

TRƯỜNG ĐẠI HỌC CẦN THƠ
KHOA THỦY SẢN



GIÁO TRÌNH

MIỀN DỊCH HỌC ĐỘNG VẬT THỦY SẢN

Đặng Thị Hoàng Oanh
Đoàn Nhật Phương

2007

THÔNG TIN VỀ TÁC GIẢ PHẠM VI VÀ ĐỐI TƯỢNG SỬ DỤNG CỦA GIÁO TRÌNH

1. THÔNG TIN VỀ TÁC GIẢ



Họ và tên: Đặng Thị Hoàng Oanh

Sinh năm: 1969

Cơ quan công tác:

Bộ môn: Sinh học và Bệnh Thủy sản Khoa: Thủy sản

Trường: Đại học Cần Thơ

Địa chỉ Email để liên hệ:

dthoanh@ctu.edu.vn

2. PHẠM VI VÀ ĐỐI TƯỢNG SỬ DỤNG

Giáo trình có thể dùng tham khảo cho những ngành: Nuôi trồng thủy sản và bệnh học thủy sản

Có thể dùng cho các trường nào: các trường Cao đẳng và đại học

Các từ khóa: vi sinh vật, vi khuẩn, vi-rút, vi nấm, nguyên sinh động vật, miễn dịch, kháng nguyên, kháng thể,

Yêu cầu kiến thức trước khi học môn này: sinh học cơ bản, sinh hoá, sinh học phân tử đại cương, vi sinh vật học đại cương

Đã xuất bản in chưa, nếu có thì Nhà xuất bản nào: Giáo trình lưu hành nội bộ Đại Học Cần Thơ. Chưa xuất bản chính thức ở nhà xuất bản

GIỚI THIỆU

Môn miễn dịch học động vật thủy sản là môn học cơ sở trong chương trình đào tạo cho sinh viên chuyên ngành bệnh học thủy sản. Môn học cung cấp những kiến thức về bản chất, cơ chế và những nhân tố ảnh hưởng đến khả năng tự bảo vệ của cơ thể người và động vật nói chung và các đối tượng thủy sản nói riêng nhằm chống lại các tác nhân gây bệnh. Sinh viên cũng sẽ được cung cấp những kiến thức về thành tựu và triển vọng của việc ứng dụng miễn dịch học trong chẩn đoán và phòng ngừa bệnh ở thủy sản.

Nội dung phân lý thuyết của môn học được chia thành hai phần:

Phần 1 trình bày kiến thức căn bản về miễn dịch học bao gồm bản chất và cơ chế của hệ thống tự vệ của cơ thể người và động vật đối với các tác nhân gây bệnh và các nhân tố ảnh hưởng đến chức năng và hoạt động của hệ thống này

Phần 2 trình bày sự tiến hoá và cơ chế hoạt động của hệ thống miễn dịch/phòng vệ của cá và các đối tượng thủy sản chủ yếu. Sinh viên cũng sẽ được giới thiệu về những thành tựu và triển vọng của miễn dịch học ứng dụng trong nghiên cứu bệnh thủy sản và trong sản xuất nuôi thủy sản.

Sinh viên sẽ được tiếp cận với một số kỹ thuật miễn dịch phổ biến được ứng dụng trong chẩn đoán và nghiên cứu bệnh thủy sản qua chương trình thực hành môn học.

Chương trình môn học được xây dựng dựa trên các sách chuyên khảo về miễn dịch học trong y học, sinh học và thủy sản. Ngoài ra thông tin từ các công trình nghiên cứu trong và ngoài nước nhằm ứng dụng miễn dịch học trong chẩn đoán và phòng bệnh thủy sản gần đây cũng được tham khảo để xây dựng nội dung môn học. Thông tin về các tài liệu tham khảo dùng để biên soạn giáo trình và các tài liệu đọc thêm được trình bày sau mỗi chương để sinh viên tiện tra cứu và tham khảo.

MỤC LỤC

BÌA	1
THÔNG TIN VỀ TÁC GIẢ.....	2
GIỚI THIỆU	3
MỤC LỤC.....	4
Danh sách hình.....	6
Danh sách bảng	7
Phần 1: MIỄN DỊCH HỌC CƠ SỞ.....	8
Chương 1:Miễn dịch học và các khái niệm về miễn dịch học.....	8
I. Lịch sử và hướng phát triển của miễn dịch học	8
1.Thời kỳ sơ khai	8
2.Giai đoạn ưu thế của miễn dịch thể dịch	9
3. Giai đoạn ưu thế của miễn dịch tế bào.....	9
4. Giai đoạn miễn dịch phân tử.....	10
5. Xu hướng phát triển	10
II. Khái niệm về miễn dịch học.....	10
1. Miễn dịch và miễn dịch học.....	10
2. Các loại miễn dịch	10
Tài liệu tham khảo	17
Chương 2 : Các cơ quan và tế bào tham gia đáp ứng miễn dịch.....	18
A. Các cơ quan tham gia vào hệ thống miễn dịch	18
I. Cơ quan gốc.....	18
II. Các cơ quan lympho tiên phát.....	19
1. Tuyến ức	20
2. Túi Fabricius	22
III. Cơ quan lympho thứ phát.....	22
1. Cơ quan lympho thứ phát tập trung có vỏ bọc.....	23
2. Cơ quan lympho thứ phát phân tán.....	24
IV. Sự tái tuần hoàn tế bào lympho	27
V. Những tế bào của đáp ứng miễn dịch không đặc hiệu.....	28
1. Đại thực bào	28
2. Bạch cầu trung tính	29
3. Bạch cầu ái toan	30
4. Bạch cầu ái kiềm và tế bào mast.....	30
5. Tiểu cầu.....	30
6. Những tế bào diệt tự nhiên.....	31
7. Tế bào nội mô	31
8. Hồng cầu	32
VI. Những tế bào của đáp ứng miễn dịch đặc hiệu.....	32
1. Tế bào trình diện kháng nguyên	32
2. Phân tử MHC	32
3. Tế bào mono và đại thực bào.....	35
4. Tế bào tua.....	35
5. Tế bào lympho	36

VII. Hệ thống bổ thể	42
1. Đường không đặc hiệu	43
2. Đường hoạt hóa bổ thể đặc hiệu	44
3. Các thụ thể tế bào đối với bổ thể	46
4. Vai trò sinh học của bổ thể	46
Tài liệu tham khảo	47
Chương 3: Kháng nguyên và kháng thể	48
I. Kháng nguyên	48
1. Định nghĩa	48
2. Điều kiện bắt buộc của một chất kháng nguyên	48
3. Tính đặc hiệu của kháng nguyên	48
4. Các dạng kháng nguyên	49
II. Kháng thể	51
1. Định nghĩa	51
2. Bản chất và tính chất của kháng thể	51
3. Cấu trúc của kháng thể miễn dịch	51
4. Chức năng sinh học của globulin miễn dịch	55
III. Phương pháp tạo kháng thể đơn dòng và đa dòng	57
1. Chuẩn bị kháng nguyên	57
2. Sản xuất kháng thể đa dòng	57
3. Sản xuất kháng thể đơn dòng	58
4. Làm sạch kháng thể	59
IV. Phản ứng kết hợp kháng nguyên-kháng thể	61
1. Cơ chế kết hợp kháng nguyên-kháng thể	61
2. Kết quả sinh học của phản ứng kết hợp kháng nguyên-kháng thể	64
Tài liệu tham khảo	66
Phần hai: MIỄN DỊCH Ở ĐỘNG VẬT THỦY SẢN	67
Chương 4: Miễn dịch học ứng dụng trong thủy sản	67
I. Tiến hoá hệ miễn dịch của động vật	67
II. Đáp ứng miễn dịch ở giáp xác	68
III. Đáp ứng miễn dịch ở cá xương	71
1. Cơ chế bảo vệ không đặc hiệu	71
2. Cơ chế bảo vệ đặc hiệu	71
IV. Nghiên cứu và ứng dụng của vắc-xin trong phòng bệnh thủy sản	73
1. Định nghĩa vắc-xin	73
2. Lịch sử phát triển vắc-xin	73
3. Cơ chế hoạt động của vắc-xin	74
4. Phân loại vắc-xin	75
5. Đặc tính cơ bản của vắc-xin	77
6. Yếu tố ảnh hưởng tới vắc-xin và hiệu quả sử dụng vắc-xin	77
7. Phương thức sử dụng vắc-xin trong nuôi trồng thủy sản	80
8. Một số kết quả nghiên cứu vắc-xin ở cá	81
V. Ứng dụng miễn dịch học trong chẩn đoán bệnh thủy sản	81
Tài liệu tham khảo	81

Danh sách hình

	Trang
Hình 1.1. Đáp ứng miễn dịch tiên phát và thứ phát.....	16
Hình 2.1. Sơ lược vị trí các cơ quan miễn dịch ở người.....	18
Hình 2.2. Các tế bào trong tuỷ xương.....	19
Hình 2.3. Cấu tạo tuyến ức	20
Hình 2.4. Chọn lọc dương và âm trong tuyến ức.....	21
Hình 2.5. Túi Fabricius ở gà	22
Hình 2.6. Nang lympho thứ phát	23
Hình 2.7. Cấu trúc của hạch.....	24
Hình 2.8. Cấu trúc của lách.....	25
Hình 2.9. Cấu trúc các tổ chức miễn dịch dưới da.....	26
Hình 2.10. Cấu trúc các tổ chức miễn dịch ở niêm mạc	26
Hình 2.11. Tái tuần hoàn tế bào lympho.....	27
Hình 3.1. Nguồn gốc tế bào miễn dịch	28
Hình 3.2. Vai trò của đại thực bào trong đáp ứng miễn dịch.....	29
Hình 3.3. Tế bào NK nhận biết tế bào đích khi tế bào này không có MHC lớp I	31
Hình 3.4. Cấu trúc phân tử MHC.....	33
Hình 3.5. Phân tử MHC lớp I.....	34
Hình 3.6. Phân tử MHC lớp II	35
Hình 3.7. Phân tử CD4 và CD8	37
Hình 3.8. Khả năng nhận biết kháng nguyên nội sinh và ngoại lai	38
Hình 3.9. Vai trò của Th trong đáp ứng miễn dịch.....	39
Hình 3.10. Hoạt hoá Tc do kháng nguyên của vi-rút.....	40
Hình 3.11. Cơ sở tế bào của sự hình thành kháng thể	41
Hình 3.12. Hệ thống bổ thể với các chất cấu thành và điều hoà.....	42
Hình 3.13. Đường hoạt hoá bổ thể không đặc hiệu	43
Hình 3.14. Đường hoạt hoá bổ thể đặc hiệu	45
Hình 4.1. Siêu kháng nguyên.....	50
Hình 4.2. Cấu tạo cơ bản của một kháng thể	52

Hình 4.3. Cấu tạo của IgG	53
Hình 4.4. Cấu tạo phân tử IgM	54
Hình 4.5. Cấu tạo phân tử IgA.....	55
Hình 4.6. Hiện tượng Oponin hóa.....	57
Hình 4.7. Các lực liên kết kháng nguyên-kháng thể.....	62
Hình 4.8. Kháng thể tiêu diệt vi-rút nội bào	65
Hình 5.1. Sự tiến hoá miễn dịch ở động vật	67
Hình 5.2. Cơ chế hoạt hoá hệ thống ProPO.....	69
Hình 5.3. Các vết đen là nơi vỏ cutin của tôm bị viêm, loét và melanin hoá.....	70
Hình 5.4. Cơ chế chui qua màng tế bào vi khuẩn của các peptit kháng khuẩn.	70
Hình 5.5. Hiện tượng thải loại mảnh ghép ở cá hồi.....	73
Hình 5.6. Cơ chế hoạt động của vắc-xin.....	75

Danh sách bảng

	Trang
Bảng 2.1. Một số đặc điểm so sánh giữa tế bào B và tế bào T	36
Bảng 3.1. Phương pháp làm sạch kháng thể.....	60
Bảng 4.1. Các dạng bạch cầu ở giáp xác và chức năng trong đáp ứng miễn dịch.....	68
Bảng 4.2. Đặc điểm Ig của cá xương.....	72
Bảng 4.3. Ưu và nhược điểm của các phương pháp sử dụng vắc-xin ở cá.....	80

Phần 1: MIỄN DỊCH HỌC CƠ SỞ

Miễn dịch (Immunity) là trạng thái bảo vệ đặc biệt của cơ thể sinh vật có khả năng nhận ra và giúp cơ thể chống lại sự tấn công của vi sinh vật hay các vật chất từ bên ngoài và loại thải chúng ra khỏi cơ thể. Miễn dịch là một quá trình đấu tranh lâu dài xảy ra trong máu và ở các mô của cơ thể.

Ngày nay, miễn dịch học (Immunology) đã trở thành một ngành khoa học phát triển cao. Kể từ khi có những phát kiến đầu tiên của Pasteur về vắc-xin, lịch sử miễn dịch học đã được dệt nên bởi những phát minh to lớn mang dấu ấn thời đại, thúc đẩy sự phát triển nhanh chóng của nhiều lĩnh vực trong sinh học và y học. Nhiều giải thưởng Nobel mới đây về y học và hàng loạt các công trình nghiên cứu về miễn dịch, ung thư, AIDS, ứng dụng các chất hóa được cũng nằm trong khuôn khổ các công trình nghiên cứu về miễn dịch.

Chương 1: Miễn dịch học và các khái niệm về miễn dịch học

I. Lịch sử và hướng phát triển của miễn dịch học

Từ cổ xưa, con người đã có một số hiểu biết về miễn dịch và ứng dụng trong việc phòng một số bệnh nhiễm khuẩn. Nhưng tới cuối thế kỷ 19, khi Louis Pasteur lần đầu tiên tìm ra vắc-xin, miễn dịch học mới được quan tâm nhiều hơn. Quan điểm về đáp ứng miễn dịch cũng thay đổi theo tiến bộ của khoa học và miễn dịch học có mối quan hệ khăng khít với một số ngành khoa học khác như sinh học phân tử, hóa học phân tử, gen học phân tử, v.v. Sự phát triển của miễn dịch học không những làm cho nó trở thành một môn khoa học cơ sở riêng biệt mà còn hỗ trợ cho các môn khoa học khác phát triển với những kỹ thuật miễn dịch rất hữu dụng.

Để thấy được những thành tựu quan trọng của miễn dịch học trong từng thời kỳ, có thể chia miễn dịch học ra thành bốn giai đoạn là: (i) thời kỳ sơ khai; (ii) giai đoạn ưu thế của miễn dịch dịch thể; (iii) giai đoạn ưu thế của miễn dịch tế bào và (iv) giai đoạn miễn dịch phân tử.

1. Thời kỳ sơ khai

Từ cổ xưa, con người đã nhận thấy một số bệnh chỉ gặp ở một số loài, hoặc trong cùng một vụ dịch, thậm chí trong cùng một điều kiện thì có cá thể này bị nặng và cá thể khác bị nhẹ. Đặc biệt với một số bệnh ở người khi đã mắc bệnh rồi khỏi thì sau này vĩnh viễn không mắc lại nữa, ví dụ như bệnh đậu mùa. Như vậy, họ đã biết tới những gì mà ngày nay chúng ta gọi là miễn dịch.

Việc dùng vẩy đậu mùa phơi khô, tán nhỏ và cho người lành hít vào để gây miễn dịch đã có trong y học cổ truyền phương Đông. Ở Trung Cận Đông thì người ta lấy trực tiếp mủ của mụn đậu mùa để tạo miễn dịch cho người lành bệnh. Tuy nhiên, do không kiểm soát được liều lượng nên có khi họ lại làm cho bệnh nặng hơn và gây chết người hoặc tạo thành dịch trong dân chúng.

Năm 1798, Edward Jenner dùng đậu mùa ở bò thay cho đậu mùa ở người để gây miễn dịch cho người. Quá trình này đã ghi nhận một mốc quan trọng trong sự phát triển của miễn dịch và từ đây miễn dịch học bắt đầu có cơ sở khoa học. Vào năm 1862, Ernst Haeckel phát hiện ra hiện tượng thực bào và sau đó vài năm (1877) Paul Erlich phát hiện ra tế bào mast.

Sau đó 100 năm, Louis Pasteur (1879-1885) điều chế thành công ba loại vắc-xin làm giảm độc lực vi khuẩn gây bệnh tụ huyết trùng gà, bệnh than và bệnh dại. Năm 1888, Pierre Roux & Alexandre Yersin đã tạo được vắc-xin chống độc tố bạch hầu. Thành công này cho thấy, không những vi khuẩn mà ngay cả những độc tố của chúng cũng có thể tạo đáp ứng miễn dịch.

2. Giai đoạn ưu thế của miễn dịch thể dịch

Sau khi tạo được miễn dịch ở động vật thí nghiệm, người ta dùng huyết thanh của chúng để nghiên cứu sự tương tác với các yếu tố gây bệnh. Vì thế, các yếu tố dịch thể trong thời kỳ này được tập trung nghiên cứu rất sâu. Hướng phát triển vắc-xin để phòng các bệnh nhiễm khuẩn được phát triển mạnh và duy trì tới ngày nay.

Đồng thời với sự phát triển của vắc-xin thì việc dùng huyết thanh để chẩn đoán và điều trị cũng được phát triển cho tới ngày nay. Các kỹ thuật phát hiện kháng nguyên và kháng thể liên tục xuất hiện như kỹ thuật ngưng tụ của Max von Gruber và Herbert Edward Durham (1896), kỹ thuật kết tủa của Kraus (1897). Năm 1898 Bordet phát hiện tác dụng của bổ thể và được dùng như một chất chỉ thị của kết hợp kháng nguyên- kháng thể. Từ đó, việc dùng huyết thanh miễn dịch để định loại vi sinh vật đã được ứng dụng rộng rãi. Tiếp đó, với kỹ thuật miễn dịch điện thẩm, gắn phóng xạ hay enzym vào kháng thể làm tăng độ nhạy phát hiện kháng nguyên hay kháng thể với hàm lượng rất thấp đã giúp ích rất nhiều trong chẩn đoán. Bên cạnh đó thì các sản phẩm của huyết thanh cũng đã được chế tạo thành công như huyết thanh chống uốn ván, huyết thanh chống dại, chống nọc rắn. Những huyết thanh này hiện vẫn đang được sử dụng rộng rãi.

Năm 1917, Karl Landsteiner phát hiện ra những chất có trọng lượng phân tử nhỏ (Haptens) cũng có tính kháng nguyên. Phát hiện này đã thúc đẩy lĩnh vực hóa miễn dịch phát triển mạnh. Đến năm 1929, Heidelberger đề xuất phương pháp định lượng huyết thanh học và mô tả cơ sở hóa sinh về cấu trúc của kháng nguyên là polysaccharid. Năm 1938, Kabat dùng điện di để phân tách các vùng γ - globulin nhằm xác định cấu trúc hóa học của globulin. Ngày nay người ta có thể chiết tách, tinh khiết để xác định cấu trúc phân tử của kháng nguyên và kháng thể, làm cơ sở cho việc sinh tổng hợp chúng theo con đường hóa học hay sinh học.

3. Giai đoạn ưu thế của miễn dịch tế bào

Năm 1883, Elie Metchnikoff đưa ra những giả thuyết về mặt tế bào học của việc sử dụng vắc-xin. Năm 1891, Robert Koch phát hiện ra phản ứng bì là một trạng thái miễn cảm muộn mà trong đó tế bào tham gia là chủ yếu. Vào năm 1941, Albert Coons ứng dụng kỹ thuật huỳnh quang phát hiện kháng nguyên và kháng thể nằm bên trong tế bào. Sau đó vào năm 1942, Karl Landsteiner và Merrill Chase cho thấy hiện tượng quá miễn muộn chỉ có thể được truyền bằng bạch cầu thì vai trò của miễn dịch tế bào mới được chú ý nhiều hơn và được phát triển mạnh hơn. Năm 1948, Astrid Faraeus nhận thấy kháng thể được sản xuất tại các

tương bào thuộc tế bào B. Năm 1964-1968, Anthony Davis và ctv phát hiện về sự hiện diện và hợp tác của tế bào T và tế bào B, đây là thời kì đỉnh cao của miễn dịch tế bào. Từ đó đã thu hút nhiều nhà miễn dịch nghiên cứu về lĩnh vực này.

4. Giai đoạn miễn dịch phân tử

Việc áp dụng những tiến bộ của sinh học phân tử vào miễn dịch đã giúp các nhà khoa học phân tích chi tiết cấu trúc của kháng thể, phát hiện được vùng hằng định và vùng thay đổi trong chuỗi nặng và chuỗi nhẹ (Putnam và ctv, 1965), xác định đầy đủ trình tự axit amin của phân tử globulin miễn dịch (Immunoglobuline; Edelman và ctv, 1969).

Trong thập kỷ 60-70, hàng loạt phân tử quan trọng khác trong hệ thống đáp ứng miễn dịch đã được xác định, chiết tách và tìm hiểu cấu trúc như cấu tạo của bộ thể, cấu tạo của interleukin. Các nhà khoa học đã tạo được các phân tử kháng thể mô phỏng theo phân tử kháng thể của con người và nhất là việc chuyển gen người sang cho lợn. Thành công này mở ra một hướng mới cho miễn dịch trị liệu và miễn dịch ghép.

5. Xu hướng phát triển

Ban đầu miễn dịch mới chỉ là một phát minh trong y học với việc tiêm chủng để phòng bệnh. Sau giai đoạn miễn dịch dịch thể và những tiến bộ về kỹ thuật đã cho phép con người nghiên cứu sâu hơn ở mức tế bào. Hiện tại miễn dịch học đang được tiếp tục nghiên cứu ở mức phân tử. Sinh học phân tử và gen học phân tử đã giúp hiểu sâu hơn những cơ chế bên trong tế bào. Đây cũng là hai hướng chính đang lôi cuốn nhiều công trình nghiên cứu về miễn dịch học.

II. Khái niệm về miễn dịch học

1. Miễn dịch và miễn dịch học

Miễn dịch là khả năng bảo vệ của cơ thể chống lại các tác nhân xâm nhập từ bên ngoài. Tất cả mọi loài sinh vật trong sinh giới đều có ít nhiều khả năng tự bảo vệ chống lại sự xâm nhập của bất kỳ vật lạ bên ngoài nào cho dù có hại hay không nhằm bảo vệ tính vẹn toàn cơ thể của chúng. Khả năng tự bảo vệ xuất hiện ngay ở những cơ thể sống thấp nhất và ngày càng trở nên phong phú và hoàn thiện.

Miễn dịch học là một môn khoa học chuyên nghiên cứu các quá trình nhận biết các chất lạ (gọi là kháng nguyên) và hậu quả của sự nhận biết đó (là sự đáp ứng miễn dịch). Sự nhận biết các chất lạ và quá trình đáp ứng miễn dịch có được là do khả năng tương tác của một phức hệ tế bào trong hệ miễn dịch của cơ thể người và động vật.

2. Các loại miễn dịch

Đáp ứng miễn dịch ở người và động vật được chia làm hai loại là miễn dịch tự nhiên và miễn dịch thu được.

2.1 Miễn dịch tự nhiên

a. Khái niệm

Miễn dịch tự nhiên (bẩm sinh; native immunity, natural immunity) còn gọi là miễn dịch không đặc hiệu (non-specific immunity) là khả năng tự bảo vệ có sẵn từ khi được sinh ra và

mang tính chất di truyền trong các cơ thể cùng loài. Miễn dịch bẩm sinh không đòi hỏi phải có sự tiếp xúc trước của cơ thể với mầm bệnh hay vật lạ và giữ vai trò quan trọng khi miễn dịch thu được chưa phát huy tác dụng. Điển hình như nhiều loài động vật không mắc bệnh của người và ngược lại. Ví dụ gà không mắc bệnh than, trâu bò không mắc bệnh giang mai và thương hàn của người.

Các biện pháp đề kháng của miễn dịch tự nhiên bao gồm hàng loạt các hàng rào ngăn cách nhằm ngăn cản các yếu tố bên ngoài đi vào cơ thể.

b. Hàng rào vật lý

Bao gồm da và các niêm mạc ngăn cách nội môi với ngoại môi xung quanh mà mọi yếu tố phải vượt qua khi muốn vào được trong cơ thể.

Da gồm nhiều lớp tế bào, trong đó có lớp tế bào ngoài cùng đã sừng hóa, luôn được bong ra và đổi mới, nên tạo ra được một cản trở vật lý khá vững chắc.

Niêm mạc chỉ có một lớp tế bào nhưng có tác dụng cản trở tốt vì có tính đàn hồi cao hơn da và được bao phủ bởi lớp màng nhầy. Niêm mạc với diện tích gấp 200 lần diện tích của da và lại là chỗ hay có tiếp xúc với nhiều vật lạ nhất nên hình thành một tổ chức chống đỡ miễn dịch phức tạp và có hiệu quả nhất.

Niêm dịch là chất nhầy do những tuyến ở dưới niêm mạc tiết ra và tạo nên một màng bảo vệ làm cho vi sinh vật và các vật lạ không bám được thẳng vào tế bào. Tuy nhiên, niêm mạc không có khả năng cản trở đối với những hạt có kích thước dưới 3 μm .

c. Hàng rào hóa học

Ngay trên da và niêm mạc thì hàng rào vật lý còn được tăng cường bởi một số yếu tố hóa học tạo ra một hàng rào ngăn cản.

Trên da nhờ có các chất tiết tạo ra axit lactic, axit béo của mồ hôi và tuyến mở dưới da làm cho một số vi khuẩn không tồn tại lâu được. Ví dụ, cho vi khuẩn *Bacterium prodigiosum* tiếp xúc với da sau 10 phút thì chỉ còn 10% có khả năng gây bệnh, sau 20 phút còn 1% và sau 30 phút thì không còn khả năng gây bệnh.

Tại niêm mạc, chất nhầy che chở bề mặt tế bào khỏi bị enzym neuraminidase của virus tác động. Đồng thời, nó còn có khả năng tiết ra một số chất ức chế sinh trưởng của vi sinh vật như lysozym là loại enzym muramidase có tác dụng phá hủy vỏ của một số vi khuẩn, có trong nước mắt, nước mũi và nước bọt có thể phân giải thành tế bào vi khuẩn. Chất bacterial permeability increasing proteine (BPI) là một dạng protein làm tăng tính thấm có thể liên kết với lớp lipopolysaccharid (LPS) của vi khuẩn, sau đó chọc thủng màng của chúng và phong bế các men vi khuẩn làm cho chúng mất khả năng hoạt động. Ngoài ra, cũng có những chất của huyết thanh chuyển từ lòng mạch và gian bào ra niêm mạc như bổ thể, interferon cũng tham gia vào sự chống đỡ hóa học.

Bên cạnh các yếu tố hoá học có trong da và niêm mạc, hàng rào hóa học còn bao gồm các chất hòa tan trong dịch sinh học của cơ thể. Đó là những chất tiết của nhiều loại tế bào khác nhau, những sản phẩm chuyển hóa của nhiều cơ quan nhưng đều hòa tan trong dịch sinh học như huyết thanh, dịch bạch huyết, dịch gian bào... Trong huyết thanh có chứa lysozym, các

thành phần của mô thể, interferon, các protein liên kết như protein phản ứng C (C reactive protein).

Lysozym: là một protein mang điện tích âm có khả năng thủy phân các nối glycosyd ở màng tế bào của một số vi khuẩn gram +.

Bổ thể (Complement): là một hệ thống gồm nhiều thành phần do nhiều loại tế bào sản xuất nhưng lại tương tác với nhau để được hoạt hóa theo một chương trình nhất định. Trong đáp ứng miễn dịch tự nhiên thì bổ thể được hoạt hóa theo con đường không đặc hiệu (không cần kháng thể) bởi các chất như carbon hydrat, lipopolysaccharic... của vi khuẩn, nhờ đó mà chọc thủng và làm dung giải vi khuẩn. Một số thành phần của bổ thể như C3a, C5a có tác dụng hóa ứng động bạch cầu, gây dẫn mạch, giải phóng các hóa chất trung gian từ các hạt của bạch cầu ái kiềm. Một số thành phần khác như C3b sẽ dính vào vi khuẩn giúp cho các tế bào thực bào dễ tiếp cận và tiêu diệt vi khuẩn.

Interferon: (IFN) là một protein do nhiều tế bào tiết ra trong miễn dịch không đặc hiệu. IFN có hoạt tính chống một cách không đặc hiệu các vi-rút nhiễm ở tế bào cùng loài. Khi vào trong tế bào, vi-rút sẽ hướng bộ máy của tế bào hoạt động theo hướng có lợi cho chúng để phát triển nhân lên và tế bào dần dần bị phá hủy. Tuy nhiên, những tế bào bị nhiễm vi-rút lại có khả năng sinh ra IFN thâm vào các tế bào xung quanh, giúp chúng không bị vi-rút xâm nhập tiếp. Ngoài ra, IFN còn kích thích các tế bào sản sinh một protein phong bế quá trình sao chép của vi-rút ở khâu ARN thông tin và nhờ đó mà tế bào không bị nhiễm vi-rút nữa, thậm chí với cả vi-rút lạ. Như vậy, IFN cũng có tác dụng như một loại thuốc kháng sinh tự nhiên và giống như lysozym chống lại vi khuẩn. Tuy nhiên cơ chế kháng vi-rút của IFN khác hẳn với cơ chế kháng vi khuẩn của thuốc kháng sinh.

Các protein liên kết (binding protein): trên mặt các tế bào và trong huyết thanh có những protein liên kết tự nhiên với các chất như LPS, lectin, lipit, mannose của vi khuẩn gây bệnh. Sự liên kết này sẽ làm hạn chế sự phát triển của vi khuẩn. Đặc biệt là protein liên kết sắt như lactoferrin hay transferrin có ở nước mắt, tinh dịch, mật, sữa mẹ, trong các chất tiết phế quản, mũi, hầu, đường tiêu hóa, trong huyết thanh. Do bị liên kết nên nồng độ sắt tự do trong máu và trong các mô thấp hơn so với nhu cầu cần cho sự phát triển của vi sinh vật, làm cho chúng không sinh trưởng được.

Ngoài ra, ở da hay dạ dày có độ pH mang tính axit nên có tác dụng gây cản trở sự sinh trưởng của vi sinh vật gây bệnh.

d. Hàng rào tế bào

Đây là hàng rào quan trọng nhất và phức tạp nhất trong hệ thống miễn dịch bao gồm nhiều loại tế bào. Tuy nhiên giữ vai trò quan trọng nhất là các thực bào có khả năng nuốt và tiêu hoá các vi sinh vật.

Trên niêm mạc có rất nhiều thực bào di tản ra từ nội mô bao gồm tiểu thực bào (microphage) và đại thực bào (macrophage) có đặc tính chung là tiếp cận với các yếu tố lạ, nuốt và tiêu hoá chúng gọi là quá trình thực bào. Tiểu thực bào là bạch cầu đa nhân trung tính của máu, hoạt động mạnh đối với các vi khuẩn ngoài tế bào. Đại thực bào là các tế bào

mono ở máu di chuyển tới các mô để trở thành tế bào của hệ thống võng có tác dụng mạnh với các vi sinh vật có kích thước lớn.

Quá trình thực bào (phagocytosis) được chia thành ba giai đoạn (xem hình 1.1) như sau:

Hóa ứng động: là sự di chuyển của tế bào tới ổ viêm nhờ tính chất sinh học của các chất do vi sinh vật tiết ra như các peptit-formyl. Các chất của vật chủ sẽ được hoạt hóa như: thành phần bổ thể C3a, C5a...

Giai đoạn gắn: Sự bám dính tế bào thực bào với vi sinh vật nhờ các thụ thể (receptor) có mặt trên tế bào vi sinh vật như mannose, fucose hay axit sialic. Chúng sẽ hấp dẫn các tế bào thực bào áp tới, hoạt hóa enzyme kinase nhằm tạo ra những giả túc. Khi thực bào đến sát thì có hiện tượng dính màng tế bào nhờ vào những protein liên kết. Sau đó các tế bào thực bào sẽ thay đổi các hoạt động như thò giả túc, hình thành lysosom, tăng cường hoạt động men....

Giai đoạn nuốt và tiêu: Đầu tiên, màng tế bào bị lõm vào, chất nguyên sinh sẽ tạo các chân giả bao lấy vi sinh vật, rồi đóng kín lại tạo thành hốc thực bào (phagosome) chứa các vi sinh vật. Như vậy, vi sinh vật đang ở ngoài đã được chuyển vào bên trong. Tiếp đó, *giai đoạn tiêu* sẽ được bắt đầu, các hạt lysosom tiến đến sát các hốc thực bào, xảy ra hiện tượng hòa tan màng của hai tiểu thể để hình thành màng chung là *phagolysosom*, tại đây các vi sinh vật sẽ bị tiêu do hai quá trình, một cần có oxy và một là do men.

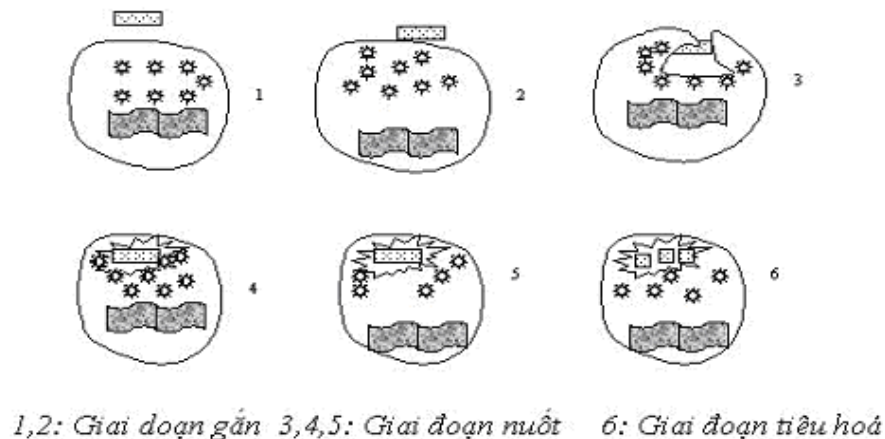


Figure 0.1. Quá trình đại thực bào và tiêu diệt một vi khuẩn

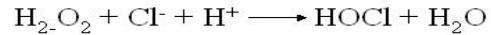
Trong *phagolysosom* vi sinh vật sẽ bị tiêu diệt nhờ hai cơ chế chính:

- *Cơ chế không phụ thuộc oxy*: các men tiêu protein, lysozym, lactoferin....diệt vi khuẩn và cuối cùng là các men thủy phân tiêu hoàn toàn vi khuẩn.
- *Cơ chế phụ thuộc oxy*: oxy được sử dụng một cách mạnh mẽ để chuyển thành các anion superoxyt ($O^{1/2}$) và oxyt nitơ (NO), tạo nên một hệ thống halogen (axit hypochloro, chloramin) có thể tiêu diệt cả vi khuẩn lẫn vi-rút.

