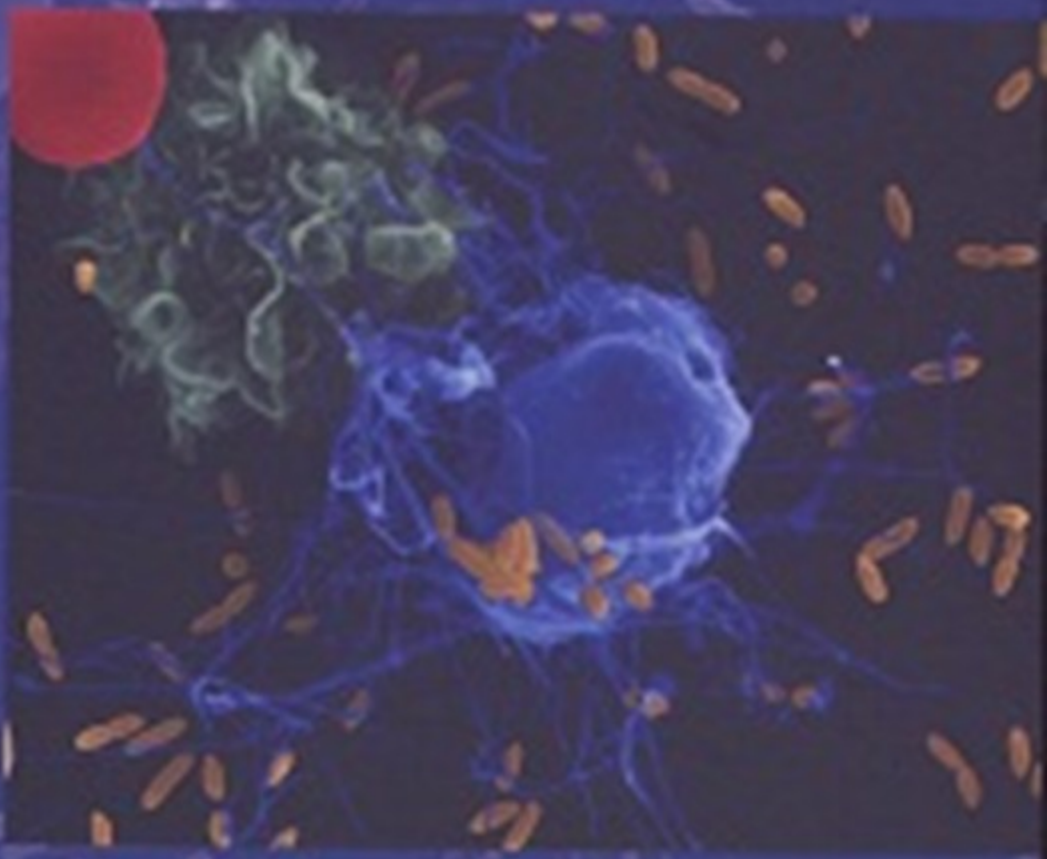
Куби

ИМУНОЛОГИЈА



КИНДТ | ГОЛДСБИ | ОЗБОРН

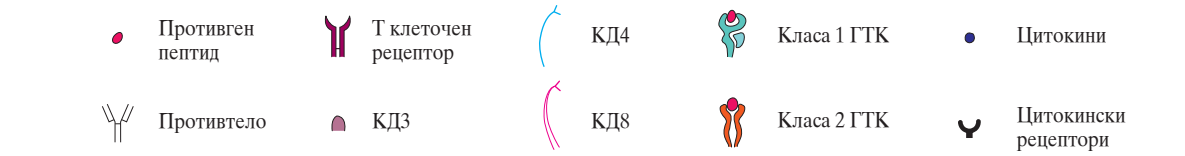
ТАБУЛА

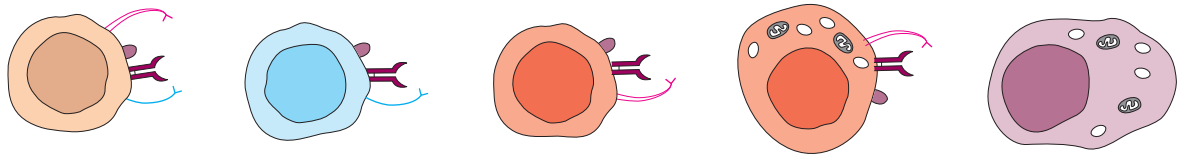
Куби

ИМУНОЛОГИЈА

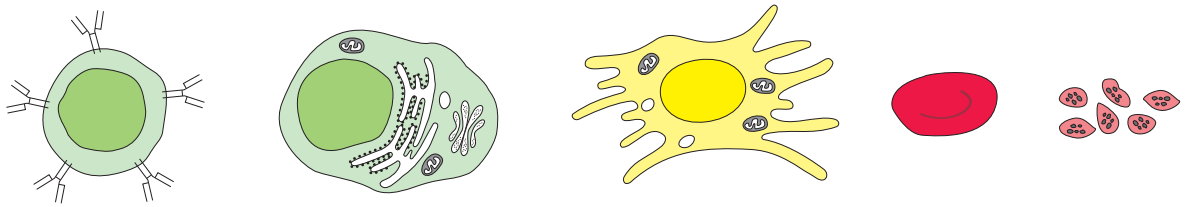
„Оваа книга е дел од програмата на Владата на Република Македонија за преведување на 500 стручни, научни книги и учебници од кои се учи на врвните, најдобрите и најреномираните универзитети во САД и Европската унија“

ЗНАЦИ КОИ СЕ КОРИСТАТ ВО КНИГАТА





Незрел тимоцит | Т-по клетка | Т-цт клетка | Цитотоксична Т клетка | Клетки природни убијци



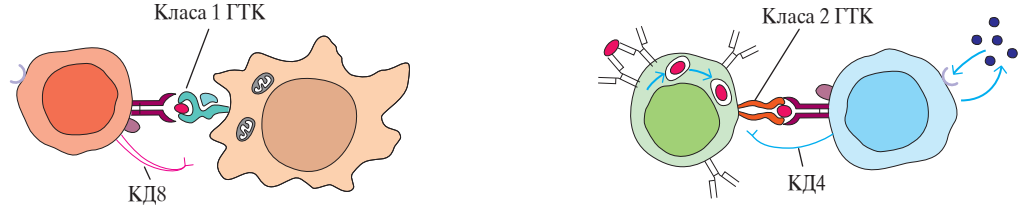
Б клетки | Плазма клетки | Стромални клетки од коскената срцевина | Црвена клетка | Крвни плочки



Неутрофил | Базофил | Еозинофил | Мастоцит



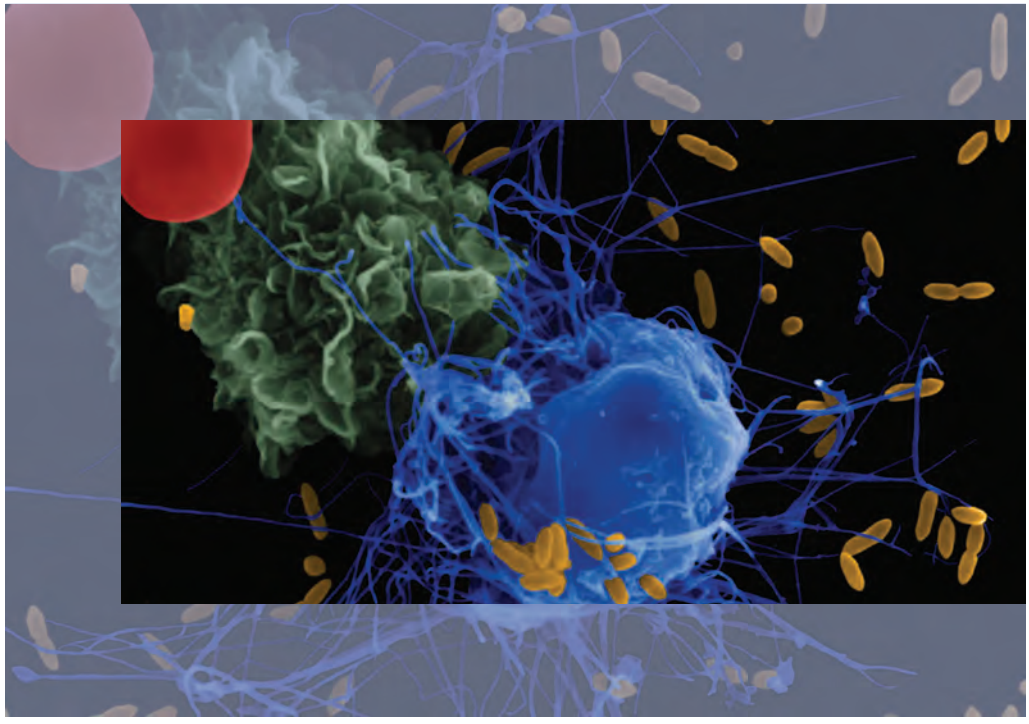
Стеблеста клетка | Моноцит | Макрофаг | Противген прикажувачка клетка



Т-цт клетка | Оштетена сопствена клетка | Б клетка | Т-по клетка

Куби

ИМУНОЛОГИЈА



Томас Џ. Киндт
Национални институти за здравје

Ричард А. Голдсби
Колеџ Амхерст

Барбара А. Озборн
Универзитет Амхерст во Масачусетс

ТАБЕРНАКУЛ

2011

Превод од англиски јазик:
Владимир Ѓуров

Наслов на оригиналот:

Thomas J. Kindt, Richard A. Goldsby, Barbara A. Osborne

Kuby
IMMUNOLOGY

Sixth edition

Copyright © 2007 by **W. H. Freeman and Company**
All rights reserved
Copyright © 2011 for the MACEDONIAN translation by Tabernakul Publishing
Copyright © 2011 for the MACEDONIAN edition by Tabernakul Publishing
First Published in the United States by W.H. Freeman and Company, New York

© 2011 за **македонскиот превод**, Табернакул
© 2011 за **македонското издание**, Табернакул
Сите права задржани
За прв пат издадено во САД од W.H. Freeman and Company, New York

Стручна редакција:

Проф. д-р Мирко Спироски, д-р науки
*(*Поглавја 1-6, Речник, Индекс)

Асист. д-р Дејан Трајков, д-р науки
*(*Поглавја 7, 13, 15, 19, 21)

Асист. д-р Александар Петличковски, м-р медицина
*(*Поглавја 8, 14, 20, 22)

Асист. д-р Славица Христоманова
(Поглавје 9)

Помл. асист. д-р Мери Киријас
(Поглавја 10, 16, 18, Додатоци 1 и 2,
Одговор на прашања за учење)

Помл. асист. д-р Александар Сенев
(Поглавја 11, 12, 17)

Институт за имунобиологија и хумана генетика,
Медицински факултет, Универзитет „Св. Кирил и Методиј“,
Скопје, Република Македонија

За многуте наши студенти, пријатели и колеги
кои нашата професија во имунологијата ја направија
неприкинато време на возбуда и радост. Се надеваме
дека идните генерации на имунолози темава ќе ја
сметаат вредна колку што ја сметаме и ние.

ЗА АВТОРИТЕ



Од лево кон десно: *Ричард А. Голдсби, Барбара А. Озборн и Томас Џ. Киндт*

Томас Џ. Киндт често советува околу проблеми за имунологија и инфекциски болести за владини и приватни организации и долги години беше директор за интерни истражувања при националниот институт, како што е Здравствениот национален институт за алергија и инфекциски болести, позиција која го стави во секојдневен допир со најновото од експерименталната и клиничка имунологија. Том е професор на универзитетот во Ново Мексико при Одделот за биологија, а член е и на регионалното здружение за медицински и биолошки организации во Ново Мексико.

Ричард А. Голдсби предава имунологија на додипломци и постдипломци при колеџот Амхерст. Во неговиот интерес за истражување се вклучени технологии за создавање модифицирани и хумани противтела кај животниските биореактори. Во многу пригоди тој работел како директор при Националната научна фондација: Чатака кратка програма, каде на неговите колеги им ги претставува денешните напредоци во имунологијата.

Барбара А. Озборн, при Универзитетот Амхерст во Масачусетс, е признат соработник во напредувачката област за програмирана смрт на клетки и развој на Т клеточни реакции. Барбара е мошне активен истражувач и исто така предава имунологија на додипломци и постдипломци.

Џанис Куби, кој почина во 1997 година, предаваше на државниот универзитет во Сан Франциско и во Универзитетот Беркли во Калифорнија. Професорот Куби беше основач на овој учебник и автор на првите три изданија. Нејзините експертски вештини за предавање и пишување ја направија „*Имунологија*“ најдобро продавана книга за овој предмет, а нејзината визија за текстот како начин за комбинирање најновата содржина во пристаплив, педагошки богат формат живее и понатаму во новото издание.

ПРЕДГОВОР КОН МАКЕДОНСКОТО ИЗДАНИЕ

Предметот *Имунологија* за прв пат е воведен во шестогодишниот систем на студии на Медицинскиот факулет во Скопје во учебната 1993/94 година. Предметот се слушаше во зимскиот семестар од трета година (5. семестар) со вкупен фонд од 30 часови (15 часа теоретска настава + 15 часа практична настава). Во почетокот целокупната теоретска и практична настава ја изведуваа наставници и асистенти по физиологија од Институтот за физиологија и наставници и асистенти по трансфузиологија од Републичкиот завод за трансфузиологија. Од учебната 2005/06 започнува Кредитниот трансфер систем на Медицинскиот факултет во Скопје, според кој предметот *Имунологија* се слуша со фонд на часови 30+15 во третиот семестар (втора година).

Предметот *Имунологија* се слуша и на Физиолошко-биохемиската насока и на насоката Аналитичка биохемија на Природно-математичкиот факултет во Скопје, како и на додипломските студии од другите државни факултети. Дисциплината имунологија е вклучена и во постдипломската настава, во докторските студии како и во неколку специјализации при сите медицински факултети во Република Македонија.

Учебникот ИМУНОЛОГИЈА од Куби е основа за наставата по оваа дисциплина, главно, поради нејзините меѓународно признати квалитети. Учебникот ги опфаќа сите подрачја од имунологијата (клетки, органи, регулаторни системи, имунолошки отстапувања) напишани на едноставен, разбирлив, но современ јазик. Секое поглавје содржи клинички фокус (во кој се опишува клиничкото значење на соодветното поглавје), индекс, прашања за учење, како и корисни додатоци (литература, корисни веб-страници и интерактивно учење).

Им благодарам на колешките и на колегите од Институтот за имунобиологија и хумана генетика при Медицинскиот факултет во Скопје за внимателното и трпеливото редактирање на преведениот текст, особено за напорот да се дефинираат нови македонски поими во имунологијата и да се стандардизираат веќе постоечките поими.

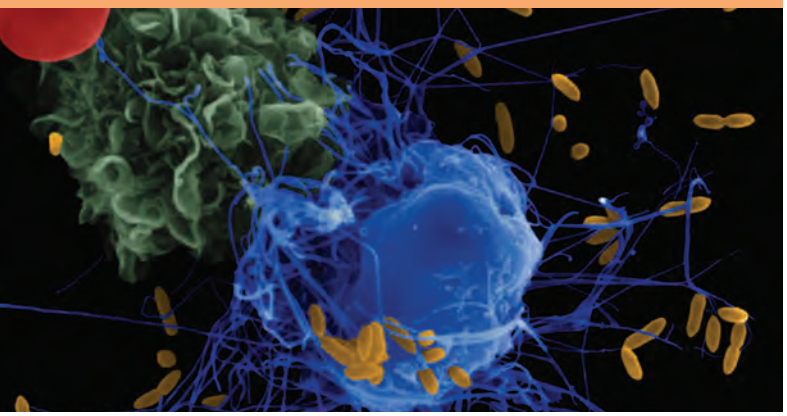
Посебна благодараност им искажувам на вработените од издавачката куќа „Табернакул“ кои со висок квалитет го направија првиот превод од англиски јазик, го лекторираа редактираниот текст, технички го уредија и го отпечатија овој учебник.

Се надевам дека учебникот ИМУНОЛОГИЈА ќе им биде од корист на студентите од Универзитетот „Св. Кирил и Методиј“ и од другите државни и приватни универзитети во Република Македонија.

Скопје, јануари 2011 година

Проф. д-р Мирко Спироски

Предговор



Во второто издание на „*Имунологија*“ Џанис Куби напиша „…продолженият пораст на имунологијата е неизбежен, а предизвиците во медицинското и академското општество остануваат какви што се.“ Нашата цел со секое ново издание на „*Имунологија*“ е да го претставиме знаењето на новите генерации научници и медицински професионалци. На новодојдените треба да им обезбедиме широк поглед врз полето на имунологијата. Мораме да бидеме во тек со новите информации. Исто така, треба да ги претставиме експериментите и пробните системи (модели) врз кои се темели нашето знаење за имуниот систем.

Ново поглавје 3 - Вроден имунитет

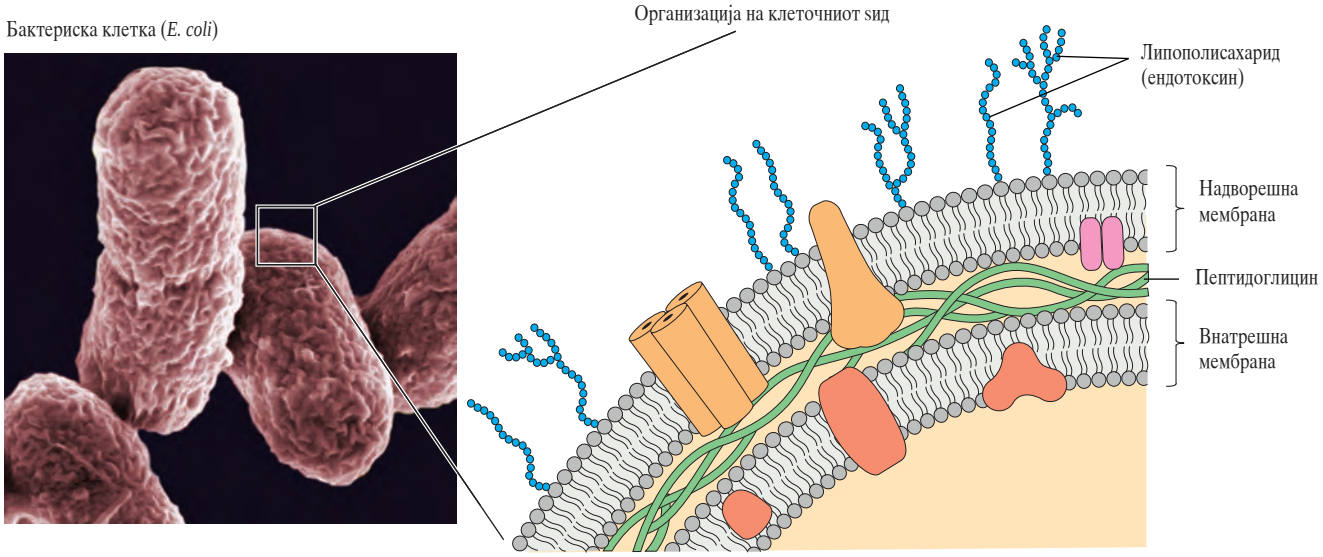
Средствата врз кои се темели работата за вродениот имун систем се намалени, а наглиот напредок кој се направи при проучувањето на оваа гранка од имунитетот се рангира помеѓу највозбудливите развои во имунологијата од минатото издание на оваа книга. Новото поглавје 3, Вроден имунитет, истражува како:

- Активностите на имуните ефектори како облици за препознавање рецептори се вклучени во одговорот на вродениот имунитет.
- Клетките, растворливите противмикробски молекули и мембрански врзаните рецептори соработуваат за да направат мигновен напад врз инфекциските агенси.
- Вродениот имун систем служи не само како прва одбранбена линија, туку и како неопходен поттикнувач на стекнатиот имун систем.
- Дефектите во компонентите на вродениот имун систем често резултираат со ослабени и несоодветни реакции од страна на стекнатиот имун систем.

Акцент врз клиничкото значење

Имуниот одговор кој или не е доволно силен или се јавува прекумерно може да доведе до опасни последици. Многу е важно за оние кои се заинтересирани за медицински кариери да го разберат работењето на системот. Во текстот на книгава покриваме широко поле на нови болести и инфекции и ги обновивме нашите прегледи за клиничкиот фокус и соодветните прашања кои се наоѓаат на крајот од секое поглавје. Новини во ова издание се:

- Објаснувањето за противгеното вкрстено прикажување кое се однесува на имунитетот кон вирус ии други инфекциски агенси (Поглавје 8).
- Детално објаснување на цитокините и нивната улога во воспалението и болеста (Поглавје 12 и низ целата книга).
- Најновите наоди за разновидноста на клеточните рецептор за КПУ и како нивната генетска разновидност влијае врз прифатливоста за болест (Поглавје 14).
- Ново истражување за клиничкиот фокус на КИР/ГТК влијанието врз болеста (Поглавје 14).
- Нови информации за централното и периферното поднесување и како се тие поврзани со автоимуната болест и отфрлањето алографти (Поглавје 16).



СЛИКА 3-9 Липополисахариди (ЛПС) во клеточниот ѕид од *E. coli* е моќна стимулација за вродениот имунитет. [*Фотографија од Гари Гаглер/ Visuals Unlimited*]

- Нови дебати околу методите за олеснување на страдањето од различни автоимуни болести како што се артрит, многукратна склероза, лупус еритематозус и болеста на Крон (Поглавје 16).
- Информации за деталната клиничката употреба на моноклонските противтела како терпаветски агенси (поглавја 4, 5, 6, 16, 17 и низ целата книга).
- Детално покривање на инфекциските болести каде се вклучени објаснувањата за главните патогени групи и карактеристичните имуни реакции кои тие ги предизвикуваат; Најнови информации за гриповите, вклучувајќи ги птичјите видови (avian strains) и нивната закана за човечкото население; и зошто габичната болест значително порасна поради ширење на СИДА-та и пораст во бројот на луѓе кои земаат лекови за да се справат со автоимуните болести (Поглавје 18).
- Информации за SARS, вклучувајќи пронаоѓање и процена како се пренесува од животни на луѓе (поглавја 18 и 19).
- Нови информации за последиците од СИДА (Поглавје 20).
- Извештај за поврзаноста на хуманиот папилома вирус (ХПВ) и ракот на цервиксот, истражувањата за вакцини наменети за нивно спречување и нов клинички фокус кој понатамошно ги испитува овие наоди (Поглавје 21).

Зголемено покривање и сигнализирање

Во последниве неколку години забележан е голем пораст на нашето знаење за настаните кои се јавуваат по врзувањето на рецепторите со нивните лиганди. Сега посветивме дел од Воведот на општата тема за сигнално пренесување, каде ги опишуваме општите модели за сигнализирање и именување дел од поуниверзалните клучни играчи, каде се вклучени:

- Нов дел кој го објаснува сигналното пренесување по вклучувањето на Толовидните рецептори со нивните лиганди (Поглавје 3);
- Детално покривање на молекулските интеракции вклучени во преселувањето и излегувањето на клетките од крвните садови (поглавја 3 и 13);
- Нови детали за сигнализирачките патеки кои водат до зреење, разликување и активација на разни видови клетки (поглавја 10 и 11);
- Детално покривање на гама-делта Т клеточниот рецептор, каде е вклучена најнова 3Д слика која открива разлики за тоа како гама-делта и алфа-бета Т клеточните рецептори се врзуваат за противгенот (поглавја 9 и 10).

Нови техники

Следниве дебати за значајните модерни техники создадоа ново интересно знаење во областа од имунологијата:

- Опис на техниката за **плазмонската површинска резонанца** и нејзината употреба при основите прашања за имунологијата (Поглавје 6).
- Употреба на **обележени ГТК - противген тетрамери** за обележување на мембраната која врзува Т клеточни рецептори (поглавје 14).
- Прикажување на моќноста на **микроскопијата со двофотонска фаза** за следење на клетките во лимфниот јазол (поглавја 11 и 22).

Обновена организација

По советување со многу професори по имунологија, направивме промени во организацијата во шестото издание за да ја подобриме разновидноста и да го избегнеме повторувањето:

- Комбинирање на поглавјата за противтелата и противгените (поглавје 4).
- Поглавјето за комплементот е преместено понапред за да следи по поглавјето за противтелото (Поглавје 7).
- Комбинирање на поглавјата за прикажување ГТК и противтелото (Поглавје 8).

За целосни детали при поглавје-до-поглавје за многуте други додатоци на нов метиријал и надграден материјал во шестото издание од „*Имунологија*“, ве молиме посетете ја веб-страницата:

www.whfreeman.com/immunology6e

Педагошки алатки

Преглед на сликите и педагошки фокусираните илустрации

Одреден број концепти се посебно важни за студените кои треба да ги научат при стекнувањето на цврсто разбирање за имунологијата. Вметнавме доволно слики за да им помогнеме на студентите да го совладаат материјалот.

- Основните концепти се прикажани во **Преглед на слики.** Овие слики прикажуваат значајни идеи и процеси на начин на кој само пишаниот текст не може да го пренесе. Тие често се прикажани како „водич“ дијаграми, кои вклучуваат подетално и системско обележување за помош при визуализација на клучните процеси,
- Постојаната употреба на икони кои ги објаснуваат разновидните клетки во имуниот систем и значајни мембрански молекули за да им помогнат на студентите при визуелизацијата на комплексните соодноси. Овие икони - елементи во табелата кои се појавуваат како преден план на книгата, овозможуваат лесно пристаплив водич.

Прашања за учење

Прашањата за учење во „*Имунологија*“, кои потекнуваат од Џанис Куби, се покажаа како вреден извор за наставници и студенти. Шестото издание содржи нови и изменети прашања за секое поглавје, кои се вклучени во сите нови серии на прашања за **Анализа на податоците**, кои вклучуваат модерна литература и квантитативни податоци и ги предизвикуваат студентите да изведуваат информации преку алатките кои ги научиле во текстот. Прашањата се поврзани со проширени, обновени одговори на крајот од книгата.

Медиуми

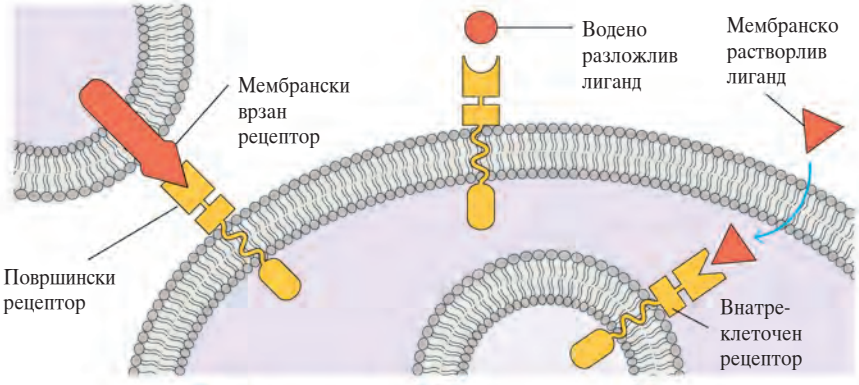
Веб-страница: **www.whfreeman.com/immunology6e**

Веб-страницата на студентите им дава директен водич од поглавје-до-поглавје кој вклучува разни вежби и извори како што се проучувањата на клиничките случаи. Студентите се упатени кон Интернет изворите со икони кои се наоѓаат на крајот од секое поглавје.

ПРЕГЛЕД НА СЛИКА 1-6:
Општи теми во сигналното пренесување

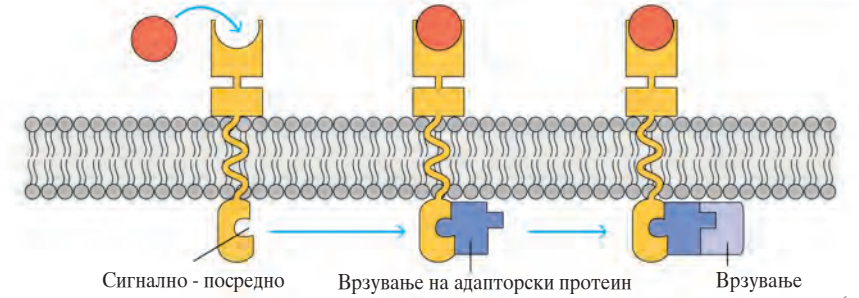
Примање сигнал

1. Сигналните патеки започнуваат кога сигналот ќе се врзе за рецепторот

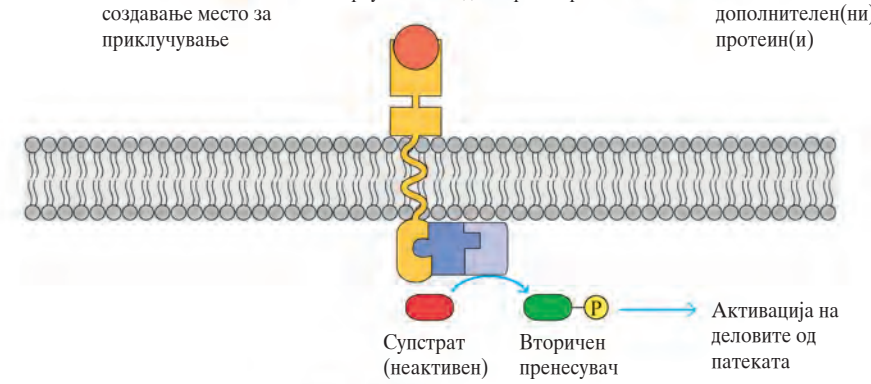


Пренесување

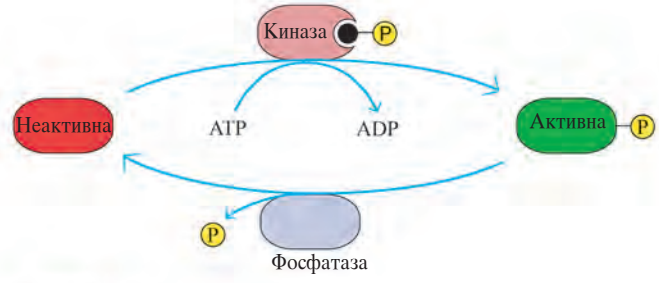
2. Лигандот кој се врзува за рецепторот поттикнува групирање деловите од сигналните патеки



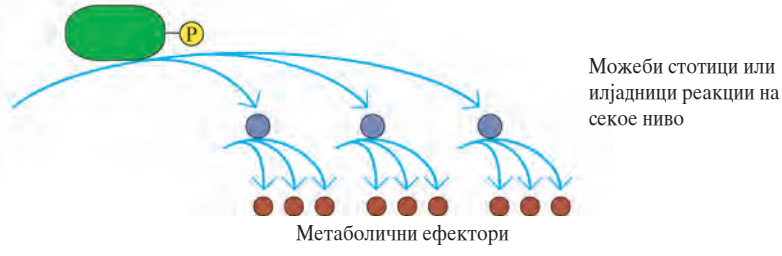
3. Создавање вторичен пренесувач кој го носи сигналот до внатрешноста на клетката



4. Циклуси на фосфорилација / дефосфорилација контролирани од сигналната патека која активира / деактивира дополнителни компоненти од патеки



5. Ензимските скали (скали) го засилуваат сигналот, преобразувајќи ги молекулите во нивните активни форми





- **Анимациите** на клучни концепти го олеснуваат разбирањето на сложените имунлошки процеси со додавање аспект зад печатената страна



- **Молекулските визуализации** од Дејвид Марсеј од универзитетот Латерн во Калифорнија, подобрените и динамичките тури на тридимензионални молекулски модели го прават односот помеѓу молекулската структура и функцијата полесен за разбирање.



- **Самостојните тестови за речникот** им овозможува на студентите да се тестираат и да се оценат самите за дефинициите на клучните изрази од тестот.



- Студентите, за дополнителни информации, можат да пристапат на **корисните веб-страници** кои се споменати во учебникот.

ЦД за информации за инструкторите

Овој електронски извор, кој е достапен за присвојувачи, ги вклучува сите слики и во JPG екстензија и во PowerPoint екстензија. (Сите текстуални слики се исто така достапни од **Центарот за извор на инструкторите** од дополнителната веб-страница на книгата). Според тоа, ЦД-то ги содржи сите анимации од веб-страницата.

Признанија

Посебна благодарност им должиме на неколку колеги кои помогнаа околу комплексните измени и дадоа детални прегледи кои доведоа до значајно подобрување во текстот. Овие видни соработници ги вклучуваат д-р Џ. Доналд Капра и д-р Кендра Лајт од Оклахома Медицинската истражувачка фондација, д-р Џоен Миршарет од Државниот универзитет Сент Клауд, д-р Џири Мештеки од универзитетот Алабама во Бирминген, д-р Џоанатан Џудел од NIAID, NIH, д-р Џејмс Киндт од универзитетот Емори, д-р Џона Весли од универзитетот Браун и д-р Ерик Лонг од NIAID, NIH. Се надеваме дека крајниот прозивод ќе го претставува врвниот квалитет на посветената работа на овие експерти и од сите оние лица кои се наведени долу кои овозможија значаен преглед и информации.

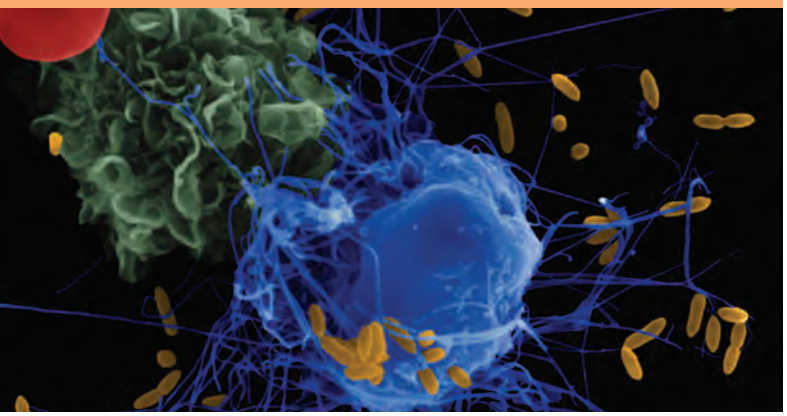
Исто така сакаме да ги изразиме нашите честитки и благодарност на д-р Џоен Миршарет од Државниот универзитет Сент Клауд за нејзиното авторство на одлични нови проблеми и на д-р Стивен К. Чапез од Државниот универзитет во Канзас за неговото создавање прашања за „анализа на податоците“. Исто така му должиме и на Џефри Л. Хенриксен од универзитет Белви за неговиот развој во проучувањата на клиничките случаи на дополнителната веб-страница.

Им се заблагодаруваме на следниве рецензенти за нивните коментари и предлози за раскописот при подготовката на ова шесто издание. Нивната стручност и преглед во голема мера придонесоа за оваа книга.

Рут Д. Ален, Универзитети Индијана и Пердју, Индијанаполис
Ејвери Огуст, Државен универзитет на Пенсилванија
Памела Џ. Бејкер, Колеџ Бејтс
Кенет Џ. Балазович, Универзитет на Мичиген
Синтија Л. Болдвин, Универзитет на Масачусетс „Амхерст“
Скот Р. Барнум, Универзитет на Алабама, Бирмингем
Стивен Х. Бенедикт, Универзитет на Канзас
Ерл Ф. Блох, Медицински колеџ, Универзитет Хауард
Лиза Боргези, Универзитет на Питсбург
Лорен Бросај, Универзитет Браун
Џејн Брунер, Државен универзитет на Калифорнија, Станислаус
Џејмс В. Кембел, Универзитет Рајс
Стивен Кит Чејпс, Државен универзитет на Канзас
Котесвара Р. Чинталачавуру, Универзитет на Калифорнија, Лос Анџелос
Џефри Р. Досон, Универзитет Џјук, Медицински факултет
Џенет М. Декер, Универзитет на Аризона
Мајкл Едидин, Универзитет Џон Хопкинс
Шери Д. Флеминг, Државен универзитет на Канзас
Скот К. Гарман, Универзитет на Масачусетс „Амхерст“
Елизабет Годрик, Универзитет во Бостон
Сандра О. Голник, Институт за карцином „Розвел Парк“
Ханс В. Хајднер, Универзитет на Тексас во Сан Антонио
Винсент В. Холис, помладиот, Универзитет Хауард
В. Мартин Каст, Универзитет на Јужна Калифорнија
Денис Џ. Киц, Универзитет на Јужен Илионоис, Едвардсвил
Кетрин Л. Најт, Универзитет Лојола
Пол М. Кнопф, Универзитет Браун
Кеј К. Ли-Фруман, Државен универзитет на Калифорнија, Лонг Бич
Алан Д. Ливајн, Универзитет Кејс Вестерн Ризрв
Џудит Менинг, Медицински факултет, Универзитет на Висконсин
Џејмс А. Марш, Универзитет Корнел, Колеџ за ветеринарна медицина
Џон Мартинко, Универзитет на Јужен Илионоис, Карбондејл
Андреа М. Мастро, Државен универзитет на Пенсилванија
Џенифер М. Матараца, Колеџ Бостон
Денис В. Мекги, Универзитет Бингамтон
Џо Ен Меершаерт, Државен универзитет Сеинт Клоуд
Џиржи Местецки, Универзитет на Алабама, Бирмингем
Мајкл Ф. Мининк, Универзитет на Монтана
Томас В. Молитор, Универзитет на Минесота, Колеџ за ветеринарна медицина
Дејвид М. Мосер, Универзитет на Мериленд
Рита Б. Мојес, Универзитет на Тексас A&M
Филип К. Нелсон, Универзитет на Пенсилванија
Алма Мун Новотни, Универзитет Рајс
Ким О'Нил, Универзитет Бригам Јанг
Лук О'Нил, Тринити Колеџ, Даблин, Ирска
Леонард Д. Пиарсон, Државен универзитет на Колорадо
Кристофер А. Пенел, Универзитет на Минесота
Венди Е. Рејмонд, Колеџ Вилијамс
Роберт К. Рикерт, Универзитет на Калифорнија, Сан Диего
Кенет Х. Ру, Државен универзитет на Флорида
Абхинит Шиоран, Факултет за ветеринарна медицина Тафтс камингс
Михаил Ситковски, Североисточен универзитет
Роберт К. Сајзмор, Државен универзитет Алкорн
Гери Сплитер, Универзитет на Висконсин, Медисон
Даглас А. Стибер, Универзитет на Висконсин, Милвоки
Лиза Штајнер, Институт за технологија на Масачусетс
Џефри Л. Стот, Универзитет на Калифорнија, Факултет за ветеринарна медицина „Дејвис“
Дениз Џ. Вингет, Државен универзитет Боас
Џон Јудел, NIH-NIAID
Кирк Зиглер, Медицински факултет, Универзитет Емори

Исто така сакаме да им се заблагодариме на нашите искусни и талентирани колеги од В.Х. Фримен и од компанијата. Посебно им се заблагодаруваме на Кејт Ар, Џорџија Ли Хедлер, Керен Ташек, Вики Томасели, Пол Рахлоф, Сузан Тиминс, Тед Чепански, Хана Тонет и Ник Тимочко. Извршувањето на оваа работа не би било возможно без упорната посветеност на нашиот развоен уредник, Морган Рајан, кој ни помогна да ја раскажеме и илустриме приказната за Имунологијата.

Кратка содржина



ДЕЛ I Вовед

1	Преглед на имуниот систем	1
2	Клетки и органи од имуниот систем	23
3	Вроден имунитет	52

ДЕЛ II Предизвикување на Б-клеточни и Т-клеточни одговори

4	Противгени и противтела	76
5	Организација и прикажување на имуноглобулински гени	111
6	Меѓудејства противген-противтело. Начела и примени	145
7	Систем на комплемент	168
8	Главен ткивно-совпадлив комплекс и противгенско прикажување	189
9	Т-клеточен рецептор	223
10	Т-клеточно зреење, активација и диференцијација	245
11	Создавање, активација и диференцијација на Б-клетките	271

ДЕЛ III Механизми на имуни ефектори

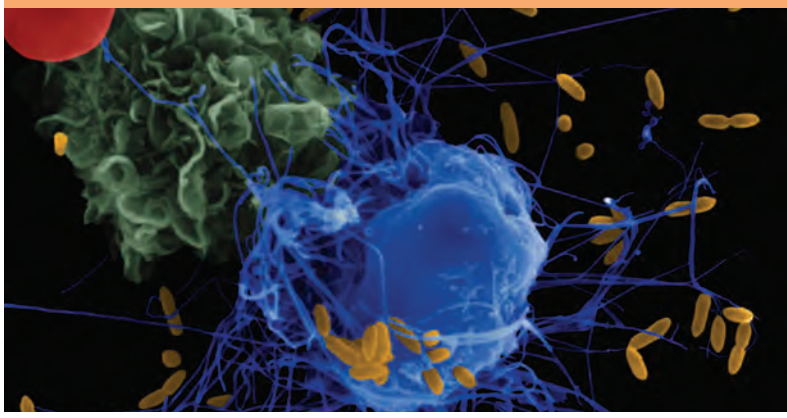
12	Цитокини	302
13	Активирање и мигрирање на белите клетки	327
14	Клеточно посредувани цитотоксични реакции	351
15	Реакции на преосетливост	371

ДЕЛ IV Имуниот систем во услови на здравје и болест

16	Толеранција и автоимунитет	401
17	Пресадување во имунологијата	425
18	Имун одговор на инфективни болести	447
19	Вакцини	475
20	СИДА и други имунонедостатоци	493
21	Ракот и имуниот систем	525
22	Експериментални системи	546

Додаток I: КД противгени	Д-1
Додаток II: Цитокини	Д-27
Речник	Р-1
Одговори	О-1
Индекс	И-1

Содржина



Предовор кон македонското издание vii
Предговор viii

Дел I • Вовед

1 Преглед на имуниот систем 1

Историска перспектива 2

Раните проучувања за вакцините го поведоа патот до имунологијата 2
Вакцинирањето е тековен, светски потфат 3

Рани проучувања за хуморалниот и клеточен имунитет 4

Теоретски предизвици 5

Инфекција и имунитет 7

Вроден и стекнат имунитет 8

Фагоцитните клетки претставуваат бариера за инфекцијата 9
Растворливите молекули придонесуваат за вродениот имунитет 9
Меѓудејството помеѓу вродениот и стекнатиот имунитет ја зголемува реактивноста на имунитетот 10
Стекнатиот имунитет е високо специфичен 10
Лимфоцитите и противген прикажувачките клетки соработуваат во стекнатиот имунитет 12
Б лимфоцити 12
Т лимфоцити 13
Противген прикажувачките клетки меѓудејствуваат со Т клетките 14
Хуморалните и клеточните имуни реакции извршуваат различни ефекторни функции 14
Противгените рецептори од Б и Т лимфоцитите се различни 14
Молекулите од главниот ткивносовпадлив комплекс врзуваат противгени пепетиди 16
Противгениот избор на лимфоцити предизвикува клонско проширување 16

Имуното нарушување и неговите последици 18

КЛИНИЧКИ ФОКУС Алергиите и астмата се сериозни проблеми во јавното здравје 20

2 Клетки и органи од имуниот систем 23

Хематопоеза 23

Хематопоезата се регулира на генетско ниво 24
Хематопоиетската хомеостаза вклучува многу фактори 26
Програмираната клеточна смрт е неопходен хомеостатски механизам 26
Хематопоетските стем клетки може да се збогатат 28

Клетки во имуниот систем 30

Лимфоидни клетки 30
КЛИНИЧКИ ФОКУС Стем клетка - клиничка употреба и потенцијал 32
Б лимфоцити (Б клетки) 34
Т лимфоцити (Т клетки) 34
Б и Т клеточните популации ги сочинуваат потпопулациите на клоновите 35
Клетки природни убијци 35
Еднојадрени фагоцити 36
По фагоцитозата следи дигестија и прикажување на противген 36
Гранулоцитни клетки 37
Мастоцити 38
Стеблести клетки 38
Фоликуларни стеблести клетки 40

Органи во имуниот систем 40

Првични лимфоидни органи 40
Вторични лимфоидни органи 43

Лимфоидни клетки и органи - еволуциски споредби 49

3 Вроден имунитет 52

Анатомски бариери 53

Поврзаности помеѓу вродениот и стекнатиот имунитет 55

Воспаление 57

Леукоцитната екстравазацијата е високо регулиран процес во повеќе чекори 59

Растворливи молекули и мембрански асоцирани рецептори 59

Противмикробските пептиди придонесуваат за вродената одбрана против бактериите и габите 59
Протеините од актуната фаза придонесуваат за вродениот имунитет 61
Вродениот имунитет користи мноштво рецептори за откривање инфекција 61

Толовидни рецептори (Toll-like Receptors) 62

Видови клетки во вродениот имунитет 65

Неутрофилите се специјализирани за фагоцитоза и убивање 65
Макрофагите развиваат бројни противпатогени механизми 66
КЛИНИЧКИ ФОКУС Ц-реактивниот протеин е клучен означувач за кардиоваскуларен ризик 66
КПУ се значајна прва линија за одбраната од вируси и овозможуваат клучен активирачки сигнал за другите клетки 68
Стеблестите клетки следат патогени и поттикнуваат стекнати имуни реакции со активирање Т клетки 68

Патеки за пренесување на сигналот 69

ТВР сигнализирањето е типично за патеките за сигнално пренесување 69

Сеприсутност на вродениот имунитет 71

ДЕЛ II Предизвикување на Б-клеточни и Т-клеточни одговори

4 Противгени и противтела 76

Имуногеност наспроти противгеност 77

Хаптените се корисни истражувачки и дијагностички алатки 77
Особините на имуногенот придонесуваат за имуногеноста 78
Биолошкиот систем придонесува за имуногеноста 80

Епитопи 81

Б-клеточните епитопи имаат карактеристични особини 81

Основна структура на противтелата 84

Противтелата се хетеродимери 85
Хемиските и ензимските методи ја откриј основната структура на противтелото 85
Секвенцата од лесните вериги откри постојани и променливи подрачја 87
Постојат пет видови главни класи на тешки вериги 87
Имуноглобулините поседуваат многу области врз база на имуноглобулинското диплење 87

Противтелно врзувачко место 89

КОП врзува противген 90
Конформациските промени може да бидат поттикнати од врзувањето противген 92
Домени во константно подрачје 93

Противтелно остварени ефекторни функции 94

Опсонизацијата е поттикната со противтелото 94
Противтелата активираат комплемент 95
Противтелно зависна клеточно посредувана цитотоксичност (ПЗКЦ) ги убива клетките 95
Некои противтела можат да го преминат епителниот слој со трансцитоза 95

Противтелни класи и биолошки активности 95

Имуноглобулин Г (ИгГ) 95
Имуноглобулин М (ИгМ) 96
КЛИНИЧКИ ФОКУС Пасивна терапија со противтела 98
Имуноглобулин А (ИгА) 99
Имуноглобулин Е (ИгЕ) 100
Имуноглобулин Д (ИгД) 100

Противгени одредници на имуноглобулините 100

Изотип 101
Алотип 101
Идиотип 101

Б-клеточен рецептор 102

Фк рецепторите се врзуваат за Фк подрачјата од противтелата 102

Имуноглобулинска суперфамилија 103

Моноклонски противтела 105

Моноклонските противтела имаат значајни клинички употреби 106
Абзимите се моноклонски противтела кои катализираат реакции 106

5 Организација и прикажување на имуноглобулински гени 111

Создавање генски модел кој е компатибилен со структурата на Иг 112

Спротивставени модели на зародишна линија и соматски варијации за објаснување на противтелната разновидност 113
Дрејер и Бенет предложија револуционарен модел со два гена и еден полипептид 113
Шокот на Тонегава - имуноглобулинските гени се преуредуваат 114

