

I TOG ČETVRTKA, 14. NOVEMBRA, LETA GOSPODNJEG 2002. ZVEZDA I PARTIZAN ISPADOŠE IZ DRUGOG KRUGA UEFA, NA ŽALOSTAN I SKAREDAN NAČIN... NO NEŠTO DRUGO NAS JE OBRADOVALO,... NAIME NEKI TAMO JE ODLUČIO DA PREKUCA PREDAVANJA SA IMUNOLOGIJE I TO NI MANJE NI VIŠE NEGO PO ISPITNIM PITANJIMA... HTEO JE JOŠ VIŠE DA OLAKŠA SEBI, A I DRUGIMA ŽIVOT, PA JE TU NEŠTO CRTKAO, PISUCKAO, KOMENTARISAO, NO KAKO BILO NASTADE I TA NOVA SKRIPTA IZ IMUNOLOGIJE. TAKO DA NE DUBIM VIŠE – SREĆNO UČENJE ☺

PS. SVE SUGESTIJE I KRITIKE PRIHVATAM, A USPUT SE ZAHVALJUJEM I KOLEGI MILOŠU NA RECENZIJ I SUGESTIJAMA

DULE

IMUNOLOGIJA

PO ISPITNIM PITANJIMA

1. I.P. – Osnovne karakteristike prirodnog i stečenog imuniteta

Imunost je sposobnost organizma da prepozna patogene (štetne faktore) i da ih eliminiše na različite načine, može se podeliti na:

1. PRIRODNU IMUNOST (UROĐENA, NESPECIFIČNA):

- postoji i pre susreta sa patogenom
- brzo se angažuje i predstavlja prvu liniju odbrane organizma
- mehanizmi dejstva prirodne imunosti predstavljaju genetski potencijal jedinke, tj. nasleđuju se i ne menjaju tokom života jedinke
- ima ulogu u stimulaciji specifičnog imunskog odgovora i utiču na tip tog odgovora (celularni ili humoralni)
- efektorski mehanizmi prirodne imunosti učestvuju u krajnjoj eliminaciji patogena i pored aktiviranih specifičnih mehanizama odbrane
- **telesne ovojnice** – epitelne barijere (koža i sluzokoža):
 - koža
 - stalna deskvamacija kože omogućava odstranjivanje patogena,
 - kiseli pH kože,
 - inhibitorni efekat mlečne kiseline(laktata) koja je produkt lojnih i znojnih žlezda,
 - defenzini katjonski peptidi, niske mol. mase (cistein), deluju kao antibiotici širokog spektra (ubijaju bakterije i gljive),
 - keratinociti koji luče citokine (nema imunskog odgovora bez citokina)
 - sluzokoža
 - mukus
 - treplje
 - inhibicija virusa – gornji delovi resp. sistema imaju temperaturu 33° C
 - mikrobicidni faktori – nizak pH želudačnog soka, žučne soli i proteolitički enzimi digestivnog trakta, spermin i Zn semene tečnosti
 - lizozim ili muramidaza
 - glikolipidi – kompeticijom sprečavaju prijanjanje za ćelije
 - laktoferin – vezuje Fe i uskraćuje bakterijski faktor rasta
 - normalna bakterijska flora (komensali) – suprimiraju rast potencijalno patogenih bakterija kompeticijom za esencijalne hranljive materije ili receptore na površini epitela, lokalnom promenom pH, produkcijom toksičnih materija
- **humoralni mehanizmi nespecifične imunosti**
 - aktivnost različitih supstanci prisutnih u telesnim tečnostima sa antimikrobnim i antivirusnim dejstvom
 - aktivacija sistema komplementa alternativnim i lektinskim putem
 - β lizin – katjonski protein trombocita koji luče tokom koagulacije, ubija G+ bakterije (neenzimskim oštećenjima ćelijske membrane)

- lizozim – koga luče mononuklearni fagociti
- citokini (interferoni tipa 1, IL-1, TNF- α , IL-8)
- **celularni mehanizmi nespecifične imunosti**
 - fagociti i NK ćelije – ubijaju virusom inficirane i neke tumorske ćelije, proizvode IFN- γ

2. STEČENU IMUNOST (ADAPTIVNA, SPECIFIČNA)

- stiče se tokom života i rezultat je kontakta organizma sa određenim patogenom
- odlike su:
 - RAZNOVRSNOST I SPECIFIČNOST
 - IMUNOMEMORIJA
 - LIMFOCITI UČE DA PREPOZNAJU STRANO OD SOPSTVENOG – AUTOTOLERANCIJA (eliminacijom autoreaktivnih klonova limfocita ili funkcionalnom inaktivacijom – anergijom)
- tipovi stečenog imuniteta:
 - prema efektorskom mehanizmu:
 - celularni (T limfociti)
 - humoralni (B limfociti)
 - prema načinu indukcije
 - aktivni prirodni (infekcija) i aktivni veštački (vakcinacija)
 - pasivni prirodni (prelaz antitela sa majke na dete) i pasivni veštački (Th imunim serumima)

*** FAZE IMUNSKOG ODGOVORA *** - ISTE SU BEZ OBZIRA NA IMUNITET

1. **FAZA IMUNSKOG PREPOZNAVANJA** – na osnovu prostorne komplementarnosti receptora i Ag
2. **FAZA AKTIVACIJE** – transmembranski prenos signala, nastajanje sekundarnih messenger molekula, aktivacija gena i ekspresija
3. **EFEKTORSKA FAZA**

2. I.P. – antigeni i hapteni

ANTIGENI

dvojno svojstvo:

- a) bivaju prepoznati od receptora na T i B limfocitima i sposobni su da izazovu tj. **indukuju imuni odgovor (IMUNOGENOST)**
- b) sposobni su da reaguju sa specifičnim produktima imunog odgovora (antitela, citokini, natural killer cells ili citotoksični T Li)

HAPTENI

Jednostavna hemijska jedinjenja koja **ne indukuju imuni odgovor** (nisu imunogeni), ali se prepoznaju u organizmu.

Imuni odgovor se može postići vezivanjem haptena za jedinjenja koja su najčešće proteini i nazivaju se nosači, a sami su po sebi imunogeni. Imunizacija haptent – nosač konjugatom dovodi do proizvodnje antitela i za protein nosač i za sam haptent.

Imunogenost antigena zavisi od:

- 1) stranosti antigena za organizam – što je različitiji u odnosu na ćeliju organizma imunogenost raste
- 2) hemijske složenosti – što je složeniji to je i imunogeniji
- 3) veličine molekula – što je veći imunogenost raste
- 4) od genetske konstitucije
- 5) načina unošenja antigena

EPITOPI, antigenska determinanta – delovi antigena koje prepoznaju receptori na T i B Li
PARATOPI, vezna mesta, aktivna mesta – delovi antitela koji reaguju sa epitopima

Veza epitopa i paratopa ostvaruje se po principu strukturne komplementarnosti tj. slikovitije po principu “ključ i brava”, a vezuju se nekovalentnim vezama (jonske ili Kulonove, vodonične, hidrofobne, Van der Waals-ove)

Ag determinante molekula proteina:

- konformacione – aminokiseline koje nisu jedna do druge u prim. strukturi, ali se usled konformacione promene proteina nađu jedna do druge
- linearne – u primarnoj strukturi aminokiseline koje su jedna do druge

B limfociti prepoznaju obe vrste epitopa, a T limfociti samo linearne epitope

3. I.P. – struktura antitela

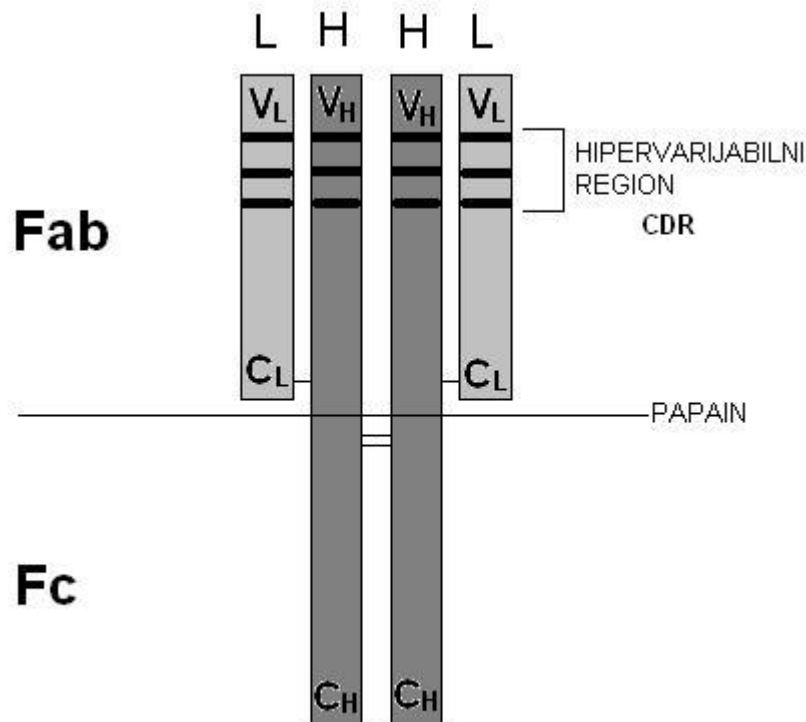
Antitela u organizmu su imunoglobulini koji su po hem. sastavu glikoproteini i pripadaju jednoj superfamiliji koja ima svojstva prepoznavanja i specifičnog vezivanja za antigene.

Prisutni su u membrani ćelija kao sastavni deo receptora na T i B limfocitima za prepoznavanje Ag, a takođe mogu biti i sekretovani od efektorskih B ćelija ili plazmocita.

Nakon elektroforeze seruma većina Ig migrira ka γ globulinskoj frakciji, a ostatak ka α_1 , α_2 i β frakciji.

Hemijska struktura antitela:

Sastoje se od 2 identična teška i 2 identična laka lanca, koja su međusobno povezana interlančanim S-S vezama. Pošto su po hem. sastavu proteini podložni su uticaju proteolitičkih enzima kao što su papain i pepsin.



Papain cepa Ig iznad disulfidne veze koja spaja teške lance (videti sliku) i daje 3 proizvoda: dva **F_{ab}** i jedan **F_c** fragment (antigen binding i crystalizing). **F_{ab}** deo je pokretan u prostoru zahvaljujući domenu bogatim cys i pro aminokiselinama i naziva se region šarke ili zgloba (hinge), a nalazi se u blizini interlančanog disulfidnog mosta teških lanaca.

