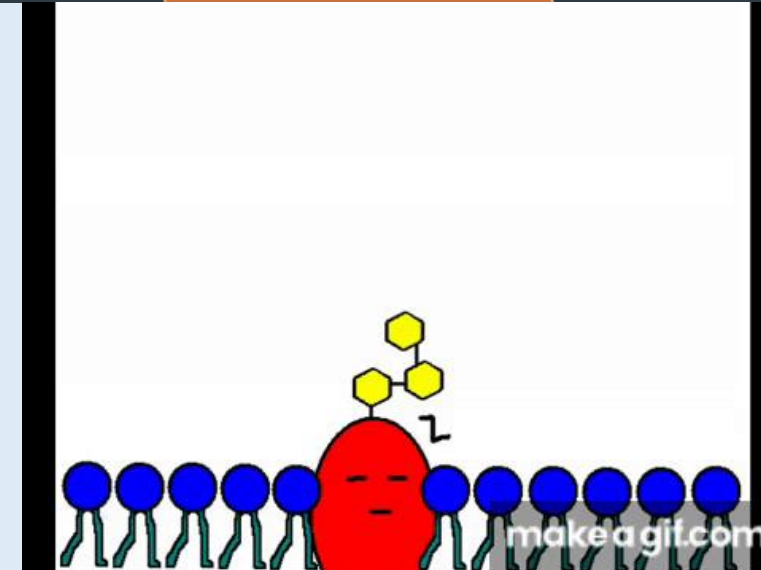
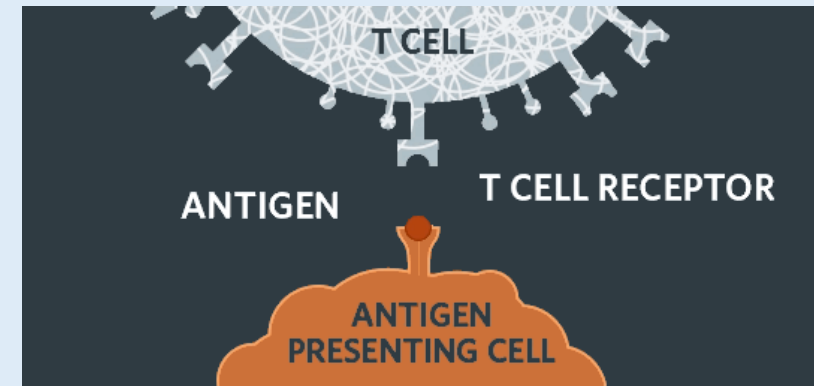




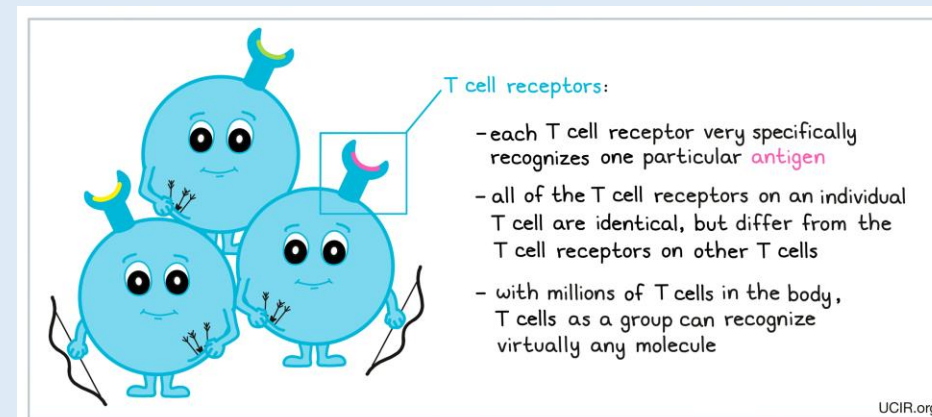
Imunosno prepoznavanje i stanične interakcije

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

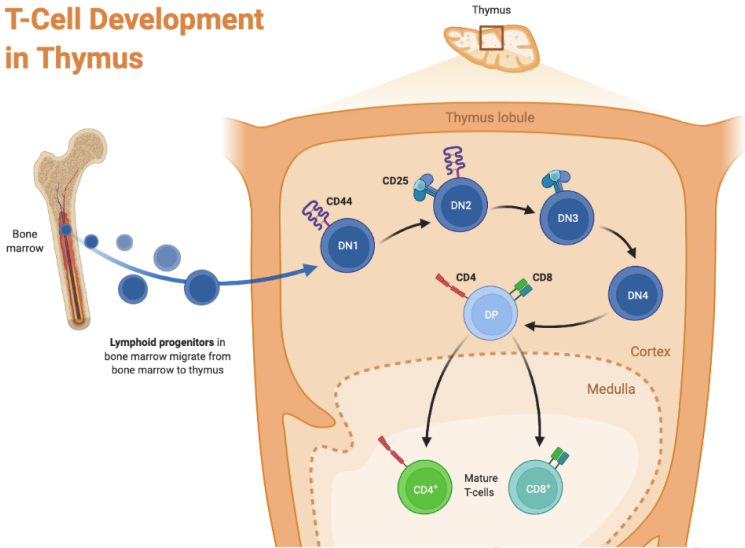
- **Imunoreakcija** – niz složenih djelovanja unutar stanica imunosnog sustava, te između imunosnih i ciljnih stanica organizma
- **Prepoznavanje** se obavlja površinskim receptorima dva sustava koji su klonски organizirani: **klonovi B** i **klonovi T** limfocita
 - limfociti B prepoznaju antigene izvan stanica pomoću membranskih imunoglobulinskih receptora
 - limfociti T prepoznaju strane peptide koji su nastali unutarstaničnom obradom antigena i prikazani su na površini stanice vezani uz MHC molekule
- **Specifičnost** znači da se reakcija odvija samo prema onom antigenu koji je reakciju pokrenuo
- **Imunosno pamćenje** - sposobnost organizma ili imunokompetentnih stanica da na ponovljeni ulazak istog antigena odgovore bržom, žestćom i djelotvornijom reakcijom



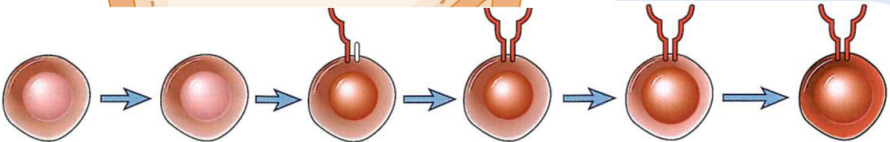
- **klon** - skupina limfocita koji potječu od jedne jedine matične stanice i svi imaju identičan antigen-specifični receptor (BCR ili TCR)
- *karakteristike klona*:
 - svi pripadnici klona imaju isti BCR ili isti TCR
 - svi prepoznaju isti antigen ili isti epitop
 - svi su nastali proliferacijom jedne „*osnove stanice*“ nakon aktivacije antigena
 - klon može sadržavati efektorske stanice i memorijske stanice
- klon se formira tek nakon što limfocit prepozna antigen i dobije kostimulacijske signale
- aktivacija dovodi do klonalne ekspanzije i stvaranja efektorskih i memorijskih stanica
- klon je monospecifičan za određeni antigen



T-Cell Development in Thymus

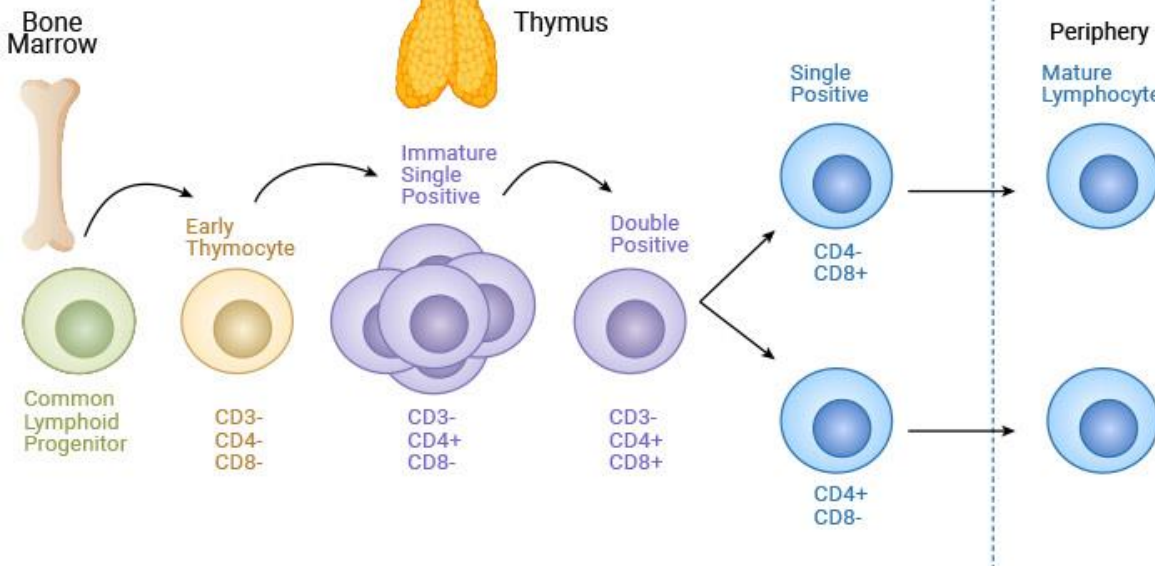


Sazrijevanje T limfocita

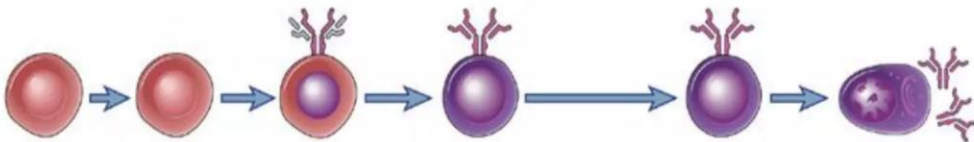


stupanj u sazrijevanju	matična stanica	pro-T	pre-T	dvostruko pozitivni	jednostruko pozitivni (nezrela stanica T)	zrela stanica T
proliferacija						
izražaj RAG						
izražaj TdT						
TCR DNA, RNA	nerekombinirana DNA (DNA u zametnoj lozi)		rekombinirani gen lanca β [V(D)J-C]; mRNA lanca β		rekombinirani geni lanca β i α [V(D)J-C]; mRNA lanca β i α	
izražaj TCR	nema	nema	receptor pre-T (lanac β/pre-Tα)		membranski TCR-αβ	
površinski biljezi	c-kit ⁺ CD44 ⁺ CD25 ⁻	c-kit ⁺ CD44 ⁺ CD25 ⁺	c-kit ⁺ CD44 ⁺ CD25 ⁺	CD4 ⁺ CD8 ⁺ TCR/CD3 ^{slabo} +	CD4 ⁺ CD8 ⁻ ili CD4 ⁻ CD8 ⁺ TCR/CD3 ^{jako} +	
anatomsko područje	koštana srž	timus				periferija
odgovor na antigen	nema	nema	nema	pozitivna i negativna selekcija		aktivacija (proliferacija i diferencijacija)

SLIKA 8-17. Stupnjevi sazrijevanja stanica T. Prikazana su zbivanja koja odgovaraju svakom stupnju sazrijevanja stanice T, od matične stanice u koštanoj srži do zrelog limfocita T. Uz biljege prikazane na slici, brojni se površinski biljezi rabe za određivanje svakog stupnja sazrijevanja stanica T.



