

OBRAMBA ORGANIZMA PRED MIKROBI

Doc.dr. Tadej Malovrh

Poleg nepatogenih mikrobov nas obdaja tudi veliko število patogenih mikrobov. Večina med njimi povzroči pri zdravih osebkih bolezni, ki ne pusti opaznejših posledic. Za takšen potek bolezni je v veliki meri odgovoren obrambni sistem gostitelja. V prvi vrsti predstavlja učinkovito zaščito pred mikrobi zunanja obramba, to sta nepoškodovana koža in sluznice s svojimi izločki. Tako obstaja le malo vrst mikrobov, ki lahko neposredno preidejo kožo, pogostejši pa so mikrobi, ki prehajajo epitel gastrointestinalnega in urogenitalnega trakta, nazofarinksa in pljuč. Le nekaj mikroorganizmov je, ki morajo za okužbo gostitelja preiti anatomske in fiziološke bariere, ali pa morajo neposredno vstopiti v krvni obtok. Mednje prištevamo, poleg *Plasmodium sp.* in virusa hepatitisa B, vsekakor tudi *B. burgdorferi s.l.*

Kateri element obrambnega sistema gostitelja bo najučinkoviteje deloval ob okužbi, je precej odvisno od mesta vstopa, vrste in števila mikroorganizmov. Z vidika obrambe je pomembno razlikovanje mikroorganizmov na tiste, ki okužijo in se razmnožujejo v gostiteljevih celicah ter na tiste, ki živijo zunaj njih. Vsi virusi, nekatere bakterije in praživali parazitirajo znotraj celic, za njihovo odstranitev pa mora gostitelj prepoznati in uničiti okužene celice. Večina bakterij in večceličnih parazitov pa živi v tkivih izven celic ali v telesnih tekočinah, zato mora biti gostiteljeva obramba uperjena neposredno proti njim.

Obrambo gostitelja delimo na prirojeno ali **naravno odpornost**, ki je osnovna obramba pred mikroorganizmi, in pridobljeno obrambo ali **imunost**, ki se kaže z dejavnostjo imunskega sistema. Naravna odpornost predstavlja prvo vrsto nespecifične zaščite pred patogenimi mikrobi.

Patogeni mikrobi, ki so prešli nespecifično obrambo, pa se nadalje srečajo z učinkovitejšim imunskim odzivom.

IMUNSKI SISTEM

Imunski sistem sestavlja več strukturno in funkcijsko različnih organov in tkiv, ki so razporejeni po različnih delih telesa. Organi so bodisi samostojni, obdani s kapsulo, ali pa se nahajajo kot skupki difuznega limfatičnega tkiva. Glede na funkcijo jih delimo na **primarne limfatične organe**, ki nudijo primerno mikrookolje za razvoj naivnih limfocitov, ter na **sekundarne limfatične organe**, kjer se imunsko zmožni limfociti srečajo z antigeni. Limfne žile in krvožilni sistem povezujejo limfatične organe v učinkovito celoto.

PRIMARNI LIMFATIČNI ORGANI

V primarnih ali centralnih limfatičnih organih se limfociti diferencirajo iz matičnih limfoidnih celic v zrele, imunsko zmožne celice. Pri sesalcih zorijo limfociti T v **timusu**, limfociti B pa v **plodovih jetrih** in po rojstvu v **kostnem mozgu**. V primarnih limfatičnih organih pridobijo limfociti specifične antigenske receptorje, ki jim kasneje omogočijo specifično prepoznavo antigena in posledično aktivacijo. Med zorenjem se v primarnih limfatičnih organih razvije tudi toleranca limfocitov za lastne antigene, poleg tega pa se v timusu limfociti T "naučijo" prepoznavati lastne molekule MHC (Major Histocompatibility Complex).