Повеќегенска организација на Иг гените 115

Секоја повеќегенска фамилија има различни особини 115
Повеќегенска фамилија на тешките вериги 115

Генско преуредување во варијабилното подрачје 116

ДНК од лесната верига претрпува преуредување на В-J 117
ДНК од тешката верига претрпува преуредувања на В-Д-J 118

Механизам за преуредувањето на ДНК во варијабилното подрачје 119

Рекомбинациските сигнални секвенци ја управуваат рекомбинацијата 119
Генските сегменти се поврзуваат со рекомбинази 119
Преуредувањето на имуноглобулинските гени може да биде продуктивно или непродуктивно 121
Алелското исклучување обезбедува единечна противгена специфичност 121

Создавање противтелна разновидност 123

Постојат бројни зародишни В, Д и J генски сегменти 123
Комбинаторското поврзување В-J и В-Д-J создава разновидност 123
Сврзаната флексибилност додава разновидност 123
П-додавањето придава разновидност во палиндромските секвенци 125
Н-додавањето придава значителна разновидност со додавање нуклеотиди 125
Соматската хипермутација додава/придава разновидност во веќе преуредените генски сегменти 125
Крајниот извор за разновидност е комбинаторското спојување на тешките и лесните вериги 127
Имуноглобулинската генска разновидност се разликува меѓу видовите 127

Превклучување класи меѓу гени со константно подрачје 128

АИД (активациски индуцирана цитидин деминаза) ги посредува и соматската хипермутација и превклучувањето класи 128

Прикажување Иг-гени 130

Првичните записи до тешките вериги претрпуваат различна обработка на РНК 130
Прикажување мембрански или излачен имуноглобулин 130
Истовремено прикажување на ИгМ и ИгД 133

Синтеза, склопување и лачење имуноглобулини 133

Регулирање на препишувањето на имуноглобулинските гени 133

Преуредувањето на ДНК во голем степен го забрзува препишувањето 135
Прикажувањето на Иг генот е попречено кај Т-клетките 135

Противтелни гени и модифицирање противтела 136

Химерните и очовечените моноклонски противтела имаат моќен клинички потенцијал 136
Модифицирани се глувци со човечки имуноглобулински локуси 137
Збирките на фагите овозможуваат создавање моноклонски противтела без имунизација 137

КЛИНИЧКИ ФОКУС Терапија за не-Хочкинов лимфом и други болести со генски модифицирани противтела 140

6 Меѓудејства противген-противтело. Начела и примени 145

Сила на меѓудејствата противген-противтело 145

Противтелниот афинитет е квантитативна мерка за силата на врзување 145
Противтелниот афинитет вклучува афинитет од повеќекратни врзни места 148

Вкрстена реактивност 149

Површна пазмонска резонанца (ППР) 149

ППР може да се користи за карактеризирање епитопски својства при собирање противтела 150

Таложни реакции 151

Таложните реакции во гелот даваат видливи линии од талози 151
Имуноелектрофорезата ги комбинира електрофорезата и двојната имунодифузија 152

Аглутинациски реакции 153

Хемаглутинацијата се користи за одредување крвна група 153
За дијагнозирање на инфекцијата се користи бактериска аглутинација 154
Пасивната аглутинација е корисна со растворливи противгени 154
При аглутинациска инхибиција, отсуството на аглутинација е дијагностичка за противгенот 154

Радиоимуноанализа 154

Имуноапсорбентна анализа поврзана со ензим 155

Постојат бројни варијанти на ЕЛИСА 155

Вестерново дамкосување 158

Имуноталожење (имунопреципитација) 158

Имунофлуореесценција 160

Проточна цитометрија и флуоресценција 161

Алтернативи за противген-противтелни реакции 162

КЛИНИЧКИ ФОКУС Проточна цитометрија и одредување на леукемијата 163

Имуноелектронска микроскопија 164

7 Систем на комплемент 168

Функциите на комплементниот систем 168

Компоненти на комплементот 169

Активирање на комплементот 169

Класичната патека на активација на комплементот започнува со врзување на противген-противтело 170
Алтернативната патека е независна од противтелата 173
Лектинската патека започнува кога протеините од домаќинот ќе се врзат за површината на микробите 175

Трите патеки на активирање на комплементот се сретнуваат во мембрански напаѓачкиот комплекс 175

Регулирање на системот на комплементот 177

Биолошки последици од активацијата на комплементот 180

Мембранскиот напаѓачки комплекс може да лизира широк спектар на клетки 180
Продуктите од цепењето на компонентите на комплементот посредуваат во воспалението 182
КЛИНИЧКИ ФОКУС Пароксизмална ноќна хемоглобинурија: Дефект при регулирање на лизата предизвикана од комплементот 183
Врзувањето на К3б иК4б ја олеснува опсонизацијата 184
Комплементниот систем ја неутрализира и инфективноста на вирусите 184
Комплементниот систем ги отстранува имуните комплекси од циркулацијата 185

Недостатоци на комплементот 185

8 Главен ткивно-совпадлив комплекс и противгенско прикажување 189

Основна организација и наследување на ГТК 190

ГТК кодира три главни класи молекули 190
Алелски форми на ГТК гените се наследуваат во поврзани групи наречени хаплотипови 191
Генетски чистите соеви на глувци помогнаа во проучувањето на ГТК 193

ГТК молекули и гени 193

Молекулите од класа 1 имаат гликопротеинска тешка верига и мала протеинска лесна верига 193
ГТК молекулите од класа 2 имаат две различни гликопротеински вериги 195
Егзон/интрон распоредот на гените за класа 1 и 2 ја отсликува нивната доменска структура 196
Молекулите од класа 1 и класа 2 покажуваат полиморфизам во регионот кој ги врзува пептидите 197
Молекулите од класа 1 и класа 2 на ГТК прикажуваат разноликост во рамките на еден вид, а повеќе форми се прикажуваатќај една индивидуа 199

Детална геномска мапа на ГТК гените 201

Подрачјето од класа 1 кај луѓето зафаќа околу 2000 кб на теломерниот крај од ХЛА комплексот 202
ГТК гените од класа 2 се наоѓаат на центромерниот крај од ХЛА 203
ГТК гените од класа 3 кај човекот се наоѓаат меѓу класа 1 и класа 2 203

Клеточно прикажување на ГТК молекули 203

Регулација на прикажувањето на ГТК 204

ГТК и осетливост на болест 205

ГТК и имунолошката реактивност 206

Спрегнатост на Т-клетките и сопствениот ГТК 207

Улога на противген-прикажувачките клетки 207

Преработување на противгенот е неопходно за препознавање од страна на Т-клетките 208
Повеќето клетки можат да претстават противген со ГТК класа 1, прикажувањето со ГТК класа 2 е ограничено кај РРК 209

Докази за различното преработување на противгени и прикажувачки патеки 209

Ендогени противгени: цитосолна патека 210

Пептидите за прикажување се создаваат со протеазни комплекси наречени протеасоми 211
Пептидите се транспортираат од цитосолот во рапавиот ендоплазмен ритикулум 211
Склопување на пептидите и класа 1 од ГТК, потпомогнато од придружните молекули 212
КЛИНИЧКИ ФОКУС Недостаток на транспортерите поврзани со преработката на противгени (ТАП) доведува до разновиден спектар на болести 213

Егзогени противгени: Ендоцитна патека 214

Пептидите се создаваат од интернализираните молекули во ендоцитните меурчиња 214

Неменливата верига го води транспортот на ГТК молекулите од класа 2 до ендоцитните меурчиња 214
Пептидите се склопуваат со ГТК молекулите од класа 2 преку разместување на КЛИП 215

Вкрстено-прикажување егзогени противгени 217

Прикажување на непептидни противгени 217

9 Т-клеточен рецептор 223

Поранешни проучувања на Т-клеточниот рецептор 223

Класичните експерименти го покажаа ограничувањето на сопствениот-ГТК кај Т-клеточниот рецептор 224
Т-клеточните рецептори беа изолирани со употреба на клонотипскии противтела 224
Генот за ТКР со бета-верига беше клониран со употреба на одземачка хибридизација 224

Алфа-бета и гама-делта Т-клеточни рецептори: Структура и функција 226

Организација и преуредување на гените од ТКР 228

ТКР гените со варијабилно подрачје се преуредуваат на начин кој е сличен на противтелните гени 229
Механизам на преуредување на ДНК за ТКР 230
Алелско исклучување кај ТКР гените 231
Преуредените гени од ТКР се групираат од генските сегменти В, J и Д 231

КЛИНИЧКИ ФОКУС Преуредувања во Т-клетките во улога на обележувачи за канцерогените клетки 232
Разноликоста на ТКР се создава слично како разноликоста на противтелото, но без соматска мутација 232

Т-клеточен рецепторен комплекс: ТКР-КД3 235

Т-клеточни помагачки мембрански молекули 236

Корецепторите КД4 и КД8 се врзуваат за зачуваните подрачја од молекулите од класа 1 и класа 2 од ГТК 236
Афинитетот на ТКР за комплексот пептид-ГТК е засилен преку корецепторите 238

Тридимензионални структури на комплексите ТКР-пептид-ГТК 240

ТКР-и различно стапуваат во меѓудејство со молекулите од класа 1 и класа 2 241

Алореактивност на Т-клетките 241

10 Т-клеточно зреење, активација и диференцијација 245

Т-клеточно зреење и тимусот 245

Селекција на Т-клеточната разноликост во тимусот 248

Позитивната селекција обезбедува ГТК спрегнување 249
Негативната селекција обезбедува самотолеранција 250
Експериментите ги открија потребните елементи на позитивната и негативната селекција 250
Одредени важни проблеми за тимусната селекција остануваат нерешени 251

Активација на Т-клетките 254

Повеќе сигнални патеки се поттикнуваат со поврзување на ТКР 254
Колку ТКР комплекси мора да бидат поврзани за да се поттикне активација на Т-клетките? 258
За целосна активација на Т-клетките потребни се костимулаторни сигнали 259
Клонална анергија настанува кога костимулаторниот сигнал е отсутен 259
Суперпротивгените поттикнуваат Т-клеточна активација преку истовремено поврзување со ТКР и ГТК 2 260

Диференцијација на Т-клетките 262

Активираните Т-клетки создаваат ефекторни и памтечки Т-клетки 262
КД4+ КД25+ субпопулацијата на Т-клетки негативно ги регулира имуните одговори 263
Противген-прикажувачките клетки имаат карактеристични костимулаторни својства 263

Клеточна смрт и Т-клеточни популации 264

КЛИНИЧКИ ФОКУС Откажувањето на апоптозата предизвикува дефектна лимфоцитна хомеостаза 266

11 Создавање, активација и диференцијација на Б-клетките 271

Б-клеточно зреење 271

Родителските Б-клетки пролиферираат во коскената срцевина 272
Иг-генското преуредување создава незрели Б-клетки 273
Пре-Б-клеточниот рецептор е неопходен за Б-клеточниот развој 274
Експериментите со отстранети гени ги утврдија неопходните препишувачки фактори 275
Клеточно-површинските обележувачи ги утврдуваат развојните стадиуми 275
Б-1 Б-клетките се самообновлива Б-клеточна подгрупа 275
Самореактивните Б-клетки се селектираат во коскената срцевина 276
Самореактивните Б-клетки може да се спасат со уредување на гените од лесната верига 278

Б-клеточна активација и пролиферација 278

Тимуснозависниот и тимуснонезависниот противген имаат различни потреби за одговор 278
Два типа сигнали ги управуваат Б-клетките во и низ клеточниот циклус 279
Пренесувањето на активирачките сигнали вклучува Иг-алфа/Иг-бета хетеродимери 279
Б-клеточното сигнализирање е поттикнато од врзување на противгенот и поттикнува голем број сигнално преносливи патеки 281
Б-клеточниот корецепторен комплекс може да ги засили Б-клеточните одговори, а КД22 може да ги попречи 281
КЛИНИЧКИ ФОКУС Икс-врзана агамаглобулинемија: Слабост во сигналното пренесување и во Б-клеточниот развој 284
$Т_{по}$ клетки играат значајна улога во повеќето Б-клеточни реакции 285
Зрелите самореактивни Б-клетки можат да бидат негативно селектирани во периферијата 287

Хуморален одговор 289

Првичните и вторичните одговори значително се разликуваат 289
Т-помагачките клетки играат значајна улога во хуморалниот одговор кон хаптен-носечки конјугати 290

Ин виво области за поттикнување на хуморални одговори 292

Зародишни центри и противгенпоттикната Б-клеточна диференцијација 292

Афинитетното зреење е резултат од повторено зреење и селекција 293
Памтечките Б-клетки и плазма клетките се создаваат во зародишните центри 296

Регулација на имуниот ефекторен одговор 297

Различни противгени може да се натпреваруваат меѓусебно 297
Присуството на противтело може да го супресира одговорот на противгенот 297

ДЕЛ III Механизми на имуни ефектори

12 Цитокини 302

Особини на цитокините 302

Цитокините припаѓаат на четири фамилии 305
Цитокините имаат бројни биолошки функции 306

Цитокински рецептори 307

Цитокинските рецептори припаѓаат на четири фамилии 308
Потфамилиите од класа 1 цитокинските рецептори имаат заеднички сигнални поединици 309
ИЛ-2Р е најдетално проучуваниот цитокински рецептор 311
Цитокинските рецептори поттикнуваат сигнализирање 312

Цитокински противници 314

Цитокинско лачење од $T_{по}1$ и $T_{по}2$ подгрупите 314

Развојот на $T_{по}1$ и $T_{по}2$ подгрупите се одредени од цитокинската средина 316
Цитокинските профили се вкрстено регулирани 317
$T_{по}1/T_{по}2$ рамнотежата ги одредува резултатите од болеста 318

Цитокински поврзани болести 318

Септичниот шок е чест и потенцијално смртоносен 318
Бактериският токсичен шок е предизвикан од суперпротивгените 319
Цитокинската активност е вклучена во лимфоидните и миелоидните карциноми 319
Чагасовата болест е предизвикана од паразит 319

Цитокин базирани терапии 320

Цитокините во хематопоезата 321

КЛИНИЧКИ ФОКУС Терапија со интерферони 322

13 Активирање и мигрирање на белите клетки 327

Клеточни адхезиски молекули 327

Хемокини 329

Профилите хемокин-рецептор ја посредуваат активноста на белите клетки 331

Екстравазација на бели клетки - повеќечекорна парадигма 332

Рециркулација на лимфоцити 334

Екстравазација на лимфоцитите 334

Високоендотелните венули се местата за екстравизација на лимфоцитите 334
Домувањето на лимфоцитите е насочувано од профилот на рецепторите и сигналите 336
Наивните лимфоцити рециркулираат кон вторичното лимфоидно ткиво 336
Ефекторните и памтечките лимфоцити прифаќаат различни модели на движење 336

Други посредници на воспаление 338

Системот кинин се активира со повреда на ткивото 338
Системот за сосирување создава фибрин-создадени посредници во воспалението 338
Системот за сосирување создава плазмин-создадени посредници во воспалението 338
Комплементниот систем создава анафилатоксини 338
Некои липиди се однесуваат како посредници на воспалението 339
Некои цитокини претставуваат значајни посредници на воспалението 339

Процесот на воспаление 340

Неутрофилите учествуваат во првичните фази и играат значајна улога при воспалението 340
Воспалителните реакции можат да бидат локални или системски 340
КЛИНИЧКИ ФОКУС Недостаток на адхезија на белите клетки (НАБК) (leukocyte adhesion deficiency = LAD) кај луѓето и говедата 343
Хронично воспаление се развива кога противгенот опстојува 344
Улогата на ИФН-гама и ТНФ-алфа во хроничната инфекција 344
При хроничното воспалителното заболување се појавуваат структури кои наликуваат на BEB 346

Противвоспалителни агенси 346

Терапиите со противтелата ја намалуваат екстравазацијата на белите клетки 346
Кортикостеоридите се моќни противвоспалителни лекови 347
Употреба на НСПВЛ против болката и воспалението 347

14 Клеточно посредувани цитотоксични реакции 351

Ефекторни реакции 351

Општи својсва на ефекторните Т-клетки 352

Барањата за активирање на Т-клетките се разликуваат 352
Клеточните атхезивни молекули ги олеснуваат ТКР-посредуваните меѓудејства 352
Ефекторните Т-клетки прикажуваат мноштво ефекторни молекули 353

Цитотоксични Т-клетки 353

Ефекторните ЦТЛ се создаваат од претходници на ЦТЛ 353
$КД8^+$ ЦТЛ може да се следат со ГТК-тетрамерната технологија 355
ЦТЛ убиваат клетки на два начини 355

Клетки природни убијци 360

КПУ и Т-клетките имаат одредени заеднички особини 361
Убивањето од страна на КПУ е слично на убивањето посредувано до ЦТЛ 361
КПУ имаат активирачки и инхибиторни рецептори 362
КЛИНИЧКИ ФОКУС Комбинациите на гените ГТК-КИР влијаат врз здравјето 364

КПУТ клетки 364

Противтелно зависна клеточно посредувана цитотоксичност (ПЗКЦ) 366

Експериментално испитување на клеточно посредуваната цитотоксичност 366

Кокултивурање на Т-клетки со туѓи клетки стимулира МЛР 366
Активноста на ЦТЛ може да се покаже со КПЛ 367
Реакцијата ППД (пресадок против домаќин) е показател за клеточно посредуваната цитотоксичност 367

15 Реакции на преосетливост 371

Класификацијата на Гел и Кумбс 371

ИгЕ-посредувана преосетливост (тип 1) 372

Постојат неколку заеднички компоненти на реакциите од тип 1 373
Премостувањето на ИгЕ предизвикува обеззрнување 377
Внатреклеточни настани кои предизвикуваат обеззрнување на мастоцитот 377
Одреден број фармаколошки агенси посредуваат реакции од тип 1 379
Реакциите од тип 1 можат да бидат системски или локални 381
Реакциите на доцна фаза предизвикуваат локализирани воспалителни реакции 383
Реакциите од тип 1 се регулираат од страна на голем број фактори 383
Генетика на астма 384
Неколку клинички методи се користат за откривање на реакциите на преосетливост тип 1 386
Преосетливоста тип 1 може да се контролира со лекови 386

Противтелнопосредувана цитоксична (тип 2) преосетливост 388

Трансфузиските реакции се реакции од тип 2 388
Хемолитичката болест на новороденчето е предизвикано од реакции од тип 2 389
Хемолитичната анемија предизвикана од лекови е одговор од тип 2 391

Преосетливост посредувана со имуни комплекси (тип 3) 391

Реакциите од тип 3 може да бидат локални 392
Реакциите од тип 3 исто така може да бидат и генерализирани 392

Преосетливост од одложен тип (ПОТ) или тип 4 393

Постојат неколку фази на ПОТ одговорот 394
Во ПОТ реакцијата учествуваат бројни цитокини 395
ПОТ реакцијата се открива со кожен тест 396
Контактниот дерматит е вид на ПОТ одговор 396

ДЕЛ IV Имуниот систем во услови на здравје и болест

16 Толеранција и автоимунитет 401

Утврдување и одржување на толеранцијата 402

Централната толеранција го ограничува развојот на автореактивните Т и Б-клетки 403
Периферната толеранција ги регулира автореактивните клетки во циркулацијата 404
Регулаторните Т-клетки се дел од периферната толеранција 406
Изолацијата на противгенот е заштитно средство за сопствените противгени 407
Неуспех на толеранцијата води до автоимунитет 407

Орган-специфични автоимуни болести 407

Одредени автоимуни болести се посредувани преку директно клеточно оштетување 407
Одредени автоимуни болести се посредувани од стимулирачки или блокирачки автопротивтела 409

Системски автоимуни болести 410

Системскиот лупус еритематозус напаѓа голем број ткива 410
Мултипла склерозата го напаѓа централниот нервен систем 411
Ревматоидниот артрит ги напаѓа зглобовите 411

Животински модели на автоимуни болести 411

Автоимунитетот може спонтано да се развие кај животните 412
Автоимунитетот може да биде поттикнат експериментално кај животните 413

Доказ кој ги вклучува КД4⁺Т клетките, ГТК и ТКР во автоимунитетот 413

КД4⁺Т-клетките и Тпо1/Тпо2 рамнотежата играат значајна улога во автоимунитетот кај одредени животински модели 414
Автоимунитетот може да биде поврзан со ГТК или со посебни Т-клеточни рецептори 414

Предложени механизми за поттикнување на автоимунитетот 414

Ослободувањето на скриените противгени може да поттикне автоимуна болест 415
КЛИНИЧКИ ФОКУС Зошто жените се поосетливи на автоимунитет од мажите? Полови разлики кај автоимуните болести 416

Молекулската мимикрија може да придонесе за автоимуна болест 416
Постои доказ за мимикријата помеѓу МБП и вирусните пептиди 418
Неесодветното прикажување на класа 2 ГТК молекулите може да ги сензибилизира автореактивните Т-клетки 418
Поликлонска Б-клеточна активација може да доведе до автоимуна болест 419

Лекување на автоимуните болести 419

Лекувањето на човечките автоимуни болести наметнува посебни предизвици 420
Воспалението е цел при лекувањето на автоимунитетот 420
Активираните Т-клетки се можна терапевтска цел 421
Оралните противгени можат да поттикнат толеранција 421

Клиничко пресадување 440

Најчесто пресадуваниот орган е бубрегот 441
Коскеносрцевинските пресадоци се користат против леукемија, анемија и имунонедостаток 441
Срцевото пресадување е предизвикувачка операција 442
Расте бројот на белодробните пресадувања 442
Црнодробните пресадувања лекуваат вродени дефекти и оштетувања од вирусни или хемиски агенси 442
Пресадувањето на панкреасните клетки нуди лек за шеќерната болест 442
Кожните пресадоци се користат за лекување на лицата со изгореници 443
Ксенопресадувањето може да биде одговор за недостатокот на дарителски органи 443

17 Пресадување во имунологијата 425

Имунолошката основа на пресадочното отфрлање 426

Пресадочното отфрлање покажува специфичност и паметење 426
Т-клетките играат клучна улога во алопресадочното отфрлање 426
Слични противгени профили поттикнуваат алопресадочно прифаќање 428
Пресадочните дарители и примателите се типизираат за ЦКК и ГТК противгените 428
Клеточно посредуваното пресадочно отфрлање настанува во две фази 431

Клинички манифестации на пресадочно отфрлање 433

Веќе постојните противтела кај примателот го посредуваат хиперакутното отфрлање 433
Акутното отфрлање е посредувано од Т-клеточните одговори 434
Хроничното отфрлање настанува месеци или години по пресадувањето 434

Општа имуносупресивна терапија 434

Митотичните инхибитори ја попречуваат клеточната пролиферација 434
КЛИНИЧКИ ФОКУС Дали постои клиничка иднина за ксенопресадувањето? 435
Кортикостероидите супресираат воспаление 436
Одредени габични метаболити се имуносупресиви 436
Целосното лимфоидно зрачење ги отстрани лимфоцитите 436

Специфична имуносупресивна терапија 436

Противтелата можат да ги супресираат реакциите на пресадочно отфрлање 437
Блокирањето на костимулаторните сигнали може да предизвика анергија 438

Имунолошка толеранција на алопресадоците 439

Привилигираните области прифаќаат неспарени противгени 439
Рано изложување на алопротивгените може да поттикне специфична толеранција 439

18 Имун одговор на инфективни болести 447

Вирусни инфекции 448

Голем број вируси се неутрализирани со противтела 449
Клеточно-посредуваниот имунитет е важен за вирусната контрола и отстранување 450
Вирусите можат да ги избегнат одбранбените механизми на домаќинот 450
Инфлуенцата била одговорна за дел од најопасните пандемии во историјата 451
Хуморалниот одговор кон инфлуенца е видово специфичен 454
Птичјиот X5H1 претставува закана за пандемија 454

Бактериски инфекции 455

Се разликуваат имуните реакции на надворклеточните и внатреклеточните бактерии 455
Бактериите можат ефикасно да ги избегнат одбранбените механизми на домаќинот 455
Имуните реакции можат да придонесат за бактериската патогенеза 457
Дифтеријата (*Corynebacterium diphtheriae*) може да се контролира преку имунизација со инактивиран токсоид 458
Туберколозата (*Mycobacterium tuberculosis*) првенствено се контролира од КД4+Т клетките 458

Паразитарни болести 460

Протозоалните болести засегаат милиони лица низ светот 460
Маларија (вид *Plasmodium*) инфицира 600 милиони луѓе низ светот 460
Два вида на *трипанозома* предизвикуваат Африканска спиечка болест 462
Лајшманијазата е корисен модел за прикажување на разликите во реакциите на домаќинот 462
Голем број на болести се предизвикани од паразитски црви (хелминти) 462

Габични болести 465

Вродениот имунитет ги контролира повеќето габични инфекции 466
Имунитетот против габичните патогени може да се стекне 466

Инфективни болести кои се појавуваат 467

Болестите можат повторно да се појават од разни причини 467
КЛИНИЧКИ ФОКУС Закана од инфекција со потенцијални агенси на биотероризам 468
Од неодамна се појавија одредени фатални болести 470
Избувнувањето на САРС поттикна брз меѓународен одговор 470

19 Вакцини 475

КЛИНИЧКИ ФОКУС Вакцинирање: Предизвиците во САД и земјите во развој 476

Активна и пасивна имунизација 477

Пасивната имунизација вклучува пренесување на претформирани противтела 477
Активната имунизација предизвикува создавање долготрајна заштита 478

Создавање вакцини за активна имунизација 481

Живи, атенуирани вакцини 481

Инактивирани или „мртви“ вакцини 484

Поединични вакцини 484

Токсоидите се користат како вакцини 484
Како вакцини се употребуваат бактериски полисахаридни капсули 485
Вирусните гликопротеини се вакцински кандидати 485
Патогените протеини се изработуваат со техники на рекомбинација 485
Употребата на синтетичките пептиди како вакцини напредува бавно 485

Конјугирани вакцини 486

Еден полисахарид предизвикува заштита против повеќе видови габи 486
Повеќевалентните поединични вакцини поттикнуваат појава клеточен и хуморален имунитет 486

Вакцини со ДНК 488

Рекомбинантни векторни вакцини 488

20 СИДА и други имунонедостатоци 493

Првични имунонедостатоци 493

Лимфоидните имунонедостатоци може да вклучуваат Б-клетки, Т-клетки или и двете 495
Имунонедостатоците на миелоидните клетки го засегаат вродениот имунитет 500
Дефекти на комплементот резултираат со имунонедостаток или болест на имуни комплекси 502
Имунонедостаточните болести се лекуваат со замена на дефектниот елемент 502
Експериментални модели на имунонедостаток вклучуваат генски модифицирани животни 503

СИДА и други стекнати вторични имунонедостатоци 504

ХИВ/СИДА е одговорна за милиони животи низ светот 504
ХИВ-1 се шири преку сексуален контакт, преку инфицирана крв и од мајка на дете 505
КЛИНИЧКИ ФОКУС Превенција од инфекција со ХИВ на новороденче со против-ретровирусен третман 507
Ретровирусот ХИВ-1 е предизвикувачкиот агенс на СИДА 508
Ин витро проучувањата го расветлија циклусот на размножување на ХИВ-1 509
Инфекцијата со ХИВ-1 води до опортунистички инфекции 512
Терапевтски агенси го спречуваат размножувањето на вирусот 515
Вакцината може да биде единствениот начин да се запре епидемијата со ХИВ/СИДА 518

21 Ракот и имуниот систем 525

Рак: потекло и терминологија 525

Малигна трансформација на клетките 526

Онкогените и предизвикувањето рак 527

Гените кои се асоцирани со ракот имаат голем број функции 527
Протоонкогените може да се претворат во онкогени 529
Предизвикувањето на ракот е процес кој се одвива во повеќе чекори 530

Тумори на имуниот систем 530

Туморски противгени 531
Одредени противгени се специфични за туморот 532
КЛИНИЧКИ ФОКУС Вакцина која спречува појава на рак 534
Туморните противгени можат да бидат предизвикани од вируси 535
Повеќето туморни противгени не се карактеристични само за туморските клетки 536
Онкофетални туморски противгени 536
Туморите можат да предизвикаат силен имун одговор 537

Туморското избегнување на имуниот систем 538

Противтуморските противтела може да го засилат растот на туморот 538
Противтелата можат да ги приспособуваат туморските противгени 538
Туморските клетки често прикажуваат ниски нивоа на ГТК молекули од класа 1 538
Туморските клетки можат да обезбедат слаби костимулаторни сигнали 538

Туморска имунотерапија 539

Манипулацијата со костимулаторните сигнали може да го засили имунитетот 539
Засилувањето на активноста на ППК може да го приспособи туморскиот имунитет 540
Терапијата со цитокините го зголемува имуниот одговор кон туморите 540
Моноклонските противтела се ефикасни при лекување на одредени тумори 542

22 Експериментални системи 546

Експериментални животински модели 546

Генетски чистите соеви може да ги намалат експерименталните варијации 547
Системите за стекнат пренос овозможуваат ин виво испитување на изолирани клеточни популации 547

Системи за култивирање на клетки 547

Првичните лимфоидни клеточни култури потекуваат од крв или од лимфоидни органи 547
Клонираните лимфоидни клеточни линии се значајни алатки во имунологијата 549
Подготвување хибридни лимофоидни клеточни лози 550

Биохемија на протеините 551

Техниките со радиообележување овозможуваат чувствително откривање на противгени или противтела 551
Обележувањето со биотин го олеснува откривањето на мали количества на протеини 551
Електрофорезата на гел ги одделува протеините по големина и полнеж 551
Рендгенската кристалографија обезбедува структурни информации 553

Технологија на рекомбинаторната ДНК 555

Рестрикциските ензими ја расцепуваат ДНК во специфични секвенци 555
ДНК секвенците се клонираат во вектори 556
Векторите за клонирање се корисни за репликација на дефинирани ДНК секвенци 556
Со клонирање на кДНК и геномска ДНК се овозможува изолирање на дефинирани секвенци 556
ДНК клоновите се селектираат со хибридизација 558
Со Садерново дамкосување „Southern blotting" се открива ДНК на дадена секвенца 559
Со Нордерново дамкосување „Northern blotting" се детектира мРНК 559
Полимеразно верижната реакција амплифицира мали количини на ДНК 559

Анализа на ДНК регулаторни секвенци 560

Со ДНК отисоците се идентификуваат местата каде протеините се врзуваат за ДНК 560
Со електрофоретско испитување на мобилноста се идентификуваат комплекси ДНК-протеин 561
Со анализи на луцифераза се мери препишувачката активност 562

Трансфер на гени во клетки од цицачи 562

Клонираните гени кои се пренесени во култивирани клетки овозможуваат ин витро анализа на функцијата на гените 562
Клонираните гени кои се пренесени во ембриони од глушец овозможуваат ин виво анализа на функцијата на гените 563

Кај глувците со отстранет ген (нокаут), целните гени се прекинати 564

„Вметнувачка" ("Knock-In") технологијата овозможува замена на ендоген ген 565
Индуцибилното генско целење, Cre/***lox*** системот, цели генско бришење 565

Микронизи - пристап за анализирање на модели од генско прикажување 567

КЛИНИЧКИ ФОКУС Микронизна анализа како дијагностичка алатка за болестите кај човекот 568

Двофотонска микроскопија за ин виво прикажување на имуниот систем 570

Напредок во флуоресцентната технологија 571

Додаток I: КД Антигени Д-1

Додаток II: Цитокини Д-1

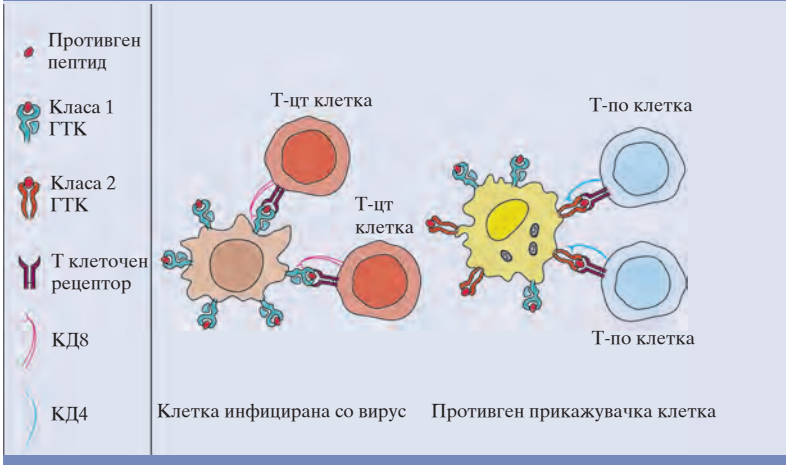
Речник Р-1

Одговор на прашања за учење О-1

Индекс И-1

Поглавје 1

Преглед на имуниот систем



Т - клеточно препознавање противген - ГТК

- Историска перспеткива
- Рани проучувања за хуморалниот и клеточниот имунитет
- Теоретски предизвици
- Инфекција и имунитет
- Вроден и стекнат имунитет
- Имунолошко нарушување и неговите последици

Имуниот систем еволуирал за да ги штити повеќеклеточните организми од патогените. Како мошне приспособлив, тој го штити телото од разни напаѓачи, како што се вирусот кој предизивкува полио (polio) и плочест црв (flatworm) кој предизивкува шистосомијаза. Имуниот систем создава мошне разновидни клетки и молекули кои се способни за специфично препознавање и отстранување на надворешните напаѓачи, кои сите дејствуваат заедно во динамичка мрежа.

Заштитата од имуниот систем може да се подели на две поврзани активности - препознавање и одговор. Имуното препознавање е извонредно во неговиот капацитет да ги разликува надворешните напаѓачи од сопствените компоненти. Имунот систем може да ги препознае молекулските модели кои карактеризираат група на заеднички патогени и да се справи со нив на брз и одлучен начин. Дури може да ги препознае и ситните хемиски разлики кои ја прават разликата помеѓу еден надворешен патоген од друг. Пред сè, системот може да прави разлика помеѓу надворешни молекули и клетките и молекулите во самото тело (разликување свое-туѓо). Според тоа, системот може да разликува клетки од домаќинот кои се изменети и кои може да доведат до рак. Обично, препознавањето на патогенот од страна на имуниот систем поттикнува **одговор од ефекторите** кои го отстрануваат или неутрализираат напаѓачот. Голем број компоненти од имуниот систем можат да го претворат почетното препознавање во различни реакции од ефекторот, секој вид на одговор е соодветно поставен за отстранување одреден тип патоген. Одредени изложувања поттикнуваат **памтечки одговор**, кој се карактеризира со побрз и зголемен имун одговор во подоцнежниот напад. Извонредното својство на памтење е она што нè заштитува од заразување по втор пат, а имуното памтење е основа за вакцина, што претставува средство за „едуцирање“ на имуниот систем за да се подготви за подоцнежните напади.

Иако се споменува имун *систем*, треба да се нагласи дека постојат два вида на имунитет, вроден и стекнат имунитет, кои стапуваат во меѓудејство за да го заштитат телото. **Вродениот имунитет** вклучува молекули и клеточни организми поставени пред инфекцијата за да ја спречат или да ја отстранат достојно. Оваа високо ефективна прва линија на одбраната го спречува поголемиот дел од инфекциите при надворешниот допир или ги отстранува во текот од неколку часа по средбата со вродениот имун систем. Елементите за препознавање од вродениот имун систем, прават прецизна разлика меѓу своето и патогените, но тие не се специјализирани да распознаваат мали разлики кај надворешните молекули. Втората форма на имунитетот, позната како **стекнат имунитет**, се развива како одговор на инфекција и се приспособува за да го препознае, да го отстрани, а потоа да го запамети напаѓачкиот патоген. Стекнатиот имунитет е зависен од вродениот имунитет и започнува неколку дена по почетната инфекција. Тој овозможува вторична, целосна линија на одбрана која ги отстранува патогените кои го напаѓаат одговорот од вродениот систем или опстојуваат и покрај нив. Значајна последица од одговорот на стекнатиот имунитет е памтењето. Ако се работи за истиот патоген, или друг кој е тесно поврзан, патогенот го инфицира телото, а памтечките клетки овозможуваат средства за стекнатиот имун систем да направи побрз и често мошне ефикасен напад врз напаѓачкиот патоген.

Ова поглавје го прикажува имунитетот од историска перспектива. Означени се мошне практичните или употребувани аспекти на имунологијата, нагласувајќи ја улогата на вакцинацијата во развојот на имунитетот како научно поле и како значаен аспект на јавното здравје. Дадена е птичја перспектива за чести патогени на кои сме изложени, со широк преглед врз

процесите, клетките и молекулите кои ги создаваат вродениот и стекнатиот имун систем. На крај, ги опишуваме условите при кои имуниот систем не успева да реагира или кога станува напаѓач, претворајќи ги своите извонредни моќи против домаќинот.

Историска перспектива

Дисциплината имунологија произлегува од набљудувањето на лица кои закрепнале од одредени инфекциски болести и кој потоа се заштитени од болеста. Латинскиот израз *immunis*, кој значи „ослободен“, претставува извор за англискиот збор *имунитет,* што значи состојба на заштита од инфекциска болест.

Можеби најраното спомнување на феноменот за имунитет може да се бара кај Тиоцидид, големиот историчар од Пелопонеската војна. При опишување на бедата во Атина, во 430 пр. н.е. напишал дека само оние кои закрепнале од чумата може да ги лечат болните бидејќи тие нема по втор пат да заболат од болеста. Иако раните заедници го препознаваат феноменот на имунитет, скоро 2000 години поминаа пред концептот успешено да се преобрази во медицинско ефективна практика.

Раните проучувања за вакцините го поведоа патот до имунологијата

Првите забележани обиди намерно да се предизвика имунитет биле направени од страна на Кинезите и Турците во петнаесеттиот век. Тие се обиделе да ги спречат големите сипаници, болест која е фатална кај околу 30% од случаите и која преживеаните ги остава осакатени до крајот на животот (слика 1-1). Извештаите укажуваат дека исушените кори извадени од гнојот при сипаниците или се внесени преку ноздрите или се внесени преку мали искотини во кожата (техника наречена *вариолација*) со цел да се спречи оваа страшна болест. Во 1718 година, Лејди Мери Вортли Мотнагу, сопругата на британскиот амбасадор во Константинопол, ги набљудувала позитивните ефекти од вакцинирањето на турското население и истата техника ја извршила на своите деца. Англискиот доктор Едвард Џенер, во 1798 година, направил огромен напредок при намерно развивање на имунитетот. Поттикнат од фактот дека млекарките заболеле од кравји сипаници (cowpox) подоцна биле имуни на многу потешки сипаници, Џенер дошол до заклучок дека внесувањето на течност од гнојот на пустулата од кравите во луѓето (т.е. да ги вакцинира) може да ги заштити од големите сипаници. За да ја испроба оваа идеја, тој вакцинирал осумгодишно момче со течност од гној од крава заразена со кравји сипаници и подоцна намерно го заразил детето со големи сипаници. Како што предвидел, детето не добило големи сипаници.

Техниката на Џенер за вакцинирање со кравји сипаници за заштита од големи сипаници брзо се раширела низ Европа. Сепак, поминеле околу 100 години пред оваа техника да се примени кај другите болести. Како што често се случува во науката, среќната случајност во комбинација со вештото набљудување доведе до следниот голем напредок во имунологијата, поттикнувањето имунитет за колера. Луј Пастер успеа да ги израсне бактериите за да предизвика птичја колера (fowl cholera) во култура, што ја потврдува нивната улога кога кокошките кои се инјектирани со развиени бактерии развиваат фатална колера. По враќањето од летен одмор, тој вакцинирал неколку кокошки со стар бактериски примерок. Кокошките се разболеле, но на изненадување на Пастер, тие закрепнале. Тогаш Пастер израснал свеж примерок на бактерии со намера за внесување во одредени свежи кокошки. Но, како што се раскажува во приказната, неговата набавка на кокошки била ограничена и затоа ги користел претходно вакцинираните кокошки. Неочекувано, кокошките биле целосно заштитени од болеста. Пастер претпоставувал и докажал дека стареењето ја ослабува вируленцата на патогенот и таквиот ослабен вид може да се внесе за заштита против болеста. Овој ослабен вид тој го нарекол **вакцина** (од латинскиот збор *vacca*, што значи „крава“), во чест на работата на Џенер со внесувањето кравји сипаници.

Пастер ги проширил овие наоди за други болести, покажувајќи дека е можно да го **намали**, или да го ослаби патогенот и да го пушти ослабениот вид како вакцина. Во класичен експеримент извршен во малото село Поли ле Форт во 1881 година, Пастер прв вакцинирал група на овци со загреано-ослабена антракс бактерија (*Bacillus anthracis*). Потоа тој и вакцинираните и дел невакцинирани овци ги заразил со вирулентна култура од бацилот на антракс. Сите вакцинирани овци преживеале, но сите невакцинирани животни умреле. Овие експерименти го означиле почетокот на дисциплината имунологија. Во 1885



СЛИКА 1-1 Африканско дете со исипи на лицето, градите и рацете карактеристични за големите сипаници. Големите сипаници, предизвикани од вирусот *Variola major*, имаат смртна стапка од 30%. Преживеаните често останууваат со грди лузни. [*Centers for Disease Control.*]



СЛИКА 1-2 Изрезбано дрво што покажува Луј Пастер како го гледа Џосеф Мајстер кој прима вакцина против беснило (rabies) *[Од* Harper's Weekly ***29****:836; сопственост на National Library of Medicine.]*

година, Пастер ја внесол првата вакцина кај човек, младо момче кое последователно било каснувано од бесно куче (слика 1-2). Момчето, Џосев Мајстер, било вакцинирано со серија на ослабени вирусни препарати за беснило. Тоа преживеало и подоцна станало тутор во истоимениот институт Пастер.

Вакцинирањето е тековен, светски потфат

Појавата на проучувањето во имунологијата и откривањето на вакцини се тесно поврзани. Откритието, развојот и соодветната употреба на вакцини денес останува предизвик за имунолозите.

Во 1977 година, последниот познат случај на природно добиени големи сипаници е забележан во Сомалија. Оваа опасна болест беше искоренета со универзална употреба на вакцина која не се разликува многу од онаа која ја користел Џенер во 1790-тите години. Последица од искоренувањето е дека универзалната вакцинација стана непотребна, ова претставува огромна придобивка бидејќи вакцината за големи сипаници во себе имала мал степен на ризик за вакцинираните лица и за лица кои биле изложени на неодамнешни вакцини. Сепак, има темна страна при отстранувањето и крајот на универзалната вакцина. Со текот на времето, бројот на лицата без имунитет неопходно ќе порасне. Сепак, еден ден болеста може повторно да се појави преку неприродни средства. Всушност, големите сипаници се сметаат како еден од најопасните биотеристички закани. Како одговор на тоа, развиени се нови вакцини против големите сипаници.

До пресвртница во вакицонологијата во споредба со искоренувањето на големи сипаници може да дојде во секој момент за паралитичниот полио, парализирачка болест предвидена за искоренување во блиска иднина. За да се постигне оваа цел кампањата предводена од Светската здравствена организација се потпира на масовна имунизациска програма за да се постигне оваа цел. Во одредени области овој проект беше успорен од страна на отпорот врз база на гласините дека имунизацијата предизвикува стерилност кај машки деца. Регионалното повторно избувнување на случаите со полио вирусот во одредени области во Азија и Африка кое произлегува од овој отпор претставува пречка, но пречка која може да се надмине со едуцирање и набљудување на успесите од вакцинирањето. Фактот дека полио не е закана во светот и фактот дека тој е отстранет во повеќето земји претставува победа која не треба да се засени со одложувањата на програмата за искоренување.

Во САД и другите индустријализирани земји, вакцините го исчистија домаќинот од детските болести кои само пред 50 години се сметаа за дел од растењето. Благодарение на моменталната работа со вакцините за сипаниците, заушките, црната кашлица (пертусис), тетанусот, дифтеријата и полиото се мошне ретки или непостоечки (табела 1-1). Тешко може да се проценат заштедите на општеството кои настануваат од спречувањето на овие болести. Настрана од страдањето и смртноста, трошокот за лечење на овие болести и ефектите кои настануваат по нив (како што се парализата, оглувувањето, слепилото и менталната ретардација) е огромен и ги попречува трошоците за имунизација.

За одредени болести, имунизацијата е најдобра, ако не и единствена, ефикасна одбрана. Бидејќи сега се достапни одредени антивирусни лекови, главната одбрана против грип мора да биде ефикасна вакцина. Ако се повтори пандемичен грип, како што се предвидува од страна на многу експерти, ќе настане трка меѓу ширењето на грипот и создавањето и пуштањето на ефикасна вакцина. Додека се пишува ова, големо внимание се обрнува на ненадејното избувнување на птичјиот грип. Се регистрираа околу 200 случаи на инфекција кај луѓето, од кои околу половина беа фатални. Ако овој вирус се адаптира ефикасно да се шири кај луѓето, ќе настане голема пандемија. Без превентивна вакцина, пустошот кој настанал во 1918 година, кој остави 50 милиони мртви, може да биде еднаков на овој или да го надмине.

И покрај извештајот за успех со вакцините и нашата доверба во нив, противниците на вакцинациските програми тврдеа дека вакцините повеќе наштетуваат отколку што помогаат, а детските вакцини треба да се намалат или дури да се отстранат. Нема спор дека вакцините претставуваат единствени безбедносни прашања, бидејќи вакцините се даваат на здрави луѓе. Покрај тоа, постои општа спогодба дека вакцините мора да се регулираат и јавноста треба да има пристап до јасни и целосни информации за нив. Иако треба да се оценат обвинувањата од критичарите, многу од нив може да се одговорат со внимателно и објективно испитување на документите. Неодамнешен пример е дека постои обвинување дека тимеросолот кој содржи жива и се внесува како конзерванс, и кој претходно се користел кај одредени вакцини, предизвикува аутизам и е одговорен за неодманешните пораст на зачестеноста на ова нарушување, кое се карактеризира со интензивна самоапсорпција и неспособност да се поврзе со другите. Аутизамот во суштина се манифестира на возраст

ТАБЕЛА 1-1 Случаи на избрани инфекциски болести пред и по воведувањето ефективни вакцини

	ГОДИШНИ СЛУЧАИ / ГОД		СЛУЧАИ ВО 2004 ГОД.
Болест	**Пред вакцина**	**По вакцина**	**Намалување (%)**
Големи сипаници	48 164	0	100
Дифтерија	175 885	0	100
Сипаници	503 282	37	99,99
Заушки	152 209	236	99,85
Пертусис (црна кашлица)	147 271	18 957	87,13
Паралитичко полио	16 316	0	100
Рубела (германски сипаници)	47 745	12	99,97
Тетанус ("lockjew")	1 314 (умирања)	26 (случаи)	98,02
Инвазивен хемофиличен грип	20 000	172	99,14

Извор: Добиено од W.A. Orenstein et al., 2005. *Health Affairs 24:559.*

помеѓу 1 и 2 години, временската рамка во која се даваат многу вакцини (види Поглавје 19). Данската влада одржува прецизни здравствени податоци за нејзините граѓани, извор за информации кои ја нагласуваат наводната случајна поврзаност помеѓу тимеросолот и аутизамот. Податоците укажуваат дека зачестеноста на аутизамот значително се зголеми од 1992 година наваму во Данска. Сепак, податоците исто така покажаа дека употребата на тимеросол како конзерванс за вакцината во земјата е целосно запрена во таа земја неколку години порано. Ваквите податоци го отежнуваат поврзувањето на аутизамот со употребата на тимеросол и укажуваат на потребата од идни истражувања на причините за пораст на аутизамот.