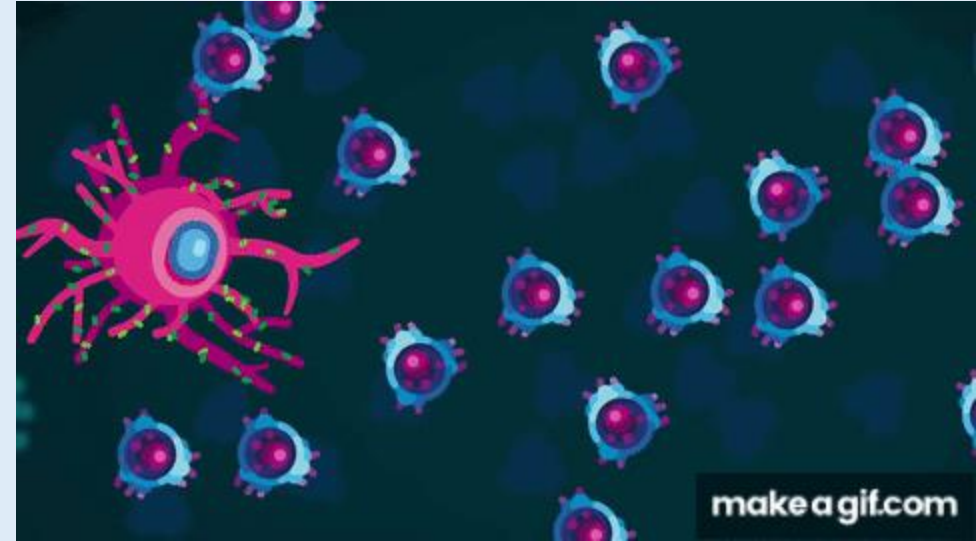
Stages of lymphocyte maturation (Abbas Chapter 8)



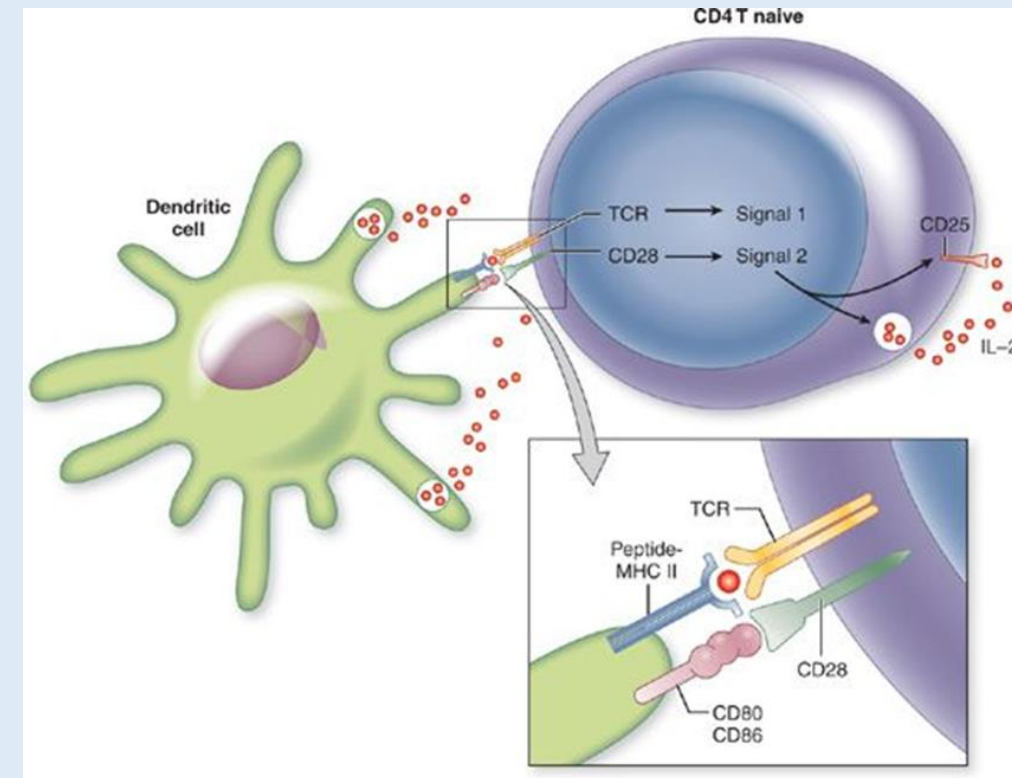
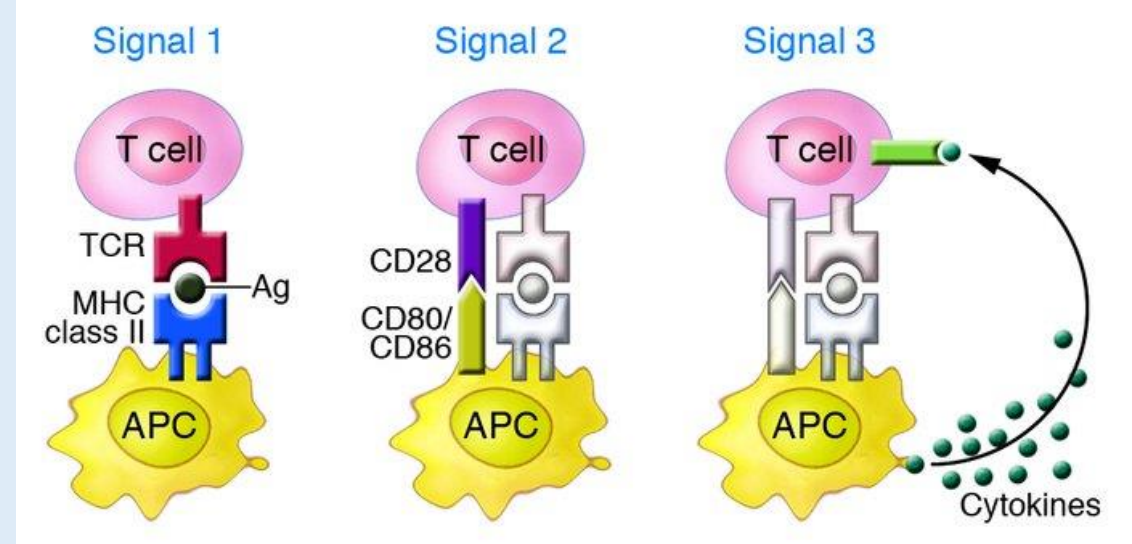
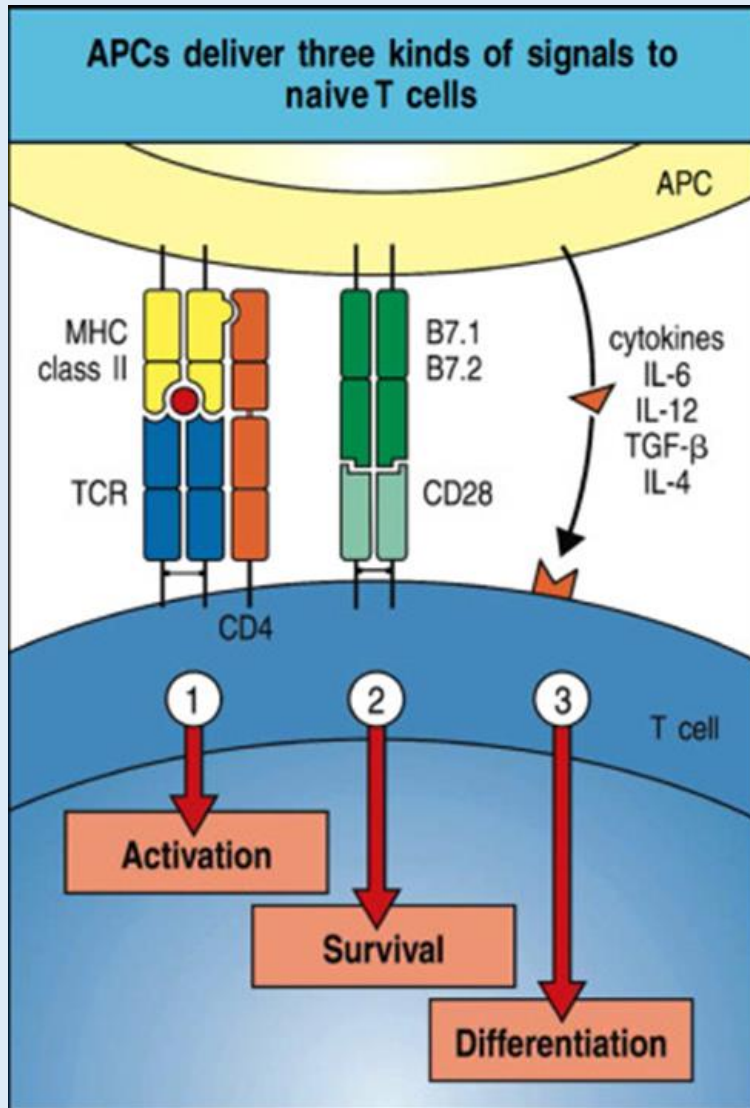
Stage of Maturation	Stem cell	Pro-lymphocyte	Pre-lymphocyte	Immature lymphocyte	Mature lymphocyte	Differentiated effector lymphocyte	
Major Events	Growth factor mediated commitment, expansion; initiation of antigen receptor gene rearrangement		Selection of cells that express pre-antigen receptors		Selection of repertoire and acquisition of functional competence	Initial responders	Performance of effector functions
Anatomic Site	Generative organ (bone marrow or thymus)			Peripheral lymphoid organ or tissue			
Antigen Dependence	No		Self antigen		Foreign antigen		