SEKUNDARNI LIMFATIČNI ORGANI

Iz primarnih limfatičnih organov migrirajo zreli limfociti B in T v sekundarne ali periferne limfatične organe. Tu je zagotovljeno primerno okolje, v katerem se zreli limfociti srečajo z antigeni, kjer lahko kontaktirajo med seboj in kjer jim je omogočen stik s pomožnimi celicami imunskega sistema. V sekundarnih limfatičnih organih se torej razvije imunski odziv za določen antigen. Pri tem je neobhodno potrebno sodelovanje makrofagov, antigen predstavitvenih celic in seveda imunske zmožnih limfocitov B in T. Med sekundarne limfatične organe štejemo **bezgavke**, dobro organizirane limfatične strukture obdane s kapsulo, ki prestrezajo antigene s površinskih in notranjih delov telesa. Bezgavke so ledvičaste oblike, vanje priteka limfa po več aferentnih limfnih žilah, ki so na obodu bezgavke, v hilus pa vstopa arterija in izstopa vena ter eferentna limfna žila, ki je nadaljevanje centralne medule, bogate z limfociti B in T, plazmatkami in makrofagi. Medulo obdaja parakorteks (T celično področje), kjer najdemo limfocite T in mnoge antigen predstavitvene celice (dendritične celice), v korteksu pa B celično področje, kjer najdemo skupke limfocitov B, imenovane primarni in sekundarni limfni vozlički. V antigensko spodbujenih bezgavkah so v sekundarnih vozličkih germinalni centri, kjer se nahajajo folikularne dendritične celice, posamezni makrofagi in celice T pomagalk. Tako B celično področje predstavlja mesto, kjer se razvije protitelesni imunski odziv, germinalni center pa mesto za razvoj B celičnega spomina. **Vranica** je največji, s kapsulo obdani limfatični organ, ki filtrira in odstranjuje antigene iz krvi, s tem pa preprečuje sistemsko okužbo organizma. Sestavljata jo rdeča in bela pulpa. Belo pulpo predstavljajo limfocitni ovoji okoli centralnih arteriol, kjer najdemo področja bogata z limfociti T in B; limfociti B so v beli pulpi organizirani podobno kot v bezgavkah. V germinalnih centrih sekundarnih vozličev se nahajajo makrofagi in subpopulacija limfocitov B, ki neposredno, brez pomoči celic CD4⁺ prepozna antigene (t.i. od timusa neodvisni antigeni, kemično so to polisaharidi), zato je posledica odstranitve vranice pri bolnikih pomanjkljiv imunski odziv za polisaharidne antigene in posledično pogost pojav

bakterijske sepe, povzročene s *Streptococcus pneumoniae*. Sekundarni limfatični organ z difuzno organizirano strukuro, predstavlja **limfatično tkivo črevesja**. Sestavljajo ga tonzile, slepič in Pajerjeve plošče, prestreza pa antigene iz prebavnega trakta.

CELICE IMUNKEGA SISTEMA

Limfoidne celice

Limfociti so osrednje celice imunskega sistema, odgovorne za nastanek imunosti. Njihove poglavitne lastnosti so razločevanje med lastnim in tujim, razvoj specifične obrambe in sposobnost ustvarjanja imunskega spomina. Limfociti krožijo po krvi in limfi in so sposobni migrirati v tkiva in limfatične organe. Predstavljajo 20-40 % vseh belih krvnih celic v telesu. Glede na funkcijo in izražanje molekul na njihovi membrani jih delimo v tri skupine: limfocite B, limfocite T in celice 0. Morfološko lahko te celice ločimo med seboj le po velikosti in granuliranosti. Limfocite, velike 6 μ , s komaj opazno citoplazmo imenujemo male mirujoče limfocite, celice, ki se povečajo do velikosti 15 μ , pa imenujemo limfoblasti. Limfoblasti imajo več citoplazme in organel kot mali limfociti, po nadaljni proliferaciji pa se lahko diferencirajo v efektorske ali spominske celice.

Zreli **limfociti B** predstavljajo 5-15 % vseh limfocitov v krvi. Na svoji površini izražajo imunoglobuline ter molekule MHC II; večina človeških limfocitov B izraža IgM in IgD molekule, ki služijo kot B celični receptorji za antigen. Z vezavo antigena na specifični receptor se prenese signal v celico in prične se celična aktivacija. Antigeni, vezani na imunoglobulinske molekule sprožijo tudi receptorsko endocitozo, s katero se antigen dostavi v celico do mest za njihovo razgradnjo in nadaljno predstavitev v sklopu molekul MHC II. Antigen, predstavljen v sklopu molekule MHC II, tako prepozna celica T pomagalka, ki s svojimi izločki spodbudi limfocite B, da se začno klonsko razmnoževati in diferencirati, bodisi v efektorske celice-

plazmatke ali spominske limfocite B. Polisaharidni antigeni limfocite B aktivirajo neposredno, s samo vezavo na B celični receptor, vendar se pri tem ne razvije imunski spomin za antigen. Limfociti B so pomembni za predstavljanje antigena, po njihovi aktivaciji in diferenciaciji v plazmatke in spominske celice pa za izločanje protiteles in zagotavljanje imunskega spomina. Poleg imunoglobulinov izražajo na svoji površini še za limfocite B specifične molekule CD19, CD20, CD21, CD40, CD72, in CD78, ki služijo za njihovo prepoznavanje.

