

OSNOVE MEDICINSKE IMUNOLOGIJE

Alojz Ihan

Univerza v Ljubljani
Medicinska fakulteta
Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo
Katedra za mikrobiologijo in imunologijo

OSNOVE MEDICINSKE IMUNOLOGIJE

Alojz Ihan



Ljubljana, 2020

Univerza v Ljubljani
Medicinska fakulteta
Katedra za mikrobiologijo in imunologijo
Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo



OSNOVE MEDICINSKE IMUNOLOGIJE

Alojz Ihan

Urednik:

Alojz Ihan

Recenzenti

prof. dr. Vladimir Kotnik, dr. med.

prof. dr. Mitja Košnik, dr. med.

doc. dr. Andreja Kopitar, univ. dipl. biol.

Ilustracije in oprema

Manca Krošelj

Lektorica

Katarina Faganel, prof.

Prelom

Boex DTP d. o. o.

Tisk

Itagraf d. o. o.

Naklada

500 izvodov

CIP - Kataložni zapis o publikaciji
Narodna in univerzitetna knjižnica, Ljubljana

612.017(075.8)

616-097(075.8)

IHAN, Alojz

Osnove medicinske imunologije / Alojz Ihan. - Ljubljana :
Medicinska fakulteta, Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo,
Katedra za mikrobiologijo in imunologijo, 2020

ISBN 978-961-95091-1-1

COBISS.SI-ID 28410371

Copyright© Katedra za mikrobiologijo in imunologijo 2020

Učbenik je s sklepom Katedre za mikrobiologijo in imunologijo 27. 12. 2019 opredeljen kot temeljno študijsko gradivo pri predmetu »Temeljna mikrobiologija in imunologija« (enoviti magistrski študijski program Medicine na Medicinski fakulteti Univerze v Ljubljani)

Vse pravice pridržane. Razmnoževanje ali razširjanje delov ali celote te publikacije s katerim koli sredstvom brez pisnega dovoljenja založnika je prepovedano.

UVOD

Imunski sistem je organiziran pri vseh večceličnih organizmih, ki morajo svojo notranjost z bogato nakopičenimi hranili varovati pred mikroorganizmi. Tvorijo ga imunske celice in tkiva, ki z medsebojnimi interakcijami oblikujejo imunske odzive, bodisi obrambne (napad na invazivne mikroorganizme), bodisi tolerančne – do lastnih celic in tkiv ter neinvazivnih tujkov – hrane, mikrobiote. Čeprav je preučevanje imunskega sistema v osnovi del fiziologije, pa je imunologija postala samostojna stroka zaradi svoje vpletenosti v številne bolezenske procese (avtoimunost, alergije, imunske pomankljivosti), še bolj pa zaradi široke uporabe imunologije v terapiji, diagnostiki in biotehnologiji (cepiva, monoklonska protitelesa, encimsko-imunski testi, presaditve tkiv in organov, celične terapije). O odločilnem pomenu imunskega sistema za zdravje pričajo bolezni in stanja, pri katerih imunski sistem ne deluje. Ljudje, ki so se nekoč rodili z resnimi genetskimi okvarami imunskega sistema, so že v zgodnjem otroštvu umrli zaradi okužb, ki jih ni bilo mogoče ustaviti niti z zdravili. Takim ljudem danes "zamenjamo" okvarjen imunski sistem z zdravim – opravimo presaditev krvotvornih matičnih celic, pridobljenih od zdravega darovalca, iz katerih se nato razvijejo zdrave imunske celice, ki bolniku omogočijo normalno imunsko odzivnost.

Pomembna bolezen, ki okvarja imunski sistem, je okužba z virusom HIV. Če okužbe ne zdravimo, nastane sindrom pridobljene imunske pomankljivosti (AIDS), pri katerem bolnik razvije številne smrtno nevarne okužbe. V današnjem času so resne okvare imunskega sistema tudi posledica jemanja zdravil, ki zavrejo delovanje imunskih celic (npr. citostatikov, kortikosteroidov, bioloških proticitokinskih zdravil). Tudi v tem primeru so posledica resne in težko obvladljive okužbe.

Po drugi strani pa o učinkovitosti imunskega sistema pri preprečevanju okužb pričajo epidemio- loški uspehi, ki jih dosežemo s cepljenjem proti nalezljivim boleznim. Izpostavitev molekul povzročitelja bolezni imunskemu sistemu že v nekaj tednih povzroči nastanek protiteles in celičnega imunskega odziva, ki cepljenega človeka kljub izpostavljenosti okužbi ščitijo pred zbolevanjem.

Upravljanje imunskih odzivov je izjemno kompleksno, saj pri vsakem hkrati sodelujejo številni mediatorji, imunske in druge tkivne celice ter hormonske in živčne povratne zanke – vse z namenom, da imunski odziv učinkovito zameji okužbo. Dolgotrajno tkivno vnetje pri neučinkovitem ali slabo uravnanem imunskem odzivu privede do brazgotinjenja tkiv in nepovratnih poškodb njihovega delovanja (npr. ciroza jeter, pljučni emfizem, atrofija želodčne sluznice). Kompleksnosti uravnavanja imunskih odzivov ni mogoče razumeti brez poznavanja posameznih elementov imunskega sistema (celic, receptorjev, mediatorjev, tkiv in organov), po drugi strani pa tudi vloge posameznih elementov ni mogoče razumeti brez pogleda na celoto. Zato je učenje imunologije velik izziv. In zato imunološki učbeniki pogosto uporabljajo večstopenjsko opisovanje – uvodni opisi imunskega sistema se v več stopnjah nadgrajujejo in »ponavljajo« isto imunološko zgodbo na vedno višji stopnji razumevanja podrobnosti in celote. Na tak način sem skušal opisovati imunski sistem tudi v tej knjigi.

Učbenik "Osnove medicinske imunologije" vsebuje študijsko gradivo, ki ga za študente medicine predvideva program znanj iz temeljne imunologije. Poleg tega je v učbeniku tudi dodatno gradivo za poglobljeno razumevanje nekaterih biokemijskih in molekularnobioloških vidikov imunskih reakcij, ki ga za študij potrebujejo študentje mikrobiologije, molekularne biologije in sorodnih strok, vključno s podiplomskimi študenti.

Alojz Ihan

Zahvala: V knjigi so opisane značilnosti imunskega sistema in odzivanja, ki jih za klinično-diagnostične potrebe vsakodnevno merimo na Oddelku za imunologijo, Inštituta za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete v Ljubljani. Brez velikega znanja in diagnostičnih izkušenj sodelavcev ta knjiga ne bi mogla nastati – zato vsem iskrena zahvala. Hvala tudi Klari – njen medicinski študij je bil motiv za prvo, spletno izdajo te knjige. In nenazadnje – hvala Maji za nenehno podporo in Katarini za veselje, ki ga prinaša.

KAZALO

1. PREGLED IN ORGANIZIRANOST IMUNSKEGA SISTEMA	11
1.1 Imunologija kot znanost in klinična praksa	13
1.2 Osnovne značilnosti imunskega sistema	15
1.3 Naravni in pridobljeni imunski odzivi	15
2. CELIČNE VRSTE IN PODVRSTE, KI SO POMEMBNE ZA IMUNSKI ODZIV	18
2.1 Fagocitoza in fagocitne celice	18
2.2 Nevtrofilni granulociti	19
2.3 Monociti	21
2.4 Makrofagi	22
2.5 Dendritične celice in APC	23
2.6 Bazofilni granulociti in mastociti	25
2.7 Eozinofilni granulociti	26
2.8 Celice NK	27
2.9 Limfociti	28
2.10 Primarni in sekundarni imunski odziv	29
2.11 Kako limfociti povzročijo odstranjevanje tujkov iz organizma?	29
2.12 Antigenski receptorji limfocitov	31
2.13 Vrste in podvrste levkocitov analiziramo z monoklonskimi protitelesi CD	32
3. TKIVA IN ORGANI IMUNSKEGA SISTEMA	34
3.1 Kostni mozeg	34
3.2 Timus	35
3.3 Limfa in limfne žile	36
3.4 Bezgavke	38
3.5 Vranica	38
3.6 Limfatično tkivo sluznic	39
4. TELESNE PREGRADE IN PROTIMIKROBNA ODPORNOST	41
4.1 Prva obrambna linija: telesne pregrade in protimikrobni obrambni mehanizmi	41
4.2 Koža kot pregrada in imunska tkiva	41
4.3 Sluznice kot pregrade in imunska tkiva	43
5. RECEPTORJI NARAVNE IMUNOSTI	46
5.1 Receptorji PRR	46
5.2 Receptorji TLR	46
5.3 Receptorji NLR	47
5.4 Inflamasomi	48
5.5 Transkripcijski faktor NF- κ B – glavna signalna pot aktivacije genov za sprožitev imunskih in vnetnih odzivov	49

6. MEDIATORJI IMUNSKEGA SISTEMA - CITOKINI	52
6.1 Pomembnejši citokini, ki uravnavajo vnetni in imunski odziv	53
7. KROŽENJE LEVKOCITOV IN NJIHOVA MIGRACIJA V TKIVA	58
8. KOMPLEMENTNI SISTEM	61
8.1 Molekularni mehanizmi aktivacije komplementnega sistema	61
9. VNETJA PRI IMUNSKIH ODZIVIH	67
9.1 Sistemski učinki vnetja	70
9.2 Sindrom sistemskega vnetnega odziva in sepsa	70
10. CELICE IN MOLEKULE PRIDOBLJENEGA (ADAPTIVNEGA) IMUNSKEGA ODZIVA	72
10.1 Antigeni – lastno, tuje	72
10.2 Celice pridobljene imunosti	73
10.3 Povezava med prirojenim in pridobljenim imunskim odzivom	74
10.4 Antigenski receptorji limfocitov B in limfocitov T	75
11. LIMFOCITI B IN NJIHOVI ANTIGENSKI RECEPTORJI BCR (B-CELIČNI RECEPTOR – PROTITELO OZ. IMUNOGLOBULIN)	76
11.1 Zgradba in funkcija protiteles (imunoglobulinov)	77
11.2 B-celični receptor (BCR) in BCR kompleks	78
11.3 Uspešna aktivacija limfocita B potrebuje dva signala	80
11.4 Razredi protiteles in njihove lastnosti	81
11.5 Vezišče za antigen	84
11.6 Afiniteta in avidnost protiteles	85
11.7 Antigeni protitelesnega odziva (limfocitov B)	86
11.8 Antigeni, ki določajo imunogenost	86
12. ORGANIZACIJA IN IZRAŽANJE IMUNOGLOBULINSKIH GENOV	88
12.1 Oblikovanje variabilne regije protiteles v kostnem mozgu	89
12.2 Dozorevanje limfocitov B v kostnem mozgu in negativna selekcija	92
13. RAZVOJNE STOPNJE LIMFOCITOV B	94
13.1 Vrste zrelih limfocitov B	95
13.2 Klonska selekcija limfocitov B	96
13.3 Membranska in sekrecijska protitelesa	97
13.4 Preklapljanje med razredi protiteles – izotipski prekop (<i>angl.</i> class-switch recombination, CSR) ...	97
14. CELIČNI IMUNSKI ODZIVI IN LIMFOCITI T	99
14.1 Razvoj limfocitov T	99
14.2 T-celični receptorji (TCR)	99
14.3 Nastanek variabilnosti T-celičnega receptorja s preurejanjem DNK	100
15. MOLEKULE POGLAVITNEGA KOMPLEKSA TKIVNE SKLADNOSTI IN PREDSTAVLJANJE ANTIGENOV LIMFOCITOM T	104
15.1 Polimorfizem molekul MHC I in MHC II	107

15.2	Izražanje molekul MHC, predelava antigena in predstavljanje antigena	109
15.3	Proteini CD4 in CD8	109
15.4	Mehanizmi predstavljanja antigenov z molekulami MHC I	109
15.5	Mehanizmi predstavljanja antigenov z molekulami MHC II.	111
15.6	Prepoznavanje antigena	112
15.7	Uspešna aktivacija limfocita T potrebuje tri signale	112
15.8	Imunska sinapsa – kompleksno uravnavanje aktivacije TCR	113
15.9	Funkcionalne spremembe limfocitov T po aktivaciji	114
15.10	Proliferacija aktiviranih limfocitov T in klonska ekspanzija	115
15.11	Diferenciacija limfocitov T in nastajanje efektorskih limfocitov T	116
15.12	Selekcijski procesi oblikujejo nabor limfocitov T	117
15.13	Postimični naivni limfociti T	119
15.14	Prirojene limfoidne celice (ILC)	119
16.	DIFERENCIACIJA AKTIVIRANIH CELIC T POMAGALK V EFEKTORSKE CELICE	120
16.1	Spominski limfociti T	120
16.2	Upad T-celičnega odziva	120
16.3	Diferenciacija in funkcije efektorskih celic T pomagalk	121
16.4	Celice T_H1	121
16.5	Celice T_H2	121
16.6	Celice T_H17	122
16.7	Regulatorni limfociti T	123
17.	AKTIVACIJA IN DIFERENCIACIJA CITOTOKSIČNIH LIMFOCITOV T (CTL)	124
17.1	Diferenciacija efektorskih citotoksičnih limfocitov T	124
17.2	Mehanizmi pobijanja tarčnih celic z eksocitozo sekretornih granul CTL	125
17.3	Sekretorne granule	125
17.4	Proteini, udeleženi pri eksocitozi sekretornih granul	126
18.	URAVNAVANJE IMUNSKEGA ODZIVA	128
18.1	Imunska toleranca	128
18.2	Centralna toleranca	128
18.3	Mehanizmi centralne tolerance v timusu – negativna selekcija limfocitov T	129
18.4	Mehanizmi centralne tolerance v kostnem mozgu – negativna selekcija limfocitov B	130
18.5	Periferna toleranca	131
18.6	Ignoranca	132
18.7	Anergija	132
18.8	Fenotipski obvod	133
18.9	Klonska delecija z apoptozo	133
18.10	Tolerogene dendritične celice in Treg	134
18.11	Periferna toleranca limfocitov B	135
18.12	Uravnavanje imunskega odziva z vzdrževanjem homeostaze vnetja	135
18.12	Sistemske uravnavanje imunskega odziva – stresni odziv	137
19.	OBLIKOVANJE PROTITELESNEGA ODZIVA V LIMFATIČNIH ORGANIH	138
19.1	Folikularne dendritične celice in afinitetno dozorevanje limfocitov B	141
19.2	Protitelesni odziv na polisaharidne antigene	144

19.3	Efektorske funkcije protiteles	145
19.4	Oblikovanje imunskega odziva v limfatičnih tkivih sluznic	146
19.5	Sluznična toleranca	148
20.	UČINKI IMUNSKEGA ODZIVA NA OKUŽBE	149
20.1	Imunost proti bakterijam	149
20.2	Imunost proti virusom	152
20.3	Imunski odziv proti glivičnim okužbam.	153
20.4	Imunost proti parazitom.	155
21.	PREOBČUTLJIVOSTNE REAKCIJE	157
21.1	Reakcije tipa 1 (alergije, povzročene z IgE)	157
21.2	Reakcije tipa 2 (citotoksičnost, povzročena z IgG in IgM).	163
21.3	Reakcije tipa 3 (ki jih povzročajo imunski kompleksi).	164
21.4	Reakcije tipa 4 (ki jih povzročajo limfociti T in makrofagi)	165
22.	MEHANIZMI AVTOIMUNOSTI	167
22.1	Motnje uravnavanja imunskega sistema	167
22.2	Sistemske in za organ specifične avtoimunske bolezni.	170
23.	CEPLJENJE IN CEPIVA	171
23.1	Cepiva kot farmacevtski pripravki.	173
23.2	Kako narava antigena določa imunski odziv pri cepljenju.	174
23.3	Imunski odziv pri živih in mrtvih cepivih	174
23.4	Nastanek protitelesnega odziva po cepljenju	177
23.5	Protitelesni odziv na proteinske antigene.	178
23.6	Protitelesni odziv na polisaharidne antigene	178
23.7	Spominski protitelesni odziv	179
23.8	Cepljenje in oblikovanje celičnega imunskega odziva	180
24.	IMUNSKÉ POMANJKLJIVOSTI.	182
24.1	Primarne in sekundarne imunske pomanjkljivosti.	182
24.2	Prirojene imunske pomanjkljivosti, ki se kažejo predvsem kot motnje v koncentraciji posameznih limfocitnih populacij v krvi	183
24.3	Prirojene imunske pomanjkljivosti, ki se kažejo predvsem kot motnje v koncentraciji serumskih protiteles.	185
24.4	Bolezni imunske regulacije.	186
24.5	Prirojene motnje v delovanju in/ali številu fagocitnih celic.	187
24.6	Okvare signalnih molekul prirojenega imunskega odziva	188
24.7	Avtovnetne bolezni	189
24.8	Deficiti komplementa	189
25.	IMUNOMODULACIJA	190
25.1	Imunosupresivna zdravila	191
25.2	Imunomodulatorno zdravljenje z intravenskimi imunoglobulini (IVIg)	195

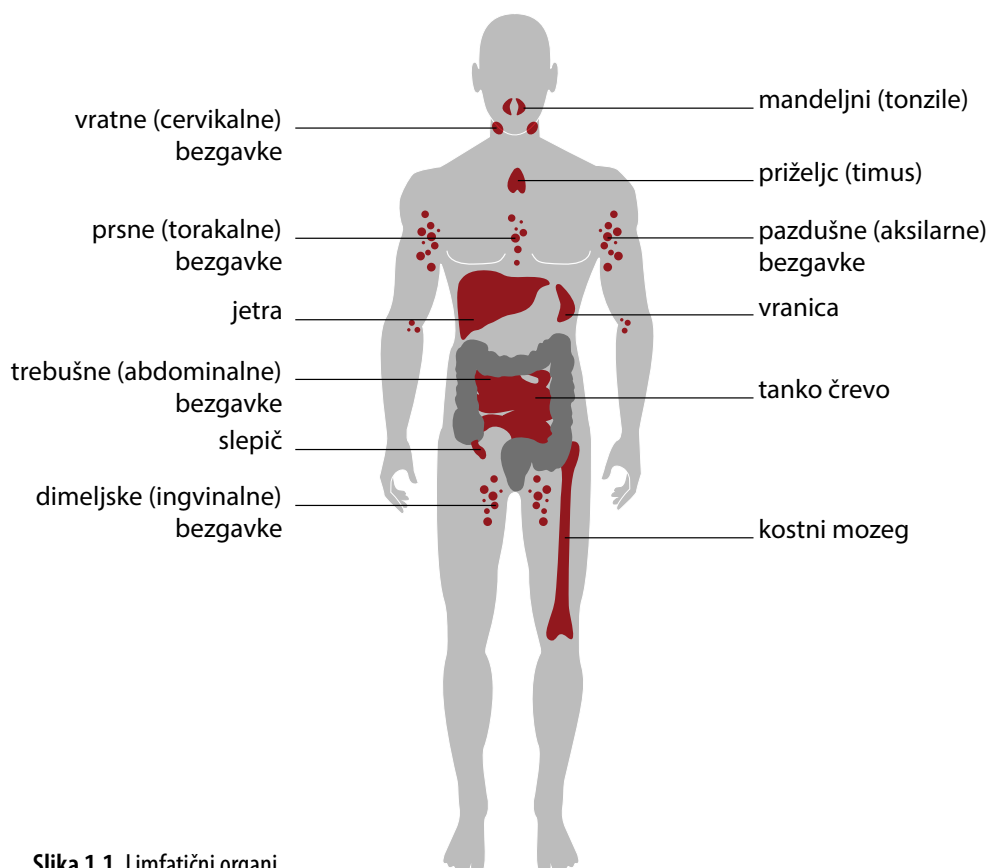
26. IMUNSKI POJAVI PRI PRESADITVI TKIV IN ORGANOV	197
26.1 Vrste presadkov	197
26.2 Zavrnitev presadka	198
26.3 Zavrnitev presadka in skladnost molekul HLA.....	199
26.4 Imunosupresivno zdravljenje proti zavrnitvi presadka	199
26.5 Presaditev krvotvornih matičnih celic	199
 27. MONOKLONSKA PROTITELESA V IMUNOLOGIJ IN MEDICINI	 201
 28. LABORATORIJSKO TESTIRANJE IMUNSKEGA SISTEMA	 205

1.

Pregled in organiziranost imunskega sistema

Imunski sistem je organski sistem, ki je razpreden po vsem telesu. Njegova poglavitna naloga je odstranjevanje povzročiteljev okužb. Imunski sistem sestavljajo imunske celice (bele krvne celice ali levkociti), imunska tkiva in organi ter limfne žile. Limfne žile iz tkiv odvajajo tkivno tekočino (medceličnino),

v kateri se znajdejo tujki, ki ob okužbi vdrejo v organizem. Ob limfnih žilah so na strateških mestih organizirana imunska tkiva in organi (npr. bezgavke), v katerih bele krvničke, zlasti limfociti, prepoznajo tujke in proti njim organizirajo ustrezen imunski odziv.



Slika 1.1. Limfatični organi.

Temeljna značilnost imunskega sistema je zmožnost razlikovanja med lastnimi molekulami (proizvodi "lastnega" genoma) in tujimi molekulami. V imunskih tkivih in organih imunske celice prepoznajo tuje, zlasti mikrobne molekule. Prepoznavanju tuja sledi organizacija določene vrste imunskega odziva, ki je namenjen uničenju in odstranitvi tuja iz organizma.

Med evolucijo so se razvile različne vrste imunskih celic in imunskih odzivov, ki se razlikujejo predvsem po efektorskih mehanizmih, s katerimi sprožijo odstranitev tujkov (npr. fagocitoza, citotoksičnost, nevtralizacija s protitelesi). Za spopadanje z različnimi patogeni so se v evoluciji razvile različne vrste imunskih odzivov, ki jih klinično opazimo kot raznolike vnetne odzive. Bakterije imajo npr. bistveno drugačne lastnosti (tj. velikost, zgradbo, način in mesto okužbe) kot virusi ali paraziti, čemur se mora primerno prilagoditi tudi imunski odziv. V vsakem primeru pa mora biti ob okužbi imunski odziv po eni strani dovolj učinkovit, da ustavi okužbo, in hkrati dovolj natančno uravnavan, da vnetje kot neizogibni del imunskega odziva povzroči čim manjšo škodo in čim krajši čas moti normalno delovanje tkiv in organizma kot celote. Zato v nekaterih tkivih (sluznici prebavil, jetrih, možganih, očesnem zrklju), kjer bi vnetje izrazilo ogrozilo organizem, navzočnost tujkov praviloma sproži nastanek nevnetnih imunskih odzivov (npr. nastajanje protiteles IgA) ali celo imunološko sprejetje tuja z nastankom tolerančnega imunskega odziva (npr. nastajanje regulatornih limfocitov T).

Ker je imunski sistem zmožen natančnega razlikovanja med telesu lastnimi molekulami in telesu tujimi molekulami, običajno imunski odziv sprožijo samo tuje molekule. Molekule, ki sprožijo imunski odziv tako, da se vežejo na specifične imunske receptorje za prepoznavanje tujkov (T-celični receptor (TCR) na limfocitih T in B-celični receptor (BCR) na limfocitih B) in s tem aktivirajo specifični, adaptivni imunski odziv, imenujemo imunogeni. Posledica je nastanek za antigen specifičnega imunskega odziva, tj. nastanek protiteles (imunoglobulinov) in/ali nastanek specifičnih limfocitov T, ki s svojimi receptorji (TCR) prepoznavajo antigensko molekulo.

Antigen je torej molekula, na katero se vežejo specifična protitelesa ali limfociti T s svojim re-

ceptorjem za antigen (TCR). Antigeni so navadno telesu tuje molekule, kar pomeni, da niso proizvod organizmu lastnega genoma in presnove. Včasih imunske celice s svojimi antigenskimi receptorji prepoznajo tudi telesu lastne molekule. V tem primeru lahko pride do imunske reakcije proti lastnim molekulam, celicam in organom, kar lahko vodi do nastanka avtoimunskih bolezni.

Posledice imunskih odzivov v organizmu se odražajo kot vnetje (vročina, rdečina, bolečina, oteklina, funkcionalna prizadetost). Ob hujši okužbi, npr. prsta na roki, prst pordi in oteče, v komolcu se povečajo bezgavke in poraste telesna temperatura. Na podoben način okužba žrela povzroči povečanje bezgavk pod spodnjo čeljustjo. Bezgavke otečejo, ker se v njih zaradi imunskega (vnetnega) odziva kopičijo in razmnožujejo vnetne celice, zlasti limfociti. Po nekaj dneh začne podvrsta limfocitov (limfociti B) tvoriti protitelesa, ki se vežejo na tuje ter povzročijo njihovo uničenje in odstranitev iz organizma.

O odločilnem pomenu imunskega sistema za zdravje pričajo bolezni in stanja, pri katerih imunski sistem ne deluje. Ljudje, ki so se nekoč rodili z resnimi genetskimi okvarami imunskega sistema, so že v zgodnjem otroštvu umrli zaradi okužb, ki jih ni bilo mogoče ustaviti niti z zdravljenjem. Pri teh ljudeh danes opravimo presaditev krvotvornih matičnih celic, pridobljenih od zdravega darovalca, iz katerih se nato razvijejo zdrave imunske celice, ki bolniku omogočijo normalno imunsko odzivnost.

Pomembna bolezen, ki okvarja imunski sistem, je okužba s človeškim virusom imunske pomanjkljivosti (HIV). Če okužbe ne zdravimo, nastane sindrom pridobljene imunske pomanjkljivosti (AIDS), pri katerem bolnik razvije številne smrtno nevarne okužbe.

V današnjem času so resne okvare imunskega sistema tudi posledica jemanja zdravil, ki zavrejo delovanje imunskih celic (npr. citostatikov, kortikosteroidov, bioloških proticitokinskih zdravil). Tudi v tem primeru so posledica resne in težko obvladljive okužbe.

Po drugi strani pa o učinkovitosti imunskega sistema pri preprečevanju okužb pričajo epidemiološki uspehi, ki jih dosežemo s cepljenjem proti nalezljivim boleznim. Izpostavitve molekul povzročitelja bolezni imunskemu sistemu že v nekaj tednih povzroči nastanek protiteles, ki cepljenega človeka

kljub izpostavljenosti okužbi ščitijo pred zbolevanjem.

1.1 Imunologija kot znanost in klinična praksa

Imunologija je znanstvena in medicinska (klinična) veda, ki preučuje zgradbo in delovanje imunskega sistema. Imunost je v svojih zapisih prvič omenil starogrški zgodovinar Tukidid med epidemijo kuge v Atenah leta 430 pr. n. št. Opazil je, da so ljudje, ki so že preživeli kugo, lahko skrbeli za bolnike, ne da bi znova zboleli. Prebolela bolezen jih je torej "naradila" odporne (tj. imune) proti ponovni okužbi. Kljub uporabi izraza "imunost" v tistem času ni šlo za predstavo o povzročiteljih bolezni in o obrambi telesa pred njimi, saj so stari Grki verjeli, da kugo povzročajo okoljski dejavniki (strupene pare). Prvo medicinsko "uporabo" pojava, ki ga danes imenujemo imunost, so opisali že v 10. stoletju na Kitajskem, kjer so izvajali cepljenje proti črnim kozam (variolizacijo) z uporabo posušenih in v prah zmletih krast bolnikov. Opazili so namreč, da ljudje, izpostavljeni okužbi, ne zbolijo ponovno. Prah so navadno posušili na soncu, saj sušenje in ultravijolični žarki inaktivirajo viruse, in ga nato vtrli v kožo ali nos. Tovrstno "cepljenje" se je razširilo tudi v turški imperij, a so nestandardizirani pripravki namesto zaščite pred boleznijo pri cepljenem človeku neredko bolezen celo povzročili (če virusi v pripravku niso bili dovolj temeljito inaktivirani). Smrtnost pri variolizaciji je bila 2- do 3-odstotna, zato se tovrstno cepljenje kljub nekaterim poskusom v Evropi ni uveljavilo.

V 18. stoletju je prirodoslovec Pierre-Louis Moreau de Maupertuis izvajal poskuse s strupom škorpionov in opazil, da je pse in miši s cepljenjem ob morebitnem kasnejšem piku škorpionja lahko zaščitil pred zastrupitvijo. Prva množična in izjemno učinkovita uporaba cepiva pa se je zgodila leta 1796, ko je angleški zdravnik Edward Jenner uspešno uvedel cepljenje proti črnim kozam tako, da je ljudi cepil s kravjimi kozami. Cepivo je med epidemijami črnih koz cepljene ljudi tako očitno zaščitilo pred zbolevanjem in bilo hkrati tudi tako varno za uporabo, da se je cepljenje bliskovito razširilo po Evropi, Jenner pa je postal eden najbolj slavnih ljudi svo-

je dobe. Njegovo cepljenje so že v nekaj desetletjih prevzeli v večini evropskih držav.

Jennerjevo cepivo ni temeljilo na ideji mikrobnih povzročiteljev bolezni in imunskem odzivu nanje, pač pa na izkustvenem opažanju, da kmetje, ki se med molžo krav nalezejo kravjih koz, ne zbolijo za mnogo bolj nevarnimi, a (kot se je kasneje izkazalo) zelo sorodnimi črnimi kozami. Jenner je naravni pojav, ki ga je opazil, od kmetov zgolj "razširil" na druge ljudi. Znanstvene temelje cepljenja je postavil Louis Pasteur, ki je zaslovel z odkritjem vzroka kvarjenja francoskih vin. Pokazal je namreč, da so v zdravem vinu kvasovke, v pokvarjenem pa bakterije, ki povzročajo gnitje. Poleg dokaza mikroorganizmov, ki povzročajo kvarjenje vina, je uvedel tudi ukrep, ki je v sodih preprečil kvarjenje tj. segrevanje (pasteurizacijo). Pasteur je nato izpopolnil tehnike gojenja mikroorganizmov in ugotovil, da lahko z njihovo nacepivitvijo v zdravo vino tudi namensko povzroči okvaro vina. Na podoben način je osamil mikroorganizme iz bolnih živali (piščančja kolera, *Pasteurella multocida*) in spoznal, da lahko s prenosom vzgojenih mikroorganizmov povzroči bolezen pri drugi živali. S tem je postavil trdno osnovo za sklepanje, da mikroorganizmi povzročajo nalezljive bolezni.

