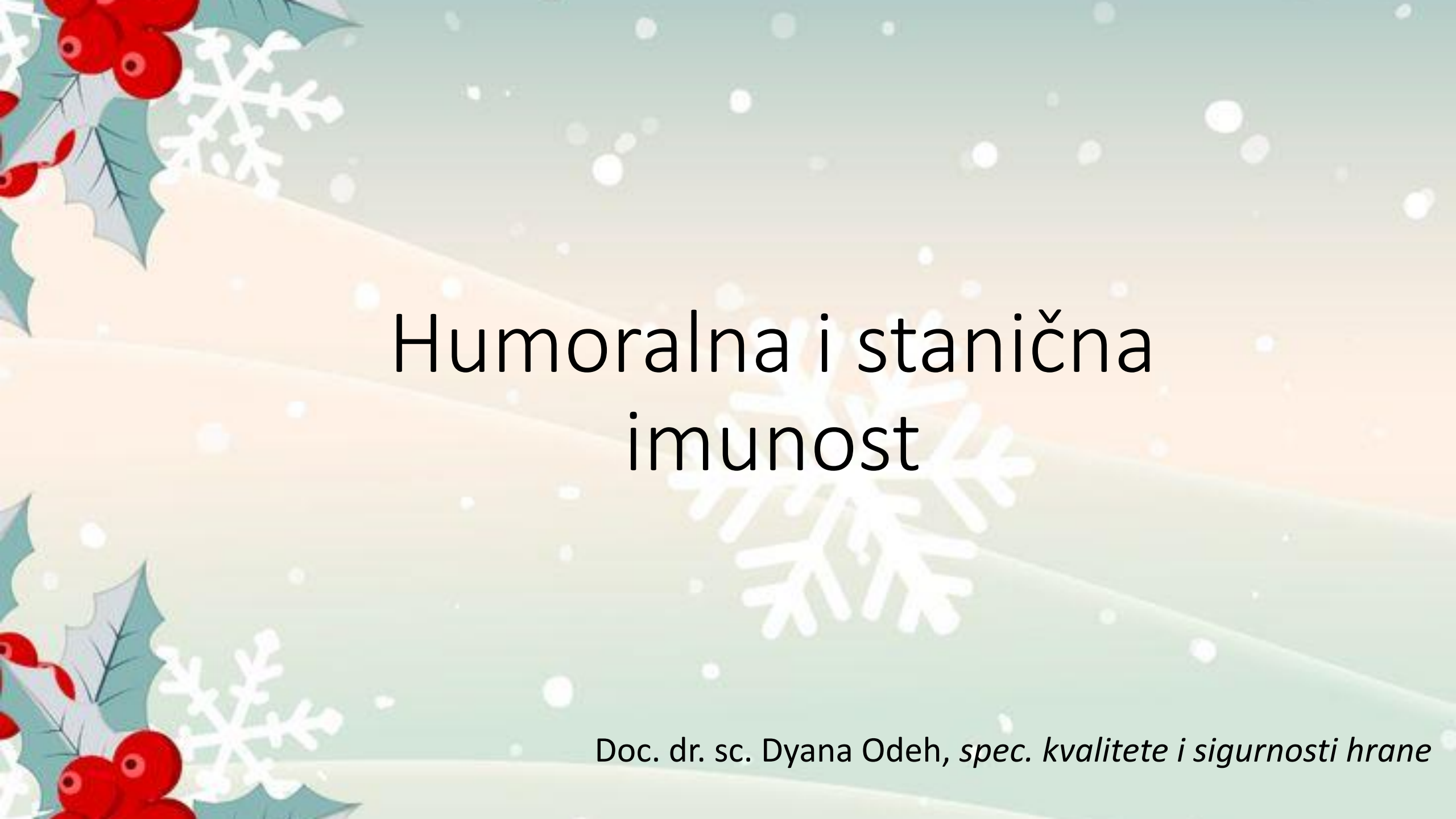




Humoralna i stanična imunost

Doc. dr. sc. Dyana Odeh, *spec. kvalitete i sigurnosti hrane*

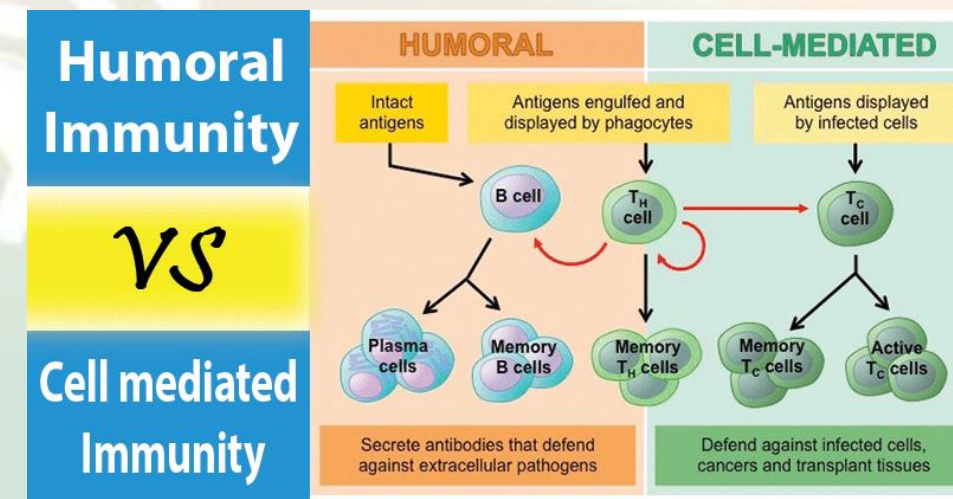
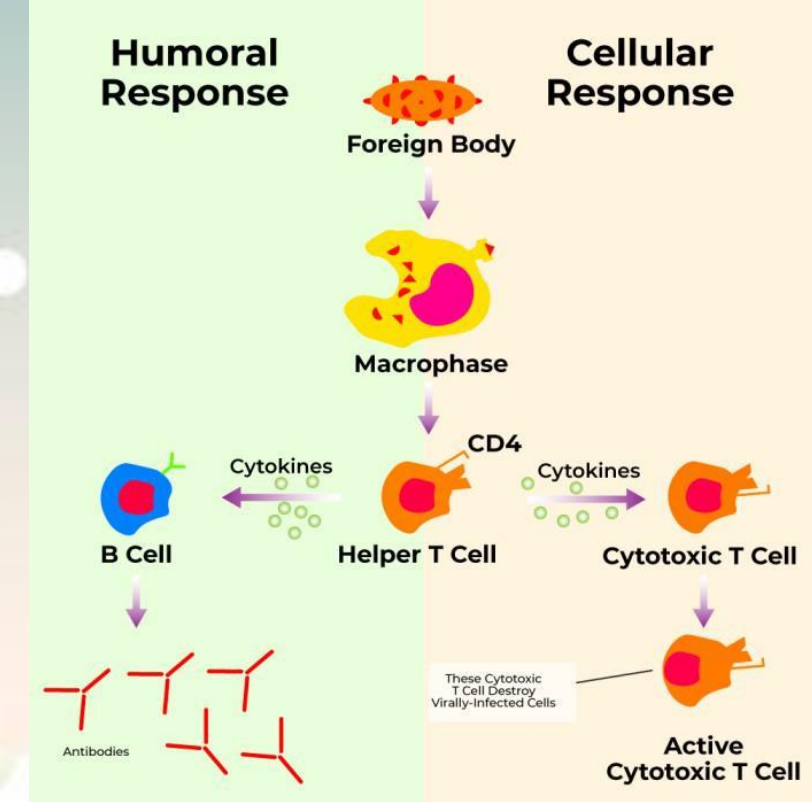
- podjela specifičnih imunoreakcija

a) humoralna imunost

- prilagođena za uklanjanje izvanstaničnih patogena
- nosioci topljivi produkti (protutijela)
- ovisna isključivo o B limfocitima (antigeni neovisni o timusu) ili o suradnji limfocita B i T (antigeni ovisni o timusu)

b) stanična imunost

- nosioci imunosne stanice
- ovisna isključivo o T limfocitima



- **Humoralna imunost**

- dio adaptivnog (stečenog) imunosnog sustava koji pruža zaštitu izvanstaničnog prostora humoralnim tvarima → protutijelima

- **razvoj limfocita B – tri faze:**

- 1. sazrijevanje (maturacija) – u koštanoj srži

- 2. aktivacija – u perifernim organima

- 3. diferencijacija – u plazma stanice i memorijske stanice

- ***aferentna faza imunoreakcije*** – uključuje prepoznavanje antigena specifičnim receptorima na membrani limfocita

- ***centralna faza imunoreakcije*** – složena suradnja između antigena, limfocita T i B, predočnih stanica, topljivih faktora i drugih komponenta

Prijenos aktivacijskog signala u B limfocit

- Prijenos aktivacijskog signala u limfocit ostvaruje se putem 2 signala:

1. **signal kompetencije** – prevodi stanicu iz mirovanja G_0 u ranu fazu G_1
2. **signal progresije** – pokreće fazu S iz koje stanica ulazi u mitozu