Slijed imunoreakcije

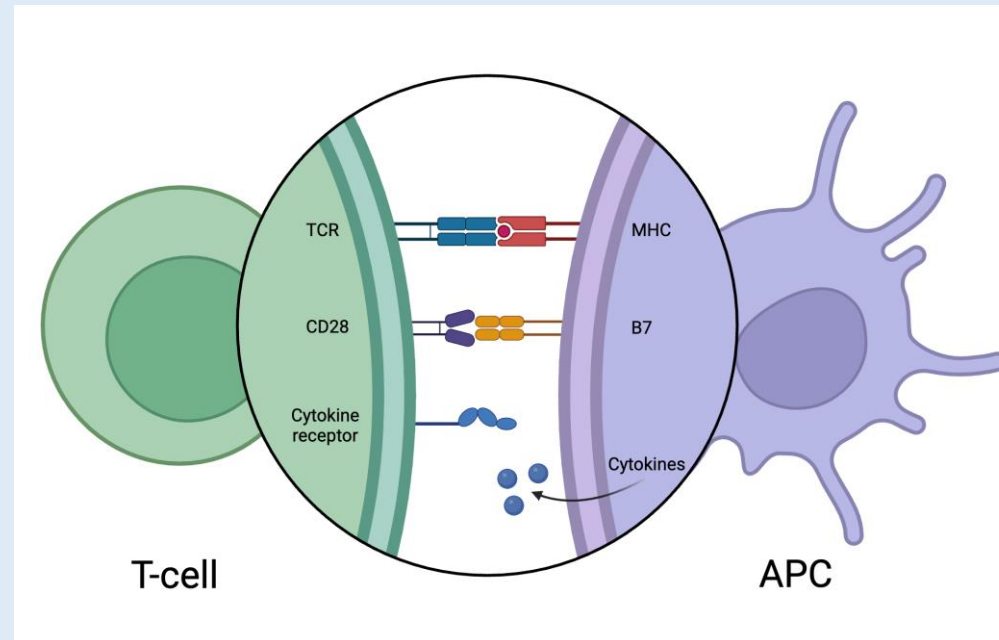
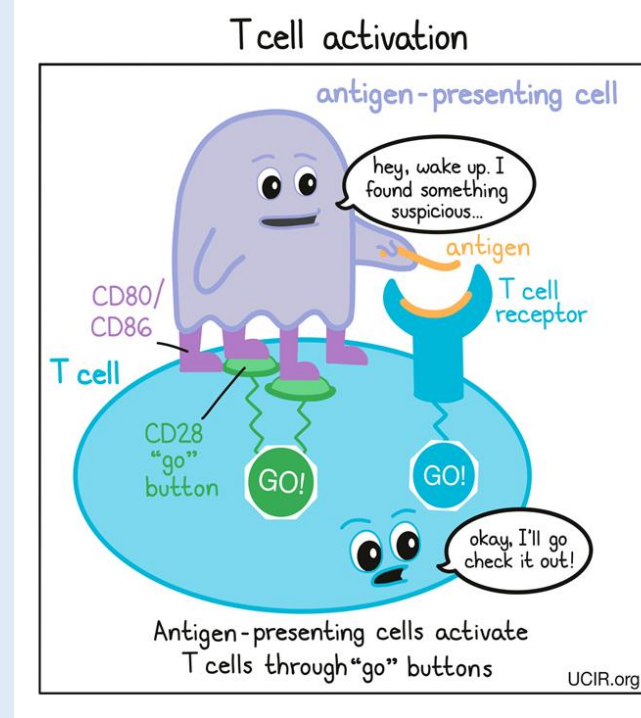
- zbivanja od ulaska antigena u organizam do njegova uklanjanja
- specifična imunoreakcija:
 - **aferentni dio** – hvatanje, preradba i predočivanje antigena
 - **središnji dio** – reakcije imunskih stanica
 - **eferentni dio** – izvršni mehanizmi uklanjanja antigena



Aktivacija T limfocita



- T limfociti cirkuliraju u tijelu u „naivnom“ stanju, sve dok ne susretnu antigen u sekundarnim limfatičnim organima
- za njihovu **aktivaciju potrebna** su **tri signala**: prepoznavanje antigena, kostimulacija i citokinska stimulacija
- **prvi signal** (aktivacijski) – dobije spajanjem receptorskog kompleksa (TCR + CD3 kompleks + ζ lanac) i kompleksom molekula MHC-II i peptida tuđeg antigena
- kompleks TCR–MHC-peptid, zajedno s pomoćnim koreceptorima (CD4 ili CD8) predstavlja početak aktivacije
- **drugi signal** (preživljenja) – može dati samo antigen prezentirajuća stanica jer ima odgovarajuće kostimulacijske membranske molekule
- kostimulacija pojačava signalne puteve, povećava preživljavanje i snažno inducira proizvodnju IL-2 → ključnog citokina za proliferaciju T-limfocita
- **treći signal** (diferencijacijski) – služi za usmjerivanje imunoreakcije, a usmjerivanje se odnosi na diferencijaciju podvrsta limfocita
- APC izlučuju citokine koji određuju u koju vrstu efektorske stanice će se T-limfocit diferencirati
- citokini - ključni za određivanje tipa imunosnog odgovora (stanični, humoralni, protuvirusni itd.)

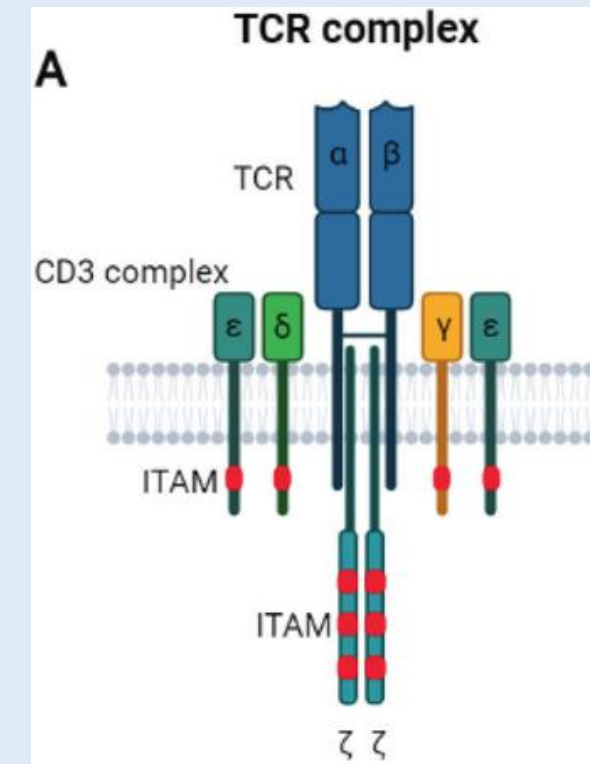
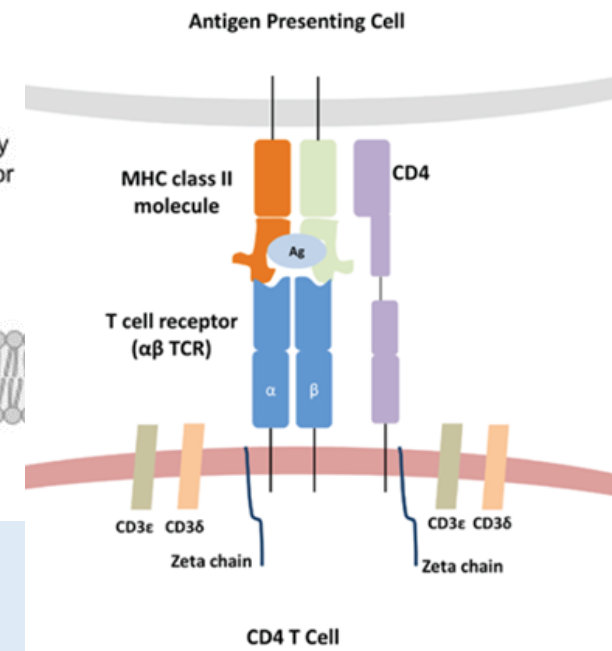
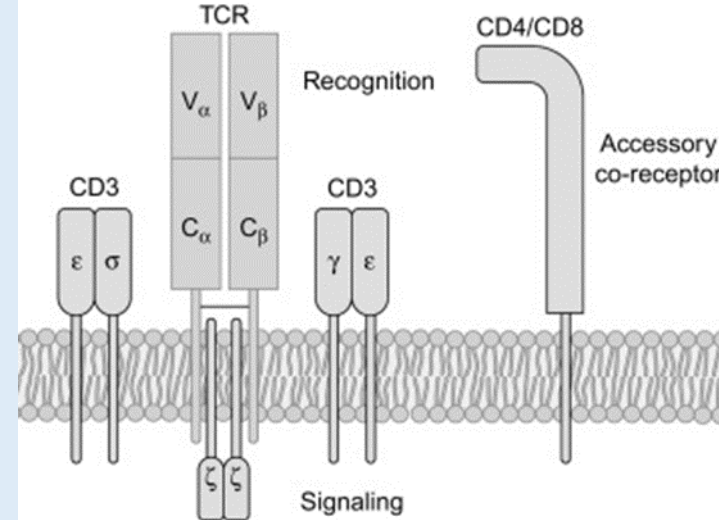