Pri poskusih s prenašanjem piščančje kolere je Pasteur opazil, da piščanci, ki jih je okužil s staro (odmrlo) bakterijsko kulturo, niso poginili, pač pa so "cepljeni" piščanci postali odporni na ponovne poskuse okužb z živo bakterijsko kulturo. Zaključil je, da so piščanci po okužbi z mrtvimi (oslavljenimi) bakterijami postali imuni na nadaljnje okužbe, in s tem postavil znanstveno osnovo cepljenja, da vbrizganje oslavljenega (mrtvega) povzročitelja bolezni organizem človeka ali žival zaščiti pred boleznijo.

Po tem uspehu je Louis Pasteur na podoben način razvil tudi cepivo proti antraksu in leta 1885 še legendarno cepivo proti steklini. Nato je leta 1891 Robert Koch izvedel znamenite poskuse za dokazovanje povzročiteljev okužb in dosegel, da so mikroorganizmi postali splošno prepoznani kot vzrok nalezljivih bolezni, cepljenje pa način in možnost, da nalezljive bolezni preprečimo s predhodnim aktiviranjem imunskega odziva z mrtvimi mikrobi, tj. cepljenjem (imunizacijo).

Kasneje sta Emil von Behring in Kitasato Shibasaburo s serumom živali, ki je prebolela davico, pred

boleznijo zaščitila zdrave živali in s tem opredelila pojem *pasivna humoralna imunost*. Snov, ki je v serumu zaščitila pred nastankom davice, so kasneje (leta 1930) prepoznali kot protitelesa. Teorijo o nastanku protiteles je sicer že tri desetletja pred tem postavil Paul Ehrlich (1900) in si protitelesa zamislil kot specializirane molekule, ki se prilegajo vsakemu posameznemu povzročitelju bolezni kot ključ in ključavnica ter s tem ščitijo pred boleznijo. Opisal je tudi, da lahko protitelesa kot *horror autotoxicus* povzročijo tudi uničenje lastnega organizma, kar danes poznamo kot avtoimunost.

Poleg Ehrlichove humoralne (protitelesne) imunosti je bilo konec 19. stoletja opredeljeno tudi področje celične imunosti. Ilja Mečnikov, ki je opazil, da bele krvničke (levkociti) požirajo tujke, tako velja za očeta celične imunologije. Za svoje delo sta oba, Ehrlich in Mečnikov, leta 1908 prejela Nobelovo nagrado za fiziologijo ali medicino. Za prelomna odkritja na področju imunologije je bilo do danes podeljenih že enajst Nobelovih nagrad za fiziologi-

jo ali medicino, vključno s prvo, ki jo je prejel Emil von Behring za odkritje antisera proti toksinom tetanusa v krvi okuženih živali.

Kasneje so področje imunologije zaznamovala številna odkritja, ki so podrobno pojasnjevala način, kako celice imunskega sistema prepoznajo tujke in aktivirajo mehanizme za njihovo odstranjevanje. Številni, za mikroorganizme ubijalski mehanizmi, pa v določenih okoliščinah povzročijo tudi nevarne napade imunskega sistema proti lastnim celicam, tkivom in organom, tj. imunske pogojene bolezni.

Z imunskim sistemom človeka se znanstveno ukvarja medicinska imunologija, ki je tradicionalno veja medicine ter obsega diagnosticiranje in zdravljenje imunske pogojenih bolezni. Mednje uvrščamo **imunske pomanjkljivosti** (pomanjkljivo odzivanje proti okužbam zaradi okvar mehanizmov naravnega ali adaptivnega imunskega odziva), **avtoimunost** (imunski napad proti lastnim celicam in tkivom zaradi avtoimunskih limfocitov B ali T oz. napak limfocitnih tolerančnih mehanizmov),

Tabela 1.1. Temeljna odkritja v zgodovini imunologije.

Temeljna odkritja v zgodovini imunologije

- 1798 Edward Jenner začne cepiti proti črnim kozam z virusom vakcinije.
- 1877 Paul Erlich odkrije mastocite.
- 1879 Louis Pasteur razvije atenuirano cepivo proti piščančji koleri.
- 1883 Elias Metchnikoff razvije celično teorijo cepljenja.
- 1885 Louis Pasteur izdela cepivo proti steklini.
- 1891 Robert Koch opredeli pozni tip preobčutljivosti.
- 1900 Paul Erlich opiše hipotezo o protitelesih.
- 1906 Clemens von Pirquet opredeli pojem alergija.
- 1938 John Marrack opredeli hipotezo o vezavi med protitelesi in antigeni.
- 1942 Jules Freund in Katherine McDermott opredelita pojem adjuvant.
- 1949 Frank Macfarlane Burnet in Frank Fenner opredelita pojem imunska toleranca.
- 1959 Niels K. Jerne, David Talmage in Frank Macfarlane Burnet objavijo teorijo klonske selekcije limfocitov.
- 1957 Alick Isaacs in Jean Lindenmann odkrijeta interferon.
- 1962 Rodney Porter razloži strukturo protitelesa.
- 1962 Jacques Miller pojasni vlogo timusa pri razvoju celičnega imunskega odziva.
- 1962 Noel Warner opredeli celične in humoralne imunske odzive.
- 1968 Anthony Davis opredeli sodelovanje med limfociti T in limfociti B pri imunskem odzivanju.
- 1974 Rolf Zinkernagel in Peter Doherty odkrijeta restrikcijo imunskega prepoznavanja z molekulami MHC.
- 1975 Georges Köhler in César Milstein izdelata metodo za proizvodnjo monoklonskih protiteles, t. i. hibridno tehnologijo.
- 1983 Ellis Reinherz, Philippa Marrack in John Kappler odkrijejo zgradbo T-celičnega receptorja (TCR).
- 1985 Susumu Tonegawa in Leroy Hood pojasnita delovanje imunoglobulinskih genov.
- 1987 Leroy Hood razloži delovanje genov za T-celični receptor.
- 1986 Timothy Mossman opiše model delovanja celic T pomagalk Th1-Th2.
- 1995 Shimon Sakaguchi odkrije regulatorne limfocite T.
- 1996–1998 Identifikacija toličnih receptorjev.
- 2000 Charles Mills odkrije makrofagne celice M1 in M2.
- 2001 Razjasnitev delovanja gena *FOXP3*, ki omogoča razvoj regulatornih limfocitov T.
- 2014 Inhibitor imunske nadzorne točke PD/PD-L dobi dovoljenje ameriške Zvezne agencije za prehrano in zdravila (FDA) kot zdravilo za zdravljenje malignega melanoma.
- 2017 Dovoljenje FDA dobi tudi zdravljenje nekaterih levkemij in limfomov z gensko modificiranimi limfociti T (limfociti T s himernim TCR, CAR-T).

alergije (patološko vnetje zaradi neustreznega odzivanja limfocitov B ali limfocitov T proti tujkom), **avtoimunske bolezni** (patološko vnetje zaradi napak mehanizmov naravne odpornosti, ki so monogeneske (npr. periodične vročice) ali poligeneske (npr. luskavica, Crohnova bolezen)).

1.2 Osnovne značilnosti imunskega sistema

Imunski sistem je organiziran pri vseh večceličnih organizmih, ki morajo svojo notranjost z bogato nakopičenimi hranili varovati pred mikroorganizmi. Že prokarionti imajo preprost imunski sistem v obliki encimov, ki jih ščitijo pred napadom virusov (bakteriofagov), pri večceličarjih pa srečamo specifične celice, ki napadajo patogene s požiranjem (fagocitozo) in peptidi s protimikrobnim delovanjem (defenzini, sistem komplemента). Rastline nimajo fagocitov, a se odzivajo na prisotnost patogenov z različnimi lokaliziranimi in sistemskimi kemijskimi signali. Ti sprožijo mehanizme, ki na različne načine ovirajo rast in razmnoževanje patogenov, lokalizirano pa lahko pride tudi do apoptoze lastnih celic. Imunski sistem sesalcev sicer omogoča pridobljeno imunost, a tudi pri njih pomembno vlogo ohranjajo sistemi prirojene imunosti.

Temeljno odpornost proti vdoru mikroorganizmov v organizem omogočajo različne fizikalne in kemijske pregrade. Te mikrobom preprečujejo vdiranje v notranjost tkiv in organov, ki normalno z njimi niso naseljeni. Telesne pregrade so koža in sluznice. Zunanjo površino kože in nekaterih sluznic navadno naseljujejo združbe nepatogenih mikroorganizmov – mikrobiota. Vsaka telesna pregrada tkiva ščiti pred vdorom mikrobov na svoj način. Kožne lojnice izločajo maščobne kisline, ki zavirajo bakterijsko rast, pa tudi keratinska plast kože se ne prestopa in preprečuje trajnejšo naselitev mikrobov. Zaradi trdne zgradbe je koža zelo učinkovita pregrada, saj mikrobi vdrejo skozi samo, ko je poškodovana (rana, opekline, tumor).

Sluznice (dihal, prebavil, sečil, spolovil, oči, ušes) so glede obrambe proti mikrobom posebej občutljivi predeli. Zlasti sluznice v prebavilih in dihalih so zelo tanke, ker morajo omogočati živahno izmenjavo

snovi med organizmom in okoljem. Zato so sluznice najpogostejša vstopna mesta za vdor mikrobov v telo. Za preprečevanje okužb je pomembno preprečevanje naselitve patogenih mikroorganizmov na sluznici. Neprestan in usmerjen tok sluzi čisti sluznico tako, da odplavlja mikrobe in zmanjšuje možnost kolonizacije. Solna kislina v želodcu in žolčne soli v črevesu preprečujejo rast patogenih mikrobov. Protimikrobno delujejo tudi številni drugi izločki sluznic (laktotferin, laktoperoksidaza, lizocim).

1.3 Naravni in pridobljeni imunski odzivi

Vdor tujkov v telo sproži različne obrambne mehanizme, ki jih delimo na evolucijsko starejše mehanizme naravne (prirojene, neadaptivne) odpornosti in na evolucijsko mlajše mehanizme pridobljene (adaptivne, specifične) odpornosti. Mehanizmi prirojene odpornosti (npr. fagocitoza, aktivacija komplemента) se ob prvem stiku z določeno vrsto tujka in ob vsakem naslednjem stiku odzivajo enako – z enako hitrostjo in učinkovitostjo odstranjujejo tujek in v tkivu nastane vedno enak vnetni odziv. Mehanizmi pridobljene imunosti se ob prvem stiku z določenim tujkom (antigenom) odzovejo z nekajtedensko zakasnitvijo in razmeroma šibko, ob naslednjih stikih z istim tujkom pa mnogo hitreje in učinkoviteje kot ob prvem stiku. Ker se zdi, da si je ob prvem stiku imunski sistem povzročitelja “zapomnil” in se naučil bolj učinkovitega odziva, pojav imenujemo “imunski spomin” in je osnovna značilnost adaptivnega (specifičnega) imunskega odziva.

Imunske celice, ki so nosilci neadaptivnih imunskih odzivov, so nevtrofilci, monociti (in iz njih nastali makrofagi ter mieloidne/konvencionalne dendritične celice), eozinofilci, bazofilci in celice naravne ubijalke (*angl.* natural killers, NK). Celice naravne odpornosti večinoma prepoznavajo povzročitelje okužb z receptorji za prepoznavo molekularnih vzorcev (*angl.* pattern recognition receptors, PRR) za prepoznavanje molekul, ki so skupne večjim skupinam mikrobnih vrst (npr. po Gramu negativnim bakterijam, po Gramu pozitivnim bakterijam, glivam, virusom). PRR prepoznavajo mikrobne molekularne strukture, ki se v evoluciji

skoraj ne spreminjajo in jih imenujemo s patogeni povezani molekularni vzorci (*angl.* pathogen-associated molecular patterns, PAMP). Prvi odkrit PAMP je bil bakterijski endotoksin (lipopolisaharid, LPS), ki so mu sledili peptidoglikani, lipoproteini, flagelin, dvovertična RNK, nemetilirani CpG- oligonukleotidi, lipoteihoična kislina, manani in glukani. Celice naravne odpornosti po prepoznavi mikrobov s PRR sprožijo vnetni odziv s tvorjenjem mediatorjev imunskega sistema (citokinov, interferonov, interleukinov, kemokinov). Hkrati začnejo aktivno uničevati mikrobove – predvsem s fagocitozo (nevtrofilci, makrofagi) in eksocitozo (eozinofilci, celice NK). Poleg vnetja, ki ga sprožijo PAMP, so aktivatorji celic naravne odpornosti tudi molekule s poškodbo povezanih molekularnih vzorcev (*angl.* damage-associated molecular patterns, DAMP), ki so znak poškodbe lastnih tkiv. Med molekule DAMP, ki jih imenujemo tudi alarmini, uvrščamo molekule iz celičnega jedra ali citoplazme, ki se ob razpadanju celic sprostijo v medceličnino in aktivirajo vnetje (DNK, RNK, purinski presnovki, monosaharidi in polisaharidi, beljakovina S100 HSP, HMGB1).

Z receptorskim prepoznavanjem molekul PAMP in DAMP dobijo celice naravne odpornosti signale o vrsti okužbe (po Gramu pozitivne ali po Gramu negativne bakterije, glive, virusi, paraziti, znotrajcelična ali zunajcelična okužba) in tudi o obsegu tkivnih poškodb. Sledijo odzivi (vnetje, fagocitoza, eksocitoza), ki so pripravljeni vnaprej in se sprožijo takoj po vdoru tujka v organizem, zato jih uvrščamo med odzive prirojene (konstitucijske, naravne, neadaptivne) imunosti.

Limfociti so imunske celice, ki omogočajo mehanizme pridobljene imunosti. Pridobljena (adaptivna, specifična) imunost se ob prvem stiku z določenim tujkom (antigenom) odzove z nekajtedensko zakasnitvijo, ob naslednjih stikih z istim tujkom pa mnogo hitreje (tako ali v nekaj dneh) in bolj učinkovito kot ob prvem stiku.

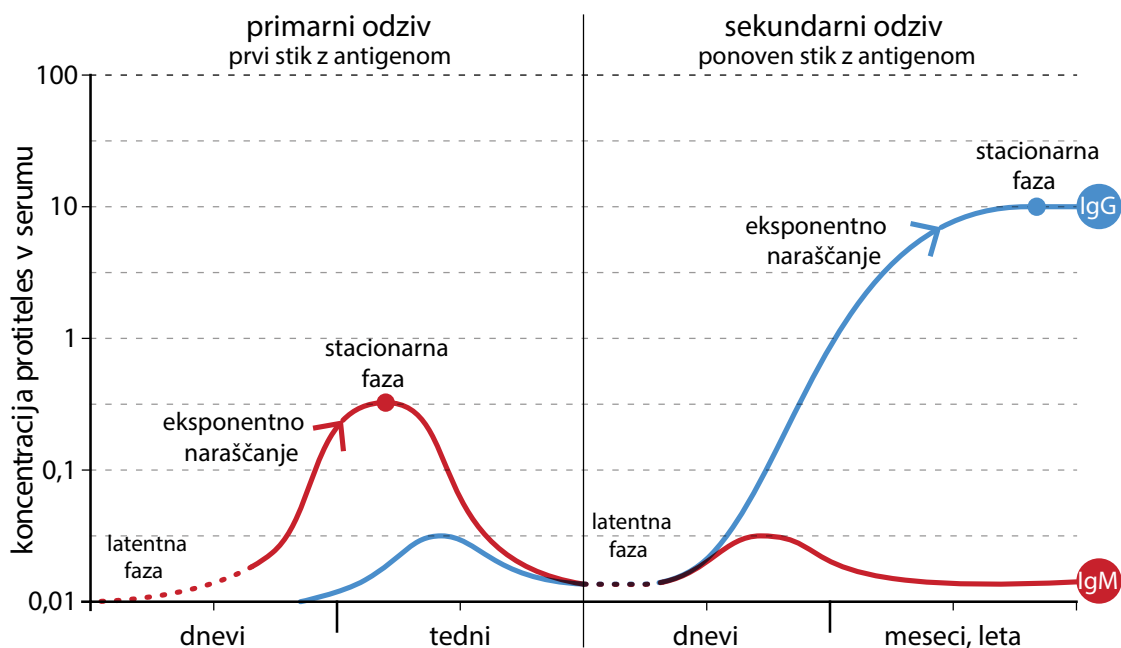
Zakasnitev adaptivnega odziva nastane zaradi izjemne specializacije limfocitov, od katerih ima vsak eno samo vrsto specifično oblikovanih antigenskih receptorjev proti tujkom (antigenom). Glede na oblikovanost antigenskih receptorjev ima zato človek milijone medsebojno različnih limfocitov. Ker se njihovi receptorji za antigene od limfocita do limfo-

cita razlikujejo, v telo skoraj ne more priti večja tuja molekula, na katero se ne bi z receptorjem za antigen vezalo vsaj nekaj limfocitov. Prednost obstoja tako ogromnega števila različnih limfocitov (glede na specifično vezišče za antigen) je, da praktično ni tujka, ki ob vdoru v organizem proti njemu ne bi izzval specifičnega imunskega odziva. Po drugi strani pa se prav zaradi unikatnosti limfocitov na vsakokratni vdor tujka v telo sprva odzove pre malo limfocitov, da bi tujke uspešno odstranili. Zato mora imunski sistem po prvem stiku z določenim tujkom iz maloštevilnih limfocitov, katerih antigen-ski receptorji vežejo tujek z dovolj veliko afiniteto, najprej v tednu ali dveh povzročiti razmnoževanje vsakega od reaktivnih limfocitov v nekaj tisoč istovrstnih limfocitov (klonska ekspanzija). To navadno zadošča za nastanek efektorskega in spominskega imunskega odziva (protitelesnega, citotoksičnega), ki učinkovito zamejita in odstranita okužbo.

Limfociti tako po prvem stiku s tujkom potrebujejo čas, da se razmnožijo (klonska ekspanzija) v nekaj tisoč istovrstnih, za tujek (antigen) specifičnih limfocitov. Zato po prvem stiku z antigenom nastane pridobljeni (specifični, adaptivni) imunski odziv šele po nekaj tednih in ga imenujemo primarni imunski odziv, njegova učinkovitost pa temelji na klonsko razmnoženih spominskih limfocitih, ki so specifično usmerjeni proti tuji antigenski molekuli. Ponoven stik z enakim antigenom vzbudi mnogo bolj učinkovit specifični imunski odziv, za katerega so razmnoženi specifični limfociti že pripravljeni, zato je tak odziv hitrejši (v nekaj dneh) in močnejši od primarnega. To je sekundarni (spominski, anamnestični) imunski odziv. Primarni in sekundarni imunski odziv sta edinstveni lastnosti adaptivnega imunskega odziva.

Glede na vrsto limfocitov razlikujemo dva osnovna načina uničevanja tujkov. Limfociti B prepoznajo antigene s specifičnimi receptorji BCR, ki so po strukturi imunoglobulinske molekule (protitelesa). Po stiku s tujkom se limfociti B razmnožijo in diferencirajo v plazmatke, ki izločajo topne imunoglobulinske molekule – protitelesa. Protitelesa se vežejo na tujke in povzročijo njihovo uničenje in/ali odstranjevanje iz telesa. Druga vrsta limfocitov so limfociti T, ki prepoznajo antigene s T-celičnimi receptorji (TCR).

Limfociti T obsegajo citotoksične limfocite T, ki z izločanjem citotoksičnih zrn napadajo predvsem



Slika 1.2. Primarni in sekundarni protitelesni odziv.

okužene celice lastnega organizma in z njihovim uničenjem zaustavijo razmnoževanje mikroorganizmov, ki parazitirajo znotraj naših celic (virusi, številne znotrajcelične bakterije, glive, paraziti).

Druga vrsta limfocitov T so celice T pomagalk, ki med imunskim odzivom tvorijo citokine ter s tem omogočijo aktivacijo in organiziranje ustrezne vrste imunskega odziva, primerne za vrsto in obsežnost okužbe. Pri tem je delovanje celic T pomagalk tesno vezano na signale, ki jih dobivajo s strani makrofagnih celic. Te se nahajajo v tkivih, kjer imajo preko receptorjev za PAMP in DAMP informacije o vrsti okužbe in o tkivnih poškodbah, ki so nastale ob okužbi.

Makrofagne celice pa niso pomembne samo kot celice, ki sprožijo prirojene vnetne odzive glede na vrsto okužbe in glede na obseg tkivnih poškodb. Makrofagi so tudi prvi sprožilci pridobljenega (adaptivnega) imunskega odziva, saj v tkivih

fagocitirajo tujke, jih nato predstavljajo celicam T pomagalkam in jih s tem ustrezno aktivirajo. S tem makrofagi usmerijo celice T pomagalk v tvorjenje ustreznih vrst citokinov in posledični imunski odziv, ki ustreza vrsti okužbe, vrsti tkiva in obsegu tkivnih poškodb. Zato je nastali imunski odziv odmerjen tako, da omogoča optimalno preživetje okužbe. Zaradi opisanega sodelovanja makrofagov s celicami T pomagalkami uvrščamo makrofage med antigen predstavitvene celice (APC), ki so jim skupni zajemanje tujkov (s fagocitozo ali pinocitozo), znotrajcelično predelovanje tujkov v peptidne T-celične antigene in predstavljanje peptidnih antigenov T-celičnim receptorjem celic T pomagalk. Poleg makrofagov opravljajo funkcijo APC tudi dendritične celice, v specializiranih okoliščinah pa tudi nekatere druge celične vrste (limfociti B, endotelne in epitelne celice).

2.

Celične vrste in podvrste, ki so pomembne za imunski odziv

Zaradi obrambe proti mikrobom so mnogoceličarji razvili specializirana, po telesu difuzno razporejena obrambna tkiva. V njih imunske celice prepoznajo, uničujejo in odstranjujejo tujke. Med evolucijo so se razvile različne vrste imunskih celic, ki se razlikujejo predvsem glede načina, s katerim tujke razlikujejo od lastnih telesnih celic, pa tudi glede mehanizmov, s katerimi povzročijo odstranitev tujkov.

2.1 Fagocitoza in fagocitne celice

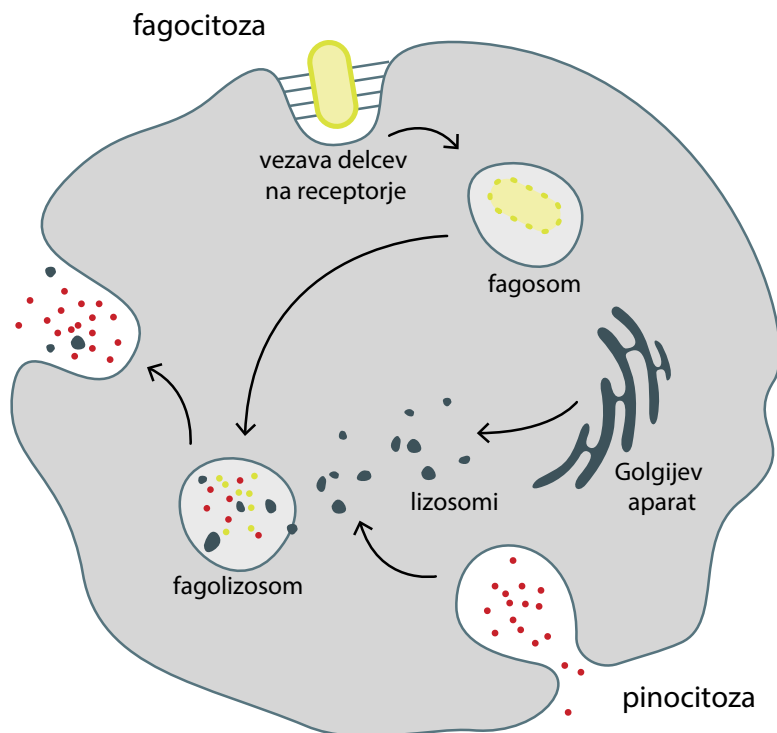
Evolucijsko najzgodnejše obrambne celice so fagocitne celice, med katerimi so najpomembnejši nevtrofilni granulociti in makrofagi. Pri fagocitnih celicah je proces požiranja v osnovi enak kot pri številnih enostavnih enoceličarjih, ki se prehranjujejo s fagocitozo. Ko fagocitna celica pride v stik z ustreznim delcem, začne okrog njega izvihovati citoplazemske podaljške, z njimi obda delec v celoti in ta ostane ujet v membranskem mehurčku (fagosomu) znotraj celice. V naslednji stopnji se v fagosom zlivajo z encimi bogati mehurčki (lizosomi), pri čemer nastane prebavni mehurček (fagolizosom), v katerem encimi razgrajujejo delec na osnovne gradnike (sladkorje, aminokisline, maščobne kisline), ki jih fagocitna celica uporabi za svojo presnovo.

Fagocitne celice imajo na svoji površini različne receptorje za prepoznavanje molekularnih vzorcev,

s katerimi prepoznajo tujek (*angl.* pattern recognition receptors, PRR). Ti se vežejo s konzervativno ohranjenimi molekulskimi strukturami na različnih patogenih mikrobih (*angl.* pathogen associated molecular patterns, PAMP). Med PRR uvrščamo tolične receptorje (*angl.* Toll-like receptors, TLR), lektine tipa C in znotrajcelične NOD-u podobne receptorje (*angl.* NOD-like receptors, NLR). Poleg informacij o vrsti patogenov, ki jih omogočajo receptorji za PAMP, imajo fagocitne celice tudi informacije o tkivnih poškodbah, ki so nastale ob okužbi. Tovrstne informacije omogočajo receptorji za molekule DAMP (*angl.* damage-associated molecular patterns, DAMP), ki se ob razpadanju celic sprostijo v medceličnino in aktivirajo vnetje (DNK, RNK, purinski presnovki, monosaharidi in polisaharidi, proteini S100, HSP, HMGB1).

Požiranje in encimsko razgrajevanje tujkov s fagocitozo je med pomembnejšimi mehanizmi naravne odpornosti. Fagocitoza se sproži takoj, ko tujek vdre v telo. Med fagocite uvrščamo nevtrofilne granulocite in monocite. Ko monociti zapustijo krvni obtok in migrirajo v tkivo, se navadno iz okroglih celic kmalu diferencirajo v makrofagne celice s številnimi citoplazemskimi podaljški, ki jim omogočajo premikanje med tkivnimi celicami.

Za uničevanje tujkov s fagocitozo so količinsko najbolj pomembni nevtrofilci, ker so najbolj številni in tudi mehanizem njihove fagocitoze je najbolj



Slika 2.1. Fagocitoza.

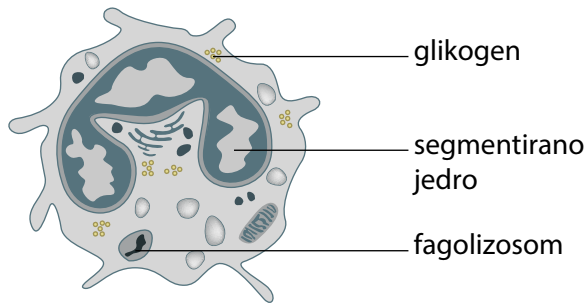
učinkovit. Vendar nevtrofilci ob fagocitiranju tujkov močno okvarjajo lastna tkiva. Zaradi encimov in toksinov, ki jih izločajo ob uničevanju tujkov, se namreč okolno tkivo razgrajuje in nastane gnoj. Zato lahko obsežnejša in dolgotrajnejša aktivacija nevtrofilcev nepovratno uniči del tkiva (t. i. nekroza), ki se zapolni z vezivom (brazgotino) in trajno zmanjša delovanje tkiva ali organa.

Zaradi škode, ki nastaja v tkivih ob odstranjevanju tujkov z mehanizmi naravne odpornosti, so se kasneje v evoluciji razvili še mehanizmi adaptivnega imunskega odziva, ki temeljijo na delovanju limfocitov. A tudi aktivacijo limfocitov najprej sproži makrofagi, ki po fagocitozi tujek znotrajcelično razgradijo in nato njegove antigene predstavljajo limfocitom. S tem povzročijo nastanek adaptivnega imunskega odziva, ki ga omogočajo limfociti ter nas na bolj selektiven in manj vneten način ščiti pred okužbami.

