

OSNOVE IMUNOSNE REAKCIJE

(INTERNA SKRIPTA IZ IMUNOLOGIJE)

Prof. dr. sc. Nada Oršolić

ZAGREB, 2007

OSNOVE IMUNOSNE REAKCIJE

Imunologija je znanost koja se bavi otpornošću organizma na štetne utjecaje okoliša (*lat. Immunitas* = otpornost). Temeljni predmet istraživanja imunologije, kao biomedicinske znanosti, jest imunost; sposobnost odupiranja organizma djelovanju stranih tvari odnosno antigena. Antigeni su složene molekule što ih imunost sustv prepoznaje kao tuđe.

Svi oblici života na Zemlji nastali su i odvijali se u uvjetima koji im uvijek nisu pogodovali. Životni okoliš vanjski i unutarnji (organi) krcat je patogenim mikroorganizmima: virusi, bakterije, gljivice, protozoa, i mnogostanične paraziti. Patogeni mikrobi mogu prouzročiti bolest, a svojim umnožavanjem i smrt domaćina. Djelovanjem prirodnih zakonitosti životinjske vrste koje se nisu mogle prilagoditi nepovoljnim uvjetima su izumrle za razliku od životinja koje su opstale i dalje se razvijale. U tom se smislu može pokušati objasniti svrhovitost postojanja imunoreaktivnosti u ljudskom i životinjskom organizmu. Evoluciju imunostnog sustava i mogući značaj u filogeniji krvnog i imunostnog sustava pokazuje Tablica 1. Evolucija višestaničnih organizama nametnula je i potrebu razvoja vlastitog obrambenog sustava koji će štititi organizam od različitih stranih tvari, mikroba, toksina i promjenjenih stanica (Male i sur., 2006).

Temeljna zadaća imunostnog sustava je: (a) obrana od infekcije, (b) obrana od tumora i (c) održavanje antigenske i genske homeostaze organizma.

Imunostni sustav ne čini jedinstvenu anatomsku cjelinu; sastoji se od raznovrsnih stanica tkiva i organa. Glavna zadaća mu je sačuvati samosvojnost jedinke, što postiže sposobnošću razlikovanja „vlastitog“ od „tuđeg“. Temeljeći se na sposobnosti razlikovanja „vlastitog“ od „tuđeg“, imunostni sustav omogućuje svakoj jedinki preživljavanje u okolišu krcatom patogenim mikroorganizmima. S biološkog stajališta to je osnovna ali ne i jedina zadaća imunostne reakcije. Vlastito je sve što treba očuvati a tuđe sve ono što treba zatrti i ukloniti, jer ugrožava cjelovitost i samosvojnost organizma. Opasnost za cjelovitost organizma čini i oštećeno i istrošeno vlastito tkivo kao i spontane ili pod uticajem nepoznatog čimbenika izmjenjene vlastite stanice. Sve je više pokazatelja da je otpornost prema rastu tumora tijesno povezana sa sposobnošću imunostnog zatiranja tumorskih stanica. Kako zloćudne stanice mogu iskazivati nove površinske značajke, dovoljno osjetljiv obrambeni sustav sposoban je uočiti fine razlike između zdrave i zloćudne stanice, te sudjelovati i u nadzoru nad zloćudnim promjenama. Svaka jedinka neke životinjske vrste ima i svoju tjelesnu samosvojnost (indentitet) koju nastoji očuvati, što je vidljivo nakon presađivanja tuđeg tkiva i u imunostnoj reakciji odbacivanja presatka. Razvoj imunologije danas teče u nekoliko smjerova:

- Infekcijska imunologija
- Temeljna imunologija
- Klinička imunologija
- Transplantacijska imunologija
- Tumorska imunologija
- Imunokemija
- Imunogenetika
- Imunopatologija
- Imunofarmakologija

Što je neka životinjska vrsta na višem stupnju razvoja, ima razvijeniji imunostni sustav. S porastom veličine i složenosti tjelesne građe, i obrambeni je sustav, da bi odgovorio svojim

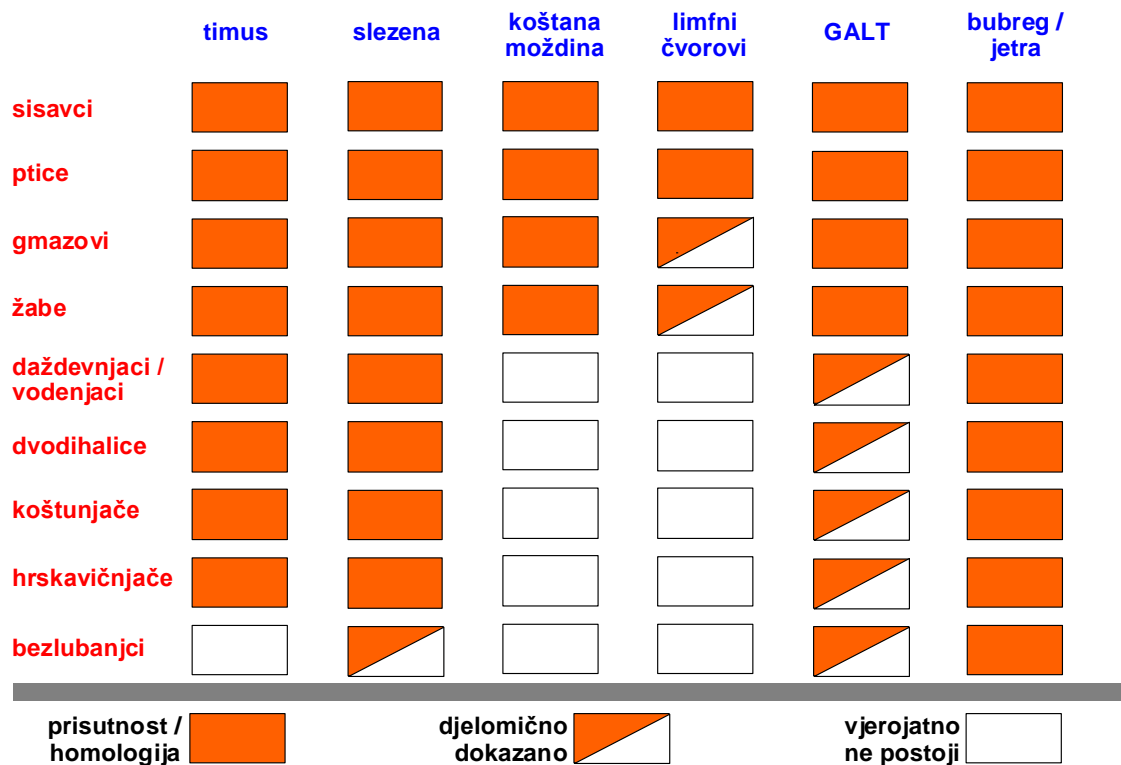
zadacama, postajao sve složenijim, osobito u kralješnjaka, u kojih je obrana od mikroorganizama postala preduvjetom njihova opstanka.

U beskralješnjaka se javljaju začeci razvoja obrambenog sustava, s nespecifičnim reakcijama (fagocitozom) nadzire se sposobnost prepoznavanja stranog od vlastitog, a već najjednostavniji kralješnjaci mogu stvarati specifična protutijela, imaju prepoznatljivu grudnu žlijezdu (timus) i svi su sposobni odbaciti alogenski presadak. Sekundarni podražaj kod većine njih stvara snažniji odgovor. Evoluciju stanica B, imunoglobulina te limfomijeloidnog tkiva prikazuje Slika 1. **Ptice i sisavci nalaze se na vrhu ljestvice razvoja imunskog sustava, s posjedovanjem njegovih glavnih obilježja: (a) prepoznavanje “vlastitog” od “tuđeg”, (b) antigenska specifičnost, (c) imunološko pamćenje, (d) različitost, (e) samokontrola.**

Tablica 1. Evolucija imunskog sustava

• Evolucijski stupanj ili selektivni tlak	• Imunosno uključivanje
1) Jednostanične životinje	1) Prepoznavanje i sposobnost razlikovanja
2) Mnogostanične životinje (uključujući i kolonijalne oblike)	2) Sustav tkivne snošljivosti, alogenično prepoznavanje, i kratkotrajna memorija
3) Razvoj mezoderma i krvožilnog sustava, prehrana i obrana kao zasebne funkcije	3) Različiti tipovi cirkulirajućih stanica, stanična imunost i eritrociti
4) Tumorske i virusne infekcije udružene s složenošću imunskog sustava i dugovječnošću	4) Preživljavanje vlastitih stanica i uklanjanje inficiranih ili promjenjenih (tumorskih) stanica
5) Preci provertebrata	5) Povećanje prepoznavanja i sposobnost snažnog razlikovanja
6) Manji vertebrata: povećanje veličine, duljine života, smanjenje reproduktivnog potencijala u odnosu na avertebrata	6) Pravi limfociti, limfoidno tkivo i proizvodnja protutijela (IgM), dugotrajna memorija
7) Život na tlu, izlaganje zračenju i razvoj visokotlačnog krvožilnog sustava	7) Koštana srž, dodatne klase protutijela, limfociti T i B, limfni organi s većom složenošću, limfatično tkivo pridruženo probavnom sustavu
8) Amniote (gmazovi ptice, sisavci),	8) Uspješno diferenciranje imunokompetentnih stanica dopušta povećanje raznolikosti i učinkovitosti imunskog sustava

9) Homeotermi omogućavaju više odgovarajući okoliš za patogene	9) Povećanje učinkovitosti imunskog sustava, združivanje staničnog i humoralnog odgovora, zametna središta u sekundarnim limfatičkim organima, limfni čvorovi
10) Rađanje živih mladih, majka/ fetus međureakcija	10) Dodatne fine zaštite imunskog sustava za izbjegavanje odbacivanja ploda od strane majke



Slika 1. Evolucija limfomijeloidnog tkiva u kralješnjaka (Vertebrata)

Osnovne komponente nespecifičnog obrambenog sustava beskralješnjaka, stanice i tkiva te njihova uloga prikazani su u Tablici 2 i 3.

Tablica 2. Stanice i tkiva obrambenog sustava beskralješnjaka

Stanice/tkiva	Uloga u obrani/fiziologija
<ul style="list-style-type: none"> Slobodne i vezane, mukoza, kutikula, ljuštura, test i/ili crijevne zapreke 	<ul style="list-style-type: none"> Fizičkokemijska zapreka za prodor mikroba
<ul style="list-style-type: none"> hemocita/celomocita 	<ul style="list-style-type: none"> Posrednici staničnih i humoralnih obrambeni reakcija
1) Progenitorske stanice	1) Mogu djelovati kao matične stanice za druge stanične tipove
2) Fagocitne stanice	2) Fagocitoza, enkapsuliziranje, zgrušavanje, zacjeljivanje rana i ubijanje
3) Hemostatske stanice	3) Plazmatsko zgrušavanje i koagulacija pomoću agregacije stanica, prepoznavanje tuđeg, proizvodnja lizosoma i aglutinina
4) Hranidbene stanice	4) Enkapsuliziranje i zacjeljivanje rana? Hranidbena uloga?
5) 5. Pigmentirane stanice	5) Uloga u obrani nepoznata; respiratorna funkcija
<ul style="list-style-type: none"> Fiksirane stanice (perikardijalne, nefrocite ili pora stanice) 	<ul style="list-style-type: none"> Pinocitoza koloida i malih čestica, sinteza lizosoma i drugih antimikrobni tvari?
<ul style="list-style-type: none"> Hematopoetski organi-dobro organizirani u nekih beskralješnjaka 	<ul style="list-style-type: none"> Hematopoieza i fagocitoza, sinteza antimikrobnih čibenika, sinteza antimikrobnih tvari u nekih životinja
<ul style="list-style-type: none"> Masno tijelo (kukci), srednje crijevo istanice sluznice sinusa (mekušci, rakovi) 	<ul style="list-style-type: none"> Sinteza imunih proteina i aglutinina (masna tijela), fagocitoza (stanice srednjeg crijeva), čišćenje stranih čestica (stanice sluznice sinusa)

Tablica 3. Komponente nespecifičnog obrambenog sustava beskralješnjaka

Obrambena reakcija	Uloga u otpornosti
Fizičko-kemijska zapreka	
<ul style="list-style-type: none"> Ovojnice kukaca, ljuštore školjkaša i dr. 	<ul style="list-style-type: none"> Neprobojne zapreke ponekad udružene s protumikrobnim čimbenicima (kvinoni, toksični za gljivice), proteazni inhibitori i glikoproteinske izlučevine
<ul style="list-style-type: none"> Kutikula 	<ul style="list-style-type: none"> Zapreke više fleksibilne od citoskeleta (proteinske i organske sastavnice koje su želatinozne i vlaknaste)
<ul style="list-style-type: none"> Mukoza 	<ul style="list-style-type: none"> Hvatanje mikroorganizama koji mogu biti odstranjeni pomoću mukozno-cilijarnog mehanizma. Ponekad sadrže lektine, proteazne inhibitore i protumikrobne čimbenike.
Uglavnom stanična zapreka:	
<ul style="list-style-type: none"> zgrušavanje/koagulacija 	<ul style="list-style-type: none"> Srečava gubljenje tekućine na mjestu oštećenja
<ul style="list-style-type: none"> Zacjeljivanje rana 	<ul style="list-style-type: none"> Zatvaranje rane i spečavanje gubljenja tekućine i infekcije. Citokini mogu biti uključeni
<ul style="list-style-type: none"> Fagocitoza 	<ul style="list-style-type: none"> Proždiranje mikroorganizama. Kemotaksija i čimbenici prepoznavanja (lektini, aktivacija profenoloksidaznog sustava) uključeni.
<ul style="list-style-type: none"> Formiranje čvorića 	<ul style="list-style-type: none"> Povećava fagocitozu u nazočnosti velikog broja mikroorganizama
<ul style="list-style-type: none"> Enkapsuliziranje 	<ul style="list-style-type: none"> Ograđivanje velikih parazita zbog nemogućnosti fagocitoze. U nekih kukaca "humoralno enkapsuliziranje", bez sudjelovanja krvnih stanica.
<ul style="list-style-type: none"> Citotoksična reakcija 	<ul style="list-style-type: none"> Oštećenje enkapsuliziranih parazita
<ul style="list-style-type: none"> Odbacivanje presatka 	<ul style="list-style-type: none"> Sprečavanje spajanja nesrodnih kolonijalnih životinja
Uglavnom humoralna zapreka:	
<ul style="list-style-type: none"> Lizini 	<ul style="list-style-type: none"> Urođeni protumikrobni čimbenici u serumu brojnih beskralješnjaka. Primjerice, lizozim.
<ul style="list-style-type: none"> Agglutinin (lektini) 	<ul style="list-style-type: none"> Prepoznavanje vlastitog/tuđeg, ubijanje

	prijenosnika parazita, proteazna inhibicija, potpomaganje lize tuđih stanica, aktivacija koagulacije hemocita kukaca i profenoloksidaza.
<ul style="list-style-type: none"> • Protumikrobni čimbenici 	<ul style="list-style-type: none"> • Ubijanje ili neutralizacija mikroorganizama. Urođena ili izazvana nakon dodira s napadačima.
<ul style="list-style-type: none"> • Drugi izazvani čimbenici 	<ul style="list-style-type: none"> • Protutijelima slične molekule u kukaca, gujavica zvjezdača i ježinaca. Funkcije nejasne.
<ul style="list-style-type: none"> • Komplementu slični čimbenici 	<ul style="list-style-type: none"> • U kolutićavaca, rakova, mekušaca, kukaca, zvjezdača i ježinaca. Oponizacija i protumikrobni učinak ?
<ul style="list-style-type: none"> • Profenoloksidazni sustav 	<ul style="list-style-type: none"> • Oponizacija, ubijanje, stanično kretanje, i degranulacija stanica

IMUNOSNI SUSTAV

Sve životinjske vrste, bez obzira na građu organizma i na filogenezu, sposobne su zaštititi se od štetnih tvari svojim **nespecifičnim** ili **specifičnim mehanizmima obrane** (Slika 2).

Nespecifični (urođeni, prirodni) mehanizmi obrane predstavljaju prvu liniju obrane organizma od stranoga i nazočni su u organizmu od samog rođenja bez obzira da li je organizam bio u doticaju s antigenom. Dakle, urođena otpornost je neovisna o antigenu, ali njime potaknuta reagira brzo. Posrednici nespecifične otpornosti nisu specifično usmjereni na antigen koji se nalazi u organizmu, već djeluje protiv većeg broja različitih antigena. Urođena otpornost organizam štiti temeljem stvaranja zapreka za antigen: **anatomske zapreke** (koža, mukozne membrane i njihove i zlučevine, primjerice, sustav komplementa, interferon α , β , lizozim, C-reaktivni proteini, β -lizin i dr.), **fiziološke zapreke** (u vanstaničnoj tekućini mnogo je mikrobicidnih tvari), **stanične zapreke** (makrofagi i urođenoubilačke NK stanice) te **upalne zapreke** (Slika 3, Tablice 4-8). Fizičke kemijske i mikrobiološke zapreke tjelesnih površina koje priječe ulazak uzročnika dublje u organizam su važan dio neimunskih mehanizama otpornosti na bolest. U zapreke je uključen epitel, baktericidne masne kiseline, fiziološka flora, niski pH, žuč, te brojni enzimi. Antibakterijski peptidi, relativno su novo opisana skupina molekula koja pripomaže stvaranju kemijske zapreke infekcijama na epitelnim površinama. Urođena otpornost od iznimne je važnosti u kontroli infekcije tijekom prvih nekoliko dana od njenog nastanka, tj. dok se ne razvije specifična imunost (Tizard, 2000, Kuby, 2007).

OBLICI IMUNOSTI:

UROĐENA (ili Ag - nespecifična) IMUNOST

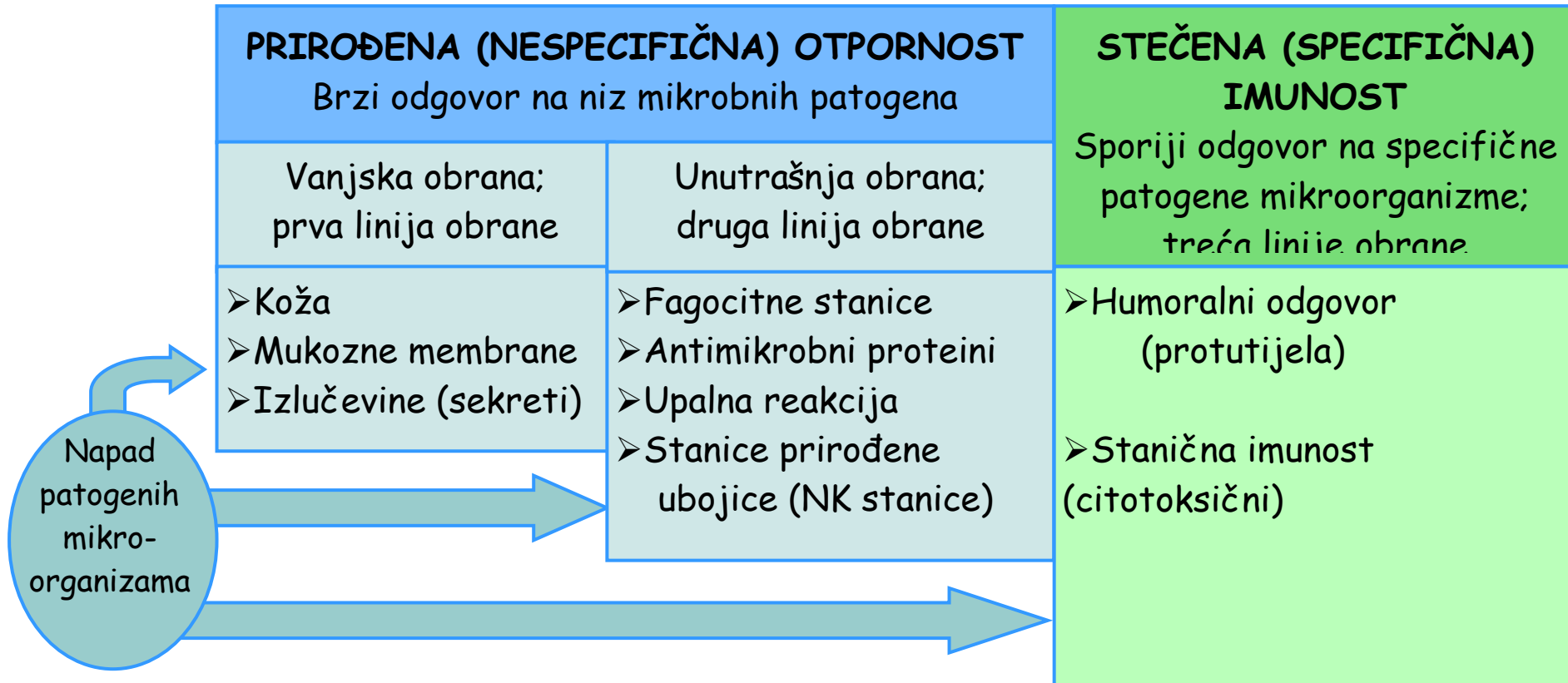
STEČENA (ili Ag - specifična) IMUNOST

Humoralna imunost (protutijela)

Stanična imunost (limfociti T)

Tablica 4. Oblici urođene otpornosti i stečene imunosti

	Otpornost	
	Urođena	Stečena
Fizičkokemijske zapreke	Koža, mukozne membrane	Kožni i mukozni imuni sustav; protutijela u mukoznim sekretima
Cirkulirajuće molekule	Sustav komplementa, lizozim, laktoferin, betalizin, bjelančevine akutne faze upale, prirodna protutijela, C-reaktivni proteini itd.	Protutijela (imunoglobulini)
Stanice	Fagociti (makrofagi, neutrofili, eozinofili), mastociti, stanice NK	Limfociti T (pomoćnički citolitički, supresijski), limfociti B, plazma stanice, antigen predočne stanice (makrofagi, dendritičke stanice)
Topljivi medijatori koji aktiviraju druge stanice	Citokini makrofaga (α i β interferoni, čimbenik nekroze tumora)	Citokini limfocita (γ interferon, interleukini i dr.)



Slika 2. Glavne komponente obrambenog odgovora kralješnjaka

Tablica 5. Nespecifična (urođena) otpornost

- **Anatomske zapreke**
 - koža,
 - sluznica
- **Fiziološke zapreke**
 - temperatura,
 - sadržaj kisika,
 - pH tkiva,
 - kemijske tvari
- **Stanične zapreke**
 - makrofagi (fagocitoza, pinocitoza)
 - granulirani leukociti
 - stanice NK
- **Upalne zapreke**

Tablica 6. Temeljni mehanizmi nespecifične otpornosti

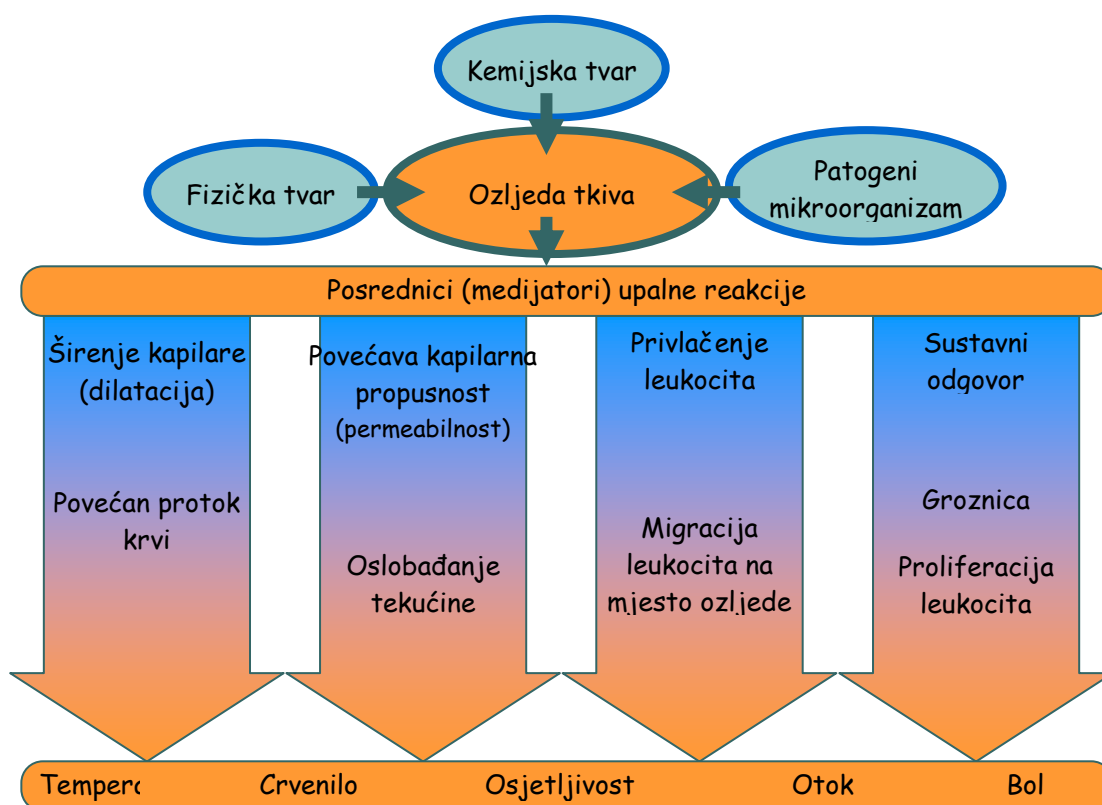
- **Lokalna obrana**
 - Anatomске zapreke (koža i sluznice)
 - Mehanička neprobojnost,
 - fizičko odstranjivanje
 - Lokalne kemijske antimikrobne tvari
 - Sukobljavanje normalne i patogenične flore
- **Sustavna obrana**
 - Stanična obrana
 - Fagociti (monociti polimorfonuklearni leukociti)
 - Stanice NK
 - Stanice K
 - Humoralna obrana
 - Sustav komplementa
 - β -lizin
 - Interferon
 - C-reaktivni proteini
 - Bjelančevine akutne faze upale
 - Prirodna (normalna) protutijela

Strukturu i obrambene mehanizme nespecifične otpornosti prikazuje Tablica 7.

Tablica 7. Struktura i obrambeni mehanizmi nespecifične otpornosti

Strukture	Mehanizmi
• <u>Vanjska</u>	
- Koža	- Fizička zapreka za patogene; lučenje sadržaja lizosoma, lojnice i znojnice svojim izlučevinama modificiraju pH i slanost kože
- Probavni sustav	- Visoka kiselost želuca; želučana kiselina – niski pH ubija mikroorganizme - zaštita pomoću normalne bakterijske flore kolona
- Dišni sustav	- Sekreti mukoze; sluz (mukus) lijepi, a treptaljike odstranjuju čestice; kretanje mukoze pomoću cilija; - alveolarni makrofagi
- Urinarni sustav	- Kiselost urina
- ♀reproduktivni sustav	- Vaginalna mliječna kiselina
• <u>Unutarnja</u>	
- Fagocitne stanice	- Proždiranje i razgradnja bakterija, ostataka stanica, denaturiranih proteina i toksina
- Interferoni	- Inhibiraju replikaciju virusa
- Proteini komplementa	- Pospješuju oštećenje bakterija i druge učinke upale
- Endogeni pirogeni	- Luče ih leukociti i druge stanice; uzrokuju povećane tjelesne temperature
- Antimikrobni proteini	- defensini i katelicidini - liziraju staničnu stijenku mikroorganizama - prirodna obrana pluća

	<ul style="list-style-type: none"> - nalaze se u tekućini koja oblaže prostore kojima struji zrak - luče ih nekoliko vrsta stanica (neke epitelne stanice, makrofagi i neutrofilii)
- Upalni proces	<ul style="list-style-type: none"> - ozljeda uzrokuje oslobađanje signala (primjerice, histamina) koji pojačava protok krvi do mjesta ozljede - uzrokuje vrućinu i pojačano znojenje



Slika 3. Nespecifična otpornost – upalna reakcija

Specifična imunost, za razliku od nespecifične otpornosti, nije nazočna u organizmu od rođenja, već se stječe u izravnom doticaju s antigenom. Njeni posrednici djeluju usmjereno i specifično protiv antigena koji je narušio cjelovitost organizma. Glavni posrednici specifične ili stečene imunosti su limfociti T, B, O, potom posredničke stanice koje predočuju antigen

(engl. Antigen presenting cells, APC) te brojni citokini. **Temeljni princip mehanizma imunosne reakcije čine sposobnost prepoznavanja, specifičnost i pamćenje, što je pod kontrolom gena glavnog sustava tkivne snošljivosti (engl. Major histocompatibility complex, MHC).**

Prilikom ulaska stranih tvari u organizam, imunosni sustav na raspolaganju ima dva oblika izvršnih mehanizama: **humoralnu obranu** posredovanu topljivim tvarima u tjelesnim tekućinama tj. protutijelima (antitijelima) i **staničnu (celularnu) obranu** posredovanu stanicama.

Tablica 8. Osobitosti urođene otpornosti i stečene imunosti

Pokazatelj	Urođena otpornost	Stečena imunost	
		Imunost posredovana protutijelima-humoralna imunost	Imunost posredovana stanicama-stanična imunost
Osnovne stanice	monociti/makrofagi, neutrofil, eozinofili, bazofili mastociti	stanice B	stanice T
Podrijetlo stanica	koštana srž	koštana srž	koštana srž
Mjesto sazrijevanja	koštana srž (monociti, neutrofil, eozinofili, bazofili) i tkiva (mastociti i makrofagi)	koštana srž	Timus
Mjesto zrelih stanica	krv, vezivno tkivo i limfatičko tkivo	krv i limfatičko tkivo	krv i limfatičko tkivo
Funkcijska zrelost	odmah po rođenju	nakon dodira s Ag specifičnim limfoidnim stanicama	nakon dodira s Ag specifičnim limfoidnim stanicama
Primarni sekretorni proizvodi	histamini, komplement, prostaglandini, leukotrijeni, interferoni	protutijela	citokini
Faza latencije u primarnoj reakciji	nema	ovisno o antigenu, vrsti, i načinu imunizacije oko 3 do 30 dana	ovisno o antigenu, vrsti, i načinu imunizacije oko 3 do 30 dana
Faza latencije u sekundarnoj reakciji	nema	2 do 3 dana	2 do 3 dana
Jačina sekundarnog obrambenog odgovora	ista	veća	veća
Pamćenje	ne	da	da
Specifičnost	prepoznavanje i odgovor na veliki broj antigena	prepoznavanje i reakcija na pojedinačni antigen	prepoznavanje i reakcija na pojedinačni antigen
Primarno djelovanje	upalni odgovor i	zaštita protiv	zaštita protiv

	fagocitoza	vanstaničnih antigena (bakterija, toksina, virusa izvan stanice)	unutarstaničnih antigena (virusi, unutarstanične bakterije), tumora i odbacivanje stranog presatka
Alergijske reakcije	ne	rana preosjetljivost	kasna preosjetljivost

Oblici imunskog odgovora

Nepobitno su dokazana dva specifična načina imunskog odgovora (Tablica 9) na antigen: tvorba protutijela i nastanak populacije senzibiliziranih limfocita T. Protutijela su nositelji humoralne, a limfociti T stanične imunosti. Humoralna imunost je važna u obrani od infekcija vanstaničnim parazitskim mikroorganizmima, a stanična za otpornost prema infekcijama unutarstaničnim parazitima i otpornosti prema tumorima (Naglić i Hajsig, 1993; Kuby, 2007).

Imunosna reakcija započinje proždiranjem antigena makrofagima (ili antigen predočnim stanicama) te zatim njihovim predočavanjem prerađenog antigena pomagačkim limfocitima T. Pomagački limfociti T specifični za dotični antigen prepoznaju na membrani makrofaga tuđi antigen i MHC-antigene skupine II makrofaga. Nakon prepoznavanja limfociti T izlučuju niz limfokina, posebice čimbenik stimulacije makrofaga (MAF, engl. macrophage activating factor) te čimbenik inhibicije kretanja makrofaga (MIF, engl. migration inhibition factor). Makrofagi podraženi dodiranjem s limfocitima T izlučuju interleukin 1 (IL-1), tvar koja stimulira pomagačke limfocite T.

Humoralni tip reakcije uključuje B stanice koje se diferenciraju u plazma stanice; plazma stanice sintetiziraju različite imunoglobuline (protutijela) uključene u različite putove imunosne reakcije.

Stanični tip imunosti

Pomagački limfociti T stimulirani prepoznatim antigenom, predočenim na makrofagima u sklopu MHC razreda II te potaknuti interleukinom 1, otpuštaju u svoj okoliš interleukin 2, limfokin koji podražuje citotoksične limfocite T. Stimulirani citotoksični limfociti T ubijaju promjenjene stanice vlastitog organizma, nositelje stranog antigena (primjerice stanice zaražene virusom), prepoznavanjem stranog antigena i odgovarajućeg MHC-antigena razreda I (Andreis i sur., 2004).

Humoralni tip imunosti

Imunosna reakcija odvija se na djelovanju slobodnih ili humoralnih protutijela (*lat. humor*, tjelesni sok, tekućina) koja se nalazi u krvi ili drugim tjelesnim tekućinama i izlučevinama. Protutijela stvaraju plazma stanice koje nastaju od limfocita B, ali se za razliku od njih više se ne mogu dijeliti. Svaki limfocit B specifičan je za samo određeni antigen (antigensku determinantu) a prepoznaje ih preko površinskih imunoglobulina koji služe kao receptori antigena. Nakon prepoznavanja antigena limfociti B se počinju dijeliti i pretvarati u plazma stanice koje tvore protutijela. Drugo, veći dio novonastalih stanica B preostaje u organizmu nakon prestanka podražaja antigenom kao „prisjetne“ ili „memorijske stanice“ koje pamte dodir s antigenom. Za podraživanje limfocita B su potrebna dva signala. Prvi signal je vezivanje limfocita B za haptenski dio molekule antigena, te limfocita T na nosač.

Antigen tako “premošćuje” prostor između receptora limfocita T, odnosno limfocita B. Drugi signal limfocita B dolazi od pomoćnih limfocita T prepoznavanjem antigena MHC skupine II na limfocitima B. Podražaj prenose i topljivi čimbenici za proliferaciju i diferencijaciju stanica B koje izlučuju pomoćni limfociti T (Andreis i sur, 2004, Male i sur., 2006).

Reagirajući na različite nosače (istog haptena) različiti klonovi limfocita T određuju razred protutijela, idiotip i afinitet za antigen (Andreis i sur, 2004).

Neki antigeni podražuju limfocite B bez pomoći limfocita T (antigeni neovisni o timusu). Njihova osobitost je postojanje ponavljajuće strukture određenih kemijskih jedinica (epitopa), sporo se odstranjuju iz organizma te ne stvaraju imunosno pamćenje.

Tablica 9. Osnovni oblici specifične imunosti

- **Prema izvršnim (efektornim) mehanizmima djelovanja**
 - *Humoralna imunost* (posredovana protutijelima)
 - *Stanična imunost* (posredovana stanicama)

- **Prema načinu stjecanja**
 - *Aktivna imunost* (stečena djelovanjem organizma)
 - Stečena prirodnim načinom (preboljenje bolesti, izloženost infekciji)
 - Stečena umjetnim načinom (cijepljenje)
 - *Pasivna imunost* (stečena prijenosom seruma)
 - Stečena prirodnim načinom (putem posteljice, kolostrum)
 - Stečena umjetnim načinom (imunosni serumi)
 - *Adoptivna imunost* (stečena prijenosom limfocita)

Oblici imunosne aktivnosti

Ulazak bilo kojeg antigena potiče stvaranje obaju oblika imunosti, ali često izrazito prevladava jedan oblik, ovisno o antigenu i načinu imunizacije. Nakon pojave antigena u organizmu može doći do **imunoreakcije** ili do **imunosne nereaktivnosti** (Tablica 10). Imunoreakcija može biti temelj imunosti, ali i imunološke preosjetljivosti i autoimunosti (Slika 4). Imunoreakcija je niz složenih djelovanja unutar stanica imunosnog sustava te između imunosnih i ciljnih stanica organizma. U osnovi svrha imunoreakcije jest održanje tjelesne homeostaze očuvanjem antigenskog identiteta organizma. Glavna značajka imunoreakcije u užem smislu je njezina specifičnost; **imunosno prepoznavanje jest temelj imunosne reakcije** (Tablica 11).

A. Imunosna reakcija

1. **Imunost** u užem smislu riječi obično je poželjna otpornost, koja se stekne nakon dodira s antigenom. Ta se imunost sastoji od neutralizacije, razgradnje, ubijanja i odstranjenja antigena. Posebice je djelotvorna kao sekundarna reakcija koja se razbukta prilikom ponovljenog ulaska istog antigena. Imunosna reakcija se može i namjerno pojačati primjenom specifične (primjerice, cijepljenje) ili nespecifične (primjerice, adjuvansi) imunostimulacije.

