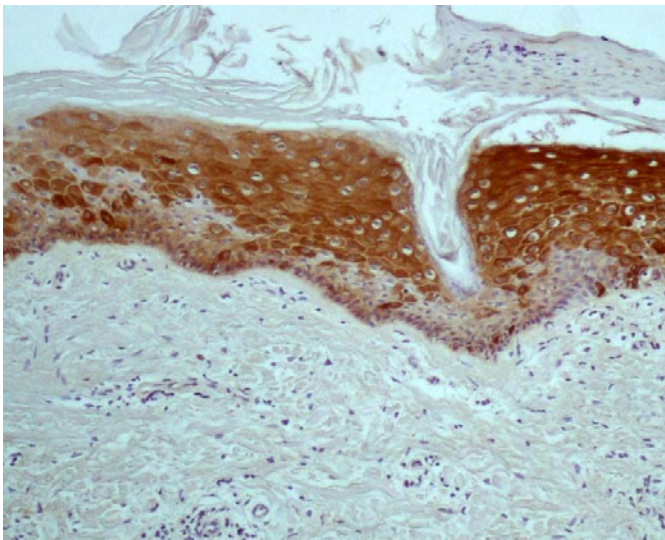
\*\* Δ: διάχυτη κατανομή της χρώσης E: εστιακή κατανομή της χρώσης



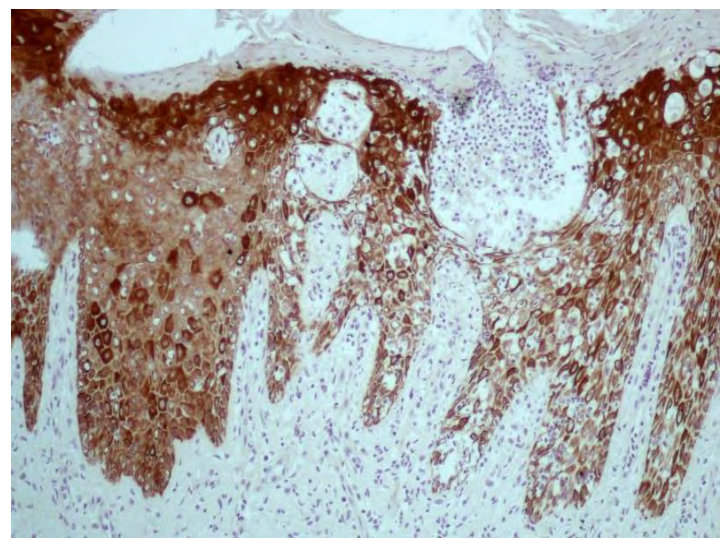
**Εικόνα 75:** Ανοσοϊστοχημική χρώση της κερατίνης 19 σε φυσιολογική επιδερμίδα αίγας (x100).



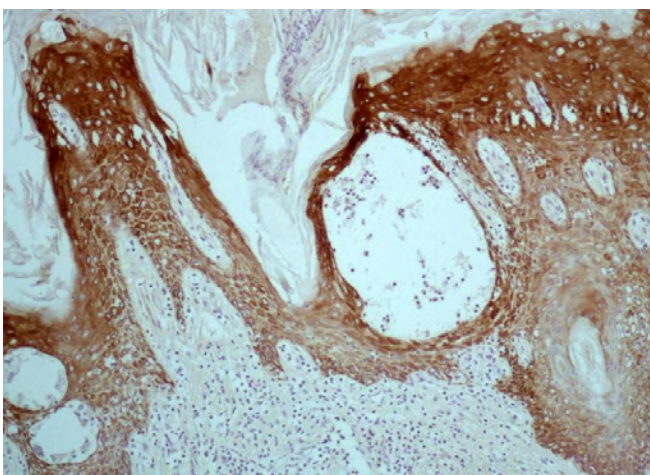
**Εικόνα 76:** Ανοσοϊστοχημική χρώση της κερατίνης 19 σε βιοψία επιρρινίου αίγας την 2<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης (x100).



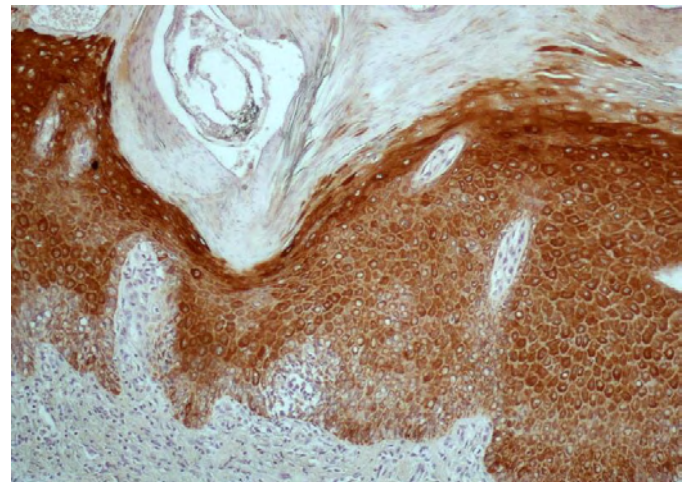
**Εικόνα 77:** Ανοσοϊστοχημική χρώση της κερατίνης 19 σε βιοψία επιρρινίου αίγας την 8<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης (x100).



**Εικόνα 78:** Ανοσοϊστοχημική χρώση της κερατίνης 19 σε βιοψία επιρρινίου αίγας την 12<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης (x100).



**Εικόνα 79:** Ανοσοϊστοχημική χρώση της κερατίνης 19 σε βιοψία επιρρινίου αίγας την 60<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης (x100).



**Εικόνα 80:** Ανοσοϊστοχημική χρώση της κερατίνης 19 σε βιοψία επιρρινίου αίγας την 90<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης (x100).

**Πίνακας 34:** Έκφραση της κυτοκερατίνης 5/6 στην επιδερμίδα της ράχης εριφίων κατά την πειραματική μόλυνση (n=6)

CYTOKERATIN 5/6 (D5/16 B4)							
dpi	Βασική στιβάδα	Ακανθωτή στιβάδα	Κοκκώδης στιβάδα	Κεράτινη στιβάδα	Υπερπλασία	Κατανομή χρώσης	Παρουσία Αλλοίωσης
02	6+	1+/5++	-	-	-	1E/ 5Δ	+1
04	6+	6+	-	-	-	6Δ	
08	6+	4+/2++	-	-	-	2E/4Δ	+2
12	6+	3+/3++	-	-	3↓/3↔	3E/3Δ	+3
18	6+	3+/3++	-	-	4↓/2↔	3E/3Δ	+3
25	6+	3+/3++	-	-	3↔/3↑	3E/3Δ	+3
33	6+	4+/2++	-	-	2↔/4↑	2E/4Δ	+2
40	6+	3+/3++	-	-	2↔/4↑	3E/3Δ	+3
50	6+	2+/4++	-	-	2↔/4↑	4E/2Δ	+4
60	6+	1+/5++	-	-	1↔/5↑	5E/1Δ	+5
75	6+	2+/4++	-	-	6↑	4E/2Δ	+4
90	6+	2+/4++	-	-	6↑	4E/2Δ	+4

\*Υπερπλασία επιδερμίδας -: φυσιολογικό (1-5 σειρές κυττάρων), ↓: ήπια υπερπλασία (6-12 σειρές κυττάρων), ↔: μέτρια υπερπλασία (12-18 σειρές κυττάρων), ↑: έντονη υπερπλασία (18-30 σειρές κυττάρων).

\*\* Δ: διάχυτη κατανομή της χρώσης E: εστιακή κατανομή της χρώσης

**Πίνακας 35:** Έκφραση της κυτοκερατίνης 5/6 στην επιδερμίδα του επιρρίνιου εριφίων κατά την πειραματική μόλυνση (n=6)

CYTOKERATIN 5/6 (D5/16 B4)							
dpi	Βασική στιβάδα	Ακανθωτή στιβάδα	Κοκκώδης στιβάδα	Κεράτινη στιβάδα	Υπερπλασία	Κατανομή χρώσης	Παρουσία Αλλοίωσης
02	6+	1+/5++	-	-	-	1E /5Δ	+1
04	6+	3+/3++	-	-	-	3E/3Δ	+3
08	6+	3+/3++	-	-	-	3E/3Δ	+3
12	6+	+4/2++	-	-	6↓	2E/4Δ	+2
18	6+	6+	-	-	4↓//2↔	6Δ	-
25	6+	3+/ 3++	-	-	3↔/3↑	3E/3Δ	+3
33	6+	3+/ 3++	-	-	3↔/3↑	3E/3Δ	+3
40	6+	2+/ 4++	-	-	2↔/ 4↑	4E/2Δ	+4
50	6+	2+/ 4++	-	-	1↔/ 5↑	4E/2Δ	+4
60	6+	++6	-	-	6↑	1E/5Δ	+1
75	6+	++6	-	-	6↑	6Δ	+6
90	6+	++6	-	-	6↑	4E/2Δ	+4

\*Υπερπλασία επιδερμίδας -: φυσιολογικό (1-5 σειρές κυττάρων), ↓: ήπια υπερπλασία (6-12 σειρές κυττάρων), ↔: μέτρια υπερπλασία (12-18 σειρές κυττάρων), ↑: έντονη υπερπλασία (18-30 σειρές κυττάρων).

\*\* Δ: διάχυτη κατανομή της χρώσης E: εστιακή κατανομή της χρώσης



Πίνακας 36: Έκφραση της κυτοκερατίνης 5/6 στην επιδερμίδα της ράχης αιγών κατά την πειραματική μόλυνση (n=6)

CYTOKERATIN 5/6 (D5/16 B4)							
dpi	Βασική στιβάδα	Ακανθωτή στιβάδα	Κοκκώδης στιβάδα	Κεράτινη στιβάδα	Υπερπλασία	Κατανομή χρώσης	Παρουσία Αλλοίωσης
02	6+	5+/1++	-	-	6-	1E /5Δ	+1
04	6+	5+/1++	-	-	6-	1E /5Δ	+1
08	6+	4+/2++	-	-	1↓/5-	2E /4Δ	+2
12	6+	2+/4++	-	-	2↓/4-	4E /2Δ	+4
18	6+	1+/5++	-	-	4↓/2↔	5E /1Δ	+5
25	6+	2+/4++	-	-	3↔/3↑	4E /2Δ	+4
33	6+	5+/1++	-	-	1↔/5↑	1E /5Δ	+1
40	6+	2+/4++	-	-	1↔/5↑	4E /2Δ	+4
50	6+	1+/5++	-	-	1↔/5↑	5E /1Δ	+5
60	6+	3+/3++	-	-	1↔/5↑	3E /2Δ	+3
75	6+	3+/3++	-	-	3↔/3↑	2E /4Δ	+2
90	6+	1+/5++	-	-	1↔/5↑	1E /5Δ	+2

\*Υπερπλασία επιδερμίδας -: φυσιολογικό (1-5 σειρές κυττάρων), ↓: ήπια υπερπλασία (6-12 σειρές κυττάρων), ↔: μέτρια υπερπλασία (12-18 σειρές κυττάρων), ↑: έντονη υπερπλασία (18-30 σειρές κυττάρων).

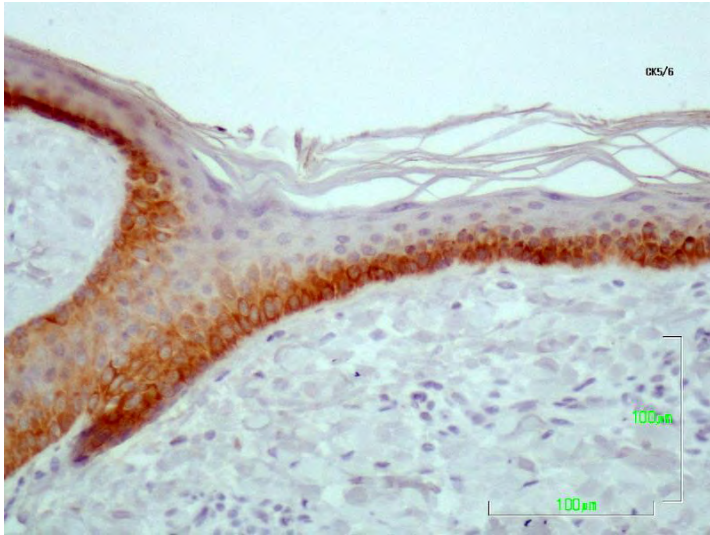
\*\* Δ: διάχυτη κατανομή της χρώσης E: εστιακή κατανομή της χρώσης

Πίνακας 37: Έκφραση της κυτοκερατίνης 5/6 στην επιδερμίδα του επιρρίνιου αιγών κατά την πειραματική μόλυνση (n=6)

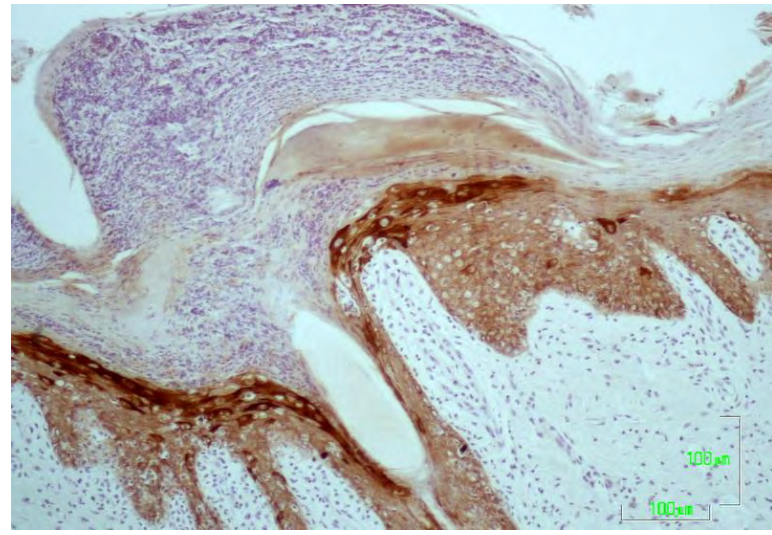
CYTOKERATIN 5/6 (D5/16 B4)							
dpi	Βασική στιβάδα	Ακανθωτή στιβάδα	Κοκκώδης στιβάδα	Κεράτινη στιβάδα	Υπερπλασία	Κατανομή χρώσης	Παρουσία Αλλοίωσης
02	6+	4+/2++	-	-	-	2E/4Δ	+2
04	6+	4+/2++	-	-	-	2E/4Δ	+2
08	6+	5+/1++	-	-	-	1E/5Δ	+1
12	6+	4+/2++	-	-	2↓/4-	2E/4Δ	+2
18	6+	5+/1++	-	-	2↓/4↔	1E/5Δ	+1
25	6+	+3/3++	-	-	5↔/1↑	3E/3Δ	+3
33	6+	4+/2++	-	-	3↔/3↑	2E/4Δ	+2
40	6+	4+/2++	-	-	2↔/4↑	2E/4Δ	+2
50	6+	3+/+++3	-	-	3↔/3↑	3Δ/3E	+3
60	6+	2+/4++	-	-	1↔/5↑	4E/2Δ	+4
75	6+	2+/4++	-	-	2↔/4↑	6Δ	+4
90	6+	2+/4++	-	-	1↔/5↑	6Δ	+4

\*Υπερπλασία επιδερμίδας -: φυσιολογικό (1-5 σειρές κυττάρων), ↓: ήπια υπερπλασία (6-12 σειρές κυττάρων), ↔: μέτρια υπερπλασία (12-18 σειρές κυττάρων), ↑: έντονη υπερπλασία (18-30 σειρές κυττάρων).

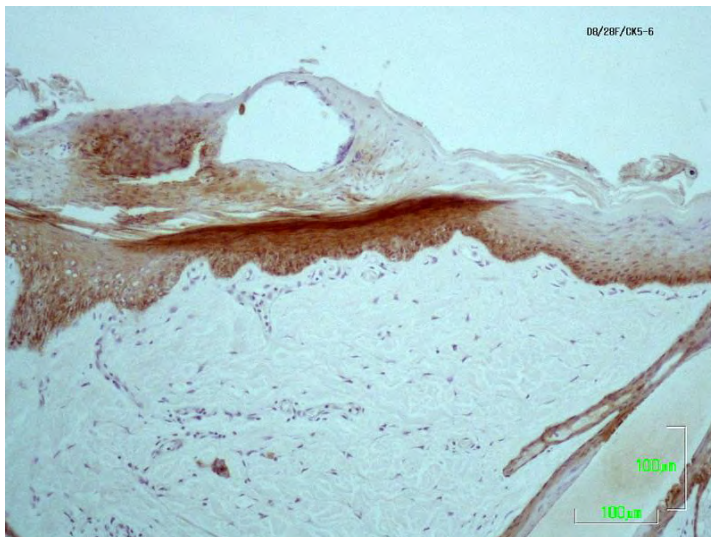
\*\* Δ: διάχυτη κατανομή της χρώσης E: εστιακή κατανομή της χρώσης



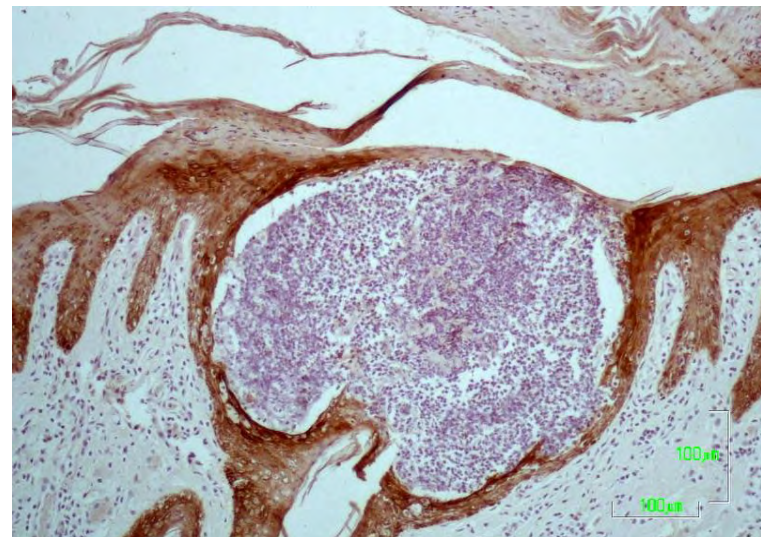
**Εικόνα 81:** Ανοσοϊστοχημική χρώση της κερατίνης 5/6 σε φυσιολογική επιδερμίδα αίγας (x100).



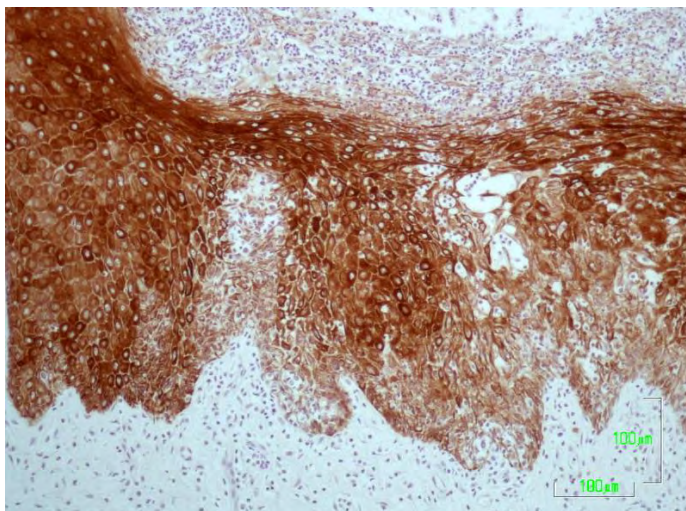
**Εικόνα 82:** Ανοσοϊστοχημική χρώση της κερατίνης 5/6 σε βιοψία επιρρινίου αίγας την 2<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης (x100).



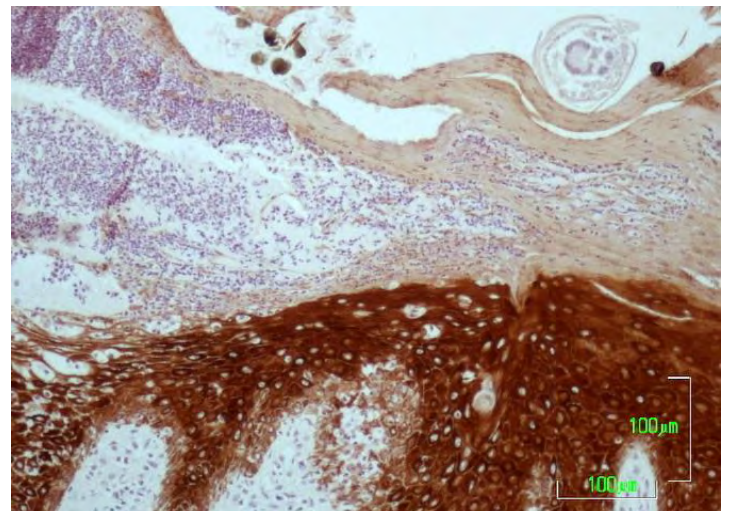
**Εικόνα 83:** Ανοσοϊστοχημική χρώση της κερατίνης 5/6 σε βιοψία επιρρινίου αίγας την 8<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης (x100).



**Εικόνα 84:** Ανοσοϊστοχημική χρώση της κερατίνης 5/6 σε βιοψία επιρρινίου αίγας την 18<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης (x100).



**Εικόνα 85:** Ανοσοϊστοχημική χρώση της κερατίνης 5/6 σε βιοψία επιρρινίου αίγας την 33<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης (x100).



**Εικόνα 86:** Ανοσοϊστοχημική χρώση της κερατίνης 5/6 σε βιοψία επιρρινίου αίγας την 60<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης (x100).