Ispitivanje redosleda aminokiselina u lakim lancima dalo je rezultata da prvih 110 ak potpadaju pod varijabilni region jer su uglavnom različite, dok ostalih 100 tinjak ak potpada pod konstantni region. U V_L regionu postoje i 3 hipervarijabilna mesta koja služe da pri savijanju u prostoru imaju kontakt sa antigenom, a nazivaju se i CDR – complementary determined regions. Konstantni regioni imaju su uglavnom sa istim rasporedom ak i postoje dve vrste i to kapa i lambda na osnovu kojih se određuju i vrste lakih lanaca.

Teški lanci se takođe sastoje iz varijabilnog i konstantnog dela, gde varijabilni region ima skoro iste odlike kao i varijabilni region lakih lanaca, sa takođe 3 mesta hipervarijabilnosti. Konstantnih delova teških lanaca ima više vrsta i na osnovu njih se imunoglobulini razvrstavaju u 5 klasa:

| KLASE | PODKLASE | Hc | Lc |
|-------|--|---------------------------------------|------------------|
| IgM | | μ | $\kappa \lambda$ |
| IgG | 1,2,3,4 | $\gamma_1 \gamma_2 \gamma_3 \gamma_4$ | $\kappa \lambda$ |
| IgA | IgA ₁ , IgA ₂ , IgA _s | $\alpha_1 \alpha_2$ | $\kappa \lambda$ |
| IgE | | ϵ | $\kappa \lambda$ |
| IgD | | δ | $\kappa \lambda$ |

IgM – mogu biti membranski u sklopu receptora na B limfocitima za antigen, a mogu biti i sekretovani i tada su obavezno pentameri međusobno povezani S-S vezama i J polipeptidom. Javljaju se pri primarnom imunom odgovoru tj. antitela su alarmnih situacija.

IgG – razlikuju se po teškim lancima i disulfidnim vezama između istih

IgA – mogu biti u serumu, a takođe i na sluzokoži gde je podklasa IgA_s koji je sekretovan iz efektorskih B limfocita, a dimer je iz dve IgA subjedinice povezane J polipeptidom, dobijaju sekretornu komponentu u mukoznim epitelnim ćelijama i ona ih štiti od dejstva proteolitičkih enzima.

IgE – bazofili i mastociti imaju visok afinitet receptora za Fc fragment, pa tako mogu izazvati preosetljivost 1. tipa (alergije, ..)

IgD – ne zna se fiziološka funkcija, a nalaze se u membranama B limfocita u sastavu receptora za antigene.

4 I.P. Biološke funkcije antitela

Antitela mogu biti:

- membranski Ig – na površini B limfocita, tu su sve klase sa tim što se kod naivnih B limfocita nalaze samo IgM i IgD
- sekretorni Ig – u koje spadaju IgA klase koji dobijaju sekretornu komponentu u ćelijama epitela mukoze

Ig imaju dva funkcionalna fragmenta Fab i Fc.

Fab služi za prepoznavanje tj. neutralizaciju antigena i to na 3 načina: blokira virus, blokira receptor i blokira toksin.

Fc ima ulogu u biološkim funkcijama:

- AKTIVACIJA KOMPLEMENTA KLASIČNIM PUTEV** – i to samo IgM i IgG nakon reakcije sa Ag
- OPSONIZACIJA** – olakšava fagocitozu preko Fc receptora (FcR) antitela koja su odreagovala sa Ag, a to su uglavnom IgG mada su opsonini i C3b i C4b komponente aktiviranog sistema komplementa
- ANTITELO ZAVISNA ĆELIJSKA CITOTOKSIČNOST (ADCC – antibody dependant cell-mediated cytotoxicity)** – posredovana isključivo IgG i to preko FcR(γ_3) na NK ćelijama, ali i preko IgE na FcR eozinofila protiv parazita (gliste i crvi)
- PRVI TIP PREOSETLJIVOSTI (IMMEDIATE HYPERSENSITIVITY)** – posredovan IgE, vezivanjem za mastocite i bazofile preko FcR(ϵ_1) visokog afiniteta (high affinity) pri čemu se te ćelije aktiviraju i luče vazoaktivne supstance koji su intermedijeri alergija (histamin, citokini, ...)
- TRANSPORT KROZ MUKOZU** – posredovan preko IgA ili IgM tj. multimeričnim antitelima. IgA ulaze na bazalnoj strani epitelnih ćelija mukoze preko poli Ig receptora, a zatim dobijaju sekretornu komponentu koja je deo ekstraćelijskog dela tog receptora, a štiti IgA_s od proteolitičkog razlaganja enzimima mukoze.
- TRANSPORT KROZ PLACENTU** – posredovan isključivo IgG
- INHIBICIJA STVARANJA ANTITELA** – negativnom povratnom spregom (negative feedback) i to preko FcR(γ_2B) za IgG preko kojeg se prenosi inhibicioni signal.

5. I.P. Aglutinacija i njena praktična primena ¹

Aglutinacija ili Imunoaglutinacija je Ag-At reakcija, gde Ag predstavlja česticu (corpuscul) i u toku koje dolazi do zgomilavanja Ag.

Reakcija se odvija u dve faze:

1) specifična faza – prepoznavanje Ag od strane At, ova faza nije vidljiva in vitro

2) nespecifična faza – zavisi od uslova sredine u kojoj se odigrava reakcija imunoaglutinacije: pH, temperature i svojstva Ag tj. da li je korpuskul kada je reč o *imunoaglutinaciji* ili je solubiln u rastvoru kada je reč o *imunoprecipitaciji*(taloženju)

Uslovi da bi reakcija imunoaglutinacije bila vidljiva su to da Ag mora biti čestica i da su Ag i At u ekvivalentnim koncentracijama tj. tada možemo reći da je reakcija pozitivna i to se dešava jer At zauzimaju takav raspored na epitopima tako da se prave mreže koje se je li tako vide. Ako su At u višku onda je svaka Ag determinanta zauzeta sa po jednim At i onda je reakcija lažno pozitivna tj. reakcija se odigrala ali nije vidljiva u in vitro uslovima(naziva se još i fenomen prozona). Ako je At manje nego Ag onda ih samim tim nema dovoljno da bi mogli premostiti dovoljan broj epitopa da bi reakcija bila vidljiva, što znači da se i u ovom slučaju reakcija odigrala ali nije vidljiva što se kao i u prethodnom slučaju zove lažno negativna aglutinacija.

Reakcija imunoaglutinacije služi u praktičnoj primeni za dokazivanje ili Ag ili At (npr. određivanje vrsta bakterija ili identifikacija At na bakterije, Gruberov test, Rajtova reakcija)

Imunoaglutinacija može biti:

1) direktna – kada su epitop(Ag determinante) sastavni delovi površine Ag gde je primer BAB (brza aglutinacija brucela) test koji služi za određivanje At na bakterije(Brucellae)

2) indirektna ili pasivna – kada se na neku česticu koja nema epitopa(npr. LATEX) vežu solubilni Ag koji tada dobijaju svojstva čestice(tada ispunjavaju uslov za imunoaglutinaciju) gde kao primer možemo uzeti slučaj kada su At tj. imunoglobulini Ag, što znači da se za njih vežu anti Ig antitela. To se recimo radi kod reumatoidnog artritisa kada se prave At na IgG – iliti anti IgG antitelo (ovakav postupak se naziva i obrnuta pasivna aglutinacija)

6. I.P. Razlike T i B limfocita

Razlikuju se u fenotipu, funkcionalnim svojstvima i najbitnije po načinu prepoznavanja Ag.

Receptorski molekuli su slični, ali se značajno razlikuju po funkcionalnim svojstvima. Ta funkcionalna različitost se razvila tokom evolucije zbog potrebe organizma tj. imunog sistema da se odbrani kako od ekstracelularnih tako i od intracelularnih patogena.

ĆELIJE:

B-limfocit su ćelije zadužene za ekstracelularne patogene. Ag receptori prepoznaju Ag determinante (epitope) prirodnih tj. nativnih molekula i to obe vrste: linearne i konformacione Ag determinante. Taj receptor se naziva BCR kompleks.

T-limfocit ćelije zadužene za borbu protiv intracelularnih patogena i malignih transformacija. Receptori T limfocita prepoznaju samo linearne Ag determinante i to sklopu sopstvenih molekula na površini antigen prezentujućih ćelija(APC)². Sopstveni molekuli su produkti **MHC** (major histocompatibility complex). Taj uslov da T limfocit prepozna Ag samo ako ga je APC preradila i predstavila ga na MHC molekulu zove se MHC restrikcija.

T limfociti imaju i koreceptorske molekule uz TCR kompleks i oni određuju ka kom MHC molekulu će se orijentisati:

- CD4 – prepoznaje prerađeni Ag u sklopu MHC molekula klase II, a to su uglavnom T helper Li
- CD8 – prepoznaje prerađeni Ag u sklopu MHC molekula klase I, a to su NK ćelije

RECEPTORI:

Slični su po primarnoj strukturi i genskim segmentima.

¹ U slučaju da nešto nije jasno kod ovog pitanja pogledati praktikum gde je ovo pitanje objašnjeno, jer ovo jesu beleške sa vežbi ☺

² APC – antigen presenting cells, to su makrofagi, dendritske ćelije i B limfociti, imaju na svojoj membrani molekule MHC II klase.

BCR – kompleks

- struktura za prepoznavanje Ag: Fab fragment IgM, tačnije 3 hipervarijabilna regiona L i H lanaca = **4 molekula**
- struktura za prenos aktivacionog signala: dva heterodimera ($Ig\alpha\beta$) = **4 molekula**

TCR – kompleks

- struktura za prepoznavanje Ag: jedan heterodimer (češće $\alpha\beta$ -95% , nego $\gamma\delta$ – 5%) = **2 molekula**
- struktura za prenos aktivacionog signala: dva heterodimera identična na svim T limfocitima – CD3 i jedan heterodimer $\zeta\zeta$ (zeta-zeta) = **6 molekula**

GENSKI LOKUSI RECEPTORA I SOMATSKE REKOMBINACIJE:

BCR

Somatskim rekombinacijama genskih segmenata dobija se ogromna raznolikost i to VDJC genskih segmenata za H lanac i VJC genskih segmenata za L lanac³.

- genski lokus za H lanac:
 - o varijabilni deo: **V** genski segment, **D** genski segment i **J** genski segment
 - o konstantni deo: **C** genski segmenti sa Ig domenima
- genski lokus za L lanac:
 - o varijabilni deo: **V** genski segment i **J** genski segment
 - o konstantni deo: **C κ** (kapa) genski segment i **C λ** (lambda) genski segment

TCR

Kao i kod BCR somatskim rekombinacijama genskih segmenata dobija se ogroman broj varijanti i to α i β genskih lokusa, sa tim što se β ponaša kao teški lanac u BCR, a α kao laki lanac u BCR.