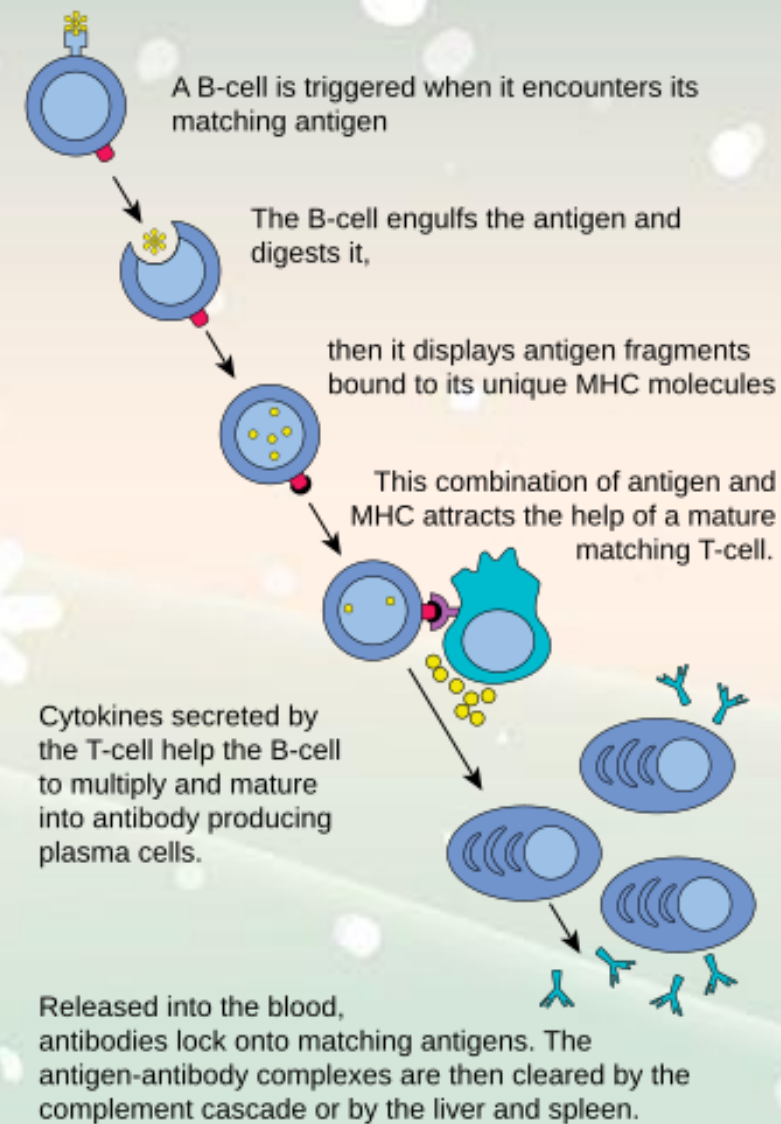
- potječe od citokina

- signal kompetencije složen od dvaju signala

a) **prvi signal** - vezanje antigena ovisnih o timusu s BCR receptorom

b) **drugi signal** - interakcija s pomagačkim T limfocitom – preko CD40/CD40L

- kada su B limfociti podraženi signalom kompetencije, oni dobiju na površini receptore za različite citokine → postaju osjetljivi signal progresije → B limfociti se dijele i diferenciraju u plazma stanice i memorijske stanice



Diferencijacija aktiviranog B limfocita

Activation of B cells
and migration
into germinal center

B cell proliferation
and somatic
hypermutation

Selection of high
affinity B cells;
isotype switching

Exit of high-affinity
antibody-secreting cells,
and memory B cells

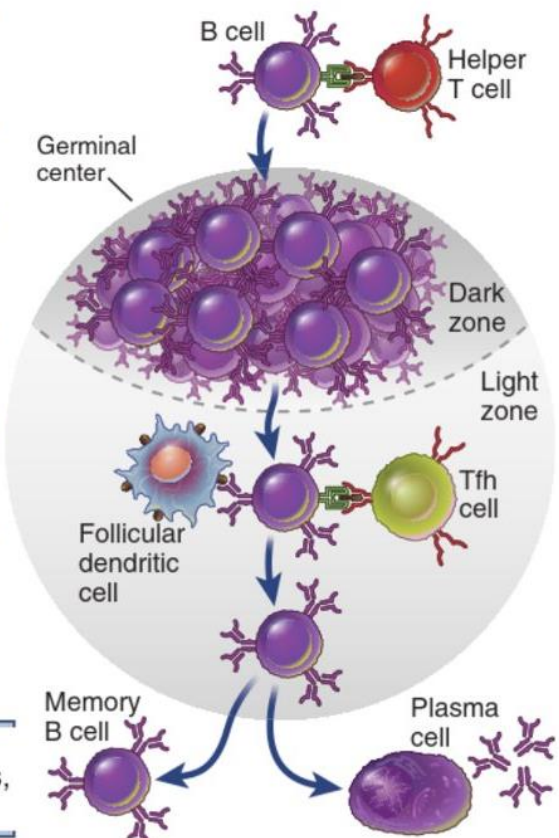
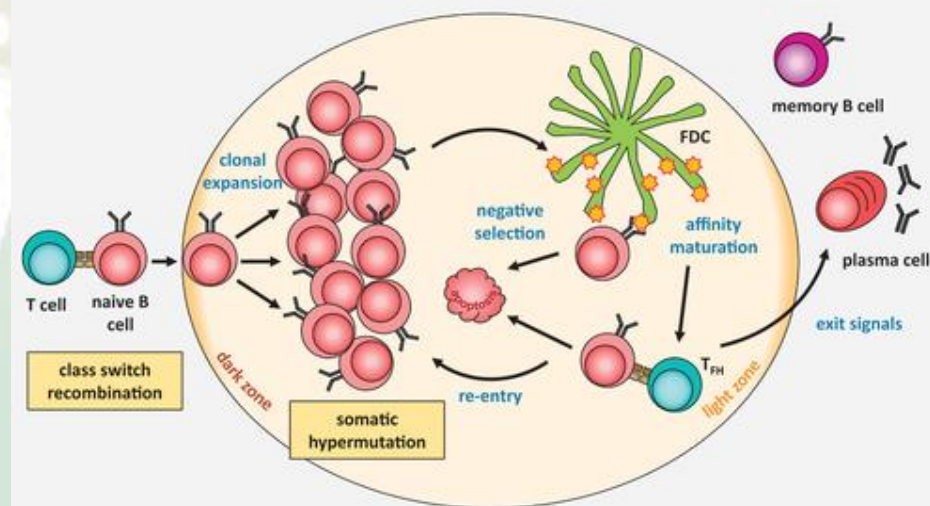
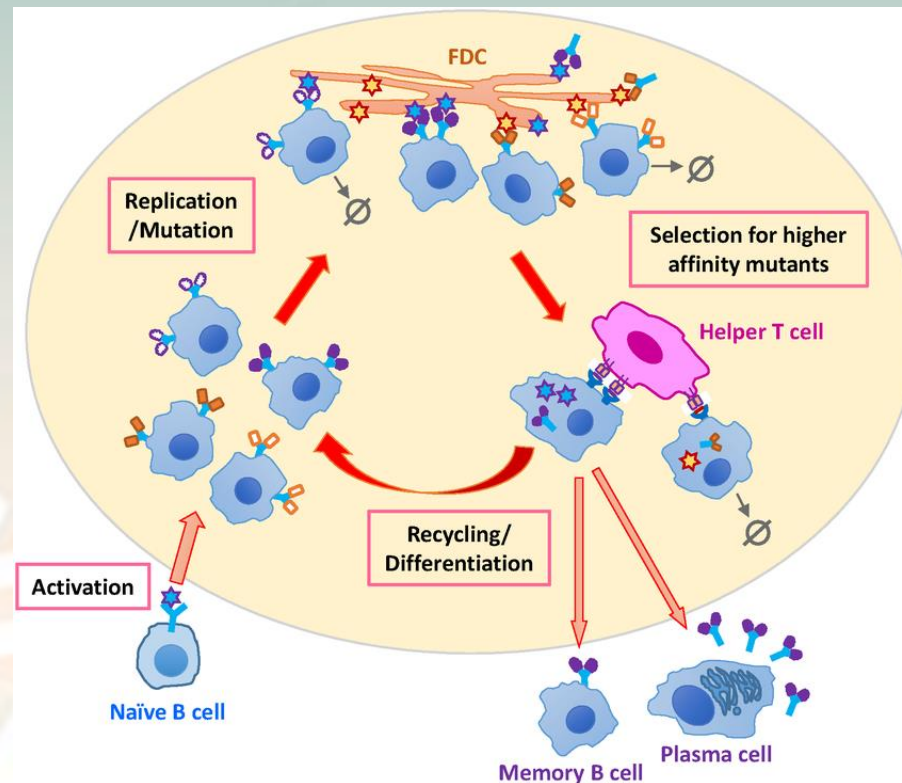