Можеби најголем предизвик во моментов во развојот на вакцините е недостатокот на ефикасни вакцини за големите убијци како што се маларијата и СИДА-та. Останува да се надеваме дека денес имунолозите, со употреба на алатки за молекулска и клеточна биологија, геномикс и претеомикс, ќе направат пробив при спречување на овие болести. Понатамошен проблем кај вакцините е фактот дека милиони деца во земјите во развој умираат од болести кои се целосно превентивни со достапни, безбедни вакцини. Високите трошоци при производството, нестабилноста на производите и проблемите при достава ги чуваат овие вакцини далеку од оние лица кои можат да профитираат од нив. Овој проблем во многу случаи може да се ублажи со развојот на вакцините од идната генерација кои се евтини, топлинско стабилни и кои се внесуваат без игла.

Рани проучувања за хуморалниот и клеточен имунитет

Пастер докажа дека вакцинирањето дејствува, но не успеал да сфати како. експерименталната работа на Емил фон Беринг и Шибасабуро Китазато во 1890 година ги дадоа првите детали за механизмите на имунитетот, за што фон Беринг во 1901 год. ја доби првата Нобелова награда по медицина (табела 1-2). Фон Беринг и Китазато покажаа дека **серумот** (течноста, неклеточен дел изведен од засирената крв) од животните претходно имунизирани од дифтерија може да ја пренесе имунизациската состојба кај неимунизирани животни. При потрагата на заштитен агенс, различни истражувачи во наредната деценија покажаа дека одереден активен дел од имунизираниот серум може да неутрализира токсини, да наталожи токсини и да ја слепи (групира) бактеријата. Во секој случај, активниот агенс беше така наречен поради активноста која ја извршуваше: противотров (антитоксин), исталожувач (преципитин) и слепувач (аглутинин). На почетокот, се веруваше дека различни серумски делови се одговорни за секоја активност, но во 30-тите години од дваесеттиот век, главно од страна на Елвин Кабат, дел од серумот кој беше наречен гамаглобулин (сега **имуноглобулин**) се покажа како одговорен за сите овие активности. Активните молекули во имуниот дел се наречени **противтела**. (Изразите *противтело (противтело)* и *имуноглобулин* може да се користат наизменично, но обично изразот *противтело* е резервиран за имуноглобулините со позната специфичност за противген). Бидејќи имунитетот е посредуван од противтелата кои се содржат во телесните течности (тогаш познати како хумори), беше наречен хуморален имунитет.

Забелешката на фон Беринг и Китасато се примени во клиничката практика. Пред пристигнувањето на терапијата со антибиотици против инфекциски болести, противсеруми кои често се подготвувале во коњи, се даваа кај пациенти со различни болести. Денес постојат терапии кои се потпираат на пренесувањето на имуноглобулини и со развојот на технологијата за моноклонските противтела, терапијата со противтела сега е добро утврден комерцијален потфат (види клинички фокус во Поглавје 4). Итната употреба на противтелата кои содржат серум против уboди од змија или скорпија кај гризнатите жртви е вообичаена постапка. Додека се вели дека вакцината е поттикнувач на **активниот имунитет** кај домаќинот, пренесувањето на противтела со дадена специфичност го посредува **пасивниот имунитет**. Новороденчињата кои само што се родени добиваат од пасивниот имунитет посреден од присуството на противтела од мајката во нивната циркулација. Пасивниот имунитет може да се даде како превентива (про-

ТАБЕЛА 1-2 Нобелови награди за имуни истражувања

Година	Примател	Земја	Истражување
1901	Emil von Behring	Германија	Серумски противтела
1905	Robert Koch	Германија	Клеточен имунитет за туберколоза
1908	Elie Metchnikoff Paul Ehrlich	Русија Германија	Улога на фагоцитите (Мечников) и противотрови (Ерлих) во имунитетот
1913	Charles Richet	Франција	Анафилакса
1919	Jules Bordet	Белгија	Бактериолиза посредувана од комплемент
1930	Karl Landsteiner	САД	Откритие на човечките крвни групи
1951	Max Theiler	Јужна Африка	Развој на вакцината за жолта треска
1957	Daniel Bovet	Швајцарија	Антихистамини
1960	F. Macfarlane Burnet Peter Medawar	Австралија Велика Британија	Откривање стекната имунолошка поднесливост
1972	Rodney R. Porter Gerald M. Edelman	Велика Британија САД	Хемиска структура на противтелата
1977	Rosalyn R. Yalow	САД	Развој на радиоимунолошка анализа
1980	George Snell Jean Dausset Barju Benacerraf	САД Франција САД	Главен ткивно совпадлив комплекс (ГТК)
1984	Cesar Milstein Georges E. Köhler Niels K. Jerne	Велика Британија Германија Данска	Моноклонски противтела Теорија за имуното регулирање
1987	Susumu Tonegawa	Јапонија	Преуредување на гените при создавањето противтела
1991	E. Donnall Thomas Joseph Murray	САД САД	Пресадување во имунологијата
1996	Peter C. Doherty Rolf M. Zinkernagel	Австралија Швајцарија	Улога на ГТК при препознавањето противгени од страна на Т клетките
2002	Sydney Brenner H. Robert Horvitz J. E. Sulston	Јужна Африка САД Велика Британија	Генетска регулација на развивањето орган и смрт на клетките (апоптоза)

филакса) на оние лица кои предвидуваат изложување на одредена болест или кај оние лица со загрозен имунитет.

Противсерумите за одредени бактериски токсини, како што се дифтерија или тетанус, може да се внесат кај заразени лица за да се запре болеста предизвикана од токсин. Драматичната слика на пуштањето се засноваше на тркањето со санки влечени од кучиња од 1085 километри во замрзнатиот предел на Аљаска за да ги донесат дифтерија противотровите од Феирбенкс кај заразените деца во снежниот град Ном за време избувнувањето на дифтерија во 1925 година. Успешниот резултат се слави секоја година при трката со санки влечени од кучиња во градот Идитарод, дури има и статуа од Балто, едно од главните кучиња - влекачи кое се користело во последната фаза на доставувањето, во Централ Парк во Њујорк.

Во 1883 година, дури пред да се откриe дека серумскиот дел може да пренесе имунитет, Ели Мечников покажал дека клетките исто така придонесуваат за имунолошката состојба кај животните. Тој забележал дека одредени бели крвни зрнца, кои тој ги нарекол **фагоцити**, проголтуваат (фагоцитираат) микроорганизми и други надворешни материи (слика 1-3). Кога забележал дека овие фагоцитни клетки се поактивни кај животните кои биле имунизирани, Мечников претпоставил дека клетките, а не серумскиот дел, се главниот ефектор кај имунитетот. Активните фагоцитни клетки идентификувани од страна на Мечников најверојатно биле крвни моноцити и неутрофили (види Поглавје 2).

Теоретски предизвици

Додека развојот на безбедни и ефикасни вакцини и употребата на терапијата со пасивен имунитет остануваат предизвикувачки проблеми во клиничкото (исто така наречено *преведувачко*) истражување, проучувањето на имунологијата исто така покрена збунувачки теоретски прашања кои ја засегаат научната заедица.

Едно прашање кое неодмана се појави ги вклучува релативните улоги на клеточниот и хуморалниот имунитет. Се појави спор меѓу оние лица кои се согласија со концептот на Мечников за **клеточно посредуваниот имунитет**. Сега е очигледно дека и едните и другите се во право - целосниот имун одговор



СЛИКА 1-3 Цртеж од Ели Мечников на фагоцитните клетки кои опкружуваат надворешна честичка. Тој прво го опишал и именувал процесот на фагоцитоза, или внесувањето надворешна честичка од страна на белите клетки.
[Со дозвола од The British Library:7616.h.19, Lectures on the Comparative Pathology of Inflammation изведено во the Pasteur Institute 1891, преведено од F. A. Starling и E. H. Starling, со цртежи од Mechnikov, 1893, p. 64, fig. 32.]

бара и клеточни и хуморални одговори. Раните проучувања на имуните клетки беа отежнати поради недостатокот на генетски одредени модели на животни и модерните техники за култивирање ткива, додека проучувањата со серум ја искористија лесната достапност на крв и утврдени биохемиски техники за прочистување протеински посредници од хуморалниот имунитет. Затоа информациите за клеточниот имунитет заостанаа зад неоткриениот хуморален имунитет.

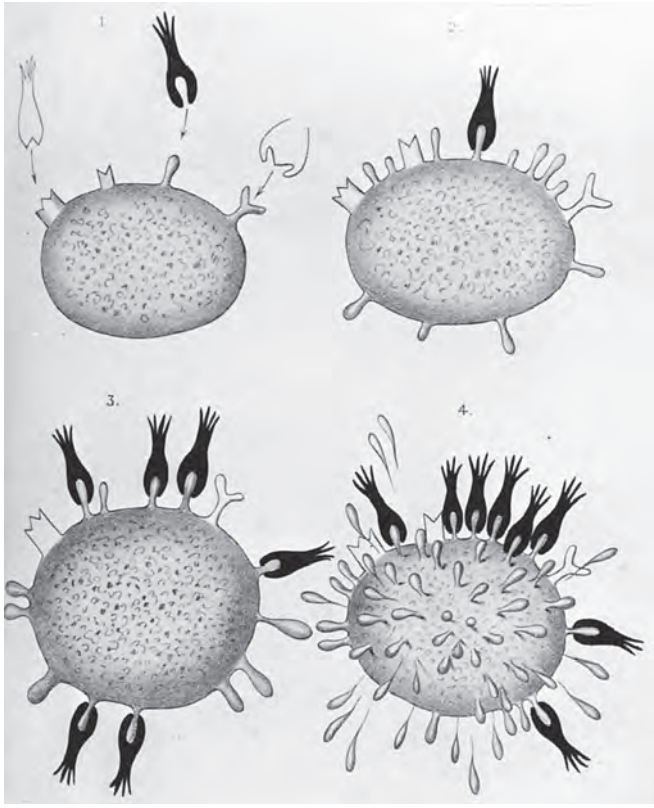
При клучен експеримент во 40-тите години од дваесеттиот век, Мерил Чејз, која работела во Институтот Рокефелер, направи успех при пренесувањето на имунитетот против туберколозен организам со пренесување бели клетки помеѓу гвинејските свињи. Дотогаш, обидите да се направи ефикасна вакцина или терапија на противтела против туберколозата беа неуспешни. Така што, прикажувањето на Чејз помогна повторно да се разгори интерест за клеточниот имунитет. Со појавата на подобрени техники за испитување на клетките во 1?50-тите, **лимфоцитите** беа утврдени како клетки одговорни и за клеточниот и за хуморалниот имунитет. Набрзо потоа, експериментите со кокошки изведувани од Брус Глик при Државниот универзитет во Мисисипи покажа дека има два вида лимфоцити: Т лимфоцити, изведени од тумусот, остваруваат клеточен имунитет, и В лимфоцити, изведени од бурзата на Фабрициус (израсток на cloaca кај птиците), беа вклучени во хуморалниот имунитет. Спорот за улогите на хуморалниот и клеточниот имунитет се реши кога се покажа дека двата системи беа поврзани. Стана јасно дека и двата системи беа неопходни за имун одговор.

Една од најголемите загатки со кои се сочувале првите имунолози била специфичноста на молекулата - противтело за надворешна материја, или **противген** (општ израз за супстанција која се врзува за одредено противтело). Околу 1900 година, Цул Бордет од универзитетот Пастер го објасни концептот на имунитетот кон инфекциските болести со тоа што покажа дека непатогените супстанции, како што се црвените клетки од други видови, може да послужат како противгени. Серумот од животните вакцинирани со неинфекциски материјал во секој случај ќе реагира со внесениот материјал на специфичен начин. Работата на Карл Ландштајнер и оние лица кои го следеле него покажа дека вакцинирање животно со, речиси, која било хемикалија може да поттикне создавање противтела кои специфично ќе се врзат за хемикалијата. Овие проучувања покажаа дека противтелата имаат капацитет за, речиси, неограничен појас од реактивност, вклучувајќи реакции на соединенија кои од неодамна се синтетизирани во лабораторија, а претходно не постоеле во природата. Дополнително, беше покажано дека молекулите кои се различни и до најмал детаљ може да се разликуваат по нивната реактивност со различни противтела. Две главни теории беа предложени на сметка на оваа специфичност: селективната и инструктивната теорија.

Најраниот концепт за *селективната теорија* датира од Пол Ерлих од 1900 година. При обид да го објасни потеклото на серумското противтело, Ерлих предложил дека клетките во крвта прикажуваат различни рецептори, кој тој ги нарекол „рецептори со страничен синџир“ (side - chain receptors), кои може да реагираат со инфекциските агенси и да ги деактивираат. Со позајмување на концептот кој го користел Емил Фишер во 1894 година за да го објасни меѓудејството меѓу ензимот и неговиот супстрат, Ерлих предложил дека врзувањето на рецепторот за инфекциското агенс наликува како клуч и брава. Ерлих сугерирал дека меѓудејството помеѓу инфекциското агенс и клеточно врзаниот рецептор ќе ја поттикне клетката да создава и да ослободува повеќе рецептори со истата специфичност (слика 1-4). Според теоријата на Ерлих, специфичноста на рецепторот во носителот е одредена пред неговото изложување кон противген и противгенот бира соодветен рецептор. На крај, сите аспекти од теоријата на Ерлих ќе се докажат како точни со мал исклучок бидејќи „рецепторот“ постои и како разложлив противтелен молекул и како клеточно врзан рецептор. Разложливата форма се лачи наместо да се ослободува врзната форма.

Во 30-тите и 40-тите години од дваесеттиот век селективната теорија беше предизвикана од различни *инструктивни (поучни) теории*, каде противгенот одиграл централна улога во одредувањето на специфичноста на противтелниот молекул. Според инструктивните теории, одреден противген ќе служи како образец околу кој ќе се обвитка противтелото. Притоа противтелниот молекул ќе ја постави конфигурацијата комплементарна на противгената матрица. Овој концепт прво беше претпоставен од Фридрих Браинл и Феликс Хауровиц во околу 1930 година и редефиниран во 1940 година во рамките на диплењето на протеините од страна на Линус Полинг. Инструктивните теории формално беа отфрлени во 60-тите години од дваесеттиот век, каде во меѓу време се појавуваат информации за структурата на протеините, РНК и ДНК кои ќе понудат нови погледи во здодевниот проблем за тоа како луѓето можат да создаваат противтела скоро против сè.

Во 50-тите години од дваесеттиот век, селективните теории повторно се појавија како резултат на новите експериментални податоци и, со деталите од Нилс Жерн, Давид Талмаџ и Ф. Мекфарлан Бурнет, се редефинираа во теорија која стана позната како теорија на **избор на клонови**. Според оваа теорија, еден лимфоцит прикажува мембрански рецептори кои се специфични за различен противген. Оваа уникатна рецепторска



СЛИКА 1-4 Прикажување на теоријата „рецептори со страничен синџир“ на Пол Ерлих за да го објасни создавањето противтела. Клетката е повеќе потентна, изразено со одреден број на различни рецептори или странични синџири, сите со различни специфичности. Ако противгенот се сретне со оваа клетка и дојде до совпаѓање со еден од нејзините странични синџири, се предизвикува синтеза на тој рецептор и рецепторот се ослободува. [*Кроанските предавања на Елрич од 1900 год. на Кралското општество*]

специфичност се одредува пред лимфоцитот да се изложи на противген. Врзувањето на противгенот за неговиот специфичен рецептор ја активира клетката, предзивикувајќи таа да се размножи во клон од клетките кои ја имаат истата имунолошка специфичност како и родителската клетка. Теоријата за избор на клон подоцна се редефинираше и сега е прифатена како основен закон (парадигма) во модерната имунологија.

Инфекција и имунитет

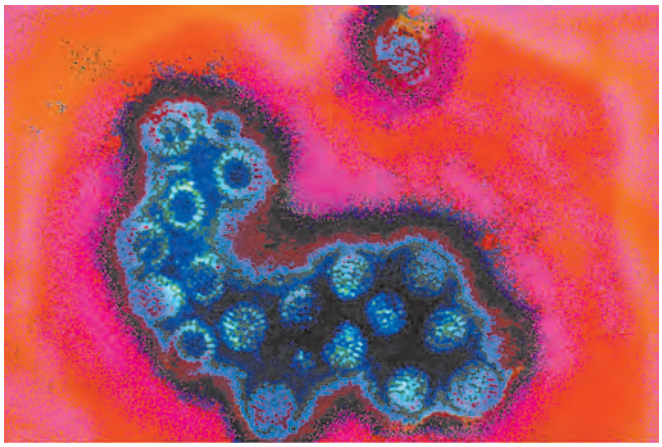
Заедно со развивачкото поле на имунологијата се надоврза и проучувањето за медицинската микробиологија, која што го покрива идентификувањето инфекциски агенси и нивните модели за предизвикување болест. Организмите кои предизвикуваат заболување се наречени **патогени**, а нивното средство за напад на домаќинот е наречено **патогенеза**. Човековите патогени може да се групираат во главни категории како што се прикажани подолу на слика 1-5.

Главни групи на човечки патогени	Примери за болести
Вируси	Полио, големи сипаници, грип, сипаници, СИДА
Бактерии	Туберкулоза, тетанус, црна кашлица
Габи	Дрозд, тенија
Паразити	Маларија, леишманијаза

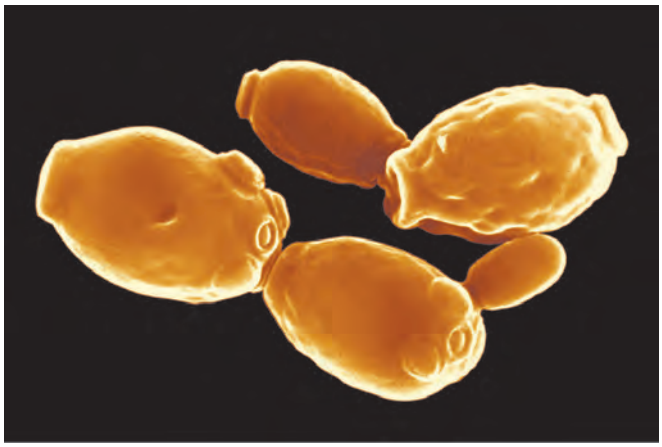
Тука од главен интерес се средствата со кои може да се постигне ефикасен имунитет кон патогените. Ефикасната одбрана главно зависи од природата на оделен микроорганизам. На пример, бидејќи вирусите за нивното удвојување и размножување бараат клетки од цицач, ефективната одбранбена стратегија може да вклучува препознавање и убивање на секоја клетка која е инфицирана со вирус пред да се комплетира животниот циклус на вирусот. За организмите кои се размножуваат надвор од клетките на домаќинот, може да се искористи брзо препознавање на овие напаѓачи од страна на противтелата или растворливите молекули, по што следат клеточни и молекулски имуни механизми кои го отстрануваат патогенот.

Некои патогени кои ја исполнуваат нашата околина не предизвикуваат проблем кај здрави лица бидејќи има соодветен претходен имунитет. Меѓутоа, лицата со недостаток во имуната функција може да бидат осетливи на болести предизвикани од овие микроби кои се наоѓаат насекаде. На пример, габата *Кандида Албиканс (бела кандида)*, која е присутна скоро на секаде, за повеќето лица не претставува проблем. Сепак, за оние лица со намален имунитет, може да предизивика исипи кои чешаат и инфекција која се шири кај мукозата која ги обложува усните и вагиналните празнини. Исипот, наречен дрозд, може да претставува првиот знак за имуно нарушување. Ако се остави непроверен *К. Албиканс* може да се рашири, предивизикувајќи системска кандидијаза, болест опасна за животот. Друг пример е вирусот *Херпесвирус симплекс*, кој обично предизвикува мали рани околу усните или гениталиите. Кај оние лица со недостаток на имунитет, овие рани може да се прошират до тој степен за да покријат големи области од телото. Такви инфекции од страна на инфекции кои се наоѓаат насекаде, често најдени во случаи на имун недостаток, се наречени **опортунистички инфекции**. Неколку други опортунистички инфекции кои ретко се сретнуваат и кои се сретнуваат кај пациенти кои се во рана фаза на болест СИДА претставуваат сигнал дека имуните системи на овие лица се сериозно загрозени.

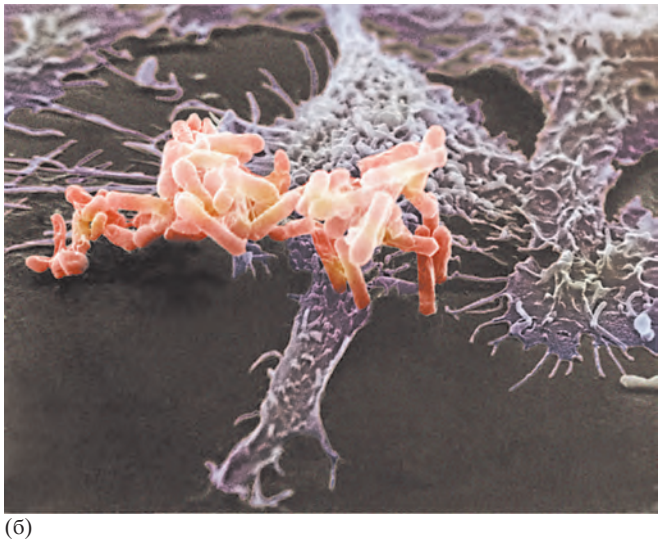
За одредени патогени за кои е познато дека претставуваат сериозна болест, средствата за постигнување имунитет се добро документирани и овозможуваат контрола врз болеста. На пример, тетанусот (често нарекуван саклучена вилица - lockjew) е предизивкан од страна на обична бактерија од почвата (*Clostridium tetani*), која дејствува преку отров (токсин) кој го напаѓа нервниот систем (невроотров). Без лекување, тетанусот може да доведе до смрт во краток период. Има ефективна вакцина против тетанусот, но и ако таа не успее, противтелата против тетанусот може да се примаат до отстранување на потеницјалната фатална болест. Пред достапноста на овие мерки за превенција и лекување, секој кој имал убодна рана со нечист објект, како што е расипан нокот, беше на ризик од фатална инфекција со тетанус. При забележливот контраст за успехот при контролирањето на тетанусот, она што доведува до СИДА е неуспехот да се пронајдат стратегии за контрола на инфекцијата со ХИВ.



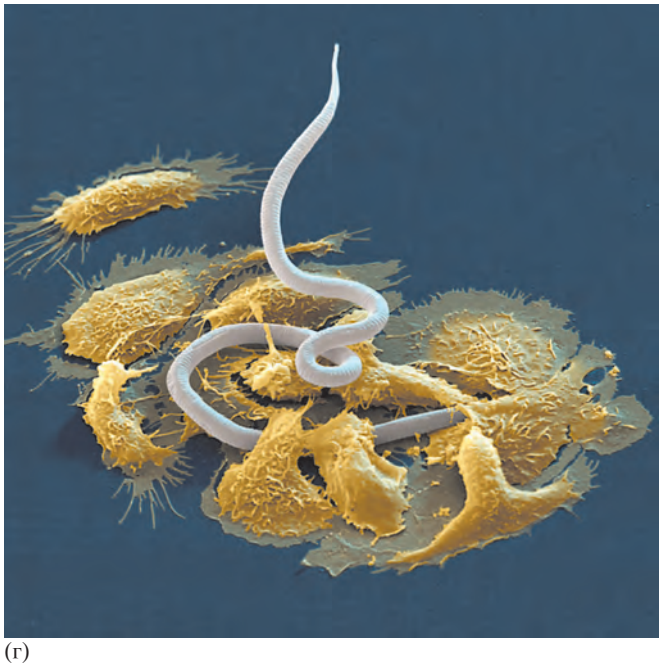
(а)



(в)



(б)



(г)

СЛИКА 1-5 Патогените кои ги претставуваат главните катетории на микроорганизми кои предизвикуваат човечка болест. (а) Вируси: Преносна електронска микрографија од ротавирусот, главна причина за пролив кај новороденчето. Ротавирусот се смета одговорен за смртта кај околу еден милион новороденчиња на година во развиените земји и за хоспитализирањето на околу педесет илјади новороденчиња на година во САД. *[VEM / Photo Researchers].* (б) Бактерија: *Pseudomonas*, бактерија од земјата која е опортунистички патоген за луѓето, голтната е од фагоцитите *[David M. Phillips / Photo Researchers]* (в) Габи: *Candida albicans*, квасец кој ја напаѓа човечката уста, грло, цревата и генитоуринарниот тракт. *К. албиканс* често предизвикува орален исип (дрозд) или вагинитис кај имуносупресирани лица или кај оние лица кои земаат антибиотици кои ја убиваат бактериската флора. *[Stem Jems / Photo Researchers]* (г) Паразити: ларвичната форма филарија, паразитски црв, кои го напаѓаат макрофаги. Околу 120 милиони лица во светот имаат одредена форма на филаријаза *[Oliver Meckes и Nicole Ottawa/ Eye of Science / Photo Researchers.]*

Имуниот систем мора да се справи со сите видови патогени и има развиено повеќе стратегии за справување со нападот од патогенот кои ги поминал првите бариери на кожата и мукозата. Ќе видиме дека дел од овие стратегии се урамнотежени за да одговорат на брзиот пробив на патогенот низ бариерите на домаќинот, другите одбрани се употребуваат за дејствување по развојот на инфекцијата.

Вроден и стекнат имунитет

Имунитетот - состојба на заштита од инфекциска болест - има и помалку и повеќе специфични делови. Помалку специфичниот дел, **вродениот имунитет**, ја дава првата линија на одбрана против инфекција. Повеќето делови од вродениот имунитет се

присутни пред почетокот на инфекцијата и формираат група болно-отпорни механизми кои не се специфични за определен патоген, но вклучуваат клеточни и молекулски компоненти кои ги препознаваат класите на молекули карактеристични за најчестите патогени.

Првата пречка за патогенот претставува пробивање на бариерата која го заштитува домаќинот. Видливите бариери ја вклучуваат кожата и мукозните мембрани. Киселоста на желудочната содржина и потењето претставуваат понатамошна бариера за организмите кои не можат да се развијат во кисели услови. Ензимите како лизозимот, кој е присутен во солзите, при контакт ги напаѓа клеточните ѕидови на бактеријата. Значењето на овие бариери доаѓа до израз кога тие се пробиени. Убодите од животни или инсекти ја нарушуваат кожата и може да донесат бројни болести. Убодите од животните може да предизвикаат беснило или тетанус, додека инсектите го носат носителот на заболувањата, вклучувајќи маларија од комарецот, чума од мувите и Лајмската болест од крлежите. Драматичен пример за загуба на бариерата се гледа кај изгорените жртви, кои ја загубиле заштитната кожа при местото на горење и мора агресивно да се лекуваат со лекови за да се спречи бактериска и габична инфекција. По првичните бариери, вродениот имунитет вклучува домашните клетки, како што се фагоцитите прикажани од Мечников, како и противмикробните соединенија синтезнирани од домаќинот кои можат да ги препознаат и неутрализираат напаѓачите врз база на заедничките обележувачи кои се наоѓаат врз површината.

Фагоцитните клетки претставуваат бариера за инфекцијата

Значаен одбранбен механизам на вродениот имунитет претставува внесувањето определен вонклеточен материјал од страна на фагоцитите. Фагоцитозата претставува еден вид **ендоцитоза**, општиот израз за клетката која внесува материјал од нејзината околина. При фагоцитозата, клеточната плазматска мембрана се шири околу определен материјал, кој може да вклучува цели патогени организми. Поголемиот дел од фагоцитозата се извршува од специјализирани клетки, како што се крвните моноцити, неутрофилите и ткивните макрофаги (види Поглавје 2). Повеќето типови на клетки се способни за други форми на ендоцитоза, како што е *ендоцитозата посредувана од рецептори*, каде вонклеточните молекули се внесени по врзувањето за специфични клеточни рецептори и *пиноцитоза*, процес при кој клетките ја консумираат течноста од околината заедно со кои било молекули кои се содржат во неа.

Растворливите молекули придонесуваат за вродениот имунитет

Многу растворливи фактори придонесуваат за вродениот имунитет, дел од нив го сочинуваат протеинскиот лизозим, интерферонските протеини и деловите од комплементниот систем (види Поглавје 7). **Лизозимот**, хидролитички ензим кој се сретнува при мукозното лачење и во солзите, е способен да го разгради пептидогликанскиот слој на бактерискиот клеточен ѕид. **Интерферонот** ја опфаќа групата на протеини кои се создаваат од страна на вирусно заразените клетки. Меѓу многуте функции на интерфероните е способноста да се врзе за околните клетки и да поттикне општа антивирусна состојба.

Комплементот, кој е детално опишан во Поглавје 7, вклучува група од серумски протеини кои циркулираат во неактивната состојба. Различни специфични и неспецифични имуни механизми може да ги преобразат неактивните форми на комплементните протеини во активна состојба со способност да ги оштетуваат мембраните на патогените организми, или со уништување на патогените или олеснување на нивното отстранување. Комплементот ја зазема позицијата која вистински ги опфаќа вродениот и стекнатиот имун систем, при тоа одредени компоненти може директно да се справуваат со патогените, додека други бараат претходно врзување со противтелата за да го активираат нивниот ефекторен систем. Реакциите помеѓу комплементните молекули или деловите од комплементните молекули и клеточните рецептори може да поттикнат активација на клетки од вродениот или од стекнатиот имун систем. Најновите проучувања за **колектините** покажуваат дека овие протеини може да убијат одредени бактерии директно со нарушување на нивните липидни мембрани или, алтернативно, со напаѓање на бактеријата за подобрување на нивната осетливост на фагоцитоза.

Многу од молекулите вклучени во вродениот систем ја имаат карактеристиката на **препознавање врсти (облици)**, способноста за препознавање дадена класа на молекули. Бидејќи одредени видови молекули се единствени за микробите и никогаш не се сретнуваат кај повеќеклеточните организми, способноста за брзо препознавање и војување со напаѓачите која таквите молекули ја прикажуваат претставува силна карактеристика на вродениот систем. Молекулите со способноста за препознавање врсти може да бидат растворливи, како лизозимите и деловите од комплементот кои се погоре опишани, или тие може да бидат рецептори поврзани со клетката, како оние кои се наречени **Тол-овидни рецептори (Toll - like receptors - TLRs)**, опишани во Поглавје 3.

Ако напаѓачкиот патоген ги пробие физичките и хемиските бариери на домаќинот, тогаш тој може да биде откриен од молекулите кои препознаваат врсти на носителот и да биде внесен во фагоцитните клетки, што ќе предизвика системот да реагира со воспалителен одговор (види поглавја 3 и 13). Овој одговор ги концентрира елементите на вродениот имунитет во воспалената област и може да спроведе специфичен имун одговор против напаѓачот. Специфичниот одговор предизвикан од воспалението е стекнат (адаптивен) имун одговор.

Наспроти широката активност на вродениот имун систем, која е заедничка за сите членови на видовите, специфичниот дел, стекнатиот имунитет, не влегува во игра додека нема препознаено противген предизвик за организамот. Стекнатиот имунитет на предизвикот реагира со висок степен на специфичност исто како и големата карактеристика „памтењето“. Обично, против противгенот се јавува одговор од стекнатиот имунитет по пет или шест дена од првичното изложување кон тој противген. Идните изложувања на истиот противген доведуваат до памтечки одговор: имуниот одговор на вториот предизвик се јавува побрзо од првиот, тој е појак и често поефективен при неутрализацијата и отстранувањето на патогенот. Главните агенси на стекнатиот имунитет се лимфоцитите и противтелата кои тие ги создаваат. Табелата 1-3 прави споредба на вродениот и стекнатиот имунитет.

Бидејќи реакциите на стекнатиот имунитет бараат некое време за спроведување, вродениот имунитет ја претставува првата линија на одбраната во критичниот период веднаш по изложувањето на домаќинот кон одреден патоген. Во основа, повеќето од микроорганизмите со кои се сретнува здраво лице лесно се отстранат во првите денови од страна на одбранбените механизми на вродениот имун систем пред тие да го активираат стекнатиот имун систем.

ТАБЕЛА 1-3 Споредба на вродениот и стекнатиот имунитет

	Вроден	Стекнат
Време на одговор	Часови	Денови
Специфичност	Ограничена и фиксна	Доста променлива, се подобрува во текот на имуниот одговор
Реакција на повторена инфекција	Идентично на првичниот одговор	Доста побрз од првичниот одговор
Главни делови	Бариери (на пр., кожа), фагоцити, молекули кои препознаваат врсти	Лимфоцити, противген - специфични рецептори, противтела

Меѓудејството помеѓу вродениот и стекнатиот имунитет ја зголемува реактивноста на имунитетот

Важно е да се забележи дека вродениот и стекнатиот имун систем не работат независно - тие функционираат како високо интерактивен систем на меѓудејство, создавајќи комбиниран одговор кој е поефективен отколку секој систем одделно. Одредени клеточни и молекулски имуни компоненти играат значајни улоги и во двата вида имунитет.

Пример за меѓудејство се сретнува при средбата на макрофагите со микробите. Меѓудејствата помеѓу рецепторите на макрофагите и микробските компоненти создаваат растворливи протеини кои го стимулираат стекнатиот имунитет, олеснувајќи го учеството на стекнатиот имун систем во елиминацијата на патогенот. Растворливите протеини се молекули слични на факторот за раст општо познати под името **цитокини**. Цитокините реагираат со рецепторите од различни видови клетки и ѝ сигнализираат на клетката да извршува функции како синтеза на нови фактори или да претрпи диференцирање на различни видови клетки. Ограничена класа од цитокини имаат хемотактична активност и регрутираат специфични клетки во областа каде што се лачат цитокини, тие се наречени **хемокини**.

Видот на вонклеточна комуникација посредувана од цитокините општо е наречен **сигнализирање**. Во основа, сигнализирањето вклучува одговор помеѓу разложлив молекул (лиганд) и молекул врзан за површината на клетката (рецептор) или помеѓу мембрански врзани молекули од две различни клетки. Меѓудејството помеѓу рецепторот и неговиот лиганд води кон метаболно приспособување во клетките. Постои огромен број различни сигнално преносни патеки, каде сите извршуваат заедничка задача типична за овие интегративни процеси:

- *Сигналното пренесување започнува кога сигналот се врзува за неговиот рецептор*. Рецепторот може да се наоѓа или во или надвор од клетката. Сигналите кои не можат да навлезат во мембраната на клетката се врзуваат за рецепторот на површината од клетката. Оваа група вклучува водено растворливи сигнални молекули и мембрански врзани лиганди (на пример, ГТК - пептидни комплекси). Хидрофобните сигнали, како што се стероидите, можат да се дифузираат низ мембраната на клетката и се врзуваат за внатреклеточните рецептори.
- *Многу сигнално преносни патеки вклучуваат групирање на компонентите од патеките*. Молекулите познати како адапторни протеини се врзуваат специфично и истовремено за две или повеќе различни молекули со улоги во сигналната патека, која ги спојува и ја подобрува нивната комбинирана активност.
- *Примањето на сигналите често во клетката води кон создавање „вторичен преносник на пораки“*, молекул или јон кој може да дифузира кон други области во клетката и да стимулира метаболни промени. Примери за тоа се цикличните нуклеотиди (цАМФ, ГМФ), калциумов јон (Ca^{2+}) и мембранските фосфолипидни деривати како што се диациглицерол (ДАГ) и инозитол трифосфат ($ИФ_3$).
- *Протеинската киназа и протеинската фосфатаза се активирани или потиснати*. Киназата ја катализира фосфорилацијата на целните остатоци (тирозин, серин или треонин) од клучните сигнални протеини. Фосфатазата ја катализира дефосфорилацијата, обратно од ефектот на киназата. Овие енизми играат важни улоги во голем број патеки за пренос на сигналот кои се од имун интерес.
- *Сигналите се засилени од ензимските скали*. Ензимот во сигналната патека, штом се активира, катализира многу дополнителни реакции. Ензимот може да создаде многу молекули за следниот дел во патеката или да активира многу копии за следниот ензим во секвенцата. Ова значително го засилува синалот на секој чекор и нуди можности за приспособување на интензитетот на сигналот.

Овие процеси се шематски претставени на слика 1.6. Активноста која резултира од сигналното пренесување може да биде синтеза и/или излачување на одредени протеини, диференцирање или поттикнување или запирање на специфични функции. На пример, стимулираните макрофаги излачуваат цитокини кои можат да го насочат стекнатиот имун одговор на лимфоцитите против специфични патогени.

На комплементарен начин, стекнатиот имун систем создава сигнал и делови кои ја зголемуваат ефикасноста на вродените реакции. Некои Т клетки, кога ќе сретнат соодветно прикажан противген, синтетизираат и лачат цитокини кои ја зголемуваат способноста на макрофагите да ги убиваат микробите кои ги внеле во себе. Исто така, противтелата кои се создаваат против напаѓачот се врзуваат за патогенот, обележувајќи го како цел за напад на макрофагите или комплементните протеини и служат како моќен активирач за напад.

Брзината на одговор во вродениот имунитет претставува главна разлика меѓу стекнатиот и вродениот имунитет, којашто ја користи претходно - постоечката, но ограничена различност на деловите од одговорот. Стекнатиот имунитет за неговиот спор почеток надоместува со способноста да препознае поширока различност од надворешни супстанции и исто така со неговата способност да се подобри за време на одговор, додека вродениот имунитет останува непроменет.

Стекнатиот имунитет е високо специфичен

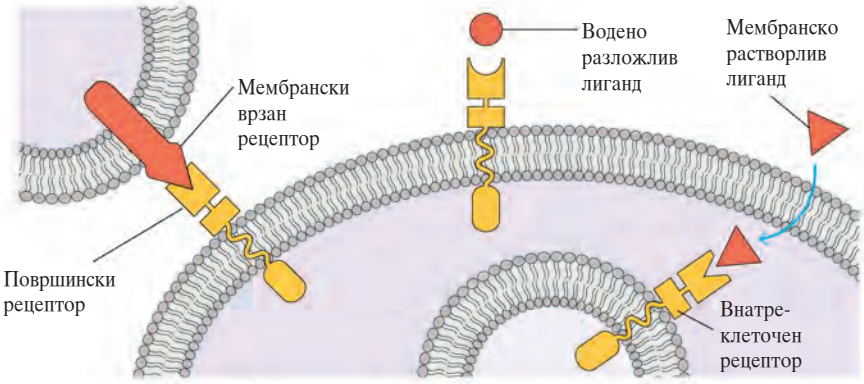
Стекнатиот имунитет е способен за препознавање и се-лективно отстранување на специфични надворешни микроор-

ПРЕГЛЕД НА СЛИКА 1-6

Општи теми во сигналното пренесување

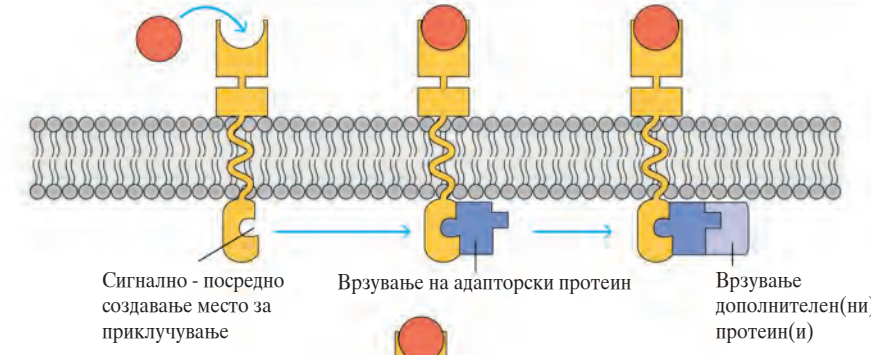
Примање сигнал

1. Сигналните патеки започнуваат кога сигналот ќе се врзе за рецепторот

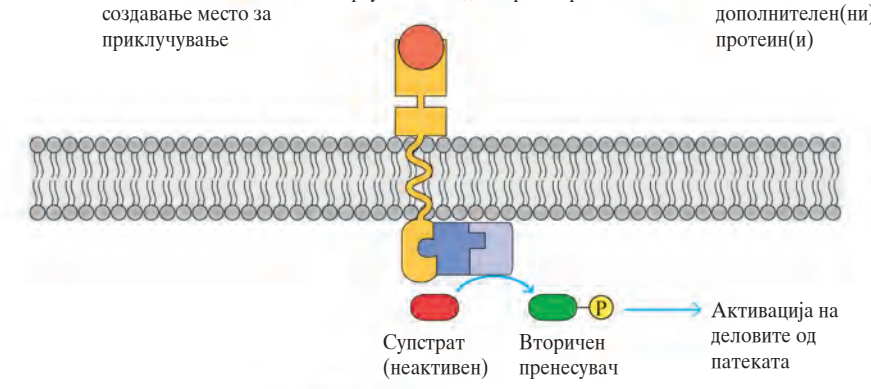


Пренесување

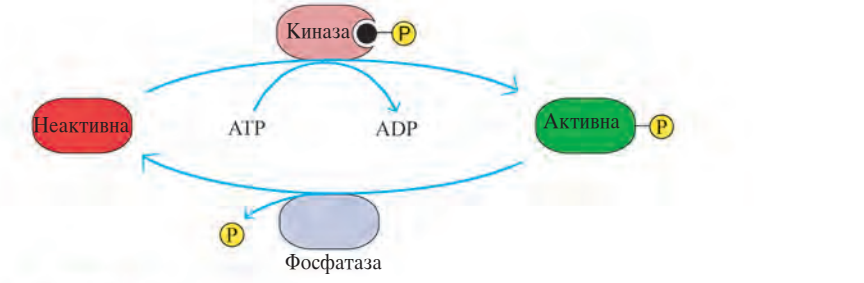
2. Лигандот кој се врзува за рецепторот поттикнува групирање деловите од сигналните патеки



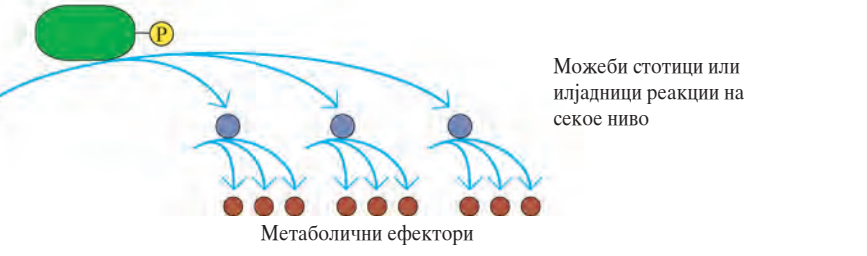
3. Создавање вторичен пренесувач кој го носи сигналот до внатершноста на клетката



4. Циклуси на фосфорилација / дефосфорилација контролирани од сигналната патека која актвитира / деактивира дополнителни компоненти од патеки



5. Ензимските скали (скали) го засилуваат сигналот, преобразувајќи ги молекулите во нивните активни форми



ганизми и молекули (т.е. надворешни противгени). За разлика од вродениот имун одговор, реакциите од стекнатиот имунитет не се исти кај сите членови од видовите туку се реакции на специфични противгени предизвици. Стекнатиот имунитет прикажува четитири карактеристични особини:

- Противгена специфичност
- Разновдиност
- Имунолошко памтење
- Препознавање свое - туѓо

Противгената специфичност на стекнатиот имун систем дозволува разликување мали разлики помеѓу противгените. Противтелата можат да прават разлика помеѓу два протеински молекули кои се разликуваат само по една аминокиселина. Имуниот систем е способен за создавање огромна *различност (разновидност)* при неговото препознавање молекули, при што може да препознае милијарди уникатни структури од туѓи противгени. Оваа способност е спротивност на молекулите за препознавање врсти од вродениот имунитет, кои препознаваат многу класи организми кои се базираат на молекулските структури кои се присутни во нив. Стекнатиот систем може да препознае еден вид организам и да направи разлика меѓу оние со мали генетски варијации.

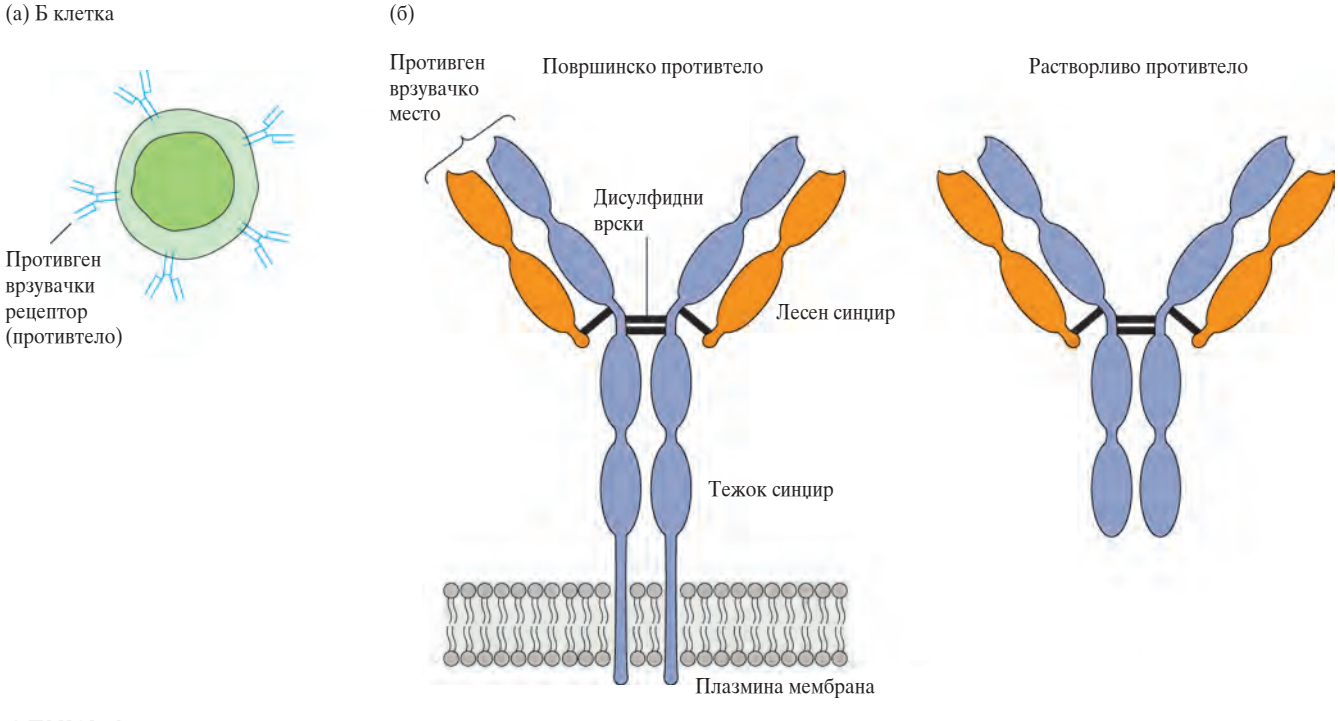
Штом стекнатиот имун систем препознае и реагира на противген, тој го извршува *имунолошкото памтење*. Тоа е, втората средба со истиот противген кој поттикнува зголемена состојба на имун одговор. Поради оваа особеност, имуниот систем може да овозможи долготраен имунитет против многу инфекциски агенси по почетната средба. На крајот, имуниот систем обично реагира само на надворешни противгени, што укажува на тоа дека е способен за *препознавање свое - туѓо*. Способноста на имуниот систем да прави разлика помеѓу молекулите од свое - туѓо, а да реагира само кон туѓите молекули е неопходно. Како што е опишано подолу, губењето способност да се разликува свое од туѓо води кон несоодветен одговор кон своите делови и може да биде фатално.