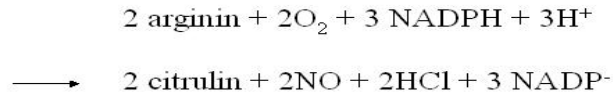
NADPH oxydase



Myeloperoxydase



NO synthetase



Hiện tượng thực bào, cơ chế phụ thuộc oxy

Quá trình thực bào được khuếch đại bởi một số bỏ thể đã hoạt hóa. Ngoài ra, sự phóng thích ra khỏi tế bào những thành phần của phagolysosom làm tăng phản ứng viêm cấp, tăng tính thấm thành mạch và làm dẫn tới sự gia tăng mật độ của bạch cầu ở các ổ viêm. Đại thực bào sẽ tiết ra một số cytokin gây viêm như *Interleukin-1*, *Interleukin-6* có tác dụng tại chỗ hay gây ra hoại tử, sốt...làm tăng quá trình thực bào.

Hàng rào vi sinh vật cũng tham gia tích cực vào công việc bảo vệ cơ thể. Các vi sinh vật này sống trên bề mặt cũng như bên trong cơ thể. Đó là khu hệ vi sinh vật bình thường chúng không gây hại mà còn có lợi cho cơ thể do chúng chiếm trước các vị trí mà vi sinh vật gây bệnh sẽ đến, chúng làm giảm nồng độ oxy, cạnh tranh thức ăn và tiết ra các chất diệt khuẩn... Khu hệ vi sinh vật bình thường trong đường tiêu hóa còn tiết ra biotin, riboflavin và một vài loại vitamin khác cung cấp cho cơ thể.

Các tế bào có hạt ái kiềm như tế bào mast, bạch cầu đa nhân kiềm tính sẽ tham gia vào quá trình viêm qua sự giải phóng các chất trung gian chứa trong những hạt như histamin, serotonin thông qua kích thích trực tiếp.

Còn các tế bào có hạt ái toan như bạch cầu toan tính, tham gia vào viêm cũng thông qua nội dung của các hạt ấy chủ yếu là protein kiềm và có khả năng tiêu diệt ấu trùng của ký sinh trùng.

Ngoài ra, tế bào diệt tự nhiên (natural killer-NK) là một loại tế bào lympho có khả năng tiêu diệt không đặc hiệu các tế bào u và tế bào bị nhiễm vi-rút bằng chất tiết của chúng (perforin). IFN do chúng tiết ra sẽ tăng cường hoạt động của thực bào.

2.2 Miễn dịch đặc hiệu

a. Các dạng miễn dịch đặc hiệu

Miễn dịch đặc hiệu (specific immunity) còn gọi là miễn dịch thu được (acquired immunity) là trạng thái miễn dịch xuất hiện sau khi cơ thể tiếp xúc với kháng nguyên (antigen) và có phản ứng sinh ra kháng thể đặc hiệu chống lại chúng. Miễn dịch thu được có hai đặc điểm khác cơ bản với miễn dịch tự nhiên là khả năng nhận dạng và trí nhớ đặc hiệu về kháng

nguyên (vật lạ). Hệ thống miễn dịch đặc hiệu có thể ghi nhớ lại các tác nhân gây bệnh và ngăn cản tác động gây bệnh của chúng ở lần tiếp xúc lặp lại tiếp theo. Miễn dịch đặc hiệu lại được chia ra làm hai loại dựa vào phương thức tạo ra tình trạng miễn dịch.

Miễn dịch chủ động:

- Miễn dịch *chủ động tự nhiên* là trạng thái miễn dịch do tiếp xúc ngẫu nhiên với kháng nguyên và vi sinh vật có trong môi trường xung quanh.
- Miễn dịch *chủ động nhân tạo* là trạng thái miễn dịch thu được nhờ tiêm vắc-xin hoặc do truyền tế bào lympho thường hoặc lympho miễn dịch, ít khi là do ghép.

Miễn dịch thụ động:

- Miễn dịch thụ động tự nhiên là trạng thái miễn dịch thu được do kháng thể ghép hoặc truyền từ sữa mẹ
- Miễn dịch thụ động nhân tạo là miễn dịch nhờ kháng thể chuyển từ bên ngoài do truyền kháng huyết thanh.

b. Các giai đoạn của đáp ứng miễn dịch đặc hiệu

Khi kháng nguyên xâm nhập vào cơ thể sống sẽ gặp phải sự đề kháng tự nhiên gọi đáp ứng miễn dịch không đặc hiệu. Trong phản ứng bảo vệ này một số tế bào ăn và tiêu được kháng nguyên đóng một vai trò rất quan trọng bởi vì chúng sẽ trình diện đặc điểm của kháng nguyên ấy với tế bào sinh kháng thể. Ngoài đại thực bào thì có nhiều tế bào khác cũng làm được việc này như *tế bào lympho B* nên được gọi chung là tế bào trình diện kháng nguyên (APC-Antigen Presenting Cell). Nếu hiện tượng thực bào là một phần của đáp ứng miễn dịch không đặc hiệu thì đồng thời cũng là bước khởi đầu của đáp ứng miễn dịch đặc hiệu.

Đáp ứng miễn dịch đặc hiệu gồm có ba giai đoạn:

Giai đoạn nhận diện kháng nguyên

Giai đoạn đầu của đáp ứng miễn dịch là làm biến đổi một kháng nguyên có cấu trúc phức tạp thành những peptit nhỏ chỉ có một nhóm quyết định kháng nguyên (epitop) để các tế bào có thẩm quyền của hệ thống miễn dịch có thể nhận biết được. Hầu hết các kháng nguyên đều được xử lý và trình diện bởi APC thông qua những phân tử MHC (Major Histocompatibility Complex) có sẵn trên bề mặt các tế bào ấy với các thụ thể tương ứng trên lympho bào T (TCR- T Cell Receptor).

Giai đoạn cảm ứng

Quá trình trên sẽ là một tín hiệu hoạt hóa tế bào lympho T, đây là hàng loạt những phản ứng bên trong tế bào nhằm củng cố và phát triển sự nhận diện epitop. Sự sắp xếp lại các gen sẽ giúp cho tế bào tổng hợp được phân tử TCR có cấu trúc ăn khớp hơn với epitop. Sự nhận diện này sẽ được khuếch đại do tế bào mới được hoạt hóa tiết ra những tế bào hoạt động (cytokin) gây tăng sinh cũng như tác động đến những tế bào khác làm chúng tăng cường hoạt động. Trong đó, một số sẽ trở thành tế bào có trí nhớ tương đối bền vững đối với kháng nguyên ấy để sẵn sàng phản ứng khi tiếp xúc lần sau. Song song với quá trình khuếch đại thì quá trình ức chế cũng xuất hiện để phản ứng không đi quá mức cần thiết và đáp ứng mang tính chất điều hoà.

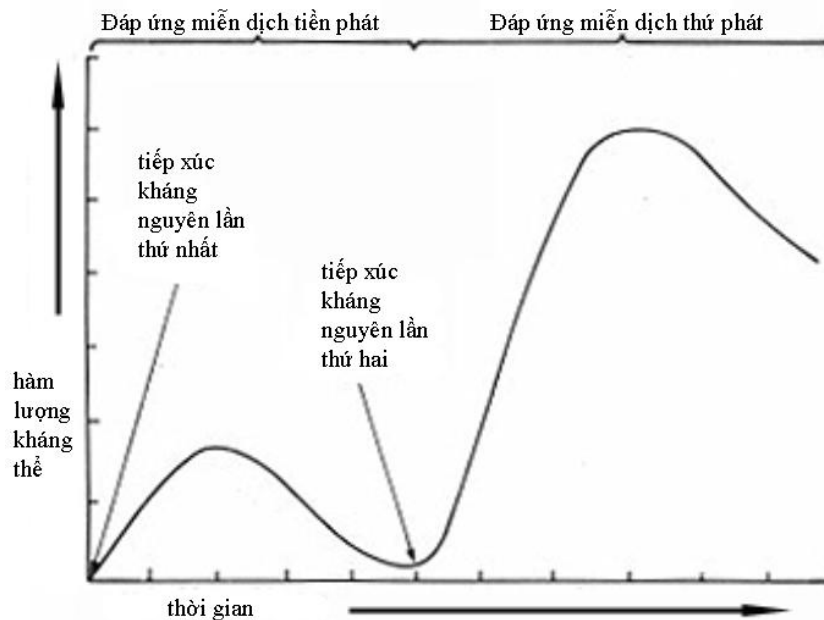
Những tế bào nhận thông tin và tham gia đáp ứng miễn dịch lần đầu được gọi là đã miễn cảm, tức là đã được tiếp xúc với kháng nguyên và sản xuất kháng thể đặc hiệu với kháng nguyên ấy. Kháng thể có thể nằm trên màng của những tế bào sinh ra nó gọi là kháng thể tế bào và do một quần thể tế bào lympho T sản xuất. Kháng thể có thể hòa tan và được đổ vào ổ dịch nội môi, đó là kháng thể dịch thể và do những tế bào lympho B sản sinh.

Đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào (cell mediated immunoresponse) là đáp ứng có sự tham gia của một số tế bào T, thể hiện dưới hình thức gây độc tế bào và hình thức viêm kiểu quá mẫn muộn. Miễn dịch này đóng vai trò quan trọng trong các bệnh do vi sinh vật kí sinh bên trong tế bào gây ra, trong thải bỏ mô ghép và trong miễn dịch chống ung thư.

Đáp ứng miễn dịch thể dịch (humoral immunoresponse) được thể hiện bằng sự sản xuất kháng thể có khả năng tương tác đặc hiệu với kháng nguyên. Miễn dịch này chống vi sinh vật ở ngoài tế bào và trong thể dịch của cơ thể.

Giai đoạn hiệu ứng

Khi các tế bào lympho được miễn cảm đã sản xuất ra các kháng thể và kết hợp đặc hiệu với kháng nguyên sẽ dẫn đến quá trình viêm và tiêu diệt kháng nguyên ấy. Trong miễn dịch qua trung gian tế bào thì sự kết hợp giữa kháng nguyên và kháng thể là do sự tiếp xúc trực tiếp giữa tế bào lympho T với tế bào đích mang kháng nguyên. Lympho T sẽ tiết ra chất perfolin diệt tế bào này. Nếu là kháng nguyên hòa tan thì sự kết hợp trên xảy ra trên màng tế bào lympho T, nó sẽ được hoạt hóa và tiết ra IL-2 để hoạt hóa các tế bào có chức năng khác như lympho B, lympho quá mẫn....gây viêm đặc hiệu.



Hình 0.1. Đáp ứng miễn dịch tiên phát và thứ phát

Đáp ứng miễn dịch tiên phát và thứ phát

Mức độ đáp ứng miễn dịch qua các giai đoạn tùy thuộc vào mới mắc hay mắc cảm lại.

- Đáp ứng miễn dịch lần đầu (primary immune response) có thời gian tiên phát dài, cường độ đáp ứng yếu và thời gian đáp ứng ngắn. Một số tế bào T và B đã được miễn cảm sẽ trở thành tế bào trí nhớ (memory cell) nếu tiếp xúc lại với kháng nguyên sẽ tạo ra đáp ứng miễn dịch thứ phát (secondary immune response).
- Đáp ứng miễn dịch thứ phát có thời gian tiềm tàng ngắn hơn, cường độ đáp ứng mạnh hơn và thời gian duy trì đáp ứng dài hơn do các tế bào trí nhớ phát triển nhanh và mạnh tạo thành một dòng tế bào chuyên sản xuất ra kháng thể đặc hiệu.

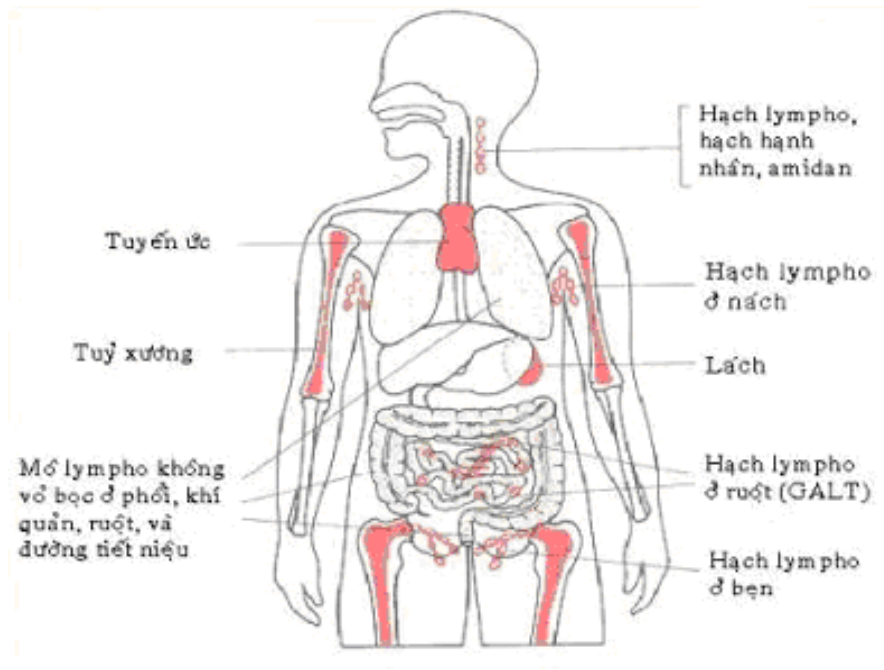
Tài liệu tham khảo

1. Vũ Triệu An và Jean, C.H. 2001. *Miễn dịch học*. Nhà xuất bản Y học.
2. Nguyễn Lâm Dũng. 2001. *Vì sinh vật học*. Nhà xuất bản Giáo Dục.
3. Lê Huy Kim. 1998. *Bài giảng miễn dịch học thú y*. Khoa Nông Nghiệp- Đại học Cần Thơ.
4. Nguyễn Ngọc Lành và ctv. 1997. *Miễn dịch học*. Nhà xuất bản y học.
5. Nguyễn Vĩnh Phước. 1978. *Giáo trình bệnh truyền nhiễm gia súc*. Nhà xuất bản Nông Nghiệp.

Chương 2 : Các cơ quan và tế bào tham gia đáp ứng miễn dịch

A. Các cơ quan tham gia vào hệ thống miễn dịch

Hệ thống miễn dịch rất phát triển ở loài chim và loài có vú, nhất là ở người chiếm trên 1/60 trọng lượng cơ thể. Nó gồm tất cả các dòng bạch cầu của hệ thống tạo máu mà vai trò chủ yếu thuộc vào các mô lympho. Đó là loại mô liên kết và nó sẽ kết hợp với những tế bào của hệ thống thực bào đơn nhân và tế bào lympho. Các tế bào của hệ thống miễn dịch sẽ luân chuyển có mặt khắp mọi nơi trong cơ thể, rồi tụ lại dưới những hình thức tổ chức phân tán hay tập trung thành đám không có vỏ bọc hay dạng hạch. Về mặt tổ chức thành cơ quan, hệ thống miễn dịch có thể phân biệt ra những cơ quan gốc, cơ quan tiên phát và những cơ quan thứ phát (hình 2.1).

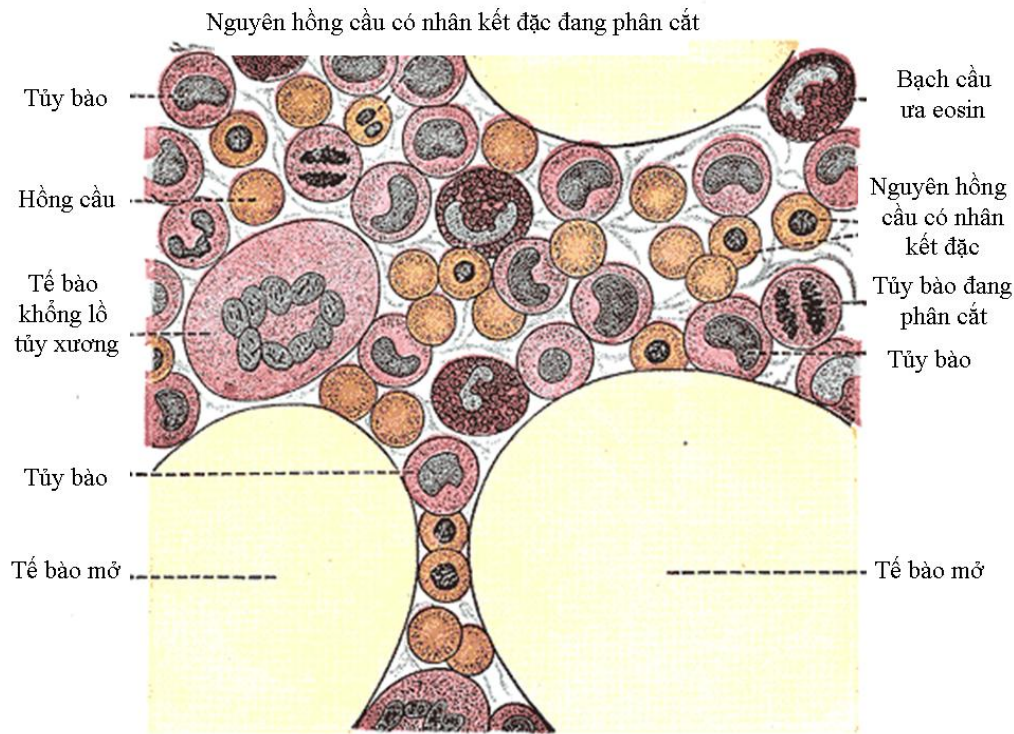


Hình A.1. Sơ lược vị trí các cơ quan miễn dịch ở người

I. Cơ quan gốc

Tuỷ xương là cơ quan gốc của hệ thống tạo huyết và cũng là nơi sản xuất ra các tế bào gốc (tế bào mầm) của hệ thống miễn dịch nên còn gọi là cơ quan gốc. Nơi sản xuất tế bào gốc sẽ thay đổi tùy theo độ tuổi. Ở người, trong những tuần đầu của cuộc sống thì các tế bào mầm nằm ở lá phôi, sang giai đoạn thai thì chúng sẽ di chuyển đến cư trú ở mầm gan, rồi sau cùng là tủy xương.

Tủy xương được hình thành bởi mô liên kết đỡ với những mao mạch ngoằn ngoèo, những tế bào nội mô, nguyên bào sơ và tế bào mỡ (hình 2.2). Mạng lưới ngoại tế bào bao gồm các sợi như collagen hay sợi lamin... Các tế bào sinh máu nằm giữa các sợi reticulin và chịu tác động của các yếu tố sinh trưởng khác nhau, gọi chung là yếu tố quần thể (colony stimulating factor) tùy thuộc vào dòng tế bào được sản xuất theo nhu cầu của hệ miễn dịch.



Hình A.2. Các tế bào trong tủy xương

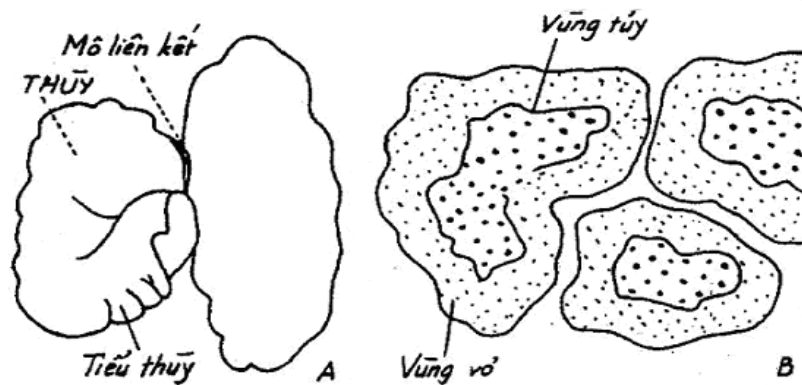
II. Các cơ quan lympho tiên phát

Ở người và động vật hữu nhũ thì cơ quan lympho tiên phát là tuyến ức (hình 2.3). Ở các động vật thuộc lớp chim thì cơ quan lympho tiên phát là túi Fabricius (hình 2.5). Cơ quan này xuất hiện sớm trong đời sống của phôi trước những cơ quan thứ phát và nằm ngoài đường thâm nhập và tuần hoàn của các kháng nguyên, nên sự phát triển mạnh mẽ của tế bào lympho xảy ra ở đây sẽ không phụ thuộc vào bất kỳ một kích thích nào của kháng nguyên.

Các cơ quan tiên phát sẽ cho phép sự biệt hóa và nhân lên của tế bào lympho gốc trong giai đoạn đầu. Đồng thời chúng có khả năng nhận biết và dung nạp các kháng nguyên của bản thân cũng như tăng cường tính đa dạng các cấu trúc để nhận biết kháng nguyên lạ. Hoạt động của cơ quan lympho tiên phát phụ thuộc vào việc thường xuyên được cung cấp các tế bào lympho gốc từ tủy xương. Một tế bào khi đã được biệt hoá (trưởng thành) và rời cơ quan lympho tiên phát thì không quay trở lại đó nữa, vì những cơ quan này nằm ngoài con đường tái tuần hoàn của các tế bào lympho đã trưởng thành.

1. Tuyến ức

Tuyến ức là một cơ quan nằm ở phía trên và trước của trung thất. Có cấu tạo gồm hai thùy nối với nhau bởi một cái eo ở giữa (hình 2.3A). Tuyến ức là một cơ quan lymphô-biểu mô. Các mầm từ túi nang gồm một mạng những tế bào biểu mô và các tế bào lympho chưa biệt hóa từ tủy xương tới nơi cư trú. Mỗi thùy của tuyến ức được phân chia thành nhiều tiểu thùy bằng các vách ngăn, mỗi tiểu thùy lại có một vùng vỏ ở ngoài và một vùng tủy ở trung tâm (hình 2.3B).



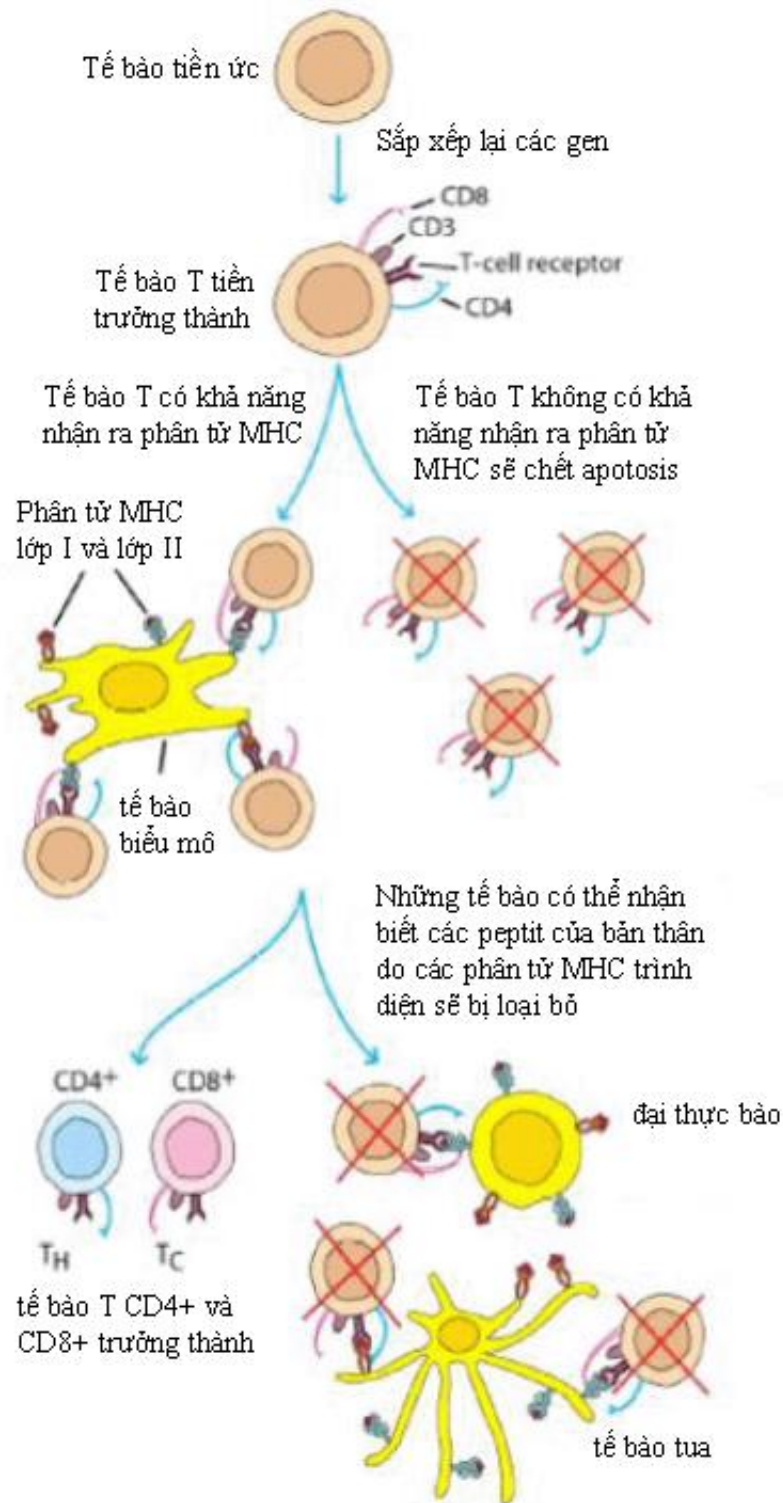
Hình A.3. Cấu tạo tuyến ức

Tuyến ức hoạt động như một cơ quan giúp cho sự trưởng thành của các tế bào lympho T về mặt phát triển, biệt hóa và chọn lọc. Trước khi đi vào tuyến ức, tế bào lympho T còn gọi là tế bào tiền ức chủ yếu chỉ mang CD_{33} và CD_{44} mà chưa có CD_4 và CD_8 . Tại tuyến ức các tế bào lympho T này được biệt hóa thành các tế bào lympho có các thụ thể với kháng nguyên (gọi tắt là TCR) nhờ sự sắp xếp lại các gen bên trong. Những tế bào nào không hình thành TCR được sẽ chết. Sự phát triển và biệt hóa các TCR xảy ra chủ yếu tại vùng vỏ của các tiểu thùy tuyến ức. Các tế bào có TCR dần dần có những dấu ấn của tế bào lympho T trưởng thành như các phân tử CD_2 , CD_4 hay CD_8 để đi vào quá trình chọn lọc dương và chọn lọc âm trong tuyến ức (hình 2.4) để chọn ra những tế bào T có khả năng tương tác với kháng nguyên để bảo vệ cơ thể.

- **Chọn lọc dương:** tại vùng vỏ của tuyến ức, tế bào tiền ức có CD_4^- , CD_8^- và TCR đi vào tiếp xúc với tế bào biểu mô có mang phân tử MHC I và II. Chỉ những tế bào nào nhận ra các phân tử MHC I và phân tử MHC II của bản thân thì được giữ lại CD_4^+ và CD_8^+ . Sự chọn lọc này cho phép tồn tại lại những tế bào ức có TCR có khả năng tương tác với phân tử MHC của tế bào biểu mô thuộc tuyến ức. Nó còn kiểm soát sự sắp xếp lại các gen của chuỗi.

- **Chọn lọc âm:** đi sâu vào trong vùng lõi của tuyến ức, tế bào lympho T có CD_4^+ hay CD_8^+ và TCR sẽ tiếp xúc với kháng nguyên của bản thân cũng qua các phân tử MHC. Những tế bào lympho T nào mà TCR của chúng có thể nhận biết các peptit của bản thân do các phân

tử MHC của tế bào biểu mô trình diện sẽ bị loại bỏ (nhân tế bào trở nên cô đọng, vỡ thành mảnh nhỏ rồi tế bào bị vỡ ra thành nhiều mảnh).

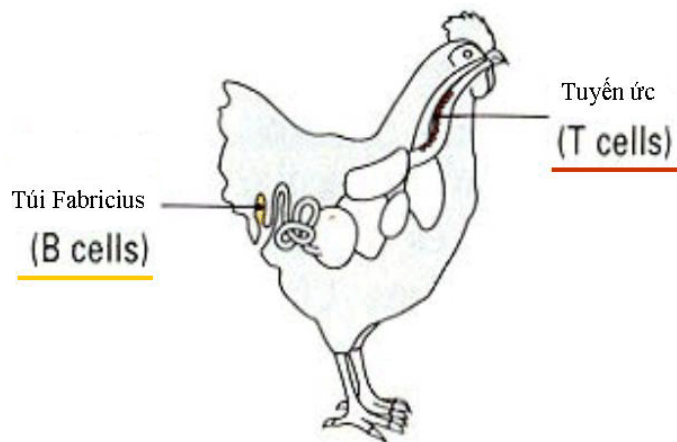


Hình A.4. Chọn lọc dương và âm trong tuyến ức

Ngoài ra, còn có các yếu tố dịch thể tham gia tác động giúp hoàn tất quá trình biệt hóa các tế bào lympho trong tuyến ức và tại các cơ quan lympho ngoại vi khác. Tuy nhiên cho đến nay cơ chế của chúng chưa được biết rõ.

2. Túi Fabricius

Loài chim có một cơ quan đặc biệt là túi Fabricius (hình 2.5) là cơ quan lympho-biểu mô nằm ở mặt trong của lỗ huyết. Nếu cắt bỏ túi này trong giai đoạn phôi trước khi trứng nở, sẽ làm rối loạn miễn dịch thể dịch làm giảm nặng hàm lượng γ -globulin và sinh vật sẽ không sản xuất được kháng thể khi gây cảm nhiễm với mầm bệnh.



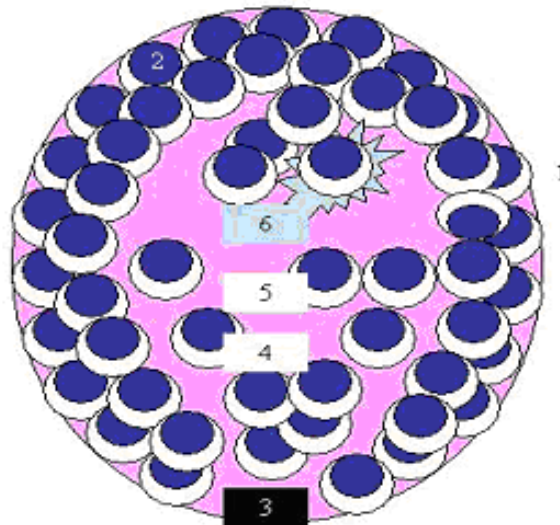
Hình A.5. Túi Fabricius ở gà

III. Cơ quan lympho thứ phát

Các tế bào lympho T sau khi đã được biệt hoá và chọn lọc ở tuyến ức sẽ rời khỏi cơ quan lympho tiên phát này và di chuyển đến cư trú tại các cơ quan lympho thứ phát để làm nhiệm vụ đề kháng miễn dịch. Sự phát triển của cơ quan lympho thứ phát vì vậy chậm hơn ở cơ quan tiên phát. Mặt khác cơ quan lympho thứ phát chỉ phát triển đầy đủ khi có kích thích của kháng nguyên. Chúng sẽ không phát triển ở những con vật nuôi vô trùng. Ngoài tế bào lympho T đến từ tuyến ức, trong cơ quan lympho thứ phát còn có tế bào lympho B đến từ tủy xương qua đường máu. Những tế bào lympho ở cơ quan này thường xuyên tái tuần hoàn và trao đổi với các tế bào của những cơ quan khác qua trung gian dịch bạch huyết và máu. Tại ngay các cơ quan ấy chúng biểu lộ các khả năng của mình khi có dịp tiếp xúc với kháng nguyên.

Tại một số vùng của cơ quan lympho thứ phát có những đám tế bào được gọi là nang gồm chủ yếu là tế bào lympho B. Trước khi có sự kích thích của kháng nguyên thì các nang này được gọi là nang tiên khởi. Do còn ở thời kỳ nghỉ nên các tế bào lympho còn nhỏ, cái nọ nằm sát cái kia tạo ra một hình thái đặc biệt. Nhưng sau khi có sự kích thích của kháng nguyên thì trở chúng sẽ phát triển thành nang thứ phát gồm một trung tâm mầm sáng được bao quanh bởi một khu thẫm hơn. Khi ấy nang có thể được phân chia thành 3 vùng (hình 2.6).

- *Vùng vành ngoài* đậm đặc là áo nang gồm toàn tế bào lympho trí nhớ sát chặt với nhau và đang trong thời kỳ phân chia mạnh, tạo ra vùng sinh sản của trung tâm mầm.
- *Vùng vành thứ hai* cũng đậm đặc gồm những tế bào lympho ở trạng thái nghỉ như trước khi có sự kích thích của kháng nguyên.
- *Khu trung tâm mầm* là khu có các tế bào tách biệt nhau và thường đang trong thời kỳ phân bào. Tế bào lympho được biến thành nguyên bào lympho, là những tế bào có nguyên sinh chất rất phát triển và là những tế bào tiền thân sẽ tiết ra kháng thể.



1: bao vây bởi tế bào lympho trí nhớ, 2: tế bào trí nhớ, 3: vùng tối có các nguyên bào trung tâm, 4: vùng sáng đây, 5: vùng sáng đỉnh, 6: vùng ngoài là các tế bào trung tâm có dấu ấn và một vài tế bào tua

Hình A.6. Nang lympho thứ phát

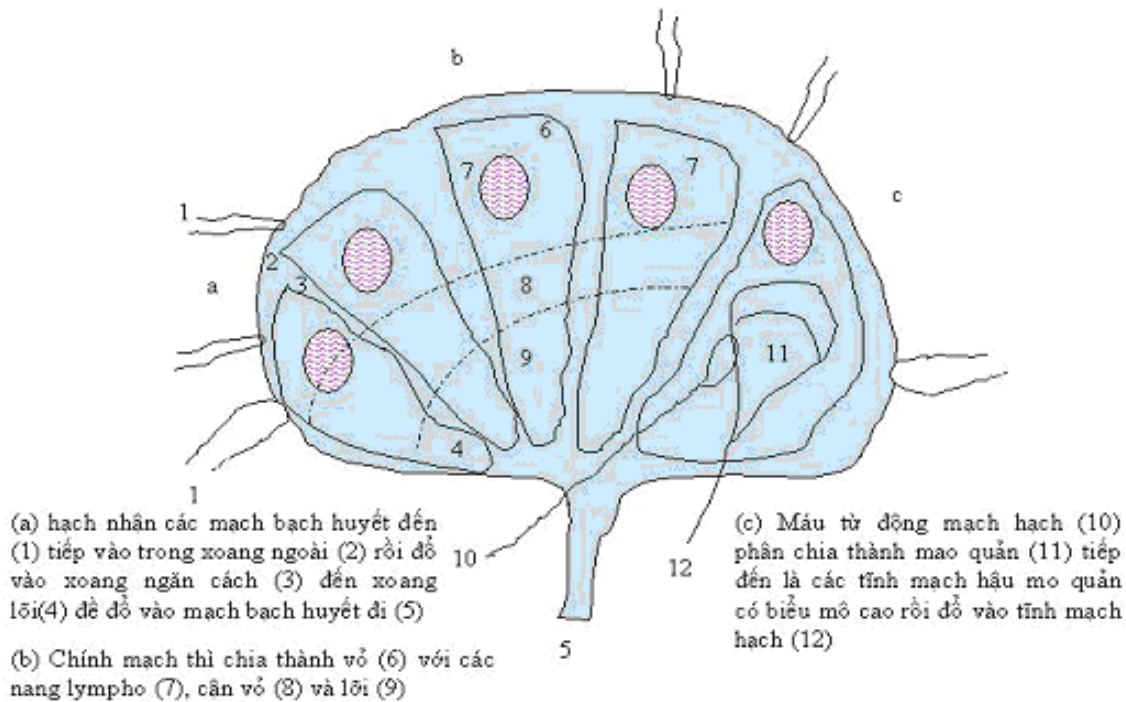
1. Cơ quan lympho thứ phát tập trung có vỏ bọc

Hạch

Hạch là những cơ quan lympho có đường kính vài mm, hình tròn hay quả đậu có vỏ bọc bên ngoài. Hạch được cấu trúc bởi 3 vùng cơ bản là: *vùng vỏ* chứa các nang lympho tiên khởi hay thứ phát mà chủ yếu gồm tế bào B; *vùng cận vỏ* có một thảm tế bào lympho T và đại thực bào tạo thành một khu vực phụ thuộc tuyến ức của hạch và *vùng lõi* là khu vực lẫn trộn của tế bào lympho T, tế bào lympho B, tương bào và đại thực bào (hình 2.7). Nhờ sự lưu thông của các hạch bạch huyết giúp các hạch có thể kiểm soát được nhiều lĩnh vực như da, cơ quan sâu thông qua mô kẽ. Các hạch tại nhiều điểm có thể phân tán hay tập trung thành từng nhóm hạch nông hay sâu ở những điểm giao lưu quan trọng như nách, họng, màng treo ruột...