V plevralni in peritonealni votlini se nahaja subpopulacija limfocitov B, **CD5⁺ limfociti B** (B-1 celice), ki na svoji površini izražajo le površinske receptorje IgM in beljakovino CD5. Pri protitelesnem imunskem odzivu na beljakovinske antigene limfociti B CD5⁺ nimajo pomembne vloge, pomembno pa pripomorejo pri obrambi pred bakterijami s tvorbo protiteles razreda IgM, specifičnih za polisaharidne antigene.

Limfociti T predstavljajo 60-85 % limfocitov v periferni krvi pri človeku. Tako kot limfociti B izražajo tudi limfociti T na svoji membrani receptorje za antigene. T-celični receptor lahko prepozna le antigen, ki je predstavljen v sklopu molekul MHC bodisi na antigen predstavitevni celici, na lastnih tumorsko spremenjenih celicah ali celicah okuženih z virusom in na celicah presadka. Prav način prepoznavanja antigenov, ko so limfociti B zmožni prepoznati topne antigene, limfociti T pa antigene, ki so predstavljeni v sklopu molekul MHC na lastnih celicah, deli imunost na dve glavni veji, humoralno in celično imunost. Limfociti T izražajo na svoji površini različne membranske molekule. Poglavitne so CD2, CD3, CD4 in CD8. Glede na izražanje molekul CD4 in CD8 razdelimo limfocite T v dve funkcionalni subpopulaciji. Celice **T pomagalke (CD4⁺)** izražajo molekule CD4, njihovo prepoznavanje antigenov in posledična aktivacija je povezana s kompleksom antigen - molekula MHC II. Po aktivaciji se celice T pomagalke klonsko množijo, nato pa se diferencirajo v efektorske celice in spominske celice. Efektorske celice T pomagalke izločajo različne

citokine, ki imajo osrednjo vlogo pri aktivaciji limfocitov B, citotoksičnih limfocitov T ter pri aktivaciji drugih celic vključenih v imunski odziv. Glede na vrsto citokinov, ki jih izločajo $CD4^{+}$ celice, jih razdelimo na celice **Th1** in **Th2**. Citokine IFN- γ , TNF- β in IL-2 sintetizirajo celice Th1 in aktivirajo pretežno citotoksične celice T ter makrofage, kar je tesno povezano s celično imunostjo. Celice Th2 izločajo IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 in IL-13 in aktivirajo limfocite B in vplivajo na potitelesni imunski odziv. **Citotoksični limfociti T ($CD8^{+}$)** izražajo na membrani molekule CD8, prepoznavanje antigenov in njihova aktivacija pa je omejena na sklop antigen-molekula MHC I na lastnih celicah telesa. Aktivirane celice se tako po prepoznavi antigena diferencirajo v efektorske celice, ki ubijajo in odstranjujejo spremenjene in okužene lastne celice, izločajo pa le malo citokinov. Pri človeku je v periferni krvi razmerje med celicami T pomagalkami in citotoksičnimi limfociti T približno 2:1, lahko pa je močno spremenjeno ob različnih okužbah, avtoimunskih reakcijah in pri imunskih pomanjkljivostih. Del limfocitov v periferni krvi, imenovan **celice 0**, ne izraža molekul CD, prav tako pa na njih ne najdemo receptorjev za antigene. Populacijo celic, podobno limfocitom T, ki izraža na svoji površini molekule CD16 in CD 56 in predstavlja 5-10 % velikih granuliranih limfocitov človeške periferne krvi, imenujemo **celice naravne ubijalke** (NK celice), njihova vloga pa je pomembna za nespecifično ubijanje tumorskih in z virusi okuženih celic.

Nekateri Limfociti T izražajo v membrani $\gamma\delta$ TCR. **$\gamma\delta$ Limfociti T** predstavljajo 1-3 % populacije limfocitov T v krvi, v koži in epiteliju prebavil ter dihal pa so ti limfociti prevladujoče celice, ki ne migrirajo po tkivih. Celice $\gamma\delta$ lahko brez pomoči molekul MHC neposredno prepoznajo peptidne in nepeptidne antigene, njihovo efektorsko delovanje pa je podobno delovanju celic NK. Zaradi odziva na beljakovine vročinskega stresa, ki nastanejo pri poškodbi in okužbi celic, menijo, da predstavljajo te celice zgodnjo in primitivno obliko celičnega imunskega odziva, ki

preprečuje širjenje tumorsko spremenjenih celic preko bazalne membrane.