**Πίνακας 38:** Έκφραση της κυτοκερατίνης MNF116 στην επιδερμίδα της ράχης εριφίων κατά την πειραματική μόλυνση (n=6)

MNF116							
dpi	Βασική στιβάδα	Ακανθωτή στιβάδα	Κοκκώδης στιβάδα	Κεράτινη στιβάδα	Υπερπλασία	Κατανομή χρώσης	Παρουσία Αλλοίωσης
02	6+	1+/5++	-	-	-	1E/ 5Δ	+1
04	6+	6+	-	-	-	6Δ	
08	6+	4+/2++	-	-	-	2E/4Δ	+2
12	6+	3+/3++	-	-	3↓/3↔	3E/3Δ	+3
18	6+	3+/3++	-	-	4↓/2↔	3E/3Δ	+3
25	6+	3+/3++	-	-	3↔/3↑	3E/3Δ	+3
33	6+	2+/4++	-	-	2↔/4↑	2E/4Δ	+2
40	6+	2+/4++	-	-	2↔/4↑	3E/3Δ	+3
50	6+	2+/4++	-	-	2↔/4↑	4E/2Δ	+4
60	6+	1+/5++	-	-	1↔/5↑	5E/1Δ	+5
75	6+	6++	-	-	6↑	4E/2Δ	+4
90	6+	6++	-	-	6↑	4E/2Δ	+4

\*Υπερπλασία επιδερμίδας -: φυσιολογικό (1-5 σειρές κυττάρων), ↓: ήπια υπερπλασία (6-12 σειρές κυττάρων), ↔: μέτρια υπερπλασία (12-18 σειρές κυττάρων), ↑: έντονη υπερπλασία (18-30 σειρές κυττάρων).

\*\* Δ: διάχυτη κατανομή της χρώσης E: εστιακή κατανομή της χρώσης

**Πίνακας 39:** Έκφραση της κυτοκερατίνης MNF116 στην επιδερμίδα του επιρρίνιου εριφίων κατά την πειραματική μόλυνση (n=6)

MNF116							
dpi	Βασική στιβάδα	Ακανθωτή στιβάδα	Κοκκώδης στιβάδα	Κεράτινη στιβάδα	Υπερπλασία	Κατανομή χρώσης	Παρουσία Αλλοίωσης
02	6+	1+/5++	-	-	-	1E /5Δ	+1
04	6+	3+/3++	-	-	-	3E/3Δ	+3
08	6+	3+/3++	-	-	-	3E/3Δ	+3
12	6+	+4/2++	-	-	6↓	2E/4Δ	+2
18	6+	6+	-	-	4↓//2↔	6Δ	-
25	6+	3+/ 3++	-	-	3↔/3↑	3E/3Δ	+3
33	6+	3+/ 3++	-	-	3↔/3↑	3E/3Δ	+3
40	6+	2+/ 4++	-	-	2↔/ 4↑	4E/2Δ	+4
50	6+	1+/ 5++	-	-	1↔/ 5↑	4E/2Δ	+4
60	6+	++6	-	-	6↑	1E/5Δ	+1
75	6+	++6	-	-	6↑	6Δ	+6
90	6+	++6	-	-	6↑	4E/2Δ	+4

\*Υπερπλασία επιδερμίδας -: φυσιολογικό (1-5 σειρές κυττάρων), ↓: ήπια υπερπλασία (6-12 σειρές κυττάρων), ↔: μέτρια υπερπλασία (12-18 σειρές κυττάρων), ↑: έντονη υπερπλασία (18-30 σειρές κυττάρων).

\*\* Δ: διάχυτη κατανομή της χρώσης E: εστιακή κατανομή της χρώσης

**Πίνακας 40:** Έκφραση της κυτοκερατίνης MNF116 στην επιδερμίδα της ράχης αιγών κατά την πειραματική μόλυνση (n=6)

MNF116							
dpi	Βασική στιβάδα	Ακανθωτή στιβάδα	Κοκκώδης στιβάδα	Κεράτινη στιβάδα	Υπερπλασία	Κατανομή χρώσης	Παρουσία Αλλοίωσης
02	6+	5+/1++	-	-	6-	1E /5Δ	+1
04	6+	5+/1++	-	-	6-	1E /5Δ	+1
08	6+	4+/2++	-	-	1↓/5-	2E /4Δ	+2
12	6+	2+/4++	-	-	2↓/4-	4E /2Δ	+4
18	6+	1+/5++	-	-	4↓/2↔	5E /1Δ	+5
25	6+	3+/3++	-	-	3↔/3↑	4E /2Δ	+4
33	6+	1+/5++	-	-	1↔/5↑	1E /5Δ	+1
40	6+	1+/5++	-	-	1↔/5↑	4E /2Δ	+4
50	6+	1+/5++	-	-	1↔/5↑	5E /1Δ	+5
60	6+	1+/5++	-	-	1↔/5↑	3E /2Δ	+3
75	6+	3+/3++	-	-	3↔/3↑	2E /4Δ	+2
90	6+	1+/5++	-	-	1↔/5↑	1E /5Δ	+2

\*Υπερπλασία επιδερμίδας -: φυσιολογικό (1-5 σειρές κυττάρων), ↓: ήπια υπερπλασία (6-12 σειρές κυττάρων), ↔: μέτρια υπερπλασία (12-18 σειρές κυττάρων), ↑: έντονη υπερπλασία (18-30 σειρές κυττάρων).

\*\* Δ: διάχυτη κατανομή της χρώσης E: εστιακή κατανομή της χρώσης

**Πίνακας 41:** Έκφραση της κυτοκερατίνης 5/6 στην επιδερμίδα του επιρρίνιου αιγών κατά την πειραματική μόλυνση (n=6)

MNF116							
dpi	Βασική στιβάδα	Ακανθωτή στιβάδα	Κοκκώδης στιβάδα	Κεράτινη στιβάδα	Υπερπλασία	Κατανομή χρώσης	Παρουσία Αλλοίωσης
02	6+	4+/2++	-	-	-	2E/4Δ	+2
04	6+	4+/2++	-	-	-	2E/4Δ	+2
08	6+	5+/1++	-	-	-	1E/5Δ	+1
12	6+	4+/2++	-	-	2↓/4-	2E/4Δ	+2
18	6+	2+/4++	-	-	2↓/4↔	1E/5Δ	+1
25	6+	+5/1++	-	-	5↔/1↑	3E/3Δ	+3
33	6+	3+/3++	-	-	3↔/3↑	2E/4Δ	+2
40	6+	2+/4++	-	-	2↔/4↑	2E/4Δ	+2
50	6+	3+/+++3	-	-	3↔/3↑	3Δ/3E	+3
60	6+	1+/5++	-	-	1↔/5↑	4E/2Δ	+4
75	6+	6++	-	-	2↔/4↑	6Δ	+4
90	6+	6++	-	-	1↔/5↑	6Δ	+4

\*Υπερπλασία επιδερμίδας -: φυσιολογικό (1-5 σειρές κυττάρων), ↓: ήπια υπερπλασία (6-12 σειρές κυττάρων), ↔: μέτρια υπερπλασία (12-18 σειρές κυττάρων), ↑: έντονη υπερπλασία (18-30 σειρές κυττάρων).

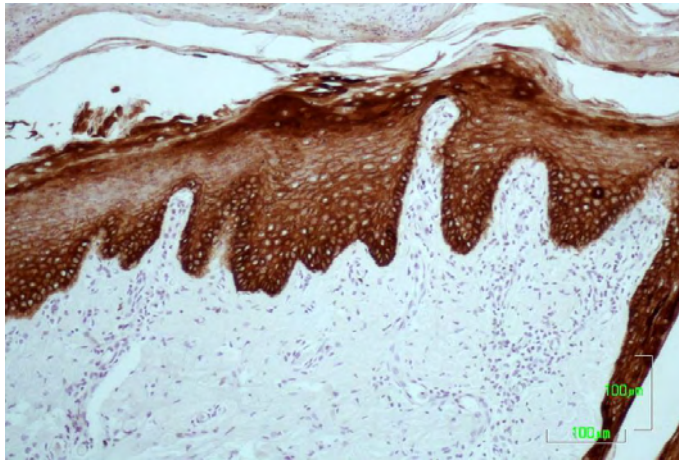
\*\* Δ: διάχυτη κατανομή της χρώσης E: εστιακή κατανομή της χρώσης



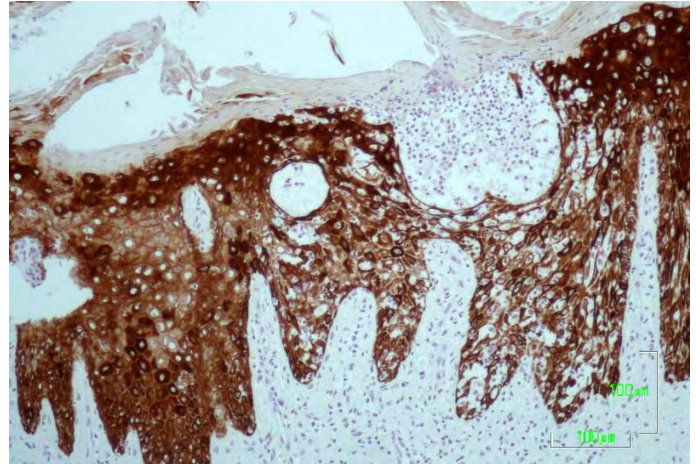
**Εικόνα 87:** Ανοσοϊστοχημική χρώση της κερατίνης MNF116 σε φυσιολογική επιδερμίδα αίγας (x100).



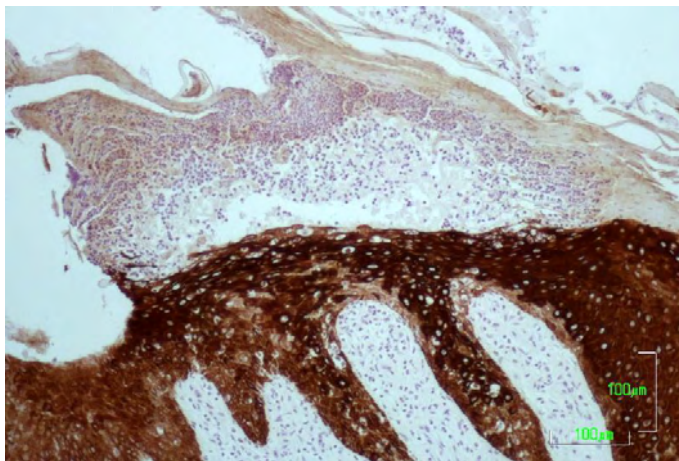
**Εικόνα 88:** Ανοσοϊστοχημική χρώση της κερατίνης MNF116 σε βιοψία επιρρινίου αίγας την 4<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης (x100).



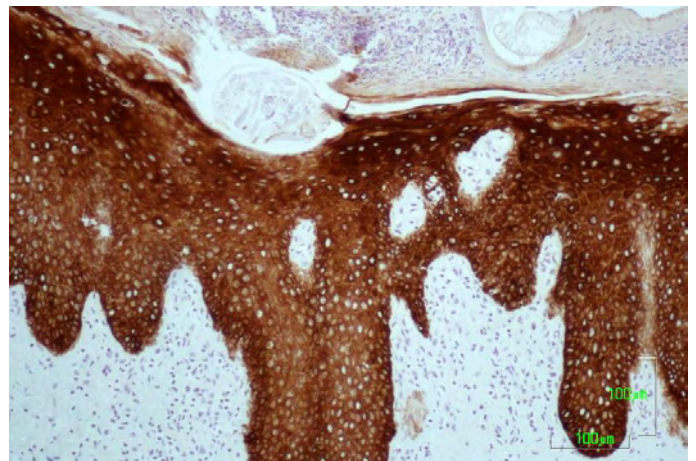
**Εικόνα 89:** Ανοσοϊστοχημική χρώση της κερατίνης MNF116 σε βιοψία επιρρινίου αίγας την 12<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης (x100).



**Εικόνα 90:** Ανοσοϊστοχημική χρώση της κερατίνης MNF116 σε βιοψία επιρρινίου αίγας την 18<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης (x100).



**Εικόνα 91:** Ανοσοϊστοχημική χρώση της κερατίνης MNF116 σε βιοψία επιρρινίου αίγας την 50<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης (x100).



**Εικόνα 92:** Ανοσοϊστοχημική χρώση της κερατίνης MNF116 σε βιοψία επιρρινίου αίγας την 75<sup>η</sup> ημέρα της πειραματικής μόλυνσης (x100).

# Κεφάλαιο 6: Συζήτηση

---

Αν και η σαρκοπτική ψώρα στην αίγα απαντάται σε εκτροφές πολλών χωρών, οι μελέτες για τους ανοσοπαθολογοανατομικούς μηχανισμούς του νοσήματος σχεδόν απουσιάζουν, σε αντίθεση με ό,τι συμβαίνει στον άνθρωπο και σε άλλα είδη θηλαστικών. Η παρούσα ερευνητική μελέτη επικεντρώθηκε στη διερεύνηση των ανοσοπαθογενετικών μηχανισμών της σαρκοπτικής ψώρας τόσο σε φυσικά περιστατικά όσο και μετά από πειραματική μόλυνση σε ερίφια και ενήλικες αίγες με προκαθορισμένη μολύνουσα δόση. Τα ευρήματα που προέκυψαν από τη μελέτη μας μπορούν να αποτελέσουν αφορμή για συζήτηση ως προς παρακάτω:

## 6.1 Δερματικές αλλοιώσεις της σαρκοπτικής ψώρας στην αίγα

### 6.1.α Μακροσκοπικές αλλοιώσεις του δέρματος

Η περιγραφή των μακροσκοπικών αλλοιώσεων της σαρκοπτικής ψώρας στο δέρμα της αίγας έχει πραγματοποιηθεί και από άλλους ερευνητές (Tarigan, 2002; Tarigan, 2004). Επίσης, σε διδακτορική διατριβή που εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής του τμήματος Κτηνιατρικής του Π.Θ, προτάθηκε η σταδιοποίηση της σαρκοπτικής ψώρας στην αίγα σε 5 πρότυπα κατανομής με βάση την εντόπιση των μακροσκοπικών αλλοιώσεων στις διάφορες ανατομικές περιοχές του δέρματος (Δούκας, 2014).

Ωστόσο, μέχρι σήμερα δεν έχει πραγματοποιηθεί πειραματική μόλυνση ζώου με τοποθέτηση της μολύνουσας δόσης σε δύο απομακρυσμένες ανατομικές περιοχές του δέρματος («ταυτόχρονη παράλληλη μόλυνση»). Ο πειραματισμός κατέδειξε ότι είναι δυνατή η ταυτόχρονη μόλυνση από το *Sarcoptes scabiei* και η ανάπτυξη αλλοιώσεων παραλλήλως σε δύο διαφορετικές περιοχές εστίες στο δέρμα κάθε εριφίου ή ενήλικης αίγας. Προφανώς, κάτι ανάλογο συμβαίνει και στις φυσικές μολύνσεις αιγών με *Sarcoptes scabiei*. Αυτό μπορεί να ερμηνεύσει και την ποικιλομορφία κατανομής των μακροσκοπικών αλλοιώσεων σαρκοπτικής ψώρας στις αίγες μιας εκτροφής, αφού δεν αποκλείεται σε ορισμένα ζώα η σαρκοπτική ψώρα να έχει ξεκινήσει μόνο

από ένα σημείο, ενώ σε ορισμένα άλλα από δύο ή περισσότερα διαφορετικά σημεία ταυτοχρόνως.

Ανάλογο ζήτημα είχε τεθεί μέχρι σήμερα μόνο κατά τη μελέτη φυσικών περιστατικών σαρκοπτικής ψώρας σε φασκολόμυς (Skerratt, 2003). Συγκεκριμένα, είχε προταθεί ότι η συμμετρική κατανομή των αλλοιώσεων στην ωμοπλαταιαία-θωρακική χώρα των ζώων ήταν αποτέλεσμα ταυτόχρονης αμφοτερόπλευρης μόλυνσης, χωρίς όμως να γίνει πειραματική επιβεβαίωση.

## **6.1.β Ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις του δέρματος**

Οι ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις που παρατηρήθηκαν στις βιοψίες δέρματος στα φυσικά περιστατικά σαρκοπτικής ψώρας στις αίγες της μελέτης μας ήταν ανάλογες με αυτές που περιγράφονται τόσο και στη διεθνή βιβλιογραφία σε φυσικά περιστατικά στον άνθρωπο, στο χοίρο, στο σκύλο, και σε θηλαστικά της άγριας πανίδας (Falk και συν., 1981; Sheahan 1975; Morris και συν., 1996; Skerratt 2003; Nimmervoll, 2007), όσο και σε κλασσικά συγγράμματα Κτηνιατρικής Παθολογικής Ανατομικής (Gross και συν., 2005; Cabrera και συν., 2005; Hargis και συν., 2007; Ginn και συν., 2007). Συγκεντρωτικά, οι κλασσικές ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις της σαρκοπτικής ψώρας συνίστανται σε ορθοκερατωτική υπερκεράτωση και παρακεράτωση, εφελκιδοποίηση, παρουσία δομών του παρασίτου (σε εφελκίδες, φολίδες κερατίνης ή επιπολής στιβάδες της επιδερμίδας), υπερκόκκωση, σπογγίωση, φλύκταινες, ακανθόλυση, υπερπλασία στοιβάδων της επιδερμίδας, φλεγμονώδη διήθηση από εωσινόφιλα και λεμφοκύτταρα στο χόριο (περιαγγειακή, οζώδη ή διάχυτη), καθώς και οίδημα, αγγειεκτασία και υπερπλασία των αποκρινών ιδρωτοποιών αδένων.

Οι ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις στις βιοψίες δέρματος κατά την εξέλιξη της πειραματικής μελέτης μας σε ερίφια και ενήλικες αίγες κατεγράφησαν αναλυτικά σε πίνακες, ανά περιοχή λήψης των βιοψιών (δέρμα επιρρίνιου, δέρμα ράχης) και για όλες τις δομές του δέρματος σε κάθε προκαθορισμένη ημερομηνία δειγματοληψίας, με βάση τις παραμέτρους αξιολόγησής τους που έχουν τεθεί σε προηγούμενη Διδακτορική Διατριβή (Δούκας, 2014). Από τη μελέτη των πινάκων στους οποίους κατεγράφησαν τα ιστοπαθολογικά ευρήματα στα πειραματόζωα προκύπτει ότι οι κλασσικές αλλοιώσεις που έχουν περιγραφεί στα φυσικά περιστατικά σαρκοπτικής

ψώρας, ανευρίσκονται και κατά την πειραματική αναπαραγωγή της νόσου τόσο στα ερίφια, όσο και στις ενήλικες αίγες, χωρίς ιδιαίτερες διαφορές μεταξύ των δύο περιοχών στις οποίες εναποτέθηκε η μολύνουσα δόση (δέρμα επιρρίνιου, δέρμα ράχης). Επιπλέον, μεμονωμένα ευρήματα σε κάποια ημέρα του πειραματισμού, όπως για παράδειγμα περινευρική φλεγμονή ή φλεγμονή του ανεκκλήρος μυός των τριχών αξιολογήθηκαν ως δευτερεύουσας σημασίας.

Η μικροσκοπική παρατήρηση ακάρεων στις ιστοπαθολογικές τομές δέρματος, τόσο στα φυσικά όσο και στα πειραματικά περιστατικά ήταν εύρημα που αφορούσε μεμονωμένες τομές (συνήθως 1 και πολύ πιο σπάνια 2-3 ακάρεα), με την παρακεράτωση της επιδερμίδας να κυριαρχεί στις θέσεις γύρω από τα ακάρεα. Χαρακτηριστικό εύρημα ήταν οι περιπτώσεις παρουσίας του *Sarcoptes* να κατασκηνώνει επιφανειακά στο επιθήλιο της χοάνης του τριχικού θυλάκου, φαινόμενο πιθανόν συνδέεται με την εμφάνιση τοιχωματικής ή/και ενδοαυλικής τριχοθυλακίτιδας.

Σε κανένα περιστατικό, ακόμη και σε εκείνα με έντονες μακροσκοπικές αλλοιώσεις, δεν παρατηρήθηκε η παρουσία αυξημένου αριθμού ακάρεων ανά τομή, ούτε απουσία εωσινόφιλων πολυμορφοπύρηνων κυττάρων, ευρήματα που θα μπορούσαν να αποτελέσουν ένδειξη «υπερκερατωτικής ή νορβηγικής μορφή» της σαρκοπτικής ψώρας, όπως αυτή έχει περιγραφεί στον άνθρωπο, το χοίρο, το σκύλο και σε φασκολόμυς ( Skerratt, 2003a; Gross και συν., 2005; Ginn και συν., 2007).

Η υπερπλασία της επιδερμίδας ήταν χαρακτηριστικό εύρημα στα φυσικά περιστατικά, ενώ στα πειραματόζωα αυξανόταν προοδευτικά με τη μορφή επιμήκων επιδερμικών καταδύσεων (rete ridges), ακάνθωσης καθώς και ψευδοεπιθηλωματώδους υπερπλασίας στις τελευταίες ημέρες του πειραματισμού. Το φαινόμενο αυτό δείχνει ότι τελικά ο οργανισμός των αιγών αντιδρά στην παρασίτωση από *Sarcoptes* με συγκεκριμένο μηχανισμό υπερπλασίας των κερατινοκυττάρων, πέρα από τις ανοσολογικές αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα στο δέρμα (Walton και συν., 2010).

Τέλος, όσον αφορά την κατανομή του φλεγμονώδους διηθήματος στο χόριο αυτή δεν ήταν μόνο περιαγγειακή, αλλά και χοριοεπιδερμική, λιγότερο συχνά «ταινιοειδής» (band-like), και πιο σπάνια διάχυτη ή οζώδης. Τα εωσινόφιλα πολυμορφοπύρηνια ήταν πάντα παρόντα στο φλεγμονώδες διήθημα. Εκτός από τα εωσινόφιλα πολυμορφοπύρηνια και τα λεμφοκύτταρα, σημαντική συμμετοχή στο φλεγμονώδες διήθημα είχαν και τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρηνια. Αντιθέτως, η



παρουσία ιστοκυττάρων και ειδικά των πλασματοκυττάρων αφορούσε μεμονωμένες βιοψίες δέρματος.

## 6.2 Ανάπτυξη ανοσοϊστοχημικών τεχνικών στο δέρμα της αίγας

Κατά την ανοσοϊστοχημική μελέτη, η μέθοδος πολυμερών δεξτράνης η οποία εφαρμόστηκε στην παρούσα διατριβή αποτελεί την εξελιγμένη μορφή της μεθόδου της ανοσοϋπεροξειδάσης. Η μέθοδος αυτή επιτρέπει την πρόσδεση μεγάλου αριθμού ενζυμικών μορίων υπεροξειδάσης στο δευτερογενές αντίσωμα μέσω ενός σκελετού δεξτράνης. Τα πλεονεκτήματα αυτής της μεθόδου είναι η αυξημένη ευαισθησία, η ελαχιστοποίηση της μη ειδικής χρώσης και η ελάττωση των σταδίων που απαιτούνται για την ολοκλήρωση της χρώσης (Key και συν., 2006).