2.2 Nevtrofilni granulociti

Nevtrofilni granulociti (nevtrofilci) so glede količinske zmožnosti požiranja in uničevanja tujkov najbolj učinkovite fagocitne celice. Nevtrofilci so veliki 12–20 μm in količinsko prevladujejo med krvnimi

levkociti (približno 70 %), ob vnetjih pa vnetni mediatorji, ki prehajajo v kri, iz kostnega mozga v kri in v okužena tkiva rekrutirajo še dodatne količine nevtrofilcev. Običajno je nevtrofilcev v krvi približno 4000/ mm^3 krvi, ob okužbah in drugih vnetjih pa se lahko njihova koncentracija večkrat poveča. V krvi preživijo dan ali dva in nato odmrejo. V citoplazmi imajo dva tipa zrnca. Večji del zrnca (t. i. specifična zrnca) se šibko obarva bodisi s kislimi barvili bodisi z bazičnimi barvili (od tod izraz "nevtrofilci") in vsebuje različne encime (elastaza, kolagenaza, lizocim). Manjši del zrnca (t. i. azurofilna zrnca) vsebuje encime in mikrobicidne snovi (defenzine, katelicide). Vnetni mediatorji (interlevkin-8, C5a, levkotrien B4, kinini) jih mobilizirajo, da skozi kapilare vstopijo v vnetna tkiva in tam požirajo tujke. Aktivirani nevtrofilci citotoksično vsebino zrnca izločajo tudi navzven, s čimer okvarijo tkiva. To se dogaja zlasti ob navzočnosti imunskih kompleksov – skupkov antigenov in protiteles, ki se vežejo na receptorje Fc γ (receptor za IgG) na površini nevtrofilcev. Tako aktivirani nevtrofilci so pomemben patogenetski dejavnik preobčutljivostne reakcije tipa III (Arthusova reakcija). Ker so nevtrofilci najpomembnejše obrambne celice za odstranjevanje tujkov, njihovo pomanjkanje v krvi (nevtropenija) pomeni veliko nevarnost okužb.



Slika 2.2. Nevrofilni granulocit.

Pri zdravem človeku je večina nevtrofilcev v kostnem mozgu in se ob okužbah sprostijo v kri v velikih količinah. Manjkajoče celice se hitro nadomestijo z novimi. Nevrofilni granulociti imajo veliko sposobnost fagocitiranja in znotrajceličnega ubijanja. Tujke zajamejo v nekaj minutah po vdoru v telo in občutljive bakterije ubijejo prej kot v eni uri. Pri fagocitozi morajo fagocitne celice tujek prepoznati, kar storijo s PRR, receptorji za del Fc imunoglobulinske molekule in receptorji, ki prepoznavajo aktivacijske proizvode komplementa. Oblepljanje antigenov s protitelesi ali drugimi vnetnimi beljakovinami imenujemo opsonizacija (*gr.* opson – začimba). Opsonizacija večstokrat pospeši proces fagocitoze.

Znotrajcelično ubijanje v osnovi poteka na dva načina: z nastankom kisikovih radikalov (oksidativni izbruh) in nastankom dušikovih reaktivnih radikalov. Najpomembnejši encim, ki povzroči nastanek reaktivnih kisikovih presnovkov, je NADPH-oksidaza, ki v navzočnosti NADPH katalizira redukcijo kisika v superoksidni anion. Sledi oksidativni izbruh, med katerim nastanejo vodikov peroksid, superoksidni anion, hidroksilni radikal in hipokloridna kislina.

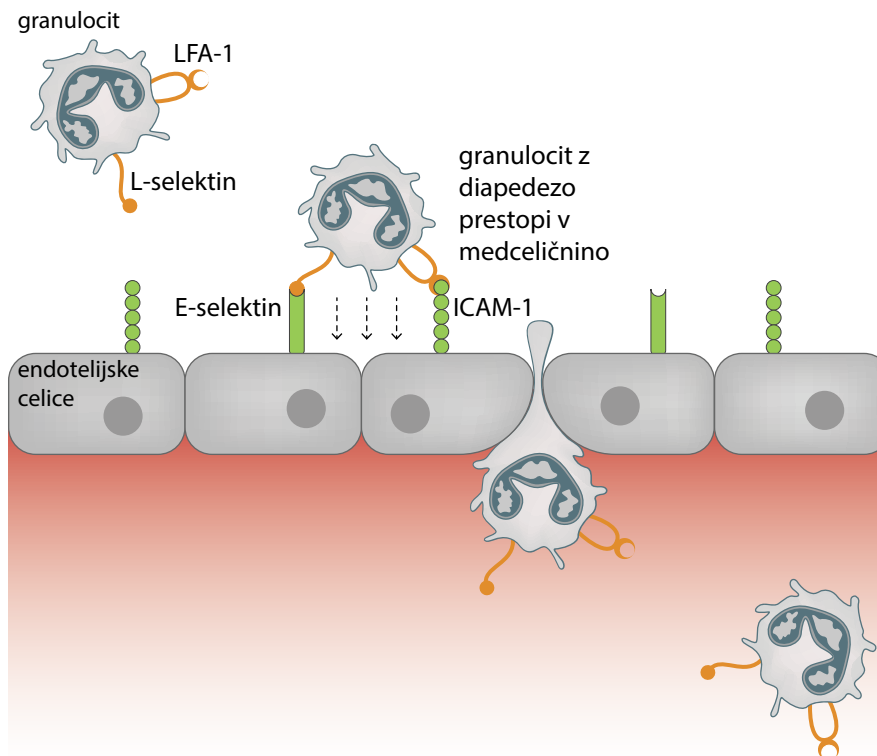
KLINIČNA TOČKA. Bolniki s prirojenim imunskim primanjkljajem "kronična granulomatozna bolezen" imajo zaradi mutiranega gena neučinkovit NADPH-oksidazni sistem, zato njihove fagocitne celice ne morejo ubijati mikrobov. Posledica so kronične bakterijske okužbe sluznic in kože ter vdiranje bakterij v kri (sepsa). Bolezen lahko zdravimo s presaditvijo krvotvornih matičnih celic zdravega donorja ali z genskim zdravljenjem – dodajanjem zdravega gena matičnim celicam s pomočjo virusnega vektorja.

Drugi način ubijanja je izdelava dušikovih reaktivnih snovi, med katerimi je najbolj znan dušikov oksid (NO), pomembni pa so tudi dušikov dioksid, dušična kislina in monokloramin. NO je reaktiven plin, ki deluje kot signalna molekula v medceličnem in znotrajceličnem sporočanju. Nastaja v encimski reakciji, ki jo katalizira sintaza dušikovega oksida (NOS), ko ob porabi kisika L-arginin pretvori v L-citrulin in NO. Inducibilna oblika NOS (iNOS) je prisotna samo v fagocitnih imunskih celicah, pri katerih je raven NOS močno odvisna od aktivatorjev, kot so lipopolisaharid, muramildipeptid (MDP) in interferon gama (IFN- γ). Od dušikovega oksida odvisen ubijalski način je nepogrešljiv za uspešno ubijanje bakterij, gliv, parazitov in protozojev, pomemben pa je tudi pri protitumorskem delovanju makrofagov.

Fagocitne celice lahko povzročijo smrt mikroorganizmov tudi drugače. Njihov lizocim in hidrolaze uspešno razgrajujejo tujke. Citotoksični peptidi defenzini oblikujejo krožne molekulske tvorbe in se podobno kot terminalni kompleksi komplementnega sistema (*angl.* membrane attack complex, MAC) ali perforini celic ubijalk vgradijo v celično membrano. V njej ustvarijo cevasto strukturo, ki omogoči neovirano in nenadzorovano izmenjavo ionov iz zunajceličnega in znotrajceličnega prostora. Tako učinkovito ubijajo stafilokoke, streptokoke, enterobakterije in hemofiluse.

Ob vnetni aktivaciji se pomembno spremeni membrana fagocitne celice, v katero se vgradijo zrnca z adhezijskimi molekulami, kot je L-selektin, in integrini (*angl.* leukocyte function antigen, LFA-1), ki naredijo celice bolj lepljive za žilne stene. Hkrati se zaradi vnetnih mediatorjev spremenijo tudi stene krvnih žil. Endotelne celice izpostavijo molekule E-selektina in ICAM-1 (*angl.* intercellular adhesion molecule type 1).

Z odlomki komplementnih molekul C5 in C3 (tj. C5a in C3a) spodbujeni nevtrofilci se zakotalijo k žilni steni in z diapedezo prestopijo v medceličnino. Hkrati pride do pospešenega premikanja molekul v lipidnem dvosloju celic, ki se konča z oblikovanjem mešička, v katerega je ujet na receptorje (Fc γ , PRR) vezan tujek. Tak mešiček se oddvoji od preostale plazmaleme in citoskeletne lovke ga potegnejo proti lizosomskemu mešičku. Membrani obeh se združita



Slika 2.3. Prehod granulocita skozi žilni endotel.

v tvorbo, ki jo imenujemo fagolizosom. V fagolizosomu pride do ubijanja živih tujkov in do njihove encimske razgradnje. Proces ubijanja poteka z encimi oksidativne vrste in z encimi nitrifikacijske vrste.

2.3 Monociti

Monociti so mononuklearni fagociti (za razliko od polimorfonuklearnih fagocitov – nevtrofilcev, ki so ime dobili zaradi segmentiranega jedra). Monociti nastajajo v kostnem mozgu iz matičnih krvnih celic pod vplivom makrofagne kolonije stimulirajočega dejavnika (*angl.* macrophage colony-stimulating factor, M-CSF). Iz kostnega mozga prehajajo v kri kot razmeroma velike (12–20 μm) okrogle celice, ki se v krvi zadržijo zelo kratek čas (1–3 dni), nato pa iz kapilar prestopijo v različna tkiva (navadno zaradi lokalnih tkivnih vnetnih signalov) in se lokalno preoblikujejo v nepravilno oblikovane celice (tkivne makrofage ali histiocyte). Monociti se diferencirajo v makrofage v prisotnosti vnetnih citokinov – diferenciacijskih dejavnikov, ki nastajajo v vnetih tkivih. Monociti so navzoči v vseh tkivih ter se lahko diferencirajo v osteoklaste ali dendritične celice. Sodelujejo tudi pri odstranjevanju postaranih

in apoptotičnih celic. Med okužbo fagocitirajo mikrobo, izdelujejo protimikrobne snovi in so glavni vir vnetnih mediatorjev. Kot antigen predstavljajoče celice (*angl.* antigen-presenting cell, APC) sodelujejo tudi pri pridobitvi imunosti.

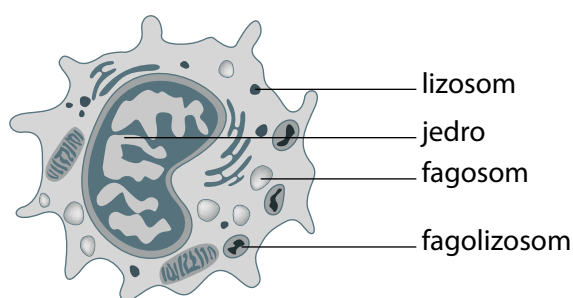
Monociti nastanejo po mieloidni liniji diferenciacije v procesu diferenciacije krvnih celic iz matičnih celic v kostnem mozgu. Diferenciacijo nadzorujejo številni hematopoetski dejavniki, kot sta IL-3 in M-CSF. Glede na fenotip izražanja površinskih molekul v krvi razlikujemo vsaj tri populacije monocitov:

1. klasične (inflamatorne) monocite z visokim izražanjem CD14 (CD14⁺⁺ CD16⁻CCR2⁺);
2. neklasične monocite, pomembne pri reparaciji tkiv, z nizkim izražanjem CD14 (CD14⁺CD16⁺⁺ CX3CR1);
3. vmesne monocite (CD14⁺⁺CD16⁺), ki po stimulaciji z mikrobi tvorijo velike količine citokinov (IL-1, IL-12, TNF).

Med okužbo se v povečani meri sproščajo tudi dejavniki, kot je M-CSF, ki pospešijo nastajanje monocitov v kostnem mozgu. Glede na vzorec izražnosti kemokinskih receptorjev in L-selektina na površini celic razlikujemo dve populaciji monocitov: CX3CR1 nizko izražen, CCR2⁺, CD62L⁺ ter CX3CR1 visoko izražen, CCR2⁻, CD62L⁻. Prva

populacija monocitov migrira v vneto tkivo in je aktivna pri uničevanju mikroorganizmov, druga populacija pa kolonizira tkivo v nevnetnih okoliščinah in je vir nastanka tkivnih makrofagov, ki lahko preživijo mesece ali leta in pridobijo specifične tkivne značilnosti.

Za obe populaciji monocitov je prvi korak v procesu migracije specifična adhezija na endotelno površino. Tkivno zorenje monocitov v makrofage in sposobnost fagocitoze spremlja povečana izraženost odstranjevalnega receptorja za hemoglobin (CD163) na membrani.



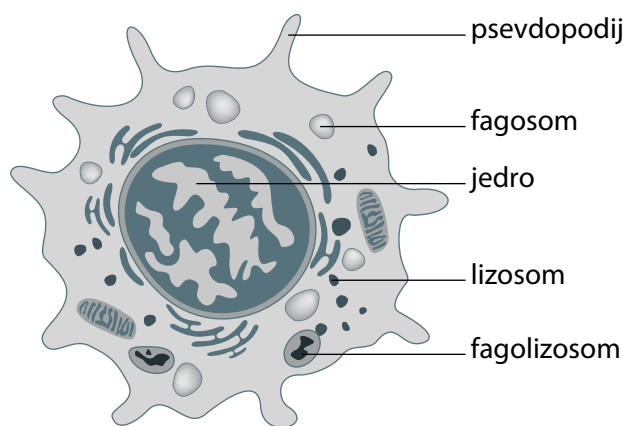
Slika 2.4. Monocit.

2.4 Makrofagi

Makrofagi izvirajo iz monocitov. Številna tkiva so poseljena tudi z rezidenčnimi makrofagi, ki so v tkiva migrirali iz rumenjakeve vrečke in fetalnih jeter že v embrionalnem razvoju. Mednje uvrščamo Kupfferjeve celice v jetrih, makrofage v vranici, peritonealne makrofage, alveolne makrofage, možgansko mikroglijo in pericite (kontraktilne celice ob endotelu kapilar).

Makrofagi prepoznavajo in fagocitirajo tujke ter hkrati izločajo vnetne mediatorje, ki sprožijo vnetni odziv. Poleg tujkov požirajo tudi tkivne celice, ki so v fazi programiranega celičnega odmiranja (apoptoze). Pomen makrofagnega požiranja tujkov je zlasti v tem, da požrte in ustrezno razgrajene tuje molekule predstavljajo celicam T pomagalkam in s tem sprožajo specifični imunski odziv, ki se kaže z nastankom protiteles ali citotoksičnih limfocitov T ali obojih, specifično usmerjenih proti tujim molekulam (antigenom). Makrofagi so zelo pomembni tudi pri obnavljanju tkiv, saj s svojimi citokini spodbujajo rast novih žil in tvorjenje novega zunajceličnega

matriksa. Makrofagi lahko pod vplivom določenih citokinov diferencirajo tudi v osteoklaste ali dendritične celice in so izvor Langerhansovih celic v koži. Običajno se makrofagi ne delijo, nekateri od njih, npr. mikroglija, pa so zmožni proliferacije.



Slika 2.5. Makrofag.

Fagocitirajoči makrofagi so stalno prisotni v limfatičnem in nelimfatičnem tkivu, kjer skrbijo za homeostazo, izločajo rastne dejavnike, odstranjujejo apoptotske celice in so prvi na mestu okužbe. Makrofagi imajo na zunanji in endosomalni membrani ter v citosolu izražen širok spekter receptorjev, ki s PRR prepoznavajo molekularne vzorce patogenov. Makrofage ločimo s pretočno citometrijo ali imunohistokemijo glede na izražanje zanje značilnih molekul CD14, CD40, CD11b, CD64, EMR1, lizocim M, MAC-1, MAC-3, CD68.

Tabela 2.1. Poimenovanje tkivno specifičnih makrofagov.

tip makrofaga	tkivo ali organ
alveolarni makrofagi	pljuča
Kupfferjeve celice	jetra
mikroglija	centralni živčni sistem
osteoklasti	kosti
Hofbauerjeve celice	placenta
peritonealni makrofagi	trebušna votlina
histiociiti	vezivno tkivo

Funkcionalno in fenotipsko makrofage razdelimo na:

- makrofage M1, ki opravljajo pretežno funkcije ubijanja mikroorganizmov in spodbujanja vnet-

ja, aktivira pa jih vezava ligandov na TLR ali vezava interferona γ na receptor IFNGR;

- makrofage M2, ki opravljajo pretežno reparativne funkcije (celjenje po poškodbi ali vnetju) in jih aktivira delovanje IL-4/IL-3.

Za fenotip M1 so značilne visoka raven izražanja provnetnih citokinov (IL-12, malo IL-10) ter reaktivnih dušikovih in kisikovih zvrsti, velika zmožnost aktivacije limfocitov T in učinkovita fagocitoza okuženih in maligno spremenjenih celic. Po drugi strani makrofagi M2 tvorijo veliko IL-10 in so vpleteni pri imunskem odzivu proti parazitom, pri celjenju ran in obnavljanju mišic po poškodbi.

Makrofagi prepoznajo tujke s površinskimi receptorji (TLR, manozni receptor, lovilni (*scavenger*) receptorji, ki vežejo negativno nabite ligande) in ob tem sprostijo številne mediatorje, ki sodelujejo v obrambi pred okužbo. Po receptorski vezavi tujka makrofagi fagocitirajo tujek, ki ga potegnejo v notranjost v vakuoli – fagosomu. Nato se fagosomi zlijejo z lizosomi, ki vsebujejo sestavine za uničenje mikrobov. Proces pospeši opsonizacija s protitelesi ali sestavinami komplemента. Ob fagocitozi makrofagi tvorijo toksične snovi, ki uničijo fagocitirane patogene (NO – dušikov oksid, O_2^- – superoksidni anion in H_2O_2 – vodikov peroksid).

Makrofagi in monociti fagocitirajo tudi apoptotične celice ter na podoben način odstranjujejo postarane eritrocite. Eritrociti v procesu staranja pričnejo izražati na površini nove antigene, ki so signal za njihovo odstranitev. Izražanje fosfatidilserinskega preostanka na površini je signal za fagocitozo jedrnih celic, eritrocitov in trombocitov. Nekatere novonastale antigene prepoznajo tudi avtoprotitelesa. V tem primeru pri odstranitvi opsoniranih eritrocitov sodelujejo tudi receptorji za Fc-del protiteles, ki se nahajajo na makrofagih (Fc γ RI (CD64), Fc γ RII (CD32) in Fc γ RIII (CD16)).

Makrofagi niso namenjeni samo uničenju patogenov, ampak so pomembni kot antigen predstavitvene celice (APC). Na svoji površini imajo molekule pglavitnega histokompatibilnostnega kompleksa (MHC) razreda II, s katerimi tuje antigene predstavijo limfocitom T in tako prispevajo k aktivaciji pridobljenega imunskega odziva.

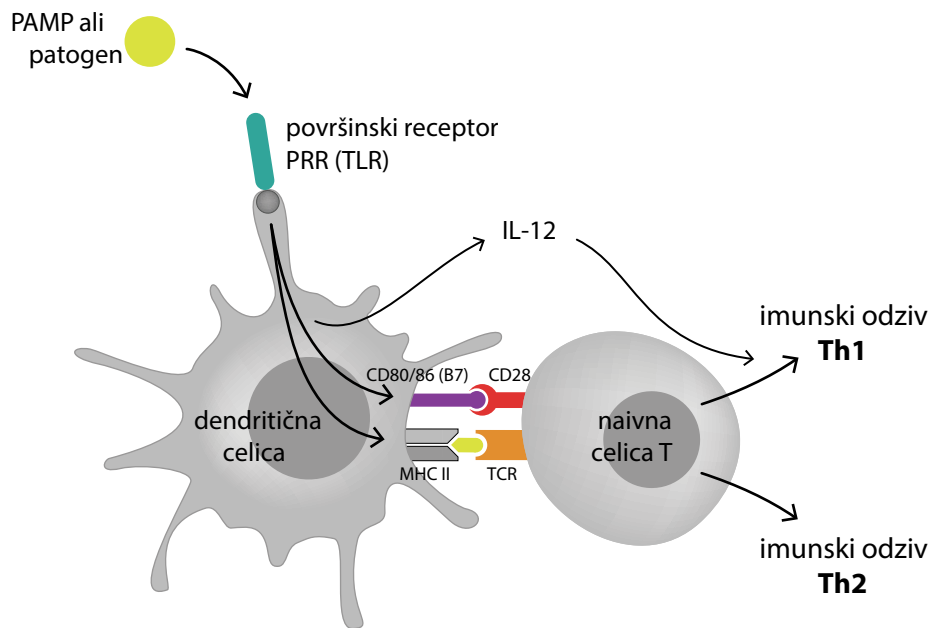
2.5 Dendritične celice in APC

Dendritične celice (DC) so heterogena celična populacija in se nahajajo v večini tkiv, od kože do prebavil. Predstavljajo 1–2 % celotnega števila celic. DC so relativno velike celice, njihova citoplazma pa je zbrana v psevdopodijih različnih velikosti in oblik. Oblika celic se spreminja od bipolarnih do zvezdastih ali dendritičnih. Vsem je skupno, da fagocitirajo tujke in ob tem izločajo vnetne mediatorje, ki organizirajo vnetni odziv ter predstavljajo antigene celicam T pomagalkam.

DC so po predstavitvi antigenov naivnim limfocitom T zmožne limfocite T s svojimi kostimulatornimi molekulami tudi aktivirati in jih spodbuditi k razmnoževanju (klonska ekspanzija). S tem sprožijo nastanek novega antigensko specifičnega imunskega odziva, zato jih imenujemo tudi “profesionalne antigen predstavitvene celice (APC)” – izraz pomeni specializirano APC, ki je s svojimi kostimulatornimi molekulami (CD28) zmožna aktivirati naivne limfocite T v nastanek klonske ekspanzije in s tem v nastanek novega imunskega odziva proti specifičnemu antigenu. Lastnost profesionalnih APC imajo v določenih okoliščinah in tkivih tudi makrofagi in limfociti B.

Dendritične celice (DC) je prvi opazil leta 1868 Paul Langerhans v epidermisu kože. Novo populacijo celic s številnimi izrastki je opisal v prispevku *On the nerves of the human skin*. Kasneje so celice poimenovali po odkritelju Langerhansove celice, danes pa so te celice opredeljene kot epitelna podskupina dendritičnih celic ter jih najdemo v koži in sluznicah. Izraz dendritične celice, ki se danes nanaša na družino antigen predstavitvenih celic (APC), sta prva uporabila Steinman in Cohn leta 1973 pri preučevanju adherentnih celic, izoliranih iz mišje vranice.

Sprva so DC glede na diferenciacijo iz dveh različnih linij krvotvornih celic razvrščali v dve liniji – mieloidne in limfoidne. Mieloidne DC se razvijejo iz monocitov; danes jih imenujemo konvencionalne (monocitne) DC (cDC ali mDC) ter jih delimo v vsaj dve podskupini. Pogostejše cDC1 so pglavitni stimulatorji limfocitov T, manj pogoste cDC2 pa sodelujejo v reparativnih procesih, kot je celjenje ran). Konvencionalne DC lahko pridobimo tudi iz krvi v



Slika 2.6. Delovanje dendritičnih celic.

celični kulturi s stimulacijo monocitov z GM-CSF in IL-4, kar privede do diferenciacije v konvencionalne DC. Mednje uvrščamo tudi intersticijske DC in Langerhansove DC v koži.

Druga linija DC so plazmacitoidne DC (pDC). Podobne so plazmatkam, a v citoplazmi nimajo imunoglobulinov. Po spodbujanju z nekaterimi virusi izločajo velike količine interferona alfa.

Nedavno so opredelili dodatno podskupino DC, t. i. tolerogene DC (DC-10), ki po stimulaciji proizvajajo več IL-10, IL-12 in TNF- α kot monociti. Izsledki genetskih raziskav kažejo, da DC-10 podobno kot cDC izhajajo iz monocitov, a ob predstavitvi antigenov celicam T pomagalkam pri njih spodbujajo nizko stopnjo proizvodnje IFN- γ in diferenciacijo v regulatorne celice (Treg).

Dendritične celice imajo dolge in številne citoplazemske podaljške (po njih so dobile ime), na katerih izražajo PRR ter MHC I in MHC II (*angl.* major histocompatibility complex). Zaradi številnih citoplazemskih podaljškov imajo DC izjemno zmogljivost predstavljanja tujih peptidov v kompleksih MHC, zato so DC najučinkovitejše antigen predstavitvene celice (APC), ki poleg nekaterih drugih (makrofagov, limfocitov B, epitelnih in endotelnih celic) sodelujejo pri aktivaciji naivnih limfocitov T in pri nastanku primarnega imunskega odziva.

DC so nameščene predvsem na zunanji površi-

nah telesa (koži in sluznicah), kjer je možnost vdora mikroorganizmov največja. Tam s svojimi podaljški, ki segajo med epitelne celice, zajemajo proteinske antigene mikroorganizmov, ki vdirajo skozi epitel. Nahajajo se tudi v intersticiju večine organov, v koži pa kot raztresene celice ležijo v epidermisu kože (Langerhansove celice). Po zajetju tujkov (fagocitozi in predelavi v komplekse MHC) DC migrirajo v limfne žile in se z limfo занesejo do področnih bezgavk, kjer predstavijo antigene limfocitom T. Če mikroorganizmi skozi epitel prodrejo globlje v tkivo, jih tam fagocitirajo tudi tkivni makrofagi ter podobno kot DC migrirajo v lokalne bezgavke in zajete antigene predstavijo limfocitom T.

DC lahko med procesom makropinocitoze v obsežne pinocitotne vezikle zajamejo tudi večjo količino zunajcelične tekočine, izražajo pa tudi receptorje za posredovanje adsorptivne endocitoze (manozne receptorje makrofagov, DEC-205 ter receptorje Fc γ in Fc ϵ). Z makropinocitozo in receptorsko uravnavanim zajemanjem antigene učinkovito zajamejo že v pikomolarnih in nanomolarnih koncentracijah (druge APC zasledijo antigene v mikromolarnih koncentracijah).

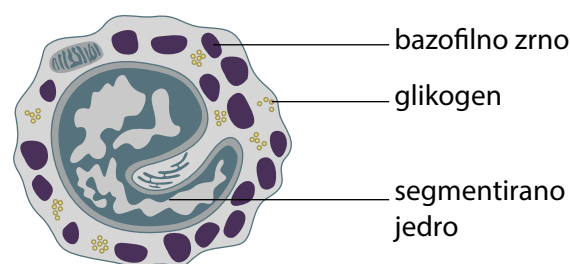
Razen opisanih DC, ki so hematopoetskega izvora, pri predstavljanju antigenov v limfatičnih foliklih sodelujejo tudi folikularne dendritične celice (FDC), ki so mezenhimskega izvora in ne izražajo

molekul MHC II. Ime so dobile zaradi podobno dolgih citoplazemskih podaljškov – dendritov. FDC v nasprotju z intersticijskimi dendritičnimi celicami ne migrirajo. S citoplazemskimi izrastki tvorijo stabilno mrežo, ki je utrjena z močnimi desmosomskimi povezavami med celicami. Ker nimajo molekul poglobitnega histokompatibilnostnega kompleksa tipa II, s komponentami komplekta vezan antigen prepoznajo z membranskimi receptorji za komplement (CD21 in CD35). Prav tako imajo na membrani izražene receptorje Fc, s katerimi prepoznajo antigene, vezane s protitelesi. Vezane antigene predstavijo na površini limfocitom B. Folikularne DC se nahajajo v primarnih in v sekundarnih foliklih B celičnega področja v bezgavkah, vranici ter v tkivih MALT (*angl.* mucosa-associated lymphoid tissues).

2.6 Bazofilni granulociti in tkivni bazofilci (mastociti)

Bazofilni granulociti so maloštevilna vrsta krvnih granulocitov. Morfološko so bazofilcem podobni mastociti, ki jih najdemo v tkivih. Obstajata vsaj dve podskupini mastocitov – prva vsebuje tripsin in je navzoča pretežno v sluznicah, druga pa poleg tripsina vsebuje še hemotripsin in se nahaja pretežno v vezivnem tkivu. Ker mastociti ob aktivaciji sproščajo številne mediatorje vnetja, so osrednji regulatorji vnetja v tkivih.

Bazofilci vsebujejo veliko bazofilnih zrn, ki so polna histamina. Ob degranulaciji sproščajo še prostaglandine, levkotriene LTC₄, LTD₄ in LTB₄, dejavnik, ki aktivira trombocite (PAF), kalikrein, prekalikrein, Hagemanov faktor, heksozaminazo beta in arilsulfatazo. Do degranulacije pride, če so na membrano preko receptorjev FcεRI vezana protitelesa razreda IgE. Bazofilci imajo namreč močno afinitetne receptorje (FcεRI), ki trdno vežejo molekule IgE, uperjene proti določenemu antigenu. Če ta antigen poveže med seboj nekaj sosednjih FcεRI, se sproži degranulacijski mehanizem, ki povzroči sproščanje histamina in ostalih mediatorjev iz bazofilnih zrn. Histamin se veže s histaminskimi receptorji v tkivih in povzroči histaminsko vnetje z izrazitim otekanjem tkiva (edem zaradi povečane



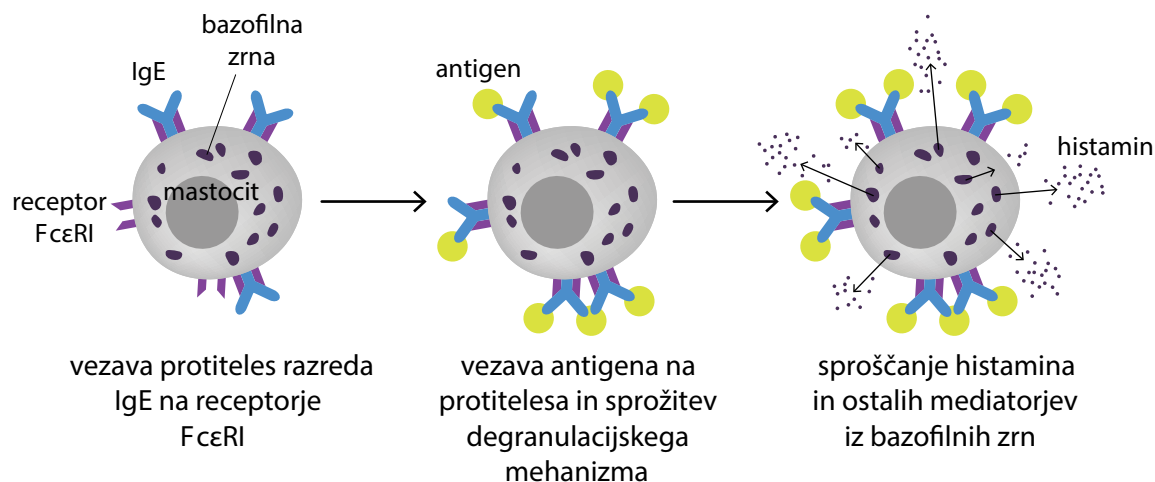
Slika 2.7. Bazofilni granulocit.

prepustnosti kapilar), pospešenim izločanjem sluzi in krčenjem gladkih mišic v sluznicah. To vnetje značilno opazimo pri alergijah, na koži kot koprivnico, v prebavilih kot drisko, v dihalih kot astmatični napad (spodnja dihala) ali seneni nahod (zgornja dihala). Antigenu, ki sproži alergijsko vnetje, pravimo tudi alergen.