2. Imunološka preosjetljivost (alergija) označava vrlo burnu reakciju protiv tuđih antigena (alergena) koja nesvršishodno oštećuje i vlastita tkiva. Reakcija se može pojaviti već za deset minuta do nekoliko sati nakon ponovljenog unosa alergena kada je posredovana protutijelima (tzv. rana preosjetljivost) ili tek nakon nekoliko dana kada je posredovana stanicama (tzv. kasna ili odgođena preosjetljivost). U rane preosjetljivosti ubrajamo anafilaktičnu preosjetljivost (I. oblik), citotoksičnu (II. oblik) i preosjetljivost uzrokovanu kompleksima (III. oblik), dok se kasna preosjetljivost naziva staničnom kao i IV. oblikom preosjetljivosti.

3. Autoimunost (autoalergija, autoagresija) je zajednički naziv za niz bolesti što ih uzrokuje imunosna reakcija protiv vlastitih tkiva i organa. Izvršitelji imunosti mogu biti usmjereni samo protiv stanica određenog organa (organspecifična autoimunost), ali i difuzno protiv određene vrste tkiva ili nekog tjelesnog sastojka (organnespecifična autoimunost). Te pogreške u prepoznavanju vlastitog su posljedica promjena u ciljnom tkivu i/ili limfocitima.

B. Imunosna areaktivnost

Izostanak ili slaba izraženost imunosne reakcije nakon dodira s antigenom može imati više uzroka, pa razlikujemo tri stanja areaktivnosti: specifična imunosna tolerancija, imunosupresija i imunodeficijencija.

1. Specifična imunosna tolerancija je stanje specifične areaktivnosti prema određenom antigenu, dok je reaktivnost prema svim ostalim antigenima sačuvana. U organizmu se uspostavlja tolerancija prema vlastitim antigenima, tako da se ona "uči" u kritičnoj fazi ontogenije imunološkog sustava. Tolerancija se može umjetno izazvati primjenom antigena koji dugo ostaje u tijelu u neonatalnoj dobi (neonatalna tolerancija), ili davanjem u odrasloj dobi malih (malodozna tolerancija) ili vrlo velikih (velikodozna tolerancija ili imunološka paraliza) doza antigena ili davanjem već gotovih protutijela (specifična imunosupresija). Mehanizam tolerancije može biti selektivna delecija ili inaktivacija specifičnog klona limfocita, zatim djelovanje supresijskih limfocita T ("zarazna" tolerancija) ili proizvodnja blokadnih čimbenika.

2. Imunosupresija je zajednički naziv za postupke i stanja potiskivanja, suzbijanja imunosne reakcije. Razlikujemo specifičnu i nespecifičnu imunosupresiju. Specifična imunosupresija je namjerno izazvana tolerancija antigenom ili protutijelima. Nespecifična imunosupresija je potiskivanja imunološke reakcije praktično protiv svih antigena: može se postići primjenom fizičkih sredstava (primjerice, ionizirajuće zračenje), kemijskih tvari (citostatici), bioloških sredstava (antilimfocitni serum), kirurških postupaka (splenektomija) ili blokade retikuloendotelnog sustava.

3. Imunodeficijencije su zajednički naziv za bolesti koje oštećuju imunosni sustav i koje su praćene slabijom imunosnom reakcijom ili njezinim potpunim izostankom nakon antigenske stimulacije. Razlikujemo primarne imunodeficijencije koje su pretežno genetski uzrokovane ili prirođene bolesti pri kojima je nedostatan razvoj loze limfocita T (DiGeorgeov sindrom), limfocita B (Brutonova agamaglobulinemija), obiju loza (švicarski tip agamaglobulinemije), sustava fagocita (kronična granulomatozna bolest) ili proizvodnje pojedinih komponenta komplementa (primjerice, C1q). Sekundarne imunodeficijencije se stječu tijekom života i predstavljaju nedostatnosti imunosnog sustava koje su popratne pojave nekih stanja, bolesti (AIDS) ili načina liječenja.

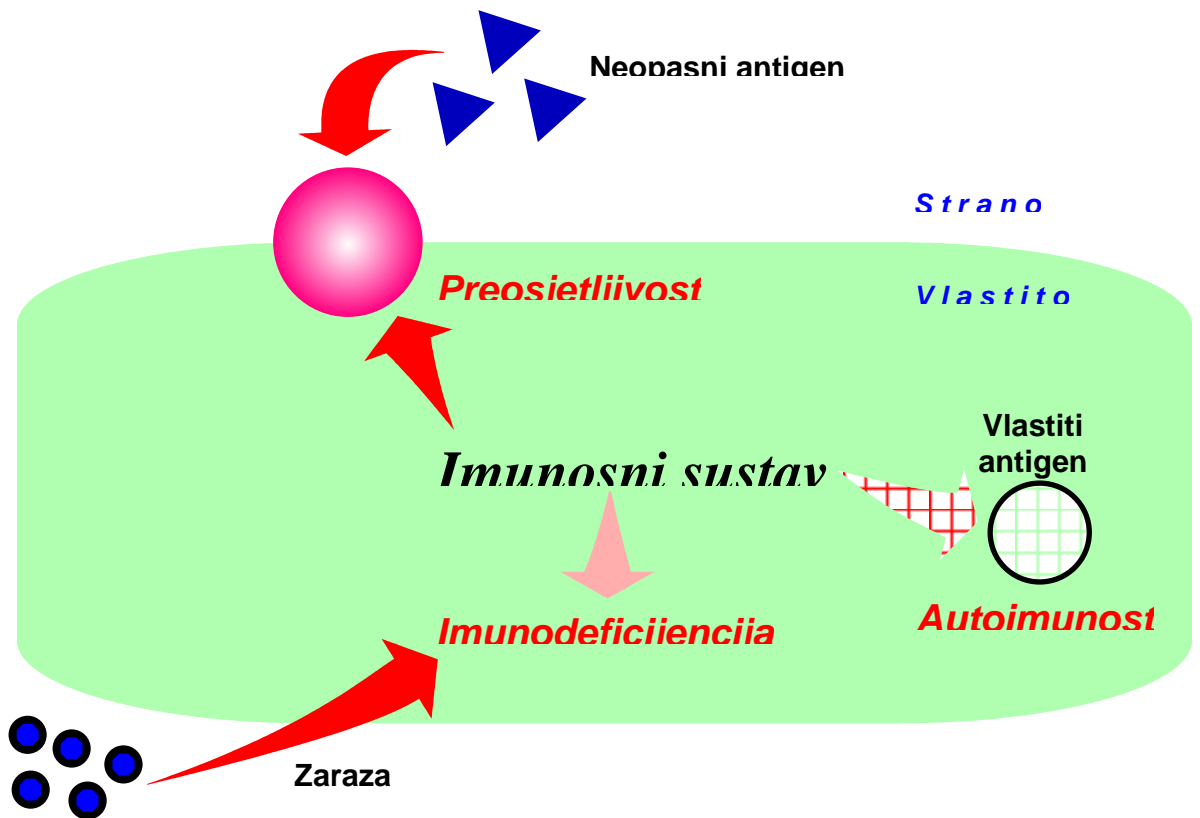
Tablica 10. Oblici imunosne aktivnosti

Imunosna reakcija

1. imunost
 2. imunosna preosjetljivost
 - rana preosjetljivost posredovana protutijelima
 - anafilaktična preosjetljivost (I. oblik)
 - citotoksična preosjetljivost (II. oblik)
 - preosjetljivost uzrokovana kompleksima (III. oblik)
 - kasna (stanična) preosjetljivost (IV. oblik)
 3. autoimunost
 - organspecifična
 - organespecifična
-

Imunološka areaktivnost

1. specifična imunološka tolerancija
 - neonatalna tolerancija
 - malodozna tolerancija
 - velikodozna tolerancija
2. imunosupresija
 - specifična
 - izazvana antigenom
 - izazvana protutijelima
 - nespecifična
 - izazvana fizičkim sredstvima
 - izazvana kemijskim tvarima
 - izazvana biološkim sredstvima
 - izazvana kirurškim postupcimaizazvana blokiranjem retikuloendotelnog sustava
3. imunodeficijencije
 - primarne
 - nedostatak limfocita T
 - nedostatak limfocita B
 - nedostatak limfocita T i B
 - nedostatak fagocitnog sustava
 - nedostatak komplementa
 - sekundarne



Slika 4. Imunosni sustav i imunoreakcija

Tablica 11. Temeljne značajke imunskog prepoznavanja

- Specifično prepoznavanje svih antigena
- Prepoznavanje vlastitog (prirodna tolerancija)
- Spregnutost imunskog prepoznavanja
- Visoka aloreaktivnost
- Nadzor imunološke reaktivnosti antigenima MHC
- Uloga timusa -"učenje"
- Interakcija stanica i dodatni signali

Prepoznavanje obavljaju površinskim receptorima dva sustava koji su klonski organizirani: klonovi B i klonovi limfocita T. Limfociti B prepoznaju antigene izvan stanica pomoću dvovaljanih imunoglobulinskih receptora. Limfociti T prepoznaju tuđe peptide nastale unutarstaničnom preradom antigena vezane za površinske molekule MHC. Najčešće su to dijelovi unutarstaničnih parazita, bakterija i virusa.

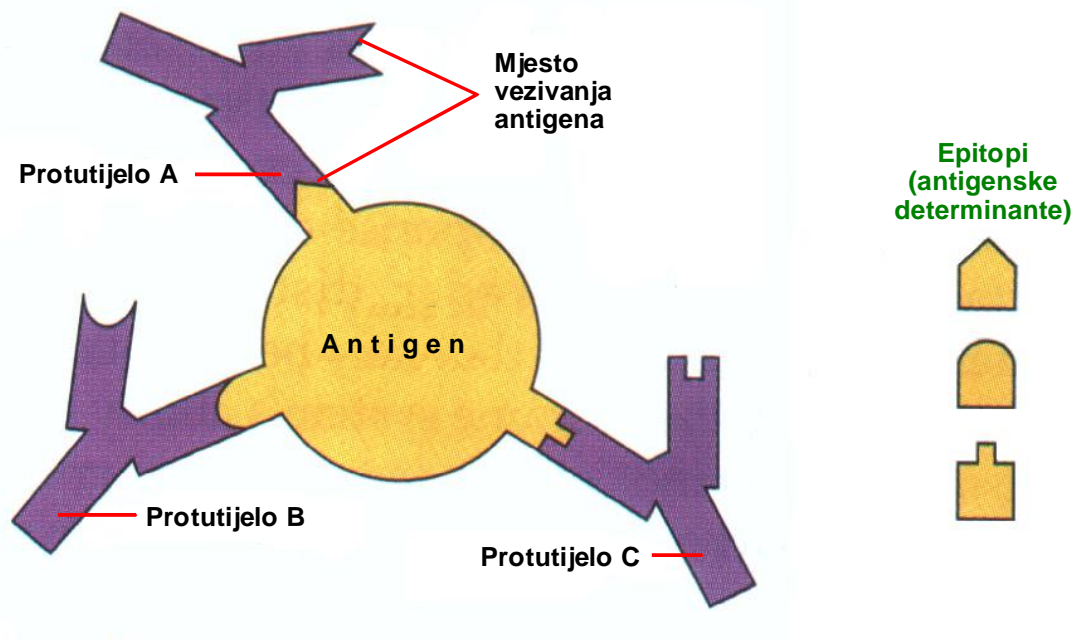
Specifičnost znači da se reakcija odvija samo prema onom antigenu koji je reakciju pokrenuo.

Imunosno pamćenje je sposobnost organizma ili imunokompetentnih stanica da na ponovljeni ulazak istog antigena odgovore bržom, žešćom i djelotvornijom reakcijom.

Različitost ukazuje na postojanje velikog broja klonova s posebnim receptorima za vezivanje različitih antigena, pokazuju krajnju heterogenost u funkciji i specifičnosti (10^{11} različitih molekula protutijela).

ANTIGEN

Antigeni su složene molekule što ih imunski sustav prepoznaje kao tuđe; molekule koje mogu prepoznati mehanizmi stečene imunosti posredovani limfocitima B ili T. **Svaka tvar koja može potaknuti specifičnu imunsku reakciju organizma naziva se antigen ili imunogen.** Molekula protutijela 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 govorimo o specifičnosti protutijela za određeni epitop, a ne za cijeli antigen (Slika 5).



Slika 5. Specifičnost protutijela na određeni epitop

Razlikujemo **imunogenično i antigenično svojstvo molekule**. Imunogenična je ona molekula koja može potaknuti specifičnu imunoreakciju, antigenična molekula takvu ne potiče, ali može reagirati s protutijelima ili senzibiliziranim limfocitima ako oni već postoje. Suradnja limfocita T i B je važan korak u proizvodnji protutijela. Neki antigeni, primjerice polisaharidi, mogu potaknuti limfocite B na dijeljenje (proliferaciju) i stvaranje protutijela bez suradnje s limfocitima T-**antigeni neovisni o timusu**. Ostali antigeni koji ne mogu potaknuti limfocite B bez pomoći stanica T jesu **antigeni ovisni o timusu**. Antigeni koji izazivju različite oblike alergijskih reakcija-**alergeni**. **Superantigeni** su molekule koje izravno vezuju i nespecifično aktiviraju limfocite $CD4^+$, oslobađaju citokine te pridonose patogeničnosti bakterija i virusa.

Male molekule koje reagiraju s protutijelima ali same ne mogu potaknuti njihovu proizvodnju zovu se **hapteni** (primjerice, dinitrofenol, pikril klorid, penicilin). Obično **nosači za haptene su: bjelančevine, sintetske makromolekule, eritrociti, bakteriofagi.**

Čimbenici o kojima ovisi imunogeničnost antigena odnose se na antigensku molekulu ili na samu jedinku (Tablica 12)

Tablica 12. Čimbenici koji utječu na imunogeničnost antigena

a) čimbenici koji se odnose na antigen

-antigeničnost i/ili imunogeničnost ovisi:

- stupanj različitosti (stranost)
- molekulska masa (> 10 000, bjelančevine > 100 000)
- kemijski sastav i složenost molekulske građe (aromatske AK; tirozin, triptofan, fenilalanin povećavaju imunogeničnost)
- osjetljivost na antigensku obradu i predočavanje
- ostali čimbenici (fizikalna svojsva; topljivost, naboj, agregirane čestice...)

b) čimbenici koji se odnose na jedinku

-doprinos biološkog sustava imunogeničnosti

- genotip životinje primatelja/ životinjska vrsta
- doza i način davanja imunogena (količina unešenog antigena i put unošenja)
- način pripreme antigena (adjuvants)

adjuvants:

- tvari koje pomješane s antigenom pa uštrcane u organizam pojačavaju imunogenost antigena (lat. adjuve-pomoći)
- produžavaju vrijeme otpuštanja antigena
- pojačavaju kostimulatorne signale
- stvaraju formiranje granuloma
- stimuliraju nespecifičnu proliferaciju limfocita

Antigenske determinante ili epitopi

Antigenske determinante ili epitopi odgovorne su za specifičnost reakcije između antigena i protutijela odnosno limfocita; imunosna reakcija na neki složeni antigen je rezultanta imunosnih odziva na svaku pojedinu determinantu ili epitop. **Specifičnost determinante temeljena je na: slijedu građevnih jedinica i prostornoj konformaciji.** Razlikujemo **sekvencijske epitope i konformacijske epitope** koji mogu biti kontinuirani i diskontinuirani Tako denaturirane bjelančevine ne reagiraju s protutijelima koje je potakla ta ista bjelančevina u nativnom obliku. Prepoznavanje epitopa B i T limfocita izrazito se razlikuje. **Limfociti B prepoznaju topljive antigene;** epitopi moraju biti na površini antigenske molekule. Nasuprot tome **limfocit T (CD4⁺) prepoznaje epitope s molekulama MHC-II na površini predočnih stanica a limfocit T (CD8⁺) prepoznaje epitope s molekulama MHC-I na površini vlastitih promjenjenih stanica**

Imunoreakcija na neki antigen može biti promjenjena zbog međusobnog kompetiranja dvaju ili više antigena. **Kompeticija antigena** može biti: a) **intermolekularna** (kompetira nekoliko različitih molekula-globulin/albumin, b) **intramolekularna** (Fc/Fab), c) **sekvencijska** (2 antigena u kratkom vremenskom razdoblju). Izbjegavanje kompeticije antigena važno je za višestruka cjepiva (primjerice, cjepivo protiv difterije, tetanusa i hripavca), gdje treba uporabiti prikladan omjer antigena zbog zasićenosti predočnih stanica prvim antigenom te nemogućnosti preradbe i predočavanja drugog antigena kao i pojavnosti supresijskog učinka u tijeku imunosne reakcije na prvi antigen. **Mehanizmi kompeticije** temelje se na: a) zasićenost predočnih stanica s prvim antigenom, b) supresijskom učinaku u tijeku imunosne reakcije na prvi antigen.

Imunogeničnost pojedinih vrsta molekula

Među prirodnim molekulama, bjelančevine su najbolji antigeni same ili združene s lipoproteinima ili glikoproteinima (Tablica 13). Njihova imunogeničnost ovisi o primarnoj, sekundarnoj, tercijarnoj i kvartarnoj strukturi. Različiti antigeni imaju zajedničke antigenske determinante ili slične strukture. Tako posobnost jednog protutijela da reagira jače ili slabije s nekoliko različitih antigena nazivamo **križnom reakcijom**.

Tablica 13. Podjela antigena

a) prirodni antigeni

- bjelančevine, najbolji antigeni same ili u kombinaciji s drugim tvarima
 - lipoproteini
 - glikoproteini
- polisaharidi
 - lipopolisaharidi-sastavni dijelovi mnogih bakterija
 - glikoproteini-ABO sustav
- lipidi i nukleinske kiseline nisu posebno imunogenični

b) umjetni antigeni

-prirodni antigeni promjenjene kemijske građe; premještanje ili dodavanje determinantskih skupina (orto, para i meta položaj → važnost konformacije)

c) sintetski antigeni

- proizvedeni u laboratoriju
- važnost dostupnosti antigenskih determinanti

Geni i antigeni tkivne podudarnosti (podnošljivosti, snošljivosti)

Biološka svrhovitost antigena tkivne podudarnosti je očuvanje tjelesne samosvojnosti (identiteta). Nadalje oni određuju imunosnu reaktivnost organizma; u izravnoj su vezi s otpornošću čovjeka i životinja prema bolestima zarazne i nezarazne etiologije. Zadaća imunosnog sustava je da razlikuje “svoje” i “tuđe”; što je posebice vidljivo u pojavi imunosnog odbacivanja antigenski nesrodnog presatka. Između brojnih proteina na površini stanica nalaze se i proteini glavnog sustava tkivne podudarnosti (engl. major histocompatibility complex; MHC ili human leukocyte antigens, HLA) koji osiguravaju biološku samosvojnost; nazočnost ovih proteina osigurava razlikovanje jedinki unutar iste vrste te različitih vrsta. Postoji oko 40-50 gena koji kodiraju ove proteine; veća raznolikost gena između dviju jedinki osigurava veću raznolikost MHC proteina-**genski polimorfizam**. Geni MHC dijele se u dvije skupine (MHC-I, MHC-II); svaka skupina gena nosi upute za

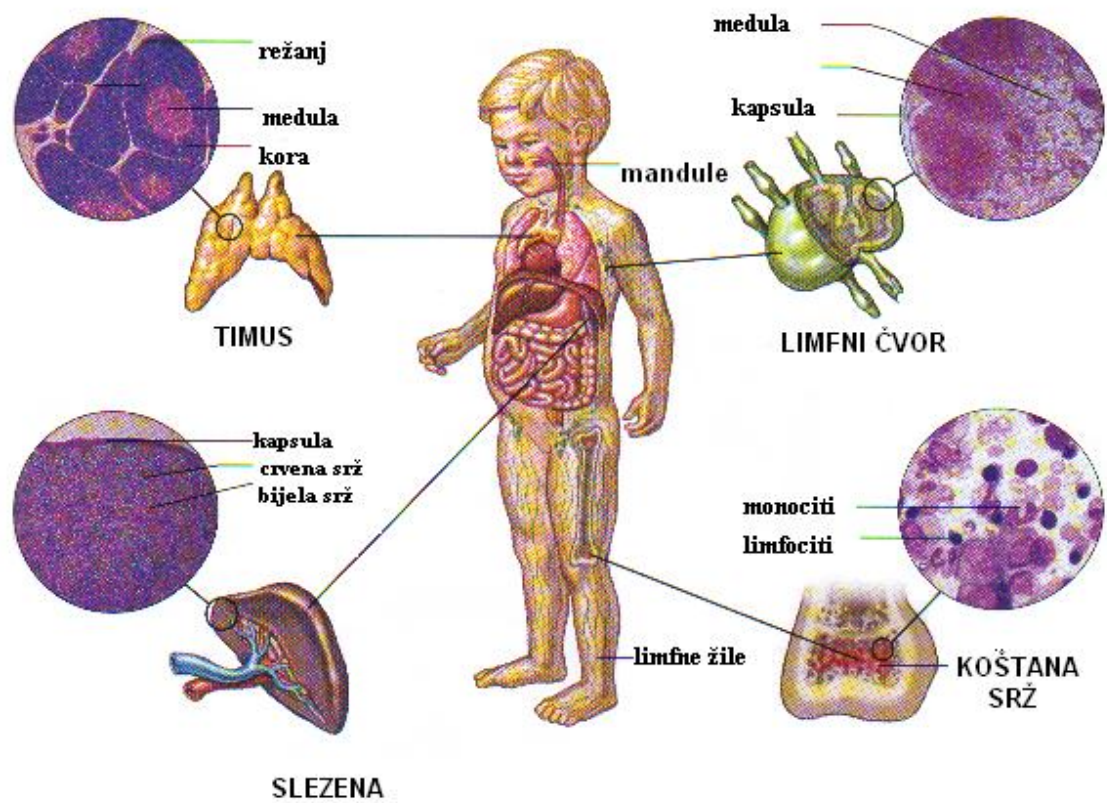
tvorbu tkivnih antigena podjednakih bioloških osobina. MHC proteini skupine I nazočni su na svim stanicama s jezgrom. Proteini MHC skupine II nalaze se na površini makrofaga, B stanica i CD4⁺ limfocitima T (pomoćničkim limfocitima T). Molekule razreda I sastoje se od jednog teškog polipeptidnog lanca (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. Za strukturnu raznolikost posebice su odgovorni teški lanci koji čini temelj specifičnog imunskog prepoznavanja limfocitima T; TCR prepoznaje prerađeni antigen vezan na molekule MHC-I (peptidni ulomak veličine 8-10 aminokiselina) ili MHC-II (peptidni ulomak od 12-24 aminokiseline) (Burmester i sur., 2003).

USTROJSTVO IMUNOSNOG SUSTAVA

Imunosni sustav, za razliku od drugih organskih sustava u kralješnjaka, nije lokaliziran. Čini ga niz organa koji su rasprostranjeni po tijelu. Organi imunskog sustava podijeljeni su na **primarne (središnje) i sekundarne (perifernu organe)**. Primarni organi su mjesta u organizmu u kojima, iz pluripotentnih stanica sazrijevaju limfociti. Primarni organi (timus i Fabriziojeva bursa u ptica, tj. fetalna jetra i koštana srž kao njeni analozi u sisavaca) osiguravaju mikrookoliš u kojem „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 perifernu limfne organe i limfna tkiva pridružena raznim organskim sustavima. U sekundarnim organima imunociti obitavaju, recirkuliraju, međusobno surađuju i djeluju, a razgranata krvna i limfna mreža omogućava njihovu nazočnost u bilo kojem dijelu tijela. Dok **primarni limfatički organi nakon uspostavljanja imunskog zrelosti postupno propadaju, u tkivima perifernog limfatičkog sustava imunskog stanice dolaze u dodir s različitim antigenima tijekom čitavog života te na njih odgovaraju specifično**. Osnovne značajke za razlikovanje primarnih od sekundarnih organa prikazuje Tablica 14. Zahvaljujući organima imunskog sustava (Slika 6) i razgranatoj mreži limforetikularnog tkiva (Tablica 15) koje nalazimo u probavnom, dišnom i mokraćno-spolnom sustavu te koštanoj srži, i seroznim šupljinama, organizmu je omogućena sveprisutnost posrednika imunskog reakcije na bilo kojem mjestu u organizmu (Andreis i sur., 2004; Kuby, 2007).

Tablica 14. Značajke primarnih i sekundarnih organa imunskog sustava

- Limfatičke stanice u primarnim organima samo dozrijevaju a ne obavljaju izvršnu funkciju
- Primarni organi uz limfatičke stanice imaju i epitelne stanice
- Dioba limfocita u primarnim organima neovisna je o nazočnosti antigena
- Dioba u sekundarnim organima zahtijeva antigenski podražaj
- Nakon primjene antigena reaktivne promjene se vide samo u sekundarnim organima



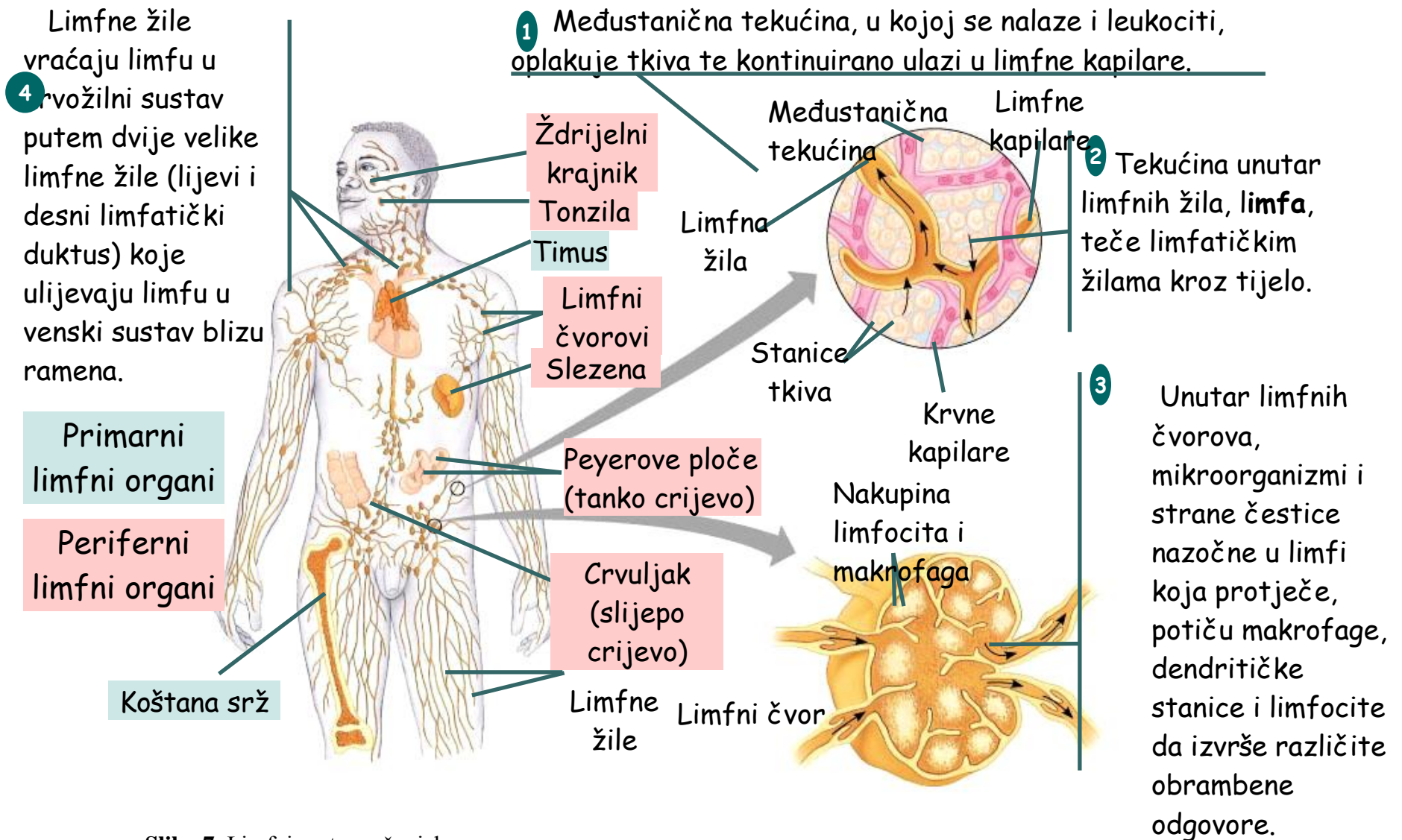
Slika 6. Organi imunskog sustava; sheamtski prikaz*
 *Preuzeto iz Mader (2000).

Tablica 15. Glavne sastavnice imunosnog sustava

• <u>Organ ili tkivo</u>	<u>Funkcija</u>
• Koža i sluznice šupljih organa	• Zapreka za mikroorganizme
• Limfa	• Vraćanje međustaničnih tekućina do krvi; prenos leukocitnih stanica i protutijela, nošenje mikroba do limfnog čvora
• Limfne žile	• Stvaraju kanaliće za protok limfe
• Limfni čvorovi i tonzile	• Zaustavljaju mikrobe iz limfe i razaraju ih, skladište bijelih krvnih stanica
• Peyerove ploče na tankom crijevu	• Sprečavaju ulazak bakterija u krvni optok
• Krv	• Prenos stanica i molekula koje se sukobljavaju s mikrobima
• Koštana srž	• Proizvodi krvne stanice; razvoj zrelih stanica B
• Slezena	• Skladište bijelih krvnih stanica
• Timus	• Razvoj zrelih stanica T

Limfni sustav

Limfni sustav (Slika 7) vraća međustaničnu tekućinu koja je izgubljena u međustaničnim prostorima tkiva zbog propusnosti kapilara. Tekućina (limfa) iz limfnog cirkulacijskog sustava vraća u krvotok utjecanjem limfe iz limfatičkih kanala (limfatički duktusi) u lijevu i desnu potključnu venu. Limfa također prenosi proizvode razgradnje masti i glavne sastavnice imunosnog sustava, leukocite. Limfne kapilare ulaze u većinu tkiva. Tekućina ulazi i protječe limfnim sustavnom zahvaljujući kontrakcijama skeletnog mišićja te potiskivanjem organima. Zalisci unutar limfnih žila omogućavaju protok samo u jednom smjeru. Uloga limfnog sustava: **a) održava ravnotežu međustaničnih tekućina (krv, tkiva), b) prenosi masti iz tkiva koje okružuju tanko crijevo u krv, c) filtrira i uništava viruse, bakterije i druge mikroorganizme te strane čestice, d) osigurava zaštitu organizma od različitih uljeza**

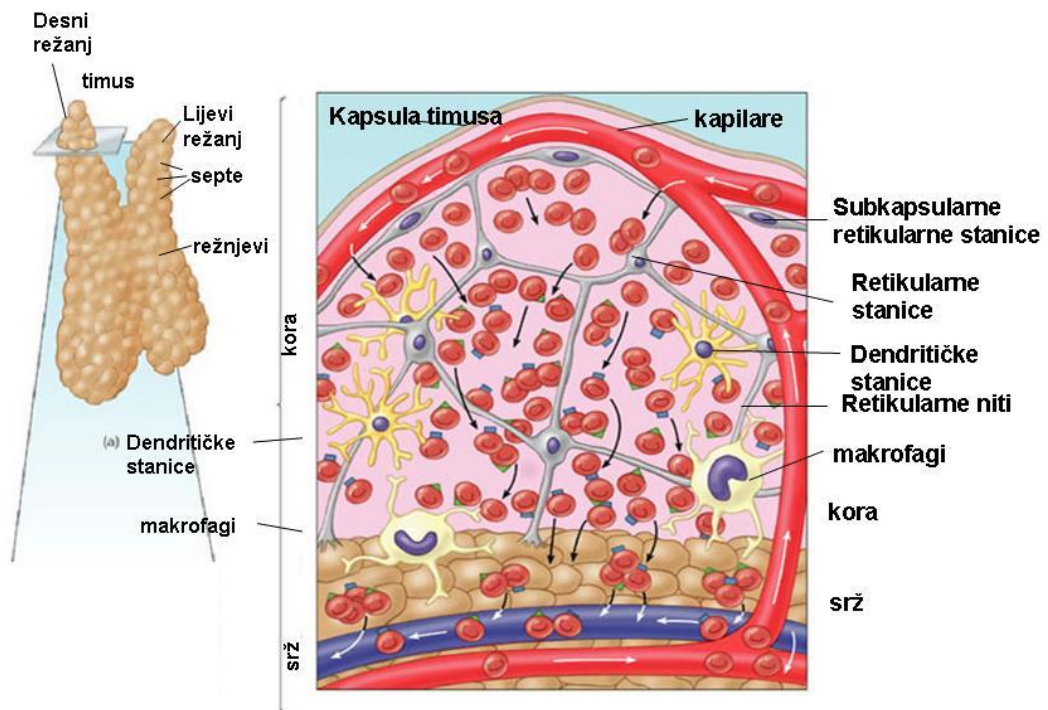


Slika 7. Limfni sustav u čovjeka

LIMFNI ORGANI I TKIVA

Timus

Timus (**prsna žlijezda**) je primarni limfatički organ u sisavaca u kome matične hematopoietske stanice postaju imunokompetentne (imunosne). Proces nastanka imunokompetentni stanica zbiva se bez nazočnosti antigena. Timus je limfoepitelni organ sastavljen od dva režnja, smješten u grudnom košu iznad srca i iza prsne kosti (sternuma). Pri rođenju u djece 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, no nikada posve ne nestaje. Svaki je režanj fibroznim tračcima podijeljen na manje režnjeve, građene od kore i srži. **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 mjesto u kojem prastanice, krećući se od kore prema srži, sazrijevaju do zrelih limfocita T, sposobnih za specifično prepoznavanje antigena; **timus je uključen u diferencijaciju limfocita, pristiglih iz koštane srži, u limfocite T** (Slika 8). Mjestimično se u srži nalaze nakupine epitelnih stanica (**Hassalova tjelešca**) koja predstavljaju mjesta odumiranja stanica; timus napušta 2-5% funkcijskih zrelih stanica dok ostale odumiru procesom apoptoze.



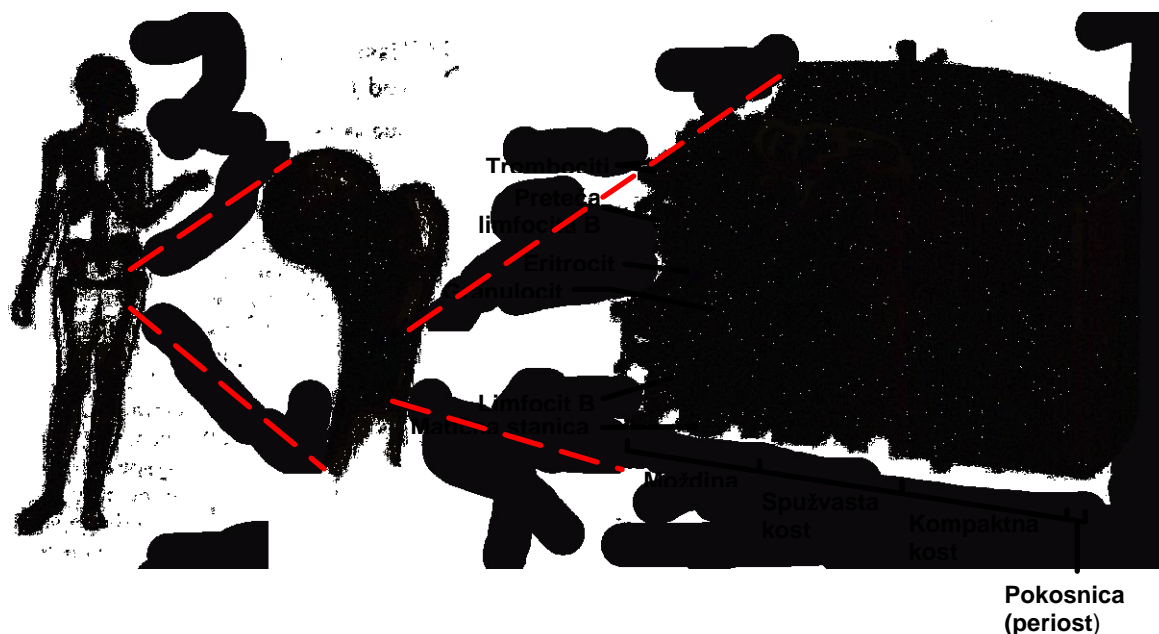
Slika 8. Timus; shematski prikaz

Fabrizijeva bursa

Mjesto sazrijevanja limfocita B u gmazova i ptica je Fabrizijeva bursa, a njeni analozi u sisavaca jesu fetalna jetra i koštana srž.