Лимфоцитите и противген прикажувачките клетки соработуваат во стекнатиот имунитет

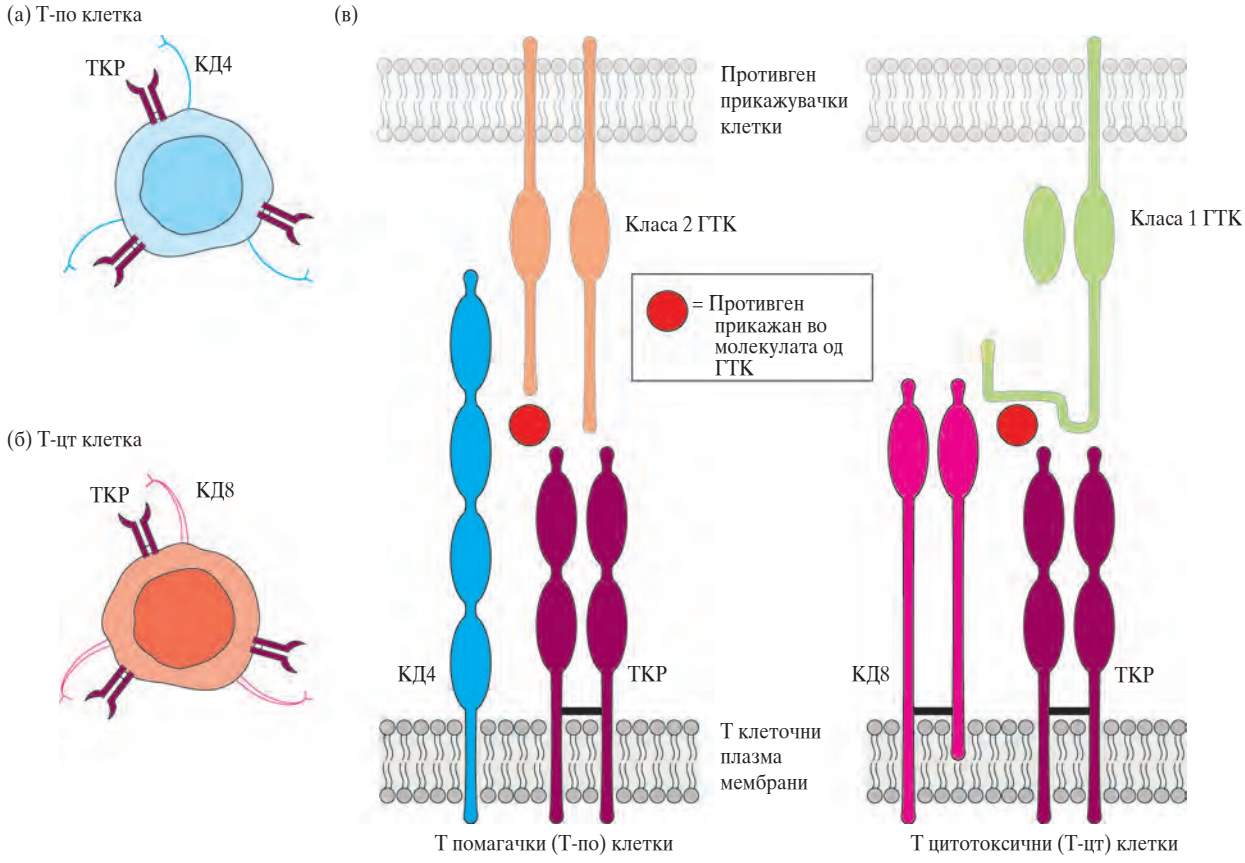
Ефективниот имун одговор вклучува две големи групи клетки: *лимфоцити* и *противген прикажувачки клетки*. Лимоцитите се еден од многуте видови бели клетки кои се создаваат во коскената срцевина во процесот хематопоеза (види Поглавје 2). Лимфоцитите ја напуштаат коскената срцевина, циркулираат во крвта и лимфните системи и престојуваат во различни лимфоидни органи. Бидејќи тие создаваат и прикажуваат противген прикажувачки клеточни површински рецептори, лимфоцитите го овозможуваат дефинирањето на имуните особини за специфичност, различност, памтење и препознавањето свое - туѓо. Двата главни видови лимфоцити - **Б лимфоцити (Б клетки)** и **Т лимфоцити (Т клетки)** - се накратко опишани овде и многу подетално во понатамошните поглавја.

Б лимфоцити

Б лимфоцитите созреваат во коскената срцевина. При ослободување секоја од нив прикажува на својата мембрана уникатен мембранско врзувачки рецептор (слика 1.7). Овој противген



СЛИКА 1-7 **Б клетка** (а) Површините на Б клетките примаат околу 10^5 молекули од мембрански врзани противтела по клетка. Сите противтела - молекули во дадена Б клетка имаат иста специфичност и може да содејствуваат директно со противгенот. (б) Мембрански врзаните и растворливите (излачени) противтелата ги покажуваат тешките синџири (сини) и лесните синџири (црвени). Забележете дека растворливите форми немаат секвенци кои се врзуваат за клеточната мембрана. (Јајцевидните форми во дијаграмите претставуваат карактеристични протеински дипли наречени имуноглобулински домени, објаснети во Поглавје 4.)



СЛИКА 1-8 **Т клетки**. Клучот за функционирање на Т клетките е молекулот кој се врзува за противген, Т-клеточниот рецептор (ТКР). Во основа, Т клетките кои ги носат КД4 (КД4$^+$ клетки) се однесуваат како (а) помагачки клетки, а КД8$^+$ клетките се однесуваат како (б) цитотоксични клетки. (в) КД4$^+$ клетките го препознаваат само противгенот врзан за класа 2 ГТК молекулите во противген прикажувачките клетки. КД8$^+$ клетките го препознаваат само противгенот кој е поврзан со молекулите од класа 1 од ГТК. И двата вида Т клетки прикажуваат околу 10^5 идентични молекули од противген врзувачкиот Т клеточен рецептор по една клетка, од кои сите имаат иста противгена специфичност. (Јајцестите форми во дијаграмите претставуваат карактеристични протеински дипли, објаснети во Поглавје 4).

врзувачки Б-клеточен рецептор е мембрански врзан **противтелен молекул** (слика 1.7б, в). Противтелата се гликопротеини кои содржат два идентични полипептиди наречени тешки синџири и два пократки, идентични полипептиди наречени лесни синџири. Секој тежок синџир е споен со лесен синџир со дисулфидни врски, а паровите на тешки/лесни синџири заедно се поврзани преку дополнителни дисулфидни врски. Амино-терминалните краеви на паровите тешки/лесни синџири создаваат област за која се врзуваат противгените. Кога неискусната Б клетка (онаа што не сретнала противген) за првпат ќе се сретне со противгенот кој се совпаѓа со мембрански врзаното противтело, што предизвикува клетката брзо да се дели. Нејзините наследнички се диференцираат во **памтечки Б клетки** и **ефекторни Б клетки** наречени **плазма клетки**. Памтечките Б клетки имаат подолг животен циклус од неискусните клетки и тие го прикажуваат истото мембрански врзано противтело како и родителските Б клетки. Плазма клетките создаваат противтело во облик кој може да се излачи (слика 1-7б, десно) и имаат мали или воопшто немаат мембрански врзани противтела. Иако плазма клетките живеаат само неколку дена, за ова време тие излачуваат огромна количина на противтело. Една плазма клетка може да излачи од стотици до илјадници молекули - противтела во секунда. Излачените противтела се главните ефекторни молекули во хуморалниот имунитет.

Т лимфоцити

Т лимфоцитите исто така се создаваат во коскената срцевина. За разлика од Б клетките, кои созреваат во коскената срцевина, Т клетките се преселуваат во тимусната жлезда за да созреат. Додека созреваат Т клетките прикажуваат уникатен противген врзувачки молекул, **Т клеточен рецептор (ТКР)**, врз нивните мембрани. Постојат две добро одредени суппопулации од Т клетки: **Т помагачки** (**Т-по**) и **Т цитотоксични (Т-цт) клетки**. Т помагачките (слика 1 - 8а) и Т цитотоксичните (слика 1-8б) клетки едни од други може да се разликуваат по присуството или на **КД4** или од **КД8** мембранските гликопротеини врз нивните површини. Т клетките кои прикажуваат КД4 обично функционираат како Т-по клетки, додека оние кои прикажуваат КД8 обично функционираат како Т-цт клетки (види Поглавје 2). Неодамна карактеризираниот трет вид Т клетки, наречени **Т регулаторни (Т-рег) клетки**, ја носи КД4 на нејзината површина но може да се разликува од Т-по и Т-цт клетки преку клеточните површински обележувачи поврзани со нивниот степен на активација.

За разлика од мембрански врзаните противтела кај Б клетките, кои препознаваат слободен противген, повеќето Т клеточни рецептори можат да препознаат само противген кој се врзува за клеточните мембрански протеини наречени

молекули од **главен ткивносовпадлив комплекс (ГТК) (major histocompatibility complex - ГТК)**. Молекулите од ГТК се полиморфни (генетски различни) гликопротеини кои се наоѓаат врз клеточните мембрани (види Поглавје 8). Постојат два главни видови молекули од ГТК: класа 1 ГТК молекули, кои се прикажуваат врз скоро сите јадрени клетки кај 'рбетниците и молекули од класа 2 ГТК, кои се прикажуваат само врз **противген прикажувачките клетки (ППК)** (слика 1-8в). Кога неискусната Т клетка ќе се сретне со противген комбиниран со молекулата од ГТК врз клетката, Т клетката се размножува и се диференцира во памтечки Т клетки и во различни ефекторни Т клетки.

Штом Т-по клетка препознае и реагира со комплексот противген - молекул класа 2 од ГТК, клетката се активира - претрпува метаболна трансформација и започнува да лачи различни цитокини. Излачените цитокини играат значајна улога во активирањето на Б клетките, Т-цт клетки, макрофагите и разни други клетки кои учествуваат во имуниот одговор. Разликите во видовите на цитокините создадени од активираните Т-по клетки доведуваат до различни видови имун одговор. Еден можен одговор е поттикнувањето промена кај Т-цт клетки да формираат **цитотоксични Т лимфоцити (ЦТЛ)** кои извршуваат клеточно убивање или цитоксична активност. ЦТЛ имаат витална функција во надгледувањето на клетките во телото и да ги отстранат оние клетки кои прикажуваат туѓ противген, како што се вирусно заразените клетки, туморните клетки и клетките од туѓ дарител.

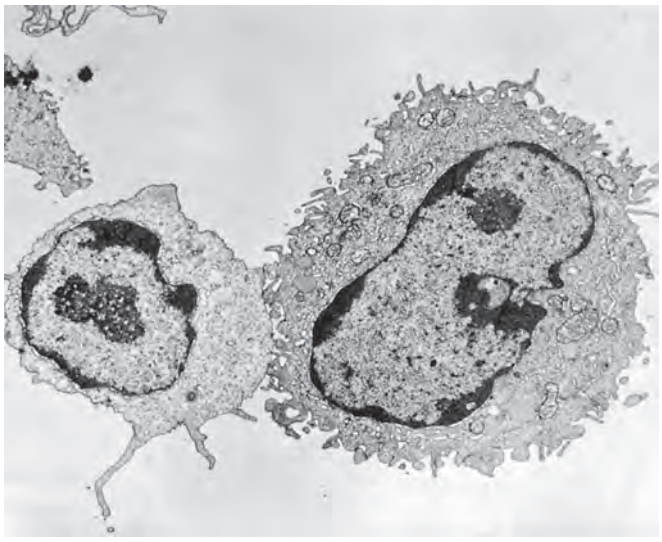
Противген прикажувачките клетки меѓудејствуваат со Т клетките

Активирањето и на хуморалната и клеточната гранка од имуниот систем бараат цитокини кои се излачени од Т-по клетки. Неопходно е активацијата на самите Т-по клетки внимателно да се регулира, бидејќи Т клеточниот одговор е насочен наспроти сопствените делови и може да има фатални автоимуни последици. Една заштита против нерегулираната активација на Т-по клетки е тоа што противгените рецептори од Т-по клетки можат да препознаат само противген кој е прикажан заедно со површинските класа 2 ГТК молекулите врз површината од противген прикажувачките клетки. Овие специјализирани клетки, кои вклучуваат макрофаги, Б лимфоцити и стеблести (стеблести) клетки се разликуваат по две карактеристики: (1) тие прикажуваат класа 2 ГТК молекули врз нивните мембрани и (2) лачатат цитокини кои ги активираат Т-по клетки.

Противген прикажувачките клетки прво го внесуваат во себе противгенот, или со фагоцитозата или со ендоцитозата, а потоа прикажуваат дел од тој противген врз нивните мембрани врзан за класа 2 ГТК молекулот. Т-по клетки стапуваат во интеркација со комплексот противген - молекул класа 2 ГТК врз мембраната од противген прикажувачката клетка (слика 1-9). Тогаш противген прикажувачката клетка создава дополнителен сигнал кој ја активира Т-по клетка.

Хуморалните и клеточните имуни реакции извршуваат различни ефекторни функции

Како што споменавме порано, имуните реакции може да се поделат како хуморални и како клеточни одговори. Хуморалниот имунитет се однесува на имунитет што може да се пренесе во неимунизирано лице со внесување серумски противтела од имунизирано лице. Наспроти тоа, клеточниот имунитет може да се пренесе само преку внесување Т клетки од имунизирано лице.



СЛИКА 1-9 Електронска микрографија на противген прикажувачки макрофаг (*десно*) поврзан со Т лимфоцит. [*Од* A.S. Rosenthal et. al., 1982, *во* Phacosytis - Past and Future, *Academic Press, p. 239.*]

Хуморалната гранка од имуниот систем работи со меѓудејство помеѓу Б клетките со противген и нивното понатамошно размножување и диференцирање во противтела лачебни плазма клетки (слика 1-10). Противтелото функционира како ефектор на хуморалниот одговор со врзување за противгенот и негово олеснето отстранување. Противгенот опкружен со противтело се отстранува на неколку начини. На пример, противтелото може вкрстено да поврзе неколку противгени, формирајќи групи кои полесно се голтнуваат од фагоцитните клетки. Врзувањето на противтело за противген од микроорганизмите може исто така да го активира комплементниот систем, што ќе доведе до распаѓање на надворешниот организам. Според тоа, противтелото може да неутрализира токсини или вирусни честици со обвикување околу нив, што ги спречува од врзување за клетките од домаќинот.

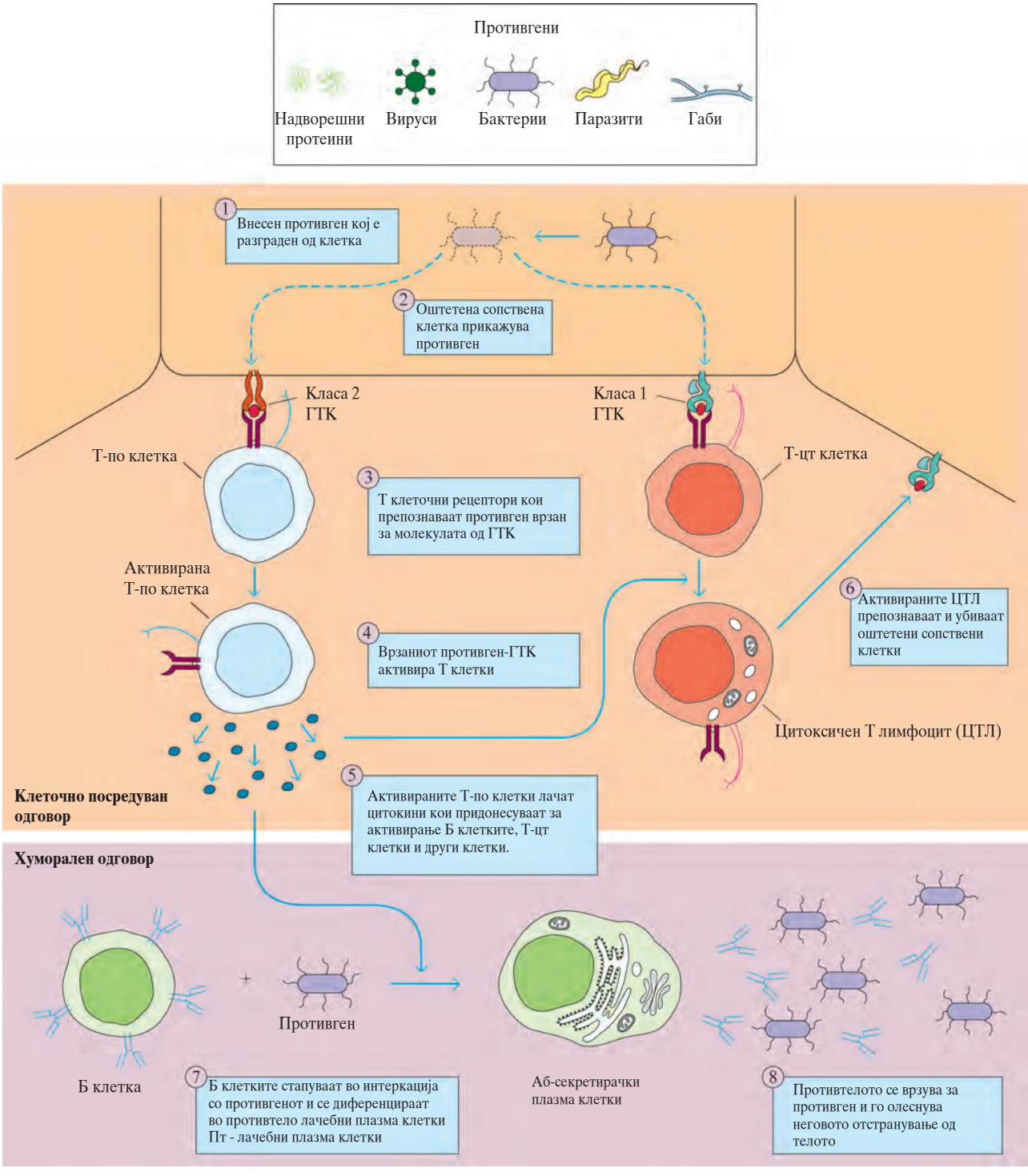
Ефекторните Т клетки кои се создадени како одговор на противген се одговорни за клеточно посредуваниот имунитет (види слика 1-10). И активираните Т-по клетки и цитотоксичните Т лимфоцити служат како ефекторни клетки при клеточно посредуваните имуни реакции. Цитокините кои се лачат од страна на Т-по клетки можат да активираат различни фагоцитни клетки, што им овозможува поефикасно да фагоцитираат и да убиваат микроорганизми. Овој вид на клеточно посредуван имун одговор е посебно значаен при чистењето на домаќинот од бактерии и протозои кои се содржат во заразените клетки од домаќинот. ЦТЛ учествуваат во клеточно посредуваните имуни реакции со убивање само на променетите клетки, вклучувајќи ги вирусно заразените и туморни клетки.

Противгените рецептори од Б и Т лимфоцитите се различни

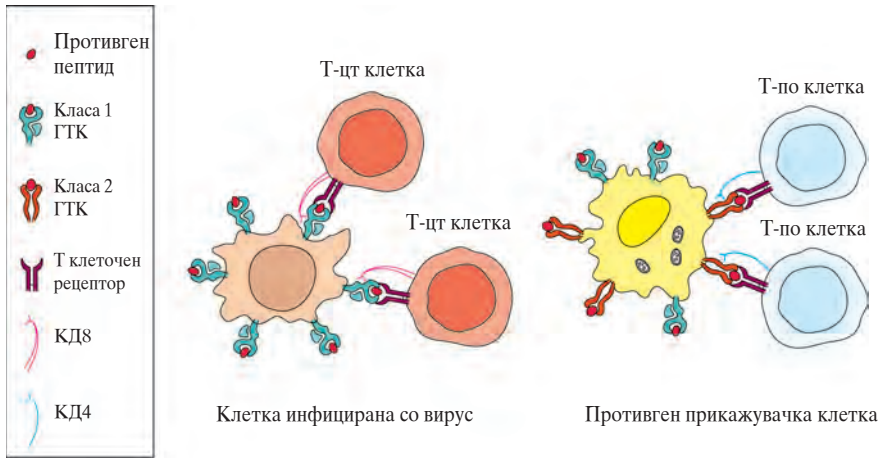
Противгената специфичност на секоја Б клетка се одредува преку мембраски врзаниот противген врзувачки рецептор (т.е. противтело) прикажано врз клетката. Како што созрева В клетката во коскената срцевина, нејзината специфичност

ПРЕГЛЕД НА СЛИКА 1-10:

Хуморални и клеточно посредувани гранки од имуниот систем



При хуморалниот одговор, Б клетките стапуваат во интеркација со противгенот и тогаш се диференцираат во противтело лачебни плазма клетки. Излаченото противтело се врзува за противгенот и го олеснува неговото отстранување од телото. При клеточно посредуваниот одговор, различни суппопулации на Т клетките препознаваат противген присутен врз своите клетки. Т-по клетки на реагираат на противгенот со создавање цитокини. Т-цт клетки реагираат на противгенот со преобразување во цитотоксични Т лимфоцити (ЦТЛ), кои го посредуваат убивањето на изменетите сопствени клетки (на пр., вирусно-заразени клетки).



СЛИКА 1-11 Улогата на ГТК молекулите во препознавањето на противгени од Т клетките. Класата 1 ГТК молекули се прикажани врз скоро сите јадрени клетки. Класата 2 ГТК молекули се прикажани само врз противген прикажувачките клетки. Т клетките кои препознаваат само противгени пептиди заедно со класата 2 ГТК молекули функционираат како Т помагачки (Т-по) клетки. Т клетките кои препознаваат само противгени пептиди заедно со класата 1 ГТК молекули општо функционираат како Т цитотоксични (Т-цт) клетки.

се создава со прераспоредување, по случаен избор, на серија генски сегменти кои го кодираат молекулот-противтело (види Поглавје 5). Во зрелоста, секоја Б клетка поседува еден функционален ген кој го кодира тешкиот синџир на противтелото и еден функционален ген кој го кодира лесниот синџир на противтелото. Сите противтелни молекули од даден Б лимфоцит имаат идентична специфичност, давајќи му на секој Б лимфоцит, и на клонот на клетките-ќерки кои се создаваат, различна специфичност за секој противген. Затоа велиме дека зрелите Б лимфоцити се **противгено обврзани (посветени).**

Случајното генско преуредување за време на зреењето на Б клетките во коскената срцевина создава енормен број различни противгени специфичности. Создадената Б клеточна популација, која се состои од одделни Б клетки кои прикажуваат оригинално противтело, се оценува дека заедно содржи повеќе од 10^{10} (десет на десетта) различни противгени специфичности. Процесот на селекција во коскената срцевина ја отстранува секоја Б клетка со мембрански врзано противтело кое препознава сопствени компоненти. (Овој процес е детално опишан во Поглавје 11). Процесот на селекција помага да се обезбеди дека самореактивните противтела (автопротивтелата) нема да се разнесат низ телото.

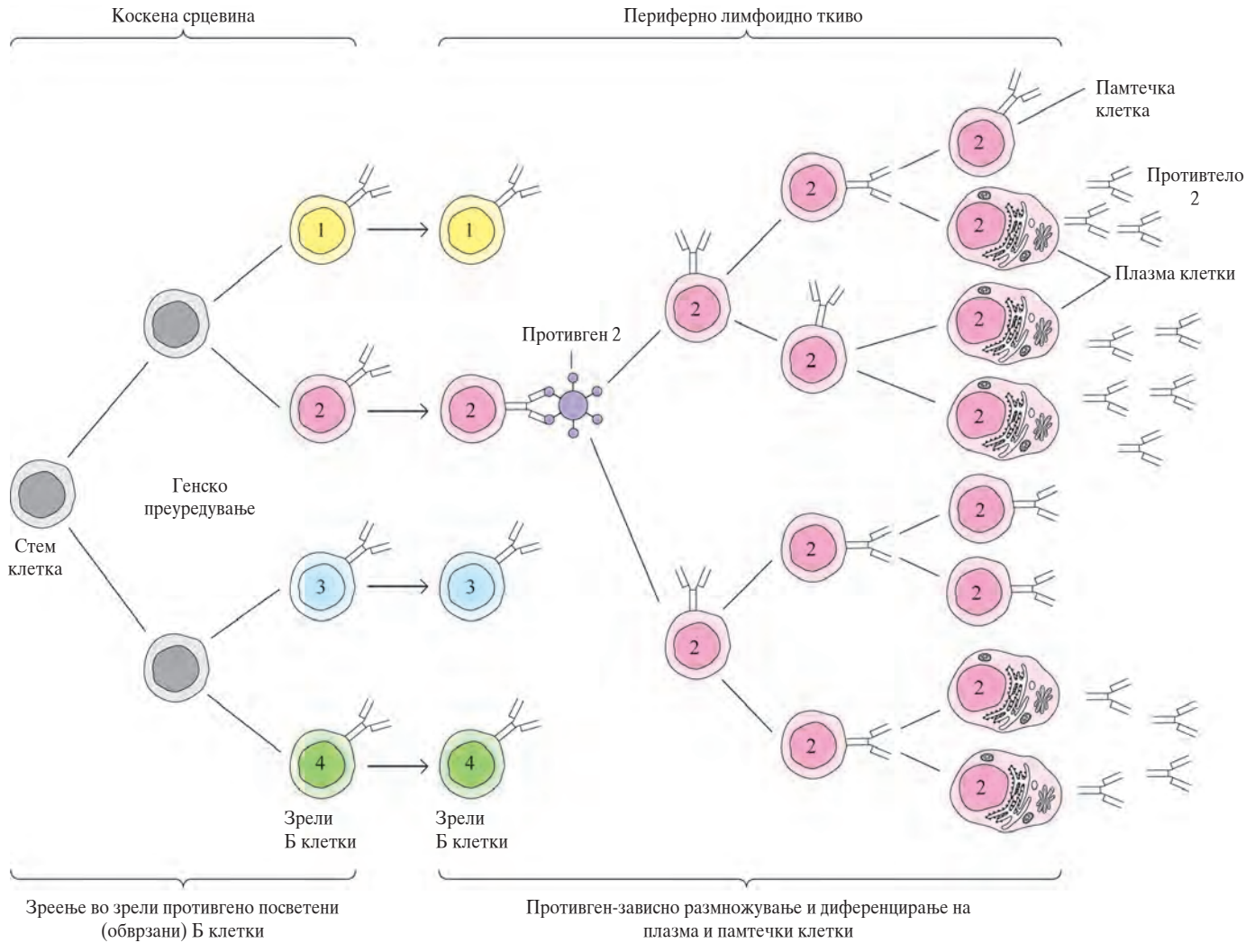
Карактеристиките на специфичноста и различоста исто така го карактеризираат противген врзувачкиот Т клеточен рецептор врз Т клетките. Како и при зреењето на Б клетките, процесот на зреење на Т клетките вклучува случајно преуредување на серија генски сегменти кои го кодираат клеточниот противген врзувачки рецептор (види Поглавје 9). Секој Т лимфоцит прикажува околу 10^5 (десет на петта) рецептори, сите со идентична специфичност за противгенот. Случајното преуредување на гените од Т клеточниот рецептор (ТКР) може да создаде околу 10^9 (десет на деветта) единствени противгени специфичности.

Молекулите од главниот ткивносовпадлив комплекс врзуваат противгени пепетиди

Главниот ткивносовпадлив комплекс е голем генетски комплекс со многу подрачја (локуси). Оваа група на гени прва привлече внимание како бариера за пресадување на ткива. Несоодветните ГТК гени водат до отфрлање пресадокени ткива и органи. Од таму и името ткивна (хисто) совпадливост. Подрачјата во ГТК кодираат две главни класи мембрански врзани гликопротеини: **класа 1** и **класа 2 ГТК молекули**. Како што видовме погоре, Т-по клетки обично препознаваат противген комбиниран со класа 2 молекули, додека Т-цт клетки обично препознаваат противген комбиниран со класа 1 молекули (слика 1-11). ГТК молекулите функционираат како молекули кои препознават противген, но тие не ја поседуваат фината специфичност за противгените особини на противтелата и Т-клеточните рецептори. Наместо тоа, секој ГТК молекул може да се врзе за спектар на **противгени пептиди** кои најмногу се создадени од распаѓањето на протеинските молекули. И кај класата 1 и кај класата 2 ГТК молекули, постои жлеб (процеп) во кој е сместен противгениот пептид и на тој начин им се прикажува на Т лимфоцитите (види слика 1-11).

Противгениот избор на лимфоцити предизвикува клонско проширување

Зрелите имуноспособни животни содржат голем број противген-реактивни клонови од Т и Б лимфоцитите. Противгената специфичност на секој од тие клонови се одредува од специфичноста на противген врзувачкиот рецептор врз мембраната од лимфоцитниот клон. Како што споменавме



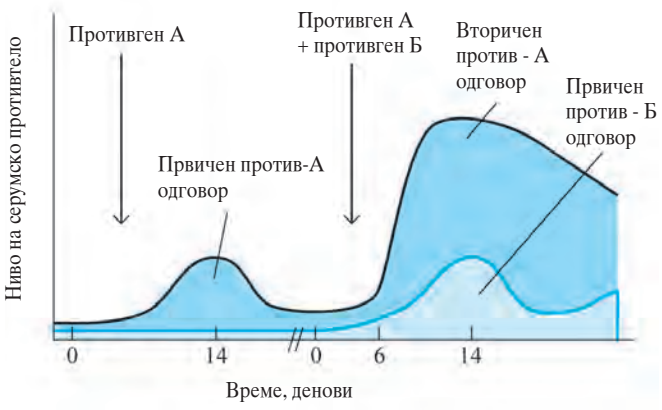
СЛИКА 1-12 Зреење и избор на клонови на Б лимфоцити. Зреењето, кое се случува во отсуство на противген, создава противгено посветени Б клетки, каде секоја од нив прикажува противтело со единечна противгена специфичност (прикажано со 1, 2, 3 и 4). Изборот на клонови се случува кога противгенот се врзува за Б клетката чии мембрански врзани противтелни молекули се специфични за тој противген. Клонското ширење на противген активираните Б клетки (број 2 во овој пример) води кон клон од памтечки Б и ефекторни Б клетки, наречени плазма клетки. Сите клетките во проширениот клон се специфични за изворниот противген. Плазма клетките лачат противтела реактивни со активирачкиот противген. Слични процеси се случуваат кај Т лимфоцитната популација, што резултира со клонови памтечки Т и ефекторни Т клетки. Последните вклучуваат активирање Т-по клетки, кои излачуваат цитокини и цитотоксични Т лифоцити (ЦТЛ).

порано, специфичноста на секој Т и Б лимфоцит е одредена пред нивниот контакт со противгенот преку случајно преуредување на гените за време на зреењето во тимусот или во коскената срцевина.

Улогата на противгенот станува критична кога тој стапува во интеркација со и ги активира зрелите, противгено посветени Т и Б лимфоцити, што придонесува за проширување популацијата на клетките со дадена противгена специфичност. При овој процес на **избор на клонови (клонална селекција)**, противгенот се врзува за одредена Т или Б клетка и ја стимулира повторувано да се дели во клон од клетки со иста противгена специфичност како изворната клетка-родител (слика 1-12).

Изборот на клонови овозможува рамка за разбирање специфичноста и препознавањето свое-туѓо кое е карактеристично за стекнатиот имунитет. Специфичноста е присутна бидејќи само лимфоцитите чии рецептори се специфични за даден противген клонски ќе се распространат и на тој начин ќе се мобилизираат за имун одговор. Разликувањето свое-туѓо се извршува со елиминација, при развој, на лимфоцити кои носат самореактивни рецептори или преку функционална супресија на тие клетки ако ја достигнат зрелоста.

Имуното памтење е друга последица од изборот на клонови. При избирањето клонови, бројот на лимфоцити специфични за даден противген е доста зголемен. Уште повеќе, многу од



СЛИКА 1-13 Разликите во првичниот и вторичниот одговор кон внесен противген (хуморалена одговор) го отсликуваат феноменот на имуно памтење. Кога на животното ќе му се внесе противген, тоа создава првичен одговор со серумски противтела, од мал размер и кратко траење, врвот го достигнува од 10 до 17 дена. Втората имунизација со истиот противген доведува со вторичен одговор кој е со поголем размер, врвот го достигнува во пократко време (од 2 до 7 дена) и трае подолго (од месеци до години) од првичниот одговор. Споредете го вторичниот одговор на противген А со првичниот одговор на противген Б внесен кај истиот глушец (светло сината боја).

овие лимфоцити, наречени памтечки клетки, имаат подолг животен век од неискусните лимфоцити од каде потекнуваат. Оваа почетна средба на неискусниот имуноспособен лимфоцит со противгенот поттикнува **првичен одговор**. Подоцнежниот контакт на домаќинот со противгенот ќе предизвика побрз и зголемен **вторичен одговор**. Зголемената популација на памтечките клетки е одговорна за брзината и интензитетот со кои се прави разлика помеѓу вторичниот и првичниот одговор.

Во хуморалната гранка од имуниот систем, противгенот потикнува клонско размножување Б лимфоцити во противтела лачебни плазма клетки и памтечки Б клетки. Како што се гледа на слика 1-13, првичниот одговор доцни околу 5 до 7 дена пред нивото на противтела да почне да расте. Задоцнувањето претставува времето потребно за активирање неискусни Б клетки со противген и Т-по клетки и за понатамошното размножување и диференцирање на активираните Б клетки во плазма клетките. Нивоата на противтелата го достигнуваат врвот при првичниот одговор на околу 14-тиот ден и тогаш започнуваат да паѓаат како што плазма клетките почнуваат да умираат. При вторичниот одговор, доцнењето е релативно пократко (само од 1 до 2 дена), нивоата на противтелата се многу повисоки и опстојуваат доста подолго. Вторичниот одговор ја отсликува активноста на клонски раширената популација на Б клетките. Овие памтечки клетки побрзо реагираат на противген од неискусните Б клетки. Дополнително, бидејќи постојат многу повеќе памтечки клетки отколку што има неискусни Б клетки за првичниот одговор, при вторичниот одговор се создаваат повеќе плазма клетки, а нивоата на противтелата последователно се од 100 до 1000 пати повисоки.

Кај клеточно посредуваната гранка од имуниот систем, препознавањето на комплексот противген-ГТК од страна на специфични зрели Т лимфоцити поттикнува клонално размножување различни Т клетки со ефекторни функции (Т-по клетки и ЦТЛ) и во памтечки Т клетки. Што се однесува до хуморалните имуни одговори, вторичните клеточно - посредувани реакции се побрзи и посилни од првичните.

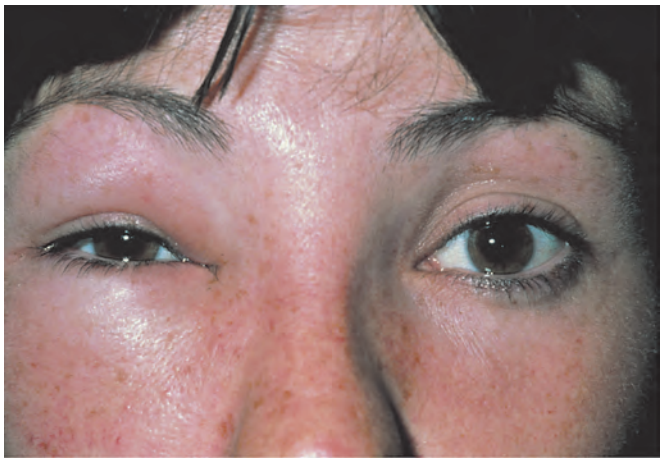
Имуното нарушување и неговите последици

Горниот преглед на вродениот и стекнатиот имунитет го отсликува повеќекомпонентниот интерактивен систем кој го штити домаќинот од инвазија на патогени кои предизвикуваат инфекциски болести и од изменети клетки кои може да се размножат на неконтролиран начин и да предизвикаат рак. Овој преглед не би бил целосен ако не споменеме дека имуниот систем може, а понекогаш и се случува, да функционира несоодветно. Понекогаш имуниот систем не успева да го заштити домаќинот соодветно поради недостаток, а понекогаш реагира прекумерно или погрешно ги упатува неговите активности и предизвикува неспокој, исцрпувачка болест, или дури смрт. Постојат неколку чести манифестации за имуно нарушување:

- Алергии и астма
- Отфрлање пресадок и болест пресадок-против-домаќин (graft-versus-host disease)
- Автоимуна болест
- Имунонедостаток

Алергиите и астмата се резултати на несоодветните имуни реакции, често на вообичаени противгени како што се полен од растенијата, храна или животински влакна. Можноста дека одредени супстанции поттикнувале зголемена осетливост (преосетливост) наместо заштита е откриена во околу 1902 година од страна на Чарлс Ричет, кој пробал да имунизира кучиња против токсини од видот на медуза, *Фисалија*. Тој и неговиот колега Пол Портиер забележале дека кучињата кои биле изложени на скоро смртни дози на токсин реагирале скоро веднаш и фатално, на последователниот предизвик со мали количини на токсин. Ричет заклучил дека успешната имунизација или вацинација резултира со *филакса*, или заштита, додека спротивниот резултат можел да се појави - **анафилакса** - при што изложувањето на противген може да резултира со потенцијално смртна сензитивност на противген ако се повтори изложувањето. Ричет ја доби нобеловата награда во 1913 година за неговото откритие на анафилактичката реакција.

За среќа, повеќето алергиски реакции кај луѓето не се нагло фатални. Специфичната алергична или анафилактичка реакција обично го вклучува видот на противтело наречено IgE (за *имуноглобулин Е*). Врзувањето на IgE за неговиот специфичен противген (алерген) ослободува супстанции кои предизикуваат надразнување и воспаление. Кога алергичното лице е изложено на алерген, симптомите може да вклучуваат кивање, свирежи и тешкотија при дишење (астма), дерматитис или исипи на кожата (сипаници) и во поекстремни случаи, гушење поради блокирање дишните патишта од воспалението (слика 1-14). Значаен дел од



СЛИКА 1-14 Пациент кој страда од отекување на десното око од ефекти на алергичен одговор по убод од пчела. Таквата реакција на преосетливост доведува од осетливост предизвикана од претходно изложување на убод од пчела. Убодите од пчела може да предизвикаат болка, црвенило и отекување како што е овде прикажано или може да предизвикаат системски анафилактични реакции кои доведуваат до смрт ако не се лекуваат брзо. *[D-r P. Marizzi / Photo Researches].*

нашите здравствени извори е проширен за да се грижи за оние лица кои страдаат од алергии и астма. Зачестеноста на алергија и астма во САД ги става овие тегоби меѓу најчестите причини за посета на лекарот или болничките соби за итни случаи во болницата (види клинички фокус на страна 20).

Кога имуниот систем се среќава со туѓи клетки или ткиво, силно реагира со цел да го ослободи домаќинот од напаѓачите. Истиот одговор може да се појави против мутирани клетки на домаќинот, вклучувајќи ги и клетките на ракот. Сепак, во одредени случаи, пресадувањето на клетки или орган од друго лице, иако имуниот систем ја гледа како надворешен напад, може да претставува единственото можно лекување за болеста која е опасна за животот. На пример, проценето е дека повеќе од 70000 лица само во САД ќе имаат корист од пресадување на бубрези. Фактот што имуниот систем ќе го нападне и ќе го одбие секој трансплантиран орган кој ќе го препознае како надворешен е голема пречка за ова лекување кое потенцијално може да го спаси животот на лицето. Дополнителна опасност при пресадувањето е дека пресадокените клетки со имунолошка функција (на пример, кога се пресадува коскена срцевина за да се врати имунолошката функција) може новиот домаќин да го видат како туѓ и да реагираат на него. Овој одговор, која е наречен болест пресадок-против-домаќин, може да биде фатален. Реакцијата на отфрлање и болеста пресадок-против-домаќин може да се супресираат со лекови, но лекувањето со овие лекови ја спречува основната имунолошка функција, така што домаќинот повеќе не е заштитен со сопствениот имун систем и станува осетлив кон инфекциски болести. Проучувањата на пресадување играле голема улога при развојот на имунологијта. Карл Ландштајнер (претходно споменат за неговите придонеси при концептот за имунолошка специфичност) во 1930 година ја доби Нобеловата награда за неговото откритие на човечките АБО крвни групи, откритие кое овозможува безбедно извршување трансфузија на крв. Во 1980 година, Г. Шнел, Ц. Даузет и Б. Банекераф беа признати за откритието на главниот ткивносовпадлив комплекс, а во 1991 година, Е. Д. Томас и Ц. Мури беа наградени со Нобелова награда за развој во трнсплантацискатa имунологија. Пронаоѓањето постапки кои ќе му озвозможат на надворешниот орган да биде прифатен без супресија на имунитетот за сите противгени денес останува предизвик за имунолозите.

Кај одредени лица, имуниот систем откажува со губење на неговото чувство за свое и туѓо, што овозможува имун напад врз домаќинот. Оваа состојба, **автоимунитет**, може да предизвика бројни хронични исцрпувачки болести. Симптомите на автоимунитетот се разликуваат, во зависност од тоа кои ткива или органи се нападнати. На пример, многукратната склероза се јавува како резултат на автоимун напад врз протеин во нервните обвивки во мозокот и централниот нервен систем, болеста Крон е напад врз тенкоцревните ткива, а ревматскиот артрит е напад врз зглобовите на рацете, стапалото, рамењата и нозете. Генетските и околинските фактори кои поттикнуваат и одржуваат автоимуна болест се многу активни области од имуното истражување, како што е и истражувањето за подобрено лекување.

Ако било кои компоненти од вродениот или специфичниот имунитет се дефектни поради генетска абнормалност или ако некоја имунолошка функција е загубена поради оштета од хемиски, физички или биолошки агенси, домаќинот страда од **имунонедостаток (имунодефициенција)**. Тежината на болеста од имунонедостаток зависи од бројот на засегнати компоненти. Вообичен вид на имунонедостаток во САД е селективниот имунонедостаток при што има недостататок само не еден имуноглобулин, IgA. Симптомите може да бидат пораст на одредени видови инфекции или недостатокот може да помине незабележан. Наспроти тоа, поредок имунонедостаток наречен **тежок комбиниран имунонедостаток** (**SCID**), која ги засега и Б и Т клетките, ако не се лекува може да доведе до смрт од инфекција во порана возраст. Од 80-тите години од дваесеттиот век па наваму, најчестата форма на имунонедостаток претставува синдромот на стекнат имунонедостаток, или СИДА, која произлегува од инфекцијата со ретровирусот вирус на хумана имунонедостаток, или ХИВ. Кај СИДА-та, Т помагачките клетки се уништени од страна на ХИВ, што предизвикува колабирање имуниот систем. Проценето е дека 40 милиони луѓе во светот страдаат од ова болест, кое ако не се лекува е фатално од 8 до 10 години по инфекцијата. Иако сега одредени лекувања можат да им го продолжат животот на пациентите со СИДА, сè уште нема лек за оваа болест.

Ова поглавје беше краток вовед за имуниот систем и даде краток опис како овој комплексен систем функционира за да го заштити домаќинот од болест. Следните поглавја ќе ја разгледаат структурата и функцијата на одделни клетки, орган или органи кои го сочинуваат овој систем. Тие ќе го опишат нашето моментално знаење за тоа како компонентите од имунитетот реагираат и експериментите кои овозможуваат откривање овие механизми. Специфични области од применетата имунологија, како што е имунитетот за инфекциски болести, рак, моменталната работа со вакцините и главните видови откажување на имунитетот се тема во подоцнежните поглавја.

КЛИНИЧКИ ФОКУС

Алергиите и астмата се сериозни проблеми во јавното здравје

Иако имуниот систем служи за да го заштити домаќинот од инфекции и рак, несоодветните реакции на овој систем може да доведат до болест. Често помеѓу резултатите од откажување на имунитетот се алергиите и астмата, два сериозни проблема за јавното здравје. Деталите од механизмите кои им подлежат на алергичните и астматичните реакции кон околинските противгени (или алергени) ќе бидат разгледани во Поглавје 15. Просто кажано, алергичните реакции се одговор кон противгени стимуланси кои доведуваат од имунитетот кој се базира главно на класата IgE имуноглобулин. Изложувањето на противген (или алерген) поттикнува IgE - посредувано ослободување молекули кои при астматичниот напад предизвикуваат симптоми од кивање и дерматит до воспаление на белите дробови. Секвенцата на настани при алергичниот одговор е опишана на следнава слика.

Неспокојот од вообичаените алергии како што е алергијата на полен од растенијата (често наречена амброзиска алергија) е кратко траен, кој се состои од кивање и течење на носот - ништожни во споредба со ефектите од ракот, инфаркт на срцето, или инфекции опасни за животот. Посериозен алергичен одговор е астмата, хронична болест на белите дробови каде воспалението, посредено од околинските противгени или инфекции, предизвикува голема тешкотија во дишењето. Според статистиката од 2002 година од Центарот за контрола на болеста, 20 милиони луѓе страдаат од астма во САД, 12 милиони луѓе годишно добиваат напади на астма. Околу 5000 илјади луѓе секоја година умираат од астма. Во последниве 20 години, зачестеноста на астма на Запад се дуплираше.*

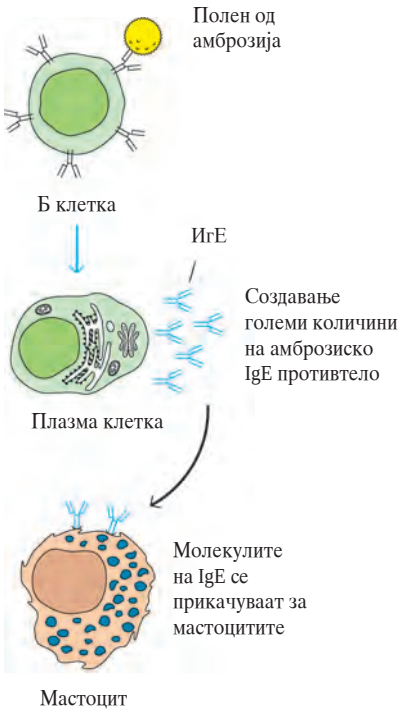
Значењето на алергијата како јавно здравствен проблем е нагласено со фактот дека годишните бројки на посети кај лекар за хипертензија, рутински медицински прегледи или нормална бременост се помали од бројот на посети за алергични болести. Всушност, најчестата причина за посета на итниот оддел (ИО) во болница е нападот од астма, кој се смета за една третина од сите посети. Според тоа, од оние кои се лекуваат во ИО, во текот на изминатата година имаше 160000 хоспитализирани лица од астма, со просечен престој во болница од 3 до 4 дена.

Иако сите возрасти и раси се засегнати, смртта до астма е 3,5 пати почеста кај афроамериканските деца. Причините за пораст на бројот на случаи со астма и за повисока смртна стапка кај афроамериканските деца остануваат непознати, иако неодманешните проучувања на генетските фактори кај алергичното болест може да имаат откриено некои траги (види Клинички фокус во Поглавје 15).

Нараснувачки сериозен здравствен проблем претставува алергијата на храна, посебно на кикиритки и лешници (бадеми, индиски ореви и ореви).† Приближно 3 милиони Американци се алергични на оваа храна, а таа е главната причина за фатални и скоро фатални алергични (анафилактични) реакции на храна. Иако избегнувањето на оваа храна може да спречи опасни последици, сеприсутната употреба на протеинот од кикиритките и други јаткести плодови во разни видови храна го отежнува избегнувањето за алергичните лица. Најмалку 50% од сериозните реакции се предизвикуваат од случајно изложување на кикиритки, лешници или на нивните производи. Ова доведе од контроверзни движења за забрана на кикиритките во училиштата и во авионите.

Анафилаксата обично се појавува во рок од еден час по внесувањето алерген со храна, а најефективното лекување е инекцијата со лекот адреналин (епинефрин). Оние лица кои се склони на анафилактични напади често со себе носат инекција со адреналин за да ја употребат во случај на изложување.