Lách

Cơ quan này nằm trong vòng tuần hoàn máu và giữ một vai trò quan trọng trong việc thanh lọc máu. Không có mạch bạch huyết tới cơ quan này. Lách giữ vai trò rất quan trọng trong sự đề kháng của cơ thể. *Ví dụ*, ở những đứa trẻ bị cắt bỏ lách thì sự nhiễm khuẩn huyết do vi khuẩn gram âm xảy ra rất nặng.



Hình A.7. Cấu trúc của hạch

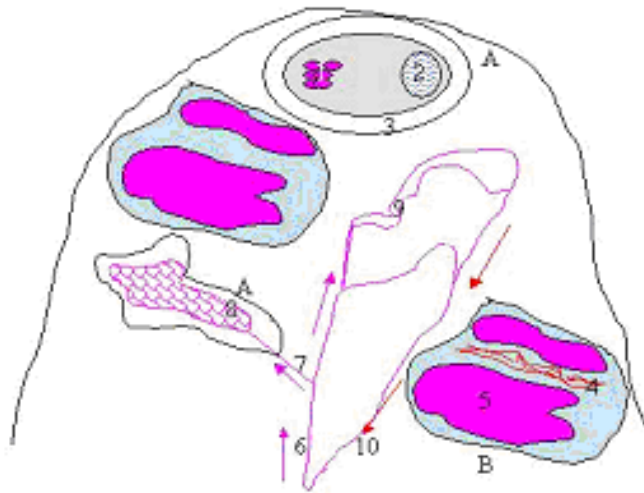
Lách được cấu tạo bởi hai phần là: (1) *tủy đỏ* có nhiệm vụ loại trừ các hạt và các tế bào đã hư do máu đưa tới mà không gây đáp ứng miễn dịch và (2) *tủy trắng* gồm những ống tế bào lympho T và các nang chứa chủ yếu tế bào lympho B (hình 2.8). Vùng trung gian giữa tủy đỏ và tủy trắng là nơi trao đổi mà ở đó các tế bào lympho của máu tuần hoàn có thể rời khỏi tĩnh mạch để nằm lại các cấu tạo lympho. Về mặt chức năng, việc nắm bắt kháng nguyên ở lách xảy ra ở vùng ngoài rìa do các tế bào lưới thực hiện. Sau 24 giờ chúng sẽ được chuyển tới trung tâm mầm của nang hay tại vùng phụ thuộc tuyến ức. Như vậy, lách giữ vai trò rất quan trọng về sự đề kháng của cơ thể.

2. Cơ quan lympho thứ phát phân tán

Da

Da là hàng rào vật lý ngăn cách nội với ngoại môi và cũng là bề mặt dễ bị tấn công vật lý, hóa học hay sinh học. Da cũng là nơi thường được đưa vắc-xin vào cơ thể và là nơi biểu hiện đáp ứng miễn dịch bệnh lý dễ thấy nhất. Ở biểu bì sâu của da có đầy đủ các loại tế bào tham gia vào đáp ứng miễn dịch đặc hiệu và không đặc hiệu (hình 2.9).

Phản ứng miễn dịch ở da xảy ra theo ba thời kỳ: (1) trong pha đầu của viêm, do hóa ứng động bạch cầu sẽ di chuyển ra ngoài lòng mạch và tiến tới biểu bì; (2) trong pha thứ hai, sẽ có sự tương tác giữa các tế bào trình diện kháng nguyên với các tế bào lympho T di chuyển tới do tác dụng của cytokin. Chúng sẽ phân chuyển và hình thành một ổ thâm nhiễm mà còn được gọi là mô hạt, các tế bào Langerhans và tế bào lympho T độc CD8+ vây quanh thành vòng, rải rác là tế bào T CD4+ và tế bào dạng biểu bì; (3) pha tái tuần hoàn xảy ra khi quá trình viêm đã giải quyết các yếu tố xâm nhập và có sự tự điều chỉnh để trở về bình thường.



Tủy trắng A với các ống lympho quanh động mạch (1), những nang lympho (2) và vùng ngoài rìa (3). Lõi đỏ B có các dây Billroth (4) và các xoang tĩnh mạch (5).

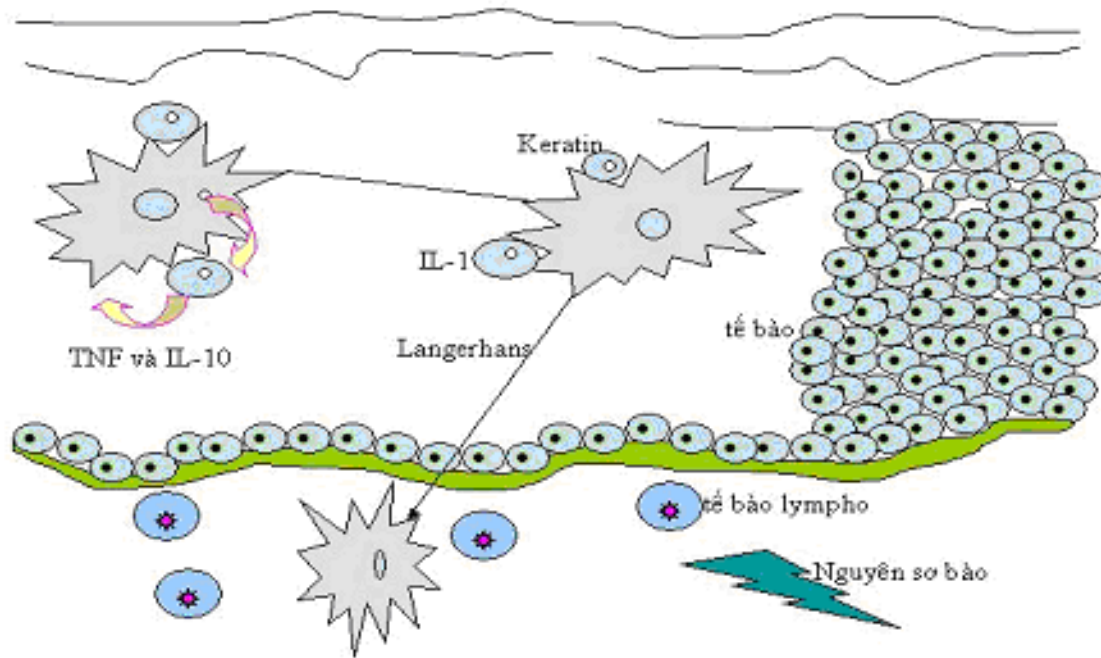
Sở phân bố máu đi từ động mạch lách (6) chia ra thành động mạch nhỏ (7), rồi thành động mạch trung tâm (8) tiếp xúc với tủy trắng, cuối cùng thành động mạch hình chổi (9). Máu trở về qua mạng xoang tĩnh mạch tới tĩnh mạch lách

Hình A.8. Cấu trúc của lách

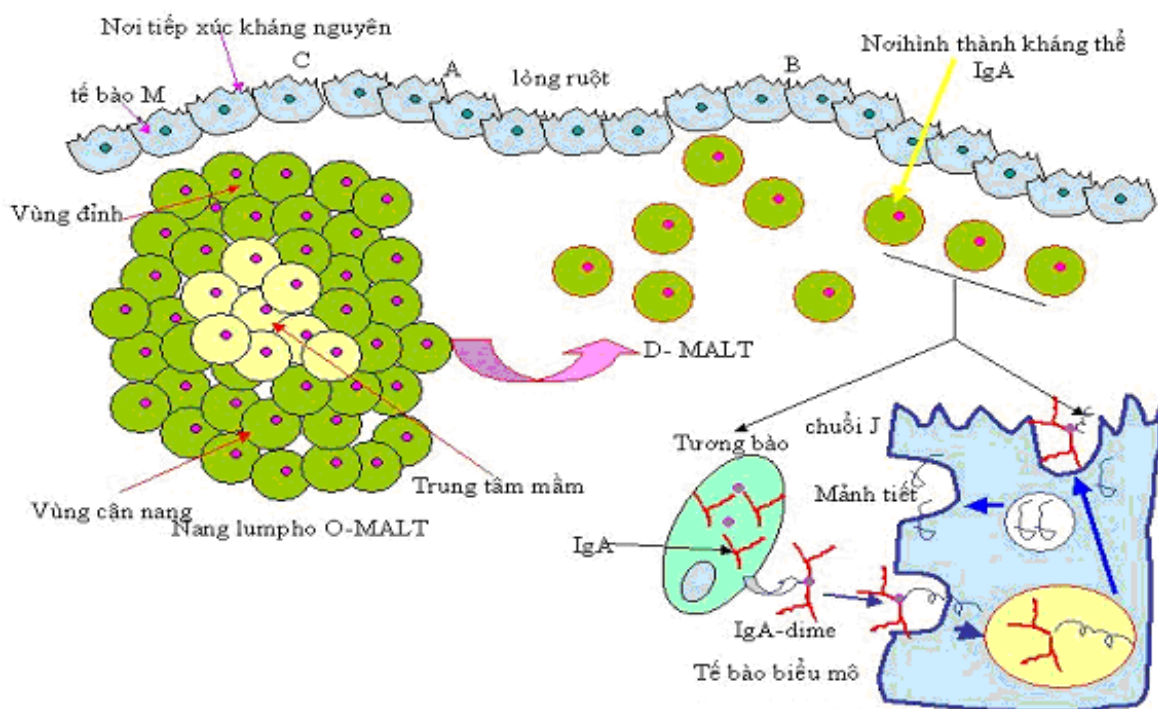
Niêm mạc

Với diện tích rất rộng và cấu trúc tương đối mảnh giúp cho niêm mạc trở thành nơi tiếp xúc với nhiều loại kháng nguyên nhất mà chủ yếu là qua đường tiêu hóa và hô hấp. Hệ thống miễn dịch dưới niêm mạc cũng có một tổ chức rất đặc biệt (hình 2.10) càng ngày càng được chú ý hơn. Mô lympho niêm mạc dưới da có thể chia ra làm hai loại:

Mô lympho niêm mạc có tổ chức (organised mucosa associate lymphoid tissue; O-MALT) tạo thành nang tế bào dưới niêm mạc và thấy nhiều ở ruột, phế quản, hốc mũi, miệng và đường sinh dục. Thường thì chúng tập trung riêng lẻ thành từng đám nhưng đôi khi cũng tập trung thành khối như hạch amidan, mảng peyer... Cấu trúc của mỗi nang là một trung tâm mầm sáng gồm chủ yếu các tế bào tua có khả năng trình diện kháng nguyên và tế bào lympho B có IgA, nhưng không thấy tương bào tiết kháng thể ấy. Tế bào lympho T CD4+ và đại thực bào nằm rải rác bên trong và xung quanh nhưng nhiều nhất là bên trên đỉnh về phía giáp với niêm mạc. Ở chỗ này một số tế bào biểu mô cũng thay đổi hình thái như không có nhu mao để có thể làm nhiệm vụ vận chuyển kháng nguyên đi qua nên được gọi là tế bào M (membranous cell).



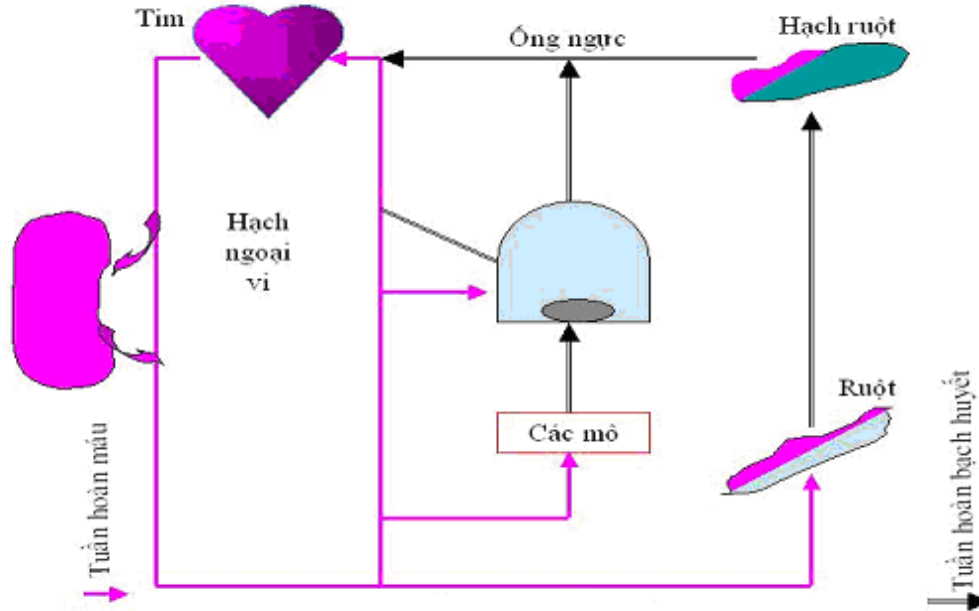
Hình A.9. Cấu trúc các tổ chức miễn dịch dưới da



Hình A.10. Cấu trúc các tổ chức miễn dịch ở niêm mạc

Mô lympho niêm mạc rải rác (diffuse mucosa associate lymphoid tissue; D-MALT) gồm các tế bào lympho B, tế bào lympho T và tương bào tiết IgA nằm rải rác trong gian bào của toàn bộ niêm mạc. Đây là nơi tiết ra IgA mạnh nhất và nhiều nhất.

IV. Sự tái tuần hoàn tế bào lympho



Hình A.11. Tái tuần hoàn tế bào lympho

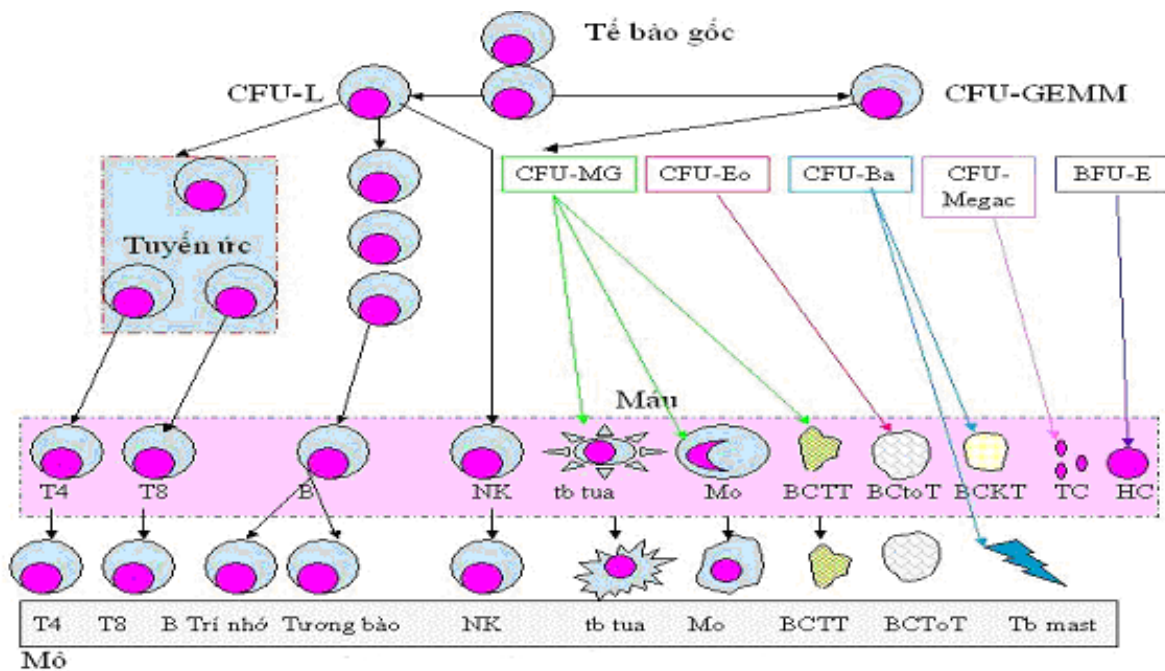
Tế bào lympho sau khi rời khỏi cơ quan gốc đến các cơ quan thứ phát, ở đây một thời gian rồi đi vào tuần hoàn máu và bạch huyết tạo ra một sự tái tuần hoàn liên tục (hình 2.11). Đường kháng nguyên xâm nhập vào hệ thống lympho quyết định nơi xảy ra đáp ứng miễn dịch. Từ dưới da, niêm mạc hay dịch gian bào cùng tế bào theo đường mạch bạch huyết tới vỏ của hạch, vào trong hạch và ở lại đó nhờ những phân tử bám dính. Một số tế bào lympho theo đường máu khi đến tĩnh mạch sau mao mạch, ở chỗ này thì vùng cận vỏ có tế bào nội mô cao (HEV-high endothelium veinule) thì nằm lại để di chuyển vào lỗ hạch, rồi sau đó cũng đi ra bằng đường mạch bạch huyết. Cuối cùng, chúng vào ống ngực và đổ vào tuần hoàn máu chung. Như vậy, các tế bào miễn dịch ngoài đường máu còn có thêm đường bạch huyết.

Sự tái tuần hoàn thường xuyên ấy cho phép phân tán trong toàn cơ thể những tế bào lympho đã được huấn luyện một cách thích hợp để nhận biết các kháng nguyên khác nhau, được miễn cảm, ghi nhớ lại diện mạo của kháng nguyên và sẵn sàng được hoạt hóa sinh ra kháng thể khác nhau đặc hiệu chống lại các kháng nguyên tương ứng.

B. Các tế bào tham gia vào hệ thống miễn dịch

Hệ thống miễn dịch bao gồm nhiều cơ quan và nhiều loại tế bào phân bố khắp cơ thể, tác động qua lại với nhau theo nhiều cách để đi đến đáp ứng miễn dịch cuối cùng. Tế bào chủ chốt tham gia vào đáp ứng miễn dịch là tế bào lympho, cho nên bất kì tổ chức nào chứa tế

bào lympho và tham gia vào đáp ứng miễn dịch cũng đều được xem như tổ chức lympho. Các tế bào lympho có nguồn gốc từ các tế bào nguồn chưa biệt hoá trong tủy xương, còn gọi là tế bào gốc. Từ tế bào gốc, nhiều dòng tế bào có chức năng khác nhau được biệt hóa rồi sau đó trải qua quá trình thành thực (chín) khi kết hợp với các tổ chức chuyên hóa (hình 2.12). Hai loại tế bào chính của hệ thống miễn dịch là tế bào lympho và đại thực bào.



Hình A.12. Nguồn gốc tế bào miễn dịch

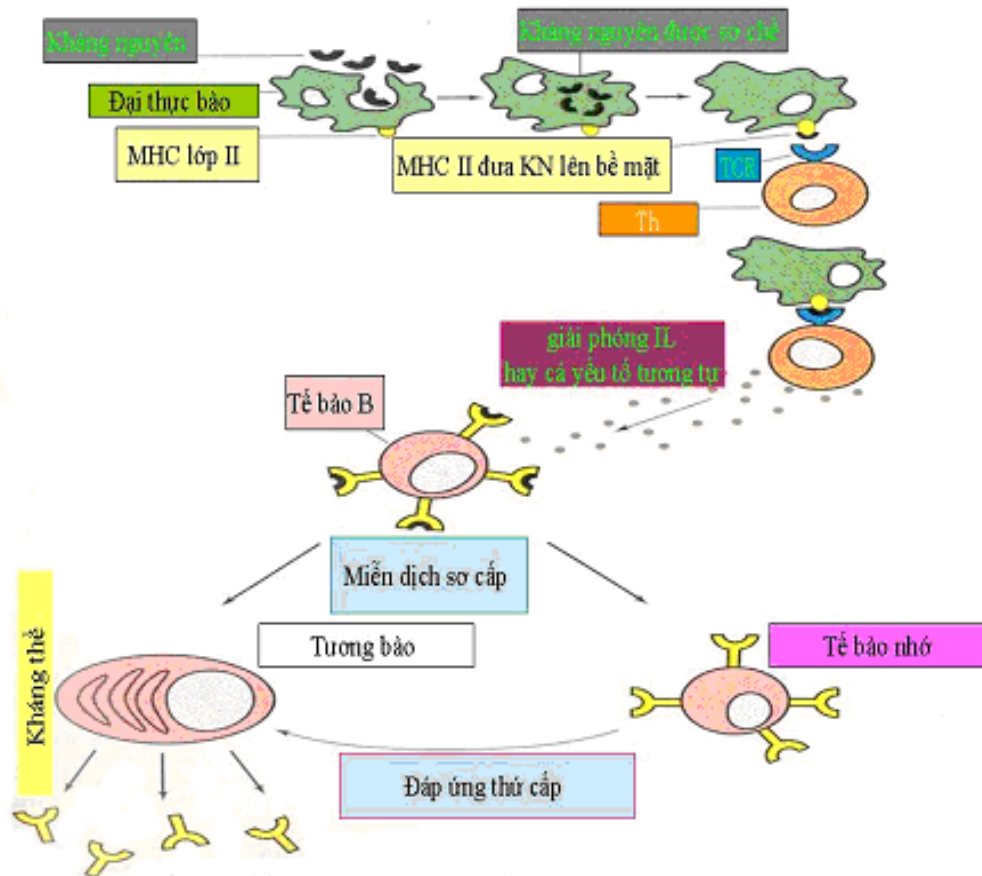
V. Những tế bào của đáp ứng miễn dịch không đặc hiệu

1. Đại thực bào

Đại thực bào (macrophage) là các tế bào có kích thước lớn có khả năng bắt giữ, nuốt và phá hủy kháng nguyên. Đại thực bào cũng hợp tác với các tế bào lympho để sản xuất kháng thể đặc hiệu. Đại thực bào có hai phân nhóm là các tế bào đơn nhân và các tế bào đa nhân có hạt (hay bạch huyết cầu đa nhân). Tế bào đa nhân có thể biệt hóa thành đại thực bào. Thuật ngữ đại thực bào chủ yếu dùng để mô tả các thực bào gắn cố định trên bề mặt tổ chức, còn thuật ngữ bạch cầu đơn nhân dùng để mô tả thực bào lưu động tự do. Đại thực bào có nhiều trong tổ chức lympho và lách, còn bạch cầu đơn nhân có nhiều trong máu và bạch huyết.

Khi một kháng nguyên xâm nhập vào biểu mô sẽ tiếp xúc với thực bào, chẳng hạn đại thực bào. Tế bào này sẽ bắt giữ, nuốt các tế bào có kích thước lớn như vi khuẩn và tiết ra enzym thủy phân như proteinase, nuclease, lipase và lysozim để tiêu hóa chúng (hình 2.13). Khi tế bào vi khuẩn bị phân hủy sẽ giải phóng ra các kháng nguyên chứa trong đại thực bào. Các kháng nguyên này cùng với các kháng nguyên do đại thực bào nuốt trực tiếp từ bên ngoài sẽ được dùng để bắt đầu giai đoạn sớm của quá trình tổng hợp kháng thể. Ở đây đại thực bào làm nhiệm vụ tế bào trình diện kháng nguyên (Antigen presenting cell-APC). Sở dĩ gọi như

vậy là vì chúng đẩy kháng nguyên lạ ra bề mặt tạo điều kiện cho kháng nguyên tiếp cận với tế bào B và tế bào T (hình 3.2). Sự nhận mặt kháng nguyên của hai loại tế bào này là bước khởi đầu của sự tạo thành kháng thể. Khác với tế bào B và tế bào T, đại thực bào và các thể đơn nhân không có khả năng phân biệt kháng nguyên, do đó không mang tính đặc hiệu. Chúng bắt giữ và nuốt bất cứ vật lạ nào mà chúng gặp bất kể có tính kháng nguyên hay không. Tuy nhiên, trong thực tế vì nhiều cao phân tử là kháng nguyên và các tế bào lạ có chứa nhiều kháng nguyên, cho nên phần lớn các hạt lạ do các tế bào này nuốt cũng là kháng nguyên.



Hình A.13. Vai trò của đại thực bào trong đáp ứng miễn dịch

Động tác trình diện kháng nguyên của đại thực bào đóng vai trò rất quan trọng trong sản xuất kháng thể, bởi vì một số lớn kháng nguyên chỉ có thể kích thích các tế bào lympho thông qua đại thực bào.

2. Bạch cầu trung tính

Bạch cầu trung tính (Neutrophil) là loại bạch cầu có nhiều nhất trong máu ngoại vi, được sản sinh từ tế bào mẹ trong tủy xương dưới sự kích thích của các yếu tố như GCSF (granulocyte colony stimulating factor), GM-CSF (granulocyte macrophage colony stimulating factor), IL-3 (interleukin- 3). Chúng chỉ tồn tại trong máu khoảng 10 giờ rồi đi ra khỏi lòng mạch tới

mô. Ước tính có khoảng 100 tỉ tế bào này luân chuyển trong hệ tuần hoàn và nó sẽ tăng 10 lần khi có hiện tượng viêm cấp tính.

Bạch cầu trung tính khi còn non thì chứa men myeloperoxydase, hydroxylase nhưng khi già thì chứa chủ yếu là lysozym và lactoferrin. Khả năng tái sinh các hạt này sau khi sử dụng thì hầu như không có bởi vì các bạch cầu trung tính trưởng thành thiếu mạng lưới nội nguyên sinh thô. Trên bề mặt của chúng cũng có các thụ thể với các chất ứng hóa động làm chúng có thể di chuyển. Đồng thời nó cũng có các thụ thể với Fc của Ig, C3b của bổ thể, các yếu tố sinh trưởng... Trong phản ứng viêm thì các bạch cầu trung tính sẽ chuyển ra sát thành mạch và chui ra khỏi lòng mạch tới ổ viêm mà ở đó chúng sẽ giữ vai trò chủ chốt. Tuy nhiên, bạch cầu trung tính chỉ có lớp MHC I nên không có nhiệm vụ trình diện kháng nguyên.

Do cũng có khả năng ăn nhưng là những tế bào nhỏ nên bạch cầu trung tính còn được gọi là tiểu thực bào (microphage) nhằm để phân biệt với đại thực bào. Tất cả những thay đổi về hình thái, chức năng của chúng là nhằm tiêu diệt những chất đích.

3. Bạch cầu ái toan

Đời sống của bạch cầu ái toan (Eosinophil) tương đối ngắn, trong hệ tuần hoàn chúng chỉ chiếm khoảng 1-3 % số bạch cầu. Bạch cầu ái toan có nhiều trong mô hơn là trong máu, và cũng có nguồn gốc từ tủy xương. Bạch cầu ái toan chứa protein chủ yếu có tính chất kiềm (major basic protein-MBP) và protein tải điện âm (major cationic protein-MCP) làm cho chúng bắt màu axit như eosin. Các protein chủ yếu có tác dụng độc tế bào, nhất là đối với các ký sinh trùng. Tuy nhiên, ký sinh trùng có kích thước lớn nên các bạch cầu ái toan đầu tiên sẽ tiếp cận với chúng và sau đó sẽ tiết ra các chất độc tại chỗ tiếp xúc.

4. Bạch cầu ái kiềm và tế bào mast

Từ tế bào gốc là CFU-GEMM (Colony forming Unit granulocyte erythrocyte macrophage monocyte) của tủy xương nhưng do tác dụng của IL-4 nên bạch cầu ái kiềm (Basophil) và tế bào mast có những hạt bắt màu kiềm xanh thẫm chứa histamin, heparin, arylsulfat, β -glucuronidase nên có chức năng giống nhau. Tuy nhiên, bạch cầu ái kiềm chủ yếu có trong máu còn tế bào mast thì có trong mô. Đặc trưng của cả hai loại tế bào này là đều có thụ thể mạnh với IgE, cho nên dù kháng thể này rất ít ở dạng hòa tan trong máu nhưng lại thường xuyên có mặt trên tế bào kiềm. Khi kháng thể này kết hợp đặc hiệu với kháng nguyên thì sẽ tạo nên một tín hiệu đi vào trong tế bào làm cho các hạt ái kiềm bị đẩy ra giáp màng, vỡ và phóng thích ra ngoài các chất trung gian có sẵn hay mới được hình thành. Đây là hiện tượng mất hạt mà cơ chế và vai trò của chúng rất quan trọng. Các chất trung gian như lipid là sản phẩm của sự chuyển hóa của axit arachidonic và PAF acete (platelet activating factor), chúng rất quan trọng trong tương tác tế bào trong đáp ứng miễn dịch tự nhiên hay miễn dịch thu được. Axit arachidonic được giải phóng từ phospholipit nhờ phospholipase A2 hay C, chuyển hóa thành prostaglanin nhờ enzyme 5-cyclooxygenase và thành leucotrien nhờ 5-lipoxygenase là những chất gây vận mạch rất mạnh trong viêm.

5. Tiểu cầu

Tiểu cầu (platelet, thrombocyte) bắt nguồn từ các mẫu tiểu cầu lớn trong tủy xương. Ngoài vai trò chủ chốt của chúng trong quá trình đông máu thì tiểu cầu còn tham gia vào trong đáp

những phân tử bám dính giúp cho tiểu cầu vón tụ, các bạch cầu trong máu có thể tập trung ra phía ngoài và thoát mạch. Khi được hoạt hóa thì xuất hiện phân tử MHC lớp II mới trên màng mặt, giúp chúng trở thành tế bào có khả năng trình diện kháng nguyên. Sự tăng cường chuyển hóa lipid màng tại nội mô sẽ sản sinh ra các prostaglandin và leucotrien tham gia vào quá trình thay đổi vận mạch tại chỗ. Bản thân nội mô còn tiết ra IL-1, GM-CSF là những chất quan trọng trong quá trình điều biến tăng sinh tế bào mà chủ yếu là bạch cầu trong viêm.

8. Hồng cầu

Hồng cầu (Red blood cell, Erythrocyte) ở máu ngoại vi là tế bào đã mất nhân mà nhiệm vụ cơ bản là vận chuyển oxy nhưng hiện nay người ta thấy chúng có thụ thể CR1 với bề mặt giúp vận chuyển phức hợp miễn dịch tới nơi đào thải.

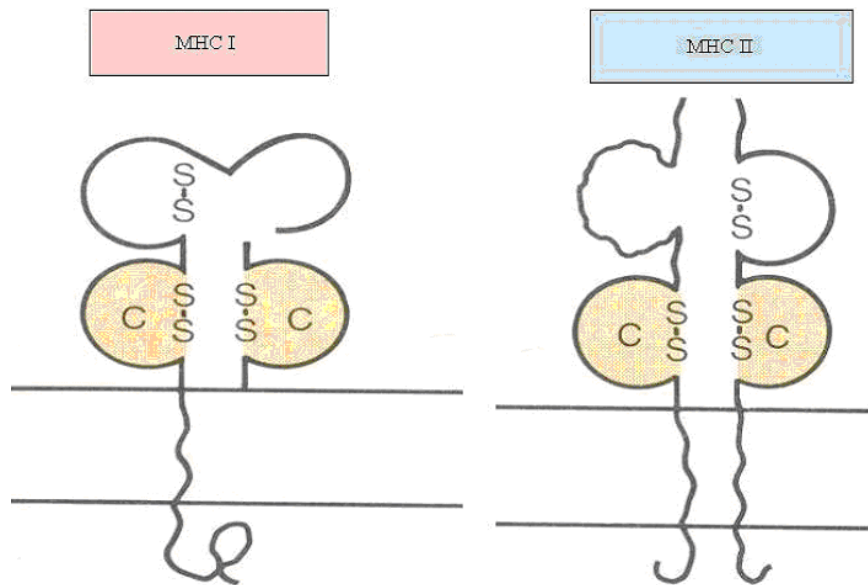
VI. Những tế bào của đáp ứng miễn dịch đặc hiệu

1. Tế bào trình diện kháng nguyên

Tế bào trình diện kháng nguyên (antigen presenting cells-APC) là những tế bào có khả năng xử lý phân tử kháng nguyên to thành những peptit nhỏ rồi đưa chúng ra ngoài màng tế bào để trình diện chúng với tế bào lympho tương ứng. Chúng gồm các tế bào bình thường có biểu lộ phân tử MHC lớp II trên màng ngoài và được thấy nhiều nhất là ở các tế bào lympho B, các tế bào của hệ thống đại thực bào hay các tế bào mono (Monocyte). Ngoài ra, một số tế bào có tua và tế bào khi bị hoạt hóa mạnh như tế bào nội mô, tế bào lympho T cũng có khả năng trình diện kháng nguyên.

2. Phân tử MHC

Phân tử MHC (major histocompatibility complex) là một phức hợp hòa hợp mô (hình 2.15), có vai trò quan trọng trong quá trình trình diện kháng nguyên và đáp ứng miễn dịch. Cụm gen MHC là một vùng chứa rất nhiều gen đa hình. Sản phẩm của các vùng gen này gọi là kháng nguyên MHC biểu lộ trên bề mặt nhiều loại tế bào trong cơ thể. Vai trò của cụm gen MHC đã được chứng minh một cách đầy đủ khi các tế bào T đặc hiệu không nhận ra các kháng nguyên hòa tan mà chỉ nhận biết các kháng nguyên đã được xử lý và trình diện trên màng APC kết hợp với các phân tử MHC.