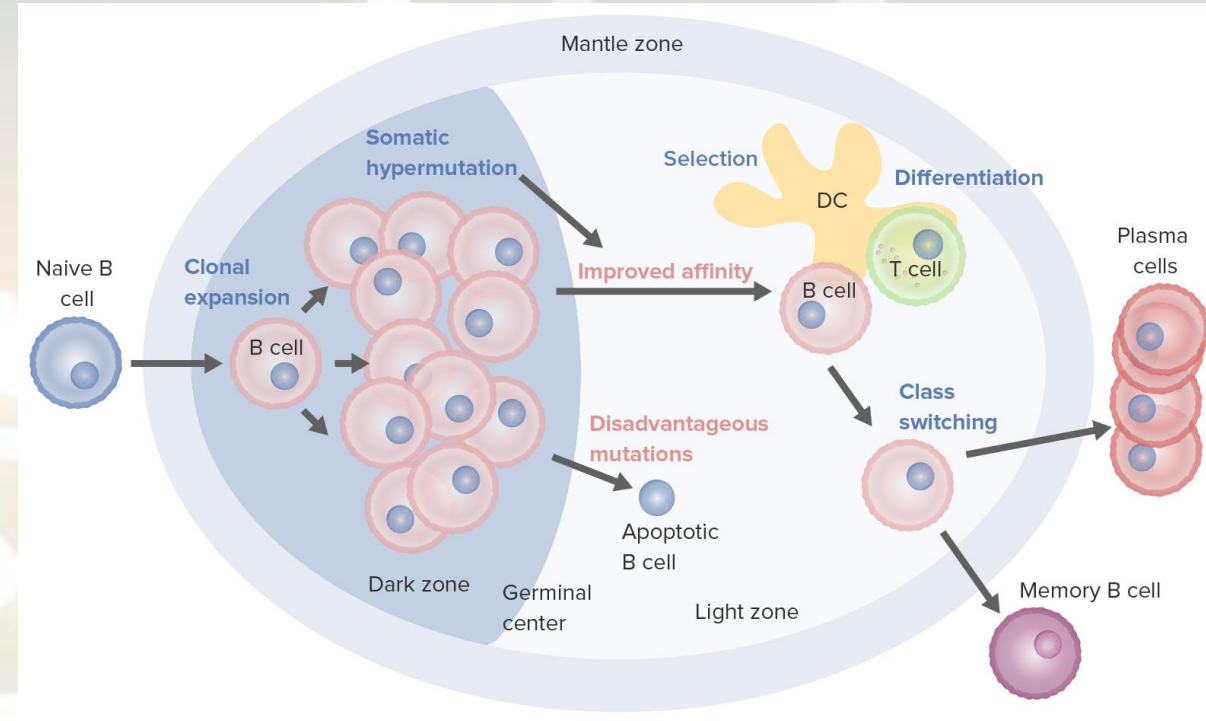
FIGURE 12.11 The germinal center reaction in a lymph node. Activated B cells migrate into the follicle and proliferate, forming the dark zone of the germinal center. These B cells undergo somatic hypermutation of Ig V genes and migrate into the light zone, where they encounter follicular dendritic cells displaying antigen and Tfh cells. B cells with the highest affinity Ig receptors are selected to survive, and they differentiate into antibody-secreting cells and memory B cells. The antibody-secreting cells leave and reside in the bone marrow as long-lived plasma cells, and the memory B cells enter the recirculating lymphocyte pool.

- tijekom diferencijacije stanice prolaze 3 procesa:

1. afinitetno sazrijevanje
2. prekapčanje razreda
3. stvaranje plazma i memorijskih stanica



- aktivirani B limfociti u zametnim središtima proliferiraju → centroblasti
- **centroblasti** – stanice bez membranskih Ig i koje stvaraju **tamnu zonu**
- centroblasti → **centrociti** – stanice s membranskim Ig koji se pomiču prema bazalnoj **svijetloj zoni**
- centrociti koji ne vežu antigen na folikularnim dendritičkim stanicama propadaju **apoptozom**
- centrociti koji nose IgM na površini vežu antigen predložen na dendritičkim stanicama diferenciraju u memorijske stanice i plazmablaste
- plazmablasti napuštaju zametno središte i odlaze u srž → plazma stanice → protutijela

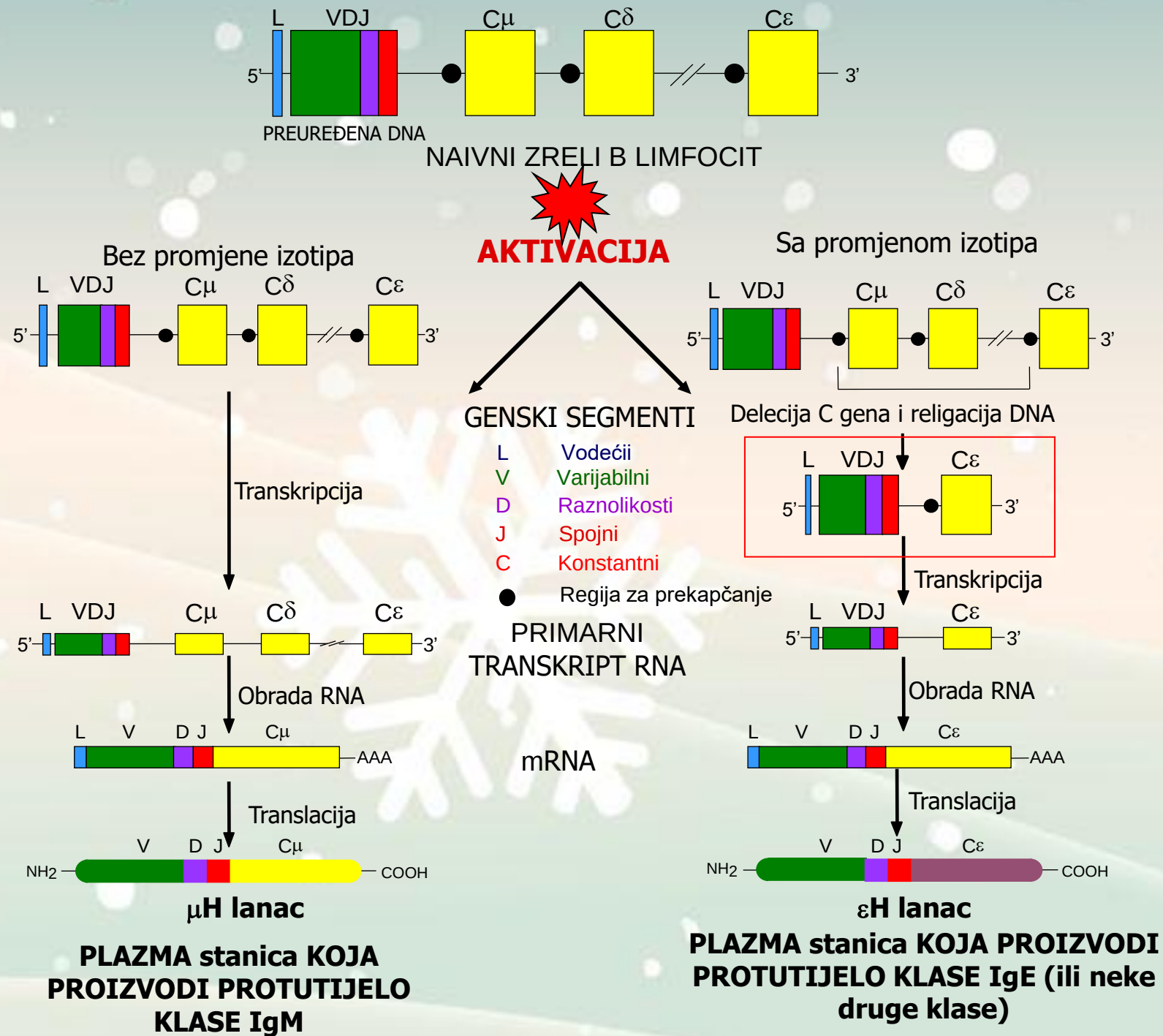


Afinitetno sazrijevanje

- temelj povećanja afiniteta protutijela → stvaranje protutijela veće **avidnosti** (mjera čvrstoće veze između dviju molekula)
- posljedica somatske hipermutabilnosti imunoglobulinskih gena i odabira klonova visokih afiniteta
- **somatske hipermutacije**
 - zbivaju se tijekom proliferacije centroblasta u tamnoj zoni zametnih središta
 - točkaste zamjene najčešće jednog para u već prezloženim V, D i J genima → utječu na afinitet protutijela
- **odabir klonova visokih afiniteta**
 - vrši se daljnjim dijeljenjem odabranih klonova - preživljavaju samo B limfociti koji najbolje vežu antigen i dobivaju pomoć folikularnih CD4+ T stanica, dok ostali ulaze u apoptozu → *afinitetno sazrijevanje*