Mononuklearne fagocitne celice

Med hematopoezo nastajajo v kostnem mozgu tudi promonociti, ki kasneje vstopijo v krvni obtok in se diferencirajo v zrele monocite. Nekako po osmih urah kroženja v krvi migrirajo v tkiva in se diferencirajo v tkivne makrofage. V tkivih jih imenujemo z različnimi imeni: **alveolarni makrofagi** se nahajajo v pljučih, **Kupfferjeve celice** v jetrih, **histioci** v vezivnem tkivu, **mezanglijske celice** v ledvicah in **celice mikroglie** v možganih. Navzočnost različnih antigenov sproži aktivacijo mirujočih makrofagov, njihovo aktivnost pa ojačujejo še citokini, ki jih izločajo aktivirane celice CD8⁺ (najučinkovitejši med njimi je IFN- γ), mediatorji vnetja in nekatere strukture bakterijske stene. Aktivirani makrofagi odstranjujejo patogene mikrobe s fagocitozo, poleg tega pa v velikih količinah izločajo vnetne mediatorje in citotoksične proteine. Sposobni so aktivirati celice CD8⁺, na svoji površini pa v velikih količinah izražajo molekule MHC II in tako učinkovito predstavljajo antigene.

Antigen predstavitvene celice

Antigen predstavitvene celice so heterogena populacija levkocitov, ki imajo pomembno vlogo bodisi pri funkcionalni aktivaciji limfocitov T pomagalk in pri komunikaciji z drugimi celicami imunskega sistema. Izhajajo iz monocitno - makrofagne linije, morda pa nastajajo kot popolnoma samostojna linija iz predhodnikov v kostnem mozgu. Večina "profesionalnih" antigen predstavitvenih celic se nahaja v koži, bezgavkah, vranici, tik pod epitelom sluznice in v timusu. Zaradi dolgih membranskih podaljškov, ki spominjajo na živčne celice, jih imenujemo **dendritične celice**. Na svoji površini stalno izražajo molekule razreda MHC II in kostimulatorne molekule B7. Antigen predstavitvene dendritične celice razlikujemo glede na mesto, kjer se nahajajo, razlikujejo pa se tudi po svojih morfoloških in funkcijskih lastnostih. **Langerhansove celice** se

nahajajo v epidermisu in mukoznih membranah, **intersticijske dendritične celice** naseljujejo večino parenhimskih organov (srce, pljuča, ledvice, jetra, gastrointestinalni trakt), **interdigitalne dendritične celice** najdemo v T celičnih predelih v sekundarnih limfatičnih organih in v timusni meduli. V krvi najdemo **cirkulirajoče dendritične celice**, ki jih je 0,1 % vseh levkocitov. Po fagocitozi ali endocitozi in procesiranju antigena, na mestu kjer se nahajajo dendritične celice, le te migrirajo po krvi ali limfi do različnih limfatičnih organov, kjer začnejo opravljati funkcijo antigen predstavitevnih celic. Posebnost so **folikularne dendritične celice**. Po izvoru in funkciji se razlikujejo od drugih antigen predstavitevnih dendritičnih celic, ker ne izražajo molekul razreda MHC II in ne sodelujejo pri aktivaciji limfocitov T pomagalk. V bezgavkah se nahajajo v vozličih limfocitov B, izražajo pa receptorje za komplement, CD21 ter CD35 in Fc receptorje. Zelo dolgotrajna vezava kompleksov antigen - protitelo na omenjene receptorje (vezava lahko traja več mesecev ali celo let), napeljuje na misel, da folikularne dendritične celice sodelujejo pri razvoju spominskih limfocitov B v bezgavkah.

Podobno kot dendritične celice, uporabljajo molekule MHC II za predstavljanje antigenov še makrofagi in limfociti B. Navedene celice predstavljajo antigen šibkeje kot dendritične celice. Prisotnost IFN- γ in TNF- α pa izzove izražanje molekul MHC II tudi na nekaterih somatskih celicah (keratinociti, celice ščitničnega epitela, endotelne celice). Tako lahko tudi te predstavljajo antigen.