Hình A.15. Cấu trúc phân tử MHC

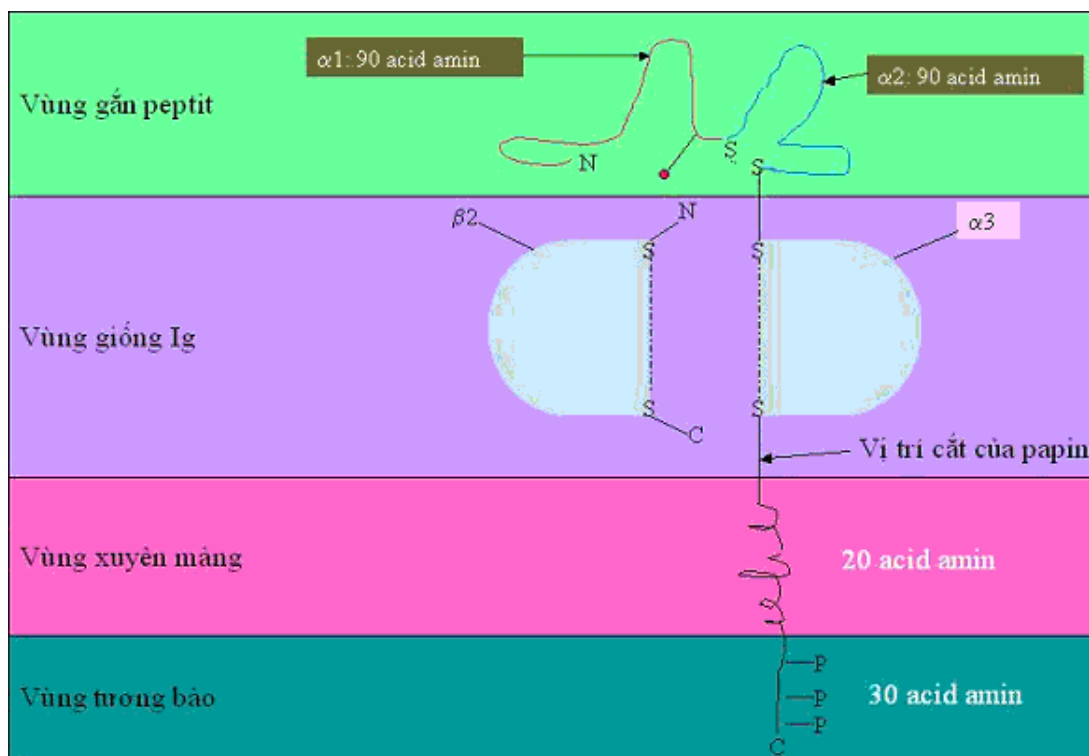
a. Phân tử MHC lớp I: là các glycoprotein, gồm hai loại chuỗi đa peptit. Chuỗi α (chuỗi nặng) do gen MHC mã hóa, có đầu tận cùng là amin ngoại bào, một đoạn ngắn kỵ nước xuyên màng và nhóm tận cùng là cacboxyl khoảng 30 axit amin nằm trong tương bào. Chuỗi β không do gen MHC mã hóa, gần không đồng hóa trị với phần ngoại bào của chuỗi mà không gắn trực tiếp với tế bào. Trên phân tử MHC I được chia thành bốn vùng có cấu trúc riêng biệt như trình bày ở hình 2.16

Vùng gắn peptit: chức năng chính của các phân tử MHC là gắn các đoạn peptit lạ để tế bào T nhận biết và được hoạt hóa nhằm tiêu diệt các vi khuẩn khác nhau trong môi trường sống.

Vùng giống Ig: được bảo toàn cao giữa các phân tử MHC lớp I giống như vùng hằng định của Ig. Các tế bào T CD8⁺ chỉ hoạt động được khi gắn với phần hằng định của phân tử MHC lớp I. Vì thế, các tế bào T CD8⁺ bị giới hạn hoạt động trong các phân tử MHC lớp I.

Vùng xuyên màng: là một chuỗi đa peptit với vùng kỵ nước khoảng 25 axit amin và đi qua vùng kỵ nước của màng huyết tương (plasma). Màng plasma có hai lớp lipid để neo các phân tử MHC vào trong màng tế bào.

Vùng tương bào: không được bảo tồn tốt trong các phân tử MHC lớp I khác nhau. Tham gia vào quá trình điều hòa tương tác giữa các phân tử MHC I với các protein màng khác hay với các protein khung tế bào. Đồng thời, đóng vai trò quan trọng trong việc lưu hành của các phân tử nội bào.



Hình A.16. Phân tử MHC lớp I

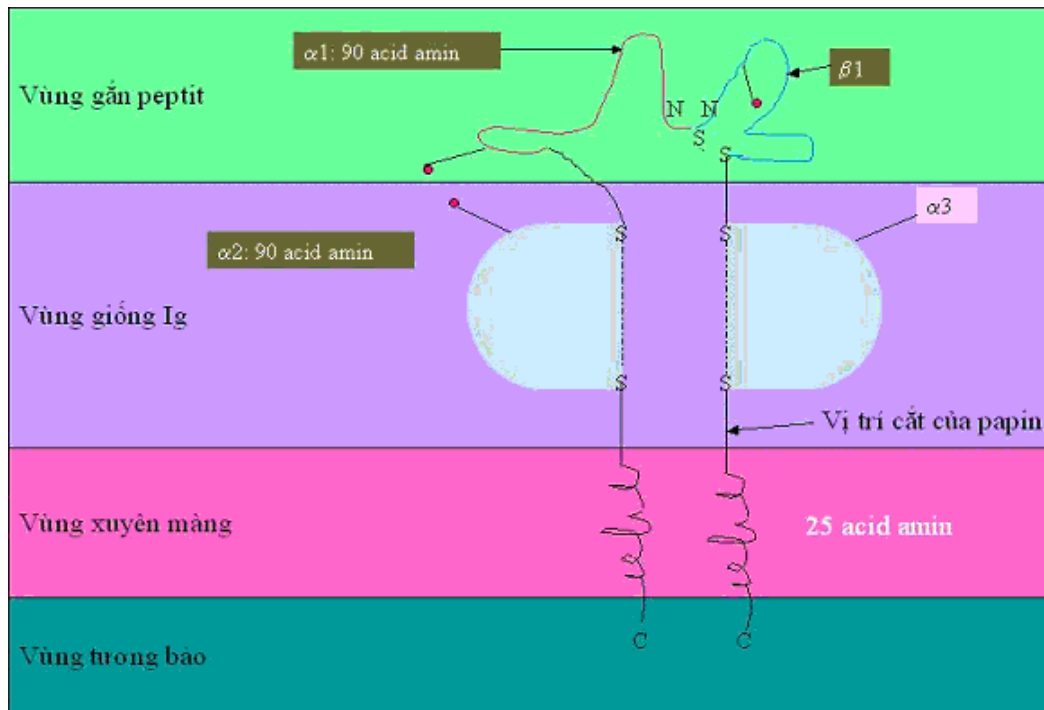
b. Phân tử MHC lớp II: cũng có hai chuỗi đa peptit α và β kết hợp không đồng hóa trị với nhau, chuỗi α lớn hơn chuỗi β do có glycosyl hóa nhiều hơn (hình 2.17). Cả hai đều có đầu tận amin ngoại bào, đầu tận cacboxyl nội bào và đều do gen MHC mã hóa. Các phân tử MHC lớp II cũng được chia làm bốn vùng như phân tử MHC lớp I.

Vùng gắn peptit: các đoạn ngoại bào của cả hai chuỗi α và β đều được chia thành hai đoạn nhỏ khoảng 90 axit amin. Hai chuỗi $\alpha 1$ và $\beta 1$ tạo thành nền lá β có 8 lớp để đỡ hai cánh $\alpha 1$ và $\beta 1$ tạo nên rãnh gắn peptit. Tính đa hình của gen MHC II nằm trong cấu trúc $\alpha 1$ và $\beta 1$ của rãnh peptit, tạo các bề mặt có cấu trúc hóa học đặc hiệu của rãnh. Từ đó, quyết định tính đặc hiệu và ái tính gắn peptit của rãnh.

Vùng giống Ig: cả hai đoạn $\alpha 2$ và $\beta 2$ của lớp II đều có cầu nối disulphua bên trong chuỗi, các phân tử này cũng thuộc gia đình họ Ig. Chuỗi $\alpha 2$ và $\beta 2$ về cơ bản thì không đa hình nhưng khác biệt nhau trong các cụm gen. Các phân tử T CD4⁺ gắn vào vùng không đa hình này, do đó chỉ đáp ứng miễn dịch giới hạn trong phân tử MHC lớp II. Các tương tác này rất mạnh và chỉ bị phá vỡ trong các điều kiện phân tử bị biến tính.

Các vùng xuyên màng và vùng trong tương bào: vùng xuyên màng của $\alpha 2$ và $\beta 2$ có 25 axit amin kỵ nước. Tách mạch bằng papain có thể tách đoạn ngoại bào với vùng xuyên màng mà không bị rối loạn cấu trúc. Vùng xuyên màng của cả hai chuỗi này đều tận cùng bằng các axit amin kiềm, tiếp theo là một cái đuôi ái nước ngắn trong bào tương, tạo thành đầu tận cacboxyl của chuỗi đa peptit. Chúng ta còn biết rất ít về vùng nội bào tương của các phân tử

MHC lớp II. Các phân tử này có thể có vai trò trong dẫn truyền tín hiệu và vùng nội bào có thể có vai trò chuyển thông tin màng.



Hình A.17. Phân tử MHC lớp II

3. Tế bào mono và đại thực bào

Các tế bào này có khả năng đưa các kháng nguyên từ ngoài vào trong hốc thực bào (phagosome). Một mặt sự hợp nhất phagosome và lysosome thành phagolysosome, cho phép quá trình thoái biến kháng nguyên thành những peptit sinh miễn dịch. Mặt khác, ngay tại màng lưới nội nguyên sinh của chúng các phân tử MHC II được sản xuất và được đưa tới sáp nhập với màng của phagolysosome, từ đó sẽ lộ ra trên bề mặt các chuỗi α , β và mới có thể nhận peptit sinh miễn dịch. Phagolysosome di chuyển ra phía ngoài của tế bào và màng của phagolysosome sẽ hòa nhập với màng nguyên sinh chất ngoài tế bào, kết quả là peptit nằm trên phân tử MHC ra ngoài màng sẽ cùng tiếp xúc với TCR của tế bào lympho T. Đại thực bào được coi là những tế bào trình diện kháng nguyên chính, khi nghỉ thì có phân tử MHC II nhưng sau khi được hoạt hóa bởi $\text{INF-}\gamma$ từ tế bào T thì chúng mới xuất hiện nhiều và khi tiếp xúc với tế bào lympho T hỗ trợ thì nó sẽ tiết ra IL-1, IL-6 và $\text{TNF}\alpha$ (tumor necrosis factor). Ngoài ra, trên bề mặt đại thực bào còn có những phân tử bám dính hỗ trợ cho sự tương tác giữa đại thực bào và tế bào T.

4. Tế bào tua

Có mặt ở khắp các mô (trừ não và giác mạc) nhưng chủ yếu là trong da, hạch, lách và tuyến ức. Trên màng chúng đều có những phân tử MHC II. Sau khi nuốt kháng nguyên thì chúng

trở nên tròn trịa và di chuyển tới hạch gần nhất để vào trong vỏ, chuyển thành tế bào có chân xen kẽ. Chúng xử lý kháng nguyên thành các đa peptit khoảng 20 axit amin và trình kháng nguyên cho phân tử MHC II ở ngoài màng. Sự trình diện này tồn tại trong nhiều ngày. Đối tượng được trình diện là TCR của tế bào lympho T CD4

5. Tế bào lympho

Tế bào lympho (lymphocyte) phân tán khắp cơ thể trong hệ tuần hoàn máu và bạch huyết, cũng là một trong những tế bào có số lượng cao nhất của động vật có vú. Ở người lớn trung bình có 10^{12} tế bào lympho. Có hai loại tế bào lympho cần cho đáp ứng miễn dịch là tế bào lympho bào B (tế bào B) và tế bào lympho T (tế bào T). Tuy cả hai đều được biệt hóa từ tế bào nguồn nhưng quá trình chín của tế bào B được thực hiện trong tủy xương (Bonemarrow – nên kí hiệu là B). Ở gia cầm, tế bào B chín trong một cơ quan chức năng chuyên hóa, gọi là túi Bursa Fabricius (Bursa – nghĩa là túi, cũng bắt đầu bằng chữ B), là một tuyến ở ống tiêu hóa phía dưới. Tế bào T chín trong cơ quan chức năng là tuyến ức (Thymus, nên kí hiệu là T). Do tủy xương và tuyến ức có vai trò lớn trong sự phát triển ban đầu và chín của tế bào B và tế bào T, nên chúng được gọi là các cơ quan lympho trung tâm.

Sau khi chín, tế bào T và B phân tán khắp cơ thể thông qua hệ tuần hoàn máu và bạch huyết, rồi đến cư trú tại hạch lympho hoặc lách. Các cơ quan này được gọi là cơ quan lympho ngoại vi. Chúng nằm trong hệ tuần hoàn máu và bạch huyết, hoạt động như một bộ máy lọc. Đại thực bào làm nhiệm vụ bẫy kháng nguyên khi chúng đi qua các cơ quan này, cũng ở đây các tế bào B và tế bào T thực hiện đáp ứng miễn dịch. Tế bào B thực hiện tương tác với kháng nguyên và tạo kháng thể. Tế bào B khác với tế bào T ở chỗ trên bề mặt của nó có chứa kháng thể. Kháng thể bề mặt này sẽ dùng để sao ra các kháng thể mà tế bào B sẽ sinh ra trong quá trình phát triển sau này. Trên bề mặt tất cả tế bào T đều có thụ thể đặc hiệu với kháng nguyên nên tế bào T có khả năng tương tác đặc hiệu với kháng nguyên.

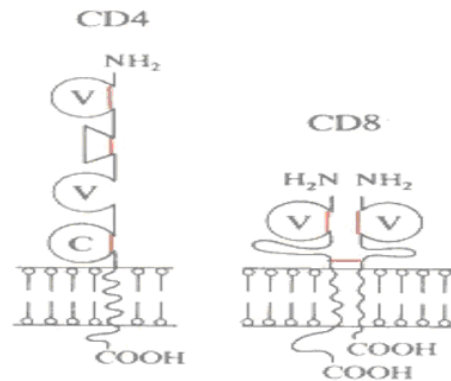
Bảng A.1. Một số đặc điểm so sánh giữa tế bào B và tế bào T

Tế bào T	Tế bào B
Nguồn gốc: Tủy xương	Nguồn gốc: Tủy xương
Nơi chín: Tuyến ức	Nơi chín: Tủy xương
Thời gian sống: Vài tháng đến vài năm	Thời gian sống: Vài ngày đến vài tuần
Lưu động	Không Lưu động
Có thụ thể tế bào T	Có thụ thể với bộ thể
Tính đặc hiệu với kháng nguyên hẹp	Tính đặc hiệu với kháng nguyên hẹp
Khi có kháng nguyên kích thích sẽ tiến hành tăng sinh	Khi có kháng nguyên kích thích sẽ tiến hành tăng sinh tạo plasma và tế bào trí nhớ
Hỗ trợ tế bào B sản xuất kháng thể	Sản sinh ra kháng thể

Tế bào lympho T

Quần thể tế bào T lại được biệt hóa thành các tiểu quần thể có chức năng khác nhau gọi là các quần thể tế bào T phân lớp. Có hai quần thể phân lớp chính của tế bào T phân biệt với nhau bởi sự có mặt của các protein thụ thể CD_4 và CD_8 (hình 2.18).

- Quần thể tế bào T CD_4 lại được biệt hóa thành hai phân lớp nữa có chức năng khác nhau. Một loại gọi là tế bào T hỗ trợ, kí hiệu là T_H (T – helper) có nhiệm vụ kích thích tế bào B sản xuất nhiều kháng thể. Một loại là tế bào T quá mẫn muộn, kí hiệu là T_{DTH} (Delayed type hypersensitivity). Tế bào T_{DTH} tham gia vào các phản ứng trung gian tế bào T, nhưng không tương tác với tế bào B mà chịu trách nhiệm hoạt hóa các tế bào không đặc hiệu, chẳng hạn như đại thực bào.
- Quần thể tế bào T CD_8 cũng lại biệt hóa ít nhất ra làm hai phân lớp. Một loại là tế bào T độc, kí hiệu là T_C (T- cytotoxic) làm nhiệm vụ tương tác và phá hủy trực tiếp các tế bào có kháng nguyên trên bề mặt. Có một loại tế bào T ức chế, kí hiệu là T_s (T- suppressor) làm nhiệm vụ điều hòa đáp ứng miễn dịch, ức chế tác động của các tế bào miễn dịch như tế bào B.



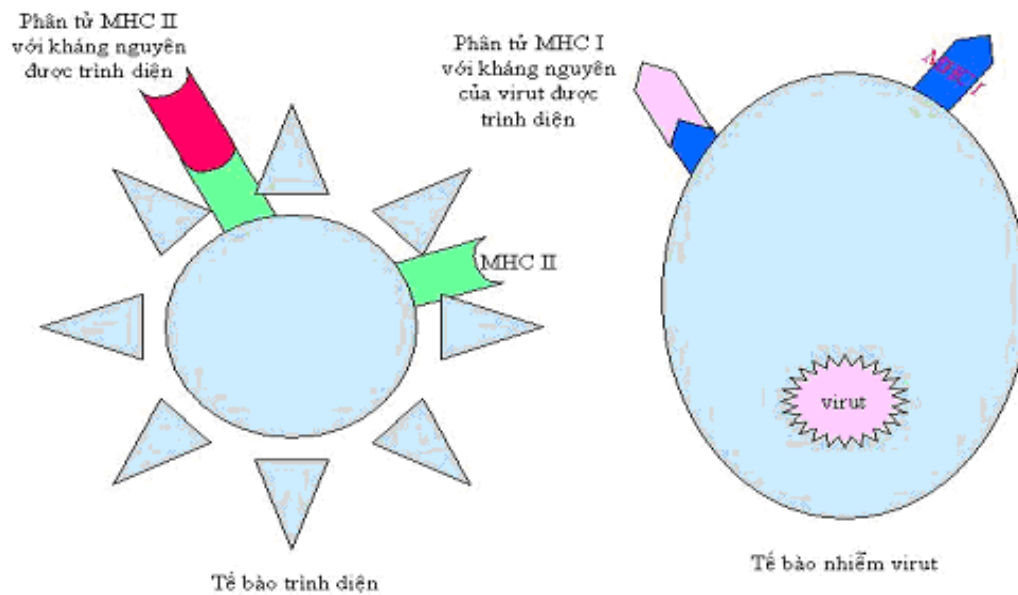
Hình A.18. Phân tử CD_4 và CD_8

Tế bào T với nhiều phân nhóm nên thực hiện được các chức năng cơ bản và toàn diện nhất của đáp ứng miễn dịch là: *nhận biết kháng nguyên* (T_H và T_C), *điều hòa và kiểm soát mức độ đáp ứng miễn dịch* (T_H và T_s), *loại trừ kháng nguyên* (T_C và T_{DTH}).

Chức năng nhận biết kháng nguyên:

Khả năng nhận biết kháng nguyên của tế bào T là cho toàn hệ miễn dịch, trong khi đó thì tế bào B chỉ nhận biết kháng nguyên cho riêng miễn dịch thể dịch. Khi kháng nguyên ngoại lai xâm nhập vào cơ thể thì hầu hết đều bị đại thực bào bắt giữ, tiêu đi thành những mảnh peptit và trình diện lên mặt. Một loại phân tử đảm trách việc này là MHC lớp II do đại thực bào sinh ra. Tế bào đặc trách việc nhận biết kháng nguyên do MHC lớp II trình ra là T CD_4 hay tế bào hỗ trợ T_H . Phân tử CD_4 có thể gắn đặc hiệu với phân tử MHC lớp II nên T_H có điều kiện tiếp cận với mảnh kháng nguyên được trình diện. Khi kháng nguyên là nội sinh (một thành phần của tế bào cơ thể) cũng sẽ được tế bào lympho nhận ra. Ví dụ, axit nhân của vi-rút có thể cài cắm vào DNA của tế bào chủ, nhưng các kháng nguyên của vi-rút vẫn được trình diện lên bề mặt của tế bào. Thực hiện được việc này là nhờ tế bào chủ sản sinh được phân tử MHC lớp I. Có khả năng liên kết đặc hiệu với MHC lớp I chính là CD_8 của tế bào T,

đây là nhóm gây độc nên còn được gọi là tế bào Tc (cytotoxic). Sau khi nhận ra kháng nguyên nội sinh thì nó sẽ diệt tế bào đích bằng các độc tố (hình 2.19).



Hình A.19. Khả năng nhận biết kháng nguyên nội sinh và ngoại lai

Chức năng điều hòa và kiểm soát miễn dịch:

Th chi phối hoàn toàn các hoạt động hiệu ứng, tức là hoạt động của các tế bào miễn dịch kể cả chức năng loại trừ kháng nguyên, ví dụ sản xuất kháng thể của tế bào B, vai trò gây độc của tế bào Tc và vai trò gây viêm của tế bào T_{DTH} (hình 2.20).

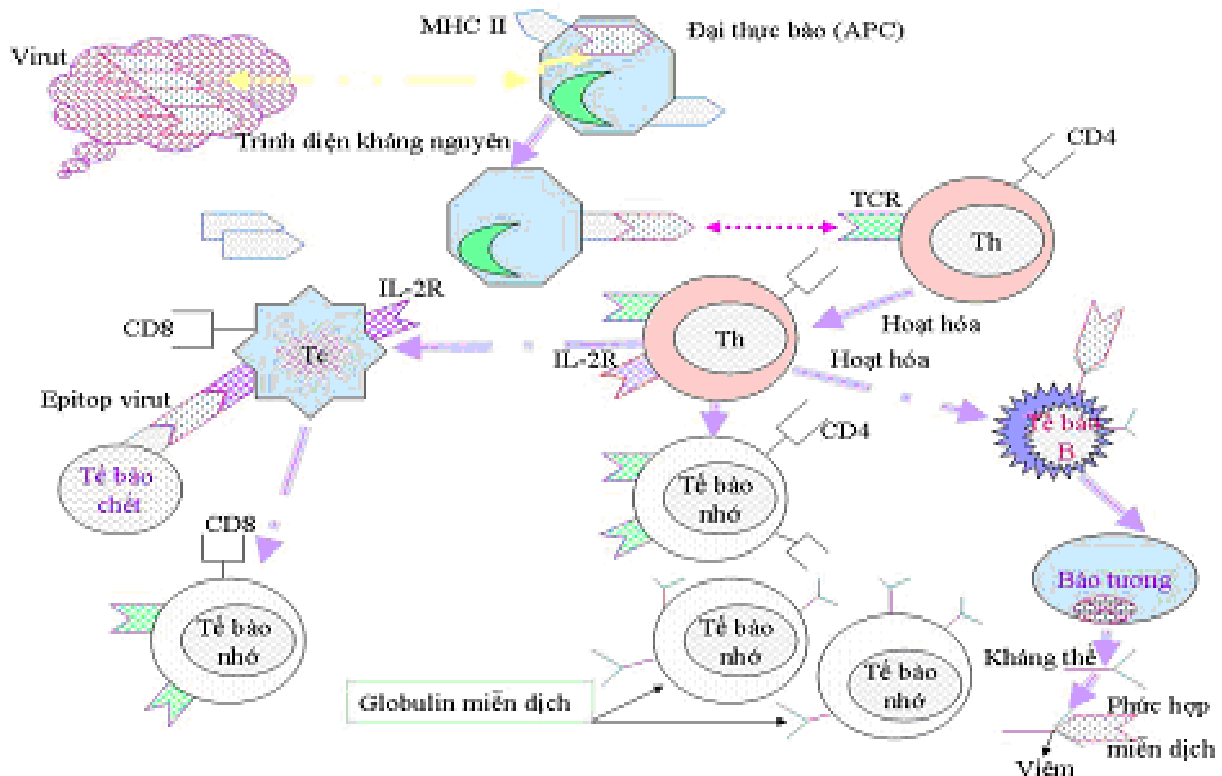
Th sẽ tiết ra các interleukin thích hợp nhằm giúp cho sự sản sinh đủ mức của các tế bào hiệu ứng, giúp cho chúng hoạt động đủ mức để loại trừ kháng nguyên. Sự hoạt động của Th sẽ được kiểm soát nhờ chính các sản phẩm và hiệu quả của tế bào hiệu ứng. Chức năng kiểm soát do tế bào Ts đảm trách, đây là phân nhóm của tế bào T có CD_8 . Như vậy Ts gần gũi với Tc có nhiệm vụ ức chế phản ứng loại trừ kháng nguyên khi phản ứng này tỏ ra quá mạnh. Ngoài ra, Ts còn kìm hãm suốt đời những quần thể Th tự phản ứng, tức là những Th có tiềm năng chống lại kháng nguyên của chính cơ thể chủ. Nhờ vậy mà cơ thể không mắc nhiều bệnh tự miễn.

Chức năng loại trừ kháng nguyên

Chức năng loại trừ kháng nguyên do hai phân nhóm tế bào T có CD_8 thực hiện là Tc và T_{DTH} .

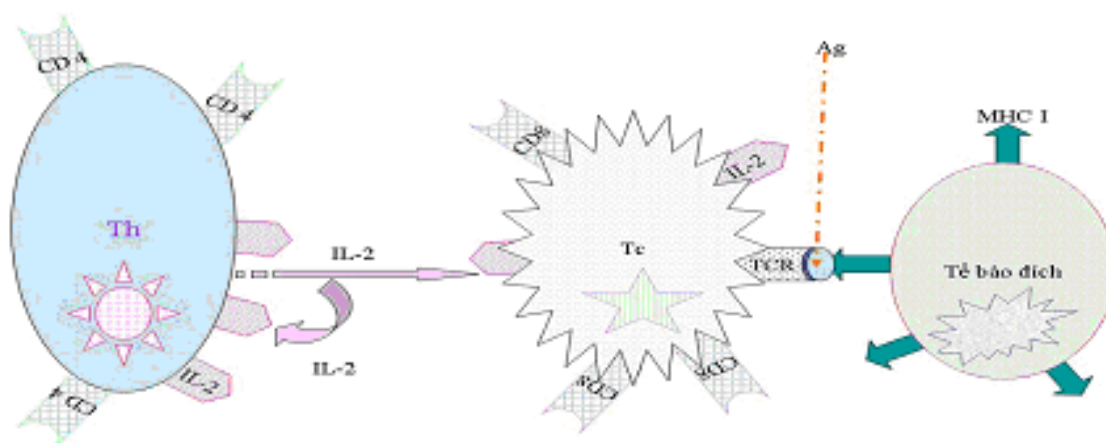
Đối tượng chủ yếu mà Tc chống lại là những tế bào bản thân có mang kháng nguyên nội sinh, tức là hình thành từ trong nội bào như tế bào nhiễm vi-rút, một số vi khuẩn, các đơn bào có khả năng xâm nhập nội bào hoặc các tế bào bị ung thư hóa. Đồng thời, Tc cũng chống cả các tế bào ghép dị gen. Tín hiệu để hoạt hóa Tc là việc tạo ra các cặp liên kết CD_8 -MHC I, TCR-kháng nguyên. Sau đó, IL-2 sẽ bám vào các thụ thể phù hợp trên bề mặt Tc. Sự hoạt hóa Tc được thể hiện thông qua việc tiết ra các độc tố như TNF (tumor necrosis

factor) gây hoại tử u. Các chất do Tc tiết ra sẽ gây hủy hoại tế bào xung quanh, đó là các tế bào trình diện kháng nguyên lên bề mặt mà Tc tiếp cận (hình 2.21). Khi có nhiều độc chất được tiết ra trong máu thì sẽ lan ra toàn thân nhất là trong ung thư nặng, sốt rét ác tính, cúm nặng và những bệnh có kháng nguyên nội sinh khác. Như vậy, Tc sẽ giúp cho cơ thể chống lại các bệnh như vi-rút, vi khuẩn, nấm và các đơn bào ký sinh nội bào. Ngoài ra, Tc còn có khả năng tạo ra tế bào trí nhớ giúp cơ thể miễn dịch được một số bệnh suốt đời như đậu mùa, sởi, thủy đậu, viêm gan...



Hình A.20. Vai trò của Th trong đáp ứng miễn dịch

T_{DTH} (delayed type hypersensitivity, quá mẫn muộn) là một nhánh của Th cũng có CD4. T_{DTH} sẽ tạo ra một ổ viêm nhằm lưu trữ kháng nguyên lại và sau đó loại chúng tại chỗ. T_{DTH} cũng có khả năng nhận biết các kháng nguyên ngoại lai và đây cũng là tín hiệu để T_{DTH} được hoạt hóa, sau đó là sự kích thích của IL-2. Việc hoạt hóa này được thể hiện ở chỗ T_{DTH} tập trung vào nơi có kháng nguyên và sinh sản rất cao tại nơi này rồi sản xuất ra các lymphokin riêng có tác dụng thu hút đại thực bào tới để trực tiếp loại thải kháng nguyên.



Hình A.21. Hoạt hoá Tc do kháng nguyên của vi-rút

Ngoài ra, miễn dịch tế bào còn chi phối cả sự sản sinh kháng thể dịch thể của lympho B. Tế bào B phụ thuộc vào miễn dịch dịch thể nhưng lại chịu sự chi phối của Th, đặc biệt là đối với các kháng nguyên phụ thuộc tuyến ức. Th sẽ tiết ra chất BCGF (B cell growth factor, yếu tố sinh sôi tế bào B, IL-4) giúp cho quần thể sinh ra kháng thể chống lại kháng nguyên mà Th đã nhận biết.

Tế bào lympho B

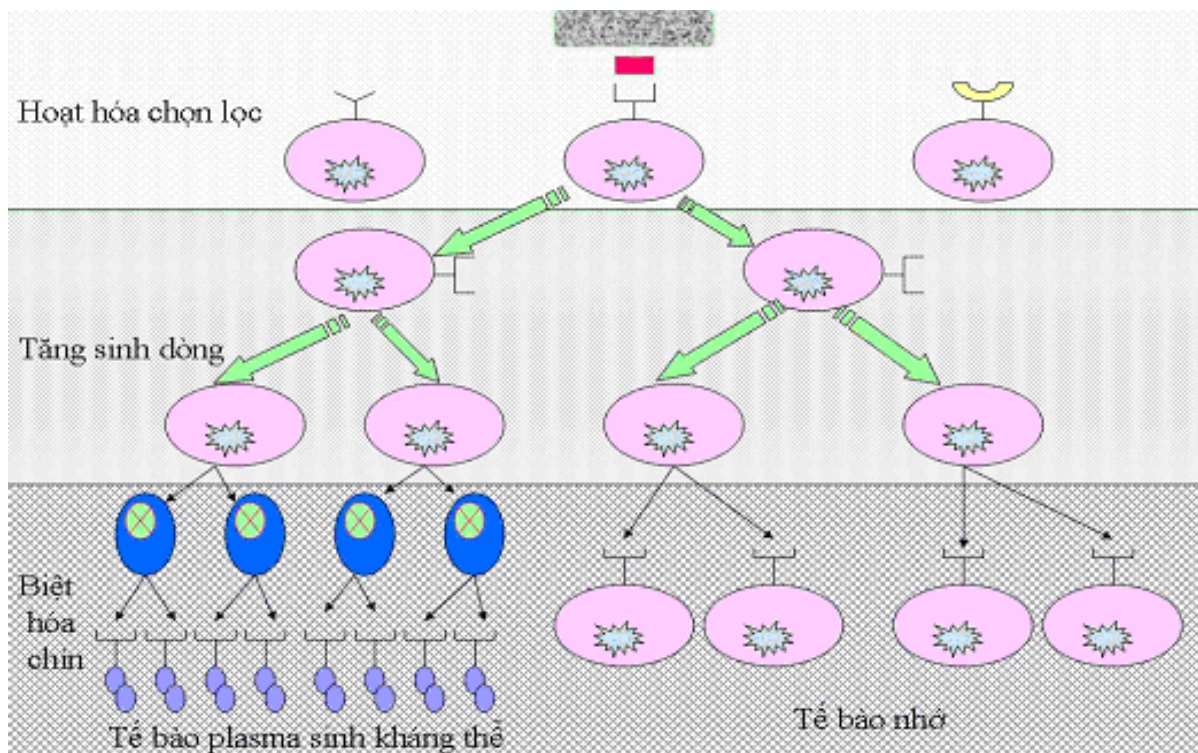
Khi có một yếu tố lạ xâm nhập vào cơ thể, hệ thống miễn dịch có nhiệm vụ nhận biết, sau đó có những hoạt động hiệu quả tiếp theo để loại trừ nó nhằm mục đích bảo vệ toàn vẹn cơ thể. Đáp ứng miễn dịch dịch thể và đáp ứng miễn dịch tế bào là hai phương thức mà hệ thống miễn dịch sử dụng. Đối với đáp ứng miễn dịch dịch thể, thì các kháng thể hòa tan, chính xác hơn là các globulin miễn dịch đảm đương trách nhiệm này. Các globulin miễn dịch do tế bào plasma mà được biệt hóa từ tế bào B sản xuất.

Tế bào lympho B là tế bào sinh kháng thể. Ở gia cầm hoạt động của tế bào B phụ thuộc vào túi Fabricius. Ở người, các tế bào tiền thân của tế bào B có trong gan bào thai và trong tủy xương của người trưởng thành. Sau đó vào máu ngoại vi rồi đến cư ngụ tại vùng vỏ ngoài của hạch ngoại vi, đầu tủy trắng của lách, tạo ra các nang lympho. Khi các kháng nguyên xâm nhập thì cơ thể diễn ra đáp ứng miễn dịch thông qua đại thực bào. Đại thực bào sẽ di chuyển tới các hạch lympho gần nhất và mang theo những kháng nguyên đã xử lý để truyền thông tin cho tế bào B, rồi cuối cùng sẽ biến chúng thành tế bào mẫn cảm. Sau đó, những tế bào này trở thành những nguyên tương bào và phát triển thành những quần thể tại những hạch địa phương và đi đến các hạch khác trong toàn cơ thể. Lúc này ở các hạch lympho thì các nang sẽ nở rộng ra và xuất hiện tâm điểm mầm. Một số nguyên tương bào sẽ chuyển thành tế bào plasma để sản xuất ra kháng thể. Mỗi dòng tế bào plasma chỉ sản xuất một kiểu globulin miễn dịch. Quá trình tăng sinh, biệt hóa tế bào lympho B để thành tế bào plasma sản sinh ra globulin miễn dịch đã được nghiên cứu nhiều và đã có những hiểu biết nhất định về nó.

Dưới kính hiển vi điện tử, các tế bào B có bề mặt xù xì, nổi gai đó là các globulin bề mặt (surface immunoglobuline-SIg). Quá trình tăng sinh, biệt hóa lympho bào B thành tế bào plasma diễn ra kèm theo sự thay đổi SIg thông qua hai bước (hình 2.22).

Giai đoạn I: các tế bào nguồn phát triển thành tiền tế bào B chưa có SIg mà chỉ có IgM trong bào tương, sau đó mới phát triển thành tế bào B chưa chín nhưng đã có SIg. Các tế bào này tiếp tục phát triển thành tế bào B chín với sự xuất hiện của SIg và SIgD. Mỗi tế bào B có khoảng $0,5-1,5.10^5$ phân tử SIg và chúng hoạt động như các thụ thể tiếp nhận kháng nguyên. Tuy nhiên, đến đây tế bào B vẫn chưa tiết được kháng thể. Ở giai đoạn này thì sự phát triển của tế bào B không cần sự kích thích của kháng nguyên và sự hỗ trợ của tế bào T.