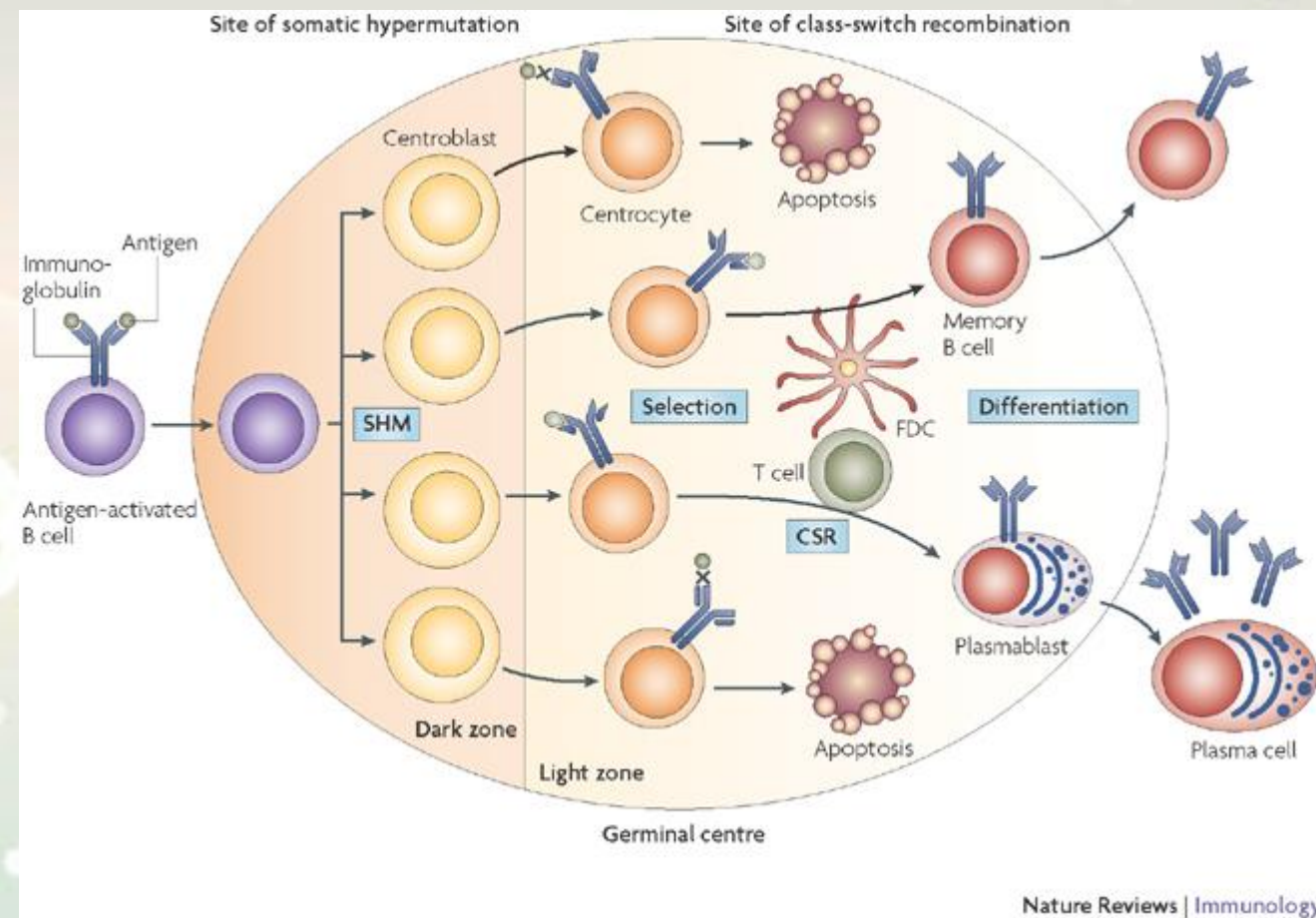
Prekapčanje razreda imunoglobulina

- zbiva se u kasnijoj primarnoj fazi imunoreakcije
- potrebna pomoć T limfocita i makrofaga
- uvjet za prekapčanje – interakcija između CD40 na B limfocitima i CD40L na T_H limfocitima
- ovisi o djelovanju citokina → IL-4, IFN-γ i TGF-β



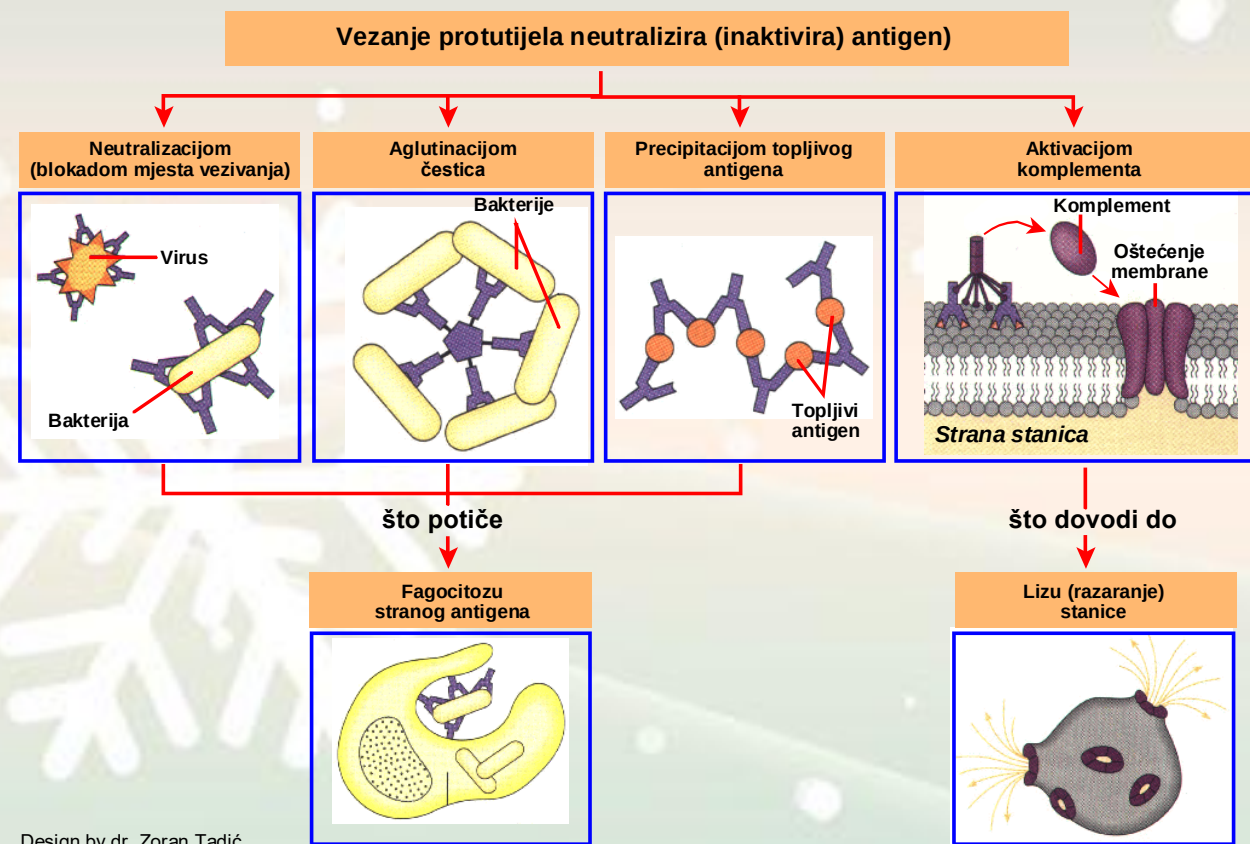
Stvaranje plazma i memorijskih stanica

- centrociti diferenciraju u plazmablaste i memorijske stanice
- plazma stanice nastaju pod utjecajem IL-1 i molekule CD23 koja se nalazi u membrani folikularne dendritičke stanice
- u sekundarnoj reakciji uključuju se samo memorijske stanice



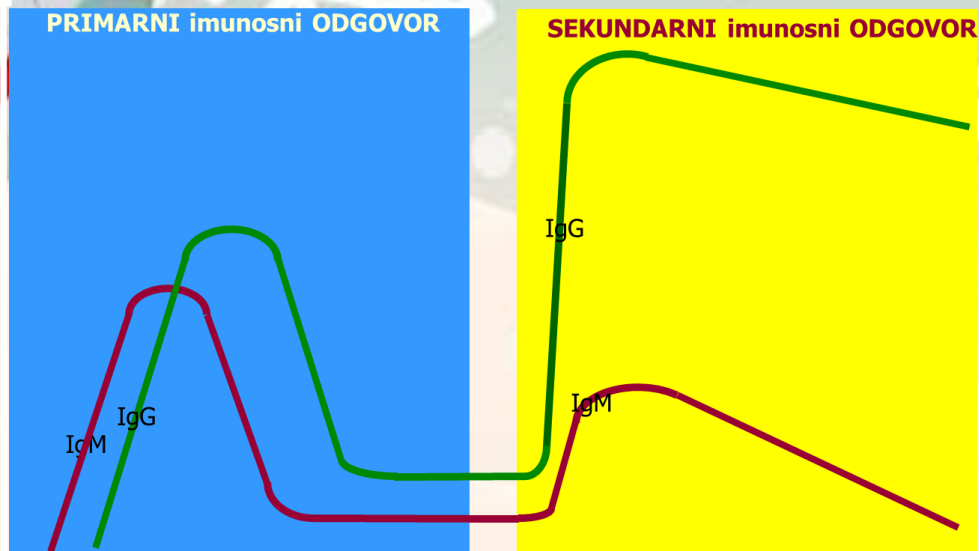
Eferentna (efektorska) faza imunoreakcije

- obavlja odstranjenje antigena protutijelima proizvedenim od plazma stanica
- plazma stanice
 - jedna plazma stanica stvara samo jednu vrstu imunoglobulina
 - nemaju imunoglobulinske receptore za antigen
 - izlučuju visoke koncentracije slobodnih protutijela
- uklanjanje antigena posredovano je Fc ulomkom protutijela
- Fc ulomak obavlja biološku funkciju uklanjanja antigena na nekoliko načina:
 - a) aktivacijom komplementa → liza stanice
 - b) neutralizacijom bakterijskih toksina i virusa
 - c) precipitacijom topljivih antigena
 - d) aglutinacijom – sljepljivanje netopljivih čestičnih antigena poput bakterija, eritrocita ili virusnih čestica