Покрај страдањето и нервозата предизвикана од несоодветните имуни реакции или алергии на околински противгени, има неверојатен долг - кој се проценува на 20 милијарди американски долари - во поглед на изгубеното работно време за засегнатите лица и негувателите. Овие трошоци ќе ги оправдаат продолжените напори за основните и клиничките имунолози и алерголози да го ублажат страдањето предизвикано од овие нарушувања.



Секвенца на настани кои водат до алергична реакција. Кога противтелото кое се создава при контакт со алерген е IgE, оваа класа на противтело реагира со мастоцитите. Последователната реакција од противтелно врзното место со алергенот го поттикнува мастоцитот за која е врзан IgE да лачи молекули кои предиизвикуваат алергични симптоми. страна 20)

*Holgate, S. T. 1999. The epidemic of allergy and asthma, *Nature* supp. to vol. 402, B2.

†Hughes, D. A., and C. Mills. 2001. Food allergy: A problem on the rise. *Biologist* (London) **48**:201.

Резиме

- Имунитетот е состојба на заштита против надворешни организми и супстанции (противгени). 'Рбетниците имаат два вида имунитет: вроден и стекнат (адапативен).
- Вродениот имунитет ја претставува првата одбранбена линија, која вклучува бариери, фагоцитни клетки и молекули кои препознаваат одредени класи патогени.
- Вродениот и стекнатиот имунитет работаат заедно. Активирањето на вродениот имунитет создава сигнали кои стимулираат понатамошен одговор на стекнатиот имунитет.
- Реакциите од стекнатиот имунитет има четири имуни особености: специфичност, различност (разновидност), памтење и препознавање свое-туѓо.
- Високиот степен на специфичност кај стекнатиот имунитет се однесува на молекулите (противтелата и Т клеточните рецептори) кои препознаваат и се врзуваат за специфични противгени.
- Противтелата го препознаваат и директно стапуваат во интеракција со противгенот. Т клеточните рецептори го препознаваат само противгенот комбиниран со молекули од главниот ткивносовпадлив комплекс (ГТК).
- Двете главни суппопулации на Т лимфоцити се КД4$^+$ Т помагачките (Т-по) клетки и КД8$^+$ Т цитотоксични (Т-цт) клетки, од кои произлегуваат цитотоксичните Т лимфоцити (ЦТЛ).
- Нарушувањето на имуниот систем вклучува вообичаени болести како што се алергиите и астмата исто како и имунонедостатокот и автоимунитетот.

Референци

Burnet, F. M. 1959. The *Clonal Selection Theory of Acquired Immunity.* Cambridge University Press, Cambridge, MA.

Cohen, S. G., and M. Samter. 1992. *Excerpts from Classics in Allergy.* Symposia Foundation, Carlsbad, CA.

Desour, L. 1922. *Pasteur and His Work* (translated by A. F. and B. H. Wedd). T. Fisher Unwin, London.

Kimbrell, D. A., and B. Beutler. 2001. *The evolution and genetics* of innate immunity. *Nature Reviews Genetics* **2**:256.

Kindt, T. J., and J. D. Capra. 1984. *The Antibody Enigma.* Plenum Press, New York.

Landsteiner, K. 1947. *The Specificity of Serologic Reactions.* Harvard University Press, Cambridge, MA.

Medawar, P. B. 1958. *The Immunology of Transplantation: The Harvey Lectures, 1956–1957.* Academic Press, New York.

Metchnikoff, E. 1905. *Immunity in the Infectious Diseases.* Macmillan, New York.

O'Neill, A. J. 2005. Immunity's early warning system. *Scientific American* **292:**38.

Paul, W., ed. 2003. *Fundamental Immunology,* 5th ed. Lippincott Willimas & Wilkins, Philadelphia.

Roit, I. M., P. J. Delves, eds. 1998. *An Encyclopedia of Immunology,* 2nd ed. vols 1-4. Academic press, London.

Корисни веб-страници

http://www.aaaai.org/

Веб-страницата на Американска академија за алергиска астма и имунологија вклучува голема збирка информации за алергичните болести.

http://www.aai.org/

Веб-страницата на Американското здружение за имунологија содржи голем број информации кои се од интерес за имунолозите.

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/

ПубМед, Национална бибилиотека како медицинска база на податоци на повеќе од 9 милиони публикации, претставува најдеталната библиографска база на податоци за биолошка и биомедицинска литература во светот. Исто така, таа е доста пријателски - настроена страна.

Прашања за учење

ПРАШАЊЕ ОД КЛИНИЧКИОТ ФОКУС. Имате млад внук кој добил тешка алергија на лешници. Кои мерки Вие би му ги препорачале на лицето и на неговите родители? Дали на училште кај него треба да знаат за ова болест?

1. Зошто вакцината на Џенер била поефективна од предходните методи за поттикнување отпорност кон големи сипаници?
2. Дали лекувањето против беснило кое го користел Пастер активира активен или пасивен имунитет кон вирусот за беснило? Дали има друг начин да се тестира ова?
3. Новороденчињата кои се штотуку родени се на ризик од инфекција со стрептококи група В. Предложена е вакцина за внесување кај жени за периодот додека се грижат за детето. Како имунизирањето на мајката ќе им помогне на бебињата?
4. Покажете на која област од имуниот систем се однесуваат следниве искази, со употреба на Х за хуморалната гранка и КП за клеточно посредуваната гранка. Одредени искази може да се однесуваат и на двете гранки.

   а. Вклучува класа 1 ГТК молекули
   б. Реагира на вирусна инфекција
   в. Вклучува Т помагачки клетки
   г. Вклучува обработен противген
   д. Реагира следејќи го пресадокот од орган
   ѓ. Вклучува Т цитотоксични клетки
   е. Вклучува Б клетки
   ж. Вклучува Т клетки
   з. Реагира на вонклеточна бактериска инфекција
   ѕ. Вклучува излачено противтело
   и. Убива вирусно заразени сопствени клетки

5. Стекнатиот имунитет поседува четири карактеристични особини, кои се остварени со лимфоцитите. Набројте ги овие четири особености и накратко објаснете како настануваат тие.
6. Именувајте три особености од вторичната имунолошка реакција кои ја одделуваат од првичната имунолошка реакција.
7. Споредете ги и разликувајте ги четирите видови молекули кои се врзуваат за противген кои ги користи имуниот систем - противтела,

Т клеточни рецептори, класа 1 ГТК молекули и класа 2 ГТК молекули - во поглед на следниве карактеристики:

а. Специфичност за противген
б. Клеточно прикажување
в. Видови препознаени противгени

8. Пополнете ги празните места во следниве изјави со најсоодветните поими:

а. ____, ____ и ____ сите функционираат како противген прикажувачки клетки.
б. Противген прикажувачките клетки пренесуваат ____ сигнал кон ____ клетки.
в. Само противген прикажувачките клетки прикажуваат класа ____ ГТК молекули, додека скоро сите клетки прикажуваат класа _____ ГТК молекули.
г. Научниот израз кој се однесува на белите клетки општо е наречен ____.
д. ____ гранка од имуниот систем е наречена така бидејќи противтелата се создадени при одговор на специфични патогени. Потребно е претходно изложување кон патоген за да се развие овој дел од имуниот систем.
ѓ. Т клетките мора да имаат корецептори за да можат ефикасно да се врзат за ГТК молекулите. Корецепторот за препознавање класа 1 ГТК молекули е ____ а корецепторот за препознавање класа 2 ГТК е наречен ____.
е. Делот од противгенот врзан од противтелото е познат како ____.

9. За Т клетката се вели дека е ограничена на класа 1. Што значи ова?

10. Вродениот и стекнатиот имунитет стапуваат во интракција и дејствуваат на независни начини за да го заштитат домаќинот. Опишете ги меѓудејствата на овие две форми имунитет.

11. Дадете примери за благите и тешките последици од откажување на имунитетот. Која е денес најчестата причина за имунонедостаток низ светот?

12. Кој од следниве искази за тоа како Б и Т клетките го препознаваат противгенот е точен?

а. Б клетките го препознаваат само противгенот прикажан со класа 1 или класа 2 ГТК молекули.
б. И двата вида клетки можат да го препознаат противгенот во раствор (без клетки).
в. И двата вида клетки ги препознаваат вонклеточните противгени кои се врзани за матриксот.
г. Т клетките го препознаваат само противгенот прикажан со класа 1 или класа 2 ГТК молекули.

13. За секој од следниве искази, покажете дали исказот е точен или не. Ако мислите дека исказот е неточен, објаснете зошто.

а. Ревакцинацијата е потребна бидејќи повторното изложување кон противген создава појак имун одговор.
б. Генот за Т клеточниот рецептор мора да се расече и да се состави заедно, отстранувајќи цели делови, пред тој да се препише.
в. Нашите тела се сочуваат со најголемиот напад од туѓ напаѓач низ нашите мукозни мембрани.
г. Зголеменото создавање противтела во имуниот систем се остварува со присуството на противген.
д. Противгенот се врзува директно за Т клетките.
ѓ. Пептидите се додаваат до жлебот (процепот) од класа 1 ГТК молекули во цитозолот.
е. За да созреат Б клетките во плазма клетки тие имаат потреба од „помош“ од Т клетките.

14. Поврзете го видот на клетки со рецепторот кој се сретнува на таа клетка.

Вид на клетки	Рецептор
а. Противген прикажувачка клетка	1. КД8$^+$
б. Б клетка	2. ГТК
в. Помагачка Т клетка	3. БКР
г. Цитоксична Т клетка	4. КД4$^+$



Интрактивно учење

www.whfreeman.com/kuby



САМОСТОЕН ТЕСТ
Преглед на клучни изрази

Поглавје 2

Клетки и органи од имуниот систем



Електронска микрографија на макрофаг [L.Nilson, Bochring Ingelheim International GmbH.]

- Хематопоеза
- Клетки во имуниот систем
- Органи на имуниот систем
- Лимфоидни клетки и органи - еволуциски споредби

Во телото се наоѓаат голем број клетки, органи и ткива од имуниот систем. Функционално тие може да се поделат на две главни групи. **Првичните лимфоидни органи** овозможуваат соодветни микроколини за развојот и зреењето на лимфоцитите. **Вторичните лимфоидни органи** заробуваат противген, обично од соседните ткива или васкуларните простори и областите каде зрелите лимфоцити можат ефикасно да стапат во интеракција со противгенот. Крвните садови и лимфните системи ги поврзуваат овие органи, обединувајќи ги во функционана целина.

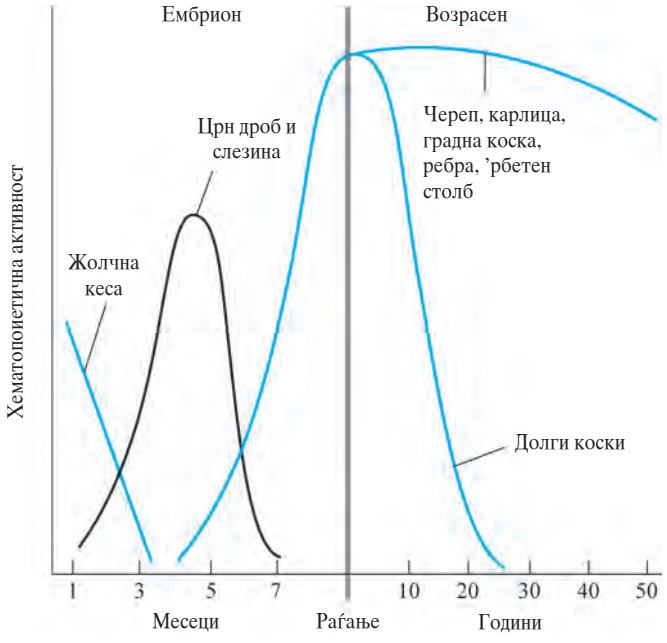
Различните бели клетки, **или бели клетки**, кои се пренесуваат во крвта и лимфата и кои ги населуваат лимфоидните органи, учествуваат во имуниот одговор. Од овие клетки, само противген-специфичните лимфоцити поседуваат особености на различност, специфичност, памтење и препознавање свое - туѓо, главни белези на реакцијата од стекнатиот имунитет. Други бели клетки исто така играат значајни улоги, дел како противген прикажувачки клетки, а други учествуваат како ефекторни клетки при елиминација на противгенот од страна на фагоцитите или лачењето на имуно ефекторни молекули. Некои бели клетки, посебно Т лимфоцитите, лачат различни протеински молекули наречени цитокини. Овие молекули се однесуваат како имунорегулаторни хормони и играат значајна улога при координација и регулација на имуните реакции. Овде го опишуваме зреењето на крвните клетки, својствата на различни клетки од имуниот систем и функцијата на лимфоидните органи.

Хематопоеза

Сите крвни зрнца произлегуваат од одреден вид клетки наречени **хематопоетски стем клетки (ХСК). Стем клетките** се клетки кои се диференцираат во други клетки. Тие се самообновливи, со што го одржуваат нивото на популација со клеточни делби. Кај луѓето, **хематопоезата**, создавањето и развојот на црвените и белите клетки, започнува во ембрионската жолчна кеса во првите недели од развојот. Стем клетките од жолчната кеса се диференцираат во примитивни еритроидни клетки кои содржат фетален хемоглобин. До третиот месец од бременоста, хематопоетските стем клетки се преселуваат од жолчната кеса во црниот дроб на ембрионот и понатаму ја колонизираат слезината. Овие два органи имаат главна улога во хематопоезата од третиот до седмиот месец на бременоста. По тоа, диференцирањето на ХСК во коскената срцевина станува главен фактор во хематопоезата, а до раѓањето има малку или воопшто нема хематопоеза во црниот дроб или слезината. Преселувањето на хематопоеза при развојот од серија на рани области до коскената срцевина е прикажано на слика 2-1.

Инзвонредно е тоа што секоја функционално специјализирана, зрела крвна клетка произлегува од ХСК. Сепак, проучувањето на хематопоетските стем клетки е сложено од две причини. Тие се ретки, обично помалку од еден ХСК на 5 x 10^4 клетки во коскената срцевина и тешко растат ин витро. Како резултат на тоа, информациите што ги имаме за тоа како се регулирани размножувањето и диференцијата не се целосни. Поради нивниот капацитет за само обновување, хематопоетските стем клетки се одржуваат на стабилни нивоа за време на возрасниот живот. Сепак, кога има зголемена побарувачка за хематопоеза, ХСК прикажуваат огромен капацитет за размножување. Ова може да се покаже кај глувците чии хематопоетски системи се целосно уништени од смртоносна доза на рендгенски зраци (950 ради[1]). Таквиот озрачен глушец умира во период од 10 дена доколку не му се внесат нормални клетки од коскената срцевина од сингенеичен (генетски идентичен) глушец. Иако обичниот

[1]Еден рад ја претставува апсорпцијата на озрачената цел со количество зрачење соодветно на 100 ergs/грам од целта.



СЛИКА 2-1 Места на хематопоезата во различни периоди од преднаталниот и постнаталниот човечки развој.

глушец има 3 x 10^8 клетки од коскената срцевина, внесувањето на само од 10^4 до 10^5 клетки од коскената срцевина (т.е., 0,01% - 0,1% од нормалната количина) од дарител е доволно за целосно да се врати хематопоетскиот систем, што го претставува огромниот капацитет на ХСЦ за самообновување.

Рано при хематопоезата, повеќепотентните стем клетки се диференцираат низ една од двете патеки, создавајќи ги или **лимфоидната прогениторска клетка** или **миелоидната прогениторска клетка** (слика 2-2). **Прогениторските клетки** го изгубиле својот капацитет за самообновување и се посветени на одредена клеточна лоза. Лимфоидните прогениториски клетки создаваат Б, Т и ПУ (природни убијци) клетки. Миелоидните стем клетки од црвените клетки создаваат прогенитори (црвени клетки), многу од различните бели крвни зрнца (неутрофили, езинофили, базофили, моноцити, мастоцитни клетки, стеблести клетки), и клетки кои создаваат крвни плочки наречени мегакариоцити. Во коскената срцевина, хематопоетските клетки и растот на нивните потомци, се диференцираат и созреваат во област во вид на дипла од **стромалните клетки,** каде се вклучени масни клетки, ендотелни клетки, фибробласти и макрофаги. Стромалните клетки влијаат врз диференцирањето на хематопоетските стем клетки со тоа што овозможуваат **микросредина која поттикнува хематопоеза (МПХ)** која се состои од клеточна матрица и фактори кои поттикнуваат растење и диференцирање. Многу од овие хематопоетски фактори на раст се растворливи агенси кои кај нивните целни клетки пристигнуваат со дифузија, додека другите се мембрански врзани молекули врз површината од стромалните клетки за кои е потребен допир клетка со клетка меѓу реактивните клетки и стромалните клетки.

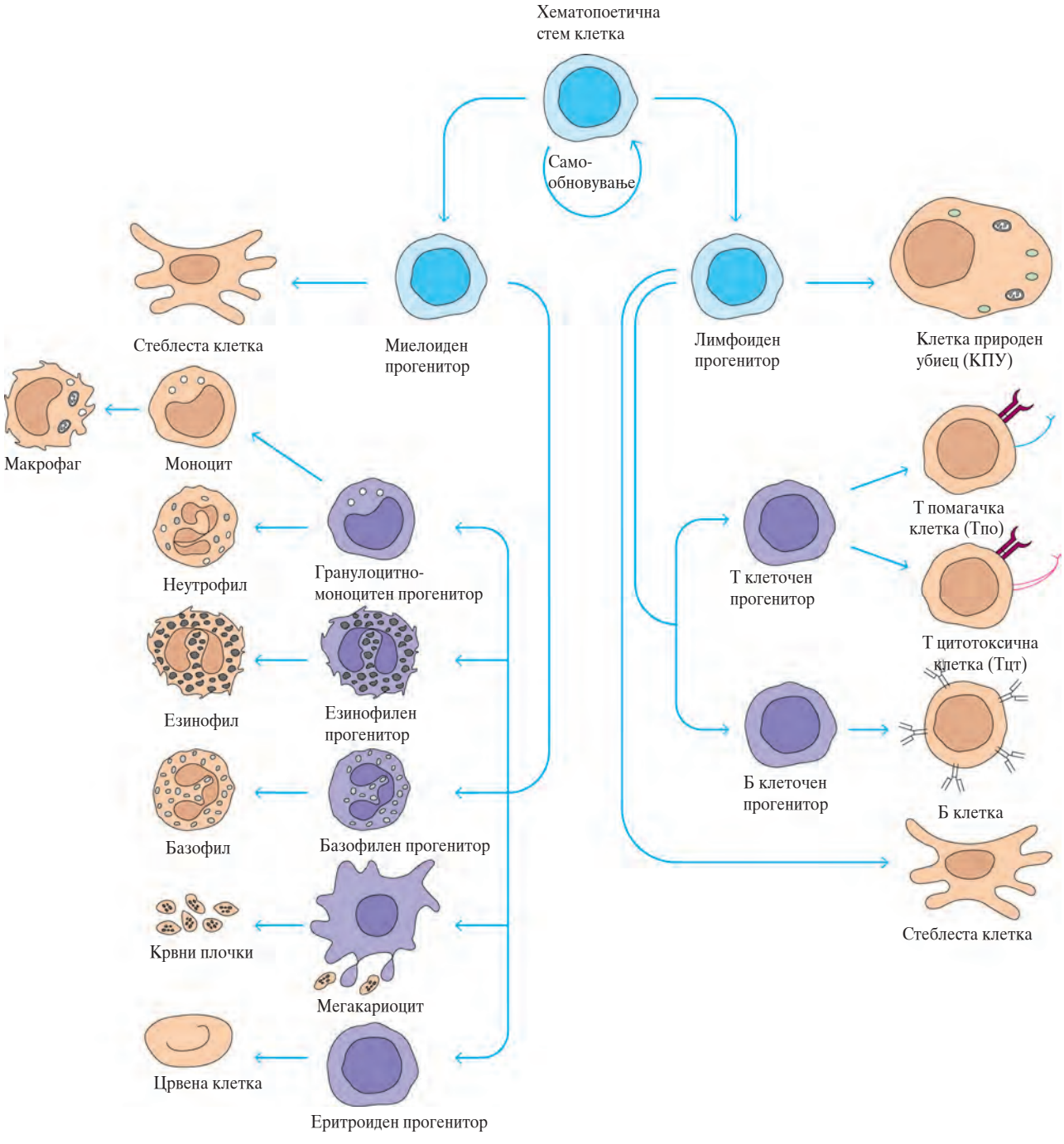
При хематопоезата, црвените клетки и многу други видови бели крвни клетки потекнуваат од неколку хематопоетски стем клетки во комплицирани процеси кои вклучуваат многу чекори минувајќи ја хиерархијата на претходните популации. Зошто се развил толку сложен процес за создавање крвни клетки? За време на животот, човек создава околу 10^{16} крвни клетки. Ова бара големо делење на многу клетки. Џон Дик покажал дека делењето на клетките е склоно на грешки и создава можност геномот да претрпе мутации, при што дел од нив може да предизивикаат рак. Тој укажал дека за да се намали можноста за овој потенцијално катастрофален настан, системот кој создава крв е организиран како генијална хиерархија во која поголемиот дел од размножувањето се одвива кај подифернцирани претходници наместо кај самите популации од хематопоетските стем клетки. Овие прогресивно диференцијациски претходници не се самообновливи, а зрелите крвни клетки кои тие ги создаваат или не се способни за делење или се делат само во посебни околности. Според тоа, шансата за создавање рак кај ХСК и нивните итни потомци е намалена, дури и ако не е сведена на нула.

Хематопоезата се регулира на генетско ниво

Развојот на многупотентните хематопоетски стем клетки во различни видови клетки бара прикажување различни групи линиски определени и линиски специфични гени во соодветни периоди и во правилен редослед. Протеините определени до овие гени се критични компоненти од регулаторните мрежи кои управуваат со диференцирањето на стем клетките и нивните потомци. Она што го знаеме за зависноста на хематопоезата од одреден ген доаѓа од проучувањата на глушецот каде генот е деактивиран или „отстранет“ со целно уништување, кое го блокира создавањето на протеинот кој го кодира (види Поглавје 22). Ако глушецот не успее да создаде црвени крвни клетки или одредени бели крвни клетки кога генот е отстранет, ние заклучуваме дека протеинот определен од генот е неопходен за развојот на овие клетки. Отстранувачката технологија е една од најмоќните достапни алатки за одредување на улогата на одредени гени при широка палета на процеси и оствари голем придонес за идентификацијата на многу гени кои ја регулираат хематопоезата.

Иако има уште многу да се учи, целното уништување и другите пристапи имаат идентичен број препишувачки фактори кои играат значајна улога во хематопоезата (табела 2-1). Дел од овие препишувачки фактори засегаат многу различни хематопоетски лози, а други засегаат само една лоза, како што е развојната патека која води кон лифоцитите. Еден препишувачки фактор кој засега повеќе лози е ГАТА - 2, член на семејството препишувачки фактори кои ја препознаваат тетрануклеотидната секвенца ГАТА, мотив кој се сретнува кај целните гени. Функционалниот **ген *ГАТА - 2***, кој го определува овој препишувачки фактор, е неопходен за развојот на лимфоидните, еритроидни и миелоидните лози. Како што може да се очекува, животните кај кои овој ген е нарушен умираат при развојот на ембрионот. Наспроти ГАТА - 2, друг препишувачки фактор, **Икарос**, е потребен само за развојот на клетките од лимфоидно потекло. Иако Икарос глувците со отстранет ген (knockout mice) не создаваат значителен број Б, Т и КПУ клетки, нивното создавање во црвени клетки, гранулоцити и други клетки од миелоидно потекло не е намалено. Икарос глу-

ПРЕГЛЕД НА СЛИКА 2-2: Хематопоеза



Самообновливите стем клетки создаваат лимфоидни и миелоидни прогенитори. Сите лимфоидни клетки потекнуваат од лимфоидните прогениторни клетки, а сите клетки од миелоидно потекло настануваат од миелоидните прогенитори.

ТАБЕЛА 2-1 Некои препишувачки фактори кои се потребни за хематопоетските лози

Фактор	Зависно потекло
ГАТА - 1	Еритроид
GATA-2	Еритроид, миелоид, лимфоид
ПУ.1	Еритроид (фази на зреење), миелоид (подоцнежни фази), лимфоид
Бми - 1	Сите хематопоетски лози
Икарос	Лимфоид
Окт - 2	Б лимфоид (диференцирање на Б клетки во плазма клетки)

вците со отстранет ген го преживуваат развојот на ембрионот, но тие се тешко имуно загрозени и умираат од инфекции во рана возраст. Сепак друг препишувачки регулатор, Бми - 1, претставува препишувачки репресор кој е клучен одредувач за способноста на ХСК за самообновување. Кога генот за Бми - 1, кој е многу прикажан кај ХСК во луѓето и глувците, ќе се отстрани, глувците со недостаток на Бми - 1 умираат по два месеца од раѓањето. Причина за смртта е потенцијалниот неуспех на коскената срцевина да создава црвени и бели крвни клетки. Овој неуспех на коскената срцевина се препишува на недостатокот на самообновување од страна на ХСК.

Хематопоиетската хомеостаза вклучува многу фактори

Хематопоезата е рамнотежен процес при кој се создаваат зрели крвни клетки со иста стапка со која се губат. (Главната причина за загуба на крвните клетки е стареењето). Просечен еритроцит има животен век до 120 дена пред да се фагоцитира и разгради од макрофагите во слезината. Разните бели крвни клетки имаат животни векови кои се движат до ден, за неутрофилите, па од 20 до 30 години за некои Т лимфоцити. За да се одржат рамнотежни нивоа, просечен човек создава 3,7 x 10^{11} бели крвни клетки на ден. Овој масивен систем е регулиран од комплексни механизми кои влијат врз сите одделни видови клетки и како за крај, бројот на клетки од секоја хематопоетска лоза е дотеран преку рамнотежата од бројот на клетките кои се отстранети со умирање и бројот кој произлегува од делењето и диференцирањето. Било кој или комбинација од регулациски фактори може да влијае врз размножувањето и диференцирањето на клетките. Исто така овие фактори може да одредат дали хематопиетската клетка е поттикната да умре.

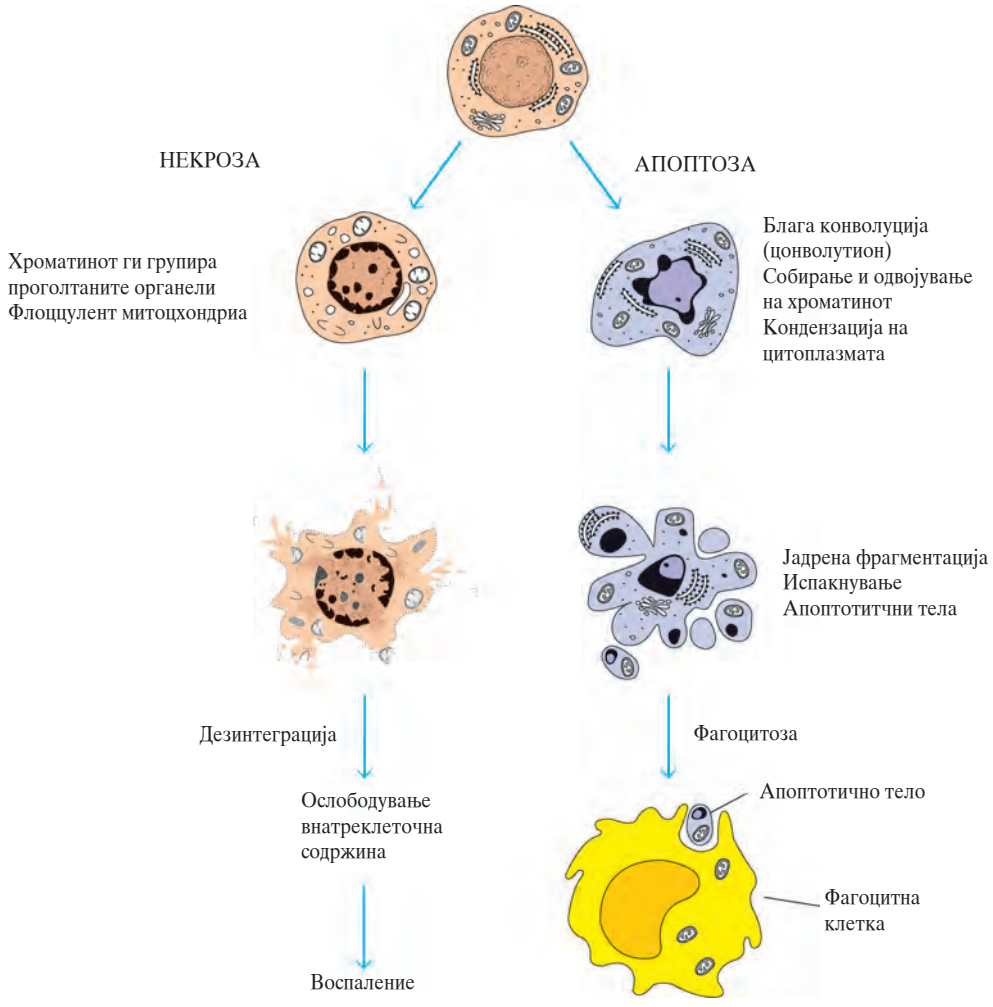
Програмираната клеточна смрт е неопходен хомеостатски механизам

Програмираната клеточна смрт, поттикнат и нарачан процес при кој клетката активно придонесува за сопственото умирање, е критичен фактор во хемостатската регулација на многу видови популации, каде се вклучени и оние видови од хематопоетскиот систем.

Клетките кои претрпуваат програмирана смрт често извршуваат различни морфолошки промени, колективно наречени **апоптоза** (слики 2-3, 2-4). Овие промени вклучуваат видливо намалување во просторот на клетката, модификација на скелетонот што резултира со испакнување на мембраната, кондензација на хроматинот и разградување на ДНК на делови. Следејќи ги овие морфолошки промени, апоптотичната клетка се распаѓа на мали апоптотични тела обвиткани со мембрана кои содржат неоштетени органели. Макрофагите ги фагоцитираат апоптотичните тела и клетки во доцните фази од апоптозата. Ова обезбедува дека нивната внатреклеточна содржина, вклучувајќи ги протеолитичните и други литични ензими, катјонските протеини и оксидирачките молекули, не се ослободуваат во ткивото кое ги опкружува. Како последица на тоа, апоптозата не поттикнува локален воспалителен одговор. Апоптозата значително се разликува од **некрозата**, промени поврзани со клеточната смрт кои произлегуваат од повреда. При некрозата, повредените клетки отекуваат и експлодираат, испуштајќи ја нивната содржина и потенцијално поттикувајќи оштетувачки воспалителен одговор.

Секој од белите клетки создаден со хематопиоезата има карактеристичен животен циклус и тогаш умира со програмирана смрт. На пример, кај возрасните луѓе во циркулацијата има околу 5 x 10^{10} неутрофили. Овие клетки имаат животен век од само еден ден пред да започне програмираната смрт. Со постојано создавање неутрофили се одржува стабилен број на овие клетки. Програмираната клеточна смрт исто така игра улога при одржување соодветен број хематопоетски прогениторни клетки за црвените клетки и различните видови бели клетки. Покрај хематопоезата, апоптозата е значајна при таквите имуни процеси како што е поднесувањето (толеранцијата) и убивањето на целни клетки со цитотоксичните Т клетки или клетките природни убијци. Детали за механизмите кои се подлежни за апоптозата следат подоцна, тие се целосно опишани во поглавјата 10 и 14.

Прикажувањето на неколку гени ја придружува апоптозата во белите клетки и во други видови клетки (табела 2-2). Дел од протеините кодирани од овие гени поттикнуваат апоптоза, други се критични за развојот на апоптозата, а други сè уште извршуваат апоптоза. На пример, во тимоцититите апоптозата може да биде поттикната со зрачење, но само ако е пристутен протеинот p33. Кај многу клетки смртта е поттикната со сигнали од Fas, молекул присутен на површината од многу клетки и протеазите познати како каспази учествуваат во серијата реакции кои водат кон апоптоза. Од друга страна, членовите на bcl - 2 (Б клеточен лимфом 2) семејството гени, *bcl - 2* и *bcl - X_L*, кодираат протеински продукти кои ја спречуваат апоптозата. Интересно е тоа што, првиот член од оваа фамилија на гени кој се откри, *bcl - 2* , беше откриен при проучувањата кои не се однесуваа до смртта на клетката туку на неконтролирањето размножување Б клетките во вид на рак познат како Б клеточен лимфом. Во овој случај, генот *bcl - 2* беше близу точката на прекин за хромозомското преместување кај човечкиот Б клеточен лимфом. Преместувањето го премести генот *bcl - 2* во точката на тешкиот ланец од имуноглобулинот, што доведе до



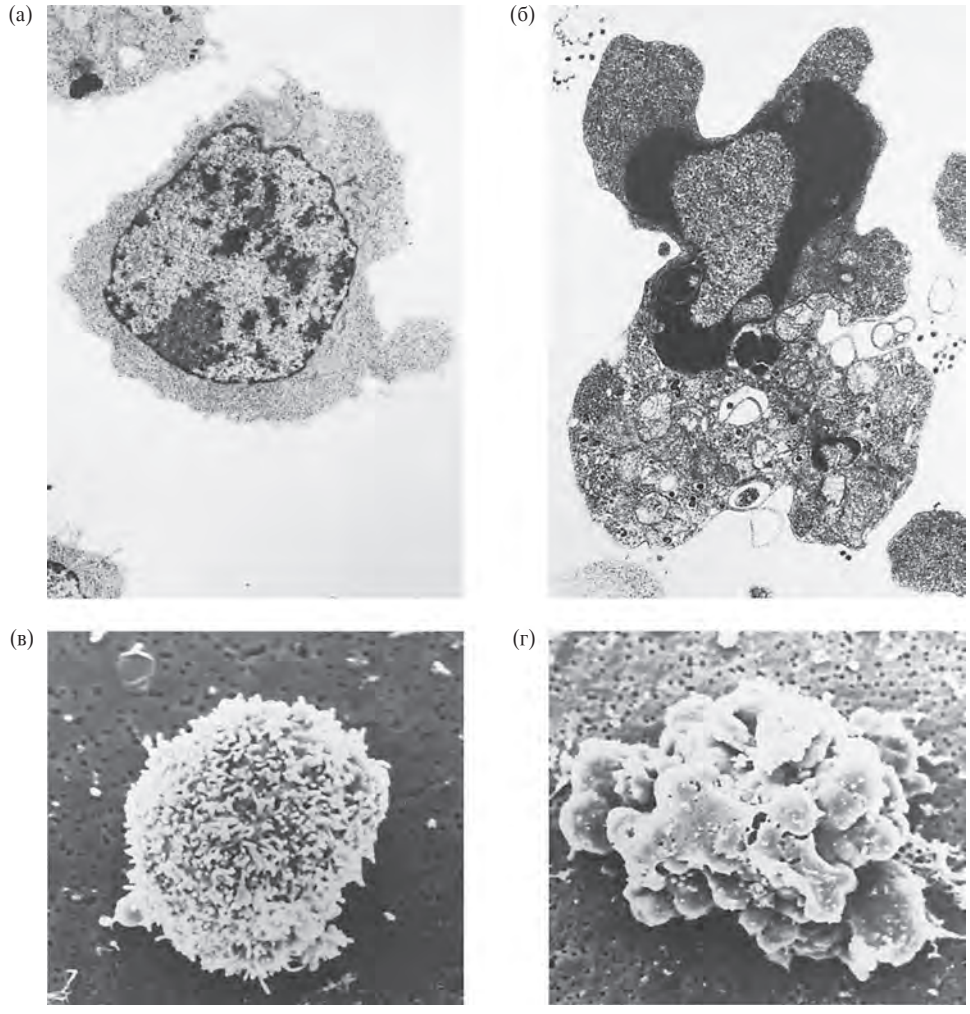
СЛИКА 2-3 Споредба на морфолошките промени кои се појавуваат при апоптозата и некрозата. Апоптозата, која резултира од програмирана клеточна смрт на хематопоетските клетки, не поттикнува локално воспаление. Наспроти тоа, некрозата, процесот кој води кон смрт на повредените клетки, доведува до испуштање на содржината на клетките, што може да поттикне локално воспаление.

препишување генот *bcl - 2* заедно со имуноглобулинскиот ген, со последователно прекумерно создавање на кодираниот протеин Bcl - 2 од страна на клетките од лимфомот. Резултантните високи нивоа на Bcl - 2 се верува дека помагаат во трансформација на лимфоидните клетки во канцерски лимфомни клетки преку спречување на сигналите кои нормално би поттикнале апоптотична клеточна смрт.

Се откри дека нивоата на Bcl - 2 играат значајна улога во регулирањето на нормалните животни циклуси кај различни хематопоетски клеточни линии, вклучувајќи ги лимфоцитите. Нормален возрасен човек има околу 5 литри крв, со околу 2000 лимфоцити на мм^3, вкупно околу 10^{11} циркулирачки лимфоцити. При акутна инфекција, бројот на лимфоцитите се зголемува за четири или повеќе пати, создавајќи ниво на циркулациски лимфоцити од над 4 x 10^{11}. Имуниот систем не може да го одржи ваквиот масивен пораст на број на клетки во подолг период, така што, системот мора да ги отстрани непотребните активирани лимфоцити откога ќе помине противгената опасност. Се откри дека активираните лимфоцити прикажуваат ниско ниво на Bcl - 2 и затоа се поосетливи кон поттикнување апоптотична смрт откоклу што се неискусните или памтечките клетки. Сепак, ако лимфоцитите продолжат да се активираат од страна на противгенот, сигналите кои се применени при активацијата го блокираат апоптотичниот сигнал. Како што опаѓа нивото на противгенот, исчезнува нивото на сигнали кои

ТАБЕЛА 2-2 Гени кои ја регулираат апоптозата

Ген	Функција	Улога во апоптозата
bcl-2	Спречува апоптоза	Спречување
bax	Се спротивставува на *bcl-2*	Поттикнување
bcl-X_L (bcl-долг)	Спречува апоптоза	Спречување
bcl-X_S (bcl-краток)	Се спротивставува на *bcl-X_L*	Поттикнување
Каспази (неколку различни видови)	Протеаза	Поттикнување
Fas	Поттикнува апоптоза	Започнување

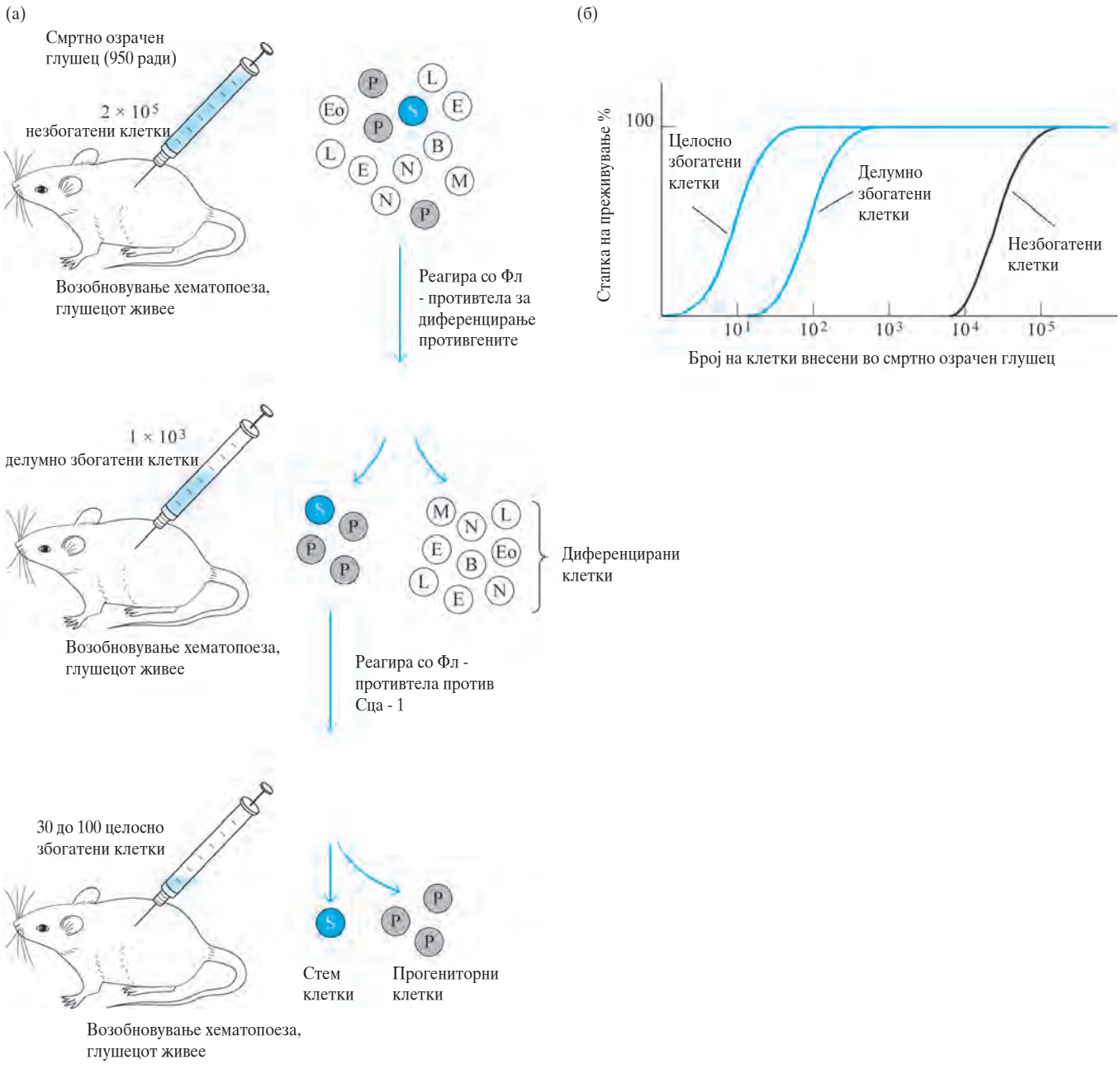


СЛИКА 2-4 **Апоптоза.** Светлосна микрографија од (а) обичните лимфоцити (се развиваат Т клетки во тимусот) и (б) апоптотични тимоцити. Скен електронска микрографија на (в) нормални и (д) апоптотични тимоцити. *[Од B. A. Osborne and S. Smith, 1997, Journal of NIH Research 9:35; courtesy of B. A. Osborne, Univesrity of Massachusestts at Amherst].*

ја блокираат апоптозата, а лимфоцитите почнуваат да умираат со апоптоза.

Хематопоетските стем клетки може да се збогатат

Ирв Вајсмен и неговите колеги развија нов начин на збогатување на концентрацијата на глувчешки хематопоетските стем клетки, кој обично содржи помалку од 0,05% од сите клетки во коскената срцевина од глушецот. Нивниот пристап се базира на употребата на противтела специфични за молекулите познати како **диференцијациски противгени**, кои се прикажуваат само врз одреден вид клетки. Тие изложиле примероци од коскената срцевина кон противтела кои биле обележени со флуоресцентни соединенија и кои биле специфични за диференцијациските противгени прикажани врз површината од зрелите црвени и бели крвни клетки, но не и врз стем клетките (слика 2-5). Тогаш обележените клетки се отстрануваат преку проточна цитометрија (flow cytometry) со флуоресценто-активиран клеточен сортер (види Поглавје 6). По секое сортирање, останатите клетки се анализираат за минималниот број потребен за возобновување на хематопоезата кај смртно озрачените глувци со рендгенски зраци. Како што повеќепотентните стем клетки стануваат релативно побројни кај преостанатата популација, така сè помалку клетки се потребни за возобновување хематопоезата во овој систем. Отстранувањето на хематопоетските стем клетки со избирање присуството на диференцијациските противгени овозможи 50 до 200 пати збогатување повеќепотентните стем клетки. За натамошно збогатување на повеќепотентните стем клетки, останатите клетки се инкубираат со разни противтела создадени против клетките од раните фази на хематопоезата. Едно од овие противтела препозна диференцијациски противген наречен стем клетка противген 1 (Sca - 1). Третирањето со овој противген помогна при заробувањето на недиференцијациските стем клетки и се доби соединение кое ги збогатува повеќепотентните стем клетки така што дел кој содржи само од 30 до 100 клетки рутински ја возобновува хематопоезата кај глушец озрачен со смртни дози рендгенски зраци, додека за возобновување беа потребни повеќе од 10^4 незбогатени клетки од коскената срцевина. Со подобрена верзија на овој пристап, Х. Накачи и неговите колеги измислија толку ефективни постапки што кај еден од 5 смртно озрачени глувци, една хематопоетска клетка



СЛИКА 2-5 Збогатувањето повеќепотентни стем клетки од коскената срцевина. (а) Диференцираните хематопоетски клетки (бели) се отстранети преку третирање со флуоресцентно обележени противтела (Фл - противтела) специфични за мембранските молекулите прикажани врз диференцираните лози, но отсутни кај недиференцираните стем клетки (С) и прогениторните клетки (П). Третирање на добиениот делумно збогатен примерок со противтела специфични за Сца - 1, рано диференцијациски противген, ги отстрани повеќето прогениторни клетки. М = моноцот, Б = базофил, Н = неутрофил, Ео = еозинофил, Л = лимфоцит, Е = еритроцит. (б) Збогатувањето на примерокот со стем клетки се мери преку нивната способност да ја возобноват хематопоезата кај смртно озрачените глувци. Само животните кај кои се појавува хематопоеза преживуваат. Прогресивното збогатување стем клетките е прикажано преку падот на бројот на внесените клетки потребни за возобновување на хематопоезата. Со оваа постапка можно е вкупно збогатување за околу 1000 пати.

може да ги возобнови и миелоидните и лимфоидните лози (табела 2-3).

Се откри дека КД34, обележувач пронајден кај околу 1% од хематопоетските клетки, иако не е уникатен за стем клетките се сретнува кај мала популација на клетки кои вклучуваат стем клетки. Внесувањето популации човечки клетки соодветно збогатени со КД34⁺ клетки („+“ укажува дека факторот кој е присутен врз клеточната мембрана) може да го возобноват целиот хематопоетиски систем на пациентот (види Клинички фокус, стр. 32).

Главна алатка во проучувањата за идентификација и карактеризирање хуманите хемтаопоиетски стем клетки претставува употребата на **ТКИН** (**тежок комбиниран имун недостаток**) (**severe combined immunodeficiency = SCID**) глушецот како ин

ТАБЕЛА 2-3 Реконструкција на хематопоезата со ХСК

Број на збогатени ХСК	Број на возобновени глувци (%)
1	9 од 41 (21.9)
2	5 од 21 (23.8)
5	9 од 17 (52.9)
10	10 од 11 (90.9)
20	4 од 4 (100)

Извор: Адаптирано од M. Osawa et al., 1996, *Science* **273**:242.

ТАБЕЛА 2-4 Нормален број на крвни клетки кај возрасно лице

Вид на клетка	Клетки / мм³	Вкупни бели клетки (%)
Црвени крвни клетки	5.0×10^6	
Крвни плочки	2.5×10^5	
Бели клетки	7.3×10^3	
Неутрофил	$3.7 – 5.1 \times 10^3$	50 – 70
Лимфоцит	$1.5 – 3.0 \times 10^3$	20 – 40
Моноцит	$1 – 4.4 \times 10^2$	1 – 6
Езинофил	$1 – 2.2 \times 10^2$	1 – 3
Базофил	$< 1.3 \times 10^2$	<1

виво анализаторски систем за присуството и функцијата на ХСК. ТКИН глувците немаат Б и Т лимфоцити и не можат да воспостават реакции од стекнатиот систем како што се оние кои реагираат во нормалното отфрлање на туѓите клетки, ткива и органи. Според тоа, овие животни не отфрлаат популации од пресадени човечки клетки кои содржат ХСК или ткива како што се тимусот или коскената срцевина. Имун недостаточните глувци се корисни како сурогати или алтернативни домаќини за ин виво проучувањата на хуманите стем клетки. SCID глушецот, кому му беа пресадени делови од човечки тимус и коскена срцевина, го поддржа диференцирањето на хуманите хематопоетски стем клетки во зрели хематопоетски клетки. Овој систем овозможи проучување на субпопулациите од КД34⁺ клетките и влијанието на хуманите растечки фактори врз диференцирањето различни хематопоетски лози.

