

Prof.dr.sc. Josip Lukač

KLINIČKA IMUNOLOGIJA

Nastavno pomagalo za studente Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

E-knjiga ISBN: 953-96287-7-6

http://www.sfzg.hr/files/user/isamija/Klinicka_imunologija_skripta.doc

Zagreb, Stomatološki fakultet, 2004.

Odlukom Znanstveno-nastavnog vijeća Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu br. 03-PA-27-13 od 15. srpnja 2004, donesenom na njegovoj X. sjednici održanoj 14. srpnja 2004, odobreno je tiskanje nastavnog pomagala za studente Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Recenzentica: prof.dr.sc. Marinka Mravak-Stipetić
Grafički prilozi: dr. Anđelko Vidović

SADRŽAJ

| | | |
|--------|---|----|
| 1. | UVOD | 4 |
| 2. | ORGANIZACIJA IMUNOLOŠKOG SUSTAVA | 6 |
| 2.1. | Limfni organi i tkiva | 7 |
| 2.2. | Stanice | 9 |
| 2.3. | Topljivi posrednici imunosti | 16 |
| 3. | PRIROĐENA (NESPECIFIČNA) IMUNOST | 20 |
| 3.1. | Lokalna prirodna imunost | 20 |
| 3.2. | Sustavna prirodna imunost | 21 |
| 3.2.1. | Stanična prirodna imunost | 21 |
| 3.2.2. | Humoralna prirodna imunost | 22 |
| 3.3. | Migracija limfatičkih stanica i upala | 23 |
| 4. | STEČENA (SPECIFIČNA) IMUNOST | 28 |
| 4.1. | Receptori limfocita B za antigene – imunoglobulini | 28 |
| 4.2. | Receptori limfocita T za antigene | 31 |
| 4.3. | Suradnja stanica u imunološkoj reakciji – aktiviranje limfocita B i T | 32 |
| 5. | IMUNOLOŠKI ODGOVOR | 35 |
| 5.1. | Humoralni imunološki odgovor | 35 |
| 5.2. | Celularni imunološki odgovor | 35 |
| 5.3. | Regulacija i kontrola imunološkog odgovora | 37 |
| 6. | IMUNOLOŠKA TOLERANCIJA | 39 |
| 7. | AUTOIMUNOST | 41 |
| 7.1. | Autoimune bolesti | 41 |
| 7.2. | Oralne manifestacije autoimunih bolesti | 43 |
| 8. | PREOSJETLJIVOSTI | 46 |
| 9. | IMUNODEFICIJENCIJE | 50 |
| 9.1. | Primarne imunodeficijencije | 50 |
| 9.2. | Sekundarne imunodeficijencije | 53 |
| 10. | IMUNOST NA VIRUSE, BAKTERIJE, GLJIVICE I NAMETNIKE | 55 |
| 10.1. | Protuvirusna imunost | 55 |
| 10.2. | Protubakterijska imunost | 56 |
| 10.3. | Protugljivična imunost | 58 |
| 10.4. | Protuparazitna imunost | 58 |
| 11. | LIMFNO TKIVO USNE ŠUPLJINE I SLINA | 61 |
| 11.1. | Limfno tkivo usne šupljine | 61 |
| 11.2. | Slina | 62 |
| 11.3. | Sulkusna tekućina | 63 |
| 12. | IMUNOLOGIJA INFEKCIJA USNE ŠUPLJINE | 65 |
| 12.1. | Kandidijaza | 65 |
| 12.2. | Infekcije virusom herpes simpleks | 66 |
| 12.3. | Imunologija sindroma stečene imunodeficijencije (AIDS) | 66 |
| 13. | IMUNOLOGIJA ZUBNOG PLAKA | 71 |
| 14. | IMUNOLOGIJA KARIJESA | 73 |
| 15. | IMUNOLOGIJA PARODONTNE BOLESTI | 75 |
| 16. | IMUNOLOGIJA PULPE I PERIAPEKSNIH TKIVA | 77 |

| | | |
|-------|--|----|
| 17. | TRANSPLANTACIJSKA IMUNOLOGIJA | 79 |
| 18. | IMUNOLOGIJA ZLOĆUDNIH TUMORA | 84 |
| 19. | MANUPULIRANJE IMUNOLOŠKIM SUSTAVOM - IMUNOLOŠKA TERAPIJA | 86 |
| 19.1 | Imunostimulacija | 86 |
| 19.2 | Imunosupresija | 87 |
| 19.3 | Imunomodulacija u upali | 88 |
| 19.4 | Imunoterapija tumora | 88 |
| 20. | LABORATORIJSKA IMUNOLOGIJA | 90 |
| 20.1. | Laboratorijske imunološke metode | 90 |
| 20.2. | Metoda proizvodnja monoklonskih antitijela | 93 |
| 20.3. | Molekulskogenetske metode u imunologiji | 93 |
| 21 | LITERATURA | 95 |
| 22 | DODATNO NASTAVNO ŠTIVO | 96 |
| 23 | KAZALO | 97 |

1. UVOD

Imunologija je znanost koja se bavi otpornošću organizma na štetne utjecaje okoline (immunitas (lat.) = otpornost). Dugo se vremena razvijala samo povezana s mikrobiologijom, s namjerom da neutralizira djelovanje patogenih mikroorganizama, pa su se i teorije o postanku i funkcijama imunološkog sustava svodile samo na prirodni probir koji je, čini se, dopustio razvoj viših organizama čiji se imunološki sustav djelotvornije mogao opirati napadajima mikroorganizama. Pokazalo se, međutim, da imunološka reakcija postoji i na nepatogene mikroorganizme, pa je uloga imunološkog sustava vjerojatno šira i mnogostrukija, premda ni danas nije moguće jednostavno definirati fiziološku ulogu imunološke, posebice specifične reakcije. U prošlom stoljeću počinje brži razvoj imunologije, osobito posljednja četiri desetljeća, te nove spoznaje brzo nalaze i svoju praktičnu primjenu u medicini, kamo imunologija ulazi dvama putovima: kao transplantacijska i kao tumorska imunologija. Iskustvo da pri transplantaciji davatelj i primatelj moraju biti što sličniji, nametnulo je potrebu istraživanja tih sličnosti i razlika i razvilo novu disciplinu - imunogenetiku. Tumorska imunologija nije imala tako uspješan razvoj, više se temeljila na empiriji, no novije biotehnoške tekovine, poput produkcije monoklonskih antitijela i tehnike rekombinantne DNA, proizvodnje rekombinantnih antitijela i njihovih fragmenata, kimernih i humaniziranih antitijela te citokina i drugih biološki aktivnih molekula, dale su joj nov zamah i otvorile nove mogućnosti kliničke primjene kroz imunološku dijagnostiku i imunoterapiju. Stoga danas fiziološku ulogu imunosti vidimo u (a) obrani od infekcije, (b) obrani od tumora i (c) održavanju antigenske i genske homeostaze organizma.

Osnove imunosti

Evolucija višestaničnih organizama nametnula je i vitalnu potrebu razvoja internog obrambenog sustava koji će ih štititi od različitih stranih organizama. Temeljna odlika takvog sustava je sposobnost razlikovanja strane stanice od vlastite. S porastom veličine i složenosti tjelesne građe, i obrambeni je sustav, da bi odgovorio svojim zadaćama, postajao sve složenijim, osobito u kralješnjaka, u kojih je obrana od mikroorganizama postala preduvjetom njihova opstanka. Još jedan mogući razlog za razvoj mnogo složenijeg obrambenog sustava pokušava se naći i u razmjerno velikoj sklonosti tkiva kralješnjaka k zloćudnim promjenama. Kako zloćudne stanice mogu iskazivati nove površinske značajke, dovoljno osjetljiv obrambeni sustav sposoban uočiti fine razlike između zdrave i zloćudne stanice, mogao bi sudjelovati i u nadzoru nad zloćudnim promjenama. Dakle, zdrava se osoba različitim obrambenim mehanizmima štiti od štetnih utjecaja mikroba i sličnih stranih agenasa, što nazivamo imunšću. Temelj imunološke reakcije je prepoznavanje stranog agensa i njegovo neutraliziranje/uklanjanje iz organizma. To se zbiva nespecifičnim, tj. prirođenim i specifičnim, tj. stečenim mehanizmima. Nespecifična ili prirođena imunost djeluje bez prethodnog susreta organizma sa stranim agensom i usmjerena je protiv gotovo svih antigena što ulaze u organizam. Ona razlikuje strano od vlastitog, no ne razlikuje vrstu stranog agensa i ne može se pojačati izlaganjem takvom agensu. S druge strane, specifična imunost (stečena, adaptivna) razvila se kasnije i djeluje protiv točno određenog antigena, ali tek nakon prethodnog susreta s njim.

Antigeni

Ranije se antigen definirao kao molekula koja može potaknuti limfocit B na stvaranje antitijela (engl. "ANTIbody GENerator"). Danas taj izraz ima šire značenje i označava svaku molekulu koju mogu prepoznati mehanizmi stečene imunosti, bez obzira jesu li posredovani limfocitima B ili T. Molekula antitijela obično se ne veže na cijelu molekulu antigena već, zbog svoje specifičnosti, samo na dio antigenske molekule, koji se naziva epitop. Jedna molekula antigena može imati, i obično ima, više različitih epitopa. Stoga bi bilo ispravnije govoriti o specifičnosti antitijela za određeni epitop, a ne za cijeli antigen.

2. Organizacija imunološkog sustava

Vjerojatno baš zbog svoje osebujne uloge, imunološki sustav nije, poput ostalih organskih sustava u kralješnjaka, uobličen u anatomski jasno definirani i ograničeni sustav, već se sastoji od limfnih organa, tkiva i cirkulirajućih sastojaka raspoređenih gotovo posvuda po tijelu. Organi uključeni u imunološki sustav (Tablica 1) dijele se na primarne (središnje) i sekundarne (periferne). Primarni organi (timus i Fabrizejeva bursa u ptica, tj. fetalna jetra i koštana srž kao njeni analozi u sisavaca) osiguravaju mikrookolinu u kojoj sazrijevaju matične stanice što u fetalnom razdoblju doputuju iz žumančane vreće ili jetre, a nakon rođenja iz koštane srži. U timusu sazrijevaju limfociti T, a u analogu burse limfociti B, te potom naseljavaju periferne limfne organe i limfna tkiva pridružena raznim organskim sustavima. Tu imunociti obitavaju, međusobno surađuju i djeluju, a razgranata krvna i limfna mreža omogućava njihovu nazočnost u bilo kojem dijelu tijela.

TABLICA 1. Organizacija imunološkog sustava

| | |
|------------------------------|--|
| LIMFNI ORGANI I TKIVA | <p>Primarni (središnji) Timus Fetalna jetra, koštana srž</p> <p>Sekundarni (periferni) Slezena Limfni čvorovi Limfna tkiva Limfno tkivo probavnog sustava Limfno tkivo dišnog sustava Limfno tkivo mokraćno-spolnog sustava Limfno tkivo koštane srži Limfno tkivo seroznih šupljina Limfno tkivo jetre</p> |
| STANICE | <p>Limfatičke Limfociti T Limfociti B Prirodnoubilačke (NK) stanice</p> <p>Mijeloičke Fagociti Granulociti Neutrofilni Eozinofilni Monociti Stanice za predočavanje antigena Posredničke stanice Bazofilni granulociti Mastociti Trombociti</p> |

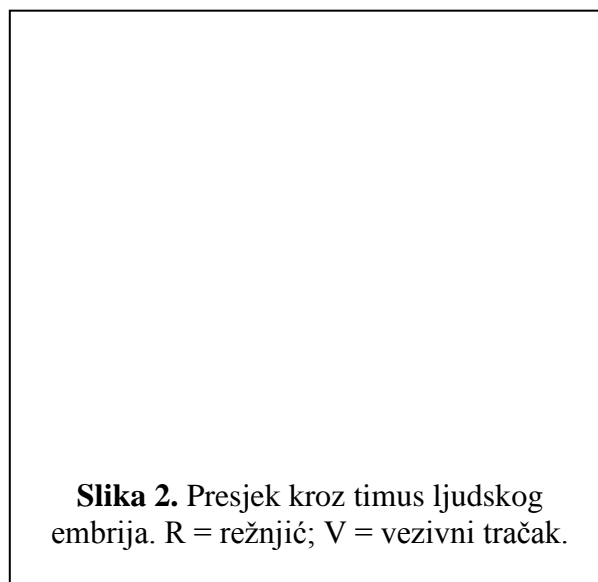
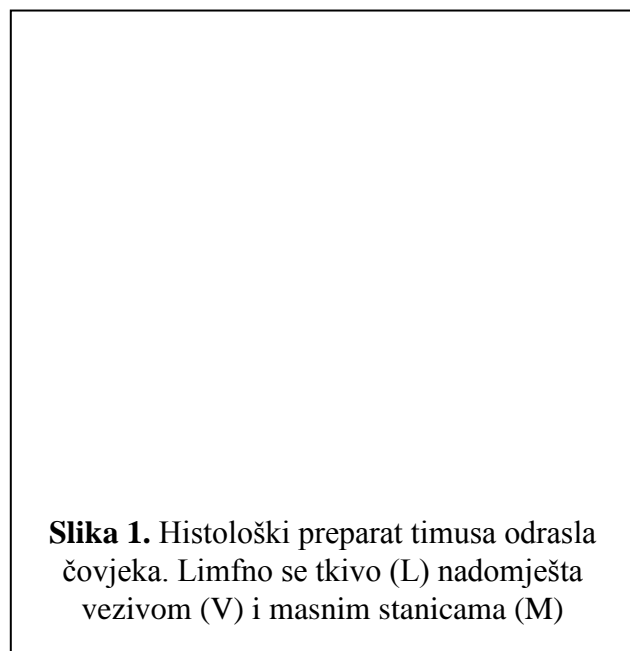
TABLICA 1. Nastavak

| | |
|---|--|
| TOPLJIVI POSREDNICI IMUNOSTI | Antitijela Imunoglobulin G (IgG), IgA, IgM, IgD, IgE Citokini Interferoni Interleukini Čimbenici rasta Ostali Ostali Komplement Proteini akutne faze |
|---|--|

2.1. LIMFNI ORGANI I TKIVA

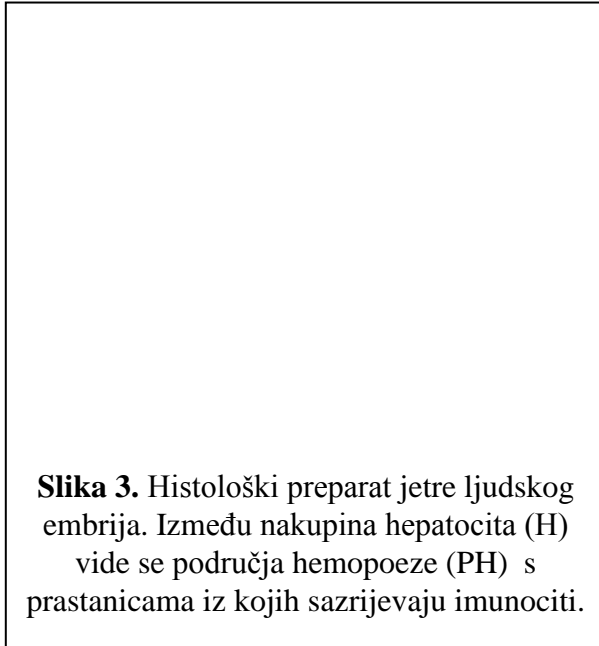
Timus

Timus je limfoepitelni organ sastavljen od dva režnja, smješten u grudnom košu iznad srca i iza sternuma. Pri rođenju teži 15 do 20 g, naglo raste tijekom prve dvije godine života, potom sporije, da bi u pubertetu dosegao težinu oko 40 g, nakon čega se počinje smanjivati i kržljati (Slika 1), no nikada posve ne nestaje. Svaki je režanj fibroznim tračcima podijeljen na manje režnjeve, građene od kore i srži (Slika 2). **Kora** je izraženija i zauzima 85 do 90 % obujma timusa, a čine je nezreli timusni limfociti (timociti), epitelne stanice i nešto makrofaga. **Srž** zauzima 10 do 15 % obujma timusa i sadrži zrele limfocite koji napuštaju timus i odlaze u krvni i limfni optok. Timus je, dakle, mjesto u kojem prastanice, krećući se od kore prema srži, sazrijevaju do zrelih limfocita T, sposobnih za specifično prepoznavanje antigena.

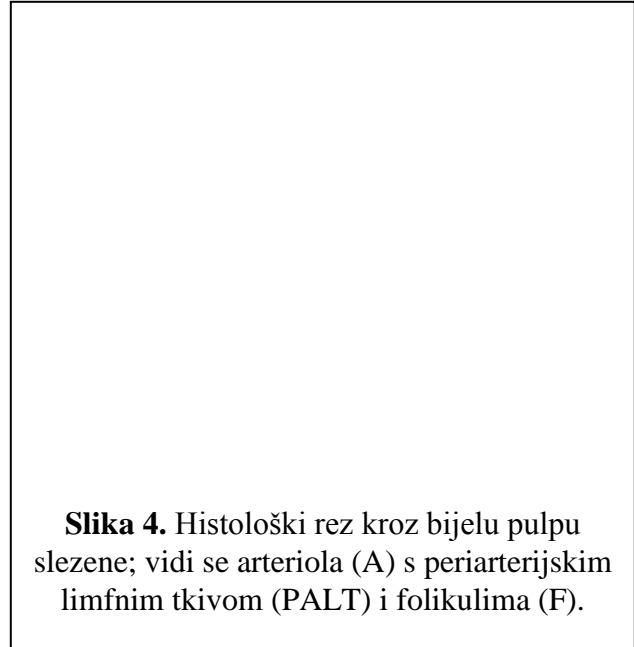


Fetalna jetra, koštana srž

Mjesto sazrijevanja limfocita B u ptica je Fabrizejeva bursa, a njeni analozi u sisavaca su fetalna jetra (Slika 3) i koštana srž. Budući da uz limfocite B koštana srž sadrži i limfocite T i plazma stanice, ona je u čovjeka i važan sekundarni limfni organ.



Slika 3. Histološki preparat jetre ljudskog embrija. Između nakupina hepatocita (H) vide se područja hemopoeze (PH) s prasticama iz kojih sazrijevaju imunociti.



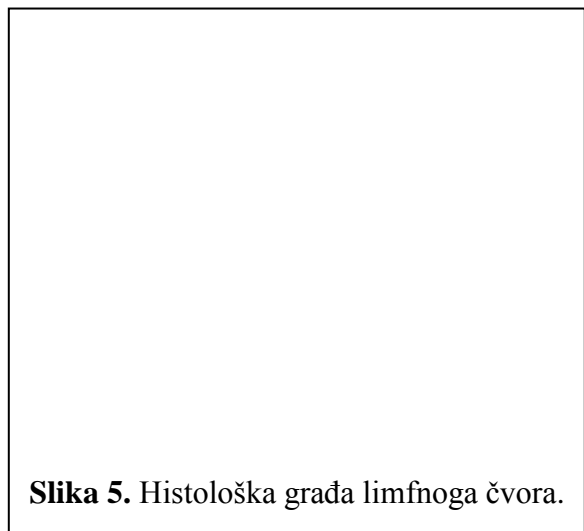
Slika 4. Histološki rez kroz bijelu pulpu slezene; vidi se arteriola (A) s periarterijskim limfnim tkivom (PALT) i folikulima (F).

Slezena

Slezena je smještena u gornjem lijevom kvadrantu trbušne šupljine. Sadrži dvije vrste tkiva: crvenu i bijelu pulpu (Slika 4). **Crvena** se **pulpa** sastoji od sinusa i staničnih tračaka s makrofagima, eritrocitima, trombocitima, granulocitima, limfocitima i brojnim plazma stanicama. Ovdje valja napomenuti da uz imunološke, slezena obavlja i brojne druge funkcije, npr. služi kao rezervoar za trombocite, eritrocite i granulocite. Tu sazrijevaju trombociti i razaraju se eritrociti. **Bijela** se **pulpa** sastoji se od limfnog tkiva organiziranog u područja koja sadrže limfocite T i limfocite B. Limfociti T su uglavnom smješteni oko središnje arteriole, a limfociti B su organizirani u primarne (nestimulirane) folikule s nestimuliranim limfocitima B, te u sekundarne (stimulirane) folikule koji uglavnom sadrže pamteće i dendritične stanice te makrofage; ove dvije potonje vrste stanica predočavaju antigene limfocitima B.

Limfni čvorovi

Limfni su čvorovi sastavni dio limfnoga sustava i u njima se filtriraju antigeni pri prolasku intersticijske tekućine i limfe s periferije u duktus toracikus. Stoga su limfni čvorovi strateški grupirani na više mjesta u organizmu - vratu, aksili, medijastinumu, trbušnoj šupljini,



Slika 5. Histološka građa limfnoga čvora.

preponama. Limfni čvorovi koji štite kožu smješteni su površinski i nazivaju se somatskima; oni dublje smješteni štite sluznicu dišnog, probavnog i urogenitalnog sustava i nazivaju se visceralnima. Limfni se čvor sastoji od: **korteksa** koji uglavnom sadrži limfocite B; **parakorteksa** koji uglavnom sadrži limfocite T i stanice za predočavanje antigena; i **medule** koja sadrži limfocite T i B, plazma-stanice i makrofage (Slika 5). Budući da sadrži praktički sve vrste zrelih imunokompetentnih stanica, limfni je čvor opremljen za gotovo svaku vrstu imunološkog prepoznavanja i pokretanja imunološkog odgovora.

Limfna tkiva drugih organskih sustava

Nakupine neinkapsuliranog limfnog tkiva mogu se naći u podsluznici brojnih organskih sustava, napose probavnog, dišnog i mokraćno-spolnog, te u seroznom šupljinama i jetri. Limfatičke stanice mogu biti prisutne u obliku difuznih nakupina ili, pak, u obliku pojedinačnih čvorova ili nakupina čvorova. U čovjeka su takve nakupine osobito prisutne u tonzilama, bronhima i mokraćnim putovima. Respiracijski epitel sadrži dendritične stanice slične Langerhansovim stanicama kože, koje fagocitiraju, prerađuju i predočavaju antigene. Difuzne nakupine limfnog tkiva nalazimo u stijenci crijeva, napose u donjem dijelu ileuma u obliku Peyerovih ploča. Epitel iznad Peyerovih ploča specijaliziran je za prijenos patogena u limfno tkivo. Sadrži posebne epitelne stanice, tzv. M-stanice (zbog mikro-nabora na površini okrenutoj lumenu crijeva) raspršene među enterocitima, s dubokim naborima bazalnog dijela membrane, koji sadrže limfocite T i B, dendritične stanice i makrofage (Slika 6).

Slika 6. shematski prikaz građe epitela iznad Peyerove ploče, s M-stanicama za prijenos antigena, u čijim se naborima nalaze imunociti nužni za preradu, predočavanje i reakciju na antigene.

2.2. STANICE IMUNOLOŠKOG SUSTAVA

Stanice imunološkog sustava nastaju iz pluripotentnih prastanica koje sazrijevaju dvama glavnim putovima: iz limfoidnih prekursora nastaju limfociti (limfociti T, limfociti B i prirodno ubilačke ili stanice NK), a iz mijeloidnih prekursora fagociti (monociti/makrofagi, neutrofilni i eozinofilni granulociti, stanice za predočavanje antigena) i posredničke stanice (bazofilni granulociti, mastociti i trombociti) (Slika 7).

Slika 7. Stanice imunološkog sustava.

Limfociti

Dvije glavne skupine limfocita su limfociti T i B. Limfociti T nastaju iz svojih prekursora u timusu, a limfociti B u sisavaca sazrijevaju u fetalnoj jetri, a u odraslih jedinki u koštanoj srži. Treću skupinu limfocita čine prirodno ubilačke ili stanice NK (engl. “natural killer”) koje se i funkcijski i morfološki razlikuju od limfocita B i T. U primarnim limfnim organima nastaju u velikom broju (oko 10^9 na dan) i migriraju u krvni optok i u periferne limfne organe i tkiva, gdje žive različito dugo vrijeme, katkada i više godina, pa i cijeli ljudski vijek (Slika 8).

Limfociti, kao i ostale stanice, sadrže brojne površinske molekule-biljege koji se danas mogu prepoznati monoklonskim antitijelima i na temelju kojih možemo razlikovati njihove

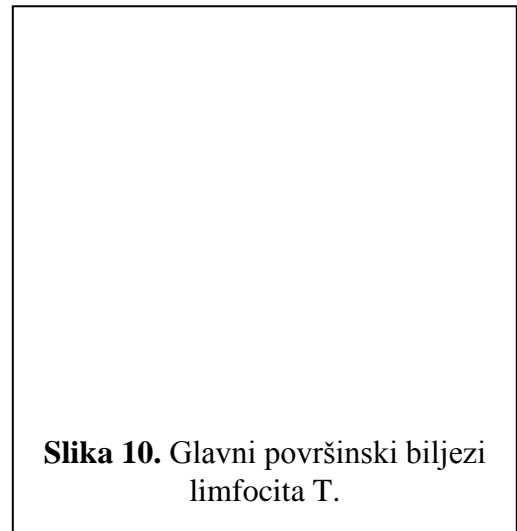
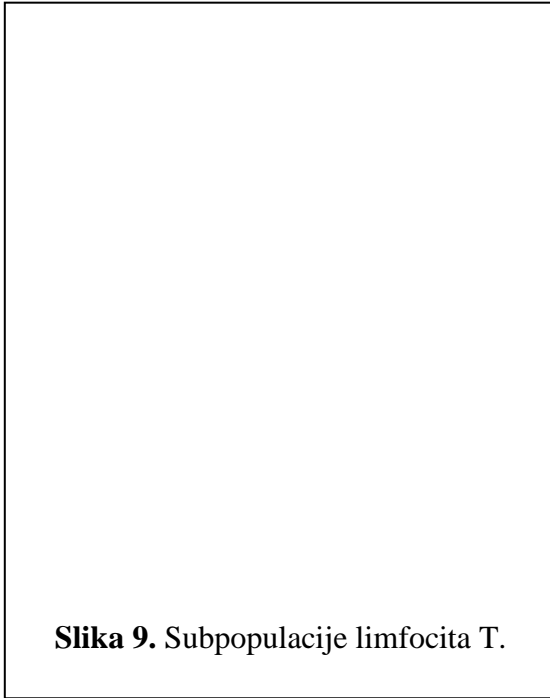
pojedine skupine, pa postoji i posebna nomenklatura nazvana CD-sustav (engl. “cluster designation”) zasnovana na prepoznavanju membranskih biljega monoklonskim antitijelima, a danas ih je poznato već više od 200. Ti se biljezi obično svrstavaju prema podacima koje mogu pružiti o stanici, pa razlikujemo biljege karakteristične za određenu liniju stanica (npr. samo limfociti T imaju biljeg CD3), diferencijacijske biljege koji postoje privremeno, samo u određenom razdoblju sazrijevanja stanice (npr. CD1 na nezrelim limfocitima u timusu, ali ga nema na zrelih limfocitima T u krvnom optoku) i aktivacijski biljezi, nazočni samo na stanicama aktiviranim antigenom (npr. CD25 koji je receptor za interleukin 2).

Limfociti T

Premda su se u prošlosti limfociti T prepoznavali po nazočnosti površinskog receptora za ovčje eritrocite (pokazalo se da je to biljeg CD2), danas se definitivnim biljekom svojstvenim limfocitu T uzima njegov receptor za antigen (engl. “T cell antigen receptor”, TCR) Dvije su vrste TCR: TCR2 je heterodimer sastavljen od dva polipeptidna lanca (α i β), a nalazi se na površini 90-95 % limfocita T; TCR1 je slične građe ali sastavljen od lanaca γ i δ i nalazi se na

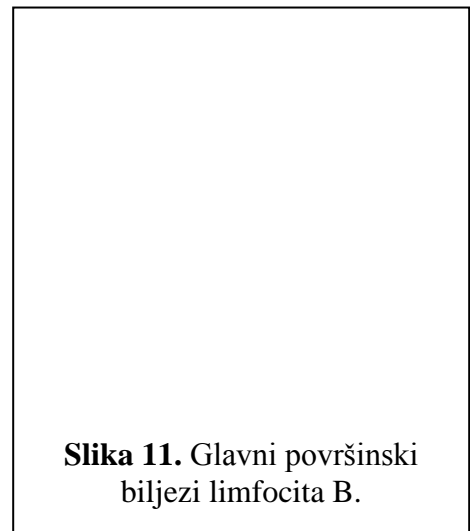
Slika 8. Limfocit iz razmaza ljudske periferne krvi.

površini preostalih 5-10 % limfocita T. Oba su receptora povezana s kompleksom sastavljenim od pet polipeptida, koji čine biljeg CD3. S obzirom na površinske biljege razlikuju se dvije subpopulacije limfocita T (Slike 9 i 10): u perifernoj krvi njih otprilike dvije trećine nosi biljeg CD4 (induktorsko/pomagački ili T_H), a otprilike jedna trećina biljeg CD8 (citotoksični ili T_C). $CD4^+$ -limfociti T mogu se dalje podijeliti prema funkciji, t.j. lučenju citokina (T_{H1} i T_{H2}). I $CD8^+$ -stanice se mogu dalje dijeliti s obzirom na prisutnost površinskih biljega kao i s obzirom na svoje funkcije.



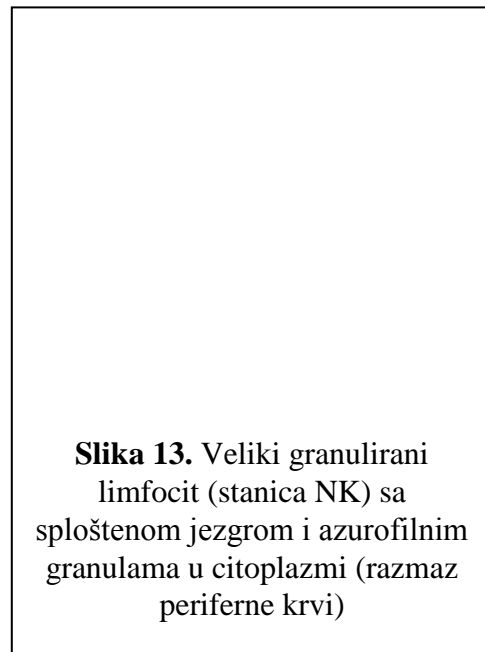
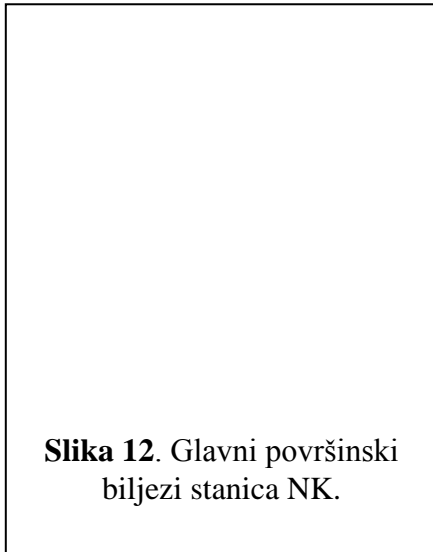
Limfociti B

U perifernom ih krvnom optoku čovjeka ima 5-15 %, a prepoznaju se prvenstveno po nazočnosti površinskih imunoglobulina. Limfociti B sami proizvode spomenute imunoglobuline, koji se potom ugrađuju u staničnu membranu, gdje djeluju kao specifični receptori za antigen (engl. "B-cell antigen receptor", BCR). Većina ljudskih limfocita B nosi membranski IgM i IgD, a samo manjina imunoglobuline preostalih razreda IgG, IgA i IgE, premda na određenim mjestima u tijelu i takve stanice postoje u većem broju; npr. u sluznici crijeva pretežu limfociti B s površinskim IgA. Na površini limfocita B postoje i brojni drugi biljezi, pa većina zrelih stanica posjeduje: a) antigene MHC-II važne za suradnju s limfocitima T; b) receptore za komponente komplekta C3b i C3d (CR1 i CR2); c) receptore za Fc-fragment imunoglobulina G (FcγRII); d) površinske biljege CD19, CD20 i CD22 (Slika 11).



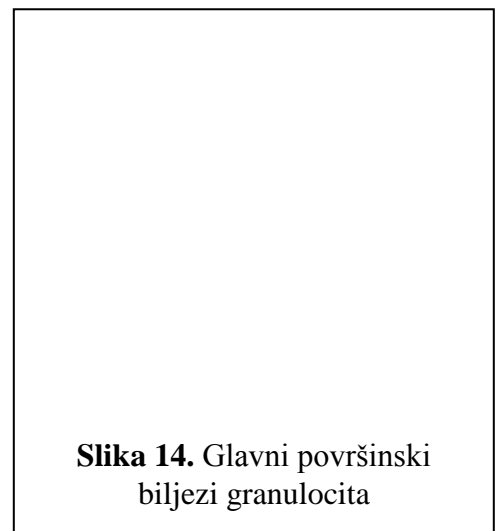
Prirodnoubilačke (NK od engl. “natural killer”) stanice

U perifernom krvnom optoku čovjeka čine oko 15 % limfocita, a od stanica T i B se, između ostaloga, razlikuju i po tome što ne posjeduju receptore za antigene tih stanica, TCR ni BCR. Od površinskih biljega obilježava ih prvenstveno prisutnost biljega CD16 (receptor za Fc-fragment IgG, FcγRIII) i CD56 (adhezijska molekula) (Slika 12). Veći dio stanica NK i morfološki se razlikuje od glavnine limfocita T i B po sljedećim obilježjima: veći su, imaju razmjerno više citoplazme, jezgra nije okrugla već je na jednom dijelu sploštena, a u citoplazmi postoje azurofilna granula; po tim su svojstvima ove stanice nazivaju i velikim granuliranim limfocitima (VGL, Slika 13). Neki misle da to i nisu limfociti, već posebna populacija stanica koja se s obzirom na svoj razvoj nalazi između limfocita i monocita. Glavna im je fiziološka funkcija djelovanje protiv virusom zaraženih i tumorskih stanica.



Granulociti

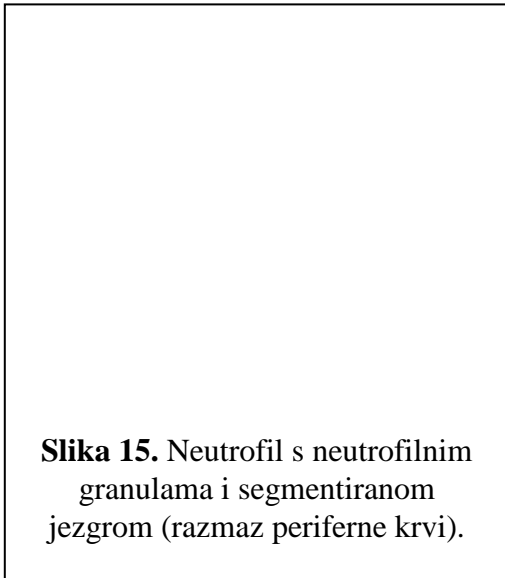
Proizvode se u koštanoj srži brzinom od oko 80 milijuna u minuti i žive kratko, u prosjeku 2-3 dana. Glavna im je fiziološka uloga zaštita od mikroorganizama, što uglavnom obavljaju fagocitozom. Stoga ih se, uz monocite/makrofage, naziva “profesionalnim fagocitima” jer je fagocitoza osnovni način kojim obavljaju svoje zadaće. Ne posjeduju specifičnost prema antigenima, no igraju važnu ulogu u akutnoj upali, obično zajedno s antitijelima i komplementom. Od površinskih biljega posjeduju brojne tzv. adhezijske molekule, putem kojih stupaju u dodir s endotelnim stanicama krvnih kapilara pri izlaženju u tkiva i odlasku na mjesto djelovanja, te receptore za Fc-fragment IgG (FcγR) (Slika 14). Obzirom na bojenje razlikuju se



neutrofilni i eozinofilni granulociti.

Neutrofilni granulociti

Čine oko 90 % granulocita u perifernoj krvi, a obilježavaju ih segmentirana rezgra i prisutnost dviju vrsta citoplazmatskih granula (Slika15): a) primarna ili azurofilna granula što sadrže hidrolaze, mijeloperoksidazu i lizozim; b) sekundarna ili specifična granula što sadrže lizozim i laktoferin. O njihovoj će funkciji više riječi biti kasnije.