Giai đoạn II: các tế bào B chín, tăng sinh và biệt hóa thành tế bào plasma. Trong giai đoạn này chúng cần có sự kích thích của kháng nguyên và sự hợp tác của tế bào Th. Các kháng nguyên sau khi vào cơ thể sẽ chọn lọc và gắn với các tế bào B chín có các SIg thích hợp, đây là một điều kiện cơ bản cho sự phát triển một đáp ứng miễn dịch dịch thể. Phức hợp kháng nguyên-SIg sẽ được chuyển vào trong tế bào. Lúc này các tế bào B sẽ trải qua quá trình tăng sinh, biệt hóa thành dòng tế bào plasma tiết ra kháng thể dịch thể, chúng có cấu trúc giống như SIg mà kháng nguyên đã chọn lọc nhưng có ái tính cao hơn khi kết hợp với kháng nguyên đặc hiệu. Trong khi một số biệt hóa thành tế bào plasma thì một số khác sẽ chuyển thành tế bào trí nhớ giúp cho quá trình đáp ứng miễn dịch lần sau với chính kháng nguyên đó nhanh và mạnh hơn.

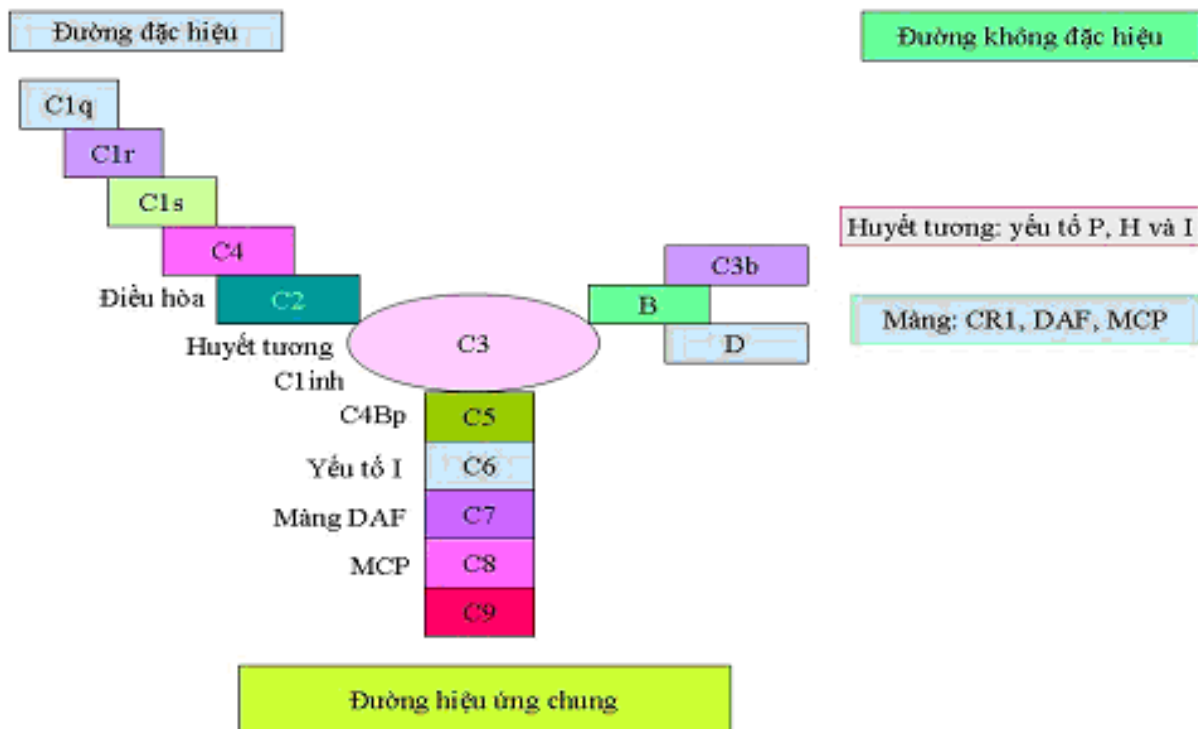


Hình A.22. Cơ sở tế bào của sự hình thành kháng thể

VII. Hệ thống bổ thể

Trong đáp ứng miễn dịch một số thành phần huyết tương tham gia vào sự tiêu diệt, đào thải yếu tố gây bệnh và kẻ cả phức hợp kháng nguyên-kháng thể. Những phân tử này tạo thành từng hệ thống hoạt động theo kiểu dây chuyền có sự tự điều hòa vừa khuếch đại vừa ức chế sao cho phản ứng đạt mức độ thích hợp với yêu cầu.

Bổ thể (Complement) thuộc về hệ thống miễn dịch bẩm sinh (không đặc hiệu). Bổ thể tham gia vào phản ứng viêm và sự đề kháng chống nhiễm khuẩn. Các chất gây hoạt hóa chiếm 5% protein huyết thanh mà trong đó thành phần C3 là nhiều nhất (hình 2.23). Bổ thể được hoạt hóa theo hai con đường chủ yếu là đường cổ điển (classical pathway) và con đường khác (alterne pathway). Sở dĩ như vậy là do con đường đầu tiên mặc dù là phát hiện trước nhưng về mặt tiến hóa thì nó có sau. Vì thế, xu hướng hiện nay lại chia theo cơ chế hoạt hóa của bổ thể mà có hai hình thức là đường đặc hiệu và đường không đặc hiệu. Cả hai con đường đều tụ về chung là C3 để đi vào một con đường hiệu ứng chung sử dụng đến các thành phần cuối cùng của bổ thể. Các protein gây hoạt hóa, ức chế hay điều hòa tham gia vào mỗi giai đoạn sẽ nằm ngay trong huyết tương hay trên bề mặt tế bào nguồn. Tuy nhiên, gần đây con đường thứ ba được đề cập là con đường lectin của thực vật và collectin ở động vật. Đó là những chất có khả năng hoạt hóa bổ thể từ C4 và C2 không qua C1 như đường đặc hiệu và cũng không đi qua C3 như đường không đặc hiệu



Hình A.23. Hệ thống bổ thể với các chất cấu thành và điều hoà

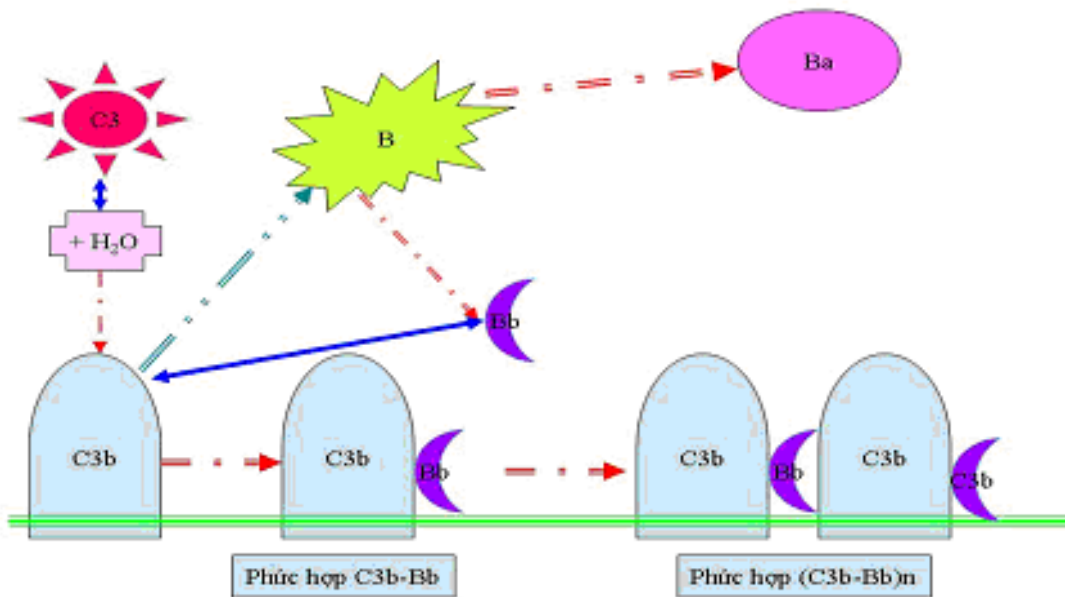
1. Đường không đặc hiệu

a. Các yếu tố gây hoạt hóa

Các vi sinh vật và nhiều chất khác khi chưa gây miễn dịch nhưng lại có thể hoạt hóa theo con đường này như trực khuẩn gram dương hay gram âm, vi-rút, nấm (*Candida albicans*), ký sinh trùng (*Trypanosoma*, *Schistosoma*) và một số chất khác như polysaccharid hay nội độc tố của vi khuẩn, zymosan, inulin, huyết cầu tố, bụi,... Ngoài ra, những protein gắn với mannose, protein phản ứng C cũng làm vi khuẩn liên kết được với bề mặt theo con đường không đặc hiệu. Một màng tế bào càng có khả năng hoạt hóa khi nó càng chứa ít axit sialic. Ngoài ra, con đường đặc hiệu có thể được hoạt hóa bởi các phức hợp vón tụ của IgG hay IgA (hình 2.24).

b. Các yếu tố cấu thành đường không đặc hiệu

C3: trong huyết tương một phần C3 nguyên sơ thường xuyên bị dung giải bởi các protease lưu hành, tạo ra những lượng nhỏ C3b dưới dạng liên kết nước. C3b sẽ cố định lên thành của các vi sinh vật hay tế bào hư hại khi bị nhiễm, đồng thời sẽ tác động lên yếu tố B với sự có mặt của Mg^{2+} .



Hình A.24. Đường hoạt hoá bổ thể không đặc hiệu

Yếu tố B: là một protein tham gia vào con đường khuếch đại. Dưới tác dụng của C3b thì yếu tố B sẽ tách ra thành Ba và Bb. Khi có mặt của Mg^{2+} thì sẽ tạo phức hợp C3b-Bb có hoạt tính như protease làm tách thêm phân tử C3 thành C3b. Phản ứng vẫn tiếp diễn và có tính khuếch đại làm sản sinh ra nhiều C3b-Bb.

Yếu tố D: hoạt động ngay trước khi có hoạt hóa, tách yếu tố B thành Bb giúp cho sự hoạt hóa hình thành phức hợp C3b-Bb.

Khi trên bề mặt hoạt hóa chứa ít axit sialic thì sẽ dễ cố định yếu tố B, làm cho phản ứng phát triển mạnh hơn. Khi có nhiều axit sialic thì do yếu tố H sẽ làm bong C3b ra khỏi màng tế bào và nhờ đó mà bảo vệ tế bào khỏi sự ly giải.

Như vậy, tất cả hình thành một vòng khuếch đại cho phép hoạt hóa đổi C3 thành C3b đủ để có thể phủ bọc toàn bộ vỏ vi khuẩn, đồng thời có tác dụng như một enzym chuyển C5.

c. Các yếu tố điều hòa

Yếu tố P (properdin) giúp ổn định phức hợp C3-Bb.

Yếu tố H làm rã các phức hợp C3-Bb.

Yếu tố I là chất bất hoạt C3b thành C3bi rồi thành C3bdg.

CR1 có trên nhiều loại tế bào có thể cố định C3b và làm giảm nồng độ C3b trong huyết tương.

DAF (decay accelerating factor) là một chất thuộc màng và làm bất hoạt C3b-Bb cũng như C4b ở đường đặc hiệu.

MCP (membrane cofactor protein) cũng là một protein màng và có tác dụng như DAF.

Như vậy, một vi sinh vật hay một số chất có khả năng hoạt hóa bổ thể theo con đường không đặc hiệu, nghĩa là không cần kháng thể và bắt đầu từ C3 để đi đến C5 và đi vào con đường hiệu ứng chung.

2. Đường hoạt hóa bổ thể đặc hiệu

a. Các yếu tố gây hoạt hóa

Các yếu tố hoạt hóa bổ thể theo con đường đặc hiệu có trong huyết thanh dưới tình trạng nguyên sơ không có chức năng sinh học. Cần phải có một kích thích để hoạt hóa chúng mà chủ yếu là phức hợp kháng nguyên- kháng thể, trong đó kháng thể là IgM có phần Fc có thụ thể với bổ thể hay IgG vón tụ cũng hoạt hóa bổ thể theo con đường này (hình 2.25).

Con đường đặc hiệu cũng có thể được hoạt hóa bởi các tác dụng phụ của một số yếu tố từ vi-rút, vi khuẩn gram âm *Salmonella* hay *E.coli*, *Neisseria*, plasmin, thrombin, chất protein phản ứng C, phức chất protamin-heparin và polysaccharid.

b. Các yếu tố tham gia hoạt hóa

C1q, có trọng lượng phân tử cao là 400.000 dalton, để hoạt hóa được thì cần một phân tử IgM hay hai phân tử IgG ở gần kề nhau.

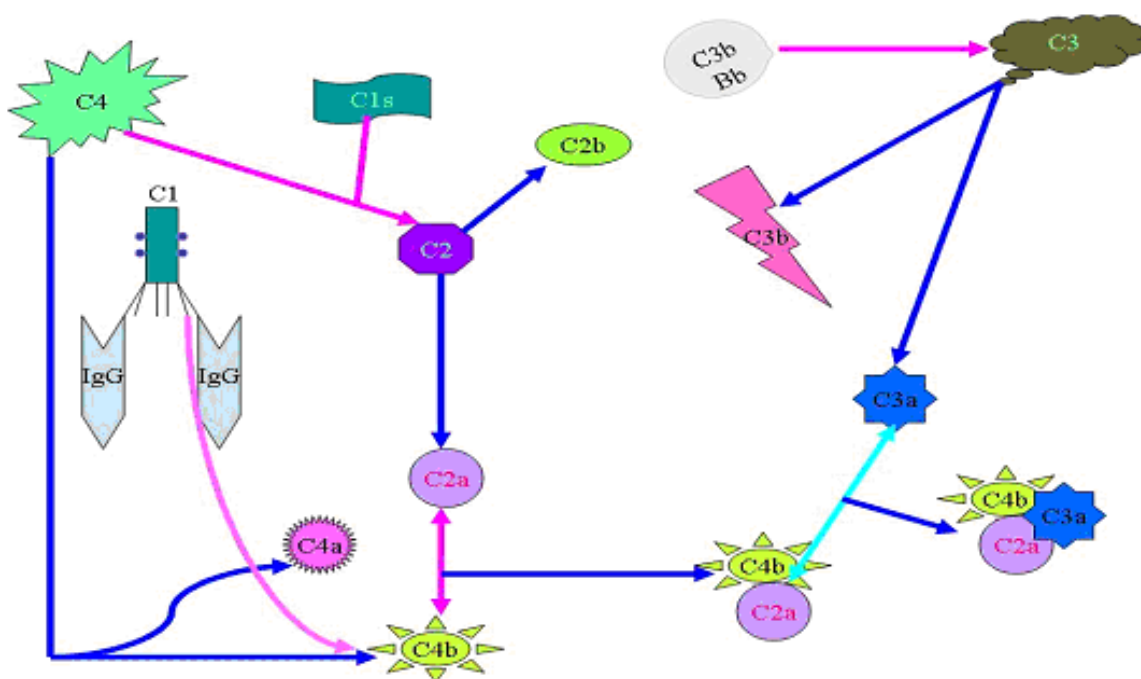
C1r, cứ hai phân tử này thì cố định lên một phân tử *C1q*, tiếp theo là hai phân tử *C1s*.

C1s, khi $1C1q + 2C1r + 2C1s$ tạo thành một phức hợp protein có hoạt năng enzym và tác động lên cấu thành tiếp theo C4. Tuy nhiên, giai đoạn này cần có mặt của Ca^{2+} .

C4, *C1s* sẽ tách phân tử C4 thành C4a có hoạt năng phản vệ và C4b liên kết với Fab của kháng thể hay với nhân tổ đích.

C2, C1s cùng với C4 sẽ tách một phân tử của C2 để tạo thành C2b có hoạt tính như một kitin và C2a sẽ cùng với C4b gắn vào đích. Tổ hợp này cần có mặt của Mg^{2+} để tạo thành C3 dưới dạng phức hợp C4b-C2a làm cho tổ hợp kháng thể và C1 có thể tách khỏi đích mà quá trình hoạt hóa vẫn tiếp diễn.

C3 bị tách thành C3a và C3b dưới tác dụng của phức hợp C2b-C2a, C3a có hoạt năng gây phản vệ và hóa ứng động trong khi C3b cố định lên đích nhờ một cầu thio-este bên trong, tương đối ổn định. Sau khi cầu này được mở ra thì C3b cố định một cách đồng hóa trị lên trên màng tế bào. Nhưng chất này lại bị bất hoạt bởi yếu tố I thành C3bi rồi tách ra thành phân tử lớn C3c tự do và một phân tử C3dg còn lại trên đích mà sau này có thể chuyển thành C3d.



Hình A.25. Đường hoạt hóa bổ thể đặc hiệu

c. Những yếu tố điều hòa quá trình hoạt hóa

Như vậy quá trình hoạt hóa tới đây được khuếch đại ngày càng mạnh cho nên cần những yếu tố điều hòa kìm hãm bớt phản ứng, đó là những protein điều hòa.

Protein trong huyết tương: chất ức chế C1 (C1-inh) sẽ ức chế hoạt hóa C1, tách C1 đã hoạt hóa và ức chế việc tách C4 bởi C1s. Tình trạng thiếu C1-inh bẩm sinh là nguồn gốc của bệnh phù thần kinh mạch. Yếu tố I sẽ tách C4b thành C4c và C4d ở dạng không hoạt động. Yếu tố I còn làm bất hoạt C3b thành C3bi rồi thành C3dg. C4bp (binding protein) sẽ tách phức hợp C4b2a và được sử dụng như đồng yếu tố cho yếu tố I. Cacboxypeptidase N sẽ gây dung giải bổ thể và C3a, C4a và C5a.

Trên tế bào: *DAF* (decay accelerating factor) là yếu tố tăng nhanh thoái hóa. *MCP* (membrane cofactor protein) là protein đồng yếu tố màng. Hai yếu tố này có trên màng tế bào nên ức chế hoạt hóa bổ thể ngay trên những tế bào nào có mang chúng.

3. Các thụ thể tế bào đối với bổ thể

Trên mặt một số tế bào có những phân tử liên kết được với một số cấu thành của bổ thể gọi là thụ thể của bổ thể (complement receptor-CR).

CR1: các thụ thể với C3b hay C4b có trên bề mặt hồng cầu, tiểu cầu, bạch cầu đa nhân trung tính và toan tính, tế bào mono và đại thực bào, tế bào lympho B và T4, tế bào có nhân ở cầu thận. Chúng cho phép vận chuyển các phức hợp miễn dịch nhờ hồng cầu tới đại thực bào ở gan. Hiện tượng các đại thực bào có bám dính miễn dịch với các hạt mang C3b cho phép tiêu các phức hợp ấy. Sự có mặt của kháng thể sẽ làm tăng phản ứng thêm hàng chục lần.

CR2: các thụ thể với C3d có trên các tế bào lympho B, tế bào tua ở hạch và tế bào niêm mạc ở mũi hầu. Chính các thụ thể ấy mà vi-rút xâm nhập được vào trong cơ thể và gây nhiễm các tế bào lympho B. Chúng kích thích các tế bào ấy thông qua các phức hợp miễn dịch đã được phủ C3d.

CR3: các thụ thể đối với C3bi có trên các tế bào mono, đại thực bào, các tế bào trung tính, tế bào tua ở hạch. Chúng giúp cho hiện tượng bám dính và thực bào các hạt đã được phủ C3bi.

CR4: có trên các bạch cầu trung tính, tiểu cầu, tế bào mast và đại thực bào ở mô. Chúng giúp cho sự bám dính và thực bào các phức hợp miễn dịch đã phủ C3bi.

Ngoài ra, cũng có các thụ thể với các mảnh nhỏ C3a, C4a, C5a ở các tế bào mast, tế bào mono, đại thực bào, bạch cầu đa nhân trung tính và tiểu cầu. Khi các thụ thể ấy được hoạt hóa thì cũng kéo theo hiện tượng viêm.

4. Vai trò sinh học của bổ thể

Trong phản ứng viêm: một số cấu thành của bổ thể có kích cỡ nhỏ, hòa tan và có vai trò quan trọng trong phản ứng viêm. C3a, C4a và C5a có trọng lượng phân tử khoảng 10.000 dalton được gọi là anaphylatoxin, chúng có thể cố định trên các bạch cầu kiềm tính và tế bào mast dẫn đến sự phóng thích histamin và làm dẫn mạch. Đây là yếu tố đầu tiên của phản ứng viêm. C2b thì có khả năng làm tăng thành mạch. C5a có khả năng hóa ứng động dương tính đối với bạch cầu trung tính và làm vón tụ bạch cầu đa nhân ở ngay tại nơi có hoạt hóa bổ thể. Các cấu thành C5, C6, C7 cố định trên màng hay các phức hợp miễn dịch cũng thu hút các bạch cầu đa nhân.

Sự đề kháng chống nhiễm khuẩn: bổ thể gây ly giải các vi sinh vật hay tham gia vào quá trình gây độc nhờ kháng thể. Các yếu tố gây nhiễm bên ngoài tế bào được phủ bổ thể hoặc do hoạt hóa trực tiếp hay thông qua các kháng thể chống vi khuẩn có cố định trên bổ thể. Cuối cùng do sự tham gia của các phức hợp tấn công màng mà có sự dung giải các vi sinh vật khác nhau như vi khuẩn, vi-rút hay ký sinh trùng. Đó là hoạt động ly giải tế bào trực tiếp của bổ thể với sự tham gia của các cấu thành sau cùng. Ngoài chức năng chống nhiễm khuẩn, bổ thể còn ly giải hồng cầu hay bạch cầu. Đặc điểm này có thể dùng để phát hiện *in vitro* các kháng thể chịu trách nhiệm phản ứng dung giải hồng cầu bên trong mạch máu.

Chuyển hóa các phức hợp miễn dịch: sự thải trừ các phức hợp miễn dịch được dễ dàng hơn nhiều ở bề mặt. Việc đơn giản cố định bề mặt theo đường đặc hiệu đã ức chế sự hình thành những phức hợp miễn dịch cỡ khổng lồ và theo đường không đặc hiệu thì giúp chúng dễ hòa tan hơn. Nhất là các phức hợp tuần hoàn một khi đã được phủ bởi C3b thì có thể bám dính trên hồng cầu, rồi được chuyển chở đến tận các tế bào Kupffer ở gan, ở đây thì chúng sẽ bị thực bào bởi các tế bào này.

Tham gia kiểm soát đáp ứng miễn dịch: tế bào lympho B có các thụ thể CR2 với C3d. Như vậy, khi hình thành các phức hợp miễn dịch có bề mặt bao phủ thì sẽ gây kích thích và có một vai trò nhất định trong đáp ứng miễn dịch. Trên tế bào T cũng có C3dR nhưng chưa rõ vai trò.

Tài liệu tham khảo

1. Vũ Triệu An và Jean, C.H. 2001. *Miễn dịch học*. Nhà xuất bản Y học.
2. Nguyễn Lâm Dũng. 2001. *Vì sinh vật học*. Nhà xuất bản Giáo Dục.
3. Lê Huy Kim. 1998. *Bài giảng miễn dịch học thú y*. Khoa Nông Nghiệp- Đại học Cần Thơ.
4. Nguyễn Ngọc Lành và ctv. 1997. *Miễn dịch học*. Nhà xuất bản y học.
5. Madigan, M.T., Martinko, J.M. and Parker, J., 2002. *Biology of Microorganisms*. Tenth edition, Prehall.
6. Đỗ Ngọc Liên, 1999. *Miễn dịch học cơ sở*. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Hà nội.

Chương 3: Kháng nguyên và kháng thể

I. Kháng nguyên

1. Định nghĩa

Bất kì một chất nào khi đưa vào cơ thể động vật ở điều kiện thích hợp gây ra đáp ứng miễn dịch được gọi là chất sinh miễn dịch. Bất cứ một chất nào khi gắn với thành phần của đáp ứng miễn dịch (kháng thể, tế bào lympho hoặc cả hai) được gọi là kháng nguyên. Tất cả các chất sinh miễn dịch đều là kháng nguyên, song một số chất được coi là kháng nguyên nhưng không gây đáp ứng miễn dịch. Ví dụ: hapten là chất có khối lượng phân tử thấp (như các phân tử đường, axit amin, polime nhỏ và chất kháng sinh) có thể gắn với kháng thể đặc hiệu nhưng bản thân nó không kích thích tạo kháng thể.

2. Điều kiện bắt buộc của một chất kháng nguyên

Tính lạ: Chất được coi là kháng nguyên trước hết phải là một chất lạ với cơ thể, bởi vì bình thường cơ thể không có phản ứng bảo vệ với các chất của bản thân. Chất càng lạ với cơ thể bao nhiêu, khả năng kích thích tạo kháng thể càng mạnh bấy nhiêu.

Khối lượng phân tử lớn: Nhìn chung kháng nguyên có khối lượng phân tử lớn hơn 10000 dalton. Nếu nhỏ hơn 1.000 dalton (penixilin, progesteron, aspirin...) thì không có tính sinh miễn dịch. Từ 1.000 đến 6.000 dalton (insulin) có thể có hoặc không có khả năng đáp ứng miễn.

Cấu trúc phân tử phức tạp: Một chất có tính sinh miễn dịch phải có cấu trúc hóa- lí tương đối phức tạp thì tính sinh miễn dịch càng cao. Ví dụ polilizin là một polime có khối lượng phân tử 30000 dalton nhưng không gây đáp ứng miễn dịch vì có cấu trúc đơn giản, trong khi đó hapten tuy có khối lượng phân tử nhỏ và không có tính sinh miễn dịch, nhưng khi gắn với chất có khối lượng phân tử cao (chẳng hạn protein) lại trở thành chất sinh miễn dịch.

Như vậy một chất muốn có tính sinh miễn dịch phải đạt ba tiêu chuẩn: *tính lạ, khối lượng phân tử lớn và cấu trúc đủ phức tạp*. Nếu thiếu một trong ba tiêu chuẩn này thì chất đó phải được gắn với chất mang để làm tăng khối lượng phân tử hoặc có mức độ phức tạp về cấu trúc.

3. Tính đặc hiệu của kháng nguyên

Sự liên kết giữa kháng nguyên với kháng thể hay giữa kháng nguyên với tế bào lympho luôn mang tính đặc hiệu cao. Tính đặc hiệu này tương tự như giữa enzym và cơ chất, nghĩa là phải luôn khớp với nhau như khóa với chìa. Kháng thể hay tế bào lympho không phải liên kết với toàn bộ phân tử kháng nguyên mà chỉ với những phần nhất định của kháng nguyên (còn gọi là quyết định kháng nguyên hay epitop). Phần tương ứng với nó trên mỗi kháng thể gọi là vị trí kết hợp kháng nguyên (hay paratop). Phần tương ứng với quyết định kháng nguyên nằm trên tế bào lympho gọi là thụ thể. Chẳng hạn thụ thể của tế bào T là TCR (T cell receptor).

Kích thước của epitop khoảng $7 \times 12 \times 35$ Å, gồm 5-7 axit amin. Paratop là TCR cũng có kích thước tương tự. Mỗi epitop chỉ gắn đặc hiệu với một paratop của kháng thể hoặc TCR và chỉ sinh ra một dòng kháng thể đặc hiệu. Một kháng nguyên có nhiều epitop khác nhau sẽ tạo thành nhiều dòng kháng thể tương ứng với từng epitop.

4. Các dạng kháng nguyên

a. Theo mối quan hệ vật chủ có đáp ứng

Kháng nguyên dị loài: kháng nguyên dị loài là những kháng nguyên lấy từ con vật khác loài đối với con vật được miễn cảm sinh ra kháng thể. Việc miễn cảm càng dễ khi có sự khác biệt về loài càng mạnh.

Kháng nguyên dị gen: trong cùng một loài, kháng nguyên dị gen có mặt ở một số cá thể mà không có ở những cá thể khác. Đó là do đa dạng gen học ở ngay bên trong một loài. Kháng nguyên là những chất của cơ thể sản xuất ra và cấu trúc của chúng đã được mã hóa trong bộ gen. Kháng nguyên dị gen có thể thu được khi miễn cảm cùng loài hay khác loài.

Kháng nguyên tự nhân: là sản phẩm của một đáp ứng miễn dịch không bình thường nhận biết một kháng nguyên của ngay bản thân mình. *Ví dụ*, khi tiêm hồng cầu của một con chuột sang con chuột khác cùng chủng loại thì không có đáp ứng. Nhưng khi tiêm hồng cầu chuột cống cho chuột nhắt thì sẽ xuất hiện kháng thể chống hồng cầu chuột cống mà đồng thời có cả kháng thể chống lại hồng cầu của chuột nhắt.

Kháng nguyên idiotyp: do cấu trúc thay đổi khác nhau của vùng cực kỳ thay đổi ngay trên bề mặt các thụ thể tế bào lympho cũng như các globulin miễn dịch làm cho những vùng đó trở nên lạ ngay đối với bản thân. Cho nên, khi một kháng thể xuất hiện thì vùng thay đổi này trở thành kháng nguyên đối với bản thân. Tuy nhiên loại kháng nguyên này rất hạn chế.

b. Theo typ đáp ứng miễn dịch

Kháng nguyên phụ thuộc tuyến ức: chỉ gây miễn dịch khi tuyến ức còn nguyên vẹn, thường có bản chất protein nên dễ tạo nên một đáp ứng miễn dịch tiên phát và thứ phát bằng IgG. Muốn có đáp ứng miễn dịch xảy ra thì cần phải có ba loại tế bào tham gia là: (i) tế bào APC; (ii) tế bào lympho Th đặc hiệu và (iii) tế bào Tc hay tế bào lympho B.

Kháng nguyên không phụ thuộc tuyến ức: việc sản xuất kháng thể không cần phụ thuộc tế bào T vì đáp ứng ấy chỉ đòi hỏi sự hiện diện của tế bào lympho B đặc hiệu là đủ. Trên bề mặt tế bào này có một phân tử cảm thụ CD1 có cấu trúc tương tự phân tử MHC lớp II làm công việc trình diện kháng nguyên. Các kháng nguyên này thường là glucid với các nhóm quyết định kháng nguyên cũng không phụ thuộc tuyến ức.

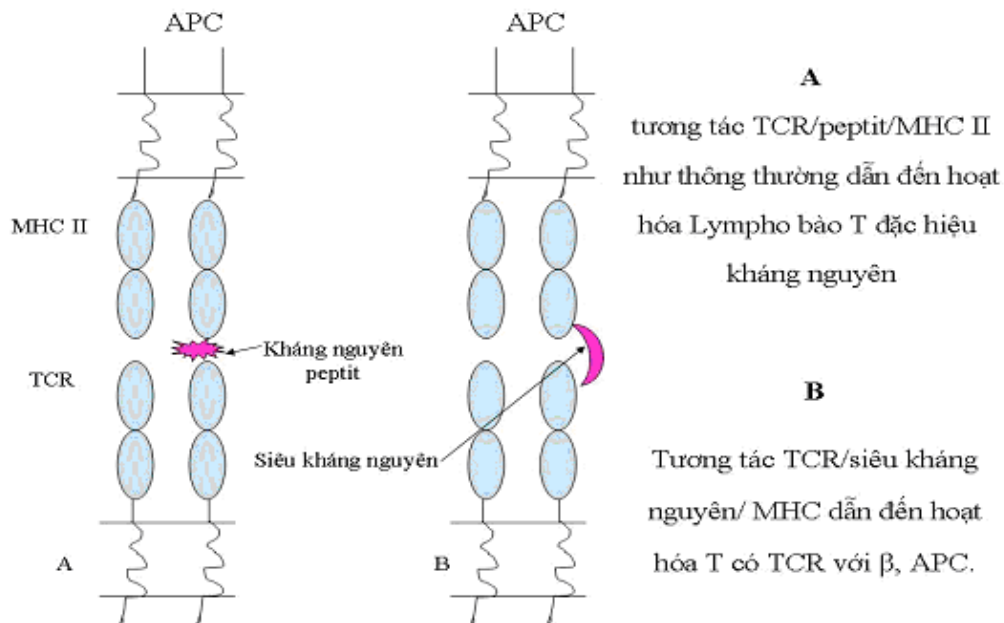
c. Theo bản chất hóa học

- *Các glucid:* các polysaccharid nói chung cũng như là phần glucid của các glycoprotein là những kháng nguyên mạnh. *Ví dụ* kháng nguyên của nhiều vi sinh vật và các nhóm máu mà tính các hiệu do các nhóm đường khác nhau quyết định. Đó là những polysaccharic với cấu trúc phân tử đa dạng nên có tính kháng nguyên mạnh.

- *Các lipid*: phần lớn các chất này gồm một chuỗi đơn CH_2 kỵ nước nên không có tính kháng nguyên. Nhưng khi chúng có thêm phần glucid hay protein thì lại có tính kháng nguyên. Ví dụ, hợp chất cardiolipin là chất chiết từ ty lạp thể cơ tim của bò mà ở người mắc bệnh giang mai có xuất hiện kháng thể chống lại chất ấy. Cho nên cardiolipin được dùng để phát hiện bệnh giang mai do rất nhạy và rẻ tiền.

- *Các protein*: khi có trọng lượng phân tử lớn hơn 4.000 dalton thì các polypeptit hay protein là những kháng nguyên tốt nhất. Cấu trúc phức tạp của chúng làm cho chúng có nhiều nhóm quyết định kháng nguyên khác nhau. Vasopressin có trọng lượng phân tử 1000 dalton với chín acid amin là chất nhỏ nhất gây được miễn dịch.

- *Các axit nucleic*: rất khó có được kháng thể chống lại axit nucleic khi miễn cảm cho con vật. Ngược lại, trong một số bệnh tự miễn như ban đỏ rải rác cấp thì xuất hiện nhiều loại kháng thể chống axit nucleic.



Hình 0.1. Siêu kháng nguyên

- *Các chất tổng hợp*: các chất có cấu trúc tổng hợp khác nhau có thể trở thành kháng nguyên khi chúng có trọng lượng phân tử đủ lớn hay khi chúng liên kết với những protein mang tải. Cấu trúc tổng hợp để xác định tính kháng nguyên và tính đặc hiệu của các chất tổng hợp đang được các nhà nghiên cứu chú ý đến. Thuốc có thể là kháng nguyên gây ra những phản ứng dị ứng thấy trong bệnh lý ở người.

- *Các siêu kháng nguyên*: là loại kháng nguyên đặc biệt dễ gây hoạt hóa tế bào miễn dịch mà không cần phân tử MHC lớp II do tế bào APC trình diện như thông lệ. Chúng kết hợp thẳng với trình tự peptit của một số TCR đặc biệt. Cho nên, những phân tử ấy không cần được nhận biết một cách đặc hiệu mà vẫn tác dụng lên nhiều dòng tế bào T có mang cấu trúc như chuỗi β của TCR (hình 3.1).