Клетки во имуниот систем

Лимфоцитите кои ги носат противгени рецептори се централните клетки на стекнатиот имунитет и се одговорни за нивните изворни карактеристики на различност, специфичност и памтење. Исто колку што се значајни лимфоцитите, и други видови на бели крвни клетки играат неопходна улога во стекнатиот имунитет, прикажувањето противгени, лачењето цитокини и голтањето и уништувањето микроорганизми. Покрај тоа, како што ќе видиме во следното поглавје, вродениот имун систем, кој дели многу клетки со стекнатиот имун систем, игра незаменлива соработка во поттикнувањето на стекнатите реакции.

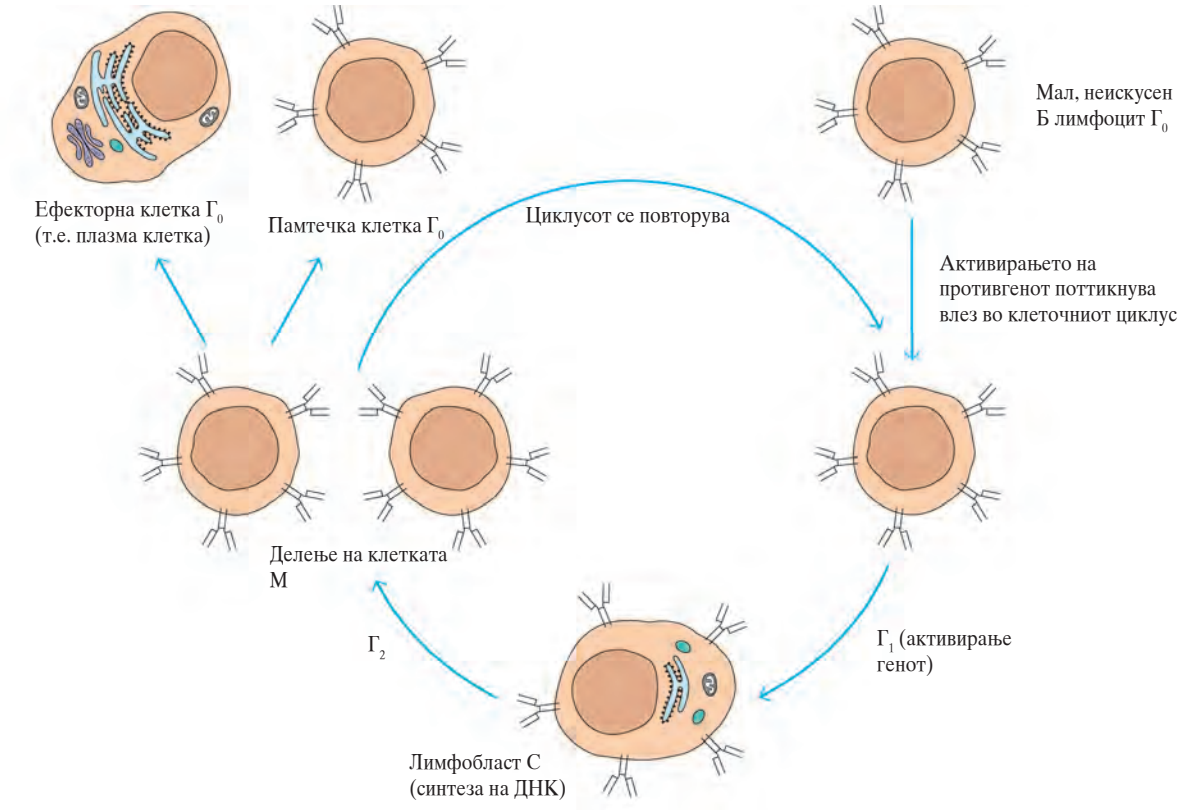
Лимфоидни клетки

Лимфоцитите сочинуваат 20% до 40% од бројот на бели крвни клетки во телото и 99% од клетките во лимфата (табела 2-4). Во човечкото тело постојат околу еден трилион (10^{12}) лимфоцити. Лимфоцитите кои непрекинато циркулираат во крвта и лимфата се способни за преселување во ткивните простори и лимофидните органи, притоа служејќи како премин помеѓу деловите од имуниот систем.

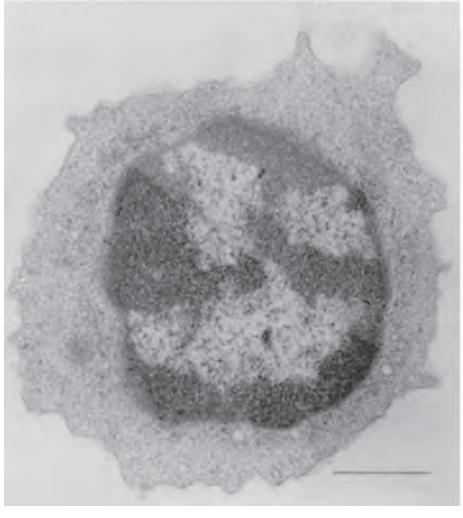
Лимфоцитите грубо може да се поделат на три главни подгрупи - Б клетки, Т клетки и клетки природни убијци - врз основа на функцијата и деловите од клеточната мембрана. Клучните клетки во стекнатиот имунитет, Б и Т клетките имаат сопствена одделна фамилија на противгени рецептори. **Клетките природни убијци (КПУ)** се големи, зрнести (зрнести) лимфоцити (*зрнести* се однесува на нивниот зрнест изглед под микроскоп) кои се дел од вродениот имун систем и не прикажуваат површински молекули карактеристични за Б и Т клетките. Б и Т лимфоцитите кои не се сретнале со противгенот - (кои се наречени **неискусни**, или наивни) - се мали, подвижни, нефагоцитирачки клетки кои морфолошки не можат да се разликуваат едни од други. При нивната неактивна состојба, тие остануваат во $Г_0$ фазата од клеточниот циклус. Овие клетки, кои се познати како мали лимфоцити, имаат дијаметар од само околу 6 μм. Нивната цитоплазма создава едвај забележлив обрач околу јадрото. Малите лимфоцити имаат густо збиен хроматин, малку митохондрии, слабо развиен цитоплазмен ретикулум и Голџиев апарат. За неискусните лимфоцити постои општо верување дека имаат краток животен век. Под соодветни услови, меѓудејствата на неискусните лимфоцити со противгенот поттикнува овие противгени да напредуваат низ клеточниот циклус од $Г_0$ во $Г_1$ и понатаму во С, $Г_2$ и М (слика 2-6а). Како што продолува циклусот на клетката, лимфоцитите се зголемуваат до клетки со дијаметар од 15 μм наречени **лимфобласти**. Овие клетки имаат повисок однос на цитоплазма кон јадро и поголема густина на органели од малите лимфоцити (слика 2-6б).

Лимфобластите се размножуваат и евентуално се диференцираат во **ефекторни клетки** или во **памтечки клетки**. Ефекторните клетки функционираат на различни начини за да го отстранат противгенот. Овие клетки имаат животен век кој општо се движи од околу неколку денови до неколку недели. **Плазма клетките** - ефекторните клетки од Б клеточно потекло кои лачат противтела - имаат карактеристична цитоплазма која содржи изобилство, концентрирани слоеви од ендоплазмен ретикулум (за да се поддржи високата стапка на синтезата на протеините) и многу Голџиеви торбички (везикули) (види слика 2-6б). Ефекторните клетки од Т клеточно потекло вклучуваат цитокини лачебни Т помагачки клетки (Тпо) и противген активирани зрели клетки, од лозата на Т цитотоксичните лимфоцити (Тцт) познати како ЦТЛ (цитотоксични Т лимфоцити). Дел од потомците од Б и Т лимфобластите се диференцираат во памтечки клетки. Постојаноста на оваа популација клетки е одговорна за доживотниот имунитет против многу патогени. Памтечките клетки изгледаат како мали лимфоцити, но од неискусните клетки може да се разликуваат по присуството или отсуството на одредени молекули врз нивните клеточни мембрани.

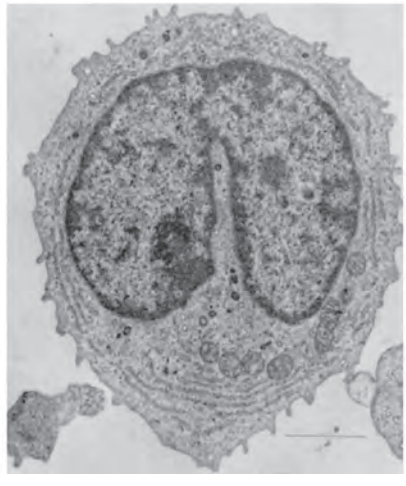
(а)



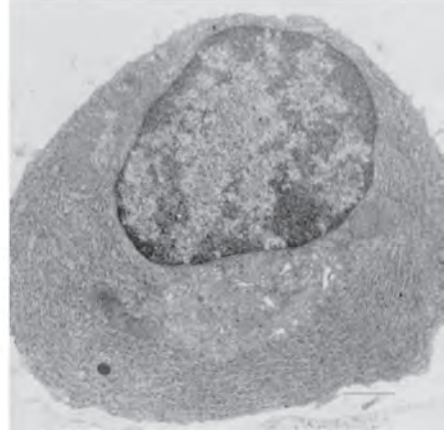
(б)



Мал лимфоцит (Т и Б) со
дијаметар од 6



Бласт клетка (Т и Б) со
дијаметар до 15 Ем



Плазма клетка (Б) со
дијаметар до 15 Ем

СЛИКА 2-6 **Судбина на малите лимфоцити активирани од противген.** (а) Мали мирувачки лимфоцити (неискусни или неподговени) опстојуваат во Г0 фазата од клеточниот циклус. Во оваа фаза, Б и Т лимфоцитите не можат морофолошки да се разликуваат. По активирањето со противгенот, Б или Т клетката влегува во клеточен циклус и се зголемува во лимфобласт, кој неколку пати претрпува клеточно делење и, евентуално, создава ефекторни и памтечки клетки. Овде се прикажани клетки од Б клеточно потекло. (б) Електронската микрографија на малите лимфоцити *(лево)* покажува кондензиран хроматин кој укажува на клетка во мирување, зголемениот лимфобласт *(средина)* покажува декондензиран хроматин и плазма клетката *(десно)* покажува големо количество ендоплазмен ретикулум распореден во концентрични кругови и забележливо јадро кое е притиснато до карактеристично екцентрична позиција. Трите клетки се прикажани во различни зголемувања.
[Микрографска сопственост на Dr. J. R. Goodman, Dept. of Pediatrics, University of California at San Francisco]

КЛИНИЧКИ ФОКУС

Стем клетка - клиничка употреба и потенцијал

Пресадувањето на **стем** клетките многу ветува за регенерирање на заболените, оштетените или дефектните ткива. Хематопоетските стем клетки веќе се користат за да се возобнови хематопоетската функција, а нивната употреба во клиниката е опишана понатаму. Сепак, големите напредоци во истражувањето на стем клетките ја покренаа можноста за други видови на стем клетки наскоро да може рутински да се употребуваат за замена на разни клетки и ткива. Две карактеристики на стем клетките ја нагласуваат нивната корисност и ветување. Тие ја имаат способноста за создавање лози од диференциски клетки и се самообновливи - секое делење на клетките создава најмалку една стем клетка. Ако стем клетките се класифицираат според нивните потомски и развоен потенцијал, може да се забележат четири нивоа на стем клетки: целоснопотентни (тотипотентни), многупотентни (многупотентни), повеќепотентни (мултипотентни) и еднопотентни (унипотентни).

Целоснопотентните клетки можат да создадат цел организам. Оплодената јајце, зиготата, е целоснопотентна клетка. Кај луѓето, почетното делење зиготата и неговите потомци создаваат клетки кои се исто така целоснопотентни. Всушност, се добиваат идентични близнаци кога целоснопотентната клетка се дели и се развива во генетски идентични фетуси. *Многупотентните клетки* произлегуваат од целоснопотентните клетки и можат да ги создадат повеќето, но не сите, видови клетки потребни за развојот на фетусот. На пример, хуманите многупотентни клетки можат да ги создадат сите клетки во телото, но не можат да создадат плацента. Понатамошното диференцирање многупотентните стем клетки води кон создавање повеќепотентни и еднопотентни стем клетки. *Повеќепотентните клетки* можат да создадат само ограничен број видови клетки, а *еднопотентните клетки* можат да го создадат само истиот вид на клетки на кои тие припаѓаат. Многупотентните клетки, наречени *ембриони стем клетки*, или просто *ЕС клетки*, може да се изолираат од раниот ембрион и веќе неколку години е можно да пораснат ЕС клетки од глушец како клеточна линија во лабораторија. Неверојатно е тоа што, овие клетки можат да се поттикнат да создаваат многу различни видови клетки. Се покажа дека ЕС клетките од глушецот создаваат мускулни клетки, нервни клетки, клетки од црниот дроб, панкреасни клетки и хематопоетски клетки.

Неодманешните напредоци овозможија растење на редици хумани многупотентни клетки. Ова претставува развој од големо значење за разбирањето на хуманиот развој кој заедно со специфичните развојни патеки овозможија детален преглед на тоа како клетките се делат во специјализирани видови клетки. Во еден дел ова истражување е овозможено од големиот потенцијал за употреба на многупотентни стем клетки да создадат клетки и ткива кои можат да го земенат оштетеното или повредениот ткиво. Успехот при овој напор би бил голем напредок бидејќи пресадувачката медицина сега целосно зависи од даруваните органи и ткива, сепак потребата многу повеќе го надминува бројот на дарувања, а потребата се зголемува. Успехот во добивање клетки, ткива и органи од многупотентните стем клетки може да овозможи замена на кожа кај изгорените пациенти, клетки од срцевиот мускул кај пациенти со хронична срцева болест, изолирани панкреасни клетки за пациенти со дијабет и неврони за лекување на Паркинсовата или Алцхајмеровата болест.

Пресадувањето на хеатопоетските стем клетки (ХСК) претставува значајна терапија за пациентите чии хематопоетски системи мора да се заменат. Има три главни примени:

- Обезбедување функционален имун систем за лица со генетски одреден имунонедостаток, како што е тешкиот комбиниран имунонедостаток (ТКИН) (СЦИД).
- Заменување на дефективниот хематопоетски систем со функционален за лекување пациенти со немалигни генетски нарушувања кои се опасни по живот во хематопоезата, како што е српестата анемија (сицкле-целл) или таласемијата.
- Возобновување на хематопоетскиот систем на пациентите со рак по лекувањето со дози од хемотерапевтски лекови и зрачење толку високи што го уништуваат системот. Овие високодозни режими може да бидат доста поефективни при убивањето на туморни клетки отколку терапии кои користат поконвенционални дози цитотоксични агенси. Пресадувањето на стем клетки овозможува заздравување од такво драстично лекување. Исто така, одредени ракови, како што се одредени случаи на акутна миелоидна леукемија, може да бидат излечени само со уништување на изворот од леукемичните клетки, сопствениот хематопоетски систем на пациентот.

Хематопоетските стем клетки имаат извонредни моќи за регенерација. Експериментите кај глувци укажуваат дека толку малку клетки како една ХСЦ може да ја повратат еритроидната популација и имуниот систем. Кај луѓето, 10% од целиот меѓупростор на коскена срцевина од дарителот овозможуваат доволно ХСК за целосно враќање на хематопоетскиот систем на примателот. Штом се внесат во вената, ХСК влегуваат во циркулацијата и си го наоѓаат патот до коскената срцевина, каде започнуваат со процес на пресадување. Нема потреба хирургот директно да ги внесе клетките во коските. Според тоа, ХСК може да се зачуваат со замрзнување. Ова значи дека хематопоетските клетки може да се чуваат. По собирањето, клетките се третираат со криоконзерванси, се замрзнуваат и се чуваат за идна употреба. Кога е потребно, замрзнатиот препарат се одмрзнува и се внесува во пациент, каде го возобновува хематопоетскиот систем. Технологијата за замрзнување клетки им овозможува на лицата да ги зачуваат своите хематопоетски клетки за идно сопствено пресадување. Во моментов, оваа постапка се користи за да им овозможи на пациентите со рак да донираат клетки пред да им се изврши хемотерапија и третмани со зрачење, со тоа што подоцна ги користи нивните сопствени клетки за возобновување на нивниот хематопоетски систем. Хематопоетските стем клетки се сретнуваат во клеточната популација која прикажува различни површински противгени. Како што објаснивме во текстот, еден од овие противгени е КД34, кој е присутен само во мал процент (~1%) од клетките во коскената срцевина кај возрасно лице. Противтелото кое е специфично за КД34 се користи за селектирање клетки кои го прикажуваат

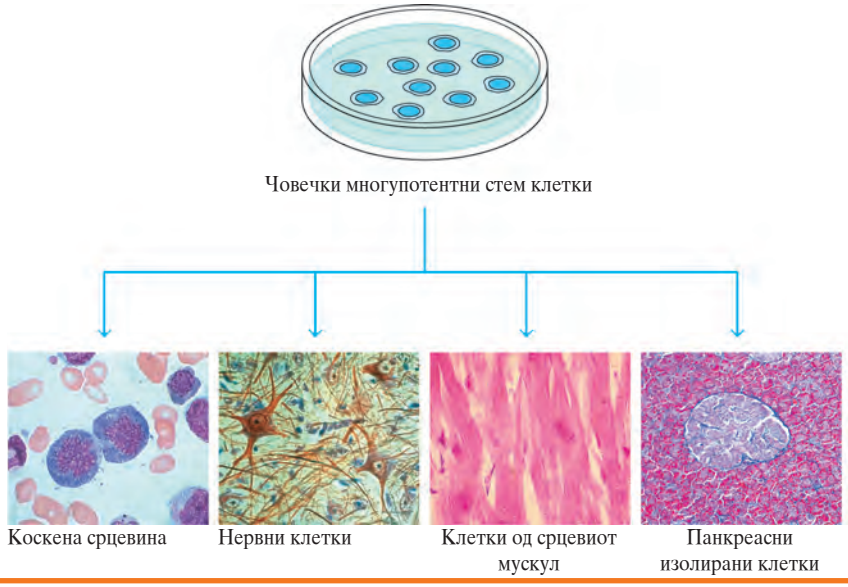
овој противген, создавајќи популација збогатена со КД34+ стем клетки. Одредени верзии од оваа постапка за збогатување се користат за збогатување популации на стем клетки од различни извори.

Пресадувањето на популациите од стем клетки може да биде **автологно** (примателот е исто така и дарител), сингенично (дарителот е генетски идентичен, т.е. идентичен близнак на примателот) или **алогенично** (примателот и дарителот да не се генетски идентични). При која било пресадувачка постапка, генетските разлики меѓу примателот и дарителот може да доведат до реакции на имуно-базирано отфрлање. Покрај отфрлањето на пресадувачкото ткиво од страна на домаќинот (домаќин наспроти пресадок), лимфоцитите пренесени во примателот преку пресадокот може да ги нападнат ткивата на примателот, при тоа предизвикувајќи болест **пресадок-против-домаќин (БКПД) (ГВХД)**, болест опасна за животот. Со цел да се супресираат реакциите на отфрлање, мора да се користат моќни имуносупресивни лекови. За жал, овие лекови имаат сериозни несакани ефекти и имуносупресијата го зголемува ризикот кај пациентот за инфекција и осетливост за тумори. Според тоа, пресадувањето на ХСК има најмалку компликации кога има генетска идентичност помеѓу дарителот и примателот.

Одамна, пресадувањето на коскената срцевина беше единствениот начин за возобновување на хематопоетскиот систем. Сепак, неопходниот елемент при пресадувањето на коскената срцевина навистина е пресадување на стем клетките. За среќа, од другите ткива може да се добие значителен број на стем клетки, како што е периферната крв и крвта од папочната врвка. Овие алтернативни извори за ХСК се привлечни бидејќи дарителот нема претрпено анестезија или високо инвазивна постапка преку која се собира коскената срцевина. Многу лица во трансплантациската заедница веруваат дека периферната крв ќе ја замени коскената срцевина како главен извор за хематопоетски стем клетки за многу употреби. За да се добијат препарати збогатени со ХСК од периферната крв, се користат агенси за поттикнување на зголемен број циркулирачки ХСК и тогаш делот кој содржи ХСК се дели од пламзата и црвените крвни зрнца при процес наречен леукофереза. Ако е потребно, може да се изврши натамошно прочистување за отстранување на Т клетките и збогатување на КД34+ популацијата.

Крвта од папочната врвка содржи значаен број од хематопоетски стем клетки. Покрај тоа, таа е земена од плацентно ткиво (ѝпо раѓањеû), кое обично се фрла. Според тоа, крвта од папочната врвка стана привлечен извор на клетки за пресадување на ХСК. Иако ХСК од крвта од папочната врвка не успеа да се вклопи нешто почесто како клетките од коскената срцевина, пресадоците од крвните клетки од папочната врвка поретко создаваат БКПД (ГВХД) отколку пресадоците од коскената срцевина, веројатно бидејќи крвта од папочната врвка има помалку зрели Т клетки.

Покрај нејзината моментална употреба во лекувањето рак, многу истражувачи чувствуваат дека автологното пресадување стем клетки ќе биде корисно при генското лекување, воведувањето на нормален ген за корегирање на нарушувањето предизвикано од дефектниот ген. Брзите напредоци во генетскиот инженеринг може брзо **генската терпија** да ја направаат реално лекување за генетски нарушувања на крвните клетки, а хематопоетските стем клетки се привлечни носители за ваквиот пристап. Терапијата ќе наметне отстранување примерок од хематопоетски стем клетки од пациентот, внесување на функционален ген за да се замени дефективниот и повторно да се внесат модифицираните стем клетки во дарителот. Предноста за употребата на стем клетки во генската терапија е тоа што тие се самообновливи. Според тоа, барем теоретски, пациентите ќе треба да примаат само едно внесување на модифицирани стем клетки. Наспроти тоа, генската терапија со модифицирани зрели лимфоцити или други крвни клетки ќе наложи потреба од периодични внесувања бидејќи клетките не се способни за самообновување.



Човечките многупотентни стем клетки можат да се диференцираат во голем број различни видови клетки, при што дел од нив се прикажани овде. *Science Source/Photo Researchers; AFIP/Science Source/Photo Researchers; Astrid & Hanns-FriederMichler/Science PhotoLibrary/Photo Researchers.*]

ТАБЕЛА 2-5 Вообичаени КД обележувачи кои се користат за разликување функционални лимфоцитни суппопулации

			Т клетка		
КД именување*	**Функција**	**Б клетка**	**Тпо**	**Тцт**	**КПУ клетка**
КД2	Атхезиски молекул, пренесување сигнал	–	+	+	+
КД3	Сигнален преносен елемент на Т клеточниот рецептор	–	+	+	–
КД4	Атхезиски молекул која се врзува за класа 2 ГТК молекули, пренесување сигнал	–	+ (обично)	– (обично)	+
КД5	Непозната (подгрупа)	–	–	+	+
КД8	Атхезиски молекул која се врзува за класа 1 ГТК молекули, пренесување сигнал	–	– (обично)	+ (обично)	+ (варијабилно)
КД16 (Фцγ РИИИ)	Рецептор со мал афинитет за Фц областа на ИгГ	–	–	–	–
КД21 (ЦР2)	Рецептор за комплементот (Ц3д) и вирусот Епштајн-Бар	+	–	–	–
КД28	Рецептор за костимулаторниот молекул Б7 кај клетките кои претставуваат противген	–	+	+	–
КД32 (ФцγРИИ)	Рецептор за Фц областа на ИгГ		–	–	–
КД35 (ЦР1)	Рецептор за комплементот (Ц3б)	+	–	–	–
КД40	Сигнално пренесување	+	–	–	–
КД45	Сигнално пренесување	+	+	+	+
КД56	Атхезиски молекул	–	–	–	+

* Синонимите се дадени во загради.

Кај лимфоцитите, различните лози и фази на зреење, може да се разликуваат по нивното прикажување на мембрански молекули препознаени од одредени моноклонски противтела (противтела кои се специфични за еден епитоп на противтелата, види Поглавје 4 за опис на моноклонските противтела). Сите моноклонски противтела кои реагираат со одреден мембрански молекул се групирани заедно како **кластер на диференцирање (КД)**. Секое ново моноклонско противтело кое препознава леукоцитен мембрански молекул се анализира за да се утврди дали спаѓа во познато КД именување. Ако не спаѓа, нему му се дава ново КД назначување што го одразува новиот мембрански молекул. Иако КД номенклатурата првично беше развиена за мембранските молекули од човечките бели клетки, хомологните мембрански молекули од други видови, како што се глувците, често се именувани со истите КД имиња. Табела 2-5 прикажува одредени вообичаени КД молекули (често именувани како КД обележувачи) кои се сретнуваат кај човечките лимфоцити. Сепак, ова е само делумно прикажување од приближно 250 КД обележувачи кои се опишани. Целиот список и опис на познати КД обележувачи се наоѓа во Додаток 1.

Општите карактеристики и функции на Б и Т лимфоцитите накусо се разгледани во следните делови. Овие главни клетки на имуниот систем се подетално разгледани во подоцнежните поглавја.

Б лимфоцити (Б клетки)

Б лимфоцитот, исто така познат како Б клетка, ја добил буквата од неговото место на зреење, во *Б*урзата кај птиците (***B***ursa of Fabricius). Се испостави дека името е соодветно, бидејќи коскената срцевина (***B***one marow) е нејзината главна област за зреење кај одреден број на цицачи, вклучувајќи ги луѓето и глувците. Зрелите Б клетки јасно се разликуваат од другите лимфоцити и сите други клетки по нивната синтеза и прикажување имуноглобулински молекули (противтела) врз мембраната, кои служат како противгени рецептори. Секоја од приближно 1,5 x 10^5 молекули на противтелата врз мембраната од една Б клетка има идентично противген врзувачко место. Кога неискусна Б клетка (онаа која пред тоа се нема сретнато со противген) за прв пат ќе се сретне со противген кој одговара на противтелото врзано за мемебраната, врзувањето на противгенот за противтелото предизвикува клетката нагло да се дели, нејзините наследници се диференцираат на **ефекторни клетки** наречени **плазма клетки** и на **памтечки Б клетки**. Памтечките Б клетки имаат подолг животен век од неискусните клетки и тие го лачат истото противтело врзано за мембрана како нивната Б клетка родител. Плазма клетките, од друга страна, создаваат противтело во форма која може да се лачи и имаат малку или немаат противтело врзано за мемебрана. Плазма клетките се клетки во крајна фаза и не се делат. Иако одредени долгоживотни потпопулации може да се сретнат во коскената срцевина, многу од нив умираат во период од 1 до 2 недели. Тие се високо специјализирани за лачење противтело, а проценето е дека една клетка е способна за лачење од неколку стотици до повеќе од илјада молекули противтела во секунда.

Т лимфоцити (Т клетки)

Т лимфоцитите, нивната буква ја добиле од местото на зреење во тимусот. При нејзиното зреење во тимусот, Т клет-

ката врз нејзината мембрана прикажува уникатен противген врзувачки молекул наречен **Т клеточен рецептор.** За разлика од мембрански врзаните противтелата од Б клетките, кои сами можат да препознаат противген, Т клеточните рецептори препознаваат само противген кој е врзан за мембрански протеини од клетката наречени **молекули од главен ткивносовпадлив комплекс (ГТК)**. ГТК молекулите кои функционираат во препознавањето, наречено *прикажување противген*, се генетски различни (полиморфни) гликопротеини најдени врз мембраните од клетката (види Поглавје 8). Постојат два главни вида на ГТК молекули: класа 1 ГТК молекули, прикажани врз скоро сите јадрени клетки од 'рбетниците и класа 2 ГТК молекули, кои се прикажани само врз одредени видови клетки кои се специјализирани за прикажување противтела. Кога Т клетката препознава противген комбиниран со ГТК молекул во клетката, под соодветни околности Т клетката се разножува и се диференцира во различни ефекторни Т клетки и памтечки Т клетки.

Постојат два добро дефинирани потпопулации од Т клетките: **Т помагачки (Тпо)** и **Т цитотоксични (Тцт) клетки** и од неодмана се карактеризираше трета потпопулација на Т клетките, **Т регулаторни (Трег) клетки**. Т помагачките и Т цитотоксичните клетки може да се разликуваат едни од други според присуството на КД4 или КД8 мембранските гликопротеини врз нивните површини. Т клетките кои прикажуваат КД4 обично функционираат како Тпо клетки, додека оние клетки кои прикажуваат КД8 обично функционираат како Тцт клетки. Според тоа, односот на Тпо и Тцт во примерок може да се пресмета на приближна вредност преку анализирање на бројот на $КД4^+$ и $КД8^+$ Т клетки. Овој однос е приближно 2:1 во нормална човечка периферна крв, но може значајно да се измени од имунонедостаточните болести, автоимуните болести и други нарушувања. По активирањето преку меѓудејство со соодветните противген ГТК соединенија, Тпо клетките се диференцираат во ефекторни клетки кои го овозможуваат или го „помагаат" активирањето на Б клетките, Тцт клетките, макрофагите и многу други клетки кои учествуваат во имуниот одговор. Како алтернатива, одредени Тпо клетки се диференцираат во памтечки клетки наместо во ефекторни клетки.

Препознавањето на противген - ГТК комплексот од страна на Тцт клетките го поттикнува нивното размножување и диференцирање во ефекторна клетка наречена цитоксичен Т лимфоцит (ЦТЛ) (CTL) или на памтечка клетка. ЦТЛ има витална функција при надгледувањето на клетките од телото и отстранувањето на оние кои прикажуваат туѓ противген споен со класата 1 ГТК, како што се вирусно заразените клетки, туморните клетки и клетки од ткиво на надворешен пресадок.

Т регулаторните клетки се идентифицраат со присуството и на КД4 и на КД25 врз нивните мемебрани. Сепак, за разлика од КД4 Т помагачките клетки, Трег клетките ги супресираат имуните реакции - тие се негативни регулатори во имуниот систем. Како Тпо и Тцт клетки, членовите на Трег суппопулација на Т клетки може да бидат прогенитори на памтечки клетки.

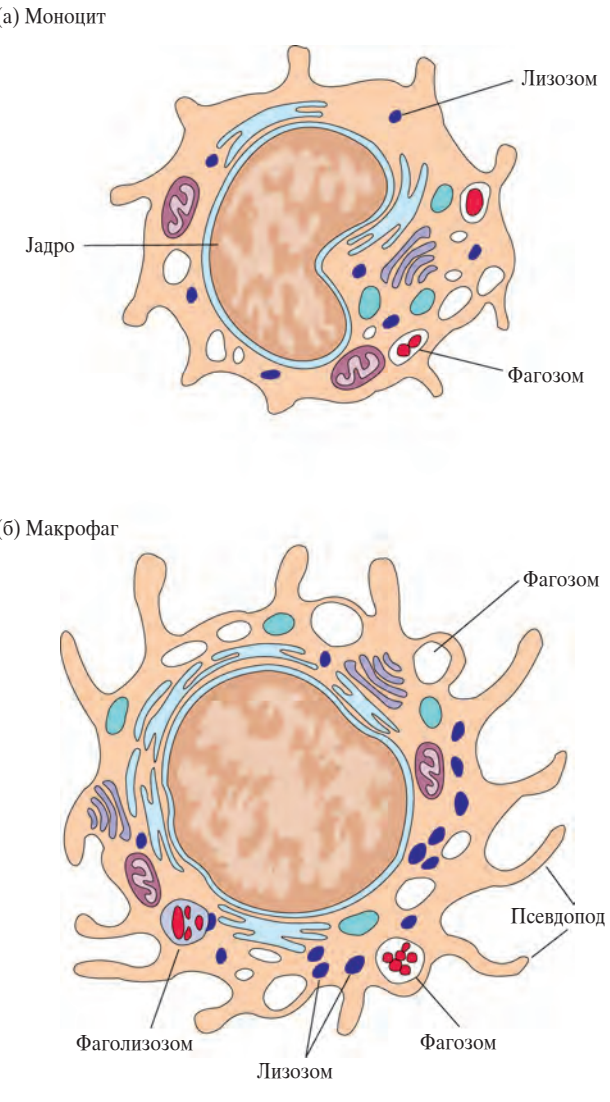
Б и Т клеточните популации ги сочинуваат потпопулациите на клоновите

Сите противгени рецептори од дадена Б и Т клетка имаат идентични структури и затоа имаат идентични особености за противгенот. Ако даден лимфоцит се дели за да формира две ќерки-клетки, двете ќерки носат противгени рецептори со противгени особености кои се идентични еден на друг и на родителската клетка од која тие произлегле, а тоа ќе го направат сите потомци кои тие ги создаваат. Резултантната популација од лимфоцитите, при што сите произлегуваат од ист основачки лимфоцити, е **клон.** Во кој било даден момент, човекот или глушецот ќе содржи десетици илјадници, можеби стотици илјади, различни Т и Б клеточни клонови, при што секој клон се разликува по неговиот различен и идентичен сродник на противгени рецептори. Контактот со противген ги поттикнува овие клетки да се размножуваат и диференцираат. Продуктите од овој процес ги вклучуваат и ефекторните и памтечките клетки. Ефекторните клетки извршуваат специфични функции додека памтечките клетки *опстојуваат* во домаќинот и при повторен контакт со истиот противген поттикнуваат одговор кој е и побрз и поголем по големина. Првиот контакт е наречен првичен одговор а ресретнувањето вторичен одговор.

Клетки природни убијци

Телото содржи мала популација од големи, зрнести лимфоцити наречени клетки природни убијци (КПУ) кои прикажуваат цитотоксична активност против широк опсег на туморни клетки и против клетки заразени со дел, но не сите вируси. Извонредна карактеристика на овие клетки, кои сочинуваат 5% до 10% од лимфоцитите во човечката периферна крв, е нивната способност да препознаваат туморно или вирусно заразени клетки и покрај недостатокот на противген специфичните рецептори. Клетки природни убијци се дел од вродениот имун систем и поголемиот дел од нив немаат Т клеточни рецептори или имуноглобулини вклучени во плазма мембраните. Со други зборови, тие не прикажуваат мембрански молекули и рецептори кои ги разликуваат Т и Б клеточните лози. КПУ ги препознаваат целните клетки на два различни начина. При одредени случаи, КПУ користат клеточни рецептори (клеточни имуноглобулиновидни рецептори = КИР) за да ги разликуваат абнормалностите, како што се намалено прикажување на класата 1 ГТК молекулите или необичниот изглед на површинските противгени прикажани од страна на одредени туморни клетки и клетки заразени од одредени вируси. Дополнително, одредени туморни клетки и клетки заразени од одредени вируси прикажуваат противгени против кои имуниот систем дал одговор со противтела, така што антитумурските или антивирусните противтела се врзани за нивните површини. Бидејќи КПУ прикажуваат мембрански рецептор (КД16) за специфична област од противтелниот молекул, тие може да се врзат за овие противтела и последователно да ги уништат целните клетки. Ова е пример за процесот наречен **противтелно зависна клеточно посредувана цитоксичност (ПЗКПЦ) (ADCC)**. Точниот механизам за КПУ - цитоксичност, фокусот на голем дел од моменталното експериментално проучување, е понатаму објаснет во Поглавје 14.

Препознавањето од неодамна произглегува од друг вид клетка, **НКТ клетка**, која поседува дел од карактеристиките и на Т клетките и на КПУ. Како и Т клетките, НКТ клетките имаат Т клеточни рецептори (ТКР). За разлика од повеќето Т клетки, ТКР од НКТ клетките стапуваат во интеркација со молекули во вид на ГТК молекулите наречени КД1 наместо класа 1 или класа 2 ГТК молекули. Како и КПУ, тие имаат променливи нивоа на КД16 и други рецептори кои се типични за КПУ и ги убиваат целните клетки. Популацијата на активираните НКТ клетки може нагло да лачи големи количини цитокини кои се потребни за поддршка при создавањето противтела од страна на Б клетките исто како и воспаление, развој и експанзија на цитотоксични Т клетки. Одредувањето на точните улоги кои НКТ клетките ги играат во имунитетот е од голем интерес.



СЛИКА 2-7 Типична морфологија на моноцит (а) и макрофаг (б). Макрофагите се од пет до десет пати поголеми од моноцитите и содржат повеќе органели, посебно лизозоми.

Еднојадрени фагоцити

Еднојадрениот фагоцитен систем се состои од **моноцити** кои циркулираат во крвта и **макрофагите** во ткивата (слика 2-7). При хематопоезата во коскената срцевина, гранулоцитно-моноцитните прогениторски клетки се диференцираат во промоноцити, кои ја напуштаат коскената срцевина и влегуваат во крвта, каде понатаму се диференцираат во зрели моноцити. Моноцитите циркулираат во крвотекот околу 8 часа, при што за ова време се зголемуваат. Тогаш се преселуваат во ткивата и се диференцираат во ткивно специфични макрофаги.

Диференцирањето на моноцитите во ткивните макрофаги вклучува одреден број на промени: клетката се зголемува од пет до десет пати, нејзините внатреклеточни органели се зголемуваат и по бројот и по специфичноста, а тоа бара зголемена фагоцитна способност, создава високи нивоа на хидролитични ензими и почнува да лачи бројни растворливи фактори. Макрогафите се распространети низ телото. Дел од нив престојуваат во одредени ткива, постанувајќи фиксни макрофагите, додека други остануваат подвижни и се наречени слободни или лутачки макрофаги. Слободните макрофаги патуваат со амебоидни движења низ ткивата. Клетките во вид на макрофаги служат за различни функции во различни ткива и се именуваат според нивната локација во ткивото:

- **Тенкоцревни макрофаги** во утробата
- **Алвеоларни макрофаги** во белите дробови
- **Хистиоцити** во сврзните ткива
- **Купферови клетки** во црниот дроб
- **Мезангијални клетки** во бубрезите
- **Микроглијални клетки** во мозокот
- **Остеокласти** во коските

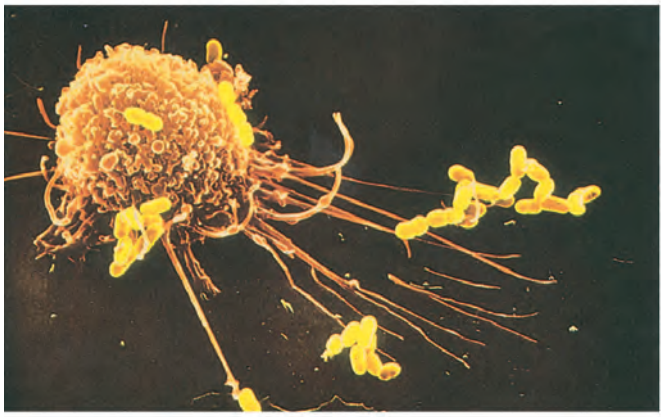
Макрофагите се активираат преку бројни стимули во текот на имуниот одговор. Фагоцитозата на одредени противгени или контактот со рецептори кои откриваат молекули кои се присутни во микробските противгени често служат како почетен активациски стимул. Сепак, макрофагната активноста може понатаму да се зголеми со цитокините излачени од активираните Тпо клетки и со посредници на воспалителниот одговор.

Активираните макрофаги се поефективни од оние макрофаги кои мируваат во потенцијалот за отстранување патогени од неколку причини. Тие извршуваат поголема фагоцитна активност, зголемената способност да убиваат внесени микроби и зголемената способност за активирање Т клетки. Дополнително, активираните макрофаги, а не мирувачките макрофаги, лачат различни цитотоксични протеини кои помагаат да се отстрани широк опсег на цели, вклучувајќи вирусно заразени клетки, туморни клетки и внатреклеточни бактерии. Подетални информации за противмикробските активности на макрофагите ќе бидат дадени во Поглавје 3. Активираните макрофаги исто така прикажуваат високи нивоа на класа 2 ГТК молекули, што им овозможува да функционираат поефективно како противген прикажувачки клетки за Тпо клетки. Според тоа, макрофагите и Тпо клетки си го олеснуваат меѓусебното активирање при имуниот одговор.

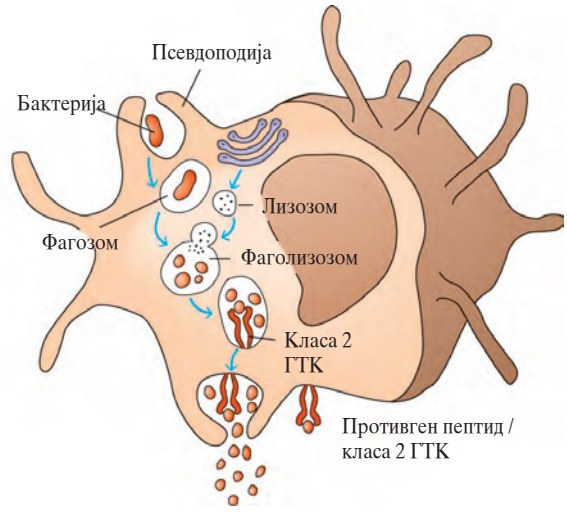
По фагоцитозата следи дигестија и прикажување на противген

Макрофагите се способни за внесување и дигестирање на надворешни противгени, како на пример, цели организми и нерастворливи честички, ендогени материи, како што се повредените или умрени клетки од домаќинот, клеточен дебрис и активирани фактори за сосирување. Фагоцитозата започнува со прилепување на противгенот за макрофагната клеточна мембрана. Комплексните противгени, како што се целите бактериски sидови или вирусните честици, тежнеат добро да се залепат и брзо се фагоцитираат, изолираните протеини и инкапсулираната бактерија тежнеат лошо да се залепат и потешко се фагоцитираат. Прилепувањето вклучува испакнатина на мембраната, наречена **псевдоподија**, да се прошират околу прилепената материја (слика 2-8а). Фузијата на псевдоподијата

(а)



(б)



СЛИКА 2-8 Макрофагите можат да внесат и да деградираат одредени противгени, вклучувајќи и бактерија. (а) Скен електронска микрографија на макрофаг. Забележете ја долгата псевдоподија која се протега кон и обележувајќи го контактот со бактериските ѕидови, ран чекор во фагоцитозата. (б) Фагоцитоза и обработување на надоврешниот противген од страна на макрофагите. Повеќето продукти кои резултираат од дигестирањето и внесувањето материја се егзоцитозирани, но одредени продукти од пептиди може да стапуваат во интеракција со класата 2 ГТК молекули, при што формираат соединенија кои се движат кон површината на клетката, каде им се претставени на Тпо клетки. *[(а) L. Nilsson, Boehringer Ingelheim International GmbH.]*

ја опфаќа материјата со структура која е врзана за мембрана наречена **фагозом**, која потоа влегува во ендоцитната патека за обработување (слика 2-8а). Во оваа патека, фагозомот се дивижи кон внатрешноста на клетката, каде се фузира со **лизозомот** за да создаде **фаголизозом**. Лизозомите содржат бројни хидролитични ензими кои ја дигестираат внесената материја. Тогаш дигестираната содржина на фаголизозомот се отстранува со процес наречен **егзоцитоза** (слика 2-8б).

Макрофагната мембрана има рецептори за одредени класи противтела. Ако противгенот (т.е. бактеријата) е обвиткан со соодветно противтело, комплексот од противгенот и противтелото се врзува за противтелните рецептори врз мембраната од макрофагот полесно отколку самиот противген, а фагоцитозата се зголемува. При едно проучување, на пример, стапката на фагоцитоза на противгенот беше 4000 пати повисока во присуството на специфично противтело за противген отколку во негово отсуство. Оттука, противтелото функционира како **опсонин**, молекул кој се врзува и за противгенот и за фагоцитот, при тоа подобрувајќи ја фагоцитозата. Процесот при кој опсонините ги прават одредените анигени поосетливи за фагоцитозата е наречен **опсонизација**.

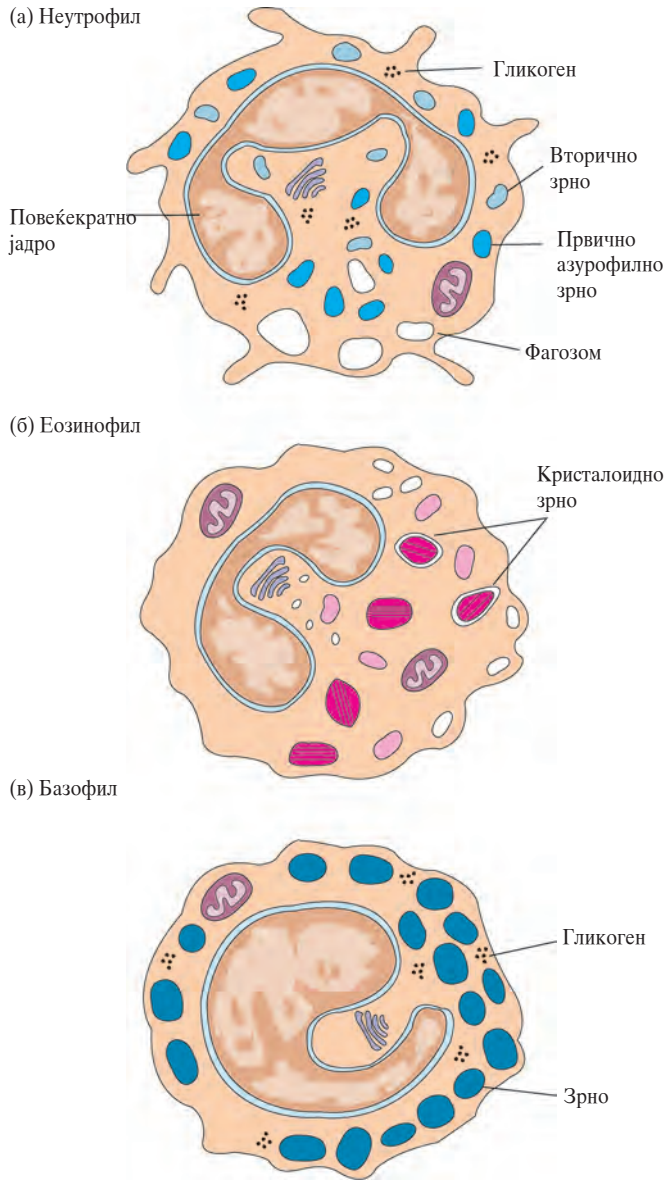
Иако поголемиот дел од противгенот внесен во макрофагите е деградиран и отстранет, експериментите со радиоозначени противгени покажаа присуство на противгени пепетиди врз мембраната од макрофагите. Како што е прикажано на слика (слика 2-8а), фагоцитираниот противген е дигестиран во ендоцитната патека за обработка на пепетидот кој се поврзува со класата 2 ГТК молекули. Потоа, овие пептиди од класата 2 ГТК соединенијата се движат кон мембараната на макрофагите. Оваа обработка и прикажување на противгенот, детално прикажано во Поглавје 8, се критични за активирањето на Тпо клетките, централен настан во развивањето и на хуморалните и на клеточно посредуваните имуни реакции. За крај, како што ќе објасниме во Поглавје 3, активираните макрофаги лачат регулаторни протеини кои се значајни за развојот на имуните реакции.