Prijenos signala u T limfocit

- **receptorski kompleks limfocita T:**

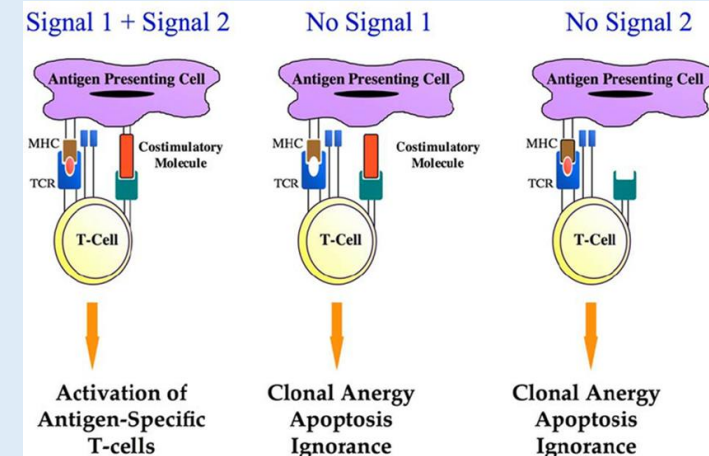
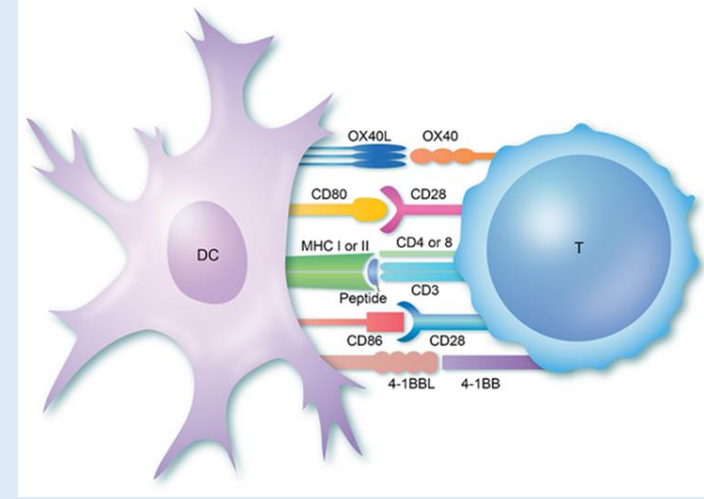
- antigenski receptor limfocita T (TCR- $\alpha\beta$)
- CD3 kompleksa
- homodimera sastavljenog od dvaju ζ lanca

- unutrašnji dijelovi CD3 kompleksa i ζ lanca → **ITAM** koji međudjelovanjem sa tirozin-kinazama **posreduju prijenos signala u stanicu**
- prijenos signala u T limfocit nakon dodira s antigenom zahtijeva nakupljanje receptora, koreceptora, kostimulacijskih i adhezijskih molekula što pospješuje djelovanje tirozin kinaza
- **koreceptorske molekule CD4 i CD8** pojačavaju signaliziranje specifičnim antigenским receptorom
- CD4 i CD8 nalaze se na T limfocitima → vežu se za konstantni dio molekule MHC (CD4 na MHC-II; CD8 na MHC-I)
- vezanje koreceptorskih molekula i molekula MHC predočne stanice povećava afinitet receptora za antigen



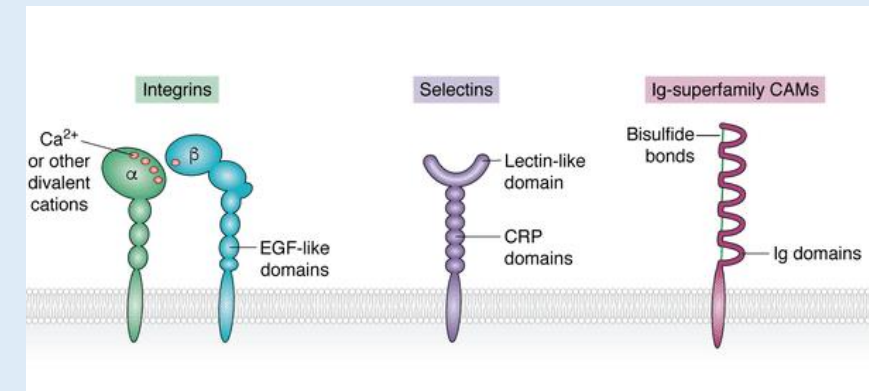
Kostimulacijske molekule

- spajanje receptorskog kompleksa (TCR kompleks) te kompleksa molekula MHC-II i peptida na predočnoj stanici nije dostatno za aktivaciju T limfocita
- kostimulacijske molekule potiču aktivaciju limfocita T vezanjem za ligande koji nisu dio kompleksa MHC-peptid (*drugi signal*)
- **kostimulacijski signal** → spajanje molekule CD28 na T limfocitu i molekule B7 na predočnoj stanici
- **molekule B7** uključuju:
 - glikoproteine B7-1 (CD80) na limfocitima B
 - B7-2 (CD86) na makrofagima, dendritičkim stanicama i aktiviranim B limfocitima
- **Ostali parovi kostimulacijskih molekula:**
 - CD40-L (CD154) na T limfocitu i CD40 na predočnim stanicama
 - 4-1BB (CD137) na T limfocitu i 4-1BB-L na predočnim stanicama
 - OX-40 na T limfocitu i OX-40-L na predočnim stanicama
- sve kostimulacijske molekule potiču međusobnu aktivaciju uključenih stanica i daljnju proliferaciju i diferencijaciju limfocita te lučenje čimbenika rasta i citokina
- T limfociti izražavaju **CTLA-4** (CD152) koji se veže s molekulom B7 → **kočenje prevođenja aktivacijskog signala i ograničavanje proliferacije T limfocita**
- **anergija limfocita** - stanje trajne funkcionalne neaktivnosti koje nastaje kad limfocit prepozna antigen bez odgovarajuće kostimulacije → sprječavanje neželjene aktivacije, osobito protiv vlastitih tkiva



Adhezijske molekule

- površinski stanični proteini koje posreduju u izravnom vezanju jedne stanice uz drugu ili uz proteine izvanstaničnog maktriksa
- važne za gibanje i aktivaciju limfocita
- glavne skupine za gibanje (recirkulaciju) i aktivaciju limfocita:
 - 1) selektini
 - 2) vaskularni adresini
 - 3) integrini
 - 4) molekule imunoglobulinske superporodice

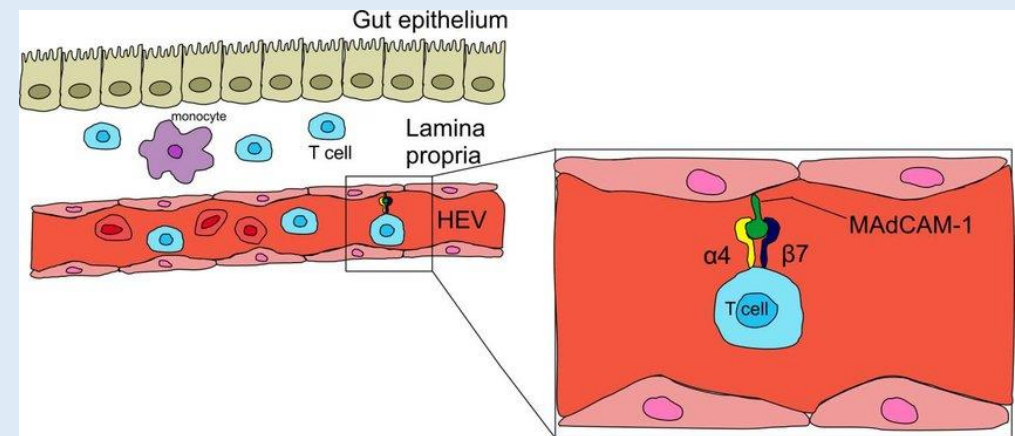
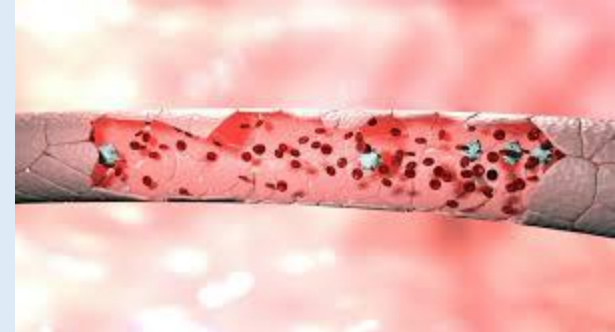


- **Selektini – membranski glikoproteini**

- važni za naseljavanje stanica u određena tkiva
- izraženi na leukocitima (L-selektin) i krvožilnim endotelnim stanicama (P-selektin i E-selektin)
- L-selektin → izražen na nepodraženim T limfocitima; usmjeruje T limfocite iz krvi u periferna limfna tkiva
- P-selektin i E-selektin → izraženi na endotelu zaraženoga tkiva; usmjeruju izvršne stanice na mjesto infekcije
- omogućuju početno slabo prijanjanje leukocita za endotel

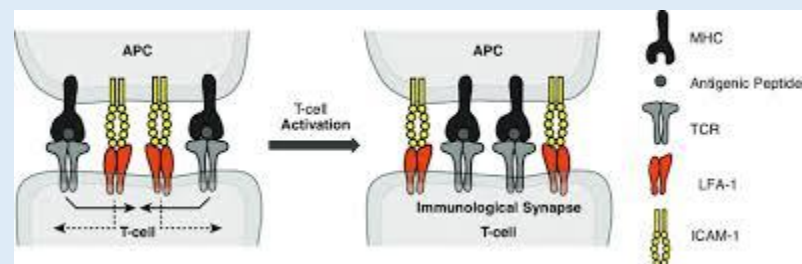
• Vaskularni adresini

- ✓ molekule slične mucinu
- ✓ CD34 i GlyCAM-1 (engl. *glycosylation-dependent cell adhesion molecule 1*) → izraženi na endotelu venula limfnih čvorova
- ✓ MadCAM-1 (engl. *mucosal vascular addressin cell adhesion molecule 1*) → izražen na endotelu sluznica i usmjeruje limfocite u sluzničko limfno tkivo
- ✓ reakcija L-selektina i vaskularnih adresina odgovorna za naseljavanje T limfocita u limfna tkiva
- ✓ za prolaženje kroz endotelnu prepreku potrebni i integrini i molekule imunoglobulinske superporodice