- genski lokus za β lanac:
 - o **V,D,J** i **C β**
- genski lokus za α lanac:
 - o **V,J** i **C α**

7. I.P. Funkcionalna anatomija imunskog sistema

Uslovi koji su potrebni za normalnu funkciju IS su:

1. Širok repertoar klonova limfocita
2. Mikrosredina koja omogućava prepoznavanje Ag, aktivaciju limfocita i proliferaciju ovih u efektorske ćelije i ćelije memorije(memory cells)
3. Da se efektorske i memory ćelije efikasno bore protiv patogena

Ćelije, tkiva i organi IS su rasuti po celom organizmu, ali deluju kao jedna funkcionalna celina.

Limfociti se u organima nalaze na različitim stupnjevima diferencijacije, a organi se dele na primarne ili centralne i sekundarne ili periferne limfatične organe.

PRIMARNI ili CENTRALNI LIMFATIČNI ORGANI

- u njima se odigrava **rana faza diferencijacije limfocita** ili **Ag nezavisna faza diferencijacije limfocita** tj. pod uticajem mikrosredine ovih organa limfociti se iz limfocitnih prekursora diferenciraju u **naivne klonove T i B limfocita koji su zrele imunokompetentne ćelije**
- predstavljaju **glavna mesta limfopoeze**
- kostna srž(bone marrow, medulla spinalis) gde se diferenciraju B limfociti i štitna žlezda(thymus) gde se diferenciraju T limfociti⁴

Najbitniji procesi u fazi rane diferencijacije ili Ag nezavisne faze diferencijacije su:

- a) **sticanje receptora za Ag** – tj. somatske rekombinacije genskih segmenata pri čemu nastaju funkcionalni geni za TCR i BCR, pri čemu se vrši procesk **klonske selekcije**⁵ i to na dva načina:

³ Prvo se rekombinuju D i J genski segmenti, koji se zatim kombinuju sa V g.s.

⁴ recimo kao BONE – B(iako je B limfocit dobio naziv po organu kod ptica u kome je prvi put pronađen–bursi) i TIMUS - T

⁵ pri procesu genske selekcije 90% limfocita umire, a 10% ćelija postaju zrele imunokompetentne ćelije koje odlaze cirkulacijom do perifernih limfatičnih organa

- pozitivna selekcija – ćelije koje ne steknu receptore za Ag umiru programiranom smrću koja je u narodu odmaćena kao apoptoza ☺
 - negativna selekcija – koja podrazumeva selekciju ćelija koje su stekle receptore visokog afiniteta za sopstvene Ag
- b) MHC – restrikcija – pri čemu T limfociti stiču sposobnost da prepoznaju strano u sopstvenom molekulu MHC-a
- c) nasataju i ekspimiraju se drugi molekuli bitni za funkciju limfocita (CD, adhezioni molekuli, kostimulatorni molekuli)

SEKUNDARNI ILI PERIFERNI LIMFATIČNI ORGANI

- u njima se odigrava **kasna faza diferencijacije limfocita** ili **Ag zavisna faza diferencijacije limfocita**, što se može shvatiti kao imunski odgovor u užem smislu tj. ova faza obuhvata prepoznavanje Ag, aktivaciju ćelija, njihovu proliferaciju i nastanak efektorskih i memory ćelija
 - limfni čvorovi, slezina, MALT (mucosis associated lymphoid tissue)
1. Limfni čvorovi su inkapsulirano limfatično tkivo i grupišu se u određenim regionima. Zaduženi su za prepoznavanje Ag iz limfe ili lokalnog tkiva.
 - a. B zavisna zona – površinski korteks (cortex)
 - primarna – gde su mirujući B limfociti
 - sekundarna – gde su germinativne, folikularne - dendritične ćelije (profesionalne APC)
 - b. T zavisna zona – duboki korteks ili parakorteks
 - gde su T limfociti i interdigitalne – dendritične ćelije (profesionalne APC)
 2. Slezina (splen, lien) koja je limfatični organ zadužen za prepoznavanje Ag iz krvi i to u svom delu koji se naziva bela pulpa i koja sadrži kao i svi sekundarni limf. organi dve zone:
 - a. B zavisna zona – koju predstavljaju limfni folikuli
 - b. T zavisna zona – koju predstavlja periarterijski limfatični omotač – PALS (periarteric lymphatic sheet)
 3. MALT koje predstavlja difuzno neinkapsulirano tkivo sluzokoža respiratornog, digestivnog i urogenitalnog trakta i ono je u stalnom kontaktu sa spoljnom sredinom, a samim tim je zaduženo za prepoznavanje Ag koji dolaze preko sluzokože (i to preko IgAs)

8. I.P. B limfociti: diferencijacija i funkcija

B limfociti su ćelije humoralne imunosti. Tokom ontogeneze rana diferencijacija se odigrava u jetri, dok kod odraslih ova faza se odigrava u kostnoj srži. Nastaju iz limfoidnog progenitora zajedno sa T limfocitima i NK ćelijama (citotoksični T limfociti).

Diferencijacija se odigrava u dve faze:

- I. **Ag nezavisna faza** ili **rana faza diferencijacije** – odigrava se u kostnoj srži, gde nastaju zrele imunokompetentne ćelije ili naivni B limfociti koji napuštaju kostnu srž i cirkulacijom odlaze u periferne limf. organe i cirkulišu tražeći Ag. Na ovu fazu diferencijacije utiče mikrosredina kostne srži i to preko međućelijskih kontakata ćelija strome i B limfocita, ali i preko citokina, solubilnih molekula koje luče stromalne ćelije (IL-3, IL-7). Ova faza se sastoji iz 4 podfaze:
 - 1) nastanak **pro B** ćelija u kojoj počinju rekombinacije genskih segmenata za teške lance → D i J genskih segmenata.
 - 2) nastanak **pre B** ćelija gde se nastavlja rekombinacija g. segmenata za H_{μ} (mi) lanac → VDJC $_{\mu}$
 - fenomen alelske ekskluzije se javlja u ovoj podfazi i on podrazumeva da dolazi do preuređenja genskih segmenata samo na jednom hromozomu, dok se drugi inaktivira, a to je neophodno da bi svaka B ćelija na svojoj površini ekspimirala JEDAN Ig date specifičnosti
 - ekspimiraju se pre BCR koji se sastoji od 2 H_{μ} lanca, surrogate lakih lanaca koji su slični lakim λ i κ lancima sa tim što nemaju V region i isti su u svim pre B limfocitima, 2 heterodimera (I $\alpha\beta$). Preko ovog receptora se prenose unutarćelijski signali za nastavak diferencijacije

- 3) **nezreli B limfocit** – u ovoj podfazi isključuje se sinteza surogata lakih lanaca, dok na drugoj strani počinju rekombinacije za L lance.
- ekspirimira se IgM određene specifičnosti i heterodimeri
 - ekskluzija izotipa lakog lanca što podrazumeva rekombinacije g. segmenata samo na jednom genskom lokusu i na jednom hromozomu, a prvo se vrši rekombinacija za L_{κ} koji ako je funkcionalan ostaje, a ako nije nastavljaju se rekombinacije za L_{λ} . Ovo je potrebno kako bi se ekspimirala samo jedna specifičnost.
 - klonska selekcija kako nefunkcionalnih (pozitivna) tako i autoimunogenih ćelija (negativna)
- 4) **zreli B limfocit** – na membrani se javlja i IgD iste specifičnosti sa IgM, tj. u okviru BCR-a poseduje dva izotipa imunoglobulina iste specifičnosti, a to se postiže alternativnim splajsingom (alternative splicing) primarnog RNA transkripta. U ovoj fazi B limfocit dobija i druge molekule koji su mu potrebni za funkcionisanje i to: molekule MHC II klase (čime B limfocit dobija status profesionalne APC), B7 (koji odgovara CD 28 molekulu T limfocita) i CD 40 (koji odgovara CD 40 L molekulu T limfocita).

II. Ag zavisna faza diferencijacije ili kasna faza diferencijacije – predstavlja humoralni imunski odgovor u užem smislu i objašnjena je u sledećem ispitnom pitanju

9. I.P. Humoralni imunski odgovor

Javlja se po kontaktu B limfocita sa Ag.

U odnosu na to da li je za produkciju At potrebna i funkcija T limfocita Ag se dele na:

- timus nezavisne Ag – koji direktno stimulišu B limfocite i predstavljaju polimerične molekule sa nizovima *identičnih ponovljenih Ag determinanti* koje su u stanju da premoste kritični broj BCR-ova da bi izazvale aktivaciju B limfocita (polisaharidi kapsula bakterija, npr. LPS – lipopolisaharid G- bakterija). U imunskom odgovoru na ove Ag produkuju se samo **IgM** antitela i **nema stvaranja ćelijske memorije** (za koju je potrebno i dejstvo citokina).
- timus zavisne Ag – koji predstavljaju većinu Ag i za imunski odgovor je potrebna interakcija B limfocita i $CD4^+$ T limfocita. Znači potrebna su dva signala za aktivaciju B Li: jedan koji potiče od prepoznavanja Ag od strane BCR-a na B Li i drugi koji potiče od $CD4^+$ T_h limfocita (međućelijski kontakt i produkcija citokina)⁶

10. I.P. Razlike u primarnom i sekundarnom imunskom odgovoru

Razlikuju se i kvantitativno i kvalitativno:

- **aktivacija:** primarni je rezultat aktivacije malog broja B limfocita, a sekundarni je rezultat aktivacije prethodno umnoženog klona
- **brzina odgovora:** sekundarni je brži (latentna faza je 1-3 dana u odnosu na 3-5 dana kod primarnog)
- **imunoglobulini:** dominantna klasa kod primarnog je IgM, a kod sekundarnog IgG
- **afinitet At:** u sekundarnom je značajno veći jer dolazi do maturacije afiniteta i to samo kod B limfocita, a rezultat je finih tačkastih somatskih hipermutacija u V regionu H i L lanaca tj. selekcije onih klonova B limfocita čiji su membranski Ig većeg afiniteta.