Гранулоцитни клетки

Гранулоцитите се класифицираат како неутрофили, езинофили или базофили врз база на клеточната морфологија и цитоплазмно-обојувачки карактеристики (слика 2-9). **Неутрофилот** има повеќеделно (мултилобуларно) јадро и зрнеста цитоплазма која се бои и со кисели и со базни бои, често се нарекува полиморфонуклеарен (ПМН) леукоцит поради неговото големо јадро. **Езинофилот** има дводелно (билобуларно) јадро и зрнеста цитоплазма кој се обојува со кисла црвена еозинска боја (оттаму доаѓа и неговото име). **Базинофилот** има заоблено јадро и доста зрнеста цитоплазма која се бои со базна метилен сина боја. И неутрофилите и езинофилите се фагоцитни, додека базофилите не се. Неутрофилите, кои сочинуваат 50% до 70% од белите крвни клетки кои цирукулираат, се многу побројни од еозинофилите (1% - 3%) или базофили (<1%).

Неутрофили

Неутрофилите се создаваат со хематопоеза во коскената срцевина. Тие се ослободуваат во периферната крв и циркулираат од 7 до 10 часа пред да се вселат во ткивата, каде имаат животен век од само неколку денови. Како одговор на многу видови инфекции, коскената срцевина ослободува повеќе од обичниот број неутрофили, а тие се во основа првите кои пристигнуваат во областа на воспалението. Резултантниот



СЛИКА 2-9 **Цртежи што прикажуваат типична морфологија на гранулоцити.** Забележете ги разликите во формата на јадрото и бројот, бојата и формата на цитоплазминте зрна.

повремен пораст во бројот на циркулирачки неутрофили, наречен **леукоцитоза**, медицински се користи како показател за инфекција.

Дижењето на циркулирачките неутрофили во ткивата, наречено **екстравазација**, зазема неколку чекори: прво клетката се лепи за васкуларниот ендотел, потоа навлегува во празнината помеѓу соседните ендотелни клетки кои го обложуваат ѕидот од крвниот сад и конечно минуваат низ васкуларната базална мембрана, излегувајќи во ткивните простори. (Овој процес е целосно опишан во Поглавје 3). Одреден број супстанции кои се создадени при воспалителниот одговор служат како **хемотаксични фактори** кои поттикнуваат насобирање на неутрофили во воспалената област. Меѓу овие хемотаксични фактори се наоѓаат дел од комплементните компоненти, компоненти од крвниот засирувачки систем и дел цитокини кои се лачат од активираните Тпо клетки и макрофаги.

Како и макрофагите, неутрофилите се фагоцити. Фагоцитозата од неутрофилите е слична на онаа која ја опишавме за макрофагите, освен што литичните ензими и бактероцидните супстанции во неутрофилите се содржат во првичните и вторичните зрнца (зрнца) (слика 2-9а). Поголемите, погустите првични зрна се вид лизозом кој содржи пероксидаза, лизозим и различни хидролитични ензими. Помалите вторични зрна содржат колагеназа, лактоферин и лизозим. И првичните и вторичните зрна се соединуваат со фагозомите, чија содржина потоа се дигерира и се отстранува. Неутрофилите создаваат различни анитимикробски соединенија, кои ќе ги разгледаме во Поглавје 5.

Езинофили

Езинофилите, како и неутрофилите се подвижни фагоцитни клетки (слика 2-9б) кои можат да мигрираат од крвта во ткивата. Нивната фагоцитна улога е значително помала од онаа на неутрофилите и се верува дека играат улога во одбраната против паразитските организми со лачење на содржината од еозинофилните зрнца, кои може да ја оштетат паразитската мембрана.

Базофили

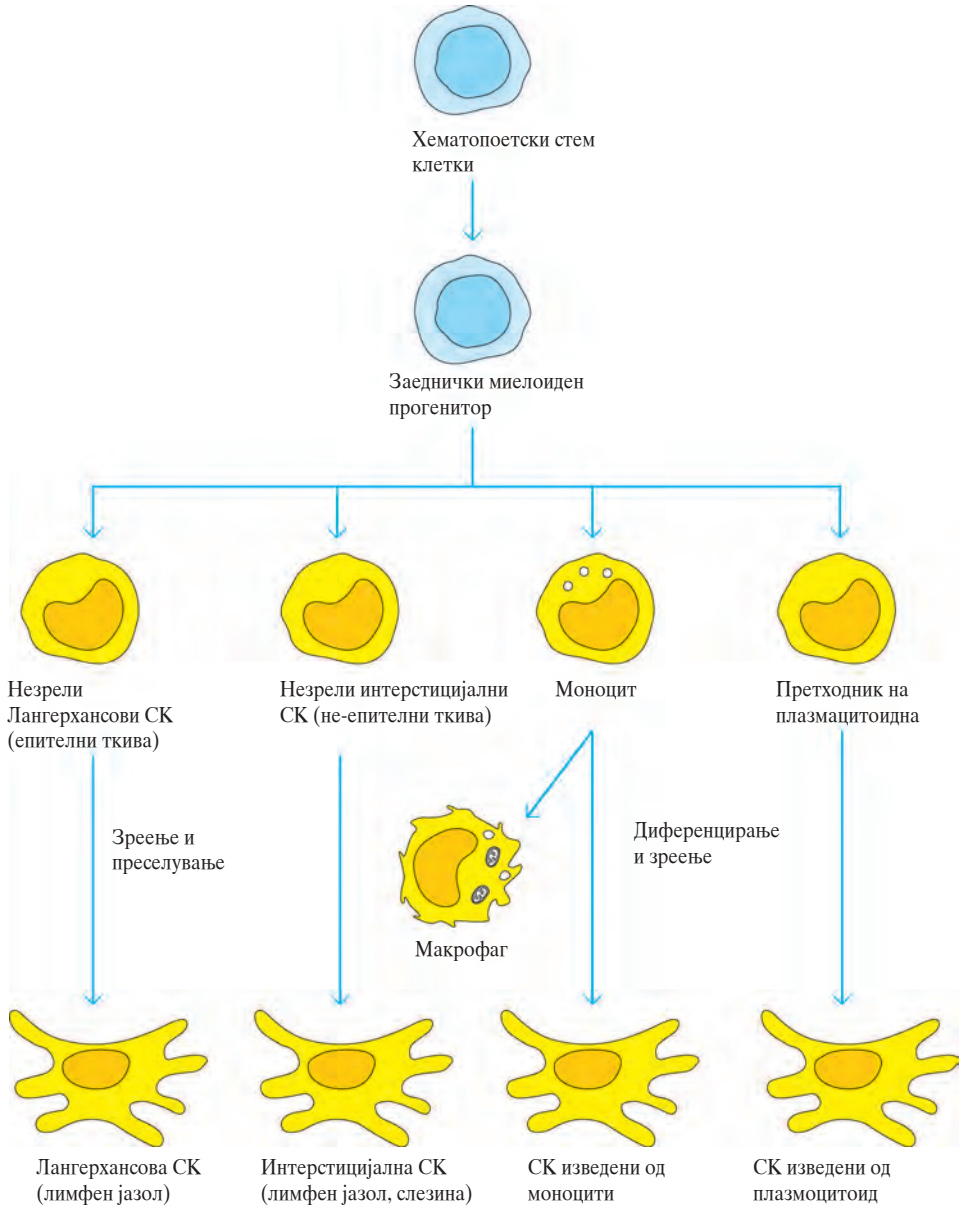
Базофилите се нефагоцитни гранулоцити (слика 2-9в) кои настануваат со хематопоеза и функционираат со ослободување фармаколошки активни супстанции од нивните цитоплазмини зрнца. Овие супстанции играат главна улога во одредени реакции на алергии.

Мастоцити

Претходниците на мастоцитите, кои се создаваат во коскената срцевина со хематопоеза, се ослободуваат во крвта како недиференцирани клетки, не се диференцираат додека не ја напуштат крвта и не навлезат во ткивата. Мастоцитите може да се најдат во многу ткива, вклучувајќи ја кожата, сврзните ткива од различни органи и мукозното епително ткиво на респираторниот, генитоуринарниот и дигестивниот тракт. Како и циркулирачките базофили, овие клетки имаат голем број цитоплазмини зрнца кои содржат хистамин и други фармаколошки активни супстанции. Мастоцитите играат значајна улога во развојот на алергиите (види Поглавје 15).

Стеблести клетки

Стеблестите (дендритските) клетки, кои се откриени во 1868 година при детално анатомско проучување на кожата од страна на Пол Лангерханс, се првите клетки од имуниот систем кои се откриени. **Стеблестите клетки (СК)** го добиле ова име бидејќи се покриени со долги мембрански продолжетоци кои се слични на стеблата (дендритите) од нервните клетки. Постојат многу видови стеблести клетки, а утврдени се најмалку четири главни категории: Лангерхансови СК, интерстицијални СК, СК изведени од моноцити и СК изведени од плазмацитоид. Секоја од нив потекнува од хематопоетските стем клетки преку различни патеки и во различни локации (слика 2-10). Лангерхансовите СК се наоѓаат во епидермалните слоеви од кожата, а



СЛИКА 2-10 **Различни видови стеблести клетки и нивното потекло.**

интерстицијалните СК се присутни во интерстицијалните области од скоро сите органи освен мозокот. Како што кажува нивното име, СК изведени од моноцитите произлегуваат од моноцитите кои се преселиле од крвотекот во ткивата. Од ткивата, тие може да се движат низ лимфата до лимфните јазли или повторно назад во крвотекот и да го користат како патека за транспорт до лимфоидното ткиво.

СК кои се изведени од плазмацитоид произлегуваат од плазмацитоидните клетки. Тие имаат улога во одбраната на вродениот систем и како противген прикажувачки клетки. Иако има значајни разлики во функциите и фенотиповите на различни видови СК, сите тие прикажуваат класа 1 и 2 ГТК молекули, а присутна е и Б7 фамилијата на костимулаторни молекули, КД80 и КД86. Стеблестите клетки исто така го имаат КД40, молекулот кој може да влијае врз однесувањето на Т клетките преку меѓудејство со комплементарниот лиганд од Т клетките.

Стеблестите клетки се различни, се јавуваат во многу форми и извршуваат различни функции како заробување на противгенот на едно место и прикажување на противгенот на друго. Надвор од лимфните јазли, незрелите форми од овие клетки го надгледуваат телото за знаци на инфазија од патогени и ги заробуваат напаѓачките или туѓи противгени. Тогаш тие се преселуваат во лимфните јазли, каде им го прикажуваат противгенот на Т клетките. Кога се однесуваат како чувари во периферијата, незрелите стеблести клетки

товарот од противгенот го земаат на три различни начини. Тие го проголтуваат со фагоцитоза, го вметнуваат со рецепторно остварена ендоцитоза или го консумираат преку пиноцитоза. Навистина, незрелите стеблести клетки пиноцитозираат течни количини од 1000 до 1500 μм^3 на час, меѓупростор кој се натпреварува со меѓупросторот од самата клетка. Низ процес на зреење, тие се менуваат од фенотип кој заробува противгени во фенотип кој поддржува прикажување противген на Т клетките. Во овој премин, дел од својствата се губат, а други се добиваат. Загубен е капацитетот на фагоцитозата и пиноцитозата од висок степен. Прикажувањето на класа 2 ГТК се зголемува, која е неопходна за прикажување противген на Тпо клетки, а исто така има пораст на создавање костимулаторни молекули кои се неопходни за активирање на неискусните Т клетки. Во зреењето, стеблестите клетки го напуштаат местото од периферните ткива, навлегуваат во крвта или лимфната циркулација и се преселуваат во области на лимфоидните органи, каде престојуваат во Т клетките и претставуваат противген.

Фоликуларни стеблести клетки

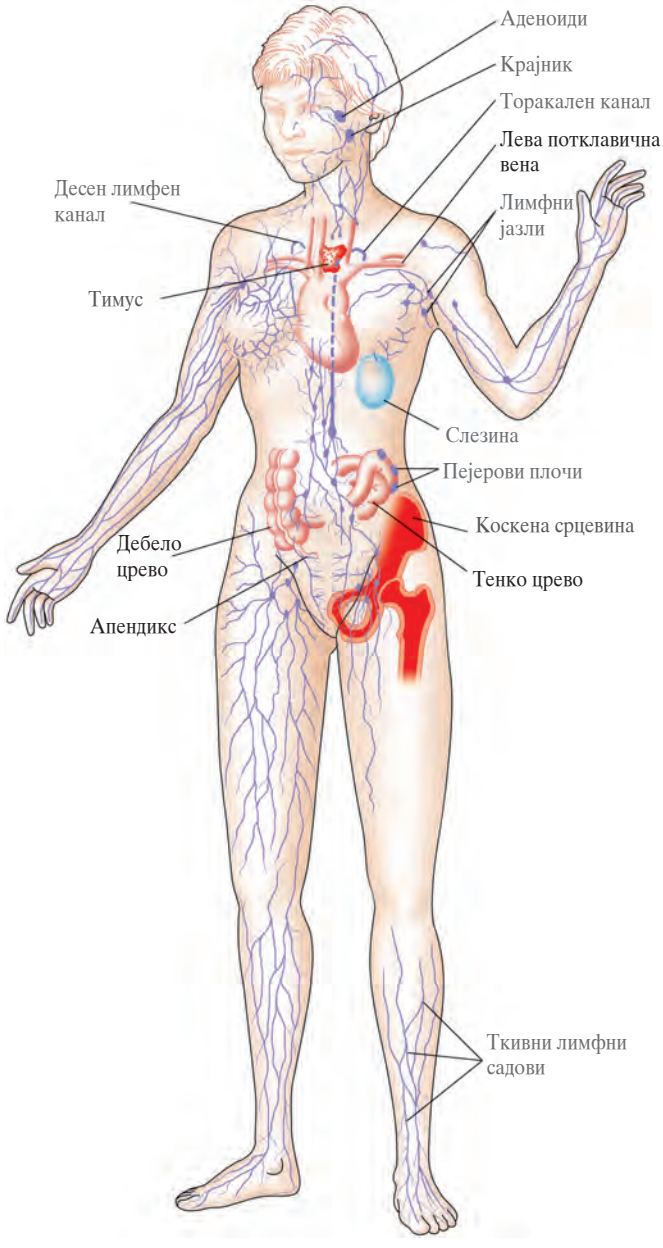
Фоликуларните стеблести клетки не произлегуваат од коскената срцевина и имаат потполно различни функции од оние на стеблестите клетки. Фоликуларните стеблести клетки не лачат класа 2 ГТК молекули и затоа не функционираат како противген прикажувачки клетки за активирањето на Тпо клетка. Овие стеблести клетки се именувани по нивната исклучителна локација во организираните структури од лимфниот јазол наречени лимфни фоликули, кои се богати со Б клетки. Иако тие не лачат класа 2 ГТК молекули, фоликуларните стеблести клетки прикажуваат високи нивоа на мембрански рецептори за противтелото, што овозможува ефикасно врзување на комплексот противген-противтело. Како што е објаснето во Поглавје 11, меѓудејството на Б клетките со фоликуларните стеблести клетки е значаен чекор во зреењето и разновидноста на Б клетките.

Органи во имуниот систем

Одреден број на морфолошки и функционално различни органи и ткива придонесуваат за развојот на имуните реакции (слика 2-11). Овие органи може да се разликуваат по функцијата како **првични и вторични лимфоидни органи**. Тимусот и коскената срцевина се првични (или централни) лимфоидни органи, каде се случува зреењето на лимфоцитите. Вторичните (или периферни) лимфоидни органи ги вклучуваат лимфните јазли, слезината и различни лимфоидни ткива поврзани со мукозата (МАЛТ) како што е лимфоидното ткиво поврзно со утробата (ГАЛТ). Овие органи овозможуваат места за зрелите лимфоцити да стапат во меѓудејство со противгенот. Штом во првичните лимфоидни органи се создадат зрели лимфоцити, тие циркулираат низ крвта и **лимфниот систем**, мрежа од крвни садови која ја собира течноста која избегала од капиларите на крвосадниот систем во ткивата. На крајот, оваа избегана течност се враќа во крвта.

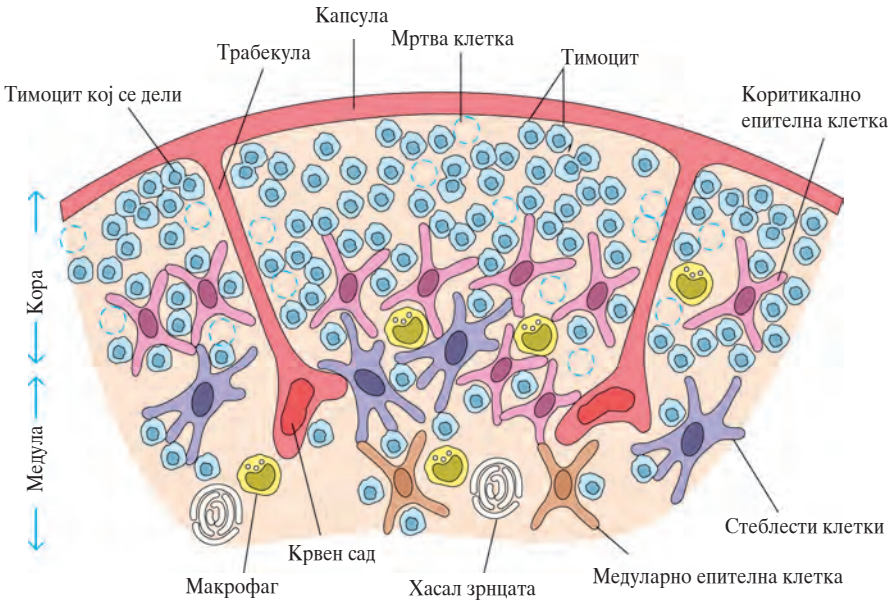
Првични лимфоидни органи

Во првичните лимфоидни органи незрелите лимфоцити создадени во хематопоезата зреат и стануваат способни за определена противгена специфичност. Само по зреењето на лимфоцитите во првичниот лимфоиден орган клетката е



СЛИКА 2-11 **Човечки лимфоиден систем.** Првичните органи (коскената срцевина и тимусот) се прикажани во црвено, вторичните органи и ткивата во сино. Овие структурно и функционално различни лимофоидни органи и ткива се поврзани преку крвните садови (тоа не е прикажано) и лимфните садови (виолетово). Поголемиот дел од телесната лимфа се цеди во торакалниот канал, кој се празни во левата потклавична вена. Маѓутоа, садовите кои ја празнат десната рака и десната страна од главата скршнуваат за да создадат десен лимфен канал, кој се празни во десната потклавична вена (не е прикажано). Коските кои содржат коскена срцевина се дел од лимфоидниот систем. Обично примероци за коскена срцевина се земаат од карлицата (илиац црест) или од градната коска.
[Адаптирано од H. Lodish et al., 1995, Molecular Cell Biology, 3rd ed., Scientific American Books, New York.]

имуноспособна (способна за остварување имун одговор). Т клетките настануваат во коскената срцевина и се развиваат во



СЛИКА 2-12 Шематски напречен приказ на дел од тимусот, прикажан се неколку лобули одделени од поврзувачки ткивни жили (трабекули). Густо населената надворешна кора содржи многу имуни тимоцити (сино), кои претрпуваат нагло размножување во комбинација со огромна стапка на клеточна смрт. Медулата е ретко населена и содржи позрели тимоцити. При нивниот престој во тимусот, тимоцитите стапуваат во интеракција со разни стромални клетки, вклучувајќи ги кортикалните епителни клетки (светло црвено), медуларните епителни клетки (жолто-кафено), стеблести клетки (виолетово) и макрофаги (жолто). Овие клетки создаваат регулаторни фактори и прикажуваат високо ниво на класа 1 и класа 2 ГТК молекули. Хасаловите телца, кои се наоѓаат во медулата, содржат концентрични слоеви од дегенерирани епителни клетки. (референца)
[Адаптирано со дозвола од *W. Van Ewijk, 1991*, Annual Review of Immunology **9**:*591*, *© 1991 by Annual Reviews*]

тимусот. Кај многу цицачи - на пример, луѓето и глувците - Б клетките потекнуваат од **коскената срцевина**.

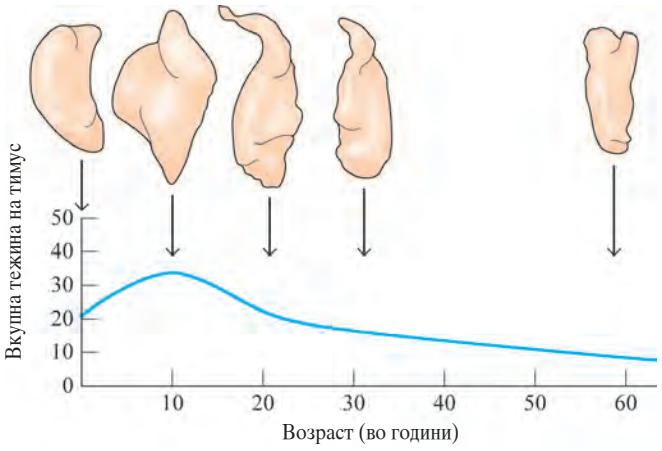
Тимус

Тимусот, место за развој и зреење на Т клетките, е сплескан, дводелен орган поставен над срцето. Секој лобус е опкружен со капсула и поделена на лобули, кои меѓусебно се поделени со жили од сврзно ткиво наречени трабекули (слика 2-12). Секој лобулус е организиран во два оддела: надворешниот оддел, или **кора**, претставува густо збиен оддел со незрели Т клетки, наречени тимоцити, додека внатрешниот оддел, или **медулата**, е ретко населен со тимоцити.

И кората и медулата на тумусот се споени преку тридимензионална стромална мрежа составена од епителни клетки, стеблести клетки и макрофаги, која ја сочинуваат рамката на органот и придонесуваат за развојот и зреењето на тимоцитите. Многу од овие стромални клетки физички стапат во интракција со тимоцитите кои се развиваат. Функцијата на тимусот е да создаде и да одбере група на Т клетки кои ќе го штитат телото од инфекција. Како што се развиваат тимоцитите, со генско преуредување се создава огромно разноликост од Т клеточни рецептори (види Поглавје 9), при што се создаваат некои Т клетки со рецептори способни да препознаат комплекси од противген - ГТК. Меѓутоа, најголемиот број Т клеточни рецептори кои се создаваат со овие случајни процеси се неспособни да препознаат комплекси од противген - ГТК, а мал дел реагира кон комбинација од сопствен противген - ГТК. Со употреба на механизмите, кои се објаснети во Поглавје 10, тимусот поттикнува смрт на оние Т клетки кои не можат да препознаат противген - ГТК комплексите и на оние клетки кои реагираат кон сопствените противген - ГТК комплекси доволно силно што претставува опасност за предизвикување автоимуна болест. Повеќе од 95% од сите тимоцити умират со апоптоза во тимусот без да созреат.

Улогата на тимусот при имунолошката функција, може да се проучува кај глувците преку проучување ефектите од неонаталната тимектомија, постапка при која тимусот е хируршки отстранет од новороденот глушец. Тимектомизираниот глушец покажува значителен пад во циркулирачките лимфоцити од Т клеточната лоза и отсуство на клеточно-посредуван имунитет. Друг доказ за значењето на тимусот доаѓа од проучувањето на вродените дефекти кај луѓето (**синдромот на Ди Џорџ**) и кај одредни глувци (**гол глушец**). И во двата случаи, тимусот не успева да се развие и доаѓа до отсуство на циркулирачки Т клетки и клеточно посредуван имунитет и пораст на воспалителните болести.

Познато е дека со возраста функцијата на тимусот опаѓа. Тимусот својата максимална големина ја достигнува во пубертетот



СЛИКА 2-13 **Промени во тимусот со возраста.** Тимусот ја намалува големината и клеточноста по пубертетот.

а потоа атрофира, со значаен пад и во кортикалните и во медуларните клетки, а пораст на вкупната масната соджина на органот. Додека просечната тежина на тимусот е 30 грама кај новороденчињата, неговата инволуција, која е зависна од стареењето, во постарите години ја намалува неговата тежина до 3 грама (слика 2-13). Возрасно зависниот губиток на масата е придружен со смалување на создавањето Т клетки. До возраст од 35 години, тимичното создавање Т клетки опаѓа за 20% од она кај новороденчето, а до возраст од 65 години, создавањето паѓа на само 2% од стапката кај новороденчињата.

Спроведен е одреден број на експерименти за да се види ефектот на возраста врз имуната функција на тимусот. При еден експеримент, на тимектомизирани возрасни глувци им бил трансплантиран (пресаден) тимус од било едногодишен било од 33-месечен глушец (за многу лабораториски глувци, 33 месеци е многу старо). Глушецот кој го примил пресадениот тимус од новороденче покажал значително зголемено подобрување во имуната функција отколку глушецот кој примил 33-месечен тимус.

Коскена срцевина

Коскената срцевина претставува сложено ткиво кое е област на хематопоезата и склад за масти. Всушност, како што минува времето, мастите потполнуваат 50% или повеќе од коскената срцевина во коската. Хематопоетските клетки кои се создаваат во коскената срцевина се движат низ ѕидовите од крвните садови и навлегуваат во крвотекот, кој ги носи надвор од коскената срцевина и ги распределува овие разни видови клетки до остатокот од телото.

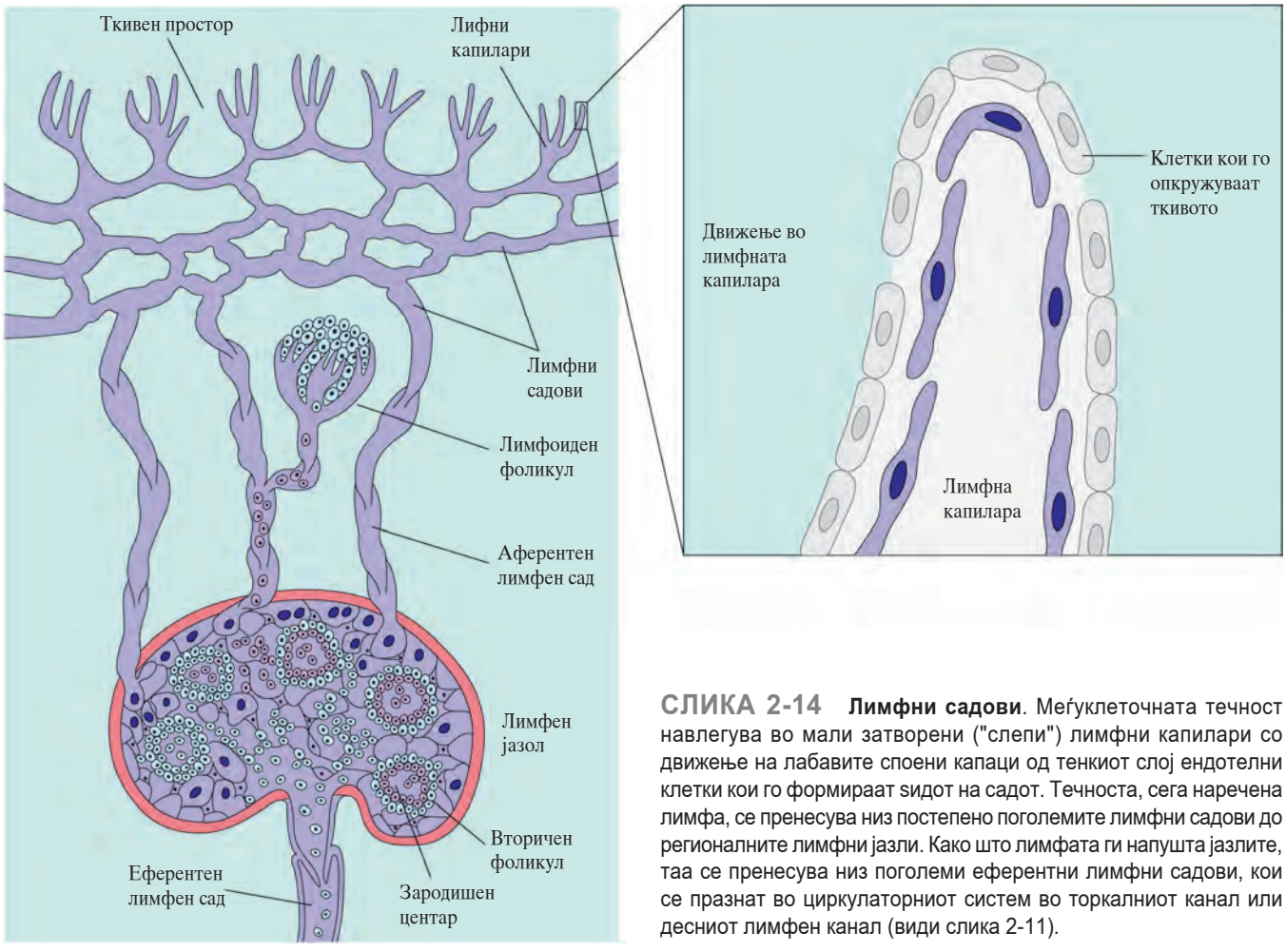
Кај луѓето и глувците, коскената срцевина е место за развој на Б клетките. Незрелите Б клетки, кои произлегуваат од лимфоидните прогенитори, се размножуваат и диференцираат во коскената срцевина, а стромалните клетки од коскената срцевина содејствуваат директно со Б клетките и лачат разни цитокини кои се потребни за развој. Б клетките од коскената срцевина се извор на околу 90% од имуноглобулините IgG и IgA во плазмата. Како и тимусната селекција при зреењето на Т клетките, процесот на селекција во коскената срцевина ги отстранува Б клетките кои поседуваат самореактивни противтелни рецептори (овој процес е објаснет во Поглавје 11). И покрај нејзината клучна улога кај глувците и кај луѓето, коскената срцевина не е место за развој на Б клетките кај сите видови. Кај птиците, лимфоидниот орган поврзан со утробата, кој е наречен бурза на Фабрициус, е првична област за зреење на Б клетките. Кај цицачите како што се приматите и глодарите, нема бурза или соодветен дел кој служи како првичен лимфоиден орган. Кај говедата и овците, зреењето и размножувањето се одвиваат во првичното лимфоидно ткиво, а разноликоста на Б клетките рано во бременоста се одвива во слезината од ембрионот. Подоцна во бременоста, оваа функција се верува дека ја врши плочка, ткиво кое го обвиткува ѕидот на тенкото црево наречено тенкоцревна **Паерова плоча,** која содржи голем број Б и Т клетки. Зајакот, исто така, користи ткива поврзани со утробата, посебно апендиксот, како првично лимфоидно ткиво за значајни чекори во размножувањето и разноликоста на Б клетките.

Лимфен систем

Како што крвта циркулира под притисок, нејзиниот течен дел (**плазмата**) протекува преку тенките ѕидови од капиларите во околното ткиво. Кај возрасните лица, во зависност од големината и активноста, протекувањето може да се покачи на 2,9 литри или повеќе во период од 24 часа. Оваа течност, наречена **меѓуклеточна (интерстицијална) течност**, ги исполнува сите ткива и ги бања сите клетки. Ако оваа течност не се врати во циркулацијата ќе се појави едем, прогресивно отекување, кој со текот на времето ќе стане опасен по живот. Ние не сме засегнати со таков катастрофален едем бидејќи поголемиот дел од течноста се враќа во крвта низ ѕидовите од венулите. Остатокот од меѓуклеточната течност навлегува во деликатна мрежа од канали со тенки ѕидови наречени првични лимфни садови. Ѕидовите од првичните садови се составени од еден слој лабаво поставени ендотелни клетки (слика 2-14). Покрај тоа што капиларите се затворени („слепи“), шупливата архитектура на првичните садови дозволуваат течностите, па дури и клетките да навлезат во лимфната мрежа. Во овие садови, течноста, сега наречена **лимфа**, плови од мрежата на тенки канали во серија растечки садови, наречени **лимфни садови** (слика 2-14).

Најголемиот лимфен сад, **торакалниот канал,** се празни во левата потклавична вена. Ја собира лимфата од секаде низ телото, освен од десната рака и десната страна од главата. Лимфата од овие области се собира во десниот лимфен канал, кој се влива во десната потклавична вена (види слика 2-11). На овој начин, лимфниот систем ја собира загубената течност од крвта и ја враќа во крвта, со што обезбедува стабилни нивоа на течност во циркулаторниот систем. Лимфоцитите, стеблестите клетки, макрофагите и другите клетки исто така можат да навлезат низ тенкиот ѕид од лабаво поврзаните ендотелни клетки во првичните лимфни садови и да се приклучат во течноста од лимфата (види слика 2-14). Срцето не пумпа лимфа низ лимфниот систем. Наместо тоа, бавниот проток на лимфата со низок притисок се постигнува со тоа што лимфните садови се притискаат од движењата на мускулите на телото. Низата од еднонасочни залистоци во лимфните садови има за цел да обезбеди лимфата да тече само во една насока.

Кога туѓ противген ќе навлезе во ткивата, тој е заробен од лимфниот систем (кој ги празни сите ткива од телото) и се



СЛИКА 2-14 **Лимфни садови**. Меѓуклеточната течност навлегува во мали затворени ("слепи") лимфни капилари со движење на лабавите споени капаци од тенкиот слој ендотелни клетки кои го формираат ѕидот на садот. Течноста, сега наречена лимфа, се пренесува низ постепено поголемите лимфни садови до регионалните лимфни јазли. Како што лимфата ги напушта јазлите, таа се пренесува низ поголеми еферентни лимфни садови, кои се празнат во циркулаторниот систем во торкалниот канал или десниот лимфен канал (види слика 2-11).

пренесува до различни организирани лимфоидни ткива како што се лимфните јазли, кој го заробуваат надворешниот противген. Како што лимфата минува од ткивата во лимфните садови, таа постепено се збогатува со лимфоцити. Така што, лимфниот систем исто така служи и како средство за пренесување лимфоцити и противгени од сврзните ткива до организираните лимфоидни ткива, каде лимфоцитите можат да стапуваат во меѓудејство со заробениот противген и да претпат акивирање.

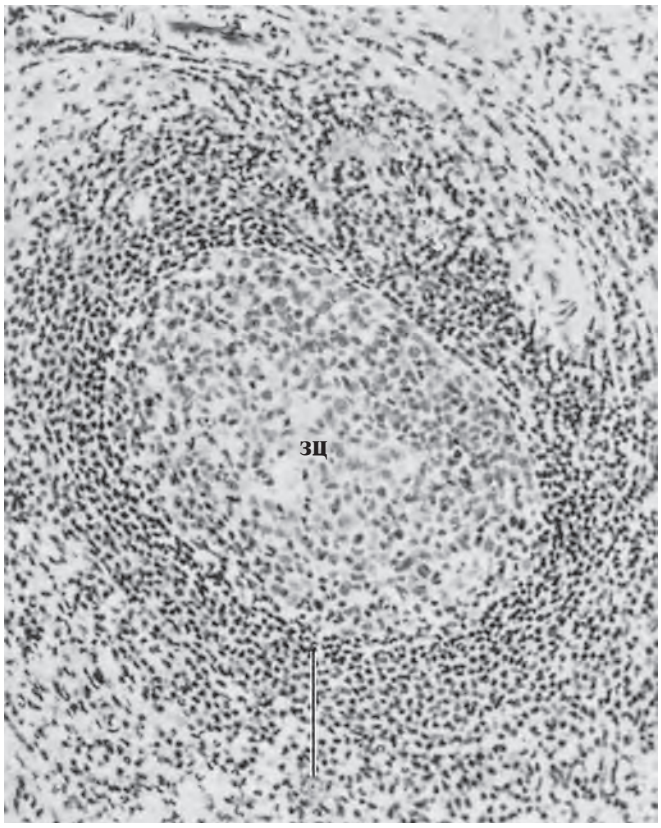
Вторични лимфоидни органи

Разни видови организирани лимфоидни ткива се сместени по должината на садовите од лимфниот систем. Одредено лимфоидно ткиво во белите дробови и ламина проприја од тенкоцревниот ѕид содржат дифузни колекции од лимофоцити и макрофаги. Друго лимфоидно ткиво е организирано на структури наречени лимфоидни фоликули, кое се состои од група лимфоидни и нелимфоидни клетки опкружени со мрежа одводни лимфни капилари. Додека да се активира од противген, лимфоидниот фоликул - наречена **првичен (првичен) фоликул** - се состои од мрежа фоликуларни стеблести клетки и мали мирувачки Б клетки. По навлегувањето противген, првичниот фоликул станува поголем **вторичен (вторичен) фоликул** - прстен од концентрично збиени Б лимфоцити кои опкружуваат центар (**зародишен ((зародишен) центар**) во кој се наоѓа фокусот за размножување на Б лимфоцитите и областа која содржи неделечки Б клетки и некои Т помагачки клетки измешани со макрофагите и фоликуларните стеблести клетки (слика 2-15).

Лимфните јазли и **слезината** се највисоко организирани вторични лимфоидни органи. Покрај лимфоидните фоликули, тие имаат дополнителни различни области од Т и Б клеточна активност, а опкружени се со фиброзна капсула. Помалку организирано лимфоидно ткиво, колективно наречено **мукозно асоцирано лимфоидно ткиво (МАЛТ)**, се сретнува во различни делови од телото. МАЛТ ги вклучува Пејеровите плочи (во тенкото црево), крајниците и апендиксот како и бројни лимфоидните фоликули во ламина проприја од тенкото црево и во мукозната мембарана која е поставена во горните дишни патишта, бронхиите и генитоуринарниот тракт.

Лимфни јазли

Лимфните јазли се места каде имуните реакции се поставени за противгените во лимфата. Тие се затворени структури во форма на грав кои содржат мрежа од збиени лимфоцити, макрофаги и стеблести клетки. Групирани во јазли од лимфните садови, лимфните јазли се првите организирани лимфоидни структури кои ги среќаваат противгените навлезени во ткивните простори. Како што лимфата се пробива низ јазолот, секој противген кој е внесен до лимфата ќе биде заробен од клеточна мрежа на фагоцитни и стеблести клетки. Целосната архитектура



СЛИКА 2-15 Вторичен лимфоиден фоликул кој се состои од големен зародишен центар (зц) опкружен со густа обвивка (м) од мали лимфоцити. *[Од W. Bloom и D. W. Fawcett, 1975, Textbook of Histology, 10th ed, © 1975 by W. B. Saunders Co].*

на лимфниот јазол поддржува идеална микросредина за лимфоцитите да можат ефективно да се сретнат и да одговорат на заробените противгени.

Морфолошки, лимфниот јазол може да се подели на три груби концентрични области: кора, паракора и медула, при што секое од нив поддржува одделна микросредина (слика 2-16а). Најоддалеченият слој, **кората**, содржи лимфоцити (најмногу Б клетки), макрофаги и фоликуларни стеблести клетки наредени во првични фоликули. По нападот на противгенот, првичните фоликули се зголемуваат во вторични фоликули, при што секоја од нив содржи зародишен центар. Кај децата со недостаток на Б клетки, кората нема првични фоликули и зародишни центри. Под кората е **паракората**, која е густо населена со Т клетки а исто така содржи стеблести клетки кои се преселуваат од ткивата во јазолот. Овие стеблести клетки може да прикажуваат високи нивоа на класа 2 ГТК молекули, кои се потребни за прикажување на противгенот на Тпо клетки. **Медулата** е поретко населена со лимфоидни клетки, а од оние што се присутни, многу од нив се плазма клетки кои активно лачат противтелни молекули.

Како што противгенот се пренесува во регионалниот јазол од лимфата, тој е заробен, обработен и прикажан заедно со класата 2 ГТК молекули од страна на стеблестите клетки во паракората, што доведува до активирање на Тпо клетки. Почетното активирање на Б клетките се одвива во паракората која е богата со Т-клетки. Штом се активираат Тпо и Б клетките формираат мали фокуси кои главно се состојат од размножувачки Б клетки на рабовите од паракората. Одредени Б клетки во фокусите се диференцираат во плазма клетки кои лачат противтела. Тие фокуси достигнуваат максимална големина од 4 до 6 дена по предизвикувањето од противгенот. Во период од 4 до 7 дена по предизвикувањето од противгенот, неколку Б и Тпо клетки се преселуваат во првичните фоликули од кората, каде стапуваат во меѓудејство со фоликуларните стеблести клетки, Б клетките и Тпо клетки, што доведуваат до развој на вторична фоликула со централен зародишен центар. Дел од плазма клетките кои се создаваат во зародишниот центар се движат кон медуларните области на лимфниот јазол, а многу се преселуваат во коскената срцевина.

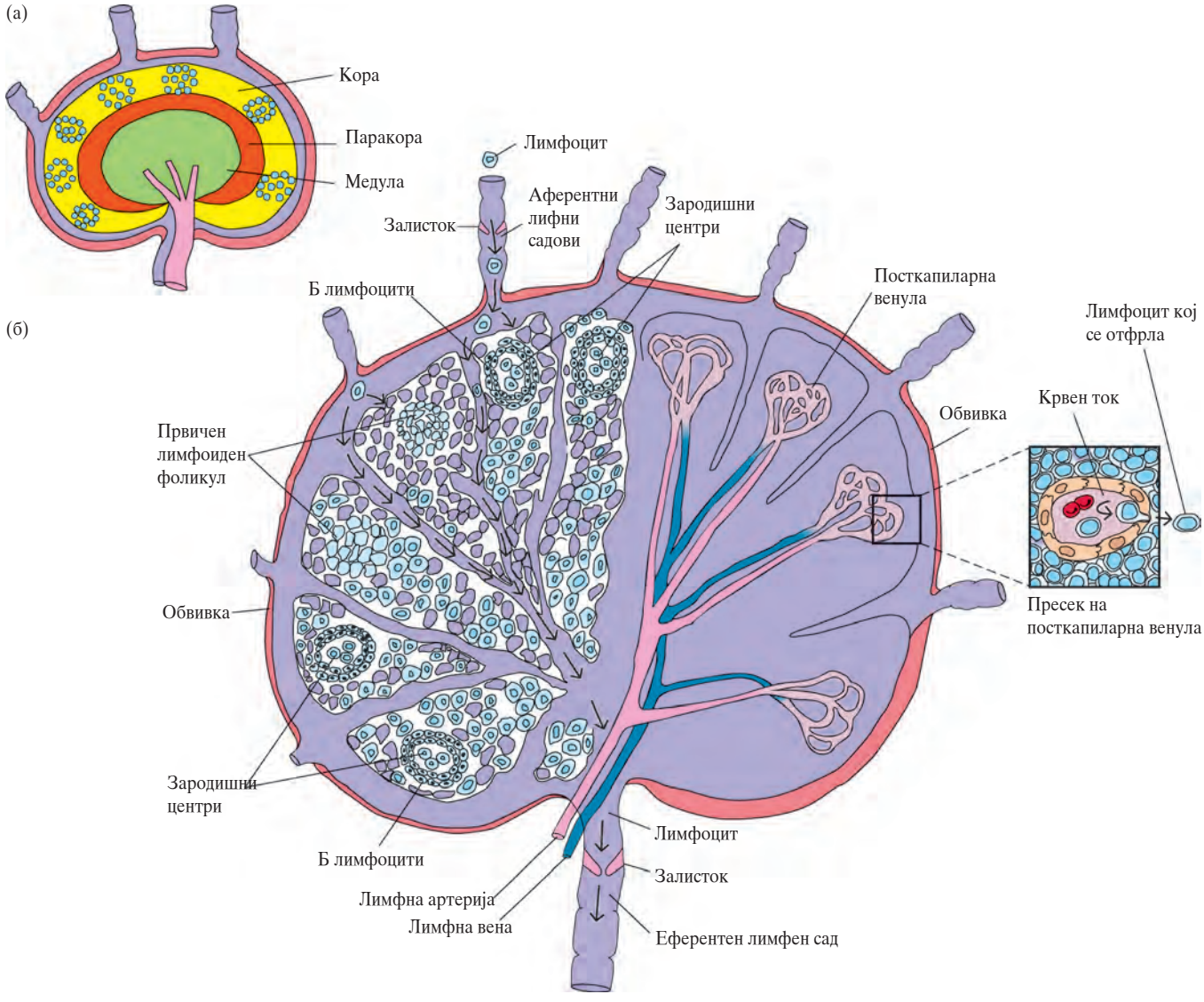
Аферентните (надојдувачки) лимфни садови ја пробиваат обвивката од лимфниот јазол на многу места и ја празнат лимфата во супкапсуларниот синус (слика 2-16б). Лимфата која доаѓа од ткивата споро навлегува внатре низ кората, паракората и медулата, овозможувајќи им на фагоцитните и стеблести клетки да ги заробат сите бактерии или материи кои ги носи лимфата. По инфекцијата или по доаѓањето на други противгени во телото, лимфата, која го напушта јазолот преку еден еферентен (излегувачки) лимфен сад, е збогатена со новоизлачени противтела од страна на медуларните плазма клетки и исто така има приближно 50 пати повисока концентрација на лимфоцити од аферентната лимфа.

Дел од порастот на концентрацијата на лимфоцитите во лимфата која го напушта јазолот се јавува поради размножување на лимфоцитите во јазолот како одговор на противгенот. Сепак, поголемиот дел од порастот претставуваат лимфоцитите, кои се родени во крвта, кои се преселуваат во јазолот низ ѕидовите од постакапиларните венули. Овие венули се обложени со необично високи ендотелни клетки кои им даваат здебелен изглед и се наречени **високи ендотелни венули (ВЕВ).** ВЕВ се значајни бидејќи повеќето од лимфоцитите кои навлегуваат во јазолот доаѓаат со минување помеѓу специјализираните ендотелни клетки од ВИВ преку истекување (екстравазација), механизам објаснет во Поглавје 3. Дел од лимфоцитите кои го напуштаат лимфниот јазол се доселиле преку овој еднотелен слој и навлегле во јазолот од крвта. Бидејќи противгената стимулацијата во јазолот може да го зголеми ова преселување за 10 пати, бројот на лимфоцитите во јазолот кој аткивно реагира може доста да се зголеми, а јазолот видливо ќе отече. Факторите ослободени во лимфните јазли при противгена стимулација се верува дека го олеснуваат ова зголемено преселување. Слика 2-16б го пишува течењето на лимфата и лимфоцитите низ лимфниот јазол.

Слезина

Слезината, која се наоѓа во левата абдоминална празнина, е голем, јајцест вторичен лимфоиден орган кој игра главна улога при утврдување имуни реакции на противгените во крвниот систем. Додека лимфните јазли се специјализирани за заробување противгени од локалните ткива, слезината е специјализирана за прочистување крв и заробување противгени создадени во крвта. Според тоа, таа може да одговори на системските инфекции. За разлика од лимфните јазли, слезината не ја снабдуваат лимфните садови. Наместо тоа, крвните противгени и лимфоцитите преку слезинската артерија се носат во крвта. Експериментите со радиоактивно обележени лимфоцити покажуваат дека дневно повеќе рециркулирачки лимфоцити минуваат низ слезината отколку низ сите лимфни јазли заедно.