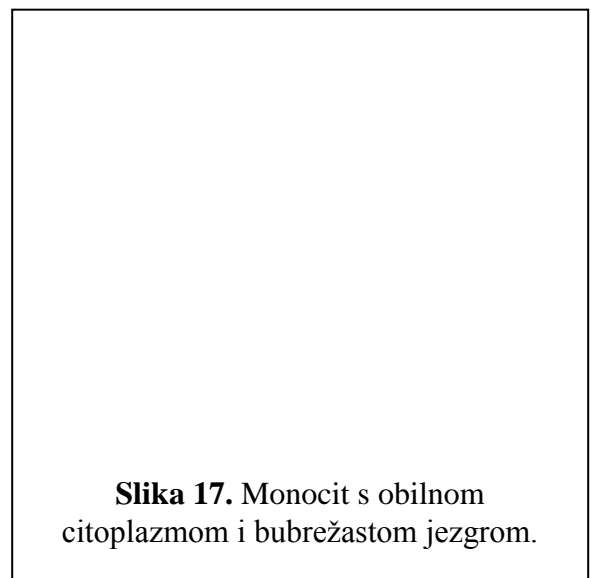


Eozinofilni granulociti

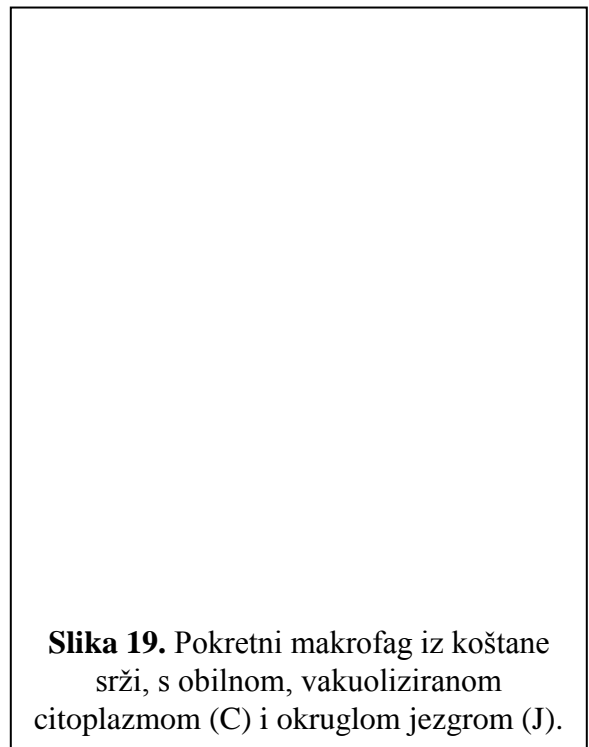
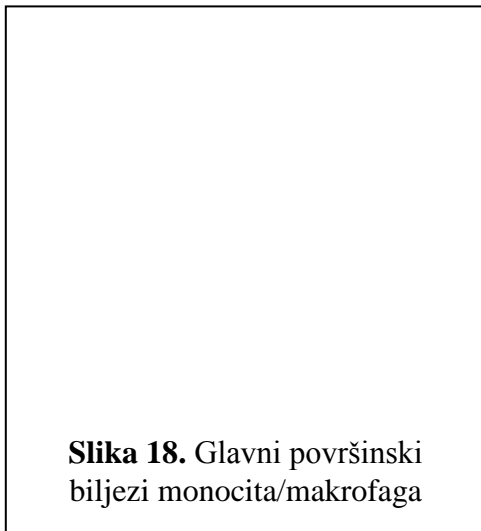
Čine 2-5 % granulocita u perifernoj krvi, a obilježavaju ih jezgra podijeljena u dva segmenta i citoplazmatska granula koja se mogu osloboditi u okolinu stanice i igraju posebnu ulogu u protuparazitnoj imunosti (Slika 16).

Monociti/makrofagi

Danas se svrstavaju u sustav mononuklearnih fagocita koji ima dvije temeljne zadaće: (i) fagocitozu i (ii) predočavanje antigena i imunoregulaciju. Nastavši iz mijeloidnog progenitora u koštanoj srži, monociti odlaze u krvotok, a otuda u organe i tkiva, gdje prelaze u makrofage. Monocit obilježavaju bubrežasta jezgra i citoplazmatska azurofilna granula, među kojima su i lizosomi s peroksidazom i hidrolazama, važnima za unutarstanično ubijanje fagocitiranih mikroba (Slika 17). Posjeduju brojne površinske biljege, između ostaloga receptore za Fc-fragment IgG (FcγRI ili CD64, FcγRII ili CD32, i FcγRIII ili CD16), receptor za komponentu komplementa C3b (CR1 ili CD35), adhezijske molekule LFA-1



(CD11a), MAC-1 (CD11b), molekule MHC-II nužne za predočavanje antigena limfocitima T, receptore za citokine (IL-2R) itd (Slika 18). Odlazeći u tkiva, monociti doživljavaju pretvorbu u tkivne makrofage raznolikog izgleda koji, kao i njihov naziv, ovisi o tkivu u kojem se nalaze (Slika 19). Tako se razlikuju: histiociti - u koštanoj srži; stanice mikroglije - u središnjem živčanom sustavu; Kupfferove stanice - u jetri; alveolarni makrofagi - u plućima; peritonejski makrofagi - u trbušnoj šupljini; slobodni i učvršćeni makrofagi - u slezeni, limfnim čvorovima i timusu.



Funkcije monocita/makrofaga

- Izvršne funkcije - Premda svrstani u red “profesionalnih” fagocita, s fagocitozom kao temeljnom obrambenom funkcijom, dio makrofaga služi se fagocitozom i za prihvatanje, obradu i predočavanje antigena, pa se taj dio makrofaga ubraja i među stanice za predočavanje antigena.
- Regulacijske funkcije - Makrofag sudjeluje u kontroli imunološkog odgovora izravnim kontaktom s ostalim imunocitima ili lučenjem topljivih posrednika. Poznato je više od 100 različitih tvari što ih luče makrofagi, koje utječu na razmnožavanje, sazrijevanje i izvršne funkcije ostalih imunocita. Među njima su hidrolitički enzimi, komponente komplemента, metaboliti kisika, dušikov oksid, bioaktivni lipidi (prostaglandini, leukotrieni), citokini (IL-1, IL-6, TNF- α), čimbenici rasta (G-CSF, GM-CSF) itd.

Stanice za predočavanje antigena (“antigen presenting cell”, APC)

To je raznolika skupina stanica koje predočavaju antigene limfocitima T i B. Najviše ih ima u koži, sluznici, limfnim čvorovima, slezeni i timusu. One u koži i sluznici nazivaju se Langerhansovim stanicama i iz kože i sluznice limfnim sustavom dopijevaju u limfne čvorove, gdje u parakorteksu stupaju u dodir s limfocitima T, predočavajući im antigene. Sadrže i

antigene MHC-II nužne za predočavanje antigena limfocitima T_H. Drugu vrstu APC čine dendritične stanice u limfnim čvorovima i slezeni koje prezentiraju antigene limfocitima B (Slika 20). Stanice APC osobito su brojne u timusu i bogate su vlastitim antigenima, napose onima MHC-II, te vjerojatno sudjeluju u uklanjanju autoreaktivnih limfocita T tijekom njihova sazrijevanja u timusu (negativna selekcija). Kao APC služe i limfociti B i makrofagi, no ne ubrajamo ih među «profesionalne» APC.

Slika 20. Langeransova stanica s brojnim izdancima za djelotvorniju interakciju s ostalim imunocitima.

Bazofili

U perifernoj ih krvi ima manje od 0,2 %, a obilježavaju ih tamnoljubičasta citoplazmatska granula (Slika 21). Često ih se ne može razlučiti od mastocita.

Slika 21. Bazofil sa segmentiranom jezgrom i brojnim bazofilnim granulama (G) u citoplazmi.

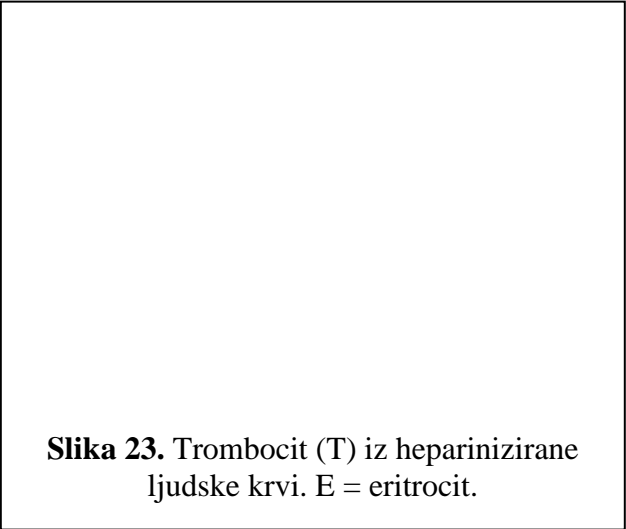
Slika 22. Mastocit iz ljudske koštane srži, s brojnim bazofilnim granulama (G) u citoplazmi. J = jezgra.

Mastociti

Izgleđaju poput netom opisanih bazofilnih granulocita (Slika 22). Kao i bazofile, obilježava ih površinski receptor za Fc fragment imunoglobulina E (FcεRI) putem kojeg se IgE veže na stanicu, izaziva njenu degranulaciju i oslobađanje histamina odgovornog za simptome alergije.

Trombociti

Potječu od megakariocita i osim uloge u koagulaciji krvi posreduju i u imunološkim reakcijama, napose u upali (Slika 23). Posjeduju receptore za Fc-fragment IgG (Fc γ R II), antigene MHC-I i receptore za Fc-fragment IgE (Fc ϵ R II) te adhezijske molekule. Pri oštećenju endotela prijanjaju uz oštećeno tkivo oslobađajući tvari koje povećavaju propusnost krvnih kapilara i koje aktiviraju komplement te privlače leukocite.



Slika 23. Trombocit (T) iz heparinizirane ljudske krvi. E = eritrocit.

2.3. TOPLJIVI POSREDNICI IMUNOSTI

Već je spomenuto da se topljivi posrednici imunosti dijele na antitijela, citokine i ostale, a citokini na interleukine, interferone, čimbenike rasta i ostale.

Antitijela

Antitijela ili imunoglobulini su serumske molekule što ih proizvode limfociti B i zapravo su topljivi oblik receptora za antigene na limfocitima B. Sva antitijela imaju jednaku osnovnu građu, no razlikuju se u dijelu molekule koji se veže s antigenom. Općenito, svako antitijelo može vezati samo jednu vrstu antigena, t.j. svako je antitijelo specifično za samo jedan antigen. Dio molekule kojim se antitijelo veže na antigen naziva se Fab fragmentom, a drugi dio, putem kojeg stupa u dodir s ostalim elementima imunološkog sustava (komponentama komplemента, fagocitima itd), naziva se Fc-fragmentom. Takvom interakcijom antitijela sudjeluju u neutralizaciji i/ili uništavanju antigena odnosno stanica koje nose antigen.

Citokini

Citokini su peptidi ili glikopeptidi nalik na hormone, no za razliku od hormona, ne luče ih odgovarajuće žlijezde i u krvnom se optoku ne nalaze u mjerljivim koncentracijama (uz nekoliko iznimaka) te ne djeluju na udaljena tkiva/stanice. Luče se u vrlo niskim koncentracijama (djeluju u koncentracijama 10^{-9} do 10^{-15} M) i uglavnom djeluju lokalno i kratkotrajno, uglavnom parakrino (na druge stanice) ili autokrino (na same stanice koje ih luče). Sastavni su dio složenog sustava komuniciranja među imunokompetentnim stanicama. Valja naglasiti da nijedan citokin in vivo ne djeluje pojedinačno ni samostalno već u suradnji s ostalima i svaki predstavlja samo jednu "riječ" u citokinskoj "rečenici". Svaka pak stanica reagira na cijelu "rečenicu", a katkada je važan čak i slijed njena izlaganja pojedinom citokinu.

Interferoni (IFN)

Interferoni su skupina citokina što ih luče razne vrste stanica. Razlikuju se tri skupine interferona: (i) IFN- α : luče ga neutrofili, limfociti T i B i makrofagi; IFN- β : luče ga fibroblasti i makrofagi; IFN- γ : luče ga aktivirani limfociti T i stanice NK. Osim od ranije poznatog protuvirusnog djelovanja, interferoni imaju brojne imunoregulacijske učinke, npr. mogu kočiti proizvodnju antitijela i proliferaciju limfocita T i B, no mogu imati i imunopoticajne učinke poput aktiviranja limfocita T_C i stanica NK. Mogu kočiti razmnožavanje zdravih i tumorskih stanica.

Interleukini (IL)

Velika skupina citokina koje luče limfociti, a dijelom i mononuklearni fagociti i neke tkivne stanice. Glavna im je funkcija reguliranje rasta i sazrijevanja stanica. Svaki citokin djeluje na određenu skupinu ciljnih stanica, koje imaju receptor za dotični citokin. S obzirom na stanice koje ih luče, razlikujemo *monokine* što ih luče monociti/makrofagi (IL-1 α , IL-8, IL-12, IL-18) i *limfokine* što ih luče limfociti (IL-1 β , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, IL-15, IL-16, IL-17). Učinci su im mngostruki, uglavnom poticajni, ali mogu biti i supresivni: poticanje razmnožavanja i diferencijacije limfocita, aktiviranje limfocita, aktiviranje makrofaga i stanica NK, poticanje ekspresije antigena MHC-I i MHC-II, poticanje adhezije leukocita, ali i kočenje lučenja citokina itd.

Čimbenici rasta

Reguliraju rast i sazrijevanje matičnih stanica koštane srži i prekursora leukocita u krvi. Neki potiču dalju diferencijaciju stanica i izvan koštane srži. Razlikuju se granulocitno-makrofagni čimbenik rasta što ga luče limfociti T i makrofagi (GM-CSF; potiče sazrijevanje granulocita, makrofaga i eozinofila), granulocitni čimbenik rasta što ga luče monociti (G-CSF; potiče sazrijevanje granulocita) i makrofagni čimbenik rasta što ga također luče monociti ali i druge stanice (M-CSF; potiče sazrijevanje makrofaga), a kao čimbenici rasta djeluju i IL-3 što ga luče limfociti T (potiče rast mastocita i sazrijevanje neutrofila, makrofaga i megakariocita) i IL-7 što ga luče stromalne stanice koštane srži (potiče proliferaciju zrelih limfocita B).

Ostali

Od ostalih citokina valja spomenuti čimbenik tumorske nekroze ("tumor necrosis factor", TNF), važan u regulaciji upale i citotoksičnom djelovanju imunocita. TNF- α luče makrofagi i stanice NK a TNF- β limfociti T. Obje vrste TNF mogu djelovati i protutumorski.

Veliku skupinu citokina čine i *kemokini*, među koje se ubrajaju citokini čije je glavno djelovanje kemotaksija. S obzirom na građu molekule svrstavaju se u dvije skupine: skupina CC (npr. MCP-1, RANTES) čiji predstavnici pretežno privlače makrofage, te skupina CXC (npr. IL-8) čiji predstavnici pretežno privlače neutrofile i limfocite.

U Tablici 2 navedeni su najpoznatiji citokini, stanice koje ih luče, njihove glavne "ciljne" stanice i osnovne funkcije.

TABLICA 2. Citokini, stanice koje ih luče i stanice na koje djeluju i glavni učinci

| Citokin | Izvor | Ciljna stanica | Glavne funkcije |
|-------------------------------|--|---|--|
| IL-1 α IL-1 β | makrofagi limfociti B, stanice NK | limfociti B, limfociti T, makrofagi, tkivne stanice | aktiviranje limfocita i makrofaga, adhezija leukocita uz endotel, pireksija, lučenje proteina akutne faze |
| IL-2 | limfociti T | limfociti T | proliferacija i diferencijacija limfocita T, aktivacija citotoksičnih limfocita i makrofaga |
| IL-3 | limfociti T | prastanice | čimbenik rasta |
| IL-4 | limfociti T | limfociti T, limfociti B | rast i sazrijevanje limfocita B, odabir izotipa antitijela |
| IL-5 | limfociti T | limfociti B | rast i sazrijevanje limfocita B, sinteza i lučenje IgA |
| IL-6 | limfociti T, limfociti B, makrofagi | limfociti B, hepatociti | diferencijacija limfocita B, lučenje proteina akutne faze |
| IL-7 | Stromalne stanice timusa, slezene i koštane srži | prekursori limfocita B, limfociti T | proliferacija limfocita T i B |
| IL-8 | monociti | neutrofili, bazofili | kemotaksija |
| IL-9 | Limfociti T | | Kočenje sinteze citokina |
| IL-10 | Limfociti T | limfocit T _{H1} | inhibicija sinteze citokina |
| IL-12 | monociti | limfocit T | indukcija limfocita T _{H1} |
| IL-13 | aktivirani lim- fociti T | monociti, limfociti B | kočenje lučenja IL-12 |
| IL-15 | monociti | limfociti T, aktivirani limfociti B | proliferacija |
| IL-16 | Limfociti T | Limfocit T, eozinofil, monocit | Kemotaksija limfocita T, eozinofila i monocita |
| IL-17 | Limfociti T | Limfocit T, neutrofil | Proliferacija limfocita T, sazrijevanja neutrofila |
| IL-18 | Makrofagi, keratinociti | Limfociti T, stanice NK | Koaktivacija TH1, sazrijevanje stanica NK |
| TNF α TNF β | makrofagi limfociti, mastociti | makrofagi, granulociti, tkivne stanice | aktivacija makrofaga, granulocita i citotoksičnih limfocita, adhezija leukocita uz endotel, kaheksija, pireksija, lučenje proteina akutne faze, poticanje ekspresije MHC-I |
| IFN α IFN β | makrofagi, neutrofili fibroblasti | tkivne stanice tkivne stanice | Protivirusno djelovanje, poticanje ekspresije MHC-I, poticanje NK aktivnosti |
| IFN γ | limfociti T stanice NK, makrofagi | leukociti, tkivne stanice, limfociti T _{H2} | Poticanje ekspresije MHC-I i MHC-II, aktiviranje makrofaga, adhezija limfocita uz endotel, kočenje sinteze citokina |
| M-CSF | monociti | prekursori makrofaga | Proliferacija makrofagnog prekursora |
| G-CSF | makrofagi | prastanice | Poticanje razmnožavanja i diferencijacije |
| GM-CSF | limfociti T makrofagi | prekursori makrofaga i granulocita | Poticanje proliferacije granulocitnih i makrofagnih prekursora i aktiviranje |

Komplement

Sustav komplementa čini skupina od oko 20 serumskih proteina (komponentata) čija je glavna funkcija kontrola upale. Osim što surađuju međusobno, komponente komplementa reagiraju i s drugim elementima imunološkog sustava, sudjelujući tako u imunološkom odgovoru. Aktiviranje komplementa zbiva se klasičnim putem (imunokompleksima) ili alternativnim putem (sastojcima bakterijske stijenke) i stupnjevito, tako da jedna komponenta djeluje na drugu, a učinci te aktivacije su sljedeći (Slike 24 i 25):

- liza stanica, bakterija i virusa
- opsonizacija mikroorganizama i pospješivanje njihove fagocitoze,
- privlačenje fagocita na mjesto djelovanja (kemotaksija),
- povećanje kapilarne propusnosti za različite sastojke plazme,
- oštećenje stijenke bakterija i drugih mikroorganizama koji su izazvali aktiviranje komplementa,
- oslobađanje topljivih posrednika upale iz mastocita.

Slika 24. Opsonizacija i fagocitoza. Komponente komplementa oblažu bakteriju i posreduju pri njoj adherenciji na fagocit koji posjeduje receptor za tu komponentu komplementa i time olakšavaju fagocitozu.

Proteini akutne faze

Tijekom infekcije naglo poraste koncentracija brojnih proteina plazme, te ih se stoga naziva proteinima akutne faze. U tu se skupinu ubraja npr. C-reaktivni protein (CRP) koji, vežući se na C-protein pneumokoka pospješuje njihovu fagocitozu.

Slika 25. Glavni učinci komplementa.

3. PRIROĐENA (NESPECIFIČNA) IMUNOST

Nespecifična imunost je otpornost organizma na štetne utjecaje nekih tvari ili mikroorganizma, koja postoji i bez prethodnog dodira s tim agensom. To, dakle, nije imunost specifično usmjerena protiv određenog antigena već je konstitucijsko svojstvo organizma. Filogenijski je ovaj oblik imunosti star koliko i život, a tek se u kralješnjaka na njega dogradila i specifična imunost. Kako nespecifični obrambeni mehanizmi tijesno surađuju s onim specifičnima u održavanju integriteta organizma, ova je podjela više didaktička nego što ima stvarnu podlogu. Te se dvije vrste imunost često preklapaju u svojim djelovanjima, te se baš zahvaljujući tome zdravlje često održava unatoč tome što jedan ili drugi oblik imunosti u nekom svom dijelu zakažu.

Nespecifična je imunost prva i glavna crta obrane od bakterija, gljivica, virusa, parazita i drugih štetnih ili nepoželjnih agenasa i zapravo je izvanredno djelotvorna ako se ima na umu da živimo okruženi mnoštvom mikroorganizama, te da od njih nekoliko desetaka tisuća svega stotinjak štetno utječe na čovjeka. Upravo djelotvorni nespecifični imunološki mehanizmi štite od mikroorganizama pa taj vid imunosti treba prije svega promatrati u kontekstu imunosti na infekcije. Na onih preostalih stotinjak patogenih mikroorganizama djelovat će mehanizmi specifične imunosti, ali tek pošto se probiju kroz nespecifičnu obranu.

Obrana od štetnih tvari zbiva se na (1) lokalnoj i (2) sustavnoj razini. Lokalna se obično ostvaruje na mjestu ulaska agensa u tijelo (koža, sluznica) pri čemu nije riječ samo o mehaničkoj zapreci za antigen već i o fizičkom i kemijskom protumikrobnom djelovanju. Sustavna se obrana poglavito ostvaruje fagocitozom te različitim nespecifičnim tvarima u izvanstaničnoj tekućini.

Nespecifična imunost najvažnija je u očuvanju genskog i antigenskog integriteta i izvanredno je djelotvorna jer se temelji na razmjerno jednostavnim mehanizmima koji i rijeđe zakazuju. Razlikujemo lokalnu i sustavnu obranu.

3.1. LOKALNA NESPECIFIČNA OBRANA

Prvu anatomsku zapreku čine koža i sluznica, a u usnoj šupljini i slina, o kojoj će više riječi biti u poglavlju o imunologiji usne šupljine. Otpornost se temelji:

- na fizičkom kontinuitetu organa,
- na fizičkom uklanjanju tvari s površine – one otpadaju ljuštenjem sluzi i površinskih stanica, ispiru se, odnose strujom zraka itd,
- postojanju kemijskih protuinfekcijskih tvari - kiselosti izlučevina na površini kože, kiselosti želučanog soka itd. i
- normalnoj bakterijskoj flori koja sprječava razvoj drugih mikroba - lučenjem protubakterijskih tvari, masnih kiselina itd, npr. u crijevu.

3.2. SUSTAVNA NESPECIFIČNA OBRANA

Razlikujemo staničnu i humoralnu nespecifičnu imunost.

3.2.1. STANIČNA NESPECIFIČNA IMUNOST

Najveći dio imunocita, zapravo svi osim limfocita T i B, svrstavaju se među stanice koje djeluju nespecifično jer nemaju receptora za specifično prepoznavanje antigena. Glavni nositelji nespecifične stanične imunosti su profesionalni fagociti: granulociti i mononuklearni fagociti, koji djeluju nakon što bude probijena lokalna obrana. Prepoznaju, gutaju i razgrađuju strane tvari. Uglavnom djeluju putem receptora za Fc-fragment antitijela i komponente komplemeta C3b, čime mogu fagocitirati svaku česticu koja nosi spomenute biljege. Granulociti su djelotvorni protiv agenasa koji nakon fagocitoze sami propadaju u fagocitu jer im ne pogoduje takva okolina, dok su monociti/makrofagi djelotvorniji protiv pravih unutarstaničnih nametnika koji se množe u stanici, a protiv kojih su granulociti manje djelotvorni.

Granulociti

Granulociti stižu vrlo brzo na mjesto upale i odmah djeluju, dok makrofagi djeluju u kasnijim fazama upale. Djeluju ponajprije fagocitozom, zbog čega ih se, uz monocite/makrofage, svrstava u red «profesionalnih fagocita». Unatoč sve većoj složenosti humoralnih i celularnih imunoloških mehanizama u viših organizama, koja je u sisavaca očito doživjela svoj vrhunac, fagocitoza i dalje ostaje glavnim izvršnim mehanizmom za uklanjanje napadačkih, stranih, mrtvih, promijenjenih ili na bilo koji drugi način nepoželjnih stanica i čestica. Funkcijski se odnos fagocita i ciljne čestice može podijeliti u četiri dijela: (1) privlačenje (kemotaksija), (2) vezanje čestice na površinu fagocita (adherencija), (3) ulaženje čestice u fagocit (ingestija), i (4) ubijanje čestice, tj. njena razgradnja (mikrobicidnost, digestija). Fagocitoza zapravo započinje vezanjem čestice na površinu fagocita, najčešće hidrofobnim privlačenjem ili fizičko-kemijskim mehanizmom van der Waalsova tipa privlačenja, te, znatno rjeđe, elektrostatskim privlačenjem, te napokon vezivanjem na receptor. Fagociti posjeduju receptore za Fc-fragment IgG i komponentu komplemeta C3, pa se na njih mogu vezati i neopsonizirane čestice iz plazme, koje na sebe nespecifično adsorbiraju IgG i, dakako, čestice koje su opsonizirane imunoglobulinima ili komponentama komplemeta (Slika 24). Nakon adherencije slijedi endocitoza koja započinje uvlačenjem membrane fagocita i okruživanjem čestice, čime nastaje fagocitna vakuola ili fagosom. Fagosom se po potpunom ulasku u stanicu spaja s jednom ili više fagocitnih granula -lizo-soma što sadrže hidrolitičke enzime, pa nastaje fagolizosom, a fagocitna granula se gube i to nazivamo degranulacijom. Tako se ingestirana čestica, npr. bakterija, izlaže djelovanju različitih hidrolaza koje brzo ubijaju i razgrađuju većinu bakterija. Dva su glavna puta kojima fagociti ubijaju mikroorganizme: (a) ovisan o kisiku i (b) neovisan o kisiku. Mehanizmi neovisni o kisiku temelje se na djelovanju protumikrobnih peptida - defensina koji čine 30-50 % proteinskog sadržaja granula, a ubijaju povećavajući propusnost stijenki bakterija i gljivica. Neovisno o kisiku djeluju i baktericidni enzimi lizozim, proteaze i laktoferin - protein koji koči bakterijski rast vezanjem željeza. Mehanizam ovisan o kisiku temelji se poglavito na aktivnosti oksidaza ovisnih o NADPH. One molekularni kisik pretvaraju u aktivni ionski, iz kojeg potom nastaje vodikov peroksid. U nazočnosti mijeloperoksidaze, koja čini čak 5 % suhe tvari neutrofila, vodikov peroksid reagira s kloridnim ionima stvarajući hipoklornu kiselinu (HOCl), snažno oksidirajuće sredstvo koje gotovo trenutno oksidira amine, tiole, nukleinske kiseline, proteine i druge biološki aktivne

molekule ciljnih čestica. Stvaraju se i organski kloramini (R-NCI), koji su slabiji oksidirajući agensi ali dugotrajnijeg djelovanja. Kako pritom znatno poraste potrošnja kisika u fagocitu, ta se pojava naziva "oksidacijski, respiracijski ili metabolički prasak". Ovi oksidacijski mehanizmi odgovorni su za velik dio protumikrobnih učinaka fagocita.

Makrofagi

Sudjeluju u svim fazama imunološkog odgovora. Sudjeluju u prvoj liniji obrane od stranih čestica, prije negoli se aktiviraju mehanizmi posredovani limfocitima T. Zatim preradom i predočavanjem antigena sudjeluju u pokretanju specifičnog imunološkog odgovora posredovanog limfocitima T, i napokon sudjeluju i u izvršnim fazama imunološkog odgovora kao upalne, tumoricidne i mikrobicidne stanice. Taj široki raspon funkcija mogu obavljati tek nakon izlaganja djelovanju određenih citokina, katkada točno određenim slijedom, što se naziva aktiviranjem makrofaga. Na primjer, za aktiviranje mehanizma lučenja dušikova oksida nužan je IFN- γ , a mehanizam se dalje pojačava djelovanjem TNF- α . Kako svaka imunološka reakcija, da bi bila djelotvorna, mora imati svoj početak ali i kraj, postoje i tvari koje deaktiviraju makrofage, poput prostaglandina E.

Stanice NK

To su prirodno ubilačke stanice, koje bez prethodnog susreta s antigenom mogu u neposrednom kontaktu usmrtiti drugu stanicu. Morfološki su to uglavnom veliki granulirani limfociti, a temeljno im je svojstvo da nemaju specifičnih receptora za antigen, te da u svom djelovanju nisu spregnuti glavnim sustavom tkivne podudarnosti (MHC). Ciljnu stanicu prepoznaju putem nekih ugljikohidratnih dijelova membranskih molekula ciljne stanice, posjeduju inhibicijske receptore za molekule HLA-I, koji štite stanice vlastitog organizma od djelovanja NK stanica, a djeluju oslobađanjem topljivih molekula (perforin) koje dezintegriraju membranu ciljne stanice. Budući stanice NK raspolažu i receptorom za Fc-fragment IgG (Fc γ RIII ili CD16), mogu protiv ciljnih stanica obloženih antitijelima djelovati i mehanizmom citotoksičnosti posredovane antitijelima (engl. "antibody-dependent cellular cytotoxicity", ADCC). Na aktivnost stanica NK utječu razni podražaji i citokini, posebice IFN- α i IL-2, te se tako aktivirana stanica NK naziva stanicom LAK ("lymphokine-activated killer"). Čini se da najvažniju ulogu igraju u obrani od infekcije unutarstaničnim agensima – poglavito virusima, te u obrani od zloćudnih tumora.

3.2.2. HUMORALNA NESPECIFIČNA IMUNOST

U izvanstaničnoj tekućini, posebice u plazmi, postoje brojne tvari što sudjeluju u nespecifičnoj obrani. Uglavnom opsonizacijom (oblaganjem) i kemotaksijom potiču funkcije fagocita, no neki mehanizmi djeluju samostalno.

Sustav komplementa je skup proteina (komponente komplementa C1-C9) koji određenim slijedom aktiviraju jedan drugog proteolitičkom razgradnjom, što se naziva aktivacijom, kao što je već objašnjeno na 16. stranici u odjeljku o topljivim posrednicima imunosti. Rezultat aktivacije komplementa može biti: (i) opsonizacija - pri kojoj komponente komplementa oblažu ciljnu česticu i time je čine dostupnom djelovanju fagocita s receptorom za komponente komplementa; (ii) aktivacija leukocita - koji imaju receptore za komponente komplementa; (iii) liza ciljne stanice – koja se zbiva oštećenjem membrane ciljne stanice, npr. bakterije.

Beta-lizin je protein koji uglavnom ubija gram-pozitivne bakterije, djelujući na staničnu membranu kao kationski deterdžent.

Lizozim je enzim što ga luče fagociti, napose monociti i makrofagi. Oštećuje stijenku bakterije.

Interferoni su citokini koji uz najprije otkriveno protuvirusno djelovanje, djeluju i antiproliferativno i imunoregulacijski. Antivirusno i antiproliferativno djeluju poticanjem sinteze enzima koji sudjeluju u razgradnji RNA, čime priječe ili usporavaju razmnožavanje ciljnih stanica. U protuvirusnom djelovanju nisu specifični za određeni virus već iskazuju svojstvo interferencije, što znači da tijekom infekcije jednim virusom organizam istodobno može postati otporan na infekciju drugim virusom. Interferoni su specifični za vrstu, dakle ljudski interferon zaštićuje ljudsku ali ne i npr. štakorsku stanicu.

Proteini akutne faze pojavljuju se u serumu pri upali u višestruko većoj koncentraciji od normalne (ceruloplazmin, fibrinogen, haptoglobin, C3- komponenta komplemента i C-reaktivni protein koji se veže na protein C iz ovojnice streptokoka, veže komplement i tako potiče fagocitozu itd.).

Prirodna antitijela prisutna su u cirkulaciji većine pripadnika određene vrste i nisu posljedica vidljiva dodira organizma s antigenom. To su npr. antitijela na antigene krvnih grupa, ali i nekih bakterija i virusa.

3.3. MIGRACIJA LIMFATIČNIH STANICA I UPALA

Migracija limfatičnih stanica

U normalnim okolnostima leukociti stalno odlaze u tkiva pa su te stanice u krvi zapravo nazočne samo u fazi prijelaza iz jednih tkiva u druga. Svaka vrsta stanica ima svoj način migriranja u tkiva, koji ovisi i o stupnju njihove diferencijacije i aktivacije.

- Fagociti - napuštaju koštanu srž i migriraju u periferna tkiva, napose na mjesta infekcije i/ili upale. Pritom neutrofili putuju samo u jednom smjeru dok se monociti pretvaraju u makrofage koji se mogu vraćati natrag u sekundarne limfne organe i tkiva i funkcionirati kao stanice za predočavanje antigena.
- Limfociti - migriraju iz timusa i koštane srži u sekundarna limfna tkiva i organe. Nakon susreta s antigenom i aktiviranja također se kreću prema mjestu infekcije/upale, a stanice koje pamte raspoređuju po ostalim limfnim tkivima.
- Stanice za predočavanje antigena (dendritične, Langerhansove) izvorno također potječu iz koštane srži i naseljavaju razne organe i tkiva. Nakon preuzimanja i prerade antigena mogu migrirati u lokalne limfne čvorove i prezentirati antigene limfocitima T.

Način kretanja leukocita ovisi o:

- stanju aktivacije leukocita - ekspresija funkcijskih površinskih biljega ovisi o vrsti stanice i o tome je li aktivirana antigenom, citokinom ili djelovanjem druge stanice;
- adhezijskim molekulama na površini vaskularnog epitela i samih leukocita - što ovisi o vrsti leukocita i anatomskom mjestu upale te aktivaciji citokinima;

- djelovanju kemotaksijskih tvari i citokina na mjestu upale - različiti leukociti raspolažu receptorima za različite citokine, pa pojedini citokini i kemotaksijske tvari selektivno djeluju na pojedine vrste stanica.

Adhezijske molekule

To su membranski proteini koji omogućavaju vezanje jedne stanice za drugu. Na svoju interakciju s drugom stanicom, stanica može utjecati povećavanjem broja adhezijskih molekula (sintezom novih molekula ili mobiliziranjem pričuvnih) ili povećanjem njihova afiniteta/avidnosti. Po svojoj građi adhezijske se molekule dijele na imunoglobuline, integrine, selektine i proteoglikane. Uz njihovu pomoć leukocit prijanja uz vaskularni epitel, protiskuje se kroz kapilarnu stijenku i privučen kemotaksijskim tvarima odlazi na mjesto djelovanja.

Kemotaksijske molekule

Mnoge molekule djeluju kemotaksijski, privlačeći granulocite i druge imunocite na mjesto djelovanja, poput komponente komplementa C5a, leukotriena B4 (LTB4) i nekih citokina koje nazivamo kemokinima. Danas je već poznato pedesetak različitih kemokina, a svrstavaju se u tri skupine: alfa-kemokini (kemokini CXC), npr. IL-8 što ga luče makrofagi, beta-kemokini (CC) i gama-kemokini (C), koji uz kemotaksijsko imaju i druga djelovanja, npr. pospješuju angiogenezu i fibrogenezu, doprinoseći tako i cijeljenju oštećenog tkiva.

Upala

Upala je reakcija na fizičku, kemijsku ili biološku ozljedu i zbiva se tako da razrijedi, uništi ili blokira napadačku tvar i/ili vlastite uništene stanice, a potom slijedi proces cijeljenja. Upala ima tri osnovne komponente:

- ⇒ **povećanje protoka krvi** kroz napadnuto područje, čime se povećava doprema leukocita i raznih topljivih molekula u to područje (najprije se dilatiraju kapilare, potom arteriole, karakterističan znak je crvenilo),
- ⇒ **povećanu kapilarnu propusnost** koja omogućava povećanu eksudaciju sastojaka plazme (antitijela, komplementa itd, karakterističan znak je edem),
- ⇒ **povećanu migraciju leukocita** u to područje.

Na mjesto upale obično prvi, dakle u njenoj akutnoj fazi, stižu granulociti i trombociti. Ako uspiju neutralizirati uzrok upale, ona i završava tom akutnom fazom a ako ne, upala prelazi u kroničnu fazu tijekom koje se na mjestu upale nakupljaju mononuklearni fagociti i limfociti.

Akutna upala

Stanice akutne upale su mastociti (bazofili), trombociti, neutrofile i eozinofile. Mastociti sadrže brojna citoplazmatska granula s biološki aktivnim tvarima, čije je oslobađanje odgovorno za većinu vaskularnih manifestacija akutne upale. Oslobađanjem posrednika upale javljaju se vazodilatacija i povećana kapilarna propusnost (histamin, serotonin, bradikinin, prostaglandin E2), a neki djeluju i kemotaksijski (leukotrien B4) privlačeći na mjesto upale neutrofile i eozinofile (Slika 26). Trombociti oslobađaju heparin i serotonin i time sudjeluju u zbivanjima u akutnoj fazi upale, no primarna im je uloga blokiranje oštećene stijenke krvne žile i sprječavanje krvarenja. Neutrofile su najbrojnija stanična komponenta u akutnoj upali, a na mjesto upale stižu privučeni brojnim kemotaksijskim tvarima poput komponente komplementa C5, LTB4 i IL-8. Djeluju fagocitozom na ranije opisani način, ali i izvanstaničnim

oslobađanjem granula. Eozinofile pretežno nalazimo u dvije vrste upala: alergijskoj reakciji i parazitnim infekcijama. Na njih kemotaksijski djeluju komponenta komplementa C5 i histamin. Eozinofili djeluju fagocitozom i oslobađanjem granula s litičkim enzimima. Baš kao i neutrofili, degranulacijom mogu oštetiti i vlastita, zdrava tkiva.