11. I.P. Sistem komplementa i aktivacija sistema komplementa (C')

Jedan od najvažnijih efektorskih mehanizama urođene i stečene imunosti u koje je uključeno preko 30 plazma i membranskih proteina. To su: *proteini samog komplementa, regulatorni proteini i receptori za komplement na velikom broju različitih ćelija.*

⁶ T limfocit se aktivira preko MHC i B7 molekula na B limfocitu. MHC služi da prezentuje polipeptid (Ag) T limfocitu, a B7 za pričvršćivanje T limfocita preko CD28 molekula na njemu. Tako aktiviran T limfocit ekspirimira CD40 L molekul koji se veže za CD40 molekul na B limfocitu pri čemu daje signal za aktivaciju B limfocita, a počinje i sekreciju citokina koji takođe utiču na B limfocit, ali i na sam T limfocit. ----- malo konfuzno bez slike ali možete otići na konsultacije kod profesorka Zorice Ramić da bi vam malo bolje objasnila ☺

Centralna komponenta ovog sistema je protein C3 i njegova aktivacija C3 konvertazom. Pa tako u odnosu na to kako nastaje C3 konvertaza i šta je početni stimulus(aktivator) razlikuju se 3 puta:

1. Klasični put (C1-C9)

- proteini ovog puta su dobijali brojeve po redosledu otkrivanja i za divno čudo označavaju i redosled reakcija, ali (uvek ima ali) postoji izuzetak i to je aktivacija C4, pre C2 (znači redosled je: C1...C4...C2...C3...C5.....C9)
- aktivator: kompleks Ag-At i to IgM i IgG (IgG₁, IgG₃) tj. ovi Ig ili At moraju da odreaguju sa Ag i da stvore kompleks Ag-At da bi se aktivirao sistem komplementa
- ovaj put predstavlja mehanizam stečene imunosti (specifične)
- način nastanka C3 konvertaze: C1 je veliki glikoprotein (multimolekulski kompleks)
 - sastoji se iz : **C1q** (1 mol), **C1r** (2 mol) i **C1s** (2 mol) koji se aktiviraju po tom redosledu, što znači da je poslednji aktivirani molekul C1s koji je po prirodi serin proteaza i on cepa C4 molekul na C4a – manji i C4b – veći deo
 - **C4b** se vezuje sa **C2** proteinom koji se cepa na C2a – veći deo i C2b – manji deo⁷
 - **C4b2a predstavlja C3 konvertazu klasičnog puta**
 - **C5 konvertaza** nastaje kada C4b2a reaguje sa C3 molekulom koji se fragmentira na C3b i C3a, pa taj veći deo C3b se spaja sa C3 konvertazom gradeći molekul C4b2a3b tj. C5 konvertazu

2. Alternativni put

- otkriven nakon klasičnog puta, ali je filogenetski stariji
- predstavlja mehanizam stečene imunosti (nespecifična, prirodna)
- aktivator: neki patogeni mogu direktno aktivirati ovaj put, ali u suštini je potrebno **prisustvo C3b fragmenta** u cirkulaciji⁸
- način nastanka C3 konvertaze: **C3** se sastoji od alfa i beta lanaca vezanih disulfidnom vezom
 - α lanac poseduje jednu unutarlančanu disulfidnu (s-s) vezu koja se u cirkulaciji spontano hidrolizuje i tako od C3 proteina ostaje metastabilni C3b molekul koji reaguje sa vodom i tako se inaktivise
 - C3b molekul može da reaguje i sa –OH (hidroksilna) i –NH₂ (amino) grupama polisaharida ili proteina patogena što stabilizuje C3b i tako omogućava aktivaciju sistema komplementa
 - po stabilizaciji C3b, za njega se veže **B – protein** pa nastaje C3bB; ovaj B protein hidrolizuje pod uticajem **D – proteina** (serin proteaza), na Ba i Bb fragment, sa tim što samo Bb fragment ostaje → **C3bBb** (BEBEBE ☺) i ovaj kompleks predstavlja **C3 konvertazu alternativnog puta**
 - C3bBb ili C3 konvertazu alternativnog puta stabilizuje P protein (properdin)
 - **C5 konvertaza** nastaje kada C3b fragment reaguje sa C3bBb molekulom tj. nagrađuje se **C3bBb3b molekul = C5 konvertaza**

3. Lektinski put

- najkasnije otkriven(najmlađi) put aktivacije sistema komplementa
- mehanizam urođene imunosti (prirodne, nespecifične)
- aktivator: MBL (manosis binding lectin) – protein koji se vezuje za terminalne rezidue manoze površinskih ugljenih hidrata patogena
- način nastanka C3 konvertaze: po vezivanju za membranu patogena, za MBL se veže i **MASP (manosis associated serin protease) protein** koji deluje na C4 i C2 komponente slično kao i C1s₂ molekul klasičnog puta te nastaje **C3 konvertaza = C4b2a molekul**
- znači i klasični i lektinski molekul imaju istu C3 konvertazu, ali kao što je gore napomenuto aktivator i način postanka su različiti za ova dva puta

⁷ po pravilu fragmenti a su manji, a fragmenti b su veći, ali (kao što rekoh uvek ima ali ☺) kod C2 proteina je a fragment veći u odnosu na b fragment koji je naravno manji

⁸ normalno su proteini komplementa zastupljeni u cirkulaciji i aktiviraju se cepanjem na fragmente. C3b fragment je najzastupljeniji u cirkulaciji kada su normalni uslovi

- naravno i C5 konvertaza je isti molekul tj. C3 konvertaza reaguje sa C3b i nastaje molekul **C4b2a3b ili C5 konvertaza**

Nakon stvaranja C5 konvertaze za nju se vežu ostale komponente sistema komplementa sa tim što se samo C5 fragmentuje u C5b koji se veže za membranu, a C5a odlazi u cirkulaciju i ima važne uloge u zapaljenskim procesima. Ostali proteini se vežu za C5b, sve do C9, znači nastaje **C5b6789 ili MAC (membrane attack complex)**.⁹ Kada se formira MAC on buši rupe na membrani i dolazi do bakteriolize.

12. I.P. Biološke posledice aktivacije sistema komplementa

One su iste bez obzira na način aktiviranja sistema komplementa tj. vrstu puta.

- 1) citoliza – citotoksičnost
- 2) opsonizacija
- 3) otklanjanje imunskih kompleksa iz cirkulacije (Ag-At)
- 4) inflamacione reakcije
- 5) stimulacija humoralnog imunskog odgovora

1. **Citoliza – citotoksičnost** nastaje usled delovanja MAC kompleksa i bitno je u borbi protiv ekstraćelijskih patogena (npr. *nisseria meningitidis*)
2. **Opsonizacija** fagociti imaju receptore za C4b i C3b proteine, kao i za IgG antitela, te se tako olakšava i sama fagocitoza jer su Ag obloženi ovim proteinima, pa ih fagociti lakše prepoznaju
3. **Otklanjanje imunskih Ag-At kompleksa iz cirkulacije** je uslovljeno postojanjem receptora na eritrocitima za C3b i C4b, pa eritrociti tako imunske komplekse odnose cirkulacijom do makrofaga slezine i jetre gde ih ovi uklanjaju
4. **Inflamatorne reakcije** za koje je najbitniji fragment **C5a** (mada su aktivni i C3a i C4a)
 - a. mastociti i bazofili poseduju receptore za ove fragmente preko kojih se ove ćelije aktiviraju (kod parazitarne infekcije)
 - b. moćan je hemotaktički faktor za neutrofile, koje privlači, aktivira i degranuliše
 - c. indukuje sintezu proinflamatornih citokina: IL-1, TNF- α (tumor necrosis factor), IL-8
 - d. stimuliše ćelije lokalnog vaskularnog endotela
5. **Stimulacija humoralnog imunskog odgovora** uslovljeno je postojanjem receptora na membranama B limfocita i to za produkt razlaganja C3 proteina komplementa

13. I.P. Glavni kompleks gena tkivne podudarnosti GKTP

MHC, engl. major histocompatibility complex

Predstavlja region veoma polimorfnih gena čiji su produkti ekspimirani na površini ćelija.

HLA (human leukocyte antigen) = MHC kod ljudi

- **POLIGENSKI** – postoje tri klase gena i genskih produkata
 - geni i molekuli I klase HLA: HLA-A, HLA-B, HLA-C
 - geni i molekuli II klase HLA: HLA-DP, HLA-DQ, HLA-DR
- **POLIMORFNI** – što u stvari znači različitost, tj. u vrsti postoji veliki broj alela (alternativnih oblika gena) na svakom genskom lokusu

HAPLOTIP je ukupni set MHC alela na jednom hromozomu, koji se najčešće nasleđuju kao celina. Jedinka nasleđuje jedan MHC haplotip od majke i jedan MHC haplotip od oca. Aleli se iskazuju **KODOMINANTNO**: produkti alela sa oba hromozoma, očevog i majčinog, ekspimiraju se na jednoj ćeliji.

⁹ C9 molekul ima sposobnost polimerizacije (9, 12, 15 i 18 molekula) u kružni oblik koji pravi rupe na membrani što dopušta ulazak Ca²⁺ jona i brze smrti ćelije nakon toga

Osnovna funkcija molekula prve i druge klase MHC je da vezuju fragmente stranih(i) sopstvenih) proteina i da ih prezentuju T limfocitima.

MHC MOLEKULI I KLASE – glikoproteini membrane

STRUKTURA: - veliki α lanac udružen nekovalentno sa malim molekulom, β_2 mikroglobulinom

- α lanac je polimorfni glikoprotein, 45 kDa, kodiran genima A, B, C lokusa HLA kompleksa na 6. hromozomu, a sastoji se od ekstracelularnog domena ($\alpha_1, \alpha_2, \alpha_3$), transmembranskog segmenta i citoplazmatskog repa
- β_2 mikroglobulin nepolimorfni protein, 12 kDa, kodiran genom van HLA kompleksa na 15. hromozomu

ĆELIJSKA DISTRIBUCIJA: eksprimirani na površini svih ćelija sa jedrom. Nivo ekspresije zavisi od tipa ćelije.

FUNKCIJA: prezentacija Ag peptida CD8⁺ T limfocitima (slika 1.)

MOLEKULI MHC II KLASE – glikoproteini membrane

STRUKTURA: dva različita nekovalentno povezana polipeptidna lanca, kodirana genima u okviru D regiona HLA kompleksa

- i α lanac (33 kDa) i β lanac (28 kDa) sadrže spoljašnje domene (α_1 i α_2 ; β_1 i β_2), transmembranski segment i citoplazmatski rep (slika 2.)