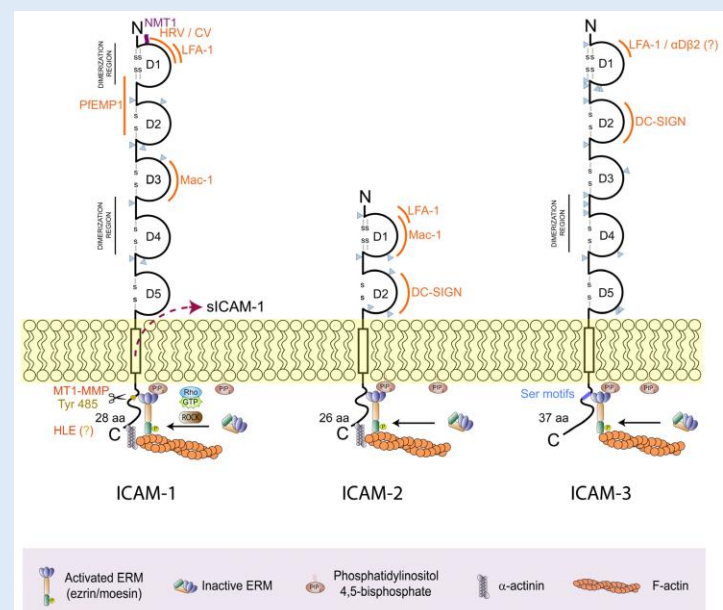
• Integrini

- ✓ velika porodica molekula koje usmjeravaju stanice u tijeku diferencijacije te povezuju stanice s izvanstaničnim matriksom
- ✓ građeni od dvaju nekovalentno vezanih polipeptidnih lanaca (α i β)
- ✓ uz odgovarajući signal kemokinima $\rightarrow$ leukocitni integrini se vežu za ligande na endotelnim ili predočnim stanicama $\rightarrow$ prolaz leukocita kroz endotel i ulazak u tkiva na mjesto diferencijacije ili infekcije
- ✓ **LFA-1** (engl. *lymphocyte function-associated antigen 1*) – nužan za aktivaciju i prelazak T limfocita iz krvi u tkiva
- ✓ **VLA-4** (engl. *very late activation antigen 4*) – izražaj se povećava u kasnijoj fazi aktivacije T limfocita i važan je za odlazak izvršnih stanica na mjesto infekcije



• Molekule imunoglobulinske superporodice

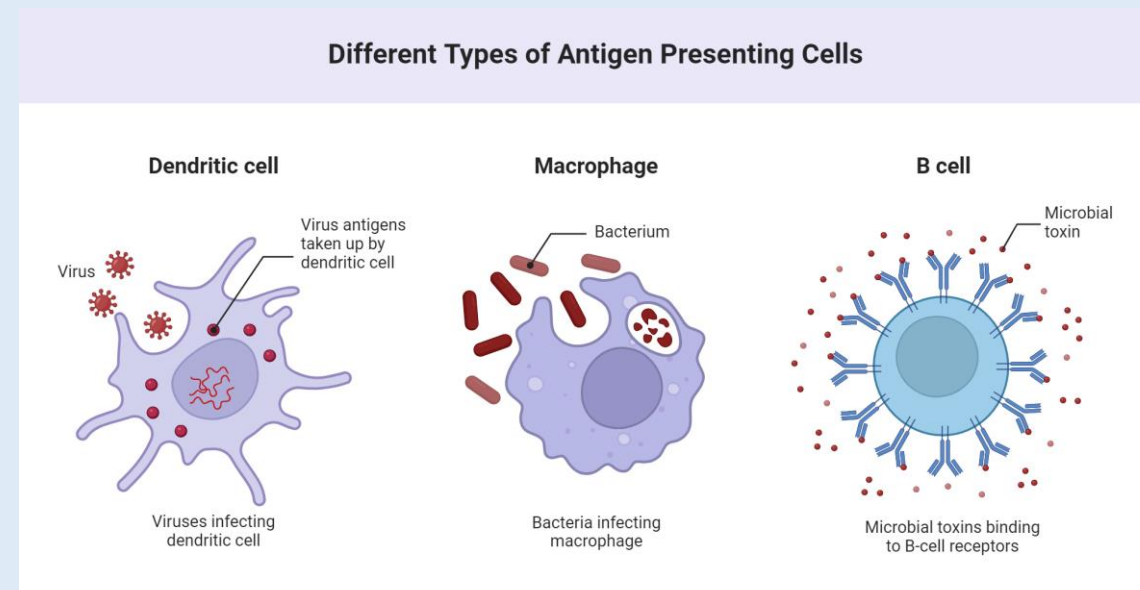
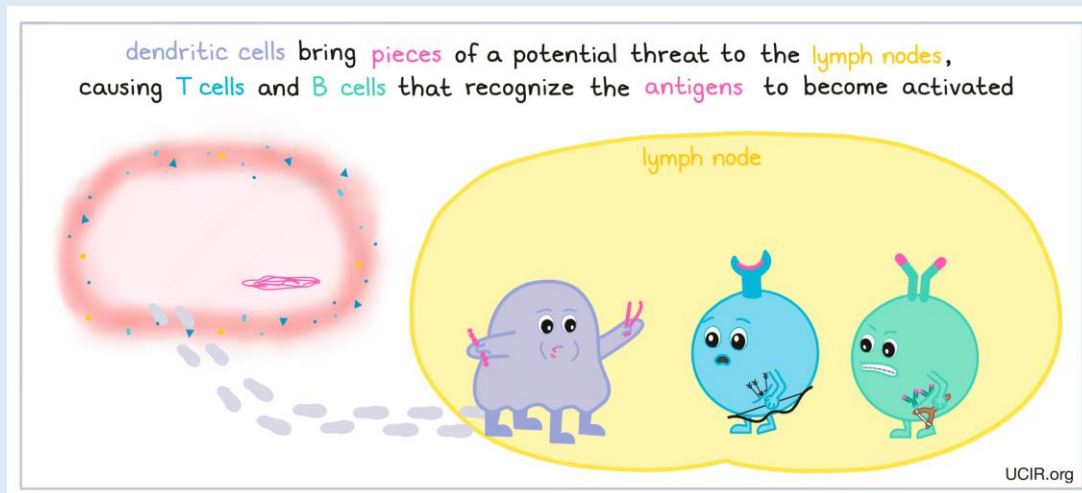
- ✓ za aktivaciju T limfocita $\rightarrow$ ICAM-1, ICAM-2 i ICAM-3
- ✓ ICAM-1 i ICAM-2 $\rightarrow$ nalaze se na endotelu i predočnim stanicama i vežu se s LFA-1 što omogućuje T limfocitima prelazak kroz krvožilne stijenke
- ✓ ICAM-3 $\rightarrow$ važna u dodiru T limfocita i dendritičke stanice



Predočne stanice

- podraživanje predočnih stanica pojačava njihovu sposobnost predočivanja antigena i aktivacije T limfocita
- dendritičke stanice i makrofagi izražavaju receptore TLR i NOD koji nakon vezanja antigena pojačavaju izražaj molekula MHC i kostimulacijskih molekula

!!! vaskularne endotelne stanice izražavaju molekule MHC-II i kostimulacijske molekule!!!



Dendritičke stanice – predočivanje virusnih antigena

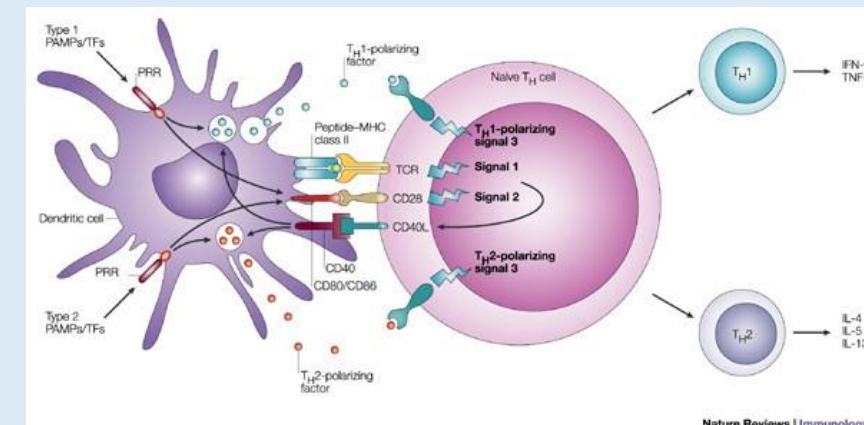
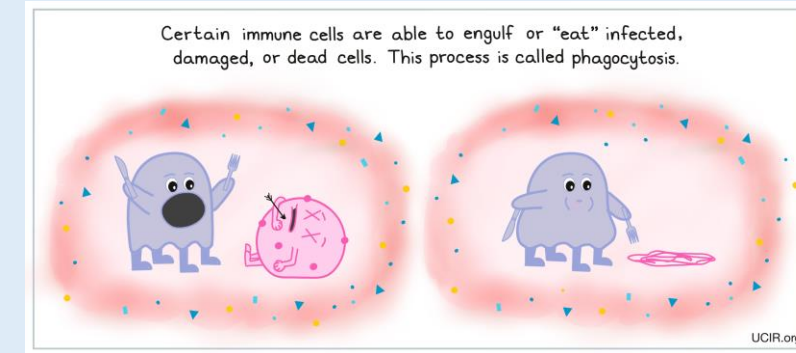
- strateški raspoređene na mjestima ulaska mikroorganizama i stranih antigena u tijelo
- dospijevaju u područja T limfocita limfnih područja
- prema fenotipu – nekoliko podvrsta dendritičkih stanica:
 - a) **mijeloidne** – nalaze se u perifernim tkivima i u limfnim organima
 - b) **plazmocitoidne** – nalaze se u krvi; potiču odgovor T limfocita na viruse

- Tkivne (nezrele) dendritičke stanice

- dijele se na **Langerhansove stanice** u epidermisu i drenirajućim limfnim žilama te **intersticijske stanice** u dermisu
- imaju receptore za prepoznavanje bakterijskih antigena, ali nemaju izražene kostimulacijske molekule
- nezrele dendritičke stanice hvataju antigene fagocitozom
- kada budu aktivirane → iz kože putuju u limfne čvorove → smještaj u područja T limfocita i diferencijacija u zrele dendritičke stanice → gubitak sposobnosti fagocitoze te pojačan izražaj kostimulacijskih molekula i MHC molekula
- predočuju virusne peptide u sklopu molekula MHC-II