Koštana srž

Koštana srž je mjesto stvaranja svih krvotvornih stanica, uključujući prastanice limfocita ali i mjesto primarnog sazrijevanja limfocita B (Slika 9). Samu srž čini retikularna osnova sastavljena od **stromalnih stanica** među kojima su smještene **krvotvorne stanice**. Stromalne stanice čine masne stanice (adipocite), menzehimalne stromalne stanice, endotelne stanice i makrofagi. Ove stanice proizvode čimbenike potrebite za rast i diferencijaciju stanica. Osim stromalnih stanica čimbenike za rast i diferencijaciju stanica proizvode aktivirane stanice T i makrofagi; mehanizam važan za pojačanu hematopoiezu i obnovu krvotvornih stanica tijekom zaraze i upale. Budući da uz limfocite B koštana srž sadrži i limfocite T i plazma stanice, ona je u sisavaca i važan sekundarni limfni organ.

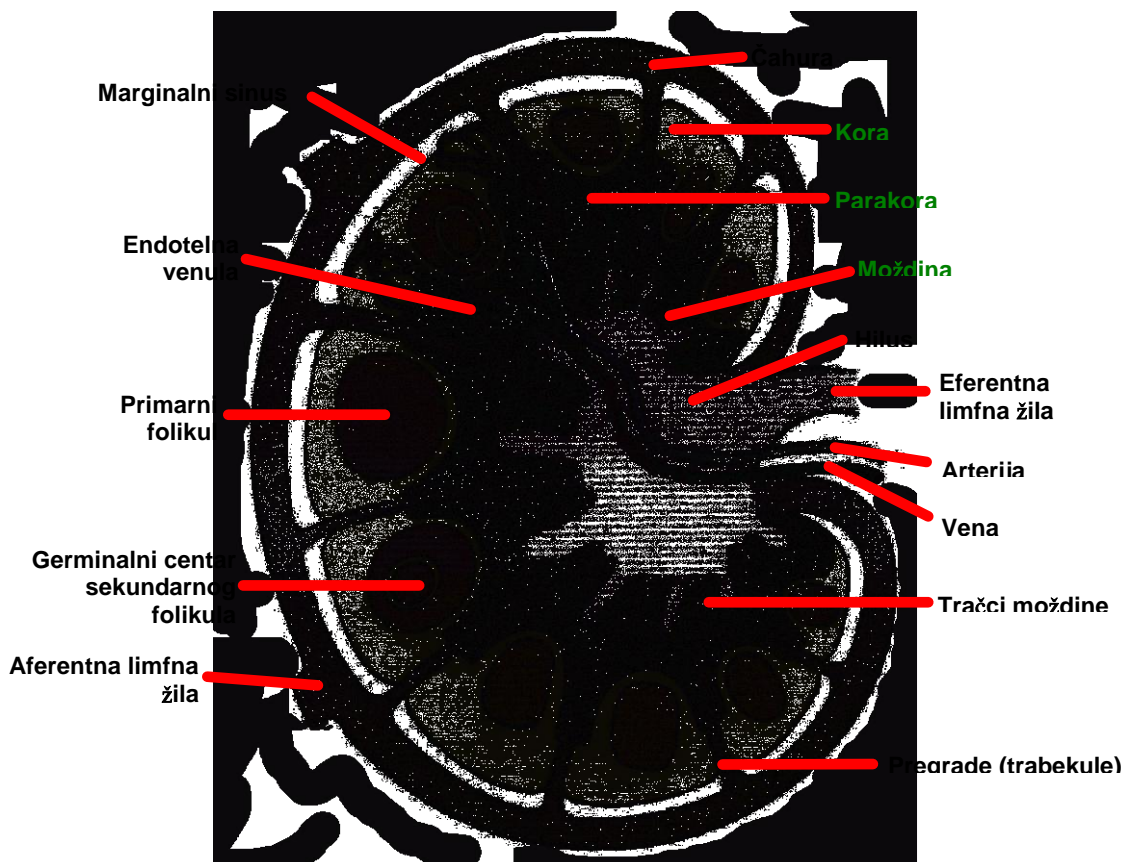


Slika 9. Koštana srž; shematski prikaz

Limfni čvorovi

Limfni čvorovi najbolje su organizirani limforetikularni organi perifernog limfatičkog sustava; **male nakupine limfnog tkiva razbacane uzduž limfnih žila**. Služe kao obrambeni filtri umetnuti u limfne žile zaustavljajući antigene prije ulaska u krvni optjecaj. Limfni čvorovi filtriraju antigene 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, preponama. Limfni čvorovi koji štite kožu smješteni su površinski i nazivaju se somatskima; oni dublje smješteni štite sluznicu dišnog, probavnog i mokraćno-spolnog sustava i nazivaju se visceralnima. U parenhimu limfnog čvora (Slika 10) vidljiva su tri područja: a) vanjski dio ili kora (**korteks**) koji sadrži limfocite B, b) **parakorteks** (sadrži limfocite T i stanice za predočavanje antigena) te c) **medula** (sadrži limfocite T i B, plazma-stanice i makrofage). Limfne čvorove obavlja vezivna čahura,

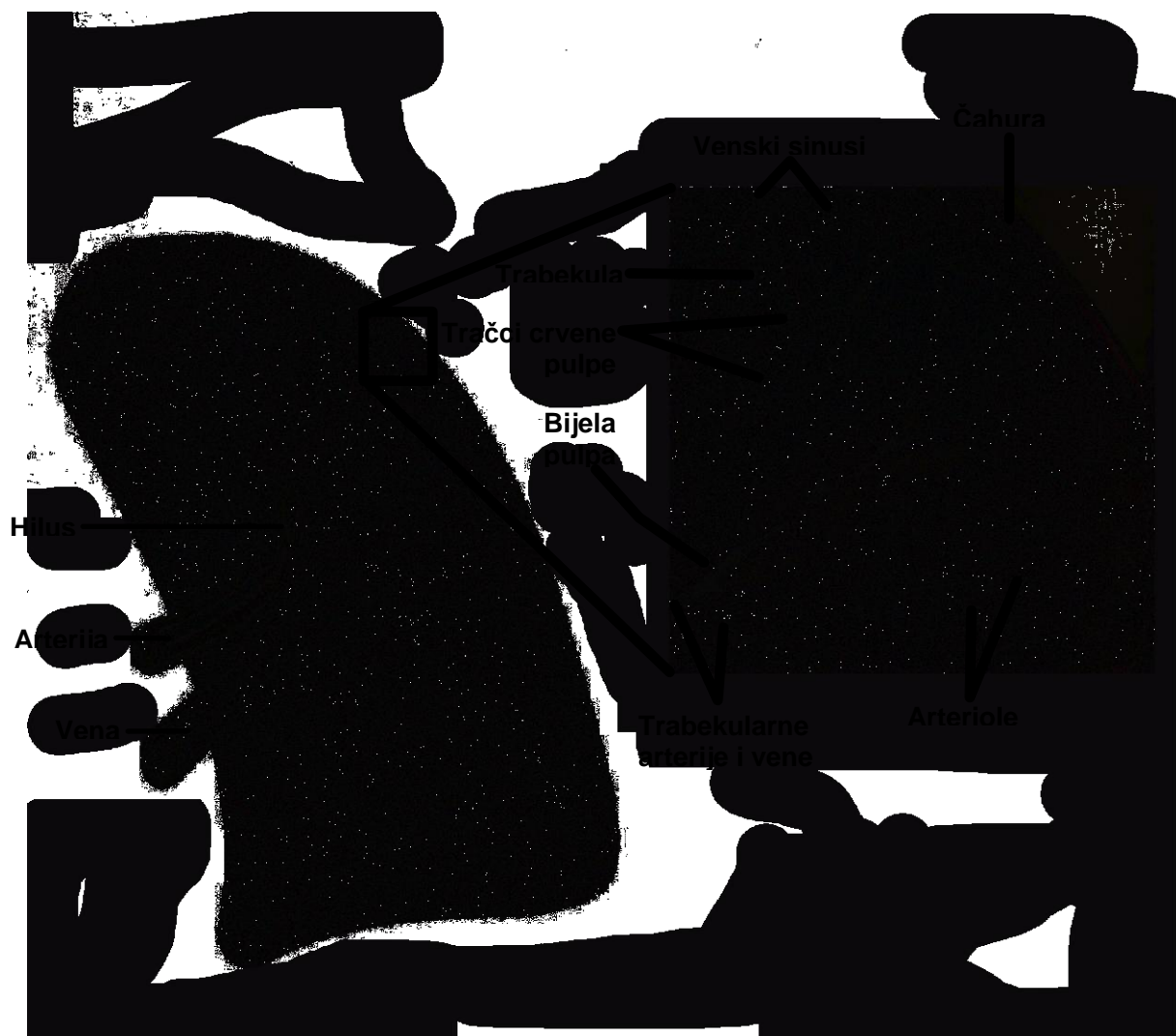
nastavci čahure protežu se u unutrašnjost dijeleći čvor u *režnjice*; vanjski dio svakog režnjica naziva se *kora* koja sadrži brojne limfne folikule - *limfne čvoriće* sa zametnim središtima ili bez njih. Razlikujemo primarne i sekundarne čvoriće. **Primarni čvorići** su nakupine limfocita bez zametnih središta. U **sekundarnim čvorićima** unutar zametnih središta ili germinativnih centara smješteni su veliki **centroblasti** tj. limfociti B koji se intenzivno dijele nakon dodira s antigenom stvarajući **centrocite**. Folikularne dendritičke stanice svojim nastavcima predočavaju vezane nativne (neprerađene) antigene centrocitima koji se diferenciraju u izvršne (efektorske) stanice; **preteče plazma stanica** ili **memorijskih (prisjetnih) stanica**. **Tijekom diferencijacije stanice prolaze kroz tri bitna procesa: afinitetno sazrijevanje, prekapčanje razreda i stvaranje zrelih plazma-stanica i stanica s pamćenjem (prisjetne stanice)**. Plazma stanice nastaju pretežno pod utjecajem IL-1 i molekule CD23, podrijetlom od folikularnih dendritičkih stanica. Folikularne dendritičke stanice upijeni antigen prerađuju i predočuju zajedno s molekulama MHC-II pomoćničkim limfocitima T_H . Potaknuti T_H limfociti izražavaju površinske molekule CD40L te se vežu na CD40 na centrocitima stvarajući signal potrebit za nastanak stanica s pamćenjem. Budući da su limfni čvorovi limfatičko tkivo ovisno o timusu, njihov parakorteks naseljavaju zrele imunokompetentne stanice iz cirkulacije koje mogu sudjelovati u imunosnim reakcijama; limfni čvor je opremljen za gotovo svaku vrstu imunosnog prepoznavanja i pokretanja imunosnog odgovora. Osebujan protok krvi (**postkapilarne venule s visokim kubičnim endotelom**) i limfe (**aferentne i eferentne žile**) kroz limfni čvor omogućuju susret nepodraženih limfocita i antigena na predočnim stanicama te pokretanje imunosnog odgovora (Kuby, 2007).



Slika 10. Građa limfnog čvora; shematski prikaz

Slezena

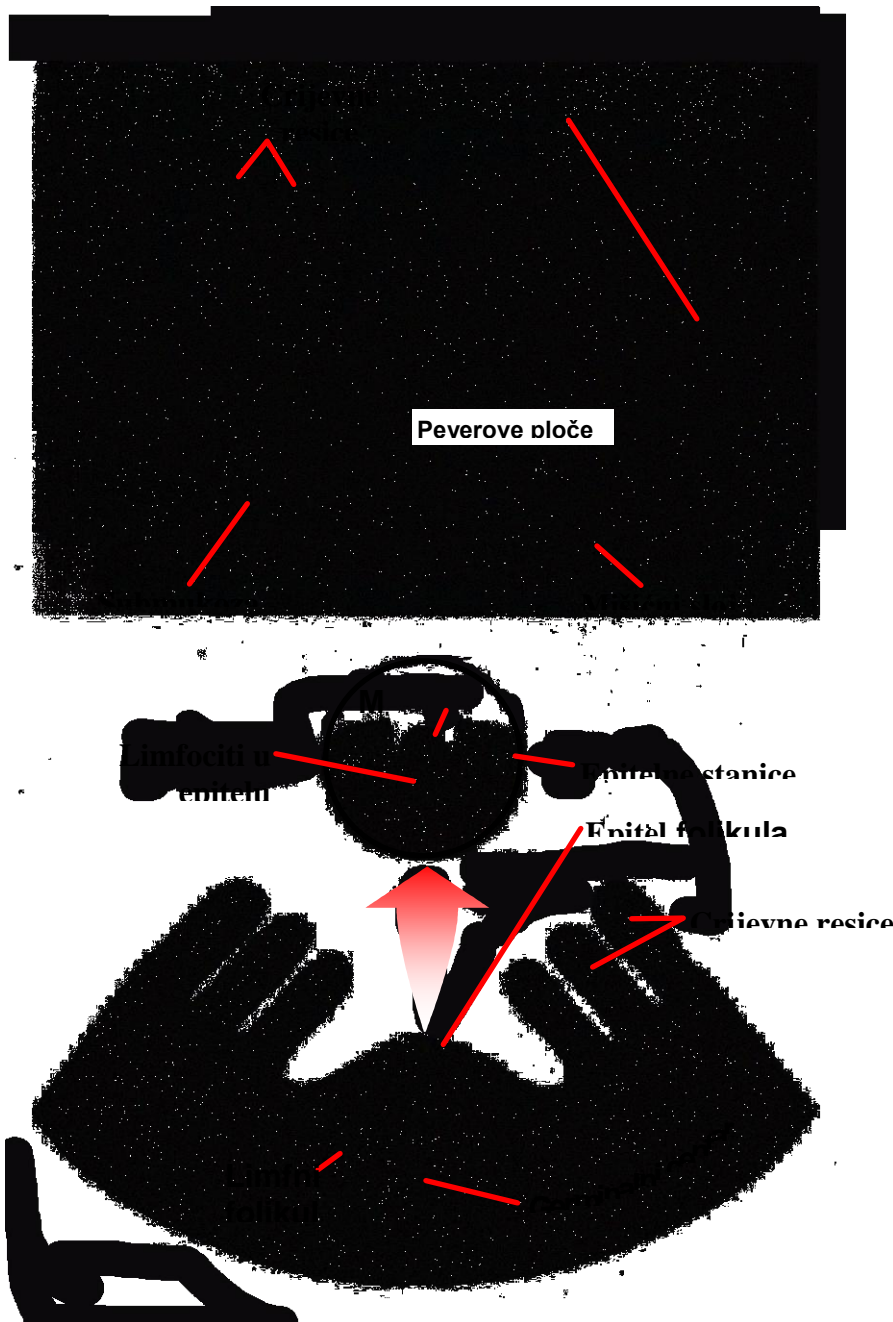
Slezena, važan organ perifernog limfatičkog sustava, uklopljena je u krvožilni sustav; filter je za krv i važan hematopoetski organ (stvaranje limfocita). Smještena je u gornjem lijevom kvadrantu trbušne šupljine. Obavijena je vezivnom čahuricom čiji nastavci protežu se u unutrašnjost i dijele slezenu u više *režnjića*; režnjiće ispunjava tkivo slezene-*pulpa*. Pulpa slezene sastavljena je od retikuloendotelnih stanica, venskih sinusa i mreže krvnih kapilara (Slika 11). Slezena sadrži: crvenu i bijelu pulpu. **Crvena pulpa** sastoji se od sinusa i staničnih tračaka s makrofagima, eritrocitima, trombocitima, granulocitima, limfocitima i brojnim plazma stanicama. Uz imunonosnu djelatnost, slezena obavlja i brojne druge funkcije, primjerice rezervoar je za trombocite, eritrocite i granulocite a služi i za uklanjanje ostarjelih eritrocita. **Bijela pulpa (Malpighijeva tjelešca)** sastoji se od limfnog tkiva organiziranog u područja koja sadrže limfocite T i limfocite B. Limfociti T uglavnom su smješteni oko središnje arteriole, a limfociti B organizirani su u primarne (nestimulirane) folikule s nestimuliranim limfocitima B, te u sekundarne (stimulirane) folikule koji uglavnom sadrže panteće i dendritične stanice te makrofage; ove dvije potonje vrste stanica predočavaju antigene limfocitima B.



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 u jetri koje svakodnevno dolaze u doticaj s brojnim uzročnicima infekcije. Obzirom na smještaj ovog tkiva (sluznica ili podsluznica) naziva se **limfno tkivo pridruženo sluznicama**. Limfatičke stanice mogu biti nazočne u obliku difuznih nakupina ili, pak, u obliku pojedinačnih čvorova ili nakupina čvorova. U čovjeka su takve nakupine osobito nazočne 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 (Slika 12). Epitel iznad **Peyerovih ploča** specijaliziran je za prijenos antigena u limfno tkivo. Imunosne reakcije koje se odvijaju na sluznicama kontroliraju i stančani regulacijski mehanizmi koji dokidaju reakcije na bezazlene antigene nepatogenih mikroorganizama (fiziološke flore), kao i na antigene iz hrane. Peyerove ploče jesu nakupine limfnih stanica u submukozi crijeva, također sadrže i limfne čvoriće. Oko 50% limfocita B u limfnim čvorićima stvara IgA. Između i iznad limfnih čvorića nazočna je zona limfocita T čija je recirkulacija omogućena postkapilarnim venulama.

Epitelne stanice sluznice prenose antigene iz šupljih organa (crijeva, bronhi) do limfnih struktura. Za tu svrhu su posebice specijalizirane **stanice M** (engl. Microfold cells) koje endocitozom upijaju antigene s površine sluznice te prenose do džepova gdje su nazočni makrofagi, T i B stanice (Slika 12). U sluznicama probavnog, dišnog i mokraćno-spolnog sustava nazočni su difuzno razasuti limfociti T te limfociti B i plazma stanice koje izlučuju IgA. U lamini proprijji nazočni su pretežno limfociti T (95% s $\alpha\beta$ TCR, preostali $\gamma\delta$ receptorom te oko 2/3 su CD4 stanice T a 1/3 CD8). Nazočni su također i intraepitelni limfociti, 40% limfocita su CD8 stanice T s $\gamma\delta$ receptorom koji prepoznaje neproteinske antigene vezane za molekulu CD1a.



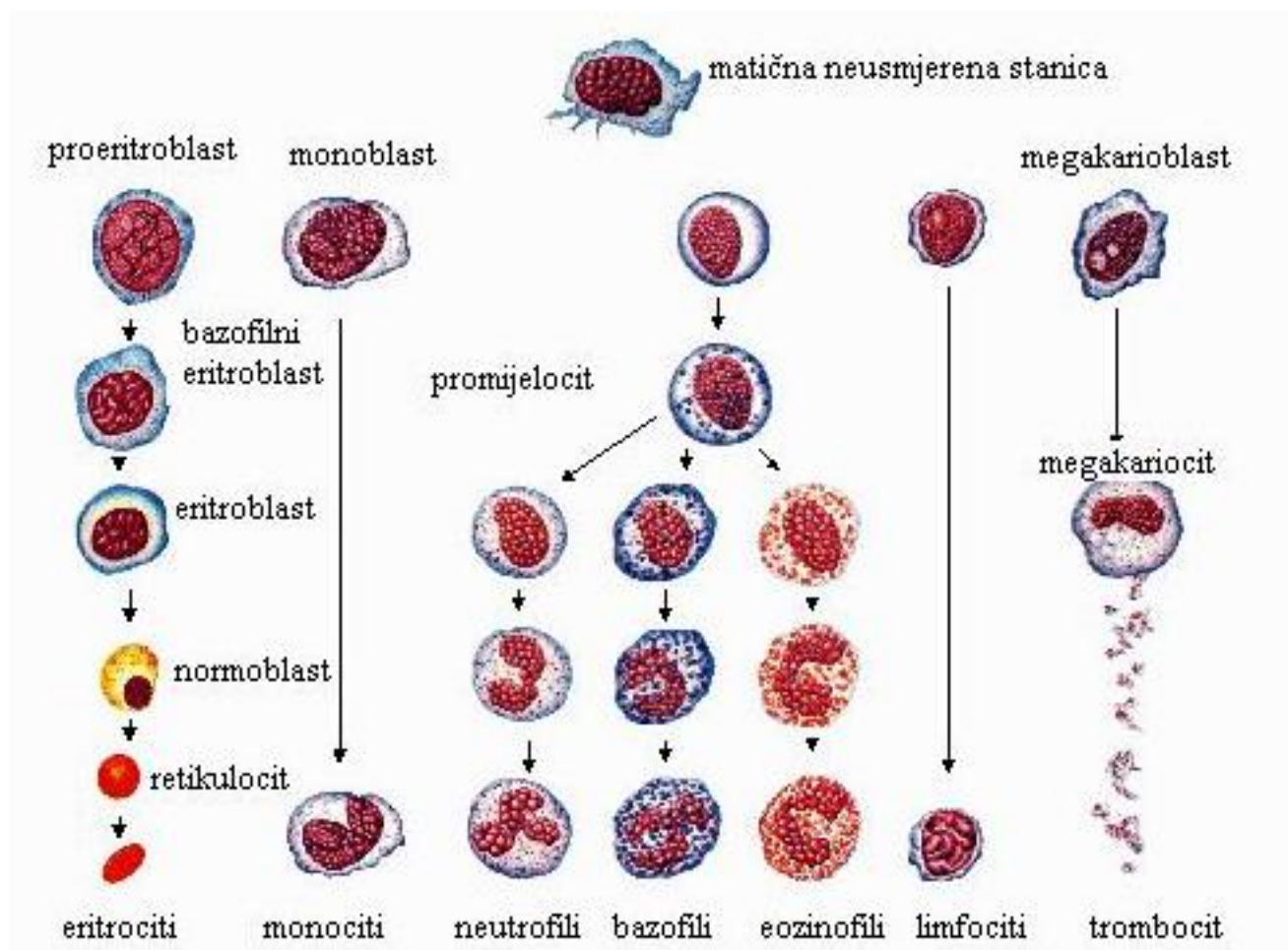
Slika 12. Strukturna organizacija Peyerovih ploča i smještaj M stanica; shematski prikaz

Tonzile (krajnici) su parni ovalni limfoepitelni organi, smješteni na početku probavnog i dišnog sustava, posebice važani u obrani od peroralnih i aerogenih infekcija koji dospjevaju preko sluznice nosne i usne šupljine. Imaju samo dovodnu a ne i odvodnu krvnu žilu. Površina tonzila je izbrazdana epitelnim raspuklinama ždrijelne sluznice što omogućuje bliski doticaj antigena i tonzila. U dubini smješteni su tipični limfni čvorići sa zametnim središtima koja sadržavaju limfocite B. Oko čvorića nalaze se limfociti T i plazma stanice koje sintetiziraju IgA.

Podrijetlo stanica imunskog sustava-proces hematopoeize

Krvne stanice uključujući stanice imunskog sustava potiču od samoobnavljajuće pluripotentne hematopoietske matične stanice u koštanoj srži. Diobom matične stanice nastaju

dvije stanice kćeri. Jedna će se razviti u matičnu stanicu, a druga bipotencijalna stanica se razvija u smjeru **mijelopoieze** ili **limfopoieze**; prikaz hematopoieze prikazuje Slika 13. Proces hematopoieze odvija se nepresrano a započinje tijekom embrionalnog razvoja u žumanjčanoj vreći, zatim u embrionalnoj jetri a krajem embrionalnog razvoja hematopoieza se odvija u slezeni i koštanoj srži. Nakon rođenja hematopoieze se tijekom čitavog života odvija u koštanoj srži (zdjelične kosti, prsna kost, kralješci i rebra te duge kosti do puberteta). Hematopoietski sustav se održava klonskom proliferacijom tri funkcionalno različita tipa stanica: **matičnih stanica**, **progenitora** i **zrelih krvnih stanica**. Matične stanice imaju veliku sposobnost samoobnavljanja a diferenciraju se u različite progenitorske stanice. Progenitorske stanice nemaju sposobnost samoobnavljanja, a njihovom diferencijacijom nastaju svi tipovi zrelih krvnih stanica (eritrociti, granulociti, monociti, megakariociti i limfociti). Hematopoietske matične stanice imaju slijedeća obilježja: a) nisku učestalost dioba posljedično nastalu produženom G₀ fazom staničnog ciklusa, b) samobnavljanje, stvaranje istovjetnih stanica c) diferencijacija i obnavljanje svih ili samo određenih vrsta stanica. Proces hematopoieze reguliran je: a) složenim nizom međureakcija hematopoietskih stanica s mikrookolišem (stroma koštane srži, slezene timusa i limfnih čvorova), b) staničnim doticajima koji mogu biti specifični (prepoznavanje stanica putem glavnog sustava tkivne snošljivosti) ili manje specifični posredstvom molekula za adheziju stanica (intergrini, kadherini), c) čimbenicima rasta kratkog i srednjeg dometa (interleukini, interferoni, čimbenici stimulacije kolonija, eritropoetin i dr.) koji specifično djeluju na diferencijaciju i proliferaciju krvnih stanica, d) čimbenici dugog dometa (hormoni) (Alberts i sur., 2002; Cheung i sur., 2006; Patel i sur., 2007). U međusinusnom prostoru koštane srži stromalne stanice zajedno sa stanicama hematopoietskog podrijetla (makrofazi) stvaraju mikrookoliš u kojem se odvija diferencijacija i sazrijevanje krvnih stanica posredstvom staničnog doticaja i čimbenika rasta kratkog dometa (Williams i sur., 1990; Despars i sur., 2007; Patel i sur., 2007). Glavni posrednik u doticaju stromalnih i krvnih stanica je vanstanični matriks koji stvaraju stromalne stanice. Stromalne stanice i stanice mikrookoliša koštane srži sintetiziraju različite čimbenike rasta glikoproteinske mreže (interleukini, interferoni, čimbenici stimulacije kolonija, transformirajući čimbenici rasta, čimbenik tumorske nekroze) koji djeluju aktivirajuće ili inhibicijski na proces mijelo- i limfopoieze) (Tablica 16). Ciljne hematopoietske stanice sadrže membranske receptore za određene čimbenike rasta koji posredstvom sekundarnih unutarstaničnih „glasnika“ (G-proteini, protein kinaze, cAMP i dr) induciraju proliferaciju, diferencijaciju i sazrijevanje stanica. Uz čimbenike rasta u regulaciji proliferacije, i diferencijacije hematopoietskih stanica sudjeluju i proizvodi protoonkogeni čiji geni su razvrstani u skupine (čimbenici rasta, receptori za čimbenike rasta, protein kinaze, G proteini, jezgrini proteini) prema smještaju i biokemijskoj funkciji. Rezultati dosadašnjih istraživanja ukazuju na činjenicu da su u regulaciji proliferacije i diferencijacije stanica proizvodi protoonkogeni funkcionalno povezani s čimbenicima rasta, njihovim receptorima i drugim glasnicima koji prenose signale u jezgru. Promjena strukture ili izražajnosti protoonkogeni vodi stvaranju onkogeni funkcionalno uključenih u nastanak i razvoj malignih oboljenja (Tablica 17) (Cline, 1988, 1989; Overell i sur., 1989; Bock i sur., 2007). Onkogeni pritom: a) mijenjaju djelovanje čimbenika rasta, b) povećavaju proliferacijski kapacitet i kapacitet samoobnavljanja hematopoietskih matičnih stanica i progenitora, c) blokiraju ili smanjuju diferencijacijski kapacitet, d) mijenjaju djelovanje čimbenika rasta i odgovor hematopoietskih stanica na njih i e) uzrokuju neovisnost diferencijacije hematopoietskih stanica o egzogenim čimbenicima rasta (autokrini regulacija) (Cline 1988; Overell i sur., 1989).



Slika 13. Hematopoieze; shematski prikaz

Tablica 16. Hematopoietski čimbenici rasta i ciljne stanice krvotvornog tkiva

Naziv citokina	Simbol	Ciljne hematopoietske stanice
Čimbenik stimulacije kolonija granulocita i makrofaga	GM-CSF	Makrofazi, neutrofili, eozinofili, megakariociti, oligopotentni progenitori
Čimbenik stimulacije kolonija granulocita	G-CSF	Makrofazi, neutrofili,
Čimbenik stimulacije kolonija makrofaga	M-CSF	Makrofazi, neutrofili,
Čimbenik stimulacije multipotentnih stanica	Multi-CSF (IL-3)	Makrofazi, neutrofili, eozinofili, bazofilu, megakariociti, pluripotentne matične stanice
Interleukin 1	IL-1	Matične stanice, endotelne stanice, T i B limfociti
Interleukin 2	IL-2	T i B limfociti
Interleukin 4	IL-4	T i B limfociti
Interleukin 5	IL-5	B limfociti, eozinofili
Interleukin 6	IL-6	T i B limfociti, granulociti, multipotentni progenitori
Interleukin 7	IL-7	T i B limfociti
Eritropoetin	Epo	Eritrociti
Interferon α	IFN- α	T i B limfociti, NK stanice
Interferon β	IFN- β	B limfociti, NK stanice
Interferon γ	IFN- γ	NK stanice, B limfociti, endotelne stanice
Transformirajući čimbenik rasta β	TGF- β	NK stanice, T i B limfociti, endotelne stanice, fibroblasti
Čimbenik nekroze tumora	TNF	Makrofazi, T i B limfociti, endotelne stanice, fibroblasti

Tablica 17. Onkogeni u hematološkim neoplazijama

Onkogen	Promjena	Hematološka neoplazija
c-myc	Translokacija	Burkitt-ov limfom, akutna limfocitna leukemija (ALL), T-limfomi
c-abl	Translokacija	Kronična mijeloidna leukemija (KML)
Bcl-1	Translokacija	Kronična limfocitna leukemija (KLL)
Bcl-2	Translokacija	Folikularni B-limfom
Ha-ras N-ras Ki-ras	Mutacija	Akutna mijeloidna leukemija (KML) Akutna limfocitna leukemija (KML) Kronična mijeloidna leukemija (KML)
p53	Translokacija	Kronična mijeloidna leukemija (KML)

STANICE IMUNOSNOG SUSTAVA

Sve stanice imunosnog odgovora nastaju iz pluripotentne matične stanice procesom **mijelopoieze ili limfopoieze**. Limfociti su najvažnije stanice imunosnog sustava. Nositelji su svih vrsta specifične (adaptivne imunosti), lučenjem limfokina aktiviraju ili pojačavaju mehanizme nespecifične (urođene imunosti). Na temelju funkcije i površinskih biljega

razlikujemo tri populacije limfocita nastale procesom **limfopoieze**: B limfociti, T limfociti, limfociti 0 (Slika 14). U primarnim limfatičkim 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, katkada i više godina, pa i cijeli ljudski vijek.

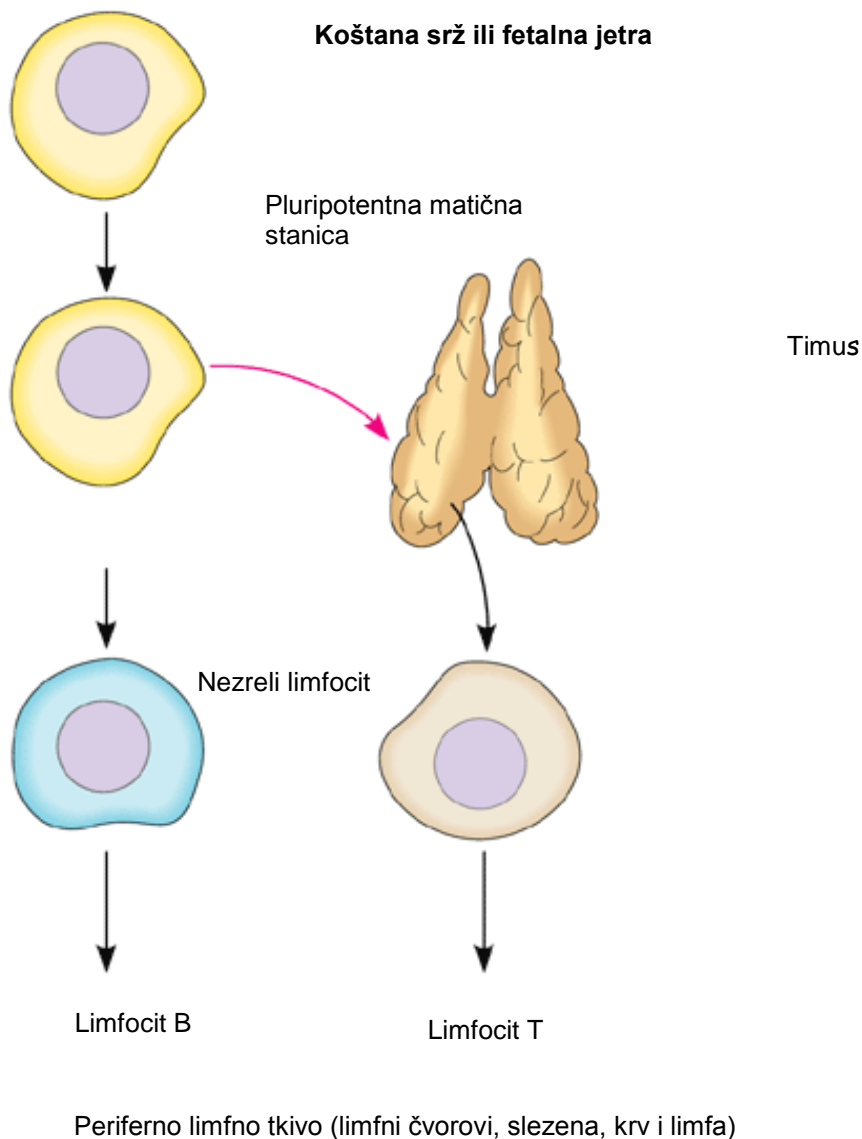
Limfociti, kao i ostale stanice, sadrže brojne površinske molekule-biljege koji se danas mogu prepoznati monoklonskim protutijelima i na temelju kojih možemo razlikovati njihove pojedine skupine, pa postoji i posebna nomenklatura nazvana **CD sustav** (engl. “**cluster designation**”) zasnovana na prepoznavanju membranskih biljega monoklonskim protutijelima, a danas ih je poznato već više od 200. Biljezi pružaju podatke o stanici temeljem biljega osebujnih **za određenu liniju stanica** (primjerice, limfociti T i biljeg CD3), **diferencijacijskih biljega** nazočnih samo u određenom razdoblju sazrijevanja stanice (primjerice, CD1 na nezrelim limfocitima u timusu) i **aktivacijskih biljega**, nazočni samo na stanicama aktiviranim antigenom (prijerice, CD25 receptor za interleukin 2).

Limfociti T

Limfociti T sazrijevaju i diferenciraju se u timusu, nositelji su stanične imunosti (imunskog odgovora posredovanog stanicama). Razlikuju se dvije populacije regulacijske (pomagačke i supresorske) i izvršne (citotoksične) stanice. Njihova osnovna funkcija je prepoznati antigene koje im predočuju druge stanice imunskog sustava. Nakon prepoznavanja antigena, preko **T staničnog receptora** za antigen (engl. “T cell antigen receptor”, TCR), pomoćničke stanice luče citokine kojima potiču više različitih oblika imunskog odgovora, dok citotoksične stanice izravno uništavaju stanicu koja stvara strane antigene (primjerice, stanice zaražene virusima ili unutarstaničnim mikrobima) (Abbas i sur; 2000, Andreis i sur., 2004). Temeljem različitih površinskih biljega razlikujemo četiri subpopulacije limfocita T:

- a) **Pomagački limfociti T** pomažu limfocitima B u proizvodnji protutijela na antigene ovisne o timusu te potiču sazrijevanje precitotoksičnih limfocita T stimuliranih antigenom u citotoksične limfocite T. Na ljudskim pomagačkim stanicama izražen je diferencijacijski antigen CD4. $CD4^+$ limfociti T mogu se dalje podijeliti prema funkciji, t.j. lučenju citokina (**T_H1** i **T_H2**). Limfocit T_H1 izlučuju IFN- γ , IL-2, TNF- β a glavna im je zadaća razvoj stanične imunosti; aktivacija citotoksične limfocita T i makrofaga. T_H2 izlučuje citokine IL-4, IL-5, IL-6, IL-10; potiču proliferaciju, sekundarnu diferencijaciju i lučenje protutijela.
- b) **Citotoksični limfociti T** nastaju iz precitotoksičnih limfocita T nakon stimulacije antigenom. Osobitost im je da izravnim doticajima razore ciljnu stanicu, primjerice stanice transplantata ili tumora, mikroorganizme ili “vlastite promjenjene stanice”. Imaju izražene diferencijacijske antigene CD8 u ljudi.
- c) **Regulacijski limfociti T (Tr)** izlučivanjem topljivih molekula potiskuju imunsku reakciju, posebno proizvodnju protutijela. Koče imunski odgovor djelujući na limfocite T ili izravno limfocite B; važni su u održavanju tolerancije te za sprečavanje autoimunosti i neželjenih reakcija na tuđe antigene (primjerice, alergije). Imaju izražene diferencijacijske antigene CD4, izražen receptor za IL-2 i inhibicijsku molekulu CTLA-4.
- d) **Stanice NK-T-** izražava biljege stanica NK a pripada limfocitima T- $\alpha\beta$ CD4. prepoznaje glikolipidne antigene vezane za molekulu CD1d na predočnim stanicama; obilježje koje zajedno s nedostatkom imunskog memorijskog odgovora svrstava stanice u sastavnice urođene imunosti. Izlučuju proupalne (T_H1) citokine (IFN- γ , TNF- β) i protoupalne (T_H2) citokine (IL-4, IL-10 IL-13) koji imaju

imunoregulacijsko djelovanje. NK-T stanice važne su u regulaciji diferencijacije T_H1 i T_H2 , održavanju tolerancije na vlastite i tuđe antigene (sprečavanje autoimunosti) kao i kontrolu rasta tumora; mogu se ubrojiti u regulacijske ili imunomodulacijske limfocite.