ĆELIJSKA DISTRIBUCIJA: eksprimirani na površini samo profesionalnih antigen – prezentujućih ćelija (makrofagi, dendritične ćelije, B limfociti)

FUNKCIJA: prezentacija Ag peptida CD4⁺ T limfocitima

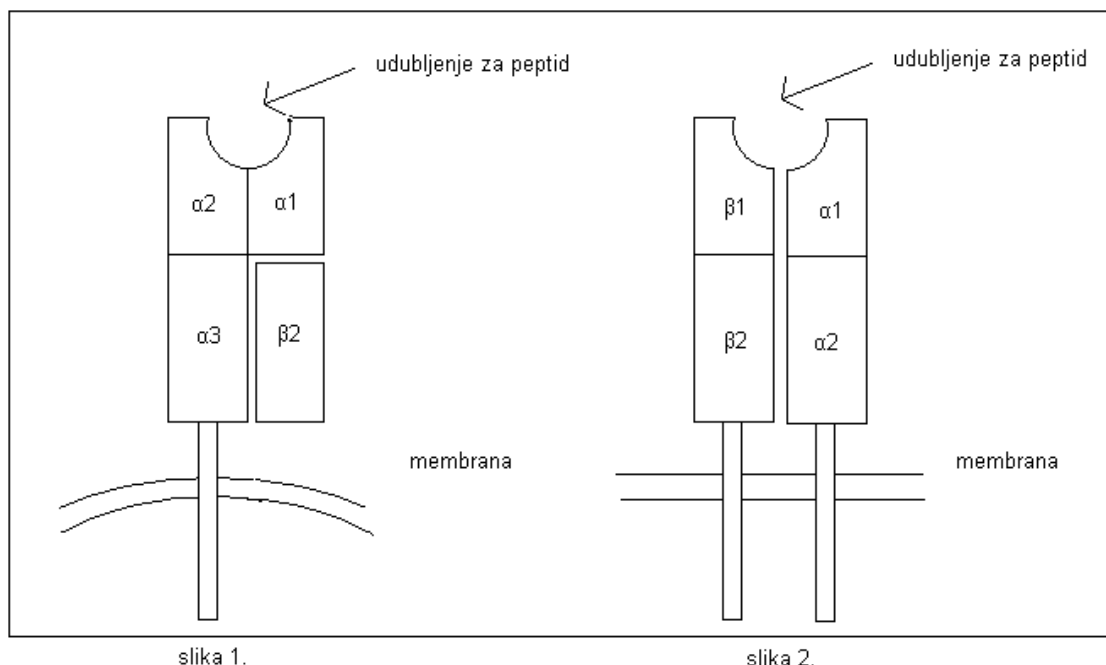
MOLEKULI MHC III KLASE – predstavljaju raznovrsne solubilne molekule koji ne igraju ulogu u prezentaciji Ag (neke komponente komplekta – C4a, C4b, C2; TNF; proteini toplotnog šoka Hsp)

VEZIVANJE PEPTIDA OD STRANE MHC MOLEKULA:

α_1 i α_2 domeni molekula MHC I, odnosno α_1 i β_1 MHC II međusobno reaguju i formiraju udubljenje čiji pod čini β nabrana ploča, a bočne zidove α heliksi. To udubljenje na površini MHC molekula vezuje Ag peptid. (Slike 1 i 2)

| | MHC I | MHC II |
|----------------------------------|-------------------------|------------------------|
| Domeni koji vezuju peptid | α_1 i α_2 | α_1 i β_1 |
| Priroda udubljenja | zatvoreno na oba kraja | otvoreno na oba kraja |
| Veličina peptida | 8-10 aminokiselina | 12-25 aminokiselina |

- molekuli MHC I i II klase ne pokazuju visoki stepen specifičnosti vezivanja peptida kao T i B limfociti
- jedan MHC molekul može da veže brojne različite peptide
- neki peptidi mogu da se vežu za brojne različite MHC molekule



14. I.P. Obrada i prezentacija antigena

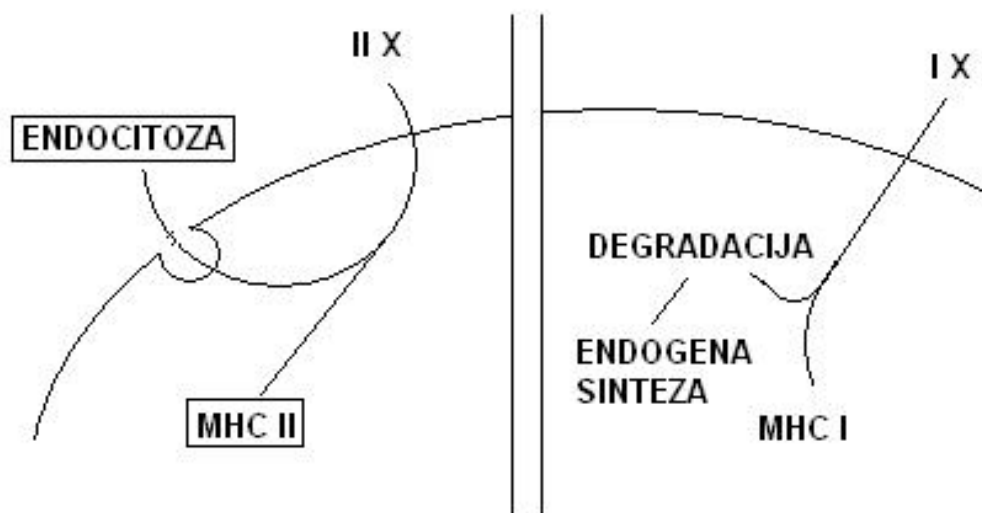
T limfociti mogu da prepoznaju antigen samo ako je on prezentovan na površini ćelije u kompleksu / asocijaciji sa produktima sopstvenog MHC → **MHC restrikcija**

- većina T limfocita prepoznaje samo peptidne Ag
- T limfociti prepoznaju samo linearne Ag determinante (peptide)
- T limfociti prepoznaju samo Ag koji su prikazani na površini drugih ćelija

Obrada antigena – podrazumeva prevođenje Ag u oblik koji može biti prepoznat od strane T limfocita

Prezentacija antigena – je proces kojim ćelije iskazuju Ag na svojoj površini u formi peptida u kompleksu sa MHC molekulom

1. ENDOGENI PUT obrade i prezentacije Ag
 - Ag peptidi koji se vezuju za MHC I molekule
 - nastaju od endogenih proteina u citosolu proteolitičkom aktivnošću proteazoma, a zatim se aktivno transportuju uz pomoć TAP kompleksa u lumen endoplazmatskog retikuluma
 - u ER nastaju stabilni trimolekulski kompleksi sa teškim lancem molekula I klase i β_2 mikroglobulinskim lancem koji putuju ka površini ćelije gde će ga prepoznati $CD8^+$ T limfociti
2. EGZOGENI PUT obrade i prezentacije Ag
 - Ag peptidi koji se vezuju za MHC II molekule
 - nastaju od egzogenih proteina koji su u ćeliju dospeli endocitozom, pod delovanjem proteolitičkih enzima endozomno – lizozimnog odeljka ćelije
 - molekuli MHC II klase usmereni i zaštićeni nepromenljivim lancem putuju od ER kroz Goldžijev kompleks do endozomnog odeljka gde se za njih vezuje Ag peptid
 - kompleks Ag peptid – MHC II molekul putuje ka površini ćelije gde će ga prepoznati specifični $CD4^+$ T limfociti



15. I.P. T limfociti: poreklo, diferencijacija, funkcionalna svojstva

Predstavljaju ćelije koje su odgovorne za ćelularni imuni odgovor tj. stečenu ili specifičnu imunost. Nastaju iz matičnih ćelija hematopoeze (limfoidni progenitor). Nastajanje zrelih T limfocita se odvija u dve faze:

- Ag nezavisnoj u timusu i
- Ag zavisnoj u perifernom limfnom tkivu

1. AG NEZAVISNA FAZA

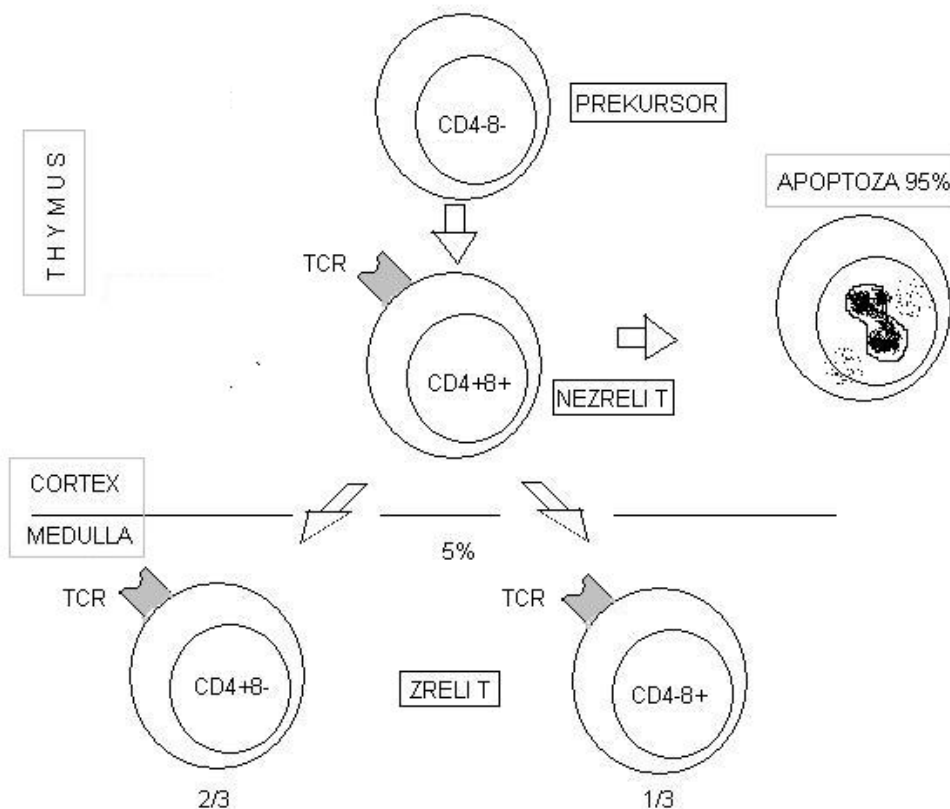
Limfoidni progenitori dospevaju krvlju do kortikomedularne zone timusa, migriraju ka korteksu i tu započinje prva faza njihovog sazrevanja.