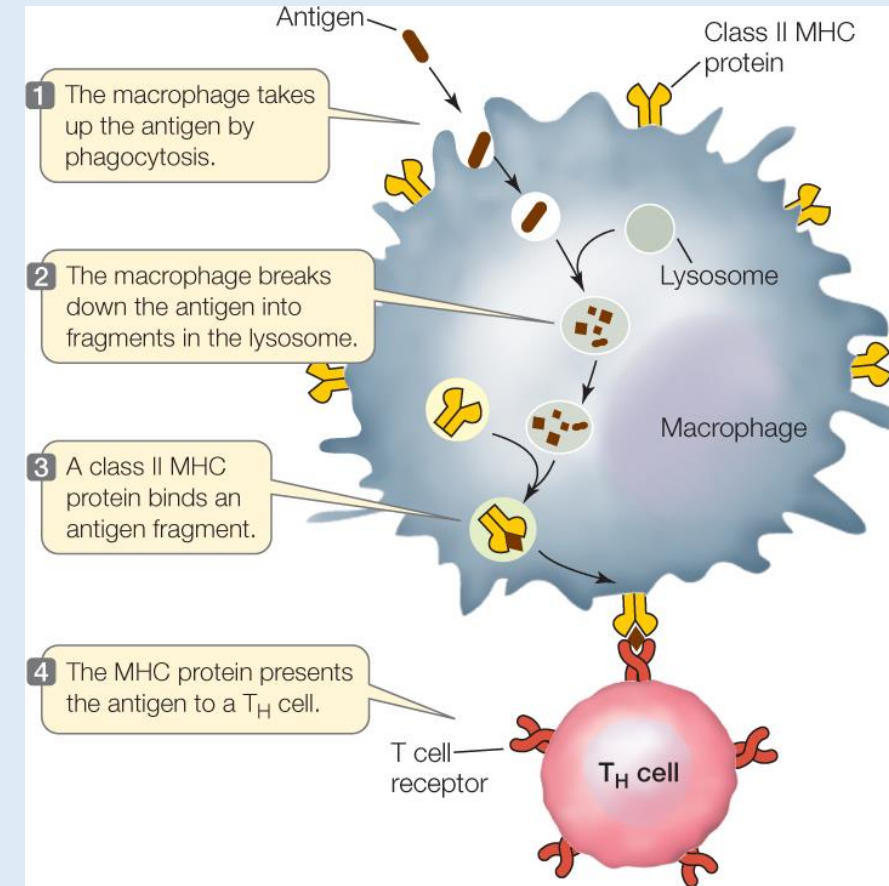
- Dendritičke stanice u limfnome tkivu

- zrele profesionalne predočne stanice
- nalaze se u limfnim čvorovima, slezeni i limfoidnim folikulima
- njihova uloga je prezentacija antigena T-limfocitima i aktivacija adaptivnog imuniteta
- predočuju antigene različitih mikroorganizama – gljivice, bakterije, viruse
- predočuju virusne peptide u sklopu molekula MHC-I



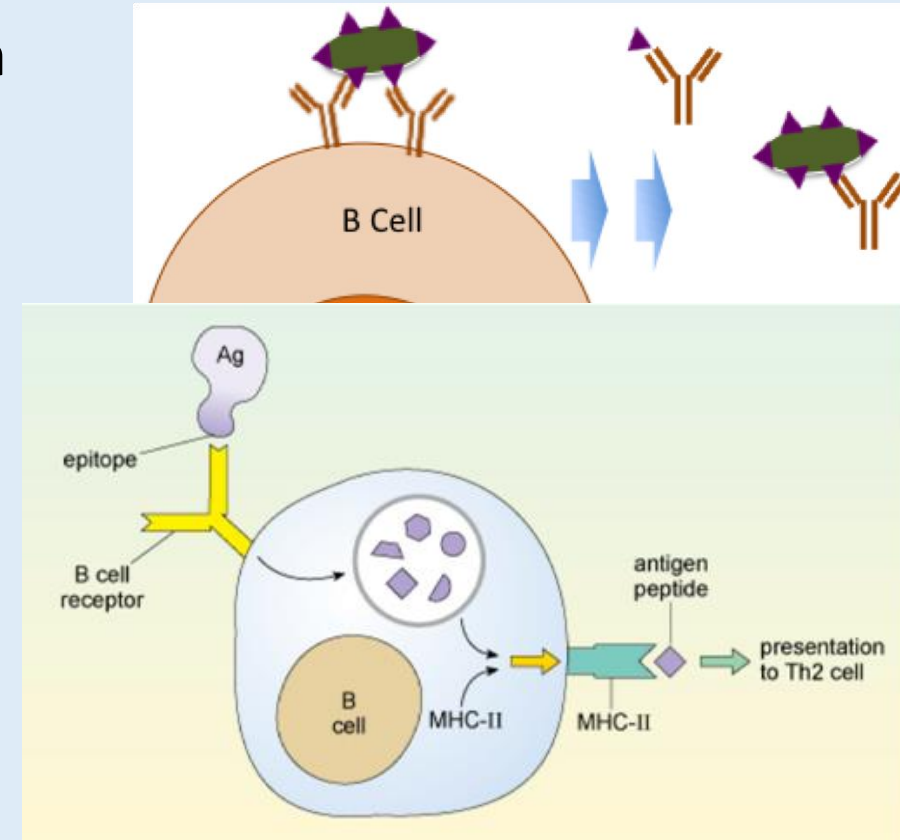
Makrofagi – predočivanje fagocitiranih antigena

- sudjeluju u nekoliko faza u međudjelovanju s T-limfocitima:
 - 1) tijekom **nespecifične upalne reakcije** → **fagocitiraju antigen**
 - 2) postojanje **daljnje infekcije** → **prerada i predočavanje antigena** djevičanskim pomagačkim T limfocitima tijekom aferentnog dijela imunoreakcije
 - 3) u **efektorskoj fazi predočuju antigene diferenciranim subpopulacijama pomagačkih T limfocita** → daljnja aktivacija samih makrofaga u sklopu staničnog imunosnog odgovora
- nepodraženi makrofagi – malo molekula MHC-II na svojoj površini, a nemaju molekule B7
- nakon prepoznavanja antigena, fagocitoze i uz pomoć IFN- γ pojačano se izražavaju kostimulacijske molekule i molekule MHC



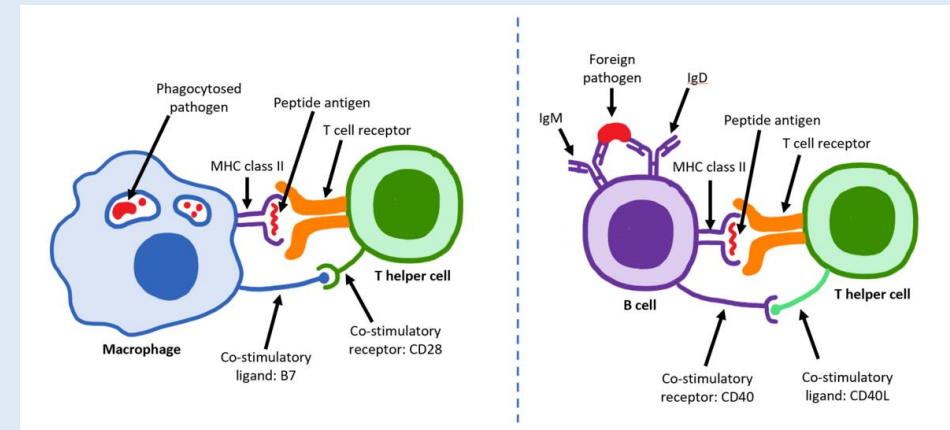
Limfociti B – predočivanje topljivih antigena

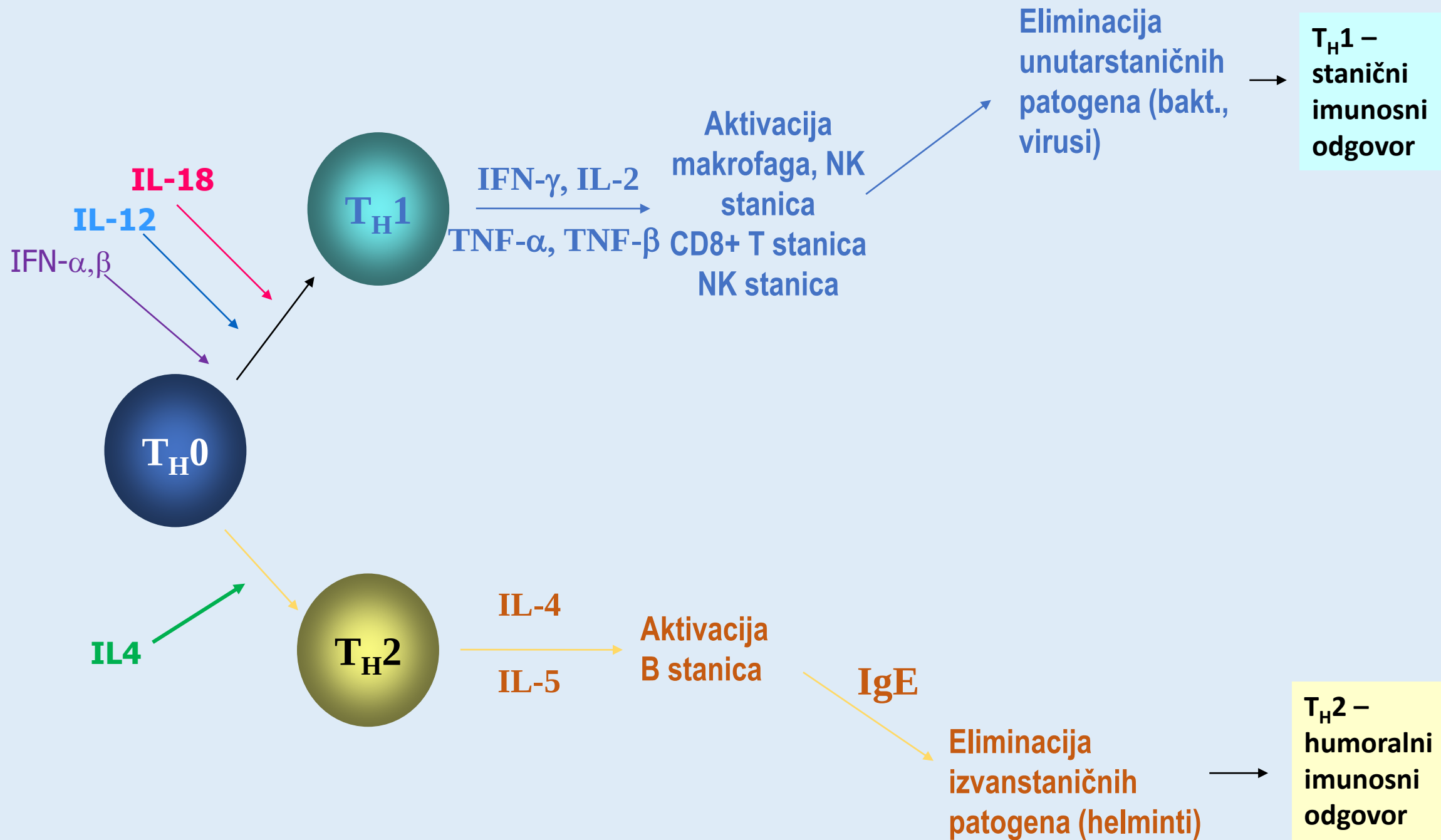
- predočuju antigene pomagačkim T limfocitima tijekom humoralnog imunosnog odgovora
- odgovorni za predočivanje topljivih antigena koje ne mogu predočiti ni makrofagi, ni dendritičke stanice
- topljivi antigeni (strane molekule u tjelesnim tekućinama) vežu se na membranski imunoglobulinski receptor
- bogati molekulama MHC-II