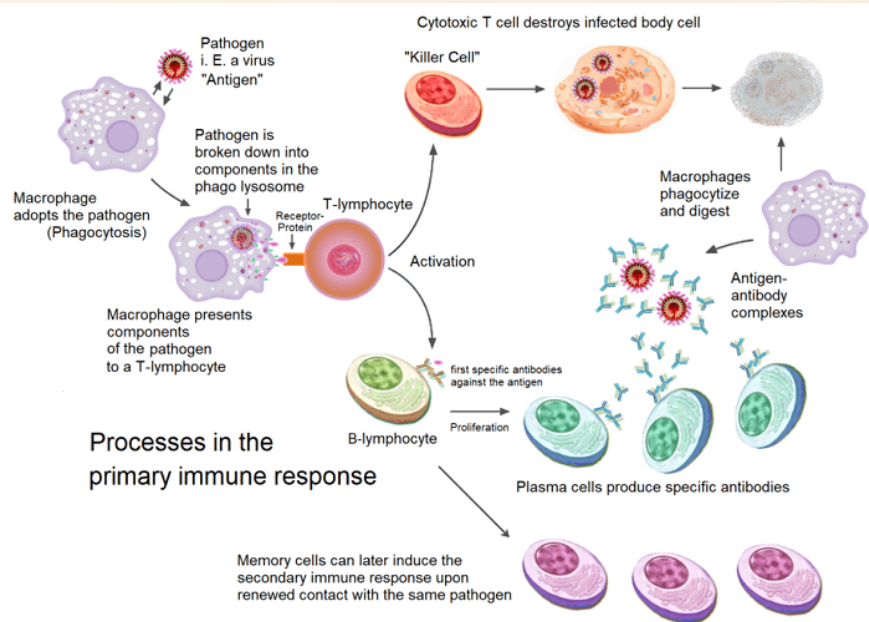
Kinetika stvaranja protutijela

KOLIČINA STVORENIH PROTUTIJELA



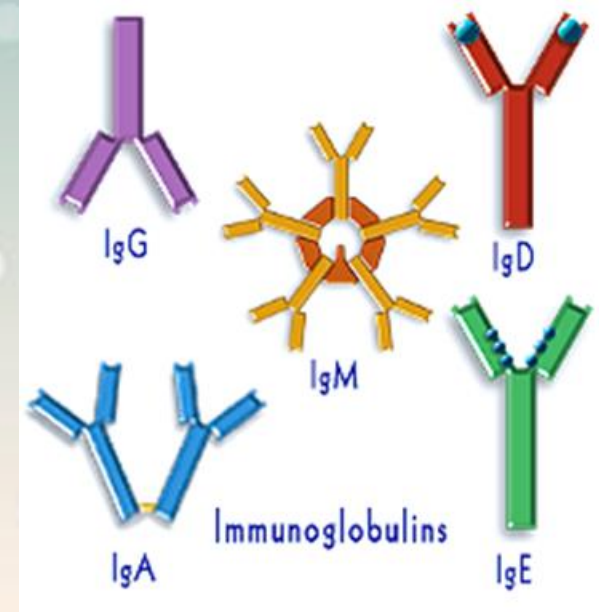
VRIJEME NAKON IZLAGANJA ANTIGENU

- brzina sinteze protutijela ovisi o broju plazma stanica → ovisi o uvjetima imunizacije
- različita u primarnoj i sekundarnoj reakciji
- **Primarna reakcija**
 - imunoreakcija nakon prvog dodira s nekim antigenom
 - razlikuju se: induktivna faza (faza latencije), eksponencijalna (logaritamska faza), faza platoa, faza smanjenja titra
 - tijekom primarne reakcije mijenjaju se razred i afinitet stvaranih protutijela
 - u početku reakcije stvaraju se samo IgM, a kasnije IgG i IgA
 - trajanjem imunoreakcije pojavljuju se protutijela sa sve većom avidnošću za antigen
- **Sekundarna reakcija**
 - drugi i svaki i idući dodir s antigenom
 - ponovni ulazak istog antigena izaziva brzo povećanje titra specifičnih protutijela negoli pri prvom dodiru
 - visok titar protutijela odnosi se na razred IgG i traje dulje nego u primarnoj reakciji
 - protutijela imaju veći afinitet za antigen



Biološka svojstva imunoglobulina

- određena su Fc ulomkom
- **Imunoglobulin G (IgG)**
 - najobilniji i najvažniji serumski imunoglobulin
 - glavni Ig koji se stvara u sekundarnoj reakciji
 - najvažnije funkcije - neutralizacija, aktiviranje komplementa i pospješeno fagocitoze opsonizacijom
 - postoje četiri podrazreda
 - jedini Ig koji može prijeći iz majke kroz posteljicu u nerođeno dijete → prirodno pasivno stečena imunost
 - IgG1 i IgG3 mogu se vezati za makrofage bez prisutnosti antigena
 - IgG vezani za ciljnu stanicu mogu uzrokovati staničnu citotoksičnost ovisnu o protutijelima

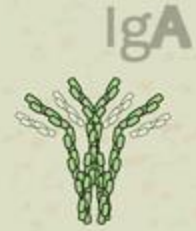


• **Imunoglobulin A (IgA)**

- drugi Ig po količini u plazmi i prvi u ekstravaskularnim tekućinama
- važan za zaštitu sluznica od virusa i bakterija
- sastojak sline, suza, sekreta probavnog sustava, bronhalnog sekreta, vaginalnoga sekreta, nazalnog sekreta i kolostruma

• **Imunoglobulin D (IgD)**

- nalazi se u serumu samo u tragovima
- fiziološka uloga nedovoljno istražena
- djeluje kao receptor za antigen na B limfocitima zajedno s IgM
- sudjeluje u aktivaciji i diferencijaciji B limfocita nakon kontakta s antigenom



- **Imunoglobulin M (IgM)**

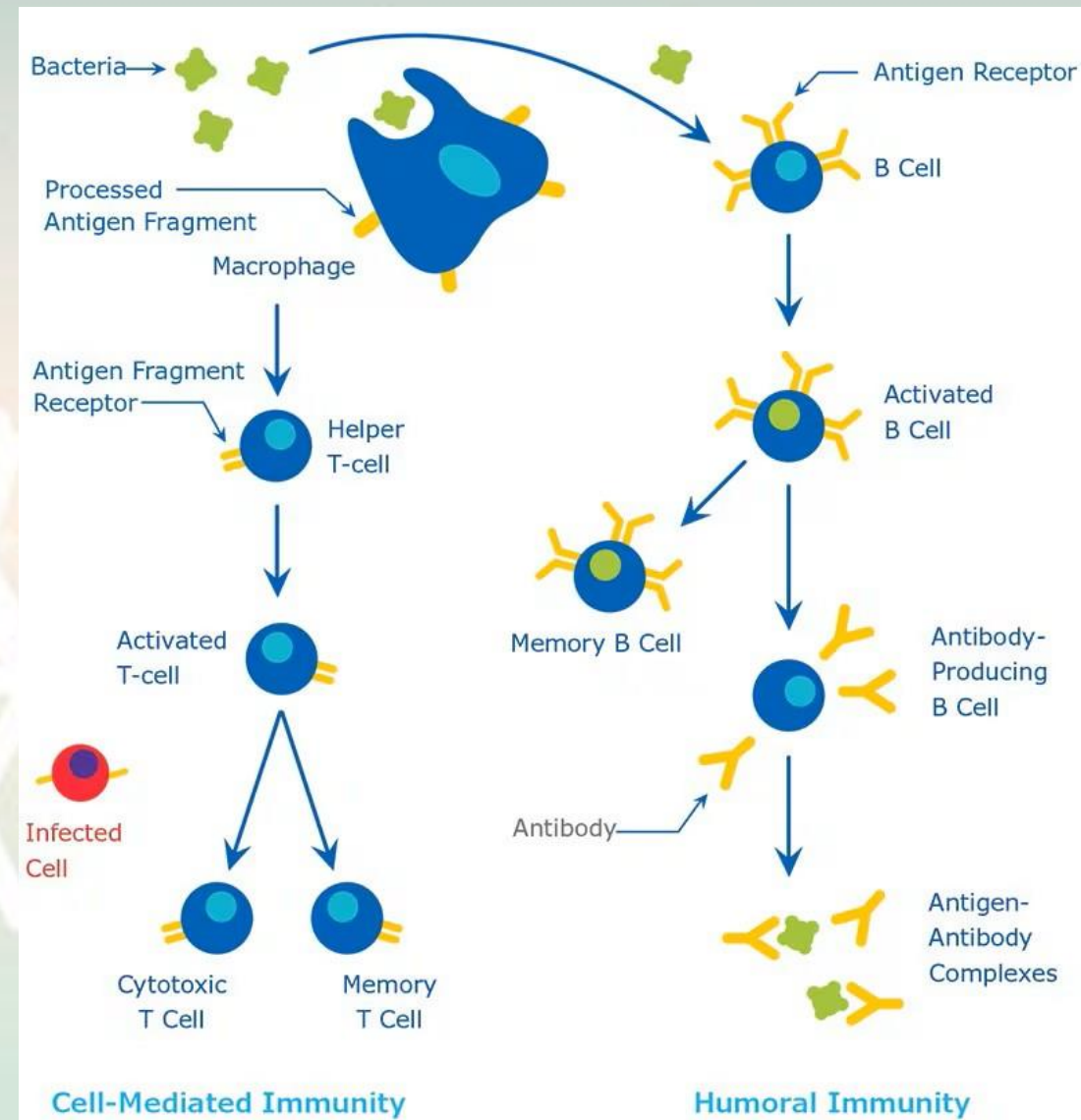
- prvi se pojavljuje u primarnoj reakciji i glavni je intravaskularni zaštitnik
- građen od pet osnovnih četverolančanih jedinica i lanca J povezanih u obliku zvijezde
- najuspješniji u vezanju komplementa
- zbog svoje peterovaljanosti (pentavalentnosti) izaziva aglutinaciju

- **Imunoglobulin E (IgE)**

- najmanje zastupljen razred u serumu
- svojim Fc ulomkom se veže za FCεR receptore na mastocitima i bazofilima
- ključan u alergijskim reakcijama
- obrana od parazita (helminti) – aktivira eozinofile i mastocite

Stanična imunost

- nastaje u reakciji organizma na mikroorganizme koji žive u stanicama, na kemijski izmijenjenje vlastite stanice, na presatke tkiva i organa te na zloćudne tumore
- ovisna o T limfocitima
- može se uspostaviti eksperimentalnim putem
- traje mnogo dulje nego humoralna
- može se pasivno prenijeti T limfocitima iz imune jedinke u singeničnog (genetski identičnog) primaoca