NASTANEK IMUNOSTI

Snovi, ki so sposobne sprožiti nastanek specifičnega imunskega odziva imenujemo antigeni (imunogeni), njihovo lastnost, da spodbudijo protitelesni ali/in celični imunski odziv pa imenujemo imunogenost. Tujost, molekulska velikost, kemična sestava in struktura ter možnost

procesiranja in predstavitve antigena so lastnosti, ki vplivajo na nastanek imunosti in so pglavitni dejavniki za razumevanje delovanja imunskega sistema. Imunski sistem mora za učinkovito zaščito prepoznati le določene makromolekule ali njihove dele na bakteriji, virusu, glivi ali parazitu in ne celega patogena. Med antigeni so daleč najučinkovitejši imunogeni beljakovine, sledijo polisaharidi in lipidi. Nukleinske kisline so imunogene le v povezavi z beljakovinami ali polisaharidi. Različna načina prepoznavanja antigenov pri limfocitih B in T določata, katere molekularne lastnosti antigenov bodo uporabljene pri protitelesni ali celični imunosti. Topne beljakovine in polisaharidi izzovejo pretežno protitelesno imunost. Celična imunost se razvije proti antigenom, ki jih celice prepoznajo, če so predstavljeni v sklopu MHC molekul.

PROCESIRANJE IN PREDSTAVLJANJE ANTIGENOV

Protitelesni imunski odziv in celična imunost sta uperjena proti različnim delom antigena - epitopom. Različen odziv obeh vej imunosti na beljakovinski antigen si razlagamo z dejstvom, da so antigeni, ki so predstavljeni v sklopu MHC molekul, naključno razrezani peptidni fragmenti in ne cela beljakovina. Procesiranju je tako izpostavljena cela veriga beljakovine, le neznaten del peptidnih fragmentov pa je pozneje tudi predstavljen v sklopu molekul MHC kot antigen. Kateri fragment beljakovinske verige bo predstavljen, je odvisno od haplotipa molekule MHC. Molekulam MHC omogoča predstavljanje peptidnih fragmentov njihova trodimenzionalna zgradba. Vezavno mesto za peptidni fragment, imenovano tudi brazda ali žep, se od enega do drugega haplotipa molekule MHC razlikuje. Vezava peptidnega fragmenta je tako odvisna od zgradbe stranskih verig procesiranega peptida in njegovega prileganja z brazdo na MHC molekuli. Eksogeni antigeni (npr. različne bakterije in njihovi proizvodi, toksini žuželk, pajkov in kač) nastajajo zunaj gostiteljevih celic in prihajajo v antigen predstavitvene celice z

receptorsko endocitozo ali s fagocitozo. V toku procesiranja se peptidni fragmenti, dolgi med 8 in 10 aminokislinskih ostankov, vežejo na molekule razreda MHC II, ki se kasneje izrazijo na površini antigen predstavitevni celice. Sklop antigena in molekule MHC II so sposobne prepoznati le celice T pomagalka, ki izražajo na svoji površini CD4 receptor. Endogeni antigeni (npr. virusne beljakovine, ki se sintetizirajo v okuženi celici ali tumorske beljakovine pri rakasto spremenjeni celici), se vežejo z molekulami razreda MHC I v endoplazemskem retikulumu. Sklop peptidnega fragmenta, ki je lahko dolg tudi več kot 13 aminokislinskih ostankov, se nato skupaj z molekulami MHC I transportira do celične membrane. Ker izražajo molekule MHC I vse telesne celice z jedrom, lahko torej vse predstavljajo endogene antigene. Tako predstavljene antigene prepoznavajo citotoksični limfociti T, ki izražajo CD8 receptor.

Ključno vlogo pri stiku in aktivaciji imunsko zmožnih limfocitov B in T specifičnih za antigen ima torej predstavljeni antigen. Ob prvem srečanju naivnih limfocitov B in T z določenim antigenom se razvije šibkejši in počasnejši primarni imunski odziv. Antigen spodbudi razmnoževanje specifičnih limfocitov B in T v klon, ki je specifičen za enak antigen kot limfocit, iz katerega klon izhaja. Del klonsko razmnoženih limfocitov se razvije v efektorske celice, del pa v spominske celice. Ob ponovnem srečanju z istim antigenom, se razvije sekundarni imunski odziv, ki je veliko močnejši, hitrejši in učinkovitejši v primerjavi z primarnim odzivom, kar je posledica imunskega spomina.

PROTITELESNA IMUNOST

Razvoj protitelesnega imunskega odziva se prične, ko antigen povzroči klonsko razmnoževanje limfocitov B. Ti se nato diferencirajo v efektorske celice - plazmatke, ki izločajo protitelesa, in v spominske limfocite B. Proces se prične z vezavo antigena na B celični receptor.