Degranulacijo bazofilcev lahko razen vezave antigena na IgE povzročijo tudi druge snovi. Bazofilcev/mastocit se lahko aktivira tudi preko receptorjev za komplementna odlomka C5a in C3a, opiate in FMLP ali po neposredni (nereceptorski) aktivaciji (ionofori, forbolni estri). Najznačilnejša aktivacijska pot bazofilcev in mastocitov poteka preko receptorjev za IgE – močno afinitetnih receptorjev FcεRI, ki jih lahko poveže antigen ali polivalentna protitelesa proti IgE. Za aktivacijo bazofilca/mastocita moramo navzkrižno povezati približno 100 molekul IgE. Po aktivaciji bazofilcev/mastocit z eksocitozo izloči že sintetizirane snovi, shranjene v granulah (npr. histamin), sintetizira lipidne mediatorje, ki nastanejo iz sestavin celične membrane (npr. levkotrieni), ter začne transkripcijo, translacijo in sekrecijo citokinov.

Bazofilci in mastociti pripadajo dvema različnima linijama celic, ki nastajajo iz različnih prekurzorskih celic. Bazofilci dozoriijo v kostnem mozgu. V krvnem obtoku preživijo do 14 dni. V tkiva prestopajo po delovanju ustreznih kemotaktičnih dejavnikov, zato so pomembni predvsem v pozni fazi alergijskega odziva na sluznicah in pri anafilaksiji. Za njihovo degranulacijo zadostuje aktivacija protein-kinaze C ali povečanje koncentracije kalcija v citosolu.

Mastociti se v koži in sluznicah nahajajo pretežno v zgornjih plasteh ob krvnih žilah in živcih. Sodelujejo v več različnih vrstah aktivacij, ki se razlikujejo po obsegu in hitrosti. Lahko gre za sproščanje medi-



Slika 2.8. Degranulacija bazofilcev.

atorjev, ki izzovejo takojšnji preobčutljivostni odziv, ki se na koži kaže kot urtikarija. Degranulacija je ob drugačni vrsti stimulacije lahko tudi počasnejša ali pa mastociti sproščajo mediatorje tudi brez degranulacije. V uravnavanje dejavnosti mastocitov sta poleg imunskega sistema močno vpletena tudi hormonski sistem in živčevje. Mastociti imajo receptorje za kortikoliberin (*angl.* corticotropin releasing hormone, CRH), CRH-R1 in CRH-R2.

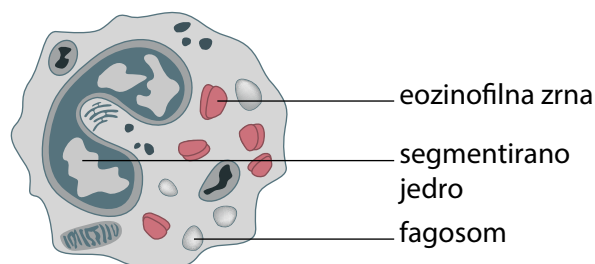
Zaradi neuropeptidnih receptorjev so mastociti močno pod vplivom delovanja živčevja. Senzorični živci, ki oživčujejo tkivo, izvirajo iz dorzalnih ganglijev in se nato razdelijo v štiri glavne skupine vlaken, tj. visokomielinizirana vlakna A α , zmerno mielinizirana vlakna A β , malo mielinizirana vlakna A δ ter nemielinizirana in počasi prevodna vlakna C. Vlakna C tvorijo neuropeptide in so v tesnem stiku z mastociti, zato so verjetno povezana s kožnimi in sluzničnimi vnetnimi boleznimi. Neuropeptidi SP, vazoaktivni intestinalni peptid (VIP) in somatostatin povzročijo hitro sproščanje histamina iz kožnih mastocitov, pri čemer je stopnja sproščanja celo večja kot pri stimulaciji preko IgE. Za razliko od IgE-stimulacije neuropeptidi poleg sproščanja histamina ne povzročijo pomembnega sproščanja levkotriena C4 ali prostaglandina D2. Mastociti pljučnega tkiva in prebavne sluznice za razliko od kožnih mastocitov po stimulaciji z neuropeptidi ne sproščajo histamina. Po drugi strani pa aktivnost mastocitov modulira dejavnost živčevja – mastociti npr. sproščajo VEG, mediator, ki povzroča angiogenezo pri kroničnem vnetju, s čimer vpliva na ožiljenost tkiv.

2.7 Eozinofilni granulociti

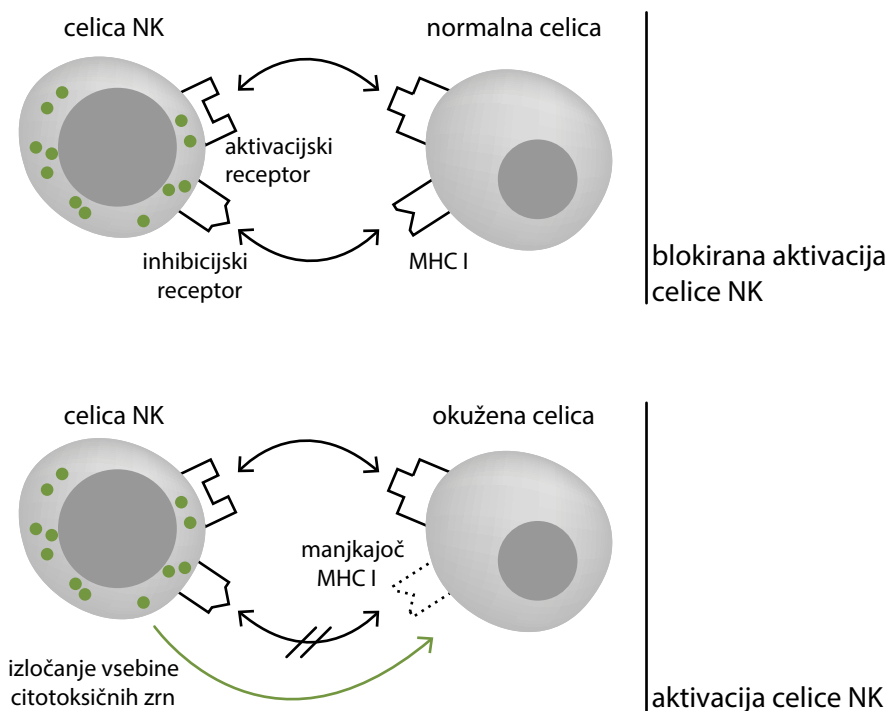
Eozinofilci so majhna populacija belih krvnih celic (1–5 %) in so pogostejši pod sluznicami. V večjih količinah se v krvi pojavijo pri parazitskih boleznih in pri alergijah. Njihova biološka vloga je predvsem uničevanje parazitov, medtem ko so alergije tipa I (povzročene s protitelesi IgE) pravzaprav protiparazitski odzivi, sproženi proti napačnim, neparazitskim tarčam.

Eozinofilci nastajajo v kostnem mozgu, njihovo produkcijo pa poveča predvsem citokin IL-5. Na migracijo eozinofilcev iz krvi v tkiva močno deluje kemotaktični dejavnik za eozinofilce (*angl.* eosinophil chemotactic factor, ECF), ki ga tvorijo mastociti ob aktivaciji in na ta način v tkivo privabijo velike količine eozinofilcev. Močno kemotaktično deluje na eozinofilce tudi komplementni protein C5a.

Eozinofilci slabo fagocitirajo, po drugi strani pa naglo degranulirajo v navzočnosti kemotaktičnih dejavnikov (ECF, C5a, C3b, eotaksini), zlasti ko se na njihove vezane Fc-receptorje za IgG ali šibko afini-



Slika 2.9. Eozinofilni granulocit.



Slika 2.10. Funkcija inhibitornih receptorjev celic NK. A: Inhibitorni receptorji celic NK prepoznajo molekule MHC I v kompleksu s peptidom, kar zagotavlja, da celice NK ne napadejo zdravih gostiteljevih celic. B: Celice NK se aktivirajo ob stiku z okuženimi celicami, pri katerih je izražanje molekul MHC I zmanjšano. Pri pomanjkanju molekul MHC I inhibitorni receptorji ne najdejo ligandov in zato ne inhibirajo citotoksičnosti, aktivni so le aktivacijski receptorji. Celice NK v tem primeru pobijejo okužene celice.

tetne Fc-receptorje za molekule IgE (FcεRII) vežejo antigeni. Po aktivaciji eozinofilci tvorijo velike količine levkotrienov in izpostavijo tudi visokoafinitetne Fc-receptorje za molekule IgE (FcεRI), kar v primeru navzočnosti alergenov dodatno pospeši vnetni odziv. Citoplazma eozinofilcev ima obilo velikih vezikularnih tvorbo – eozinofilnih granul, ki vsebujejo citotoksične molekule. Med njimi sta najpomembnejša glavni bazični protein (*angl.* major basic protein, MBP), ki neposredno poškoduje helmito tako, da povzroči nabrekanje in odlepljanje njihove ovojnice. Za parazite toksičen je tudi kationski protein eozinofilcev (*angl.* eosinophil cationic protein, ECP). Obe beljakovini sta toksični tudi za epitelne celice. V eozinofilnih granulah najdemo še nevrotoksin in eozinofilsko peroksidazo, ki povzročata degranulacijo mastocitov. Obe beljakovini sta pomembna patogenetska dejavnika pri eozinofilnih vnetjih.

2.8 Celice NK

Celice NK nastajajo v kostnem mozgu. V krvi in vranici je njihov delež 5–20 % mononuklearnih

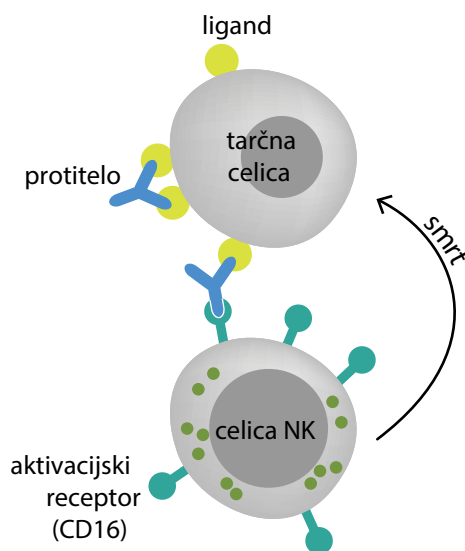
levkocitov, v drugih limfatičnih organih pa jih je manj. Če celice NK osamimo iz krvi ali vranice, so sposobne ubijanja različnih tarčnih celic (npr. tumorskih) brez potrebe po dodatni aktivaciji, zato jih uvrščamo med celice naravne odpornosti, t. i. celice “naravne ubijalke”.

Celice NK se aktivirajo s citokini, z molekulami patogenov (PAMP) ali s prepoznavo tarčnih celic, ki izražajo ligande za receptorje celic NK. Aktivacija celic NK je uravnavana preko aktivacijskih in inhibicijskih receptorjev, ki se hkrati izražajo na njihovi površini in se vežejo na ligande na drugih celicah. Aktivacijski receptorji na celicah NK prepoznajo različne skupine ligandov, ki se izražajo na površini spremenjenih celic (npr. celic, okuženih z znotrajceličnimi mikroorganizmi ali maligno transformiranih celic) in se vežejo nanje. V normalnih pogojih celice NK prepoznajo gostiteljeve zdrave celice in nanje ne reagirajo. Za to poskrbijo molekule pglavitnega histokompatibilnostnega kompleksa (MHC) razreda I ali njim strukturno podobne molekule, ki se v velikih koncentracijah izražajo na zdravih celicah. Te molekule se vežejo na inhibicijske receptorje na celicah NK (*angl.* killing inhibiting

killer cell immunoglobulin-like receptors, KIR) ter s tem zavrejo njihovo aktivacijo in uničevanje zdravih celic. Na ta način molekule MHC I, ki so prisotne na vseh zdravih celicah, celicam NK preprečujejo, da bi napadle zdrave celice. Z virusi okužene ali maligno spremenjene celice ne zmorejo tvoriti normalnih količin molekul MHC I, kar vodi do aktivacije celic NK, pri čemer so udeleženi aktivacijski receptorji.

Celice NK imajo več vrst aktivacijskih receptorjev, ki so ob odsotnosti MHC I zmožni sprožiti proces ubijanja tarčne celice. Aktivacijski receptor NKG2D se veže na MHC I sorodne molekule, ki se izražajo na površini z virusi okuženih in maligno transformiranih celic. Drugi tip aktivacijskih receptorjev na celicah NK so FcYRIIIa (CD16) receptorji z nizko afiniteto za Fc-regijo protiteles IgG1 in IgG3. Preko njih lahko celice NK ubijajo tarčne celice, ki so prekrte s protitelesi IgG. Ta način citotoksičnega ubijanja celic, ki so prekrte s protitelesi IgG, imenujemo citotoksičnost, odvisna od protiteles (*angl.* antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC). Proces je podoben opsonizaciji, le da pri opsonizaciji prepoznavanju sledi fagocitoza, v primeru celic NK (podobno velja tudi za eozinofilce in citotoksične limfocite T) prepoznavanju sledi ekso-citoza granul s toksično vsebino za tarčno celico.

Pri aktivaciji celice NK neposredno uničijo (lizirajo) tarčne celice z eksocitozo perforina in grancimov ter Fas liganda (tj. signala za apoptozo) ali proizvajajo citokin IFN- γ , ki aktivira makrofage.



Slika 2.11. ADCC pri celicah NK.

Aktivacijo in delovanje celic NK spodbujajo določeni citokini, predvsem IL-15 in IL-12. IL-15 se tvori v makrofagih in drugih celicah imunskega sistema ter je rastni dejavnik za celice NK. IL-12 stimulira citotoksično aktivnost celic NK in spodbuja nastajanje IFN- γ . IL-12, IL-15 in interferoni tipa I nastajajo v makrofagih ob okužbi ter sodelujejo pri aktivaciji celic NK.

Efektorski funkciji NK sta ubijanje virusno spremenjenih celic in preko izločanja IFN- γ tudi aktivacija makrofagov, ki uničujejo fagocitirane mikrobo. Nekateri tumorji so prav tako tarča za celice NK, ker maligno transformirane celice na svoji površini ne izražajo normalne količine molekul MHC I ali izražajo strukturno drugačne molekule. Pomanjkanje celic NK torej privede do povečane dovzetnosti za okužbe z virusi in znotrajceličnimi bakterijami.

Čeprav zaenkrat velja, da se celice NK kot efektorske celice naravne odpornosti bojujejo proti virusom predvsem tako, da ubijejo z virusi okužene celice, je vse več raziskav o tem, da so celice NK sposobne nadzorovati in oblikovati specifični imunski odziv, ki je primarno sprožen z virusno okužbo, tumorjem, presaditvijo ali avtoimunostjo. Vse več je dokazov, da igrajo interakcije celic NK z dendritičnimi celicami (DC) ključno vlogo pri oblikovanju specifičnega imunskega odziva. V številnih modelnih raziskavah okužb so pokazali, da celice NK lahko inducirajo zorenje DC preko TNF- α ali IFN- γ in hkrati spodbudijo aktivacijo ter ekspanzijo CTL. Pokazali so tudi, da regulatorne celice T zavirajo celice NK tako, da jih ubijejo preko citotoksične poti, sprožene s perforinom in grancimi.

2.9 Limfociti

Limfociti so celice s posebnimi, bolj dolgoročno usmerjenimi nalogami v zvezi z imunskim odzivom. Njihova dejavnost je evolucijsko mlajša od fagocitoze, njihova naloga pa je "dopolnitev" prve obrambne linije (s prirojenimi fizičnimi pregradami in nespecifičnim imunskim odzivom – fagocitozo in aktivacijo vnetja) s specifičnim (pridobljenim, spominskim) imunskim odzivom. Namen specifičnega imunskega odziva je predvsem nastanek spominskega imunskega odziva, specifično usmer-

jenega proti molekulam (antigenom) povzročitelja bolezni. S tem nastane zavora okužbe v zgodnji fazi, ko se patogeni še ne razmnožijo in razsejejo po organizmu, zato je ob okužbi manj vnetja in manj vnetnih tkivnih okvar (npr. zaradi obsežne aktivacije nevtrofilcev, aktivacije komplementnega sistema, sproščanja vnetnih mediatorjev).

Za specifično prepoznavanje in posledično odstranjevanje tujih molekul imajo limfociti posebne receptorje za antigene. Antigeni so molekule, na katere se vežejo limfocitni receptorji za antigene (imunoglobulinske molekule limfocitov B in T-celični receptorji limfocitov T).

Vsak limfocit ima na svoji površini eno samo vrsto unikatno oblikovanih receptorjev za antigen, ki se specifično vežejo samo z ustrezno oblikovano tujo (antigensko) molekulo. V naravi obstaja zelo veliko različnih molekul, za njihovo specifično prepoznavanje pa mora biti v telesu na voljo veliko limfocitov z raznolikimi vezišči za antigen, pri čemer se vsak od limfocitov receptorsko poveže le s 'svojo' vrsto antigenih molekul. Ocenjujemo, da ima človek nekaj milijonov različnih limfocitov. Njihovi receptorji za antigene se od limfocita do limfocita razlikujejo, zato v telo skoraj ne more priti večja tuja molekula, na katero se ne bi z receptorjem za antigen vezalo vsaj nekaj limfocitov. Prednost obstoja tako ogromnega števila različnih limfocitov je, da praktično ni tujka, ki ob vdoru v organizem ne bi izzval specifičnega imunskega odziva proti njemu. Slabost obstoja ogromnega števila različnih limfocitov je, da se na posamezen vdor tujka v telo odzove zelo malo limfocitov. Ker maloštevilne celice ne morejo zamejiti okužbe, se vrste limfocitov, ki prepoznajo določeno vrsto tujkov, začnejo naglo razmnoževati. V tednu ali dveh navadno nastane nekaj tisoč istovrstnih limfocitov, kar je običajno dovolj za nastanek spominskega imunskega odziva (protitelesnega, citotoksičnega), ki okužbo učinkovito zameji in jo odstrani.

2.10 Primarni in sekundarni imunski odziv

Po prvem stiku z antigenom v nekaj tednih nastane specifični imunski odziv. Imenujemo ga primarni imunski odziv, njegova učinkovitost pa temelji na

razmnoženih limfocitih, ki so specifično usmerjeni proti tuji antigeni molekuli. Ponoven stik z enakim antigenom vzbudi specifičen imunski odziv, ki je hitrejši in močnejši od primarnega. Gre za sekundarni (anamnestični) imunski odziv. Primarni in sekundarni imunski odziv sta edinstveni lastnosti imunskega sistema.

Specifični imunski odziv omogočajo limfociti s svojimi antigenimi receptorji. Med limfociti razlikujemo limfocite B, katerih antigeni receptorji so protitelesne molekule – imunoglobulini (Ig), medtem ko so T-celični receptorji (TCR) antigeni receptorji limfocitov T. Posamični limfocit ima na površini antigenske receptorje, ki so medsebojno vsi enaki in specifični samo za eno vrsto antigena. Tujek (antigen), ki pride v telo, se veže samo na limfocite, ki imajo antigenske receptorje ustrezne specifičnosti. Po vezavi antigena se limfocit začne hitro razmnoževati (proliferacija) in zoreti (diferenciacija). Iz posameznega limfocita po vezavi antigena v nekaj dneh nastanejo številni limfociti, ki imajo enake antigenske receptorje. Tako nastane specifični limfocitni klon. Posledica klonske ekspanzije specifičnih limfocitov je poleg odstranitve antigena tudi imunski spomin. Primarni imunski odziv se začne z zakasnitvijo, ki je potrebna za ekspanzijo specifičnega klona. Sekundarni imunski odziv je hitrejši in močnejši, ker se proti antigenu odzovejo specifični kloni spominskih limfocitov, ki so že nastali med primarnim imunskim odzivom. Limfociti, ki še nikoli niso prišli v stik s specifičnim antigenom, so naivni limfociti. Spominski limfociti ob navzočnosti antigena diferencirajo v efektorske limfocite – limfociti B v plazmatke, ki tvorijo protitelesa, citotoksični limfociti T pa v aktivirane citotoksične celice.

2.11 Kako limfociti povzročijo odstranjevanje tujkov iz organizma?

Potem ko limfociti prepoznajo tujek, ga skušajo uničiti in odstraniti. Poglavitna izvršna (efektorska) načina, ki ju imajo limfociti, sta protitelesni imunski odziv in dejavnost citotoksičnih limfocitov.

Protitelesa so beljakovine (glikoproteini), ki jih sintetizirajo in izločajo plazmatke. Plazmatke so

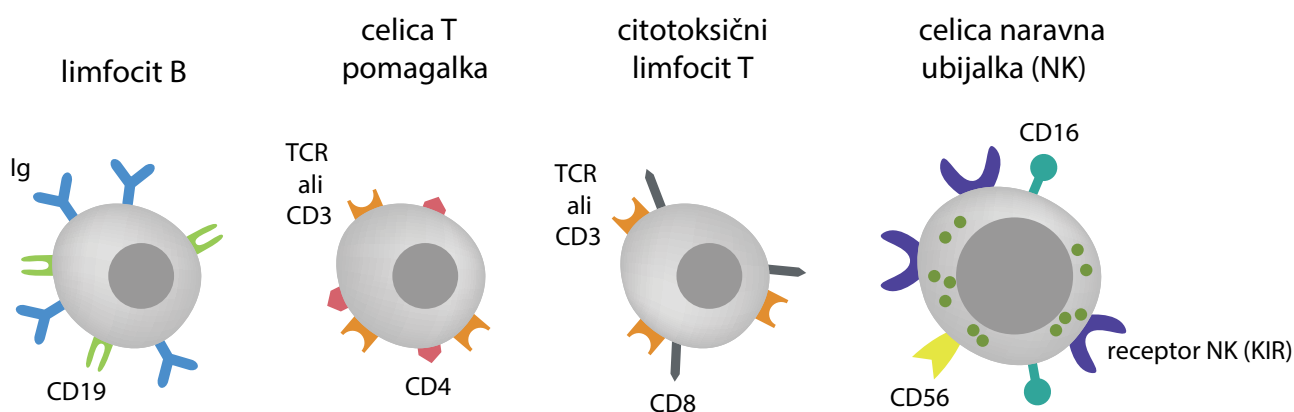
celice, ki dozori iz limfocitov B. Vsaka plazmatka izloča eno samo vrsto protiteles, ki se specifično veže s svojo antigensko molekulo. Čeprav obstaja ogromno različnih protiteles, jih glede na osnovne biokemijske in funkcijske lastnosti razvrščamo v pet razredov: protitelesa imunoglobulinskih razredov A (IgA), G (IgG), M (IgM), E (IgE) in D (IgD). Protitelesa IgA izločajo pretežno plazmatke v sluznicah, protitelesa IgG in IgM pa se izločajo pretežno v kri. Protitelesa IgG in IgM ob vezavi na tujek sprožijo vnetno reakcijo (aktivacija komplementa, aktivacija fagocitoze tujka), ki uniči tujek in pospeši njegovo odstranitev iz telesa. Protitelesa IgA ob vezavi s tujkom ne sprožijo vnetja, ampak samo omogočijo odstranitev tujka iz telesa.

Poleg protiteles tvorijo izvršni del imunskega sistema še citotoksične celice. Od fagocitnih celic se razlikujejo po tem, da tujih delcev ne požirajo, ampak v njihovo neposredno bližino praznijo mešičke z encimi in toksičnimi snovmi, ki tujke uničijo. Poglavitne citotoksične celice so citotoksični limfociti T, pomembne pa so tudi naravne celice ubijalke (celice NK), ki ubijajo zlasti z virusi okužene lastne celice in tumorske celice.

Pomembna je tudi podvrsta limfocitov T po imenu celice T pomagalk. Čeprav ne napadajo tujkov, so kljub temu osrednje celice imunskega odziva, ker v največji meri tvorijo mediatorje imunskega sistema – citokine. Citokini usmerijo imunski odziv tako, da je optimalen glede na vrsto povzročitelja ter mesto in intenzivnost okužbe. Prepoznavi tujka namreč lahko sledijo različne imunske reakcije, ki imajo za tujek in za tkivo, kjer imunska reakcija poteka, različne posledice. Včasih se imunski sistem

proti tujku navidezno sploh ne odzove, ampak dopušča njegovo navzočnost v organizmu – gre za tolerančno reakcijo; lahko pa proti tujku sproži zavrnitveno imunsko reakcijo. Poznamo veliko različnih načinov, kako imunski sistem specifično napade tujke. V grobem jih delimo na mehanizme humoralne (protitelesne) imunosti in na mehanizme celične imunosti. Pri humoralni imunosti nastajajo proti tujkom protitelesa, ki se nato vežejo na tujke in po vezavi sprožijo kaskado imunskih reakcij, ki povzročijo nevtralizacijo in odstranitev tujkov. Nosilci protitelesnega odziva so limfociti B, ki neposredno povzročijo tvorbo protiteles. Mehanizmi celične imunosti s produkcijo citokinov (celice T pomagalk) povzročijo tkivno vnetje, med katerim lahko pride do aktivacije citotoksičnih celic (citotoksičnih limfocitov T, celic NK), ki napadejo predvsem okužene telesne celice in z njihovim uničenjem uničijo tudi znotrajcelične mikrobo.

Limfociti T nastajajo iz prekurzorskih limfopoeitičnih celic v kostnem mozgu, od koder kot nezreli limfociti T (brez razvitega T-celičnega receptorja) migrirajo po krvi v priželjc (timus). V timusu razvijajo limfociti T receptorje za antigen TCR (T-celične receptorje ali TCR), ki jih prepoznavamo z monoklonskimi protitelesi CD3. TCR limfocitom T omogočajo prepoznavanje antigenov. Dozorevanje limfocitov T v timusu poteka z aktivacijo in preurejanjem genov za nastanek unikatnega TCR. Limfociti T v timusu funkcijsko dozori v imunokompetentne celice, bodisi v celice T pomagalk (CD4+CD3+) ali citotoksične limfocite T (CD8+CD3+). Celice T pomagalk po aktivaciji z antigenom izločajo citokine in s tem uravnavajo imunski odziv, citotoksični lim-



Slika 2.12. Vrste limfocitov.

fociti T pa po aktivaciji izločajo citotoksične snovi in ubijajo okužene celice lastnega organizma.

Hkrati z dozorevanjem limfocitov T poteka v timusu tudi negativna selekcija tistih limfocitov T, ki ob oblikovanju unikatnega TCR razvijejo takšne oblike receptorskih vezišč za antigen, ki bi se vezali na molekule lastnega organizma in jih prepoznavali kot tujke (antigene). Pri negativni selekciji avtoaktivnih limfocitov T sodelujejo v timusu antigen predstavljene celice, ki nezrelim limfocitov T z izoblikovanim TCR predstavljajo peptidne antigene, prepisane iz lastnega genoma. Prepoznavanje lastnih peptidov s TCR povzroči aktivacijo TCR in sproži apoptozo limfocita T v timusu. Na ta način se z negativno selekcijo izločijo limfociti T, ki bi ob migraciji v kri lahko povzročili imunski napad na lasten organizem (avtoimunska bolezen).

2.12 Antigenski receptorji limfocitov

Adaptivni imunski odziv omogočajo limfociti s svojimi antigenskimi receptorji. Razlikujemo limfocite B, katerih antigenski receptorji (B-celični receptorji, BCR) so protitelesne molekule – imunoglobulini (Ig), in T-celične receptorje (TCR), ki so antigenski receptorji limfocitov T. Vsak posamični limfocit ima na površini antigenske receptorje, ki so si enaki in specifični samo za eno vrsto antigena. Tujek (antigen), ki pride v telo, se veže samo na limfocite, ki imajo antigenske receptorje ustrezne specifičnosti za njegove molekularne površine. Po vezavi antigena se limfocit začne hitro razmnoževati (t. i. proliferacija) in zoreti (t. i. diferenciacija). Iz posameznega limfocita po vezavi antigena v nekaj dneh nastanejo številni limfociti, ki imajo enake antigenske receptorje. Tako nastane specifični limfocitni klon, proces pa imenujemo klonska ekspanzija. Posledica klonske ekspanzije specifičnih limfocitov je poleg odstranitve antigena tudi imunski spomin – razmnoženi limfociti ostanejo v limfatičnih tkivih kot dolgoživeče spominske celice in so pri naslednji okužbi z enakim tujkom pripravljeni za takojšnje delovanje.