Στη παρούσα μελέτη ως μονιμοποιητικό μέσο, εκτός της φορμόλης, χρησιμοποιήθηκε διάλυμα αλάτων ψευδαργύρου (ZSF, zinc salt fixative). Οι μελέτες της κατανομής διαφορετικών κυτταρικών υποπληθυσμών του ανοσοποιητικού συστήματος των μηρυκαστικών και ιδιαίτερα των αιγών δυσχεραίνονται από την έλλειψη αντισωμάτων που ανιχνεύουν αυτά τα κύτταρα σε ιστούς μονιμοποιημένους με φορμόλη. Η πλειοψηφία των ειδικών για την αίγα αντισωμάτων που είναι διαθέσιμα στο εμπόριο εφαρμόζονται κατά πλειοψηφία σε τομές κρυοστάτη, γεγονός που κάνει την μελέτη της μορφολογίας του δέρματος πιο δύσκολη.

Η μονιμοποίηση των ιστών περιλαμβάνει μια σειρά από περίπλοκες χημικές τροποποιήσεις των μακρομορίων με σκοπό την διατήρηση της δομής και των λειτουργικών χαρακτηριστικών τους και την παρεμπόδιση της αυτόλυσης ή της επιμόλυνσης από βακτήρια ή μύκητες.

Σε διάλυμα η φορμαλδεΰδη είναι ικανή να προσδένεται με τα ακόλουθα αμινοξέα: λυσίνη, τυροσίνη, ασπαραγίνη, ιστιδίνη, αργινίνη, κυστεΐνη και γλουταμίνη. Ο βασικός μηχανισμός της μονιμοποίησης με φορμαλδεΰδη είναι ο σχηματισμός ενδιάμεσων προϊόντων μεταξύ της φορμαλίνης (υδατικά διαλύματα φορμαλδεΰδης αναφέρονται συχνά ως φορμαλίνη) και μη φορτισμένων αντιδραστικών αμινομάδων (-NH ή NH), σχηματίζοντας διασταυρούμενους δεσμούς ή συνδέσεις (cross-links). Μόλις τα ενδιάμεσα προϊόντα (ενεργό μείγμα υδροξυλίων-μεθυλίων) σχηματιστούν θα συμβεί διασταυρούμενη αντίδραση (cross linking). Για αυτό το λόγο η παρουσία

ενός δευτέρου ενεργού υδρογόνου ή υδροξυμεθυλομάδας θα δημιουργήσει μια γέφυρα μεθυλενίου. Το τελικό αποτέλεσμα της μονιμοποίησης με φορμαλδεύδη είναι μια έντονη αλλαγή στη χωροδιάταξη (διαμόρφωση) των μακρομορίων, η οποία θα μπορούσε να κάνει την αναγνώριση των πρωτεϊνών (Ags) από τα αντισώματα πραγματικά πολύ δύσκολη. Αυτές οι αλλαγές τροποποιούν την τρισδιάστατη (τριτοταγή και τεταρτοταγή) δομή των πρωτεϊνών (Thavarajah και συν., 2012).

Μονιμοποιητικά όπως η μεθανόλη, η αιθανόλη και η ακετόνη αποδιατάζουν τις πρωτεΐνες με την διάσπαση των υδροφοβικών δεσμών που εντοπίζονται στην τριτοταγή δομή των πρωτεϊνών διατηρώντας όμως την δευτεροταγή δομή για την ανοσοϊστοχημεία. Παρά τον μεγάλο αριθμό διαθέσιμων μονιμοποιητικών, υπάρχουν προβλήματα στην χρήση τους που αφορούν στην τοξικότητα τους, στην ανάγκη για γρήγορη μονιμοποίηση, και στην απαραίτητη εφαρμογή αποδιατακτικών (Moelans και συν., 2011).

Για τους παραπάνω λόγους επιλέχθηκε η τεχνική μονιμοποίησης η οποία βασίζεται στα άλατα ψευδάργυρου (ZSF, zinc salts fixative). Η τεχνική περιγράφηκε πρώτη φορά από τον Beckstead, (1994) και σύμφωνα με μελέτες παρέχει αυξημένη ικανότητα διατήρησης DNA, RNA και πρωτεϊνών γεγονός που επιτρέπει την βελτιωμένη ανάλυση πρωτεϊνών και την εφαρμογή μοριακών μεθόδων όπως PCR και Real-Time PCR (Lykidis και συν., 2007). Ένα από τα βασικότερα πλεονεκτήματα που προσφέρει είναι ότι, στην ανάλυση πρωτεϊνών με ανοσοϊστοχημικές μεθόδους δεν χρειάζεται η προεργασία για την ανάκτηση αντιγονικότητας (Wester και συν., 2003). Επιπρόσθετα, οι τομές από ιστούς μονιμοποιημένους με ZSF παρέχουν καλύτερη μορφολογία και βελτιωμένες ανοσοϊστοχημικές χρώσεις για ευαίσθητους αντιγονικούς επιτόπους όπως είναι τα ένζυμα (Hadler-Olsen και συν., 2010). Τα συστατικά που χρησιμοποιούνται στην παραγωγή του μονιμοποιητικού με ψευδάργυρο είναι μη τοξικά, με χαμηλό κόστος, μη καρκινογόνα και μη θερμοευαίσθητα ενώ η παρασκευή είναι εύκολη (Jensen και συν., 2010).

Η χρήση στη μελέτη μας μονοκλωνικών αντισωμάτων κερατινών που προορίζονταν για χρήση σε ανθρώπινους ιστούς (anti-human), έδειξε ότι υπάρχει διασταυρούμενη αντίδραση (cross reaction) με τις κερατίνες στο δέρμα της αίγας (CK14, CK19, CKMNF116, CK34BE12, CK5/6, CK7, CKAE1/AE3) που έχει μονιμοποιηθεί τόσο με φορμαλδεύδη όσο και με ZSF. Τα μονοκλωνικά αντισώματα που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη έναντι των προαναφερόμενων κερατινών μπορούν να χρησιμοποιούνται σε

ανοσοϊστοχημικές μελέτες σε αλλοιώσεις, σε κάθε είδους επιθηλιακή δομή της αίγας.

Οι ανοσοϊστοχημικές μέθοδοι που χρησιμοποιήσαν εμπορικά διαθέσιμα αντισώματα με ικανότητα εφαρμογής σε ιστούς μονιμοποιημένους με φορμόλη, έχουν συνεισφέρει σημαντικά στην καλύτερη κατανόηση της παθογένεσης και της διάγνωσης ποικίλων νοσημάτων στην δερματοπαθολογία (Palit και Inamadara, 2011; Ferringer, 2015).

Η ανοσοϊστοχημεία αποτελεί ένα ισχυρό εργαλείο στα κτηνιατρικά εργαστήρια, με διαγνωστικές και ερευνητικές εφαρμογές. Ένα σημαντικό πρόβλημα της κτηνιατρικής ανοσοϊστοχημείας είναι ο μικρός αριθμός διαθέσιμων αντισωμάτων που να αναγνωρίζουν ειδικούς δείκτες σε διάφορα είδη ζώων (Ramos-Vara και συν., 2008). Είναι γεγονός ότι τα διαθέσιμα αντιδραστήρια για την ανοσοϊστοχημική μελέτη σε ιστούς των αιγών είναι ολιγάριθμα σε σύγκριση με εκείνα που είναι διαθέσιμα για τον άνθρωπο και τα ποντίκια. Για παράδειγμα, υπάρχει έλλειψη αντιδραστηρίων για τον προσδιορισμό των ανοσολογικών αντιδράσεων που αφορούν την ανάπτυξη, τη λειτουργία και τις σχέσεις μεταξύ των κυριότερων υποκατηγοριών Τ βοηθητικών λεμφοκυττάρων (Th1, Th2, Th17) των αιγών. Ένας τρόπος για να ξεπεραστεί αυτό το πρόβλημα είναι η αξιολόγηση ήδη υπάρχοντων αντιδραστηρίων για την ύπαρξη διασταυρούμενης αντίδρασης (Hope et al, 2012).

Υπάρχει ένας περιορισμένος αριθμός μονοκλωνικών αντισωμάτων του ανθρώπου που έχει αποδειχθεί ότι αντιδρά με ιστούς μηρυκαστικών (βοοειδή, πρόβατα και αίγες). Μελέτες έδειξαν ότι μόνο το 10% των μονοκλωνικών αντισωμάτων που αναγνωρίζουν CD μόρια του ανθρώπου παρουσιάζει αλληλοδιασταυρούμενη αντίδραση σε λευκοκύτταρα μηρυκαστικών (Naessens και συν., 1993). Ειδικότερα, όσο αφορά τις αίγες, στη μελέτη του Davis και συν., (2007), 17 ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα για 11 διαφορετικούς CD δείκτες έδειξαν θετική διασταυρούμενη αντίδραση με κυτταρομετρία ροής, στις αίγες σε σύνολο 320 (5.3%). Αυτά περιελάμβαναν δείκτες μακροφάγων/μονοκυττάρων (CD14), Β κυττάρων (CD21), αλλά και μόρια που σχετίζονται με υποπληθυσμούς των Τ κύτταρων και με τα ουδετερόφιλα. Ένας σημαντικός αριθμός αντισωμάτων που αναγνωρίζουν ανθρώπινους δείκτες έχει ελεγχθεί για το αν αντιδρούν σε ιστούς μηρυκαστικών μέσω τεχνικών όπως είναι η κυτταρομετρία ροής, η ανοσοϊστοχημεία και η ανάλυση μοριακού βάρους (Howard και συν., 1991; Naessens και συν., 1993; Davis και συν., 2007). Επίσης, το πολυκλωνικό anti-human CD3 αντίσωμα το

οποίο αναπτύχθηκε έναντι ενός συνθετικού πολυπεπτιδίου που αντιστοιχεί στην κυτταροπλασματική περιοχή της ε αλυσίδας του ανθρώπινου CD3, αποτελεί έναν πολύ καλό δείκτη για τα T λεμφοκύτταρα των μηρυκαστικών, συμπεριλαμβανομένων και των αιγών σε τομές παραφίνης (Ramos-Vara και συν., 1994).

Τα περισσότερα μονοκλωνικά αντισώματα έναντι δεικτών των μηρυκαστικών έχουν παραχθεί χρησιμοποιώντας αντιγόνα βοοειδών και προβάτων και όχι αιγών. Στη μελέτη των Navarro και συν., (1996), μονοκλωνικά αντισώματα έναντι λεμφοκυτταρικών επιφανειακών δεικτών βόειας προέλευσης (MHC I, MHC II, B-κυττάρων, T-κυττάρων (CD2, CD4, CD8 και γδ) χρησιμοποιήθηκαν με επιτυχία σε ανοσοϊστοχημικές χρώσεις και τεχνικές κυτταρομετρίας ροής σε ιστούς αιγών (λεμφαδένες, περιφερικό αίμα).

Τα εμπορικά διαθέσιμα μονοκλωνικά αντισώματα που αντιδρούν θετικά στις αίγες έχουν παραχθεί έναντι των CD1, CD4, CD5, CD8, CD11a, CD11b, CD21, CD25, WC1 (γδ T κύτταρα) των βοοειδών και έναντι των CD1, CD2, CD4, CD31, CD41/CD61, CD44, CD45 και WC1 των προβάτων (AbD Serotec/ Veterinary Medical Research and Development [VMRD]). Επίσης υπάρχουν μονοκλωνικά αντισώματα για την IgG και τα μόρια MHC II των μηρυκαστικών που μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε μελέτες ανοσοφαινότυπου στις αίγες (AbD Serotec/ Dako) (Entrican, 2002).

Παρ' όλα αυτά, αν και υπάρχει υψηλή ομολογία μεταξύ των ειδών αυτών σε επίπεδο γονιδιακό, η αλληλοδιασταυρούμενη αντίδραση των μονοκλωνικών αντισωμάτων, των κυτοκινών και των μοριακών ανιχνευτών δεν μπορεί να είναι εγγυημένη. Το γεγονός αυτό αναδεικνύει την αναγκαιότητα παραγωγής ειδικών για την αίγα αντιδραστηρίων με σκοπό την ερμηνεία πειραματικών δεδομένων για την ακριβή κατανόηση των μεταβολών των κυτταρικών υποπληθυσμών, των εμπλεκόμενων κυτοκινών και των ρόλων που επιτελούν (Hope και συν., 2012).

### 6.3 Ανοσοφαινότυπος του υγιούς δέρματος της αίγας

Γενικά, τα ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά των ειδικών κυτταρικών τύπων του φλεγμονώδους διηθήματος παρουσιάζει μεγάλη ποικιλία μεταξύ μελετών και ξενιστών γεγονός που καθιστά δύσκολη την εξακρίβωση των ανοσολογικών μηχανισμών. Η παρατηρούμενη ποικιλία μπορεί να οφείλεται στα διαφορετικά

χρονικά σημεία καθώς η μόλυνση προχωράει, σε διαφορές μεταξύ του ανοσοποιητικού των ξενιστών και σε διαφορές μεταξύ πρωτογενούς και δευτερογενούς μόλυνσης (Arlan και συν., 1996b).

Από την ανασκόπηση της διεθνούς βιβλιογραφίας προκύπτει ότι δεν υπάρχουν πολλές μελέτες που να διερευνούν τον ανοσοφαινότυπο κλινικά υγιών ιστών της αίγας με τη χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων. Η ανοσοϊστοχημική μελέτη σε μαστικούς αδένες υγιών αιγών έδειξε ότι οι υποπληθυσμοί CD2+, CD4+, CD8+ και γδ T αυξήθηκαν κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης, μειώθηκαν κατά τη γαλουχία και στην συνέχεια αυξήθηκαν μέτρια. Τα CD4+ κύτταρα αποτελούσαν τον κυρίαρχο λεμφοκυτταρικό τύπο στο μαστικό αδένα και εντοπίζονταν κυρίως στο συνδετικό ιστό. Τα CD2+, CD8+ και TcR1-N6+ (υποκατηγορία γδ λεμφοκυττάρων) κύτταρα εντοπίζονταν κυρίως σε ενδοεπιθηλιακές περιοχές. Τα TcR1-N6+ γδ κύτταρα εντοπίστηκαν σχεδόν αποκλειστικά κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης κυρίως στο συνδετικό ιστό (Ismail και συν., 1996). Στη μήτρα υγιών αιγών, η πλειοψηφία των λεμφοκυττάρων ήταν T λεμφοκύτταρα, με τα CD8+ λεμφοκύτταρα να υπερिशύουν των CD4+ λεμφοκυττάρων, ενώ κατά την διάρκεια της κύησης, δεν ανιχνεύθηκαν λεμφοκύτταρα στον πλακούντα (Martinez και συν., 2005).

Η ανασκόπηση της διεθνούς βιβλιογραφίας έδειξε απουσία μελετών που να διερευνούν τον ανοσοφαινότυπο του υγιούς δέρματος της αίγας με τη χρήση ανοσοϊστοχημικών τεχνικών. Με την παρούσα μελέτη διερευνήθηκε η κατανομή των υποπληθυσμών λεμφοκυττάρων τόσο στην επιδερμίδα όσο και στο χόριο του δέρματος σε διάφορες ανατομικές περιοχές σε κλινικά υγιή ερίφια και αίγες.

Στην επιδερμίδα των αιγών που εξετάστηκαν, η απουσία οποιουδήποτε υποπληθυσμού λεμφοκυττάρων είναι εύρημα που έχει αναφερθεί μόνο για το φυσιολογικό δέρμα της γάτας και του αλόγου (Tranchina et al 2010a; Tranchina και συν., 2010β). Αντιθέτως, η παρουσία ενδοεπιδερμικών T λεμφοκυττάρων στο υγιές δέρμα έχει καταγραφεί στον άνθρωπο (Bos και συν., 1987), στο ποντίκι (Mueller και συν., 2014) στο πρόβατο (Gorrell και συν., 1995; McElroy και συν., 1998), στην αγελάδα (Hein και Dudler, 1997) και στο αλπακά (Clark και συν., 2013). Στην επιδερμίδα μάλιστα του ανθρώπου και του ποντικού, εντοπίζονται γδ λεμφοκύτταρα δενδριτικής μορφής (DETCs,) τα οποία φαίνεται να επιτηρούν την ακεραιότητα της επιδερμίδας (Zaba και συν., 2009).

Από την μελέτη μας, φαίνεται ότι στις αίγες τα λεμφοκύτταρα δεν αποτελούν δομικό στοιχείο της φυσιολογικής επιδερμίδας και του επιθηλίου των τριχικών θυλάκων ή αν

αποτελούν, αυτό συμβαίνει εξαιρετικά σπάνια. Ως εκ τούτου, προτείνεται η παρουσία λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα της αίγας να αντιμετωπίζεται ως μη φυσιολογική, κατ' αναλογία με ό,τι έχει προταθεί για τη γάτα και το άλογο (Tranchina και συν., 2010α; Tranchina και συν., 2010β).

Όσον αφορά τους λεμφοκυτταρικούς υποπληθυσμούς στο χόριο του δέρματος της αίγας χαρακτηριστική είναι η απουσία Β-λεμφοκυττάρων, όπως συμβαίνει και σε άλλα θηλαστικά (Bos και συν., 1987; Gorrell και συν., 1995; McElroy και συν., 1998; Tranchina και συν., 2010α; Tranchina και συν., 2010β). Εξαίρεση φαίνεται να αποτελεί το αλάκα, στο χόριο του οποίου ανιχνεύτηκαν CD79+ Β λεμφοκύτταρα (Edginton και συν., 2014). Η παρουσία Τ- λεμφοκυττάρων (CD3+) στο χόριο αφορούσε κυρίως γδ λεμφοκύτταρα και CD8+ λεμφοκύτταρα, ενώ μεμονωμένα ήταν τα CD4+ λεμφοκύτταρα. Η εντόπιση τους ήταν κυρίως περιαγγειακή και αφορούσε περισσότερο τα αγγεία του επιπολής χορίου και λιγότερο του εντωβάθει χορίου, εύρημα που συμφωνεί με τις μελέτες που έχουν γίνει στο πρόβατο (Gorrell et al 1995; McElroy et al 1998).

Αξιοσημείωτο είναι ότι στα ευρήματα μας, τα γδ λεμφοκύτταρα ήταν πάντοτε ο κυρίαρχος λεμφοκυτταρικός υποπληθυσμός στο χόριο σε όλες τις ανατομικές περιοχές του δέρματος που εξετάστηκαν τόσο στα ερίφια όσο και στις ενήλικες αίγες. Σε αντιδιαστολή με την αίγα, τα γδ λεμφοκύτταρα στο πρόβατο δεν αποτελούν πάντοτε τον κύριο λεμφοκυτταρικό υποπληθυσμό στο χόριο του δέρματος, γεγονός που εξαρτάται αφενός από την ανατομική χώρα του δέρματος και αφετέρου από την ηλικία των ζώων (Gorrell et al 1995; McElroy et al 1998). Ειδικότερα, στη μελέτη των Gorrell et al (1995) κυριαρχούσαν στο χόριο τα CD4+ λεμφοκύτταρα ενώ στη μελέτη των McElroy et al (1998) τα WC1+ λεμφοκύτταρα. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι στις δύο μελέτες χρησιμοποιήθηκαν διαφορετικά αντισώματα για την ανίχνευση των γδ λεμφοκυττάρων, γεγονός που μπορεί να εξηγήσει τις διαφορές που παρατηρούνται. Πιο συγκεκριμένα, στη μελέτη των McElroy et al (1998) χρησιμοποιήθηκε το αντίσωμα WC1 (κλώνος CC15), όπως και στην παρούσα διατριβή ενώ στη μελέτη των Gorrell et al (1995) χρησιμοποιήθηκε το αντίσωμα T19 (κλώνος 19.19).

Επίσης, από τη μελέτη μας προκύπτει ότι στα ερίφια το ποσοστό των γδ λεμφοκυττάρων ήταν μεγαλύτερο από αυτό στις ενήλικες αίγες, δηλωτικό ότι η συγκέντρωσή τους στο δέρμα εξαρτάται από την ηλικία των ζώων. Εξάλλου, έχει προταθεί ότι τα γδ λεμφοκύτταρα αποτελούν έναν φυλογενετικά διατηρημένο

πληθυσμό λεμφοκυττάρων που ασκεί αποτελεσματική ανοσοεπιτήρηση χωρίς την ανάγκη συμμετοχής των MHC-I και MHC-II μορίων, έως ότου εδραιωθούν τα πιο ώριμα αβ λεμφοκύτταρα (Hein και Mackay, 1991).

## 6.4 Έκφραση κερατινών στο υγιές δέρμα της αίγας

Για την αίγα τα βιβλιογραφικά δεδομένα για την έκφραση των κερατινών είναι σαφώς περιορισμένα. Αφορούν κυρίως την έκφραση των κερατινών στις δομές του αναπαραγωγικού συστήματος κατά την κυοφορία. Πιο συγκεκριμένα, βρέθηκε ότι κατά την διάρκεια της εμφύτευσης του εμβρύου, τα επιθηλιακά κύτταρα της μήτρας χάνουν την έκφραση των κερατινών 8, 18 και 19, εξαιτίας της δράσης πρωτεασών στο ενδομήτριο (Guillomot, 1999). Επίσης, σε σχετικά πρόσφατες μελέτες, έχει αναφερθεί η έκφραση των κερατινών 15 και 19 σε κυτταροκαλλιέργειες βλαστικών κύτταρων της επιδερμίδας εμβρύων και ενήλικων αιγών cashmere (Islam και Zhou, 2007; Liu και συν., 2008).

Ειδικότερα για το δέρμα των αιγών, δεν έχει πραγματοποιηθεί καμία ανοσοϊστοχημική μελέτη της έκφρασης των κερατινών στις φυσιολογικές δομές του. Η καταγραφή της έκφρασης των κερατινών στο υγιές δέρμα («χαρτογράφηση») έχει πραγματοποιηθεί στον άνθρωπο (Goddard και συν., 1991), στο σκύλο (Theerawatanasirikul και συν., 2012; Kozaki και συν., 2001; Walter και συν., 2001), στο χοίρο (Debeer και συν., 2013), στο άλογο μόνο για την επιδερμίδα (Hamada και συν., 1990), στα βοοειδή (για τις χηλές) (Hendry και συν., 2001) και στη γάτα (για τα αυτιά) (Peaston και συν., 1992).