Antigene, ki lahko neposredno aktivirajo limfocite B brez pomoči aktiviranih celic T pomagalk, imenujemo od timusa neodvisne antigene. Nadalje jih delimo v antigene T-1 (sestavine bakterijske stene, predvsem LPS) in antigene T-2 (bakterijske polisaharidne strukture s ponavljajočimi se enotami, polimerne beljakovine, npr. flagelin). Antigeni T-1 lahko aktivirajo limfocite B neodvisno od njihove specifičnosti. V velikih koncentracijah lahko povzročijo razmnoževanje in proizvodnjo protiteles pri tretjini limfocitov B (mitogeno delovanje), v manjših koncentracijah pa aktivirajo limfocite B, ki so specifični za antigenske epitope. Antigeni T-2 aktivirajo limfocite B z močno vezavo na B celični receptor. Za aktivacijo ni potrebno neposredno sodelovanje s celicami $CD4^+$. Protitelesni imunski odziv na od timusa neodvisne antigene je šibak, prevladujejo protitelesa razreda IgM in ne razvije se imunski spomin. Neodvisno, brez neposrednega sodelovanja $CD4^+$ celic, vendar ob prisotnosti IL-5, se na antigene T-2 odzovejo tudi $CD5^+$ limfociti B. Nastala protitelesa pa so IgM razreda.

Odziv limfocitov B na od timusa odvisne antigene nastane po neposrednem stiku s celicami $CD4^+$ in v navzočnosti ustreznih citokinov. Del antigena, ki je vezan na B celični receptor, se z receptorsko endocitozo prenese tudi v limfocit B, kjer se procesira in predstavi v sklopu molekul MHC II na celični površini. Sama vezava antigena na B celične receptorje še ni zadosten signal za aktivacijo limfocita B. Antigen, predstavljen na molekulah MHC II limfocita B mora prepoznati še celica $CD4^+$. Priti mora do tesnega stika med celicama in vzpostaviti se mora povezava receptorja CD40 na limfocitu B z ligandom CD40L na aktivirani celici $CD4^+$. V takšnih okoliščinah je signal zadosten in pride do izražanja citokinskih receptorjev na limfocitu B. Celični stik med limfocitom B in aktivirano celico $CD4^+$ podpirajo še povezave med LFA-3 in CD2 ter ICAM-1 ali ICAM-3 in LFA-1. Nato celica $CD4^+$ polarizirano izloča citokine IL-4, IL-6 in IL-2 proti limfocitu B. Vezava navedenih citokinov na membranske

receptorje na limfocitu B pa je končni signal za začetek proliferacije in diferenciacije v plazmatko ali spominsko celico.

Kinetika nastajanja protiteles pri primarnem imunskem odzivu je močno odvisna od vrste antigena, od načina vnosa, od prisotnosti adjuvansov in od imunoloških danosti osebk, ki je imuniziran. V prvem obdobju (lag faza), ki traja 5-7 dni, se naivni limfociti B aktivirajo in diferencirajo v plazmatke in redko tudi v spominske limfocite B. Sledi logaritmično večanje koncentracije protiteles, ki je zaključeno v približno 14 dneh. Nato se začne koncentracija protiteles postopoma zmanjševati. Za primarni imunski odziv je značilno nastajanje protiteles razreda IgM. Nastajajo tudi protitelesa razreda IgG, vendar v majhnih koncentracijah. Glede na vrsto antigena in trajanje njegove prisotnosti v telesu traja primarni imunski odziv različno dolgo, včasih tudi več tednov. Pri sekundarnem imunskem odzivu je lag faza dolga le 1-2 dni. Nastajajo predvsem protitelesa razreda IgG z močno afiniteto do antigena, protiteles je veliko in ostajajo dolgo prisotna. Protitelesa razreda IgM nastajajo pri sekundarnem imunskem odzivu samo v majhnih količinah.

CELIČNA IMUNOST

Celični imunski odziv pripisujemo limfocitom T. Antigen predstavitvene celice, ki prinesejo fagocitiran antigen iz okolja v s celicami T bogata področja sekundarnih limfatičnih organov, predstavljajo tu antigene naivnim limfocitom T pomagalkam. Te potrebujejo za aktivacijo in posledično proliferacijo ter diferenciacijo v efektorske celice dva signala. Prvi signal je povezava T celičnega receptorja in CD4 koreceptorja na celicah T pomagalkah s sklopom antigena in molekule MHC II na antigen predstavitveni celici. Drugi, kostimulatorni signal je povezava molekule B7-1/B7-2 (CD 80/CD86) na antigen predstavitveni celici s CD28 receptorjem na CD4⁺ celici. Ob stiku med celicama so vzpostavljene še