Uloga pomagačkih T limfocita (T_H limfociti)

- koordinacija i regulacija imunosnog odgovora putem izlučivanja citokina te međudjelovanja s drugim imunosnim stanicama → B limfociti, citotoksični T limfociti (CTL), makrofagi i dendritičke stanice
- prepoznavanje antigena i aktivacijski signal pretvara djevičanski (naivni) T limfocit u pomagački T_H limfocit koji diferencira u jednu od podvrsta pomagačkih limfocita





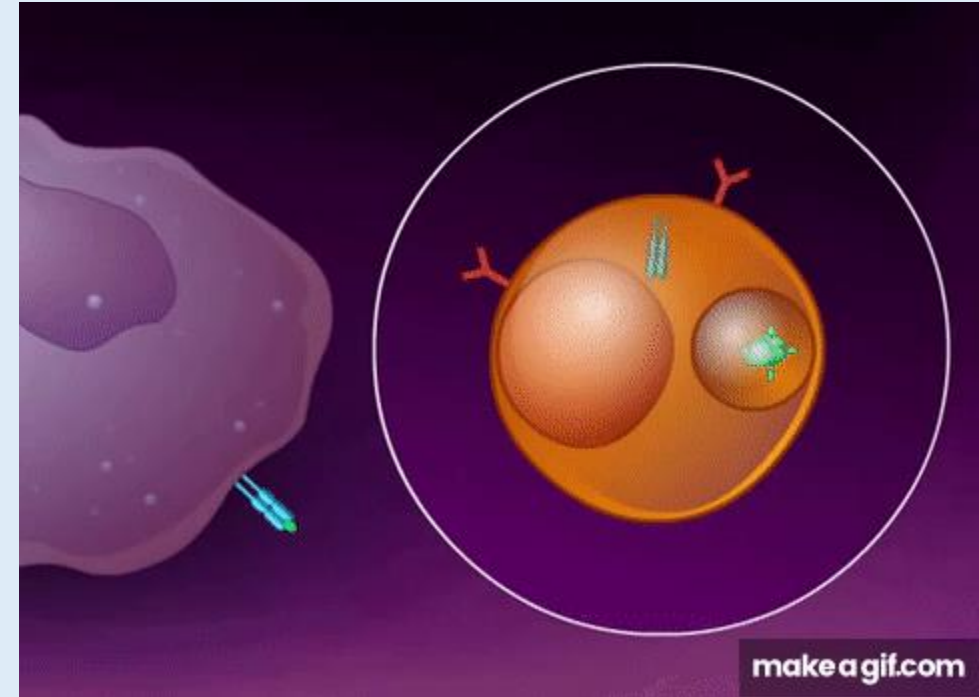
- peptidne ulomke koje predočne stanice prikazuju vezane za molekule MHC-II na svojoj površini prepoznaju isključivo **CD4+ pomoćnički T_H limfociti**
- prepoznavanjem se aktiviraju, te sintetiziraju i luče citokine koji, s jedne strane, pomažu B limfocitima da stvaraju protutijela protiv proteina izvanstaničnih bakterija, a s druge, citokine koji aktiviraju makrofage da uspješno ubijaju i razaraju unutarstanične bakterije
- aktivirani pomoćnički T_H limfociti mogu diferencirati u dvije subpopulacije limfocita → **T_H1 ili T_H2 limfocite** → razlikuju se po citokinima koje proizvode u odgovoru na stimulaciju antigenom
- obje subpopulacije potječu od **naivnih T_H0 prethodnika** koji zavisno od vrste citokina prisutnih tijekom njihove aktivacije, mogu diferencirati bilo u T_H1 ili T_H2 limfocite
- ako se aktiviraju u prisutnosti IL-12, IL-18, IFN-α, IFN-β, T_H0 limfociti diferenciraju u **T_H1 limfocite**
- ako se aktiviraju u prisutnosti IL-4, diferencijacija vodi nastanku **T_H2 limfocita**

T_H1 limfociti

- prepoznaju antigene koje prikazuju makrofagi i dendritičke stanice
- selektivno izlučuju proupalne citokine IL-2, IFN- γ , TNF- α i TNF- β na kojima započinje imunosna obrana posredovana fagocitima
- zajedničkim djelovanjem ovi citokini stimuliraju proliferaciju i diferencijaciju CD8+ T limfocita u citotoksične limfocite i aktiviraju ih
- aktiviraju makrofage i NK stanice, potiču citotoksičnost posredovanu protutijelima

T_H2 limfociti

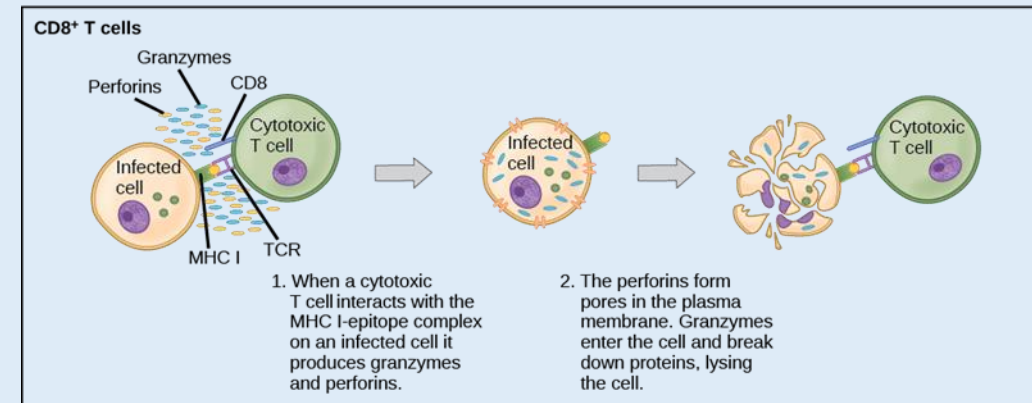
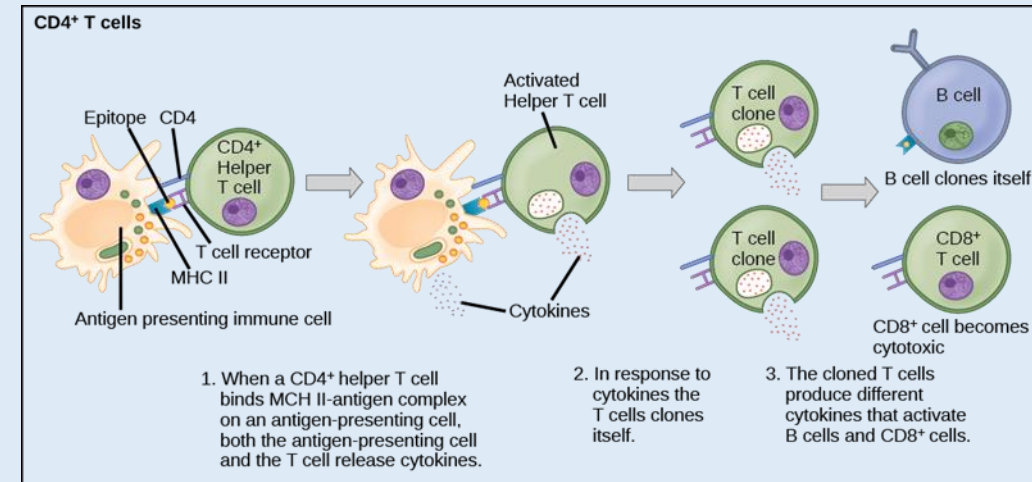
- T_H2 limfociti prepoznaju antigene koje prikazuju B limfociti
- izlučuju citokine IL-4, IL-5, IL-10 i IL-13. Citokini potiču stvaranje protutijela i odgovorni su za imunosnu obranu protiv helmita i alergena
- zajedničkim djelovanjem T_H2 citokini osposobljavaju aktivirane B limfocite da proliferiraju i diferencijaciju u plazma stanice koje stvaraju i izlučuju protutijela, te omogućuju promjenu izotipa protutijela
- potiču diferencijaciju mastocita i eozinofila



➤ IFN- γ koji stvaraju T_H1 limfociti ima dvojaku ulogu → stimulira razvoj T_H1 limfocita, a inhibira razvoj T_H2 limfocita. Obrnuto djeluje IL-10 kojeg stvaraju T_H2 limfociti