Slika 14. Razvoj limfocita; shematski prikaz

Sazrijevanje T-limfocita

Prastanice limfocita T iz koštane srži ulaze u subkapsularno područje timusa pod utjecajem različitih kemotaktičkih signala. Ove stanice ne sadrže obilježja stanica T ali izražavaju membranske **adhezijske molekule (CD34, i CD44)** i receptor za čimbenik rasta matičnih stanica (**CD117**). U jezgri stanica nazočan je enzim **terminalna deoksinukleotidil-transferaza (TdT)** bitna u procesu sazrijevanja stanica i u preuređenju gena za antigenski receptor (engl. T cell antigen receptor, TCR). Tijekom sazrijevanja T-limfocit postaje

spregnut na vlastito (prepoznaje samo antigen predočen u sklopu vlastitih MHC molekula) i tolerantan na vlastito. Sazrijevanje obuhvaća promjene u izražavanju biljega na površini stanice. Najvažniji površinski biljezi timocitne populacije su **CD4, CD8, T- signalnu molekulu CD3**. Najranije populacije nemaju izražene površinske biljege. Takve stanice se nazivaju **dvostruko negativni timociti**. U tom stadiju timociti izražavaju receptor za IL-2 (CD25) i proizvode proteine RAG-1 i RAG-2 kodirane RAG genima (engl. Recombination-activating genes) odgovorne za aktivaciju procesa genske rekombinacije tj. preuredbu gena za lance TCR. Od takvih prekursora nastaju dvije linije T-stanica. Manja populacija $\gamma\delta$ **T-limfociti**, kojima nedostaju CD4 i CD8 i nakon sazrijevanja te veća populacija $\alpha\beta$ **T-limfociti**. Razvoj veće populacije se nastavlja izražavanjem CD4 i CD8 biljega i nazivamo ih **dvostruko pozitivni timociti**. Većina ovih stanica nose receptore koji ne prepoznaju vlastite MHC molekule te padaju na pozitivnoj selekciji i umiru programiranom staničnom smrću – apoptozom. One stanice koje prepoznaju vlastiti MHC prolaze pozitivnu selekciju, dijele se, sazrijevaju te izražavaju visoku razinu površinskih biljega. Na kraju ovog procesa se stvaraju jednostruko pozitivni timociti te izlaze iz timusa kao zrele CD4 i CD8 stanice (Janeway i sur., 2003). **Limfociti T - $\gamma\delta$** ne izražavaju koreceptore CD4 i CD8 i napuštaju timus bez procesa selekcije. Varijabilnost ovog receptora je manja, prepoznaju antigene vezane za CD1 a ne MHCI. Naseljavaju epitel probavnog sustava (**intraepitelni limfociti**).

Receptori limfocita T

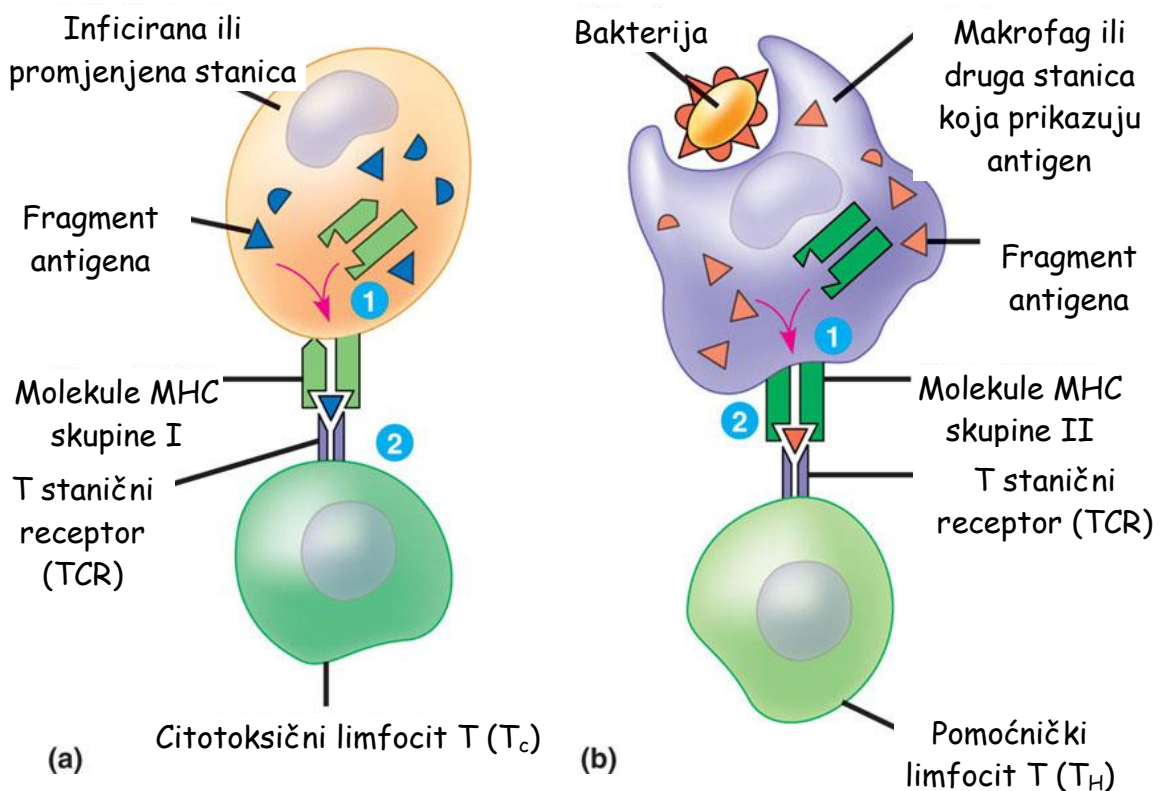
Receptor limfocita T sastoji se od: **idiotipskog (klonotipskog) receptora TCR** (polimorfan i različit za klonove limfocita T), **kompleksa glikoproteina CD3** (ista molekula za sve klonove limfocita T), te **glikoproteina CD4/CD8** (osobitost pojedinih subpopulacija limfocita T). Dvije su vrste TCR: 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 površini preostalih 5-10% limfocita T. Oba su receptora povezana s kompleksom sastavljenim od pet polipeptida, biljegom CD3.

TCR-receptor je proteinski dimer, sastoji se od **dva različita polipeptidna lanca: α i β** . Relativna molekulska masa svakog lanca je 40-50 k Da. Lanci se sastoje od: a) kratkog citoplazmatskog dijela (20-30 aminokiselina), b) transmembranskog dijela (15-20 aminokiselina), c) izvanstaničnog dijela.

Izvanstanični dio svakog lanca se sastoji od jedne konstantne i jedne varijabilne regije (oko 90, odnosno 87 aminokiselina). Unutar lančane disulfidne veze stvaraju po dvije domene (oko 60 aminokiselina) unutar svakog lanca. Jedna je domena konstantna, druga varijabilna. Izvanstanični dijelovi lanca su međusobno spojeni jednom disulfidnom vezom. TCR-receptor je član “obitelji” imunoglobulinskih molekula kojoj pripadaju i molekule MHC-I i II, antigeni CD4 i CD8, receptori za fragment Fc i dr.

Kompleks molekula CD3 čine najmanje lanci (γ, δ, ϵ), te lanci ξ, η svaki molekulske mase od 20-25 k Da, koji su povezani nekovalentnim vezama s konstantnom regijom receptora TCR, a služe za prijenos signala u stanicu nakon vezanja antigena (Kuby, 2007).

Glikoproteini CD4 i CD8 odvojeni su na membrani od kompleksa CD3 i receptora TCR. **CD4 nalazi se na pomagačkim limfocitima T i prepoznaje tkivne antigene skupine II, a CD8 na citotoksičnim i supresorskim limfocitima T te prepoznaje tkivne antigene skupine I** (Slika 15).



Slika 15. Limfociti T; shematski prikaz

Limfociti B

Limfociti B sazrijevaju u Bursi Fabricii u ptica, odnosno koštanoj srži u sisavaca, nositelji su humoralne imunosti (imunskog odgovora posredovanog protutijelima). Receptori antigena, vezani za njihovu membranu, kada dođu u doticaj s antigenom aktiviraju niz procesa unutar stanice koji u konačnici rezultiraju aktivnim stvaranjem protutijela (Abbas i sur; 1994.). **Imunoglobulini su specifični receptori za antigen** (engl. B-cell antigen receptor, BCR), antigenski biljezi limfocita B u čovjeka i gotovo svih životinjskih vrsta). Većina ljudskih limfocita B nosi membranski IgM i IgD, a manjina imunoglobuline preostalih razreda IgG, IgA i IgE. Određena mjesta u tijelu, primjerice sluznice crijeva ima nazočne limfocite B s površinskim IgA. Obzirom da je membranski odsječak receptora limfocita B kratak kao signalne molekule receptora limfocita B služi heterodimerna molekula sastavljena od 2 polipeptidna lanca **Ig- α** i **Ig- β** (CD79 α i CD79 β)-**B stanični receptorski kompleks**. U citoplazmatskom dijelu Ig- α i Ig- β nazočni aktivacijski slijedovi ITAM (engl. Immunoreceptor tyrosine-based activation motif), nužni za pokretanje signala. Na površini limfocita B postoje i brojni drugi biljezi, pa većina zrelih stanica posjeduje: a) antigene MHC-II (engl. MHC-major histocompatibility complex) važne za suradnju s limfocitima T; b) receptore za komponente komplementa C3b i C3d (CR1 i CR2); c) receptore za Fc-fragment imunoglobulina G (Fc γ R2); d) **koreceptorske molekule limfocita B**, površinske biljege **CD19, CD21 i CD81** koje dodatno pojačavaju signal stanica B (Kuby, 2007). Antigeni MHC-II (engl. MHC-major histocompatibility complex), nazočni su i na nekim subpopulacijama limfocita T, monocitima makrofagima, neutrofilima te predočnim stanicama.

Sazrijevanje B-limfocita

Sazrijevanje limfocita B odvija se u primarnim i sekundarnim organima imunskog sustava. U primarnim organima unaprijed je programiran slijed događaja, neovisan o podraživanju antigenom, dok je sazrijevanje u sekundarnim organima ovisno o antigenu i podložno regulaciji T-limfocita. Možemo razlikovati sedam **stadija sazrijevanja limfocita B: pro-B-stanica, pre-B-stanica, nezreli, zreli, usmjereni i memorijski limfocit B, te plazma-stanica** (Burrows i sur., 1991).

U primarnom limfatičkom organu praroditeljska stanica počinje preslagivati V, J, D gene za teški lanac (μ) IgM i nastaje pro-B-stanica. U sljedećem stadiju pre-B-stanica je presložila gene i sintetizira lanac μ . Nakon sinteze lakih lanaca na površini se pojavljuju monomerne molekule IgM-nastaje nezreli limfocit B. Daljnje sazrijevanje odvija se u perifernim limfatičkim organima, ovisno je o naglašenosti antigena i suradnji pomagačkih limfocita T. Najprije nastaje na površini stanice molekula IgD, a pod utjecajem limfocita T i njihovih citokina zbiva se tzv. **gensko prekapčanje** te se na površini izražavaju i drugi razredi imunoglobulina IgG, IgA, IgE umjesto IgM. Istodobno limfociti B prelaze u limfoblaste, prolaze niz diferencijacijskih dioba i nazivaju se plazma stanice ili pak stanice koje pamte. Plazma stanice ne izražavaju površinske imunoglobuline, a stanice koje pamte stanice izražavaju povećanu gustoću imunoglobulinskog receptora. Osnovne zadaće pojedinih imunoglobulina pokazuje Tablica 18.

Receptor limfocita B

Receptor za antigen limfocita B je **imunoglobulin**. Osnovnu građu imunoglobulina čine **dva teška i dva laka polipeptidna lanca**, koji se razlikuju po broju aminokiselina (laki lanci su sastavljeni od 220, a teški od 440 aminokiselina). Dvije su vrste **lakih lanaca (k 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 . Trodimenzijalno, molekula imunoglobulina ima oblik slova Y. Lanci su međusobno povezani disulfidnim mostovima u osnovnu četveročlanu jedinicu. Molekule nekih razreda protutijela su sastavljene od više osnovnih jedinica, primjerice IgM od 5, a IgA od 2,3 ili 4 jedinica.

Molekula protutijela se sastoji od dva funkcionalno i topološki različita dijela. Jedan dio protutijela, ulomak **Fab**, obavlja funkciju prepoznavanja, odnosno specifičnog reverzibilnog vezanja s antigenom, a drugi, ulomak **Fc** ima efektorsku funkciju, aktivira obrambene mehanizme i određuje biološka svojstva. Fab fragmenti vežu dvije molekule antigena.

Laki lanci (k i λ) imaju dvije domene, konstantnu i varijabilnu. Teški lanac imunoglobulina sadržava jednu varijabilnu domenu i tri (IgE, IgA, IgD), odnosno četiri (IgM, IgE) konstantne domene. Varijabilne domene lakog i teškog lanca formiraju paratop-vezno mjesto za antigen. Disulfidne veze unutar domena te pojedinih lanaca daju postojanost imunoglobulinskoj molekuli.

Razvoj limfocita B odnosi se na najbrojniju skupinu limfocita B nazvanu **limfociti B2** koji su nositelji humoralne adaptivne imunosti. Druga subpopulacija limfocita B- **limfociti B1** nazočni u krvi i perifernim limfnim organima (5-10%) nosi biljeg stanica T CD5. ove stanice nastaju u fetalnoj jetri prije nastanka limfocita B2, imaju sposobnost samoobnove (B2 odumiranjem se nadomještaju sazrijevanjem matičnih stanica koštane srži), ograničenu varijabilnost antigenskog receptora, nema genskog prekapčanja, izražavaju samo IgM, imaju više IgM receptora od B2 ali ne izražavaju IgD, ne stvaraju memoriju. B1 limfocite zovemo **prirodna protutijela**, nositelji su urođene imunosti u trbušnoj pleuralnoj šupljini.

Tablica 18. Funkcija imunoglobulina

Razred	Mjesto djelovanja	Izvršna funkcija
IgG (γ 1-4)	Krv, intersticijska tekućina, prijenos kroz placentu	Reagira s bakterijskim toksinima-neutralizacija, opsonizacija, aktivacija komponenti komplemента, neonatalna imunost
IgM (μ)	krv	Aktivacija komponenti komplemента, aglutinacija
IgA (α 1,2)	slina, suze, mlijeko, proizvod lokalnih epitelnih stanica nosa, bronha i mokraćnošpolnog sustava	Neutralizacija na mukoznim površinama, neonatalna imunost
IgE (ϵ)	Subkutano, submukoza	Senzibilizacija mastocita, aktivacija eozinofila
IgD (δ)	Površina stanica B	Receptor za antigen i aktivaciju stanica B

Limfociti 0

Limfociti 0 imaju sposobnost ubijanja ciljnih stanica, ali nemaju izražene specifične receptore za antigen te je ubijanje ciljnih stanica nespecifično. Dije se na stanice ubojice ili **K-stanice (engl. killer)** i prirodne ubojice ili **NK-stanice (engl. natural killer)**. Njihovi mehanizmi citotoksičnosti važni su u otpornosti organizma na maligne tumore i viruse. U perifernom optoku čovjeka čine oko 15% limfocita, ne posjeduju receptore za antigene stanica T i B (TCR, BCR. Od površinskih biljega obilježava ih nazočnost biljega CD16 (receptor za Fc- ulomak IgG, Fc γ RIII) i CD56 (neutralna adhezijska molekula, N-CAM). Stanica NK i morfološki se razlikuje od 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 osobitostima ove stanice nazivaju i velikim granuliranim limfocitima (VGL). Glavna zadaća stanica NK jest razaranje (liza) ciljnih stanica i izlučivanje citokina kojim reguliraju upalni odgovor na zarazu. Aktiviraju se prepoznavanjem tri vrste ciljnih stanica: 1) stanicama obloženim protutijelima, 2) stanicama inficiranim virusima i nekim unutarstaničnim bakterijama, 3) stanicama bez molekule MHC-I. Mehanizam razaranja temelji se na izravnom dodiru, tj. prirodnoubilačkom aktivnošću i **citotoksičnoj reakciji ovisnoj o protutijelima (engl. antibody-dependent cellular cytotoxicity, ADCC)** koju omogućuje receptor za Fc ulomak IgG. IL- 2 i posebice IFN- α dovode do aktivacije i proliferacije NK stanica te preobrazbe u stanice **LAK (engl. Lymphokine activated killer)**. Aktivnost NK stanica reguliraju citokini, uglavnom IL-12 i IL-15.

Fagocitne stanice

Stanice mijeloidne linije čine: fagocitne stanice (granulociti, monociti-makrofagi, stanice za predočavanje antigena) i **posredničke stanice** (mastociti, bazofili, i trombociti). Granulocitnu lozu stanica čine neutrofili, eozinofili, i bazofili.

Fagocitne stanice nastaju procesom mijelopoieze. Dva su temeljna tipa fagocitnih stanica:

a) **Granulociti** (polimorfonuklearni leukociti, engl. polymorphonuclear leukocytes), a uključuju neutrofile, eozinofile i bazofile.

b) **Mononuklearni leukociti**, uključuju monocite i tkivne makrofage

Fagociti su posrednici nespecifične imunosti čiji je najvažniji mehanizam odstranjivanje stranih čestica iz organizma–fagocitoza (proždiranje). Fagocitne stanice su jedne od prvih stanica koje dolaze u dodir sa stranim antigenom s posebnim obilježjima: **dijapedeza** (protiskivanje kroz pore i kroz endotel krvnih žila), **ameboidno kretanje** (kemotaktički uvjetovano, brzina oko 40 $\mu\text{m}/\text{min}$), **kemotaksija** (pomoću kemotaktičkih tvari, primjerice, histamina, serotonina, prostaglandinska kiselina i dr.), **fagocitoza** (proždiranje stranih čestica, obilježje monocita-makrofaga, neutrofila i eozinofila) a imaju sposobnost **izlučivanja različitih citotoksičnih tvari** te djeluju i kao **antigen-predočne stanice** (Kuby, 2007). Stoga ih se, uz monocite/makrofage, naziva “profesionalnim fagocitima” jer je fagocitoza osnovni način kojim obavljaju svoje zadaće (Slika 16). Fagocitne stanice imaju sposobnost oslobađanja različitih hidrolitičkih enzima, izlučuju reaktivne posrednike kisika i dušika te mnoge citotoksične tvari kojima pospješuju upalu. Granulociti jesu najbrojnije stanice u procesu upale. Fagocitoza (proždiranje) stranih, mrtvih, promijenjenih ili nepoželjnih stanica i čestica je glavni izvršni mehanizam temeljen na: (1) privlačenju (kemotaksija), (2) vezanju čestice na površinu fagocita (adherencija), (3) ulaženju čestice u fagocit (proždiranje-ingestija), i (4) ubijanje čestice, tj. njena razgradnja (mikrobicidnost, digestija). Fagocitoza zapravo započinje vezanjem čestice na površinu fagocita, najčešće hidrofobnim privlačenjem ili fizičkokemijskim mehanizmom Van der Waalsova tipa privlačenja, te, znatno rjeđe, elektrostatskim privlačenjem, te napokon vezivanjem na receptor. 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 - lizosoma što sadrže hidrolitičke enzime, pa nastaje fagolizosom a fagocitna granula se gube i to nazivamo degranulacijom. Tako se ingestirana čestica, primjerice 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** (Male i sur., 2006). 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 kelatiziranjem 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 težine 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. Stvara i organske kloramine (R-NCl) koji su slabiji oksidirajuće tvari, ali su 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.

Uz nabrojane mehanizme posjeduju i izvanstanične mehanizme kojima izravno mogu uništiti ciljne stanice. Proizvode se u koštanoj srži brzinom od oko 80 milijuna u minuti i žive kratko, u prosjeku 2-3 dana. Igraju važnu ulogu u akutnoj upali, obično zajedno s protutijelima i komplementom. Fagociti posjeduju receptore za Fc ulomak IgG i komponentu komplemeta C3 koji mogu vezati i neopsonizirane čestice iz plazme koje na sebe nespecifično adsorbiraju IgG i, dakako, opsonizirane čestice s imunoglobulinima ili komponentama komplemeta.

Od površinskih biljega posjeduju brojne 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-ulomak IgG (Fc γ R). Obzirom na bojenje razlikuju se neutrofilni, eozinofilni i bazofilni granulociti.

Monociti-makrofagi

Monociti-makrofagi su stanice s višestrukom ulogom; izlučuju i stvaraju brojne aktivne tvari kojima utječu na tijek imunodne reakcije, djeluju na tumorske stanice i sudjeluju u upalnoj reakciji i obnovi oštećenog tkiva (Slika 17). Nastaju iz višestrukoproizvodne matične stanice koštane srži (Van Furth 1985). Nastanak, smještaj i nazive prikazuje Tablica 19. Na površini makrofaga su gotovo svi receptori za izlučevine (citokine) drugih tjelesnih stanica s kojima surađuju u imunodnoj reakciji.

Osnovna biološka uloga makrofaga jest fagocitoza odnosno proždiranje stranih čestica. Ovom djelatnošću uklanjaju iz organizma patogene mikroorganizme i druge strane tvari organskog i anorganskog podrijetla. U tom smislu djeluju na tumorske stanice i isluženo i oštećeno tkivo (Nathan i sur., 1980; Van Furth 1980; 1985). Ulogu "čistača" u organizmu makrofagi uspješnije obavljaju od polimorfonuklearnih leukocita (osim vanstaničnih mikroorganizama), ponajviše zahvaljujući sposobnosti obnavljanja energijskih zaliha. Fagocitoza je osnovni oblik nespecifične obrambene reakcije organizma, svojstven beskralješnjacima i kralješnjacima. U tu "neimunodnu fagocitozu" u kralješnjaka mogu se uključiti protutijela i limfociti T te je učiniti uspješnijom. Limfociti T djelovanjem limfokina aktiviraju makrofage u specifičnoj reakciji s antigenom dok pomoću protutijela, "uhvaćeni" antigen makrofag lakše fagocitira. Jednaku ulogu imaju makrofagni receptori za pojedine sastojke komplementskog sustava koji nastaju u imunokompleksima antigena i protutijela (Wright i sur., 1985; Naglič i Hajsing, 1993). Makrofagi sudjeluju i u specifičnoj imunodnoj reakciji, predočavanjem antigena limfocitima i lučenjem IL-1 pospješuju reakciju limfocita T i B. Limfociti T izlučivanjem limfokina mogu dodatno stimulirati fagocitne stanice te pojačati učinak fagocitoze i mehanizme citotoksičnosti. Makrofagi imaju ulogu u regulaciji imunodne reakcije.

Sekretorna uloga makrofaga odnosi se na tvorbu brojnih biološki aktivnih tvari proteinske građe te je njihovo izlučivanje spontano ili na poticaj fagocitirane tvari (Nathan, 1987) Monociti-makrofagi stvaraju i luče više od 75 molekula, kojima djeluju na okoliš. U svim stadijima aktivacije makrofagi luče komponente komplementa i lizozim, kao i proteine plazme, enzime, reaktivne metabolite kisika, metabolite nukleotida, lipide, prostaglandine, citokine (IL-1, interferon α , TNF) i dr. biološki aktivne komponente. Izlučenim enzimima, citokinima (monokinima) i drugim tvarima makrofagi sudjeluju u upalnoj reakciji, aktiviranju limfocita, razaranju bakterija i tumorskih stanica (Takemura i Werb, 1984).

Osobitosti makrofaga

Makroifagi se svrstavaju u sustav mononuklearnih fagocita s temeljnom zadaćom: (1) fagocitozom i (2) predočavanjem antigena i (3) imunoregulacijom. Nastavši iz mijeloidnog progenitora u koštanoj srži, monociti odlaze u krvotok, a otuda u organe i tkiva prelazeći 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. Posjeduju brojne površinske biljege, između ostaloga receptore za Fc-fragment IgG (Fc γ RI ili CD64, Fc γ RII ili CD32, i Fc γ RIII 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. Monociti u cirkulaciji se zadržavaju 1 – 4 dana, potom napuštaju cirkulaciju, transformiraju se u makrofage i migriraju u različita tkiva (vezivno tkivo, limfni čvorovi, krv). U tkivu makrofagi su nazočni kao pokretne (slobodne) ili nepokretne (fiksne) stanice.

Slobodne stanice nalazimo u peritonealnoj i pleuralnoj šupljini, plućnim alveolama, koštanoj srži te u manjem broju u slezeni i limfnim čvorovima, dok nepokretne makrofage nalazimo u slezeni, limfnim čvorovima, jetrima i potkožnom tkivu (Andreis i sur., 2004.)

Tablica 19. Stanice mononuklearnog fagocitnog sustava u normalnom tkivu i upali.

Stanice	Lokalizacija
Matične stanice	Koštana srž
Monoblasti	Koštana moždina
Promonociti	Koštana moždina
Makrofagi	Tkiva
Normalni, slobodni	
Histiociti	Vezivna tkiva
Alveolarni makrofagi	Pluća
Pleuralni i peritonejski makrofagi	Serozne šupljine
Normalni, fiksni	
Kupfferove stanice	Jetra
Osteoklasti	Kosti
Stanice mikroglije	Živčani sustav
Sinovijske stanice	
Stanice tipa A	Zglobovi
U tkivu fiksni makrofagi	Slezena
	Limfni čvorovi
	Koštana moždina i druga tkiva
Upala	
Makrofagi eksudata	Svako tkivo
Aktivirani makrofagi	Svako tkivo
Potaknuti makrofagi (inducirani)	Svako tkivo
Epiteloidne stanice	Svako tkivo

Preuzeto iz Van Furth (1980).

Uloga makrofaga

Osnovne funkcije makrofaga u imunskim reakcijama su fagocitoza, sekrecija i regulacija imunosti te predočavanje antigena.

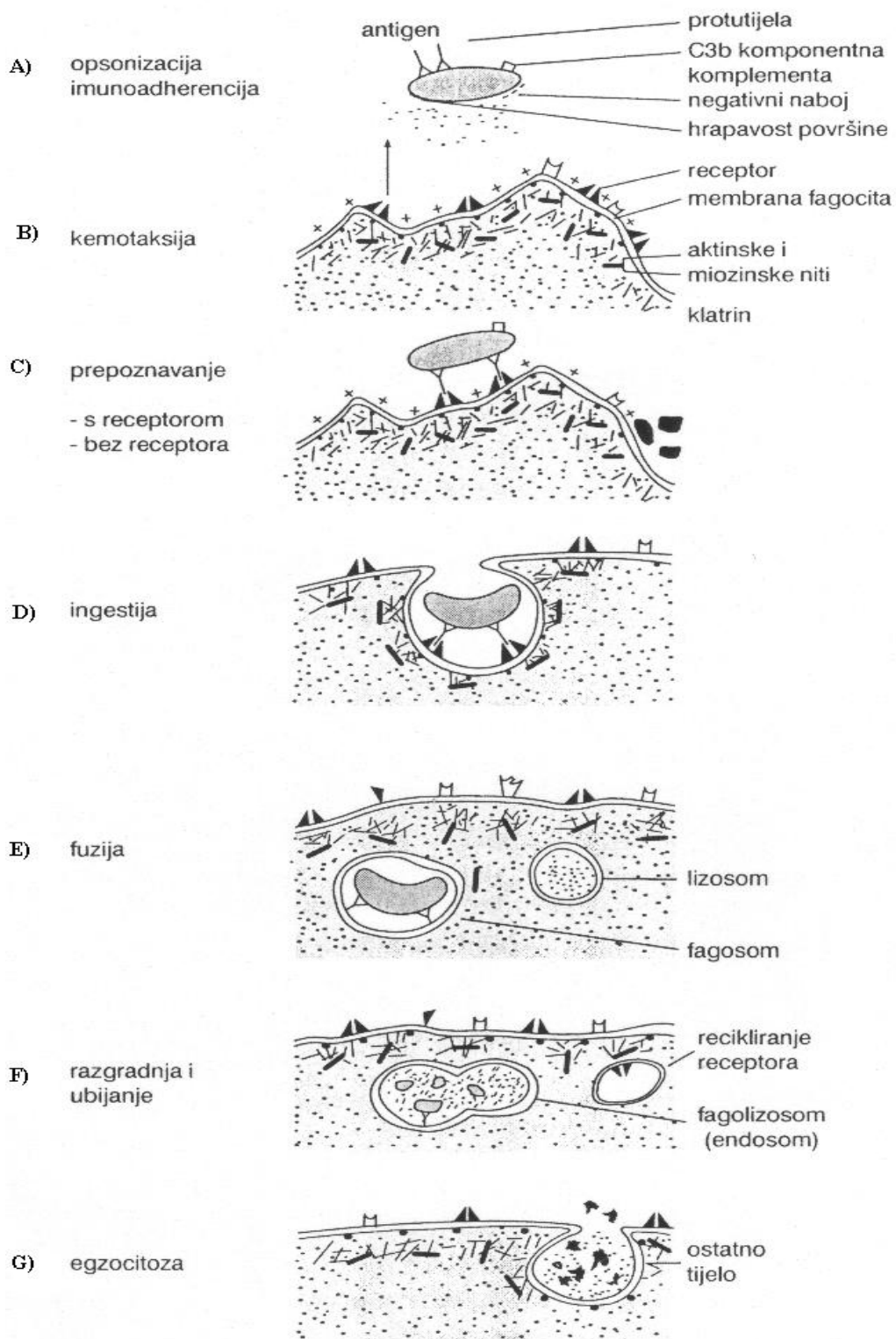
Fagocitoza

Fagocitoza je osnovni oblik nespecifične obrambene reakcije u organizmu (Male 2006). Možemo je opisati kao osnovni proces "proždiranja" većih, čvrstih i netopljivih čestica (Slika 14). Sposobnost fagocitoze omogućava makrofagima uklanjanje patogena iz organizma. Osim različitih čestica, makrofagi mogu fagocitirati čitave tumorske stanice, kao i stanice vlastitog oštećenog tkiva.

Proces fagocitoze sastoji se od nekoliko uzastopnih koraka: kemotaksije, prepoznavanja cilja, proždiranja, spajanja s lizosomima i konačno razgradnje (Andreis i sur., 2004).

Uz pomoć sposobnosti kemotaksije, makrofagi mogu prepoznati odgovarajući kemijski gradijent i odgovoriti na njega usmjerenim kretanjem (pozitivnom ili negativnom kemotaksijom). Kemotaktički na makrofage mogu djelovati različite tvari: dijelovi komplementa nastali njegovom aktivacijom, bakterijski proizvodi, neki limfokini, leukotrieni, prostaglandini te sekreti samih fagocita, medijatorskih stanica i tumorskih stanica.

Svoj cilj makrofagi prepoznaju na specifičan način. To je pasivan proces koji uvelike ovisi o kakvoći površine, površinskoj napetosti, električnom naboju čestice, temperaturi, stupnju kiselosti i ionske jakosti okoliša. Makrofagi svoj cilj mogu prepoznati uz posredovanje površinskih receptora za ulomak Fc protutijela ili C3b komponente komplementa (**opsonizacija**) ili bez njih. Nakon što makrofag prepozna svoj cilj, slijedeći korak je proždiranje antigena (fagosom) te njegova razgradnja pomoću lizosoma u fagolizosomima. Aktivirani makrofagi u svoj okoliš izlučuju različite tvari koje kao što su lizozimi, kisele hidrolaze, komponente komplementa i druge, te čimbenike koji potiču proliferaciju matičnih stanica koštane srži kao i tvari koji sudjeluju u zgrušavanju krvi. Dio fagocitiranih antigena izlaže se na membrani makrofaga i tako makrofag služi kao predočna stanica za T limfocite čime započinju reakcije specifične imunosti.

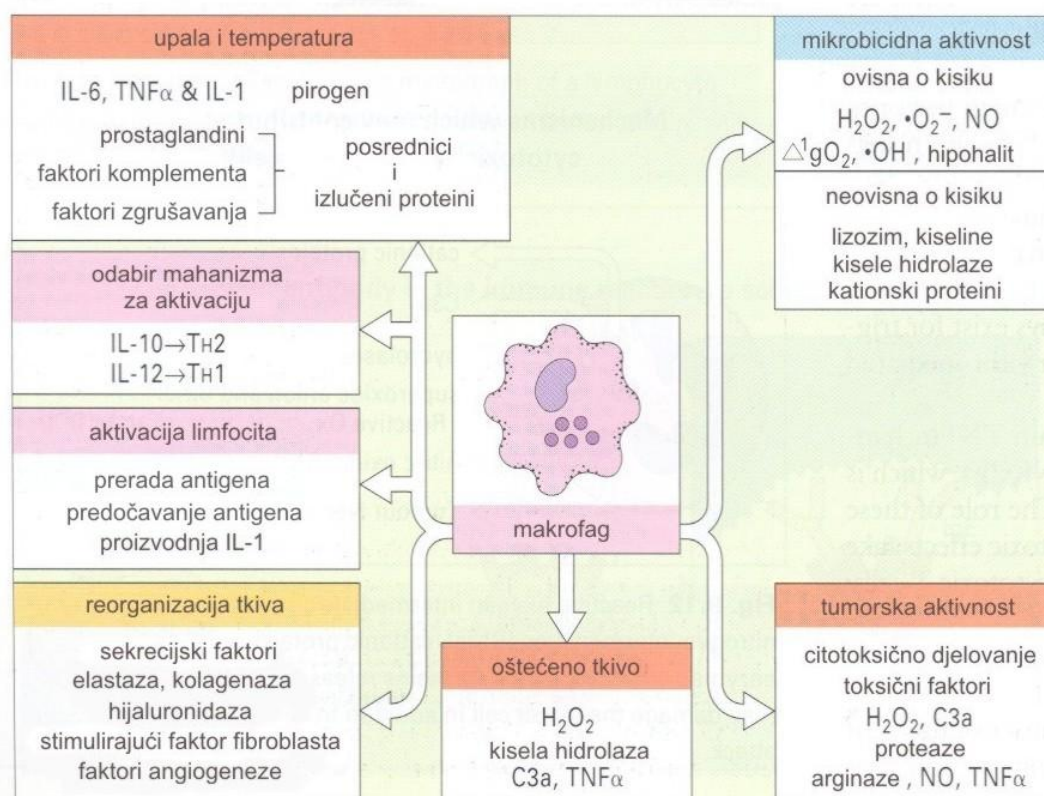


Slika 16. Shematski prikaz fagocitoze u pojedinostima*. A) Opsonizacija i imunoaderencija; B) Kemotaksija; C) Prepoznavanje; D) Ingestija; E) Fuzija; F) Razgradnja i ubijanje; G) Egzocitoza.