Συγκρίνοντας τα δικά μας ευρήματα με τα δεδομένα σε άλλα θηλαστικά προκύπτουν ομοιότητες αλλά και διαφορές μεταξύ των ειδών ως προς την έκφραση κάθε κερατίνης στο υγιές δέρμα. Οι κερατίνες AE1/AE3 και 34BE12 στην παρούσα μελέτη αποτέλεσαν αξιόπιστους δείκτες για την σήμανση των περισσότερων επιθηλιακών δομών στις αίγες.

Η πανκερατίνη AE1/AE3 αποτελείται από ένα μίγμα αντισωμάτων που αναγνωρίζουν μια ευρεία ποικιλία κερατινών διαφορετικών μοριακών βαρών. Η κερατίνη AE1 αναγνωρίζει όξινες κυτοκερατίνες (CK10, CK15, CK16, CK19) και εκφράζεται στο δέρμα στη βασική στιβάδα της επιδερμίδας. Η κερατίνη AE3 αναγνωρίζει βασικές κυτοκερατίνες (CK1-CK8) και εκφράζεται σε όλη την επιδερμίδα (Fuertes et al, 2013). Στη δική μας μελέτη στις αίγες, οι κυτοκερατίνες

AE1/AE3 εκφράζονται σε όλες τις στιβάδες της επιδερμίδας, στον τριχικό θύλακο (εκτός από στέλεχος και βολβό τρίχας), στους σμηγματογόνους αδένες και το επιθήλιο των ιδρωτοποιών αδένων. Παρόμοια με τα δικά μας ευρήματα έχουν αναφερθεί στον άνθρωπο (Goddard και συν., 1991), στο σκύλο (Kozaki και συν., 2001), στη γάτα (Peaston και συν., 1992) και στο χοίρο (Debeer και συν., 2013). Επιπρόσθετα, σε παρουσίαση περιστατικών αρνιών με ατελή επιθηλιογένεση, ο ανοσοϊστοχημικός εντοπισμός της πανκερατίνης AE1/AE3 ήταν η καθοριστική διαγνωστική παράμετρος (Maestrale και συν., 2013).

Η κερατίνη CK34BE12 χρησιμοποιείται ευρέως για την ανίχνευση των κυτοκερατινών υψηλού μοριακού βάρους. Το αντίσωμα αυτό αναγνωρίζει τα πολυπεπίδια μοριακού βάρους 68, 58, 56.5, και 50 kDa, που αντιστοιχούν στις κερατίνες 1, 5, 10, και 14 (Wasserman et al, 2009; Fuertes et al, 2013). Στη παρούσα μελέτη μας, η CK34BE12 εκφράζεται σε όλες τις στιβάδες της επιδερμίδας στις αίγες, εύρημα που συμβαδίζει με τις μελέτες στα άλογα (Hamada και συν., 1990), στο χοίρο (Debeer και συν., 2013) και στη γάτα (Peaston και συν., 1992), ενώ έρχεται σε αντίθεση με τα ευρήματα στο σκύλο, όπου η CK34BE12 βρέθηκε μόνο στα κύτταρα της βασικής στιβάδας (Kozaki και συν., 2001). Επίσης, η κερατίνη CK34BE12 εκφράζεται στον εξωτερικό κολεό του τριχικού θύλακου, στους σμηγματογόνους αδένες και το επιθήλιο των ιδρωτοποιών αδένων στις αίγες που μελετήσαμε, εύρημα που συμφωνεί με τις μελέτες στο σκύλο (Kozaki και συν., 2001) και στη γάτα (Peaston και συν., 1992).

Η πανκερατίνη MNF-116, αναγνωρίζει πολυπεπίδια μοριακού βάρους 45, 46, και 56.5 k Da, που αντιστοιχούν στις κερατίνες 5, 6, 8, 17, και 19 (Fuertes και συν., 2013). Στις αίγες της μελέτης μας, η MNF116 εκφράζεται στη βασική και στην ακανθωτή στιβάδα της επιδερμίδας (2-3 στιβάδες κυττάρων), στον εξωτερικό κολεό του τριχικού θύλακου, στους σμηγματογόνους αδένες και το επιθήλιο των ιδρωτοποιών αδένων. Η κατανομή της είναι παρόμοια στον άνθρωπο (Goddard και συν., 1991), στο σκύλο (Kozaki και συν., 2001) και στο σαμουά (*Rupicapra rupicapra L.*) (Rode et al, 1998).

Η CK5/6 αναγνωρίζει υψηλού μοριακού βάρους κερατίνες. Η CK6 εκφράζεται μόνο στην επιδερμίδα των πελμάτων και των παλαμών του ανθρώπου, και στην περίπτωση της υπερπλασίας (Reis-Filho και συν., 2003). Η CK5/6 αποτελεί χρήσιμο κυτταροπλασματικό δείκτη πλακώδους διαφοροποίησης (Fuertes et al, 2013). Στις αίγες της μελέτης μας, η κυτοκερατίνη 5/6 εκφράζεται στη βασική στιβάδα της



επιδερμίδας όπως στα βοοειδή (Hendry και συν. 2001), στον άνθρωπο (Reis-Filho και συν., 2003), στο σκύλο (Theerawatanasirikul και συν., 2012) και το χοίρο (Debbeer και συν., 2013). Όσον αφορά στα εξαρτήματα του δέρματος, η έκφραση της CK5/6 στις αίγες συμφωνεί με εκείνη στον άνθρωπο (Reis-Filho και συν., 2003).

Η κερατίνη CK7 εκφράζεται μόνο στο επιθήλιο των ιδρωτοποιών αδένων στις αίγες της μελέτης μας, όπως αναφέρθηκε στον άνθρωπο (Van Niekerk και συν., 1991; Li και συν., 2002), στη γάτα (Espinosa de los Monteros και συν., 1999) και το χοίρο (Debeer και συν., 2013). Στη μελέτη των Kozaki και συν., (2001) στο σκύλο, τα αντισώματα που χρησιμοποιήθηκαν για την ανίχνευση της (κλώνοι OV-TL12/30 και Ks.7.18) δεν έδωσαν θετική αντίδραση.

Στη μελέτη μας, η κυτοκερατίνη 14 εκφράζεται μόνο στη βασική στιβάδα της επιδερμίδας, στον εξωτερικό κολεό του τριχικού θυλάκου και στους σμηγματογόνους αδένες. Συγκεκριμένα, η CK14 στις αίγες εκφράζεται μόνο στα κύτταρα της βασικής στιβάδας της επιδερμίδας, όπως έχει αναφερθεί στον άνθρωπο (Tsubura και συν., 1991; Reis-Filho και συν., 2003), στο σκύλο (Walter, 2001) και στα βοοειδή (Hendry και συν. 2001). Τα ευρήματα της έκφρασης της CK14 στα εξαρτήματα του δέρματος των αιγών συμφωνούν με αντίστοιχες μελέτες που έχουν γίνει στον άνθρωπο (Tsubura και συν., 1991). Ωστόσο, υπάρχει μελέτη που αναφέρει απουσία έκφρασης της CK14 στο σκύλο τόσο στην επιδερμίδα όσο και στα εξαρτήματα του δέρματος (Kozaki και συν., 2001).

Η CK19 είναι η μικρότερη σε μέγεθος πρωτεΐνη των ενδιάμεσων ινιδίων των επιθηλίων. Η CK19 στις αίγες της μελέτης μας, εκφράζεται στα κύτταρα της βασικής στιβάδας όπως και στη γάτα (Peaston και συν., 1992), ενώ στο σκύλο έχει καταγραφεί απουσία έκφρασης (Kozaki και συν., 2001). Στον άνθρωπο, εντοπίζεται επίσης σε εστίες βλαστικών κυττάρων της επιδερμίδας (Gkegkes και συν., 2013). Θα πρέπει να σημειωθεί ότι στο δέρμα εμβρύων, η έκφραση της K19 στην επιδερμίδα, σταδιακά μειώνεται κατά την κυοφορία (Gkegkes και συν., 2013). Ο αριθμός των CK19+ κυττάρων φαίνεται να εξαρτάται από την ηλικία, γεγονός που θα μπορούσε να εξηγήσει το γεγονός της γρηγορότερης ανάρρωσης των νεαρών ατόμων (Michel και συν., 1996). Η K19 εκφράζεται σε ενήλικα (Liu, Zhou, and Gao, 2008) και εμβρυικά (Islam et al, 2007) βλαστοκύτταρα δέρματος αίγας cashmere.

Όσον αφορά τους αδένες του δέρματος, στις αίγες της μελέτης μας η CK19 εντοπίζεται μόνο στους σμηγματογόνους αδένες σε αντίθεση με τον άνθρωπο όπου εντοπίζεται στο έλυτρο του τριχικού θυλάκου και στο επιθήλιο των ιδρωτοποιών

αδένων (Perkins και συν., 1992; Ansai και συν., 1993) και το σαμουά όπου ανιχνεύεται μόνο στους ιδρωτοποιούς αδένες (Rode et al, 1998).

Οι διαφορές που παρατηρούνται στις διάφορες μελέτες ως προς την κατανομή των κερατινών, κατά την άποψη μας, πιθανόν να οφείλονται στα διαφορετικά είδη θηλαστικών, στους διαφορετικούς κλώνους αντισωμάτων που χρησιμοποιήθηκαν, καθώς και στην ανοσοϊστοχημική τεχνική που εφαρμόστηκε.

Τα αντισώματα που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη δεν ήταν ειδικά για την αίγα αλλά για τον άνθρωπο (anti-human), αλλά εμφάνισαν θετικότητα λόγω της διασταυρούμενης αντίδρασης. Συμπερασματικά, η παρούσα μελέτη παρουσιάζει μια σειρά anti-human μονοκλωνικών αντισωμάτων που αντιδρούν θετικά στο δέρμα των αιγών και μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην δερματοπαθολογία των αιγών.

## 6.5 Ανοσοφαινότυπος δερματικών αλλοιώσεων αίγας με σαρκοπτική ψώρα

### 6.5.1 Έκφραση των αβ Τ κυττάρων στην σαρκοπτική ψώρα

Δεν υπάρχουν δεδομένα καταγραφής του ανοσοφαινότυπου των αλλοιώσεων σε δερματοπάθειες της αίγας, παρά μόνο μια αναφορά για την παρουσία CD3+ (CD4+ και CD8+) Τ λεμφοκυττάρων σε φυσικά περιστατικά σαρκοπτικής ψώρας (Δούκας, 2014).

Η παρουσία Τ λεμφοκυττάρων σε σχετικά μεγάλη αναλογία τόσο στα φυσικά περιστατικά θηλαστικών όσο και στα πειραματόζωα αποτελεί βασικό γνώρισμα της ανοσολογικής απόκρισης του δέρματος στη μόλυνση με το *S. scabiei* (Cabrerá και Dahl, 1993; Walton, 2010). Αντανακλά την ανάπτυξη αντίδρασης υπερευαισθησίας τύπου IV η οποία στηρίζεται κυρίως στην δράση των CD4+ ή CD8+ Τ κυττάρων (Uzzaman και Cho, 2012). Επίσης, τα Th2 CD4+ κύτταρα προωθούν τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των εοσινοφίλων και των σιτευτικών κυττάρων (Tindemans και συν., 2014).

Η ανοσολογική απόκριση στην υπερκερατωτική σαρκοπτική ψώρα είναι τύπου Th2, στην οποία εκκρίνονται οι IL-4, IL-5 και IL-13 ενώ στο κλασική μορφή της νόσου οι ανοσολογικές αντιδράσεις είναι τύπου Th1, στις οποίες κυριαρχούν τα

CD4+ και τα CD8+ T που εκκρίνουν IFN- $\gamma$  και IL-2 (Walton, 2010). Στη παρούσα μελέτη, τόσο στα φυσικά περιστατικά όσο και κατά τη διάρκεια της πειραματικής μόλυνσης, τα CD4+ T λεμφοκύτταρα κυριαρχούσαν στο λεμφοκυτταρικό διήθημα του χορίου, χαρακτηριστικό της κλασικής μορφής της σαρκοπτικής ψώρας όπως αναφέρουν οι Arlian και συν. (1997). Η αναλογία CD4+/CD8+ λεμφοκυττάρων στα φυσικά μας περιστατικά ( $4,0973 \pm 1,21$ ), και στα πειραματόζωα των τελευταίων ημερών της πειραματικής μόλυνσης (dpi 60-90), βρέθηκε να είναι πλησίον του 4/1, εύρημα που συμφωνεί με μελέτες που έχουν γίνει στον άνθρωπο (Cabrera και Dahl, 1993; Walton, 2010) και στο σκύλο (Arlian και συν., 1997).

### 6.5.2 Έκφραση των γδ κυττάρων στην σαρκοπτική ψώρα

Στην παρούσα μελέτη παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση των WC1+ γδ λεμφοκυττάρων τόσο στο χόριο όσο και στην επιδερμίδα στα φυσικά περιστατικά και στα πειραματόζωα με σαρκοπτική ψώρα.

Σε μια πρόσφατη μελέτη στους χοίρους με τυπική σαρκοπτική ψώρα, βρέθηκε ότι οι τιμές των γδ κυττάρων παρουσίασαν αύξηση στην πρώτη εβδομάδα της πειραματικής μόλυνσης, ενώ παρέμειναν αυξημένα και 15 εβδομάδες μετά την μόλυνση. Αλλά και σε χοίρους με υπερκερατωτική σαρκοπτική ψώρα, οι τιμές γδ T κύτταρων μαζί με τις τιμές των CD8+ και CD3+/IL-17+ ήταν σημαντικά υψηλότερες σε σχέση με αυτές των χοίρων με τυπική σαρκοπτική ψώρα (Liu και συν., 2014).

Τα γδ κύτταρα αποτελούν σημαντικά συστατικά της φυσικής ανοσίας και παίζουν σημαντικό ρόλο στις αρχικές ανοσολογικές αποκρίσεις απέναντι σε παθογόνους μικροοργανισμούς. Πιο συγκεκριμένα, τα γδ κύτταρα του δέρματος στοχεύουν στον περιορισμό και την εξάλειψη των παθογόνων και την στρατολόγηση κυττάρων του ανοσοποιητικού στις θέσεις φλεγμονής, ενώ ταυτόχρονα προωθούν την αποκατάσταση των ιστών με την έκκριση του KGF (Keratinocyte growth factor) (Zheng και συν., 2013).

Όσο αφορά την παρουσία και το ρόλο των γδ T λεμφοκυττάρων υπάρχει παντελής απουσία δεδομένων για το δέρμα της αίγας τόσο σε κλινικά υγιές δέρμα όσο και σε δερματοπάθειες. Έχει αναφερθεί ότι τα γδ T λεμφοκύτταρα συμμετέχουν στους ανοσολογικούς μηχανισμούς που λαμβάνουν χώρα σε άλλα νοσήματα των αιγών, όπως στη μόλυνση με τα παράσιτα *Haemonchus contortus* (Pérez και συν., 2008),

*Fasciola hepatica* (Zafra και συν., 2009), *Schistosoma bovis* (Lindberg και συν., 1999) και *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, (Lybeck και συν., 2013).

Ειδικότερα, σε αίγες που μολύνθηκαν με το *Haemonchus contortus*, αυξήθηκαν σε μεγάλο βαθμό τα γδ λεμφοκύτταρα στο βλεννογόνο του ηνύστρου, (Pérez και συν., 2003; Pérez και συν., 2008). Στο ήπαρ και στους ηπατικούς λεμφαδένες αιγών που είχαν μολυνθεί με το *Fasciola hepatica* και ανοσοποιηθεί με ένα συνθετικό πεπτίδιο (Sm14 αντιγόνο), παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση των των γδ T λεμφοκυττάρων (Zafra και συν., 2009). Επιπρόσθετα, στο ήπαρ αιγών που μολύνθηκαν με το *Fasciola hepatica* και ανοσοποιηθεί με ανασυνδιασμένη μεταφορά γλουταθειόνης (rFhGST-S1), στο φλεγμονώδες διήθημα συμμετείχαν επίσης γδ T κύτταρα. (Zafra και συν., 2010). Στα κοκκιώματα αιγών που μολύνθηκαν με το *Schistosoma bovis* ανιχνεύτηκαν γδ (WC1+) T κυττάρων. Μάλιστα, τα γδ λεμφοκύτταρα και τα MHCII+ μακροφάγα μάλιστα αποτελούσαν τις κυρίαρχες υποκατηγορίες κυττάρων περιαιγιακά στον υποβλεννογόνο του εντέρου (Lindberg και συν., 1999).

Στις αίγες με παραφυματίωση, στους λεμφαδένες του μεσεντερίου, του ειλεού και του τυφλού, ο αριθμός των γδ λεμφοκυττάρων ήταν αυξημένος αλλά δεν ξεπερνούσε τα  $1/1500\text{mm}^{-2}$  (Navarro και συν., 1998). Αλλά και στην υποκλινική παραφυματίωση των αιγών εντοπίστηκαν λίγα γδ TCR+ κύτταρα στις αλλοιώσεις των κοκκιωμάτων σε αντίθεση με την χοριακή στιβάδα (Valheim et al, 2004). Τέλος, σε φυσικά περιστατικά αιγών μολυσμένων με *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, ανιχνεύτηκαν γδ TCR+ κύτταρα σε εστιακές και διάχυτες κοκκιωματώδεις αλλοιώσεις του λεπτού εντέρου (νηστίδα) και των μεσεντερικών λεμφογαγγλίων (Lybeck και συν., 2013).

Σε φυσικά περιστατικά αιγών με φυματίωση, τα γδ λεμφοκύτταρα εντοπίζονταν σπάνια (με ανοσοϊστοχημεία) στις βιοψίες πνεύμονα και μεσοπνευμόνιων λεμφογαγγλίων, γεγονός που στηρίζει την άποψη ότι παίζουν δευτερογενή ρόλο στην ανοσολογική απόκριση στη φυματίωση, πιθανώς ρυθμίζοντας τους διαφορετικούς πληθυσμούς που συμμετέχουν σε αυτή την απόκριση (Seva και συν., 2000). Θα πρέπει να σημειωθεί ότι στα φυματικά σπήλαια του πνεύμονα φυσικών περιστατικών αιγών με φυματίωση παρατηρήθηκε ανοσοϊστοχημικά μεγαλύτερη αύξηση των WC1+ γδ κυττάρων σε σχέση με τα κοκκιώματα, η οποία σχετιζόταν με τον μεγάλο αριθμό οξείων βακίλλων στις αλλοιώσεις. Μια πιθανή λειτουργία των γδ λεμφοκυττάρων στην φυματίωση είναι η προσέλκυση ουδετερόφιλων μέσω της έκκρισης της IL-17 (Sanchez και συν., 2011).

Η συμμετοχή των γδ λεμφοκυττάρων στις ανοσολογικές αποκρίσεις των άλλων ειδών μηρυκαστικών (πρόβατο, βοοειδή) έχουν καταγραφεί σε μια ποικιλία νοσημάτων που οφείλονται σε βακτήρια και πρωτόζωα, όπως η μόλυνση με *Theileria parva* (Daubenberger και συν., 1999), *Leptospira borgpetersenii* (Naiman και συν., 2001) *Anaplasma* (Lahmers και συν., 2006), *Mycobacteria bovis* (McGill και συν., 2014), *M. avium paratuberculosis* (Koets και συν., 2002).

Στο πρόβατο, τα γδ κύτταρα έχουν ανιχνευτεί στο φυσιολογικό δέρμα (Gorrell και συν., 1995; McElroy και συν., 1998) ενώ αυξημένα επίπεδα τους έχουν βρεθεί στις δερματικές αλλοιώσεις της αντίδρασης υπερευαισθησίας στο δινιτροχλωροβενζενιο (Jöngundsson και συν., 1999), και μετά από μόλυνση με προνύμφες του *Lucilia cuprina* (Bowles και συν., 1992), με το *Psoroptes ovis* (van den Broek και συν., 2005), το *Hyalomma anatolicum anatolicum* (Borpana και συν., 2005) και με τον ιό της ευλογιάς (Gulbahar και συν., 2006).

Επίσης, σε άλλα νοσήματα του προβάτου, σημαντική αύξηση του αριθμού των γδ κυττάρων παρατηρήθηκε στις πλάκες Peyer's της νηστίδας και του ειλεού του εντέρου νεογέννητων αρνιών που είχαν μολυνθεί πειραματικά με το *M. avium paratuberculosis*. Το εύρημα αυτό σε συνδυασμό με την απουσία αλλαγής στον αριθμό των CD1 μορίων υποδεικνύει ότι τα γδ κύτταρα πιθανόν να παίζουν ρόλο στα αρχικά στάδια της παραφυματίωσης (Beard et al, 2000).

Η πρωτεϊνική ανάλυση των γδ κυττάρων στην μήτρα έγκυων προβάτων έδειξε την παρουσία πολλών κοκκίων στα οποία εντοπίστηκε το αντιμικροβιακό πεπτίδιο, granulysin, γεγονός που αναδεικνύει την συμμετοχή των γδ TCR+ ενδοεπιθηλιακών λεμφοκυττάρων στην αναγνώριση διαφορετικών αντιγόνων και στην προστασία της μήτρας από μολύνσεις κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης (Fox και συν., 2010).

Τέλος, γδ κύτταρα ανιχνεύτηκαν σε μικρό αριθμό με ανοσοϊστοχημικές τεχνικές σε βιοψίες εγκεφάλου προβάτων με προϊούσα πνευμονία (Maedi - Visna), τόσο στις αλλοιώσεις που χαρακτηρίζονταν από αυξημένη διήθηση λεμφοκυττάρων, όσο και σε κείνες με αυξημένες συγκεντρώσεις μακροφάγων (Polledo et al, 2012).