Primarni imunski odziv se začne z zakasnitvijo, ki je potrebna za ekspanzijo specifičnega klona. Sekundarni imunski odziv je hitrejši in močnejši,

ker se proti antigenu odzovejo specifični kloni spominskih limfocitov, ki so nastali že med primarnim imunskim odzivom. Limfociti, ki še nikoli niso prišli v stik s specifičnim antigenom, so naivni limfociti, ki nenehno nastajajo v primarnih (generativnih) limfatičnih organih (kostni mozeg za limfocite B in timus za limfocite T). Spominski limfociti se ob navzočnosti antigena diferencirajo v spominske in efektorske limfocite, in sicer limfociti B v plazmatke, ki tvorijo protitelesa, citotoksični limfociti T pa v aktivirane citotoksične celice.

Ko patogen s svojimi virulenčnimi mehanizmi (npr. toksini) preko kože ali sluznic vdre v tkiva, se najprej sproži prirojeni imunski odziv, ki je hiter, a nespecifičen. Prirojeni odziv v tkivu povzroči obširno vnetje in poškoduje lastna tkiva. Pridobljeni odziv, katerega nosilci so razmnoženi limfociti, pa mnogo bolj specifično uničuje samo tujke in ob tem lastnim tkivom povzroči manjšo škodo (manj vnetja). Na mestu zaznave patogena pride do močnega, a lokaliziranega odziva. Manjši del limfocitov se hkrati pretvori v t. i. spominske celice, ki potujejo do limfatičnih organov, kjer lahko preživijo tudi več let. Spodbujajo tudi proizvodnjo limfocitov z enakimi imunskimi receptorji, kar ob morebitnem kasnejšem vdoru enakega patogena omogoči bistveno hitrejši ter bolj učinkovit odziv. Pojav, ki mu pravimo imunski spomin, je temelj imunizacije z vnašanjem umetno inaktiviranih patogenov v telo.

Antigen – vsaka molekula, ki se veže na antigenske receptorje limfocitov T (TCR) ali limfocitov B (BCR, Ig). Mesto na TCR ali BCR, ki prepozna antigen in se nanj specifično veže, imenujemo paratop. Del antigena, na katerega se paratop neposredno veže, je epitop.

Antigenska specifičnost – lastnost, ki omogoča, da (limfocitni) imunski odziv zelo ciljano napade samo specifične (tuje) molekule, zato je škoda v tkivih zaradi nespecifičnega vnetnega odziva karreda majhna.

Klonska ekspanzija – lastnost antigensko specifičnih limfocitov, da se po prvem stiku z antigenom (klonsko) namnožijo v nekaj tisoč enakih celic, kar omogoči količinsko učinkovit odziv za obrambo pred okužbo (tj. dovolj veliko koncentracijo specifičnih protiteles (limfociti B) in dovolj veliko koncentracijo citotoksičnih limfocitov T ali celic T pomagalk, ki proizvajajo citokine (limfociti T)).

Imunski spomin – pojav, da se mehanizmi pridobljene imunosti (protitelesa, citotoksični odziv) ob prvem stiku z določenim tujkom (antigenom) odzovejo z zakasnitvijo in razmeroma šibko (primarni odziv), ob naslednjih stikih z istim tujkom pa mnogo hitreje in bolj učinkovito kot ob prvem stiku (sekundarni, spominski odziv). Zdi se, da si je imunski sistem ob prvem stiku "zapomnil" povzročitelja in se naučil bolj učinkovitega odziva. Imunski spomin je posledica klonske ekspanzije antigensko specifičnih limfocitov po prvem stiku z antigenom.

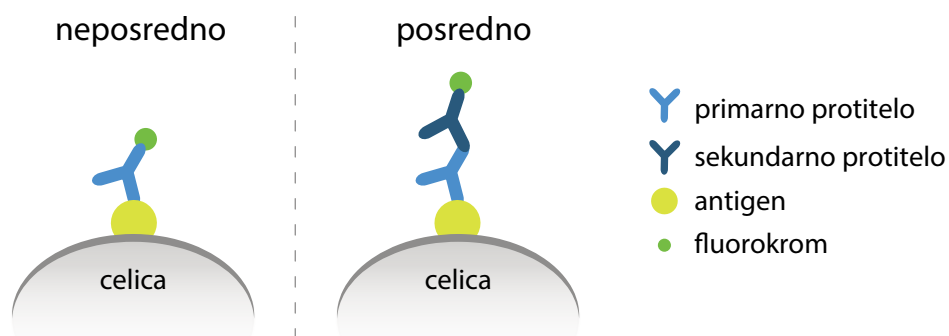
2.13 Vrste in podvrste levkocitov analiziramo z monoklonskimi protitelesi CD

Levkociti (bele krvne celice) na svoji površini izražajo molekule, ki jih lahko zanesljivo in preprosto določimo z monoklonskimi protitelesi. Monoklonska protitelesa so nadvse uporaben reagent in jih biotehnologi pridobijo s cepljenjem živali z določeno človeško molekulo (antigenom). Nato iz živali

osamijo klon plazmatk proti cepljeni molekuli (zato monoklonska protitelesa) in z biotehnološkimi postopki v bioreaktorjih pridobivajo velike količine monoklonskih protiteles za analitične namene (določanje človeških molekul na celicah (imunofluorescenca) ali v raztopini (encimski imunski testi, ELISA). Danes monoklonska protitelesa uporabljamo tudi kot zdravila (biološka zdravila).

Monoklonska protitelesa, ki jih uporabljamo za prikazovanje levkocitnih molekul, so sistematizirana po razvrstitvi CD (*angl.* cluster of differentiation). Vsa monoklonska protitelesa z določeno številko CD se vežejo na istovrstne molekule na površini belih krvnih celic.

Bele krvne celice se med seboj razlikujejo po membranskih beljakovinah (receptorjih, encimih). Posamezne beljakovine izražajo samo celice z določeno funkcijo. Limfociti T npr. prepoznavajo antigene s posebnimi receptorji TCR. Te receptorje lahko prikažemo z monoklonskimi protitelesi, ki so dobili oznako CD3. Ker od vseh celic omenjene receptorje izražajo samo limfociti T, monoklonska protitelesa CD3 omogočajo identifikacijo limfocitov T. Antigene na celicah najpreprosteje prikažemo s fluorescenčnim mikroskopiranjem, pri katerem s fluorescenčnim barvilom označena monoklonska protitelesa pomešamo s celicami in nato s fluorescenčnim mikroskopom opazujemo, katere celice so se obarvale z določenimi monoklonskimi protitelesi. Če npr. opazujemo limfocite, barvane z monoklonskimi protitelesi CD3, je odstotek obarvanih limfocitov tudi odstotek limfocitov T.



Slika 2.13. Neposredna in posredna imunofluorescenčna tehnika.

Tabela 2.2. Najpomembnejše molekule za opredeljevanje limfocitnih populacij.

Oznaka	Dejavnost molekule	Navzočnost na celicah
CD2	receptor za ovčje eritrocite	limfociti T, nekatere celice NK
CD3	receptorji za antigen (TCR)	limfociti T
CD4	receptorji za molekule MHC II	celice T pomagalk
CD8	receptorji za molekule MHC I	citotoksične celice T
CD16	šibkoafinitetni receptorji za IgG	celice NK, nekatere celice T
CD19	fosfoglikoproteinski koreceptor, ki skupaj z CD21 in CD81 omogoči prenos signala z B – celičnega receptorja	limfociti B
CD25	veriga alfa (p55) receptorja za IL – 2	aktivirani limfociti T, B, celice NK, monociti
CD45RA	encimi (protein – tirozin fosfataze) za prenos receptorskih signalov v celice	naivni limfociti T
CD45RO	encimi (protein – tirozin fosfataze) za prenos receptorskih signalov v celice	spominski limfociti T
CD56	adhezijske molekule (NCAM)	celice NK

3.

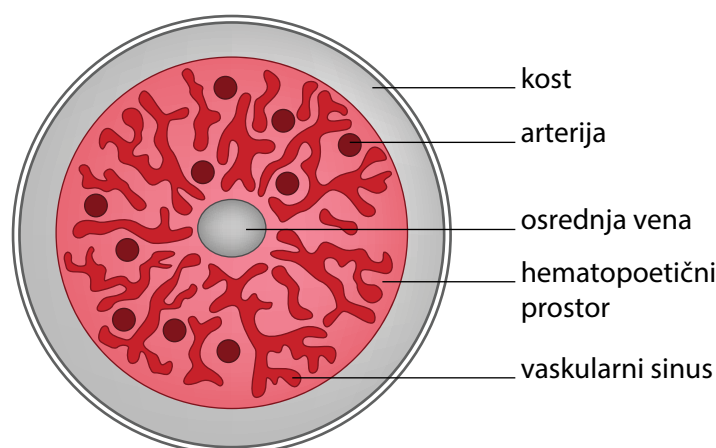
Tkiva in organi imunskega sistema

3.1 Kostni mozeg

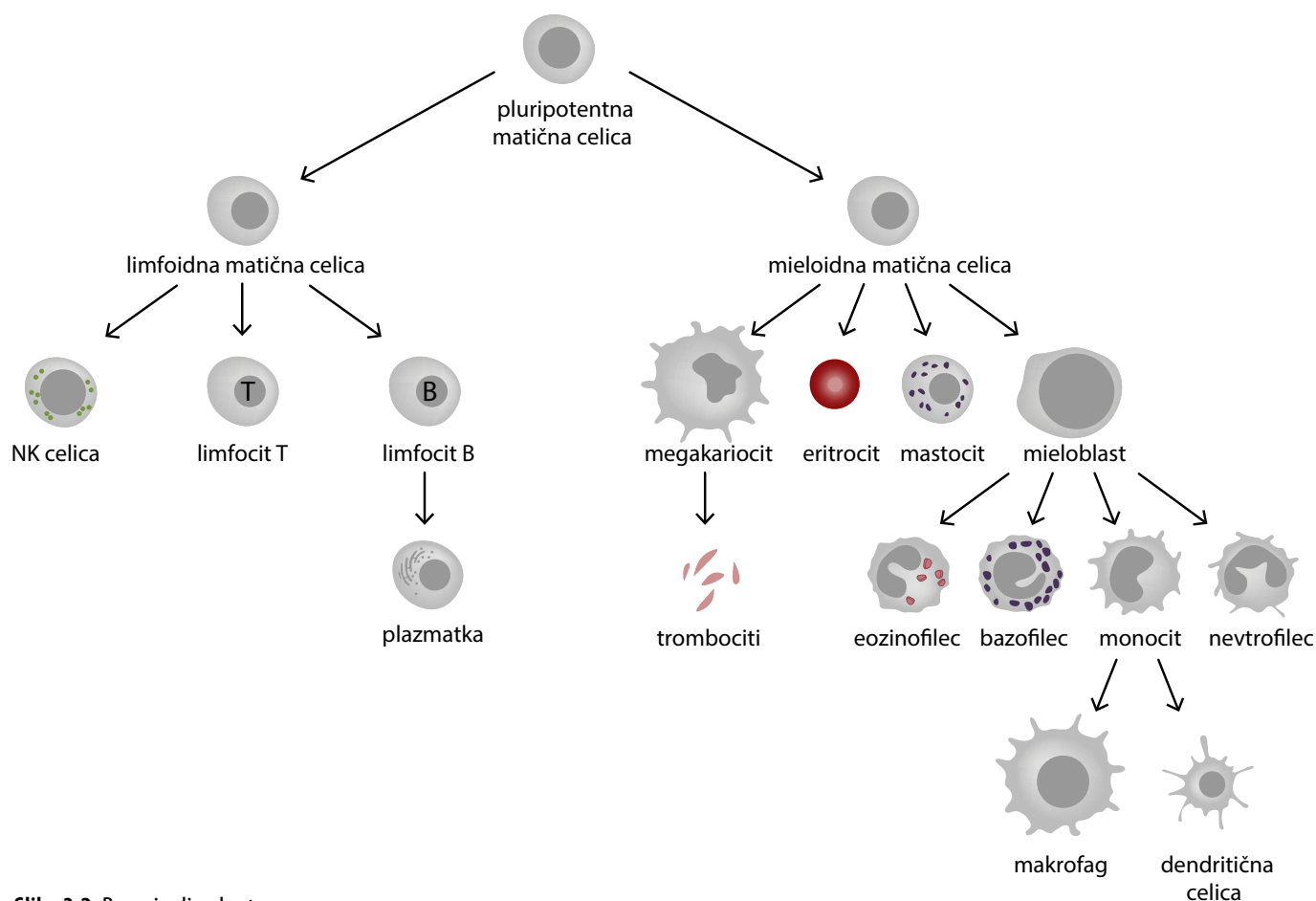
Kostni mozeg sestavlja mrežje krvnih žil – sinusov, med katerimi je hematopoetični prostor s spužvi podobnim ogrodjem iz retikulumskih celic. V hematopoetičnem prostoru se nahajajo matične celice, iz katerih se diferencirajo posamezne vrste krvnih celic. Dozorele celice iz hematopoetičnega prostora potujejo v vaskularne sinuse, kjer se sprostijo v kri kot zrele krvne celice, tj. eritrociti, trombociti (ki niso prave celice, ampak le odlomki megakariocitov), granulociti (nevtrofilci, eozinofilci, bazofilci), monociti in limfociti.

Hematopoeza se v embrionalnem razvoju začne v rumenjaki v vreči (približno 60. dan) ter se nato prenese na plodova jetra (po 50–150 dneh) in

končno v kostni mozeg (po 80 dneh). V kostnem mozgu imunske celice nastajajo, zorijo in preko krvi migrirajo v periferne (sekundarne) limfatične organe (limfociti) ali v periferna tkiva (granulociti). Iz skupne celice, t. i. pluripotentne matične celice (PMC), se razvijejo vse krvne celice. Zgodaj v hematopoezi se pluripotentna matična celica diferencira v dve smeri – mieloidno matično celico (iz katere se razvijejo eritrociti, nevtrofilci, makrofagi, bazofilci) in limfoidno matično celico (iz katere nastanejo celice NK, ter limfociti B in T). Limfociti B dokončno dozorejo v kostnem mozgu, limfociti T pa v timusu. Pri odraslih se razvoj limfocitov B nadaljuje. Razvoj novih limfocitov T se z leti upočasnjuje, limfociti T pa se večinoma ohranjajo kot dolgoživeči spominski limfociti T.



Slika 3.1. Prerez kostnega mozga. Osrednja vena sprejema žilne sinuse kot pritoke. Sinusi so široke žile s tankimi stenami, ki potekajo radialno proti osrednji veni. Med sinusi so hematopoetični prostori.



Slika 3.2. Razvoj celic v kostnem mozgu.

Ker je vsaka stopnja diferenciacije matične celice povezana z razmnoževanjem, iz majhnega števila matičnih celic nastane veliko število zrelih celic. Na razvoj in diferenciacijo posamezne celice vplivajo mikrookolje, rastni dejavniki, citokini in tudi interakcije s stromalnimi celicami.

Hematopoetski rastni dejavniki

Hematopoetski rastni dejavniki so močno glikozirane molekule, ki nadzorujejo in uravnavajo hematopoezo. Pospešujejo razmnoževanje in diferenciacijo hematopoetskih matičnih celic v bolj diferencirane celične vrste. Hematopoetske rastne dejavnike, ki jih imenujemo tudi kolonije spodbujajoči dejavniki (*angl.* colony stimulating factors, CSF), delimo glede na tip celičnih kolonij, tj. kolonije stimulirajočo enoto (*angl.* colony forming unit, CFU), ki se razvije, če dejavnik dodamo celicam kostnega mozga. Med CSF razlikujemo GM-CSF (granulocitne makrofagne kolonije spodbujajoči dejavnik), G-CSF (granulocitne kolonije spodbujajoči dejavnik, ki spodbudi nastanek nevtrofilcev) in M-CSF (makrofagne kolonije

spodbujajoči dejavnik, ki spodbudi nastanek monocitov). Poleg CSF so za zorenje in diferenciacijo potrebni tudi interleukini 1, 2, 3, 4 in 7 ter dejavnik tumorske nekroze (*angl.* tumor necrosis factor, TNF). Številne citokine izločajo stromalne celice kostnega mozga, aktivirane celice T in aktivirani makrofagi.

Receptorji za specifičen rastni dejavnik se nahajajo na tistih celicah, na katerih razvoj vplivajo. Proces nastanka, zorenja in diferenciacije hemopoetičnih celic mora biti natančno uravnavan in nadzorovan. Razmnoževanje in diferenciacija vsake celične vrste sta uravnavana tudi z apoptozo (tj. programirano celično smrtjo).

3.2 Timus

Timus je limfatični organ, ki ima ogrodje iz retikulskih celic epitelnega (ektodermalnega) izvora. V ogrodju so limfociti (t. i. timociti). Timus je razdeljen na dva režnja (lobusa), ki sta z vezivnimi pretini razdeljena na režnjiče (lobuluse). Znotraj

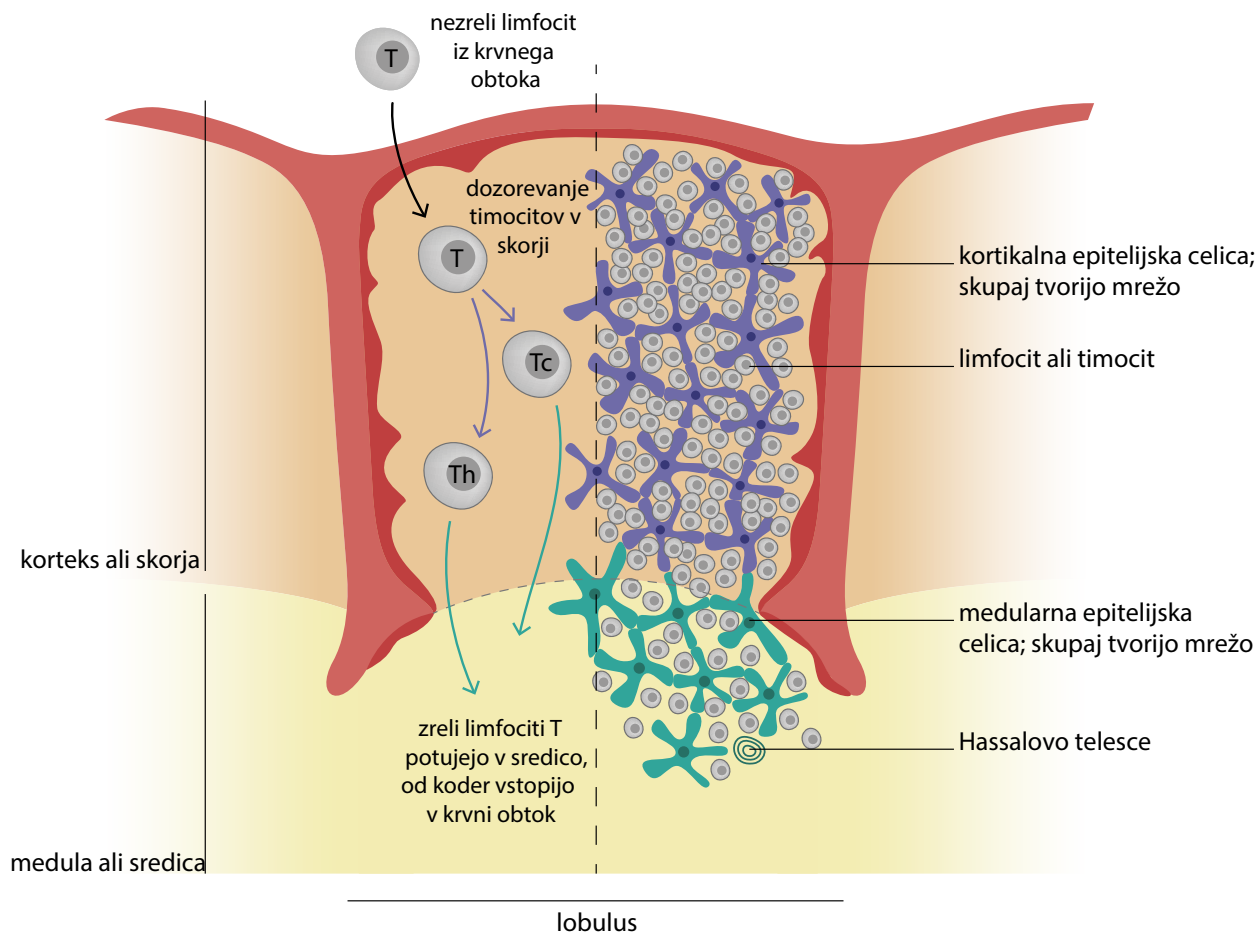
posameznega režnja razlikujemo skorjo (korteks) in sredico (medulo). Iz krvi vstopajo v skorjo nezreli predhodniki limfocitov T in so v skorji zbrani v značilnih skupkih (t. i. Clarkovih paketih). Predhodniki limfocitov T nastanejo primarno v kostnem mozgu, se sprostijo v kri in zaradi izraženih receptorjev za žile timusa pristanejo v timusu. V timusu limfociti T dozorevajo in se diferencirajo v celice T pomagalka ali citotoksične limfocite T. Dozoreli limfociti T potujejo v sredico ter iz sredice vstopijo v krvni obtok.

Med potovanjem proti sredici dozorevajoči limfociti T pridobivajo lastnosti in molekule zrelih limfocitov T – predvsem je pomembna pridobitev T-celičnega receptorja (TCR) za prepoznavanje antigenov. Iz sredice limfociti prestopajo v krvni obtok in od tam potujejo v sekundarne limfatične organe (bezgavke, vranico, nebnice in limfatično tkivo sluznic). Tja pripotujejo limfociti T (iz timusa) in limfociti B (iz kostnega mozga) ter se naselijo v določena področja in postanejo imunsko zmožni ali zreli limfociti.

V timusu hkrati z dozorevanjem limfocitov T poteka tudi negativna selekcija tistih limfocitov T, ki ob preurejanju genov za TCR razvijejo takšne receptorje, ki bi se lahko vezali na molekule lastnega organizma in jih prepoznavali kot tujke (antigene). Pri tem sodelujejo antigen predstavitvene celice v timusu, ki nezrelim limfocitom T z izoblikovanim TCR kažejo peptidne antigene, prepisane iz lastnega genoma. Morebitna prepoznavla lastnih peptidov s TCR aktivira TCR in sproži apoptozo limfocita T v timusu. Na ta način se z negativno selekcijo izločijo limfociti T, ki bi z migracijo v kri lahko povzročili imunski napad na lasten organizem (tj. avtoimunska bolezen).

3.3 Limfa in limfne žile

V limfnih žilah se pretaka motna, gosta tekočina (limfa), ki vsebuje maščobne kapljice in bele krvničke. Na poteku limfnih žil so posebna mesta (bezgavke,



Slika 3.3. Zorenje limfocitov T v timusu.

nebnice, kostni mozeg, vranica, jetra, pljuča, črevo), kjer so imunska tkiva organizirana tako, da se lahko bele krvničke, zlasti limfociti, zberejo in organizirajo imunske odzive proti tujkom, ki jih je prinesla limfa.

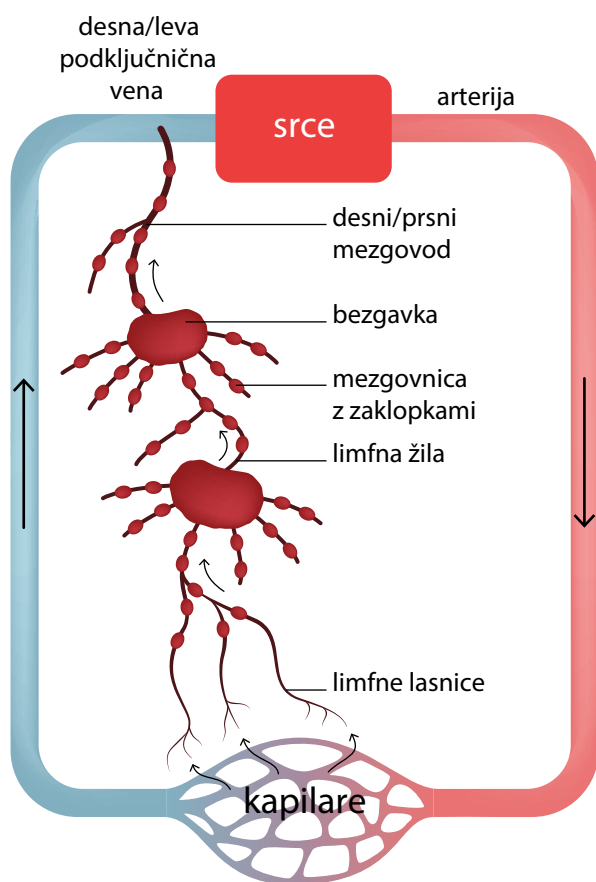
Limfni sistem je namenjen odstranjevanju odpadnih snovi iz tkiv; odnaša povzročitelje bolezni (npr. bakterije), tujke (npr. prah) in beljakovine ter tudi do dva litra vode iz medceličnih prostorov nazaj v kri. Na določenih mestih se limfne žile zberejo in se pretakajo skozi bezgavke (limfne vozle). Tam tujki, ki jih prinese limfa, pridejo v neposreden stik z imunskimi celicami, pri čemer v primeru aktivacije imunskih celic proti tujkom nastane vnetni in/ali imunski odziv.

Limfa se iz mezgovnih lasnic zliva v večje mezgovne žile, ki se izlivajo v desni mezgovod (limfa iz desnega zgornjega dela telesa) ali v prsni mezgovod (limfa iz ostalega telesa). Omenjena mezgovoda se zlivata v krvnižilni sistem preko leve in desne podključnične vene.

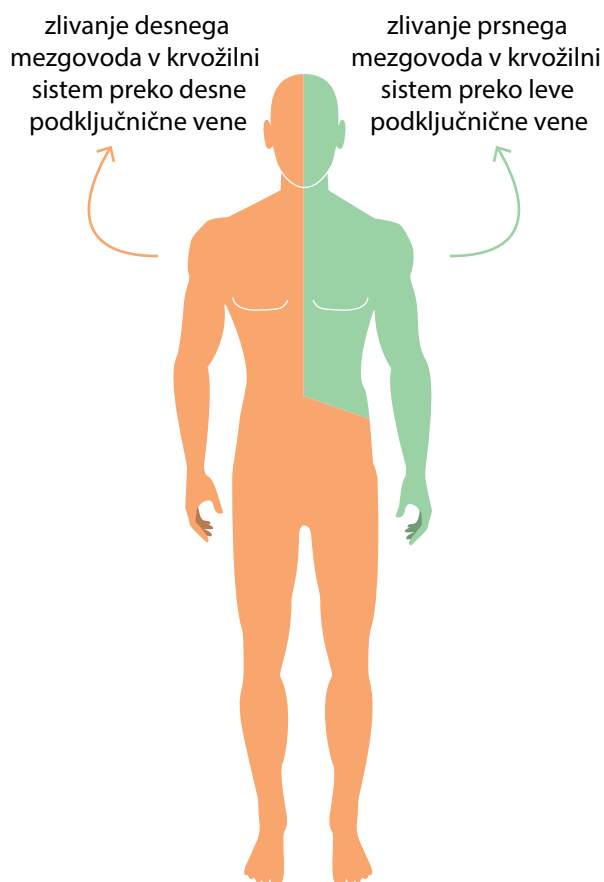
Limfne žile oskrbujejo vse telesne organe in tkiva, razen možganov. Odvajajo presežek medceličnine, ki nastaja zaradi filtracije krvne plazme preko

kapilarnih sten v tkiva. Limfa (mezga ali sokrvica) je rumenkasta in prosojna telesna tekočina. Premika se zelo počasi in pod nizkimi tlaki, saj sistem nima osrednje črpalke, kot je v krvnižilnem sistemu srce. Podobno kot vene imajo tudi mezgovnice enosmerne zaklopke, zato se limfa lahko premika le v smeri osrednjih limfnih žil. Potovanje limfe omogoča stiskanje mezgovnic, kar poganja limfo proti osrednjim limfnim žilam in nato v kri. K stiskanju mezgovnic največ pripomore premikanje skeletnih mišic med gibanjem. Pri premikanju limfe po mezgovnem sistemu pomaga tudi ritmično krčenje krvnih žil. Bolnikom, ki se ne morejo gibati, moramo zato z občasnim stiskanjem tkiv (masažo, limfno drenažo) limfo potiskati proti srcu, kar sicer opravljajo mišice. Limfa brez tega zastaja v tkivih in se kaže kot otekanje.

Limfno žilje je močno prisotno tudi v stenah prebavil. Medtem ko večina hranil prehaja v portalni (dverni) venski sistem in nato v jetra, se maščobe reabsorbirajo v mezgovni sistem in gredo v kri preko prsne mezgovnice.



Slika 3.4. Limfno žilje.



3.4 Bezgavke

Bezgavka je fižolast, z ovojnico obdan organ iz limfatičnega tkiva. Skoznjo teče limfa, v njej pa se razmnožujejo in propadajo limfociti. Bezgavko sestavlja skorja (korteks) in sredica (medula), med njima pa je parakortikalni predel. Bezgavke se nahajajo po vsem telesu. Delujejo kot filtri za tujke in so pomembne za delovanje imunskega sistema. V bezgavkah lahko antigen predstavitvene celice (APC) vežejo antigenske molekule iz limfe in jih predelujejo za predstavljanje limfocitom. Bezgavke navadno ležijo ob stikih večjih limfnih žil.