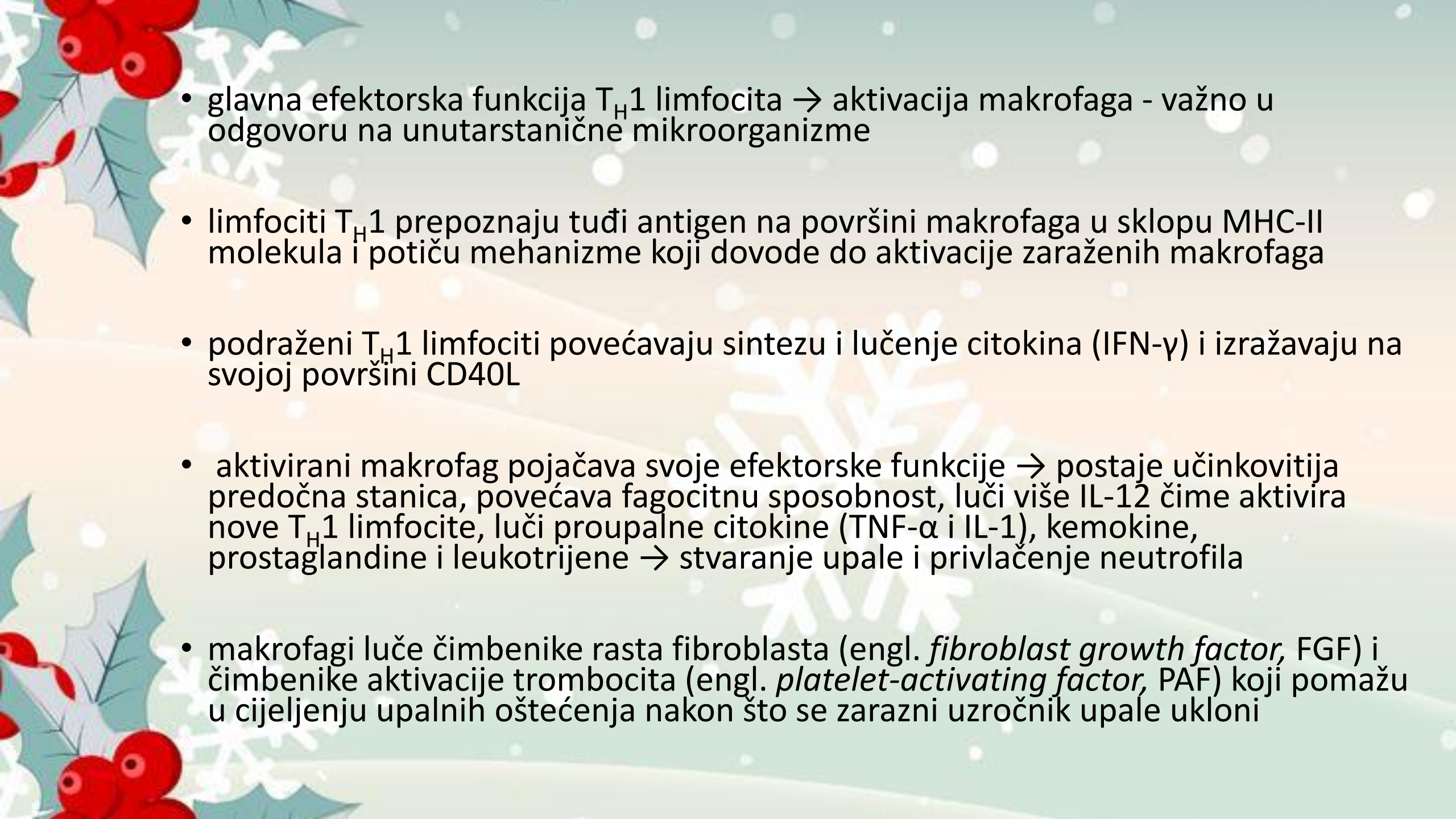


Mehanizmi stanične imunosti

- stanična imunost – skup procesa u kojima imunosne stanice zadobivaju sposobnost lize, pojačane fagocitoze ili inhibicije rasta ciljnih stanica (stanice s tuđim u antigenom)
 - u različitim mehanizmima ubijanja ciljnih stanica sudjeluju: T limfociti, makrofagi, NK stanice i druge stanice koje obavljaju citotoksičnost ovisnu u protutijeljima
 - mehanizmi koji uključuju T-limfocite – stvaranje efektorskih stanica sa sposobnošću lize → citotoksični T limfociti ili proupalni T_H1 limfociti
 - T_H1 limfociti izlučuju citokine ili na svojim membranama izražavaju molekule koje aktiviraju fagocitne stanice → makrofage
 - aktivirani makrofagi stječu sposobnost pojačane fagocitoze i ubijanja fagocitiranih mikroorganizama, a i sposobnost izvanstaničnog razaranja (lize) ciljnih stanica
 - NK stanice - djeluju bez prethodne senzibilizacije → izravno razaraju ciljne stanice
- 

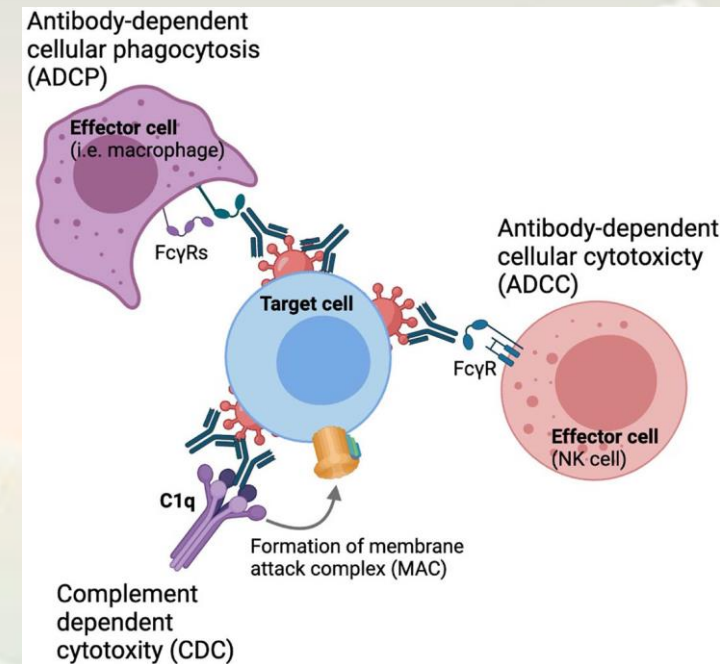
Efektorski T limfociti

- nastaju u specifičnoj imunoreakciji na antigen
- antigen s pomoću makrofaga podražuje T_H0 limfocite → diferenciraju u T_H1 limfocite → lučenje niz topljivih čimbenika (citokina) → aktiviraju makrofage i druge imunosne stanice, a neki djeluju izravno na ciljnu stanicu
- T_H1 limfociti - pomažu umnažanje i sazrijevanje podraženih citotoksičnih T limfocita (T_c)
- u reakciji kadkad nastaju i T_H2 limfociti koji izravno i lučenjem citokina surađuju s B limfocitima u proizvodnji protutijela koja omogućuju upletanje NK stanica u efektorske mehanizme stanične imunosti
- obje vrste efektorskih limfocita djeluju putem izlučenih tvari i tvari vezanih za staničnu membranu
- u reakciji na antigen nastaju i memorijski T limfociti → imaju sposobnost recirkulacije i prolaska kroz endotel tkivnih kapilara → mogućnost dolaska na bilo koje mjesto ulaska antigena u organizam
- **memorijski T limfociti**
 - dugovjeki i čine temelj sekundarne stanične imunoreakcije na antigen
 - prema mjestu naseljavanja i efektorskim funkcijama - **centralne** i **efektorske memorijske stanice**
- **centralne memorijske stanice**
 - izražavaju kemokinski receptor CCR7 i L-selektin te se naseljavaju u limfne čvorove
 - na poticaj antigenom snažno proliferiraju i stvaraju brojne efektorske stanice
- **efektorske memorijske stanice**
 - ne izražavaju receptor CR7 i L-selektin, a naseljavaju periferna tkiva, osobito sluznice
 - nakon restimulacije antigenom luče efektorske citokine (IFN- γ), ali ne proliferiraju

- 
- glavna efektorska funkcija T_H1 limfocita → aktivacija makrofaga - važno u odgovoru na unutarstanične mikroorganizme
 - limfociti T_H1 prepoznaju tuđi antigen na površini makrofaga u sklopu MHC-II molekula i potiču mehanizme koji dovode do aktivacije zaraženih makrofaga
 - podraženi T_H1 limfociti povećavaju sintezu i lučenje citokina (IFN- γ) i izražavaju na svojoj površini CD40L
 - aktivirani makrofag pojačava svoje efektorske funkcije → postaje učinkovitija predočna stanica, povećava fagocitnu sposobnost, luči više IL-12 čime aktivira nove T_H1 limfocite, luči proupalne citokine (TNF- α i IL-1), kemokine, prostaglandine i leukotrijene → stvaranje upale i privlačenje neutrofila
 - makrofagi luče čimbenike rasta fibroblasta (engl. *fibroblast growth factor*, FGF) i čimbenike aktivacije trombocita (engl. *platelet-activating factor*, PAF) koji pomažu u cijeljenju upalnih oštećenja nakon što se zarazni uzročnik upale ukloni

Stanična citotoksičnost ovisna o protutijelima (engl. *Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity*, **ADCC**)