Topljivi posrednici akutne upale su sustav komplementa, koagulacijski sustav, kininski sustav i proteini akutne faze. Komponente komplementa i njihovo aktiviranje glavnim i alternativnim putem već su

ranije opisani. Ovdje se valja podsjetiti na koji način aktivirane komponente komplementa mogu pospješiti imunološku reakciju: kemotaksijskim djelovanjem, opsonizacijom ciljnih čestica čime se pospješuje njihova fagocitoza, te izravnom lizom ciljnih čestica. Pri svakoj iole znatnijoj upali aktivira se sustav koagulacije krvi, što rezultira stvaranjem ugruška i zaustavljanjem krvarenja. Ugrušak se, međutim, ubrzo uklanja fibrinolizom, kako bi se ponovno uspostavio protok krvi kroz oštećeno područje. Kininski sustav obuhvaća kininogene, molekule velike molekulske mase, koje se djelovanjem enzima kalikreina cijepaju u manje vazoaktivne peptide, poput bradikinina, koji pospješuju vazodilataciju i povećavaju vaskularnu propusnost. Proteini akutne faze obuhvaćaju heterogenu skupinu proteina čija se koncentracija u akutnoj upali povećava, a neki od njih već su ranije spomenuti. Stanice i topljive komponente međusobno reagiraju, potiču svoja djelovanja i moderiraju upalnu reakciju. Sustavi komplementa, kinina i koagulacije zajedno s mastocitima i bakterijskim proizvodima izazivaju vazodilataciju, povećanu vaskularnu propusnost i kemotaksiju, privlačeći najbrojnije stanične posrednike akutne upale – neutrofile. Oni pak fagocitiraju mikroorganizme i razgrađuju ih svojim lizosomskim enzimima. Valja naglasiti da ti, u osnovi obrambeni mehanizmi, mogu oštetiti i vlastita tkiva. To, na primjer, mogu učiniti lizosomski enzimi neutrofila, produkti komplementom razorenih stanica mogu aktivirati koagulacijske faktore, ovi kininski sustav itd. Vjeruje se da eozinofili sudjeluju u deaktiviranju posrednika što ih luče mastociti.

Kronična upala

Slijedi nakon akutne, ako ova nije bila dostatna za uklanjanje uzroka upale i pokretanje procesa cijeljenja. Svrha je kronične upale: očistiti tkivo od nekrotičnih ostataka akutne upale, pokrenuti dodatne obrambene mehanizme protiv perzistentne infekcije i okončati proces

Slika 26. Upala. Na mjestu oštećenja tkiva oslobađaju se posrednici upale (npr. komponente komplementa), koji aktiviraju endotel obližnjih venula, pospješujući prolaz fagocita kroz stijenke venula u tkivo i djelujući kemotaksijski, privlače fagocite na mjesto upale.

cijeljenja nastalog oštećenja. Ako zdravo tkivo nije ni bilo oštećeno ili je oštećenje malo, ono se mehanizmima kronične upale može posve sanirati, a ako je oštećenje opsežnije, oštećena se tkiva nadomještaju vezivom (ožiljak).

Stanice kronične upale su limfociti, makrofagi i plazma stanice. Nasuprot polimorfonuklearnim granulocitima, koji su ključno obilježje akutne upale, kroničnu, dakle, obilježava nakupljanje mononuklearnih stanica. Limfociti u upali djeluju kao citotoksične stanice (CD8+) koje mogu izravno uništiti ciljane stanice i kao pomagačke (CD4+), koje lučenjem različitih citokina sudjeluju u privlačenju i aktiviranju makrofaga, kontroli proliferacije limfocita i regulaciji lučenja antitijela. Privučeni kemotaksijskim tvarima, izlaze iz krvnih kapilara u tkiva na način sličan granulocitima (proces posredovan adhezijskim molekulama) i stižu na mjesto djelovanja, gdje mogu djelovati izravnom citotoksičnošću protiv ciljnih stanica (citotoksični limfociti T i stanice NK) ili, što je važnije, nakon aktiviranja proizvode i luče brojne citokine (pomagački limfociti T), koji privlače i aktiviraju makrofage i reguliraju pretvorbu limfocita B u plazma-stanice koje, pak, luče antitijela. O djelovanju limfocita T i B biti će više riječi u poglavlju o specifičnoj staničnoj imunosti. Makrofagi su vodeće stanice kronične upale i na mjestu djelovanja obično se pojavljuju nekoliko sati nakon limfocita. Glavna im je zadaća fagocitoza i pš probava oštećenih dijelova tkiva, stanica i mikroorganizama, za što raspoložu snažnim lizosomskim enzimima i tako pripremaju tkivo za okončanje upalnog procesa. Plazma stanice nastaju iz aktiviranih limfocita B, a glavna im je funkcija proizvodnja antitijela. Pod utjecajem IL-2, IL-4 i IL-5 limfociti B proliferiraju, a djelovanjem IL-4, IL-5, IL-6 i IL-10 diferenciraju se u plazma stanice.

Uz stanice, u kroničnoj upali posreduju brojni citokini koji mogu djelovati autokrino (utječu na funkcije iste vrste stanica koje ih luče) ili parakrino (utječu na funkcije drugih vrsta stanica). Glavni citokini kroničnog upalnog odgovora su interleukin-1 (IL-1), interferon-gama (IFN- γ), faktor tumorske nekroze-beta (TNF- β), transformirajući faktor rasta-beta (TGF- β) i interleukin-2 (IL-2). IL-1 luče makrofagi, dendritične stanice, limfociti T i B i endotelne stanice. Ima čitav niz učinaka: potiče lučenje drugih citokina, stvaranje citotoksičnih izvršnih stanica i proizvodnju upalnih stanica u koštanoj srži. Budući da može izazvati i vrućicu i šok, važno je da se njegovo djelovanje može i obuzdati, tako da njegovu aktivnost koče glukokortikoidi, IL-4, IL-10 i PGE2. IL-2 luče uglavnom aktivirani limfociti T. Autokrino potiče proliferaciju limfocita T, a parakrino utječe na limfocite B. Inducira diferencijaciju limfocita B u plazma stanice, aktivira stanice NK i pojačava citotoksičnost makrofaga. U upali mu je glavno djelovanje stimulacija lučenja IL-1 i IFN- γ . IFN- γ luče aktivirani limfociti T i aktivirane stanice NK. Aktivira makrofage, potiče ekspresiju molekula HLA-I u većine stanica, a HLA-II u imunocita, potiče ekspresiju adhezijskih molekula na endotelnim stanicama (ključno za izlaženje limfocita i granulocita iz krvnih kapilara), potiče citotoksično djelovanje limfocita T i stanica NK, te potiče lučenje drugih citokina, poput TNF i IL-1. TGF- β luče trombociti, aktivirani makrofagi, limfociti T i B. Djeluje kao kemokin (kemotaksijski) i potiče odlaganje izvanstanične tvari te je jedan od ključnih citokina koji sudjeluju u cijeljenju tkiva. TNF luče aktivirani makrofagi, limfociti T i stanice NK, a on aktivira endotelne stanice, makrofage i granulocite, pospješuje adherenciju leukocita, lučenje proteina akutne faze, ekspresiju molekula MHC-I, kostimulira proliferaciju limfocita T i B, te pospješuje lučenje drugih citokina. Uz to, uzrokuje vrućicu, hipotenziju i gubitak tjelesne težine (kaheksija). IL-2 pospješuje proliferaciju limfocita T i B, aktivira stanice NK posredujući u njihovoj pretvorbi u stanice LAK, te aktivira

makrofage, pospješujući njihovo mikrobicidno i citotoksično djelovanje. Iz prikazanog se vidi da većina citokina ima višestruko djelovanje (pleiotropija), te da im se djelovanja prekrivaju, što je veoma važno jer ako zakaže djelovanje jednog, istu funkciju obavi jedan ili više drugih citokina. Također se vidi da mnogi citokini mogu izazvati i različite štetne učinke ako im se djelovanje ne obuzda, što se u uvjetima kronične upale često i događa.

4. STEČENA (SPECIFIČNA) IMUNOST

Prepoznavanje antigena svojstvo je specifične, stečene imunosti i za taj su proces odgovorne dvije različite vrste molekula: (i) *receptori za antigen na limfocitima B* (engl. “B cell receptor”, BCR) i (ii) receptori za antigen na limfocitima T (engl. “T-cell receptor”, TCR). Osnovno svojstvo tih molekula je njihova velika raznolikost. Premda BCR i TCR imaju mnogo zajedničkih svojstava, poput konstantnih i varijabilnih područja molekule itd, načini na koje limfociti B i limfociti T prepoznaju antigene ipak se znatno razlikuju. BCR može prepoznati i otopljeni antigen i onaj na površini stanice, no uvijek ga prepoznaje u njegovu nativnom obliku; za razliku, TCR prepoznaje samo antigene vezane na stanicu i to u kompleksu s molekulama MHC; ti su antigeni, najčešće, prerađeni, t.j. razgrađeni, pa je determinanta što je prepoznaje TCR obično samo malen dio izvornoga antigena i ne mora zadržati njegovu prostornu konformaciju. Postoji još jedna razlika između BCR i TCR: TCR je uvijek vezan uz staničnu membranu i ne može se naći u topljivu obliku, a BCR, koji je po svojoj građi imunoglobulin, proizvodi se i u obliku topljivih antitijela.

4.1. RECEPTORI LIMFOCITA B ZA ANTIGEN

Kao što je već spomenuto, BCR su po svojoj građi imunoglobulini, t.j. antitijela. Imunoglobulini su skupina glikoproteina kojih je dio prisutan na površini limfocita B gdje funkcioniraju kao receptori za određeni antigen (BCR), a dio je, u obliku antitijela, nazočan u tjelesnim tekućinama (Slika 27). U većine sisavaca razlikuje se pet razreda imunoglobulina - IgG, IgM, IgA, IgD, IgE - međusobno različitih s obzirom na veličinu molekule, električni naboj, sastav aminokiselina i sastav ugljikohidrata. Osnovno svojstvo imunoglobulina je njegova bifunkcionalnost. Dio molekule namijenjen je vezanju s antigenom, a drugi dio obavljaju tzv. izvršnih funkcija, t.j. interakciji s drugim stanicama i imunocitima te topljivim komponentama, poput komplementa. Pripadnost određenom razredu ovisi o građi, t.j. sastavnim dijelovima imunoglobulina.

Slika 27. Imunoglobulini se pojavljuju kao receptori za antigen na limfocitima B (BCR) i kao topljive molekule (antitijela); H = teški lanac; L = laki lanac; Fab = varijabilni dio antitijela namijenjen vezanju antigena; Fc = konstantni dio antitijela namijenjen interakciji s drugim imunološkim mehanizmima.

Građa imunoglobulina

Osnovnu građu imunoglobulina čine četiri polipeptidna lanca: dva istovjetna laka i dva istovjetna teška lanca, međusobno povezana disulfidnim vezama. Dvije su vrste lakih lanaca (κ i λ) molekulske mase 25 kDa te pet vrsta teških (α , γ , δ , μ i ϵ) lanaca molekulske mase 50 do 77 kDa. Pripadnost određenom razredu ovisi o vrsti teških lanaca u molekuli imunoglobulina, pa

imunoglobulin G (IgG) sadrži dva teška lanca γ , IgA sadrži dva teška lanca α , IgM dva teška lanca μ , IgD dva teška lanca δ , a IgE dva teška lanca ϵ (Slika 28).

Tipična građa imunoglobulina može se razmotriti na primjeru IgG. Molekula ima oblik slova Y; N-terminalni krajevi su mjesta namijenjena vezanju antigena, a C-terminalni kraj namijenjen je interakciji s drugim komponentama imunološkog sustava pri obavljanju izvršnih funkcija imunoglobulina. Proteolitički enzim pepsin cijepa molekulu na dva dijela od kojih se C-terminalni (konstantni) dio naziva fragmentom Fc a preostali dio fragmentom (Fab)₂; enzim papain, pak, cijepa molekulu imunoglobulina nešto više, dijeleći je na tri fragmenta: Fc fragment i dva fragmenta Fab, koji iskazuju različit stupanj varijabilnosti i čiji se vršni, najpromjenljiviji dijelovi nazivaju hipervarijabilnim područjima imunoglobulina i to su mjesta vezanja s antigenom (Slika 28).

Vežanje antigena na antitijelo

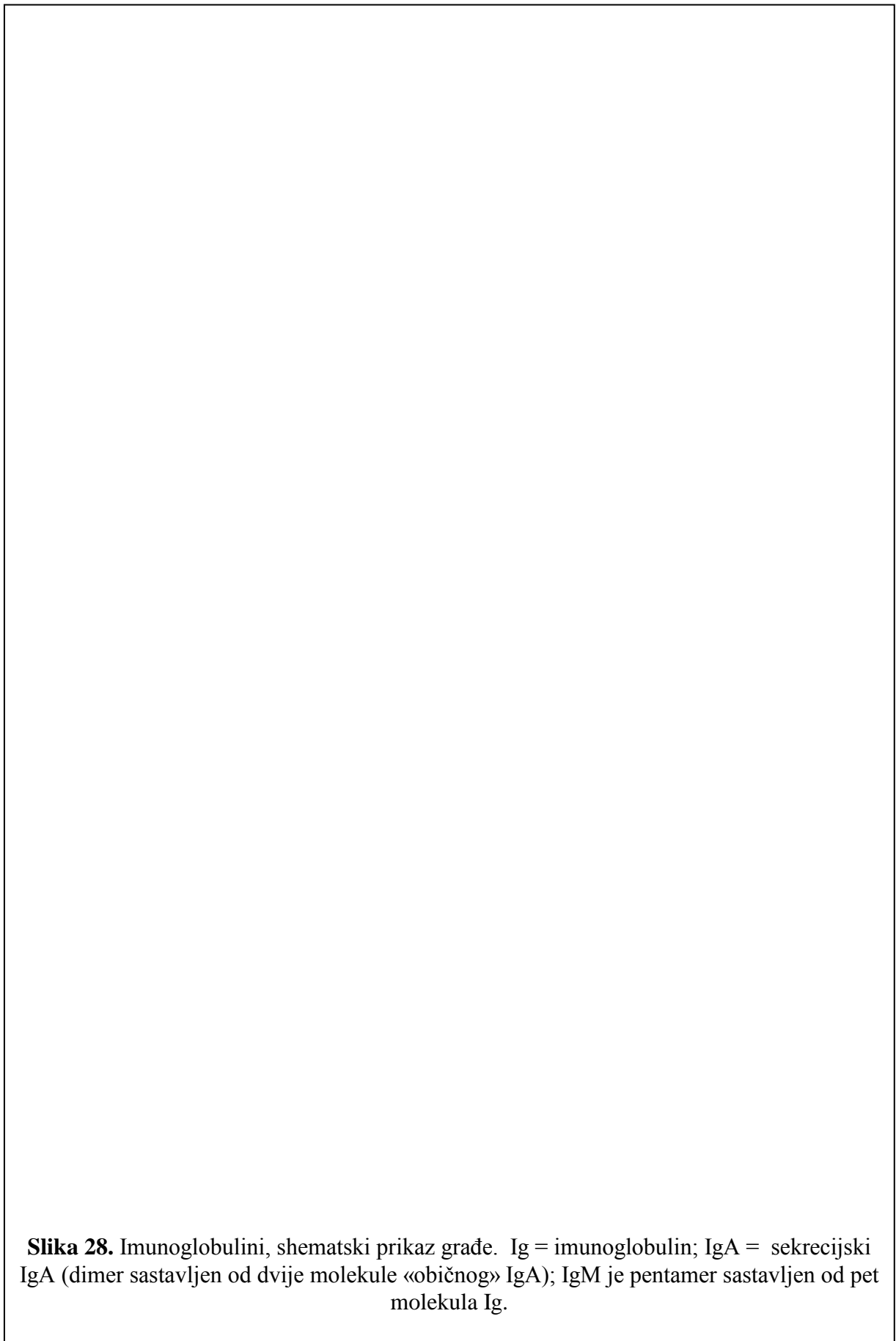
Antigen se na antitijelo veže višestrukim, nekovalentnim vezama: vodikovim vezama, elektrostatskim i hidrofobnim. Premda su one slabije od kovalentnih, velik broj takvih veza omogućava dovoljnu konačnu čvrstoću veze antigen-antitijelo. S obzirom na narav vezanja, razlikuju se tri svojstva antitijela: afinitet, avidnost i specifičnost. Afinitet je zbroj privlačnih i odbojnih sila jednog veznog mjesta, dakle odražava čvrstoću vezanja na jednom veznom mjestu. Budući da antitijelo ima barem dva vezna mjesta za antigen, te da antigen može biti monovalentan (haptent) ili multivalentan (mikrobi), veza antigen-antitijelo može biti višestruka, pa avidnost odražava ukupnu snagu veze antigen-antitijelo. Ima dovoljno dokaza da antitijelo zapravo prepoznaje cjelokupnu konfiguraciju antigenskog epitopa, a ne samo njegovu kemijsku građu te da je sposobno razlikovati i male razlike u primarnoj građi peptidnog antigena, električnom naboju, optičkoj konfiguraciji i steričkoj konformaciji antigenskog epitopa i to nazivamo specifičnošću antitijela. Stoga se većina antitijela veže na nativne antigene ili na njihove fragmente koji su dovoljno veliki da su barem djelomice zadržali i svoju terciarnu građu, nužnu za višestruku interakciju antitijela s antigenom.

Funkcije antitijela

Primarna funkcija antitijela je vezanje antigena. U nekim slučajevima takvo vezanje odmah rezultira neutralizacijom antigena, npr. bakterijskog toksina, no u većini slučajeva samo vezanje antitijela na antigen nije dostatno za neutralizaciju i/ili uništavanje antigena; za to su nužne sekundarne, tzv. izvršne funkcije antitijela: vezanje na komplement ili na druge tjelesne ili imunokompetentne stanice, koje raspolažu površinskim receptorima za imunoglobuline. Najčešće je riječ o receptorima za Fc-fragment imunoglobulina, pa postoje: (i) tri vrste receptora za Fc fragment imunoglobulina G (Fc γ R): Fc γ RI, (CD64) na monocitima, Fc γ RII (CD32) na limfocitima B, makrofagima i granulocitima i Fc γ RIII (CD16) na monocitima i stanicama NK; (ii) receptori za Fc-fragment IgA (Fc α R), te (iii) dvije vrste receptora za Fc-fragment IgE: Fc ϵ RI na bazofilima i mastocitima i Fc ϵ RII na aktiviranim limfocitima B i monocitima.

Svojstva pojedinih razreda imunoglobulina (Ig)

IgG To je najzastupljeniji Ig u ljudskome serumu, čini 70-75 % ukupnih imunoglobulina, molekulska mu je masa 146 kDa, sadrži 2-3 % ugljikohidrata (Slika 28), dijeli se u više



podrazreda (IgG1 do IgG4), glavno je antitijelo sekundarnog imunološkog odgovora i jedino koje reagira s bakterijskim toksinima.

IgM To je pentamer osnovne molekule građene od četiriju polipeptidnih lanaca, molekulske mase 970 kDa, čini oko 10% svih Ig, sadrži 12 % ugljikohidrata (Slika 28) i glavni je sastojak primarnog humoralnog odgovora, uglavnom na antigenski složene infektivne mikroorganizme.

IgA Molekulske mase 160 kDa, čini 15-20 % svih imunoglobulina, sadrži 7-11% ugljikohidrata (Slika 28), dijeli se u dva podrazreda (IgA1 i IgA2) i glavni je imunoglobulin seromukoznih sekreta poput sline, mlijeka, traheobronhalnih i mokraćnospolnih sekreta. U serumu se javlja kao monomer, a u seromukoznom sekretima kao dimer molekulske mase 385 kDa.

IgD Čini manje od 1% ukupnih imunoglobulina u serumu (Slika 28), no najzastupljeniji je imunoglobulin na površini limfocita B. Funkcije mu nisu dobro upoznate no mogao bi igrati ulogu u diferencijaciji limfocita.

IgE U krvi ga je vrlo malo (Slika 27), no obilno je zastupljen na površini bazofila i mastocita. Igra ulogu u protuparazitnoj imunosti te u nastanku alergijskih poremećaja poput astme.

4.2. RECEPTORI ZA ANTIGENE NE LIMFOCITIMA T (TCR)

Prepoznavanje antigena limfocitima T najvažniji je element pokretanja i realizacije učinkovitog imunološkog odgovora. Receptor za antigen na limfocitu T (engl. "T-cell antigen receptor", TCR) je heterodimerna molekula sastavljena od lanaca α i β ili lanaca γ i δ . TCR je uvijek povezan sa skupinom od pet polipeptida, koji se zajednički nazivaju biljegom CD3, pa se tako razlikuju dvije vrste membranskih receptora limfocita T: $\alpha\beta$ TCR-CD3 i $\gamma\delta$ TCR-CD3. Velika većina limfocita u perifernoj krvi, ali i u timusu, njih 90-95%, nosi $\alpha\beta$ TCR-CD3, dok su limfociti s $\gamma\delta$ TCR-CD3 obilno zastupljeni u različitim vrstama epitela, npr. probavnom epitelu. Budući da je prepoznavanje antigena receptorima na limfocitima T moguće samo u kombinaciji s vlastitim molekulama glavnog sustava tkivne podudarnosti (engl. "major histocompatibility complex", MHC), valja reći nekoliko riječi i o njemu.

Glavni sustav tkivne podudarnosti

Čine ga molekule dvaju razreda: MHC-I i MHC-II. Molekule razreda I sastoje se od jednog teškog polipeptidnog lanca (45 kDa) povezanog s molekulom β_2 -mikroglobulina (12 kDa). U čovjeka se razlikuju tri podskupine razreda I: HLA-A, HLA-B i HLA-C. Molekule razreda II sastoje se od jednog lakog (26-29 kDa) i jednog teškog (30-34 kDa) glikoproteinskog lanca. Dijele se u tri podskupine: HLA-DR, HLA-DP i HLA-DQ. Temeljno svojstvo im je veliki polimorfizam, t.j. strukturna raznolikost, za koju su odgovorni teški lanci i koja čini temelj specifičnog imunološkog prepoznavanja limfocitima T. TCR prepoznaje prerađeni antigen vezan na molekule MHC-I ili MHC-II.

Prerada i predočavanje antigena

Antigen se limfocitu T ne predočava u nativnom obliku već prerađen, tj. razgrađen u manje fragmente i u kompleksu s molekulama MHC. Ta se prerada zbiva u stanicama za predočavanje

antigena (engl. "antigen presenting cell", APC), poput dendritičnih stanica i makrofaga (Slika 29). Stoga većinu epitopa, što ih prepoznaju limfociti T, čine dijelovi peptidnih lanaca koji su često nedostupni imunološkom prepoznavanju u intaktnoj molekuli antigena. Nadalje, različite molekule MHC vežu na sebe različite peptidne fragmente, što pak ovisi o vrsti molekule MHC, dakle o njenom haplotipu. U pravilu, molekule MHC-I (prisutne na stanicama T_C ali i na svim ostalim tjelesnim stanicama) vežu na sebe endogene antigene, sintetizirane u samoj ciljnoj stanici, dok molekule MHC-II (prisutne na stanicama T_H) vežu na sebe egzogene antigene. Na primjer, ako se osmotskim šokom u citoplazmu ciljne stanice unese ovalbumin, on će pobuditi reakciju T_C stanica, a ako se doda egzogeni albumin, on će pobuditi samo reakciju T_H stanica. Dakle, hoće li se antigen predočiti s molekulom MHC-I ili MHC-II ne ovisi o građi antigena već o njegovoj lokaciji.

Slika 29. Prerada antigena. Antigen se u stanici za predočavanje (APC) razgradi, njegovi fragmenti vežu na molekule MHC i izlažu na membrani APC radi predočavanja drugim imunocitima.

Uloga akcesornih molekula

Premda specifičnost vezanja limfocita T na ciljnu stanicu ovisi isključivo o interakciji TCR s antigenom vezanim na molekulu MHC-I ili MHC-II, za dovoljno čvrsto vezanje i dalje imunološko djelovanje nužna je suradnja drugih, tzv. akcesornih molekula na limfocitu T, koje se vežu na svoje ligande na stanici s kojom limfocit T stupa u interakciju (npr. stanica za predočavanje antigena); tri najvažnije su:

- CD2 koja se veže na LFA-3 druge stanice,
- LFA-1 koja se veže na ICAM-1 i ICAM-2 druge stanice i
- CD28 koja se veže na B7-1 (CD80) i B7-2 (CD86) druge stanice.

4.3. SURADNJA STANICA U IMUNOLOŠKOJ REAKCIJI

U svim limfnim tkivima i organima raspoređene su različite vrste imunocita u tijesnom međusobnom dodiru, što pokazuje da ne funkcioniraju odvojeno već međusobno surađuju na vrlo organizirani način (Slika 30).

- Limfociti T aktiviraju se prilikom prepoznavanja antigena koje im predočavaju APC;
- Limfociti T_H stupaju u dodir s limfocitima B koji im predočavaju antigene vezane na svojoj površini na BCR;
- Time se limfociti B aktiviraju, proliferiraju i pretvaraju u stanice što luče antitijela (plazma stanice);
- Proizvedena antitijela pokreću različite oblike imunološkog odgovora.

Iz navedenog se vidi da stanice u mirovanju nisu sposobne za pokretanje imunološke reakcije, već se u interakciji s antigenom ili s drugim stanicama moraju aktivirati, t.j. dovesti u stanje koje im omogućava pokretanje imunološkog odgovora na antigen s kojim se susretnu.

Aktiviranje limfocita T

Ono se zbiva tako da stanica za predočavanje antigena (APC) preradi (razgradi) antigen, čiji se dijelovi potom vežu na molekule MHC-I ili MHC-II i takav kompleks APC predočava limfocitima T. Kao APC mogu poslužiti različite stanice - dendritične, Langerhansove, makrofagi, limfociti B - a čini se da su najvažnije među njima dendritične. Sadrže brojne molekule MHC-II koje reagiraju s TCR i CD4 na površini limfocita T_H i najučinkovitije su u pokretanju primarnog imunološkog odgovora. U pokretanju sekundarnog to često mogu biti limfociti B jer svojim receptorima velikog afiniteta (IgM i IgD) mogu vezati i predočiti antigen i u onim slučajevima kad je njegova koncentracija suviše mala da bi to uspješno mogle učiniti dendritične stanice ili makrofagi.

Kompleks TCR prepoznaje antigenski fragment (polipeptid) vezan na molekulu MHC i to određuje specifičnost prepoznavanja, jer kompleks polipeptid-MHC ima jedinstvenu građu koju prepoznaje, tj. na koju se veže točno određeni TCR. U tu su interakciju, međutim, uključene i druge molekule i na APC i na limfocitu T, koje nazivamo akcesornima i koje učvršćuju vezu između dviju stanica, pomažu prijenosu signala s membrane u jezgru i potiču ih na lučenje različitih citokina važnih za dalji tijek imunološke reakcije. Najvažnije akcesorne molekule na limfocitu T, koje stupaju u interakciju s odgovarajućim akcesornim molekulama na APC su:

| <u>molekula na limfocitu T</u> | <u>ligand na APC</u> |
|--------------------------------|----------------------|
| CD2 | LFA-3 |
| LFA-1 | ICAM-1 |
| CD28 | CD80/CD86 |

Time se limfocit T_H aktivira i postaje sposoban za razne oblike pomagačkih djelovanja, t.j. lučenje različitih citokina. Aktiviranje CD8+-stanica slabije je istraženo no čini se da se zbiva na sličan način, ali uz predočavanje antigenskog fragmenta vezanog na molekule MHC-I i vjerojatno uz pomoć CD4+-stanica.

Slika 30. Suradnja imunocita. Stanice APC predočavaju antigene limfocitima T i pokreću njihov odgovor na antigen (lučenje citokina pri aktivaciji Th i citotoksično djelovanje pri aktivaciji Tc). Limfociti B također vežu antigene, predočavaju ih limfocitima T i od njih dobivaju signale za razmnožavanje i pretvorbu u plazma-stanice (PS) koje luče antitijela, i stanice koje pamte (B_M).

Aktiviranje limfocita B

Limfocit B aktivira se interakcijom s limfocitom T. To je također dvosmjernan proces, tijekom kojega limfocit B predočava antigen limfocitu T, nakon čega od njega prima signal za diobu, proliferaciju i diferencijaciju u stanicu koja luči antitijela (Slika 30). Antigen se limfocitu T predočava vezan na molekulu MHC-II i taj se kompleks veže na TCR kao i pri aktiviranju limfocita T. U interakciji također sudjeluju akcesorne molekule:

| <u>molekula na limfocitu B</u> | <u>ligand na limfocitu T</u> |
|--------------------------------|------------------------------|
| LFA-3 | CD2 |
| CD80/CD86 | CD28 |
| ICAM-1 | LFA-1 |

pri čemu limfocit T_H luči brojne citokine (: IL-2, IL-4, IL-5, IL-6) što potiču proliferaciju, diferencijaciju i lučenje antitijela. Valja istaknuti da rezultat opisane interakcije ne mora uvijek biti aktivacija limfocita B; interakcija može rezultirati i posve suprotnim učinkom - inaktivacijom limfocita B (klonska anergija), što se drži važnim mehanizmom obuzdavanja djelovanja autoreaktivnih limfocita B. Iz opisanog se vidi da većinu antigena moraju prepoznati i limfociti T i limfociti B da bi se pokrenula imunološka reakcija na njih. Takve antigene nazivamo T-ovisnim antigenima. Postoji, međutim, manji broj antigena koji mogu izravno aktivirati limfocite B bez suradnje s limfocitima T. Oni se nazivaju T-neovisnima. Većinom je riječ o velikim molekulama, koje obično pri višim koncentracijama aktiviraju limfocite B inače specifične za druge antigene, pa tu pojavu nazivamo poliklonskom aktivacijom. Mnogi od takvih antigena su bakterijski, poput lipopolisaharida (LPS) itd.

5. IMUNOLOŠKI ODGOVOR

Imunološki je odgovor je skup izvršnih imunoloških mehanizama kojima se nakon susreta s antigenom i njegova prepoznavanja antigen neutralizira ili uništava. Razlikujemo humoralni i celularni imunološki odgovor.

5.1. HUMORALNI IMUNOLOŠKI ODGOVOR

Započinje opisanim aktiviranjem limfocita B uz pomoć limfocita T. Rezultat je proliferacija koja se zbiva djelovanjem više citokina što ih luče stanice T_H - IL-2, IL-4 i IL-5 - i rezultat koje je ekspanzija određenoga klon stanica (iz jedne stanice u roku pet dana nastaje 5000 novih), koje će lučiti antitijelo protiv antigena koji je izazvao aktivaciju. Proizvodnja antitijela također se zbiva pod utjecajem citokina koji određuju razred antitijela koje se sintetizira. Na primjer, IgE i IgG1 se sintetiziraju pod utjecajem IL-4, IgG2a pod utjecajem IFN- γ , a IgA pod utjecajem TGF- β (ENGL. "transforming growth factor", čimbenik transformacije). Razlikujemo tzv. primarni odgovor, dakle lučenje antitijela nakon prvog susreta s antigenom i sekundarni odgovor, tj. lučenje antitijela nakon ponovnog susreta a antigenom. Odlike su sekundarnog odgovora, za razliku od primarnog: (i) za odgovor je potrebna manja količina antigena; (ii) antitijela se luče brže i u većem titru; (iii) obično se luči IgG (za razliku od IgM u primarnom odgovoru).

To znači da imunološki sustav ima svojstvo pamćenja.

Imunološko pamćenje

Nakon aktiviranja dio limfocita B ne transformira se u stanice što luče antitijela već u stanice koje pamte (Slika 30) i koje pri ponovnom susretu s antigenom pokreću sekundarni imunološki odgovor.

Učinci antitijela

Premda je primarna funkcija antitijela vezanje na antigen, samim vezanjem antitijela na antigen samo se u rijetkim slučajevima ostvaruje učinkovita neutralizacija antigena, npr. bakterijskih toksina. Za djelotvorno uništavanje antigena u većini slučajeva, međutim, nužno je aktiviranje tzv. sekundarnih, izvršnih funkcija antitijela: (i) aktiviranje komplementa koji potom izazove lizu ciljne stanice, npr. bakterijske; (ii) vezanje antitijela putem F- fragmenta na druge imunokompetentne stanice s receptorima za Fc-fragment, koje potom uništavaju antigen. Tako antitijelo posluži kao "most" između ciljne (npr bakterijske, tumorske, virusom zaražene) stanice i izvršne stanice, koja uništava ciljnu bilo reakcijom citotoksičnosti posredovane antitijelima (stanice NK i monociti/makrofagi) bilo fagocitozom (granulociti, monociti/makrofagi).

5.2. CELULARNI IMUNOLOŠKI ODGOVOR

Celularne imunološke reakcije neovisne o limfocitima T opisane su u odjeljku o nespecifičnoj imunosti. Ovdje se opisuje specifična celularna imunost, dakle ona posredovanu limfocitima T. Središnja uloga u regulaciji celularnog imunološkog odgovora pripada limfocitima CD4+, dakle induktorsko-pomaćkim ili limfocitima T_H . Njihove različite subpopulacije određuju vrste

interakcije među imunokompetentnim stanicama lučeći različite vrste citokina, određujući tako i specifičnost i mehanizam celularne imunološke reakcije:

- određuju specifičnost odgovora, t.j. određuju koji antigen ili koji epitop će se prepoznati;
- uključuju se u odabir izvršnog mehanizma koji će se pokrenuti protiv odabranog antigena;
- pomažu proliferaciju odabranih izvršnih stanica;
- potiču funkcije fagocita i ostalih nespecifičnih stanica;
- mogu i zakočiti imunološki odgovor (supresijske stanice, T_S).

Limfociti T_H odabiru vrstu izvršnog mehanizma

Nakon što odrede koji antigenski epitop će biti predmetom imunološkog prepoznavanja i cilj imunološkog odgovora, limfociti T_H "odlučuju" i o tome koji će izvršni mehanizam biti najprikladniji za reakciju protiv odabranog antigena. Takvih je mehanizma mnogo, a tri najpoznatija i najvažnija su: (i) citotoksičnost posredovana limfocitima $CD8^+$ (T_C); (ii) produkcija antitijela, aktivacija mastocita i eozinofila; (iii) aktivacija makrofaga i pokretanje mehanizma odgođene preosjetljivosti. Odabir najprikladnijeg mehanizma je vrlo važan jer aktivacija neprikladnog mehanizma može umjesto zaštite izazvati povećanu osjetljivost na antigen (patogen). Npr. pri infekciji virusom gripe, limfociti T_C pomažu u suzbijanju infekcije, dok aktiviranje makrofaga čini organizam još osjetljivijim na infekciju. Funkcijski se, kao što je već ranije navedeno, razlikuju dvije glavne skupine T_H -limfocita: T_H1 (koje luče IL-2 i IFN- γ) i T_H2 (koje luče IL-4, IL-5, IL-6 i IL-10), pa o lučenju citokina ovisi kojim će se izvršnim mehanizmom realizirati imunološki odgovor. T_H1 više potiču celularnu imunost, a T_H2 lučenje antitijela.

Citotoksičnost posredovana $CD8^+$ -limfocitima

Limfociti $CD8^+$ mogu prepoznati antigen vezan na molekule MHC-I na ciljnim stanicama i tada protiv njih djelovati. Taj je izvršni mehanizam vjerojatno najvažniji u uništavanju stanica zaraženih virusom, pri čemu T_C prepoznaje nosivce virusne antogene u staničnu membranu ugrađene virusne antigene u kombinaciji s vlastitim molekulama MHC-I na ciljnoj stanici. Stoga je taj mehanizam vrlo učinkovit jer gotovo sve tjelesne stanice s jezgrom posjeduju antigene MHC-I.

Mehanizam citotoksičnosti

Premda se načini kojima pojedine vrste limfatičnih stanica prepoznaju antigene i vežu se na njih međusobno razlikuju, sve se služe vrlo sličnim mehanizmima uništavanja ciljne stanice, što nazivamo citotoksičnošću i ona ima tri jasno prepoznatljive faze: (1) vezanje izvršne stanice za ciljnu; (2) o kalcijevim ionima ovisno pražnjenje sadržaja granula izvršne stanice; (3) programirana smrt ciljne stanice. Granule izvršnih stanica (VGL , NK , $CD8^+$) sadrže tvar perforin koja se u prisutnosti kalcijevih iona veže na membranu ciljne stanice i polimerizira stvarajući u njejoj membrani kanale što dovodi do apoptoze - programirane smrti stanice. DNA se fragmentira, a stanica raspada u apoptotička tjelešca koja fagocitiraju i probave fagociti. Čini se, međutim, da perforin nije jedina tvar sposobna izazvati smrt ciljne stanice jer neki limfociti T mogu djelovati citotoksično premda ne sadrže perforin.