* Preuzeto iz Andreis i sur., (2004)

Sekrecija

Osim što reagiraju na kemijske tvari u svojem okolišu, makrofagi imaju sposobnost izlučivanja različitih molekula u okoliš; izlučuju više od 75 različitih molekula (Tablica 20). Osnovna skupina njihovih proizvoda su citokini. Od citokina ističu se TNF- α (engl. tumor necrosis factor α), interleukin-1 (IL-1), IL-6, IL-8 i IL-12 te α i β interferone (Takemura i Werb 1984; Elgert i sur., 1998; Male, 2006). Uz citokine, makrofagi izlučuju kemokine, prostaglandine, leukotriene, komponente komplekta, protein koji veže manozu i proteine akutne faze. Aktivirani makrofagi, nakon fagocitoze ili nekih drugih podražaja mogu izlučivati lizosomske enzime te intermedijere kisika i dušika koji pospješuju nastanak upale (Nathan, 1987). Sami makrofagi su kadri proizvesti određene citokine, koji imaju ulogu medijatora urođene imunosti i stimulatora stanica T, primjerice makrofagi u reakciji s bakterijama luče proupalne citokine (IL-1, IL-6, IL-8 i IL-12) te TNF- α koji igraju ključnu ulogu u razvoju upale .



Slika 17. Uloga makrofaga u imunonosnom sustavu.* Makrofagi i njihovi proizvodi su važni u pobuđivanju upale i u reorganizaciji tkiva te njegovopopravka. Efektorne funkcije makrofaga su prikazane na desnoj strani slike. Makrofagi mogu izazvati tkivna oštećenja kao što je odgođena hipersenzitivnost.

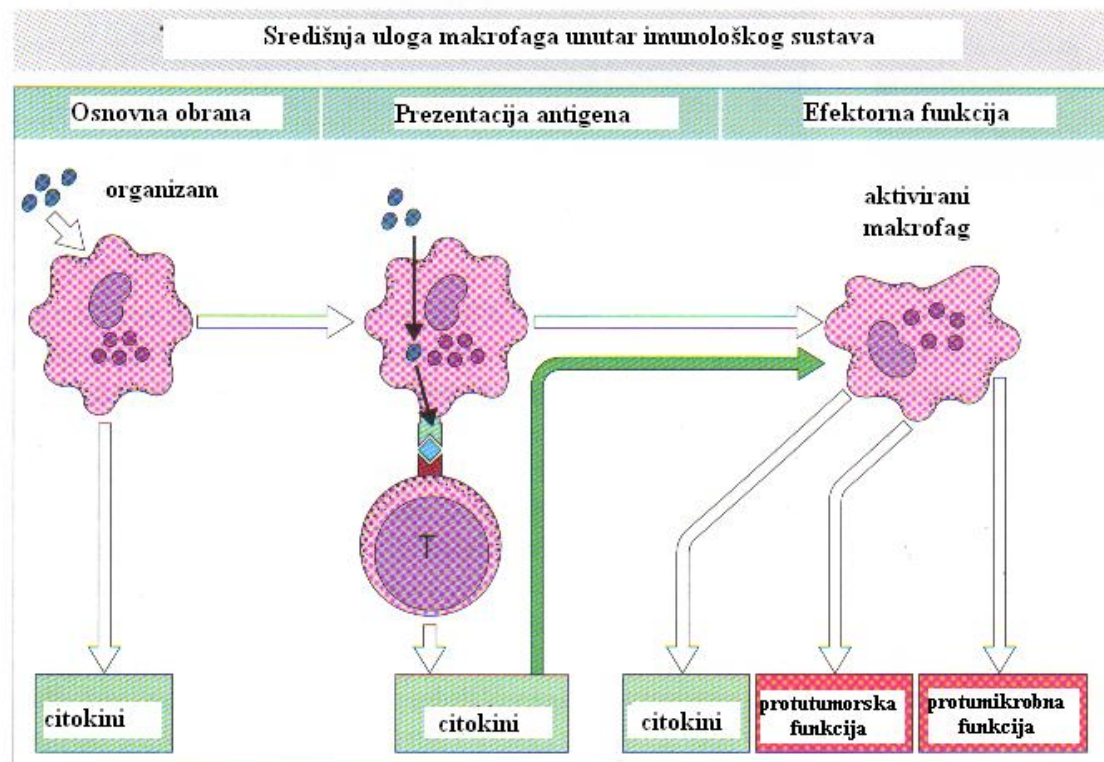
*Preuzeto od Roitt (2001)

Tablica 20. Proizvodi makrofagne sekrecije

Enzimi	Bioaktivni lipidi
Neutralne proteinaze Aktivator plazminogena Elastaza ovisna o metalu Kolagenaza specif. za intersticijske kolagene (tip I, II, III) Kolagenaza specif. za kolagen bazalne membrane Kolagenaza specif. za pericelularni kolagen (tip V) Stromelizin Citolitička proteinaza Arginaza Lizozim Lipoproteinska lipaza Angitenzin konvertaza Kisele hidrolaze Proteinaze i peptidaze Glikozidaze Fosfataze	Prostaglandin E ₂ 6- ketoprostaglandinF _{1α} Tromboksan B ₂ Leuktrijen C 12-hidroksieikosatetranoična kiselina
Proteini plazme	Čimbenici koji reguliraju funkcije stanica
α ₂ -makroglobulin Inhibitor α ₁ -proteinaze Inhibitor metaloproteinaze (u tkivu) Fibronektin TranskobalaminII Apolipoprotein E Koagulacijski proteini Tkivni tromboplastin Faktor V Faktor VII Faktor IX Faktor X Komponente komplementa C1, C2, C3, C4, C5 Properdin Faktor B, Faktor D, Faktor I, Faktor H	Interleukin 1 Čimbenik angiogeneze Interferon Čimbenici koji potiču proliferaciju: Fibroblasta Stanica endotela T-stanica B-stanica Prekursora mijeloidnih stanica Čimbenici koji inhibiraju proliferaciju: Tumorskih stanica <i>Listeria monocytogenes</i> Eritropoitein
Reaktivni metaboliti kisika	Metaboliti nukleotida
Suproksudni anioni Vodikov peroksid Ostali	cAMP Timidin Uracil Mokraćna kiselina

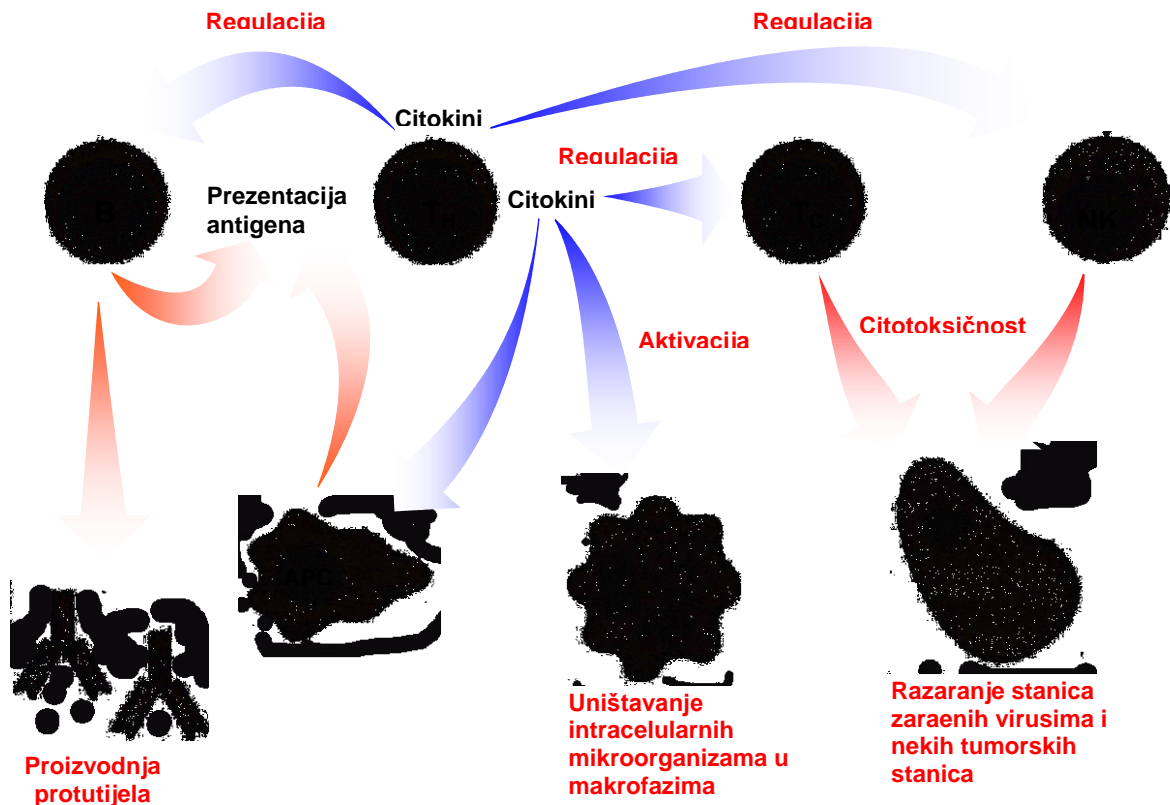
Regulacija imunonosnog odgovora

Brojne osobitosti i sposobnosti makrofaga imunostni sustav koristi i u reakcijama specifične imunosti (Slike 17-19). Jedna od takvih sposobnosti je predočenje antigena limfocitima (Kuby, 2007). Tijekom fagocitoze, makrofag ne razgradi sav antigen već njegov imunogenični dio predočava na vlastitoj membrani. Predočene antigene prepoznaju pomoćničke T stanice koje zatim izlučuju citokine. Svojim citokinima pomoćničke T stanice mogu aktivirati druge T stanice, B limfocite i potaknuti makrofage na fagocitozu. Na taj način, makrofagi izlučivanjem većeg broja citokina i predočavanjem antigena stanicama T i B sudjeluju u specifičnom imunološkom odgovoru te mogu pojačati imunološku reakciju i osigurati učinkovito uklanjanje uzročnika bolesti ili upale (Slike 17-19).



Slika 18. Uloga makrofaga unutar imunonog sustava.* Makrofagi sudjeluju u osnovnom (prvotnom) odgovoru na infekciju prije aktivacije stanica T i B. Djeluju kao antigen predočne stanice i u konačnici, nakon odgovora stanica T na antigene, otpuštaju citokine koji aktiviraju makrofage.

*Preuzeto iz Roitt (1998.)



Slika 19. Mehanizmi regulacije imunosne reakcije

Dušikov oksid

Dušikov oksid je mala, vrlo nestabilna i potencijalno toksična molekula. Taj anorganski plin mogu sintetizirati različite vrste životinja, ali i ljudi. U organizmu ima ulogu biološkog glasnika i na taj način sudjeluje u neuroprijenosu, gdje sudjeluje kao jedan od glasnika, kontroli krvnog tlaka, zgrušavanju krvi te je i važan sudionik imunosnog odgovora na tumore i unutarstanične parazite (Moncada i sur., 1991; 1992; Feldman i sur., 1993; Elgert i sur., 1998).

Dušikov oksid je plin topljiv u vodi i lipidima. U vodi reagira s kisikom i stvara reaktivne međuproizvode kao što su: stabilni anioni NO_2^- i NO_3^- , nestabilni oksidi N_2O_3 te nestabilni peroksidi ONOO^- . Pri nižem pH, akumulirani nitriti mogu prelaziti u dušičnu kiselinu koja ponovno reverzibilno može oslobađati NO. Mnogi od ovih oblika javljaju se nekoliko sekundi nakon što se aktivira dušik oksid sintaza (MacMicking i sur., 1997; Muijsers i sur., 1997).

Obzirom da većina dušikovog oksida oksidira u nitrate (NO_3^-) i nitrite (NO_2^-) koncentracija tih aniona koristi se za mjerenje koncentracije dušikovog oksida (Radomski, 1995).

Dušikov oksid može vrlo lako difundirati s mjesta otpuštanja te se širiti u više različitih smjerova. Kako bi se kontrolirala njegova aktivnost važno je regulirati procese njegove sinteze. Molekularna reaktivnosti i veličina molekule dušikovog oksida pokazuju da je njegova aktivnost uglavnom rezultat njegovih kemijskih svojstava, a ne molekulskog oblika (Feldman i sur., 1993).

Svojstva dušikovog oksida

Dušikov oksid u organizmu nastaje kao proizvod oksidacije aminokiseline L-arginin uz pomoć 3 različite izoforme NO-sintetaze. U sisavaca su nazočne tri vrste NO-sintaza koje su kodirane genima. One se dijele u dvije skupine: konstitutivne (cNOS) i inducibilne (iNOS).

Konstitutivne dušik-oxid sintaze nalazimo kao NOS1, koja se klonira u neuronima mozga, i NOS3 koja nastaje u endotelnim stanicama. Ova skupina sintaza ima važnu ulogu u neuroprijenosu, zgrušavanju krvi i kontroli krvnoga tlaka. Djelovanje konstitutivnih NOS ovisno je o povišenoj razini unutarstaničnih iona Ca^{+} .

Drugu skupinu sintaza predstavlja tzv. NOS2 ili iNOS koja za razliku od konstitutivnih sintaza ne ovisi o povećanoj količini kalcija u izvanstaničnim prostorima.

NOS koju nalazimo u makrofagima, uvijek sadrži čvrsto vezani kalmodulin koji omogućava enzimu potpunu aktivnost pri osnovnim koncentracijama Ca^{+} . Kad se jednom enzim sintetizira, sinteza dušikovog oksida trajati će dok je dostupan supstrat i dok je protein aktivan. Transkripcija gena za NOS2 kontrolira se pozitivno i negativno većim brojem citokina. Najpoznatiji citokini koji dodatno potiču transkripciju su: $INF-\gamma$, TNF, IL-1 i IL-2. Uz citokine najčešće se spominje i lipopolisaharid koji je jedan od sastavnih dijelova stanične stijenke gram-negativnih bakterija (Moncada i sur., 1991; 1992; Feldman i sur., 1993).

Razlika između Ca^{2+} ovisnih i Ca^{2+} neovisne dušik-oxid sintaze otkrivena je i u samim uvjetima u kojima se sinteze sintetiziraju. Konstitutivne sintaze (NOS1 i NOS3) se osebujno stvaraju u zdravim stanicama i njihova proizvodnja traje samo nekoliko minuta, dok se mitohondrijska dušik-oxid sintaza (NOS2) javlja samo u slučaju infekcije ili tijekom upale pri čemu njezino otpuštanje traje do pet dana.

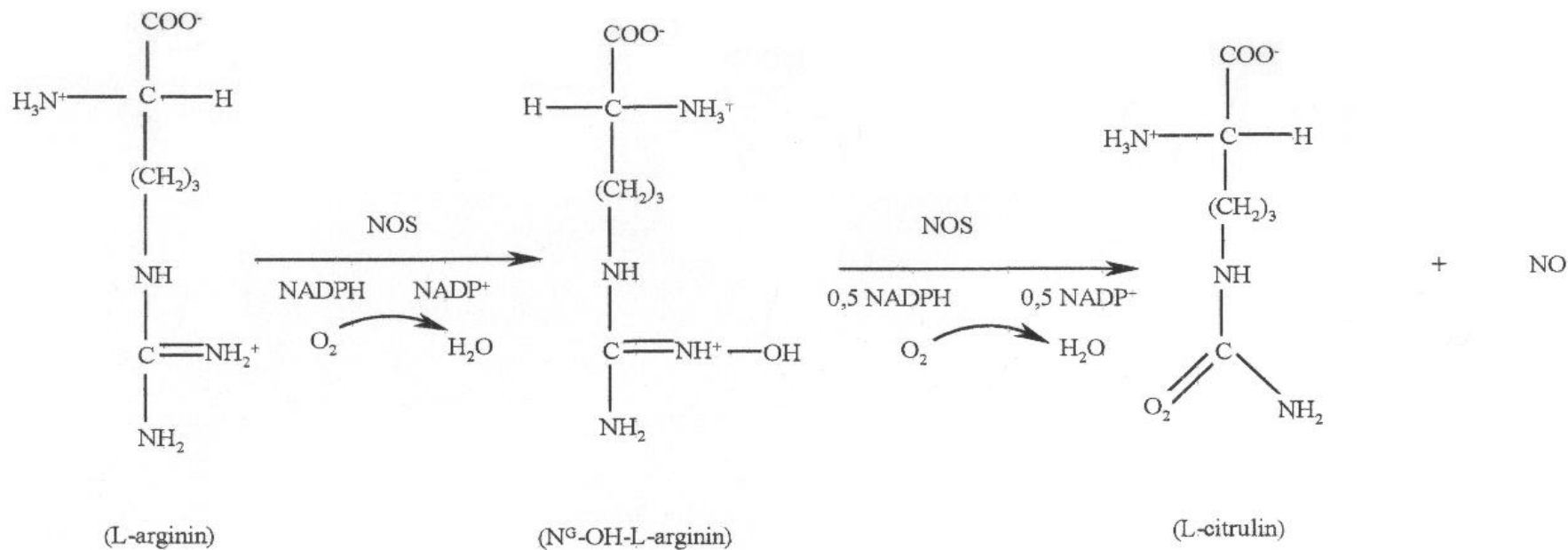
Dušik-oxid sintaza (NOS2) je vrlo kompleksan enzim koji sadrži četiri prostetičke skupine:

- flavin-adenin dinukleotid (FAD)
- flavin mononukleotid (FMN)
- tetrahidrobiopterin (H_4 biopterin)
- hem kompleks (željezni protoporfirin IX)

Svaka podskupina sadrži jednu molekulu od svakog flavin nukleotida i hema. Svaka podskupina je podijeljena na dvije domene: reduktaznu i oksigenaznu. Povezivanjem ovih dviju domena nastaje vezno mjesto za kalmodulin. Smatra se da hem ima vodeću ulogu u kataliziranju sinteze dušikovog oksida. Unutar hema nalazi se pet koordinativnih veza sa željeznim ionom, a šesto mjesto je rezervirano za molekulu kisika. Upravo mjesto vezanja kisika ima značajnu ulogu jer kisik vezan na hem reagira s aminokiselinom L-arginin te kao proizvodi te reakcije nastaju L-citrulin i dušikov oksid (Feldman i sur., 1993, Nathan i Xie 1994).

Proces nastajanja NO (Slika 20) odvija se u dva koraka:

- a) U prvom koraku oksidacijom, u kojoj sudjeluju 2 elektrona, nastaje N^G -hidroksil-L-arginin
- b) U drugom koraku iz nastalog N^G -hidroksil-L-arginin oksidacijom, u kojoj sudjeluju 3 elektrona, nastaje NO i L-citrulin.



Slika 20. Mehanizam sinteze dušikovog oksida

- Molekula L-arginina je oksidirana na gvanidin dušiku
- N^G-OH-L-arginin je međuproizvod koji se dalje oksidira dajući NO i L-citrulin. Za sintezu NO potrebno je 1,5 mol NADPH i 2 mol O₂ uz nastanak 1,5 mol NADP⁺ i 2 mol H₂O.

Djelovanje dušikovog oksida

Dušikov oksid, koji se stvara u stimuliranim makrofagima, difundira u okolno tkivo gdje reagira sa željezo-sumpornim kompleksom nekoliko važnih makromolekula uključujući akonitazu, enzim uključen u ciklus limunske kiseline te kompleks I i II mitohondrijskog elektronskog lanca.

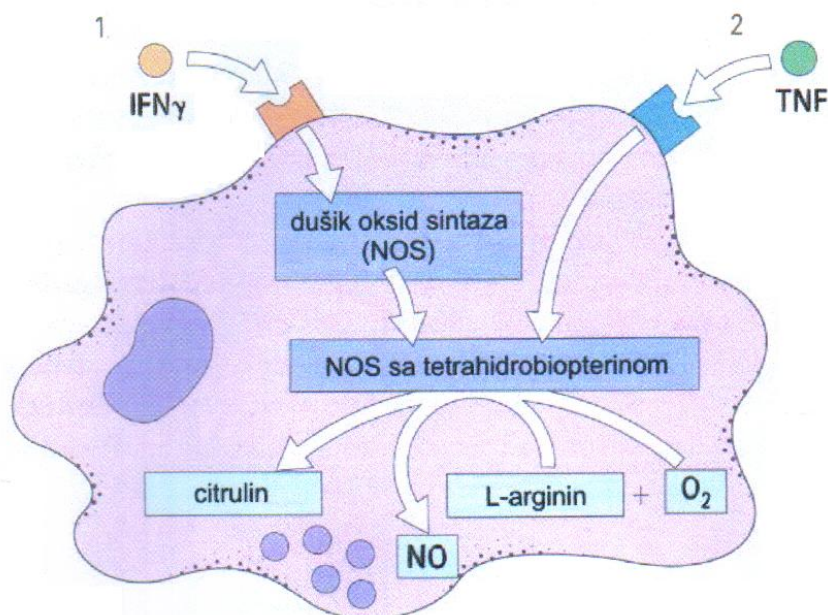
Inhibicija akonitaze inhibira pretvorbu acetil koenzima A u ugljikov dioksid. Time se narušava važan korak u stvaranju NADH koji je neophodan za proces oksidativne fosforilacije. Konačni učinak takve inhibicije oksidativne fosforilacije jest nemogućnost ciljane stanice stvarati molekule ATP-a koje predstavljaju osnovni izvor energije za metabolizam stanice.

Stimulirani makrofagi (Slika 21) mogu proizvesti dovoljno NO za inhibiciju ribonukleotid reduktaze, enzima potrebnog u sintezi DNA; pretvara ribonukleotide u deoksiribonukleotide. Na taj način, uskraćivanjem važnih prekuzora, NO u potpunosti onemogućava stanicu u sintezi DNA.

Smatra se da je to jedan od načina na koji makrofagi mogu inhibirati rast tumorskih stanica. Bez sinteze DNA stanice se ne mogu dijeliti, što znači da ne može doći do proliferacije tumorskih stanica.

Osim što makrofagi mogu uništavati tumorske stanice, mehanizme dušikovog oksida koriste i u odgovoru na unutarstanične parazite (Feldman i sur., 1993; Wink i Mitchell, 1998; Male i sur., 2006). Mehanizam njihova djelovanja na unutarstanične parazite i bakterije temelji se na toksičnosti derivata NO (NO_2 , NO_2^- , N_2O_3 , ONOO^- i NO_3) koji nastaju s pomoću kisika i enzima sinteze dušičnog oksida iz L-arginina.

Sposobnost sinteze NO pokazala se vrlo korisnom za makrofage, no pokazalo se da tu sposobnost imaju i neke druge stanice kao što su primjerice hepatociti jetre u kojih se uz pomoć citokina može potaknuti sinteza iNOS.



Slika 21. Put nastanka NO.* Dušik oksid sintaza (NOS) povezuje kisik s gvanidin dušikom iz L-arginina da bi proizvela dušik oksid koji je toksičan za bakterije i tumorske stanice. Tetrahydrobiopterin je potreban kao kofaktor. IFN γ (1) i TNF (2) aktiviraju put sinteze dušik oksid sintaze. Ovaj put je važan za samoobranu stanica neimunskih tkiva.

*Preuzeto iz Roitt (1996).

Interleukin-1

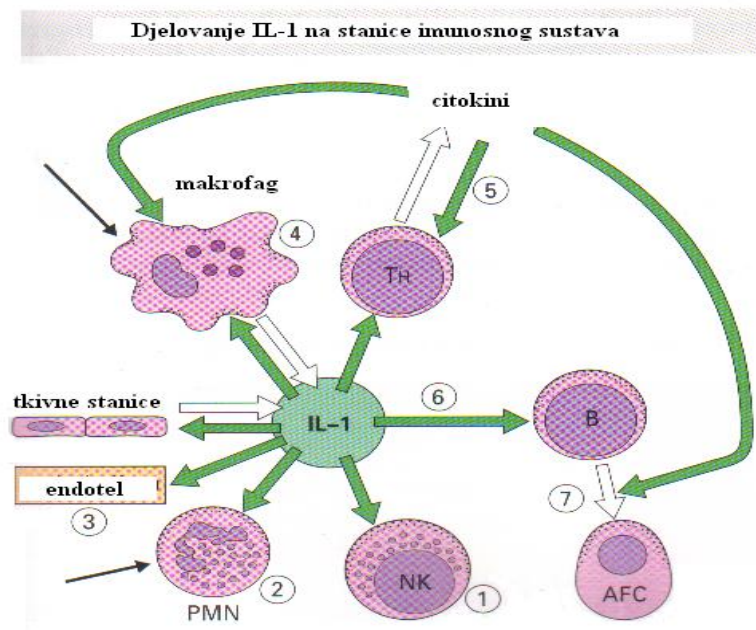
Za interleukin-1, u doba kada je prvi put pronađen, smatralo se da je kostimulator T stanica te da je to njegova jedina zadaća. IL-1 potiče aktivaciju stanica T a aktivirane stanice T izlučivanjem IL-2 dovodi do njihove izvršne funkcije. Godine istraživanja pokazale su da je interleukin-1 glavni posrednik upalnog procesa u urođene otpornosti.

Glavni stanični izvor IL-1 su makrofagi. Njegovo izlučivanje može biti potaknuto:

- proizvodima bakterija kao što je lipopolisaharid
- citokinima: TNF (eng.: tumor necrosis factor) ili samim IL-1
- doticajem s pomoćničkim T limfocitima

Biološki učinak interleukina-1 (Slika 22) ovisi o količini otpuštenog citokina. Pri niskim koncentracijama IL-1 djeluje kao posrednik lokalne upalne reakcije. Specifično IL-1 djeluje na makrofage i endotel krvnih žila čime pospješuje daljnju sintezu IL-1 i sintezu IL-6. Mnoga svoja svojstva IL-1 dijeli s TNF-om. Primjerice, IL-1 djeluje na endotelne stanice potiče koagulaciju i povećava ispoljavanje adhezijskih molekula na površini leukocita.

Proizveden u većim količinama IL-1 ulazi u krvotok. Sustavno nazočan IL-1 uzrokom je povišene tjelesne temperature, pojačane sinteze proteina akutne faze u jetri i metaboličkog otpada. Interleukin-1 ne ozljeđuje tkivo izravno. Ukoliko dođe do ozljede tkiva ona nastaje neizravno poticanjem aktivacije TNF- α . Za razliku od TNF- α , IL-1 nije letalan čak i kad je nazočan u vrlo velikim koncentracijama (Abbas i sur., 1994; Male i sur., 2006).



Slika 22. Prikaz djelovanja IL-1 na stanice imunskog sustava*. IL-1 proizvode mnoge stanice kao odgovor na oštećenja, infekcije ili antigene. 1) Povećanje citotoksične aktivnosti stanica NK. 2) Polimorfonuklearni se aktiviraju i kemotaktički usmjeravaju prema mjestu otpuštanja IL-1. 3) U endotelu se povećava propusnost. 4) U makrofaga se povećava izlučivanje citokina i prostaglandina te se povećava njihova citotoksičnost. 5) Povećava se proliferacija T_H stanica, proizvodnja IL-2 i citokina. 6) Stimulira proliferaciju B stanica. 7) Potiče diferencijaciju B stanica u stanice koje stvaraju protutijela (eng.: antibody forming cells; AFC). *Preuzeto iz Roitt (1998).

Neutrofilni leukociti

Neutrofilni leukociti sazrijevaju u koštanoj srži, odlaze kao zrele stanice u krv, gdje borave manje od jednog dana te nastanjuju tkiva i žive 4 do 5 dana. Osnovna funkcija neutrofila je fagocitoza, a izlučivanjem proteolitičkih enzima i vazoaktivnih tvari pridonose razvoju rane preosjetljivosti. Obilježava ih segmentirana jezgra i nazočnost dviju vrsta citoplazmatskih granula: a) primarna ili azurofilna granula što sadrže hidrolaze, mijeloperoksidazu i lizozim; b) sekundarna ili specifična granula što sadrže lizozim i laktoferin.

Eozinofilni leukociti

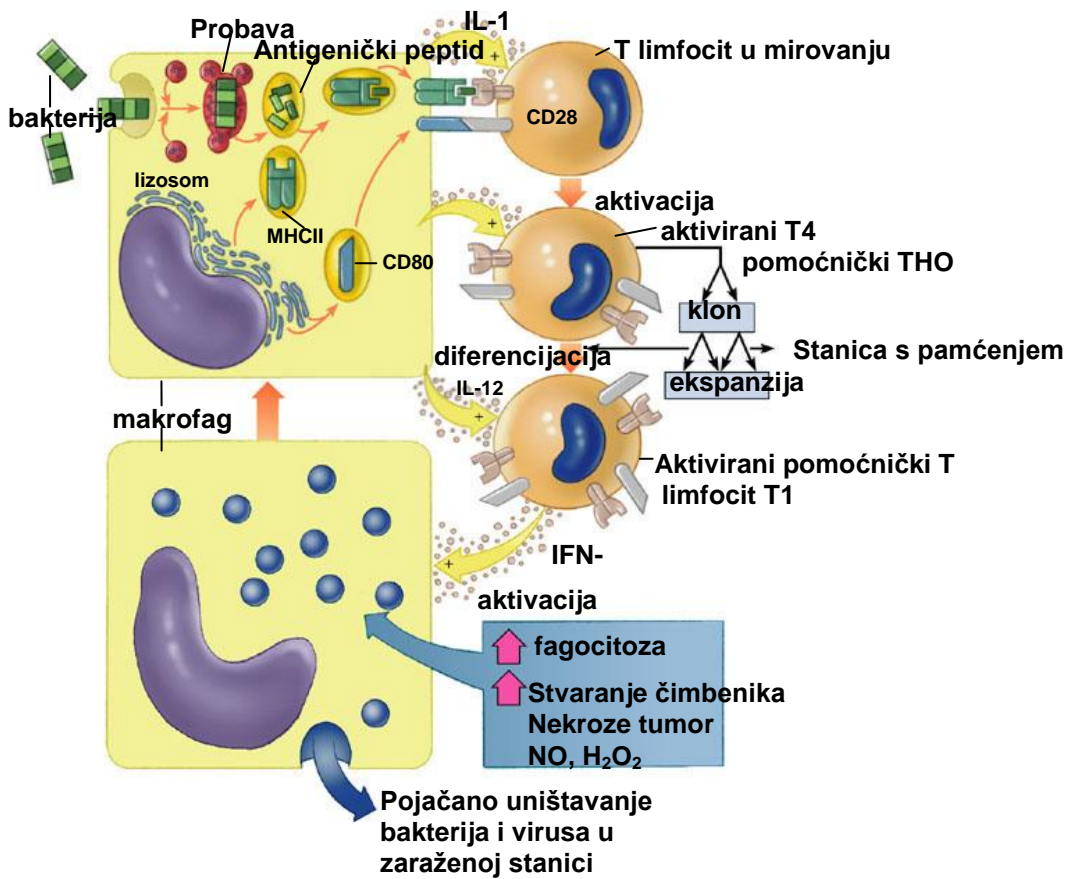
Eozinofilni leukociti također nastaju i sazrijevaju u koštanoj srži. Izlučuju širok spektar toksičnih granuliranih proteina i drugih upalnih medijatora a nakupljaju se u povećanom broju u reakcijama preosjetljivosti tipa I. Obilježava ih jezgra podijeljena u dva segmenta i citoplazmatske granule bitne u protuparazitnoj imunosti.

Antigen predočne stanice

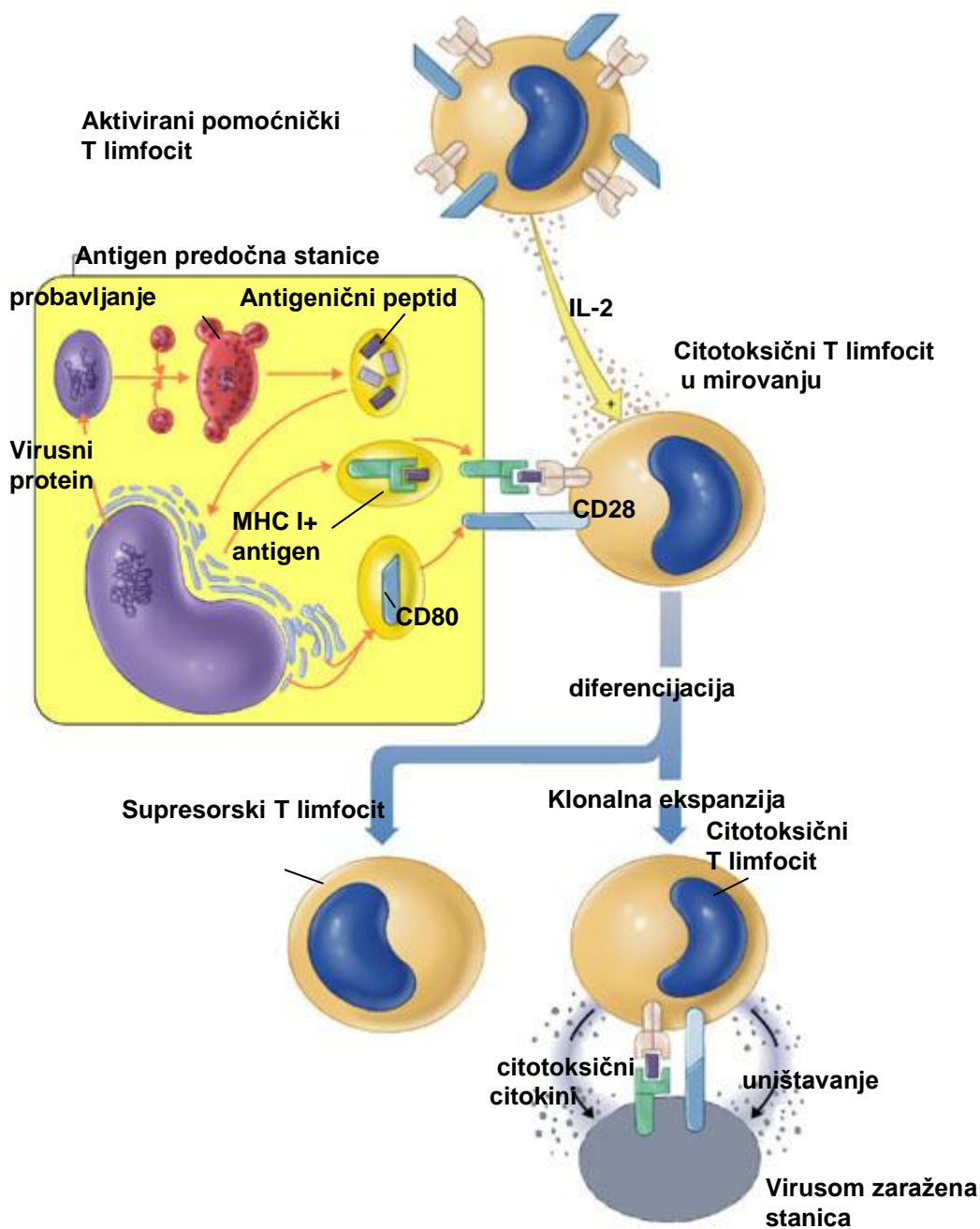
Antigen predočne stanice (APC) imaju zadaću na svojim membranama izložiti (predočiti) tuđe antigene zajedno s vlastitim antigenima MHC, što omogućuje prepoznavanje antigena i aktivaciju limfociti. Pritom predočne stanice upijaju izvanjske antigene, razgrađuju ih u svojim endosomima na male peptide, koji se vežu za molekule MHC-II (Slika 23) i potom prenose na površinu stanice. Vlastite i virusne proteine prerađuju u citoplazmi i predočuju ih na površini vezane za molekule MHC-I (Slika 24). Limfociti B, također bolje prepoznaju antigen izložen na membrani predodčenih stanica negoli slobodan.

Predodne stanice nalaze se uglavnom u koži, limfnim čvorovima, slezeni i timusu te u krvi i limfi. Tri su glavne skupine predodčnih stanica: **dendritične predočne stanice, makrofagi, limfociti B** (Kuby, 2007).

APC 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. Spoznaja o izravnom prikazivanju antigena preko ovih specijaliziranih makrofaga stekla je praktičnu primjenu pri vakcinaciji; intradermalno primjena antigena uspostavlja bolji imunski odgovor od subkutane primjene. Drugu vrstu APC čine dendritične stanice u krvi, limfi, i nekim limfatičkim organima koje imaju izražene antigene MHC sustava, ali nemaju receptore za fragment Fc i C3 komponentu komplekta. Folikularne dendritičke stanice nalaze se u sekundarnim folikulima limfnih čvorova i slezene, predočavajući antigene limfocitima B; imaju izražene antigene MHC sustava, ali i receptore za fragment Fc i C3 komponentu komplekta. Stanice APC osobito su brojne u timusu i bogate su vlastitim antigenima, napose onima MHC-II, te sudjeluju u uklanjanju autoreaktivnih limfocita T u procesu njihova sazrijevanja u timusu (negativna selekcija). Obnašajući ulogu APC, limfociti B i makrofagi prerađuju antigene i prikazuju ih T-limfocitima te započinju staničnu i humoralnu imunsku reakciju. T-limfociti posredstvom T-staničnog receptora (TCR) prepoznaju antigen prikazan na površini profesionalnih APC zajedno s molekulama MHC sustava te posljedično vodi aktivaciji limfocita T i izlučivanju citokina koji pojačavaju imunoreakciju.