povezave med CD2 in LFA-3, LFA-1 in ICAM-1. Pri celicah CD4⁺, ki so se že srečale z antigenom (CD45RO⁺ celice) in pri spominskih celicah CD4⁺ je za aktivacijo zadosten že prvi signal (CD3CD4 + Ag MHC II). Posledica aktivacije je izločanje molekul IL-2 in izražanje receptorja za IL-2, kar izzove klonsko razmnoževanje, ki doseže vrh v 4-5 dneh, nato pa se prično celice diferencirati v efektorske celice CD4⁺ in spominske celice CD4⁺. Funkcija efektorskih celic T pomagalk je izločanje citokinov, ki imajo bodisi avtokrino ali parakrino delovanje. Glede na vrsto citokinov, ki jih izločajo efektorske celice T pomagalk, jih razdelimo v celice Th1 in Th2, vendar ni popolnoma pojasnjeno, kaj vpliva na bipolarni razvoj in diferenciacijo teh celic. Razvoj teh celic sproži posebno citokinsko okolje, ki nastane kot posledica nespecifične, prirojene obrambe, pomembno pa naj bi vplivala tudi sama predstavitev antigena v sklopu molekul MHC II. Tako naj bi usmerili razvoj celic v Th1 prisotnost IL-12, velika koncentracija sklopov antigena in molekul MHC II ter močno prileganje peptidnega fragmenta s T celičnim receptorjem. Razvoj celic v Th2 pa naj bi usmerili prisotnost IL-4, majhna koncentracija sklopov antigena in molekul MHC II ter slabo prileganje TCR in peptidnega fragmenta. Citokini, ki jih izločajo celice Th1, spodbudijo limfocite B k tvorbi protiteles podrazreda IgG2a, ki so močni opsonini, aktivirajo makrofage in njihovo mikrobicidno aktivnost in aktivirajo citotoksične limfocite T. Tako je obramba organizma uperjena bolj proti virusnim infekcijam in intracelularnim parazitom. Citokini, značilni za imunski odziv Th2, spodbudijo limfocite B k izločanju nevtralizacijskih in slabo opsonizirajočih protiteles podrazreda IgG1, protiteles IgM, IgA in IgE, ter vplivajo na rast mastocitov in rast ter razvoj eozinofilnih granulocitov. Taka obramba je tako bolj primerna za uničevanje zunajceličnih bakterij in parazitov, pogosto pa se razvije od IgE odvisen imunski odziv.

Zavedati se moramo, da delitev imunskega odziva na tipa Th1 in Th2 ni tako ostra, saj citokini, ki se izločajo pri enem tipu, vplivajo na izražanje drugega tipa najpogosteje z antagonističnim načinom delovanja. Obe poti

imunskega odziva sta pomembni, vendar imata različno vlogo pri obrambi organizma in v veliki meri prispevata k imunopatologiji bolezni.

Eden od načinov odstranjevanja alogenskih celic, lastnih z virusom okuženih, ali tumorsko spremenjenih celic so citotoksične reakcije, ki na koncu privedejo do lize tarčne celice. Načine celičnega ubijanja lahko razdelimo tiste, ki so za antigen specifični in vključujejo citotoksične limfocite T, ter na tiste, ki uničijo celice nespecifično in so povzročeni s celicami NK in makrofagi. Citotoksični limfociti T so $CD8^+$ in prepoznavajo antigene v sklopu molekul MHC I. Celično imunost, povzročeno s celicami $CD8^+$ razdelimo v dve fazi. V fazi 1 naivna celica $CD8^+$ (predhodnik citotoksičnega limfocita T) s specifičnim TCR prepozna sklop MHC I in antigena. Med seboj se povežejo molekule CD28 in B7-1/B7-2 in pride do vezave IL-2 z močnoafinitetnim receptorjem za IL-2 na celici $CD8^+$. Pri predhodnikih spominskih celic $CD8^+$ je parakrino delovanje IL-2 dovoljšen signal za aktivacijo, naivni predhodniki celic $CD8^+$ pa poleg lastnega IL-2 potrebujejo še IL-2, ki ga izločajo aktivirane celice Th1. Posledica opisanih dogajanj so: aktivacija, razmnoževanje in diferenciacija predhodnikov celic $CD8^+$ v efektorske celice $CD8^+$. V fazi 2 funkcijsko zrela celica $CD8^+$ ubije tarčne celice. V začetku pride do vzpostavitve tesnega stika med celico $CD8^+$ in celico tarčo s sodelovanjem integrinskih receptorjev LFA-1 in ICAM-1, CD2 in LFA-3. Pri tem pride do polarizacije celice $CD8^+$, kar omogoči degranulacijo citotoksičnih molekul na mestu stika med celico ubijalko in tarčo. Citotoksične molekule so visokomolekularni proteoglikani in različni toksični citokini. Sem sodi perforin, ki je beljakovina, ki v prisotnosti Ca^{+} v membrani tarčne celice polimerizira v cilindrične votle strukture (pore), ki merijo v premeru 5 - 20 nm in povzročijo nekontrolirano prehajanje vode in soli preko membrane. Zraven sodijo tudi grancimi, ki so proteaze s serinsko proteazno aktivnostjo in sprožijo apoptozo z vezavo na celični encim CPP-32. Poleg perforina in grancimov izločajo celice $CD8^+$ še $IFN-\gamma$, $TNF-\alpha$ in $TNF-\beta$. Ti nato na različne načine pripomorejo k učinkovitejši obrambi. Efektorski citotoksični limfociti izražajo na svoji membrani še beljakovino, ki je po zgradbi podoben TNF.