Στα βοοειδη, τα WC1+ γδ κύτταρα των βοοειδών αποκρίνονται σε δενδριτικά κύτταρα που έχουν μολυνθεί με βακτήρια *M. bovis* (Price and Hope, 2009) και σε λεμφοκύτταρα που έχουν μολυνθεί με το *Theileria parva* (Daubenberger et al., 1999). Ειδικότερα, τα γδ T κύτταρα αποτελούν τον σύνδεσμο μεταξύ επίκτητης και φυσικής ανοσολογικής απόκρισης στο *M. bovis* με την έκκριση IFN-γ,

αποκρινόμενα σε μη πρωτεϊνικά αντιγόνα και πρωτεΐνες θερμικού σοκ τα οποία εκφράζονται σχετικά νωρίς στη μόλυνση με *M. bovis* και στελέχη μυκοβακτηριδίων (Waters και συν., 2011). Επειδή αυτές οι αντιδράσεις απαιτούν την άμεση επαφή των γδ κυττάρων με τα μολυσμένα κύτταρα του ξενιστή, είναι πιθανό τα γδ κύτταρα να μην αποκρίνονται στην έκκριση κυτοκινών αλλά σε DAMPs (DAMP, damage-associated molecular pattern) και μόρια που ανήκουν στην οικογένεια CD1 (Luoma και συν., 2014).

Στον άνθρωπο, τα γδ λεμφοκύτταρα αποτελούν μικρό ποσοστό των CD3+ λεμφοκυττάρων (<10%) σε δερματοπάθειες που χαρακτηρίζονταν από έντονο T λεμφοκυτταρικό διήθημα όπως η μυκητίαση, ο ομαλός λειχήνας, το πολύμορφο ερύθημα και η νόσος μοσχεύματος έναντι του ξενιστή (Graft versus host disease) (Hocker και συν., 2013).

Τα γδ κύτταρα αποτελούν ένα σύστημα ανοσοεπιτήρησης το οποίο λειτουργεί ως πρώτη γραμμή άμυνας απέναντι σε διάφορες μολυσματικές ασθένειες (Kaufmann, 1996). Στη παρούσα μελέτη, οι κυριότεροι λεμφοκυτταρικοί υποπληθυσμοί στο χόριο αιγών με σαρκοπτική ψώρα ήταν τα CD4+ και τα WC1+ γδ κύτταρα. Φαίνεται ότι τα γδ κύτταρα ως κύτταρα φυσικής ανοσίας δρουν κατά αντιγόνων του παρασίτου χωρίς να έχει προηγηθεί ευαισθητοποίηση από τα CD4+ κύτταρα. Έτσι καθώς η νόσος καθίσταται χρόνια, τα γδ κύτταρα συνεχίζουν να δρουν σε αυξημένους πληθυσμούς λόγω της συνεχούς παρουσίας του παρασιτικού αντιγόνου.

Στην πειραματική μας μελέτη χρησιμοποιήθηκαν συγκριτικά 2 ομάδες ζώων με διαφορετική ηλικία επειδή στη βιβλιογραφία αναφέρεται πως ο αριθμός και η εντόπιση των γδ T-λεμφοκυττάρων στα μηρυκαστικά είναι ιδιαίτερα υψηλή στα επιθήλια σε σύγκριση με τον άνθρωπο και τα ποντίκια, αλλά και ηλικιακά εξαρτώμενη. Πιο συγκεκριμένα μειώνεται προοδευτικά με την πάροδο της ηλικίας των μηρυκαστικών (Hein και συν., 1991). Όσο αφορά τη σύγκριση των ηλικιακών ομάδων της μελέτης μας, τα WC1+ γδ του χορίου βρέθηκαν αυξημένα στα ερίφια σε σχέση με τις αίγες, τόσο στα φυσικά περιστατικά όσο και κατά τη διάρκεια της πειραματικής μόλυνσης. Αυτό μπορεί να ερμηνευθεί, επειδή όπως έχει αναφερθεί τα μηρυκαστικά έχουν πολύ υψηλά επίπεδα γδ κυττάρων, ειδικά στα πρώτα χρόνια της ζωής τους, γεγονός που υποδηλώνει ότι βασίζονται περισσότερο στα γδ T κύτταρα για την άμυνα του ξενιστή σε σχέση με άλλα θηλαστικά, μέχρι την ωρίμανση των αβ λεμφοκυττάρων (Hein and Mackay, 1991).

Τα μηρυκαστικά, συμπεριλαμβανομένων και των αιγών, είναι τυπικά ξενιστές πολλών παθογόνων, πολλά από τα οποία προσβάλλουν τις επιφάνειες των βλεννογόνων γεγονός που θα μπορούσε να εξηγήσει το πολύ υψηλότερο επίπεδο των γδ Τ λεμφοκυττάρων στα μηρυκαστικά σε σύγκριση με άλλα είδη (Hein and Mackay, 1991). Η αφθονία των γδ Τ κυττάρων στα μηρυκαστικά υποδηλώνει μια πιθανή μεγαλύτερη σημασία για την υγεία του ξενιστή σε σχέση με άλλα είδη με μικρότερες συγκεντρώσεις γδ Τ λεμφοκυττάρων. Το σχετικά υψηλό ποσοστό του περιφερειακού αίματος σε γδ Τ λεμφοκύτταρα στα μηρυκαστικά διευκολύνει την απομόνωση μεγάλων αριθμών αυτών των κυττάρων για πειραματικούς σκοπούς. Συνεπώς, τα πειράματα που πραγματοποιούνται στα μηρυκαστικά όπως οι αίγες, θα μπορούσαν να δώσουν καλύτερα αποτελέσματα για το ρόλο των γδ Τ λεμφοκυττάρων σε σχέση με άλλα ζώα που διαθέτουν χαμηλότερα επίπεδα γδ Τ λεμφοκυττάρων. Πρόσφατα, τα βοοειδή προτείνονται να αποτελέσουν μοντέλα για την κατανόηση των λειτουργιών των γδ κυττάρων, μελετώντας την αντίδραση των γδ κυττάρων σε μια ποικιλία μολυσματικών νοσημάτων που οφείλονται σε βακτήρια και πρωτόζωα (Baldwin και Tefler, 2015).

Πολλά ερωτήματα σχετικά με τον εντοπισμό και τον βιολογικό ρόλο των γδ λεμφοκυττάρων στο δέρμα παραμένουν αναπάντητα. Επιπρόσθετες μελέτες είναι απαραίτητες για τον προσδιορισμό της συχνότητας εμφάνισης των γδ λεμφοκυττάρων σε διάφορες δερματοπάθειες.

Στον άνθρωπο και τα ποντίκια, ένα σημαντικό ποσοστό των CD4<sup>+</sup> και γδ κύτταρων στο χόριο εκκρίνουν μεγάλες ποσότητες IL-17 και πιθανόν να παίζουν σημαντικό ρόλο στην προστασία του ξενιστή απέναντι σε διάφορα παθογόνα. Η IL-17 ενεργοποιεί πολλά κύτταρα της φυσικής ανοσίας, στρατολογεί τα ουδετερόφιλα στις περιοχές με φλεγμονή καθώς και διεγείρει επιθηλιακά και ενδοθηλιακά κύτταρα να παράγουν φλεγμονώδεις κυτοκίνες όπως οι IL-1, IL-6 και TNF-α (Weaver και συν., 2007). Λαμβάνοντας υπόψη τα αυξημένα επίπεδα CD4<sup>+</sup> και γδ κυττάρων στο χόριο των αιγών με σαρκοπτική ψώρα, μελλοντικές μελέτες θα μπορούσαν να επικεντρωθούν στην ανίχνευση της IL-17 και της συσχέτισης της με την ένταση και την έκταση των δερματικών αλλοιώσεων. Σε ανάλογη μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε χοίρους με σαρκοπτική ψώρα, βρέθηκε ότι η βαρύτητα της ασθένειας σχετιζόταν με αλλεργική τύπου Th2 αντίδραση ενώ οι κυτοκίνες της Th17 αντίδρασης, IL-17 και IL-23 σχετιζόταν με την ανάπτυξη υπερκερατωτικής σαρκοπτικής ψώρας (Mounsey και συν., 2015).

### 6.5.3 Έκφραση των B κυττάρων στην σαρκοπτική ψώρα

Στη μελέτη μας, τα B (CD21+) κύτταρα ανιχνεύτηκαν σε πολύ μικρό ποσοστό στο φλεγμονώδες διήθημα κυρίως μετά την 50η ημέρα μετά τη μόλυνση. Η απουσία ή ελάχιστη παρουσία (μεμονωμένα κύτταρα) B λεμφοκυττάρων στο φλεγμονώδες διήθημα του δέρματος με σαρκοπτική ψώρα έχει καταγραφεί και σε άλλα είδη θηλαστικών όπως ο άνθρωπος (Walton, 2010), ο σκύλος (Stemmer και συν., 1996), ο φασκολόμυς (Skerratt, 2003) και το πρόβατο (Δούκας, 2014).

Ο ανοσολογικός ρόλος των B λεμφοκυττάρων στην αίγα έχει διερευνηθεί σε άλλα νοσήματα της αίγας όπως η παραφυματίωση όπου συμμετέχουν σημαντικά στους παθογενετικούς μηχανισμούς του νοσήματος και στο τύπο των μακροσκοπικών αλλοιώσεων (Lybeck και συν., 2013).

## 6.6 Μεταβολή της έκφρασης των κερατινών αιγών στο δέρμα με σαρκοπτική ψώρα

Η μόνη αναφορά σε σχέση με την μεταβολή της έκφρασης των κερατινών στο δέρμα με σαρκοπτική ψώρα είναι αυτή των Rode και συν. (1998) όπου αναφέρεται απώλεια της έκφρασης των κερατινών στην επιδερμίδα των σαμουά. Στη δική μας μελέτη, οι διαφορές μεταξύ των βιοψιών δέρματος μεταξύ υγιών αιγών και αιγών με σαρκοπτική ψώρα αφορούν στην αλλαγή της κατανομής κερατινών στη βασική και στην ακανθωτή στιβάδα της επιδερμίδας. Πιο συγκεκριμένα, στην επιδερμίδα αιγών με σαρκοπτική ψώρα, οι κερατίνες 14, 19, 5/6 ανιχνεύτηκαν, εκτός από τη βασική στιβάδα, όπως παρατηρείται στο υγιές δέρμα, και στην ακανθωτή στιβάδα.

Αλλαγές στην έκφραση των κυτοκερατινών (πρώωρη εμφάνιση δεικτών τελικής διαφοροποίησης, καθυστέρηση της σύνθεσης ορισμένων κερατινών και εμφάνιση κερατινών που δεν εκφράζονται στην υγιή επιδερμίδα) έχουν παρατηρηθεί σε διάφορες δερματοπάθειες (Vaidya και Kanojia, 2007).

Η αλλαγή στην κατανομή των κερατινών των αιγών της μελέτης μας συμφωνεί με ευρήματα μελέτων σε βιοψίες ανθρώπων με χρωμομύκωση, παρακοκκιδιομύκωση και λειψμανίωση (Nogueira-Castañon και συν., 2004), λειχνοειδή αμυλοείδωση, (Araydin και συν., 2004) και λειψμανίαση (Viana και συν., 2011). Ειδικότερα, σε βιοψίες ασθενών ανθρώπων με χρωμομύκωση, παρακοκκιδιομύκωση και



λεισμανίωση, η κυτοκερατίνη K14 εκφραζόταν έντονα σε όλη την επιδερμίδα ανεξάρτητα από τον βαθμό της υπερπλασίας, σε αντίθεση με το φυσιολογικό δέρμα όπου εκφράζονταν μόνο στη βασική στιβάδα (Nogueira-Castañon και συν., 2004). Έκφραση της CK14 στην ακανθωτή στιβάδα, εκτός από την βασική στιβάδα έχει καταγραφεί σε βιοψίες δέρματος ασθενών με φλεβικό έκζεμα και λιποδερματοσκλήρυνση (Peschen και συν., 1997). Στην δερματική λειχηνοειδή αμυλοείδωση, οι κερατίνες CK5/6 και CK14 εντοπίστηκαν στα κερατινοκύτταρα της βασικής και της ακανθωτής στιβάδας στα υπερκείμενα των εναποθέσεων του αμυλοειδούς (Araydin και συν., 2004). Στη δερματική λεισμανίωση που χαρακτηρίζεται από παρουσία ψευδοεπιθηλωματώδους υπερπλασίας, η ανοσοϊστοχημική χρώση της CK14 και CK6 βρέθηκαν ομοιόμορφα σε όλες τις στιβάδες της επιδερμίδας ενώ στο υγιές δέρμα η CK14 εκφραζόταν μόνο στη βασική στιβάδα (Viana και συν., 2011). Φαίνεται ότι η φλεγμονή και η ορθοκερατωτική υπερκεράτωση ή η παρακεράτωση έχει σαν αποτέλεσμα την αλλαγή της έκφρασης των κερατινών (Jacques και συν., 2009).

Σε άλλα θηλαστικά, παρόμοια ευρήματα με την παρούσα μελέτη βρέθηκαν σε ποντίκια (HogenEsch και συν., 1999) και σε άλογα με χρόνιες δερματοπάθειες (Geburek και συν., 2005) και σε βοοειδή με ελκώδεις χηλές (Hendry και συν., 2001). Ειδικότερα, σε γενετικά τροποποιημένα ποντίκια (cpdm/cpdm) με χρόνια δερματοπάθεια που χαρακτηρίζεται από επιδερμική υπερπλασία και έντονη φλεγμονή, οι K5 και K14 εντοπίστηκαν τόσο στη βασική στιβάδα όσο και στην ακανθωτή (HogenEsch και συν., 1999). Στις εξελκωμένες χηλές βοοειδών, ο ανοσοϊστοχημικός εντοπισμός των CK5/6 και CK14 κοντά σε περιοχές νέκρωσης περιελάμβανε, εκτός από την βασική στιβάδα, και την ακανθωτή σε αντίθεση με το φυσιολογικό ιστό όπου οι CK5/6 και CK14 ανιχνεύονται μόνο στη βασική στιβάδα (Hendry και συν., 2001). Επιπρόσθετα, στις χρόνιες δερματίτιδες του αλόγου, η έκφραση των CK5/6 και CK14 αυξήθηκε στην ακανθωτή στιβάδα και μειώθηκε στη βασική στιβάδα, όπου παρατηρούνταν μέτρια ή αυξημένη επιδερμική υπερπλασία (Geburek και συν., 2005).

Στις δερματικές αλλοιώσεις σκύλων με ατοπική δερματίτιδα, παρατηρήθηκε αύξηση των γονιδίων των CK5 και CK14 με την τεχνική της PCR (Theerawatanasirikul και συν., 2012).

Συμπερασματικά, η παρούσα ανοσοϊστοχημική διερεύνηση συγκεκριμένων κερατινών στο δέρμα αιγών με σαρκοπτική ψώρα καταδεικνύονται αξιοσημείωτες

διαφορές σε σχέση με την αντίστοιχη έκφραση τους στο υγιές δέρμα. Οι αλλαγές στους μηχανισμούς πολλαπλασιασμού των κερατινοκυττάρων στη σαρκοπτική ψώρα συνοδεύονται από αλλαγή στην κατανομή των κερατινών. Φαίνεται ότι η δράση του παρασίτου είχε σαν αποτέλεσμα την ανώμαλη κατανομή των κερατινών, τον αυξημένο ρυθμό πολλαπλασιασμού και διαφοροποίησης των κερατινοκυττάρων και την ενεργοποίηση επιδιορθωτικών μηχανισμών (πρωτεϊνوسύνθεση). Η διέγερση των κερατινοκυττάρων που περιέχουν υψηλού μοριακού βάρους πολυπεπίδια κερατίνης μπορεί να οφείλεται στη δράση ενζύμων του παρασίτου ή σε μηχανικό τραύμα (Van Neste και Staquet, 1986).

Η έκφραση της κυτοκερατίνης 14, 5/6 και 19 στην ακανθωτή στιβάδα της επιδερμίδας των αιγών με σαρκοπτική ψώρα πιθανόν να σχετίζεται με τον αδιαφοροποίητο φαινότυπο των κερατινοκυττάρων και τον μη φυσιολογικό ρυθμό πολλαπλασιασμού των κερατινοκυττάρων.

# Συμπεράσματα

---

- Ο πειραματισμός κατέδειξε ότι είναι δυνατή η ταυτόχρονη μόλυνση από το *Sarcoptes scabiei* και η ανάπτυξη αλλοιώσεων παράλληλα σε δύο διαφορετικές ανατομικές περιοχές του δέρματος των αιγών.
- Οι ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις που παρατηρήθηκαν στα φυσικά περιστατικά και στα πειραματόζωα ήταν ανάλογες με αυτές στον άνθρωπο, στο πρόβατο, στο χόριο, στο σκύλο και σε θηλαστικά άγριας πανίδας.
- Εκτός από φορμόλη, ως μονιμοποιητικό μέσο χρησιμοποιήθηκε με επιτυχία το διάλυμα ZSF στην ανοσοιστοχημική μελέτων των λεμφοκυτταρικών υποπληθυσμών στο δέρμα της αίγας.
- Όσο αφορά τον ανοσοφαινότυπο του υγιούς δέρματος των αιγών, στην επιδερμίδα η απουσία οποιουδήποτε υποπληθυσμού λεμφοκυττάρων στις αίγες της μελέτης είναι εύρημα που έχει αναφερθεί μόνο για φυσιολογικό δέρμα της γάτας και του αλόγου. Σε αντιδιαστολή, η παρουσία ενδοεπιδερμικών T λεμφοκυττάρων στο υγιές δέρμα έχει καταγραφεί στον άνθρωπο, στο ποντίκι, στο πρόβατο, στην αγελάδα και στο αλπάκα. Στο χόριο υγιών αιγών, τα γδ+ λεμφοκύτταρα ήταν πάντοτε ο κυρίαρχος λεμφοκυτταρικός υποπληθυσμός σε αντίθεση με τα βιβλιογραφικά δεδομένα για το πρόβατο, ενώ η απουσία B-λεμφοκυττάρων αποτελεί εύρημα που συμφωνεί με αντίστοιχα σε άλλα θηλαστικά.
- Η μελέτη μας κατέδειξε την έκφραση διάφορων κερατινών στα δομικά στοιχεία του δέρματος των αιγών με τη χρήση εμπορικών αντισωμάτων με ένδειξη για τον άνθρωπο. Από τη σύγκριση των δικών μας ευρημάτων με τα αντίστοιχα στον άνθρωπο και στο σκύλο προκύπτουν ομοιότητες ως προς την έκφραση κάθε κερατίνης που μελετήθηκε στο υγιές δέρμα. Η παρούσα μελέτη καθιερώνει τη χρήση μιας σειράς μονοκλωνικών αντισωμάτων ειδικότητας ανθρώπου, που παρουσιάζουν διασταυρούμενη αντίδραση στο δέρμα αιγών και μπορούν να εφαρμοστούν στη μελέτη έκφρασης των κερατινών σε διάφορες δερματοπάθειες των αιγών.

- Η ανάπτυξη μηχανισμών κυτταρικής ανοσίας έναντι του *Sarcoptes scabiei* στις αίγες χαρακτηρίζεται από σχεδόν αποκλειστική παρουσία T-λεμφοκυττάρων (CD3+) και ελάχιστη παρουσία (αραιά και μεμονωμένα) B-λεμφοκυττάρων (CD21+). Τα CD4+ T λεμφοκύτταρα κυριαρχούν στο φλεγμονώδες διήθημα του χορίου. Ανάλογα βιβλιογραφικά δεδομένα καταγράφονται σε άλλα είδη (άνθρωπος, σκύλος, πρόβατο). Η αναλογία CD4+/CD8+ λεμφοκυττάρων βρέθηκε πλησίον του 4/1 στα φυσικά περιστατικά και στα πειραματόζωα στο τέλος του πειραματισμού (dpi 60-90), Ανάλογα βιβλιογραφικά δεδομένα καταγράφονται σε άλλα είδη (άνθρωπος, σκύλος, πρόβατο).
- Η επιδερμίδα χαρακτηρίζεται από αξιοσημείωτη εξωκύττωση γδ+ T λεμφοκυττάρων, τα οποία εντοπίζονται κυρίως περιμετρικά από ακάρεα *Sarcoptes scabiei*, ενώ στο φλεγμονώδες διήθημα του χορίου συμμετέχουν σε σημαντικό ποσοστό σε όλες τις ηλικίες (πιο έντονα στα ερίφια) και σε όλη την εξέλιξη των αλλοιώσεων. Έτσι, συμπεραίνεται ότι στην αίγα τα γδ+ T λεμφοκύτταρα αποτελούν σημαντική παράμετρο της ανοσολογικής αντίδρασης έναντι αντιγόνων του *Sarcoptes scabiei*.
- Οι διαφορές έκφρασης κερατινών μεταξύ βιοψιών δέρματος υγιών αιγών και αυτών με σαρκοπτική ψώρα αφορούν την αλλαγή της κατανομής των κερατινών στη βασική και στην ακανθωτή στιβάδα της επιδερμίδας. Ειδικότερα, στο δέρμα αιγών με σαρκοπτική ψώρα οι κερατίνες 14, 19, 5/6 ανιχνεύτηκαν, εκτός από τη βασική (όπως παρατηρείται στο υγιές δέρμα) και στην ακανθωτή στιβάδα, γεγονός που μπορεί να συντελέσει στη μελέτη της επιθηλιακής διαφοροποίησης και στο χαρακτηρισμό αλλοιώσεων σε άλλες δερματοπάθειες της αίγας.