5.3. REGULACIJA I KONTROLA IMUNOLOŠKOG ODGOVORA

Imunološki se sustav kao i ostali biološki sustavi nadzire brojnim mehanizmima. Oni omogućavaju da imunološka reakcija pravodobno započne, ali da se pravodobno i okonča, nakon što se antigen neutralizira/uništi. Narav imunološkog odgovora - i u kvalitativnom i u kvantitativnom smislu - ovisi o brojnim čimbenicima: vrsti i putu ulaska antigena u organizam, vrsti stanice koja predočava antigen, antitijelima, genetskom ustrojstvu organizma, prethodnom izlaganju dotičnom antigenu itd.

Regulacija antigenom

Limfociti T i B aktiviraju se vezanjem antigena na svoje receptore. U slučaju limfocita T to nije nativni već prerađeni antigen vezan na molekule MHC-I ili MHC-II. Različiti antigeni pokreću različite vrste imunološkog odgovora. Npr. polisaharidni antigeni bakterijske stijenke općenito pokreću humoralni odgovor, uglavnom proizvodnju IgM, a proteinski antigeni mogu pokrenuti i humoralni i celularni odgovor. Unutarstanični nametnici poput nekih bakterija, parazita i virusa, pokreću celularni odgovor. Velike doze antigena mogu, na primjer, izazvati toleranciju specifičnih limfocita T umjesto da potaknu imunološki odgovor. Veliki polisaharidni T-neovisni antigeni mogu, pak, izazvati toleranciju limfocita B.

Regulacija putem ulaska antigena u organizam

Antigen unesen potkožno izaziva imunološki odgovor, dok onaj unesen intravenski, oralno ili dišnim putem može izazvati toleranciju.

Regulacija stanicama za predočavanje antigena

Za učinkovitu aktivaciju nužno je predočavanje u kojem, uz antigen vezan na molekule MHC, sudjeluju i akcesorne molekule. Stoga je predočavanje "profesionalnim" APC, poput dendritičnih stanica ili makrofaga koji raspolažu brojnim akcesornim molekulama, učinkovitije od predočavanja "neprofesionalnim" APC koje nemaju akcesornih molekula ili ih nemaju dovoljno.

Regulacija antitijelima

Antitijela mogu djelovati mehanizmom negativne povratne sprege, kojim porast koncentracije antitijela djeluje inhibirajuće na njihovo dalje lučenje.

Regulacija limfocitima

Već je ranije opisano pomagačko djelovanje limfocita T_H posredovano T_H1 i T_H2 stanicama, koje međusobno također mogu jedne druge inhibirati (npr. $IFN-\gamma$ što ga luče T_H1 koči djelovanje T_H2), pa o tome koja populacija u određenim okolnostima prevlada ovisi i kojoj će se vrsti imunološkog odgovora dati prednost.

Neuroendokrina regulacija

Odavno se zna da stres može izazvati imunosupresiju. Općenito postoje dva načina kojima središnji živčani sustav utječe na imunološke funkcije: (1) većina limfnih tkiva izravno je inervirana simpatičkim živčanim vlaknima; (2) živčani sustav izravno ili neizravno nadzire lučenje hormona s imunomodulacijskim djelovanjem (steroidi, tiroksin, adrenalin itd), a

limfociti posjeduju receptore za brojne hormone, neurotransmitere i neuropeptide poput steroida, adrenalina, encefalina, endorfina itd.

Genska regulacija

Zna se da razni ljudi na različit način reagiraju na isti antigen. Npr. obiteljska osjetljivost na infekciju bakterijom *Corynebacterium diphtheriae* pokazuje da otpornost ili osjetljivost na nju ima i nasljedne značajke. U genskoj kontroli imunosti ključnu ulogu imaju geni za MHC, budući da su molekule MHC bitne za specifično prepoznavanje antigena i imunološki odgovor koji potom uslijedi. Na temelju sposobnosti prepoznavanja antigena u kombinaciji s vlastitim molekulama MHC, obavlja se pozitivna (odabir limfocita koji prepoznaju vlastite molekule MHC) i negativna (neutralizacija autoreaktivnih limfocita) selekcija limfocita T u timusu. Na primjer, u pokusnih je životinja dokazano da su limfociti T_C specifično djelovali protiv onih ciljnih stanica koje su nosile iste MHC-antigene kakvi su postojali u timusu tijekom sazrijevanja tih limfocita. I drugi geni, izvan kompleksa MHC, sudjeluju u regulaciji i nadzoru nad imunološkim odgovorom, npr. geni koji reguliraju aktivnost makrofaga, eozinofila itd.

6. IMUNOLOŠKA TOLERANCIJA

Imunološka tolerancija je specifična nereaktivnost na određeni antigen, koja se stvara prethodnim susretom s tim antigenom. U užem se smislu obično misli na nereaktivnost protiv vlastitih antigena, na koje imunološka reakcije nije poželjna, pače, štetna je. Čini se da nereaktivnost na vlastito nije genetski uvjetovana već se razvija tijekom embrionalnog razvoja, kad imunološki sustav nauči prepoznati kao “vlastite” sve antigene, čija je sinteza zadana vlastitom DNA, dok sve ostale antigene uzima kao “strane”. Uz građu antigena, o tome odlučuju i brojni drugi čimbenici: vrijeme kad se limfocit susretne s antigenom, mjesto susreta s antigenom, narav stanice koja predočava antigen, te djelovanje akcesornih molekula.

Tolerancija limfocita T na vlastite antigene

Timus je središnje mjesto stjecanja imunološke tolerancije jer u njemu sazrijevaju limfociti T iz svojih prekursora i tijekom tog procesa obavlja se njihova pozitivna i negativna selekcija (Slika 31). Pri pozitivnoj selekciji, limfociti stupaju u interakciju s molekulama MHC kortikalnih epitelnih stanica, pri čemu preživljavaju oni s receptorima za vlastite molekule MHC. Time stječu sposobnost da, nakon sazrijevanja, prepoznaju strane antigene samo u sprezi s vlastitim molekulama MHC. Pošto takva pozitivna selekcija ne sprječava sazrijevanje i limfocita koju uz vlastite molekule MHC prepoznaju i vlastite antigene (autoreaktivni limfociti), takvi se limfociti uklanjaju negativnom selekcijom, u kojoj ključnu ulogu igra stupanj avidnosti TCR za

antigenski (vlastiti) epitop na što, pak, utječu akcesorne molekule CD4 i CD8. Veća avidnost - veći stupanj negativne selekcije, t.j. veća šansa da stanica ne preživi. Pozitivnom selekcijom, dakle, preživljavaju limfociti sposobni prepoznati vlastite molekule MHC i vlastite, ali i strane antigene, a negativnom se selekcijom uklanjaju oni sposobni prepoznati vlastite molekule MHC i vlastite antigene, te preostaju oni sposobni prepoznati vlastite molekule MHC u

Slika 31. Stjecanje tolerancije u timusu. Pozitivnom selekcijom preživljavaju limfociti s TCR za vlastite molekule MHC-II i MHC-II i za vlastite i strane antigene, a odumiru oni bez receptora. Negativnom selekcijom preživljavaju limfociti s TCR za strane, a eliminiraju se oni s TCR za vlastite antigene.

kombinaciji sa stranim antigenom.

Tolerancija limfocita B na vlastite antigene

Budući je proizvodnja antitijela u najvećem broju slučajeva ovisna i o limfocitima T, a oni imaju niži prag tolerancije od limfocita B, autoreaktivnost limfocita B sprječava se odsutnošću pomagačkog djelovanja limfocita T, bez kojeg nema ni učinkovite proizvodnje antitijela. Ima, međutim, prigoda kad je nužna i uspostava izravne tolerancije limfocita B. Na primjer, neki mikroorganizmi posjeduju antigene koji izazivaju križnu reakciju jer sadrže epitope koji se jasno prepoznaju kao strani ali i epitope koji su dovoljno slični vlastitima da potaknu limfocite B na stvaranje autoreaktivnih antitijela. Takvi se limfociti ili uklanjaju, ili postaju nereaktivni (anergija), što ovisi o naravi antigena. Limfociti B koji reagiraju na vlastite antigene vezane uz membranu stanica obično se uklanjaju (apoptozom, klonska delecija) već pri sazrijevanju u koštanoj srži, a oni što reagiraju s topljivim vlastitim antigenima neutraliziraju se onesposobljavanjem imunoglobulinskih receptora za antigen na svojoj površini. Premda, dakle, dospjevaju u cirkulaciju i periferna tkiva, nisu reaktivni zbog nedostatka receptora. Ta je anergija, međutim, reverzibilna i moguća je njihova poliklonska aktivacija, npr. lipopolisaharidom itd.

7. AUTOIMUNOST I AUTOIMUNE BOLESTI

Autoimunost je imunološka reaktivnost na vlastite antigene, t.j. gubitak tolerancije. Ranije su opisani mehanizmi uspostave tolerancije kojima se izbjegava imunološka reakcija na vlastite antigene, no ni ti mehanizmi nisu savršeni i mogu zakazati, te se u organizmu mogu pojaviti autoantitijela i autoreaktivni limfociti T. Premda ima dovoljno dokaza da autoimune bolesti imaju brojne etiološke čimbenike, većina ih u osnovi nastaje zbog dva događaja: (1) zbog promjene vlastitog antigena (npr. pod utjecajem lijekova ili mikroba vlastiti se antigeni mogu promijeniti i premda su te promjene male, mogu izazvati imunološku reakciju na vlastita tkiva ili stanice) i (2) zbog izlaganja imunološkog sustava križno reaktivnim antigenima (pa reakcija na strani antigen sličan vlastitome izazove i reakciju na vlastiti antigen). Na primjer, antihipertenziv α -metildopa (Aldomet) može se vezati na eritrocitni antigen Rh i izazvati stvaranje antieritrocitnih antitijela. Antieritrocitna autoimunost uočena je i pri infekciji mikoplazmom (*M. pneumoniae*), koja mijenja membranu eritrocita. Primjer križne reaktivnosti je autoimuni encefalitis nakon cijepljenja protiv bjesnoće: u cjepivu ima antigena čiji su neki epitopi jednaki a neki različiti od epitopa moždanih antigena, što omogućuje pojavu autoimunološke reakcije. Danas ima dovoljno dokaza da središnju ulogu u pokretanju autoimunog procesa igraju limfociti T_H. Kako oni prepoznaju antigen u kombinaciji s vlastitim molekulama MHC, očigledno je i pri reakciji na vlastiti antigen nužno da on bude vezan na vlastite molekule MHC. Time se može protumačiti povezanost brojnih autoimunih bolesti s genskim čimbenicima, t.j. činjenica da je sklonost k brojnim autoimunim bolestima povezana s prisutnošću određenih MHC-antigena (v. Tablicu 3).

7.1. AUTOIMUNE BOLESTI

Opisani mehanizmi nastanka autoimunosti obično se isprepliću, no njihovo aktiviranje tek je prvi korak k pojavi kliničkih znakova autoimune bolesti. Autoreaktivni klonovi stvaraju nove autoreaktivne stanice i autoantitijela koja reagiraju s autoantigenima i o njihovoj međureakciji ovisi težina i vrsta autoimune bolesti. Autoimunost se pojavljuje u mnogih bolestima, te je katkada njenim glavnim uzrokom, a katkada samo uzgredni sudionik bolesti. Klinički se autoimune bolesti dijele na organospecifične (autoimunološka reakcija usmjerena na antigen u određenom organu) i na organonespecifične ili sustavne (reakcija usmjerena na jedan ili više antigena rasprostranjenih u mnogim organima). Valja napomenuti da je ta podjela samo gruba i da između dviju navedenih krajnosti postoji cijeli niz prijelaza koje je teško svrstati u jednu ili drugu skupinu. Stoga se, s obzirom na organe pogođene autoimunolšću češće govori o spektru autoimunih bolesti. Tablica niže daje neke primjere autoimunih bolesti, zahvaćenih organa i tkiva kao i ciljnih antigena.

Liječenje autoimunih bolesti

Dosadašnje je liječenje najvećim dijelom bilo simptomatsko ili imunosupresijsko ali nespecifično, te pogađa i normalne imunološke mehanizme izazivajući teške nuspojave (npr. anti-CD3 antitijela protiv T_H stanica; antitijela na receptore za IL-2 protiv aktiviranih limfocita T; steroidi u liječenju vulgarnog pemfigusa). Novi pristupi uključuju izazivanje tolerancije na autoantigen, fizičko uklanjanje ili inaktiviranje autoreaktivnih limfocita T, blokiranje molekula

MHC za predočavanje autoantigena te indukciju regulacijskih limfocita T koji obuzdavaju autoreaktivne limfocite.

TABLICA 3. Povezanost nekih autoimunoloških bolesi s prisutnošću određenih antigena MHC

| Autoimuna bolest | Povezana s prisutnošću HLA-alela |
|------------------------------|----------------------------------|
| Addisonova bolest | DR3 |
| Gravesova bolest | B8/DR3 |
| Pemphigus | DR4 |
| Hashimotova bolest | DR5 |
| Dijabetes ovisan o inzulinu | DR3 i DR4 |
| Myasthenia gravis | DR3 |
| Reumatoidni artritis | DR4 |
| Sjögrenov sindrom | Dw3 |
| Sustavni lupus erythematosus | DR3 |

TABLICA 4. Spektar autoimunih bolesi s obzirom na raspored ciljnih antigena

| Organo-specifičnost | Bolest | Organ ili tkivo | Antigen |
|---------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|---|
| ↑ | Hashimotov tireoiditis | štitnjača | tireoglobulin, tireoidna peroksidaza |
| | Gravesova bolest | štitnjača | receptor za tireotropin |
| | Addisonova bolest | nadbubrežna žlijezda | 21-hidroksilaza u stanicama nadbubrežne žlijezde |
| | Diabetes mellitus ovisan o inzulinu | gušterača | dekarboksilaza glutaminske kiseline u β -stanicama Langerhansovih otočića |
| | Myasthenia gravis | mišići | receptori za acetilkolin |
| | Vulgarni pemfigus | Keratinociti | Adhezijska molekula Dsg-3 |
| | Bulozni pemfigoid | Bazalna membrana kože i sluznice | antigeni BPAG-1, BPAG-2 |
| | Autoimuna hemolitička anemija | eritrociti | antigen Rh |
| | Idiopatska trombocitopenijska purpura | trombociti | trombocitni integrin |
| | Sjögrenov sindrom | slinovnice i suzne žlijezde | proteini jezgre, ribonukleoproteini |
| ↓ | Reumatoidni artritis | sinovijske membrane zglobova | Fc-fragment IgG, keratin |
| | Ankilozirajući spondilitis | zglobovi kralješnice | proteoglikan hrskavice |
| | Diskoidni lupus erythematosus | koža i drugi organi | DNA, RNA, ribosomi itd. |
| | Sustavni lupus erythematosus | bubrezi, mozak, koža i drugi organi | DNA, RNA, ribosomi itd. |

7.2. ORALNE AUTOIMUNE BOLESTI I ORALNE MANIFESTACIJE DRUGIH AUTOIMUNIH BOLESTI

Pemphigus vulgaris

Bulozni mukokutani poremećaj s antitijelima na adhezijske molekule epitela kože i sluznice. Glavne imunološke značajke: (i) depoziti IgG na površini epitelnih stanica, u 50% bolesnika i depoziti C3 na površini epitelnih stanica, koji se dokazuju direktnom imunofluorescencijom; (ii) U 80-90 % bolesnika postoji i cirkulirajući IgG koji se veže na površinu pločastog epitela (supstrat: majmunski jednjak, zdrava ljudska koža). Danas se zna da su protutujela usmjerena na izvanstaničnu domenu adhezijske molekule dezmosogleina 3 (dezmosomski protein). Međutim, u polovice bolesnika nađu se i protututijela na dezmosoglein 1, no čini se da njihova pojava koincidira s pojavom kožnih žarišta. Dovoljno je dokaza da su autoantitijela patogena. Titar cirkulirajućih antitijela korelira s aktivnošću bolesti, plazmaferezom se postižu kratkotrajne remisije u nekih bolesnika. Pokazalo se da i sama antitijela, bez komplementa i upalnih stanica, mogu izazvati akantolizu. Točan mehanizam kidanja veze među stanicama djelovanjem antitijela nije poznat, no čini se da se vezanjem antitijela na adhezijske molekule mijenja njihova konformacija, tako da postanu osjetljivija na proteolizu, čija je posljedica kidanje desmosoma i akantoliza (Slike 32 i 33). Sve se to događa bez nazočnosti upalnih stanica, osim što se katkada registrira nakupljanje eozinofila u epitelu. S napredovanjem akantolize počinje nakupljanje neutrofila, a pojavom ulceracija nastupa tipična upala koja maskira početne, specifične promjene.

Slika 32. Dezmosom. Čine ga transmembranske adhezijske molekule, koje se putem proteina staničnog plaka povezuju s citoskeletom.

Slika 33. Histološki preparat akantolize (A) u bolesnika s vulgarnim pemfigusom, koja je posljedica vezanja antitijela na dezmosomski kadherin Dsg-3.

Paraneoplastički pemfigus (PP)

Također bulozni poremećaj koji se, premda rijetko, javlja u bolesnika s neoplazmama, najčešće limforetikularnog podrijetla (non-Hodgkinov limfom, kronična limfocitna leukemija, sarkom itd), a žarišta se, uz kožu, javljaju i u usnoj šupljini. Glavne imunološke značajke: (i) depoziti IgG i C3 u bazalnoj membrani, koji se dokazuju direktnom imunofluorescencijom; (ii) cirkulirajuća antitijela razreda IgG. Direktnom se imunofluorescencijom (IF) dobije nalaz sličan onom u vulgarnog pemfigusa: tipični su depoziti IgG i C3 na površini stanica. Indirektnom se IF mogu dokazati cirkulirajuća antitijela IgG što se vežu na površinu stanica

kože i sluznice. Tipična je pojava cirkulirajućih antitijela na pet proteinskih antigena – adhezijskih molekula iz skupine kadherina, mol. mase 250 kD (desmoplakin I), 230 kD (BPAG1), 210 kD (desmoplakin II, envoplakin), 190 kD (periplakin) i 170 kD (nepoznati antigen). Patogenetski mehanizam nije razjašnjen. Ima pretpostavki da je riječ o križnoj reakciji antitumorskih antitijela i stanične antitumorske imunosti na normalne antigene kože i sluznice. Prema drugim pretpostavkama, autoimunost bi mogla biti posljedica defektnog lučenja citokina iz tumorskih stanica (npr. IL-6 koji potiče diferencijaciju limfocita B).

Pemphigus herpetiformis

Također bulozna bolest, čije su glavne imunološke značajke: (i) IgG na keratinocyte gornjeg sloja epidermisa, koji se dokazuje direktnom imunofluorescencijom; (ii) cirkulirajući IgG na površinu epitelnih stanica. Ciljni antigeni su desmogleini 1 i 3. Premda su ciljni antigeni isti kao u pemphigus vulgaris, u pemphigus herpetiformis se ne javlja akantoliza. Pretpostavlja se da se u te bolesti autoantitijela vežu na druge epitope, ne izazivajući proteolizu (ili gubitak adhezije) kao u vulgarnog pemphigusa.

IgA-pemphigus

Također bulozni poremećaj unutar kojeg se razlikuju dva podtipa: subkornealna pustularna dermatitoza (SPD) i intradermalni neutrofilni tip (IEN) koji još nazivaju IgA-pemphigus foliaceus ili IgA-pemphigus vulgaris. Glavne imunološke značajke: (i) depoziti IgA na međustaničnu tvar epidermisa, slični depozitima IgG, u SPD ograničeni na gornji sloj epidermisa, u IEN na donje slojeve epidermisa ili po cijelom epidermisu; (ii) cirkulirajući IgA u oko 50 % bolesnika. Ciljni antigen je vjerojatno desmoglein 1 u SPD, a u IEN još nije otkriven. Patogenetski mehanizam vjerojatno uključuje aktiviranje limfocita T_H i posljedično lučenje IL-5, koji stimulira lučenje IgA iz plazma-stanica, što pak izaziva akantolizu onemogućavanjem adhezije posredovane transmembranskim kadherinima na koje se vezao IgA.

Bulozni pemphigoid

Također bulozni poremećaj. Glavne imunološke značajke: (i) linearni depoziti IgG i C3 na spoju dermis-epidermis i (ii) cirkulirajući IgG u više od 70% bolesnika, koji se veže na laminu lucidu (slika slična onoj u epidermolysis bullosa acquisita, pa se diferencijalna dijagnoza zasniva na nalazu indirektno imunofluorescencije na ljudskoj koži tretiranoj otopinom NaCl). Znaju se dva ciljna antigena; to su hemidezmosomski proteini keratinocita nazvani BP230 (BPAG1, citoplazmatski protein) i BP180 (BPAG2, transmembranski protein). Antitijela su patogena jer se njihovim pasivnim prijenosom u pokusnih životinja izaziva bolest. Pretpostavljeni slijed događaja mogao bi teći ovako: (1) Ig se veže na ciljni antigen u lamini lucidi (premda nije jasno što inducira stvaranje antitijela); imunokompleksi aktiviraju komplement i produkciju kemotaksijskih faktora za neutrofile; C3a i C5a induciraju degranulaciju mastocita i posljedično stvaranje kemotaksijskih faktora za neutrofile; (2) enzimi i kisikovi radikali iz aktiviranih neutrofila i eozinofila uzrokuju odvajanje lamine lucide i dalja oštećenja međustaničnih struktura.

Dobročudni pemphigoid

Također bulozna bolest. Glavne imunološke značajke: linearni depoziti IgG, a u oko 50% slučajeva i depoziti IgA u području bazalne membrane. Za razliku od buloznog pemphigoida, cirkulirajuća antitijela na bazalnu membranu javljaju se vrlo rijetko.

Dermatitis herpetiformis

Bulozna bolest koju obilježava osjetljivost bolesnika na gluten. Glavne imunološke značajke: (i) granularni depoziti IgA u zoni bazalne membrane; (ii) cirkulirajući IgA na endomisij (ovojnica koja obavija svako mišićno vlakno) (specifična za bolest u >90% slučajeva jer su specifična i za celijakiju), ali ne i na zonu bazalne membrane; (iii) cirkulirajuća autoantitijela IgA na tkivnu transglutaminazu. Prema jednoj pretpostavci, riječ o križnoj reaktivnosti antiglutenskog IgA s antigenima kože, no to nije dokazano. Spomenuta antitijela mogu poslužiti u diferencijalnoj dijagnostici za razlučivanje od bulozne dermatoze s linearnim IgA.

Bulozna dermatozna s linearnim IgA

Glavne imunološke značajke: (i) Linearni depoziti IgA u zoni bazalne membrane; (ii) u 1/3 bolesnika uz IgA javlja se i IgG. Jedan od dosad identificiranih ciljnih antigena za IgA je adhezijska molekula 97-LAD (97 kD) u području lamine lucide. Najnovija istraživanja pokazuju da je 97-LAD vezan na izvanstaničnu domenu BPAG2 u lamini lucidi, ili je čak dio transmembranskog proteina BPAG2, pa prema tome pripada hemidemidesmosomskoj strukturi.

Epidermolysis bullosa acquisita

Glavne imunološke značajke: (i) linearni depoziti IgG, rijede i IgA, C3, C1q i C4 u zoni bazalne membrane; (ii) u 25-50 % bolesnika i cirkulirajući Ig koji se veže na područje bazalne membrane. Ciljni je antigen prokolagen tipa VII (kolagen tipa VII, mol. mase 290 kD, stvara vlakna kojima se dermis povezuje s epidermisom). Antitijela, čini se, nisu izravno patogena (pasivnim prijenosom ne izaziva se bolest u novookoćenih miševa), no vežu komplement i privlače leukocite u kožu izazivajući odvajanje dermisa od epidermisa. Direktnom imunofluorescencijom dokazuju se linearni depoziti IgG i C3 na spoju dermis-epidermis, no takav je nalaz moguć i u buloznog pemfigoida, pa nije specifičan samo za ovu bolest.

Lichen planus

Malo je izravnih dokaza o lichenu kao autoimunoj bolesti, no imunološki su mehanizmi od velike važnosti u patogenezi bolesti. Imunopatogenetski proces mogao bi teći ovako: (1) Langerhansove stanice predočavaju autoantigen epitela (promijenjen lijekom ili infekcijom) limfocitima u vezivnom tkivu; (2) aktivirani limfociti T_H pospješuju nakupljanje limfocita T_c, koji oštećuju keratinocite; (3) ekspresijom HLA-DR na keratinocitima, izazvanom interferonom gama, održava se destruktivni proces.

8. IMUNOLOŠKA PREOSJETLJIVOST - ALERGIJA

Imunološka preosjetljivost je prekomjerna, neprimjerena imunološka reakcija na strani antigen, koja može izazvati šetni upalni odgovor i oštećenje tkiva. Mogu je izazvati brojni antigeni i ne pojavljuje se pri prvom, već obično pri ponovnom dodiru s antigenom, kad se umjesto normalne imunizacije (sposobnosti prepoznavanja i reakcije na strani antigen) razvije senzibilizacija (preosjetljivost). Tvar koja pri ponovnom susretu izazove preosjetljivost (alergiju) naziva se alergenom, pri čemu taj izraz nekad označava samu antigensku molekulu koja izaziva alergiju, a nekad izvor antigenske molekule (npr. polen, kućna prašina, životinjska dlaka). Za pojavu alergije su, osim ponovnog dodira s alergenom, nužni i drugi uvjeti koji odlučuju u kojem će se obliku i na kojem mjestu alergijska reakcija pojaviti (npr. samo u sluznici nosa, sluznici bronha, koži, probavnom sustavu ili istodobno na dva ili više nabrojanih mjesta). Obično se opisuju četiri osnovna oblika (I-IV) imunološke preosjetljivosti, no u praksi se oni ne moraju pojavljivati jedan odvojeno od drugog. Prva su tri oblika posredovana antitijelima a četvrti limfocitima T i makrofagima.

I. oblik imunološke preosjetljivosti (anafilaksija)

Nastaje stvaranjem antitijela IgE i aktiviranjem mastocita i bazofila. Prisjetimo se da IgE ima jedinstvenu građu Fc-fragmenta kojim se veže na receptor za taj fragment na mastocitima i bazofilima (FcεRI). Alergijska reakcija počinje vezanjem alergena na antitijelo vezano na receptor. Time se stvara signal za slijed unutarstaničnih zbivanja koja rezultiraju aktiviranjem i oslobađanjem posrednika upale: histamina, serotonina, leukotriena, kemotaksijskih tvari, čimbenika koji aktiviraju trombocite, proteaza, pri čemu dolazi do degranulacije mastocita. Oslobođeni posrednici najprije djeluju lokalno, izazivajući povećanu propusnost krvnih kapilara, vazodilataciju, kontrakciju glatkog mišićja, lučenje sluznih žlijezda. Ta se prva, akutna faza zbiva prvih 15-30 min. nakon dodira s alergenom. U idućih 6-12 sati povećava se infiltracija tkiva upalnim stanicama ovim redom: eozinofili → neutrofilni → mononukleari. To je kasna faza reakcije, obilježena kliničkim znacima upale (znaci rinitisa i astme). Anafilaktična reakcija može biti lokalna (atopija) ili opća (generalizirana), a koja će se razviti zavisi dobrim dijelom o genskom ustroju osobe. Atopijske reakcije najčešće uzrokuju antigeni koji u organizam uđu dišnim sustavom (alergeni iz polena, kućne prašine, životinjske dlake i perja) ili probavnim sustavom (alergeni iz mlijeka, jaja, voća) ili pak lijekovi. Alergijska reakcija koja se zbiva u gornjim dišnim putovima može se očitovati konjunktivitisom i peludnom hunjavicom, a ona koja se zbiva u donjim dišnim putovima obično se očituje kao bronhalna astma. Alergen koji uđe kroz probavni sustav može izazvati povraćanje i proljev, a ako nakon apsorpcije krvlju dospije u kožu, može izazvati crvenilo, svrbež i oteklinu (urtikarija). Prvi znaci generalizirane anafilaksije mogu biti slični onima u lokalizirane (urtikarija, angioedem, crvenilo, svrbež), a nakon kožnih simptoma obično slijede oni koji su posljedica zahvaćenosti probavnog sustava (povraćanje, grčevi, proljev), dišnog sustava (otežano disanje, astma) i kardiovaskularnog sustava (pad tlaka zbog gubitka krvne tekućine).

II. oblik imunološke preosjetljivosti

Preosjetljivost koja nastaje vezanjem antitijela na vlastiti ili strani antigen na tjelesnoj stanici. Stoga je taj oblik preosjetljivosti najčešće posljedica autoimunoizacije ili reakcije na lijekove. Antitijela IgG i IgM stvaraju s alergenom imunokomplekse koji izazivaju upalu, što je patogenetski mehanizam koji leži u osnovi mnogih bolesti, pa i nekih alergijskih.

Imunokompleksi aktiviraju sustav komplementa glavnim putem, vezanjem na receptore za Fc-fragment antitijela i komponente komplementa, čime se aktiviraju neutrofilni koji pak oslobađaju anafilatoksine i kemotaksijske peptide, povećavajući propusnost krvnih kapilara i neutrofilnu infiltraciju. Taj je oblik preosjetljivosti čest nakon transfuzije nepodudarne krvi, pri čemu primatelj brzo uništava primljene eritrocite tako što se antitijela IgM primatelja vežu na eritrocite davatelja, aktiviraju komplement i pospješuju lizu i fagocitozu primljenih eritrocita.

III. oblik imunološke preosjetljivosti

Preosjetljivost koja nastaje ako se stvori prevelika količina imunokompleksa ili se oni nedostavno uklanjaju s pomoću fagocitnog sustava. Imunokompleksi se mogu taložiti u stijenkama krvnih žila i glomerularnim membranama, aktiviraju komplemet i izazivaju upalnu reakciju. Taj oblik preosjetljivosti može se očitovati kao lokalna i kao sustavna reakcija. Na primjer, udisanjem prašine sa sijena, koja sadrži određene vrste gljivica na čije antigene je osoba preosjetljiva, u plućnim alveolama nastaju imunokompleksi koji izazovu lokalnu upalu (bolest nazvana «farmerskim plućima»), a slična se pojava može uočiti i u osoba koje se bave uzgojem golubova («bolest uzgajivača golubova»). Sustavna preosjetljivost III. oblika moguća je npr. nakon davanja antiseruma protiv infektivnih bolesti (npr. tetanusa, bjesnoće). Kako je riječ o životinjskim proteinima, stvaraju se na njih antitijela i nastaju imunokompleksi koji su razmjerno maleni i stoga skloniji taloženju u stijenkama krvnih žila, čime nastaje upala koja se očituje porastom tjelesne temperature, osipom, boli u zglobovima i otjecanjem limfnih čvorova (serumska bolest). Serumsku bolest mogu izazvati i lijekovi (npr. penicilin) nakon vezanja na proteinski nosač. Za razliku od ostalih oblika alergijske reakcije, serumsku se bolest, zbog dugog zadržavanja imunokompleksa u organizmu, može razviti i pri prvom davanju lijeka.

IV. oblik imunološke preosjetljivosti

To je tzv. odgođena preosjetljivost jer se razvija tijekom nekoliko sati do 72 sata, a rezultat je aktiviranja limfocita T, koji lučenjem citokina potom pokreću druge stanične mehanizme, osobito one posredovane makrofagima. To je inače tipična celularna imunološka reakcija, važna u imunološkom odgovoru na brojne unutarstanične infektivne agense (npr. mikobakteriju), te je važan sastavni dio reakcije odbacivanja transplantata kao i protutumorske imunosti, a nazivamo je preosjetljivošću kad je reakcija toliko jaka da izazove oštećenje vlastitog tkiva. Ovaj oblik preosjetljivosti često je posljedica virusnih, bakterijskih, gljivičnih i parazitnih infekcija (javljaju se pri tuberkulozi, lepri, shistosomijazi). Mogu je potaknuti različiti alergeni, no najčešće su to proteini. Preosjetljivost IV. oblika javlja se i kao tzv. dodirni (kontaktni) dermatitis, koji nastaje nakon dodira kože s tvarima uglavnom male molekulske mase (biljni sastojci, kozmetički pripravci, neki lijekovi) koje se ponašaju kao hapteni, t.j. nisu same po sebi imunogenične već to postaju nakon ulaska u kožu i vezanja s njenim proteinima. Očituje se crvenilom i otjecanjem kože te stvaranjem mjehura.

Valja istaknuti da se većina kliničkih znakova alergije pojavljuje i bez alergije (npr. astma, rinitis, dermatitis, dodirni dermatitis, anafilaksija, urtikarija-angioedem). Stoga je prepoznavanje neimunoloških uzroka takvih simptoma ključno za diferencijalnu dijagnozu. Katkada nespecifični čimbenici iz okoline aktiviraju posrednike upale na neimunološki način, a katkada to učine specifični čimbenici. Na primjer, opijati mogu izazvati izravno oslobađanje histamina iz mastocita, a aspirin može izazvati astmu (vjerojatno putem metabolizma arahidonske kiseline). Valja, dakle, ponoviti da je alergija imunološka pojava pri kojoj ponovno

izlaganje alergenu izaziva senzibilizaciju čija je posljedica stvaranje specifičnih antialergenskih antitijela ili aktiviranje limfocita T koji izazivaju upalnu reakciju što se očituje znacima alergijske reakcije. U tablici niže prikazane su alergijske bolesti razvrstane prema opisanim mehanizmima njihova nastanka.

TABLICA 5. Alergijske bolesti razvrstane prema imunološkom mehanizmu njihova nastanka

| Imunološki mehanizam nastanka | Bolest |
|--------------------------------------|--|
| I. oblik | Alergijski rinitis Alergijska astma Atopijski dermatitis Alergijska gastroenteropatija Sustavna anafilaksija Utrikarija - angioedem |
| II. oblik | Transfuzijska reakcija Fetalna eritroblastoz Autoimuna hemolitička anemija |
| III. oblik | Farmerska pluća (lokalna preosjetljivost) Bolest uzgajivača golubova (lokalna preosjetljivost) Serumska bolest (sustavna preosjetljivost) |
| IV. oblik | Alergijski dodirni dermatitis Popratna pojava lepre, tuberkuloze, shistosomijaze, sarkoidoze, Crohnove bolesti |

Dijagnostika alergija

Kad se posumnja na alergiju, dijagnostički postupci se usmjeravaju na provjeru je li doista riječ o alergiji i ako jest, nastoji se identificirati odgovorni alergen. Katkada je, pri sezonskim alergijama, razmjerno lako odrediti odgovorni alergen (npr. polen), no često je riječ o vrlo složenim slučajevima gdje je teško otkriti pravi alergen ili više njih, te dijagnostika, kao i pri svakom drugom medicinskom stanju, obuhvaća uzimanje anamneze, fizički pregled i odgovarajuće laboratorijske pretrage, uključivši pronalaženje odgovornog alergena kožnim testiranjem i određivanjem titra IgE.

Liječenje alergija

Liječenje obuhvaća simptomatsko liječenje, izbjegavanje dodira s alergenom i desenzibilizaciju, kad je moguće. Desenzibilizacija se obavlja injiciranjem malih doza alergena, kojima se potiče stvaranje antitijela IgG. Ona se već u krvnom optoku vežu na alergen i tako ometaju vezanje alergena s IgE i aktiviranje bazofila/mastocita. Sredstvima koja stabiliziraju lizosomsku membranu otežava se degranulacija i oslobađanje posrednika alergijske reakcije. Inhibitorima histidin-dekarboksilaze koči se pretvorba histidina u histamin. Kortikosteroidi iskazuju oba gore navedena učinka. Antihistaminicima se blokiraju receptori za histamin na stanicama i tako priječi njegovo djelovanje. Adrenalin djeluje na glatke mišiće suprotno histaminu te tako poništava njegovo djelovanje.

Posebno valja istaknuti postupke pri anafilaksiji. Anafilaksija je akutna, generalizirana alergijska reakcija koja istodobno zahvaća nekoliko organskih sustava (obično kardiovaskularni, dišni, gastrointestinalni i kožu). Anafilaktični šok je anafilaksija praćena hipotenzijom sa ili bez gubitka svijesti. Alergeni koji izazivaju anafilaksiju mogu biti: bilo koji alergen iz hrane, bilo koji lijek te otrovi kukaca. Liječenje valja početi što prije i obično se daje vodena otopina adrenalina intravenski, intramuskularno ili subkutano, koja se, ako zatreba, ponovi nakon 15-30 min, uz infuziju fiziološke otopine u slučaju šoka i osiguranje prohodnosti dišnih putova.

9. IMUNODEFICIJENCIJE

To su patološka stanja što nastaju zbog slabljenja ili potpunog izostanka imunološke reakcije. Imunodeficijencije mogu biti primarne - izazvane genskim i drugim poremećajima tijekom embrionalnog razvoja pa ih držimo prirođenima, i sekundarne - što nastaju kao popratna pojava imunoloških i neimunoloških poremećaja (zloćudni tumori, radioaktivno zračenje, lijekovi), pa ih držimo stečenima.