Beljakovino imenujemo Fas-ligand in se veže na transmembranski receptor Fas (APO-1) na tarčni celici, posledica je aktivacija endogene poti pri apoptozi.

Za vzpostavitev stika med celico $CD8^+$ in tarčno celico je tako potrebno le nekaj minut. Ta čas zadostuje za poškodbo membrane tarčne celice. Celica $CD8^+$ se nato loči od tarčne celice, ki umre v času od 15 minut do 3 ur po ločitvi celic, $CD8^+$ celica pa poišče in prepozna novo tarčno celico.

Celice NK ubijajo drugače. Njihova dejavnost je zelo pomemben del obrambe predvsem pred virusi, delno pa tudi pred znotrajceličnimi bakterijami in tumorskimi celicami takrat, ko še ni funkcijsko zrelih efektorskih celic $CD8^+$. NK celično aktivnost močno pospešijo citokini IFN- γ , IFN- β in IL-12, ki se izločajo predvsem pri virusnih infekcijah. Celice NK uporabljajo zelo podobne procese ubijanja tarčnih celic kot $CD8^+$ efektorske celice, močno pa se razlikujejo po načinu, s katerim prepoznajo tarčne celice. Okužene tarčne celice izražajo v membrani spremenjene oligosaharide, zmanjšano pa je tudi izražanje molekul MHC I. Celica NK prepozna oligosaharide z receptorjem NKR-P1, z receptorjem Ly49 pa molekule MHC I. Pri prvem načinu prepoznavanja je signal za aktivacijo celice NK vezava spremenjeno glikoziranega oligosaharida na receptor NKR-P1 in nezasedenost receptorjev Ly49, zaradi majhne koncentracije molekul MHC I na tarčni celici. Pri drugem načinu pa celice NK z receptorji Fc (CD16) prepoznajo tarčne celice, ki so opsonizirane s specifičnimi protitelesi. Prepoznavanje protiteles na tarčni celici je signal za t.i. s protitelesi posredovano citotoksičnost NK celic.

Nekateri mikrobi (*Mycobacterium sp.*, *Listeria monocytogenes*, *Leishmania sp.*, *Pneumocystis carinii*, verjetno tudi *B. burgdorferi s.l.*), se lahko razmnožujejo ali perzistirajo v fagosomih makrofagov. V makrofagih taki mikrobi preprečujejo zlitje fagosoma z lizosomom ali pa preprečujejo

zakislitev fagolizosoma. Tako so ti mikrobi skriti pred protitelesi in tudi pred citotoksičnimi limfociti T. Odstranjevanje in uničevanje takih mikroorganizmov je možno, če celice Th1 na nespecifičen način aktivirajo makrofage s povezavo liganda CD40L s CD40 receptorjem ob istočasnem lokalnem izločanju IFN- γ . Posledica je, da pride v aktiviranih makrofagih do bolj učinkovitega združevanja fagosomov z lizosomi, povečana je proizvodnja kisikovih radikalov in NO, poveča se sinteza antimikrobnih peptidov in proteaz za uničevanje zunajceličnih parazitov, močnejše je tudi izražanje molekul MHC II in s tem predstavljanje antigena. Aktivirani makrofagi izločajo tudi IL-12, ki še bolj usmerja razvoj CD4⁺ celic v tip Th1.