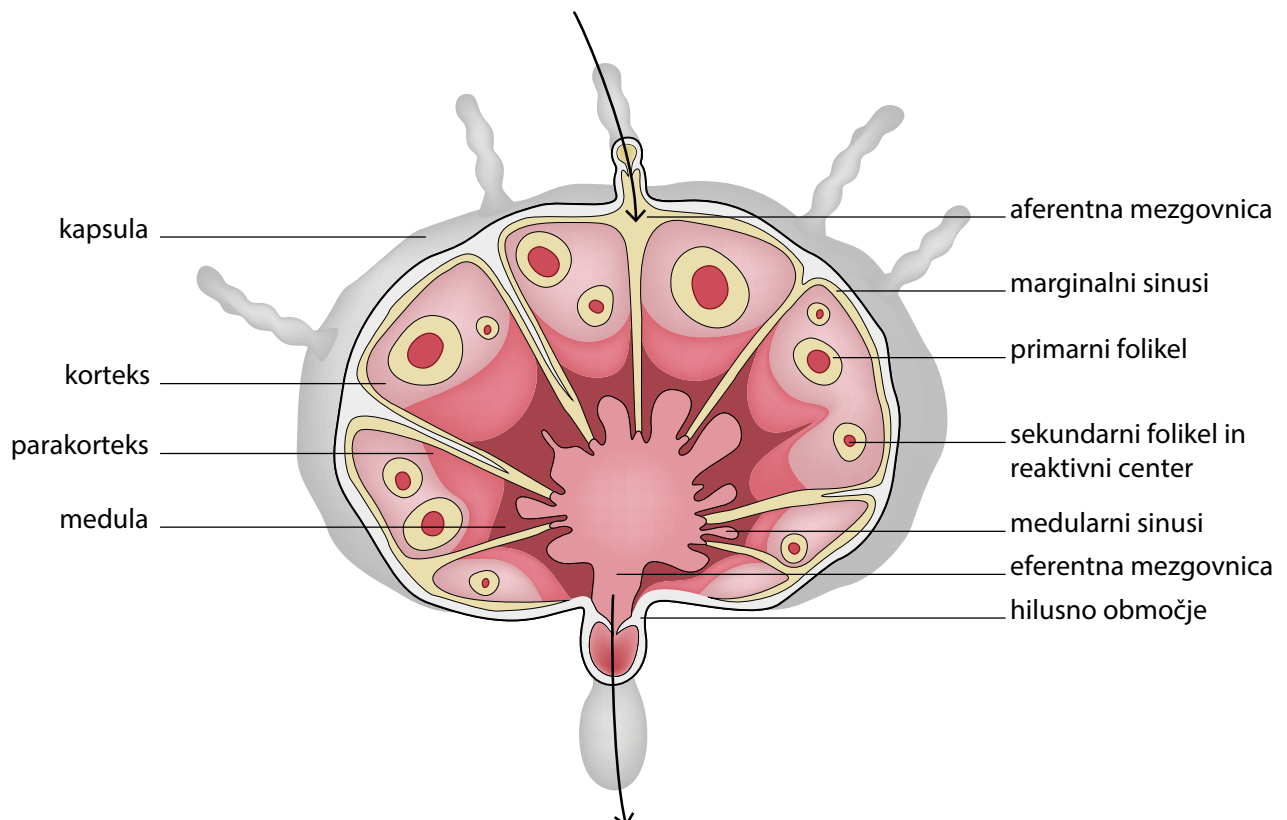
Zgradba bezgavke omogoča stik limfocitov z antigeni, ki prihajajo v bezgavko po aferentnih (dovodnih) mezigovnicah. Tujke, ki pridejo v tkiva, tok limfe nese v bezgavke, kjer jih ujamejo dendritične celice in makrofagi. Mezga vstopa v kapsulo bezgavke po dovodnih mezigovnicah. Pod kapsulo je korteks, kjer so pretežno limfociti B, ki so zbrani bodisi v manjših primarnih foliklih (v katerih trenutno ne poteka imunski odziv) bodisi v večjih reakcijskih centrih, t. i. sekundarnih foliklih (v katerih poteka imunski odziv na antigen). Pod korteksom

leži parakorteks, ki ga sestavljajo pretežno limfociti T in manj limfocitov B (razmerje 3:1). Iz korteksa in parakorteksa vodijo tanke mezigovnice radialno v sredico (medulo), kjer se zberejo v odvodno mezigovnico, ki iz bezgavke odvaja mezgo. Limfocitne skupke v sredici imenujemo medularni povezki; v njih se limfociti B, ki so pripotovali iz reaktivnih centrov (sekundarni limfatični folikli), preoblikujejo v plazmatke, ki tvorijo protitelesa.

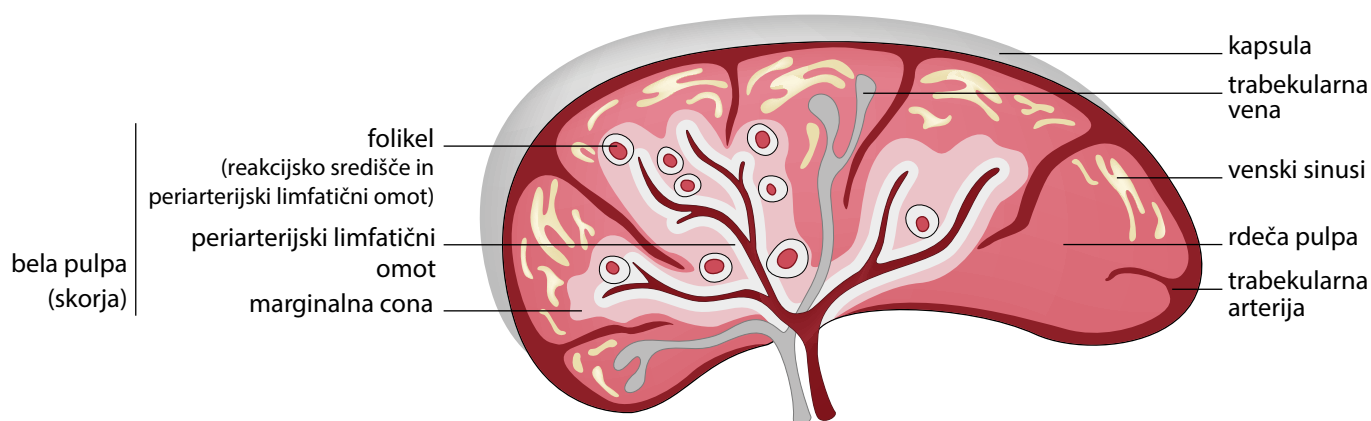
3.5 Vranica

Vranica je velik organ, vstavljen v krvni obtok, in služi za filtriranje in skladiščenje krvnih celic. Vranično parenhimsko tkivo sestavljata rdeča pulpa in bela pulpa. Belo pulpo sestavljajo ovojnice iz limfatičnega tkiva, ki obdaja arterije in se ponekod razširi v limfatične folikle (Malpighijeva telesca), rdečo pulpo pa široki venski sinusi, ki so vloženi v limforetikularno tkivo. Pasove tega tkiva na prerezi imenujemo vranični (Billrothovi) povezki.

V sinusih se skladišči kri, v Billrothovih povezkih pa so makrofagi, ki odstranjujejo okvarjene in osta-



Slika 3.5. Zgradba bezgavke.

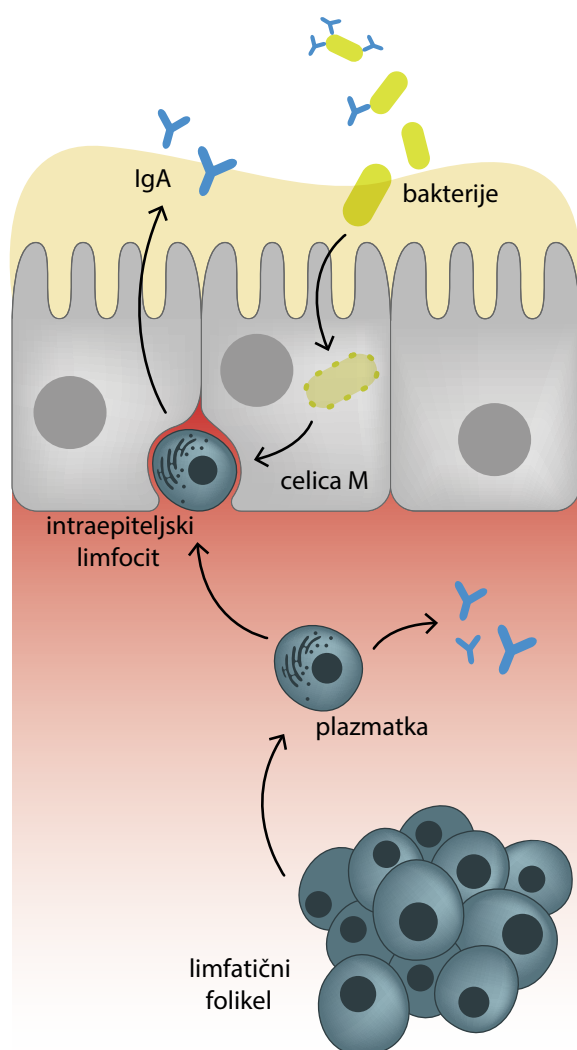


Slika 3.6. Vranica.

rele celice. V središču limfatičnih foliklov so arterije. Obdaja jih periarterijski limfatični ovoj, ki je pretežno iz limfocitov T. Radialno je plašč iz limfocitov B. Zunaj plašča, na meji s sinusi, je marginalna cona, v kateri so številni makrofagi.

3.6 Limfatično tkivo sluznic

Več kot polovico imunskih celic pri človeku je v sluznicah. Samo sluznice prebavil vsebujejo toliko imunskih celic kot človeška vranica. Delno so or-



izvršni (eferentni) del
imunskega sistema

sprejemni (aferentni) del
imunskega sistema

Slika 3.7. Imunski odziv v sluznicah.

ganizirane v sluznične limfatične folikle, delno pa posamično razporejene v predelu *lamina propria*. Limfocitni folikli so skupki – zlasti limfocitov – in sestavljajo sprejemni (aferentni) del imunskega sistema sluznic. Prestrezajo tuje molekule, v njih pa se aktivirajo in razmnožujejo imunske celice. Aktivirane in razmnožene celice nato iz foliklov potujejo v predel *lamina propria* sluznic, kjer so posamične celice izvršni (eferentni) del sluzničnega imunskega sistema.

Limfatično tkivo sluznic (*angl.* mucosa-associated lymphoid tissue, MALT) sestavljajo limfatično tkivo dihalnih sluznic (*angl.* nasopharyngeal-associated lymphoid tissue, NALT) in limfatično tkivo sluznic prebavil (*angl.* gut-associated lymphoid tissue, GALT). Za MALT je značilna navzočnost posebnih specializiranih epitelnih celic, ki jih imenujemo celice M. Celice M so obdane z limfociti B in limfociti T. Celice M sprejemajo antigene, ki jih vdihnemo ali pojemo, s pinocitozo. Ti antigeni so nato predstavljeni limfocitom T. Pri tem je pomembno,

da je okoli celic M predvsem množica limfocitov T, ki nosijo T-celični receptor (TCR) z verigama gama in delta. Limfociti T, ki so nosilci gama-delta TCR, usmerjajo aktivacijo limfocitov T v nastanek celic Treg, ki povzročajo tolerančni odziv do predstavljenega antigena. Na ta način se vzpostavlja sluznična toleranca do neškodljivih tujkov na sluznicah (hrana, delci v vdihanem zraku).

MALT ima dve pomembni nalogi. Organizem brani pred vdorom tujkov z aktivacijo imunskega odziva, kar se pokaže s sintezo specifičnih protiteles razreda IgA (t. i. sekretornega IgA). Ta veže povzročitelje bolezni že na površini sluznice in onemogoča njihov stik z receptorji, ki takšnim mikrobom omogočajo vdor v sluznično tkivo. Druga naloga IgA je, da preprečuje nastanek vnetnega imunskega odziva proti sestavinam hrane.

Pomemben sekundarni limfatični organ sluznic so tudi nebnice (tonzile), v katerih so limfociti razporejeni med epitelnimi celicami, lahko pa tvorijo tudi limfatične folikle z reakcijskimi središči.

4.

Telesne pregrade in protimikrobna odpornost

4.1 Prva obrambna linija: telesne pregrade in protimikrobni obrambni mehanizmi

Odpornost proti mikrobom v organizmu v prvi vrsti omogočajo različne fizikalne in kemijske pregrade. Pregrade preprečujejo, da bi mikrobi vdiral v notranjost tkiv in organov, ki normalno niso naseljeni z njimi. Telesne pregrade so koža in sluznice. Zunanjo površino kože in nekaterih sluznic navadno naseljuje mešana mikrobiota (bakterije, glive), ki nima virulenčnih dejavnikov (toksini, encimi, receptorji) za vdiranje v tkiva. Mikrobiota s poselitvijo površin zasede ekološko nišo na koži in sluznicah ter s tem gostitelju celo koristi, kar se odraža v manjši možnosti naselitve patogenih mikrobov. Če ji nenormalne okoliščine omogočijo vdiranje v tkiva (npr. poškodbe, bolezni kože in sluznic ali okvara imunskega sistema), lahko mikrobiota povzroči tudi škodo. V tem primeru govorimo o oportunističnih okužbah.

Vsaka telesna pregrada ščiti na svoj način. Koža je izvrstna zaščita že zaradi svoje čvrstosti in debeline, mnogoskladen epitel pa je na zunanji strani še dodatno zavarovan s poroženelim keratinskim slojem, ki se s kože tudi neprestano lušči in preprečuje trajnejšo naselitev mikrobov. Kožne lojnice izločajo maščobne kisline, ki zavirajo bakterijsko rast. Sluznice se pred kolonizacijo z mikrobi ščitijo s sluzjo. Sluz preprečuje neposreden stik mikroorganizmov z epitelimi celicami, mehanizmi za usmerjen tok sluzi pa hkrati omogočajo nenehno čiščenje sluzni-

ce in odplavljanje mikroorganizmov. Številne protimikrobne snovi v sluzi delujejo kot zaviralci mikrobne rasti.

4.2 Koža kot pregrada in imunsko tkivo

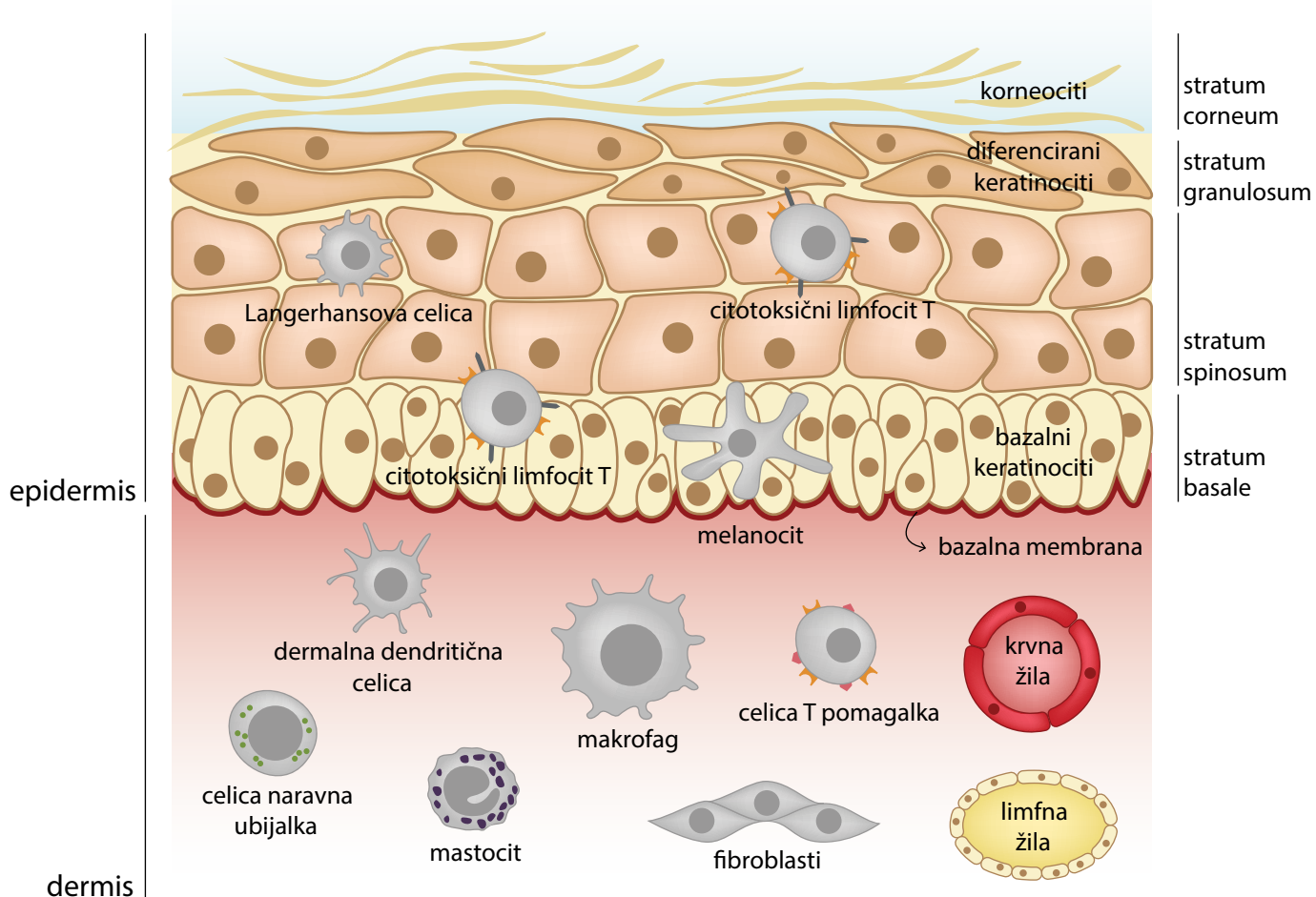
Zaradi trdne zgradbe je koža zelo učinkovita pregrada, zato mikrobi vdrejo skozi le, ko je poškodovana (rana, opekline, tumor). Koža je največji telesni organ, saj obsega 12–15 % telesne teže in ima površino 1,5–2 m². Koža notrajnost organizma ščiti pred mehanskimi poškodbami in izgubo tekočin ter hkrati preprečuje vdor mikroorganizmov v tkiva. Zgradba kože omogoča mehansko trdnost ter dobro fizikalno-kemijsko in mikrobiološko osamitev od okolice, ob vdoru mikroorganizmov (okužbah) pa opravlja obrambne naloge (organizacija vnetja in imuskega odziva), ki omogočijo zamejitev okužbe.

Poglavitne kožne celice so keratinociti, ki živijo in se razmnožujejo v bazalni plasti povrhnjice, od koder se med dozorevanjem pomikajo površinsko proti zunanji, roženi plasti povrhnjice. Na ta način keratinociti v različnih obdobjih svojega življenjskega cikla opravljajo različne naloge (med drugim se tudi odzivajo na mikrobne molekule s tvorbo vnetnih citokinov in protimikrobnih snovi) in tvorijo posamezne plasti kože. Vsaka plast ima v zaščitni funkciji kože svoje mesto. Povrhnjica (*stratus corneum*) je za protimikrobno zaščito najpomembnejši ovoj kože, ki ga v zgornji, poroženeli plasti tvori plast

keratinocitov v fazi mrtvih, brezjedrnih celic, ki so pravzaprav mumificirani celični beljakovinski ovoji z obilno vsebnostjo beljakovine keratin (običajno keratina tipa 10, ki ga pod vplivom vnetja nadomesti keratin tipa 17). Beljakovine mumificiranih keratinocitov tvorijo številne navzkrižne povezave – druga z drugo in tudi z zunajceličnimi maščobnimi lamelami, ki jih sestavljajo pretežno ceramidi, proste maščobne kisline in holesterol. Roževinasta plast povrhnjice ne prepušča vode, zato telo varuje pred izsušitvijo, zadržuje telesno toploto in tudi preprečuje vdor bakterij v notranjost telesa. Živi keratinociti v spodnjih plasteh povrhnjice se prehranjujejo z difuzijo. Hrana prehaja od usnjice v povrhnjico, saj povrhnjica normalno ne vsebuje žil.

Poroženela plast povrhnjice je torej biološko proizveden inerten ovoj, ki ga lahko v celoti odstranimo z zaporednim lepljenjem in odstranjevanjem lepilnega traku. Takšna navidez majhna poškodba

z lepilnim trakom povsem poruši zmožnost zadrževanja vode in stabilnost ionskih gradientov v živih keratinocitih pod poroženelo plastjo. Koža začne izgubljati vodo (secerniranje) in postane občutljiva na kolonizacijo z bakterijami, čemur sledi vnetni odziv zaradi stimulacije keratinocitov z mikrobnimi molekulami (super-antigeni, stimulatorji receptorjev TLR). Med takojšnjimi odzivi na izgubljeno roževinasto pregrado je sproščanje lamelarnih telescev (LT) iz živih keratinocitov. LT vsebujejo lipide, hidrolitične encime in vnetne citokine, ki so mediatorji imunskega odziva (TNF- α , IL-1). Kemotaktično privabljanje imunskih celic v tkivo povzroči obrambno infiltracijo epidermisa z nevtrofilci in nato z limfociti T. Izločki nevtrofilcev in limfocitov T delujejo protimikrobno. Povzročijo dodatno (zaščitno) luščenje keratinocitov ter njihovo pospešeno razmnoževanje in diferenciacijo v celice roževinaste plasti povrhnjice.



Slika 4.1. Imunski odziv v koži.

V tesnem stiku z živimi keratinociti, ki tvorijo bazalno plast povrhnjice, so dendritične Langerhansove celice, ki v epidermisu tvorijo omrežje z gostoto 700–800 celic/mm². Langerhansove celice s svojimi podaljški segajo med keratinocyte in skupaj z njimi kot prve stopajo v stik z antigenom. V odziv na stik z antigenom aktivirajo limfocite T in tvorijo citokine. Langerhansove celice so v koži osrednje celice, ki organizirajo imunski odziv. Uvrščamo jih med celice naravne imunosti, kar pomeni, da lahko s svojimi receptorji že ob prvem stiku z mikrobi prepoznajo njihove značilne molekule in jih fagocitirajo ter nato z izločanjem mediatorjev (citokinov) organizirajo imunski odziv.

Zaradi naštetih lastnosti so Langerhansove celice glavne senzorske celice za prepoznavanje različnih vrst tujih (zlasti mikrobnih) molekul, ki pridejo v kožo. Tuje mikrobnne molekule prepoznavajo s površinskimi receptorji PRR. Temu sledi izločanje vnetnih citokinov, ki v koži zlasti spremenijo delovanje keratinocitov (spremenjena diferenciacija, spremenjena sinteza keratina, tvorba protimikrobnih obrambnih proteinov, npr. protibakterijskih β -defenzinov HBD-1, 2 in 3). Po drugi strani Langerhansove celice mikrobnne molekule tudi fagocitirajo in se s fagocitiranimi mikrobi preselijo v lokalne bezgavke, kjer aktivirajo limfocite T.

KLINIČNA TOČKA. Ekcem in luskavica – patološka diferenciacija keratinocitov ob vnetju. Po vdoru mikrobov skozi zaščitno roževinasto plast lahko pride do aktivacije vnetja bodisi s strani keratinocitov ali Langerhansovih celic. Obe vrsti celic imata površinske receptorje za mikrobnne molekule PRR in lahko z izločanjem vnetnih citokinov aktivirata vnetje. Če s kože odstranimo roževinasto zaščitno plast (npr. zaradi trajnejše izpostavljenosti detergentom ali topilom), popusti kožna vodoodporna pregrada in mikrobnne molekule lahko pridejo bodisi na keratinocyte bodisi na Langerhansove celice (ali oboje) in sprožijo tvorjenje vnetnih citokinov (IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α), ki povzročijo infiltracijo nevtrofilcev in limfocitov T v epidermis. Langerhansove celice ob nadaljnjem vdoru mikrobnih delcev v epidermis mikrobnne delce fagocitirajo in aktivirajo limfocite T. Med njimi so pomembni predvsem v Th1 smer diferencirani limfociti T, ki izločajo interferon gama; ta povzroči spremenjeno diferenciacijo keratinocitov v smer nastanka debelih, večplastnih keratiniziranih kožnih oblog, ki povečajo mehansko protimikrobno zaščito kože. Pri trajni infiltraciji kože z aktiviranimi limfociti Th1 hiperkeratinizirana kožna sprememba ne izzveni in postane trajna vnetna kožna sprememba. Primer je ekcem, ki je navadno poklicna bolezen zaradi kronične izpostavljenosti topilom oz. detergentom in antigenom. Bolj genško pogojena motnja diferenciacije keratinocitov je luskavica, pri kateri se zaradi nenormalne diferenciacije keratinocitov poruši kožna pregrada za tujke in vnetje tako lahko vztraja. Dodaten zagon luskavice nastopi, če se vnetne beljakovine keratinocitov povežejo v komplekse z nukleinskimi kislinami razpadajočih keratinocitov, s čimer nastanejo neoantigeni, proti katerim se sproži avtoimunski odziv Th17. Ob tem nastajajo velike količine interleukina 17, ki povzročijo značilne kožne izpuščaje pri luskavici.

4.3 Sluznice kot pregrade in imunska tkiva

Sluznica dihal je s stališča obrambe pred mikrobi posebej občutljivi del organizma. Ker mora človek zrak nenehno vdihovati in ga izdihovati, težko preprečimo prenos okužbe med ljudmi, ki "dihajo v istem prostoru". Pomemben varovalni mehanizem sluznic je sluz, ki vsebuje za bakterije škodljive snovi (laktoferin, laktoperoksidazo, lizocim, sluznična protitelesa IgA). Sluz nastaja, če je organizem dovolj hidriran. Pri starostnikih ali v posebnih fizioloških stanjih (stres, veliki napor, dehidracija) je proizvo-

dnja zaščitne sluzi zmanjšana in do okužb pride že pri manjši količini vnešenih mikroorganizmov.

Sluz ustavlja mikrobe z usmerjenim pretakanjem. V dihalni sluznici so posebne celice, ki usklajeno "veslajo" z resicami in poganjajo sluz proti žrelu. To omogočajo epitelne celice, ki imajo po vsej dihalni poti od nosu do končnih bronhiolov migetalke. Migetalke usklajeno utripajo (približno 500-krat na minuto) in izrivajo mukozno plast proti grlu s hitrostjo 4–6 mm/min. Migetalke in sluz tvorijo mukociliarno dvigalko, ki izredno učinkovito odstranjuje mikrobe iz dihalnega vejevja. V dihalih zato sluz nenehno teče navzgor proti grlu in žrelu, kjer jo

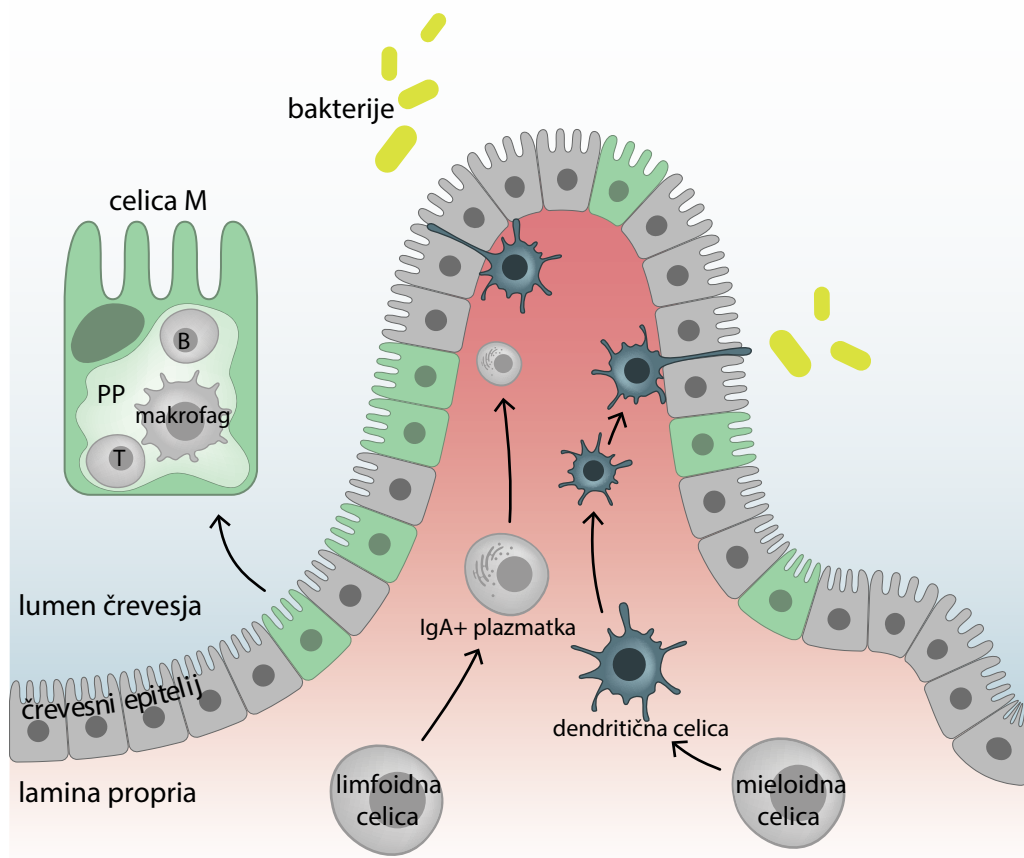
pogoltnemo, da potuje v želodec. Ker cigaretni dim uničuje resice, ki poganjajo sluz, se dihalne poti pri kadilcih slabše čistijo, bolezenski mikrobi pa imajo več priložnosti, da se naselijo na sluznici in povzročijo bronhitis ali pljučnico.