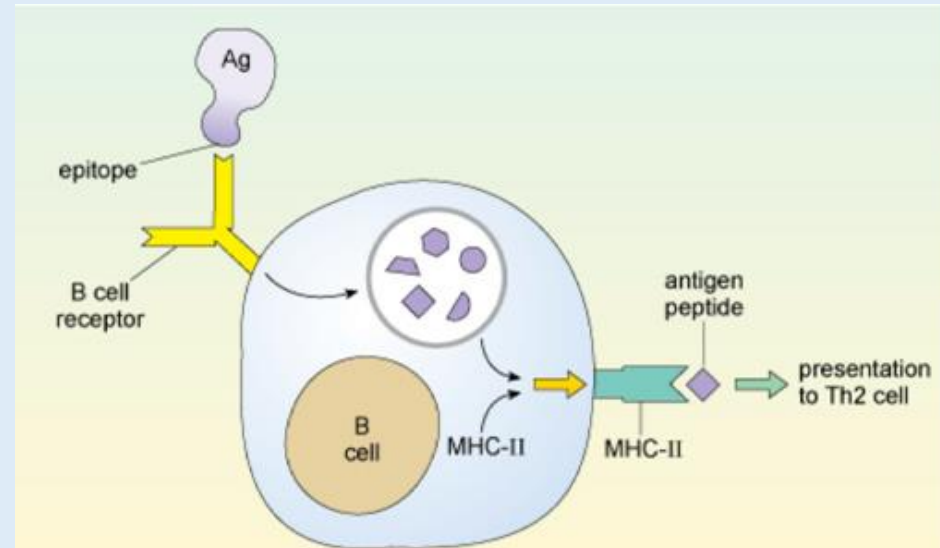
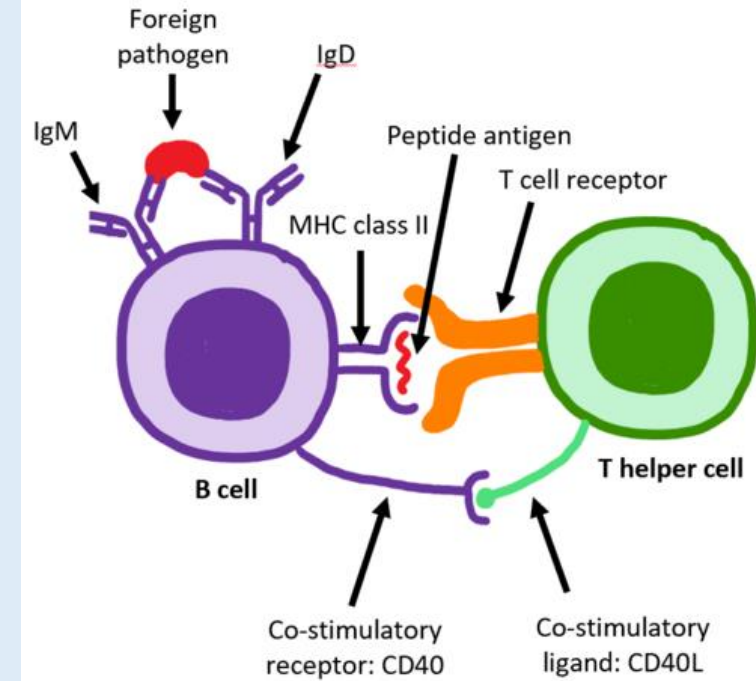
Citotoksični T limfociti

- CD8+ T limfociti sastoje se pretežno od stanica koje su sposobne ubiti druge stanice, stoga se nazivaju citotoksičkim T limfocitima
- njihove glavne karakteristike → na svojoj površini iskazuju CD8 molekule i da prepoznaju peptidne ulomke samo ako su u kompleksu sa molekulom MHC-I
- djeluju citotoksično i izravno ubijaju ciljne stanice enzimima



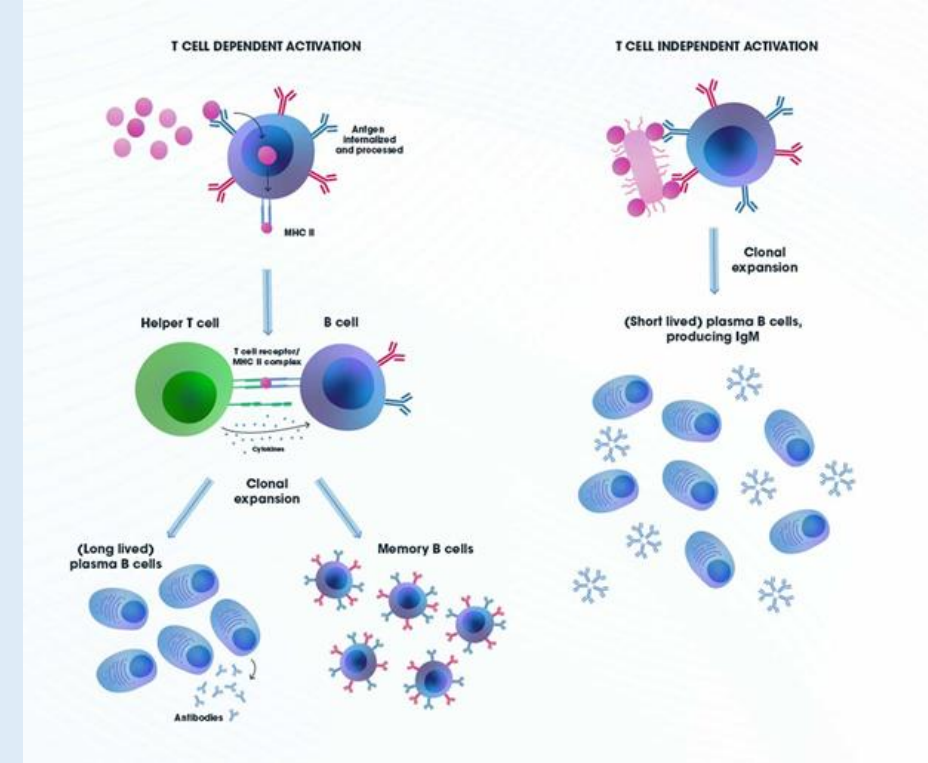
Suradnja B i T limfocita

- aktivacija B limfocita pomagačkim T limfocitima zbiva se u perifernim limfnim organima
- pomagački T limfocit potiče klonalnu proliferaciju B limfocita, prekapčanje razreda imunoglobulina i diferencijaciju memorijskih B limfocita



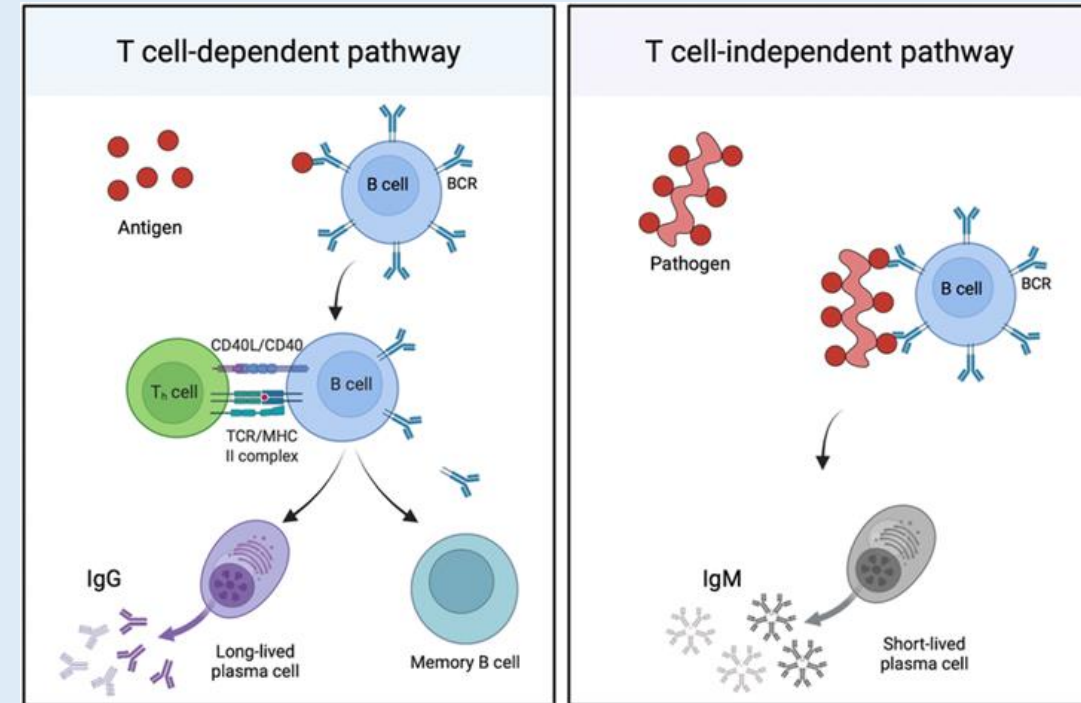
• Antigeni ovisni o timusu

- antigeni koji ne mogu potaknuti stvaranje protutijela bez pomoći T limfocita
- antigen se veže za odgovarajući BCR na B limfocitu
- nakon vezanja i preradbe antigena, antigenski se ulomci vraćaju na površinu B limfocita i predaju pomoćkom T limfocitu u sklopu MHC-II molekula
- **B limfociti susreću** T limfocite koji su se već prije tijekom infekcije aktivirali prepoznavanjem istog antigena na prednim stanicama i diferencirali u podvrstu **T_H2**
- **limfociti T_H2 izražavaju** membransku molekulu **CD40L i luče** odgovarajuće **citokine** važne **za aktivaciju B limfocita**
- **međudjelovanjem receptora T limfocita i kompleksa MHC-antigen B limfocita**, adhezijskih molekula i citokina → **B limfocit proliferira i diferencira se** u plazma stanicu koja luči protutijela



- Antigeni neovisni o timusu

- antigeni koji mogu potaknuti aktivaciju, proliferaciju i diferencijaciju B limfocita bez pomoći CD4⁺ T limfocita
- ti antigeni mogu biti dijelovi mikroorganizama poput bakterijskih polisaharida
- dvije podskupine tih antigena: TI-1 i TI-2
- **antigeni TI-1** u visokoj koncentraciji izravno potiču poliklonsko bujanje i diferencijaciju većine B limfocita → nazivaju poliklonski aktivatori
- **antigeni TI-2** sadržavaju ponavljajuće strukturne elemente koji izazivaju premošćivanje imunoglobulinskih receptora, ali mogu aktivirati samo zrele B limfocite
- slabo potiču imunološku memoriju → nastaje IgM



Suradnja T limfocita

- djevičanski citotoksični T limfociti (CD8+) trebaju za svoju aktivaciju jači kostimulacijski podržaj nego pomoćnički CD4+ T limfociti
- pri virusnim infekcijama dendritička stanica pruža kostimulacijski podražaj → CD8+ sam stvara IL-2 koji ga potiče na proliferaciju i diferencijaciju
- u drugim slučajevima potrebna pomoć pomagačkog T limfocita koji se već diferencirao u efektorsku populaciju T_H1
- obje vrste T limfocita moraju istodobno i na istoj predočnoj stanici prepoznati tuđi antigen
- CD4+ limfocit pritom ima ulogu pojačanja kostimulacijskog signala
- CD4+ limfocit pojačava aktivaciju CD8+ limfocita na 2 načina:
 - a) poticanjem predočne stanice da izrazi više kostimulacijskih molekula B7 i 4-1BBL koje nakon spajanja s molekulama CD28 i 4-1BB na CD8+ limfocitu prenose pojačani signal što potiče stvaranje IL-2 u CD8+ limfocitu (autokrino djelovanje)
 - b) poticanjem CD8+ limfocita izravno – rabi izlučen IL-2 iz CD4+ limfocita za svoju klonsku proliferaciju (IL-2 djeluje parakrino)