II. Kháng thể

1. Định nghĩa

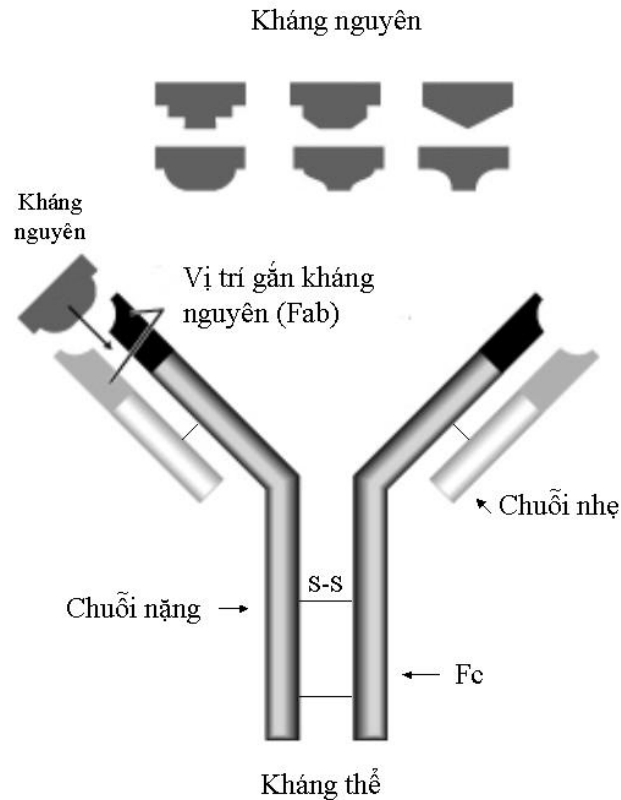
Kháng thể là các globulin trong máu của động vật, có khả năng liên kết đặc hiệu với kháng nguyên đã kích thích sinh ra nó. Kháng thể theo định nghĩa trên đây gọi là kháng thể miễn dịch (immunoglobulin, kí hiệu là Ig) hay kháng thể đặc hiệu. Kháng thể chủ yếu được tìm thấy trong huyết thanh của động vật, do vậy huyết thanh chứa kháng thể đặc hiệu kháng nguyên được gọi là kháng huyết thanh. Kháng thể còn được tìm thấy trong các thể dịch khác của cơ thể như sữa. Những kháng thể có sẵn trong sữa hay huyết tương của người và động vật từ trước khi có sự tiếp xúc với kháng nguyên được gọi là kháng thể tự nhiên hay kháng thể không đặc hiệu.

2. Bản chất và tính chất của kháng thể

Trong huyết thanh của người và động vật có vú chứa albumin, α , β và γ globulin thì γ - globulin là kháng thể. Vì bản chất kháng thể là protein nên các tác nhân hóa, lí như nhiệt độ, độ axit, độ kiềm,... có thể làm biến tính protein thì cũng có thể phá hủy kháng thể. Hoạt tính kháng thể phụ thuộc vào pH môi trường và nhiều yếu tố khác. Ngoài ra các chất như Sunphat amon, Sunphat Natri, cồn 5° có thể kết tủa được kháng thể. Tuy nhiên những chất này không làm mất tính chất của kháng thể nên người ta sử dụng chúng để tinh khiết kháng thể.

3. Cấu trúc của kháng thể miễn dịch

Tất cả các Ig đều có cấu trúc giống nhau gồm có hai chuỗi nhẹ (ngắn) và hai chuỗi nặng (dài), được gắn với nhau bởi cầu disunphua (S-S) (hình 3.2). Trình tự axit amin ở kháng thể giống hệt nhau theo từng đôi chuỗi nặng và từng đôi chuỗi nhẹ. Cả phân tử có cấu tạo đối xứng. Dưới tác dụng của enzym phân giải protein (papain) phân tử Ig được phân giải thành ba mảnh nhỏ. Hai mảnh nhỏ chứa toàn bộ chuỗi nhẹ cộng với nửa chuỗi nặng có đầu amin – NH_2). Đây là nơi gắn với kháng nguyên và được gọi là đoạn Fab (Fragment of antigen binding). Mảnh còn lại là hai nửa có đầu carboxyl ($-\text{COOH}$) của hai chuỗi nặng. Phần này không gắn được với kháng nguyên nhưng có khả năng kết tinh nên gọi là phần Fc (Fragment crystallizable) (hình 3.2).



Hình 0.2. Cấu tạo cơ bản của một kháng thể

Dựa vào đặc tính sinh lý, hóa học và miễn dịch học người ta chia kháng thể ra thành 5 loại là: IgG, IgA, IgM, IgD và IgE.

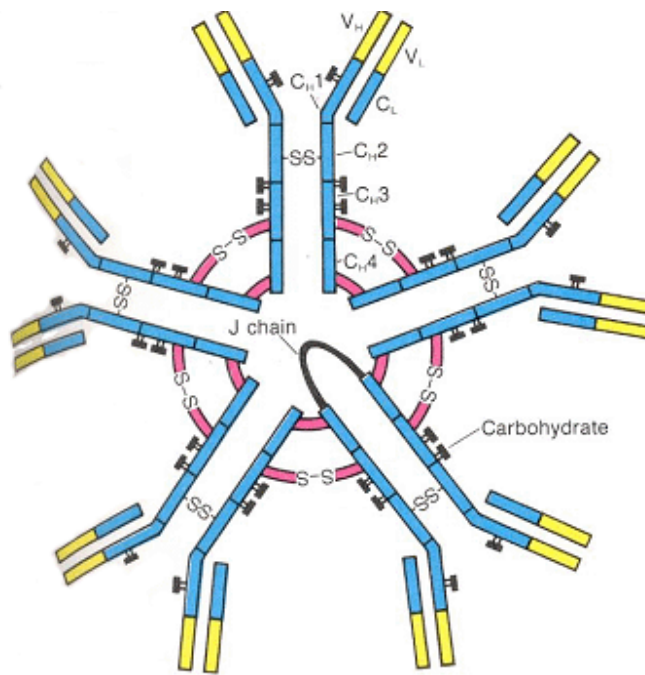
IgG

Ở người, IgG là kháng thể lưu hành phổ biến nhất chiếm 80% tổng số Ig trong huyết thanh. IgG có khối lượng phân tử 160.000, hằng số lắng 7S chứa 2,5 cacbonhydrat. IgG chứa 4 chuỗi polipeptit. Mỗi chuỗi nhẹ chứa 212 axit amin, còn chuỗi nặng chứa khoảng 450 axit amin. Phân tử IgG có hai vị trí kết hợp kháng nguyên nên có hai hóa trị. Vị trí này chiếm khoảng 1% diện tích bề mặt của IgG. IgG cũng còn chứa một lượng nhỏ cacbonhydrat, gồm chủ yếu là đường hexozơ và hexozamin. Cacbonhydrat không liên quan đến vị trí kết hợp kháng nguyên.

Các chuỗi nhẹ: mỗi chuỗi nhẹ của IgG chứa hai vùng axit amin. Một vùng nằm ở phía đầu amin có trật tự axit amin có thể thay đổi gọi là vùng biến đổi (V_L). Vùng nằm ở phía đầu cacboxyl có trật tự amin không thay đổi gọi là vùng cố định (C_L) (hình 3.3). Trật tự axit amin vùng cố định của chuỗi nhẹ luôn giống nhau kể cả ở các IgG kết hợp với các kháng nguyên khác nhau. Sở dĩ như vậy vì ở phần cố định này chỉ có một trong hai kiểu trật tự axit amin là trật tự lamda (γ) hoặc trật tự kappa (K). Một phân tử IgG chỉ chứa hoặc hai chuỗi nhẹ lamda hoặc hai chuỗi nhẹ kappa mà không bao giờ chứa cả hai loại. Ngược lại, ở vùng biến đổi của chuỗi nhẹ, trật tự axit amin luôn khác nhau, kể cả đối với các Ig do cùng một tế bào sinh ra.

IgG gắn với bổ thể và đi vào nhau thai nên có thể truyền từ mẹ sang thai. IgG ở người có bốn phân lớp (isotype) khác nhau là IgG1, IgG2, IgG3 và IgG4. Các phân lớp này khác nhau ở phần của chuỗi nặng và số lượng cầu nối disunphua gắn giữa hai chuỗi nặng. Các phân lớp IgG như trên cũng có ở chuột nhưng không có ở thỏ.

IgM chiếm 5-10% tổng globulin của huyết thanh, globulin lớn nhất, có khối lượng phân tử 900.000, hằng số lắng 19S và chứa 10% cacbonhydrat. IgM có cấu tạo gồm hai chuỗi nhẹ kappa hoặc lamda và hai chuỗi nặng mui nên được kí hiệu là $K_2\mu_2$ hoặc $\gamma_2\mu_2$. Năm globulin cụm lại với nhau thành ngôi sao năm cánh nhờ cầu nối disunphua và chuỗi peptit nhỏ (chuỗi J) nên IgM có tới 10 vị trí kết hợp kháng nguyên (hình 3.4). Vì thế IgM có hoạt tính hơn hoạt tính của IgG từ 60 đến 180 lần. IgM xuất hiện sớm, đầu tiên trong các bệnh vi-rút, sau đó IgG xuất hiện muộn và thay thế IgM. IgM cũng đáp ứng với polysaccharit vỏ nhầy của nhiều loài vi khuẩn nên được dùng để chống các vi khuẩn này. IgM có trên bề mặt tế bào lympho B và làm nhiệm vụ như thụ thể dành cho kháng nguyên.



Hình 0.4. Cấu tạo phân tử IgM

IgA

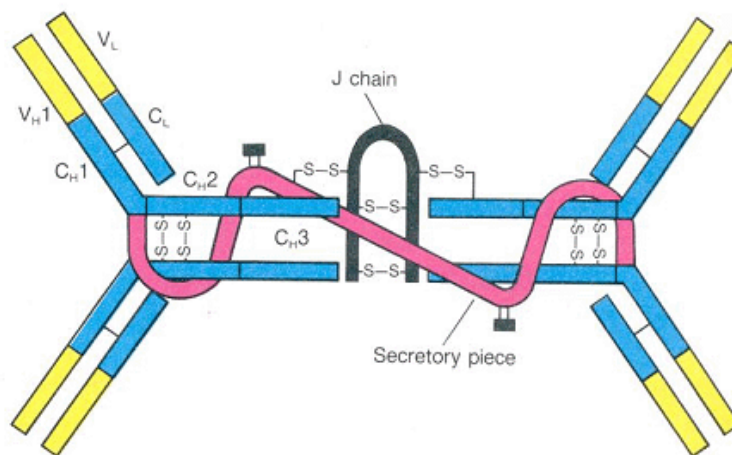
IgA có khối lượng phân tử 140.000- 300.000, hằng số lắng 7S. Cấu tạo gồm hai chuỗi nhẹ kappa hoặc lamda và hai chuỗi nặng α nên được kí hiệu là $K_2\alpha_2$ hoặc $\gamma_2\alpha_2$. IgA tồn tại ở dạng đơn, dạng dime hoặc dạng trime gắn với nhau nhờ chuỗi peptit J (hình 3.5). Trong huyết thanh người có ít IgA, chủ yếu IgA có trong dịch nhầy. Chúng được tổng hợp chủ yếu nhờ tế bào B trong niêm mạc ruột, đường hô hấp và thực hiện chức năng chống vi khuẩn trên bề mặt niêm mạc.

IgD

IgD chiếm 0.2-1% tổng globulin và có nồng độ trong huyết thanh rất thấp (0.5-40 mg/100ml). Cấu tạo gồm hai chuỗi nhẹ kappa hoặc lamda và hai chuỗi nặng delta, nên được kí hiệu là $K_2\delta_2$, $\lambda_2\delta_2$. IgD có trên bề mặt tế bào B, có thể làm nhiệm vụ như thụ thể dành cho kháng nguyên.

IgE

IgE có khối lượng phân tử 180.000, hằng số lắng 8S. Cấu tạo gồm hai chuỗi nhẹ kappa hoặc lamda và hai chuỗi nặng epsilon, được kí hiệu là $K_2\epsilon_2$, $\lambda_2\epsilon_2$. Nồng độ trong huyết thanh rất thấp, chỉ bằng 1/50.000 nồng độ IgG, nhưng sẽ được tăng lên nhanh khi bị dị ứng hoặc nhiễm ký sinh (giun).



Hình 0.5. Cấu tạo phân tử IgA

4. Chức năng sinh học của globulin miễn dịch

Chức năng sinh học của phân tử Ig trong hệ thống miễn dịch là nhận biết “cái lạ” và tác động lên nó. Vùng thay đổi V là vị trí của phân tử Ig làm nhiệm vụ nhận biết, còn vùng C làm nhiệm vụ tương tác với các phân tử và các tế bào khác để hoàn thành một cách có hiệu quả việc loại trừ yếu tố lạ.

a. Chức năng nhận biết

Chức năng nhận biết được thực hiện thông qua việc phân tử Ig kết hợp đặc hiệu với nhóm quyết định kháng nguyên. Vị trí kết hợp nằm ở vùng V của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, đầu tận cùng $-NH_2$. Ở đây, chuỗi polypeptit được gấp lại và tạo ra cấu trúc gấp nếp với những đoạn tương đối ổn định xen kẽ những đoạn cực kỳ thay đổi. Những vòng này cụm sát vào nhau tạo ra một cái túi để trong đó các phân tử nhỏ của nhóm quyết định kháng nguyên có thể lọt vào.

Phân tử Ig có cấu trúc đối xứng, nên có hai vị trí kết hợp kháng nguyên hoàn toàn giống nhau. Như vậy, mỗi nhóm quyết định kháng nguyên sẽ có một bề mặt phù hợp, nó được thể hiện qua sự có mặt và trình tự từng axit amin ở vùng cực kỳ thay đổi cũng như cấu trúc không gian của nó.

Ngoài ra, cấu trúc Ig còn được hỗ trợ bởi một đoạn peptit gọi là đoạn khớp nối vùng V với vùng C. Đoạn khớp này có tác dụng như chiếc bản lề làm cho phân tử có cấu tạo hình chữ Y làm tăng tính mềm mại giữa hai vùng của phân tử Ig để có thể quay đối xứng nhau. Với cấu trúc như vậy nên Ig dễ dàng trong việc kết hợp với kháng nguyên đặc hiệu do phân tử IgG có thể điều chỉnh dẫn ra hay khép lại giúp cho việc gắn phù hợp với hai quyết định kháng nguyên.

b. Chức năng sinh học thứ phát có hiệu quả

a. Hoat hóa bổ thể

Kháng thể kết hợp đặc hiệu với kháng nguyên hình thành nên phức hợp kháng nguyên-kháng thể, đã làm thay đổi cấu hình không gian của phân tử Ig và bộc lộ vị trí kết hợp với bổ

thể. Khả năng hoạt hóa bổ thể chỉ có ở IgM và IgG. Tuy nhiên, không phải tất cả các IgG đều có khả năng hoạt hóa bổ thể như nhau mà phụ thuộc vào cấu trúc như IgG1, IgG2, IgG3 hay IgG4.

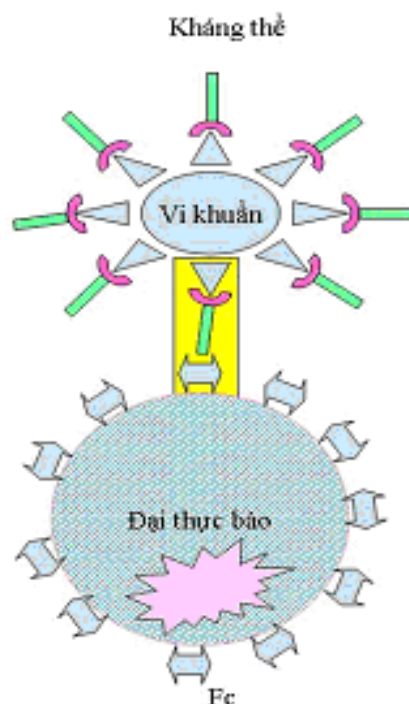
Chiều dài và tính mềm mại của vùng bản lề có liên quan chặt chẽ với khả năng hoạt hóa bổ thể. Đối với IgG, để hoạt hóa được bổ thể thì cần phải có hai phân tử kết hợp với quyết định kháng nguyên nằm kề nhau trên bề mặt tế bào. Còn IgM thì chỉ cần bản thân vẫn có khả năng hoạt hóa bổ thể do chúng có tới hai mảnh Fc ở kề nhau, giúp nó trở thành Ig có khả năng hoạt hóa bổ thể mạnh nhất.

b. Tương tác với các tế bào khác

Phần Fc của phân tử Ig thuộc một số lớp và lớp dưới có khả năng gắn với một số tế bào khác như:

- *Các phân tử IgE, IgG1, IgG3, IgG4*: có khả năng gắn lên bề mặt tế bào mast và bạch cầu ái kiềm thông qua những thụ thể của chúng với phần Fc. Khi phần Fab của những Ig này kết hợp với kháng nguyên sẽ hoạt hóa các tế bào này làm cho các hạt bên trong tế bào phóng thích các hoá chất trung gian như steronin, histamin làm tăng tính thấm của mao mạch, co cơ trơn. Do đó, kháng thể trong máu và các tế bào thực bào dễ dàng lọt qua thành mạch để tới nơi có kháng nguyên xâm nhập.

- *Các đại thực bào và bạch cầu trung tính*: các tế bào này cũng có thụ thể với phần Fc của các phân tử IgG và IgM. Nếu kháng nguyên là vi khuẩn hay đơn bào đã phủ bởi IgG hay IgM thì sẽ bị các thực bào bắt và nuốt. Đại thực bào và bạch cầu trung tính không chỉ có thụ thể với Fc mà chúng còn có thụ thể với bổ thể nên khả năng thực bào sẽ được tăng cường, nếu các phân tử IgG và IgM có gắn bổ thể. Hiện tượng này được gọi là opsonin hóa. Khi đó phân tử Ig có phần Fab đã nhận biết, kết hợp đặc hiệu với kháng nguyên lạ. Trên cơ sở đó, kháng nguyên sẽ bị tập trung, khu trú lại. Thông qua Fc thì các tế bào khác được huy động tới. Kết quả, dưới hình thức một ổ viêm đặc hiệu sẽ làm cho kháng nguyên lạ bị loại trừ một cách mạnh mẽ và có hiệu quả (hình 3.6).



Hình 0.6. Hiện tượng Otonin hóa

III. Phương pháp tạo kháng thể đơn dòng và đa dòng

1. Chuẩn bị kháng nguyên

Việc chuẩn bị kháng thể đa dòng đòi hỏi phải có kháng nguyên sạch. Còn kháng thể đơn dòng được sản xuất từ kháng nguyên chưa sạch. Các protein hòa tan lộ ra sự đáp ứng mạnh có thể biến hóa thành những kháng nguyên đặc thù bởi sự liên kết chúng với cơ chất rắn. Axit nucleic bình thường không gây ra miễn dịch nhưng khi liên kết với protein mang nó thì sẽ gây ra miễn dịch. Cacbohydrat loại đơn giản thì thường có tính miễn dịch yếu và cần thiết liên kết với một protein mang nó. Carbohydrat càng lớn thì có thể gợi ra sự đáp ứng bình thường nhưng không gây ra đáp ứng thứ cấp. Kháng nguyên có thể được chuẩn bị bằng nhiều cách như: (i) nghiền phá hủy các mô với những hạt thủy tinh hoặc (ii) tách chiết bằng các phân tử khi rửa muối hay chất tẩy rửa. Phương pháp được chọn phụ thuộc vào kháng nguyên hòa tan hay không hòa tan và thành phần của kháng nguyên là protein, cacbohydrat hay axit nucleic. Các kháng nguyên đó có thể được tách chiết và làm sạch theo trọng lượng của chúng hoặc theo kích thước thông qua quá trình điện di trên gel.

2. Sản xuất kháng thể đa dòng

Các kháng thể đa dòng được tạo nên bằng cách tiêm chất gây miễn dịch (kháng nguyên) vào sinh vật và sau một thời gian thích hợp thì sẽ tách huyết thanh tương ứng. Sự đáp ứng miễn dịch sẽ phụ thuộc vào lượng và bản chất kháng nguyên cũng như khả năng đáp ứng miễn dịch của vật được tiêm với kháng nguyên đó. Thông thường, trong lần tiêm đầu tiên thì kháng thể sinh ra chứa IgM với nồng độ rất thấp, lần tiêm thứ hai thì nồng độ kháng thể IgG đạt ở mức trung bình. Tuy nhiên, trong những lần kế tiếp sẽ làm tăng nồng độ của kháng thể IgG đáng kể.

a. Chuẩn bị hỗn hợp tá dược kháng nguyên

Kháng nguyên được trộn với tá dược trước khi tiêm với mục đích là làm cho kháng nguyên giải phóng từ từ để kích thích hệ thống sinh miễn dịch của sinh vật. Để chuẩn bị tá dược kháng nguyên thì thường trộn dung dịch kháng nguyên với tá dược Freund tương đương với nhau. Ngoài tá dược Freund thì cũng có thể dùng một số khác như Titermax với liều 50-500ml/động vật. Tuy nhiên, với những tế bào sống thì không cần thiết phải bổ sung tá dược.

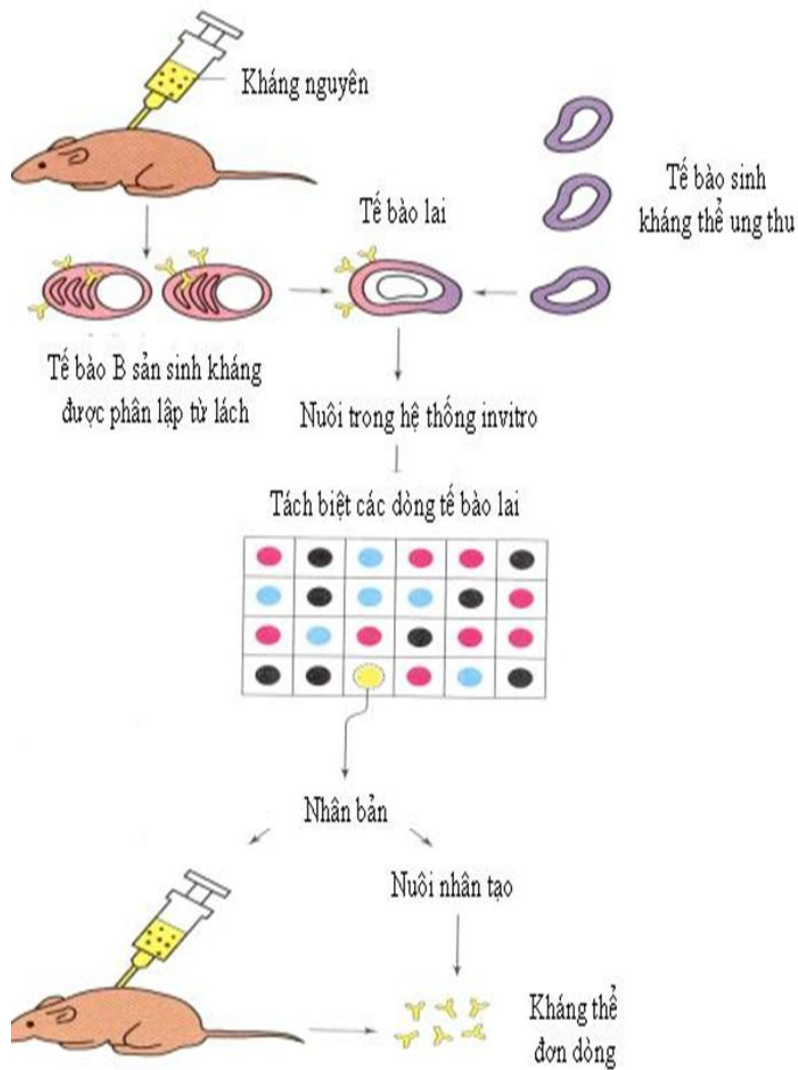
b. Con đường gây miễn dịch

Phương pháp chung thường là gây miễn dịch cho thỏ là tiêm dưới da bởi vì một lượng lớn có thể tiêm vào động vật và kháng thể đặc hiệu có thể được dẫn qua bởi phương pháp này. Tiêm tĩnh mạch đã được thử trên thỏ, sự đáp ứng nhanh và mạnh bởi vì kháng nguyên đi vào máu và nhanh chóng tới các cơ quan sinh miễn sinh như lách, gan và phổi. Tuy nhiên, tiêm tĩnh mạch không thích hợp lắm trong lần tiêm đầu tiên vì kháng nguyên đặc hiệu dễ bị loại trừ bởi những chất hóa học thô như azide sodium đi qua đường phổi.

3. Sản xuất kháng thể đơn dòng

Huyết thanh chứa một dãy các kháng thể và chúng đặc hiệu với các kháng nguyên khác nhau. Khi động vật được gây miễn dịch thì khoảng 1/10 kháng thể tuần hoàn đặc hiệu với kháng nguyên. Các kháng thể được sản xuất bởi tương bào từ tế bào B được biệt hóa. Mỗi tế bào B bố mẹ có khả năng sản xuất các kháng thể đặc hiệu. Các kháng thể được bài tiết bởi dòng tế bào lympho B thì giống hệt nhau và đây cũng là nguồn gốc của các tế bào đồng nhất. Song các tế bào tương bào có đời sống tương đối ngắn và cũng không thể lớn lên được trong nuôi cấy.

Năm 1975, Kohler và Milstein đã phát triển kỹ thuật cho phép tương bào được hòa vào các tế bào ung thư myeloma để tạo ra các tế bào lai và lớn lên. Các tế bào này có khả năng lớn lên không hạn chế mà vẫn sản xuất ra kháng thể đặc hiệu gọi là kháng thể đơn dòng (Monoclonal antibody- MAB). Các kháng thể đơn dòng có thể được sản xuất từ kháng nguyên không sạch bằng cách chọn lựa các dòng tế bào đơn giản sau khi hợp nhất. Chúng có thể được chuẩn bị để chống lại sự thay đổi rộng rãi các phân tử gây miễn dịch như protein, cacbohydrat, axit nucleic hoặc phối hợp giữa chúng. Các kháng thể đơn dòng được hình thành chỉ đặc hiệu với một yếu tố quyết định của phân tử gây miễn dịch. Vì thế, có thể được dùng để tách yếu tố quyết định ấy. Thêm vào đó dòng tế bào lai sẽ cung cấp một cách không hạn chế kháng thể trong dịch nuôi của tế bào.



Hình 0.7. Sản xuất kháng thể đơn dòng ở chuột

Nhiều dòng myeloma có thể được sản sinh bằng cách tiêm cho chuột dầu khoáng vào màng bụng. Dòng tế bào myeloma được chọn lựa rất kỹ là chúng không có kích thích hệ thống miễn dịch sinh ra kháng thể. Các tế bào lai có thể được chuẩn bị bởi sự hợp nhất tế bào myeloma và các tế bào sản xuất kháng thể mà các tế bào này được tách ra từ các loài chuột khác nhau. Tuy nhiên, thành công nhất là hai loại tế bào này đến từ một dòng chuột.

4. Làm sạch kháng thể

Có nhiều phương pháp làm sạch kháng thể (bảng 3.1) và sự lựa chọn chính xác phương pháp sẽ tùy thuộc vào số lượng các thay đổi về các loại kháng thể.

Bảng 0.1. Phương pháp làm sạch kháng thể

Kỹ thuật	Phù hợp	Ưu điểm	Nhược điểm
Sunphat amon	Có ích cho việc đậm đặc và làm sạch một phần kháng thể từ tất cả các nguồn và các mẫu	Rẻ, đậm đặc, thuận tiện với một lượng lớn và dễ thực hiện	Tạo ra kháng thể chưa được sạch lắm, cần kết hợp với các phương pháp khác
Caprylic acid	Hữu ích với IgG từ tất cả các nguồn và các mẫu	Rẻ, thuận tiện đối với một lượng lớn và cũng dễ làm	Tạo ra kháng thể không sạch và cần kết hợp với các kỹ thuật khác
DEAE	Có ích cho việc đậm đặc và làm sạch một phần kháng thể từ tất cả các nguồn và các mẫu	Rẻ, thuận tiện đối với một lượng lớn và cũng dễ làm	Tạo ra kháng thể không sạch và cần kết hợp với các kỹ thuật khác
Hydroxyapite	Có ích cho tất cả các kháng thể từ các nguồn	Đậm đặc, không thẩm tích kháng thể và kháng thể được phục hồi trong dạng dùng ngay	Sinh ra kháng thể không sạch lắm
Lọc gel	Thích hợp cho IgM từ tất cả các nguồn	Tách IgM từ các kháng thể khác trong huyết thanh đa dòng	Khả năng thấp và cần pha loãng. Kháng thể tạo ra không sạch.
Ammonium	Ascites, polyclonal	Tạo kháng thể gần như sạch, rẻ và thuận tiện với lượng lớn	Trải qua nhiều giai đoạn.
Caprylic acid Sunphat amon	Ascites, polyclonal sera	tạo ra kháng thể gần như sạch, rẻ và thuận tiện với lượng lớn	Trải qua nhiều giai đoạn.
Protein A	IgG liên kết với protein A từ tất cả các nguồn	Tạo ra kháng thể sạch, các bước làm đơn giản và phù hợp với lượng lớn	Rất đắt tiền và không phù hợp cho tất cả các mẫu và các lớp
Cột ái lực kháng	Polyclonal sera	Tạo ra kháng thể sạch và sản sinh ra kháng	Đắt tiền, tốn nhiều bước và đòi hỏi

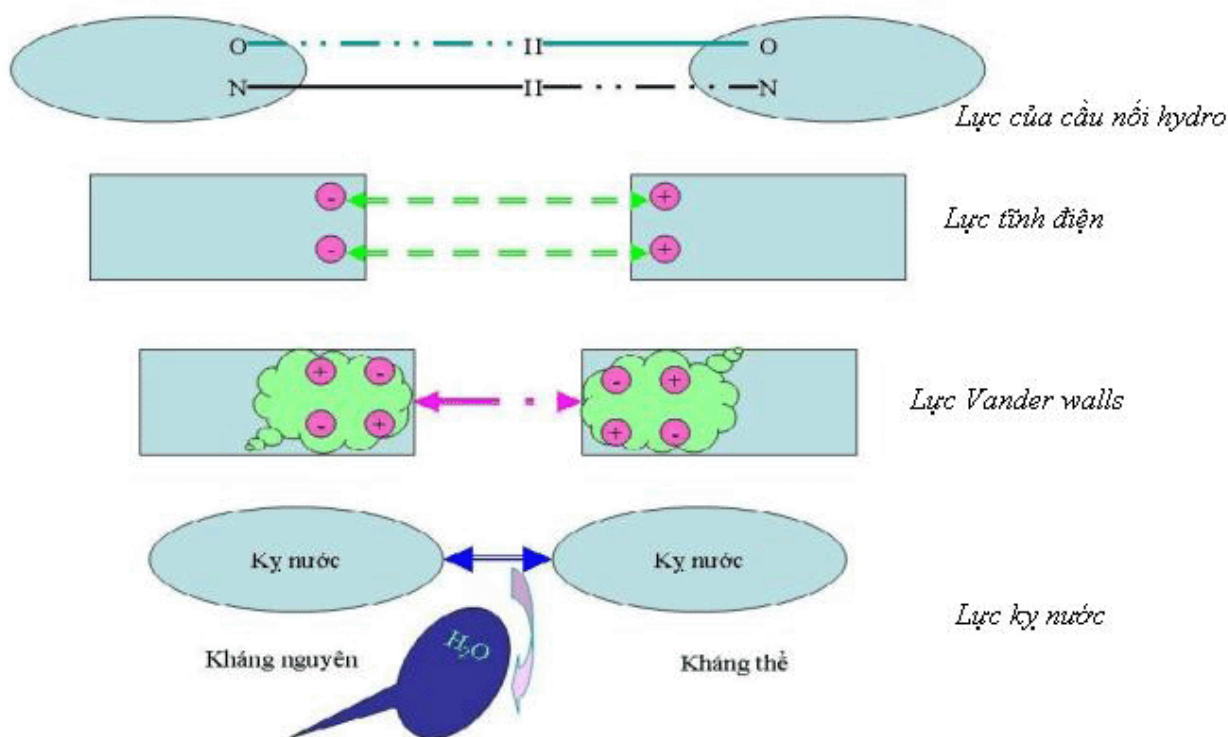
nguyên		thể đặc hiệu	kháng nguyên sạch
Cột ái lực chống Ig	Kháng thể chuột, cừu và dê. Kháng thể lớp dưới lớp đặc hiệu từ huyết thanh đơn dòng và kháng thể đơn dòng ở chuột	Tạo ra kháng lớp và mẫu đặc hiệu	Đắt và tốn nhiều bước.

IV. Phản ứng kết hợp kháng nguyên-kháng thể

Nhiều phản ứng miễn dịch phụ thuộc vào phản ứng kháng nguyên-kháng thể. Kháng thể phản ứng đặc hiệu với kháng nguyên kích thích sinh ra nó. Do kháng thể có trong huyết thanh nên những nghiên cứu *in vitro* về tương tác giữa kháng nguyên và kháng thể có sử dụng huyết thanh được gọi là huyết thanh học. Vì kháng thể không nhìn thấy được bằng mắt thường nên kháng thể chỉ có thể được xác định khi chúng gắn với kháng nguyên đặc hiệu. Phản ứng kháng nguyên-kháng thể có thể được xác định thông qua sự kết tủa, sự ngưng kết, sự cố định bổ thể, sự phát huỳnh quang, hoạt tính enzym hay gắn với đồng vị phóng xạ. Có nhiều phương pháp khác nhau để xác định mối tương quan giữa kháng nguyên và kháng thể.

1. Cơ chế kết hợp kháng nguyên-kháng thể

Khi đem kháng thể trộn với kháng nguyên đặc hiệu tương ứng thì hai thứ sẽ kết hợp với nhau, nhiều khi có thể thấy được bằng mắt thường dưới hình thức lên bông, kết tủa hay ngưng kết. Sự kết hợp này dù không phải là liên kết đồng hóa trị nhưng lại có nhiều lực tác dụng vì thế chúng cũng trở nên khá mạnh. Chúng phụ thuộc vào khoảng cách giữa hai phân tử:



Hình 0.8. Các lực liên kết kháng nguyên-kháng thể

- *Lực tĩnh điện* được thực hiện giữa một nhóm mang điện của paratop với một nhóm mang điện trái dấu trên epitop, ví dụ, giữa COO^- và NH_3^+ . Lực này đòi hỏi một khoảng cách thích hợp giữa hai nhóm để đạt trị số tối đa. Vì thế, nó tỉ lệ nghịch với bình phương khoảng cách ($1/d^2$), nên nếu khoảng cách tăng thì lực này giảm đi rất nhanh. Do đó, giữa kháng thể và kháng nguyên phải đủ gần thì mới phát huy được tác dụng (hình 3.7).
- *Lực của cầu nối hydro* tạo ra giữa nguyên tử H^+ trên phân tử kháng nguyên hay kháng thể với O_1^- hay N_1^- . Lực này tùy thuộc vào các axit amin đối diện nhau, bởi vì thực chất nó cũng là lực hút tĩnh điện (hình 3.7).
- *Lực kỵ nước* do sự kết hợp giữa các nhóm kỵ nước trên phân tử kháng nguyên và kháng thể làm cho phân tử nước không xen vào giữa được và bị đẩy ra ngoài. Người ta cho rằng, lực này chỉ phối 50% lực liên kết giữa kháng nguyên và kháng thể (hình 3.7).
- *Lực Vander Walls* do đám mây điện tử quanh nguyên tử theo tỷ lệ $1/d^7$ (hình 3.7)

Như vậy, các lực trên nếu riêng lẻ thì hoàn toàn không đủ mạnh để chống lại va chạm do chuyển động nhiệt. Do đó, chúng phải liên kết lại với nhau thì mới có thể tạo thành phức hợp kháng nguyên- kháng thể. Ngoài ra, các cấu hình paratop phải phù hợp cao độ với epitop sao cho các lực ấy đồng thời xuất hiện, khoảng cách giữa hai bên phải thích hợp để các lực cùng đạt giá trị cực đại.

a. Tính chất chung của sự kết hợp

- *Tính đặc hiệu*: một vị trí kháng thể chỉ có thể kết hợp với một epitop kháng nguyên mà thôi và mang tính chất đặc hiệu.