Poglavitna naloga sluzničnih protiteles IgA je, da vežejo tuje molekule na površini sluznic in otežijo njihov vdor v sluznice. Mikrobi, ki povzročajo bolezni zgornjih dihal (nosne, ustne votline in žrela), morajo priti v stik z epitelom, se nanj pričvrstiti z receptorji in se tam razmnoževati. Protitelesa IgA, ki prekrijejo mikrobne receptorje, onemogočijo njihovo pritrjevanje na sluznico. Nekateri patogeni izločajo IgA1-proteaze, ki s cepitvijo IgA1 preprečujejo zaščitniško delovanje sekretornih protiteles IgA. IgA1-proteaze izločajo številne bakterije, kot so *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis* in *Streptococcus sanguis*.

Sluznica prebavil mora predvsem razlikovati med patogenimi mikroorganizmi, ki jih je potrebno

zaustaviti in napadati, ter normalno črevesno floro in sestavinami hrane, do katerih je treba vzpostaviti toleranco. Ker morajo biti torej imunski odzivi v sluznici prebavil zelo kompleksni, je v prebavni sluznici toliko imunskih celic kot v vranici. Sluznico črevesa (*tunica mucosa*) sestavljajo epitel (*lamina epithelialis*), proprija (*lamina propria*) in mišična plast, sestavljena iz gladkomišičnih celic (*lamina muscularis mucosae*). Absorpcijsko sposobnost črevesa izjemno povečajo resice, ki so v dvanajstniku kratke in proti koncu tankega črevesa postajajo vedno daljše. V debelem črevesu resic ni več. Končujejo se v t. i. Lieberkühnovih kriptah. Te imajo na dnu germinativne oblike enterocitov, ki se ves čas diferencirajo in pomikajo proti vrhu resic. Življenjska doba enterocitov je 4–7 dni, odvisno od pogojev v prebavilih.

Plast *lamina propria* sluznice tvorijo rahlo vezivo z limfociti T in limfociti B, fibroblasti, tkivni bazofilci, plazmatke, histiociti, gladke mišice ter žile in živci. Imunske celice so delno organizirane v sluznične limfatične folikle, delno pa posamično razporejene



Slika 4.2. Imunski odziv v sluznici črevesa.

19.

Oblikovanje protitelesnega odziva v limfatičnih organih

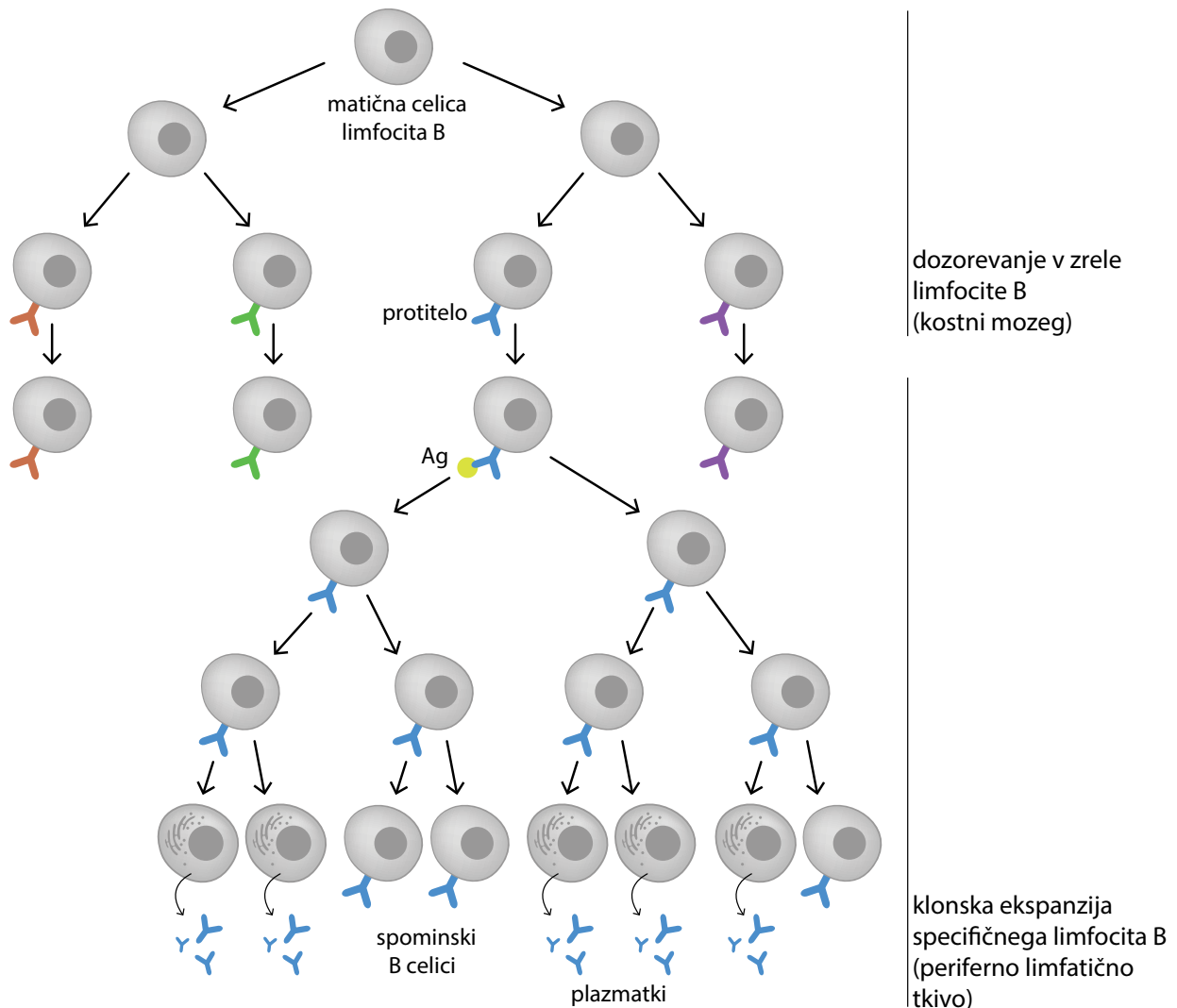
Da bi se organizem lahko primerno odzval na antigene iz okolice, mora biti omogočen prenos antigena v lokalne bezgavke, kjer se začne na limfocite T vezan imunski odziv. Prenos antigena v bezgavko lahko poteka po dveh poteh. Če je koncentracija antigena na periferiji velika, lahko antigen z limfo preko limfatičnega žilnega sistema dospe v bezgavke ali vranico, se koncentrira v subkapsularnih sinusih in po aferentnih mezigovnicah prehaja v T-celična območja.

Alternativna pot antigena poteka tako, da nezrele DC na periferiji (Langerhansove celice v koži ter DC v drugih tkivih) zajamejo antigen in potujejo po dovodnih mezigovnicah v krajevne bezgavke. Človek ima približno 10^9 epidermalnih Langerhansovih celic, ki so povezane s keratinociti preko kadherina E. Ko zajamejo antigen, se odlepijo od keratinocitov ter z ustvarjanjem kolagenaz preidejo skozi bazalno membrano v mezigovnice in po njih v bezgavke. Med zorenjem se zmanjša njihova sposobnost zajemanja antigenov, nastajati pa začne tudi velika količina kompleksa peptidov MHC II. V T-celičnem območju (parakorteks) bezgavke se nezrele DC s številnimi in dolgimi izrastki vrinejo med druge celice. Na tem mestu jih označujemo kot celice vrinjenke (*angl.* interdigitating cells, IDC). Tu se njihova preobrazba konča. IDC stopijo v stik z limfociti T in jim predstavijo antigen. Zorenje DC je

nadvse pomembno za začetek imunskega odziva ter je odvisno od mikrobnih in vnetnih snovi. Zorenje stimulirajo signali za nevarnost PAMP (*angl.* pathogen-associated molecular pattern), tj. cele bakterije, LPS, virusna RNK in druge mikrobne molekule ter citokini IL-1 in GM-CSF, medtem ko TNF- α , IL-10 zorenje preprečujejo.

Limfociti B se po uspešni aktivaciji z antigenom postopno diferencirajo v plazmatke, ki sintetizirajo in izločajo protitelesa, specifična za prepoznani antigen. Dozorevanje limfocitov B se začne v kostnem mozgu s pretvorbo nezrelih B-progenitornih celic (limfoblastov B) v naivne limfocite B, ki jih najdemo v krvi in v primarnih limfoidnih foliklih.

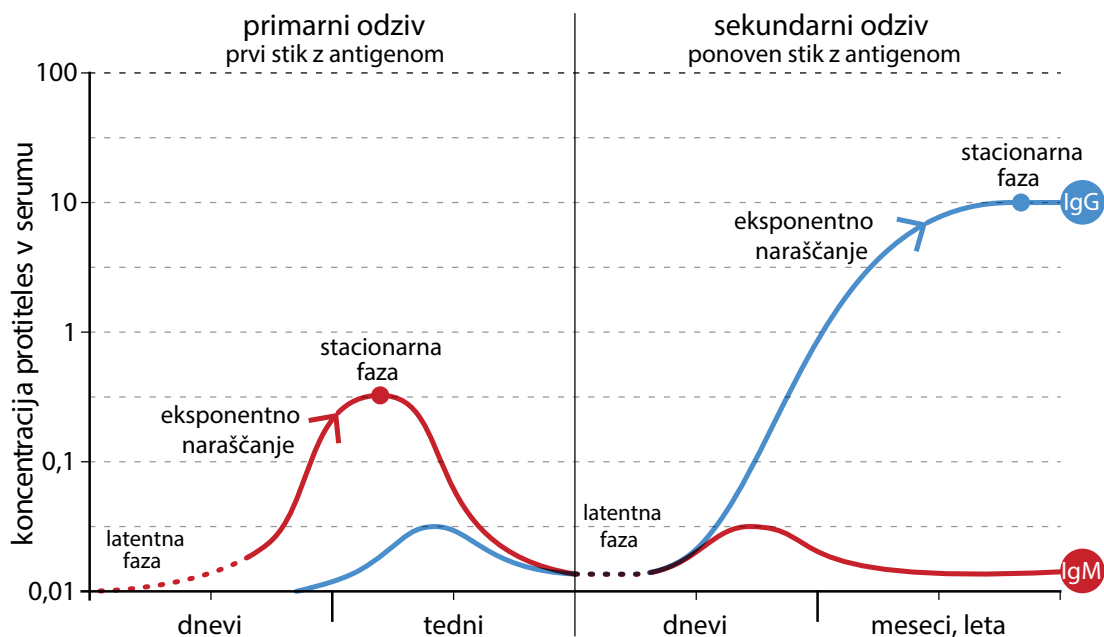
V krvi limfociti B kmalu preidejo iz funkcijsko nezrelih celic (CD21-CD19+) brez komplementnega receptorja CR2 (CD21) v funkcionalne limfocite B, ki nosijo CD2 (CD21+CD19+). Te celice imenujemo naivni limfociti B (še niso prišli v stik z antigenom) ali nepreklopljeni (*angl.* non-switched) limfociti B, pri katerih kot BCR služita prvotna imunoglobulinska receptorja mIgD in mIgM. Naivna celica ima fenotip CD27-IgM+IgD+CD19+. Kasneje, pri naslednjem imunskem odzivu proti enakemu antigenu (sekundarni odziv), limfociti B preklopijo težko verigo svojega BCR (v mIgG ali mIgA ali mIgE) – tedaj jih imenujemo preklopljeni (*angl.* switched) limfociti B.



Slika 19.1. Klonska ekspanzija limfocitov B.

Naivni limfociti B prepoznajo antigene z antigen-skimi receptorji mIgD in mIgM v primarnem limfatičnem foliklu. Antigeni, ki se vežejo na antigenske receptorje, povzročijo premreženje receptorjev, kar je signal, da limfocit B sproži sintezo receptorjev za IL-2. Če je v okolici dovolj velika koncentracija IL-2, ki ga izločajo aktivirane celice T pomagalk v neposredni bližini, se ta veže na receptorje na limfocitih B in povzroči njihovo razmnoževanje (klonsko ekspanzijo). Brez IL-2 aktivacija limfocita B ni uspešna in taka celica navadno apoptotično propade. Po prvem prepoznanju antigena limfociti B izrazijo CD27, ki je označevalnik za aktivirane/spominske limfocite B. Ob tem limfociti B izgubijo mIgD in

postanejo "zgolj mIgM pozitivni spominski limfociti B" (CD27+IgM+IgD-CD19+). Po vezavi antigena del naivnih celic B dozori v plazmatke, ki tvorijo IgM, del limfocitov B pa se preseli v sekundarni folikel in sodeluje pri nastanku germinativnega centra. V germinativnem centru limfociti B dozori v centroblaste. Centroblasti v germinativnem centru dozorevajo v centrocite. Centrociti se delno diferencirajo v spominske celice B in delno v tranzicijske limfocite B (CD38+IgM+CD19+); ti se naprej diferencirajo v plazmablaste (CD38+IgM-CD19+), ki že tvorijo protitelesa IgM. Iz teh dozori plazmatke, ki tvorijo velike količine protiteles.

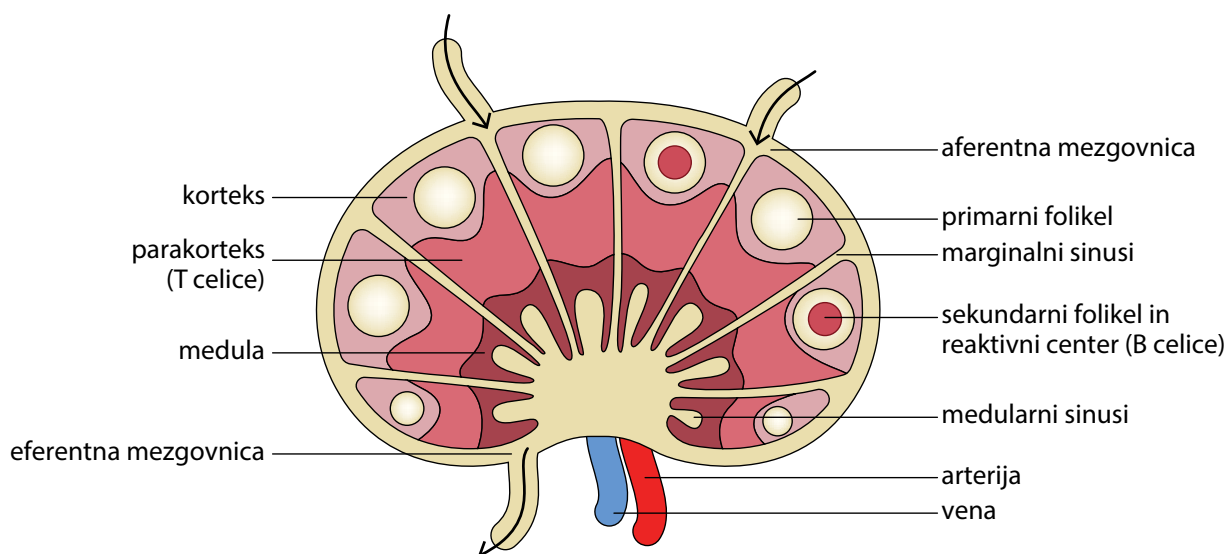


Slika 19.2. Primarni in sekundarni protitelesni odziv.

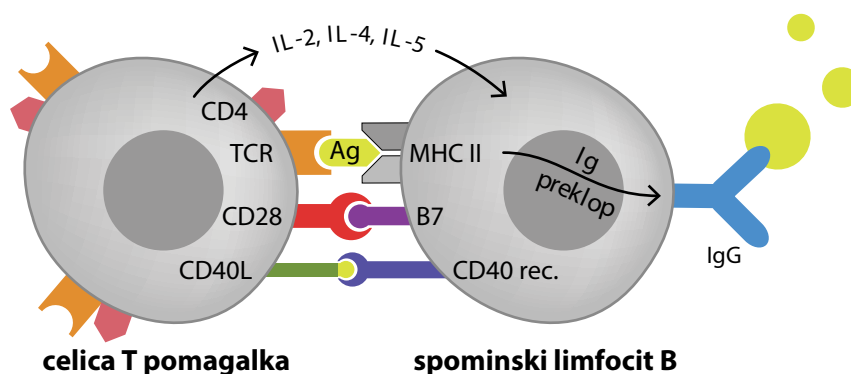
Ob ponovni aktivaciji spominskih limfocitov B (CD27+IgM+IgD-CD19+) se ob pomoči limfocitov Th sinteza imunoglobulinov razreda IgM preklopi v sintezo imunoglobulinov razreda IgG, IgA ali IgE. Proces imenujemo idiotipski preklap. Omogočijo ga aktivirane celice T pomagalka, ki se s CD40L povežejo z receptorjem CD40 limfocitov B in s tem inducirajo nastanek encimov, potrebnih za izvedbo izotipskega preklopa. Preklap je uspešen samo, če ob tem aktivirani limfociti B povečajo izražanje re-

ceptorja B7 (CD80/CD86), ki se poveže s koreceptorjem CD28 na celicah T pomagalkah. Ob tem celice Th tvorijo še citokine IL-2, IL-4, IL-5 in druge.

Po opravljenem preklapu težkih imunoglobulinskih verig nastanejo "polno preklopljeni" (*angl.* class-switched) spominski limfociti B (CD27+IgM-IgD-CD19+), ki se ob vztrajanju antigena diferencirajo v tranzicijske celice B in plazmablaste (CD38+CD19+), v bezgavkah in tkivih pa nato v plazmatke (CD38+CD19-).



Slika 19.3. Primarni in sekundarni folikli v bezgavki.



Slika 19.4. Aktivacija spominskih limfocitov B.

19.1 Folikularne dendritične celice in afinitetno dozorevanje limfocitov B

V sekundarnem foliklu je v germinativnem središču približno 1 % folikularnih dendritičnih celic (FDC), ki izpolnjujejo stromo germinativnega središča. FDC so nefagocitne celice brez lizosomov. Celično jedro je iz dveh režnjev in z lepo izraženim jedrcem, citoplazme je malo. Imajo številne podaljšane citoplazemske izrastke, ki so pogosto prepleteni z izrastki drugih FDC. Dendritični izrastki so lahko nitaste oblike, bolj zreli pa imajo bolj zrnato strukturo in so v stiku s številnimi limfociti v germinativnem središču sekundarnih foliklov. Na površini imajo izražene receptorje FcγRII (CD32), FcεRII (CD23) in receptorje za komplement CR2 (CD21) in komplement CR1 (CD35). Ti receptorji jim omogočajo uspešno lovljenje imunskih kompleksov in njihovo podaljšano zadrževanje na receptorskem mestu, ki traja mesece ali celo leta. Na ta način se imunski kompleksi antigen-protitelo predstavljajo na površini FDC. Poudariti velja, da FDC na tak način skladiščijo tudi patološko pomembne organizme in njihove razgrajene delce (retroviruse, streptokokne polisaharide skupine B, bakterijske toksine), ki služijo kot vir specifičnega antigenskega in poliklonalnega, od TLR odvisnega dražljaja za vzdrževanje humoralne imunosti.

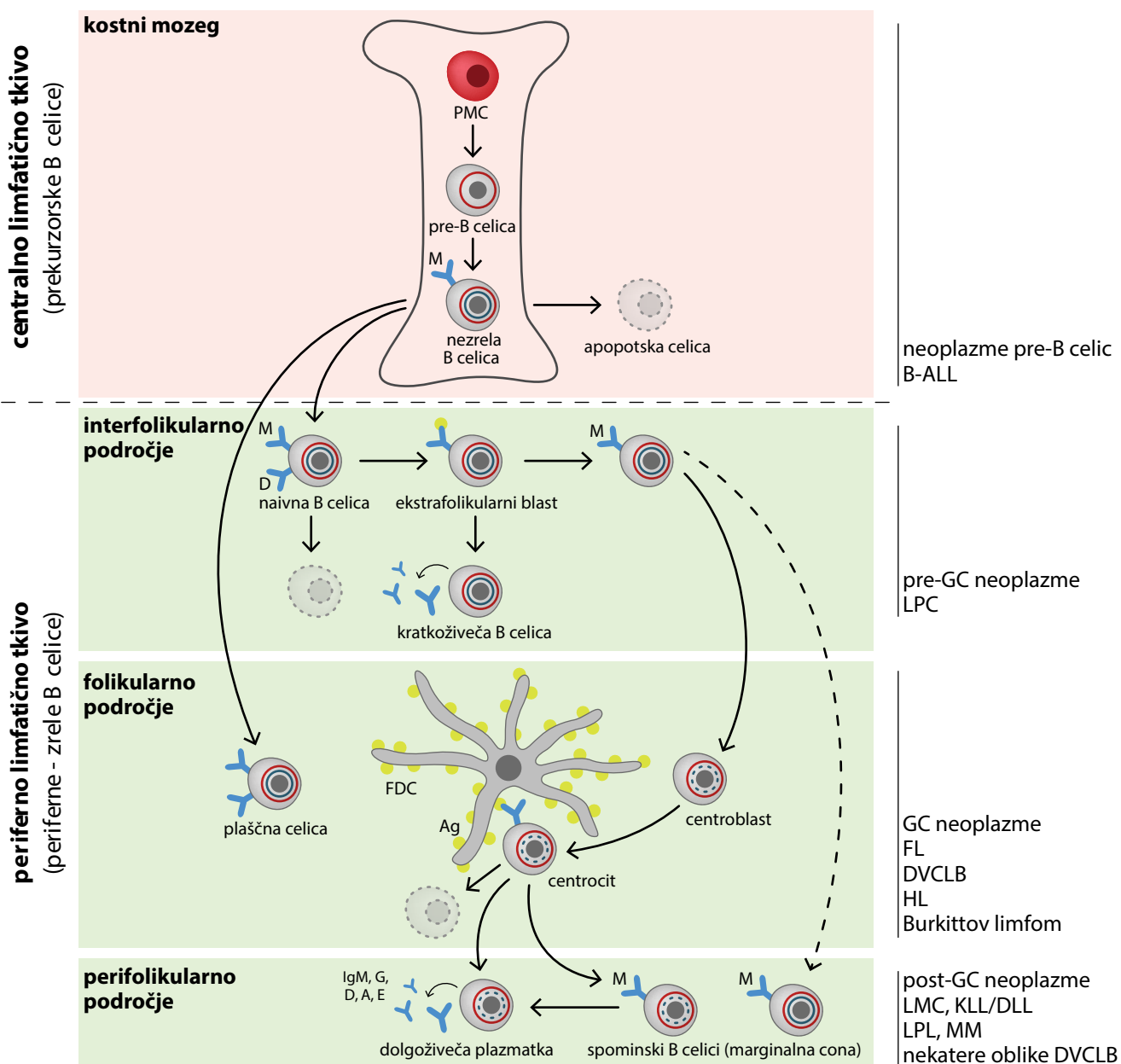
Po vezavi imunskih kompleksov na FDC v enem do treh dneh zrnata struktura njihovega celičnega podaljška, obloženega z imunskimi kompleksi, razpade. Nastanejo delci, prekrti z imunskimi kompleksi – ikosomi. V germinativnih središčih ikosome specifično (z membranskimi Ig) vežejo limfociti

B. Če limfocitu B uspe vezati antigen, ki ga ponuja FDC (antigeni so vezani na Ig, ki so predhodno nastali v fazi zunajfolikularnega odziva), lahko limfocit B internalizira antigen v svojo notrajnost in ga nato v molekulah MHC II predstavi folikularnim limfocitom Th.

Če nimajo primerne medsebojne reakcije z antigenom, številni limfociti B germinativnih središč po procesu mitoze aktivirajo apoptozo, ki ji sledi propad celice. Če celica B primerno reagira z antigenom, se na njeni površini izrazi nov Ig in celica postane odvisna od interakcij s omrežjem FDC. Interakcija ji omogoča prekinitev obstoječega endonukleaznega programa, ki v nasprotnem primeru vodi v apoptozo.

Del limfocitov se takoj diferencira v plazmablaste, ki izločajo protitelesa IgM. Običajno se sinteza od IgM preklopi na sintezo IgG, IgA ali IgE, kar je odvisno od kombinacije citokinov, ki oblivajo celico. Proces imenujemo izotipski preklap in se kaže tako, da v začetku okužbe prevladuje sinteza specifičnih protiteles IgM, pozneje pa specifičnih protiteles IgG (v serumu) ali IgA (na sluznicah). S trajanjem okužbe opazujemo tudi povečevanje povprečne afinitete specifičnih protiteles za antigen (avidnost). Vzrok za to je pozitivna selekcija limfocitov B, ki imajo najbolj afinitetne BCR za antigen. Na začetku okužbe zaradi velike količine razpoložljivega antigena na FDC in ikosomih uspešno preživijo številni kloni limfocitov B, ki z nizko ali visoko afiniteto prepoznavajo antigen. Povprečna afiniteta nastajajočih protiteles (tj. avidnost) je zato razmeroma nizka. S trajanjem okužbe zmanjkuje antigena, zato uspešno preživijo in se razmnožujejo samo limfociti B z visokoafinitetnimi protitelesi. S trajanjem okužbe avidnost narašča.

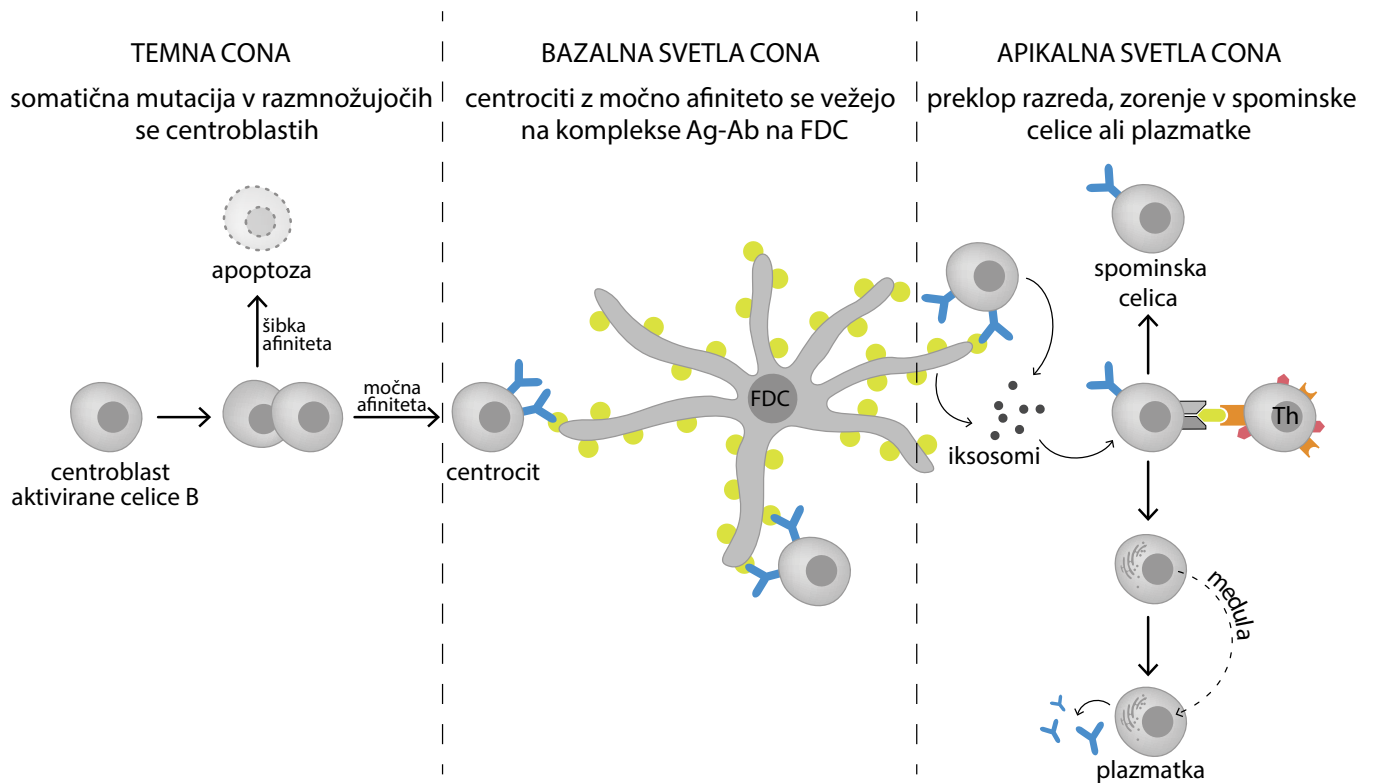
KLINIČNA TOČKA. Diferenciacija limfocitov B in nastanek B-celičnih limfomov. Iz posameznih stopenj diferenciacije limfocitov B lahko nastane maligna preobrazba. Lastnosti tako nastalih limfomskih celic so podobne dejavnosti limfocitov B na posamezni stopnji diferenciacije (tvorba citokinov in/ali protiteles, selitve v tkiva in kri). Zato je klinični potek bolezni močno odvisen od vrste (diferencijske stopnje) limfomske celice.



Slika 19.5. Prikaz diferenciacije celic B in povezava z najpogostejšimi B-celičnimi limfomi, ki nastanejo iz posameznih razvojnih stopenj kot posledica mutacij. **Legenda:** B-ALL – akutna limfoblastna levkemija B; GC – germinativni center; LPC – limfom plasičnih celic; FL – folikularni limfom; DVCLB – difuzni velikocelični limfom; HL – Hodgkinov limfom; LMC – limfom marginalne cone; KLL/DLL – kronična limfatična levkemija/drobnocelični limfocitni limfom; LPL – limfoplazmocitni limfom; MM – multipli mielom.