9.1. PRIMARNE IMUNODEFICIJENCIJE

To su prirođeni poremećaji imunoloških funkcija uzrokovani genskim činiteljima, poremećajima u sazrijevanju stanica, poremećajima u funkcioniranju staničnih enzima itd. Kliničke se slike pojedinih imunodeficijencija razlikuju, već prema vrsti i stupnju imunološkog oštećenja, a razlikujemo: (i) nedostatnosti limfocita B, (ii) nedostatnosti limfocita T, (iii) udružene nedostatnosti limfocita B i T, (iv) nedostatnosti fagocitnog sustava i (v) nedostatnosti sustava komplementa, kao što je prikazano u tablici niže.

TABLICA 6. Pregled primarnih imunodeficijencija

| | |
|---|---|
| Nedostatnosti limfocita B | Kongenitalna hipogamaglobulinemija povezana s kromosomom x Prolazna hipogamaglobulinemija Imunodeficijencija s hiper-IgM globulinemijom Neutropenija s hipogamaglobulinemijom Selektivna deficijencija IgA Selektivna deficijencija IgM Selektivna deficijencija podrazreda IgG |
| Nedostatnosti limfocita T | Kongenitalna aplazija timusa (DiGeorgeov sindrom) Kronična mukokutana kandidijaza Deficijencija limfocita T s nedostatkom antigena MHC-I ili MHC-II ili oba razreda Deficijencija limfocita T s nedostatkom receptora za antigen Deficijencija limfocita T s nedostanim lučenjem citokina Prirođena ataksija telangiektazija |
| Udružene nedostatnosti limfocita T i B | Teška udružena imunodeficijencija Nezelofljevojv sindrom Nedostatnosti građe membrane limfocita Nedostatnosti u lučenju citokina |
| Nedostatnosti fagocita | Kronična granulomatoza Nedostatnost mijeloperoksidaze Chediak-Higashijev sindrom Jobov sindrom Hiper-IgE globulinemija |
| Nedostatnosti komplementa | Nedostatnost C1q Nedostatnost C2 Nedostatnost C3 |

Nedostatnosti limfocita B

Obuhvaćaju niz stanja obilježenih nedostatnim titrom antitijela, od potpunog nedostatka svih razreda do selektivnog nedostatka jednog razreda ili podrazreda imunoglobulina. U takvih je osoba u pravilu povećana sklonost piogenim infekcijama.

Hipogamaglobulinemija povezana s kromosomom X (Brutonova hipogamaglobulinemija)

Tipičan je primjer nedostatnosti limfocita B. Pogađa muškarce, u čijem krvnom optoku uopće nema limfocita B ili ih ima vrlo malo, serumska koncentracija IgG vrlo je niska, a uopće nema IgA, IgM, IgD i IgE. Prvih 6-12 mjeseci života bolesnici su zaštićeni majčinim imunoglobulinima, a kasnije se od infekcija štite velikim dozama imunoglobulina.

Deficijencija IgA i IgG

Deficijencija IgA jedna je od najčešćih i pogađa jednog od 700 pripadnika bijele rase, no ne pojavljuje se u ostalih rasa. Takve su osobe sklone preosjetljivosti tipa III (izazvanoj imunokompleksima). U jednog dijela takvih osoba nedostaju i neki podrazredi IgG (IgG2 i IgG4) te su sklone infekcijama.

Deficijencija s povišenim IgM

Nazočna je u osoba s nedostatnim IgG i IgA, te pojačano stvaraju IgM, pri čemu izostaje fiziološki prijelaz sa sinteze IgM na sintezu IgG (pod utjecajem limfocita T_H i IL-4).

Nedostatnosti limfocita T

Obuhvaćaju niz stanja obilježenih smanjenim brojem ili potpunim nedostatkom limfocita T. Ne treba posebno naglašavati da u takvim slučajevima zakazuju i mehanizmi humoralne imunosti zbog izostanka nužne pomoći stanica T_H.

Prirodna aplazija timusa (DiGeorgeov sindrom)

To je poremećaj u embrionalnom razvoju koji rezultira gotovo potpunim nedostatkom limfocita T i svim manifestacijama koje iz toga proistječu: infekcijama, izostankom rasklona na mitogene, izostankom reakcije kasne preosjetljivosti i odbacivanja transplantata itd, no poremećene su i funkcije limfocita B, zbog potrebne suradnje ovih potonjih s limfocitima T. Klinički se očituje visokom učestalošću akutnih i kroničnih infekcija, nesposobnošću odbacivanja transplantata itd. Liječi se transplantacijom alogenskog timusa.

Kronična mukokutana kandidijaza

To je selektivni izostanak imunosti na kandidu, koji je posredovan limfocitima T, uz očuvanu humoralnu imunost na kandidu (antitijela). Rezultat je kronična osjetljivost na infekcije kandidom. Ako joj je u podlozi endokrinopatija, može se razviti Addisonova bolest, koja je glavni uzrok smrti u tih bolesnika.

Deficijencija MHC-II

Riječ je o nedostatnoj ekspresiji MHC-II na stanicama koje predočavaju antigen. Klinički se očituje čestim infekcijama, napose probavnog sustava, a imunološki nedostatkom CD4+-limfocita T, za čije je sazrijevanje nužna pozitivna selekcija uz pomoć molekula MHC-II u timusu.

Prirođena ataksija telangiektazija

Imunološki se očituje nedostatkom receptora za antigen na limfocitima T (TCR), a klinički teškim infekcijama pluća.

Udružene nedostatnosti limfocita T i B

Mogu biti različite težine, od potpunog do djelomičnog izostanka humoralne i celularne imunosti.

Teška udružena imunodeficijencija

Potpun izostanak imunosti posredovane limfocitima T i B, praćen velikom osjetljivošću na infekcije zbog čega, bez liječenja, bolesnici rijetko prežive prvu godinu života. Najbolji rezultati u liječenju se postižu presađivanjem koštane srži, ako je moguće.

Nedostaci u građi membrane limfocita T

Iskazuju se poremećajima u građi i funkcioniranju TCR.

Nedostaci u lučenju citokina

Očituju se u nesposobnosti limfocita T da nakon aktiviranja luče citokine; najčešća je nedostatnost u lučenju IL-2.

Nezelofljevov sindrom

Nedostatnost limfocita T praćena različitim stupnjevima nedostatnosti limfocita B. Također postoji vrlo povećana sklonost svim vrstama infekcija (bakterijama, virusima, gljivicama i nametnicima). Nastoji se liječiti presađivanjem koštane srži i/ili timusa.

Nedostatnosti fagocitnog sustava

Razlikuju se tzv. vanjski i unutranji poremećaji fagocita. Vanjski obuhvaćaju nedostatnu opsonizaciju zbog nedostatka antitijela ili komplementa, te nedostatan broj fagocita. Unutarnji obuhvaćaju nedostatnosti u enzimima nužnim za unutarstanično ubijanje mikroba i nametnika.

Kronična granulomatoza

Očituje se nedostatnošću enzima nužnih za unutarstanično ubijanje posredovano kisikom, napose NADPH-oksidaze koja igra središnju ulogu u unutarstaničnoj mikrobicidnosti posredovanoj oksidativnim mehanizmima. U bolesnika je vrlo povećana sklonost infekcijama mikroorganizmima inače vrlo slabe virulentnosti, a klinički se bolest očituje razvojem limfadenitisa, hepatosplenomegalije, pneumonije, osteomijelitisa i apscesa. Infekcije se moraju liječiti agresivno, antibioticima i antimikoticima.

Chediak-Higashijev sindrom

To je također nedostatnost u unutarstaničnom ubijanju mikroba zbog nedostatnosti proteolitičkih i lizosomskih enzima granulocita. Učestale infekcije liječe se antibioticima.

Jobov sindrom

Također je riječ o nedostatnosti u unutarstaničnom ubijanju ali i o selektivnoj hiper-IgE globulinemiji, s posebnom sklonošću stafilokoknim infekcijama. Liječenje je antibiotsko.

Hiper-IgE imunoglobulinemija

Poremećaj obilježen nedostatkom kemotaksije i vrlo povišenom koncentracijom IgE (> 5000 IU/mL). Klinički se očituje povećanom sklonošću infekcijama, napose apscesima kože, pluća, sinusa i očiju uzrokovanih stafilokokima, streptokokima i kandidom. Liječenje je antibiotsko.

Nedostatnosti komplementa

Postoje deficijencije gotovo svih komponenata komplementa. Razmjerno su rijetke, najčeća je nedostatnost komponente C2; nedostatnost C1q vezana je uz hipogamaglobulinemiju; nedostatak C3 izaziva teške infekcije, jer tada nema ni C3b koja posreduje u fagocitozi. Jedan od ozbiljnih poremećaja te vrste je i hereditarni angioedem, koji je posljedica prirođenog nedostatka inhibitora C1 i kalikreina. Nedostatak inhibitora i aktivacija C1 uzrokuje nastanak C2-kinina i bradikina koji uzrokuju retrakciju endotela postkapilarnih venula i time povećanu propusnost i eksudaciju, te nastanak edema, koji može imati i smrtni ishod zbog izraženog edema larinksa.

9.2. SEKUNDARNE IMUNODEFICIJENCIJE

Nisu prirođene već se stječu tijekom života. Uzroci mogu biti:

- razne bolesti koje slabe imunokompetenciju - zloćudni tumori, virusne bolesti (posljednjih je godina pozornost javnosti osobito usmjerena na AIDS),
- pothranjenost - vjerojatno je glavnim uzrokom imunodeficijencija u djece,
- liječenje - dobro je znano da kemoterapija, radioterapija i hormonska terapija mogu izazvati različite stupnjeve slabljenja imunosti - od blagog do vrlo izrazitog koje se nastoje ublažiti pažljivijim doziranjem terapije, antibioticima i čimbenicima rasta, koji ublažavaju mijelosupresivne učinke radioterapije i kemoterapije. Od lijekova imunosupresijski mogu djelovati citotoksični lijekovi (azatioprin), analgetici (fenacetin), protumikrobni lijekovi (kloramfenikol), tireostatici (vobenol), te radioterapija. Pri liječenju valja voditi računa i o uklanjanju uzroka imunosupresije, što najčešće nije nimalo jednostavno, napose u liječenju teških bolesti opasnih za život. U posljednje se vrijeme s uspjehom primjenjuje i autotransplantacija zdrave koštane srži i matičnih stanica, što omogućava uporabu velikih i učinkovitih doza kemoterapeutika, nakon kojih se oštećena koštana srž obnavlja vraćanjem vlastitih stanica.

Oralne manifestacije imunodeficijencija

I primarne (prirođene) i sekundarne (stečene) imunodeficijencije imaju svoje manje ili više izražene oralne manifestacije, od kojih se neke ukratko prikazane u tablici 7.

TABLICA 7. Oralne manifestacije nekih imunodeficijencija

| Poremećaj | Oralne manifestacije |
|---|--|
| PRIMARNE IMUNODEFICIJENCIJE | |
| Brutonova hipogamaglobulinemija | Zbog nedostatka imunoglobulina česte su pojave infekcija, najčešće nema posebnih znakova u usnoj šupljini, no česti su rekurentni sinusitisi. |
| Deficijencija IgA | U tri četvrtine bolesnika postoje rekurentne oralne ulceracije, a u polovice rekurentni herpes labijalis. Javljaju se i tonzilitis i faringitis. Podaci o učestalosti karijesa su proturječni, a gingiva, čini se, nije zahvaćena. |
| DiGeorgeov sindrom | Od oralnih su simptoma mogući zakašnjelo izbijanje zuba i hipoplazija cakline zbog hipoparatiroidoze. Česta je oralna kandidijaza. |
| Ataksija telangiektazija | Moguća je hipoplazija tonzila. |
| Teška udružena imunodeficijencija | Teško pogađa novorođenčad i malu djecu, odgovorna je za znatan dio postnatalnog mortaliteta zbog teških virusnih, bakterijskih i ostalih infekcija koje zahvaćaju probavni sustav, dišni sustav i kožu. Tonzila u tih bolesnika nema, limfni se čvorovi ne palpiraju. Od oralnih je manifestacija česta kandidijaza koja se može proširiti na druga tkiva, te rekurentne ulceracije. |
| Kronična granulomatoza | U oko 10 % djece javljaju se rekurentne oralne ulceracije. Ekcem se može pojaviti na koži lica i usana. Obično postoji limfadenopatija u području vrata. |
| SEKUNDARNE IMUNODEFICIJENCIJE | |
| Bolesnici koji se liječe citostaticima ili primaju imunosupresijsko liječenje | Česti su herpesni stomatitis, oralna kandidijaza i rekurentne oralne ulceracije. Te su pojave napose česte u osoba nakon presađivanja tkiva/organa, osoba s leukemijom, limfomima i solidnim tumorima. |
| AIDS | Oralne manifestacije koje prate ovu imunodeficijenciju navedene su u Tablici 9. |

10. IMUNOST NA VIRUSE, BAKTERIJE, GLJIVICE I PARAZITE

10.1. PROTUVIRUSNA IMUNOST

Virusi su obligatni unutarstanični paraziti kojima su za sintezu proteina i metabolizam nužne stanične strukture. Iznimno su raznoliki s obzirom na građu i gensku složenost - neki imaju DNA koja kodira svega nekoliko gena, dok drugi raspoložu s DNA koja kodira i do 200 gena. Po svojoj građi virus je jednostavno "vreća" proteina i nukleinskih kiselina no čak ni to nije najjednostavniji oblik života je se danas zna i za (i) viroide - infektivne biljne agense sastavljene samo od nukleinske kiseline, bez proteina; i (ii) prione - infektivne proteine povezane s pojavom degenerativnih neuroloških bolesti poput Creutzfeld-Jakobove bolesti (CJD, «kravlje ludilo»). Virus se na stanicu koju napada veže putem specifičnih receptora. Po ulasku u stanicu gubi ovojnicu, oslobađa nukleinsku kiselinu i započinje sintezu virusnih proteina; pritom se umnaža i virusni genom i stvaraju nove jedinice koje zaraze susjedne stanice i tkiva.

Virusi i organizam najčešće ulaze kroz sluznicu, ili kroz oštećenu kožu ulaze izravno u krvotok (ubodi insekata). Najčešće se repliciraju u epitelnim stanicama, a katkada ulaze u krv i naseljavaju druga tkiva. Infekcija se obično suzbija njihovim uklanjanjem iz organizma, no virus se katkada samo povlači u latentnu fazu (virus herpesa) i kasnije reaktivira. Neki virusi opstaju u infektivnom obliku unatoč postojanju imunološkog odgovora (virus hepatitisa B). U slučaju CJD uopće nema akutne faze, već infekcija postoji stalno i manifestira se nakon mnogo godina (prioni za razliku od virusa ne izazivaju imunološku reakciju ni lučenje prirodnih protuvirusnih tvari poput interferona).

PRIROĐENA PROTUVIRUSNA IMUNOST

Prva zapreka ulasku virusa je fizička - integritet tjelesnih površina. Ako virus svlada tu zapreku, susreće se s prirođenim, nespecifičnim imunološkim mehanizmima među kojima su najvažniji interferoni, NK stanice i makrofagi.

Interferoni (IFN)

Pri virusnoj infekciji luče se interferoni α i β koji potiču protuvirusne stanične mehanizme. Jedan od najučinkovitijih je sinteza protein-kinaze, enzima koji koči transkripciju proteina, a time i replikaciju virusa.

Stanice NK

Stanice NK prepoznaju stanice zaražene virusom i protiv njih djeluju. Posebno je uočena djelotvornost stanica NK protiv herpes-virusa i citomegalovirusa. Mehanizam prepoznavanja još nije posve jasan, uočena je obrnuta korelacija između osjetljivosti zaražene stanice na djelovanje NK i ekspresije molekula MHC-I. Kako mnogi virusi koče ekspresiju ovih molekula, čini se da je to mehanizam kojim nastoje izbjeći citotoksičnost posredovanu CD8+-limfocitima. Stanice NK djeluju i mehanizmom ADCC, a njihovu aktivnost potiče i lučenje IFN- γ .

STEČENA PROTUVIRUSNA IMUNOST

Antitijela

Virusna infekcija izaziva produkciju antitijela, što znači da su u protuvirusnu imunost uključeni i limfociti T i B. Antitijela su posebno važna u sprječavanju širenja virusne infekcije krvnim optokom i mogu na više načina posredovati u suzbijanju infekcije: (i) vezanjem slobodnog virusa čime se on neutralizira, sprječava se njegov ulazak u stanicu i sprječava se gubljenje ovojnice nužno za replikaciju; (ii) vezanjem slobodnog virusa i aktiviranjem komplementa - komplement može uništiti virusnu ovojnicu (viroлиза); (iii) vezanjem na virusom zaraženu stanicu i aktiviranjem komplementa koji izazove lizu stanice; te (iv) vezanjem na virusom zaraženu stanicu i aktiviranjem ADCC (neutrofil, NK, makrofagi).

Limfociti T

Sudjeluju na više načina u protuvirusnim reakcijama: (i) budući da je većina virusnih antigena T-ovisna, nema ni djelotvorne produkcije antitijela bez pomagačkog djelovanja limfocita T_H; (ii) citotoksični CD8⁺-limfociti spregnuti molekulama MHC-I vrlo učinkovito uništavaju stanice zaražene virusom. U tome im pomažu i T_H.

MEHANIZMI IZBJEGAVANJA IMUNOLOŠKOG NADZORA

Više je načina na koje virusi izbjegavaju imunološko prepoznavanje i reakciju: (i) mutacijama antigena koji su cilj antitijela; (ii) produkcijom antiinterferonskih tvari; (iii) kočenjem ekspresije molekula MHC-I nužnih za djelovanje CD8⁺-limfocita; (iv) lučenjem topljivih homologa receptora za citokine, koji vezanjem na citokine neutraliziraju njihovo djelovanje.

10.2. PROTUBAKTERIJSKA IMUNOST

Imunost na bakterije najviše ovisi o građi bakterije, napose građi njene stijenke. S obzirom na građu stijenke razlikuju se četiri glavne skupine bakterija: (i) Gram-pozitivne; (ii) Gram-negativne; (iii) mikobakterije; (iv) spirohete. Vanjska površina Gram-negativnih bakterija posebno je osjetljiva na litičke mehanizme (posredovane komplementom i citotoksičnim stanicama) dok uništavanje ostalih skupina bakterija obično nije moguće bez prethodne fagocitoze.

Imunološki mehanizmi zapravo ovise o obliku patogenosti bakterije i u tome se smislu razlikuju dvije nže navedene krajnosti.

- Toksičnost bez invazivnosti - Neke bakterije uzrokuju bolest lučenjem samo jednog toksina (*Clostridium tetani*), a da se pritom ne šire organizmom. U tim je slučajevima dovoljan obrambeni mehanizam lučenje antitijela koja neutraliziraju toksin.
- Invazivnost bez toksičnosti - Neke bakterije nisu toksične već uzrokuju bolest svojim razmnožavanjem, t.j. brojnošću u napadnutim tkivima i stanicama. Takve se bakterije uništavaju staničnim imunološkim mehanizmima.

Većina bakterija nalazi se negdje između te dvije krajnosti, iskazujući određenu lokalnu invazivnost i toksičnost te se protiv njih usmjeravaju i humoralni i celularni imunološki mehanizmi.

Prva crta protubakterijske obrane i opet je integritet tjelesnih površina, o čemu je bilo više riječi u odjeljku o nespecifičnoj lokalnoj imunosti. Ako ipak prodru u tijelo, najprije im se suprostavljaju mehanizmi sustavne nespecifične imunosti koji su u većini slučajeva dovoljno učinkoviti, pa se specifični, stečeni mehanizmi ni ne aktiviraju.

NESPECIFIČNA PROTUBAKTERIJSKA IMUNOST

Komplement

Sastojci bakterijske stijenke mogu aktivirati komplement alternativnim putem, što rezultira lizom bakterija, posebno Gram-negativnih, čija je stijenka osjetljiva na litičko djelovanje.

Fagocitoza

Većina bakterija uništava se fagocitozom, čiji je mehanizam objašnjen ranije, u odjeljku o celularnoj nespecifičnoj imunosti. Kao fagociti najučinkovitiji su neutrofil i monociti/makrofagi, koji se stoga svrstavaju u red "profesionalnih fagocita". U pravilu, neutrofil intenzivnije fagocitiraju, a slabije ubijaju ingestirane bakterije, dok monociti/makrofagi slabije fagocitiraju ali djelotvornije ubijaju ingestirane bakterije. Mehanizmi unutarstaničnog ubijanja također su objašnjeni u odjeljku o nespecifičnoj celularnoj imunosti.

Uloga citokina

Pri susretu s bakterijom i aktivaciji koja uslijedi, makrofagi luče brojne citokine, npr. TNF- α i IL-1 koji aktiviraju ostale fagocite i pospješuju njihovu interakciju s endotelom, pomažući izlazak u tkiva i odlazak na mjesto infekcije (upala). Luče i kemotaksijske tvari, poput kemokina, koje privlače fagocite na mjesto djelovanja. Stanice NK luče IFN- γ koji pak aktivira makrofage.

SPECIFIČNA PROTUBAKTERIJSKA IMUNOST

Uloga antitijela

Antitijela igraju ključnu i najvažniju ulogu u neutralizaciji bakterijskih toksina (npr. vezanjem na difetrijski toksin sprječavaju njegov kontakt s ciljnom tkivnom stanicom). Vrlo je važna i zaštitna uloga sekretijskog IgA na površinama sluznice, koji također sprječava vezanje bakterija na epitelne stanice. Na primjer, antitijelo na protein M streptokoka skupine A pruža specifičnu zaštitu protiv streptokokne upale grla. Još je važnija uloga antitijela protiv netoksičnih bakterija; antitijela vezanjem na te bakterije aktiviraju komplement i izazivaju njihovu lizu ili, ako izostane liza, time što su potakli vezanje komponente komplementa C3 olakšavaju fagocitozu fagocitima s receptorima za tu komponentu komplementa (monociti/makrofagi).

MEHANIZMI IZBJEGAVANJA IMUNOLOŠKOG NADZORA

Bakterije, napose uspješni unutarstanični nametnici, razvijaju brojne zaštitne mehanizme kojima izbjegavaju imunološko prepoznavanje i reakciju. Mogu: (i) lučiti toksine koji koče kemotaksiju; (ii) građom stijenke priječiti adherenciju uz fagocit, a time i fagocitozu; (iii) nakon ingestije lučiti tvari koje priječe unutarstanično ubijanje; (iv) nakon ingestije izbjeći spajanje s lizosomom i razmnožavati se u fagocitu (*M. leprae*); (v) nakon ingestije ubiti fagocit (*M. tuberculosis*).

10.3. PROTUGLJIVIČNA IMUNOST

O protugljivičnoj se imunost ne zna mnogo, no vjeruje se da u osnovi funkcionira na jednak način kao i protubakterijska. Gljivične se infekcije dijele u četiri skupine: (i) površinske mikoze: izazvane dermatofitima i ograničene uglavnom na nežive, keratinizirane dijelove kože, kose i nokata; (ii) subkutane mikoze: izazvane saprofitnim gljivicama, a mogu rezultirati pojavom kroničnih čvorića i ulceracijom potkožnog tkiva (npr. micetom, kromomikoza) (iii) respiracijske mikoze: izazvane saprofitima, obično izazivaju subkliničke ili akutne infekcije pluća (npr. histoplazmoza); (iv) kandidijaza: izazvana vrstom *Candida albicans*, najčešće uzrokuje površinske, rijetko sustavne infekcije kože i sluznice.

Čini se da su protiv gljivica najdjelotvorniji mehanizmi stanične imunosti jer bolesnici najčešće iskazuju odgođenu preosjetljivost na gljivične antigene, a kronične infekcije obično su povezane s izostankom odgođene preosjetljivosti. U protugljivičnoj imunosti sudjeluju i limfociti T_H koji lučenjem citokina aktiviraju makrofage. Ima dokaza da u protugljivičnim reakcijama sudjeluju i granulociti, između ostaloga i lučenjem defensina i stvaranjem dušikova oksida.

10.4. PROTUPARAZITNA IMUNOST

Protiv parazita djeluju i humoralni i stanični imunološki mehanizmi, a njihova vrsta i učinkovitost ovisi o vrsti parazita i stupnju infekcije.

Nametničke praživotinje mogu živjeti u crijevu (npr. amebe), u krvi (tripanozoma), u eritrocitima (plazmodij), u makrofagima (toksoplazma) u mišićima (tripanozoma) itd. Infekcije nametnicima vrlo su česte i predstavljaju ozbiljan zdravstveni problem. Na primjer, crijevnim je parazitima zaražena trećina svjetske populacije, a od malarije godišnje umire 1-2 milijuna ljudi. Paraziti često prolaze kroz vrlo složen životni ciklus tijekom kojeg u različitim fazama razvoja mijenjaju i svoje domaćine, pa i neke antigene često posjeduju samo u određenim razvojnom stadijima. Na primjer, sporozoit (infektivni stadij uzročnika malarije što je prenosi komarac) izaziva produkciju antitijela koja, međutim, ne reagiraju s uzročnikom kad je u eritrocitnom stadiju.

Način ulaska u organizam također je različit. Paraziti koji su dovoljno mali da žive u stanici, obično se za ulaz u stanicu posluže nekim staničnim receptorom. Na primjer, vrste roda

Leishmania, koje parazitiraju u makrofagima, vežu se na njegove receptore za komplement i tako pospješuju svoju fagocitozu.

Tijekom milijuna godina evolucije paraziti su razvili brojne prilagodbe s obzirom na svoje domaćine pa u tome iskazuju znatan stupanj specifičnosti. Na primjer, uzročnici malarije u ptica, glodavaca ili čovjeka razmnožavaju se svaki samo u svom domaćinu, t.j. uzročnik u glodavaca ne razmnožava se u organizmu čovjeka i obratno. Otpornost svakog organizma na parazite je različita i ima i genetsku osnovu. Npr. čini se da široka rasprostranjenost određenih gena MHC u izvornih Afrikanaca, a rijetkih u pripadnika bijele rase, pruža bolju zaštitu od malarije. Ulogu igraju i drugi geni. Na primjer, osjetljivost na infekciju vrstom *Leishmania donovani* u mačke je zadana jednim dominantnim genom koji nadzire aktivaciju makrofaga.

PRIROĐENA PROTUPARAZITNA IMUNOST

Prije negoli parazit potakne specifičan imunološki odgovor, mora svladati brojne druge zapreke. Prvu crtu obrane čine komplement, makrofagi, neutrofili, eozinofili i trombociti.

Makrofagi

Raspolažu brojnim protuparazitnim mehanizmima. Fagocitoza igra važnu ulogu pri uništavanju manjih parazita. Uz to, makrofag luči brojne citotoksične tvari koje mogu uništiti parazite i bez ingestije. Nakon aktiviranja, npr. citokinima, makrofag može uništiti male unutarstanične parazite poput eritrocitnog stadija uzročnika malarije, ali i veće, poput ličinki shistosome. Makrofagi mogu djelovati i mehanizmom ADCC, vezanjem na specifični IgG i IgE. Stvaranje kisikovih radikala i dušikova oksida vjerojatno je ključno za otpornost na većinu parazitnih infekcija poput shistosomijaze i malarije.

Neutrofili

Raspolažu sličnim mehanizmima izvanstaničnog i unutarstaničnog ubijanja kao i makrofagi (fagocitoza, digestija mehanizmima ovisnima i neovisnima o kisiku). Također se mogu aktivirati citokinima (IFN- γ , TNF- α , GM-CSF). Kad je ciljani organizam prevelik da bi se fagocitirao, neutrofil svoja toksična granula ispušta u okolinu ("frustrirana fagocitoza") i uništava cilj i bez fagocitoze. Stoga mogu biti djelotvorni u uništavanju i malih i velikih parazita.

Eozinofili

Čini se da su se eozinofili specijalizirali za djelovanje protiv tkivnih parazita koji su suviše veliki da bi se mogli fagocitirati. Pritom važnu ulogu igra i oslobađanje granula iz mastocita, potaknuto vezanjem IgE, kojim se eozinofili privlače na mjesto infekcije i koje potiče njihovo protuparazitno djelovanje. Eozinofili su slabiji fagociti od neutrofila, a cilj mogu uništavati također mehanizmima ovisnima i neovisnima o kisiku. Također se mogu aktivirati citokinima (TNF- α , GM-CSF) koji pojačavaju njihovo djelovanje.

Trombociti

Mogu djelovati citotoksično protiv ličinki brojnih nametnika (npr. toksoplazme). Zahvaljujući receptorima za Fc-fragment IgE (Fc ϵ) mogu djelovati mehanizmom ADCC. Aktiviraju ih TNF- α i IFN- α .

STEČENA PROTUPARAZITNA IMUNOST

Limfociti T

Za zaštitu od nekih parazita nužni su i CD4+ i CD8+-limfociti T. Limfociti T_H1 lučenjem IFN- γ aktiviraju makrofage i znatno pospješuju njihovo protuparazitno djelovanje. Pokazalo se da su limfociti T_H2 važni u uništavanju crijevnih parazita; jedan od mehanizama je lučenje citokina (IL-3, IL-4) i poticanje aktivnosti eozinofila. Djelovanje CD8+-limfocita može biti dvostruko: (i) uništavaju zaražene stanice izravnom citotoksičnošću, uz prepoznavanje molekula MHC-I na ciljnoj stanici; (ii) luče IFN- γ koji koči razmnožavanje parazita u stanici (npr. plazmodija u hepatocitu).

Antitijela

Infekcije parazitima često uzrokuju nespecifičnu produkciju antitijela (hipergamaglobulinemiju), vjerojatno lučenjem tvari koje djeluju kao poliklonski aktivatori limfocita B. Stvaraju se, međutim, i specifična antitijela na parazitne antigene, koja mogu djelovati na više načina: (i) vezanjem na nametnika mogu ga izravno oštetiti ili aktiviranjem komplementa izazvati njegovu lizu; (ii) vezanjem na nametnika mogu spriječiti njegov ulazak u stanicu domaćina; (iii) mogu pospješiti fagocitozu makrofagima i neutrofilima (receptori za Fc); (iv) mogu potaknuti ADCC (receptori za Fc).

MEHANIZMI IZBJEGAVANJA IMUNOLOŠKOG NADZORA

Paraziti su razvili brojne mehanizme izmicanja učinkovitim imunološkom nadzoru.

- Neki su razvili otpornost na djelovanje komplementa, npr. gubljenjem površinskih molekula koje aktiviraju komplement.
- Unutarstanični paraziti luče tvari koje koče oksidativni prasak.
- Izvanstanični paraziti mijenjaju antigeničnost površinskih molekula i tako izmiču prepoznavanju antitijelima.
- Neki se okružuju zaštitnom ovojnicom (cista).
- Neki izazivaju različite oblike imunosupresije i tako slabe imunološku reakciju protiv sebe (oslobađanje limfocitotoksičnih tvari, prekomjerno oslobađanje antigena, kočenje aktivnosti citokina itd).

11. LIMFNO TKIVO USNE ŠUPLJINE I SLINA

Zdravlje usne šupljine ovisi o integritetu sluznice, koja normalno ne propušta mikroorganizme. Budući da je sluznica u vezi s brojnim drugim strukturama, one također postaju ranjive ako zakažu obrambeni mehanizmi sluznice usne šupljine. Sluznica usta je u izravnoj vezi s kožom, a preko orofarinksa sa sluznicom larinksa. No neželjenim je utjecajima mikroba najizloženija veza između gingive i zuba, t.j. spojni epitel koji putem parodontne membrane komunicira s koštanim tkivom čeljusti. Za održavanje zdravlja sluznice usne šupljine odgovorni su integritet sluznice, slina, sulkusna tekućina te humoralne i celularne sastavnice imunosti.

11.1. LIMFNO TKIVO USNE ŠUPLJINE

Usna je šupljina povezana s ekstraoralnim limfnim čvorovima, a sadrži i intraoralne nakupine limfnog tkiva.

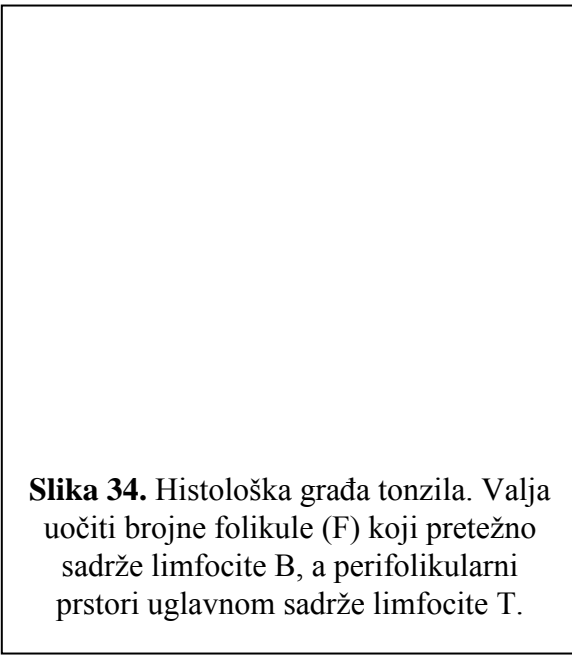
Ekstraoralno limfno tkivo

Fina mreža limfnih kapilara izbija na površinu sluznice jezika, dna usne šupljine, nepca i lica kao i iz gingive i pulpe zuba. One se spajaju tvoreći sve veće limfne žile koje se povezuju s limfnim čvorovima submandibularnog, vratnog i retrofaringealnog područja, ovisno o smještaju žila. Stoga antigen koji prođe kroz epitel u laminu propriju može izravno ući u limfni sustav organizma, ili ga tamo mogu prenijeti fagociti.

Intraoralno limfno tkivo

Ne postoji jasno definirano limfno tkivo povezano s usnom šupljinom (poput onog povezanog s crijevom, na primjer), no ipak postoje četiri vrste limfatičkih struktura u ustima koje mogu igrati ulogu u imunološkom održavanju integriteta usne šupljine. To su:

1. Nepčane tonzile – To su parne limfne nakupine između usne šupljine i farinksa. Kao i u limfnim čvorovima, njihovi folikuli uglavnom sadrže limfocite B, a perifolikularni prostor limfocite T (Slika 34). Među limfocitima B najbrojniji su oni što luče IgG, a potom ostala antitijela ovim slijedom: IgA → IgM → IgD → IgE. Tonzilarne stanice reagiraju i na T- i na B-mitogene i sposobne su i za primarni i za sekundarni imunološki odgovor, te po svemu tome slične onima u limfnom čvoru. Luče, međutim, samo IgA monomer, a ne i sekrecijski IgA (koji je dimer povezan lancem J).
2. Jezične tonzile - Smještene su sa svake strane jezika. Također slične limfnom čvoru, a neki



Slika 34. Histološka građa tonzila. Valja uočiti brojne folikule (F) koji pretežno sadrže limfocite B, a perifolikularni prostori uglavnom sadrže limfocite T.

folikuli imaju i germinativne centre okružene perifolikularnim limfatičkim stanicama. O njihovoj se funkciji, međutim, ne zna gotovo ništa.

3. Faringealne tonzile (adenoidi) - To je jednostavna masa limfnog tkiva ispod sluznice nazofarinksa, dakle izvan usne šupljine. Dio su, međutim, prstena limfnoga tkiva koji usta i nos odvaja od farinksa.
4. Limfno tkivo slinovnica i gingive - Limfocita i plazma stanica ima u većini slinovnica (parotidama, sublingualnim i submandibularnim žlijezdama), većinom u nakupinama duž kanalića i među acinusima. Većina plazma- stanica luči IgA, i to sekrecijski IgA koji je, kao što je već ranije spomenuto, dimer. Gingiva, pak, sadrži leukocite, uglavnom zbog stvaranja bakterijskog plaka. U početku prevladavaju limfociti, no s pojavom gingivitisa počinju prevladavati plazma-stanice. Nije jasno nastaju li plazma-stanice lokalnom proliferacijom ili dolaze iz regionalnih limfnih čvorova.

11.2. SLINA

Pokreti mišića jezika, lica i usana važna su sastavnica održavanja higijene usne šupljine i u tome im u velikoj mjeri pomaže slina. Podmazivanjem unutarnje površine usne šupljine olakšava se gutanje ne samo hrane već i bakterija i toksičnih tvari koje se u želucu mogu inaktivirati. Slina se stvara neprekidno, brzinom od oko 19 mL/h u bazalnim uvjetima, a nakon stimulacije lučenje se višestruko povećava. Sadrži različite aktivne sastojke važne u obrani.