- posreduju efektorske stanice koje mogu razoriti ciljne stanice obložene protutijelima i bez prethodne senzibilizacije na antigen
- najvažnija protutijela u ADCC su: IgG (posebno IgG1 i IgG3), rjeđe IgE (u parazitskim infekcijama)
- Fc dio protutijela služi kao veza između ciljne stanice i efektorske stanice
- djeluju samo one stanice koje imaju receptor za ulomak Fc protutijela
- najveći dio reaktivnosti ADCC-a posreduju NK stanice, ali i neutrofili, eozinofili i makrofagi

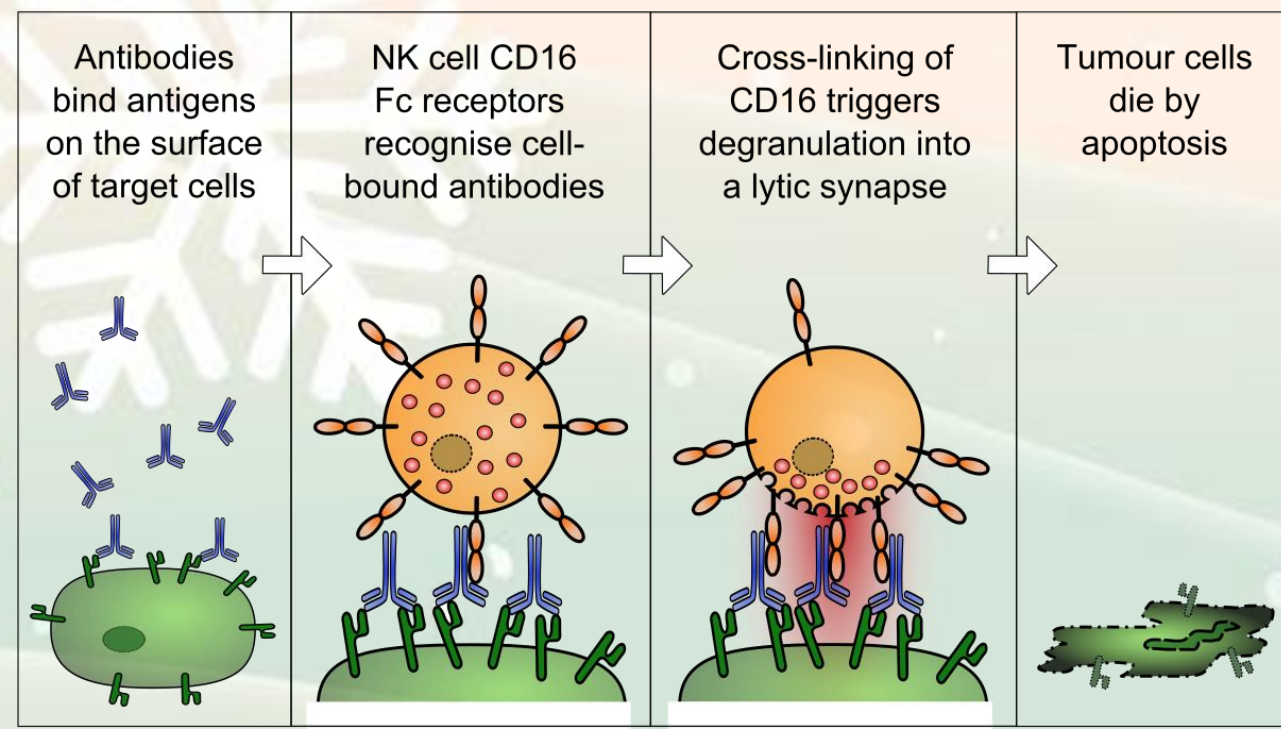


- **NK-stanice**
- izražavaju **FcγRIII (CD16)** receptor
- vežu Fc dio IgG (IgG1 i IgG3) protutijela
- oslobađaju perforin i granzime → induciraju apoptozu

- ostale stanice - otpuštaju reaktivne kisikove spojeve ili enzime

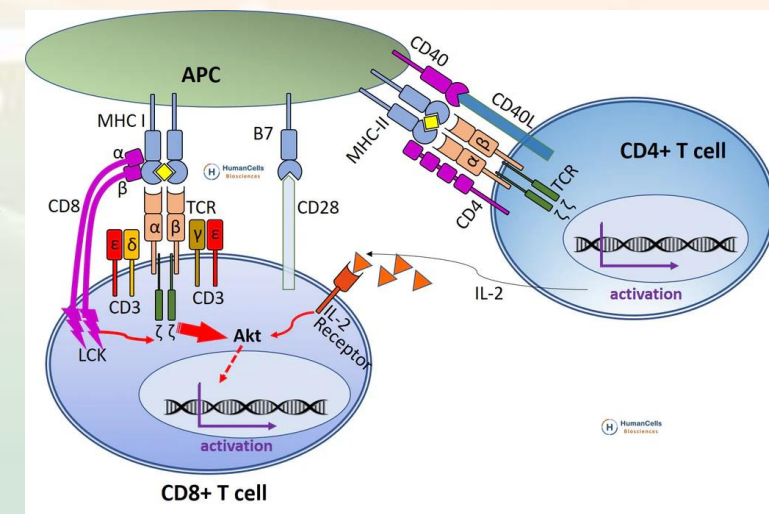
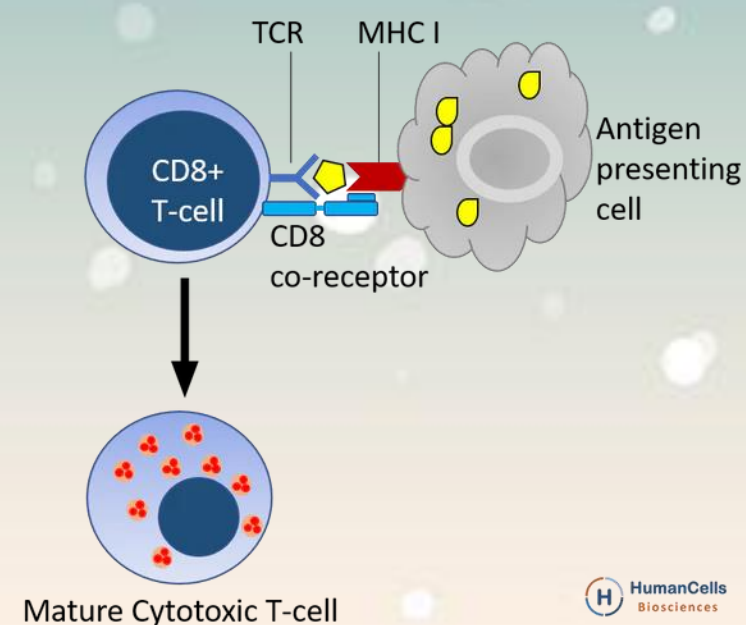


Ciljna stanica se uništava bez fagocitoze!!!



Citotoksični T limfociti (T_C)

- nastaju sazrijevanjem precitotoksičnih T limfocita (T_{PC}) fenotipa CD8+ u zrele efektorske stanice
- prepoznaju peptide iz citosola u sklopu MHC-I molekula
- za prelazak T_{PC} u efektorski T_C potrebna su dva signala
- prvi signal – predočivanje virusnih ili tumorskih antigena predočnim stanicama u sklopu MHC-I molekula
- drugi signal - spajanje molekule B7 na predočnim stanicama sa CD28 na T limfocitu
- za nastanak T_C potrebne i pomagački T_H1 limfociti koji moraju prepoznati antigen u sklopu MHC-II molekula na istoj predočnoj stanici kao i citotoksični T limfocit
- T_H1 limfocit potiče proliferaciju T_C pomoću IL-2 → djeluje samo na klon koji je aktiviran antigenom
- efektorski T_C sadržavaju zrnca s pohranjenim citoksinima (perforinima i granzimima) i prepisuju citokine IFN- γ , TNF- α i TNF- β



• *Mehanizmi razaranja ciljne stanice*

• **Perforin-granzim mehanizam**

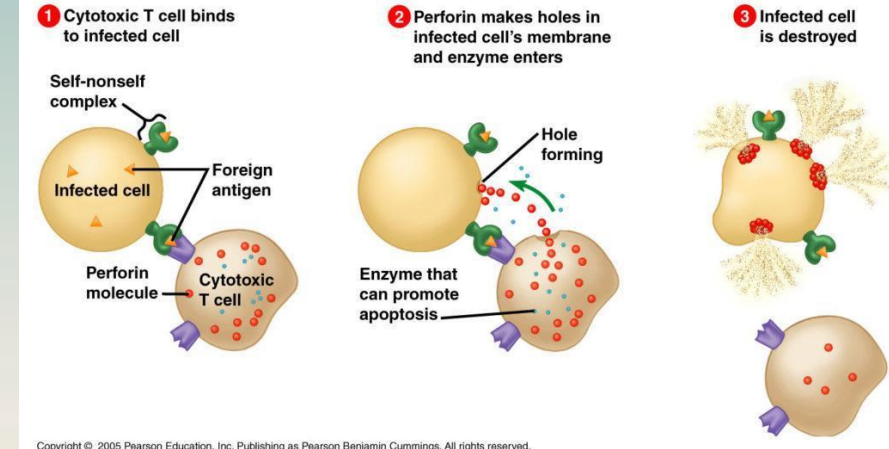
- aktivacija receptora za antigen citotoksičnog T limfocita potiče promjene citoskeleta → egzocitoza zrnaca → perforin polimerizira pri visokim koncentracijama izvanstaničnog kalcija i oblikuje tunel u lipidnom dvosloju cilje stanice

- granzimi i serin-proteaze prolaze kroz perforinske kanale i počinje cijepanje unutarstaničnih proteina