# Βιβλιογραφία

---

## Ελληνική Βιβλιογραφία

- Δούκας Δ. (2014) Παθολογοανατομική μελέτη της σαρκοπτικής ψώρας στα μικρά μηρυκαστικά, Διδακτορική διατριβή, Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, Τμήμα Κτηνιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Καρδίτσα
- Νακοπούλου Λ. (1999) Ανοσοϊστοχημεία Ιατρικές Εκδόσεις Π. Χ. Πασχαλίδης

## Αγγλόφωνη Βιβλιογραφία

- Abu-Samra MT, Ibrahim KE, Aziz MA. (1984) Experimental infection of goats with *Sarcoptes scabiei* var. *ovis*. Ann Trop Med Parasitol 78: 55-61.
- Afshar M, Gallo RL. (2013) Innate immune defense system of the skin. Vet Dermatol. 24(1):32-8.e8-9.
- Ahmad MA, Jha GJ, Basu A, Ansari MZ, Sahai BN. (1990) Histopathology of skin at different stages of experimental infection with *Sarcoptes scabiei* in goats and sheep. Indian Journal Of Animal Sciences. 60(12):1397-1401.
- Alam H, Sehgal L, Kundu ST, Dalal SN, Vaidya MM. (2011) Novel function of keratins 5 and 14 in proliferation and differentiation of stratified epithelial cells. Mol Biol Cell. 22(21):4068-78.
- Alasaad S, Rossi L, Soriguer RC, Rambozzi L, Soglia D, Pérez JM, Zhu XQ. (2009) *Sarcoptes* mite from collection to DNA extraction: the lost realm of the neglected parasite. Parasitol Res. 104(4):723-32.
- Ansai SI, Katagata Y, Yoshikawa KI, Hozumi Y, Aso K. (1993) Keratin specificity analyses of eight anti-keratin monoclonal antibodies, and their immunostaining patterns in normal skin using formalin-fixed and paraffin-embedded tissue specimens. Arch Dermatol Res. 285(1-2):6-12.
- Apaydin R, Gürbüz Y, Bayramgürler D, Müezzinoğlu B, Bilen N. (2004) Cytokeratin expression in lichen amyloidosis and macular amyloidosis. J Eur Acad Dermatol Venereol. 18(3):305-9.
- Arlian LG, Runyan RA, Achar S, and Estes SA. (1984a) Survival and infectivity of *Sarcoptes scabiei* var. *canis* and var. *hominis*. Journal of the American Academy of Dermatology 11:210-215.

- Arlian LG, Runyan RA, Sorlie LB, and Estes SA. (1984c) Host-seeking behavior of *Sarcoptes scabiei*. *Journal of the American Academy of Dermatology* 11:594-598.
- Arlian LG, Vyszenski-Moher DL. (1988) Life cycle of *Sarcoptes scabiei* var. *canis*. *J Parasitol.* 74(3):427-30.
- Arlian LG, Vyszenski-Moher DL and Pole MJ. (1989) Survival of Adults and Developmental Stages of *Sarcoptes scabiei* var. *canis* when Off the Host *Experimental & Applied Acarology*, 6:181-187.
- Arlian LG. (1989) Biology, host relations, and epidemiology of *Sarcoptes scabiei*. *Ann. Rev. Entomol.* 34:139–161.
- Arlian LG, Rapp CM, Vyszenski-Moher DL, Morgan MS. (1994) *Sarcoptes scabiei*: histopathological changes associated with acquisition and expression of host immunity to scabies. *Exp Parasitol* 78(1):51-63.
- Arlian L.G., Morgan M.S., Vyszenski-Moher D.L. & Stemmer B.L. (1994) *Sarcoptes scabiei*: The circulating antibody response and induced immunity to scabies. *Exp. Parasitol.* 78:37–50.
- Arlian LG, Morgan MS, Rapp CM, Vyszenski-Moher DL. (1996b) The development of protective immunity in canine scabies. *Veterinary Parasitology* 62:133-142.
- Arlian LG, Rapp CM, Stemmer BL, Morgan MS & Moore PF. (1997) Characterization of lymphocyte subtypes in scabietic skin lesions of naive and sensitized dogs. *Vet Parasitol* 68: 347–358.
- Arlian LG, Morgan MS & Neal JS. (2003) Modulation of cytokine expression in human keratinocytes and fibroblasts by extracts of scabies mites. *Am J Trop Med Hyg* 69: 652–656.
- Asghar A., Hassanien O., Alsadi A., Feda H. and Fathi S. (2011) Prevalence of Scabies Diagnosed in Sheep and Goats During Hajj Season in Makkah *Journal of Agricultural and Veterinary Sciences* 4(1):37-43.
- Baker B. (2007) *Skin Immune Mechanisms in Health and Disease* (2007) Garner Press ISBN: 978-0-9551603-0-1.
- Baldwin CL, Telfer JC. (2015) The bovine model for elucidating the role of  $\gamma\delta$  T cells in controlling infectious diseases of importance to cattle and humans. *Mol Immunol.* 66(1):35-47.

- Bangert C, Brunner P, Stingl G. (2011) Immune functions of the skin Clinics in Dermatology 29:360–376.
- Beard PM, Rhind SM, Sinclair MC, Wildblood LA, Stevenson K, McKendrick IJ, Sharp JM, Jones DG. (2000) Modulation of gammadelta T cells and CD1 in Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis infection. Vet Immunol Immunopathol. 29;77(3-4):311-9.
- Beckstead JH. (1994) A simple technique for preservation of fixation-sensitive antigens in paraffin-embedded tissues. J Histochem Cytochem. 42(8):1127-34.
- Bergstrom FC, Reynolds S, Johnstone M, Pike RN, Buckle AM. (2009) Scabies mite inactivated serine protease paralogs inhibit the human complement system. J Immunol 182: 7809-7817.
- Bezold G, Lange M, Schiener R, Palmedo G, Sander CA, Kerscher M, Peter RU. (2001) Hidden scabies: diagnosis by polymerase chain reaction. Br J Dermatol. 2001 144(3):614-8.
- Bhawan J, Bansal C, Whren K, Schwertschlag U; IL-11 Psoriasis Study Group. (2004) K16 expression in uninvolved psoriatic skin: a possible marker of pre-clinical psoriasis. J Cutan Pathol. 31(7):471-6.
- Birk RW, Tebbe B, Schein E, Zouboulis CC, Orfanos CE. (1999) Pseudo-scabies transmitted by red fox. Hautarzt. 50(2):127-30.
- Blas M, Bravo F, Castillo W, Castillo WJ, Ballona R, Navarro P, Catacora J, Cairampoma R, Gotuzzo E. (2005) Norwegian scabies in Peru: the impact of human T cell lymphotropic virus type I infection. Am J Trop Med Hyg. 2005 72(6):855-7.
- Boppana DK, Wikel SK, Raj DG, Manohar MB, Lalitha J. (2005) Cellular infiltration at skin lesions and draining lymph nodes of sheep infested with adult Hyalomma anatolicum anatolicum ticks. Parasitology. 131(Pt 5):657-67.
- Bornstein S. (1991) Experimental Infection of Dogs with *Sarcoptes scabiei* Derived from Naturally Infected Wild Red Foxes (*Vulpes vulpes*): Clinical Observations Veterinary Dermatology 2:151-159.
- Bornstein S, Zakrisson G. (1993a) Clinical Picture and Antibody Response in Pigs Infected by *Sarcoptes scabiei* var. *suis* Veterinary Dermatology. 4(3): 123-131.

- Bornstein S, Zakrisson G. (1993b) Humoral Antibody Response to Experimental *Sarcoptes scabiei* var. *vulpes* Infection in the Dog Veterinary Dermatology, 4(3):107-110.
- Bornstein S., Mörner T. & Samuel W.M. (2001). *Sarcoptes scabiei* and sarcoptic mange. In: Parasitic Diseases of Wild Mammals, Third Edition, Samuel W.M., Pybus M.J. & Kocan A.A., eds. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA, 107–119.
- Bos D. (2005) Skin Immune System- Cutaneous Immunology and Clinical Immunodermatology Third Edition CRC PRESS ISBN 0-8493-1959-5.
- Bos JD, Zonneveld I, Das PK, Krieg SR, van der Loos CM, Kapsenberg ML. (1987) The skin immune system (SIS): distribution and immunophenotype of lymphocyte subpopulations in normal human skin. J Invest Dermatol. 1987 May;88(5):569-73.
- Bowles VM, Grey ST, Brandon MR. (1992) Cellular immune responses in the skin of sheep infected with larvae of *Lucilia cuprina*, the sheep blowfly. Vet Parasitol. 44(1-2):151-62.
- Bragulla, H.H., D.G. Homberger (2009). Structure and functions of keratin proteins in simple, stratified, keratinized and cornified epithelia. J. Anat. 214:516–559.
- Broere F., Apasov SG., Sitkovsky MV, van Eden Willem. (2011) T cell subsets and T cell-mediated immunity Principles of Immunopharmacology pp 15-27.
- Bryan LA, Griebel PJ, Haines DM, Davis WC, Allen JR. (1988) Immunocytochemical identification of bovine Langerhans cells by use of a monoclonal antibody directed against class II MHC antigens. J Histochem Cytochem. 36(8):991-5.
- Burgess I. (1994). *Sarcoptes scabiei* and scabies. Adv. Parasitol. 33:235–292.
- Cabrera R, Dahl MV. (1993) The immunology of scabies. Sem Dermatol 12:15–21.
- Cabrera R, Guarda R, Palisson F, Gonzalez S. (2005) Parasitic infections. In: Bos JN. Ed. Skin Immune System, 3rd ed. Boca Rata: CRC Press, 680-1.
- Chan LY, Tang WY, Ho HH, Lo KK. (2000) Crusted (Norwegian) scabies in two old-age home residents. Hong Kong Med J. 6(4):428-30.



- Chanie M, Negash T, Sirak A. (2010) Ectoparasites are the major causes of various types of skin lesions in small ruminants in Ethiopia. *Trop Anim Health Prod.* 42(6):1103-9.
- Chosidow O. (2006) Clinical practices. Scabies. *N Engl J Med* 20:354–356.
- Chukwu DO and Ihemelandu EC. (1989) Morphometric studies on horn glands of Nigerian breeds of goat. *Small Rumin. Res.* 2: 367-374.
- Clark MD, Peters-Kennedy J, Scott DW. (2013) Resident lymphocytes in the epidermis and adnexal epithelia of normal dorsolateral thorax of alpacas. *Can J Vet Res* 77: 63-5.
- Constantino CF, Jefferies AR. (1993) Ultrastructure of Langerhans cells in goats epidermis *Vet Mex* 24(4): 317-320
- Cornall K, Wall R. (2015) Ectoparasites of goats in the UK. *Vet Parasitol.* 15;207(1-2):176-9.
- Coulombe PA, Omary MB. (2002) 'Hard' and 'soft' principles defining the structure, function and regulation of keratin intermediate filaments. *Curr Opin Cell Biol.* 14(1):110-22.
- Currier RW, Walton SF, Currie BJ. (2011) Scabies in animals and humans: history, evolutionary perspectives, and modern clinical management. *Ann N Y Acad Sci.* 1230:E50-60.
- Dandie GW, Clydesdale GJ, Jacobs I, Muller HK. (1998) Effects of UV on the migration and function of epidermal antigen presenting cells. *Mutat Res.* 9;422(1):147-54.
- Daubenberger CA, Taracha EL, Gaidulis L., Davis WC, McKeever DJ, (1999). Bovine gammadelta T-cell responses to the intracellular protozoan parasite *Theileria parva*. *Infect. Immun.* 67, 2241–2249.
- Davies PR. (1995) Sarcoptic mange and production performance of swine: a review of the literature and studies of associations between mite infestation, growth rate and measures of mange severity in growing pigs. *Vet Parasitol.* 60(3-4):249-64.
- Davis WC, Drbal K, Mosaad AE, Elbagory AR, Tibary A, Barrington GM, Park YH, Hamilton MJ. (2007) Use of flow cytometry to identify monoclonal antibodies that recognize conserved epitopes on orthologous leukocyte differentiation antigens in goats, llamas, and rabbits. *Vet Immunol Immunopathol.* 15;119(1-2):123-30.

- de Jong MA, de Witte L, Geijtenbeek TB. (2010) Isolation of immature primary Langerhans cells from human epidermal skin. *Methods Mol Biol.* 595:55-65
- de Rancourt M., Foiss N., Lavin M.P., Tchakerian E., Vallerand F. (2006) Mediterranean sheep and goats production: An uncertain future *Small Ruminant Research* 62:167–179.
- De UK, Dey S. (2010) Evaluation of organ function and oxidant/antioxidant status in goats with sarcoptic mange. *Trop Anim Health Prod.* 42(8):1663-8.
- Deane JA, Hickey MJ. (2009) Molecular mechanisms of leukocyte trafficking in T-cell-mediated skin inflammation: insights from intravital imaging. *Expert Rev Mol Med.* 20;11:e25.
- Debeer S, Le Luduec JB, Kaiserlian D, Laurent P, Nicolas JF, Dubois B, Kanitakis J. (2013) Comparative histology and immunohistochemistry of porcine versus human skin. *Eur J Dermatol.* 23(4):456-66.
- Di Nuzzo S, Pavanello P, Masotti A, Giordano G, De Panfilis G. (2009) Densities, distribution and phenotypic expression of T cells in human fetal skin. *Arch Dermatol Res.* 301(10):753-5.
- Dimri, U., Sharma, M.C., Swarup, D., Ranjan, R., Kataria, M. (2008b). Alterations in hepatic lipid peroxides and antioxidant profile in Indian water buffaloes suffering from sarcoptic mange. *Res. Vet. Sci.* 85:101–105.
- Dimri U, Bandyopadhyay S, Singh SK, Ranjan R, Mukherjee R, Yattoo MI, Patra PH, De UK, Dar AA. (2014) Assay of alterations in oxidative stress markers in pigs naturally infested with *Sarcoptes scabiei* var. *suis*. *Vet Parasitol* 15;205(1-2):295-9.
- Dorny P, Van Wyngaerden T, Vercruysse J, Symoens C, Jalia A. (1994) Survey on the importance of mange in the aetiology of skin lesions in goats in Peninsular Malaysia. *Trop Anim Health Prod.* 26(2):81-6.
- Edginton HD, Peters-Kennedy J, Scott DW. (2014) Resident lymphocytes in the dermis of the normal dorsolateral thoracic skin of alpacas. *Vet Dermatol.* 25(1):42-e15.
- Elder BL, Arlian LG & Morgan MS. (2006) *Sarcoptes scabiei* (Acari: Sarcoptidae) mite extract modulates expression of cytokines and adhesion

molecules by human dermal microvascular endothelial cells. *J Med Entomol* 43: 910–915.

- Elwood H, Berry RS, Gardner JM, Shalin SC. (2015) Superficial fibrin thrombi ... and other findings: a review of the histopathology of human scabietic infections. *J Cutan Pathol.* 42(5):346-52.
- Entrican G. (2002) New technologies for studying immune regulation in ruminants. *Vet Immunol Immunopathol.* 10;87(3-4):485-90.
- Espinosa de los Monteros A, Fernández A, Millán MY, Rodríguez F, Herráez P, Martín de las Mulas J. (1999) Coordinate expression of cytokeratins 7 and 20 in feline and canine carcinomas. *Vet Pathol.* 36(3):179-90.
- Estes SA, Kummel B. and Arlian LG. (1983) Experimental canine scabies in humans. *J. Am. Acad. Dermatol.* 9:397–401.
- Fain A. (1968) Etude de la variabilite de *Sarcoptes scabiei* avec une revision des Sarcoptidae. *Acta Zool. Pathol. Antverp.*, 47:1–196.
- Falk ES. (1980) Serum immunoglobulin values in patients with scabies. *Br J Dermatol* 102: 57–61.
- Falk ES, Eide TJ. (1981) Histologic and clinical findings in human scabies. *Int J Dermatol.* 20(9):600-5.
- Falk ES, Matre R. (1982) In situ characterization of cell infiltrates in the dermis of human scabies. *Am J Dermatopathol.* 4(1):9-15.
- Fernandez-Moran J, Gomez S, Ballesteros F, Quiros P, Benito JL, Feliu C, and Nieto JM. (1997) Epizootiology of sarcoptic mange in a population of cantabrian chamois (*Rupicapra pyrenaica parva*) in northwestern Spain. *Veterinary Parasitology* 73:163-171.
- Ferreira LM. (2013) Gammadelta T cells: innately adaptive immune cells? *Int Rev Immunol.* 32(3):223-48.
- Ferringer T. (2015) Immunohistochemistry in dermatopathology. *Arch Pathol Lab Med.* 139(1):83-105.
- Fischer K, Holt D, Currie B, Kemp D. (2012) Scabies: important clinical consequences explained by new molecular studies. *Adv Parasitol.* 79: 339-73.
- Fitzgerald SD, Cooley TM, Murphy A, Cosgrove MK, King BA. (2004) Sarcoptic mange in raccoons in Michigan. *J Wildl Dis.* 40(2):347-50.

- Fonseca V, Price HN, Jeffries M, Alder SL, Hansen RC. (2014) Crusted scabies misdiagnosed as erythrodermic psoriasis in a 3-year-old girl with down syndrome. *Pediatr Dermatol.* 31(6):753-4.
- Foster CA, Yokozeki H, Rappersberger K, Koning F, Volc-Platzer B, Rieger A, Coligan JE, Wolff K, Stingl G (1990) Human epidermal T cells predominately belong to the lineage expressing  $\alpha/\beta$  T cell receptor. *J Exp Med* 171:997-1013.
- Fouser LA, Wright JF, Dunussi-Joannopoulos K, Collins M. (2008) Th17 cytokines and their emerging roles in inflammation and autoimmunity. *Immunol Rev.* 226:87-102.
- Fox A, Maddox JF, de Veer MJ, Meeusen EN. (2010) GammadeltaTCR+ cells of the pregnant ovine uterus express variable T cell receptors and contain granulysin. *J Reprod Immunol.* 84(1):52-6.
- Frenz G, Veien NK, Eriksen K. (1977) Immunofluorescence studies in scabies. *J Cutan Pathol.* 4(4):191-3.
- Fthenakis GC, Karagiannidis A, Alexopoulos C, Brozos C, Papadopoulos E. (2001) Effects of sarcoptic mange on the reproductive performance of ewes and transmission of *Sarcoptes scabiei* to newborn lambs. *Vet Parasitol.* 95(1):63-71.
- Fuertes L, Santonja C, Kutzner H, Requena L. (2013) Immunohistochemistry in dermatopathology: a review of the most commonly used antibodies (part I). *Actas Dermosifiliogr.* 104(2):99-127.
- Gallegos JL, Budnik I, Peña A, Canales M, Concha M, López J. (2014) Sarcoptic mange: report of an outbreak in a family and their pet. *Rev Chilena Infectol.* 31(1):47-52.
- Geburek F, Ohnesorge B, Deegen E, Doecke R, Hewicker-Trautwein M. (2005) Alterations of epidermal proliferation and cytokeratin expression in skin biopsies from heavy draught horses with chronic pastern dermatitis. *Vet Dermatol* 16: 373-84.
- Geherin SA, Lee MH, Wilson RP, Debes GF. (2013) Ovine skin-recirculating  $\gamma\delta$  T cells express IFN- $\gamma$  and IL-17 and exit tissue independently of CCR7. *Vet Immunol Immunopathol.* 1;155(1-2):87-97.

- Giadinis ND, Farmaki R, Papaioannou N, Papadopoulos E, Karatzias H, Koutinas AF. (2011) Moxidectin efficacy in a goat herd with chronic and generalized sarcoptic mange. *Vet Med Int.* 2011:476348.
- Ginn PE, Mansell JEKL, Rakish PM. (2007) Skin and appendages. In: Grant Maxie M. ed. *Jubb, Kennedy and Palmers Pathology of Domestic Animals*, vol-1, 5th ed, Edinburgh: Saunders Elsevier, 553-780.
- Girolomoni G., Tessari G., Bos D. (2006) The Skin as an Immunologic Organ in *Handbook of Systemic Autoimmune diseases Volume 5, The Skin in Systemic Autoimmune Diseases Sarzi-Puttin P.*
- Gkegkes ID, Aroni K, Agrogiannis G, Patsouris ES, Konstantinidou AE. (2013) Expression of caspase-14 and keratin-19 in the human epidermis and appendages during fetal skin development. *Arch Dermatol Res.* 305(5):379-87.
- Goddard MJ, Wilson B, Grant JW. (1991) Comparison of commercially available cytokeratin antibodies in normal and neoplastic adult epithelial and non-epithelial tissues. *J Clin Pathol.* 44(8):660-3.
- Gorrell MD, Townsend WL, Ladds PW. (1995) The distribution of lymphocyte subpopulations in normal and acanthotic ovine skin. *Vet Immunol Immunopathol* 44: 151-67.
- Goyena E, Ruiz de Ybáñez R, Martínez-Carrasco C, Balseiro A, Alonso de Vega F, Casais R, Prieto M, García-Marín JF, Berriatua E. (2013) On the aggregated nature of chronic *Sarcoptes scabiei* infection in adult pigs. *Vet Parasitol.* 18;192(1-3):301-6.
- Grabowski G, Kanhai A, Grabowski R, Holewinski J, Williams ML. (2004) Norwegian scabies in the immunocompromised patient. *J Am Podiatr Med Assoc.* 94(6):583-6.
- Gross TL, Ihrke PG, Walder EJ, Affolter VK. (2005) *Skin Diseases of the Dog and Cat: Clinical and Histopathologic Diagnosis*, 2nd ed, Wiley-Blackwell.
- Gu LH, Coulombe PA. (2007) Keratin function in skin epithelia: a broadening palette with surprising shades *Curr Opin Cell Biol.* 19(1):13-23.
- Guillomot M. (1999) Changes in extracellular matrix components and cytokeratins in the endometrium during goat implantation. *Placenta.* 20(4):339-45.

- Gulbahar MY, Davis WC, Yuksel H, Cabalar M. (2006) Immunohistochemical evaluation of inflammatory infiltrate in the skin and lung of lambs naturally infected with sheeppox virus. *Vet Pathol.* 43(1):67-75.
- Guzman E, Price S, Poulsom H, Hope J. (2012) Bovine  $\gamma\delta$  T cells: cells with multiple functions and important roles in immunity. *Vet Immunol Immunopathol.* 15;148(1-2):161-7.
- Hadler-Olsen E, Kanapathippillai P, Berg E, Svineng G, Winberg JO, Uhlin-Hansen L. (2010) Gelatin in situ zymography on fixed, paraffin-embedded tissue: zinc and ethanol fixation preserve enzyme activity. *J Histochem Cytochem.* 58(1):29-39.
- Hamada M, Oyamada T, Yoshikawa H, Yoshikawa T, Itakura C. (1990) Keratin expression in equine normal epidermis and cutaneous papillomas using monoclonal antibodies. *J Comp Pathol.* 102(4):405-20.
- Hargis AM, Ginn PE. (2007) The integument. In: Mc Gavin MD, Zachary JF. Eds. *Pathologic Basis of Veterinary Disease*, 4th ed, St. Louis: Mosby Elsevier, 1107-261.
- Havran WL. (2000) A role for epithelial gammadelta T cells in tissue repair. *Immunol Res.* 21(2-3):63-9.
- Hay RJ, Steer AC, Engelman D, Walton S. (2012) Scabies in the developing world--its prevalence, complications, and management. *Clin Microbiol Infect.* 18(4):313-23.
- Hay RJ., Johns NE, Williams HC, Bolliger IW, Dellavalle RP, Margolis DJ, Marks R, Naldi L, Weinstock MA, Wulf SK, Michaud C, Naghavi M. (2014). The global burden of skin disease in 2010: an analysis of the prevalence and impact of skin conditions. *J. Invest. Dermatol.* 134, 1527– 1534.
- Hedges JF, Lubick KJ, Jutila MA. (2005) Gamma delta T cells respond directly to pathogen-associated molecular patterns. *J Immunol.* 174(10):6045–6053.
- Hein WR, Mackay CR. (1991) Prominence of  $\gamma\delta$  T cells in the ruminant immune system. *Immunol. Today.* 12: 30-34.
- Hein WR, Dudler L. (1997) TCR gamma delta+ cells are prominent in normal bovine skin and express a diverse repertoire of antigen receptors. *Immunology.* 91(1):58-64.