Slika 23. Predočavanje bakterijskih antigena na površini makrofaga u sklopu MHC II



Slika 24. Predočavanje virusnih antigena u MHC I i uništavanje virusom zaraženih stanica

Dendritične predočne stanice najposobnije su za predočavanje antigena; posjeduju brojne antigene MHC-II i kostimulacijske molekule B7, te se nazivaju profesionalnim predočnim stanicama. Predočne stnice prikazuje Tablica 21.

Tablica 21. Predočne stanice

Vrste stanica	Fagocitoza	Izraženost antigena MHC-II	Predočavanje antigena limfocitima
Dendritičke stanice	-	+	T
Langerhansove stanice u koži	-	+	T
Folikularne dendritičke stanice	-	+	B
Monociti- makrofagi	+	±	T+B
Makrofagi u marginalnoj zoni slezene	-	-	B
Limfociti B	-	+	T

Osim profesionalnih APC, antigen mogu predočavati i za tu funkciju nespecializirane stanice (neprofesionalne APC) s izraženim molekulama MHC-II primjerice, neutrofilni i eozinofilni leukociti, T limfociti, fibroblasti, NK stanice, astrociti, mikroglia stanice, epitelne, endotelne i mezangijalne stanice mogu prilikom infekcija ili upalnih procesa sudjelovati u predočavanju antigena limfocitu T. Učinkovitost ovih stanica ovisi o tkivnom mikrookolišu. IL-4 je ključni imunomodulacijski citokin koji uravnotežuje nespecifičnu upalnu i specifičnu imunosnu reakciju potaknutu bakterijskom infekcijom. Hipoksija, TNF i IL-1 potiču endotelne stanice na pojačanje proizvodnje IL-8, kemokina koji privlači mijeloidne stanice na mjesto upale i aktivira ih. Interferon- γ (IFN- γ) proizvode T_H1 stanice u suradnji s makrofagima koji luče IL-12 koji selektivno potiče limfocite T na lučenje IFN- γ koji pojačava ekspresiju molekula MHC-II, a time pospješuje i predočavanje antigena. Osim IFN- γ imunosnu reakciju potiče i IL-2 kojeg proizvode aktivirane/pamteće CD4 stanice (Abbas i sur., 2000).

Akcesorne ili medijatorne stanice

Mastociti, bazofili i trombociti nazivaju se zajedničkim imenom akcesorne ili medijatorske stanice. U imunosnim reakcijama sudjeluju izlučivanjem kemijskih tvari tj. medijatora, posrednike različitih bioloških učinaka u imunosnoj reakciji (Andreis i sur., 2004; Male i sur., 2006). Osim bazofilnih leukocita, mastocita, krvnih pločica, ovdje ubrajamo i fagocitne stanice (neutrofile i eozinofile).

Pregled glavnih sastavnica otpornosti i imunosti te osnovne funkcije stanica pokazuju Tablice 22 i 23.

Tablica 22. Pregled glavnih sastavnica otpornosti i imunosti

Imunosne	Urođena	Stečena
Molekule	- sustav komplementa - lizozim - laktoferin - peroksidaze - defenzini - proteini akutne faze (IFN, CRP, NP) - monokini	- imunoglobulini - limfokini
Stanice	- fagociti (monociti, makrofagi, granulociti) - mastociti - NK- stanice	- T limfociti (pomoćnički, citolitički, regulacijski, NK-T stanice, djevičanski, pamteći) - B limfociti - plazma stanice - APC (makrofagi, dendritičke stanice)

Tablica 23. Glavne stanice imunskog sustava i njihova funkcija

Mijeloidne stanice	Funkcija
Makrofagi/monociti	Fagocitoza, mikrobicidnost, predočavanje antigena, izlučivanje monokina
Dendritičke stanice	Predočavanje antigena, izlučivanje citokina
Eozinofili/neutrofili	Fagocitoza, mikrobicidnost, izlučivanje citokina te upalnih i alergijskih medijatora
Mastociti, bazofili	Modulacijski medijatori
Limfoidne stanice	
T- i B- limfociti	Stanični/humoralni antigen specifični odgovor
Plazma stanice	Sinteza i izlučivanje protutijela IgM, IgD, IgG IgA, IgE
Djevičanske/pamteće stanice	Ag=aktivacija /Ag= proliferacija
NK- stanice	Ag-nespecifična citoliza
Intraepitelni limfociti	Ag-nespecifična citoliza, izlučivanje limfokina, rast/popravak epitela

IMUNOCITOKINI I KEMOKINI

Citokini su niskomolekularni glikoproteini (15-25 kDa), uglavnom N-acetilirani proteini, a služe u složenom sustavu komuniciranja među imunokompetentnim stanicama. Djeluju lokalno i kratkotrajno, uglavnom parakrino (na druge stanice) ili autokrino (na same stanice koje ih izlučuju). Proizvode ih stimulirane stanice imunskog sustava (**monokine** - izlučuju monociti i makrofagi; **limfokine** - izlučuju limfociti, **interleukine**- izlučuju i makrofagi i limfociti). Prema funkciji mogu biti: a) **regulacijski**, b) **upalni**, c) **hematopoietski**. Prema drugom izvoru, citokine funkcijski djelimo na: a) **imunopoticajne citokine**, b) **imunosupresijske citokine**, c) **proupalne citokine**, d) **čimbenike rasta**. Biološki učinci citokina temelje se na: procesu aktivacije, proliferacije (rasta) i diferencijacije stanica, poticanju nove funkcije stanica, posredovanju ili reguliranju imunoreakcije, kemotaktičkom učinku, reguliranju procesa upale, inhibiciji rasta stanica, citotoksičnom učinku. Znatno manje

molekule od citokina su **kemokini** (engl. Chemoattractive cytokines); sudjeluju u procesu kemotaksije.

Citokini nadziru gotovo svaku funkciju urođene i specifične imunosti. Jedan citokin često djeluje na nekoliko vrsta stanica i ima više različitih učinaka, osobitost nazvana **pleotropizam**. **Redudancija** je osobitost kad isti učinak na istu stanicu ima nekoliko citokina. U novije vrijeme citokine razvrstavamo prema građi, ili češće na temelju građe njihovi receptora. Tako se citokinski receptori dijele u nekoliko porodica (Tablica 24). Klasično citokini se svrstavaju u četiri glavne skupine: **interleukini**, **interferoni**, **citoksini i čimbenici poticanja kolonija** (Tablica 25.)

Tablica 24. Receptori citokina i njihova obilježja

Porodice citokinskih receptora	Receptori za	Glavna obilježja
1) porodica hematopoetinskih receptora (tip I citokinskih receptora) djeli se u 3 potporodice: a) potporodica receptora za GM-CSF b) potporodica receptora za IL-6 c) potporodica receptora za IL-2	IL-2-IL-7, IL-9, IL-11-IL-13, IL-15, G-CSF, GM-CSF, Hormon rasta, prolaktin	Receptor se sastoji od dva ili 3 lanca; α lanac veže citokin, β i γ djeluju kao signalne jedinice. Ista signalna podjedinica često je dio različitih citokinskih receptora što posljedično objašnava redudanciju i antagonistički učinak nekih citokina unutar iste porodice. Receptor za IL-2 ima 3 lanca; α i β lanac vežu citokin, γ djeluju kao signalna jedinice.
2) porodica interferonskih receptora (tip II citokinskih receptora)	IFN- α , IFN- β , IFN- γ	Receptori posjeduju u izvanstaničnom dijelu molekule stalne slijedove aminokiselina triptofana i cisteina.
3) porodica receptora za TNF (tip III citokinskih receptora)	TNF- α , TNF- β , CD40L NGF FasL	Citoplazmatski dio porodice za TNF ima tzv. domenu smrti koja se veže za adaptorske molekule koje reagiraju sa sličnim domenama proteolitičkih enzima kaspaza i aktiviraju ih. Kaspaze razgrađuju staničnu strukturu i DNA, što uzrokuje apoptotičku (programiranu) smrt stanice. Receptori iz porodice TNF vežu se iza adaptorske proteine koji nemaju domene smrti aktivirajući druge signalne puteve i gene koji mogu spriječiti apoptozu.
4) porodica s receptorom poput imunoglobulina (tip VI citokinskih receptora)	IL-1 M-CSF IL-18	Ima jedan receptorski lanac sličan imunoglobulinima.
5) porodica kemokinskih receptora	IL-8, RANTES, MIP-1 PF-4 MCAF, NAP-2	Pripada velikoj skupini proteina koji imaju 7 transmembranski domena – zmijoliki receptori; vežu se za protein G.

Interferoni (IFN)

Interferoni su skupina citokina koje izlučuju razne vrste stanica. Razlikuju se: **interferoni tipa I** (IFN α , β , ω , spI) i **interferoni tipa II** (IFN γ). Interferon alfa (IFN- α) luče neutrofili, limfociti T i B i makrofagi, IFN- β luče fibroblasti i makrofagi, IFN- γ luče aktivirani limfociti T i stanice NK. Osim od ranije poznatog protuvirusnog djelovanja, interferoni imaju brojne imunoregulacijske učinke, primjerice koče proizvodnju protutijela i proliferaciju limfocita T i B, ili imunopoticajni učinak poput aktiviranja limfocita T_C i stanica NK. Mogu kočiti razmnožavanje zdravih i tumorskih stanica.

Interleukini (IL)

Interleukini jesu velika skupina citokina koje izlučuju limfociti, a dijelom i mononuklearni fagociti i neke tkivne stanice. Glavna im je zadaća 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 izlučuju, razlikujemo *monokine* što ih stvaraju monociti/makrofagi (IL-1 α , IL-8, IL-12, IL-18) i *limfokine* što ih proizvode 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 mnogostruki, 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 poticanja kolonija (čimbenici rasta hematopoietičkih stanica)

Ovi čimbenici potiču rast i diferencijaciju hematopoietičkih stanica *in vitro*, po čemu su dobili ime (engl. Colony stimulating factors, CSF). Djeluje na rast kolonija pluripotentnih matičnih stanica (multi-CSF ili IL-3) te mijelopoietičke, eritropoietičke matične stanice te praroditeljske stanice monocita/makrofaga, i granulocita te zajedno s IL-7 (što ga izlučuju stromalne stanice koštane srži) i nezrele limfopoietičke stanice u timusu i koštanoj srži. Reguliraju rast i sazrijevanje matičnih stanica koštane srži i prekursora leukocita u krvi. Neki potiču dalju diferencijaciju stanica i izvan koštane srži. Granulocitno-makrofagni čimbenik rasta (GM-CSF) potiče sazrijevanje granulocita, makrofaga i eozinofila a stvaraju ga limfociti T i makrofagi. Granulocitni čimbenik rasta (G-CSF) potiče sazrijevanje granulocita a proizvode ga monociti. Makrofagni čimbenik rasta (M-CSF) potiče sazrijevanje makrofaga a izlučuju ga monociti ali i druge stanice. Multi-CSF odnosno IL-3 kao čimbenik rasta djeluju i potiče rast mastocita i sazrijevanje neutrofila, makrofaga i megakariocita.

Ostali

Od ostalih citokina valja spomenuti čimbenik tumorske nekroze ("tumor necrosis factor", TNF) važan u regulaciji upale i citotoksičnom djelovanju imunocita. TNF- α izlučuju 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. Danas je već poznato pedesetak različitih kemokina, a svrstavaju se u tri skupine: **alfa-kemokini (kemokini CXC)**, primjerice IL-8 kojeg izlučuju makrofagi a čiji predstavnici posebice privlače neutrofile i limfocite, **beta-kemokini (CC)**, primjerice MCP-1, RANTES čiji predstavnici pretežno privlače makrofage i **gama-kemokini (C)**. Uz kemotaksijski učinak imaju i druga djelovanja, primjerice pospješuju angiogenezu i fibrogenezu, doprinoseći tako i cijeljenju oštećenog tkiva. Tablica 25 i 26 navodi najpoznatije citokine, stanice koje ih izlučuju, njihove glavne "ciljne" stanice i osnovne zadaće.

Tablica 25. Najvažniji citokini i njihovi učinci

Citokin	Izvor	Ciljna stanica	Glavni učinci
Interleukini (IL)			
IL-1 α IL-1 β	makrofagi limfociti B, VGL	limfociti B, limfociti T, makrofagi, tkivne stanice	aktiviranje limfocita i makrofaga, adhezija leukocita uz endotel, pireksija, izlučivanje proteina akutne faze
IL-2	limfociti T	limfociti T	proliferacija i diferencijacija limfocita T, aktivacija citotoksičnih limfocita i makrofaga
IL-3	limfociti T	prastanice	faktor rasta
IL-4	limfociti T	limfociti T, limfociti B	rast i sazrijevanje limfocita B, odabir izotipa protutijela
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, izlučivanje proteina akutne faze
IL-7	?	prekursori limfocita B limfociti T	proliferacija limfocita T i B
IL-8	monocit	neutrofil, bazofil	kemotaksija
IL-9	limfocit T		Kočenje sinteze citokina
IL-10	limfocit T	limfocit T _H 1	inhibicija sinteze citokina
IL-12	monocit	limfocit T	indukcija limfocita T _H 1
IL-13	aktivirani lim- fociti T	monociti, limfociti B	kočenje lučenja IL-12
IL-15	monociti	limfociti T, aktivirani limfociti B	proliferacija
IL-16	limfocit T	Limfocit T, eozinofil, monocit	Kemotaksija limfocita T, eozinofila i monocita
IL-17	Limfocit T	Limfocit T, neutrofil	Proliferacija limfocita T, sazrijevanja neutrofila
IL-18	Makrofag, keratinocit	Limfocit T, stanice NK	Koaktivacija T _H 1, sazrijevanje stanica NK
Citotoksini			
TNF α TNF β	makrofagi limfociti, mastociti	makrofagi, granulociti, tkivne stanice	aktivacija makrofaga, granulocita i citotoksičnih limfocita, adhezija leukocita uz endotel, kaheksija, pireksija, izlučivanje proteina akutne faze, poticanje ekspresije MHC-I
Interferoni (IFN)			
IFN α	makrofag, neutrofil	tkivne stanice	Protuvirusno djelovanje, poticanje ekspresije MHC-I,
IFN β	fibroblast	tkivne stanice	poticanje NK aktivnosti
IFN γ	limfocit T	leukociti, tkivne stanice,	poticanje ekspresije MHC-I i

	NK stanica, makrofag	limfociti T _{H2}	MHC-II, aktiviranje makrofaga, adhezija limfocita uz endotel, kočenje sinteze citokina
Čimbenici poticanja kolonija			
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
Drugi citokini			
TGF-β	Monociti, hondrociti, aktivirani limfociti T	limfociti T, limfociti B	Inhibicija rasta limfociti T i B, protuupalno djelovanje, poticanje sinteze IgA, zacjeljivanje rana i stvaranje ožiljaka
MIF	limfociti T		Inhibicija migracije i aktivacije makrofaga.

Tablica 26. Funkcije citokina

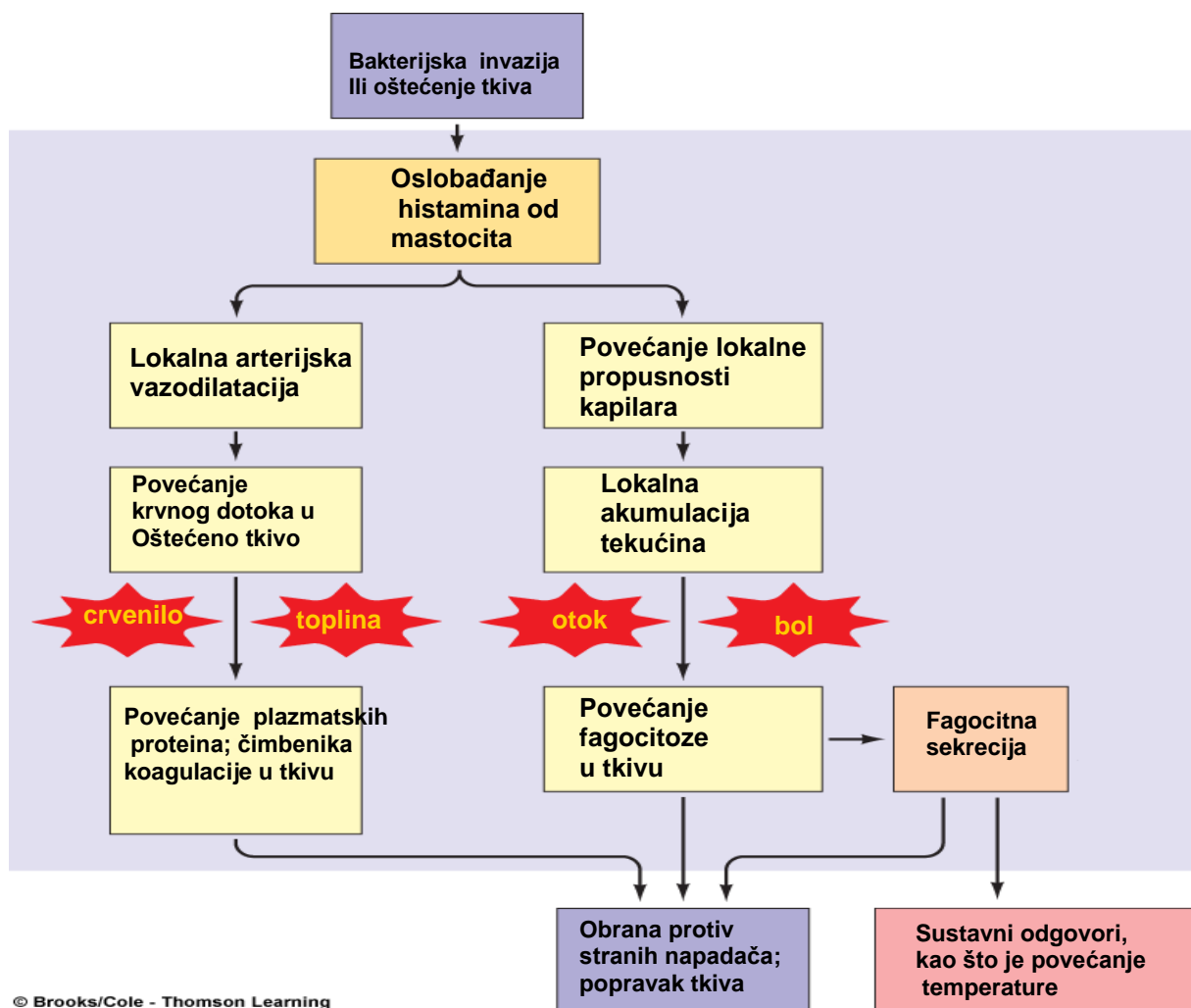
Regulacijski	Upalni	Hematopoietski
IL-2, -4, -5 -6, -10, -12, -13 IFN _γ , TGFβ	IL-1, -6, -8, TNFα, TGFβ	IL-1, -3,-6,-7 TNFα, GM-CSF, M-CSF
Pojačavanje imunskog odgovora, diferencijacija Ag-specifičnih imunskih stanica	Upalna reakcija, kemotaksija i proliferacija mijeloidnih stanica	Proliferacija matičnih stanica i fibroblasta, popravak tkiva (epitel i krvne žile)

Citokini i prirodni obrambeni odgovor proizvodnje upalnih posrednika i novačenja stanica na mjestu infekcije

Upala je nespecifična obrambena reakcija organizma na ozljedu tkiva prouzročenu patogenim mikroorganizmima ili nekim drugim (fizički, kemijski ili biološki) činiteljem. U upalnoj reakciji uključeni su specifični i nespecifični mehanizmi obrane. Reakcija svrhovito pridonosi obilnijoj opskrbi tkiva kisikom, glukozom, protutijelima, komplementom i fagocitnim stanicama. Obrambeni mehanizmi usmjereni su prema mjestu prodora patogenog mikroorganizma u tkivo radi njegovog uklanjanja i ponovnog uspostavljanja fiziološke djelatnosti tkiva (zacjeljenjem ozljede). Opća **obilježja upale** su: a) **crvenilo** (lat. rubor), b) **toplina** (lat. calor), c) **bol** (lat. dolor), d) **oteklina** (lat. tumor), i e) **poremećaji funkcije** (lat. functio laesa) (Slika 25). Upalni proces razbuktava se gotovo pri svakoj imunoreakciji. Nespecifična reakcija pribavlja signal koji zajedno s antigenom potiče proliferaciju i diferencijaciju limfocita, pretežno T i B, čime utječe na razvoj i vrstu specifične imunosti. Radi se o vremenskom slijedu dinamičkih promjena, krvožilnih, neuroloških, humoralnih i staničnih koje se zbivaju lokalno u tkivu zahvaćenom upalom. Prema tijeku upalne reakcije i duljine trajanja djelimo je na **akutnu i kroničnu upalu**. Upala se temelji na: 1) **povećanju protoka krvi** kroz napadnuto područje, čime se povećava doprema leukocita i raznih topljivih

molekula u to područje (najprije se proširuju kapilare, potom arteriole, osebujan znak je crvenilo), 2) **povećanju kapilarne propusnosti** koja omogućava povećanu eksudaciju sastojaka plazme (protutijela, komplementa itd, osobitost je edem), 3) **povećanju migracije 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.



Slika 25. Upala; shematski prikaz

Akutna upala

Stanice akutne upale jesu mastociti, bazofili, trombociti, neutrofil i eozinofili. Mastociti i bazofili sadrže brojne citoplazmatske granule s biološki aktivnim tvarima, čije je oslobađanje odgovorno za većinu krvožilnih obilježja akutne upale. Oslobađanjem posrednika upale javljaju se proširenost kapilara, i povećana kapilarna propusnost (histamin, serotonin, bradikinin, prostaglandin E2); neki od njih djeluju i kemotaksijski (leukotrien B4) privlačeći

na mjesto upale neutrofile i eozinofile a potom monocite i limfocite. Trombociti oslobađaju serotonin sudjelujući u zbivanjima u akutnoj fazi upale. Osnovna djelatnost trombocita je blokiranje oštećene stijenke krvne žile i sprečavanje krvarenja. Neutrofile su najbrojnije stanice u akutnoj upali koje stižu privučene brojnim kemotaksijskim molekulama poput komponenti komplemента C3a, C4a, C5a, LTB4 i IL-8. Neutrofile usmrćuju patogene fagocitozom ali i izvanstaničnim oslobađanjem granula. Oslobađanjem brojnih medijatora neutrofile pospješuju proces upale, posebice oslobađanjem makrofagnih upalnih proteina MIP-1a i MIP-1b (engl. macrophage inflammatory protein, MIP) te kemokina privlače makrofage na mjesto upale. Aktivirani makrofagi imaju veliku sposobnost proždiranja mikroba te izlučivanja monokina (IL-1, IL-6, i TNF- α) koji potiču **lokalne i sistavne promjene** u akutnom upalnom odgovoru. Primjerice, IL-1 i TNF- α potiču pojačanu izražajnost adhezijskih molekula (E-selektine, ICAM-1, VCAM-1) na endotelnim stanicama krvožilnog sustava te vezuju neutrofile, monocite i limfocite i usmjeravaju njihov prolazak kroz krvne žile na mjesto upale. Nadalje, IL-1 i TNF- α potiču makrofage i endotelne stanice na proizvodnju IL-8 koji doprinosi protoku neutrofila povećanjem broja adhezijskih molekula te kemotaktičkom aktivnošću (Janeway i sur., 2003; Kuby, 2006). TNF- α potiče i izlučivanje M-CSF, G-CSF, i GM-CSF. Lokalni upalni odgovor združen sa sustavnim odgovorom poznat je kao **akutno-fazni odgovor**. Značajka ovog odgovora je: **a) visoka temperatura (vrućica, groznica), b) povećanje sinteze adenokortikotropnog hormona (ACTH) i hidrokortizona, c) povećanje proizvodnje bijelih krvnih stanica (leukocitoza), d) povećanje proteina akutne faze u jetri.** IL-1, IL-6, i TNF- α združeni zajedno djeluju na termoregulacijski centar u hipotalamusu pospješujući nastajanje prostaglandina E2 koji povećava tjelesnu temperaturu. Povišenje tjelesne temperature inhibira rast i razmnožavanje brojnih patogena (bakterija i virusa) a pogoduje i alternativnom putu aktiviranja komplemента. Ovi monokini imaju široki spektar bioloških aktivnosti; pomažu u usklađivanju odgovora organizma na infekciju. Njihova temeljna zadaća jest: **a) povećanje tjelesne temperature djelujući na hipotalamus, b) aktiviranje stanica jetre na sintezu proteina akutne faze (C-reaktivnih proteina, manoza-vezujućih proteina-MBP) te pospješene procesa opsonizacije, aktivacije komplemента i fagocitoze c) novačenje neutrofila iz koštane srži i povećanje fagocitoze, d) mobilizacija proteina i energije iz masti i mišića za povećanje tjelesne temperature, e) povećane aktivacije B i T limfocita.** Navedeni čimbenici združeni s čimbenikom inhibicije leukemije (LIF) i onkostatinom M (OSM) potiču proizvodnju proteina akutne faze u jetri. Eozinofile pretežno nalazimo u dvije vrste upala: alergijskoj reakciji i infekciji parazitima. Na njih kemotaksijski djeluju komponente komplemента C3a, C4a, C5a i histamin. Eozinofili djeluju fagocitozom i oslobađanjem granula s litičkim enzimima. Degranulacija eozinofila i neutrofila često oštećuje i vlastito, zdravo tkivo.

Topljivi posrednici akutne upale su sustav komplemента, koagulacijski sustav, kininski sustav i proteini akutne faze. Aktivirane komponente komplemента mogu pospješiti imunosnu reakciju: kemotaksijskim djelovanjem, opsonizacijom ciljnih čestica te pospješanjem njihove fagocitoze, te izravnom lizom ciljnih čestica. Pri jačoj upali aktivira se sustav koagulacije krvi, što rezultira stvaranjem ugruška i zaustavljanjem krvarenja. Ugrušak se, ubrzo uklanja fibrinolizom, te se ponovno uspostavlja 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 propusnost krvnih žila. Proteini akutne faze obuhvaćaju heterogenu skupinu proteina čija se koncentracija u akutnoj upali povećava i do 1000 puta. Stanice i topljive komponente međusobno reagiraju, potiču svoje djelovanje i moderiraju upalnu reakciju. Sustavi komplemента, kinina i koagulacije zajedno s mastocitima i

bakterijskim proizvodima prouzrokuju proširenost kapilara, povećanu krvožilnu propusnost i kemotaksiju, privlačeći najbrojnije stanične posrednike akutne upale – neutrofile. Neutrofili proždiru mikroorganizme i razgrađuju ih lizosomskim enzimima. Lizosomski enzimi neutrofila kao i proizvodi komplementom razorenih stanica mogu aktivirati čimbenike koagulacije, ovi kininski sustav itd; svi obrambeni mehanizmi mogu oštetiti i vlastita tkiva. Eozinofili sudjeluju u deaktiviranju posrednika što ih izlučuju 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 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). Faza ozdravljenja obilježena je proliferacijom fibroblasta, sintezom kolagena i građenjem novoga tkiva; reparacijom i regeneracijom tkiva. Kronična upala vodi formiranju **granuloma**; nakupine upalnih stanica u čijem su središtu makrofagi okruženi limfocitima T (Tizard, 2000; Janeway i sur., 2003; Kuby, 2007). Središe granuloma sadrži gigantske stanice s više jezgara nastale fuzijom aktiviranih makrofaga.

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 izlučivanjem različitih citokina sudjeluju u privlačenju i aktiviranju makrofaga, kontroli proliferacije limfocita i regulaciji stvaranja protutijela. Privučeni kemotaksijskim tvarima, izlaze iz krvnih kapilara u tkiva na način sličan granulocitima (proces posredovan adhezijskim molekulama; membranskim proteinima (imunoglobulini, integrini, selektini i proteoglikani) koji omogućavaju vezanje jedne stanice za drugu) 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 izlučuju brojne citokine (pomagački limfociti T), koji privlače i aktiviraju makrofage i reguliraju pretvorbu limfocita B u plazma stanice koje, pak, izlučuju protutijela. **Makrofagi** su vodeće stanice kronične upale i na mjestu djelovanja obično se pojavljuju nekoliko sati nakon limfocita. Glavna zadaća makrofaga je fagocitoza i probava oštećenih dijelova tkiva, stanica i mikroorganizama, za što raspoložu snažnim lizosomskim enzimima i tako pripremaju tkivo za okončanje upalnog procesa. Najvažniji monokini makrofaga u odgovoru na mikroorganizme su: IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 te TNF- α . **Plazma stanice** nastaju iz aktiviranih limfocita B, a glavna im je zadaća proizvodnja protutijela. 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 izlučuju) ili parakrino (utječu na funkcije drugih vrsta stanica). Glavni citokini kroničnog upalnog odgovora su interleukin-1 (IL-1), interferon-gama (IFN- γ), čimbenik tumorske nekroze-beta (TNF- β), transformirajući čimbenik 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 izlučivanje 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** izlučuju uglavnom aktivirani limfociti T. Autokrino potiče proliferaciju limfocita T, a parakrino limfocite B. Inducira

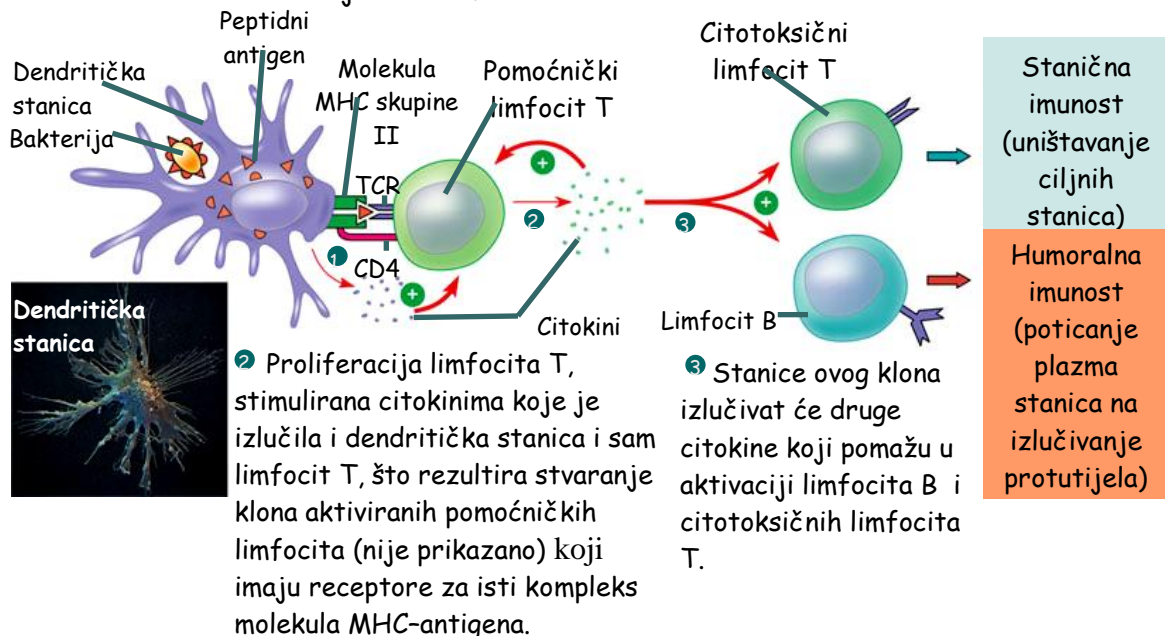
diferencijaciju limfocita B u plazma stanice, aktivira stanice NK te posreduje u pretvobi NK stanica u stanice LAK i pojačava citotoksičnost makrofaga te lučenje IL-1 i IFN- γ pospješujući njihovo mikrobicidno i citotoksično djelovanje. IFN- γ izlučuju aktivirani limfociti T i aktivirane stanice NK. Ima brojne pleiotropne učinke: a) aktivira makrofage, potiče izražavanje molekula MHC-II, preradu antigena, mikrobicidnu aktivnost i povećanje specifičnog imunosnog odgovora, b) povećava izražajnost MHC-I u većine stanica, a MHC-II u imunocita, c) potiče izražaj adhezijskih molekula na endotelnim stanicama (usmjeravaju izlazak limfocita i granulocita iz krvnih kapilara), d) potiče citotoksično djelovanje stanica NK, e) inhibira proliferaciju limfocita T_H2 i proizvodnju citokina IL-4, i IL-5, f) povećava diferencijaciju stanica B i proizvodnju protutijela posebice IG2a a smanjuje IgE i IgG1, g) potiče izlučivanje drugih citokina, primjerice TNF i IL-1. TGF- β stvaraju 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 izlučuju aktivirani makrofagi, limfociti T i stanice NK, a on aktivira endotelne stanice, makrofage i granulocite, pospješuje adherenciju leukocita, izlučivanje proteina akutne faze, izražaj molekula MHC-I, kostimulira proliferaciju limfocita T i B, te pospješuje izlučivanje drugih citokina. Uz to, uzrokuje povećanje temperature, hipotenziju i gubitak tjelesne težine (kaheksija). Većina citokina ima višestruko djelovanje (pleiotropija), ili im se djelovanja prekrivaju; zakazivanjem učinkovitosti jednog citokina, njegovu funkciju obavi jedan ili više drugih citokina. Pretjerano lučenje citokina može izazvati i različite štetne učinke ako im se djelovanje ne obuzda, što se u uvjetima kronične upale često i događa.

Imunosni odgovor i suradnja stanica u imunskoj reakciji

Imunosni odgovor je skup izvršnih imunskih mehanizama u susretu s antigenom i njegovim prepoznavanjem u cilju neutralizacije ili uništenja antigena. Nakon sazrijevanja imunodne stanice smještene u perifernim limfatičkim tkivima i organima su u tijesnom međusobnom doticaju te međusobno surađuju. Razlikujemo humoralni i stanični imunodnosni odgovor. U doticaju s antigenom i prepoznavanjem antigena dolazi do pokretanja imunodne reakcije. **Faze imunodne odgovora su: a) prepoznavanje antigena (kognitivna faza), b) aktivacija imunodne sustava (faza aktivacije) c) faza uklanjanja antigena, izvršna faza (efektorska faza), d) gašenje imunoreakcije.** Limfociti T aktiviraju se prilikom prepoznavanja antigena koje im predočavaju APC. Za aktivaciju stanica potrebna su 2 signala; prvi **signal podraživanja**, spajanje TCR s kompleksom MHC II i peptida tuđeg antigena (**signal kompetencije**) i **kostimulacijski signal** nakon spajanja molekule CD28 na limfocitu T i molekule B7 na predočnoj stanici (**signal progresije**). Molekule B7 uključuju strukturno srodne glikoproteine B7-1 (CD80) na limfocitu B odnosno B7-2 (CD86) na makrofagima, dendritičkim stanicama i aktiviranim limfocitima B. Prepoznavanjem antigena aktivacijski signal pretvara djevičanski limfocit T u nezreli pomagački limfocit T_H0 koji se može diferencirati u jednu od podvrsta limfocita T (Slika 26). Usmjeravanje limfocita T ima ključnu ulogu za postizanje učinkovitog imunodne odgovora a poglavito ga određuju slijedeći čimbenici: a) značajke antigena, mjesto predočavanja antigena, i stanice koje predočavaju antigen, b) gustoća molekula MHC-II, afinitet vezanja i kostimulacijske molekule, c) citokinski, kemokinski i hormonski mikrookoliš d) genske značajke domaćina. Funkcijski T_H0 se diferencira u dvije glavne skupine T_H limfocita: T_H1 (izlučuju IL-2 i IFN- γ , TNF- α , TNF- β , te GM-CSF) i T_H2 (izlučuju najviše IL-4, IL-5, te IL-3 IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-13 i IL-14). T_H1 više potiču staničnu imunost, a T_H2 lučenje protutijela i alergijskim reakcijama. Izlučivanje citokina na mjestu prodora antigena važan je čimbenik

usmjeravanja diferencijacije limfocita; primjerice IL-12 podrijetlom iz makrofaga, potiče proizvodnju IFN- γ u stanicama NK i limfocitima T te potiče diferencijaciju limfocita T_{H1}. IFN- γ , ujedno je najači aktivator makrofaga te potiče njihovu proliferaciju, pojačava fagocitozu, izražajnost antigena MHC-I i MHC-II te predočavanje antigena. Nasuprot tome, proizvodnja IL-4 u nekim podvrstama limfocita T (NK-T, T_{H2}) i mastocitima potiče diferencijaciju T_{H2}. Neki citokini, primjerice IL-18 luče fagocitne stanice potiče diferencijaciju i T_{H1} i T_{H2}. T_{H1} citokini potiču stvaranje imunoglobulina razreda IgG2a, aktivaciju makrofaga, i stanica NK, potiču citotoksičnost posredovanu protutijelima, i reakciju odgođene preosjetljivosti. T_{H2} citokini podupiru humoralni imunski odgovor uključujući prekapčanje na razred IgG1 i IgE, potiču diferencijaciju mastocita i eozinofila te sintezu IgA. T_{H1} koče odgovor T_{H2} putem IFN- γ , i poticanjem makrofagne sinteze IL-12 dok T_{H2} limfociti koče odgovor T_{H1} preko IL-4 i IL-10.