- Najraniji timociti nemaju receptor za antigen (TCR) ni koreceptorske molekule (CD4 i CD8) te se nazivaju DVOSTRUKO NEGATIVNIM (CD4-8-) ćelijama, u njima počinje preustrojavanje genskih segmenata za TCR i formiranje funkcionalnih gena koji kodiraju α i β lance ovog receptora
- DVOSTRUKO POZITIVNE ćelije (CD4+8+) ili nezreli T limfociti
- u daljoj diferencijaciji gube jedan koreceptorski molekul i ostaju JEDNOSTRUKO POZITIVNE (CD4+8- ili CD4-8+)

Preustrojavanje gena za TCR zametne loze za vreme sazrevanja u timusu dovodi do nastanka funkcionalnih gena čiji su produkti receptori za ogroman broj različitih Ag specifičnosti tj. nastaju različiti klonovi T limfocita. U odnosu na to šta prepoznaju, svi klonovi T limfocita se mogu podeliti na:

- korisne – koji prepoznaju strane Ag u kompleksu sa sopstvenim MHC
- nekorisne – čiji TCR ne prepoznaje sopstveni MHC i oni se uklanjaju procesom **pozitivne klonske selekcije**;
- štetne – čiji TCR prepoznaje sopstvene Ag u kompleksu sa sopstvenim MHC molekulom, pa postoji mogućnost autoimunizacije zbog visokog aviditeta (uključuju se i reakcije sa drugim molekulima) te se oni uklanjaju procesom **negativne klonske selekcije**

Većina perifernih T limfocita ispoljava kao receptor za antigen TCR α β heterodimer, koji je deo većeg TCR kompleksa koji sadrži polipeptidne lance CD3 i zeta-zeta ($\zeta\zeta$) dimer koji su bitni za prenos signala u ćeliju. **CD8+ T** limfociti prepoznaju Ag kao polipeptide asocirane u kompleksu sa produktima **MHC I** klase, a **CD4+ T** limfociti prepoznaju Ag kao polipeptide asocirane u kompleksu sa produktima **MHC II** klase. CD4+ T limfociti većinom učestvuju u imunskom odgovoru produkujući solubilne molekule (citokine) tj. kao T helper limfociti, a većina CD8+ T limfocita imaju ulogu u citotoksičnosti.



2. AG ZAVISNA FAZA

Naivni T limfociti su mirujuće ćelije u G0 fazi ćelijskog ciklusa.

a) prepoznavanje Ag

Aktivacija T limfocita započinje prepoznavanjem kompleksa Ag peptida sa molekulom sopstvenog MHC molekula na površini profesionalnih APC (Ag prezentujuće ćelije). To su: dendritične ćelije, makrofagi i B limfociti. U ovom prepoznavanju učestvuju i kostimulatorni molekuli (CD28 na T Li sa B7 na B Li, CD40L na T Li sa CD40 na B Li).

b) aktivaciona faza

Aktivacija T limfocita podrazumeva niz događaja (fosforilacija kinazama, defosforilizacija fosfatazama, aktivacija nuklearnih faktora i njihova translokacija u jedro), koji rezultiraju u aktivaciji gena (npr. IL-2 koji je faktor rasta limfocita), ekspresiji novih molekula (npr. receptori za IL-2 preko kojih ispoljavaju autokrino dejstvo), proliferaciji i diferencijaciji ćelije.

c) efektorska faza

Po svakom sledećem kontaktu sa Ag i može ići u smeru produkcije citokina ili u smeru direktnog ubijanja ćelije.

Citokini:

- iz Th (helper) limfocita pomažu B limfocitima da sazreju u efektorsku ćeliju u T zavisnoj fazi imunskog odgovora i to u smeru produkcije IgM i IgG (IFN- γ)
- aktiviraju makrofage koji postaju efikasniji (IFN- γ)
- aktiviraju druge inflamatorne ćelije kao što su neutrofili (IFN- γ) i eozinofili (IL-5)
- pomažu diferencijaciju citotoksičnih T limfocita (IFN- γ)
- indukuju stvaranje T memorijskih ćelija

16. I.P. Produkcija citokina i podela CD4+ T limfocita

Glavnu ulogu u lučenju citokina pripada CD4+ Th limfocitima i to radi većina T limfocita ove vrste, dok im se druga uloga ugleda u citotoksičnom dejstvu.

CD 4+ T limfociti se dele u dve grupe na osnovu vrste citokina koje luče i imunskog odgovora koji indukuju:

1. **Th1 limfociti** imaju ulogu u celularnom tipu imunosti (reakciju kasne preosetljivosti tj. tip IV, nastajanje Tct), a citokini koje luče deluju autokrino i parakrino (uglavnom aktivacija makrofaga). Neki od tih citokina su: IL-2, IFN- γ , TNF α , TNF β , CD40L, IL-3, GM-CSF
 - IFN- γ pored direktne aktivacije makrofaga ima ulogu u diferencijaciji B limfocita u B efektorske ćelije i to u smeru sekretovanja IgG i IgM At koji zatim pomažu fagocitozu (IgG – su opsonini, tj. makrofagi imaju Fc γ R pa se lakše aktiviraju); takođe ima ulogu i u aktivaciji T citotoksičnih limfocita i neutrofila
2. **Th2 limfociti** imaju ulogu u humoralnom tipu imunosti, luče citokine za aktivaciju B limfocita. Neki od tih citokina su: IL-4, IL-5, CD40L, IL-3, GM-CSF, IL-10, TGF- β , IL-13
 - IL-4 aktivira B limfocite u smeru lučenja IgE At koji imaju važnu ulogu u borbi organizma od parazita
 - IL-5 aktivira eozinofile koji takođe imaju važnu ulogu u borbi protiv parazita
 - inhibitori makrofagne aktivnosti su IL-4, IL-10 i TGF- β

Th1 i Th2 se međusobno inaktiviraju.

IL-12 koji je produkt dendritskih ćelija i makrofaga uslovljava polarizaciju ka Th1 imunski odgovor.

IL-4 koji je produkt samih T limfocita, ali i najverovatnije iz nekih drugih ćelija (koje su još pod ?) favorizuju Th2 imunski odgovor.

17. I.P. CD8+ T limfociti

Ispoljavaju svoju ulogu tako što direktno ubijaju ćelije mete, tj. citotoksični su. Ubijaju inficirane ćelije koje u sklopu sopstvenog MHC I molekula prikaže Ag peptid. Osobinu citotoksičnosti limfociti dobijaju u procesu diferencijacije i to po izlasku iz timusa. Prekursor pCTL interakcijom sa kompleksom Ag-MHC I dovodi do aktivacije, a dalja proliferacija i diferencijacija najčešće zavisi od pomoći CD4+ T limfocita u vidu citokina IL-2 i IFN- γ . Diferencijacija pCTL u zrele CTL predstavlja sticanje «ubilačkih» molekula koji se pakuju u granule i neophodni su za lizu ćelije mete, a to su:

- perforin(citolizin) koji liči na MAC sistema komplementa i buši rupe na membrani ćelije mete
- granzimin(serin esterase) koji aktivira lizozomalne enzime
- limfotoksin
- proteoglikani

Jedan klon CTL može da ubije samo onu ćeliju koja na svojoj membrani ima isti kompleks Ag-MHC I koji je pokrenu diferencijaciju iz pCTL. Da bi proces ubijanja ćelije mogao da se izvrši CTL mora da se veže za tu ćeliju, a to čini preko interakcije molekula pri ćelijskom kontaktu. Kontakt TCR sa Ag-MHC I kompleksom praćen je i interakcijom različitih akcesornih molekula na obe ćelije.

Mehanizmi citotoksičnosti:

1. **degranulacija CTL**
2. **ligand zavisna citotoksičnost** – interakcijom molekula efektorske ćelije i ćelije mete pokreće se proces apoptoze (Fas – FasL, TNF α – TNF α R)

18. I.P. Citokini

Familija regulatornih molekula koji funkcionišu kao medijatori međućelijskih reakcija u fiziološkim i patološkim uslovima. Predstavljaju solubilne produkte raznovrsnih ćelija, koji su neophodni u reakcijama kako specifične tako i nespecifične imunosti. Imuni odgovor ne može da se odigra bez učešća citokina.

Osnovne karakteristike ovih molekula su:

1. isti citokini mogu biti produkti različitih ćelija (IL-15 monocit i ćelije koste srži, IL-18 keratinociti i makrofagi)
2. **PLEJOTROPIZAM** – je sposobnost da jedan citokin može da deluje na više vrsta ćelija (IFN- γ na CD8+ T limfocite i B limfocite)
3. **REDUNDANTNOST** – može da se prevede i kao nepotrebnost, tj. više citokina ispoljava jednu istu funkciju
4. jedan citokin može da poveća sopstvenu i da indukuje produkciju citokina od strane drugih ćelija – **AUTOKRINO, PARAKRINO, ENDOKRINO**
5. citokini deluju sinergistički ili antagonistički sa drugim citokinima

6. vezuju se za specijalne ćelijske receptore na membranama ćelija

Podela na osnovu bioloških funkcija:

I. MEDIJATORI I REGULATORI NESPECIFIČNE IMUNOSTI (IFN tip I, TNF- α , IL-1, IL-6, hemokini) – ili acid stable (otporni na kiseline) kao sinonim

- glavni ćelijski izvor su ćelije mononuklearno-fagocitnog sistema Mofa
- osnovna funkcija je **zaštita od virusnih infekcija i indukcija zapaljenja**
- **IFN's tip I** – (interferoni tipa I) deluju preko zajedničkih receptora, ali su strukturno različiti
 - o IFN- α je leukocitni produkt
 - o IFN- β je fibroblastni produkt
 - o sprečavaju virusne infekcije tako što sprečavaju virusnu replikaciju
 - o inhibišu ćelijsku proliferaciju
 - o stimulišu Tct aktivnost
 - o povećanje MHC I ekspresije/inhibicija MHC II ekspresije
- **IL-1, TNF- α (tumor necrosis factor)** – receptor je lipopolisaharid na ćelijskim zidovima G-bakterija
 - o dejstvo IL-1 zavisi od njegove količine:
 - mala koncentracija – deluje autokrino i parakrino (na endotelne i leukocitne ćelije u smislu povećanja ekspresije adhezivnih molekula), a posledica je LOKALNO ZAPALJENJE
 - srednja koncentracija – deluje na hipotalamus u smislu povećanja temperature, na jetru u smislu oslobađanja proteina akutne faze, a u kostnoj srži na mobilizaciju leukocita u perifernu cirkulaciju tj. ima **SISTEMSKE EFEKTE** na organizam
 - visoka koncentracija – dovodi do koagulacije u sitnim krvnim sudovima (diseminovana intravaskularna koagulacija), do slabljenja i zastoja srca što vodi u šok, a na jetru deluje u smislu izazivanja hipoglikemije, jer se energija raspodeljuje mišićima što opet vodi u šok tj. ima **SEPTIČNE EFEKTE**

II. MEDIJATORI I REGULATORI SPECIFIČNE IMUNOSTI (IL-2, IL-4, TGF- β , IL-5, IFN- γ , TNF- α)

Deluju preko sistema sekundarnog glasnika što za krajnju posledicu ima sintezu proteina.