1. Lizozim - enzim koji može djelovati baktericidno.
2. Peroksidaza - premda može zakočiti rast *S. mutans*, malo je dokaza kojima bi se koncentracija ovog enzima u slini mogla povezati sa sklonošću karijesu.
3. Laktoferin - djeluje bakteriostatski vezujući Fe.
4. Aglutinin - glikoprotein koji vezanjem na bakterije izaziva njihovu aglutinaciju.
5. Komplement - njegovom se aktivacijom, kao što je već ranije objašnjeno, izaziva liza bakterija.
6. Sekrecijski IgA - Ako se uzme da se tijekom jednog sata prosječno izluči oko 20 ml sline, znači da se dnevno izluči oko 500 mL. Koncentracija IgA u slini iznosi oko 19 mg/100 ml (nasuprot 1,4 mg IgG/100 ml i 0,2 mg IgM/100 ml), što iznosi oko 100 mg IgA na dan. Očigledno je IgA glavni imunoglobulinski sastojak sline i njegov omjer prema IgG je oko 400 puta veći negoli omjer IgA:IgG u serumu. Molekula sekrecijskog IgA (sIgA) sastavljena je od dvije molekule IgA povezane polipeptidnim lancem J (Slika 28), a uz to sadrži jednu sekrecijsku komponentu molekulske mase 80 kDa, pa je ukupna molekulska masa sekrecijskog IgA oko 390 kDa. Luče ga lokalne plazma-stanice u slinovnicama. Čini se da za sekrecijski IgA ne postoji imunološko pamćenje, pa ponovni susret s antigenom u ustima ne izaziva brzi sekundarni odgovor. To je, vjerojatno, nedostatak jer izostaje brz odgovor pri ponovnom susretu s npr. bakterijom. Prednost sekrecijskog IgA je u tome što je otporniji od ostalih imunoglobulina na proteolizu bakterijskim hidrolazama. To svojstvo posebno odgovara njegovoj zadaći na površini sluznice koja je, u pravilu, naseljena bakterijama ili na nju utječu probavni enzimi. Čini se da je temeljna funkcija sekrecijskog IgA sprječavanje adherencije mikroorganizama na receptore na površini sluznice. Nađena

su, na primjer, antitijela sIgA na *S. mutans* u slini, koja sprječavaju adherenciju ove bakterije na površinu sluznice i zuba.

7. Leukociti - Slina sadrži mnogo leukocita. Čini se da u slinu dolaze brzinom od oko 1 milijun u minuti. Dolaze iz krvi putem sulkusne tekućine i oko 98 % među njima su neutrofilni granulociti, oko 1 % limfociti te nešto monocita i eozinofilnih granulocita. Oko 60 % granulocita u slini pokazuje degenerativne promjene pa im je funkcija u slini upitna. Ima i mišljenja da su to granulociti “za otpad” te da je slina jedan od putova kojima se izbacuju iz tijela. Oni svejedno mogu utjecati na mikrobe u usnoj šupljini - fagocitozom, citotoksičnošću ADCC, oslobađanjem hidrolaza i peroksidaze itd.

11.3. SULKUSNA TEKUĆINA

Stanične i humoralne komponente krvi mogu doprijeti do površine zuba i usnog epitela putem tekućine kroz spojni epitel gingive. Stoga su građa i funkcioniranje spojnog epitela bitni za razumijevanje odnosa između sastojaka krvi i struktura parodonta. Spojni se epitel razlikuje od ostalih vrsta epitela po tome što ima dvije bazalne membrane: jedna ga povezuje s vezivnim tkivom, a druga s površinom zuba. Sadrži i šire međustanične prostore.

Nije još posve jasno je li kretanje sulkusne tekućine neprekidan fiziološki proces ili nastaje tek na poticaj upale, no to je pitanje akademske naravi jer u praksi su bakterije prisutne uvijek - već nekoliko minuta nakon uklanjanja plaka ponovno se nakupljaju pa je nemoguće izbjeći stvaranje uvjeta za upalu. Slično je i s leukocitima, pa se za sada pretpostavlja da i leukociti i sulkusna tekućina stalno prolaze iz gingivnih kapilara kroz spojni epitel na površinu zuba. Taj se protok vrlo povećava upalnim promjenama tijekom gingivitisa i parodontitisa. Nije naodmet spomenuti da ukupna površina sulkusnog epitela uokolo 28 zuba iznosi oko 760 mm², a kad postoji parodontitis može se udeseterostručiti. Što se tiče podrijetla sulkusne tekućine, pokusi u mjamuna nedvojbeno su pokazali da se radionuklidom obilježeni IgG iz krvi nađe u sulkusnoj tekućini već nakon 30 minuta, a leukociti već nakon 20 minuta. Stoga se imunološka zbivanja u krvi izravno odražavaju na sulkusnu tekućinu i mogu utjecati na zdravlje zuba i gingive. Valja imati na umu da sulkusna tekućina ulazi u usnu šupljinu gdje, miješajući se sa slinom, mijenja sastav onoga što nazivamo “kompletnom slinom”.

“Kompletna” ili “miješana” slina

To je mješavina izlučevina slinovnica, sulkusne tekućine i produkata sluznice usta. Premda kvantitativno pretežu komponente sline, u kvalitativnom smislu sulkusna tekućina može biti odgovorna za brojna imunološka zbivanja u usnoj šupljini. Sadrži:

- IgA, IgG, IgM.
- komponente komplementa C3-C5 i proaktivator C3, što znači da se komplement može aktivirati i klasičnim i alternativnim putem (klasičnim putem imunokompleksima, a alternativnim npr. lipopolisaharidima Gram-negativnih mikroba). Aktiviranjem komplementa mogu se aktivirati i fagociti, pojačati upala i oštetiti tkivo, napose oslobađanjem lizosomskih enzima.
- Ostale topljive tvari - albumin, transferin, haptoglobin, lipoproteini itd.

- Stanice - Oko 98 % su neutrofilni granulociti, a ostalo mononukleari uključivši monocite i limfocite T i B. Veći udjel neutrofila negoli u krvi posljedica je njihove veće pokretljivosti i kemotaksije. Neke usporedbe pokazuju da ti neutrofilni fagocitiraju slabije od onih u krvi.

Utjecaj lokalne i sustavne imunosti na usnu šupljinu

Bitna je osobitost zuba što na njihovu površinu mogu utjecati i lokalna i sustavna imunost. Linija podjele ide približno rubom gingive i to je vjerojatno jedino mjesto u tijelu s tako jasnom granicom dodira lokalne i sustavne imunosti. Tako se razlikuju salivarna i gingivalna zona. Prva je najviše ovisna o sIgA dok drugu nadziru uglavnom, a možda i posve, imunološki mehanizmi što potječu iz krvi.

12. IMUNOLOGIJA INFEKCIJA USNE ŠUPLJINE

Dvije su najčešće infekcije što pogađaju usnu šupljinu:

- infekcija gljivicom *Candida albicans* (C.a.) i
- infekcija virusom *Herpes simplex* (HSV).

12.1. KANDIDIJAZA

Kandida je komenzal u probavnom sustavu čovjeka. Najčešći uzročnik infekcija, premda ne i jedini je *Candida albicans*.

Oralna kandidijaza

Razlikuju se četiri niže navedena oblika.

1. Akutna pseudomembranska - Poznata pod nazivom "mlječac" najčešća je u novorođenčadi, no javlja se i u odraslih, imunosuprimiranih osoba.
2. Akutna atrofična - Može nastati iz akutne pseudomembranske, a obično je popratna pojava liječenja antibioticima širokoga spektra.
3. Kronična atrofična - Poznatija je kao stomatitis uzrokovan nošenjem proteze, koja na mjestu dodira sa sluznicom nepca stvara predispoziciju za infekciju.
4. Kronična hiperplastična – Očituje se pojavom tvrdog, bijelog žarišta na jeziku, čeljusti ili usnama te je poznatija pod nazivom "kandidna leukoplakija".
5. Mukokutana - Nasuprot površinskoj, koja zahvaća sluznicu i/ili kožu, moguć je i mukokutani oblik kandidijaze, koji osim sluznica i kože zahvaća i organe (bubreg, srce, jetru, mozak). To se obično događa kao popratna pojava u osoba oboljelih od drugih težih bolesti.

Imunološki aspekti kandidijaze

Dobro je poznata pojava oralne kandidijaze u bolesnika s AIDS-om koji su deficitarni limfocitima CD4+. S druge strane, bolesnici u kojih postoji samo deficijencija limfocita B, nisu osjetljivi na infekcije kandidom. Čini se da humoralna imunost igra veću ulogu u sprječavanju sustavnih infekcija kandidom.

Sekrecijski IgA - U nekih osoba s oralnom kandidijazom raste titar sIgA, te postoji korelacija sa serumskim IgG-, IgA- i IgM-antitijelima na kandidu. To vjerojatno znači da stimulacija antigenom u ustima i, vjerojatno u probavnom kanalu, potakne i lokalno lučenje antitijela i sustavni humoralni odgovor.

Opsonizacija i fagocitoza - Za optimalnu fagocitozu kandidate važna su antitijela i komplement, te se obje ove komponente mogu naći u serumu i potaknuti fagocitozu i ubijanje mikroorganizma. Hifni oblik, međutim, može izmaći fagocitozi. U bolesnika sklonih kandidijazi uočeni su ispadi u fagocitozi, no ti su bolesnici uglavnom primali antibiotike, steroide ili citostatike, koji i inače djeluju imunosupresijski. Slabija otpornost na kandidu moguća je, međutim, i u osoba s visokim titrom antitijela na kandidu i s normalnom koncentracijom komplementa, što znači da su u obrani od kandidate važni i drugi čimbenici. Normalni granulociti mogu uništiti kandidu, a glavni način kako to čine je unutarstanično

ubijanje posredovano kisikom (kisikovi radikali) i mijeloperoksidazom. Slabija otpornost na kandidu uočena je u bolesnika s nedostatnošću mijeloperoksidaze te s poremećajima kemotaksije.

12.2. INFEKCIJE VIRUSOM HERPES SIMPLEKS

Primarne infekcije HSV češće su u usnoj šupljini djece negoli odraslih.

Imunologija primarnih infekcija HSV

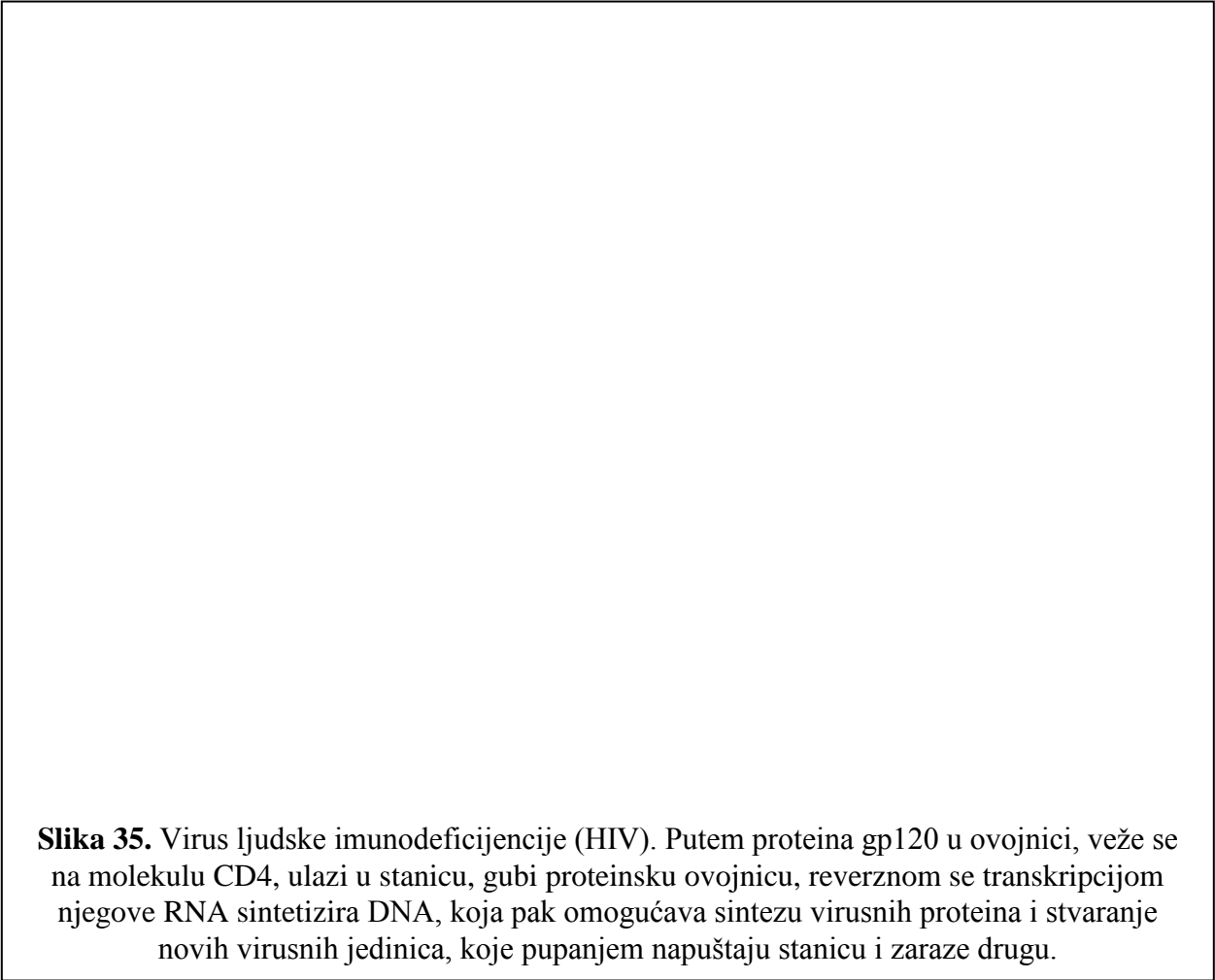
Postoje dva tipa infekcija. Tip 1 češće obuhvaća oralne a tip 2 genitalne infekcije. HSV najlakše ulazi u epitelne stanice sluznice usta, u čijim se jezgrama replicira uzrokujući pojavu vezikula i ulceracije. Razdoblje inkubacije iznosi 2-7 dana. Prvog tjedna klinički manifestne bolesti moguće je u perifernom krvotoku dokazati limfocite senzibilizirane na HSV, no još nema antitijela. Nakon dva tjedna javljaju se antitijela i makrofagni MIF, a limfocitna proliferacija na HSV se smanjuje. Dakle, oporavak od infekcije podudara se s pojavom antitijela i MIF. Seropozitivne osobe iskazuju reakciju odgođene preosjetljivosti na HSV, a njihovi limfociti luče makrofagni MIF, interferone, limfotoksine i kemotaksijske tvari, čime se pokreće niz imunoloških mehanizama. Infekcija ima još jedno osebujno svojstvo: zaražena stanica već nakon 6 sati dobiva novi površinski biljeg - glikoproteinski antigen specifičan za virus. Antitijela na taj glikoprotein mogu: (i) aktivirati komplement i (ii) pokrenuti mehanizam citotoksičnosti posredovan antitijelima (ADCC) i tako posredovati u uništavanju stanice zaražene virusom.

Virus se, međutim, ne iskorijenjuje nego ostaje latentan godinama, a možda i cijelog života. Glavni rezervoar virusa je ganglij trigeminusa. Virus se u neuronima vjerojatno ne razmnožava jer se i sami neuroni ne razmnožavaju, pa nemaju za to nužnog enzima transkriptaze. Rekurentne infekcije najčešće se pojavljuju na granici usana i okolne kože, a traju 3-10 dana. Na ponovno izbijanje simptoma utječu mnogi čimbenici: hladnoća, sunčeva svjetlost, stres, trauma itd. Nakon derepresije virus migrira duž aksona do kraja živčanog završetka gdje se otpušta i, nastupi li imunodeficijencija, replicira i nastupa ponovna pojava kliničkih simptoma. Među imunološke poremećaje koji omogućavaju rekurenciju ubrajaju se: (i) nedostatno lučenje MIF; (ii) smanjeno citotoksično djelovanje limfocita CD8+, (ii) smanjeno lučenje interferona. Sve to vjerojatno oslabi imunološku reakciju na mjestu oslobađanja virusa i omogući reinfekciju. Svi nabrojani mehanizmi pripadaju staničnoj imunosti, dok se titar antitijela pri rekurentnim infekcijama, čini se, ne mijenja.

12.3. IMUNOLOGIJA SINDROMA STEČENE IMUNODEFICIJENCIJE (AIDS)

Sindrom stečene imunodeficijencije ("acquired immunodeficiency syndrome", AIDS) bolest je uzrokovana virusom HIV ("human immunodeficiency virus"), koji selektivno pogađa stanice s površinskim biljegom CD4 (uglavnom limfociti T_H, dendritične stanice kože i limfnog tkiva i stanice mikroglije u središnjem živčanom sustavu), vežući se na biljeg CD4 kao receptor.

Ovojnica virusa sadrži dva međusobno povezana glikoproteina gp120 i gp41 i upravo se gp120 veže na CD4 kao na receptor putem kojeg virus ulazi u stanicu koja nosi spomenuti biljeg. Osobe u dodiru s HIV stvaraju antitijela na glikoproteine gp120 i gp41 (seropozitivnost), što ima vrijedno dijagnostičko značenje. Ulaskom u stanicu virus gubi ovojniciu te se replicira (sinteza DNA) s pomoću reverzne transkriptaze (HIV je RNA-virus) stvarajući nove jedinice koje mogu zaraziti nove stanice na već opisani način (Slika 35). S vremenom u bolesnika sve više opada broj CD4+-limfocita jer ih virus ubija; kako virus ne napada CD8+- stanice, smanjuje se omjer CD4+/CD8+, te je to jedan od ranih pokazatelja napredovanja bolesti. Inkubacija je spora i može trajati godinama, a i bolest nakon pojave simptoma napreduje polako.



Slika 35. Virus ljudske imunodeficijencije (HIV). Putem proteina gp120 u ovojnici, veže se na molekulu CD4, ulazi u stanicu, gubi proteinsku ovojniciu, reverznom se transkripcijom njegove RNA sintetizira DNA, koja pak omogućava sintezu virusnih proteina i stvaranje novih virusnih jedinica, koje pupanjem napuštaju stanicu i zaraze drugu.

IMUNOLOŠKE MANIFESTACIJE AIDS-a

Humoralna imunost

U krvnom optoku osoba u dodiru s HIV-om mogu se dokazati anti-HIV antitijela. Ona se obično pojavljuju 4-6 tjedana nakon infekcije, no to razdoblje može trajati i do godinu dana.

Stanična imunost

Smanjuje se broj CD4+-stanica kao i omjer CD4+/CD8+-stanica u perifernom krvnom optoku. Smanjuje se sposobnost umnažanja limfocita. Kožni testovi *in vivo* slabe (odgođena preosjetljivost). Slabi proizvodnja IL-2, slabi NK aktivnost.

Klinički znaci AIDS-a

Napredovanjem imunodeficijencije javljaju se oportunističke infekcije, temperatura, znojenje, kronični proljevi, gubitak tjelesne težine, limfadenopatija. Među oportunističkim je infekcijama najčešća pneumonija koju uzrokuje praživotinja *Pneumocystis carinii*. Praživotinje (*Giardia*, *Entamoeba*) izazivaju proljeve. Učestala je pojava oralne kandidijaze i herpesa. Povećava se sklonost pojavi zloćudnih novotorina; osobito je čest Kaposijev sarkom - tumor vaskularnog epitela, a javlja se najčešće na koži i sluznici. Raste i učestalost pojave limfoma i karcinoma.

Danas su u optjecaju tri klasifikacije bolesti: klasifikacija po Walter Reedu (WR), klasifikacija CDC (Center for Disease Control, SAD) i klasifikacija Svjetske zdravstvene organizacije. S imunološkog je stajališta najpotpunija ona po WR, a zasniva se dijelom na laboratorijskim (među inim i imunološkim) pokazateljima, a dijelom na kliničkim (Tablica 8).

TABLICA 8. Stadiji AIDS-a po Walter Reedu

| WR stadij | Znaci |
|-----------|--|
| WR 0 | Bolesnik je zaražen, no prođe 6 tjedana do godine dana do pojave antitijela. |
| WR 1 | U krvi se mogu dokazati antitijela na HIV. |
| WR 2 | Pojavljaju se prvi klinički znaci - kronična limfadenopatija. Bolest u ovom stadiju može ostati 3-5 godina. |
| WR 3 | Broj CD4+-limfocita pada ispod 400/mm ³ (normalni je raspon 900-1600/mm ³), premda još nema uočljivih funkcijskih poremećaja stanične imunosti. To stanje može trajati do 1,5 godine. |
| WR 4 | Javljaju se uočljivi funkcijski poremećaji stanične imunosti, npr. poremećaji odgođene preosjetljivosti. |
| WR 5 | Potpun izostanak odgođene preosjetljivosti, oralna kandidijaza, oralne infekcije HSV, teške gljivične i virusne infekcije kože. Taj stadij traje 1-2 godine. |
| WR 6 | Broj CD4+-limfocita pada ispod 100/mm ³ , postoje kronične i/ili diseminirane infekcije. Infekcija s <i>Pneumocystis carinii</i> . Bolesnik u ovom stadiju umire za najviše 2 godine. |

Oralne manifestacije AIDS-a

Česte su u bolesnika s AIDS-om i često mogu biti prvi ili barem rani znak te bolesti (pojavnost oralnih žarišta prema literaturnim se podacima kreće od 40-90 %, ovisno o težini žarišta i stadiju bolesti uzetih u obzir u istraživanju).

TABLICA 9. Najčešće oralne manifestacije AIDS-a

| Vrsta bolesti | Oralne manifestacije |
|-----------------------|--|
| Gljivične infekcije | Najčešće kandidijaze svih vrsta i oblika. Javljaju se u oko 1/3 HIV-pozitivnih i u oko 90 % bolesnika s AIDS-om, jednako u pseudomembranskom i atrofičnom obliku. |
| Virusne infekcije | <u>Virus <i>Herpes simplex</i> (HSV)</u> Česta su rekurentna žarišta na nepcu i na desnim koja počinju vezikulama, a završavaju ulceracijom. Ovdje valja naglasiti da su rekurentna intraoralna žarišta iznimno rijetka u ostatku populacije (za razliku od h. labijalisa). <u>Epstein-Barrov virus</u> Pojava vlasaste leukoplakije u vidu bijelog, izbočenog plaka na jeziku, sličnog hiperplastičnoj kandidijazi. <u>Virus <i>Varicella zoster</i></u> Javlja se kao herpes zoster, s oralnim simptomima sličnima kao u infekcije HSV. |
| Bakterijske infekcije | Oportunističke infekcije, inače rijetke u usnoj šupljini, vrstama <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> i <i>Escherichia coli</i> . Gingivitis i parodontitis. Moguće su promjene slične akutnom, nekrotizirajućem, ulceroznom gingivitisu koji prelazi u naglo progredirajući parodontitis s brzim gubitkom mekog tkiva i koštane potpore te gubitkom zuba. |
| Novotvorine | Najčešći je Kaposijev sarkom, tumor vaskularnog epitela. Oralna žarišta se pojavljuju u obliku ljubičastih makula ili papula, često na nepcu ili jeziku. |
| Ostala žarišta | U bolesnika s AIDS-om oralne ulceracije su vjerojatno češće negoli u ostatka populacije. |

Glavni način prijenosa bolesti je spolni (u oko 88 % slučajeva), broj registriranih slučajeva u svijetu stalno raste, kao i stopa smrtnosti. Čini se da se širenje AIDS-a smanjuje u homoseksualnoj populaciji, ali raste u heteroseksualnoj. Velika većina zaraženih/bolesnih danas je u zemljama u razvoju (više od 90 %), a godišnje od te infekcije umire oko 2 milijuna osoba.

Liječenje

Još uvijek nema djelotvornog liječenja. Određeni se rezultati postižu dideoksinukleozidima, uglavnom azidotimidinom (AZT, zidovudin). Te tvari koče aktivnost reverzne transkriptaze i time umnažanje virusne DNA. Virus, međutim, razvija rezistenciju na AZT, što još više ograničava uspješnost takva liječenja. Valja, međutim, istaknuti da AZT u trudnica učinkovito sprječava (u 75 % slučajeva) prolaz virusa kroz placentu i time infekciju ploda. Osim nukleozidnih inhibitora reverzne transkriptaze, u liječenje se uvode nenukleozidni inhibitori reverzne transkriptaze i inhibitori proteinaze. Stoga se danas uglavnom prakticira tzv. trodjelna terapija pri kojoj se daju dva inhibitora reverzne transkriptaze i jedan inhibitor proteinaze, čime se znatno produžava život bolesnika i razdoblje bez simptoma bolesti, no potpunog izliječenja još uvijek nema.

Cijepljenje

Ulažu se veliki naponi u pronalaženje djelotvornog cjepiva, no proizvodnju takva cjepiva otežavaju česte mutacije virusa koji mijenja aminokiselinski sastav ovojnice, a time i imunogeničnost. Druga je poteškoća u tome što virus napada CD4+-stanice koje su glavni nositelji specifične imunosti, pa tako i protuvirusne. Za sada još nema djelotvornog cjepiva, no kako se u njegovo nalaženje ulažu velika sredstva i naponi, za očekivati je nalaženje prikladnog cjepiva u dogledno vrijeme.

13. IMUNOLOGIJA ZUBNOG PLAKA

Kolonizacija bakterija

Premda su usta novorođenčeta sterilna, mikrobi se u njima počnu naseljavati već nekoliko sati nakon rođenja. Prvog dana preteže *S. salivaceus*, a mogu se naći i *Veilonella alcalescens* i *Candida albicans*. Vrste roda *Actinomyces* i ostali anaerobi naseljavaju se nekoliko mjeseci kasnije, a pojava *S. sanguis* i *S. mutans* podudara se s izbijanjem decidualnih zuba. Odnos među mikrobima može se mijenjati načinom prehrane: više šećera u hrani povećava adherenciju *S. mutans* na površinu zuba i potiče razvoj karijesa.

Imunološki odgovor fetusa i novorođenčeta na antigene plaka

Pri porođaju u novorođenčeta postoji normalna koncentracija imunoglobulina G koji potječu od majke i prolaze kroz fetoplacentnu zapreku, pa se mogu dokazati i majčina IgG-antitijela na npr. *S. mutans*, *Veilonella alcalescens* itd. Nema, međutim, IgA i IgM jer oni ne prolaze kroz spomenutu zapreku. To je i dokaz da ih novorođenče ne stvara samo. Limfociti novorođenčeta mogu biti senzibilizirani na npr. *S. mutans* i u tome novorođenče slijedi situaciju kakva je u majke. To, međutim, nisu majčini limfociti jer oni ne prolaze kroz fetoplacentnu zapreku, već limfociti novorođenčeta senzibilizirani na antigene majčina plaka. Majčini imunoglobulini vjerojatno traju 3-5 mjeseci po porođaju, što se poklapa s izbijanjem decidualnih zuba. Životni vijek senzibiliziranih limfocita također je oko 6 mjeseci (to je više pretpostavka negoli dokazana činjenica) pa se pojava imunološke inkompetencije, čini se, poklapa s izbijanjem decidualnih zuba što sigurno utječe na buduću ravnotežu mikrobne populacije u usnoj šupljini.

Stvaranje plaka

Plak je skup velikog broja različitih mikroorganizama na površini zuba. Ekologija plaka vrlo je složena. Prvo se naseljavaju aerobi i to najprije Gram-pozitivni koki i bacili, među kojima je vjerojatno najbrojniji *S. sanguis*. Potom slijedi pomak prema anaerobima (*Veilonella*, *Actinomyces*, *Fusobacteria*), pa nastaje vrlo složena flora. Posve formirani plak sadrži oko $2,5 \times 10^7$ aeroba i oko $4,6 \times 10^7$ anaeroba/mg plaka. Sastojci plaka (napose lipopolisaharidi i dekstrani) mogu djelovati adjuvantno, t.j. poticati imunološki odgovor. Da bi to mogli, moraju proći epitelnu zapreku, a spojni je epitel propustan za molekule veličine do oko 70 kDa, koje tako mogu ući i u vezivno tkivo.

Plak i imunološki odgovor

Eksperimentalno je dokazano da nakupljanje bakterija izaziva imunološki odgovor - pojačanu proliferaciju limfocita T i B na bakterijske antigene. Nestankom plaka smanjuje se i reaktivnost limfocita, smanjuju se i humoralni i celularni imunološki odgovor. Funkcionira i mehanizam imunološkog pamćenja jer ponovno nakupljanje plaka izaziva snažniji i dugotrajniji sekundarni odgovor.

Adjuvantno djelovanje plaka

Plak djeluje adjuvantno, potičući upalu. Mehanizam je složen i obuhvaća najmanje tri komponente:

- a) lučenje lipopolisaharida (LPS) (Gram -negativne bakterije), dekstrana (*S. mutans*, *S. sanguis*) i levana (*Actinomyces viscosus*),

- b) LPS potiče oslobađanje IL-1 iz monocita i makrofaga te stimulira pomagačke limfocite T (T_H),
- c) dolazi do nakupljanja i proliferacije imunokompetentnih stanica u gingivi i limfnim čvorovima koji je dreniraju.
- d) čini se da antigeni plaka aktiviranjem limfocita T potiču i lučenje IL-4 koji, pak, stimulira limfocite B (ovdje se valja prisjetiti mehanizama aktiviranja limfocita T i B, prepoznavanja antigena i njihovog predočavanja).

Poliklonski mitogeni

Kao što je već ranije objašnjeno, brojne bakterije mogu na nespecifičan način poticati limfocite B na lučenje antitijela, što se naziva poliklonskim aktiviranjem. Jedna od najvažnijih skupina takvih bakterijskih sastojaka su lipopolisaharidi (LPS) Gram-negativnih bakterija, dekstrani i levani, no postoje i brojne druge molekule iz Gram-negativnih bakterija koje su povezane s nastankom parodontitisa i koje mogu poliklonski aktivirati limfocite B i potaknuti lučenje antitijela i citokina te tako sudjelovati u nastanku parodontitisa.

Specifična antitijela

U zdravih ljudi dokazana su serumska antitijela na mnoge bakterije. Ona su sastavni dio normalnog imunološkog odgovora na bakterije plaka, no mogu igrati i ulogu u razvoju parodontitisa.

Učinak plaka na fagocite

Plak potiče lučenje kemotaksijskih tvari, npr. komponenata komplementa i LPS, koje privlače makrofage i neutrofile, a na fagocite djeluje i faktor inhibicije migracije makrofaga ("migration inhibition factor", MIF) što ga luče aktivirani limfociti, i koji ih zadržava na mjestu djelovanja. Fagocitoza se, kao što je već ranije objašnjeno, može zbivati posve nespecifičnim putem, ali se pojačava opsonizacijom (antitijela IgG s antigenima stvaraju imunokomplekse koji se putem Fc-fragmenta vežu na fagocitne receptore za Fc). Fagocitoza komponenata plaka ima barem tri učinka:

- ingestiranu bakteriju mogu uništiti unutarstanični enzimi,
- fagocit može preraditi antigen radi predočavanja i pokretanja imunološkog odgovora posredovanog limfocitima T,
- fagociti, napose neutrofil, oslobađaju hidrolitičke enzime koji mogu izazvati oštećenje tkiva.

U zaključku, učinci zubnog plaka na imunološki odgovor su promjenljivi i složeni, što ne iznenađuje s obzirom na narav plaka. Brojne bakterije i njihovi proizvodi mogu aktivirati gotovo sve imunološke mehanizme: komplement, limfocite T i B, fagocite i lučenje citokina, što sve može znatno utjecati na razvoj upale.

14. IMUNOLOGIJA KARIJESA

Od više kariogenih bakterija, za nastanak karijesa najodgovornija je *S. mutans*. Premda je ta bakterija dosad najtemeljnije istražena, ne treba smetnuti s uma da nastanku karijesa mogu pridonijeti i druge.

Uloga sline

Već je spomenuta protubakterijska uloga nespecifičnih topljivih tvari sline. Dokazano je da je koncentracija sIgA u kompletnoj slini manja u osoba sklonijih karijesu, u odnosu na one manje sklone karijesu. S druge strane, premda su dokazana specifična antitijela IgA na *S. mutans*, njihov titar u slini ne pokazuje negativnu korelaciju s učestalošću pojave karijesa. Budući da IgA vjerojatno sprječava adherenciju mikroba na glatke površine zuba - caklinu - karijes rijetko nastane na tim izloženim površinama. Češći je na osjetljivijim mjestima (fisure, proksimalna i cervikalna mjesta) koja su nedostupnija utjecaju sline, premda i opet valja napomenuti da dosad nije uočen "zaštitni" odnos između titra antitijela i broja karijesa.

Serumska antitijela

Dokazana su antitijela IgG, IgA i IgM na *S. mutans* u serumu (radioimunotestovima i enzimskim imunotestovima). Antitijela mogu poslužiti i opsoniziranju bakterije i njenu uklanjanju fagocitozom ili lizom s pomoću komplementa. Aktivira se i stanična imunost jer senzibilizirani limfociti CD4+ djeluju pomagački na stanice B, potičući lučenje antitijela.

Nedostatna imunost u zaštiti od karijesa

Budući da je učestalost karijesa velika, prirodna imunost očigledno nije dostatna za zaštitu od karijesa. Kako se to slaže s nalazom o postojanju imunološke reakcije na *S. mutans*? Čini se da je *S. mutans* ipak slabi imunogen, osobito zato što pretežno naseljava površinu cakline. Učinkovita imunizacija na antigen ovisi i o dovoljnoj količini antigena, koji mora proći spojni epitel da bi dopro do imunokompetentnih stanica, a čini se da taj put nije dovoljno djelotvoran. Uz to, prirodno nastala antitijela ne moraju biti usmjerena protiv svih najbitnijih antigena *S. mutans*. Čini se da je i stanična imunost protiv *S. mutans* suviše slabo izražena. Djelotvoran imunološki odgovor na *S. mutans* razvije se samo u manjeg dijela ljudi, i u njih ne nastaje karijes. Čini se da je čovjek sposoban stvoriti učinkovitu imunost na *S. mutans*, no ona se u uvjetima prirodne imunizacije ne razvije u dostatnoj mjeri.

Sprječavanje karijesa imunizacijom (cijepljenjem)

Budući da karijes zadovoljava mjerila infektivne bolesti, istražuju se i mogućnosti zaštite cijepljenjem protiv *S. mutans* na različite načine:

1. oralnim putem (gutanjem),
2. sustavnim putem (subkutano),
3. gingivno-salivarnim putem (lokalnom primjenom antitijela na *S. mutans*).

Prve su dvije mogućnosti u fazi provjere na pokusnim životinjama, no ima znakova da bi baš lokalna imunizacija mogla biti djelotvorna, ali s antigenom male molekulske mase koji bi lakše prolazio kroz sulkusni epitel običnom površinskom primjenom, bez injekcije. Naime, dosadašnji pokusi s primjenom monoklonskih antitijela na *S. mutans* (pasivna imunizacija) pokazuju da ona sprječavaju rekolonizaciju *S. mutans*, ako se prethodno ukloni plak. Zaštita

traje nekoliko mjeseci i znatno smanjuje pojavu karijesa. Pokušaji aktivne imunizacije dosad su najbolje rezultate dali s GTF i GBP. Glukoziltransferaza (GTF) nužna je za sintezu proteina koji se veže na glukon (GBP), te su obje molekule nužne za adheziju *S. mutans* i *S. sanguis*. Imunoprofilaksa bi trebala početi rano, prije kolonizacije bakterija, dakle u dojenčadi, cjepivo bi se davalo lokalno, u nazalnu sluznicu, zbog bolje lokalne imnostimulacije i jednostavne i bezbolne primjene.

15. IMUNOLOGIJA PARODONTNE BOLESTI

Bakterije plaka izazivaju upalu - gingivitis - koja prelazi u kroničnu upalu - parodontitis. Upala, uz sudjelovanje brojnih imunoloških mehanizama, napreduje do destruktivnog parodontitisa uz kidanje parodontnih ligamenata, gubitak potpornog koštanog tkiva, stvaranja džepova, pa i gubitak zuba.

Etiologija parodontitisa nije posve poznata, no bakterijski plak sigurno igra značajnu ulogu u patogenezi premda nema suglasja oko toga uzrokuju li parodontitis različiti ili samo određeni, specifični mikroorganizmi. Zagovornici specifičnih učinaka ističu bitnu ulogu vrste *Porphyromonas gingivalis* (ranije *Bacteroides gingivalis*), a u juvenilnog i brzo progredirajućeg parodontitisa u odraslih vrste *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (A.a.).

Imunološka zbivanja pri nastanku parodontitisa

Histopatološke i ultrastrukturne promjene uočene u pokusnih životinja upućuju na četiri faze razvoja bolesti gingive i parodonta:

1. početnu,
2. ranu,
3. uspostavljenju bolest,
4. uznapređovalu bolest.

1. Početna faza

Početna reakcija je upalni odgovor 2-4 dana nakon stvaranja plaka. Žarište je ograničeno na sulkus gingive i obližnji spojni epitel i vezivno tkivo. Dilatiraju se krvne žile gingive i stvara eksudat koji sadrži komplement, fibrin i granulocite. Komponente komplementa C3 i C5 djeluju kemotaksijski na granulocite. Klinički se ova faza očituje blagim marginalnim gingivitisom.