- Hendry KA1, MacCallum AJ, Knight CH, Wilde CJ. (2001) Synthesis and distribution of cytokeratins in healthy and ulcerated bovine claw epidermis. *J Dairy Res.* 68(4):525-37.
- Hocker TL, Wada DA, El-Azhary R, Gibson LE. (2012) Expression of T-cell receptor- $\gamma\delta$  in normal human skin, inflammatory dermatoses and mycosis fungoides. *J Cutan Pathol.* 39(4):419-24.
- Hoefling KK, Schroeter AL. (1980) Dermatoimmunopathology of scabies. *J Am Acad Dermatol.* 3(3):237-40.
- HogenEsch H, Boggess D, Sundberg JP. (1999) Changes in keratin and filaggrin expression in the skin of chronic proliferative dermatitis (cpdm) mutant mice. *Pathobiology.* 67(1):45-50.
- Hope, J.C. Sopp P., Wattedegera S., Entrican G. (2012) Tools and reagents for caprine immunology *Small Ruminant Research* 103(1); 23 – 27.
- Howard CJ and Morrison WI. (1991) Comparison of reactivity of monoclonal antibodies on bovine, ovine and caprine tissues and on cells from other animal species, *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 27:32-34.
- Igyártó BZ, Kaplan DH. (2013) Antigen presentation by Langerhans cells. *Curr Opin Immunol.* 25(1):115-9.
- Islam MS, Zhou H. (2007) Isolation and characterization of putative epidermal stem cells derived from Cashmere goat fetus. *Eur J Dermatol.* 17(4):302-8.
- Ismail HI, Hashimoto Y, Kon Y, Okada K, Davis WC, Iwanaga T. (1996) Lymphocyte subpopulations in the mammary gland of the goat. *Vet Immunol Immunopathol.* 52(3):201-12.
- Jacques CM, Pereira AL, Maia V, Cuzzi T, Ramos-e-Silva M. (2009) Expression of cytokeratins 10, 13, 14 and 19 in oral lichen planus. *J Oral Sci.* 51(3):355-65.
- Janeway CA Jr, Travers P, Walport M. (2001) *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease*. 5th edition. New York: Garland Science
- Antigen receptor structure and signaling pathways. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK27130/>.
- Jensen UB, Owens DM, Pedersen S, Christensen R. (2010) Zinc fixation preserves flow cytometry scatter and fluorescence parameters and allows

simultaneous analysis of DNA content and synthesis, and intracellular and surface epitopes. *Cytometry A*. 77(8):798-804.

- Jimenez-Lucho VE, Fallon F, Caputo C, Ramsay K. (1995) Role of prolonged surveillance in the eradication of nosocomial scabies in an extended care Veterans Affairs medical center. *American Journal of Infection Control*. 23(1): 44-49.
- Jörundsson E, Press CM, Ulvund M, Landsverk T. (1999) Prominence of gammadelta T cells in the elicitation phase of dinitrochlorobenzene-induced contact hypersensitivity in lambs. *Vet Pathol*. 36(1):42-50.
- Katsumata K. (2006) Simple Method of Detecting *Sarcoptes Scabiei* Var *Hominis* Mites among bedridden elderly patients suffering from severe scabies infestation using an adhesive-tape. *Internal Medicine*. 45(14): 857-859.
- Kaufmann SE. (1996) Gamma/delta and other unconventional T lymphocytes: what do they see and what do they do? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:2272–2279.
- Key M. (2006) Immunohistochemistry Staining Methods. In *Immunohistochemical Staining Methods Fourth Edition* (pp. 57-60) Dako, Carpinteria, California.
- Kim S, Wong P, Coulombe PA. (2006) A keratin cytoskeletal protein regulates protein synthesis and epithelial cell growth. *Nature*. 441:362–365.
- Kim S and Coulombe PA. (2007) Intermediate filament scaffolds fulfill mechanical, organizational, and signaling functions in the cytoplasm. *Genes Dev*. 21:1581-97.
- Kirfel J, Magin TM. and Reichelt J. (2003) Keratins: a structural scaffold with emerging functions *Cell Mol Life Sci*. 60(1):56-71.
- Koets A, Rutten V, Hoek A, van Mil F, Muller K, Bakker D, Gruys E, van Eden W. (2002) Progressive bovine paratuberculosis is associated with local loss of CD4(+) T cells, increased frequency of gamma delta T cells, and related changes in T-cell function. *Infect. Immun*. 70, 3856–3864.
- Korn T, Petermann F. (2012) Development and function of interleukin 17-producing  $\gamma\delta$  T cells. *Ann N Y Acad Sci*. 1247:34-45.
- Kozaki M, Nakamura Y, Iguchi M, Kano R, Watanabe S, Fujiwara K, Hasegawa A. (2001) Immunohistochemical analysis of cytokeratin expression in dog skin. *J Vet Med Sci*. 63:1-4.



- Krueger J, Ray A, Tamm I, Sehgal PB. (1991) Expression and function of interleukin-6 in epithelial cells. *J Cell Biochem.* 45(4):327-34.
- Kubo A, Nagao K, Yokouchi M, Sasaki H, Amagai M. (2009) External antigen uptake by Langerhans cells with reorganization of epidermal tight junction barriers. *J Exp Med.* 21;206(13):2937-46.
- Kuhn C, Lucius R, Matthes HF, Meusel G, Reich B, Kalinna BH. (2008) Characterisation of recombinant immunoreactive antigens of the scab mite *Sarcoptes scabiei*. *Vet parasitol* 31;153(3-4):329-37.
- Kupper TS, Groves RW. (1995) The interleukin-1 axis and cutaneous inflammation. *J Invest Dermatol* 105(1):62S-6S.
- Kupper TS and Fuhlbrigge RC. (2004) Immune surveillance in the skin: mechanisms and clinical consequences. *Nat Rev Immunol* 4:211–222.
- La Vincente S, Kearns T, Connors C, Cameron S, Carapetis J, Andrews R. (2009) Community management of endemic scabies in remote aboriginal communities of northern Australia: low treatment uptake and high ongoing acquisition. *PLoS Negl Trop Dis.* 26;3(5):e444.
- Lahmers KK, Hedges JF, Jutila MA, Deng M, Abrahamsen MS, Brown, WC. (2006). Comparative gene expression by WC1+gammadelta and CD4+alphabetaT lymphocytes, which respond to *Anaplasma marginale*, demonstrates higher expression of chemokines and other myeloid cell-associated genes by WC1+gammadelta T cells. *J. Leukoc. Biol.* 80, 939–952.
- Lalli PN, Morgan MS, Arlian LG. (2004) Skewed Th1/Th2 immune response to *Sarcoptes scabiei*. *J Parasitol.* 90(4):711-4.
- Lastras ME, Pastor J, Marco I, Ruiz M, Viñas L, Lavin S. (2000) Effects of sarcoptic mange on serum proteins and immunoglobulin G levels in chamois (*Rupicapra pyrenaica*) and Spanish ibex (*Capra pyrenaica*). *Vet Parasitol.* 88(3-4):313-9.
- Lavin S, Ruis-Bascaran M, Marco I, Fondevilla MD, Ramis AJ. (2000) Experimental infection of chamois (*Rupicapra pyrenaica parva*) with *Sarcoptes scabiei* derived from naturally infected goats. *J Vet Med B* 47: 693-99.
- Lebre MC, van der Aar AM, van Baarsen L, van Capel TM, Schuitemaker JH, Kapsenberg ML, de Jong EC. (2007) Human keratinocytes express functional Toll-like receptor 3, 4, 5, and 9. *J Invest Dermatol.* 127(2):331-41.

- Lee J, Choi K, Olin MR, Cho SN, Molitor TW. (2004) Gammadelta T cells in immunity induced by *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guérin vaccination. *Infect Immun.* 72(3):1504-11.
- Li J, Fu X, Sun X, Sun T, Sheng Z. (2002) The interaction between epidermal growth factor and matrix metalloproteinases induces the development of sweat glands in human fetal skin. *J Surg Res.* 106(2):258-63.
- Lindberg R, Johansen MV, Nilsson C, Nansen P. (1999) An immunohistological study of phenotypic characteristics of cells of the inflammatory response in the intestine of *Schistosoma bovis*-infected goats. *Parasitology.* 118 ( Pt 1):91-9.
- Little SE, Davidson WR, Rakich PM, Nixon TL, Bounous DI. and Nettles VF. (1998b) Responses of red foxes to first and second infection with *Sarcoptes scabiei*. *Journal of Wildlife Management* 34:600–611.
- Liu Y, Zhou H, Gao F. (2008) Isolation and identification of stem cells from adult cashmere goat skin. *Int J Dermatol.* 47(6):551-6.
- Liu X, Walton SF, Murray HC, King M, Kelly A, Holt DC, Currie BJ, McCarthy JS, Mounsey KE. (2014) Crusted scabies is associated with increased IL-17 secretion by skin T cells. *Parasite Immunol.* 36(11):594-604.
- Lulevich V, Yang H, Isseroff R, Liu G. (2010) Single cell mechanics of keratinocyte cells *Ultramicroscopy* 110:1435–1442.
- Luoma AM, Castro CD, Adams EJ. (2014)  $\gamma\delta$  T cell surveillance via CD1 molecules. *Trends Immunol.* 2;35(12):613-621.
- Lusat J, Morgan ER, Wall R. (2009) Mange in alpacas, llamas and goats in the UK: incidence and risk. *Vet Parasitol.* 7;163(1-2):179-84.
- Lybeck KR, Løvoll M, Johansen TB, Olsen I, Storset AK, Valheim M. (2013) Intestinal strictures, fibrous adhesions and high local interleukin-10 levels in goats infected naturally with *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. *J Comp Pathol.* 2013 Feb;148(2-3):157-72.
- Lykidis D, Van Noorden S, Armstrong A, Spencer-Dene B, Li J, Zhuang Z, Stamp GW. (2007) Novel zinc-based fixative for high quality DNA, RNA and protein analysis. *Nucleic Acids Res.* 35(12):e85.
- Macleod AS, Havran WL. (2011) Functions of skin-resident gammadelta T cells. *Cell Mol Life Sci.* 68(14):2399–408.

- Malik R, McKellar Stewart K, Sousa CA, Krockenberger MB, Pope S, Ihrke P, Beatty J, Barrs VR, Walton S. (2006) Crusted scabies (sarcoptic mange) in four cats due to *Sarcoptes scabiei* infestation. *J Feline Med Surg.* 8(5):327-39.
- Maestrone C, Masia M, Marruchella G, Di Guardo G, Mancosu A, Cancedda MG, Ligios C. (2013) Pathology in practice. Epitheliogenesis imperfecta in a lamb. *J Am Vet Med Assoc.* 15;242(2):179-81.
- Martínez CM, Buendía AJ, Sánchez J, Navarro JA. (2005) Immunophenotypical characterization of lymphocyte subpopulations of the uterus of non-pregnant and pregnant goats. *Anat Histol Embryol.* 34(4):240-6.
- Mayumi N, Watanabe E, Norose Y, Watari E, Kawana S, Geijtenbeek TB, Takahashi H. (2013) E-cadherin interactions are required for Langerhans cell differentiation. *Eur J Immunol.* 43(1):270-80.
- McCarthy JS, Kemp DJ, Walton SF, Currie BJ. (2004) Scabies: more than just an irritation. *Postgrad Med J.* 80(945):382-7.
- McElroy MC, Bassett HF, Monaghan ML, Davis WC. (1998) The distribution of lymphocyte subsets in normal ovine skin. *Vet Immunol Immunopathol* 62: 65-71.
- McGill JL, Sacco RE, Baldwin CL, Telfer JC, Palmer MV, Waters WR, (2014). Specific recognition of mycobacterial protein and peptide antigens by gamma-delta T cell subsets following infection with virulent *Mycobacterium bovis*. *J. Immunol.* 192, 2756–2769.
- Mellanby K. (1944). The development of symptoms, parasitic infection and immunity in human scabies. *Parasitology* 35: 197-206.
- Menzano A, Rambozzi L, Rossi L. (2004) Outbreak of scabies in human beings, acquired from chamois (*Rupicapra rupicapra*). *Vet Rec.* 30;155(18):568.
- Menzano A, Rambozzi L, Rossi L. (2007) A severe episode of wildlife-derived scabies in domestic goats in Italy *Small Ruminant Research* 70:154–158.
- Meyer T, Stockfleth E, Christophers E. (2007) Immune response profiles in human skin. *Br J Dermatol.* 157 Suppl 2:1-7.
- Michel M, Török N, Godbout MJ, Lussier M, Gaudreau P, Royal A, Germain L. (1996) Keratin 19 as a biochemical marker of skin stem cells in vivo and in vitro: keratin 19 expressing cells are differentially localized in function of

anatomic sites, and their number varies with donor age and culture stage. . J Cell Sci. 109 (Pt 5):1017-28.

- Mika A, Reynolds SL, Mohlin FC, Willis C, Swe PM. (2012a) Novel scabies mite serpins inhibit the three pathways of the human complement system. PLoS One 7: e40489.
- Mika A, Reynolds SL, Pickering D, McMillan D, Sriprakash KS. (2012b) Complement inhibitors from scabies mites promote streptococcal growth--a novel mechanism in infected epidermis? PLoS Negl Trop Dis 6: e1563.
- Moelans CB, ter Hoeve N, van Ginkel JW, ten Kate FJ, van Diest PJ. (2011) Formaldehyde substitute fixatives. Analysis of macroscopy, morphologic analysis, and immunohistochemical analysis. Am J Clin Pathol. 136(4):548-56
- Monsel G, Chosidow O. (2012) Management of scabies. Skin Therapy Lett. 17(3):1-4.
- Morris D, Dunstan R. (1996) A histomorphological study of sarcoptic acariasis in the Dog: 19 cases J Am Anim Hosp Assoc 32:119-24.
- Morsy GH, Gaafar SM. (1989) Responses of immunoglobulin-secreting cells in the skin of pigs during *Sarcoptes scabiei* infestation. Vet Parasitol. 33(2):165-75.
- Morsy TA, Kenawi MZ, Zohdy HA, Abdalla KF, el Fakahany AF. (1993) Serum immunoglobulin and complement values in scabietic patients. J Egypt Soc Parasitol. 23(1):221-9.
- Mounsey KE, McCarthy JS, Walton SF (2013) Scratching the itch: new tools to advance understanding of scabies. Trends Parasitol 29:35–42.
- Mounsey KE, Murray HC, Bielefeldt-Ohmann H, Pasay C, Holt DC, Currie BJ, Walton SF, McCarthy JS. (2015) Prospective Study in a Porcine Model of *Sarcoptes scabiei* Indicates the Association of Th2 and Th17 Pathways with the Clinical Severity of Scabies. PLoS Negl Trop Dis. 2015 Mar 2;9(3):e0003498.
- Mueller SN, Zaid A, Carbone FR. (2014) Tissue-resident T cells: dynamic players in skin immunity. Front Immunol. 16;5:332.
- Mullins JS, Arlian LG, Morgan MS. (2009) Extracts of *Sarcoptes scabiei* De Geer downmodulate secretion of IL-8 by skin keratinocytes and fibroblasts and of GM-CSF by fibroblasts in the presence of proinflammatory cytokines. J Med Entomol. 46(4):845-51.

- Murphy JE, Robert C, Kupper TS. (2000) Interleukin-1 and cutaneous inflammation: a crucial link between innate and acquired immunity. *J Invest Dermatol.* 114(3):602-8.
- Naessens J, Olubayo RO, Davis WC, Hopkins J. (1993) Cross-reactivity of workshop antibodies with cells from domestic and wild ruminants. *Vet Immunol Immunopathol.* 39(1-3):283-90.
- Naiman BM, Alt D, Bolin CA, Zuerner R, Baldwin CL. (2001) Protective killed *Leptospira borgpetersenii* vaccine induces potent Th1 immunity comprising responses by CD4 and gammadelta T lymphocytes. *Infect Immun.* 69(12):7550-8.
- Nakagawa TL, Takai Y, Kubo M, Sakai H, Masegi T, Yanai T. (2009) A pathological study of sepsis associated with sarcoptic mange in raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*) in Japan. *J Comp Pathol.* 141(2-3):177-81.
- Navarro JA, Caro MR, Seva J, Rosillo MC, Gomez MA, Gallego MC. (1996) Study of lymphocyte subpopulations in peripheral blood and secondary lymphoid organs in the goat using monoclonal antibodies to surface markers of bovine lymphocytes. *Vet Immunol Immunopathol.* 51(1-2):147-56.
- Navarro JA, Ramis G, Seva J, Pallarés FJ, Sánchez J. (1998) Changes in lymphocyte subsets in the intestine and mesenteric lymph nodes in caprine paratuberculosis. *J Comp Pathol.* 118(2):109-21.
- Naz S, Rizvi DA, Javaid A, Ismail M, Chaudhry FR. (2013) Validation of PCR Assay for Identification of *Sarcoptes scabiei* var. *hominis*. *Iran J Parasitol.* 8(3):437-40.
- Nestle FO, Di Meglio P, Qin JZ, Nickoloff BJ. (2009) Skin immune sentinels in health and disease. *Nat Rev Immunol.* 2009 9(10):679-91.
- Nimmervoll H. Sarcoptic mange in red foxes (*Vulpes vulpes*) from Switzerland. Pathological characteristics and influencing factors. PhD Thesis, Institute of Animal Pathology, Vetsuisse Faculty, University of Bern, Switzerland, 2007.
- Nogueira-Castañon M., Maya T., Neves R (2004) Expression of the cytokeratins in infectious and parasitic skin diseases associated with epidermal hyperplasia *An bras Dermatol, Rio de Janeiro,* 79(6):679-687.

- Noviana DW, Harjanti D, Otsuka Y, Horii Y. (2004) Proliferation of protease-enriched mast cells in sarcoptic skin lesions of raccoon dogs. *J Comp Pathol.* 131(1):28-37.
- Nwoha RO. (2011) A case report on scabies in a goat *Clinical Reviews and Opinions* 3(5):51-54.
- O'Brien RL, Born WK. (2015) Dermal  $\gamma\delta$  T cells - What have we learned? *Cell Immunol.* 28. pii: S0008-8749(15)00012-X.
- Ogundiyi AI, Bemji MN, Adebambo OA, Dipeolu MA, Onagbesan OM, James IJ, Osinowo OA. (2012) Prevalence of mange among West African Dwarf sheep and goats and associated haematological and biochemical parameters. *Trop Anim Health Prod.* 44(6):1263-9.
- Oleaga A, Casais R, Balseiro A, Espí A, Llana L, Hartasánchez A, Gortázar C. (2011) New techniques for an old disease: sarcoptic mange in the Iberian wolf. *Vet Parasitol.* 27;181(2-4):255-66.
- Omary MB, Coulombe PA, McLean WH (2004). Intermediate filament proteins and their associated diseases. *N Engl J Med* 351, 2087–2100.
- Oriolo AS, Wald FA, Canessa G, Salas PJ. (2007) GCP6 binds to intermediate filaments: a novel function of keratins in the organization of microtubules in epithelial cells. *Mol Biol Cell.* 18(3):781-94.
- Oshima RG. (2002) Apoptosis and keratin intermediate filaments *Cell Death Differ.* 9(5):486-92.
- Owens W, Lane E. (2003) The quest for the function of simple epithelial keratins *BioEssays* 25:748–758.
- Owusu-Edusei Jr. K, Chesson HW, Gift TL. (2009) The economic burden of *Pediculosis pubis* and scabies infections treated on an outpatient basis in the United States: evidence from private insurance claims data, 2001–2005. *Sex Transm Dis.* 36, 297–299.
- Palit A, Inamadar AC. (2011) Immunohistochemistry: relevance in dermatology. *Indian J Dermatol.* 56(6):629-40.
- Paramio JM, Jorcano JL. (2002) Beyond structure: Do intermediate filaments modulate cell signalling? *Bioessays.* 24:836–844.
- Peaston AE, Higgins RJ, Naydan DK, Sokol KA. (1992) Evaluation of commercially available antibodies to cytokeratin intermediate filaments and laminin in normal cat pinna. *J Vet Diagn Invest.* 4(3):306-11.

- Pejler G, Rönnerberg E, Waern I, Wernersson S. (2010) Mast cell proteases: multifaceted regulators of inflammatory disease. *Blood*. 17;115(24):4981-90.
- Pence DB, Windberg LA, Pence BC, Sprowls R. (1983) The epizootiology and pathology of sarcoptic mange in coyotes, *Canis latrans*, from south Texas. *J Parasitol*. 69(6):1100-15.
- Pence DB and Ueckermann E. (2002) Sarcoptic mange in wildlife. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)* 21:385-398.
- Pérez J, García PM, Hernández S, Mozos E, Cámara S, Martínez-Moreno A. (2003) Experimental haemonchosis in goats: effects of single and multiple infections in the host response. *Vet Parasitol*. 111(4):333-42.
- Pérez J, Zafra R, Buffoni L, Hernández S, Cámara S, Martínez-Moreno A. (2008) Cellular phenotypes in the abomasal mucosa and abomasal lymph nodes of goats infected with *Haemonchus contortus*. *J Comp Pathol*. 138(2-3):102-7.
- Pérez JM, Granados JE, Sarasa M, Serrano E. (2011) Usefulness of estimated surface area of damaged skin as a proxy of mite load in the monitoring of sarcoptic mange in free-ranging populations of Iberian wild goat, *Capra pyrenaica*. *Vet Parasitol*. 10;176(2-3):258-64.
- Perkins W, Campbell I, Leigh IM, MacKie RM. (1992) Keratin expression in normal skin and epidermal neoplasms demonstrated by a panel of monoclonal antibodies. *J Cutan Pathol*. 19(6):476-82.
- Peschen M, Grenz H, Lahayé T, Brand-Saberi B, Simon JC, Schöpf E, Vanscheidt W. (1997) Changes of cytokeratin expression in the epidermis with chronic venous insufficiency. *Vasa*. 26(2):76-80.
- Pivarcsi A, Kemény L, Dobozy A. (2004) Innate immune functions of the keratinocytes. A review. *Acta Microbiol Immunol Hung*. 51(3):303-10.
- Planko L, Böhse K, Höhfeld J, Betz RC, Hanneken S, Eigelshoven S, Kruse R, Nöthen MM, Magin TM. (2007) Identification of a keratin-associated protein with a putative role in vesicle transport. *Eur J Cell Biol*. 86:827–839.
- Polledo L, González J, Benavides J, Morales S, Martínez-Fernández B, Delgado L, Reina R, Glaria I, Pérez V, Ferreras MC, García Marín JF. (2012) Patterns of lesion and local host cellular immune response in natural cases of ovine maedi-visna. *J Comp Pathol*. 147(1):1-10.