Somatska hipermutacija je naključni proces, ki poteče v posamezni celici B in služi kot prilagoditev na prisotne antigene. Pri somatski hipermutaciji so-

deluje encim aktivacijsko inducirana citidin deaminaza (*angl.* activation-induced cytidine deaminase, AID), ki kot odgovor na izpostavljenost antigenu



Slika 19.6. Shema folikularnega predstavljanja antigenov.

povzroča visok delež točkovnih mutacij (citozin v uracil) v prerazporejenih regijah V. Ker uracil navadno ni prisoten v DNK, so za ohranjanje integritete genoma uracilne baze odstranjene z DNK glikozilazo, nastale vrzeli pa zapolni DNK polimeraza. Somatska hipermutacija služi kot del procesa zorenja afinitete, ki celicam B omogoči proizvodnjo protiteles z višjo afiniteto do antigena. Drugi del procesa (spodujanje limfocitov z najbolj afinitetnimi BCR) nadzorujejo folikularne dendritične celice, ki imajo na svojih površinah adherirane antigene, s katerimi preverjajo afiniteto novonastalih antigen-skih vezišč limfocitov B.

Tipični sekundarni (anamnestični) imunski odziv, ki sledi ponovnemu stiku z antigenom po daljšem času, je zaradi opisanih mehanizmov hiter (v nekaj dneh) in z obilnejšo proizvodnjo protiteles. V serumu prevladuje tvorba protiteles IgG, medtem ko je avidnost protiteles za antigen mnogo večja kot pri prvem (primarnem) protitelesnem odzivu. Nastanek bolj avidnih protiteles je pomemben zato, ker so bolj učinkovita pri nevtralizaciji okužb, tj. bolj aktivirajo komplement in fagocitozo ter bolje nevtralizirajo tujke. Uspešna selekcija klonov limfocitov B s spodbujanjem najbolj afinitetnih BCR privede do ekspanzije

vedno manjšega števila klonov, ki imajo vedno večjo afiniteto protiteles za antigen. S tem se povečuje avidnost protitelesnega odziva ter zmanjšuje možnost avtoimunskih in preobčutljivostnih odzivov.

Pri številnih limfocitih B germinativnih središč, ki nimajo dovolj afinitetne reakcije z antigenom, se po procesu mitoze aktivira postopek apoptoze, čemur sledi propad celice. Če celica B primerno reagira z antigenom, se na njeni površini izrazi nov BCR in postane odvisna od interakcij z omrežjem FDC. Interakcija omogoča prekinitev obstoječega endonukleaznega programa, ki v nasprotnem primeru vodi v apoptozo. Antigensko odvisne interakcije med FDC in limfociti B zmanjšajo aktivnost kaspaze-8 in kaspaze-3, nevtralizirajo katepsin-B ter ohranijo mitohondrijski membranski potencial. Predpostavlja se tudi vloga FDC pri preprečevanju CD95 inducirajoče apoptoze. Tudi nekatere druge molekule, izražene na FDC, poleg imunskih kompleksov optimizirajo B-celični odziv. Njihove medsebojne interakcije olajšujejo povezave LFA1 z ICAM1 ter VLA4 z VCAM1. FDC v germinativnih središčih izločajo IL-6, ki pomaga pri začetnem izločanju protiteles in pospeši končno preobrazbo aktiviranih celic B.

Pomembni signali se v sekundarnih foliklih prenašajo tudi preko TNF. S tem limfociti B omogočajo razvoj in vzdrževanje fenotipa FDC v sekundarnih foliklih. Če so FDC stimulirane z limfociti B in T, sta pod njihovim vplivom opazni pospešena proliferacija in sinteza citokinov. Po fazi proliferacije in diferenciacije klona limfocitov B v sekundarnem foliklu preneha njihova stimulacija FDC, zato sekundarni folikel po približno mesecu dni razpade. Limfociti B se kot plazmatke in spominske celice sprostijo v okolico.

Tudi na mestih pojavljanja ektopičnih germinativnih središč (sinovijska membrana, žleze slinavke, koža) se levkociti zberejo okrog stromalnih celic in stopajo z njimi v stik. Vzpostavlja se mikrookolje, podobno okolju v germinativnih središčih v limfatičnem tkivu. Na koncu imunskega odziva levkociti propadejo z apoptozo, saj nimajo več signalov stromalnih celic, ki bi apoptozo preprečevali. Na novo izoblikovana ektopična germinativna središča potrebujejo za odgovor na lokalne vnetne signale razvoj FDC. Zelo verjetno se FDC izoblikujejo iz fibroblastov vnetnega tkiva, saj imata obe strukturi nekatere enake površinske molekule (ICAM-1, VCAM-1, 1B10 in 3C8).

19.2 Protitelesni odziv na polisaharidne antigene

Kemijsko gledano so antigeni lahko proteini (beljakovine), ogljikovi hidrati (polisaharidi) ali lipidi in nukleinske kisline, ki so lahko antigen samo takrat, ko so vezane s proteini ali polisaharidi. Majhne mo-

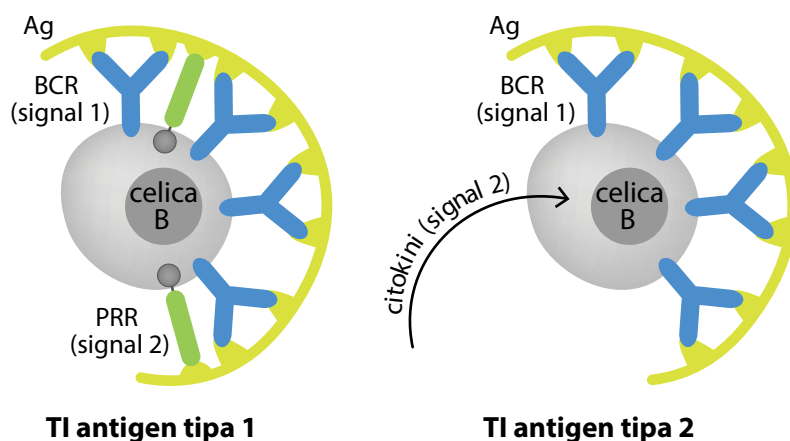
lekule neproteinskih antigenov same po sebi ne morejo izzvati imunskega odziva.

Proteinske antigene glede na način odzivanja uvrščamo med antigene, odvisne od limfocitov T, ali TD-antigene (*angl.* T-lymphocyte-dependent antigens). Ker lahko polisaharidni antigeni aktivirajo specifične limfocite B tudi brez posredovanja limfocitov T, jih imenujemo tudi antigeni, neodvisni od limfocitov T, ali TI-antigeni (*angl.* T-lymphocyte-independent antigens).

Pot odzivanja proti proteinskim antigenom poteka preko antigen predstavitevni celic, ki antigen fagocitirajo, migrirajo v limfatična tkiva (bezgavke) in antigen predstavljajo limfocitom T pomagalkam. Te z izločanjem citokinov in klonsko ekspanzijo omogočijo razmnoževanje aktiviranih limfocitov B (primerni protitelesni odziv), hkrati pa se tudi razmnožijo v spominske celice Th, kar ob naslednjih okužbah povzroči zelo hiter in intenziven imunski odziv. TD-antigeni zato ustvarijo dolgotrajen (spominski) imunski odziv, nastala protitelesa pa imajo zaradi afinitetnega dozorevanja v sekundarnih limfatičnih foliklih visoko afiniteto do antigenov, medtem ko se protitelesni odziv ob ponovni okužbi tudi preklopi iz IgN na ustrezen razred protiteles (IgA, IgM, IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3).

Polisaharidni antigeni so večinoma zmožni aktivirati limfocite B in nastanek protiteles brez udeležbe limfocitov Th. Glede na interakcije z limfociti B TI razdelimo na antigene tipa 1 in na antigene tipa 2.

Antigeni tipa 1 so bakterijski polisaharidi, ki se vežejo s specifičnimi BCR (signal 1) in hkrati na receptorje limfocitov B (npr. PRR), ki aktivirajo nji-



topni antigeni - signal 1
vodi v anergijo v
odsotnosti signala 2

Slika 19.7. Vezava polisaharidnih antigenov na limfocite B.

hovo razmnoževanje (mitogeni polisaharidi, signal 2). Primer je bakterijski lipopolisaharid (LPS).

Antigeni tipa 2 so linearni polisaharidi z veliko molekulsko maso, ki so odporni proti razgradnji v fagocitih (npr. deli bakterijskih kapsul). Ti polisaharidi imajo ponavljajoče se epitope, ki se križno povežejo z BCR ter povzročijo razmnoževanje in diferenciacijo. Čeprav je aktivacija neodvisna od limfocitov T, jo lahko citokini, proizvedeni iz celic T, močno pospešijo. Rezultat vezave je nastanek specifičnih protipolisaharidnih protiteles.

Pot odzivanja proti polisaharidnim antigenom poteka preko vezave na membranske receptorje čistilce (*angl.* scavenger) tkivnih makrofagov, ki polisaharide занesejo v marginalno cono vranice, redkeje bezgavk. Aktivacija makrofagov omogoči tudi aktivacijo specifičnih limfocitov B v marginalni coni. V tednu dni se diferencirajo v plazmatke ter tvorijo nizkoafinitetna protitelesa IgM in v manjši meri protitelesa IgG. Nizkoafinitetna protitelesa nastajajo zato, ker pri polisaharidnih proces afinitetnega dozorevanja ne poteka v sekundarnih limfatičnih foliklih. Hkrati tudi ne nastaja imunski spomin, ki je pri proteinskih antigenih odvisen od razmnoženih spominskih celic Th.

Manjše pridobivanje afinitete, ki npr. nastane po cepljenju s polisaharidnimi antigeni, se zgodi zaradi recirkulacije spominskih limfocitov B (IgM+, IgD+, CD27+) v kri in v marginalno cono vranice, kjer poteka določena stopnja hipermutacije in selekcije spominskih limfocitov B.

Zaradi opisanih lastnosti imunskega odziva na polisaharide so polisaharidna cepiva slabo imunogena pri otrocih s še nerazvito vranico marginalno cono in tudi pri ljudeh z odstranjeno vranico. Po nastanku plazmatk se slednje iz marginalne cone preselijo v rdečo pulpo vranice in v nekaj tednih odmrejo. Temu ustrezno po nekaj mesecih ugasne tudi protitelesni odziv. Imunski odziv se ob naslednjem stiku z enakim polisaharidnim antigenom odzove enako, kot bi šlo za prvi stik (brez imunskega spomina).

19.3 Efektorske funkcije protiteles

Protitelesa razredov IgG in IgM se po nastanku razporedijo v zunajceličnih tekočinah. S specifičnimi

vezišči se povežejo s tujki (antigeni). Nastanek kompleksa antigen-protitelo (imunski kompleks – skupek) ima različne fiziološke učinke, ki prispevajo k odstranitvi tujka iz telesa in izničenju njegovega patološkega učinkovanja na organizem.

Fiziološki učinki vezave protiteles na antigene so trije.

- 1) Nevtralizacija. Včasih protitelo že samo z vezavo na antigen izniči njegove patološke učinke. Veza na molekule toksinov (npr. difterijski toksin) prepreči vezavo toksina na celice in s tem toksično delovanje. Vezava IgG na virusne delce prepreči njihovo širjenje na neokužene celice.
- 2) Oponizacija. Protitelo ob vezavi na tujek spremeni konformacijo tako, da se na njegov del Fc vežejo fagocitne celice s svojimi receptorji Fc (zlasti nevtrofilci). Fagocitne celice po tej vezavi fagocitirajo celoten imunski kompleks, tj. skupek, in tako odstranijo tujek.
- 3) Aktivacija komplementa. Protitelo ob vezavi na antigen spremeni konformacijo tako, da z delom Fc sproži kaskadno aktivacijo proteinov komplementnega sistema (klasična pot). Posledica je nastanek litičnega kompleksa (*angl.* membrane attack complex, MAC), ki poškoduje mikrobo celico. Aktivirani proteini komplementa in njihovi odlomki tudi okrepijo vnetno reakcijo in pospešijo prihod celic vnetnic v vnetišče (kemotaksa).

Protitelesa razreda IgA1 se nahajajo pretežno v serumu, protitelesa razreda IgA2 pa prevladujejo v izločkih sluznic, kot sta črevesna in dihalna sluz. Poglavitna funkcijska razlika med IgA in preostalimi protitelesi, ki prevladujejo v krvi (tj. IgG in IgM) je, da oba aktivirata vnetne dejavnike (proteine komplementa, fagocitne celice), medtem ko IgA veže tuje molekule na površini sluznic in oteži njihov vdor vanje. IgA v krvi veže tuje molekule in omogoča njihov prenos skozi jetrne celice v žolč. S tem je poskrbljeno, da se imunski sistem ne odzove z vnetno reakcijo na antigene, ki pridejo v telo s hrano in z vdihanim zrakom, sicer bi prišlo do vnetja sluznic in okvare njihovega delovanja.

Protitelesa razreda IgE prav tako ne aktivirajo komplementa. Krvna plazma vsebuje izredno maj-

hen delež IgE, saj je skoraj v celoti vezan na bazofilce in mastocite. IgE izločajo predvsem plazmatke v sluznici črevesa in sluznici dihal. Pri alergijah in parazitskih boleznih je za aktivnost IgE bistvena njegova zmožnost, da se veže na receptor Fc za IgE (na bazofilcih v krvi in mastocitih v sluznicah in koži ter na eozinofilcih). Ko se na celično površino vezane molekule IgE vežejo še ustrezni antigeni, se celice aktivirajo in sproščajo vnetne mediatorje (z IgE posredovana alergijska reakcija oz. preobčutljivost tipa 1 po stari nomenklaturi). Protiteles razreda IgD je v plazmi zelo malo, veliko pa jih je na limfocitih B, na katerih se pojavijo v obdobju zorenja in so sestavni del receptorja za antigen (mIgD).

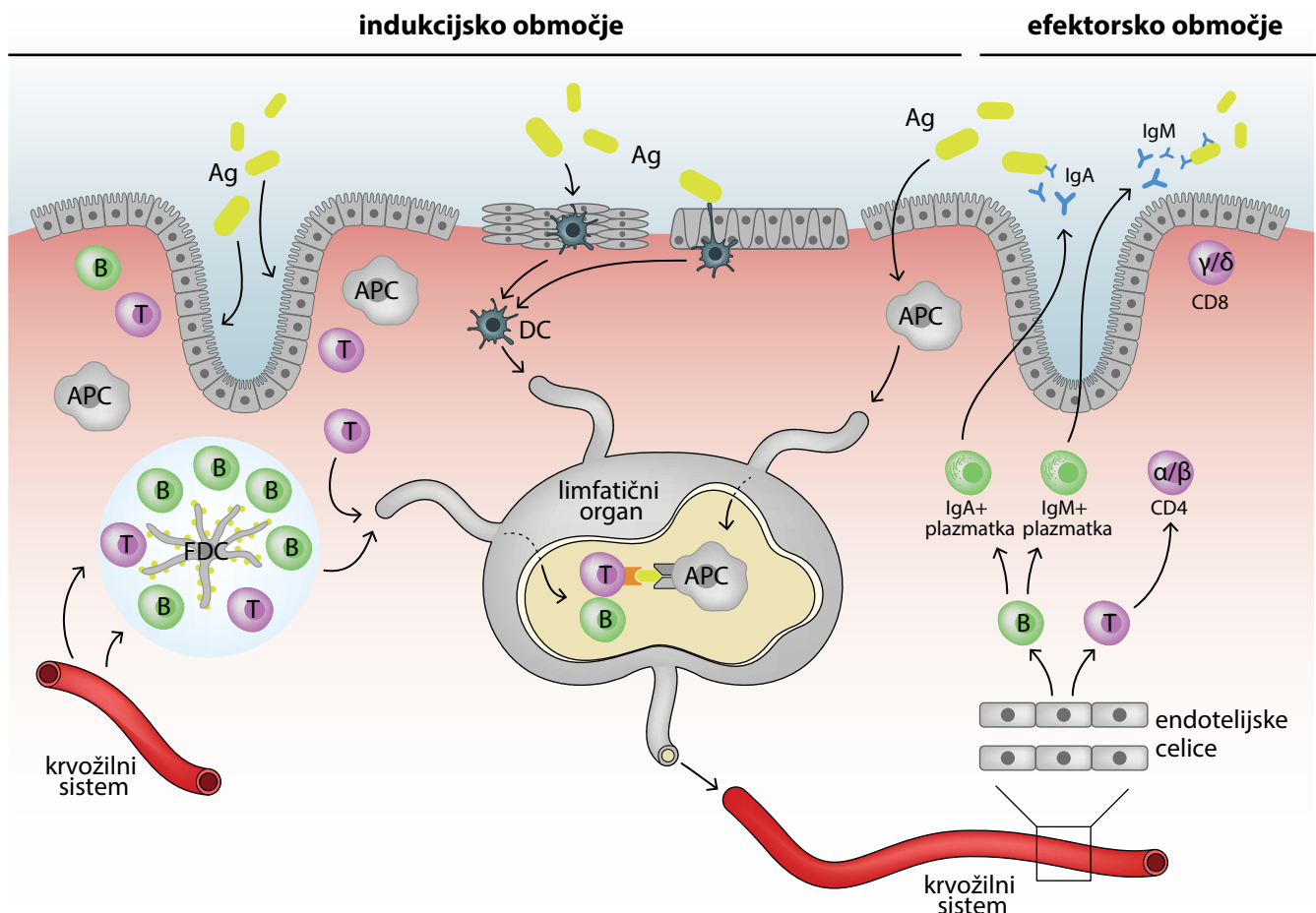
19.4 Oblikovanje imunskega odziva v limfatičnih tkivih sluznic

Organizacija imunskega sistema se v posameznih vrstah sluznic razlikuje glede na različne naloge,

ki jih opravljajo. Imunski sistem sluznic sestavlja limfatično tkivo sluzničnih površin (*angl.* mucosa-associated lymphoid tissue, MALT), in sicer črevesa (*angl.* gut-associated lymphoid tissue, GALT), dihal (*angl.* bronchus-associated lymphoid tissue, BALT), nazofarinksa (*angl.* nasopharynx-associated lymphoid tissue, NALT), sečil, mlečnih žlez in žlez slinavk.

MALT je največje limfatično tkivo pri sesalcih, saj obsegajo približno 80 % imunskih celic. Morfološko in funkcionalno ga sestavljata 1) organizirani del, zgrajen iz folikularnega limfoidnega tkiva, v katerem se odvija začetna (indukcijska) faza imunskega odziva, in 2) difuzni del iz efektorskih belih krvnih celic, ki so razporejene med epitelnimi celicami in lamino proprijo sluznice.

Organizirani del mukoznega imunskega sistema. Organizirane sluznične limfatične folikle v tankem črevesu imenujemo Peyerjeve plošče (PP). Morfološko in funkcionalno podobnih foliklov je največ v slepem črevesu (apendiksu), v manjšem



Slika 19.8. Organizacija MALT.

številu pa so razporejeni tudi po preostalem črevesu in v dihalih. V središču sluzničnih foliklov so področja limfocitov B, v katerih so germinativna središča (kjer potekata aktivacija in razmnoževanje limfocitov B). Folikle obdaja pas parafolikularnega območja z limfociti T. Tam so številne venule z visokim endotelom, ki omogoča migracijo imunskih celic iz krvi. PP nimajo aferentnih limfnih žil, antigeni pa prihajajo neposredno iz svetline črevesa.

Folikularno limfatično tkivo črevesa od črevesne svetline ločuje epitelna plast, v kateri so celice M (*angl.* microfold). Pod epitelom je območje difuzno razporejenih imunskih celic – subepitelna kupola. Celice M prenašajo makromolekule in mikroorganizme iz črevesne svetline v Peyerjeve plošče in se diferencirajo iz enterocitov pod vplivom membransko vezanega limfotoksina $\alpha 1\beta 2$, ki je prisoten v lokalnih limfoidnih celicah (predvsem v celicah B). V primerjavi z epitelnimi celicami so bolj sploščene ter z značilnim tankim glikokaliksom in s citoplazmo, bogato s pinocitotičnimi mešički, a brez proteolitične ureditve, ki je značilna za absorptivne epitelne celice.

Antigeni, ki jih zaužijemo, v največjem delu presstopajo črevesno sluznico, od koder jih limfa zanese v mezenterične bezgavke. V njih nato aktivirani limfociti migrirajo v črevesno lamino proprijo. Limfociti, ki se aktivirajo v Peyerjevih ploščah, lahko prav tako migrirajo v lamino proprijo ali v mezenterične bezgavke in od tam v sistemski krvni obtok.

Difuzni del mukoznega imunskega sistema. Efektorske imunske celice sluznice so difuzno razpršene po epitelu in lamini propriji. Intraepitelni limfociti (*angl.* intraepithelial lymphocytes, IEL) so pretežno (80 %) citotoksični limfociti T (CD8), manjši del (5–15 %) pa celice T pomagalk. Med limfociti T je velik delež z izraženim $\gamma\delta$ +TCR. IEL so pomembni za vzdrževanje mukozne tolerance in tudi obrambnih imunskih odzivov (citotoksičnost). Značilnost IEL so TCR ($\alpha\beta$ in $\delta\gamma$) z omejeno variabilnostjo receptorjev za antigen, ki jim omogočajo vezavo širšega nabora antigenov, zlasti črevesnih bakterij.

Lamina proprija vsebuje limfocite T, ki so v večini (60–70 %) spominske celice T pomagalk (Th) z $\alpha\beta$ TCR (95 %). Celice Th tvorijo citokine (IFN- γ , IL-4 in IL-10), medtem ko imajo citotoksične celi-

ce T v lamini propriji izrazito citotoksičnost, tj. so protimikrobne efektorske celice. V lamini propriji je tudi veliko celic Treg, ki vzdržujejo toleranco do tujih antigenov v črevesu. V lamini propriji so močno prisotni tudi aktivirani limfociti B in plazmatke pa tudi makrofagi, eozinofili in mastociti. Približno 80 % plazmatk tvori IgA.

Prehod antigenov skozi epitel in imunski odziv

Črevesna sluznica je zaradi svoje strukture (epitelne celice, povezane s tesnimi stiki in prekrte z vsaj 50 μ m debelo gosto sluzjo) neprepustna za večino tujih snovi – antigenov. Pač pa je za organiziran zajem antigenov in njihov transport do imunskih celic v Peyerjevih ploščah vzpostavljen specializiran transportni sistem. Celice M imajo na površini kratke resice, na katere se adherirajo mikrobi. Bazolateralno imajo celice M globoko invaginacijo ali žep, napolnjen z limfociti in mononuklearnimi fagociti. Med limfociti prevladujejo spominske celice T pomagalk, med limfociti B pa je večina naivnih in z izrazito izraženim MHC II, ki omogoča predstavlanje endocitiranih antigenov. Celice M vežejo in zajemajo antigen s pinocitozo, nato pa pinocitotične mehurčke transportirajo do bazolateralnih invaginacij, kjer sprostijo nerazgrajen material v subepitelno področje. Antigene po izstopu iz celic M zajamejo makrofagi ali dendritične celice ter jih predstavijo limfocitom T v parafolikularnih regijah in limfocitom B v foliklih. Glede na vrsto in kostimulacijske molekule dendritičnih celic lahko njihova interakcija s celicami T pomagalkami vodi do izločanja IL-2 in aktivacije imunskega odziva ali vzpostavitve anergije in s tem tolerance, če naivne celice T pomagalk ob aktivaciji TCR nimajo ustrezne kostimulacije.

V črevesni sluznici se limfociti B ob aktivaciji večinoma diferencirajo v IgA-izdelujoče celice, ki se nato preselijo v lamino proprijo. Preklop k izdelovanju izotipa IgA stimulirata zlasti citokina TGF- β in IL-5, ki ju tvorijo sluznični limfociti B in tudi nelimfoidne stromalne celice. V takšnem citokinskem okolju nato dendritične celice in celice T pomagalk favorizirajo preklop imunoglobulinske sinteze v IgA. Nato limfociti B potujejo v germinativna središča Peyerjevih plošč, kjer se začnejo razmnoževa-

ti, ob tem pa povečana pogostost somatičnih mutacij v območju imunoglobulinskih genov privede do afinitnega zorenja protiteles. IgA izdelujoče celice lahko ostanejo v lamini propriji ali potujejo v druga limfatična tkiva ali limfatične organe.

Plazmatke, ki nastanejo z diferenciacijo limfocitov B, lahko tvorijo serumski IgA, ki je monomer brez verige J, v sluznici pa plazmatke tvorijo sekretijski dimer IgA, povezan z verigo J, ki se sintetizira in izloča skupaj z dimerom IgA. Ko se sekretijski dimer izloči v lamino proprijo, ga vežejo epitelne celice z receptorjem poli-Ig (pIgR), ki prenese dimer IgA skozi epitelno celico. Epitelni pIgR lahko prenaša v črevesno sluz tudi protitelesa IgM.

Črevesne vsebine pa ne vzorčijo samo celice M, ampak tudi dendritične celice, ki podaljšajo svoje izrastke, s katerimi prodirajo med črevesne epitelne celice in preko epitelnih tesnih stikov v črevesno svetlino ter na ta način vzorčijo črevesno vsebino. Bolj učinkovito vzorčenje s celicami M omogoča imunski odziv na antigene, ki so v črevesu v majhnih koncentracijah, medtem ko je vzorčenje z izrastki DC, ki segajo v črevesno svetlino, manj učinkovito in povzroči imunski odziv samo pri večjih koncentracijah antigenov v črevesni vsebini.

Na prehod snovi skozi črevesni epitel vplivajo topni mediatorji, zlasti vnetni citokini, ki povečujejo prepustnost (IL-4, IL-13, TNF in IFN- γ), medtem ko nekateri citokini okrepijo nastajanje pregrade (TGF- β in IL-15). Antigen lahko v določenih okoliščinah prehaja črevesno pregrado tudi paracelično do bazolateralnih površin črevesnih epitelnih celic, makrofagov in DC. Črevesne epitelne celice imajo tudi receptorje PRR, ki so lahko pretirano vzdraženi, ko konstitucija pregrade ni optimalna (tanka plast sluzi, slabo zaprti tesni stiki). Izražanje molekul MHC II na površini epitelnih celic je navadno neznamno, v patoloških razmerah pa lahko močno povečano (npr. pri Crohnovi bolezni). S to boleznijo je povezano tudi (pre)veliko izražanje receptorjev NOD1 ali NOD2 v epitelnih celicah.

19.5 Sluznična toleranca

Stanje imunske neodzivnosti, izzvano na sluznicah, je sluznična toleranca. Nastaja z mehanizmi klonske anergije in klonske delecije limfocitov T ter z nastankom specifičnih regulatornih limfocitov T, ki specifično zavirajo antigenske odzive. Inhibicija antigensko specifičnega imunskega odziva je pomembna za preprečevanje premočnega odziva na pogoste antigene, s čimer preprečuje pojav preobčutljivosti na živila in kronične vnetne odzive proti nenevarnim tujkom, npr. sluznični mikrobioti.

Sluznično toleranco omogočajo v prvi vrsti limfociti T. Njihova aktivacija z antigeni poteka v mezenteričnih bezgavkah, ki so križišče med sluzničnim in sistemskim imunskim odzivom. Iz bezgavk nato diferencirani spominski limfociti T migrirajo v sluznico. Zaradi stika sluzničnega in sistema imunskega odziva lahko v mezenteričnih bezgavkah nastane sistemska toleranca na antigen, potem ko smo ga izpostavili na sluznicah (npr. pri desenzibilizaciji).

Za nastanek tolerance za lastne proteine ali za neškodljive antigene črevesne vsebine je pomembna podvrsta dendritičnih celic v GALT, ki obsega apoptotske ostanke epitelnih celic in jih prenese v T-celična področja mezenteričnih bezgavk. Ob odsotnosti vnetja je v tem primeru antigen predstavljen na način, ki izzove tolerančno reakcijo.

Ker je ustna sluznica prvo mesto stika prehranskih antigenov z imunskim sistemom, mehanizmi ustne (oralne) tolerance pomembno vplivajo na nastanek alergij in drugih motenj imunskega odzivanja, vključno z avtoimunostjo. Način vzpostavljanja ustne tolerance je odvisen od odmerka antigena. Visoki odmerki antigena povzročijo nastanek anergije/delecije reaktivnih limfocitov. Pri nizkih odmerkih antigena nastaja toleranca s posredovanjem dendritičnih celic, ki usmerijo diferenciacijo naivnih celic T pomagalk v regulatorne celice Treg, med katerimi so za nastanek ustne tolerance posebej pomembne Th3 Treg, ki tvorijo citokin TGF- β in na površini izražajo z latenco povezan peptid (*angl.* latency-associated peptide, LAP).

•

Upravljanje imunskih odzivov je izjemno kompleksno, saj pri vsakem hkrati sodelujejo številni mediatorji, imunske in druge tkivne celice ter hormonske in živčne povratne zanke – vse z namenom, da imunski odziv učinkovito zameji okužbo. Dolgotrajno tkivno vnetje pri neučinkovitem ali slabo uravnanem imunskem odzivu privede do brazgotinjenja tkiv in nepovratnih poškodb njihovega delovanja (npr. ciroza jeter, pljučni emfizem, atrofija želodčne sluznice). Kompleksnosti uravnavanja imunskih odzivov ni mogoče razumeti brez poznavanja posameznih elementov imunskega sistema (celic, receptorjev, mediatorjev, tkiv in organov), po drugi strani pa tudi vloge posameznih elementov ni mogoče razumeti brez pogleda na celoto. Zato je učenje imunologije velik izziv. In zato imunološki učbeniki pogosto uporabljajo večstopenjsko opisovanje – uvodni opisi imunskega sistema se v več stopnjah nadgrajujejo in »ponavljajo« isto imunološko zgodbo na vedno višji stopnji razumevanja podrobnosti in celote. Na tak način sem skušal opisovati imunski sistem tudi v tej knjigi.

•

ISBN 978-961-950911-1-1



9 789619 509111