- **IL-2**
 - o odgovoran za progresiju limfocita iz G1 u S fazu ćelijskog ciklusa
 - o stimuliše sintezu IFN- γ i TGF- β (transforming growth factor, anticitokin)
 - o stimuliše i rast NK ćelija, T i B limfocita
- **IFN- γ ¹⁰** pripada IFN tipa II
 - o aktivator je Mofa (mononuklearno-fagocitnog sistema)
 - o stimuliše ekspresiju MHC molekula I i II klase
 - o stimuliše diferencijaciju T i B limfocita (tačnije stimuliše Th1 ćelijski odgovor, a suprimira Th2 i utiče na maturaciju CD8+ T limfocita, dok kod B limfocita stimuliše produkciju IgG2 i IgG3 antitela, a inhibira sintezu IgG1 i IgE)
 - o aktivira neutrofile
 - o aktivira endotelne ćelije u smislu povećane ekspresije adhezivnih molekula za CD4+ T limfocite
 - o antagonist je IL-4 (koji stimuliše Th2 odgovor)
- **IL-4¹⁰**
 - o stimuliše rast i diferencijaciju CD4+ T limfocita koji učestvuju u Th2 zavisnom ćelijskom odgovoru
 - o stimuliše B limfocite u smeru sekrecije IgE At
 - o inhibitor makrofaga

¹⁰ IFN- γ je uglavnom zadužen za Th1 ćelijski odgovor CD4+ subpopulacije T limfocita tj. za celularni tip, dok je IL-4 zadužen za Th2 ćelijski odgovor tj. humoralni tip imunskog odgovora

- stimuliše endotelne ćelije u smislu povećane ekspresije adhezivnih molekula (za limfocite, monocite, a naročito eozinofile)
- growth factor za mast ćelije u sinergiji sa IL-3
- antagonist je sa IFN- γ

III. STIMULATORI HEMATOPOEZE

Nazivaju se još stimulatori ćelijskih kolonija – CSF colony stimulating factors zbog njihove sposobnosti da u *in vitro* uslovima stimulišu razvoj određenih ć. kolonija

- IL-3 - multi CSF jer deluje na sve progenitore (pluripotentne i samoobnavljajuće, engl. pluripotent and self-renewing stem cells), a progenitor je i mastocita u sinergiji sa IL-4

19. I.P. Autimunost

Predstavlja odgovor imunskog sistema na sopstvene sastojke. A uzrok je poremećaj imunske reaktivnosti :

1. smanjene imunske reaktivnosti – imunodeficijencija
2. sukcesivne i/ili aberantne imunske reaktivnosti – preosetljivost na strane Ag i autoimunske bolesti

Tip imunskog odgovora koji dovodi do oštećenja može biti:

- a. posredovan antitelima – tipovi preosetljivosti I, II i III tipa
- b. posredovan T limfocitima – tip preosetljivosti IV tipa

AUTOTOLERANCIJA – je odsustvo odgovora na sopstvene Ag uz potpuno očuvan odgovor na strane Ag. T i B limfociti se uče autotoleranciji u ranoj fazi diferencijacije kada počinju da stiču receptore.

Mehanizmi uspostavljanja autotolerancije kod T limfocita:

- 1) negativna klonaska selekcija → delecija klonova T limfocita sa visokim afinitetom za sopstveno, a to rade dendritične ćelije u timusu i na periferiji gde se vrši dodatna selekcija, jer u timusu ne postoje sve vrste sopstvenih molekula. Ovim mehanizmom se uklanja najveći broj ćelija tj. ćelije sa visokim aviditetom¹¹.
- 2) klonska anergija → T limfocitima kojima nedostaje aktivacioni signal kostimulatornih molekula (CD28 sa B7), bivaju anergizovani i uglavnom se više nikad ne aktiviraju (sem u jakim zapaljenjima i infekcijama)
- 3) postojanje regulatornih ćelija → takozvane supresorske ćelije suprimiraju (je li ? ☺) odgovor T limfocita
 - fenotip ovih ćelija: CD4+CD25+; CTLA4+ T limfociti
 - poreklo, distribucija: timus, limfno tkivo
 - uslov postojanja: prisustvo Ag i IL-2
 - funkcionalno stanje: anergija (tj. ne proliferišu)
 - aktivacija: TCR, CTLA – 4 ???
 - mehanizam delovanja: *in vitro* – ćelijski kontakt, *in vivo* – ćelijski kontakti i / ili proizvodnja supresorskih citokina
- 4) «ignorisanje antigena» → imunopotencijal je očuvan, ali nema reakcije autoimunogenosti

Mehanizmi uspostavljanja autotolerancije kod B limfocita slični su kao i kod T limfocit (čitaj – sve što nije objašnjeno detaljnije ovde pogledati u mehanizmima T limfocita ☺)

- 1) delecija klonova u kostnoj srži i na periferiji
- 2) klonska anergija na periferiji
- 3) zaustavljanje sazrevanja u kostnoj srži
- 4) preuređenje receptora u kostnoj srži i na periferiji

20. I.P. Mehanizmi nastanka autoimunosti

Predstavlja interakciju genske osnove i faktora sredine, a mehanizmi su:

¹¹ aviditet – predstavlja sumu svih reakcija molekula na T limfocitima i Ag, npr. pored reakcije Ag-TCR postoje i reakcije CD28 mol sa B7 na B limfocitima itd....

1. OSLOBAĐANJE SEKVESTIRIRANIH AG – tj. oslobađanje skrivenih gena
2. PREZENTACIJA SKRIVENIH (KRIPTIČNIH) AG DETERMINANTI – kao što je poznato APC predstavljaju samo jedan Ag polipeptid (imunodominantni) od stotine mogućih, koji predstavlja samo jednu linearnu Ag determinantu (može se naći najviše tri takva imunodominantna peptida od celokupnog proteina koji se cepa u APC), ako se poremeti mehanizam sečenja Ag proteina u APC ćelijama mogu se prezentovati i skriveni (kriptični) polipeptidi, koji su inače prikazani u vrlo maloj meri ili uopšte nisu prikazani. Naravno te polipeptide limfociti ne prepoznaju kao sopstvene Ag pa dolazi do autoimunizacije. Ovaj poremećaj sečenja u APC se dešava npr. kod zapaljenja.
3. INDUKCIJA KOSTIMULACIJE – kao što smo rekli kod anergizovanih ćelija izostaje kostimulacioni signal za aktivaciju, pa se u ovom mehanizmu indukuje i taj drugi signal kod anergizovanih limfocita. Ovo se dešava npr. kod zapaljenja.
4. MOLEKULSKA MIMIKRIJA – neki infektivni agensi su slični našim molekulima (naravno i obrnuto), što se recimo javlja kod reumatske groznice (streptokoke), gde se javlja odgovor na Ag koji su slični našim molekulima, pa se ceo imunski odgovor prenosi i na te molekule.
5. ODGOVOR NA IZMENJENO SOPSTVENO – infektivni agensi mogu da izmene naše molekule te ih limfociti ne prepoznaju kao sopstvene i pokreću imunski odgovor
6. POLIKLONSKA AKTIVACIJA¹² – u normalnim uslovima mali broj klonova limfocita se aktivira po prepoznavanju Ag, ali (kad ne lezi vraže ☺) postoje materije koje aktiviraju veliki broj klonova limfocita, pa u nekim slučajevima i sve T limfocite. Javlja se recimo kod infektivne mononukleoze koja izazvana Epstein – Barr virusom – EBV, koji sadrži poliklonalni B aktivator.
7. POREMEĆAJ IMUNOREGULACIJE – npr. poremećaj Th1 – Th2 balansa pri imunom odgovoru.

PODELA AUTOIMUNSKIH BOLESTI

A. ORGAN SPECIFIČNE - npr. Hašimotov tireoiditis

B. ORGAN NESPECIFIČNE (sistemske) - npr. sistemski lupus eritematosus (SLE) gde postoji imunski odgovor protiv svega i oštećenje svega ☹

REAKCIJE IMUNSKE PREOSETLJIVOSTI

Predstavljaju sve reakcije koje nastaju usled neadekvatnog imunskog odgovora na Ag koji nisu štetni, a nakon kojih dolazi do oštećenja organa. Mehanizme oštećenja smo već jednom pomenuli, ali nije zgoreg ☺ da ih i opet ponovimo: oštećenja nastala delovanjem A (prva 3 tipa imunske preosetljivosti) i oštećenja nastala delovanjem T limfocita (4. tip preosetljivosti).

21. I.P. Prvi tip imunske preosetljivosti

Teče po principu bilo kog imunskog odgovora. IgE At su posrednici u ovom tipu preosetljivosti. Mastociti i bazofili imaju FcR receptore visokog afiniteta za konstantni region (Fc) IgE At. Kada se vežu za ove Fc_ε1R IgE reaguju svojim specifičnim regionom (Fab) sa Ag koji mora da ima dve iste Ag determinante (vezani Ag) da bi premostio (cross-linking) receptore i tako aktivirao mastocite i bazofile. Po premošćavanju receptora mastociti i bazofili se aktiviraju i luče vazoaktivne supstance. Aktivacijom ovih ćelija dolazi do:

1. degranulacije mastocita i bazofila – luče se histamin(vazodilatator, bronhokonstriktor) i dr. medijatori (deluju na nervne završetke, povećanje sekrecije i kao hemotaktički faktori za neutrofile) koji su već sintetisani
2. aktiviranje gena za citokine – u cilju stvaranja citokina IL-4 i IL-5 (oba deluju na eozinofile, a IL-4 je ključan za produkciju IgE, jer omogućava VDJ Cε rekombinaciju)
3. aktiviranje metabolizma arahidonske kiseline – pa se lipooksigenaznim i ciklooksigenaznim putem stvaraju prostaglandini i leukotrieni (zapaljenje)

atopija – predstavlja ovakav preterani imunski odgovor tipa IgE na neškodljive Ag

- vernalni konjuktivitis (prolećni)
- polenska groznica
- GIT poremećaji

¹² super Ag – molekuli koji su u stanju da pobude veći broj klonova nezavisno od njihove specifičnosti

- dermatitis kod beba
- možda neki oblici migrena
- mijelomi (maligni tumori B limfocita i ćelija mijeloidne loze)
- anafilaktički šok (sistemska reakcija)¹³

22. I.P. Drugi tip preosetljivosti (citotoksični)

Posrednici u ovom tipu preosetljivosti su IgG i IgM At, koji se nalaze na površini ćelijske membrane ili u ćelijskom matriksu, pri čemu membranski Ig mogu biti integralni deo tih ćelija.