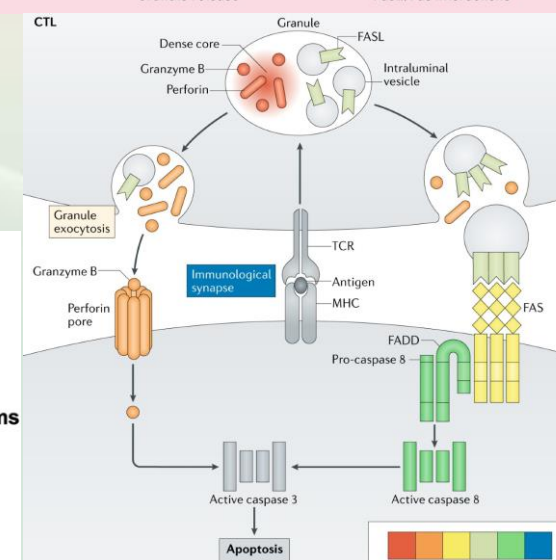
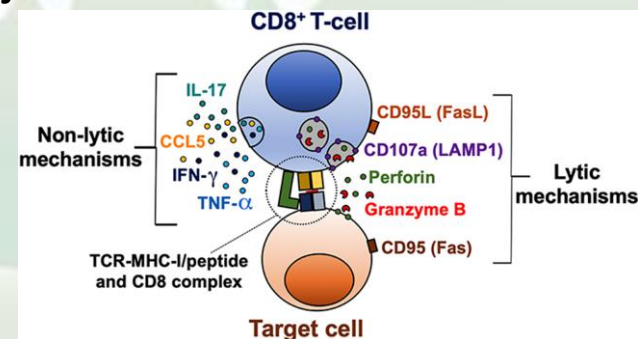
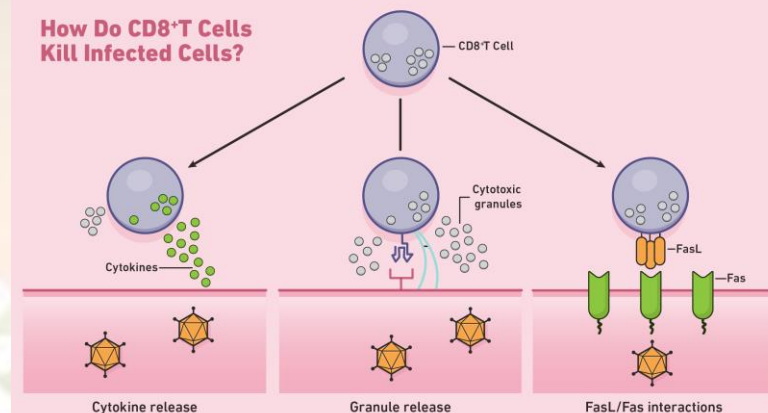
- glavni supstrati granzima B su kaspaze koje pokreću programiranu staničnu smrt

• **Fas–FasL mehanizam**

- nakon aktivacije citotoksičnih T limfocita na površini se izražava membranska molekula Fas-ligand (FasL), koji se veže za molekulu Fas na ciljnim stanicama i uzrokuje programiranu staničnu smrt



How Do CD8⁺T Cells Kill Infected Cells?



Prirodnoubojičke ili NK stanice

- imaju sposobnost da u izravnom dodiru bez prethodne senzibilizacije ubiju tumorske stanice i vlastite stanice zaražene virusom
- mnoge tumorske stanice ili stanice zaražene virusom gube na površini molekule MHC-I → postaju osjetljive na lizu NK stanicama
- markeri:
 - CD16 (FcγRIII) – važan za ADCC
 - CD56 – adhezijska molekula
 - **Receptori NK stanica**
 - a) receptori KIR (engl. *killer cell immunoglobulin-like receptor*) – uglavnom prenose inhibicijski signal
 - b) receptori slični lektinu
 - c) receptor ILT (engl. *immunoglobulin-like transcript*)
- receptori koji sadržavaju sekvencije ITIM (engl. *immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif*) prenose inhibicijski signal, a receptori koji reagiraju s molekulama koje sadržavaju sekvencije ITAM prenose aktivacijski signal
- aktivacija NK stanica ovisi o ravnoteži aktivacijskih i inhibicijskih signala
- razvoj i funkcija ovise o citokinima - IL-15, IL-12 i IL-2
- njihovu aktivnost koče TGF-β i IL-10



- **Mehanizmi citotoksičnog djelovanja**

- a) Perforin–granzim mehanizam***

- perforin stvara pore u membrani ciljne stanice
 - granzimi ulaze i induciraju apoptozu

- b) Fas–FasL mehanizam***

- aktivacija receptora smrti → programirana stanična smrt

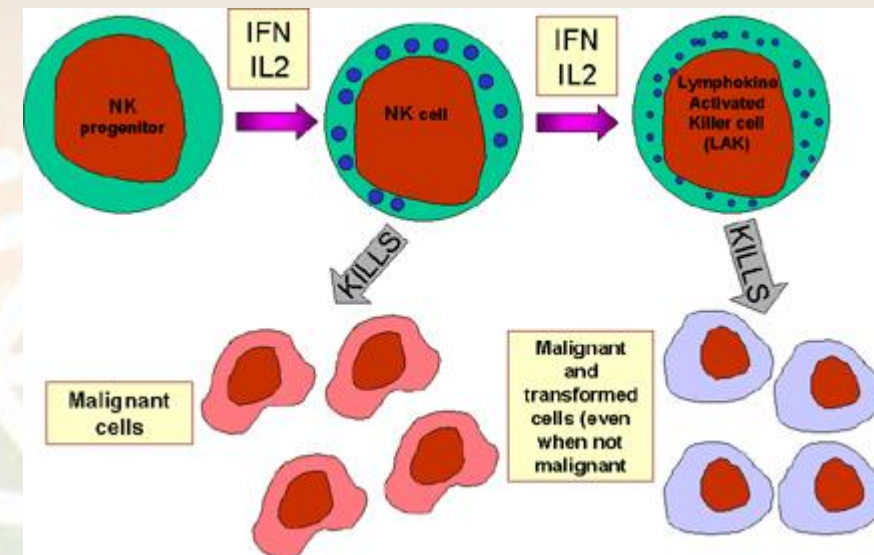
- c) ADCC (citotoksičnost ovisna o protutijelima)***

- CD16 veže Fc dio IgG
 - NK stanice ubijaju protutijelima obložene stanice

- NK stanice proizvode citokine - IFN- γ , TNF- α → aktivacija makrofaga, poticanje T_H1 odgovora, pojačavanje stanične imunosti

Ubojičke stanice aktivirane limfokinima (LAK stanice)

- predstavljaju populaciju citotoksičnih limfocita koji nastaju od NK stanica koje su izložene djelovanju citokina → IL-2
- imaju sposobnost nespecifičnog uništavanja tumorskih stanica, uključujući i one koje su otporne na djelovanje NK-stanica
- djeluju neovisno o MHC molekulama
- uništavaju ciljne stanice putem:
 - a) perforin–granzim mehanizma → induciraju apoptozu
 - b) Fas–FasL mehanizma → programirana stanična smrt



Citokini stanične imunosti

- najvažniji su IFN- γ , IL-2, IL-1, IL-12, TNF- α i TNF- β

- **IFN- γ**

- djeluje kao faktor aktivacije makrofaga → pojačava fagocitozu, citotoksičnost i ostale funkcije makrofaga
- pojačava aktivnost NK stanica i izraženost molekula MHC na predočnim i ciljnim stanicama
- inhibira umnažanje virusa u zaraženim stanicama i djeluje sinergistički TNF- α

- **IL-2**

- potiče proliferaciju aktiviranih T limfocita, sazrijevanje citotoksičnih T limfocita
- pojačava aktivnost NK stanica i nastanak LAK stanica

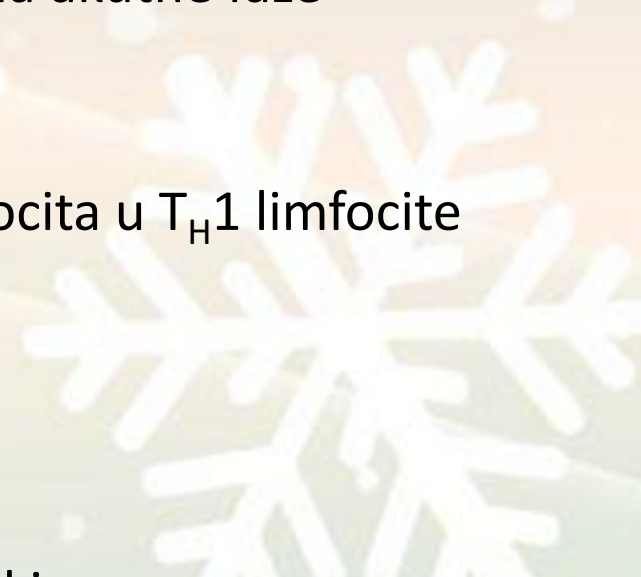
- **IL-1**

- ključni proupalni citokin
- djeluje kao kostimulacijski signal – aktivira CD4+ T limfocite
- djeluje na hipotalamus → uzrokuje povišenu tjelesnu temperaturu (groznicu)
- potiče jetru na sintezu proteina akutne faze

- **IL-12**

- potiče diferencijaciju T_H0 limfocita u T_H1 limfocite
- aktivira NK stanice

- **Citoksini TNF-α i TNF-β**

- izravno ubijaju ciljne stanice
 - djeluju proupalno, kemotaktički
 - pojačavaju izražavanje MHC-II molekula
 - pospješuju lučenje drugih limfokina
- 
- 