❶ Nakon što dendritička stanica proguta i razgradi bakteriju, na svojoj površini izloži dijelove bakterijskog antigena (peptide) u sklopu molekula glavnog sustava tkivne podudarnosti skupine II (MHC II). Specifični pomoćnički limfocit T veže se na prezentiran kompleks s pomoću svojih T staničnih receptora (TCR) i površinskog biljega CD4. Ova interakcija potakne dendritičku stanicu na izlučivanje citokina.



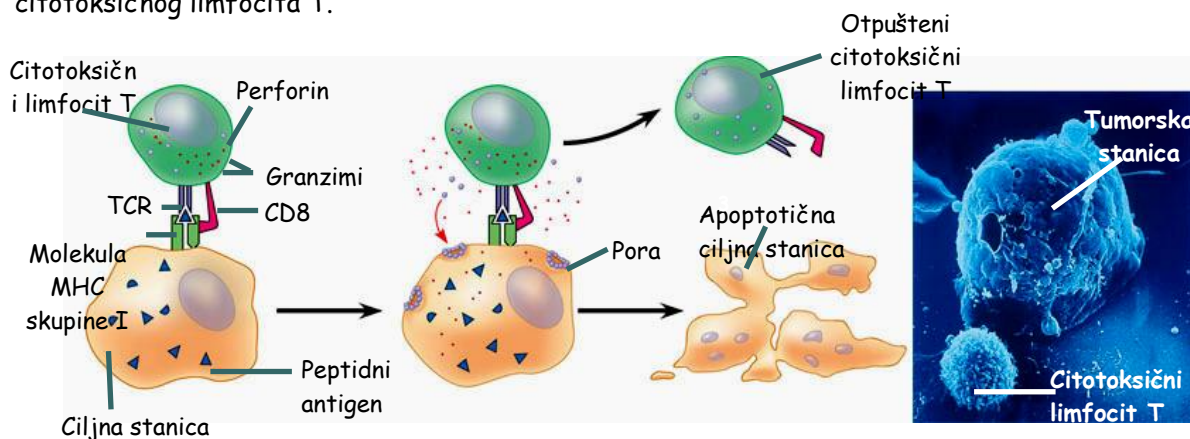
Slika 26. Uloga limfocita T u humoralnoj i staničnoj imunosti

Aktiviranje limfocita T

APC stanice nakon prerade (razgradnje) antigena, ulomke antigena vežu na molekule MHC-I ili MHC-II te takav kompleks predočuju limfocitima T. Kao APC mogu poslužiti različite stanice - dendritične, Langerhansove, makrofagi, limfociti B; najvažnije APC su dendritične. APC sadrže brojne molekule MHC-II koje reagiraju s **TCR i koreceptorskom molekulom CD4** na površini limfocita T_H i najučinkovitije su u pokretanju primarnog imunonosnog odgovora. U pokretanju sekundarnog imunonosnog odgovora važniji su limfociti B od dendritičnih stanica ili makrofagi; svojim receptorima velikog afiniteta (IgM i IgD) mogu vezati i predočiti antigen nazočan u malim koncentracijama. Specifičnost prepoznavanja temelji se na jedinstvenoj građi TCR-a kojom prepoznaje antigenski ulomak (polipeptid) vezan na MHC molekulu. U tu međureakciju uključene su i **adhezijske molekule** i

kostimulacijske molekule nazočne na APC (primjerice, LFA-3, ICAM-1, CD80/CD86) i na limfocitu T (CD2, LFA-1, CD28). Ove molekule učvršćuju vezu između dviju stanica, pomažu prijenosu signala s membrane u jezgu i potiču izlučenje različitih citokina važnih za dalji tijek imunosne reakcije. Aktivirani limfocit T_H sposoban je za pomagačko djelovanje; stvaranje i izlučivanje različitih citokina pomaže aktivaciju drugih stanica. Aktiviranje CD8⁺ stanica (Slika 27) zbiva se uz predočavanje antigenskog ulomka vezanog na molekule MHC-I i uz pomoć CD4⁺ stanica. CD4 može pojačati kostimulacijski signal za CD8 na dva načina: 1) limfocit CD4 potiče predočnu stanicu na stvaranje kostimulacijskih molekula B7; pojačani drugi signal potakne stvaranje IL-2 u limfocitu CD8 (IL-2 djeluje autokrino); 2) limfocit CD8 rabi IL-2 izlučen iz limfocita CD4 za svoju proliferaciju (IL-2 djeluje parakrino). IL-2 potiče izražaj visokoafinitetnog receptora za IL-2 na limfocitima CD8. Mehanizam citotoksičnosti ima tri jasno prepoznatljive faze: (1) vezanje izvršne stanice za ciljnu; (2) pražnjenje sadržaja granula izvršne stanice, ovisno o kalcijevim ionima; (3) programirana smrt ciljne stanice. Granule izvršnih stanica (VGL, NK, CD8⁺) sadrže proteine perforin i granzim. Perforin u nazočnosti kalcijevih iona veže se na membranu ciljne stanice i polimerizira stvarajući u njoj membrani kanale što dovodi do apoptoze - programirane smrti stanice. Granzimi, serin protease prolaze kroz perforinske kanale čime započinje cjepanje unutarstaničnih proteina. Glavni supstrat granzima B su kaspaze, posebice kaspaza CPP-32, ključna kaspaza za pokretanje stanične smrti preko kidanja inhibicijskog proteina ICAD koji koči aktivnost nukleaze CAD (engl. caspaze-activated deoxyribonuclease). 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; ubijanje ciljne stanice posredovano je membranskim proteinima preko Fas-liganda. Vezanjem Fas liganda na molekulu Fas (APO-1) na ciljnim stanicama uzrokuje programiranu staničnu smrt.

- 1 Specifični citotoksični limfocit T veže se na kompleks molekula MHC skupine I i predodčenog antigena pomoću svojeg T staničnog receptora (TCR) i molekulskog biljega CD8. Zbog tog povezivanja i citokina koje izluči pomoćnički limfocit T, dolazi do aktivacije citotoksičnog limfocita T.
- 2 Aktivirani limfocit T oslobađa perforinske molekule (stvoriti će pore na membrani ciljane stanice) i proteolitičke enzime (granzime) koji endocitozom ulaze u ciljnu stanicu.
- 3 Granzimi potiču apoptozu unutar ciljane stanice i dolazi raspadanja jezgre i oslobađanja malih apoptotičnih tjelešaca te do smrti stanice. Otpušteni citotoksični T limfocit T tada napada drugu ciljnu stanicu.

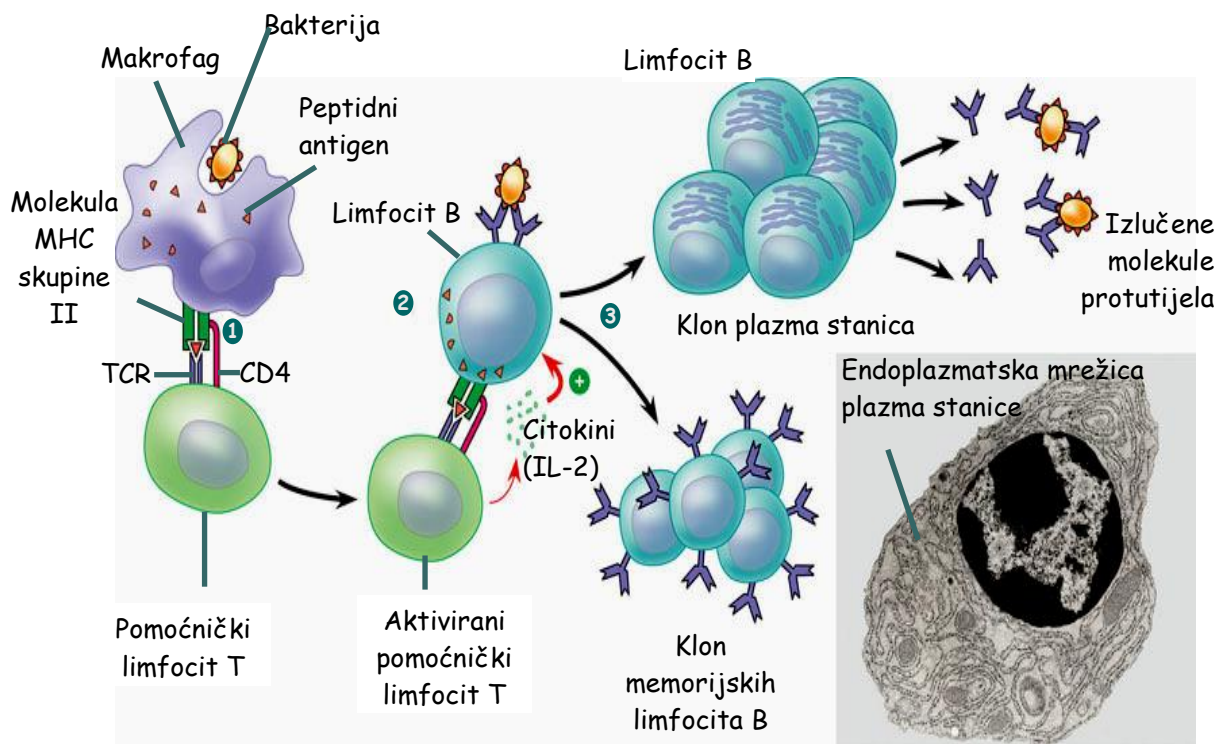


Slika 27. Stanična imunost

Aktiviranje limfocita B

Za aktivaciju limfocita B, također su potrebna 2 signala. Limfocit B može reagirati na bjelančevinske antigene (**antigeni ovisni o timusu**) samo u međureakciji s limfocitom T_H2 . Limfocit B predodčava antigen vezan na molekulu MHC-II limfocitu T_H2 ; prepoznavanjem antigenskog ulomka pomoću TCR, međudjelovanjem limfocita T i kompleksa MHC-II/antigen limfocita B, adhezijskih molekula i citokina limfocit B proliferira i diferencira se u plazma stanicu koja stvara protutijela (Slika 28). Aktiviranje limfocita T_H2 pomaže vezanje njegove molekule CD4 s konstantnim djelom molekule MHC-II limfocita B, a aktiviranje limfocita B vezanje njegove molekule CD40 s CD40-ligandom (CD40L) na limfocitu T. Suradnjom limfocita B i T_H2 , limfocit B dobiva 2 potrebna signala za aktivaciju; jedan vezivanjem antigena za imunoglobulinske receptore i njihovim premoštenjem, a drugi vezanjem za podraženi izvršni limfocit T_H2 . Adhezijske i kostimulacijske molekule bitne u ovoj međureakciji su molekule na limfocitu B (LFA-3 CD80/CD86 ICAM-1) a ligand na limfocitu T (CD2, CD28, LFA-1). Limfocit T_H luči brojne citokine (IL-2, IL-4, IL-5, IL-6) što potiču proliferaciju, diferencijaciju i izlučivanje protutijela. Rezultat opisane međureakcije ne mora uvijek biti aktivacija limfocita B nego i inaktivacija limfocita B (klonska anergija); mehanizmom obuzdavanja djelovanja autoreaktivnih limfocita B. Osim T-ovisnih antigena postoji manji broj antigena koji mogu izravno aktivirati limfocite B bez suradnje s limfocitima T- **T-neovisni antigeni**. Većinom je riječ o velikim molekulama (primjerice, lipopolisaharidi; LPS), koje pri višim koncentracijama aktiviraju limfocite B nespecifično - **poliklonska aktivacija**. Sadrže ponavljajuće strukturne elemente te obilato premošćuju imunoglobulinske receptore dajući oba potrebna signala.

Razlikujemo **primarni odgovor**, izlučivanje protutijela nakon prvog susreta sa antigenom i **sekundarni odgovor**, izlučivanje protutijela nakon ponovnog susreta sa antigenom. Obilježja sekundarnog odgovora, za razliku od primarnog: (i) za odgovor je potrebna manja količina antigena; (ii) protutijela se izlučuju brže i u većem titru; (iii) obično se izlučuje IgG (za razliku od IgM u primarnom odgovoru). Imunosni sustav ima svojstvo pamćenja; pri ponovnom susretu s antigenom pokreću sekundarni imunski odgovor. Primarna funkcija protutijela je vezanje antigena. Izvršni mehanizmi djelovanja protutijela (Slika 29) su: **neutralizacija, precipitacija, aglutinacija te liza stanica aktivacijom komponenti komplekta**. Vezanjem protutijela za antigen doprinosi neutralizaciji antigena (primjerice toksina bakterija). Za djelotvorno uništavanje antigena, nužno je aktiviranje sekundarnih izvršnih funkcija protutijela: (1) aktiviranje komplekta koji prouzroči lizu ciljne stanice, primjerice bakterijske; (2) vezanje protutijela putem Fc ulomka na druge imunokompetentne stanice s receptorima za Fc ulomak te uništavanje antigena reakcijom citotoksičnosti posredovane protutijelima (stanice NK i monociti/makrofagi), ili fagocitozom (granulociti, monociti/makrofagi). Protutijelo služi kao "most" između ciljne (bakterijske, tumorske, virusom zaražene) stanice i izvršne stanice koja uništava ciljnu. Receptori za Fc-ulomak imunoglobulina su: (1) tri vrste receptora za Fc ulomak 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; (2) receptori za Fc- ulomak IgA (Fc α R), te (3) dvije vrste receptora za Fc- ulomak IgE: Fc ϵ RI na bazofilima i mastocitima i Fc ϵ RII na aktiviranim limfocitima B i monocitima.



Slika 28. Humoralna imunost

Komplement

Sustav komplekta sastoji se od tridesetak membranskih i serumskih neaktivnih proteina. Aktivacija komplekta uključuje niz uzastopnih proteolitičkih cijepanja proteina komplekta (jedna aktivirana komponenta cijepanjem aktivira slijedeću u nizu); proteini

komplementa su **zimogeni**; inaktivni proenzimi koji postaju aktivni poslije proteolize (Kuby, 2007). Kaskada aktivacije komplementa uključuje *pozitivnu povratnu spregu*; mali broj aktiviranih molekula proizvodi velik broj izvršnih molekula. Aktiviranje komplementa zbiva se *na površini stanice*, gdje se aktivirane komponente kovalentno vežu, što prostorno ograničava učinak komplementa. Izvršne molekule u konačnici uništavaju patogen. **Učinci aktivacije komplementa su:** a) **liza stanica, bakterija i virusa**, b) **opsonizacija mikroorganizama i pospješivanje njihove fagocitoze**, c) **privlačenje fagocita na mjesto djelovanja (kemotaksija)**, d) **povećanje kapilarne propusnosti za različite sastojke plazme**, e) **oštećenje stanične stijenke bakterija i drugih mikroorganizama koji su izazvali aktiviranje komplementa**, f) **oslobađanje topljivih posrednika upale iz mastocita**. Ova zbivanja katkad mogu biti i štetna, posebice u nekim oblicima preosjetljivosti i autoimunosti.

Komponente komplementa sintetizira jetra, epitelne stanice tankog crijeva, žučni mjehur te monociti i makrofagi.

Komplement se može aktivirati na **3 načina: klasičnim putem te alternativnim i lektinskim putem** (Janeway i sur., 2003). Bez obzira na način aktivacije učinak komplementa na kraju je *isti*; završava nastankom kompleksa koji napada membranu (engl. Membrane-attack complex, MAC) te stvara oštećenja (pore) na membrani.

Klasični put aktivacije komplementa započinje aktivacijom komponente C1 i molekule **protutijela (IgM, IgG1,3,2)** vezane na antigen; vezanjem protutijela otvara se vezno mjesto na konstantnoj regiji (Fc) protutijela za C1 komponentu komplementa. Komponenta C1 sastoji se od jedne podjedinice C1q, dvije podjedinice C1r, i dvije podjedinice C1s koje se drže na okupu djelovanjem Ca^{++} iona. Za prepoznavanje veznog mjesta na molekuli protutijela odgovorna je podjedinica C1q koja posjeduje 6 aktivnih mjesta. Vezanje bar 2 aktivna mjesta istodobno s 2 različita ulomka Fc pokreće proces aktivacije te promjene strukture ostalih podjedinica C1 te poprimanje enzimске aktivnosti. Supstrat C1 enzima je C4 i C2 čijim cijepanjem na 2 ulomka nastaje enzim **C3 konvertaza**. C3 konvertaza cijepa C3 komponentu i nastaje ulomak C3a i C3b; vezanjem C3b za staničnu membranu u blizini C4b2b, nastaje nov enzim komplementskog sustava C4b2b3b (**C5 konvertaza**). C5 konvertaza cijepa C5, a dalje se u reakciju uključuju C6, C7, C8 i C9 koji zajedničkim snagama oblikuju pore u membrani patogena (**MAC kompleks**). Pore u membrani uzrokuju smrt patogena. Ove završne reakcije zajedničke su za sva tri puta.

Alternativni put evolucijski ranije razvijen. Ključna komponenta u alternativnom putu je C3; spontanom **hidrolizom** C3 se cijepa na ulomke C3a, i C3b; C3b se veže s čimbenikom B (bjelančevina plazme) kojeg cijepa proteaza nazvana čimbenik D na ulomak Ba i Bb. Kompleks C3bBb djeluje kao **C3 konvertaza**. Novonastala podjedinica C3b se vrlo brzo raspada ukoliko se trenutno ne **veže na površinu patogena**. Stabilna veza C3b te nastanak C3 konvertaze cijepa C3 i umnožava daljnji nastanak C3b. Kompleks C3bBb3b na površini patogena djeluje kao **C5 konvertaza** te posljedično stvara završne molekule MAC kompleksa.

Lektinski put započinje **vezanjem** lektina (koji se uobičajeno nalazi u plazmi i tkivima) na manozu nazočnu **na površini patogena** (virusa gripe i HIV-a, streptokoka, salmonele, gljivica i parazita). Nastali kompleks djeluje kao C3 konvertaza stvarajući C3b koji se veže na površinu patogena. Nakon toga slijede zajednički završni koraci te uključivanje komponenti komplementa C6, C7, C8 i C9 i stvaranje pora (10 nm).

Bioški učinak komponenti komplementa

Upalni učinak-Cjepanje C3, C4 i C5 komponenti komplementa na manje ulomke anafilatoksine (C3a, C4a C5a) koji djeluju putem receptora za: **a) degranulaciju bazofila i mastocita b) kontrakcija glatkih mišića, c) povećanje permeabilnosti krvnih žila, d) kemotaksiju i aktivaciju granulocita te posljedično oslobađanje proteolitičkih enzima i proizvodnju slobodnih radikala** (Burmester i sur., 2003).

Imunosni učinak: a) **antimikrobni učinak** (konačni slijed komponenti komplementa vodi izravnoj lizi bakterija posredstvom formiranja pora) b) **proces opsonizacije patogena i povećanje fagocitoze mikroorganizama** (vezanje komponente komplementa C3b za mikroorganizme olakšava fagocitozu patogena makrofagima i neutrofilima preko receptora za C3b), c) **neutralizacija virusa, d) otapanje i čišćenje imunokompleksa e) stanična adhezija f) stimulacija stanica B i stvaranje memorijskih stanica** (Burmester i sur., 2003). Sažeti prikaz biološkog učinka posredovanog komponentama komplementa te veznih receptora komplementa prikazuju Tablice 27 i 28.

Tablica 27. Biološki učinci čimbenika sustava komplementa

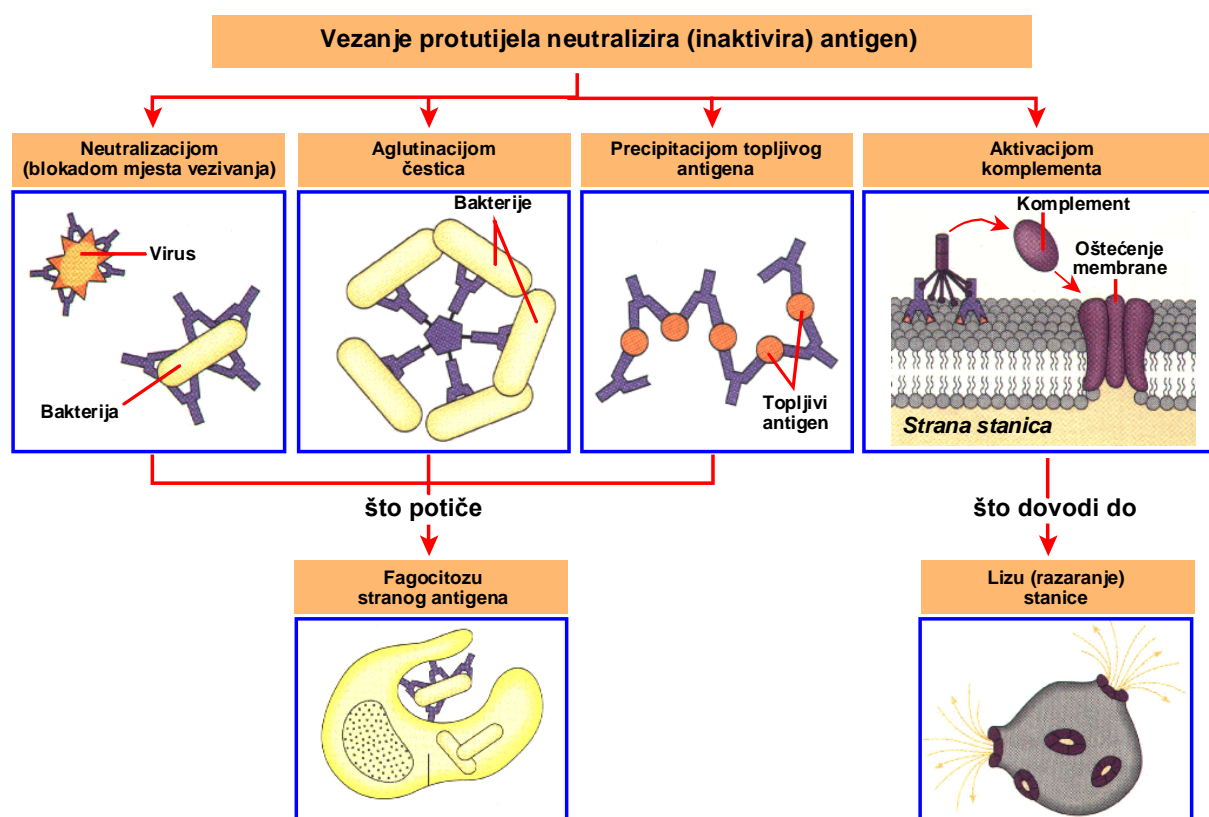
Učinak	Odgovorni čimbenik aktivacije komponente komplementa
<i>Stanična liza</i>	C5b-9, članovi kompleksa koji napada membranu (engl. Membrane-attack complex, MAC)
<i>Upalni odgovor:</i>	
Degranulacija mastocita i bazofila*	C3a, C4a i C5a (anafilatoksini)
Degranulacija eozinofila	C3a, C5a
Ekstravazacija i kemotaksija leukocita u upalno područje	C3a, C5a , C5b67
Agregacija trombocita	C3a, C5a
Inhibicija migracije monocita/makrofaga i poticanje njihovog širenja (engl. spreading)	Bb
Oslobađanje neutrofila iz koštane srži	C3c
Oslobađanje hidrolitičkih enzima neutrofila	C5a
Povećanje izražaja receptora komplementa tipa 1 i 3 (CR1, CR3) na neutrofilima	
<i>Imunosni odgovor:</i>	
Opsonizacija čestica antigena, povećanje njihove fagocitoze	C3b , C4b, C3bi
Neutralizacija virusa	C3b, C5b,-9 (MAC)
Otapanje i čišćenje imunokompleksa	C3b

* Degranulacija vodio slobađanju histamina i drugih posrednika koji prouzrokuju kontrakciju glatkih mišića i povećavaju permeabilnost krvnih žila.

Tablica 28. Vezni receptori komponenti sustava komplementa

Receptor	Glavni ligand	Aktivnost	Stanična raspodjela
CR1 (CD35)	C3b, C4b	Blokira formiranje C3 konvertaze; vezuje imune komplekse za stanicu	Eritrociti, neutrofil, monociti, makrofagi, eozinofili, folikularne dendritičke stanice, B stanice, neke stanice T
CR2 (CD21)	C3d, C3dg*, C3bi	Dio koreceptora stanica B; vezuje Epstein-Barr-ov virus	B stanice, neke stanice T
CR3 (CD11b/18) CR4 (CD11c/18)	C3bi	Veže staničneadhezijske molekule na neutrofilima, olakšavajući njihovu ekstravazaciju; vezuje imune komplekse, pospješujući njihovu fagocitozu	Monociti, makrofagi, neutrofil, stanice NK, neke stanice T
C3a/C4a receptor	C3a, C4a	Potiče degranulaciju mastocita i bazofila	Mastociti, bazofili, granulociti
C5a receptor	C5a	Potiče degranulaciju mastocita i bazofila	Mastociti, bazofili, granulociti, monociti, makrofagi, trombociti, endotelne stanice

* Cjepanjem C3dg pomoću proteaza seruma nastaje C3d i C3g.



Slika 29. Izvršni mehanizmi protutijela u uklanjanju antigena

IMUNOSNA PODNOŠLJIVOST (IMUNOTOLERANCIJA)

Imunološka tolerancija je specifična nereaktivnost na određeni antigen; stečeno stanje nastalo aktivnim procesom nakon doticaja imunskog sustava s antigenom. U užem se smislu obično misli na nereaktivnost protiv vlastitih antigena; uklanjanje ili inaktivacija specifičnih klonova reaktivnih limfocita. Razlikujemo: a) **specifičnu imunsku toleranciju** (aktivno stečeno stanje neraktivnosti na određeni, specifični antigen –**tolerogen**; posljedica areaktivnosti ili odstranjenja klona limfocita) b) **nespecifičnu imunsku nereaktivnost** (odnosi se na gotovo sve antigene i posljedica je prirođene ili primarne imunodeficijencije, sekundarne imunodeficijencije, nespecifične imunosupresije).

Poznavanje mehanizama imunotolerancije važno je radi: a) **vlastitih antigena** (onemogućavanje autoagresije tj. autoimunosti), b) **antigeni ploda koje tolerira majka** (onemogućavanje oštećenja ploda i čak spontanog pobačaja) c) **antigeni transplantata** (onemogućavanje odbacivanja transplantata) d) **antigena mikroorganizama** (tolerancija dovodi do kroničnih infekcija) e) **antigena tumora** (tolerancija omogućuje nesmetan rast tumora)

Uspostavljanje imunotolerancije

Prirođena imunska podnošljivost stječe se tijekom intrauterinog razvoja -**prenatalna (i perinatalna) podnošljivost (tolerancija)**. Imunosni sustav u kritičnom razdoblju sazrijevanja “učiti” što je vlastito; razdoblje učenja u čovjeka je prva polovica trudnoće a zbiva se u primarnim limfatičkim organima tj. u timusu (stanice T) i koštanoj srži (stanice B)- **središnja (centralna odnosno perinatalna) tolerancija**. Tuđi antigen se u tom kritičnom razdoblju “prevarom” tolerira kao vlastiti (primjerice, parabiotski blizanci). Imunotolerancija se lakše uspostavlja zbog nezrelosti imunskog sustava.

Imunosna podnošljivost (tolerancija) stečena nakon rođenja teže se uspostavlja i traje kraće. Ova tolerancija zahtjeva dugotrajnu nazočnost antigena višekratno ubrizgavanje topljivih antigena. Nastaje u radijacijskih kimeri i u parabiozi. Uspostavu tolerancije olakšava istodobna imunosupresija ili pojava imunskog pospješivanja (facilitacije).

Uspostava tolerancije ovisi o sljedećim čimbenicima:

a) **zrelosti imunskog sustava** (manja zrelost imunskog sustava i stanica pogoduje toleranciji,

b) **značajkama antigena i okolnostima predočavanja** (primjerice, imunogeničnost antigena, manja molekularna masa povećava tolerogeničnost, neagregiranost antigena povećava tolerogeničnost, dodatak adjuvansa smanjuje tolerogeničnost),

c) **dozi antigena** (male ponavljane doze intravenski povećavaju tolerogeničnost - *malodozna tolerancija*, srednje doze (optimalne) izazivaju imunost, velike jednokratne doze povećavaju tolerogeničnost - *velikodozna tolerancija*),

d) **put unosa** (intravenski ili peroralni unos povećava tolerogeničnost, kožni ili potkožni unos ili unos udisanjem izaziva senzibilizaciju

e) **vitalnost (nativnost) tkiva** (mrtva tkiva, homogenati ili liofilizati tkiva povećavaju tolerogeničnost

Imunotolerancija se temelji na stanicama (tolerantni mogu biti samo limfociti T, samo limfociti B, ili jedni i drugi). Za antigene ovisne o timusu dovoljna je tolerantnost jedne populacije limfocita (T ili B). Toleranciju je lakše i trajnije prouzročiti na limfocitima T, nego limfocitima B. U velikodoznoj toleranciji postaju tolerantni i limfociti T i B (na nosač i

haptenu); velikodozna tolerancija način uspostavljanja tolerancije prema vlastitim antigenima. U malodoznoj toleranciji postaju tolerantni samo limfociti T (na nosač); uspostavlja se prema nekim vlastitim antigenima nazočnim trajno u krvi u malim dozama.

Centralna i periferna podnošljivost (tolerancija) nastaje tijekom razvoja limfocita u primarnim limfatičkim organima procesom **delecije** (iščezavanje, smrt) klona.

Periferna podnošljivost (tolerancija) nastaje nakon što limfociti napuste primarne organe slijedećim procesima: **a) ignorancija (zanemarivanje), b) anergija, c) podvojena tolerancija, d) supresija**

Mehanizmi imunosne podnošljivosti (tolerancije): Iščezavanje (delecija) klona, anergija klona, imunološko zanemarivanje (ignorancija), preusmjerenje imunosne reakcije, facilitacijski i blokadni čimbenici, supresijski mehanizmi, veto stanice, klonski pobačaj (multivalentni antigen u odgovarajućoj koncentraciji u nezreli B stanica uzrokuje "pobačaj"-spriječava daljnju diferencijaciju), odumiranje (iščeznuće autoreaktivnih klonova na periferiji).

- 1. Iščezavanje (delecija) klona**-proces nastanka klonova u timusu **pozitivnom** (spregnutost na vlastito) i **negativnom selekcijom** (izbjegavanje autoagresije; uklanja autoreaktivne klonove). Preko 98% stvorenih klonova iščezava, probiru se najprije klonovi koji imaju afinitet za vlastiti MHC, a zatim klonovi koji nisu upereni protiv vlastitih antigena. Izostanak pozitivne selekcije vodi u odstranjenje stanica apoptozom; apoptotične stanice fagocitiraju makrofagi. Stanice T koje prežive pozitivnu i negativnu selekciju naseljavaju periferne limfatičke organe.

Delecija B stanica u koštanoj srži zbog križnog vezivanja polivalentnih antigena nezrele stanice B odvodi u apoptozu.
- 2. Anergija** (klonovi postoje, ali su neaktivni, anergični). Anergija limfocita T zbog nedostatka kostimulacijskih molekula i MHC II molekula. Predstavljanje raznih endogenih peptida uz MHC I nezrelim limfocitima T vodi u kasnije njihovo nereagiranje (anergiju). Velika zauzetost imunoglobulinskog receptora (velike doze antigena) vode u anergiju limfocit B te smanjuju izražavanje površinskog antigenskog receptora razreda IgM (sIgM). Anergija je reverzibilna nakon primjene poliklonske aktivacije, primjerice, lipopolisaharidom.
- 3. Imunosno zanemarivanje**- postoji usprkos reaktivnim klonovima. Antigen nazočan u preniskoj koncentraciji; koncentracija i avidnost receptora nedostatna za pokretanje imunosne reakcije. Imunosno zanemarivanje je često kod odjeljenih (sekvestriranih) antigena od imunosnog sustava; nazočni u imunosni privilegiranim mjestima (primjerice, CNS, očna komorica, testisi, maternica).
- 4. Odumiranje (iščeznuće autoreaktivnih klonova na periferiji)** može biti prouzročeno aktivacijom (engl. activation induced death, AICD) i pasivno odumiranje (engl. passive cell death). Odumiranje nakon aktivacije antigenom je posljedica apoptoze autoreaktivnog klona potaknuta međureakcijom molekula FasL (CD95L) i Fas (CD95) na reaktivnom klonu odnosno na

ciljnim stanicama. Drugi način odumiranja uslijed nedostatka stimulacije antigenom i posljedično nedostatka čimbenika rasta.

- 5. Preusmjerenje imunodne reakcije** od aktivacije T_H1 na aktivaciju T_H2 . Organizam reagira samo staničnom ili samo humoralnom aktivnošću. Stanje koje oponaša toleranciju. Primjerice u sluznici cijeva nazalne stanice T koje proizvode IL-4 i/ili IL-10, dok nedostaju stanice koje proizvode IFN- γ .
- 6. Facilitacijska protutijela i blokadni čimbenici** otkriveni u serumu tolerantnih životinja; značenje nejasno. Pretpostavljeni mehanizmi djelovanja: a) prekrivanje antigena na ciljnim stanicama, b) uplitanje u antiidiotipsku regulaciju, c) blokada specifičnih receptora limfocita T
- 7. Supresijski mehanizmi** temelje se na regulaciji limfocita T. Supresijski mehanizmi nastaju u specifičnoj imunoreakciji na iste antigene na koje se stvara izvršna imunost. Tolerancija se može prenijeti iz tolerantnog u normalni organizam ("zarazna" tolerancija). Mehanizam je nedovoljno objašnjen ali se zna da se ne radi se o supresijskim limfocitima T nego o: preusmjerenju od T_H1 prema T_H2 , stvaranju antiidiotipskih protutijela, izlučivanju supresijskih citokina (IL-4, IL-10), ubijanju predočnih stanica limfocitima T, antiidiotipskoj međureakciji.
- 8. Podvojena tolerancija** kada je dio imunodnog sustava tolerantan a dio nije. Najčešće su T limfociti tolerantni, a B nisu. T limfociti imaju 100 do 1000 puta niži prag za aktivaciju i za uspostavu tolerancije.
- 9. Veto stanice** jesu specijalizirane stanice koje nose vlastite epitope i mogu ubiti autoreaktivne klonove stanica.

Imunosni odnosi majke i djeteta

Fetus je prirodni alotransplantat zbog nazočnosti očevih antigena. Učetalu spontani pobačaji nekih žena mogu biti posljedica imunoreakcije majke na fetus. Fetus je u maternici okružen anatomskom preprekom (**posteljina prepreka**) i s majčinim tkivom dolazi u doticaj jedino na mjestu **trofoblasta** koji posjeduje antigene specifične za trofoblast (TA) i trofoblastne antigene (TLX) (Tablica 29). Fetoplacentarna barijera ne propušta limfocite. Od protutijela prolaze samo protutijela IgG (IgG1, IgG3). Stanice fetalnog trofoblasta ne izražavaju klasične antigene MHC-I i MHC-II; sadrži molekulu HLA-G koja koči ubijanje stanica trofoblasta stanicama NK te čimbenike koji kočuju djelovanje komplementa. Posteljica izlučuje imunosupresivne tvari, primjerice **korionski gonadotropin, α -fetoprotein, steroide i mukoproteine -sustavni imunoregulacijski mehanizam. Lokalni mehanizmi** temelje se na slijedećim značajkama: **a) maternica je imunoprivilegirano mjesto, b) fetoplacentarna barijera tj. trofoblast c) nedostatak MHC, d), čimbenici koji inaktiviraju komplement, e) lokalni hormoni, f) imunosupresivni mukoproteini, g) nazočnost lokalnih supresijskih stanica; izlučuju supresijske citokine TGF- β , IL-10, IL-4, h) inhibicija limfocita T i NK.**

Tablica 29. Značajke stanica trofoblasta

- nemaju klasične MHC I i II,
- imaju antigene specifične za trofoblast (TA)
- imaju trofoblastne antigene koji križno reagiraju s limfocitima (TLX).