- **Tính khả hồi:** phức hợp kháng nguyên-kháng thể có thể bị tách ra bởi nhiệt độ, khi toan hóa môi trường ($\text{pH} < 3$) hay tăng hàm lượng ion. Như vậy, liên kết kháng nguyên-kháng thể là khả hồi và có thể tách kháng thể ra khỏi kháng nguyên *in vitro* ngay khi đã hình thành *in vitro*. Thí dụ, tiến hành tách kháng thể từ hồng cầu để xác định tính đặc hiệu của các kháng thể tự miễn chống hồng cầu.

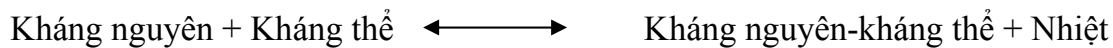
b. Định tính và định lượng kháng thể

Khía cạnh định tính

Tính phản ứng của một kháng thể được đặc trưng bởi ái tính và háo tính:

Ái tính của kháng thể đối với một kháng nguyên đặc hiệu là cường độ của các lực liên kết phức hợp kháng thể-kháng nguyên. Nó càng mạnh khi tính bổ sung ba chiều càng chặt chẽ giữa vị trí kết hợp kháng thể với epitop kháng nguyên. Kết quả là các lực hút nhau mới có điều kiện phát huy hết sức kéo sát các phân tử lại với nhau.

Mối liên kết giữa kháng nguyên và kháng thể là một cân bằng có thể viết như sau:



Hằng số liên kết bên trong hay là hằng số ái tính đánh giá ái tính đối với kháng nguyên được viết như sau:

$$K = (\text{nồng độ của phức hợp KN-KT}) / ((\text{nồng độ KN tự do}) \cdot (\text{nồng độ KT tự do}))$$

Kháng thể ái tính cao/kháng nguyên (10^{10} đến $10^{13} \text{ l.mol}^{-1}$)

Kháng thể ái tính thấp/kháng nguyên (10^7 đến $10^{10} \text{ l.mol}^{-1}$)

Rexecto tế bào/hormon (10^9 đến $10^{11} \text{ l.mol}^{-1}$)

Chất tải huyết thanh/hormon (10^9 đến $10^{11} \text{ l.mol}^{-1}$)

Enzym/cơ chất (10^4 đến 10^6 l.mol^{-1})

Albumin/thuốc (10^4 đến 10^6 l.mol^{-1})

Giá trị cao của các hằng số liên kết các phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể cho phép giải thích độ nhạy cảm của các kỹ thuật định lượng miễn dịch.

Háo tính của một kháng thể đối với một kháng nguyên đặc hiệu quyết định tốc độ xuất hiện hiện tượng kết tủa, ngưng kết hay một phản ứng kháng nguyên-kháng thể nào khác. Háo tính này phụ thuộc vào hằng số liên kết, hóa trị của kháng thể, số epitop, nhiệt độ, pH và lực ion của môi trường. Trong quá trình miễn dịch, ái tính và háo tính của kháng thể tăng vì trong kháng thể càng về sau càng xuất hiện nhiều vị trí kết hợp và tính bổ cứu với epitop càng chặt chẽ.

Khía cạnh định lượng

Có thể định lượng một kháng thể khi có một kháng nguyên tinh khiết hoặc thuần nhất. Người ta có thể dựng một đường biểu diễn so sánh chuẩn từ một dung dịch kháng nguyên đã biết với một huyết thanh miễn dịch đa giá hay từ một kháng thể đơn dòng đặc hiệu với kháng nguyên ấy. Nhìn chung, việc định lượng một kháng thể trong một huyết thanh theo đúng nghĩa khoa học thì không làm được vì lý do kháng nguyên thường có nhiều epitop

khác nhau. Trong cùng một kháng huyết thanh đa dòng, có nhiều kháng thể đặc hiệu đối với cùng một kháng nguyên tạo thành một phức hợp với những phân tử có ái tính khác nhau. Chỉ có những kháng nguyên đơn dòng thuần nhất về tính chất lý học và kết hợp với cùng một epitop thì mới có thể cho phép tiến hành một định lượng thật sự.

Trên thực tế, việc xác định hàm lượng một kháng thể hay kháng nguyên thường chỉ là bán định lượng bằng cách pha loãng dần chất phản ứng định đo theo hệ số hai, rồi cho thêm vào đó chất phản ứng ở nồng độ không thay đổi. Kết quả được biểu diễn bằng độ pha loãng cuối cùng mà còn thấy phản ứng dương tính hoặc bởi hiệu giá là số đảo của độ pha loãng ấy. Tuy nhiên, phương pháp này ít chính xác. Khi cần đánh giá nồng độ kháng thể trong hai mẫu huyết thanh thì chỉ có thể coi như là sự khác biệt có ý nghĩa khi có sự khác trên hai độ pha loãng mà phải được làm trong cùng một điều kiện thí nghiệm.

c. Các loại phản ứng kháng nguyên-kháng thể

Một số phản ứng kháng nguyên-kháng thể có thể quan sát được khi làm thí nghiệm như kết tủa hay ngưng kết các phức hợp kháng nguyên-kháng thể. Đồng thời, cũng thấy sự ly giải của kháng nguyên đích. Tuy nhiên, cũng có một số phản ứng kháng nguyên-kháng thể không nhìn thấy trực tiếp được. Khi đó, người ta phải dùng những mẹo thực nghiệm để phản ứng có thể biểu lộ ra như đánh dấu kháng thể bằng chất huỳnh quang, bằng một chất đồng vị phóng xạ hay bằng một enzym.

2. Kết quả sinh học của phản ứng kết hợp kháng nguyên-kháng thể

Khi bị kháng thể kết hợp, kháng nguyên không bị biến đổi về mặt cấu trúc hóa học nhưng bị thay đổi về mặt tính chất sinh học. Vi khuẩn hay vi-rút mang kháng nguyên khi bị kháng thể đặc hiệu kết hợp sẽ mất khả năng nhân lên làm rối loạn chuyển hóa nội bào, thoái biến và dễ bị thực bào hay bổ thể tiêu diệt.

a. Làm bất hoạt các phân tử có hoạt tính

Các phân tử kháng nguyên có hoạt tính nhưng khi bị kháng thể kết hợp thì sẽ mất đi hoạt tính. Cơ chế để khử hoạt tính kháng nguyên của kháng thể có thể là: (i) tại kháng thể kết hợp tại vị trí hoạt động của phân tử kháng nguyên làm vị trí này bị che phủ nên không thể tiếp xúc được đối tượng tác động nữa; (ii) cấu hình của vị trí có hoạt tính bị biến dạng làm cho nó không còn đặc hiệu nữa và (iii) phân tử có hoạt tính đã thay đổi về hình thể không gian. Từ lâu, người ta đã biết sản xuất kháng thể chống độc tố như uốn ván, bạch hầu dùng trong phòng bệnh và điều trị. Trong bệnh lý, kháng thể chống insulin, thyroglobulin gây suy giảm chức năng của tuyến tụy, tuyến giáp. Kháng thể chống enzym có tác dụng khử hoạt tính enzym.

b. Bất hoạt vi-rút

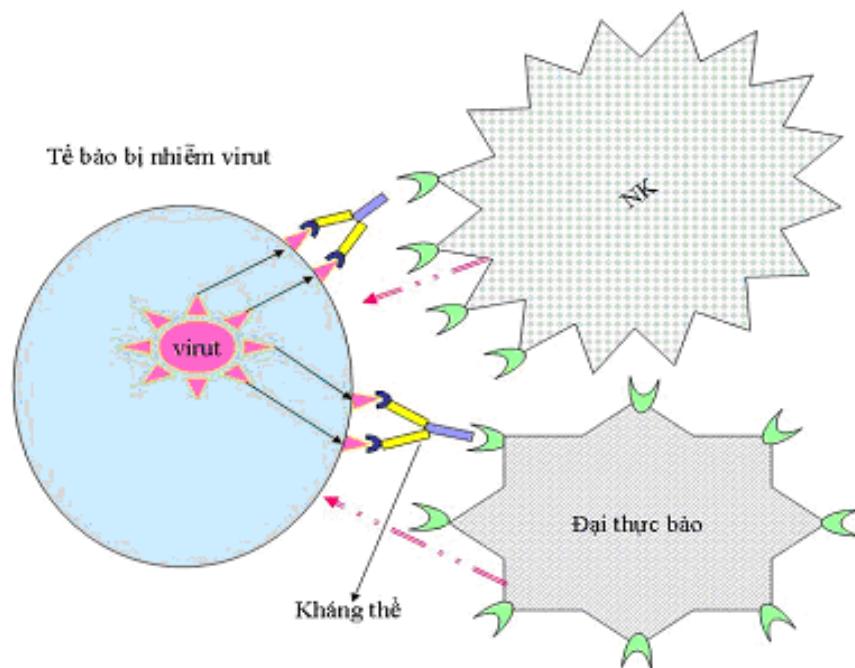
Kháng thể làm cho vi-rút mất khả năng kết hợp với thụ thể của tế bào đích, nên không thâm nhập được vào nội bào và sẽ nhanh chóng chết ở ngoại bào. Cơ chế này được dùng để đánh giá hiệu lực kháng thể bằng cách nuôi cấy tế bào đích với vi-rút và kháng thể. Nếu kháng thể có hiệu lực thì tế bào đích sẽ không chết. Trường hợp vi-rút đã lọt vào nội bào, kháng thể vẫn có khả năng gây bất hoạt chúng theo một cơ chế khác. Vi-rút tồn tại và phát triển trong

tế bào sẽ hình thành một số kháng nguyên đưa lên bề mặt tế bào và bị kháng thể kết hợp. Mặc dù kháng thể không trực tiếp tiêu diệt vi-rút nhưng có tác dụng hấp dẫn đại thực bào và tế bào NK đến tiêu diệt cả tế bào nhiễm lẫn vi-rút chứa bên trong. Đây là cơ chế gây độc tế bào thông qua kháng thể (hình 3.8).

c. Bất hoạt vi khuẩn, ký sinh trùng hay ấu trùng ký sinh trùng

Khi kết hợp với kháng thể thì xoắn khuẩn sẽ mất khả năng di động và tốc độ nhân lên của vi khuẩn bị giảm đi một cách rõ rệt hoặc mất hẳn (không tạo được khuẩn lạc khi nuôi cấy trong môi trường thạch). Các quá trình trao đổi chất qua màng và chuyển hóa nội bào bị rối loạn hay gián đoạn và thậm chí bị dừng hẳn làm cho vi khuẩn bị chết.

Các ký sinh trùng đơn bào và một ký sinh trùng số đa bào như sốt rét, amip, giun chỉ,... cũng bị kháng thể diệt trực tiếp và cũng theo cơ chế diệt vi khuẩn. Nhiều loại ấu trùng giun, sán bị IgG và IgA ở ruột làm chậm hay ngừng phát triển, giảm tỷ lệ nở và trưởng thành hoặc không thâm nhập được qua niêm mạc ruột. Sự kết hợp này sẽ tạo điều kiện cho bạch cầu ưa axit và đại thực bào tiêu diệt chúng.



Hình 0.9. Kháng thể tiêu diệt vi-rút nội bào

d. Tập trung kháng nguyên

Bằng cách gây tủa hay gây ngưng kết, kháng thể có vai trò làm cho kháng nguyên từ dạng phân tán trở thành dạng tập trung để hạn chế khả năng lan rộng của kháng nguyên. Đồng thời, tạo điều kiện quy tụ các biện pháp bảo vệ không đặc hiệu vào nơi kháng nguyên tập trung.

Tài liệu tham khảo

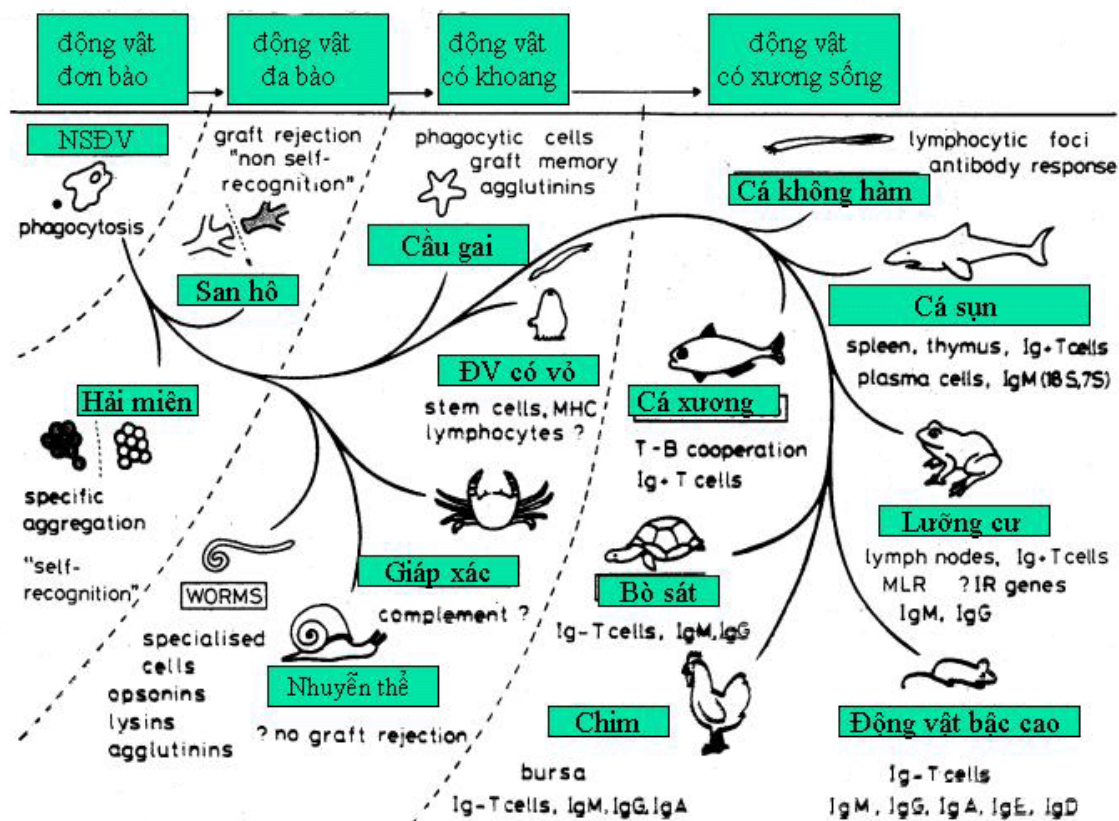
1. Vũ Triệu An và Jean, C.H. 2001. *Miễn dịch học*. Nhà xuất bản Y học.
2. Nguyễn Lâm Dũng. 2001. *Vi sinh vật học*. Nhà xuất bản Giáo Dục.
3. Lê Huy Kim. 1998. *Bài giảng miễn dịch học thú y*. Khoa Nông Nghiệp- Đại học Cần Thơ.
4. Nguyễn Ngọc Lành và ctv.1997. *Miễn dịch học*. Nhà xuất bản y học.
5. Madigan, M.T., Martinko, J.M. and Parker, J., 2002. *Biology of Microorganisms*. Tenth edition, Prenhall.
6. Đỗ Ngọc Liên, 1999. *Miễn dịch học cơ sở*. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Hà nội.

Phần hai: MIỄN DỊCH Ở ĐỘNG VẬT THỦY SẢN

Chương 4: Miễn dịch học ứng dụng trong thủy sản

I. Tiến hoá hệ miễn dịch của động vật

Mọi sinh vật đều có khả năng tự vệ nhằm chống lại sự xâm nhập của bất kì một vật lạ nào từ bên ngoài. Khả năng đấu tranh sinh tồn vốn có ở mọi sinh vật, trong đó quá trình đáp ứng miễn dịch là quan trọng và phức tạp nhất (hình 4.1).



Hình 0.1. Sự tiến hoá miễn dịch ở động vật

Từ những sinh vật tiến hóa thấp nhất trong sinh giới, chưa có cấu tạo tế bào hoàn chỉnh như nhóm nguyên sinh động vật đã có những thể hiện khả năng tự bảo vệ cơ thể. Ví dụ quá trình thực bào để bắt các vật lạ làm thức ăn ở amip, sự thải loại mảnh ghép ở san hô, hiện tượng dung nạp duy nhất các cá thể cùng chủng loại để tạo thành một khối quần thể ở hải miên. Nhóm động vật có khoang thì tiến hóa hơn nên các dấu hiệu về đáp ứng miễn cũng bắt đầu thể hiện rõ nét hơn như nhóm cầu gai đã xuất hiện các tế bào tham gia vào quá trình thực bào, có khả năng nhớ các mảnh ghép và những phân tử gây dính. Nhóm mực thể hiện rõ các

tế bào gốc, cấu trúc của phân tử MHC và các lympho bào. Ở giáp xác, vai trò của bộ thể cũng được thể hiện rõ trong quá trình đáp ứng miễn dịch (hình 4.1).

Ở nhóm giun đã xuất hiện các tế bào chuyên biệt như opsonin, lysin và những phân tử gây dính. Ở nhuyễn thể mặc dù có sự tiến hóa cao hơn nhưng xu hướng về đáp ứng miễn dịch lại chậm đi, thể hiện rõ nét nhất là không xảy ra hiện tượng thải loại mảnh ghép. Lớp cá là lớp tiến hóa nhất và có cấu trúc của hệ thống miễn dịch hoàn chỉnh nhất ở thủy sinh vật. Đầu tiên là nhóm cá không hàm đã có hệ thống các tế bào lympho và vai trò của kháng thể. Nhóm cá sụn thì đã xuất hiện các cơ quan sinh miễn dịch như lách, tuyến ức, Ig, tế bào T, tế bào plasma, IgM. Nhóm cá xương thì đã có quần thể tế bào T, tế bào B và Ig (hình 4.1). Động vật lưỡng cư có Ig, tế bào T, IgM, IgG. Lớp chim thì có túi bursa, Ig M, IgG, IgA. Cuối cùng là động vật bậc cao thì có đầy đủ 5 loại kháng thể IgA, IgA, IgM, IgE, IgD.

II. Đáp ứng miễn dịch ở giáp xác

Trong hệ thống miễn dịch của giáp xác thiếu những yếu tố cần thiết cho đáp ứng miễn dịch đặc hiệu như tế bào lympho T, phân tử MHC và Ig cho nên sự đề kháng cơ thể ở giáp xác chủ yếu dựa vào các cơ chế đáp ứng miễn dịch không đặc hiệu. Đáp ứng miễn dịch không đặc hiệu ở giáp xác được thực hiện chủ yếu bởi các tế bào máu chuyên hoá như thực bào (bảng 4.1), quá trình phong tỏa và sự sản sinh các chất kháng khuẩn hay diệt khuẩn.

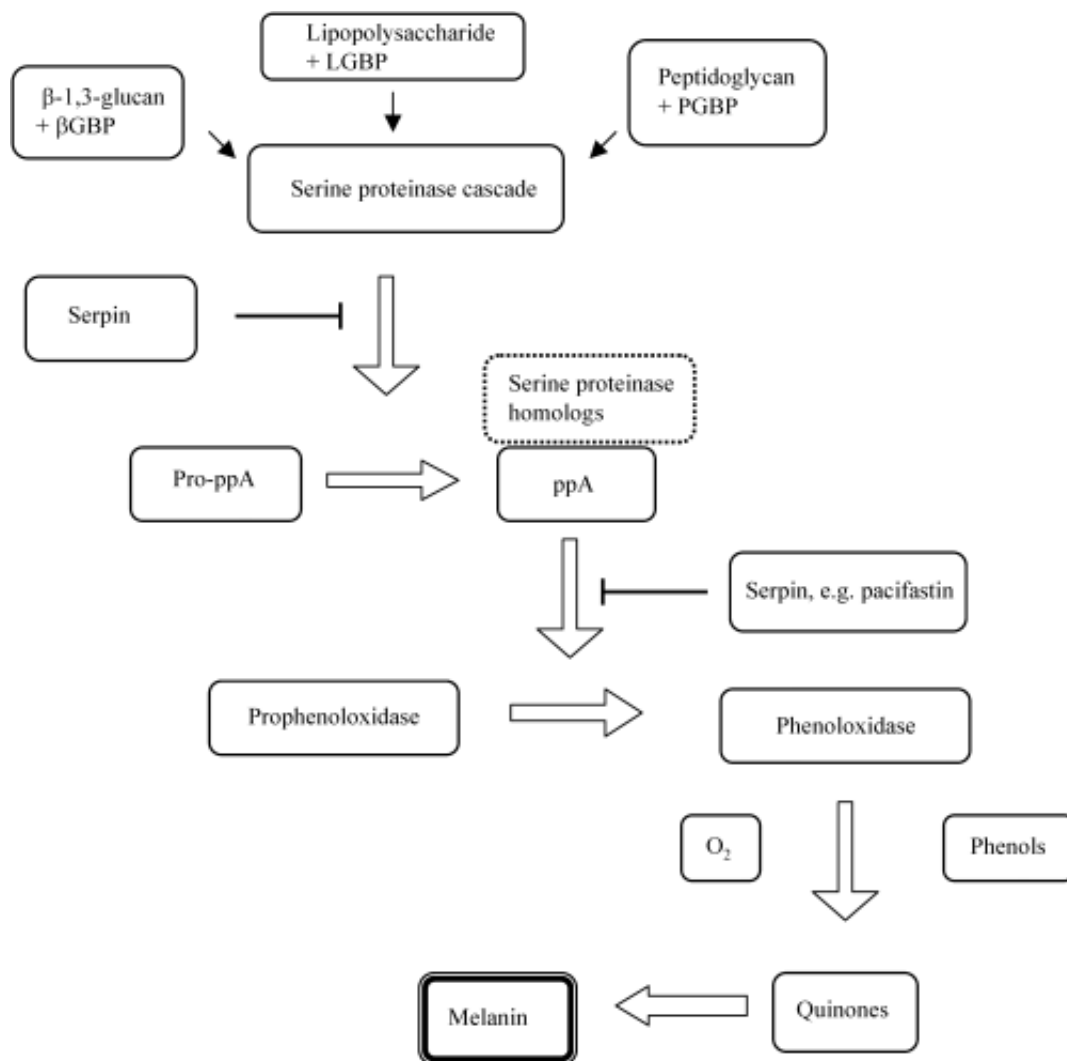
Bảng 0.1. Các dạng bạch cầu ở giáp xác và chức năng trong đáp ứng miễn dịch

Bạch cầu	Chức năng			
	Thực bào	Phong tỏa	Độc tế bào	Hoạt hóa hệ thống ProPO
Không hạt	Có	Không	Chưa biết	Không
Bán hạt	Hạn chế	Có	Có	Có
Có hạt	Không	Rất hạn chế	Có	Có

Ở giáp xác, ngoài các cơ chế đáp ứng miễn dịch tự nhiên tương tự như ở động vật có xương sống chúng còn có một số cơ chế đáp ứng miễn dịch khá đặc thù là khả năng hình thành khối u, khả năng phong bế, khả năng sản sinh các protein kháng khuẩn (còn gọi là các peptit kháng khuẩn, phản ứng đông máu có thể bị kích thích bởi LPS của vi khuẩn, khả năng sử dụng các enzym thủy phân, các chất kháng với nguyên sinh động vật và đặc biệt là hệ thống Prophenoloxylase.

Hệ thống Prophenoloxylase

Cơ chế của quá trình Phenoloxylase được trình bày ở hình 4.2. Khi vi sinh vật hay vật chất lạ vượt qua được hàng rào vật lý để lọt vào trong cơ thể của giáp xác thì chúng gặp phải bạch cầu, hiện tượng thực bào xảy ra sẽ làm kích hoạt enzym protease có trong huyết thanh. Enzym này cùng với hiện tượng thực bào xảy ra ở bạch cầu là tín hiệu để kích hoạt men prophenoloxylase thành dạng hoạt hóa phenoloxylase.



Hình 0.2. Cơ chế hoạt hoá hệ thống ProPO

Khi men này hoạt hóa thì nó sẽ chi phối quá trình sản sinh ra quinone melanin một cách mạnh mẽ và tập trung ngay nên sinh vật hay vật lạ tấn công vào và bao lấy chúng. Kết quả của quá trình này thường là hiện tượng melanin hoá trên vỏ cutin của giáp xác (hình 4.3).

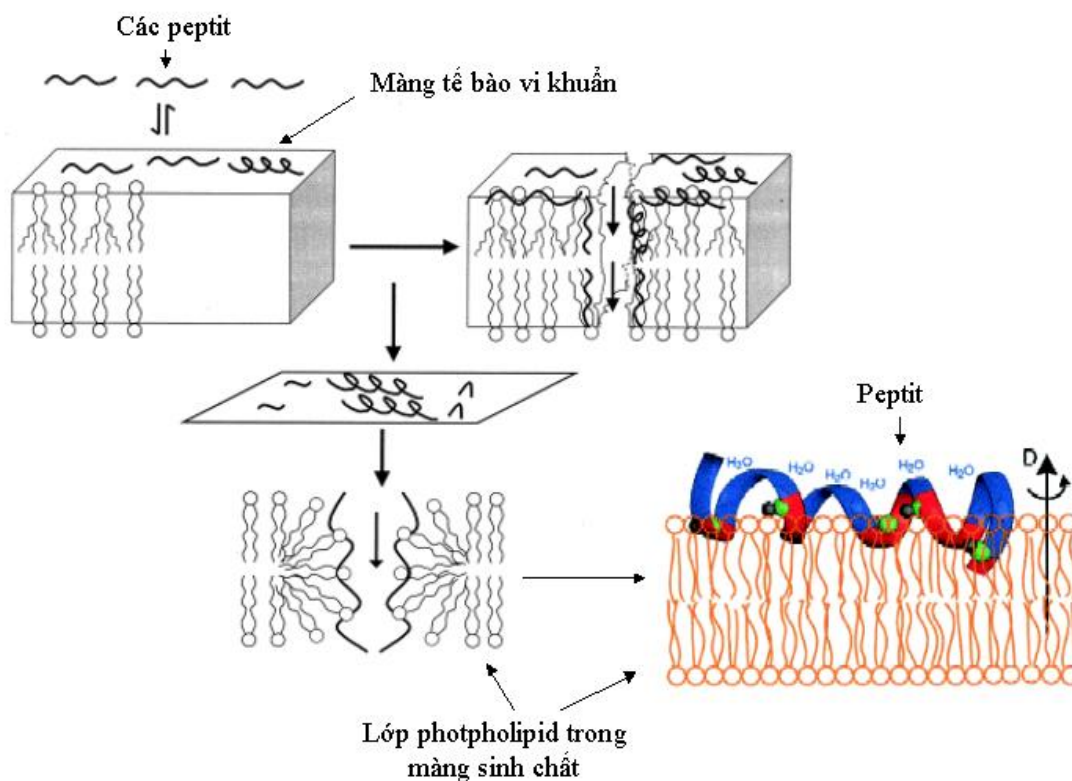
Ngoài ra, khi enzym protease hoạt động nó còn kích thích quá trình opsonin hoá để thu hút các thực bào tập trung lại chỗ ấy. Vì thế, thúc đẩy hiện tượng thực bào được diễn ra một cách mạnh mẽ hơn.



Hình 0.3. Các vết đen là nơi vỏ cutin của tôm bị viêm, loét và melanin hoá

Các peptit kháng khuẩn (antimicrobial peptides-AMPs)

Peptit kháng khuẩn là một dạng đáp ứng miễn dịch tự nhiên phổ biến ở thực vật, động vật có và không có xương sống. Chúng có khả năng kháng khuẩn, kháng độc tố và có vài trường hợp có khả năng kháng nấm.



Hình 0.4. Cơ chế chui qua màng tế bào vi khuẩn của các peptit kháng khuẩn.

Peptit kháng khuẩn là những phân tử nhỏ từ 15-75 amino axit (hình 4.4) có khả năng tương tác trực tiếp với bề mặt tế bào vi sinh vật tạo nên những lỗ thủng và làm chết tế bào vi sinh vật (hình 4.4). Cấu trúc đặc biệt của chúng làm cho vi sinh vật khó có thể phát triển khả năng kháng như trường hợp kháng thuốc kháng sinh và do sự khác nhau về cấu tạo màng tế bào vi sinh vật và màng tế bào vật chủ nên các peptit kháng khuẩn có thể tiêu diệt mầm bệnh mà không làm hại đến vật chủ.

III. Đáp ứng miễn dịch ở cá xương

1. Cơ chế bảo vệ không đặc hiệu

a. Các hàng rào bề mặt

Dịch nhớt: là một yếu tố đặc thù và bao phủ toàn cơ thể của cá. Dịch nhớt không những giúp cá giảm được ma sát trong quá trình vận chuyển mà còn đóng vai trò quan trọng trong quá trình bảo vệ cơ thể chống lại sự xâm nhập của vi sinh vật hay các vật lạ từ môi trường vào cơ thể cá. *Ví dụ*, hiện tượng tuột nhớt trên cá bóng tượng sẽ làm cho cá dễ nhiễm bệnh hơn.

Da: da cá tương đối khác với các động vật trên cạn là không hoá sừng, nhưng khả năng phục hồi của da rất nhanh do sự hình thành lớp tế bào Malpighi huy động từ vùng lân cận. Phản ứng phôi đại các tế bào Malpighi và lớp biểu bì cũng rất nhanh, giúp cho da trở thành một hàng rào vật lý tương đối vững chắc để bảo vệ cơ thể. Ngoài ra, ở một loài cá có vảy thì chính hệ thống này sẽ bảo vệ da và cơ thể cá được vững chắc hơn.

Mang: là cơ quan đặc biệt và khác hẳn với các động vật trên cạn. Mang là nơi thực hiện quá trình hô hấp cơ bản của cá, cũng là nơi tiếp xúc thường xuyên với các sinh vật của bên ngoài môi trường. Cho nên, mang là con đường xâm nhiễm quan trọng của mầm bệnh. Tuy nhiên, ở mang thì có sự tập trung của đại thực bào rất cao. Nó cũng được bao phủ bởi dịch nhớt và sự xuất hiện của các tế bào Malpighi giúp cho mang có khả năng thực hiện được chức năng chống lại các sinh vật từ bên ngoài môi trường

b. Yếu tố miễn dịch không đặc hiệu

Hệ thống miễn dịch không đặc hiệu của cá cũng bao gồm các nhân tố ức chế sinh trưởng như transferin, interferon, lysin trong bồ thể, protein phản ứng C và lectin. Hàng rào tế bào như đại thực bào, bạch cầu trung tính, bạch cầu ái toan và ái kiềm cũng đóng một vai trò rất quan trọng trong đáp ứng miễn dịch đặc hiệu ở cá. Tuy nhiên, sự hiểu biết về chức năng và cơ chế hoạt hoá các tế bào này ở cá còn hạn chế so với ở người và động vật bậc cao.

2. Cơ chế bảo vệ đặc hiệu

a. Cơ quan lympho

Thận được xem là cơ quan lympho ngoại vi ở cá, nơi xảy ra quá trình bắt giữ, xử lý và trình diện kháng nguyên cho hệ thống đáp ứng miễn dịch. Hệ thống miễn dịch của cá xương thì được hình thành tương đối hoàn chỉnh hơn ở giáp xác, nó có cả đáp ứng miễn dịch đặc hiệu lẫn không đặc hiệu. Các tế bào lympho tham gia vào quá trình đáp ứng miễn dịch cũng có nguồn gốc và chức năng gần giống như động vật trên cạn. Trong quá trình đáp ứng miễn dịch thì vẫn có sự tạo thành kháng thể dạng Sig (xem bảng 4.2), các thông tin này cũng được ghi nhớ lại để sẵn sàng cho việc tạo kháng thể trong lần tiếp xúc sau với kháng nguyên.

Bảng 0.2. Đặc điểm Ig của cá xương

Nồng độ trong huyết thanh (mg/ml)	2-7
% tổng số protein huyết thanh	6-15
Thời gian bán huỷ trong máu (ngày)	12-16
Hằng số lắng (s)	
Tetramer	13-17
Monomer	7
Khối lượng phân tử (kDa)	
Tetramer	650-850
Monomer	160
Chuỗi nặng	70-75
Chuỗi nhẹ	20-25
Hàm lượng cacbonhydrat	Tối đa 16%

b. Đáp ứng miễn dịch dịch thể

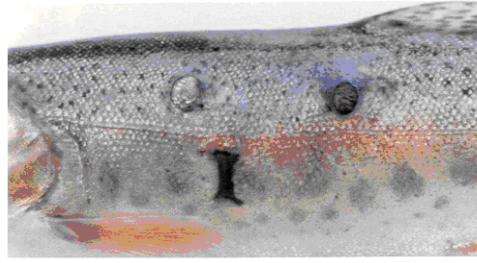
Khi kháng nguyên xâm nhập vào trong cơ thể cá thì sẽ bị các tế bào trình diện kháng nguyên bắt giữ, xử lý và trình diện yếu tố quyết định kháng nguyên lên bề mặt làm kích hoạt các tế bào lympho T. Sau đó, tế bào lympho T sẽ tác động lên lympho bào B, chuyển tế bào này thành tương bào để sản sinh ra kháng thể. Tương bào bắt đầu xuất hiện và số lượng tăng mãnh liệt trong lách và thận khoảng 1 tuần sau khi có kích thích của kháng nguyên. Kháng thể huyết thanh thường xuất hiện ngay trước thời điểm số lượng tương bào đạt cực đại khoảng ngày thứ 10-15 và hàm lượng Ig tăng lên mãnh liệt để đạt cực đại khoảng ngày thứ 20-30 sau khi tiêm kháng nguyên. Như vậy, So với động vật có vú, pha miễn cảm ở cá kéo dài hơn, nhưng thời gian duy trì hàm lượng kháng thể lại lâu dài hơn.

c. Miễn dịch qua trung gian tế bào

Các đặc điểm miễn dịch qua trung gian tế bào ở động vật có vú đều có ở cá, tuy nhiên hệ thống này chưa được nghiên cứu kỹ ở cá. Các phản ứng thải loại mảnh ghép ở cá xương là cấp tính (hình 4.5) nhưng chưa rõ cơ chế.

d. Đáp ứng miễn dịch cục bộ ở mang

Mang đóng vai trò quan trọng trong việc tiếp thụ kháng nguyên, đặc biệt là các kháng nguyên không hoà tan. Ở mang có rất nhiều tế bào lympho, đại thực bào và tương bào cư trú. Mang có khả năng sản xuất kháng thể tại chỗ đóng vai trò đề kháng quan trọng đối với các bệnh ở mang do vi khuẩn.