2. Rana faza

Rano se žarište stvara 4-7 dana nakon nakupljanja plaka i infiltrira se limfocitima. Većina infiltriranih limfocita su stanice T, te nešto limfocita B i makrofaga. Fibroblasti blizu limfocita degeneriraju i dolazi do lokalnog gubitka kolagena. Limfociti iz cirkulacije mogu ući u područje gingive zahvaćeno upalom. Mogu lučiti bar neke citokine, poput leukocitnog MIF, čime se leukociti zadržavaju u žarištu.

3. Uspostavljena bolest

Javlja se 2-3 tjedna nakon stvaranja plaka. Obilježena je infiltracijom plazma-stanicama koje pretežno luče IgG. Limfociti infiltrirani u žarište senzibilizirani su na bakterijske antigene, a isti se oblici sennzibilizacije mogu uočiti i u limfocita iz sustavnog krvotoka. I limfociti T i B iz sustavnog krvotoka mogu se, dakle, stimulirati antigenima plaka i postoji njihov stalni dotok u nastalo žarište.

4. Uznapređovala bolest

Uspostavljeno žarište može se održati godinama, što znači da ga obilježava kronična ali uspješna obrambena reakcija. Ono prelazi u uznapređovalu fazu kad ta reakcija poprimi obilježja destruktivnog imunopatološkog procesa. Nije jasno koji čimbenici uvjetuju prijelaz s

uspostavljenog k uznapredovalom žarištu, no jasno je da je taj prijelaz bitan za zdravlje parodonta. Postoje dva različita stajališta o uzrocima toga prijelaza: (i) imunološki uzroci i (ii) bakterijski uzroci (kandidati: *Porphyromonans gingivalis*, A.a. i neke spirohete). Taj stadij obilježavaju stvaranje džepova, ulceracija epitela džepova, razaranje kolagenog materijala parodontnog ligamenta i resorpcija kosti. Prisutna je gusta infiltracija plazma-stanicama, limfocitima i makrofagima. Sulkusna tekućina sadrži mnogo IgG, IgA, IgM i komplementa, te pretežno polimorfonuklearne granulocite. Ovaj kronični destruktivni proces sadrži sve komponente svojstvene imunopatologiji kroničnog žarišta i u tome se ogleda sva njegova složenost: prisutni su svi više puta spominjani mehanizmi imunološke reakcije uključivši i preosjetljivost tipa IV.

Imunosupresija i imunostimulacija u osoba s parodontitisom

Osobe liječene imunosupresijskim lijekovima rijede dobivaju parodontitis (npr. bolesnici s presađenim bubregom), što može biti posljedica protuupalnog, ali i imunosupresijskog djelovanja lijekova, npr. steroida. Moguće je i obrnuto, osobe podvrgnute imunostimulaciji, npr. levamisolom koji potiče staničnu imunost, češće dobivaju parodontitis.

Juvenilni parodontitis

Javlja se u osoba mlađih od 21 godinu, a karakterizira ga nagla destrukcija parodontnog ligamenta i potpornog koštanog tkiva, praćena ispadanjem zuba. U tih su bolesnika uočeni određeni imunološki ispadi, poput smanjene kemotaksije granulocita i povišene koncentracije serumskog IgG, IgA i IgM, što upućuje na poliklonsku aktivaciju limfocita B. Stoga postoji mogućnost da je bolest posljedica defektnog odgovora na neke mikroorganizme. U takvih je bolesnika, na primjer, uočen povišeni titar serumskih antitijela na A.a., što se ne uočava u odraslih bolesnika s parodontitisom. Čini se da A.a. djeluje citotoksično na neutrofile u parodontu, te se smanjuje njihova sposobnost fagocitoze tog mikroorganizma.

U zaključku, parodontitis uzrokuju bakterije zubnog plaka. To je progresivna destruktivna bolest koja vodu gubitku zuba. U nju su, čini se, uključeni gotovo svi raspoloživi imunološki mehanizmi koji mogu djelovati zaštitno, ali i destruktivno, ovisno o djelovanju različitih imunopoticajnih i/ili imunosupresijskih agenasa zbog kojih imunološka reakcija može izmaknuti nadzoru.

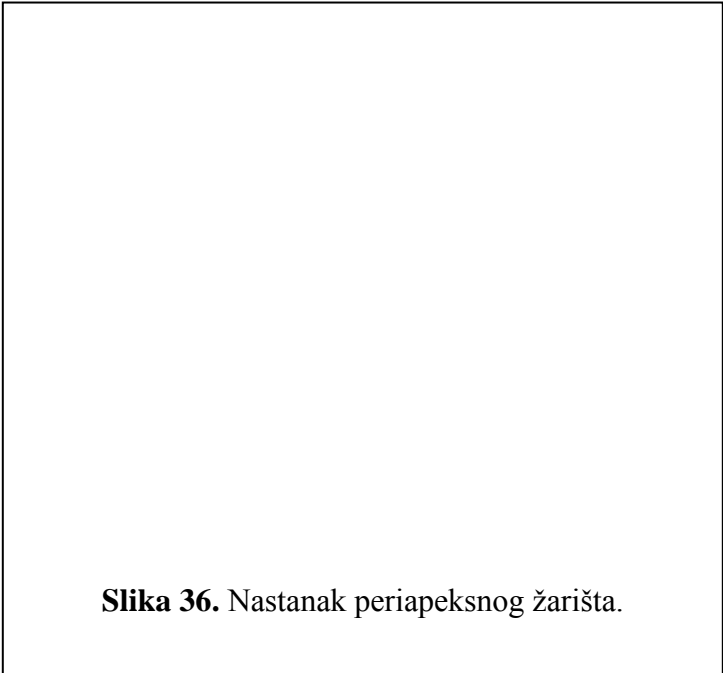
16. IMUNOLOGIJA PULPE I PERIAPEKSNIH TKIVA

Općenito se držalo da u pulpi zdravih zuba nema upalnih stanica. Ipak, imunohistokemijske su analize zdravih zuba (bez karijesa i bolesti parodonta) pokazale prisutnost limfocita CD4+ i CD8+ u omjeru otprilike 1:2, što je obrnuto od omjera u kojem se te dvije subpopulacije limfocita T nalaze u perifernoj krvi (približno 2:1). Prisutnost limfocita B u zdravoj pulpi nije dokazana, pa se čini da pri upalnoj reakciji ove stanice tek moraju migrirati u pulpu. Nađeni su i makrofagi i dendritične stanice s površinskim molekulama MHC-II (valja se podsjetiti predočavanja antigena), a vrijedno je napomenuti da i endotelne stanice krvnih žila pulpe izražavaju membranske molekule HLA-II, što znači da bi također mogle predočavati antigene. Zdrava pulpa, dakle, sadrži imunokompetentne stanice sposobne za preradu i predočavanje antigena limfocitima T i pokretanje imunološkog odgovora na mikroorganizme koji dopijaju u nju.

S pojavom karijesa, bakterije i njihovi topljivi antigeni mogu pokrenuti klasičan imunološki odgovor u pulpi. Neke bakterije i njihovi produkti mogu proći kroz dentin u pulpu i kemotaksijom u nju privući granulocite (sposobnost kemotaksijskog privlačenja granulocita u različitim je bakterija različita; npr. *Actinomyces viscosus* ima veću sposobnost takva privlačenja od *S. mitis*). Nije posve jasno zbiva li se kemotaksija bez posredovanja komponenata komplementa, no ako da, mogla bi biti posredovana izravno razgradnim bakterijskim produktima. Nastupaju vazodilatacija, povećanje kapilarne propusnosti, eksudacija i nakupljanje granulocita. S napredovanjem karijesa prema pulpi, povećava se broj makrofaga, limfocita i plazma-stanica. Od plazma-stanica pretežu one koje sadrže (i proizvode) IgG, no mogu se naći i one što sadrže IgA i IgG, katkada i IgM. Može se dokazati i ekstravaskularna prisutnost imunoglobulina, pretežno IgG.

Budući da je pulpa okružena dentinom, nema prostora za istjecanje upalnog eksudata, već se upala širi u pulpu korijenskog kanala i kroz nju prema periapeksnim tkivima, gdje može nastati akutni periapeksni apsces (Slika 36).

Postavlja se pitanje djelotvornosti imunološke reakcije u pulpi, budući da je čest ishod karijesa odumiranje pulpe i pojava periapeksnog žarišta. Vjerojatno glavni razlog neadekvatnog imunološkog odgovora leži u anatomske odlikama pulpe: okružena je čvrstim dentinskim zidom koji vrlo otežava širenje krvnih žila i eksudaciju, nužnih za djelotvornu obrambenu (protubakterijsku) reakciju. Ipak, imunološki odgovor može sprječiti akutna oštećenja pulpe ako karijes sporo napreduje. Ako odgovor i zakaže u pulpi, može biti djelotvorniji u periapeksnim prostorima, gdje se širenje upalnog procesa može ograničiti, što rezultira



Slika 36. Nastanak periapeksnog žarišta.

stvaranjem kroničnog apscesa, granuloma ili ciste. Stijenka ciste obilno je infiltrirana plazma-stanicama, a koncentracije IgG, IgA i IgM u tekućini ciste mogu biti i dva do tri puta veće od onih u serumu. Nisu još dovoljno poznate imunološke okolnosti u kojima nastaju različite vrste pulpnih i periapeksnih žarišta.

Valja imati na umu da korijenski kanal može poslužiti i kao put za unošenje antigena. U pokusnih se životinja pokazalo da se unošenjem streptokoka u pulpu ili korijenski kanal može izazvati stvaranje serumskih antistreptokoknih antitijela. To znači i da se pri liječenju pulpe i korijenskog kanala, unošenjem lijekova i materijala za ispunu, mogu izazvati i reakcije preosjetljivosti.

17. TRANSPLANTACIJSKA IMUNOLOGIJA

Razumijevanje imunobiologije presađivanja tkiva i organa važno je za razumijevanje imunoloških procesa uopće, ali i zbog sve veće praktične, kliničke primjene. Katkada je presađivanje jedini način kojim se bolesniku može spasiti život ili ispraviti određeni poremećaj ili nedostatak. Primjeri kliničkog presađivanja navedeni su u tablici niže.

TABLICA 10. Najčešće vrste kliničkog presađivanja tkiva i organa i razlozi

| PRESAĐENI ORGAN | BOLEST - UZROK PRESAĐIVANJA |
|----------------------|--|
| Bubreg | Krajnji stadiji zatajenja bubrega |
| Srce | Krajnji stadiji zatajenja srca |
| Pluća ili pluća/srce | Plućna hipertenzija, cistična fibroza |
| Jetra | Ciroza, zloćudni tumor |
| Rožnica | Distrofija, keratitis |
| Gušterača | Dijabetes |
| Koštana srž | Imunodeficijencije, leukemije |
| Kost | Pospješene zarastanje prijeloma, obnova građe skeleta, ispravljanje nedostataka na ekstremitetima itd. |
| Tanko crijevo | Zloćudni tumor |
| Koža | Opekline |

Ako pri presađivanju davatelj i primatelj organa/tkiva nisu posve identični, transplantat se odbacuje. Presađivanje može potaknuti različite mehanizme humoralnog i staničnog imunološkog odgovora, specifične i nespecifične. To se najvećim dijelom zbiva zato što primateljevi limfociti T prepoznaju peptidne antigene u kombinaciji sa stranim molekulama MHC na stanicama davatelja. Riječ je uglavnom o antigenima koji su normalni sastavni dio stanica davatelja, no to mogu biti i virusni i drugi mikrobnog tipa antigeni zaraženih stanica davatelja, koji mogu pokrenuti gotovo sve regulacijske i izvršne imunološke mehanizme. Stoga transplantacijska imunologija obuhvaća zapravo sve aspekte imunosti.

Zapreke presađivanju

Zapreke presađivanju najkraće se mogu opisati kao genske razlike između davatelja i primatelja. U tom smislu presađivanje može biti:

- Autotransplantacija - presađivanje s jednog na drugi dio istoga organizma. Budući da nije riječ o presađivanju stranog tkiva, nema odbacivanja.
- Izotransplantacija - presađivanje s jednog na drugi, genski identičan organizam (npr. jednojajni blizanci), po svojstvima je gotovo jednako autotransplantaciji.
- Alotransplantacija - presađivanje s jednog na drugi organizam, od kojih oba pripadaju istoj vrsti. To je najuobičajeniji način presađivanja u humanoj medicini. Stanice davatelja posjeduju strane antigene (aloantigeni) koji mogu potaknuti reakciju odbacivanja transplantata.
- Ksenotransplantacija - presađivanje s pripadnika jedne na pripadnika druge vrste. Tu su genske razlike najizraženije i izazivaju najžešću reakciju odbacivanja transplantata.

Antigeni tkivne podudarnosti

Antigeni najodgovorniji za odbacivanje genski različitih tkiva nazivaju se antigenima tkivne podudarnosti, a geni koji kodiraju sintezu tih molekula nazivaju se genima tkivne podudarnosti. Poznato je oko 30 genskih lokusa koji kodiraju sintezu antigena tkivne podudarnosti, od kojih se dio svrstava u tzv. glavni sustav tkivne podudarnosti ("major histocompatibility complex", MHC). To su, kao što je već objašnjeno, molekule nužne za predočavanje antigena limfocitima T i one izazivaju posebno snažan imunološki odgovor. Geni sustava MHC nasljeđuju se kodominantno, t.j. u svakom se paru po jedan haplotip nasljeđuje od jednog roditelja i oba su podjednako izražena, tako da svaka stanica potomka ima na svojoj površini podjednako izražene MHC-antigene oba roditelja. Kao što je već ranije izneseno, antigeni MHC nisu podjednako raspoređeni na svim stanicama; antigeni MHC-I prisutni su na gotovo svim tjelesnim stanicama s jezgrom, dok je prisutnost MHC-II antigena ograničena na stanice za predočavanje antigena (dendritične i makrofagi), limfocite B i, u nekih vrsta, aktivirane limfocite T i endotelne stanice krvnih žila. Valja podsjetiti da ekspresiju molekula MHC reguliraju citokini; IFN- γ i TNF snažno potiču ekspresiju MHC u mnogih stanica u kojih je bez toga ekspresija slaba.

Zakovitosti presađivanja

Imunološka reakcija pri presađivanju osebujna je po tome što strane molekule MHC mogu izravno aktivirati limfocite T (prisjetimo se uobičajene prerade i predočavanja antigena inače nužne za aktiviranje limfocita T) i nazivamo je reakcijom odbacivanja transplantata ili transplantacijskom reakcijom ("graft-versus-host reaction", GVHR). Posebna situacija, međutim, postoji pri presađivanju koštane srži gdje, uz opisanu transplantacijsku reakciju, reagiraju i imunociti davatelja protiv organizma primatelja, jer se presađuju imunokompetentne stanice koštane srži; ta se reakcija naziva transplantacijskom bolesti ("graft-versus-host disease", GVHD). GVHD je glavna komplikacija pri presađivanju koštane srži i nastoji se izbjeći pažljivim odabirom (tipiziranjem) davatelja, uklanjanjem zrelih limfocita T iz transplantata i imunosupresijom primatelja.

Uloga limfocita T u odbacivanju transplantata

Limfociti T igraju ključnu ulogu u pokretanju reakcije odbacivanja transplantata. Zbog različitosti u građi MHC-molekula davatelja i njima pridruženih peptida, na stanicama davatelja postoje brojni novi antigeni što ih limfociti T primatelja prepoznaju kao strane i izravno reagiraju protiv njih (citotoksični limfociti T). U reakciju se uključuju i pomagački limfociti T (T_H) koji, aktivirani stanicama APC, mogu vrlo pospješiti reakciju odbacivanja (načini djelovanja stanica T_H također su ranije objašnjeni), prvenstveno lučenjem citokina čijim se djelovanjem u reakciju uključuju gotovo svi celularni i humoralni mehanizmi: (i) IL-2: aktivira limfocite T_C ; (ii) IFN- γ : pojačava ekspresiju MHC, potiče aktivnost APC, aktivira stanice NK, zajedno s TNF β aktivira makrofage; (iii) IL-3, IL-4: aktiviraju limfocite B i time potiču stvaranje antitijela protiv antigena transplantata, a antitijela aktiviraju i u reakciju uključuju i komplemet.

Brzina odbacivanja

Brzina odbacivanja transplantata ovisi o imunološkim mehanizmima uključenim u odbacivanje. Razlikujemo:

- ⇒ hiperakutno odbacivanje - zbiva se nekoliko minuta ili sati nakon operacije zbog već prisutnih antitijela na molekule MHC (npr. antitijela stvorenih transfuzijama MHC-nepodudarne krvi ili prethodnim odbacivanjem transplantata);
- ⇒ akutno odbacivanje - zbiva se tijekom prvih nekoliko dana ili tjedana nakon operacije i uglavnom je posredovano aktiviranim limfocitima T;
- ⇒ kronično odbacivanje - ovisno o stupnju genske podudarnosti/nepodudarnosti između davatelja i primatelja i izazvanoj imunosupresiji primatelja, reakcija odbacivanja može trajati mjesecima ili godinama. Antitijela, t.j. imunokompleksi se talože na stijenkama arteriola i kapilara čime se aktiviraju komplement i ADCC.

Sprječavanje odbacivanja

Dva su glavna načina kojima se nastoji sprječiti odbacivanje transplantata: (i) postizanje što veće tkivne podudarnosti davatelja i primatelja i (ii) imunološka supresija primatelja.

Najpoželjniji način za sprječavanje odbacivanja transplantata je postizanje dovoljne genske/antigenske podudarnosti između davatelja i primatelja, npr. kao u jednojajnih blizanaca. Te su mogućnosti, međutim, vrlo rijetke pa se u praksi nastoji postići što veća podudarnost glavnih antigena tkivne podudarnosti, te se prije presađivanja takva podudarnost provjerava tzv. tipizacijom tkiva, metodom reakcije pomiješanih limfocita ("mixed lymphocyte reaction", MLR) ili, u novije vrijeme, metodom lančane reakcije polimerazom ("polymerase chain reaction", PCR). Provjera svih antigena MHC u praksi nije moguća, no dobro prihvaćanje presađenog tkiva/organa postiže se već ako se davatelj i primatelj podudaraju u antigenima MHC-II (napose u HLA-DR), budući da oni, kao što je već napomenuto, izravno aktiviraju limfocite T_H primatelja.

Pri izazivanju imunosupresije postoje dva osnovna pristupa: nespecifična imunosupresija i imunosupresija specifična za antigen. Nespecifičnom se imunosupresijom slabi opća imunost bolesnika i čini ga se osjetljivijim na infekcije. Stoga danas metode imunosupresije nastoje biti što je moguće selektivnije, nastojeći inaktivirati limfocite specifične za antigene davatelja, a ostale stanice ostaviti nedirnutima. Od nespecifičnih se agensa najčešće rabe:

- steroidi - djeluju protuupalno, t.j. suprimiraju aktivirane makrofage, ometaju funkcije stanica APC, potiskuju ekspresiju antigena MHC,
- ciklosporin - glavno mu je djelovanje kočenje aktivnosti T_H-stanica, t.j. lučenja citokina,
- azatioprin - djeluje antiproliferativno te koči i umnažanje limfocita nužno za djelotvoran imunološki odgovor,
- rabe se i selektivniji nespecifični agensi poput antitijela protiv CD3, CD4, CD8 i protiv receptora za IL-2, kojima se eliminiraju ili inaktiviraju stanice što nose spomenute biljege.

NAJČEŠĆI OBLICI KLINIČKOG PRESAĐIVANJA

Presadivanje bubrega

To je jedna od najčešćih vrsta presađivanja, a prvo je izvedeno 1954. godine. Prakticira se u bolesnika u krajnjim stadijima zatajenja bubrega, pri čemu se presađuje ili bubreg živog davatelja ili kadaverični bubreg. Zahvaljujući unaprijeđenom tipiziranju i odgovarajućoj imunosupresiji primatelja, u više od 90 % slučajeva presađeni se bubreg danas održi duže od jedne godine. Dvije godine nakon presađivanja kadaverični se bubreg održi u oko 85 %

bolesnika, a bubrege presađen od živog davatelja u više od 90 % bolesnika i bitno poboljšava kvalitetu njihova života jer nisu imobilizirani neprekidnim dijalizama.

Presadivanje jetre

Prvo presađivanje jetre izvedeno je 1963. godine, ali nije bilo uspješno. Poboljšanje kirurških tehnika i metoda imunosupresije omogućilo je da se ta vrsta transplantacije također danas izvodi s uspjehom. Indikacija za presađivanje je oštećenje jetre koje bi imalo smrtni ishod u iduće dvije godine (npr. ekstrahepatična atrezija u djece, ciroza), ili tako narušena kvaliteta života koja opravdava rizik presađivanja.

Presadivanje gušterače

Za razliku od presađivanja jetre, koje se poduzima radi spašavanja bolesnikova života, presađivanjem gušterače se samo poboljšava njegova kvaliteta, t.j. sprječavaju sekundarne komplikacije dijabetesa (nefropatija, neuropatija, retinopatija). Poželjno je presađivanje izvesti prije pojave sekundarnih komplikacija, a one se ne razvijaju u svih bolesnika (npr. uremija se pojavljuje u oko 40 % bolesnika s dijabetesom tipa I) pa je teško odmjeriti je li veća opasnost od transplantacije i s njom povezane imunosupresije ili opasnost od pojave uremije. Stoga se danas gušterača presađuje u bolesnika u kojih već postoji uremija i istodobna potreba za presađivanjem bubrega.

Presadivanje srca

Prakticira se u krajnjim stadijima zatajenja srca, koja nije moguće riješiti konvencionalnom kardiokirurgijom. Najčešće indikacije za presađivanje srca u odraslih osoba su bolest koronarnih arterija i idiopatska kardiomiopatija, a u djece kongenitalna bolest srca i kardiomiopatija. Od 1983. otkako postoji registar Međunarodne udruge za presađivanje srca, u svijetu je izvedeno oko 22 000 presađivanja srca, te danas operativna smrtnost bolesnika iznosi manje od 10 %. Presađuje se samo kadaverično srce (osoba bez moždane aktivnosti, ali s očuvanim radom srca i bez znatnijih rizičnih čimbenika za bolesti srca). Zbog nedostatnog izbora davatelja ne zahtijeva se MHC-podudarnost kao u presađivanja bubrega, no nužna je ABO-kompatibilnost. Budući da se provjerava postojanje antitijela na molekule MHC, hiperakutna su odbacivanja rijetka, te glavnu opasnost i glavni uzrok smrtnosti duže vrijeme nakon operacije (> 1 godine) predstavlja kronično odbacivanje. Prema dosadašnjim podacima, godinu dana nakon presađivanja preživi 78 % bolesnika, 5 godina 67 % a 10 godina 35 % bolesnika s presađenim srcem.

Presadivanje koštane srži

Suvremeno kliničko presađivanje koštane srži započelo je 1968. kad je nekolicini bolesnika s teškom, udruženom imunodeficijencijom presađena koštana srž njihovih najbližih srodnika. Pažljivim odabirom davatelja (određivanjem tkivne podudarnosti) mnogi su bolesnici preživjeli i više od dva desetljeća nakon presađivanja obavljenog zbog liječenja različitih zloćudnih i nezloćudnih hematoloških bolesti. Sve do nedavno, većinu davatelja činili su jednojajni blizanci ili najbliži rođaci s velikom genskom podudarnošću (na antigene HLA). Kako se takva podudarnost može očekivati u najviše 30 % bolesnika, čine se veliki naponi da se poželjan uspjeh postigne i sa samo djelomice podudarnim članovima obitelji ili čak osoba koje nisu u srodstvu. Uz alotransplantaciju danas se sve više primjenjuje i autotransplantacija koštane srži

koja u osoba sa zdravom koštanom srži omogućava npr. liječenje velikim dozama kemoterapeutika.

Indikacije za presađivanje koštane srži su: aplastična anemija, akutna mijeloična leukemija, akutna limfoblastna leukemija, kronična mijeloička leukemija, mijelodisplazija, multipli mijelom, non-Hodgkinov limfom, Hodgkinov limfom, teške imunodeficijencije i solidni tumori zbog ublažavanja nepoželjnih učinaka kemoterapije. Za razliku od presađivanja organa, od uzimanja koštane srži davatelj se razmjerno brzo oporavlja (za oko 8 tjedana), a zbog razmjerno male količine uzetih stanica ne ugrožava se njegova imunološka ni hematološka kompetencija. Radi izbjegavanja transplantacijske reakcije i uspostave posve novog hemopoetskog sustava nužno je uništiti imunološki sustav primatelja, što se obično postiže ciklofosamidom ili radioaktivnim zračenjem. Glavna opasnost pri presađivanju koštane srži su moguće infekcije i transplantacijska bolest, t.j. reakcija imunokompetentnih stanica davatelja protiv primatelja.

Presađivanje kosti

To je najčešća vrsta presađivanja tkiva i općenito se poduzima radi pospješivanja zarastanja prijeloma i obnavljanja građe skeleta, npr. povećanja stabilnosti kralješnice, ispravljanja nedostataka na ekstremitetima itd, te su različite vrste auto- i alotransplantacije česte i u oralnoj i maksilofacijalnoj kirurgiji. Osim kad je riječ o autotransplantaciji, većina ostalih presađivanja obavlja se s prethodno zamrznutim tkivom, čime se smanjuje imunogeničnost transplantata. Prema dosadašnjim saznanjima, pri odbacivanju alogenskog koštanog transplantata veću ulogu igra stanična imunost negoli antitijela.

Presađivanje zuba

Presađivanje zuba obavljalo se već u pradavnim vremenima i možda je to baš prvo tkivo koje se počelo presađivati. Razlog tome vjerojatno leži u činjenici da se, za razliku od alogenskog transplantata kože, koji se odbaci za 8-12 dana, alogenski zub odbacuje tek za oko četiri godine. Svojedobno se, stoga, mislilo da zubi ne posjeduju transplantacijske antigene, što, dakako nije točno jer su oni prisutni na površini svih stanica s jezgrom. Tkiva se, međutim, znatno razlikuju po imunogeničnosti svojih transplantacijskih antigena, pa se čini da je imunološka reakcija na alogenski zub znatno slabija negoli, primjerice, na alogensku kožu. Pri autolognoj transplantaciji zuba pulpa i parodontni ligament ubrzo poprime normalnu građu, a zub se parodontnim ligamentom prihvati za kost. Pri alogenskoj transplantaciji zuba, međutim, ni pulpa ni parodontni ligament nikada ne poprime posve normalnu građu ni funkciju. Otprilike tri tjedna nakon alogenske transplantacije pulpa i parodontni ligament infiltriraju se limfatičkim stanicama, te nastupaju nekroza i kronična upala periapeksnih i parodontnih tkiva uokolo zuba. Počinje resorpcija korijena i nema obnove parodontnih pričvrstaka. Nakon otprilike mjesec dana, međutim, zub se može učvrstiti kao i autologni jer zbog resorpcije korijena i okolne kosti i apozicije kosti nastupa ankiloza, t.j. spajanja korijena s okolnom kosti. Proces resorpcije nastavlja se, međutim, do odbacivanja zuba. Odbacivanje se može odgoditi uklanjanjem pulpe i zatvaranjem korijenskog kanala, čime se smanjuju mogućnost pojave upale u periapeksnom području i resorpcija korijena, pa se zub na svome mjestu može održati i dvostruko duže vrijeme.

18. IMUNOLOGIJA ZLOĆUDNH TUMORA

Premda pojavnost raka usne šupljine raste diljem svijeta, najveća je u nekim azijskim zemljama, te u nekim dijelovima Indije, gdje gotovo polovicu solidnih tumora čine tumori usne šupljine. S imunološkog stajališta za oralne tumore vrijede jednaka načela kao i za sve ostale tumore.

Pretpostavlja se da je jedna od potencijalno važnih funkcija imunološkog sustava i zaštita organizma od rasta i bujanja tumorskih stanica. To je iznimno teška zadaća jer tumorske stanice posjeduju brojne sličnosti s normalnima, nasuprot nenormalnom svojstvu umnažanja i širenja organizmom i ometanja različitih njegovih funkcija. Stoga tumorska stanica čini dodatne probleme imunološkom sustavu, veće od onih s kojima se susreće pri interakciji s npr. bakterijama koje je mnogo lakše prepoznati kao strane.

Imunologija tumora obuhvaća poznavanje (1) antigenskih svojstava tumorskih stanica, (2) imunološke reakcije organizma protiv tumorskih stanica, (3) posljedica što ih rast tumora ima na imunološki sustav i (4) načina na koje se može manipulirati imunološkim sustavom da bi prepoznao tumorske stanice i sudjelovao u njihovom uklanjanju (imunoterapija).

Antigeni tumorskih stanica

Tumorska se imunologija u velikoj mjeri temelji na shvaćanju da tumorske stanice posjeduju antigene koji omogućavaju imunološko razlikovanje tumorskih od zdravih stanica. Danas je jasno da tumorske stanice posjeduju antigene na koje se može dokazati i humoralna i celularna reaktivnost. Tumorski se antigeni mogu svrstati u dvije skupine: (1) tumorskospecifične, koji se nađu samo na tumorskim stanicama, te (2) tumoru pridružene, koji se nađu na tumorskim, ali i na nekim zdravim stanicama, no zbog kvantitativnih ali i nekih kvalitativnih razlika, moguće je razlikovati tumorsku od zdrave stanice. Tumorskospecifični antigeni. U tu se skupinu ubrajaju antigeni prisutni doista samo u tumorskim stanicama, a ne i u zdravim. To su (i) neki virusni antigeni, poput HTLV-1 (virus ljudske leukemije T) i EBNA-1 (produkt Epstein-Barrova virusa), (ii) produkti "tihih" staničnih gena, poput MAGE-1 (npr. melanomski antigen), te (iii) produkti mutiranih onkogeni, npr. mutirani p21^{ras}, i supresorskih gena, npr. mutirani p53. Tumoru pridruženi antigeni. To su antigeni pretežno nazočni u tumorskim, no mogu se naći i u nekim zdravim stanicama. Premda im nedostaje tumorska specifičnost, korisni su pri praćenju onkoloških bolesnika jer promjena njihove koncentracije u serumu može uputiti na recidiv i prije pojave kliničkih znakova bolesti. Najbolje su istraženi onkofetalni antigeni poput karcinoembrijskog antigena (CEA), kojeg sadrže stanice fetalnog crijeva ali ne crijeva odrasle osobe. Zahvaljujući suvremenim laboratorijskim tehnikama, danas je poznat velik broj takvih antigena korisnih u praćenju pojedinih vrsta tumora, npr. PSA u karcinoma prostate, CEA u kolorektalnog karcinoma, CA 125 u karcinoma jajnika, CA 15.3 u karcinoma dojke, NSE u karcinoma pluća, S-100 u melanoma itd.

Imunološka reakcija na tumor

Gotovo svi izvršni mehanizmi imunološkog sustava mogu sudjelovati u uništavanju i uklanjanju tumorskih stanica. Vrlo je vjerojatno da svaki od njih igra određenu ulogu u kontroli tumorskog rasta, no neki su vjerojatno više, a drugi manje djelotvorni što, između ostalog, ovisi i o samoj naravi tumora. Najvjerojatnije su protiv imunogeničnih tumora važniji

specifični imunološki mehanizmi (limfociti T_H i T_C), a protiv manje imunogeničnih tumora vjerojatno veću ulogu igraju nespecifični imunološki mehanizmi (stanice NK, makrofagi).

Mogući mehanizmi kojima tumorske stanice izmiču imunološkom nadzoru

Još je u prvoj polovici ovog stoljeća predložen koncept imunološkog nadzora, prema kojem je zloćudna pretvorba u organizmu razmjerno česta, ali zahvaljujući imunološkom nadzoru takve stanice bivaju uglavnom na vrijeme prepoznate i uništene. Unatoč određenim argumentima u prilog takvu shvaćanju, još uvijek nema pouzdanih dokaza o djelotvornom imunološkom protutumorskom nadzoru. Iznimka su tumori virusne etiologije, no i u njih je imunost, čini se, više usmjerena protiv virusa negoli protiv tumora. Ipak, nemogućnost imunološkog sustava da ograniči ili zaustavi rast novih tumorskih stanica ne znači da nema specifičnog protutumorskog djelovanja, no pitanje je zašto je ono nedostatno. Nažalost, brojni su mehanizmi kojima tumor može izmaći imunološkom nadzoru: velika varijabilnost tumorskih stanica, od kojih neke mogu biti antigeničnije od drugih, pa ove potonje nadržastu ostale (imunoselekcija). U tumorskih stanica često izostaje ekspresija molekula MHC-I, čime izvještavaju prepoznavanje i uništavanje posredovano limfocitima T_C . Tumor luči različite inhibicijske čimbenike koji blokiraju imunološke mehanizme, poput npr. prostaglandina E_2 . Dokazano je i postojanje tumorskospesificnih supresijskih limfocita T , koji ometaju specifičnu protutumorsku imunološku reakciju. Dokazano je i njihovo postojanje među limfocitima infiltriranim u tumor.

19. MANIPULIRANJE IMUNOLOŠKIM SUSTAVOM - IMUNOLOŠKA TERAPIJA

Pod imunološkom se terapijom podrazumijevaju svi oblici manipuliranja imunološkim sustavom bilo radi obuzdavanja prekomjerne ili neželjene imunološke reakcije, kad govorimo o imunosupresiji (pri autoimunim bolestima, alergijama i presađivanju tkiva/organa) bilo radi poticanja ili uspostave nedostatne imunološke reaktivnosti, kad govorimo o imunostimulaciji (imunodeficijencije, cijepljenje, imunoterapija zloćudnih tumora). Načelno, imunološka terapija može biti specifična (usmjerena na određeni, poznati antigen) i nespecifična (usmjerena k općem poticanju ili obuzdavanju imunoreaktivnosti), te aktivna (poticanje vlastitih imunoloških mehanizama) i pasivna (davanje gotovih imunoloških pripravaka, npr. antitijela). Valja naglasiti da se u praksi ti mehanizmi najčešće isprepliću, što nije neobično ako se prisjetimo da aktiviranje specifičnog povlači za sobom aktiviranje drugih, nespecifičnih mehanizama itd.

TABLICA 11. Vrste imunološke terapije

| IMUNOTERAPIJA | | | |
|------------------|---------|----------------|---------|
| IMUNOSTIMULACIJA | | IMUNOSUPRESIJA | |
| Specifična | | Nespecifična | |
| Aktivna | Pasivna | Aktivna | Pasivna |

19.1. IMUNOSTIMULACIJA

Specifična imunostimulacija

Aktivna specifična imunostimulacija (cijepljenje)

Zaštita od budućih infekcija aktivnom imunizacijom antigeni aktivnim ubijenim ili promijenjenim (nevirulentnim) mikrobom, nepatogenim živim mikrobom koji izaziva križnu reakciju, ili toksinom koji je antigeničan ali ne i toksičan. Stečena otpornost može biti privremena ili trajna, ovisno o brojnim čimbenicima, uključivši narav cjepiva, put njegova unošenja u organizam i reaktivnost organizma i uključuje izvršne limfocite T, antitijela ili oboje. Radi pojačavanja imunološkog odgovora, cjepivu se može dodati adjuvans (može pospješiti predočavanje antigena ili produžiti njegov dodir s imunološkim sustavom). U tablici 12 navedeno je trajanje zaštite cijepljenjem protiv nekih infekcija.

Pasivna specifična imunostimulacija

Unošenje u organizam gotovih imunoloških pripravaka, npr. antitijela ili izvršnih limfocita T već imunizirane jedinke. Time se organizmu pruža trenutna, ali samo prolazna zaštita (npr. pri infekciji uzročnikom tetanusa, da se preduhitri djelovanje toksina, ili davanjem antitijela bolesnicima s hipogamaglobulinemijom). Transfer imunokompetentnih stanica (presađivanje koštane srži) prakticira se u djece s prirođenim nedostatnostima stanične imunosti (opisano ranije) radi uspostave imunokompetencije.

TABLICA 12. Trajanje zaštite cijepljenjem protiv nekih infekcija

| Bolest | Trajanje zaštite cijepljenjem |
|----------------|--------------------------------------|
| Difterija | 10 god. |
| Hepatitis B | oko 5 god. |
| Gripa | 1 god. |
| Ospice | doživotno |
| Mumps | doživotno |
| Hripavac | do 5 god. |
| Poliomijelitis | doživotno |
| Bjesnoća | 2 godine |
| Vodene kozice | 3 godine |
| Tetanus | 10 godina |
| Rubeola | doživotno |
| Tuberkuloza | doživotno |

Nespecifična imunostimulacija

Taj se oblik imunoterapije naziva i imunoterapijom biološki aktivnim tvarima i obuhvaća širok raspon različitih tvari koje mogu poticati gotovo sve imunološke mehanizme. Citokini - genskim se inženjeringom mogu proizvesti u dovoljnim količinama za kliničku uporabu. U tijeku su brojni klinički pokusi o njihovoj uporabljivosti, između ostaloga i u imunoterapiji tumora. Monoklonska antitijela - zahvaljujući tehnologiji hibridoma mogu se proizvesti u neograničenim količinama i željene specifičnosti, te se nastoje iskoristiti za: (i) vezanje liganda ili njegova receptora radi blokiranja određenog procesa, (ii) vezanje i uklanjanje neke ciljne molekule ili uklanjanje ciljne stanice, i (iii) oponašanje liganda i poticanje odgovarajućeg receptora (npr. vezane na kompleks CD3-TCR, receptore za interleukine itd). Aktiviranje limfocita *in vitro* - može se postići djelovanjem IL-2 te tako aktivirane i umnožene stanice vratiti u krvni optok bolesnika.