- imaju neklasični MHC I (HLA-G) koji koči ubijanje stanicama NK
- imaju čimbenik koji ubrzava razgradnju (DAF)
- imaju membranski kofaktorski protein (MCP)

Imunosni odnos majke i djeteta je posebice važan u klinici zbog pojave hemolizne bolesti u novorođenog djeteta posljedično nastale zbog Rh inkompatibilnosti; Rh negativna majka reagira na Rh pozitivno dijete (**fetalna eritroblastoza**). Primjena hiperimunog anti -D seruma, smanjuje opasnost za slijedeću trudnoću.

AUTOIMUNOST I AUTOIMUNE BOLESTI

Autoimunost je imunosna reaktivnost na vlastite antigene, odnosno gubitak tolerancije. Zakazivanje mehanizama tolerancije vodi pojavnosti autoprotutijela i autoreaktivnih limfocita T. Autoimune bolesti imaju brojne etiološke čimbenike (Tablica 30); osnovi čimbenici koji mogu doprinjeti razvoju autoimunosti su: 1) **lokalne (tkivne) promjene** 2) **promjene limfocita** 3) **genetički čimbenici** (Tablica 31).

Tablica 30. Teorija o podrijetlu autoimunosti

- Oslobađanje sekvestriranog antigena
- Smanjenje supresorskih mehanizama stanica T
- Pojačana aktivnost stanica T, bijeg od tolerancije
- Manjkavosti timusa
- Nazočnost reaktivnih klonova, manjkavosti pri indukciji tolerancije
- Poliklonska aktivacija stanica B
- Neprijemljivost stanica B za supresorske citokine
- Oštećenjamakrofaga
- Oštećenja matičnih stanica
- Manjkavosti idiotipske-antiidiotipske mreže
- Poremećaj imunoregulacije
- Promjenjeni geni: geni imunoreakcije, imunoglobulinski geni, geni za receptor stanica T,
- Ektopička izražajnost imunoregulatornih gena
- Virusni čimbenici
- Hormonski čimbenici

Doticaj između autoantigena i imunosnog sustava mora doći tijekom ontogeneze kako bi se prouzročila areaktivnost na vlastito. Podnošljivost na razini T i B stanica neće se uspostaviti na sekvestrirane antigene unutar organa; nedostatak doticaja s limforetikularnim sustavom. Stoga svako oštećenje tih organa (primjerice, infarkt, upala ili prejaka imunoreacija) i oslobađanje antigena dovodi do pojavnosti autoprotutijela. Također promjene vlastitih antigena lijekovima ili mikrobima mogu izazvati imunosnu reakciju na vlastita tkiva ili stanice. Autoreaktivnost može posljedično nastati zbog izlaganja imunosnog sustava križno reaktivnim antigenima (reakcija na strani antigen sličan vlastitome izaziva reakciju na vlastiti antigen). Primjerice, antihipertenziv α -metildopa (Aldomet) može se vezati na eritrocitni antigen Rh i izazvati stvaranje antieritrocitnih protutijela. Pojavnost antieritrocitne autoimunosti uočena je i pri infekciji mikoplazmom (*M. pneumoniae*), koja mijenja membranu eritrocita. Primjer križne reaktivnosti je autoimuni encefalitis prouzročen cijepljenjem protiv bjesnoće, nazočnost sličnih epitopa antigena u cjepivu kao u tkivu mozga vodi pojavnosti autoimune reakcije-**mehanizam molekularne mimikrije**. Središnju ulogu u pokretanju autoimunog procesa igraju limfociti T_H koji prepoznaju antigen u kombinaciji s vlastitim

molekulama MHC, što pridonosi povezanosti brojnih autoimunih bolesti s genskim čimbenicima (Abbas i sur., 2000). Nazočnost određenih MHC antigena i njihova povezanost s autoimunim bolestima prikazuje Tablica 31.

Tablica 31. Čimbenici koji doprinose razvoju autoimunosti

Lokalne (tkivne) promjene	Limfocitne promjene	Genetski čimbenici	
Tkivna oštećenja ili upala vode do:	Propusti pri stjecanju prirodene imunopodnošljivosti (tolerancije) na vlastito odnose se na:	Nasljedene bolesti združene s MHC (HLA) ili drugim genima	
-oslobođanje sekvestriranih vlastitih antigena	- nepravilnu selekciju repertoara limfocita	Autoimuna bolest	Nazočnost HLA alela
-Strukturne promjene vlastitih antigena	- poliklonalnu aktivaciju anergijskih autoreaktivnih limfocita	Addisonova bolest	DR3
-povećanje kostimulatornih molekula na APC	- stimulaciju limfocita stranim antigenom koji posjeduje križnu reaktivnost s vlastitim antigenima	Gravesova bolest	B8/DR3
		Pemfigus	DR4
		Hashimotova bolest	DR5
		Dijabetes ovisan o inzulinu	DR3, DR4
		Mijastenija gravis	DR3
		Reumatoidni artritis	DR4
		Sjogrenov sindrom	Dw3
		Sustavni lupus eritematosus	DR3

AUTOIMUNE BOLESTI

Mehanizmi nastanka autoimunosti obično se isprepliću. Autoreaktivni klonovi stvaraju nove autoreaktivne stanice i autoprotutijela koja reagiraju s autoantigenima i o njihovoj međureakciji ovisi težina i tip autoimune bolesti te pojavnost kliničkih znakova 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 **organspecifične** (autoimuna reakcija usmjerena na antigen u određenom organu) i na **organnespecifične ili sustavne** (reakcija usmjerena na jedan ili više antigena rasprostranjenih u mnogim organima). Autoimune bolesti se često preklapaju pa govorimo o spektru autoimunih bolesti. Izvršni imunski mehanizmi mogu oštetiti tkiva djelovanjem protutijela ili izvršnim stanicama; mehanizmi se često preklapaju, ali nekim bolestima su više izražena djelotvornost autoprotutijela od izvršnih stanica. Autoimune bolesti su povezane s reakcijama preosjetljivosti (Tablica 32). Autoprotutijela mogu djelovati na neizmjenjeni ili izmjenjeni autoantigen na staničnoj površini, citoplazmi ili jezgri. Mehanizam autoprotutijela se temelji na: a) **izravnom razaranju stanice** (autoimunosna hemolitička anemija, Goodpastureov sindrom i dr.) uz pomoć komplementa ili Fc receptora monocita, makrofaga, neutrofila, bazofila i mastocita; **tip II preosjetljivosti**, b) **djelovanju autoprotutijela na stanične receptore** može **spriječiti djelovanje fiziologijskog liganda na receptor** (šećerna bolest neovisna o inzulinu, miastemija gravis) ili **oponašati učinak fiziologijskog liganda (hipertireoza)**. Autoprotutijela su nazočna u bolestima u kojima dolazi do **nastanka imunokompleksa (reakcija III oblika preosjetljivosti)** dok su autoimuni **limfociti T uključeni u reakciju IV oblika preosjetljivosti** (šećerna bolest ovisna o inzulinu, reumatoidni artritis, multipla skleroza).

Tablica 32. Spektar autoimunih bolesti 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
	Dijabetes melitus ovisan o inzulinu	gušterača	dekarboksilaza glutaminske kiseline u β -stanicama Langerhansovih otočića
	Mijastenija gravis	mišići	receptori za acetilkolin
	Vulgarni pemfigus	Keratinociti	Adhezijska molekula Dsg-3
	Bulozni pemfigoid	Bazalna membrana kože i sluznice	BPAG-1, BPAG-2
	Autoimuna hemolitička anemija	eritrociti	antigen Rh
	Idiopatska trombocitopenijska purpura	trombociti	trombocitni integrin
	Sjogrenov sindrom	slinovnice i suzne žlijezde	proteini jezgre, ribonukleoproteini
	Reumatoidni artritis	sinovijske membrane zglobova	Fc fragment IgG, keratin
	Ankilozirajući spondilitis	zglobovi kralješnice	proteoglikan hrskavice
↓			
Organo-nespecifičnost	Diskoidni eritematozni lupus	koža i drugi organi	DNA, RNA, ribosomi itd.
	Sustavni eritematozni lupus	bubrezi, mozak, koža i drugi organi	DNA, RNA, ribosomi itd.

LIJEČENJE AUTOIMUNIH BOLESTI

Autoimune bolesti se liječe nespecifičnom imunosupresijom kortikosteroidima i citostaticima ili protuupalnom obradbom. Ovi lijekovi narušavaju i normalne imunosne mehanizme izazivajući teške nuspojave (primjerice. protu-CD3 protutijela protiv T_H stanica; protutijela 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. Postupci imunomodulacije rabe se u svrhu regulacije vrste i količine citokina ključnih za trajanje autoimune bolesti. Plazmaforeza pomaže u bolestima s nazočnošću imunokompleksa.

IMUNOLOŠKA PREOSJETLJIVOST - ALERGIJA

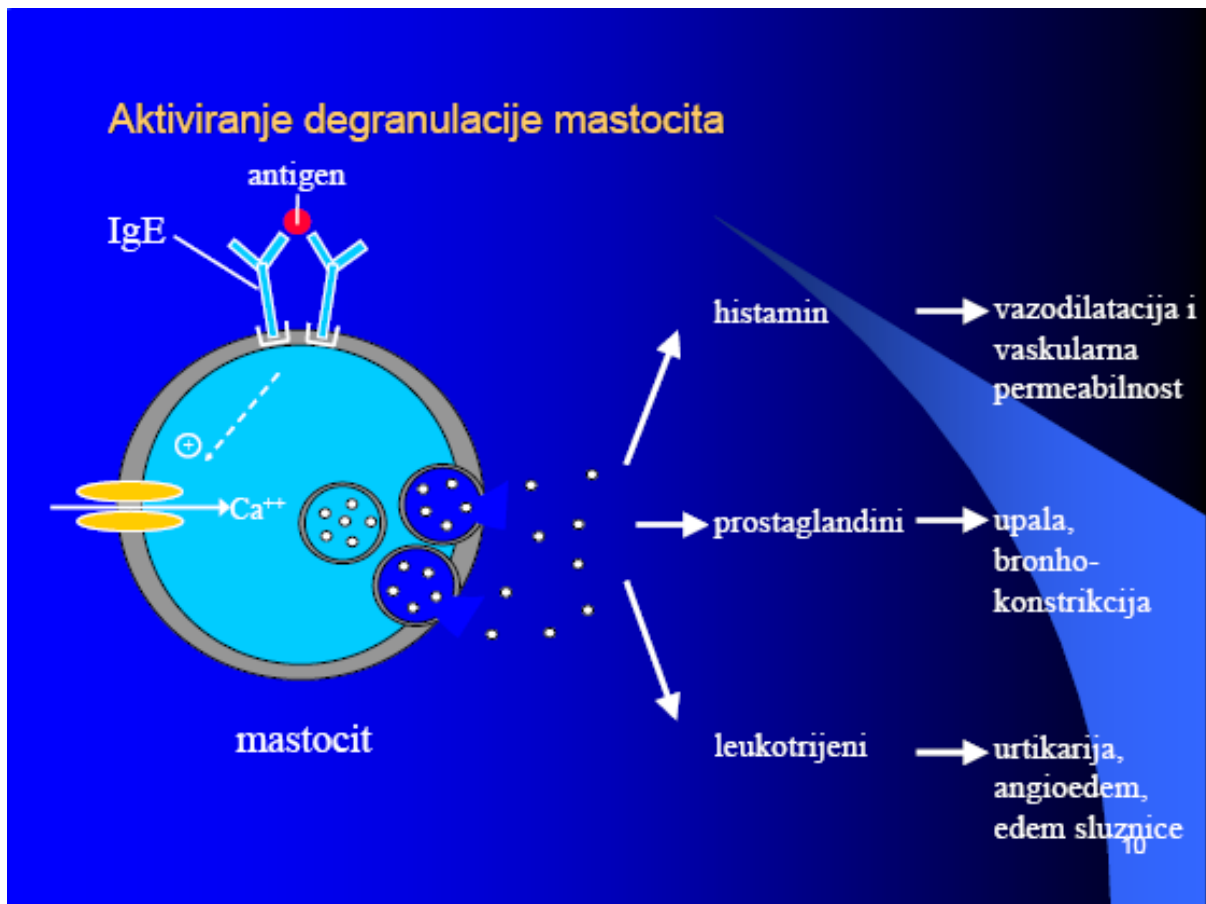
Imunoreakcija može biti temelj imunosti, ali i imunosne preosjetljivosti i autoimunosti. Imunosna preosjetljivost je stanje promjenjene i pojačane reaktivnosti organizma na antigen te oštećenja tkiva na imunosnoj osnovi. Antigene koji potiču alergijsku reakciju zovemo **alergenima**. Reakcije preosjetljivosti mogu biti posredovane protutijelima ili stanicama. Imunoreakcije posredovane protutijelima nazivaju se reakcijama **rane preosjetljivosti**, a imunoreakcije posredovane stanicama **reakcije kasne ili odgođene preosjetljivosti**. Prvi doticaj s alergenom prouzroči **senzibilizaciju** (preosjetljivost) dok ponovni doticaj s njim prouzrokuje upalu i ostale značajke preosjetljivosti. Temeljna značajka između imonosti i preosjetljivosti je što potonja prouzrokuje oštećenja organizma na imunosnoj osnovi. Reakcija preosjetljivog organizma na alergen može biti **lokalna** ili **opća** što ovisi o vrsti alergena, načinu unosa u organizam, stupnju i načinu senzibilizacije te drugim čimbenicima. Prema načinu nastanka i tijeku upalne reakcije postoje četiri oblika (I-IV) imunosne preosjetljivosti. Prva tri oblika su posredovana protutijelima (**rana preosjetljivost**) a četvrti limfocitima T i makrofagima (**kasna ili odgođena preosjetljivost**).

I. oblik imunološke preosjetljivosti (anafilaksija)

Osniva se na tvorbi protutijela IgE (u nekih životinja i IgG, osobito IgG4) koja se Fc područjem imunoglobulinske molekule veže za odgovarajuće receptore (FcεRI) mastocita i bazofila (**citotrofna**, ili **citofilna protutijela**). Alergijska reakcija započinje dolaskom alergena u senzibilizirani organizam i njegovim premošćavanjem s najmanje dvije molekule IgE na receptorima mastocita i bazofila. Time se stvara signal za slijed unutarstaničnih zbivanja koja rezultiraju aktiviranjem i oslobađanjem farmakoloških aktivnih posrednika upale: histamina, serotonin, leukotriena, kemotaksijskih čimbenika, čimbenika koji aktiviraju trombocite, proteaza, pri čemu dolazi do degranulacije mastocita. Oslobodeni posrednici najprije djeluju lokalno, izazivajući povećanu propusnost krvnih kapilara, proširenost kapilara, kontrakciju glatkog mišićja, lučenje sluznih žlijezda (**akutna faza** u prvih 15-30 min. nakon doticaja s alergenom). Kasna faza reakcije s kliničkim značajkama upale nakon 6-12 sati temelji se na povećanju dolaska upalnih stanica u tkivo, posebice eozinofila, neutrofila, bazofila, makrofaga te limfocita. Medijatori pohranjeni u granulama mastocita i bazofila nazivaju se **primarnim medijatorima** (Tablica 33). Stvaranje **sekundarnih medijatora** počinje nakon premošćivanja IgE uz nazočnost iona Ca^{++} koji aktiviraju fosfolipazu A_2 , enzim koji iz membranskih fosfolipida oslobađa arahidonsku kiselinu čijim metaboliziranjem nastaju sekundarni medijatori; djelovanjem lipoksigenaze stvaraju se leukotrieni, a djelovanjem ciklooksigenaze prostaglandini. Mastociti izlučuju različite citokine čija je temeljna zadaća da: a) potiču reakciju stanica T_H2 (IL-4 i IL-13), b) pospješuju upalnu reakciju (TNF- α , a IL-3), c) potiču stvaranje i aktivaciju eozinofila (IL-5 i GM-CSF). Eozinofili imaju također receptore za Fc-ulomak protutijela IgE; nakon reakcije eozinofila s IgE, nastaje njihova degranulacija, uz oslobađanje tvari koje pridonose upalnoj reakciji i dodatno oštećuju okolno tkivo.

Anafilaktična reakcija može biti lokalna (**atopija**) ili opća (**generalizirana**); razvoj anafilaktičkih oblika reakcije ovisi o genskom ustroju osobe. Atopijske reakcije načešće uzrokuju antigeni koji u organizam uđu dišnim sustavom (alergeni iz peludi, 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 očituje se 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 mogu

prouzročiti povraćanje i proljev, a ako nakon apsorpcije krvlju dospije u kožu uzrokuju 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 krvožilnog sustava (pad tlaka zbog gubitka krvne tekućine).



Slika 30. Proces aktivacije i degranulacije mastocita

Tablica 33. Učinak medijatora mastocita uključenih u tip I preosjetljivosti

Mediator	Učinak
Primarni	
Histamin	Povećanje propusnosti krvnih žila, kontrakcija glatkog mišićja
Serotonin	Povećanje propusnosti krvnih žila, kontrakcija glatkog mišićja
Čimbenik kemotaksije eozinofila	Kemotaksija eozinofila
Čimbenik kemotaksije neutrofila	Kemotaksija neutrofila
Proteaze	Izlučivanje mukusa bronha, razgradnja bazalne membrane krvnih žila, cjepanje komponenti sustava komplementa
Sekundarni	
Čimbenik aktivacije trombocita	Agregiranje i degranulacija trombocita, kontrakcija glatkog mišićja pluća
Leukotrijeni (tvari sporoga djelovanja)	Povećanje propusnosti krvnih žila, kontrakcija glatkog mišićja pluća
Prostaglandini	Proširenost krvnih žila, kontrakcija glatkog mišićja pluća, agregacija trombocita
Bradikinin	Povećanje propusnosti krvnih žila, kontrakcija glatkog mišićja
Citokini	
IL-1 i TNF- α	Sustavna anafilaksija, povećanje izražaja adhezijskih molekula na endotelnim stanicama venula
IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, TGF- β i GM-CSF	Različiti učinci (vidi Tablicu 24, 25, 26)

II. oblik imunološke preosjetljivosti

Preosjetljivost tipa II odlikuje se potpunim oštećenjima i zatiranjem stanica pojedinih tkiva i organa. Posredovana je protutijelima IgG i IgM koja se vežu na specifične stanice ili tkiva. Ova protutijela usmjerena su na staničnu površinu tkivnih antigena te su u izravnoj međureakciji s Fc receptorima (FcR) na različitim efektorskim stanicama (K stanice, neutrofili, eozinofili, makrofagi) i komponentama komplementa čija aktivacija vodi oštećenju ciljne stanice. Aktivacija klasičnog i alternativnog puta komponenti komplementa može proizvesti litičko oštećenje ciljne stanice samim komplementom, ili omogućiti fagocitozu ciljnih stanica nakon vezanja ulomaka C3b, C3bi, C3d koje prepoznaju izvršne stanice (makrofagi, neutrofili, eozinofili, i NK i K-stanice) preko svojih Fc ili C3 receptora (CR1, CR3, CR4). Ulomci komplementa C3a i C5a kao posljedica njegove aktivacije privlače makrofage i polimorfonukleare na to mjesto, te stimuliraju mastocite i bazofile na proizvodnju kemokina koji privlače i aktiviraju ostale izvršne stanice. Oslobođanje anafilatoksina i kemotaksijskih peptida povećava propusnost krvnih kapilara i infiltraciju neutrofila. Taj je oblik preosjetljivosti čest nakon transfuzije nepodudarne krvi, pri čemu primatelj brzo uništava primljene eritrocite tako što se protutijela IgM primatelja vežu na eritrocite davatelja, aktiviraju komplement i pospješuju lizu i fagocitozu primljenih eritrocita. Daljnji primjeri preosjetljivosti tipa II su: hemolitička bolest novorođenčadi, autoimune hemolitičke anemije, hiperakutno odbacivanje transplantata, idiopatska purpurna

trombocitopenija, Goodpasture'ov sindrom (protutijela na kolagen tip IV; glavna sastavnica bazalne membrane glomerula bubrega), Myasthenia gravis (protutijela na acetilkolinske receptore uzorkuju slabost mišića). Ovaj oblik preosjetljivosti najčešće je posljedica autoimunizacije ili reakcije na lijekove.

III. oblik imunološke preosjetljivosti

Topljivi antigeni i protutijela mogu u krvnom optjecaju tvoriti imunokomplekse koji aktivacijom komponenti komplementa i drugih mehanizama prouzrokuju oštećenje tkiva i upalu. Stvaranje imunokompleksa može biti posljedica: **stalnih infekcija** (lepra, malarija, tropska groznica, virusni hepatitis, stafilokokni infektivni endokarditis, **autoimunih bolesti** (reumatoidni artritis, SLE, polimiozitis), **inhalacijskih antigena** (farmerska pluća, golubarska pluća). Prevelika količina stvorenih imunokompleksa ili njihovo nedostatno uklanjanje pomoću fagocitnog sustava omogućava taloženje imunokompleksa u stijenkama krvnih žila i glomerularnim membranama što prouzrokuje aktivaciju komponenti komplemeta i upalnu reakciju. Preosjetljivosti može biti **lokalna** (farmerska pluća, bolest uzgajivača golubova) i **sustavna** reakcija (antiserum protiv infektivnih bolesti primjerice, tetanusa, bjesnoće). Zivotinjski proteini s protutijelima stvaraju male imunokomplekse koji se talože u stijenkama krvnih žila, čime nastaje upalna reakcija (porast tjelesne temperature, osip, bol u zglobovima i otjecanjem limfnih čvorova-serumska bolest). Serumsku bolest mogu prouzročiti i lijekovi (primjerice, penicilin) nakon vezanja na proteinski nosač. Za razliku od ostalih oblika alergijske reakcije, serumska se bolest, zbog dugog zadržavanja imunokompleksa u organizmu, može razviti i pri prvom davanju lijeka. Formirani imunokompleksi pokreću brojne upalne procese: a) reagiraju izravno s bazofilima i krvnim pločicama preko Fc receptora i pokreću otpuštanje vazoaktivnih amina; b) stimuliraju makrofage u otpuštanju citokina, posebno čimbenika nekroze tumora (TNF α) i interleukina-1 (IL-1), koji imaju važnu ulogu u upalnom procesu (djeluju na sustav komplementa te proizvodnju anafilatoksina C3a i C5a koji stimuliraju oslobađanje vazoaktivnih amina uključujući histamin i 5-hidroksitriptamin te kemotaktične čimbenike iz mastocita i bazofila) c) C5a je također kemotaktična molekula za bazofile, eozinofile i neutrofile koji pojačavaju upalnu reakciju lizosomalnim enzimima Krvne pločice kao bogati izvor čimbenika rasta uključene su u staničnu proliferaciju u bolesti uzrokovanih nakupljanjem imunokompleksa, primjerice **glomerulonefritisa i reumatoidni artritis**.

IV. oblik imunološke preosjetljivosti

Odgodena preosjetljivost razvija se tijekom nekoliko sati do 72 sata, a nositelji preosjetljivosti su aktivirani limfociti T (T_H1, i citotoksični limfociti T) koji izlučivanjem citokina pokreću druge stanice posebice makrofage. T_H1 izlučivanjem upalnih citokina (IFN- γ , TNF- α , TNF- β) potiču na endotelnim stanicama lokalnih krvnih žila izražavanje adhezijskih molekula (E-selektin, ICAM-1, VCAM-1) što omogućuje ekstravazaciju plazme i različiti stanica u okolno tkivo. IL-3 i GM-CSF potiču koštanu srž na proizvodnju monocita a aktivaciju makrofaga potiče IFN- γ čiji enzimi doprinose oštećenju tkiva. Oštećenju tkiva pridonose i limfocitni citokini posebice limfotoksini (TNF- β). Ovaj tip preosjetljivosti je tipična stanična imunosna reakcija; snažni odgovor na brojne unutarstanične parazitske bakterije i gljivice (primjerice, mikobakterije), odbacivanja presatka i tumor koji prouzrokuje oštećenje vlastitog tkiva (primjerice pri tuberkulozi, lepri, shistosomijazi). Mogu je potaknuti različiti alergeni, najčešće proteini. Preosjetljivost IV. oblika javlja se i kao dodirni (kontaktni) dermatitis, koji

nastaje nakon doticaja kože s tvarima male molekulske mase (biljni sastojci, kozmetički pripravci, neki lijekovi) koje se ponašaju kao hapteni (postaju imunogenični nakon ulaska u kožu i vezanja s njenim proteinima). T_H1 stanice izlučivanjem IFN- γ potiču keratinocite na izlučivanje upalnih citokina (IL-1, IL-6, GM-CSF) te kemokina (IL-8, IP-9, MIG), čime pospješuju migraciju monocita na mjesto oštećenja i njihovo sazrijevanje u makrofage te privlačenje limfocita T. Značajke dermatitisa su crvenilo i otok kože te stvaranje mjehura.

U Tablici 34 prikazane su alergijske bolesti razvrstane prema opisanim mehanizmima njihova nastanka dok Tablica 35 pokazuje glavne značajke pojedinih tipova preosjetljivosti.

Tablica 34. Imunosni mehanizmi alergijskih bolesti

Imunosni mehanizam nastanka	Bolest
I oblik	Alergijski rinitis Alergijska astma Atopijski dermatitis Alergijska gastroenteropatija Sustavna anafilaksija Utrikarija - angioedem
II. oblik	Transfuzijska reakcija Fetalna eritroblastoza 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

Liječenje alergija

Liječenje obuhvaća izbjegavanje dodira s alergenom i desenzibilizaciju, kad je moguće. Desenzibilizacija se obavlja uštrcavanjem malih doza alergena, kojima se potiče stvaranje protutijela IgG koji se u krvnom optoku vežu na alergen te ometa 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.

Postupci pri anafilaksiji. Anafilaksija je akutna, generalizirana alergijska reakcija koja istodobno zahvaća krvožilni, dišni, probavni sustav i kožu. Anafilaktični šok je anafilaksija praćena hipotenzijom sa ili bez gubitka svijesti. Alergeni koji prouzrokuju anafilaksiju mogu biti: alergeni iz hrane, lijekovi te otrovi kukaca. Liječenje treba započeti što prije davanjem vodene otopine adrenalina intravenski, intramuskularno ili subkutano, te ako zatreba

Tablica 35. Glavne značajke pojedinih tipova preosjetljivosti (Gell i Coombs klasifikacija)

Značajke	Rana preosjetljivost			Kasna preosjetljivost	
	Tip I preosjetljivosti	Tip II preosjetljivosti	Tip III preosjetljivosti	Tip IV preosjetljivosti; Kasna preosjetljivosti	
Opisno ime; sinonim	IgE-posredovana preosjetljivost	Citotoksična preosjetljivosti ovisna o protutijelima	Preosjetljivost prouzročena imunokompleksima	Stanicama- posredovana preosjetljivost	
Odgovorne stanice	Stanice B	Stanice B	Stanice B	Stanice T	
Tip antigena	Topljivi antigen	Stanični - ili matriks- pridruženi antigeni	Topljivi antigen	Topljivi antigen	Stanicama-pridružen antigen
Tip protutijela	IgE	IgG, IgM	IgG	nema	
Druge stanice uključene	Bazofili, mastociti	Crvene i bijele krvne stanice, trombociti	Različite stanice domaćina	Različite stanice domaćina	Različite stanice domaćina
Mehanizam	Premošćivanje Ag u sekundarnoj reakciji s dvije molekule IgE vezane za mastocite i bazofile vodi oslobađanju vazoaktivnih medijatora, posrednika upale	Ab izravnim vezanjem za stanične površinske antigene razaraju ciljne stanice aktivacijom komplementa ili pomoću stanica koje nose Fc receptor; FcR ⁺ (fagocite, stanice NK)	Ag-Ab kompleksi nakupljeni u različitim tkivima potiču aktivaciju komplementa i osiguravaju upalni odgovor	Senzibilizirane stanice T _{DTH} oslobađaju citokine koji aktiviraju makrofage ili citotoksične stanice T, koje izravno prouzrokuju oštećenja stanica	Senzibilizirane stanice T _{DTH} oslobađaju citokine koji aktiviraju makrofage ili citotoksične stanice T, koje izravno prouzrokuju oštećenja stanica
Izvršni mehanizam	Aktivacija mastocita	Komplement, stanice FcR ⁺ (fagocite, stanice NK)	Komplement, fagocite	Aktivacija macrofaga	Citotoksičnost
Medijatori	Histamin, serotonin	Komplement, ADCC	Komplement, proteaze neutrofila	Citokini	Citokini

Prenos preosjetljivosti	Pomoću seruma	Pomoću seruma	Pomoću seruma	Pomoću stanica T	Pomoću stanica T
Vrijeme pokretanja reakcije	2-30 min	5-8 h	2-8 h	24-72 h	24-72 h
Vrijeme reakcije nakon ponovnog doticaja s antigenom	Odmah, do 30 min	Sati do dani	Sati do dani	Vrhunac reakcije od 48 do 72 h	Vrhunac reakcije od 48 do 72 h
Kožna reakcija	Lokalno crvenilo i otekline	Ništa	Arthus	Otvrdnuće (induracija), nekroza	Otvrdnuće (induracija), nekroza
Tipični primjeri pojavnosti	Sustavna anafilaksija (anafilaktički šok); Lokalna anafilaksija: peludna hunjavica, astma, koprivnjača, preosjetljivost na hranu, ekcem	Transfuzijska reakcija; Fetalna eritroblastoz; Autoimuna hemolitička anemija	Lokalna Arthusova reakcija; Sustavne reakcije: serumska bolest, glomerulonefritis, reumatoidni artritis, sustavni eritematozni lupus, malarijska oštećenja bubrega	Dodirni dermatitis, tuberkulozne lezije	Dodirni dermatitis, odbacivanje presatka

ponoviti. postupak nakon 15-30 min, uz infuziju fiziološke otopine u slučaju šoka i osiguranje prohodnosti dišnih putova.

Tabla 36. pokazuje mehanizam djelovanja nekih lijekova važnih u obradi tipa I preosjetljivosti.

Tabla 36. Mehanizam djelovanja lijekova koji se rabe u obradi tipa I preosjetljivosti.

Lijek	Mehanizam djelovanja
Antihistamini	Blokiraju H1 i H2 receptore na ciljnim stanicama
Natrij kromolin	Blokira ulazak Ca^{2+} u mastocite
Teofilin	Produžava visoku razinu cAMP u mastocitima inhibicijom fosfodiesteraze koja cijepa cAMP do 5'-AMP*
Epinefrin (adrenalin)	Stimulira proizvodnju cAMP vezanjem na β -adrenergične receptore na mastocitima*
Kortizon	Reducira razinu histamina blokiranjem konverzije histidina u histamin i stimulira proizvodnju cAMP

*Stalni porast cAMP tijekom aktivacije mastocita; visoka razina cAMP sprječava degranulaciju mastocita.

LITERATURA

Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. (1994) Cellular and molecular immunology, 2nd ed. - W.B.Saunders, Philadelphia. 2: 15 – 31, 12: 239 – 260.

Abbas, AK, Lichtman, Andrew H, Poper, Jordan S (2000) Cellular and molecular immunology. 4th ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia, USA

Andreis I, Batinić D, Čulo F, Grčević D, Marušić. M, Taradi M, Imunologija" Medicinska naklada, Zagreb, šesto izdanje 2004.

Bock O, Hussein K, Kreipe H.(2007) Stem cell defects in Philadelphia chromosome negative chronic myeloproliferative disorders: a phenotypic and molecular puzzle?Curr Stem Cell Res Ther. 2(3):253-63. Review.

Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, and Walter P. (2002) Molecular Biology of the Cell, 4th ed Published by Garland Science, a member of the Taylor & Francis Group, New York, USA

Burmester GR, Pezzutto A. (with contributions by Ulrich T, Aicher A) (2003) Color Atlas of Immunology. Thieme, Stuttgart New York.

Burrows PD, Kubagawa H, Nishimoto N, Kerr WG, Borzillo GV, Hendershot LM, Cooper MD. (1991) Differences in human B cell differentiation. Adv Exp Med Biol;292:215-26. Review.

Cheung AM, Kwong YL, Liang R, Leung AY. (2006) Stem cell model of hematopoiesis.Curr Stem Cell Res Ther 1(3):305-15. Review.

- Cline MJ. (1988) Oncogenes and the pathogenesis of human cancers: implications for cancer diagnosis and management. *Br J Clin Pract Suppl.* 62:2-4. Review
- Cline MJ.(1989) Oncogenes in hematologic neoplasia. *Int J Cell Cloning.* 7(4):213-22. Review.
- Despars G, Tan J, Periasamy P, O'Neill HC. (2007) The role of stroma in hematopoiesis and dendritic cell development. *Curr Stem Cell Res Ther.* 2(1):23-9. Review.
- Elgert K, Alleva DG, Mullins DW. (1998) Tumor-induced immune dysfunction: the macrophage connection. *J. Leukoc. Biol.* 64: 275 – 290.
- Feldman PL, Griffith OW, Stuehr DJ. (1993) The surprising life of nitric oxide. *C & EN.* 26 – 38.
- Hibbs JB, Taintor RR, Vavrin Z, Rachlin EM. (1988) Nitric oxide: a cytotoxic activated macrophage effector molecule.- *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 157: 87-91.
- Janeway CA Jr, Travers P, Walport M, Shlomchik M (2003) *Immunobiology, The Immune system in Health and Disease.* 5th ed. Garland Publishing
- Kuby J. (2007) *Immunology.* 6th ed. W.H. Freeman and company, New York.
- MacMicking J, Xie Q-W, Nathan C. (1997) Nitric oxide and macrophage function.- *Annu. Rev. Immunol.* 15: 323-350.
- Mader SS. (2000) *Human biology – McGraw Hill, New York*
- Male D, Roitt I, Brustoff J, Roth DB. (2006) *Immunology.* 7th ed. Mosby, Edinburgh, UK
- Moncada S. (1992) The L-arginine: nitric oxide pathway. *Acta. Physiol. Scand.* 145: 201 – 227.
- Moncada S, Palmer RMJ, Higgs A. (1991) Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 43: 109 – 142.
- Muijsers RBR, Folkerts G., Henricks PAJ, Sadeghi-Hashjin G, Nijkamp FP. (1997) Peroxynitrite: a two-faced metabolite of nitric oxide. *Life Sciences* 60: 1833 – 1845.
- Naglić T, Hajsig D. (1993) *Veterinarska imunologija. Školska knjiga. Zagreb*
- Nathan C, Xie Q-W. (1994) Regulation of biosynthesis of nitric oxide. *J Biol Chem* 269: 13725-13728
- Nathan CF. (1987) Secretory products of macrophages. *J Clin Invest* 79: 319-326.
- Nathan CF, Murray HW, Cohn ZA. (1980) The macrophage as an effector cell. *N Engl J Med* 303: 622-635.
- Overell RW, Weisser KE, Hess B, Namen AE, Grabstein KH. (1989) Stage-specific transformation of murine B lineage cells by ras and myc. *Oncogene.* 4(12):1425-32.

Patel N, Castillo M, Rameshwar P. (2007) An in vitro method to study the effects of hematopoietic regulators during immune and blood cell development. *Biol Proced Online*. 9:56-64.

Pick E. (1981) *Lymphokines, A Forum for Immunoregulatory Cell Products; Vol 3 Lymphokines in Macrophage Activation.*- Academic Press.

Radomski MW (1995) The role of nitric oxide of peroxynitrite in platelet function: interactions with prostacyclin. *Topics in molecular Medicine* 1: 151 – 162.

Roitt I, Brostoff J, Male D. (1998) *Immunology*. Mosby International Ltd., London.

Roitt, Ivan, Brustoff, Jonathan, Male, David (2001): *Immunology*. 6th ed. Mosby, Edinburgh, UK

Takemura R, Werb Z. (1984) Secretory products of macrophages and their physiological functions. *Am. J. Physiol.* 246: 60.

Tizard J R. (2000) *Veterinary immunology*. 6th ed. W. B Saunders Company. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo.

van Furth R. (1980) The mononuclear phagocyte system. *Verh Dtsch Ges Pathol.* 64:1-11. Review.

van Furth R. (1985) Monocyte production during inflammation. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 8(2):205-11. Review.

Williams DE, Namen AE, Mochizuki DY, Overell RW. (1990) Clonal growth of murine pre-B colony-forming cells and their targeted infection by a retroviral vector: dependence on interleukin-7. *Blood.* 75(5):1132-8.

Wink DA, Mitchell JB. (1998) Chemical biology of nitric oxide: insights into regulatory, cytotoxic and cytoprotective mechanisms of nitric oxide. *Free Radical Biology & Medicine.* 25: 434 – 456.

Wright SD, Griffin FM.Jr (1985) Activation of fagocytic cells C3 receptors for fagocytosis. *J Leukocyte Biol.* 38: 327-331.