Hình 0.5. Hiện tượng thải loại mảnh ghép ở cá hồi

e. Đáp ứng miễn dịch cục bộ ở da

Ig đã được phát hiện trong dịch nhớt ở da cá. Có bằng chứng cho thấy chúng không có nguồn gốc từ kháng huyết thanh và được giả định rằng đây là các sản phẩm được sản xuất tại chỗ. Đồng thời cũng có sự hiện diện của tế bào lympho, tương bào và đại thực bào ở lớp biểu bì da cá. Sự có mặt của các tế bào này ở da cá cho thấy việc hình thành phản ứng miễn dịch cục bộ có thể xảy ra ở đây.

f. Đáp ứng miễn dịch cục bộ ở dịch nhầy

Khi gây miễn dịch bằng cách ngâm hoặc cho ăn có thể kích thích việc hình thành kháng thể trong lớp dịch nhầy mà không làm gia tăng kháng thể trong huyết thanh. Ở cá chép, đại bộ phận kháng thể dịch nhầy ở da là tetramer. IgM ở dịch nhầy và huyết thanh có các chuỗi nặng và nhẹ giống nhau và đều phản ứng với các kháng thể kháng IgM huyết thanh. Tuy nhiên, một số kháng thể đơn dòng kháng IgM dịch nhầy lại không phản ứng với IgM huyết thanh. Việc sử dụng kháng thể đơn dòng kháng IgM dịch nhầy giúp phát hiện được tế bào sản xuất kháng thể trong mang và ruột ở cá chép được gây miễn dịch bằng cách cho ăn viên nang chứa vi khuẩn *Vibrio* đã bị bất hoạt hoá, nhưng lại không phát hiện được các tế bào này ở cá chép được gây miễn dịch bằng cách tiêm vào cơ. Như vậy ở cá chép, có một dạng IgM chuyên biệt được sản xuất bởi một tiểu quần thể các tương bào trong các mô tiết dịch nhầy.

IV. Nghiên cứu và ứng dụng của vắc-xin trong phòng bệnh thủy sản

1. Định nghĩa vắc-xin

Vắc-xin là chế phẩm có tính kháng nguyên dùng để tạo miễn dịch đặc hiệu chủ động, nhằm tăng sức đề kháng của cơ thể đối với một (số) tác nhân gây bệnh cụ thể. Thuật ngữ vắc-xin xuất phát từ vaccinia, loại vi-rút gây bệnh đậu bò nhưng khi đem chủng cho người lại giúp ngừa được bệnh đậu mùa (tiếng Latinh *vacca* nghĩa là "con bò cái"). Việc dùng vắc-xin để phòng bệnh gọi chung là chủng ngừa hay tiêm phòng hoặc tiêm chủng, mặc dù vắc-xin không những được cấy (chủng), tiêm mà còn có thể được đưa vào cơ thể qua đường miệng.

2. Lịch sử phát triển vắc-xin

Ý tưởng phòng bệnh đã được hình thành cách đây khá lâu, ngay từ thời thượng cổ người Trung Quốc đã dùng vẩy đậu sấy khô, nghiền nhỏ bỏ vào mũi người để phòng bệnh đậu mùa. Thổ dân Châu phi đã dùng thanh kiếm chọc vào phổi của bò đang mắc bệnh viêm phổi, rồi rạch vào da chân của con bò khỏe để phòng bệnh viêm phổi cho bò. Tuy nhiên, Edward Jenner, một bác sĩ người Anh được công nhận là người đầu tiên dùng vắc-xin để ngừa bệnh đậu mùa cho người ngay từ khi người ta còn chưa biết bản chất của tác nhân gây bệnh (năm 1796). Kinh nghiệm dân gian cho thấy những nông dân vắt sữa bò có thể bị lây bệnh đậu bò,

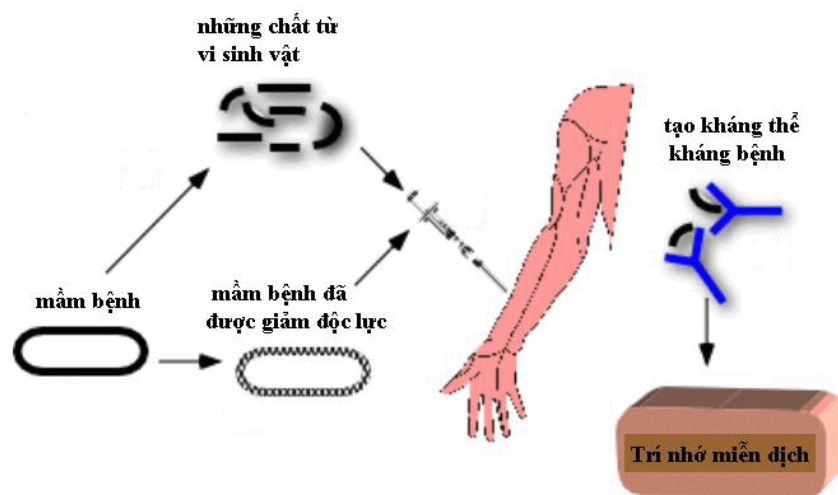
nhưng sau khi khỏi bệnh, họ trở nên miễn nhiễm đối với bệnh này. Dựa vào đó, Jenner chiết lấy dịch từ các vết đậu bò trên cánh tay của một bệnh nhân rồi cấy dịch này vào cánh tay của cậu bé 8 tuổi khỏe mạnh cùng làng tên là James Phipps. Sau đó Phipps có những triệu chứng của bệnh đậu bò. 48 ngày sau, Phipps khỏi hẳn bệnh đậu bò, Jenner liền tiêm chất có chứa mầm bệnh đậu mùa cho Phipps, nhưng Phipps không hề mắc bệnh này. Cách làm của Jenner xét theo các tiêu chuẩn y đức ngày nay thì không phù hợp, nhưng rõ ràng đó là một hành động có tính khai phá vì đưa trẻ được chủng ngừa đã đề kháng được bệnh. Thời của Jenner, các vi-rút chưa được khám phá và vai trò gây bệnh của vi khuẩn chưa được biết. Thời điểm 1798, khi Jenner công bố kết quả thí nghiệm của mình, người ta chỉ hình dung là có các "mầm bệnh" gây nên sự truyền nhiễm.

Tám mươi năm sau, Louis Pasteur với các công trình nghiên cứu về vi sinh học và miễn dịch học đã mở đường cho những kiến thức hiện đại về vắc-xin. Louis Pasteur nghiên cứu bệnh tụ huyết trùng đang tàn sát đàn gà. Ông cấy các vi khuẩn này trong phòng thí nghiệm rồi đem tiêm cho gà. Kết quả là những con gà bị tiêm chết sạch. Mùa hè năm 1878, ông chuẩn bị một bình dung dịch nuôi cấy vi khuẩn dạng huyền phù, rồi để đó, đi nghỉ mát. Khi trở về, ông lại trích lấy huyền phù đó đem tiêm cho gà. Lần này thì bầy gà chỉ bị bệnh nhẹ rồi cả đàn cùng khỏe lại. Pasteur hiểu ra rằng khi ông đi vắng, đám vi khuẩn trong huyền phù đó đã bị biến tính, suy yếu đi. Ông lấy vi khuẩn này (bình thường) đem tiêm cho những con gà vừa trải qua thí nghiệm trên và những con chưa hề bị chích vi khuẩn. Kết quả là những con nào từng được chích vi khuẩn (biến tính) thì có khả năng đề kháng lại mầm bệnh, số còn lại chết hết. Qua đó, Pasteur đã xác nhận các giả thuyết của Jenner và mở đường cho khoa miễn dịch học hiện đại.

Từ đó, chủng ngừa đã đẩy lùi nhiều bệnh như triệt tiêu bệnh đậu mùa trên toàn cầu, thanh toán gần như hoàn toàn bệnh bại liệt, giảm đáng kể các bệnh sởi, bạch hầu, ho gà, bệnh ban đào, thủy đậu, quai bị, thương hàn và uốn ván v.v. Nguyên tắc vẫn không có gì thay đổi là gây miễn dịch bằng một vi khuẩn hoặc vi-rút giảm độc lực, hoặc với một protein đặc hiệu có tính kháng nguyên để gây ra một đáp ứng miễn dịch, rồi tạo một trí nhớ miễn dịch đặc hiệu, tạo ra hiệu quả đề kháng cho cơ thể về sau khi tác nhân gây bệnh xâm nhập với đầy đủ độc tính. Người ta còn hướng tới triển vọng dùng vắc-xin để điều trị một số bệnh còn nan y như ung thư, AIDS v.v.

3. Cơ chế hoạt động của vắc-xin

Cơ chế hoạt động của vắc-xin được thực hiện dựa trên cơ sở của đáp ứng miễn dịch đặc hiệu tiên phát và thứ phát. Hệ miễn dịch trước tiên nhận diện vắc-xin là một vật lạ (kháng nguyên) nên tiến hành các đáp ứng miễn dịch để tiêu diệt kháng nguyên đồng thời cũng ghi nhớ kháng nguyên. Về sau, khi tác nhân gây bệnh thực thụ xâm nhập vào cơ thể cơ thể, hệ miễn dịch đã ở tư thế sẵn sàng để tấn công tác nhân gây bệnh nhanh chóng hơn và hữu hiệu hơn (bằng cách huy động nhiều thành phần của hệ miễn dịch, đặc biệt là đánh thức các tế bào lympho nhớ) (hình 4.6).



Hình 0.6. Cơ chế hoạt động của vắc-xin

4. Phân loại vắc-xin

Vắc-xin có thể là các vi-rút hoặc vi khuẩn sống, giảm độc lực, khi đưa vào cơ thể không gây bệnh hoặc gây bệnh rất nhẹ. Vắc-xin cũng có thể là các vi sinh vật bị bất hoạt, chết hoặc chỉ là những sản phẩm tinh chế từ vi sinh vật.

a. Các loại vắc-xin kinh điển

Vắc-xin bất hoạt là các vi sinh vật gây bệnh bị giết bằng hóa chất hoặc bằng nhiệt (như formaline, β -propiolacton, cồn, nhiệt độ, UV, tia X). Các yếu tố trên chỉ làm chết mầm bệnh nhưng không làm biến tính protein nên vẫn giữ được độc tính của mầm bệnh. Đặc tính của loại vắc-xin này khi đưa vào cơ thể thì chậm sinh ra kháng thể (khoảng 7-14 ngày). Thí dụ: các vắc-xin chống cúm, tả, dịch hạch và viêm gan siêu vi A. Hầu hết các vắc-xin loại này chỉ gây đáp ứng miễn dịch không hoàn toàn và ngắn hạn, cần phải tiêm nhắc nhiều lần. Tuy nhiên độ an toàn của vắc-xin này rất cao.

Vắc-xin sống, giảm độc lực là các vi sinh vật được nuôi cấy dưới những điều kiện đặc biệt nhằm làm giảm đặc tính độc hại của chúng. Đây là loại vắc-xin có tính miễn dịch tức thời và có thể dùng để dập tắt những ổ dịch đang bùng phát. Tuy nhiên, vắc-xin này luôn phải được theo dõi kỹ về độc lực do vi sinh vật rất dễ dàng bị đột biến, nên độ an toàn của vắc-xin này tương đối không ổn định. Vắc-xin này không nên dùng cho các sinh vật có tình trạng suy giảm miễn dịch như *suy dinh dưỡng, đang dùng những chất ức chế miễn dịch...* lý do là trong hoàn cảnh ấy sức đề kháng miễn dịch yếu nên vi sinh vật có khả năng phục hồi lại độc lực và sinh bệnh.

Vắc-xin tái tổ hợp: với công nghệ gen hiện đại, người ta cắt đoạn gen tổng hợp nên protein đặc trưng cho vi sinh vật gây bệnh, ghép gen này vào vi khuẩn hay tế bào nuôi cấy để tạo ra protein đặc hiệu cho mầm bệnh, dùng protein này để tiêm chủng tạo miễn dịch đặc hiệu. Dạng vắc-xin này an toàn, ít tác dụng phụ, khả năng miễn dịch cao. Một điển hình của vắc-xin dạng này là vắc-xin phòng viêm gan vi-rút B thế hệ II và III.

Các "toxoid" là các hợp chất độc bị bất hoạt trích từ các vi sinh vật (trong trường hợp chính các độc chất này là phương tiện gây bệnh của vi sinh vật). Chúng được tiêm cho vật chủ khác (như ngựa) để tạo kháng thể, rồi chiết lấy kháng thể này để chữa bệnh. Thí dụ: các huyết thanh ngựa uốn ván và bạch hầu.

b. Một số loại vắc-xin mới đang nghiên cứu

Các vắc-xin này còn được xem là vắc-xin của tương lai, có 6 hướng phát triển chính hiện nay:

- Sử dụng các tá dược (*adjuvant*) mới, nhằm gây ra loại đáp ứng miễn dịch mong muốn. Thí dụ, chất nhôm phosphate và các oligonucleotide chứa CpG demethyl hóa đưa vào vắc-xin khiến đáp ứng miễn dịch phát triển theo hướng dịch thể (tạo kháng thể) thay vì tế bào.
- Vắc-xin khảm: sử dụng một sinh thể quen biết để hạn chế hiện tượng "phản tác dụng", thí dụ dùng vi-rút vaccinia mang một số yếu tố của vi-rút viêm gan B hay vi-rút dại.
- Vắc-xin polypeptidique: tăng cường tính sinh miễn dịch nhờ liên kết tốt hơn với các phân tử MHC: peptit nhân tạo 1/2 giống vi-rút, 1/2 kia gắn MHC; đoạn peptit mô phỏng 1 quyết định kháng nguyên (*epitop*).
- Anti-idiotypic: idiotypic là cấu trúc không gian của kháng thể tại vị trí gắn kháng nguyên, đặc hiệu với kháng nguyên tương ứng. Anti-idiotypic là các kháng thể đặc hiệu đối với idiotypic, do đó anti-idiotypic xét về mặt đặc hiệu lại tương tự với kháng nguyên. Vậy, thay vì dùng kháng nguyên X làm vắc-xin, người ta dùng idiotypic anti-anti-X.
- Vắc-xin ADN: ADN của tác nhân gây bệnh được biểu hiện bởi tế bào người được chủng ngựa. Lợi thế của vắc-xin này là rẻ, bền, dễ sản xuất ra số lượng lớn nên thích hợp cho những chương trình tiêm chủng rộng rãi. Ngoài ra, chúng còn giúp định hướng đáp ứng miễn dịch là tác nhân gây bệnh ngoại bào được trình diện qua MHC II, dẫn đến đáp ứng CD₄ (đáp ứng miễn dịch dịch thể). Khi kháng nguyên của tác nhân đó được chính cơ thể người biểu hiện, nó sẽ được trình diện qua MHC I, lúc này đáp ứng miễn dịch tế bào qua CD₈ được kích thích. Tuy nhiên phương pháp này là con dao hai lưỡi bởi lẽ tế bào mang ADN lạ có nguy cơ bị nhận diện là "tính lạ", sinh ra bệnh tự miễn.

c. Vắc-xin dùng để điều trị

Một trong những hướng nghiên cứu mới là miễn dịch liệu pháp, bao gồm miễn dịch liệu pháp thụ động và chủ động (tức vắc-xin liệu pháp). Người ta hy vọng là phương pháp này sẽ chữa được những bệnh như ung thư, AIDS và bệnh Alzheimer.

Trong thủy sản, vắc-xin được dùng chủ yếu dưới dạng vắc-xin chết. Tuy nhiên, trong tương lai thì có xu hướng nghiên cứu và phát triển các loại vắc-xin theo các xu hướng:

1. *Tái tổ hợp di truyền*: tổng hợp các ADN có cấu trúc giống như các ADN của các kháng nguyên đã có hiệu lực, sau đó đưa vào cơ thể sinh vật.
2. *Nâng cao tính sinh miễn dịch của kháng nguyên* bằng cách làm lộ ra các yếu tố quyết định kháng nguyên (trình tự axit amin ngắn) với tế bào T.

5. Đặc tính cơ bản của vắc-xin

Vắc-xin khi được sử dụng để tiêm truyền cho vật chủ thì phải đảm bảo bốn đặc tính cơ bản là *tính sinh miễn dịch, tính kháng nguyên, hiệu lực và không độc lực*.

- *Tính sinh miễn dịch*: là khả năng gây ra đáp ứng miễn dịch, dịch thể. Tính này phụ thuộc vào cả kháng nguyên lẫn cơ thể nhận kích thích ấy. Đáp ứng của vật chủ còn tùy thuộc vào loài, đường tiêm truyền và cơ địa của bản thân sinh vật. Thực nghiệm cho thấy, cùng một kháng nguyên nhưng ở những sinh vật khác nhau sẽ cho những đáp ứng khác nhau. Vắc-xin đưa qua niêm mạc sẽ sinh ra nhiều kháng thể IgA có hiệu lực bảo vệ đường tiêu hóa, tiêm qua da rất tốt cho đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào. Đáp ứng miễn dịch còn phụ thuộc vào tuổi, tình trạng sức khỏe của sinh vật.
- *Tính kháng nguyên*: là khả năng gây ra đáp ứng miễn dịch bằng kháng thể dịch thể hay tế bào và phản ứng kết hợp đặc hiệu với nó. Hapten cần phải liên kết với chất mang tải, epitop cần phải kết hợp với một protein mang tải vô hại là các tá chất hay các vắc-xin khác như vắc-xin đậu mùa hay trộn nhiều vắc-xin khác nhau.
- *Tính hiệu lực*: các kháng thể tạo ra không phải cái nào cũng có hiệu lực tiêu diệt được yếu tố gây bệnh. Yếu tố gây bệnh có nhiều kháng nguyên khác nhau nên trong bào chế vắc-xin trước tiên phải làm sao cho đáp ứng miễn dịch chống lại những nhóm quyết định kháng nguyên, nghĩa là đánh vào đó thì yếu tố gây bệnh bị tiêu diệt hay không còn khả năng gây bệnh nữa. Vì thế việc xác định các kháng nguyên hay các yếu tố quyết định kháng nguyên sẽ giúp cho vắc-xin tinh khiết hơn và tiến tới việc tổng hợp nhân tạo các vắc-xin. Ví dụ: *các loại kháng thể do vi-rút viêm gan B sinh ra thì chỉ có kháng thể chống lại kháng nguyên bề mặt HBs là có tác dụng bảo vệ, còn kháng thể chống vỏ nhân HBc không có tác dụng ấy*. Tính hiệu lực được đánh giá trên bình diện cá thể và trên bình diện tập thể thông qua thực nghiệm. Vắc-xin gây được miễn dịch trên 60% thì được coi là có hiệu lực. Trong việc đánh giá quần thể thì hiệu lực của vắc-xin phụ thuộc rất nhiều vào việc bảo quản, vận chuyển và cách sử dụng vắc-xin.
- *Tính vô hại*: vắc-xin cần phải được thử nghiệm nhiều lần trong phòng thí nghiệm trước khi ứng dụng đại trà. Tần suất và mức độ nặng nhẹ của các phản ứng phụ phải được xác định trước khi sử dụng.

6. Yếu tố ảnh hưởng tới vắc-xin và hiệu quả sử dụng vắc-xin

a. Các yếu tố ảnh hưởng

Nhiệt độ: Tính miễn dịch của cá chịu ảnh hưởng của nhiệt độ trong vài giai đoạn nhất định của quá trình hình thành đáp ứng miễn dịch đặc biệt là giai đoạn hoạt hoá tế bào T hỗ trợ. Thông thường, trong phạm vi thích ứng của loài, khi nhiệt độ càng cao thì đáp ứng miễn dịch càng nhanh và cường độ sẽ càng cao. Khi ở nhiệt độ thấp thì giai đoạn lag phase càng kéo dài và lượng kháng thể có thể bị ảnh hưởng, suy giảm hoặc hoàn toàn bị triệt tiêu. Ngoài ra, nhiệt độ thấp còn gây ra hiện tượng ức chế khả năng sản xuất nhân tố hoạt hoá đại thực bào của các tế bào T. Do đó sẽ làm suy yếu cơ chế miễn dịch qua trung gian tế bào. Đồng thời, hiện tượng sụt giảm nhiệt độ đột ngột có thể dẫn đến sự vô cảm miễn dịch. Bản chất của sự ức chế miễn dịch này vẫn chưa được biết rõ.

Tính mùa vụ: Hệ thống miễn dịch của cá có những thời kỳ bị ức chế liên quan đến mùa vụ mà không đơn thuần chỉ do nhiệt độ thấp. Thí dụ, ở cá rô biển *Sebastiscus marmoratus* đáp ứng miễn dịch ở con cái thành thực vào mùa sinh sản (mùa đông) lại thấp hơn con đực và các cá thể chưa thành thực.

Yếu tố kim loại: Các kim loại Nhôm, Arsen, Cadimi, Crôm, Đồng, Chì, Thủy ngân, Nickel, Kẽm... kìm hãm đáp ứng miễn dịch đối với động vật thủy sản. Các ion kim loại sẽ kết hợp với protein miễn dịch tạo thành một phức hợp rất bền. Vì thế sẽ ngăn cản đáp ứng miễn dịch của cơ thể như làm giảm hoạt hoá thực bào, giảm nồng độ kháng thể trong máu, giảm số lượng tế bào lympho và đồng thời sẽ làm tăng tính mẫn cảm với vi-rút và vi khuẩn gây bệnh.

Hydrocacbon thơm: Các hydrocacbon thơm như Phenol, Benzen, Polychlorinated biphenils, Chlorinated dioxin, Polynuclear aromatic hydrocabons (PAHs) gây suy giảm sức đề kháng của cá do làm sụt giảm kháng thể và hoạt tính đại thực bào, làm tăng agglutinin không đặc hiệu. Bởi vì các hydrocacbon thơm sẽ kết hợp vào thụ thể tế bào gây ức chế phản ứng oxy hoá-khử.

Nông dược: Các chất nông dược (như DDT, Endrin, Malathion,...) có khả năng gây hoại tử tuyến ức, làm suy giảm hoạt tính thực bào, giảm số lượng tế bào B và suy giảm hàm lượng Ig. Vì thế, chỉ cần một liều thấp của các chất diệt cỏ, thuốc diệt côn trùng & bảo vệ thực vật,... cũng có thể gây suy giảm đáp ứng miễn dịch của nhiều loài cá.

Ảnh hưởng của hoá dược và thuốc kháng sinh: Các hóa dược và thuốc kháng sinh cũng có tác động kìm hãm đến tính sinh miễn dịch của cơ thể. Trên cá hồi, khi sử dụng Oxytetracyclin thì sẽ làm suy giảm tế bào lympho B, sử dụng Aflatoxin B-1 sẽ làm mất tế bào B nhớ, còn sử dụng Cortisol/Kenalog-40 thì làm giảm số lượng tế bào B. Trên cá chêm ở châu Âu thì sử dụng Hydrocortisone làm giảm tình trạng thực bào.

Sốc: Stress sẽ ảnh hưởng trực tiếp lên thần kinh trung ương, kích thích tiết ra chlomaffin và đồng thời kích thích não thùy tiết ra ACTH. Sau đó ACTH sẽ tác động lên tuyến giáp thận và kích thích tuyến này tiết ra cortisol. Cortisol và chlomaffin sẽ có tác động kìm hãm hệ tuần hoàn, nên hiện tượng tái phân bố năng lượng không được đảm bảo làm ảnh hưởng đến sự sinh sản và sinh trưởng của các đại thực bào. Các cơ quan tái sinh miễn dịch như tuyến ức, tiền thận và lách cũng bị ảnh hưởng làm cho việc sản xuất các tế bào lympho bị sụt giảm. Sự tuần hoàn sẽ ảnh hưởng tới việc vận chuyển các yếu tố đáp ứng miễn dịch tới các cơ quan ngoại vi như mang, da và các cơ quan miễn dịch bị yếu đi, làm cho tác nhân gây bệnh sẽ dễ dàng tấn công hơn.

b. Hiệu quả sử dụng vắc-xin

Cơ sở khoa học của việc sử dụng vắc-xin trong công tác phòng chống dịch bệnh là sự hình thành đáp ứng miễn dịch thích nghi của sinh vật như tính đặc hiệu và khả năng nhớ. Như vậy, mục đích của việc sử dụng vắc-xin là chủ động tạo cho cơ thể có sức đề kháng đối với một tác nhân gây bệnh nhất định, hạn chế nguy cơ nhiễm bệnh do tác nhân này gây ra.

Tiêu chuẩn đánh giá một vắc-xin

- *Tính an toàn của vắc-xin:* thể hiện khi đưa vắc-xin vào cơ thể sinh vật sẽ không tạo phản ứng phụ, vì sinh vật không phục hồi độc lực (đối với vắc-xin sử dụng là vắc-xin sống), đồng thời không tác động tiêu cực đến môi trường.

- *Khả năng sinh miễn dịch*: tùy thuộc bản chất kháng nguyên và đặc điểm loài mà phải sử dụng vắc-xin cho phù hợp
- *Có hiệu quả bảo vệ*: sau khi tiêm vắc-xin vào cơ thể thì vắc-xin phải kích thích được hệ thống miễn dịch để tạo kháng thể và kháng thể sinh ra phải có tính đặc hiệu với tác nhân gây bệnh tương ứng. Đồng thời, thời gian bảo vệ của vắc-xin phải đảm bảo và phù hợp với đối tượng nuôi.

Phương pháp đánh giá hiệu lực của một vắc-xin

Các yêu cầu bố trí thí nghiệm

- Mỗi nhóm cá thí nghiệm phải trên 25 con, độ lặp lại phải lớn hơn 2 lần
- Gây nhiễm bệnh thực nghiệm trong khoảng thời gian từ 25–60 ngày sau khi sử dụng vắc-xin bằng phương pháp tắm
- Tỷ lệ nhiễm bệnh ở nhóm đối chứng (A) phải trên 60% trong thời gian kiểm định
- Tỷ lệ nhiễm bệnh nhóm cá sử dụng vắc-xin (B) không vượt quá 24%
- Phải kiểm tra toàn bộ cá nhiễm bệnh thực nghiệm. Tỷ lệ cá nhiễm bệnh do nguyên nhân khác không vượt quá 10%.

Các chỉ số đánh giá hiệu quả bảo vệ của vắc-xin

Tỷ lệ sinh tồn tương đối (Relative Percent Survival-RPS) (%)

Công thức tính RPS:

$$RPS = (1 - (\text{tỷ lệ cá thí nghiệm bị nhiễm} / \text{tỷ lệ cá đối chứng bị nhiễm})) \times 100$$

Yêu cầu: $RPS \geq 60\%$

Đánh giá theo chỉ số RPS thích hợp cho việc kiểm định hiệu quả vắc-xin trong phòng thí nghiệm và các thực nghiệm ngoài hiện trường.

Gia tăng liều gây chết 50% (LD₅₀ Lethal Dose)

Đây là thí nghiệm chỉ phù hợp trong điều kiện phòng thí nghiệm và các yêu cầu bố trí thí nghiệm tương tự như trường hợp đánh giá chỉ số RPS.

Công thức tính LD₅₀ (theo Reed và Muench, 1938)

LD₅₀ = Mức gây tỷ lệ nhiễm bệnh của cá trên 50% thấp nhất - số nội suy (p.d)

$$p.d = (L\% - 50) / (L\% - H\%)$$

Trong đó:

L%: tỷ lệ cá nhiễm bệnh thấp nhất trên 50%

H%: tỷ lệ cá nhiễm bệnh cao nhất dưới 50%

Yêu cầu: giá trị LD₅₀ của nhóm cá thí nghiệm được sử dụng vắc-xin phải cao hơn giá trị nhóm cá đối chứng 100 lần.

7. Phương thức sử dụng vắc-xin trong nuôi trồng thủy sản

a. Tiêm

Đây là phương pháp có thể bổ sung những tá dược nhằm làm tăng hiệu lực của vắc-xin sử dụng. Tuy nhiên, gặp phải một số khó khăn về việc gây mê và bắt giữ đối tượng khi thủy sản khi tiêm vắc-xin nên dễ dàng gây sốc cho cá (bảng 4.3). Hơn nữa, chỉ ứng dụng được đối với cá trên 15g. Để khắc phục, có thể sử dụng kim tiêm tự động để bơm thuốc theo một hệ thống dây truyền, với công suất khoảng 1.000 cá/giờ.

b. Cho ăn

Đây là một phương pháp được ứng dụng rộng rãi ở các trang trại nuôi cá vì phương pháp này đơn giản, dễ ứng dụng và không gây sốc cho cá. Tuy nhiên, cần một lượng vắc-xin lớn nên làm tăng chi phí đầu tư. Hơn nữa, liều lượng vắc-xin không đảm bảo giữa các cá thể trong quần đàn và kháng nguyên dễ dàng bị phá hủy khi qua bao tử và ruột trước (bảng 4.3).

c. Ngâm

Ngâm là phương pháp đơn giản và nhanh vì chỉ cần có vài giây khi cho cá tiếp xúc với vắc-xin. Đầu tiên, vắc-xin đã được pha loãng sẵn trong nước, sau đó bắt cá ngâm khoảng 30-60 giây. Khả năng hấp thụ các kháng nguyên theo phương pháp ngâm thì ít có hiệu quả (bảng 4.3). Cơ chế hấp thụ kháng nguyên chưa biết được chắn chắn, nhưng người ta thấy rằng mang là con đường chính để các hấp thụ các kháng nguyên, bên cạnh đó thì da và các cơ quan đường bên cũng có tham gia vào quá trình hấp thụ các kháng nguyên. Có nhiều loại bệnh thì cơ quan miễn dịch của cá không chống được theo phương pháp này. Ngoài việc liên quan đến cơ chế hấp thụ kháng nguyên còn phụ thuộc vào khả năng đáp ứng miễn dịch tự nhiên và điều kiện tự nhiên của thí nghiệm.

d. Tắm vắc-xin

Nhằm hạn chế làm sốc cho cá theo phương pháp ngâm, người ta sử dụng phương pháp tắm vắc-xin cho cá bằng cách nhỏ từ từ vắc-xin vào thùng trữ cá. Tuy nhiên, phương pháp này đòi hỏi một lượng lớn vắc-xin và thời gian là khoảng 1 giờ (bảng 6.3).

e. Phun vắc-xin

Đây là phương pháp được phát triển đồng thời với phương pháp ngâm. Vắc-xin được phun hoặc được dẫn bằng hệ thống bán tự động thông qua băng truyền chạy qua dưới những vòi phun vắc-xin. Phun vắc-xin có khả năng gây sốc cá và kết quả có thể biến động (bảng 4.3).

Bảng 0.3. Ưu và nhược điểm của các phương pháp sử dụng vắc-xin ở cá

Phương pháp	Ưu điểm	Nhược điểm
Tiêm	Hiệu lực tốt nhất và có thể dùng tá dược Ít tiêu tốn vắc-xin	Không thể tiêm cá <15g. Tốn nhân công, thời gian và dễ dàng làm sốc cá
Tắm, ngâm, nhúng, phun...	Thời gian ngắn, số lượng cá nhiều Có thể dùng cho cá con	Không hiệu quả cho cá lớn Tiêu tốn nhiều vắc-xin

Cho ăn	Không gây sốc cá Không cần thiết bị chuyên dùng	Hiệu quả không ổn định Khó kiểm soát được lượng vắc-xin
--------	--	---

8. Một số kết quả nghiên cứu vắc-xin ở cá

Việc sử dụng vắc-xin phòng bệnh nhiễm khuẩn trên cá hồi ở Na Uy được chứng minh là có hiệu lực từ năm 1993. Vắc-xin có khả năng bảo hộ đàn cá nuôi với tỉ lệ sống trên 90% và làm giảm chi phí sản xuất còn 10% so với khi sử dụng thuốc kháng sinh để phòng bệnh. Tuy nhiên, việc phát triển vắc-xin vừa có hiệu lực vừa có giá thành hạ thường không dễ dàng. Hiện tại trên thị trường chỉ có một vài loại vắc-xin dùng để tiêm chủng ngừa một vài bệnh nhiễm khuẩn ở thủy sản. Thường gặp là vắc-xin đều chế bằng cách làm chết hoặc làm yếu vi khuẩn có độc lực. Hiện tại người ta đang khám phá khả năng làm tinh khiết các kháng thể từ các mầm bệnh hoặc tạo kháng thể qua các thao tác gen (còn gọi là vắc-xin tái tổ hợp) và vắc-xin ADN. Vắc-xin ADN có rất nhiều ưu điểm như chuẩn bị rất đơn giản và có thể được sản xuất ở số lượng lớn. Hơn nữa, vắc-xin ADN rất bền và có thể tồn tại ở những điều kiện nhiệt độ bất lợi tạo điều kiện dễ dàng trong vận chuyển, lưu giữ và phân phối. Vắc-xin ADN còn có ưu điểm về khía cạnh miễn nhiễm do hệ miễn dịch nhận biết kháng nguyên ADN tương tự như nhận biết vi-rút và vi khuẩn nội bào nên rất có hiệu lực trong việc bảo hộ cá với các trường hợp nhiễm vi-rút và vi khuẩn. Một số loại vắc-xin ADN phòng bệnh vi-rút (hematopoietic necrosis virus, viral hemorrhagic septicemia) và vi khuẩn (bacterial kidney disease) đã được thử nghiệm ở cá hồi. Tuy nhiên, việc ứng dụng vắc-xin ADN vào sản xuất vẫn còn đòi hỏi sự kiểm định về tính an toàn và khả năng bảo hộ của vắc-xin ADN.

V. Ứng dụng miễn dịch học trong chẩn đoán bệnh thủy sản

Nguyên lý và kỹ thuật miễn dịch ứng dụng trong chẩn đoán bệnh ở thủy sản đã được trình bày chi tiết trong chương 3, giáo trình nguyên lý và kỹ thuật chẩn đoán bệnh thủy sản (Đăng Thị Hoàng Oanh, 2007). Các kỹ thuật miễn dịch ứng dụng trong chẩn đoán bệnh ở động vật thủy sản chủ yếu là sử dụng kháng thể để phát hiện protein kháng nguyên của vi-rút, vi khuẩn, ký sinh trùng hay nấm hoặc những đáp ứng của vật chủ với vi-rút, vi khuẩn, ký sinh trùng hay nấm trong mẫu huyết thanh. Trọng tâm của các kỹ thuật miễn dịch này là xác định sự tiếp xúc của vật chủ với mầm bệnh, tuy nhiên, các kỹ thuật này cung cấp ít thông tin về tình trạng nhiễm bệnh của vật chủ hoặc của cả đàn thủy sản nuôi.

Tài liệu tham khảo

1. Công Ty thuốc thú Y Trung Ương II. 1998. *Vaccine và Thuốc thú Y*. Nhà xuất bản Nông Nghiệp.
2. Ellis, A.E. 1988. *Fish vaccination*. London San Diego New York Berkeley.
3. Lê Huy Kim. 1998. *Bài giảng miễn dịch học thú y*. Khoa Nông Nghiệp- Đại học Cần Thơ.
4. Nguyễn Ngọc Lan và ctv. 1997. *Miễn dịch học*. Nhà xuất bản y học.
5. Đăng Thị Hoàng Oanh. 2007. Nguyên lý và kỹ thuật chẩn đoán bệnh thủy sản. Giáo trình Đại học.