19.2. IMUNOSUPRESIJA

Specifična imunosupresija

Aktivna specifična imunosupresija

Indicirana je u alergijskih i autoimunih bolesti, pod uvjetom da je poznat antigen -uzročnik bolesti. Davanjem alergena u nekih je preosjetljivih osoba moguće postići djelomičnu toleranciju (anergiju) na dotični alergen, a najčešće se provodi pri alergijama posredovanim antitijelima IgE. Subkutano se injiciraju rastuće doze alergena jednom ili dva puta na tjedan, do postizanja anergije. U osoba sa sezonskim alergijama time se mogu znatno ublažiti simptomi alergije. Vrlo dobri rezultati postižu se i u desenzibilizaciji na otrove insekata. U bolesnika s autoimunim bolestima taj je pristup često onemogućen nepoznavanjem antigena - uzročnika bolesti. Pokusi na životinjskim modelima pokazuju dobre rezultate uklanjanjem limfocita T sa specifičnim TCR ili limfocita B sa specifičnim površinskim imunoglobulinima.

Pasivna specifična imunosupresija

Plazmaferozom se mogu ukloniti nepoželjna antitijela iz krvnog optoka, npr. IgM ili imunokompleksi, čime se mogu ublažiti, doduše privremeno, simptomi bolesti izazvani npr. patogenim antitijelima IgM ili imunokompleksima.

Nespecifična imunosupresija

U praksi se najčešće provodi citokinima i antitijelima na citokine i njihove receptore te na druge površinske molekule. Na primjer, antitijela na CD4 pokazala su se uspješnima u liječenju nekih autoimunih bolesti. Monoklonska antitijela na limfocite (npr. na receptor za IL-2) rabe se i za postizanje imunosupresije pri presađivanju organa/tkiva. Imunosupresijski djeluju i brojni lijekovi, npr. ciklosporin koji selektivno koči aktivnost pomagačkih limfocita T i rabi se za postizanje imunosupresije pri presađivanju tkiva/organa, te kortikosteroidi, koji se, između ostaloga, rabe i za obuzdavanje prekomjerne imunološke reakcije u autoimunih bolesti i upali.

19.3. IMUNOMODULACIJA U UPALI

Upalna faza imunološkog odgovora jedan je od najdjelotvornijih zaštitnih mehanizama protiv infekcije. S druge strane, ta ista upala posredovana imunološkim mehanizmima može biti vrlo štetna i destruktivna, kao npr. pri alergijskim bolestima, autoimunim bolestima, odbacivanju tkiva i organa, parodontitisu itd. Stoga su lijekovi koji smanjuju ili koče upalni odgovor nužni pri liječenju brojnih imunoloških bolesti. Valja napomenuti da, općenito uzevši, prutuupalno liječenje ne ovisi o uzroku upale, te su takvi lijekovi djelotvorni i pri liječenju upale izazvane npr. fizičkim uzrokom. Ipak, neki protuupalni lijekovi djelomice su i imunosupresivni, poput npr. kortikosteroida. Jedan od najvažnijih učinaka kortikosteroida je utjecaj na broj leukocita u krvnom optoku. Steroidi naglo povećavaju broj neutrofila (mobilizacija zrelih neutrofila iz koštane srži i usporavanje njihova izlaska u tkivne prostore pri upali), a smanjuju broj cirkulirajućih limfocita, napose limfocita T (poticanjem njihove sekvestracije u limfnim tkivima) i monocita (što se drži učinkom najodgovornijim za protuupalno djelovanje steroida).

19.4 IMUNOTERAPIJA TUMORA

Pri imunoterapiji tumora cilj je poticanje protutumorske aktivnosti organizma, bilo stanične bilo humoralne. S prvim pokušajima imunoterapije započelo se razmjerno rano, te su pokušaji imunostimulacije s bakterijskim pripravcima dali obećavajuće početne rezultate 60-ih i 70-ih godina prošloga stoljeća. Kasnija nadzirana klinička istraživanja nisu potvrdila te rezultate, pa, u cjelini gledano, imunoterapija nije ispunila prvobitna očekivanja.

Posljednjih je petnaestak godina obnovljeno zanimanje za taj oblik liječenja, poglavito zahvaljujući multidisciplinarnom pristupu omogućenom novim saznanjima na području tehnologije uzgoja staničnih kultura, genskog inženjeringa, tehnologije određivanja građe proteina i nukleinskih kiselina. Tako je danas moguće dobiti u čistom stanju ili pak sintetizirati različite biološki aktivne molekule poput interferona, interleukina, faktora tumorske nekroze, hemopoetskih faktora itd. Tehnologija proizvodnje monoklonskih antitijela omogućila je proizvodnju praktički neograničenih količina specifičnih i posve čistih antitijela protiv različitih tumorskih antigena. Ovi novi pristupi imunoterapiji često se zajedničkim imenom nazivaju

"modificiranjem biološkog odgovora", a agensi što se rabe u tu svrhu nazivaju se "modifikatorima biološkog odgovora". U pravilu, imunoterapija tumora može biti specifična i nespecifična, te aktivna i pasivna. U praksi se ti pristupi često isprepliću.

Specifična imunoterapija tumora

Aktivna specifična je imunoterapija usmjerena protiv određenog tumorskog antigena i najčešće se provodi cijepljenjem inaktiviranim tumorskim stanicama ili čistim antigenima, ili je usmjerena k povećavanju imunogeničnosti tumorskih stanica, npr. transfekcijom gena za kostimulacijske molekule (npr. B7) nužne za potpuno aktiviranje limfocita T, no ti su postupci još u fazi kliničke provjere učinkovitosti. Pasivna specifična imunoterapija uglavnom se pokušava provoditi monoklonskim antitumorskim antitijelima koja se nastoje iskoristiti izravno ili kao specifični nosači djelotvornih protutumorskih tvari: citokina, toksina, kemoterapeutika i radionuklida. Problemi s kojima se takvi pristupi susreću u praksi su, između ostalog: dostupnost tumora antitijelima, križna reaktivnost antitijela s drugim, netumorskim antigenima, vezanje antitijela na imunokompetentne stanice (putem FcR), imunogeničnost mišjih antitijela itd. Dio tih zapreka nastoji se prevladati radom s fragmentima imunoglobulinske molekule (Fab₂ ili Fab) te radom s humaniziranim, manje imunogeničnim molekulama imunoglobulina. Godine 1997. u SAD je registrirano prvo monoklonsko antitijelo za liječenje ne-Hodgkinova limfoma stanica B. Zasad se na tržištu može naći nekoliko registriranih pripravaka humaniziranih antitumorskih antitijela, između ostaloga i za imunoterapiju metastatskog karcinoma dojke (antitijela na onkogen c-erbB-2).

Nespecifična imunoterapija tumora

U tu skupinu se prije svega svrstavaju pokušaji terapije citokinima i imunokompetentnim stanicama. Klinički su najiscrpnije provjereni interferoni (napose IFN- α) te IL-2 i TNF, za koje je dokazano da mogu pospješiti regresiju tumora i produžiti preživljenje bolesnika. IFN- α je, na primjer, unatrag nekoliko godina u SAD registriran za adjuvantnu imunoterapiju melanoma. Jedan od pristupa je i adoptivna celularna terapija kojom se *in vitro* potiče aktivacija i proliferacija NK stanica, koje djelovanjem IL-2 prelaze u aktivirane stanice LAK ("lymphokine activated killer"), te *in vitro* proliferacija limfocita izdvojenih iz tumorskog tkiva ("tumor infiltrating lymphocytes", TIL).

U zaključku, imunoterapija, ili točnije, liječenje biološki aktivnim tvarima, polako postaje četvrtim modalitetom liječenja zloćudnih tumora (uz kirurški zahvat, radioterapiju i kemoterapiju). Premda imunoterapija tumora nije opravdala prvobitna očekivanja, istraživanja provdena posljednja dva desetljeća upućuju na zaključak da biološki aktivni agensi nalaze svoje mjesto u liječenju zloćudnih tumora, napose u kombinaciji sa spomenutim, konvencionalnim oblicima liječenja.

20. LABORATORIJSKA IMUNOLOGIJA

Primjena temeljnih saznanja s područja imunokemije i imunobiologije u kliničkoj dijagnostici i liječenju jedan je od najvećih izazova suvremene medicine. Rezultati imunološkog testiranja zasnovani na razumijevanju temeljnih načela imunologije često su od velike koristi kliničarima u dijagnostici, liječenju, prognozi i praćenju bolesnika.

20.1. LABORATORIJSKE METODE TESTIRANJA IMUNOKOMPETENCIJE

Većina imunoloških metoda usmjerena je procjeni imunološkoga odgovora i njegovim patološkim aspektima te određivanju antigena i antitijela. U tablici 13 navedene su najčešće metode, njihova načela i primjena.

TABLICA 13. Najčešće imunološke laboratorijske metode, njihovo načelo i primjena

| Metoda | Načelo | Primjena |
|--|--|---|
| Imunodifuzija | Reakcija antigen-antitijelo na osnovi precipitacije | Kvalitativna i kvantitativna analiza serumskih proteina |
| Imunoelektroforeza | Razdvajanje proteina u električnom polju, precipitacija i identifikacija bojenjem | Kvalitativna i kvantitativna analiza proteina iz seruma, urina i ostalih tjelesnih tekućina |
| Radioimunotestovi ("radioimmunoassay", RIA) | Vežanje antitijela obilježenog radionuklidom na ciljnu molekulu i detekcija nastalog radioaktivnog kompleksa | Kvantitativno određivanje topljivih proteina, hormona itd. u serumu i ostalim tjelesnim tekućinama |
| Enzimski imunotestovi ("enzyme-linked immunosorbent assay", ELISA) | Vežanje antitijela obilježenog enzimom na ciljnu molekulu i kolorimetrijska detekcija nastalog obojenog kompleksa | Kvantitativno određivanje topljivih proteina, hormona itd. u serumu i ostalim tjelesnim tekućinama i homogenatima tkiva |
| Imunofluorescentne metode | Vežanje fluorokromom obilježenog antitijela na ciljnu molekulu i detekcija fluorescentnog kompleksa mikroskopom ili protočnim brojačem stanica | Kvalitativno i semikvantitativno određivanje površinskih biljega imunokompetentnih stanica i imunokompleksa u tkivima |
| Aglutinacija | Reakcija antitijelo-antigen vezan uz stanicu (eritrociti, bakterije, gljivice), što za posljedicu ima makroskopski vidljivu aglutinaciju ciljnih stanica | Detekcija autoantitijela, npr. reumatoidnog faktora (Rose-Waalerov test). |

TABLICA 13: nastavak

| Metoda | Načelo | Primjena |
|---|---|---|
| Određivanje komplementa | Liza eritrocita obloženih antitijelima u nazočnosti komplementa | Uočavanje nedostatka pojedinih komponenti komplementa (npr. prirodene i stečene imunodeficijencije) |
| Imunohistokemijske i imunocitokemijske metode | Vežanje fluorokromom ili enzimom obilježenog antitijela na ciljnu molekulu u tkivnom rezu ili citološkom razmazu i detekcija nastalog imunokompleksa fluorescentnim ili svjetlosnim mikroskopom | Kvalitativno i semikvantitativno određivanje membranskih i unutarstaničnih molekula |

Integritet imunološkog sustava ovisi o primjerenom broju i funkcijama imunokompetentnih stanica. Kao što je ranije objašnjeno, te stanice kao i njihovi topljivi proizvodi međusobno surađuju na vrlo složen način štiteći organizam od stranih i nepoželjnih utjecaja, poglavito mikroba. Narušena imunokompetencija ima za posljedicu nekoliko vrlo uočljivih kliničkih manifestacija: (i) povećanu učestalost infekcija, (ii) nemogućnost da se infekcija liječenjem brzo suzbije, (iii) širenje lokalnih infekcija na udaljena mjesta i (iv) pojavu oportunističkih infekcija. Čini se da je i povećana sklonost pojavi nekih vrsta zloćudnih tumora povezana s imunodeficijencijom. Pojava autoimunih bolesti može biti povezana s gubitkom ključnih immunosupresijskih mehanizama. Gubitak kontrolnih mehanizama može dovesti do preosjetljivosti (alergije) ili pak do imunodeficijencije. U tablici 14 navedene su glavne indikacije za laboratorijsko testiranje imunokompetencije u dijagnostičke ili prognostičke svrhe ili pak zbog praćenja ispitanika.

TABLICA 14. Najčešće indikacije za laboratorijsko testiranje imunokompetencije

| Stanje | Svrha određivanja |
|--|---|
| Prirodene i stečene imunodeficijencije | Uočavanje vrste poremećaja radi odabira liječenja |
| Imunosupresija pri presađivanju tkiva i organa | Praćenje oporavka imunokompetencije |
| Imunosupresija izazvana lijekovima, radioterapijom ili bolestima | Uočavanje ispada radi njihova ispravljanja ili izbjegavanja |
| Autoimuni poremećaji | Pomoć pri dijagnozi i praćenje liječenja |
| Cijepljenje | Praćenje uspjeha cijepljenja |

Danas raspoložemo testovima za procjenu gotovo svakog odjeljka imunosti, pri čemu uvijek valja imati na umu da su za praktičnu primjenu laboratorijskog testa osobito važna dva njegova svojstva. (a) osjetljivost i specifičnost, i (b) tehnička pouzdanost njegova izvođenja. Za određivanje tih svojstava testa važno je provjeriti ih u što većeg broja bolesnika i zdravih ispitanika, a takvi su podaci često manjkavi ili ih je teško pribaviti. Često nedostaje i odgovarajuća standardizacija, kontrola kvalitete itd. Ipak, danas svaki laboratorij za kliničku imunologiju može izvesti različite testove na osnovi kojih se može steći vjerodostojna predodžba o imunokompetenciji ispitanika. Oni obuhvaćaju procjenu glavnih elemenata stanične i humoralne imunosti, pri čemu testove dijelimo na morfološke (kojima se određuje broj pojedinih imunokompetentnih stanica) i funkcijske (kojima se određuju jedna ili više funkcija imunokompetentnih stanica) (Tablica 15).

TABLICA 15. Glavni funkcijski i morfološki laboratorijski testovi za procjenu imunokompetencije

| Odjeljak imunosti | Morfološki test | Funkcijski test |
|---|--|--|
| Limfociti T | CD2, CD3 (IF, MoAt) | Proliferacija u prisutnosti mitogena (PHA) ili antigena, kožni testovi odgođene preosjetljivosti |
| Subpopulacija induktorsko/pomagačkih limfocita T | CD4 (IF, MoAt) | Pomagačka aktivnost |
| Subpopulacija supresijsko/citotoksičnih limfocita T | CD8 (IF, MoAt) | Supresijska, citotoksična aktivnost |
| Subpopulacija Th1 | | Lučenje citokina (IL-2, IFN- γ , TNF- β) |
| Subpopulacija Th2 | | Lučenje citokina (IL-4, IL-5, IL-9, IL-10, IL-13) |
| Limfociti B | CD19, CD20 (IF, MoAt) | Serumski imunoglobulini, podrazredi, specifična antitijela, lučenje interleukina (IL-6) |
| Stanice NK | CD16, CD56 (IF, MoAt) | Citotoksičnost prema ciljnim stanicama K562, ADCC |
| Komplement | Određivanje pojedinih komponenata (imunohistokemijski) | Određivanje potrošnje komplementa (CH ₅₀) ili pojedinih komponenata |
| Neutrofili | Iz razmaza periferne krvi ili automatskim brojačem | Ingestija, mikrobicidnost, degranulacija, enzimska aktivnost |
| Monociti / makrofagi | Iz razmaza periferne krvi CD61, CD71 (IF, MoAt) | Ingestija, mikrobicidnost, degranulacija, enzimska aktivnost, lučenje citokina (IL-1, IL-8, IL-12, TNF-a, G-CSF, GM-CSF) |

IF = imunofluorescencija; MoAt = monoklonsko antitijelo; PHA = fitohemaglutinin.

20.2. METODA PROIZVODNJE MONOKLONSKIH ANTITIJELA

Umjesto proizvodnje konvencionalnih antitijela imuniziranjem pokusnih životinja, prije tri desetljeća razvijena je metoda proizvodnje antitijela u laboratorijskim uvjetima, što je unijelo revoluciju u imunologiju i ubrzo našlo primjenu u svim granama biologije i medicine, kako u dijagnostici tako i u liječenju. Metodu su objavili znanstvenici Kohler i Milstein 1975. godine, a temelji se na *in vitro* fuziji stanica koje proizvode antitijela s tumorskim stanicama, čime nastaje tzv. hibridom: stanica sposobna proizvoditi antitijela (zahvaljujući genomu limfocita koji proizvodi antitijela) i neograničeno dugo živjeti u uvjetima *in vitro* (zahvaljujući genomu tumorske stanice koja se može razmnožavati u neograničenom broju generacija). Tom je metodom moguće *in vitro* proizvesti neograničene količine posve čistih antitijela zadane specifičnosti, afiniteta i avidnosti protiv bilo kojeg antigena, koja su našla široku primjenu u laboratorijskoj dijagnostici kao i pri liječenju. Neki oblici primjene navedeni su u tablici 16.

TABLICA 16. Neki oblici primjene monoklonskih antitijela

| | |
|------------------------|--|
| Dijagnostička primjena | Određivanje pojedinih populacija imunocita Određivanje antigena HLA Dokazivanje nametnika Dokazivanje mikroorganizama Određivanje tumorskih biljega i antigena Određivanje hormona Radioimunološka detekcija tumora (imunoscintigrafija) |
| Terapijska primjena | Imunosupresija (presađivanje tkiva i organa) Imunoterapija tumora Ispravljanje intoksikacije lijekovima (npr. digitalisom) |

20.3. MOLEKULSKOGENETSKE METODE U IMUNOLOGIJI

Genske informacije čovjeka pohranjene su u linearnom slijedu četiriju nukleotidnih baza (A, T, G, C) u molekuli DNA. Ljudski se genom sastoji od oko 30 000 gena (manje nego što se donedavno mislilo) od kojih je svaki sastavljen od nekoliko tisuća nukleinskih baza, koje sadrže informaciju za građu određenog proteina ili strukturne RNA. Metode kemije nukleinskih kiselina i rekombinantne DNA u posljednja su dva desetljeća omogućile analizu pojedinih gena te brzo nalaze svoje mjesto i u klinčkoj primjeni. Svaka se molekula DNA sastoji od dva linearna lanca nukleinskih kiselina povezanih u dvostruku zavojnicu u kojoj se međusobno povezuju uvijek određene baze (A-T i G-C) pa kažemo da su lanci komplementarni. Veze među lancima su slabe te se oni razmjerno lako mogu razdvojiti toplinom ili visokim pH, što se naziva denaturacijom. Pri povratku fiziološkim uvjetima, lanci se ponovno povezuju poštujući ranije spomenutu komplementarnost baza. To sparivanje komplementarnih baza osnova je laboratorijskih metoda analize gena. Danas se proizvode brojni kratki dijelovi lanca DNA poznatog slijeda nukleinskih baza nazvani probe, s pomoću kojih se otkrivaju dijelovi DNA u testiranim uzorcima, koji su im komplementarni. Kraće probe (do 100 baza) lako se pripremaju automatskim uređajem za kemijsku sintezu, dok se duži lanci ugrađuju u genom bakterija (kloniranje) i umnožavaju biološki.

Hibridizacija DNA

Stanična se DNA može izdvojiti iz krvnih ili tkivnih stanica, njeni se lanci razdvoje grijanjem ili niskim pH, te se miješaju s poznatim, obilježenim probama, pri čemu će se određena proba vezati na svoj komplementarni dio izdvojene DNA (ako takav dio u testiranom uzorku postoji) i omogućava identifikaciju bilo kojeg slijeda nukleinskih baza čijom probom raspolažemo, a opisana se metoda naziva hibridizacijom (npr. dot blot hibridizacija ili Southern blotting) (Slika 37). Inačica navedene metode je i hibridizacija *in situ*, kojom se obilježena proba veže izravno na rez tkiva ili citološki preparat, čime se dobiva i podatak o histološkoj/citološkoj distribuciji određivanog dijela DNA.

Lančana reakcija polimerazom (“polimerase chain reaction”, PCR)

Glavni nedostatak metoda hibridizacije je razmjerno velika količina uzorka DNA potrebnog za analizu. Taj je nedostatak prevladan uvođenjem nove, vrlo osjetljive enzimske metode kojom se *in vitro* može eksponencijalno umnožiti određeni dio molekule DNA. Tom se metodom mogu analizirati i neizmjereno mali uzorci, a temelji se na mogućnosti enzimske replikacije DNA *in vitro*. Svaki lanac DNA ima 5' (pet crtano) i 3'-kraj, pri čemu je 5'-kraj jednog lanca okrenut 3'-kraju drugog lanca u zavojnici i obrnuto, pa se kaže da su lanci smješteni antiparalelno. DNA se umnaža tako da nakon razdvajanja lanaca stanični enzim polimeraza DNA na svakom od razdvojenih lanaca koji služe kao templati sintetizira novi, antiparalelni lanac, počevši od 3'-kraja poznatog polinukleotidnog lanca koji se naziva početnica (primer) (Slika 37). Tako se iz vrlo male količine DNA izolirane iz testiranog uzorka može sintetizirati mnoštvo kopija određenog gena ili dijelova gena čijim početnicama raspolažemo. Još jedna inačica metode PCR, kojom se dalje povećava osjetljivost određivanja genske ekspresije neke molekule je lančana reakcija polimerazom uz reverznu transkripciju (reverse transcriptase-polymerase chain reaction, RT-PCR). Njome se iz uzorka koji se analizira izdvoji RNA, potom se reverznom transkripcijom uz pomoć enzima reverzne transkriptaze izvede sinteza komplementarne DNA, a potom DNA umnoži na gore opisani način.

Slika 37. Načelo lančane reakcije polimerazom.

Spomenute se metode osim u eksperimentalnoj i kliničkoj imunologiji (npr. tipizacija tkiva pri presađivanju tkiva i organa), danas rabe u gotovo svim segmentima kliničke laboratorijske dijagnostike: bakteriologiji (npr. dokazivanje različitih sojeva bakterija), virusologiji (npr. dokazivanje HIV), onkologiji (određivanje protoonkogena i mutiranih gena povezanih s onkogenezom) itd.

21. LITERATURA

1. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. CELLULAR AND MOLECULAR IMMUNOLOGY. W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1994, 1st ed.
2. Abramson JS, Wheeler JG. THE NEUTROPHIL. IRL Press, Oxford, 1993.
3. Andreis I, Čulo F, Marušić M, Taradi M. IMUNOLOGIJA. Medicinska naklada, Zagreb, 1998.
4. Brostoff J, Male DK. CLINICAL IMMUNOLOGY. AN ILLUSTRATED OUTLINE. Mosby, London, 1994.
5. Cawson RA, Odell EW. ESSENTIALS OF ORAL PATHOLOGY AND ORAL MEDICINE. Churchill Livingstone, Edinburgh, 2000, 6th ed.
6. Elgert KD. IMMUNOLOGY. UNDERSTANDING THE IMMUNE SYSTEM. A John Wiley & Sons, Inc., New York, 1996.
7. Frank MM, Austen KF, Claman HN, Unanue er. SAMTER'S IMMUNOLOGIC DISEASES. Little, Brown and Co., Boston, 1995, 5th ed.
8. Goodman SR. MEDICAL CELL BIOLOGY. J. B. Lippincott Co., Philadelphia, 1994.
9. Ivanyi L. IMMUNOLOGICAL ASPECTS OF ORAL DISEASES. MTP Press Ltd., Lancaster, 1986.
10. Janeway CA, Travers P, Hunt S, Walport M. IMMUNOBIOLOGY. THE IMMUNE SYSTEM IN HEALTH AND DISEASE. Churchill Livingstone, Edinburgh, London and New York, 1997, 3rd ed.
11. Lehner T. IMMUNOLOGY OF ORAL DISEASES. Blackwell Sci. Publ., Oxford, 1993, III ed.
12. Lynch MA, Brightman VJ, Greenberg MS. ORAL MEDICINE. DIAGNOSIS AND TREATMENT. J.B. Lippincott Co., Philadelphia, 1994, 9th ed.
13. Malamud D, Tabak L. SALIVA AS A DIAGNOSTIC FLUID. The New York Academy of Sciences, New York, 1993.
14. Male D. IMMUNOLOGY. AN ILLUSTRATED OUTLINE. Mosby, London, 1991, 2nd ed.
15. Parmiani G, Lotze MT. TUMOR IMMUNOLOGY. MOLECULARLY DEFINED ANTIGENS AND CLINICAL APPLICATIONS. Taylor & Francis, London, New York, 2002.
16. Parslow TG, Stites DP, Terr AI, Imboden JB. MEDICAL IMMUNOLOGY. Lange Medical Book, Norwalk, 2001, 10th ed.
17. Roitt I, Brostoff J, Male D. IMMUNOLOGY. Mosby, London, 2001, VI ed.
18. Sell S, Max EE. IMMUNOLOGY, IMMUNOPATHOLOGY AND IMMUNITY. ASM Press, Washington, D.C., 2001, VIth ed.
19. Zane HD. IMMUNOLOGY. THEORETICAL & PRACTICAL CONCEPTS IN LABORATORY MEDICINE. W. B. Saunders Co., Philadelphia, 2001.

22. DODATNO NASTAVNO ŠTIVO

1. Andreis I, Batinić D, Čulo F, Grčević D, Marušić M, Taradi M, Višnjić D. **IMUNOLOGIJA**. Medicinska naklada, Zagreb, 2004, VI. izdanje.
2. Parslow TG, Stites DP, Terr AI, Imboden JB. **MEDICAL IMMUNOLOGY**. Lange Medical Book, Norwalk, 2001, 10th ed.
3. Roitt I, Brostoff J, Male D. **IMMUNOLOGY**. Mosby, London, 2001, VI ed.
4. Lehner T. **IMMUNOLOGY OF ORAL DISEASES**. Blackwell Sci. Publ., Oxford, 1993, III ed.

23. KAZALO**A**

Actinobacillus actinomycetemcomitans 75
 ADCC 22, 55, 56, 59, 60, 63, 66, 81, 92
 Addisonova bolest **42**, 61
 Adherencija 19, 21, 26, 58, 62, 63, 71
 Adhezijske molekule 12, 13, 16, 23, **24**, 26, 42-45
 Adrenalin 37, 38, 48, 49,
 Afinitet 24, 29, 33, 93
 AIDS 54, 65, **66**, 67-69
 Akantoliza 43, 44
 Akcesorne molekule **32**, 33, 34, 37, 39
 Aktiviranje limfocita T 33
 Alergeni 46-49
 Alergije 15, **46**, 91
 Alergijska astma 48
 Alergijski rinitis 48
 Alotransplantacija 79
 Anafilaksija **46**, 47-49
 Anafilaktični šok 49
 Antigeni, tumorski 84
 Antitijela, monoklonska 10, 73, 87-89, **93**
 APC 14, 15, 32, 33, 37
 Atopijski dermatitis 48
 Autoimuna hemolitička anemija 48
 Autoimune bolesti 41
 Autoimunost **41**, 44
 Autotransplantacija 79
 Avidnost 24, 29, 39
 Azidotimidin 69

B

BCR 11, 12, 28, 32
 Beta-lizin 23
 Bijela pulpa 8
 Bolest uzgajivača golubova 48
 Brutonova hipogamaglobulinemija **51**, 54
 Bulozna dermatitoza s linearnim IgA 45
 Bulozni pemfigoid 44

C

Candida albicans 58

CD16 12, 13, 22, 29, 92
 CD2 10, 32-34, 92
 CD28 32-34
 CD3 10, 11, 13, 29, 31, 43, 81, 87
 CD4 11, 26, 33, 35, 51, 60, 65-68, 70, 73, 81, 88, 92
 CD56 12, 92
 CD8 11, 26, 32-34, 36, 39, 55, 56, 60, 66-68
 CD80/86 32-34
 Chediak-Higashijev sindrom 52
 Cijepljenje 86, 87, 89, 91
 Citokini 7, **16**, 18, 33-36, 44, 47, 50, 52, 56, 57, 59, 60, 72, 75, 80, 92
 Citotoksičnost 11, 17, 18, 22, 26, 27, **36**, 92
 Citotoksičnost posredovana antitijelima 22, 35, 66
 CRP 19
 Crvena pulpa 8

Č

Čimbenici rasta 7, 14, 16, **17**, 18, 53

D

Dendritična stanica 8, 9, **15**, 23, 26, 32, 33, 37, 66, 77, 80
 Dermatitis herpetiformis 45
 Dezmom 43
 Diabetes 42
 DiGeorgeov sindrom 51
 Digestija 21
 Dobročudni pemfigoid 44

E

Enzimski imunotest 90
 Epidermolysis bullosa acquisita 45

F

Fab-fragment antitijela **29**, 89, 16
 Fagocitoza 12-14, 19, 20, **21**, 53, 56, 57, 59, 63, 65, 72, 73, 76
 Farmerska pluća 48
 Fc-fragment antitijela 21, 22
 Fetalna eritroblastoza 48

G

Glavni sustav tkivne podudarnosti 31
 Granulocit, bazofilni 6, **15**, 29, 31, 46, 48
 Granulocit, eozinofilni 6, 9, **13**, 17, 18, 24, 25
 Granulocit, neutrofilni 6, **13**, 43, 44, 46, 47, 56, 59, 60, 63, 64, 72, 76, 88, 92
 Granulociti 6, 8, **12**, 17, 18, 21,
 Gravesova bolest 42
 GVHD 80
 GVHR 80

H

Hashimotova bolest 42
 Hibridizacija DNA 94
 Hipogamaglobulinemija 51
 HIV 66, 67-69, 94
 HLA 22, 26, 42, 45, 66, 77, 81, 82, 93
 HSV 65, 66, 68, 69

I

ICAM-1 32-34
 IgA 28, 29, **31**, 35, 44, 45, 50, 51, 54, 57, 61, 62, 65, 71, 73
 IgA-pemphigus 44
 IgD 7, 11, **31**, 33, 51, 61
 IgE 7, 11, 15, 28, 29, **31**, 35, 46, 48, 50, 52, 53, 59, 61, 87
 IgG 7, 11-13, 16, 21, 28, **29**, 31, 35, 42-46, 50, 51, 59, 61, 65, 71
 IgM 7, 11, 28, 29, **31**, 33, 35, 37, 46, 50, 51, 65, 71, 76-78, 88
 IL-1 14, 17, 18, 26, 57, 72, 92
 IL-2 17, 18, 22, 26, 34, 36, 41, 52, 80, 81, 87-89, 92
 IL-3 17, 18, 60, 80
 IL-4 17, 18, 26, 34, 36, 51, 60, 72, 80, 92
 IL-5 17, 18, 26, 34-36, 44, 92
 IL-8 17, 18, 24
 Imunodeficijencije **50**, 54
 Imunodeficijencije, primarne 50
 Imunodeficijencije, sekundarne 53
 Imunodifuzija 90
 Imunoelektroforeza 90
 Imunofluorescencija 43

Imunoglobulin A 7, **31**
 Imunoglobulin A, sekrecijski 61, **62**, 65
 Imunoglobulin D 7, **31**
 Imunoglobulin E 7, **31**
 Imunoglobulin G 7, **29**
 Imunoglobulin M 7, **31**
 Imunoglobulini 28
 Imunokompetencija, testiranje 90
 Imunološki odgovor, celularni 35
 Imunološki odgovor, humoralni 35
 Imunološki odgovor, primarni 35
 Imunološki odgovor, sekundarni 35
 Imunost, prirođena 4, **20**, 50, 55, 59, 73
 Imunost, protubakterijska 56
 Imunost, protugljivična 58
 Imunost, protuparazitna 58
 Imunost, protuvirusna 55
 Imunost, specifična (stečena) 4, **28**, 35, 57, 60
 Imunostimulacija 86
 Imunosupresija 87
 Imunoterapija 86
 Imunoterapija tumora 88
 Interferon alfa 17
 Interferon beta 17
 Interferon gama 17
 Interferoni 7, **16**, 23
 Interleukini 7, **17**
 Izotransplantacija 79

J

Jetra, fetalna 6, **8**
 Jobov Sindrom 52

K

Kandidijaza 50, 54, 58, **65**, 68
 Kandidijaza, kronična mukokutana 51
 Karijes **73**, 74, 77
 Kemokini 17, **24**, 26, 57
 Kemotaksija 17-19, 21, 77
 Komplement 7, 12, 16, **19**, 22, 24, 25, 28, 35, 44, 47, 50, 53, 56, 57, 60, 63
 Kontaktni dermatitis 47
 Koštana srž 6, **8**, 79, 80, 82, 83, 86, 88
 Kronična granulomatoza 52
 Ksenotransplantacija 79

L

Laktoferin 21
 Lančana reakcija polimerazom 94
 Langerhansova stanica 9, **14**, 23, 33, 45
 LFA-1 13, 32-34
 LFA-3 32-34
 Lichen planus 45
 Limfni čvor 6, **8**, 9, 14, 15, 23, 47, 54, 61, 72
 Limfni organi, primarni 6
 Limfni organi, sekundarni 6
 Limfno tkivo 6, **9**, 61, 62
 Limfocit B 5, 6, **11**, 34
 Limfocit T 6, **10**, 18, 32, 34
 Limfociti 6, **10**, 26
 Lipopolisaharidi 34, 71, 72
 Lizozim 23
 LPS 34, 71, 72
 Lupus 42

M

Makrofag 7-9, **13**, 14, 15, 17, 18, 21, 22-24, 26, 36, 47, 56, 57
 Mastocit 6, **15**, 18, 19, 24, 25, 29, 31, 36, 46, 48, 59,
 MHC 11, 14-18, 26, 28, 31-34, 39, 42, 50, 51
 Mijeloperoksidaza 13, 21, 50, 66
 Mikrobicidnost 21, 52, 92
 Monocit 6, 9, 12, **13**, 17, 18, 21, 23, 29, 35, 57, 63, 72, 88
 Myasthenia gravis 42

N

Nedostatnosti fagocitnog sustava 50, **52**
 Nedostatnosti komplementa 50, **53**
 Nedostatnosti limfocita B 50, **51**
 Nedostatnosti limfocita T i B 50, **52**
 Nedostatnosti limfocita T 50, **51**
 Nezelofljevov sindrom 52

O

Odbacivanje transplantata, akutno 81
 Odbacivanje transplantata, hiperakutno 81

Odbacivanje transplantata, kronično 81

P

Paraneoplastički pemfigus 43
 Parodontitis 63, 69, 72, **75**, 76, 88
 PCR 81, **94**
 Pemphigus herpetiformis 44
 Pemphigus vulgaris 43
 Periapiksna tkiva 77
 Plak, zubni 71
 Plazma-stanica 8, 9, 26, 44, 62, 75, 76-78
 Poliklonska aktivacija limfocita B 72, 76
 Porphyromonas gingivalis 75
 Predočavanje antigena 9, 14, 22, 31, 32-34, 45, 77, 80, 86
 Proteini akutne faze 7, **19**, 23, 25
 Pulpa 77

R

Radioimunotest 90
 Receptor za Fc-fragment antitijela 11-13, 15, 16, 21, 29, 35, 47, 59, 60, 72
 Receptori limfocita B za antigen 28
 Receptori limfocita T za antigen, 31
 Regulacija imunološkog odgovora 37
 Reumatoidni artritis 42

S

Serumska bolest 47, 48
 Sindrom stečene imunodeficijencije 66
 Sjogrenov sindrom 42
 Slezena 6, **8**
 Slina **62**, 63
 Stanica NK 6, 9, 10, **12**, 17, 18, 22, 26, 29, 35
 Stanica za predočavanje antigena 6, **14**
 Stanice, limfatičke 6
 Stanice, mijeloičke 6
 Streptococcus mutans 71, 73
 Streptococcus sanguis 71
 Sulkusna tekućina 63
 Suradnja stanica u imunološkoj reakciji 32

T

TCR 10, 12, 28, **31**

TGF 26, 35
Th1 36, 92
Th2 36
Timus 6, 7
TNF- α 14, 17, 18, 22, 57, 59, 93
TNF- β 17, 18, 26, 80, 92
Tolerancija, stjecanje u timusu 39
Tonzile 61
Transfuzijska reakcija 48
Transplantacija 79
Transplantacijska bolest 80
Transplantacijska reakcija 80
Trombocit 6, 8, 9, **16**, 24, 26, 42, 46

Tumorska imunologija 84

U

Upala 12, 16, 17, 19, 21-23, **24**, 57, 63, 71, 72, 75-77, 81, 84, 88
Upala, akutna 24
Upala, kronična 25
Urtikarija 46,

V

Virus herpes simpleks 66
Virusi 55