Efektorski mehanizmi se ne isključuju međusobno i aktiviraju se po reakciji Ag-At (npr. Ag mogu da budu neki lekovi):

- 1) aktivacija sistema komplementa – i to klasičnim putem (IgG i IgM), a kao krajnju posledicu ima stvaranje MAC (membrane attack complex) koji lizira ćeliju
- 2) delovanje inflamatornih ćelija – kao posledica je aktiviranje komplementa, lučenje citokina
 - nastaju C3a i C5a koji utiču na bazofile i mastocite i aktiviraju ih, zatim deluju kao hemotaktički faktori na neutrofile, kao aktivatori makrofaga koji potom luče citokine (hemokine) koji su opet hemotaktički faktori za neutrofile
 - neutrofile luče enzime koji liziraju ćeliju
- 3) opsonizacija i fagocitoza – C3b (C4b) i IgG se vezuju na FcR fagocita i receptore za C3b i tako olakšavaju aktivaciju ovih ćelija
- 4) ADCC (antibody dependant cell cytotoxicity) – tj. citotoksičnost zavisna od At, predstavlja aktivaciju NK ćelija preko FcR (Fcγ₃R) na njihovoj membrani za IgG At; ove NK (natural killer) ćelije se razlikuju od Tct limfocita zbog toga što ne moraju da prepoznaju specifičan Ag da bi dejstvovala

- Hemolitička bolest novorođenčadi – gde je Rh⁻ u prvoj trudnoći imala plod koji je Rh⁺ te su se stvorila At (na D Ag) i tada ne dolazi do imunizacije antitelima; pri svakoj sledećoj trudnoći At se vežu za Ag Rh⁺ ploda koji se nalaze na eritrocitima i dovode do njihove hemolize
- myasthenia gravis – gde se stvaraju At protiv acetilholinskih receptora, koja potom blokiraju te receptore, a na kraju po aktivaciji brojnih mehanizama i uništavaju te receptore (uslov zbog čega se ova bolest ne može lečiti plazmaferezom¹⁴)
- Graves – ova (Grejvs) bolest – gde postoje At protiv TSH (tireostimulujući hormon) receptora u timusu i posledičnu aktivaciju ovih receptora → nastaje hipertiroidizam
- anemije – gde postoje At protiv prirodnih sastojaka eritrocita ili pod uticajem nekih lekova (npr. transfuzione reakcije)
- hiperakutno odbacivanje transplantata – kod vaskularizovanih organa (opsežnije pogledati u pitanju koje se bavi transplantacijom)

23. I.P. Treći tip imunske preosetljivosti (imunokompleksni)

Posledica je formiranjem Ag-At kompleksa (imunokompleksi) koji se talože i izazivaju propadanje tkiva. Nastaju po nedovoljnom odstranjivanju imunokompleksa iz cirkulacije te se ovi talože u bazalnim membranama malih krvnih sudova što dovodi do zapaljenja. Deponovani imunokompleksi ne mogu da se fagocituju pa oštećuju endotelne ćelije. Imunokompleksi se talože tamo gde je tok krvi usporen ili je pritisak veći tj. na svim mestima gde se filtruje plazma (glomeruli, horoidni pleksusi, cilijarno telo, arteriole)

Efektorski mehanizmi su komplement i neutrofile:

- 1) komplement

¹³ Mastociti i bazofili pored aktivacijom IgE At, mogu da se aktiviraju:

- putem sistema komplementa – preko C3a i C5a komponenti (nazivaju se i anafilotoksini)
- nekim lekovima i hemikalijama

¹⁴ uklanjanje At iz cirkulacije

- aktivacija bazofila i mastocita (C3a i C5a) i lučenje histamina i sl. medijatora koji dovode do vazodilatacije
- C5a kao hemotakički faktor za neutrofile

2) neutrofili – luče enzime za lizu ćelije

Imunokompleksi se talože u: dugotrajnim infekcijama (hepatitis B i C), autoimunim bolestima zbog trajnog imunskog odgovora na svoje Ag (zglobovi, bubrezi, arterije) ili kada se Ag inhaliraju (pluća).

- Arthus – ova reakcija – pokazuje kako se stvaraju imunokompleksi, nakon hiperimunizacije životinje ubrizgavaju joj se Ag koji dovode do zapaljenja
- Serumska bolest – je sistemska reakcija kratkog toka; nastaje kada se daje velika količina heterologog seruma, pa se odmah javlja anafilaktički šok ili serumska bolest nakon 8-9 dana

24. I.P. Četvrti tip imunske preosetljivosti

Posredovan je T limfocitima. Reakcija na Ag teče kao normalan imunski odgovor sa tim što Ag nije štetan. Znači Ag se obradi u APC koje prezentuju Ag polipeptid, T limfociti prepoznaju taj peptid, aktiviraju se, proliferišu, luče citokine. Citokini aktiviraju makrofage, a ovi luče medijatore zapaljenskih reakcija.

- tuberkulinska reakcija – gde se intradermalno ubrizgava PPD (purifikovani proteinski derivat), a nakon 48 – 72 h se javlja lokalna zapaljenska reakcija usled mononuklearne infiltracije u slučaju pozitivne reakcije; lažno pozitivna je ako je pokrenuta nekim auto antigenom

25. I.P. Transplantacija

Hirurški postupak pri kome se organ jedne jedinke prenosi u telo druge jedinke.

Po mestu presađivanja transplantata može biti:

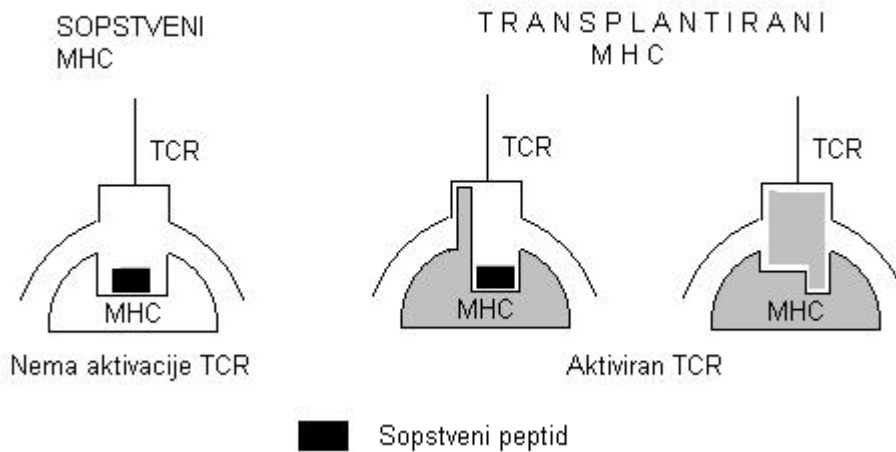
- ortotopična – kada se transplantat presađuje na isto mesto na kome je i bio (naravno samo u drugi organizam)
- heterotopična – kada se organ transplantira na drugo mesto (koje nije anatomsko)

Po donoru transplantata:

- AUTOTRANSPLANTACIJA – kada se organ presađuje sa iste jedinke
- SINGENA TRANSPLANTACIJA – kod jednojajnih blizanaca → singeni transplantat (draft)
- ALOGENA TRANSPLANTACIJA – kad se vrši transplantacija od jedinke iste vrste → alo transplantat (draft)
- KSENOTRANSPLANTACIJE – transplantacija od jedinke druge vrste

Odbacivanje transplantata ne dolazi u auto i singenoj transplantaciji. Odbacivanje se dešava usled inkompatibilnosti MHC molekula donora i akceptora transplantata. A sama reakcija odbacivanja transplantata je akutnija u odnosu na odgovor na infektivne agense, direktno jer se strani MHC molekul vidi kao sopstveni, a to se dešava uglavnom na dva načina:

- 1) MHC molekul transplantata može da imitira konfiguraciju koja aktivira T limfocit
- 2) MHC molekul transplantata može da ima izmenjeno dno za koje se veže Ag peptid koji nije sopstveni (tj. sopstveni ne može da se veže jer mu dno ne odgovara)



i indirektno jer Ag (neki molekuli koji se ne prepoznaju kao sopstveni) sa transplantata otpadaju i odlaze do limfnih čvorova.

26. I.P. Kliničke manifestacije i mehanizmi odbacivanja transplantata

Nastupaju po aktivaciji T_c (CD8+) i T_h (CD4+) limfocita. Oni aktiviraju komplement, makrofage i B limfocite, što sledstveno dovodi do odbacivanja transplantata.

Odbacivanje može biti:

- 1) **HIPERAKUTNO** – ekstremno brzo odbacivanje mereno minutima ili satima, usled okluzije malih krvnih sudova (tromboza) što dovodi do nekroze tkiva (neishranjenost). Ovaj tip odbacivanja se dešava usled inkompatibilnosti krvnih grupa ABO i Rh sistema. Pre svake transfuzije mora se uraditi zbog toga unakrsna reakcija.
- 2) **AKUTNO** – može se ispoljiti u dva oblika:
 - a. **vaskularni oblik** – koje je slično hiperakutnom odbacivanju, ali je slabijeg intenziteta i brzine, a nastaje usled nastajanja At na strane MHC molekule endotelnih ćelija transplantata, koji potom aktiviraju komplement → nekroza ćelije
 - b. **celularni oblik** – usled aktivacije T_c i T_h limfocita
- 3) **HRONIČNO** – nastaje kao posledica akutnog odbacivanja kada dolazi do nastanka fibroze tkiva ili kao odbacivanje nezavisno od akutnog odbacivanja transplantata

Pre svake transplantacije mora da se proveriti kompatibilnost krvnih grupa, uradi unakrsna reakcija, da se proveriti kompatibilnost MHC molekula (test citolize). I pored svih ovih provera na kraju transplantat ne mora, a skoro nikad nije 100% isti tj. kompatibilan sa primaocem. Zbog ovoga koristimo metodu imunosupresije, koja se vrši lekovima (ciklosporin A, FK 506) koji blokiraju aktivaciju T limfocita. Ovi lekovi blokiraju aktivaciju preko signala koji je Ag-At zavisin, dok su kostimulatorni signali nedirnuti. Ovo nije dobro jer do aktivacije T limfocita može doći kada je samo kostimulatorni signal prisutan, nasuprot Ag-At signalu koji sam ne može da aktivira T limfocit. Znači kada bi našli način da inhibiramo ovaj kostimulatorni signal, ne bi došlo do aktivacije limfocita niti odbacivanja transplantata.

- fetus predstavlja alotransplantat, ali ne dolazi do njegovog odbacivanja jer nije opasan po majku
- nekroza aktivira odbacivanje transplantata, tj. svaki hirurški zahvat (što jeste u definiciji transplantacije) dovodi do nekroze tkiva koja indukuje odbacivanje