- Price SJ, Hope JC. (2009) Enhanced secretion of interferon-gamma by bovine gammadelta T cells induced by coculture with Mycobacterium bovis-infected dendritic cells: evidence for reciprocal activating signals. *Immunology*. 126(2):201-8.
- Radostitis OM, Gay CC, Blood DC and Hinchcliff KW. (2000) *Veterinary Medicine. A Text book of the diseases of cattle, sheep, pig and horse*, Ninth Edition, Bailliere Tindal, London, 1308.
- Rahman MM, Lecchi C, Fraquelli C, Sartorelli P, Ceciliani F. (2010) Acute phase protein response in Alpine ibex with sarcoptic mange. *Vet Parasitol*. 25;168(3-4):293-8.
- Ramachandran V, Shankar EM, Devaleenal B, Pachamuthu B, Thousen SM, Sekar R, Suniti S, Nagalingeswaran KA. (2008) Typically distributed cutaneous lesions of Norwegian scabies in an HIV-positive man in South India: a case report. *J Med Case Rep*. 14:2:82.
- Ramos-Vara JA, Miller MA, López E, Prats N, Brevik L. (1994) Reactivity of polyclonal human CD3 antiserum in lymphoid tissues of cattle, sheep, goats, rats and mice. *Am J Vet Res*. 55(1):63-6.
- Ramos-Vara JA, Kiupel M, Baszler T, Bliven L, Brodersen B, Chelack B, Czub S, Del Piero F, Dial S, Ehrhart EJ, Graham T, Manning L, Paulsen D, Valli VE, West K; American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians Subcommittee on Standardization of Immunohistochemistry. (2008) Suggested guidelines for immunohistochemical techniques in veterinary diagnostic laboratories. *J Vet Diagn Invest*. 20(4):393-413.
- Ratzinger G, Stoitzner P, Ebner S, Lutz MB, Layton GT, Rainer C, Senior RM, Shipley JM, Fritsch P, Schuler G, Romani N. (2002) Matrix metalloproteinases 9 and 2 are necessary for the migration of Langerhans cells and dermal dendritic cells from human and murine skin. *J Immunol*. 1;168(9):4361-71.
- Rehbein S, Visser M, Winter R, Trommer B, Matthes HF, Maciel AE, Marley SE. (2003) Productivity effects of bovine mange and control with ivermectin. *Vet Parasitol*. 25;114(4):267-84.
- Reis-Filho JS1, Simpson PT, Martins A, Preto A, Gärtner F, Schmitt FC. (2003) Distribution of p63, cytokeratins 5/6 and cytokeratin 14 in 51 normal



and 400 neoplastic human tissue samples using TARP-4 multi-tumor tissue microarray. *Virchows Arch.* 2443(2):122-32.

- Ricklin ME, Roosje P, Summerfield A. (2010) Characterization of canine dendritic cells in healthy, atopic, and non-allergic inflamed skin. *J Clin Immunol.* 30(6):845-54.
- Robert C, Kupper TS. (1999) Inflammatory skin diseases, T cells, and immune surveillance. *N Engl J Med.* 9;341(24):1817-28.
- Roberts LJ, Huffam SE, Walton SF, Currie BJ. (2005) Crusted scabies: clinical and immunological findings in seventy-eight patients and a review of the literature. *J. Infect.* 50:375–381.
- Rode B, Bavdek SV, Lacković G, Fazarinc G, Bidovec A. (1998) Immunohistochemical study of normal and mange (*S. scabiei* var. *rupicaprae*) infested chamois (*Rupicapra rupicapra* L.) skin. *Anat Histol Embryol.* 27(3):187-92.
- Rodriguez-Cadenas F, Carbajal-González M, Fregeneda-Grandes J, Aller-Gancedo J, Rodriguez-Cadenas F, Carbajal-Gonzalez MT, Fregeneda-Grandes JM, Aller-Gancedo JM, Rojo-Vazquez FA. (2010) Clinical evaluation and antibody responses in sheep after primary and secondary experimental challenges with the mange mite *Sarcoptes scabiei* var. *ovis*. *Vet Immunol Immunopathol* 133:109–116.
- Romani N, Clausen BE, Stoitzner P. (2010) Langerhans cells and more: langerin-expressing dendritic cell subsets in the skin. *Immunol Rev* 234:120-41.
- Romero-Palomo F, Risalde MA, Molina V, Sánchez-Cordón PJ, Pedrera M, Gómez-Villamandos JC. (2013) Immunohistochemical detection of dendritic cell markers in cattle. *Vet Pathol.* 50(6):1099-108.
- Salmon JK, Armstrong CA, and Ansel JC. (1994) The skin as an immune organ. *West J Med.* 160(2): 146–152.
- Sampathkumar K, Mahaldar AR, Ramakrishnan M, Prabakar S. (2010) Norwegian scabies in a renal transplant patient. *Indian J Nephrol.* 20(2):89-91.
- Sanchez J, Tomás L, Ortega N, Buendía AJ, del Rio L, Salinas J, Bezos J, Caro MR, Navarro JA. (2011) Microscopical and immunological features of tuberculoid granulomata and cavitary pulmonary tuberculosis in naturally infected goats. *J Comp Pathol.* 145(2-3):107-17.

- Sar M, Calhoun ML. (1966) Microscopic anatomy of the integument of the common american goat. *Am J Vet Res.* 27(117):444-456.
- Sarasa M, Rambozzi L, Rossi L, Meneguz PG, Serrano E, Granados JE, González FJ, Fandos P, Soriguer RC, Gonzalez G, Joachim J, Pérez JM. (2010) *Sarcoptes scabiei*: Specific immune response to sarcoptic mange in the Iberian ibex *Capra pyrenaica* depends on previous exposure and sex. *Exp Parasitol.* 124(3):265-71.
- Sarasa M, Serrano E, Soriguer RC, Granados JE, Fandos P, Gonzalez G, Joachim J, Pérez JM. (2011) Negative effect of the arthropod parasite, *Sarcoptes scabiei*, on testes mass in Iberian ibex, *Capra pyrenaica*. *Vet Parasitol.* 175(3-4):306-12.
- Schuster C, Vaculik C, Fiala C, Meindl S, Brandt O, Imhof M, Stingl G, Eppel W, Elbe-Bürger A. (2009) HLA-DR+ leukocytes acquire CD1 antigens in embryonic and fetal human skin and contain functional antigen-presenting cells. *J Exp Med* 206:169-81.
- Scott DW, Manning TO. (1984) Caprine dermatology. I. Normal skin and bacterial and fungal disorders. *Compend Contin Educ Pract Vet* 6:S190.
- Serrano E, Granados JE, Pérez JM. (2007) Sarcoptic mange and metapodial development in growing male Iberian ibex (*Capra pyrenaica*). *Vet Parasitol.* 31;144(3-4):375-9.
- Seva J, Hernández D, Bernabé A, Pallarés FJ, Navarro JA. (2000) Immunophenotypical characterization of the lymphocyte infiltrate in caprine pulmonary tuberculosis. *J Comp Pathol.* 123(2-3):96-103.
- Shaykhiev R., Bals R. (2007) Interactions between epithelial cells and leukocytes in immunity and tissue homeostasis. *J Leukoc Biol.* 82(1):1-15.
- Sheahan BJ. Pathology of *Sarcoptes scabiei* infection in pigs. (1975) Naturally occurring and experimentally induced lesions. *J Comp Pathol* 85: 87-95.
- Shebannavar S, Rasool T. (2015) Molecular Cloning, Sequence, and Phylogenetic Analysis of T Helper 1 Cytokines of Pashmina Goats, *Animal Biotechnology*, 26:2, 120-129.
- Shresta S, Pham CT, Thomas DA, Graubert TA, Ley TJ. (1998) How do cytotoxic lymphocytes kill their targets? *Curr Opin Immunol.* 1998 Oct;10(5):581-7.

- Sinke JD, Thepen T, Bihari IC, Rutten VP, Willemse T. (1997) Immunophenotyping of skin-infiltrating T-cell subsets in dogs with atopic dermatitis. *Vet Immunol Immunopathol.* 57(1-2):13-23.
- Skerratt LF, Beveridge I. (1999) Human scabies of wombat origin. *Aust Vet J.* 77(9):607.
- Skerratt LF, Martin R, and Handasyde K. (1998). Sarcoptic mange in wombats. *Australian Veterinary Journal* 76:408-410.
- Skerratt LF. (2003) Cellular response in the dermis of common wombats (*Vombatus ursinus*) infected with *Sarcoptes scabiei* var. *wombati*. *J Wildl Dis.* 39(1):193-202.
- Smith M., Sherman D. (2009) *Goat medicine* Second edition Wiley-Blackwell. ISBN: 978-0-781-79643-9.
- Soulsbury C, Iossa G, Baker PJ, Cole C, Funk SM and Harris S. (2007) The impact of sarcoptic mange *Sarcoptes scabiei* on the British fox *Vulpes vulpes* population 37(4):278–296.
- Stemmer B, Arlian L, Morgan M, Rapp C, Moore P. (1996) Characterization of antigen presenting cells and T-cells in progressing scabietic skin lesions *Veterinary Parasitology* 67:247-258.
- Stone KD, Prussin C, Metcalfe DD. (2010) IgE, mast cells, basophils, and eosinophils. *J Allergy Clin Immunol* 125(2):73-80.
- Sumaria N, Roediger B, Ng LG, Qin J, Pinto R, Cavanagh LL. (2011) Cutaneous immunosurveillance by self-renewing dermal gammadelta T cells. *J Exp Med.* 208(21339323):505–18.
- Summerfield A, Meurens F, Ricklin ME. (2014) The immunology of the porcine skin and its value as a model for human skin. *Mol Immunol.* S0161-5890(14)00288-0.
- Summerfield A, Auray G, Ricklin M. (2015) Comparative dendritic cell biology of veterinary mammals. *Annu Rev Anim Biosci.* 16;3:533-57.
- Suter MM, Schulze K, Bergman W, Welle M, Roosje P, Müller EJ. (2009) The keratinocyte in epidermal renewal and defence. *Vet Dermatol.* 20(5-6):515-32.
- Swe PM, Fischer K. (2014) A scabies mite serpin interferes with complement-mediated neutrophil functions and promotes staphylococcal growth. *PLoS Negl Trop Dis* 8: e2928.

- Swe PM, Reynolds SL, Fischer K. (2014) Parasitic scabies mites and associated bacteria joining forces against host complement defense. *Parasite Immunol* 36(11):583-91.
- Tarigan S. (2002) Dermatopathology of Caprine Scabies and Protective Immunity in Sensitised Goats Against *Sarcoptes scabiei* Reinfestation. *JITV* 7(4): 265-271.
- Tarigan S. (2003) Histopathological changes in naive and sensitised goats caused by *Sarcoptes scabiei* infestation. *JITV* 8(2):114-121.
- Tarigan S. (2004) Antibody response in naive and sensitised goats infested by *Sarcoptes scabiei*. *JITV* 9(4): 258-265.
- Tarigan S, Huntley JF. (2005) Failure to protect goats following vaccination with soluble proteins of *Sarcoptes scabiei*: evidence for a role for IgE antibody in protection *Vet Parasitol.* 10;133(1):101-9.
- Tay SS, Roediger B, Tong PL, Tikoo S, Weninger W. (2014) The Skin-Resident Immune Network. *Curr Dermatol Rep.* 28;3:13-22. eCollection 2014.
- Thavarajah R, Mudimbaimannar VK, Elizabeth J, Rao UK, Ranganathan K. (2012) Chemical and physical basics of routine formaldehyde fixation. *J Oral Maxillofac Pathol.* 16(3):400-5.
- Theerawatanasirikul S, Suriyaphol G, Thanawongnuwech R, Sailasuta A. (2012) Histologic morphology and involucrin, filaggrin, and keratin expression in normal canine skin from dogs of different breeds and coat types. *J Vet Sci.* 13(2):163-70.
- Theerawatanasirikul S, Sailasuta A, Thanawongnuwech R, Suriyaphol G. (2012) Alterations of keratins, involucrin and filaggrin gene expression in canine atopic dermatitis. *Res Vet Sci.* 93(3):1287-92.
- Tindemans I, Serafini N, Di Santo JP, Hendriks RW. (2014) GATA-3 function in innate and adaptive immunity. *Immunity.* 21;41(2):191-206.
- Tizard IR. (2009) *Veterinary Immunology: An Introduction* Saunders Elsevier, ISBN 1416049894, 9781416049890.
- Toulon A, Breton L, Taylor KR, Tenenhaus M, Bhavsar D, Lanigan C, Rudolph R, Jameson J, Havran WL. (2009) A role for human skin-resident T cells in wound healing, *J. Exp. Med.* 206 (4):743–750.
- Townsend WL, Gorrell MD, Mayer R. (1997) Langerhans cells in the development of skin cancer: a qualitative and quantitative comparison of cell

markers in normal, acanthotic and neoplastic ovine skin. *Pathology*. 29(1):42-50.

- Tranchina MM, Scott DW, McDonough SP. (2010a) CD3+ and BLA.36+ cells do not occur in the epidermis and adnexal epithelia of normal equine skin. *Equine Vet J* 42:471-3.
- Tranchina MM, Scott DW, McDonough SP. (2010b) CD3+ and BLA.36+ cells do not occur in the epidermis and adnexal epithelia of normal skin from the dorsolateral trunk of cats. *J Feline Med Surg* 12:790-3.
- Tsubura A, Okada H, Sasaki M, Dairkee SH, Morii S. (1991) Immunohistochemical demonstration of keratins 8 and 14 in benign tumours of the skin appendage. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol*. 418(6):503-7.
- Uzzaman A, Cho SH. (2012) Chapter 28: Classification of hypersensitivity reactions. *Allergy Asthma Proc*. 33(1):S96-9.
- Vaidya MM, Kanojia D. (2007) Keratins: markers of cell differentiation or regulators of cell differentiation? *J Biosci*. 32(4):629-34.
- Valladeau J, Saeland S. (2005) Cutaneous dendritic cells. *Semin Immunol*. 17(4):273-83.
- van den Broek AH, Huntley JF, Mackellar A, Machell J, Taylor MA, Miller HR. (2005) Characterisation of lesional infiltrates of dendritic cells and T cell subtypes during primary infestation of sheep with *Psoroptes ovis*, the sheep scab mite. *Vet Immunol Immunopathol*. 1;105(1-2):141-50.
- Van Lancker S., Van Den Broeck W., Simoens P. (2005) Morphology of caprine skin glands involved in buck odour production *The Veterinary Journal* 170:351–358.
- Van Neste D, Salmon J. (1978) Circulating antigen antibody complexes in scabies. *Dermatologica*. 157(4):221-4.
- Van Neste D, Lachapelle JM. (1981) Host-parasite relationships in hyperkeratotic (Norwegian) scabies: pathological and immunological findings. *Br J Dermatol*. 105(6):667-78.
- Van Neste DJ, Staquet MJ. (1986) Similar epidermal changes in hyperkeratotic scabies of humans and pigs. *Am J Dermatopathol*. 8(3):267-73.

- van Niekerk CC, Jap PH, Ramaekers FC, van de Molengraft F, Poels LG. (1991) Immunohistochemical demonstration of keratin 7 in routinely fixed paraffin-embedded human tissues. *J Pathol.* 165(2):145-52.
- Viana AG, Domingos PL, Kaminagakura E, Botelho AC, Martelli H Jr, Bonan PR. (2011) Immunohistochemical profile of cytokeratins in pseudoepitheliomatous hyperplasia of cutaneous leishmaniasis. *Int J Dermatol.* 50(12):1470-4.
- Visser M, Löwenstein M, Yoon S, Rehbein S. (2013) The treatment of bovine sarcoptic mange (*Sarcoptes scabiei* var. *bovis*) using eprinomectin extended-release injection. *Vet Parasitol.* 192(4):359-64.
- von Boehmer H. (2004) Selection of the T-cell repertoire: receptor-controlled checkpoints in T-cell development. *Adv Immunol.* 84:201-38.
- Wakabayashi Y, Iwata E, Kikusui T, Takeuch Y, Mori Y. (2000) Regional differences of pheromone production in the sebaceous glands of castrated goats treated with testosterone. *J Vet Med Sci.* 62(10):1067-72.
- Walter JH. (2001) Cytokeratins in the canine epidermis. *Vet Dermatol* 12:81-7.
- Walton SF, Choy JL, Bonson A, Valle A, McBroom J, Taplin D, Arlian L, Mathews JD, Currie BJ, Kemp DJ. (1999) Genetically distinct dog-derived and human-derived *Sarcoptes scabiei* in scabies-endemic communities in northern Australia. *Am J Trop Med Hyg* 61:542–547.
- Walton SF, Holt D, Currie BJ, Kemp DJ, Baker JR. (2004) Scabies: New Future for a Neglected Disease. *Advances in Parasitology* 57:309-336.
- Walton SF., Currie BJ. (2007) Problems in diagnosing scabies, a global disease in human and animal populations. *Clinical Microbiology Reviews.* 20(2): 268-279.
- Walton SF, Beroukas D, Roberts-Thomson P, Currie BJ. (2008) New insights into disease pathogenesis in crusted (Norwegian) scabies: the skin immune response in crusted scabies. *Br J Dermatol.* 158(6):1247-55.
- Walton SF. (2010) The immunology of susceptibility and resistance to scabies. *Parasite Immunol.* 32(8):532-40.
- Wasserman J, Maddox J, Racz M, Petronic-Rosic V. (2009) Update on immunohistochemical methods relevant to dermatopathology. *Arch Pathol Lab Med.* 133(7):1053-61. doi: 10.1043/1543-2165-133.7.1053.

- Waters WR, Palmer MV, Thacker TC, Davis WC, Sreevatsan S, Coussens P, Meade KG, Hope JC, Estes DM. (2011) Tuberculosis immunity: opportunities from studies with cattle. *Clin Dev Immunol.*;2011:768542.
- Weaver CT, Hatton RD, Mangan PR. (2007) IL-17 family cytokines and the expanding diversity of effector T cell lineages. *Annu Rev Immunol* 25: 821–852.
- Wester K, Asplund A, Bäckvall H, Micke P, Derveniece A, Hartmane I, Malmström PU, Pontén F. (2003) Zinc-based fixative improves preservation of genomic DNA and proteins in histoprocessing of human tissues. *Lab Invest.* 83(6):889-99.
- Wu YL, Ding YP, Tanaka Y, Shen LW, Wei CH, Minato N, Zhang W. (2014)  $\gamma\delta$  T cells and their potential for immunotherapy. *Int J Biol Sci.* 10;10(2):119-35.
- Yager J.A. The skin as an immune organ. In: Ihrke P.J., et al, editors. *Advances in veterinary dermatology II*. New York: Pergamon Press; 1993:3.
- Yakhchali M. and Hosseine A. (2006) Prevalence and ectoparasites fauna of sheep and goats flocks in Urmia suburb, Iran, *Veterinarski Arhiv.* 76(5):431–442.
- Yamazaki S, Uchiumi A, Katagata Y. (2012) Hsp40 regulates the amount of keratin proteins via ubiquitin-proteasome pathway in cultured human cells. *Int J Mol Med.* 29(2):165-8.
- Yoshizumi J, Harada T. (2009) 'Wake sign': an important clue for the diagnosis of scabies. *Clin Exp Dermatol.* 34(6):711-4.
- Zaba LC, Krueger JG, Lowes MA. (2009) Resident and “inflammatory” dendritic cells in human skin. *J Invest Dermatol* 129:302-8.
- Zafra R, Buffoni L, Pérez-Ecija RA, Mendes RE, Martínez-Moreno A, Martínez-Moreno FJ, Pérez J. (2009) Study of the local immune response to *Fasciola hepatica* in the liver and hepatic lymph nodes of goats immunised with a peptide of the Sm14 antigen. *Res Vet Sci.* 87(2):226-32.
- Zafra R, Pérez-Ecija RA, Buffoni L, Mendes RE, Martínez-Moreno A, Martínez-Moreno FJ, Galisteo ME, Pérez J. (2010) Evaluation of hepatic damage and local immune response in goats immunized with native glutathione S-transferase of *Fasciola hepatica*. *J Comp Pathol.* 143(2-3):110-9.

- Zahler M, Essig A, Gothe R, Rinder H. (1999) Molecular analyses suggest monospecificity of the genus *Sarcoptes* (Acari: Sarcoptidae). *Int J Parasitol* 29:759-66.
- Zhang QL, Li JP, Li YM, Chang Q, Chen Y, Jiang HZ, Zhao ZH, Guo D. (2013) Expression and localization of the vascular endothelial growth factor and changes of microvessel density during hair follicle development of Liaoning cashmere goats. *Genet Mol Res.* 10;12(4):6424-32.
- Zhao Y, Cao Z, Cheng J, Hu L, Ma J, Yang Y, Wang X, Zeng J, Wang T. (2015) Population identification of *Sarcoptes hominis* and *Sarcoptes canis* in China using DNA sequences. *Parasitol Res.* 114(3):1001-10.
- Zheng J, Liu Y, Lau YL, Tu W. (2013)  $\gamma\delta$ -T cells: an unpolished sword in human anti-infection immunity. *Cell Mol Immunol.* 10(1):50-7.