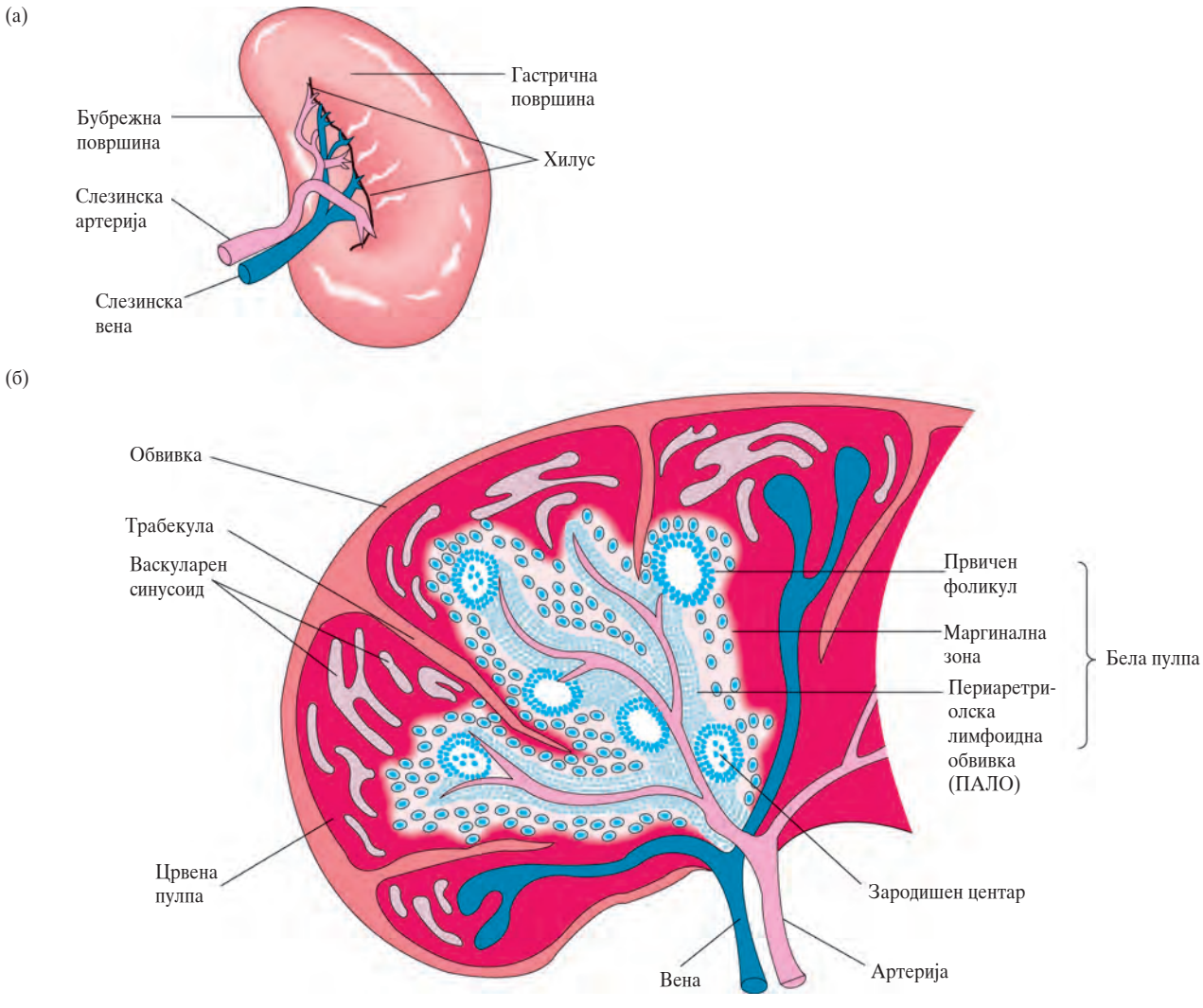
Слезината е опкружена со обвивка преку која се протегаат одреден број продолжетоци (trabeculae) во внатрешнината за да



СЛИКА 2-16 **Структура на лимфен јазол.** (а) Трите слоја од лимфниот јазол поддржуваат различни микросредени. (б) Левата страна го прикажува распоредот на ретикулумот и лимфоцитите во различни региони од лимфниот јазол. Макрофагите и стеблестите клетки, кои го заробуваат противгенот, се присутни во кората и паракората. Тпо клетки се концентритани во паракората. Б клетките се наоѓаат првично во кората, во фоликулите и зародишните центри. Медулата е доста населена со плазма клетки кои создаваат противтела. Лимфоцитите кои циркулираат во лимфата се пренесуваат во јазолот преку аферентни лимфни садови. Тие или навлегуваат во мрежестата матрица на јазли или поминуваат низ него и го напуштаат лимфниот сад. Десната страна (б) ги опишува лимфната артерија и вена и посткапиларните венули. Лимфоцитите во циркулацијата може да преминат во јазолот од посткапиларните венули преку процес наречен истечување (extravasation).

формираат структура со оддели. Има два вида оддели, црвена пулпа и бела пулпа, кои се одвоени со дифузна маргинална зона (слика 2-17). Слезинската **црвена пулпа** се состои од мрежа синусоиди населени од макрофаги, бројни црвени клетки и неколку лимфоцити. Тоа е областа каде старите и дефектните црвени клетки се уништуваат или отстрануваат. Многу од макрофагите во црвената пулпа содржат проголтани црвени клетки или пигменти кои содржат железо од разграденият хемоглобин. Слезинската **бела пулпа** ги опкружува гранките од слезинската артерија, формирајќи **периартериолна лимфоидна обвивка (ПАЛО) (periarteriolar lymphoid sheath = ПАЛО)** која главно е населена со Т лимфоцити. Првичните лимфоидни фоликули се прикачени на ПАЛО. Овие фоликули се богати со Б клетки, а дел од нив содржат зародишни центри. **Маргиналната зона**, која е периферна на ПАЛО, е населена со лимфоцити и макрофаги.

Противгените кои се создадени во крвта и лимфоцитите навлегуваат во слезината низ слезинската аретерија, која се празни во маргиналната зона. Во маргиналната зона, противгенот е заробен од страна на стеблестите клетки, кого го носат



СЛИКА 2-17 Структура на слезина. (а) Слезината, која е околу 12 сантиметри долга кај возрасните, претставува најголем вторичен лимфоиден орган. Таа е специјализирана за заробување противгени кои се создаваат во крвта. (б) Шематски приказ на слезината. Слезинската артерија ја пробива обвивката и се дели на прогресивно помали артериоли, кои завршуваат во васкуларните синусоиди и се празнат назад во слезинската вена. Црвената пулпа која е исполнета со црвени клетки ги опкружува синусоидите. Белата пулпа формира обвивка, периартериолска лимфоидна обвивка (ПАЛО), околу артериолите. Оваа обвивка содржи голем број Т клетки. Тесно поврзана со ПАЛО е маргиналната зона, област богата со Б клетки која содржи лимфоидни фоликули кои може да се развијат во вторични фоликули кои содржат зародишни центри.

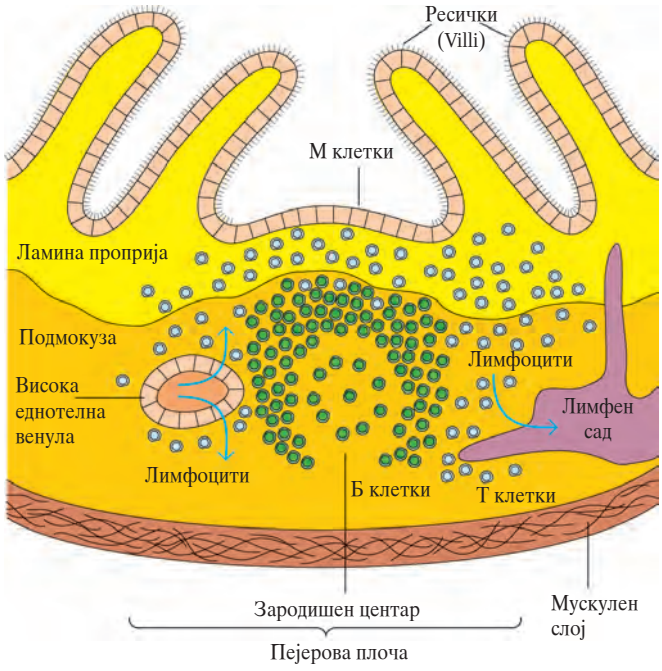
до ПАЛО. Лимфоцитите во крвта исто така навлегуваат во синусите од маргиналната зона и се преселуваат во ПАЛО.

Почетната активација на Б и Т клетките се одвива во ПАЛО богата со Т клетки. Овде стеблестите клетки го заробуваат противгенот и во комбинација со класа 2 ГТК молекулите го прикажуваат на Тпо клетки. Штом се активираат, овие Тпо клетки тогаш ги активираат Б клетките. Потоа активираните Б клетки, заедно со дел од Тпо клетки, се преселуваат во првичните фоликули од маргиналната зона. При навлегување противген, овие првични фоликули се развиваат во карактеристични вторични фоликули кои содржат зародишни центри (како оние во лимфните јазли), каде плазма клетките и Б клетките кои брзо се делат се опкружени со густи групи концентрично поставени лимфоцити.

Сериозноста на последиците ако слезината се загуби зависи од возраста на која се јавува спленектомијата. Кај децата, спленектомијата често води кон зголемена зачестеност на бактериска сепса првично предизвикана од *Streptococcus pneumoniae, Neisseria meningitidis* и *Haemophilus influenzae.* Иако помалку странични ефекти се јавуваат кај возрасните, спленектомијата води кон одреден пораст на бактериските инфекции (**бактериемија**) кои се создаваат во крвта.

Мукозно асоцирано лимфоидно ткиво (МАЛТ)

Мукозната мембрана која е поставена до дигестивниот, респираторниот и урогенталниот систем има комбинирана површинска област од околу 400 м^2 (скоро колку кошаркарски терен) и се главни области за влез на многу патогени. Овие ран-

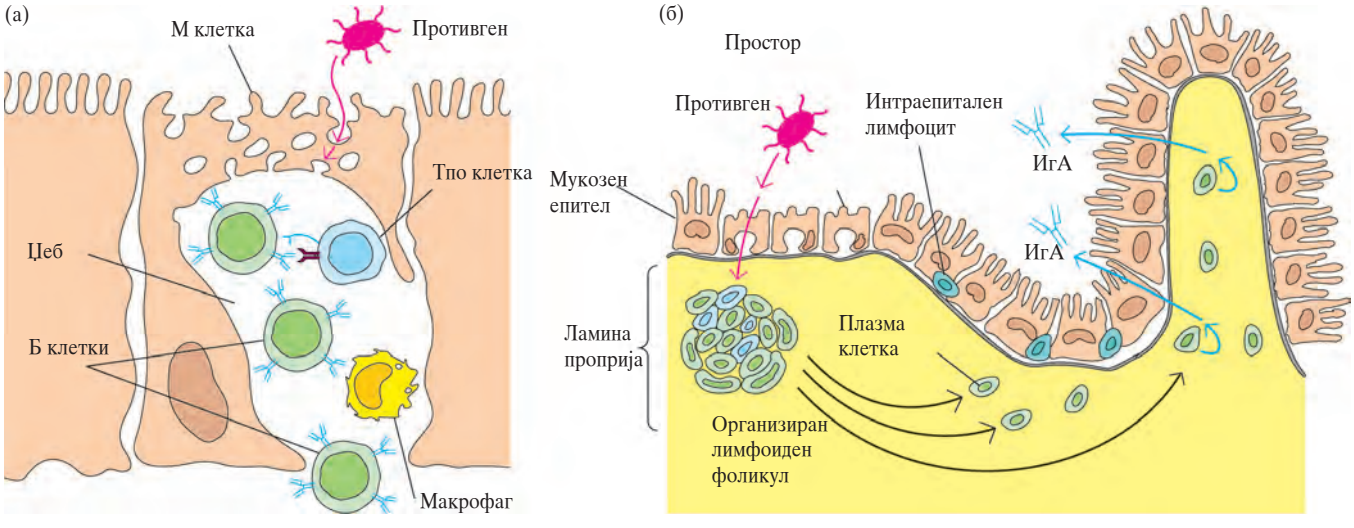


СЛИКА 2-18 **Напречен приказ на мукозната мембрана која го обвиткува тенкото црево, прикажувајќи го лимфоидниот јазол од Пејеровата плоча во подмукозата.** Тенкоцревната ламина проприја содржи лабави групи епителни клетки и дуфузни фоликули.

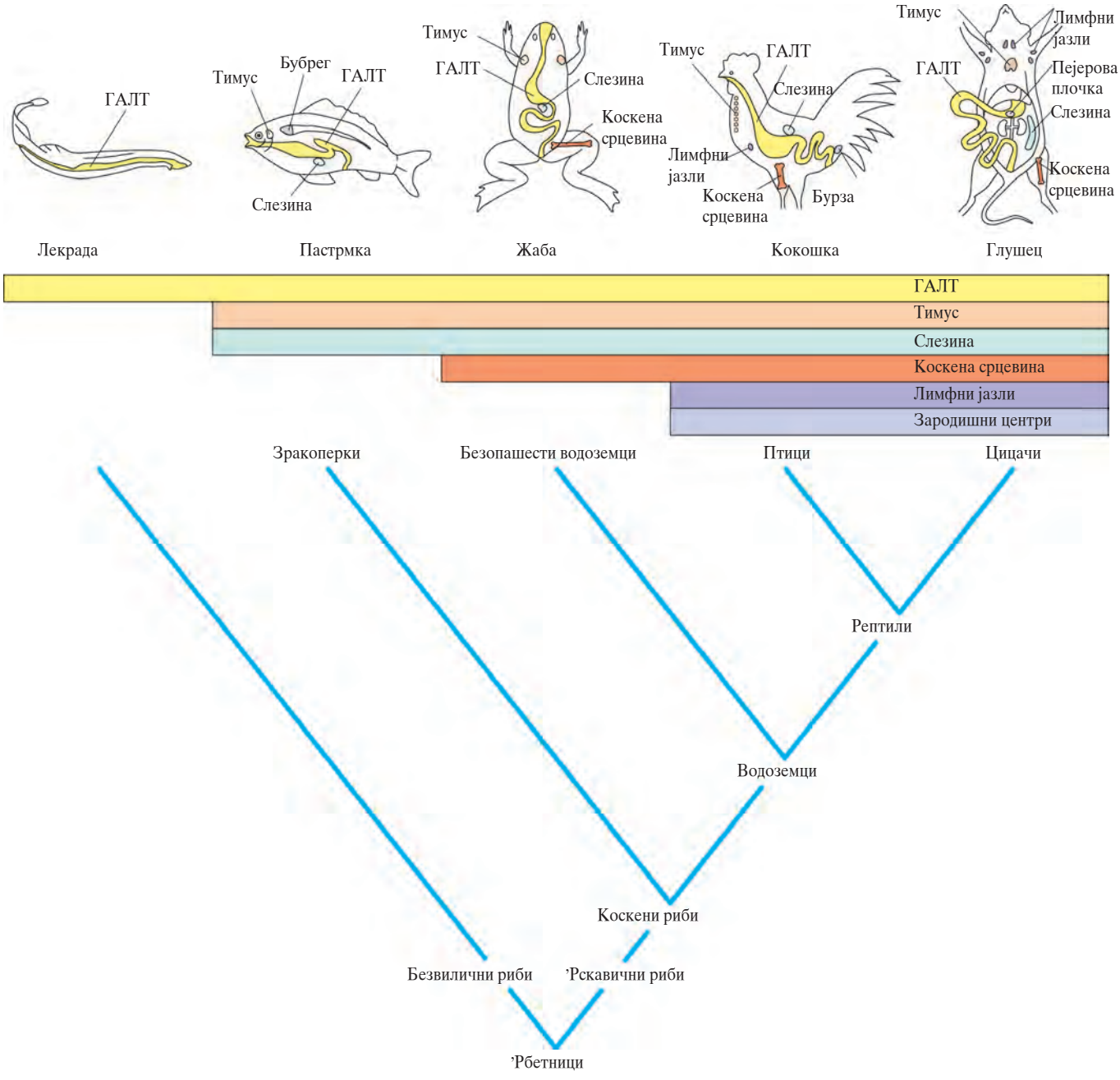
ливи мембрански површини се бранат со група организирани лимфоидни ткива кои се претходно споменати и се општо познати како **мукозно асоцирано лимфоидно ткиво (МАЛТ).** Вторичното лимфоидно ткиво позврзано со респираторниот епител е наречено **бронхусно асоцирано лимфоидно ткиво (БАЛТ)**, а она кое е поврзано со епителот на дигестивниот тракт општо е наречен **гастроинтестинално асоцирано лимфоидно ткиво (ГАЛТ)**. Структурно, ткивото поврзано со гастроинтестиналниот тракт опфаќа лабави, слабо организирани групи од лимфоидни клетки во ламина проприја од тенкоцревните ресички до добро организирани структури како Пејеровите плочи, кои се ноќаат во тенкоцревниот sид. МАЛТ исто така ги вклучува крајниците (тонзилите) и слепото црево. Функционалното значење на МАЛТ во одбраната на телото е докажана преку нејзината голема популација плазма клетки кои создаваат противтела, чиј број далеку го надминува бројот на плазма клетките во слезината, лимфните јазли и коскената срцевина заедно.

Како што е прикажано на сликите 2-18 и 2-19, лимфоидните клетки се наоѓаат во различни области од ткивото. Надворешниот мукозен епителен слој содржи така наречени **интраепителни лимфоцити (ИЕЛ),** при што голем број од нив се Т клетки. Ламина проприја, која лежи под епителниот слој, во лабавите групи содржи голем број Б клетки, плазма клетки, активирани Тпо клетки и макрофаги. Хистолошкиот пресек кај здраво дете открива повеќе од 15000 лимфоидни фоликули во тенкоцревната ламина проприја. Пејеровите плочи, јазли од 30 до 40 лимфоидни фоликули, се протегаат од подепителот до мускулните слоеви. Како и лимфоидните фоликули во другите области, оние кои ги сочинуваат Пејеровите плочи може да се развијат во вторични фоликули со зародишни центри.

Епителните клетки од мукозната мембрана играат значајна улога во поттикнувањето имун одговор преку доставување мали примероци туѓ противген од празнините на респираторниот, дигестивниот и ургенитарниот тракт до подлежното лимфоидно ткиво асоцирано со мукоза. Ова пренесување противгени се извршува од страна на специјализирани **М клетки**. Струкурата на М клетките е извонредна: тие се рамни епителни клетки кои ги немаат ресичките кои го карактеризираат остатокот од



СЛИКА 2-18 **Структура на М клетките и создавање ИгА на индуктивните места.** (а) М клетките, кои се позиционирани во мукозаната мембрана, ендоцитозираат противген од просторот на дигестивниот, респираторниот и урогениталниот тракт. Противгенот се транспортира преку клетката и се ослободува во големиот базолатерален џеб. (б) Противгенот кој се транспортира преку епителниот слој од страна на М клетките на индуктивната област активира Б клетки во подлежните лимфоидни фоликули. Активираните Б клетки се диференцираат во плазма клетки кои создаваат ИгА и се населуваат околу подмукозата. Надворешниот епителен слој содржи интраепителни лимфоцити, при што голем дел од нив се Т клетки.



СЛИКА 2-20 Еволуциска распределба на лимфоидните ткива. Прикажано е присуството и локацијата на лимфоидното ткиво кај неколку главни групи 'рбетници. Иако тие не се прикажани на шемава, 'рскавичните риби како што се ајкулите и раите имаат ГАЛТ, тимус и слезина. Влекачите исто така имаат ГАЛТ, тимус и слезина, а може да имаат и лимфни јазли кои учествуваат во имуните реакции. Областите и карактерот на лимфоидните ткива кај влекачите се истражуваат. [Адаптирано од *Dupasquier and M. Flajnik, 2004*, in Fundamental Immunology, 5*th ed., W. E. Paul, ed., Lippincott-Raven, Philadelphia*.]

мукозниот епител. М клетките имаат длабока инвагинација, или џеб, во базолатералната плазмина мембрана, која е полна со група Б клетки, Т клетки и макрофаги (слика 2-19а). Противгените од тенкоцревниот простор се ендоцитозираат во торбички кои се пренесуваат од граничната мембрана (мембрана која се граничи со тенкоцревниот простор) до подлежната џебна мембрана.

Потоа торбичките се спојуваат со џебните мембрана, доставувајќи им ги противгените од потенцијално активираните противгени кон присутните групи лимфоцити и противген прикажувачки клетки, од кои се најзначајни стеблестите клетки, сместени во џебот. Противгените кои се пренесуваат преку мукозната мемебрана од страна на М клетки на крај водат до активирање на Б клетки кои се диференцираат, а потоа лачат IgA. Оваа класа противтела е специјализирана за лачење и значајна алатка која телото ја користи за да им се спротивстави на многу видови инфекции во мукозните области.

Лимфоидно ткиво поврзано со кожата

Кожата е значајна анатомска бариера за надворешната средина. Таа е наголемиот орган во телото и игра значајна улога кај неспецифичните (вродените) одбрани. Епидермалниот (надворешен) слој од кожата е главно составен од специјализирани епителни клетки наречени кератиноцити. Овие клетки лачат одреден број цитокини кои може да функционираат за да поттикнат локален воспалителен одговор. Лангерхансовите клетките се расфрлани помеѓу епително клеточна матрица од епидермот, вид стеблести клетки, кои го внесуваат противгенот со фагоцитоза или ендоцитоза. Како што споменавме порано, потоа овие Лангерхансови клетки претрпуваат зреење и се преселуваат од епидермот од регионалните лимфни јазли, каде функционираат како моќни активирачи на неискусните Тпо клетки. Покрај тоа, епидермот исто така содржи таканаречени **интраепидермални лимфоцити**, кои најчесто се Т клетки. Некои имунолози веруваат дека тие играат улога во борбата со противгените кои навлегуваат низ кожата, функција за која тие се добро поставени. Подлежниот дермален слој на кожата исто така содржи распространети Т клетки и макрофаги. Повеќето од овие дермални Т клетки се или претходно активирани клетки или памтечки клетки.

Лимфоидни клетки и органи - еволуциски споредби

Во следното поглавје, ќе видиме дека вродениот имун систем се сретнува кај 'рбетници, без'рбетници и дури кај растенија. Стекнатиот имунитет, кој зависи од лимофицитите и е посредуван од противтелата и Т клетките, еволуирал само кај 'рбетниците (subphylum Vertebrata). Сепак, како што е прикажано на слика 2-20, видовите на лимфоидни ткива кои се среќаваат при различни видови 'рбетници значително се разликуваат.

Ако се разгледа спектарот од првите 'рбетници, безвиличните риби (Агната), до притиците? и цицачите, очигледно е дека еволуцијата додала нови органи во имунитетот, како што се лимфните јазли и ткивата (на пр., Пејеровите плочки), но тежнеела да ги задржи оние (на пример, тимусот) кои се развиле при првите видови. Додека 'рбетниците имаат лимфоидно ткиво поврзно со гастроинтестиналниот тракт (GALT) и голем дел имаат одредена верзија на слезина и тимус, сите немаат лимфни јазли и многу од нив не создаваат лимфоцити во коскената срцевина. Разликите кои се забележуваат на ниво на органите и ткивата исто така се одразуваат и на клеточно ниво. До сега, ниту Т ниту Б лимфоцитите, ниту кои било други компоненти од стекнатиот имун систем, не се среќаваат кај безвиличните риби. Всушност, само 'рбетниците со вилици (Гнатосомата), каде најрани примери за тоа се 'рбетните риби (ајкули, риби), имаат Б и Т лимфоцити и поддржуваат реакции од стекнатиот систем.

Резиме

- Хуморалните (противтелата) и клеточно посредуваните реакции од имуниот систем се добиваат како резултат на координираните активности на многу видови клетки, органи и ткива кои се среќаваат низ телото.
- Многу од телесните клетки, ткива и органи произлегуваат од различни популации на стем клетки. Белите клетки се развиваат од многупотентните хематопоетски стем клетки при високо регулиран процес наречен хематопоеза.
- Апоптозата, вид на програмирана клеточна смрт, претставува клучен фактор при регулирањето на нивоата на хематопоетски и други популации од клетки.
- Постојат три вида лимфоидни клетки: Б клетки, Т клетки и клетки природни убијци (КПУ). Само Б и Т клетките се членови на клонските популации кои ги разликуваат противгените рецептори со уникатна специфичност. Б клетките синтетизираат и прикажуваат мембранско противтело, а Т клетките синтетизираат и прикажуваат Т клеточни рецептори. Повеќето КПУ не синтетизираат противген специфични рецептори, иако мали популации од оваа група, КПУ-Т клетки, синтетизираат и прикажуваат Т клеточен рецептор.
- Макрофагите и неутрофилите се специјализирани за фагоцитозата и разградувањето на противгените. Макрофагите исто така го имаат капацитет да прикажуваат противген на Т клетките.
- Незрелите форми од стеблести клетки имаат капацитет да заробат противген на едно место, да претрпат зреење, и да се преселат на друго место, каде противгенот ќе го прикажат на $T_н$ клетките. Стеблестите клетки се главната популација на противген прикажувачки клетки.
- Првичните лимфоидни органи се областите каде лимфоцитите се развиваат и созреваат. Т клетките настануваат во коскената срцевина, а се развиваат во тимусот. Кај луѓето и глувците, Б клетките настануваат и се развиваат во коскената срцевина.
- Вторичните лимфоидни органи овозможуваат место каде лимфоцитите се сретнуваат со противгенот, се активираат и претрпуваат клонска експанзија и диференцирање во ефекторни клетки.
- Видовите на 'рбетници значително се разликуваат по видовите на лимфоидните органи, ткива и клетките кои ги поседуваат. Најпримитивниот, безвиличната риба, нема Б и Т клетки и не може да оствари стекнат имун одговор. 'Рбетниците со вилица имаат Т и Б клетки, имаат стекнат имунитет и прикажуваат голема разновидност во лимфоидни ткива.

Референци

Appelbaum, F. R. 1996. Hematopoietic stem cell transplatation. In *Scientific American Medicine*. D. Dale and D. Federman, eds. Scientific American Publishers, New York.

Banchereau J., et al. 2000. Immunobiology of dendritic cells. *Annual Review of Immunology* **18**:767.

Clevers, H. C., and R. Grosschedl. 1996. Transcriptional control of lymphoid development: lessons from gene targeting. *Immunology Today* **17**:336.

Cory, S. 1995. Regulation of lymphocyte survival by the BCL-2 gene family. *Annual Review of Immunology* **12**:513.

Ema, H., et al. 2005. Quantification of self-renewal capacity in single hematopoietic cells from normal and Link-deficient mice. Developmental Cell **6**:907.

Godfrey, D. I., MacDonald, H. R. Kronenberg, M., Smyth, M. J., and Van Kaer, L. (2004). NKT cells: What's in a name? *Nature Reviews Immunology* **4**:231.

Liu Y. J. 2001. Dendritic cell subsets and lineages, and their functions in innate and adaptive immunitu. *Cell* **106**:259.

Melchers, F., and A. Rolink. 1999. B-lymphocyte development and biology. In *Fundamental Immunology*, 4th ed. W. E. Paul, ed. Lippincott-Raven, Philadelphia, p. 183.

Nathan, C., and M. U. Shiloh. 2000. Reactive oxygen and nitrogen intermediates in the relationship between mammalian hosts and microbal pathogens. Proceedings of the National *Academy of Science* **97**:8841.

Pedersen, R. A. 1999. Ebryonic stem cells for medicine. *Scientific American* **280**:68.

Osborne, B. A. 1996. Apoptosis and the maintenance of homeostasis in the immune system. *Current Opinion in Immunology* **8**:245.

Piccirillo, C. A., and E. M. Shevach. 2004. Naturally occuring CD4+ CD25+ immunoregulatory T cells: central players in the arena of peripheral tolerance. *Seminars in Immunology* **16**:81.

Picker, L. J., and M. H. Siegelman. 1999. Lymphoid tissues and organs. In *Fundamental Immunology*, 4th ed. W. E. Paul, ed. Lippincott-Raven, Philadelphia, p. 145.

Rothenberg, E. V. 2000. Stepwise specification of lymphocyte developmental linages. *Current Opin. Gen. Dev.* **10**:370.

Shizuru, J. A., R. S. Negrin, and I. L. Weissman. 2005. Hematopoietic stem and progenitor cells: clinical and preclinical regeneration of hematolymphoid system. *Annual Review of Medicine* **56**:509.

Ward, A. C., et al. 2000. Regulation of granulopoiesis by transcritpion factors and cytokine signals. *Leukemia* **14**:973.

Weissman, I. L. 2000. Translating stem and progenitor cell biology to the clinic: barriers and opportunities. *Science* **287**:1442.

Корисни веб-страници

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/prov

Прирачниците PROW се стручни кратки, структурирани прегледи на протеини и протеински фамилии кои заедно ги носат најзначајните информации за секој молекул во еден документ од стандардизиран формат. Достапни се информации за КД1 до КД339.

http://temcells.nih.gov/

Линковите до информации за стем клетките, вклучувајќи ги и основните и клиничките информации и архиви за достапните ембрионски стем клетки.

Прашања за учење

ПРАШАЊЕ ОД КЛИНИЧКИОТ ФОКУС. Т и Б клетките кои се диференцираат од хематопоетските стем клетки, телата во кои тие се диференцираат ги препознаваат како домашни. Да претпоставиме дека жена донира ХСК на генетски неповрзан маж чиј хематопоетски систем е целосно уништен преку комбинација на зрачење и хемотерапија. Потоа, претпоставете дека иако повеќето од ХСК од дарителот се диференцираат на хематопоетски клетки, дел се диференцираат на клетки во панкреасот, црниот дроб и срцето. Одл те кој од следниве резултати е можен и објаснете го.

а. Т клетките од ХСК на дарителот не ги напаѓаат клетките од панкреасот, срцето и црниот дроб кои потекнуваат од клетките на дарителот, но придвижуваат ППД (GVH) одговор против сите други клетки од домаќинот.
б. Т клетките од ХСК на дарителот придвижуваат ППД (GVH) одговор против сите други клетки од домаќинот.
в. Т клетките од ХСК на дарителот ги напаѓаат клетките од панкреасот, срцето и црниот дроб кои потекнуваат од клетките на дарителот, но не успеваат да придвижат ППД (GVH) одговор против сите други клетки од домаќинот.
г. Т клетките од ХСК на дарителот не ги напаѓаат клетките од панкреасот, срцето и црниот дроб кои потекнуваат од клетките на дарителот и не успеваат да придвижат ППД (GVH) одговор против сите други клетки од домаќинот.

1. Објаснете зошто секој од следниве искази е погрешен.

а. Сите Тпо клетки прикажуваат КД4 и го препознаваат само противгенот поврзан со класа 2 ГТК молекулите.
б. Многупотентната (плурипотентната) стем клетка е една од најобилните видови клетки во коскената срцевина.
в. Активацијата на макрофагите го зголемува прикажувањето на класа 1 ГТК молекулите, доведувајќи до тоа клетката поефективно да го прикаже противгенот.
г. Лимфоидните фоликули се присутни само во слезината и лимфните јазли.
д. Инфекцијата нема влијание врз стапката на хематопоеза.
ѓ. Фоликуларните стеблести клетки може да го обработат и да го прикажат противгенот на Т лимфоцитите.
е. Сите лимфоидни клетки имаат противген-специфични рецептори врз својата мембрана.
ж. Сите 'рбетници создаваат Б лимфоцити во коскената срцевина.
з. Сите 'рбетници создаваат Б и Т лимфоцити, а повеќето ги создаваат и двата вида.

2. За секоја од следниве групи клетки, наведете ја последната заедничка прогениторска клетка која ги создава двата вида клетки.

а. Стеблести клетки и макрофаги
б. Моноцити и неутрофили
в. T_c клетки и базофили
г. Клетки природни убијци и Б клетки

3. Наведете ги првичните лимфоидни органи и опишете ги нивните функции при имуниот одговор.

4. Наведете ги вторичните лимфоидни органи и опишете ги нивните функции при имуниот одговор.

5. Кои се двете првични карактеристики кои прават разлика помеѓу хематопоетските стем клетки и прогениторските клетки?

6. Кои се двете првични улоги на тимусот?

7. Што имаат заедничко голите глувци и луѓето со синдромот на Ди Џорџ?

8. На која возраст тимусот ја достигнува максималната големина?

а. Во првата година од животот
б. Тинејџерските години (пубертетот)
в. На возраст помеѓу 40 и 50 години
г. На возраст над 70 години

9. Примероците збогатени со хематопоетски стем клетки се корисни при истражување и клиничка практика. Кај методот на Вајсман за збогатување хематопоетски стем клетки, зошто е неопходно да се користат смртно озрачени глувци за да се прикаже збогатувањето?

10. Објаснете ги разликите помеѓу моноцитот и макрфагот.

11. Кој ефект ќе го има отстранувањето на бурза од Фабрициус (бурзектомија) врз кокошките?

12. Одредени микроорганизми (на пр., *Neisseria gonorrhoeae, Mycobactrium tubercolosis* и *Candida albicans*) се класифицирани како внатреклеточни патогени. Дефинирајте го овој израз и објаснете зошто имуниот одговор на овие патогени се разликува од онаа реакција на другите патогени како што се *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus pneumoniae*.

13. Покажете дали секој од следниве искази за слезината е точен или неточен. Ако мислите дека исказот не е точен, објаснете зошто.

    а. Таа ги филтрира противгените надвор од крвта.
    б. Маргиналната зона е богата со Т клетки, а периартериолската лимфоидна обвивка (ПАЛС) е богата со Б клетки.
    в. Содржи зародишни центри.
    г. Функционира за да ги отстрани старите и дефектни црвени клетки.
    д. Лимфните садови кои се празнат во ткивните простори влегуваат во слезината.
    ѓ. Работењето на лимфниот јазол, но не и слезината, е засегната од отстранувањето на Икарос генот.

14. За секој вид на клетка (од а-н), одберете го најсоодветниот опис (од 1-16) наведен долу. Секој опис може да се употреби еднаш, повеќе од еднаш, или воопшто да не се употреби.

Вид на клетки

а. ____ Вообичаени миелоидни прогениторски клетки.
б. ____ Моноцити
в. ____ Еозинофили
г. ____ Стеблести клетки
д. ____ Клетки природни убијци (КПУ)
ѓ. ____ Купферови клетки
е. ____ Лимфоидни стеблести клетки
ж. ____ Мастоцити
з. ____ Неутрофили
s. ____ М клетки
и. ____ Стромални клетки од коскената срцевина
ј. ____ Лимфоцити
к. ____ КПУ1 - Т клетки
л. ____ Микроглијални клетки
љ. ____ Миелоидни стеблести клетки
м. ____ Хематопоетски стем клетки

Описи

(1) Главен вид противген прикажувачки клетки на Тпо клетки.
(2) Фагоцитна клетка од централниот нервен систем.
(3) Фагоцитни клетки значајни за одбраната на телото против паразитските оганизми.
(4) Макрофагите се наоѓаат во црниот дроб.
(5) Создаваат црвени клетки.
(6) Противген прикажувачка клетка изведена од моницитите која не е фагоцитна.
(7) Воопшто првите клетки кои пристигнуваат на местото на воспаление.
(8) Лачат фактори кои стимулираат колонии (CSF).
(9) Создаваат тимоцити.
(10) Циркулирачки крвни клетки кои се диференцираат во макрофаги во ткивата.
(11) Противген прикажувачка клетка која потекнува од истиот претходник како и Т клетките, но не од истиот како макрофагот.
(12) Клетките кои се значајни при избирање противгени од тенкоцревниот простор.
(13) Нефагоцитни гранулоцитни клетки кои ослободуваат разни фармаколошки активни супстанции.
(14) Бели крвни клетки кои се преселуваат во ткивата и играат значајна улога во развојот на алергиите.
(15) Клетките кои понекогаш ги препознаваат нивните цели со помош на противген-специфичните рецептори од површината на клетката и понекогаш со механизми кои наликуваат на оние механизми од клетките природни убијци.
(16) Членови од категоријата клетки кои не се сретнуваат кај безвиличните риби.



Интеркативно учење

www.wfreeman.com/kuby



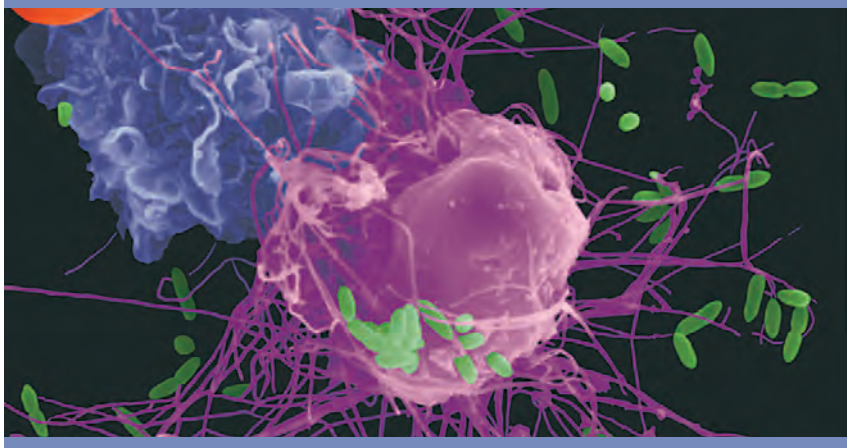
САМОСТОЕН ТЕСТ
Преглед на клучни поими



АНИМАЦИЈА
Клеточна смрт
Клетки и органи во имуниот систем

Поглавје 3

Вроден имунитет



Макрофаг (розово) и моноцит (виолетово) се врзува за фагоцитозната бактерија. [Dennis Kunkel Microscopy/Dennis Kunkel.]

- Анатомски бариери
- Поврзаности меѓу вродениот и стекнатиот имунитет
- Воспаление
- Растворливи молекули и рецептори поврзани со мембраната
- Толовидни рецептори
- Видови клетки во вродениот имунитет
- Патеки на сигнално пренесување
- Сеприсутност на вродениот имунитет

’Рбетниците се зашитени од двата система на имунитетот: вродениот и стекнатиот. **Вродениот имунитет** се состои од одбрани против инфекција кои се подготвени за брзо активирање пред нападот на патоген. Вродениот имун систем вклучува физички, хемиски и клеточни бариери. Главните физички бариери се кожата и мукозните мембрани. Хемиските бариери ја вклучуваат киселоста на стомачниот сок и специјализираните растворливи молекули кои поседуваат противмикробска активност. Клеточната линија од вродената одбрана содржи редица клетки со чувствителни рецептори кои откриваат микробни продукти и поттикнуваат противнапад. Реакцијата кон нападот од микробски агенси од инфекцијата која ги совладува почетните бариери на кожата и мукозните мембрани е брза, обично започнува по неколку минути од нападот.

И покрај многуте слоеви на вродениот систем, одредени патогени може да ги одбегнат вродените одбрани. На повик е вториот систем наречен **стекнат имунитет** (или **адаптивен имунитет**), кој е поттикнат со изложување на микроби и се соочува со инфекција преку специфичен одговор скроен против напаѓачкиот патоген во облик на големи популации Б и Т лимфоцити кои специфично го препознаваат напаѓачот. За придвижување стекнат одговор треба време - околу една недела или малку повеќе пред да биде целосно ефективен. Стекнатиот имунитет го прикажува феноменот на имуно памтење, и кога еднаш ќе се поттикне од страна на одреден патоген, идните изложувања поттикнуваат побрзи и често посилни реакции. Препознавањето на напаѓачите е посредувано од противтелата и Т клеточните рецептори, „сензори“ на стекнатиот имунитет. Овие молекули се продукти на гени со извонредна карактеристика: тие претрпуваат модификација и разновидност - генетска рекомбинација - во домаќинот за да создадат уникатна, гигантска популација чувари против напаѓачите. Процесите на модификација и создавање имунолошко разновидност се објаснети во поглавја 5 и 9.

Вродениот имунитет е најстарата одбрана на ’рбетниците против микробите. Одредена форма на вродениот имунитет се сретнува кај сите повеќеклеточни растенија и животни. Стекнатиот имунитет еволуирал кај виличните ’рбетници и е доста понов еволуциски пронајдок од вродениот имунитет. Кај ’рбетниците, стекнатиот имунитет го надополнува добро развиениот систем на вродениот имунитет. Табела 3-1 прави споредба помеѓу вродениот и стекнатиот имунитет.

Големото и растечкото тело кои се истражуваше откри дека вродениот и стекнатиот имунитет коеволуирале, помеѓу двата система се јавил висок степен на меѓудејство. Вусшност, ако патогенот целосно ја избегне првата линија на одбрана, вродениот имун систем, одговорот на стекнатиот имун систем може да биде слаб. Препознавањето со имуниот систем ја поставува сцената за ефективна одбрана на стекнатиот имунитет.

Ова поглавје ги објаснува компонентите од вродениот имун систем - физичките и физиолошите бариери, растворливите хемиски агенси и одредени видови клетки и нивните рецептори - и прикажува како тие заедно реагираат за да го одбранат против инфекција. Завршуваме со преглед на вродениот имунитет кај царството животни и растенија.

ТАБЕЛА 3-1 Вроден и стекнат имунитет

Особина	Вроден имунитет	Стекнат имунитет
Време на одговор	Минути/Часови	Денови
Особеност	Специфично за молекули и молекулски обрасци поврзани со патогените	Високо специфичен. Ги разликува дури и најмалите разлики во молекулската структура. Детали за микробската или немикробската структура препозната со висока специфичност
Разновидност	Ограничен број рецептори кодирани во зародишните линии	Мошне разновиден. Голем број рецептори произлегуваат од генетската рекомбинација на рецепторски гени
Памтечки реакции	Нема	Постојано памтење, со побрза и поголема реакција на понатамошна инфекција
Разликување свое/туѓо	Совршено, нема микробско специфични обрасци кај домаќинот	Многу добра. Повремени откажувања на разликувањето свопе/туѓо резултира со автоимуна болест
Растворливи компоненти на крвта или ткивните течности	Многу противмикробски пептиди и протеини	Противтела
Главен вид клетки	Фагоцити (моноцити, макрофаги, неутрофили), клетки природни убијци (КПУ), стеблести клетки	Т клетки, Б клетки, противген прикажувачки клетки

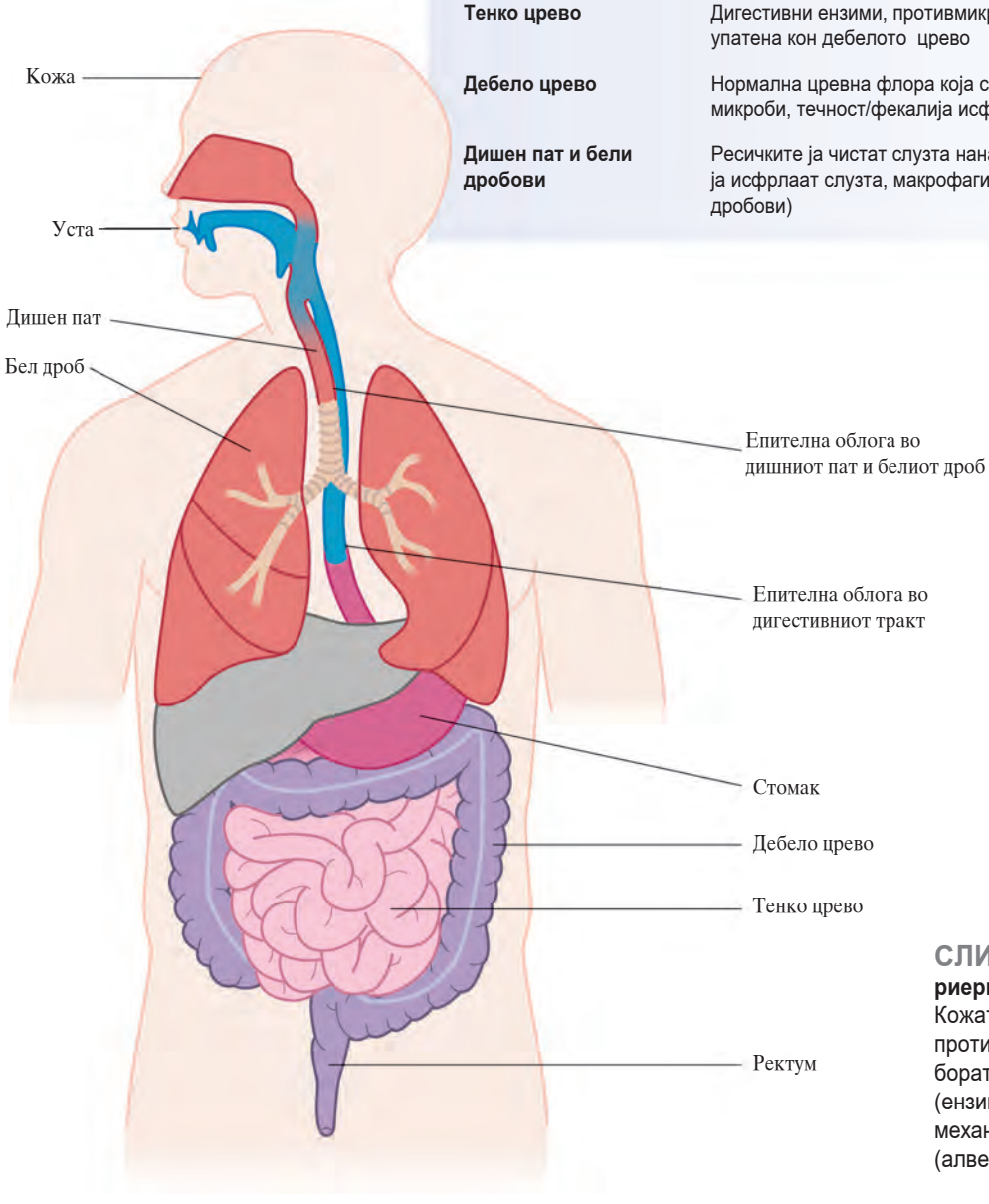
Анатомски бариери

Најочигледните компоненти од вродениот имунитет се надворешните бариери против напад на микроби - кожа и кожни мембрани, кои вклучуваат мукозен епител кој е поставен во респираторниот, гастроинтестиналниот и урогениталниот тракт и ја заштитува внатрешноста на телото од патогени од надворешниот свет (слика 3-1). Кожата се состои од два одделни слоја: тенок надворешен слој, **епидермис** и подебел слој, **дермисот**. Епидермисот содржи неколку редови тесно збиени епителни клетки. Надворешниот епидермален слој се состои најмногу од мртви клетки полни со водоотпорен протеин наречен кератин. Дермисот е составен од сврзно ткиво и содржи крвни садови, косни фоликули, лојни жлезди и потни жлезди. Кожата и епителот овозможуваат одреден вид жив „виткачки материјал“ кој ги обвиткува и заштитува внатрешните слоеви на телото од надворешниот свет. Но, овие анатомски бариери се повеќе од пасивни пакувачи. Тие, исто така, поттикнуваат активна биохемиска одбрана преку синтетизирање и ослободување пептиди и протеини со противмикробска активност. Меѓу многуте такви агенси кои ги создава човечката кожа, неодманешните истражувања го идентификуваа и псоријазинот, мал протеин со моќна антибактериска активност против *Escherichia coli*. Овој наод одговори на прашањето кое долго постои: Зошто човечката кожа е отпорна на колонизација од *E. coli* и покрај постојаното изложување на него? Како што е прикажано на слика 3-2, инкубацијата на *E. coli* на човечката кожа во краток период од 30 минути специфично ја убива бактеријата. (Другите бактериски видови се општо помалку осетливи). Капацитетот на кожата и епителот да создадат широка палета на противмикробиски агенси е значајна бидејќи пробивањето во кожата преку гребнатинки, рани или абразија овозможува начини на инфекција која патогените микроби брзо ќе ја искористат ако не се одбрани со биохемиски средства. Во кожата може исто така да се навлезе преку убоди од инсекти (на пр., комарци, црви, крлежи, муви и песочни муви), кои може да внесат патогени организми во телото кога се хранат. Протозоот кој предизвикува маларија, на пример, кај луѓето се вметнува преку комарци кога тие се хранат со крв, како што е вирусот кој ја предизвикува грозницата од Западен Нил. Слично на тоа, бубонската бактерија се пренесува со убод од муви, а бактеријата која предизвикува Лајмска болест се пренесува преку убод од крлежи.

Наместо со кожа, хранливиот, респираторниот и урогениталниот тракт и очите се опкружени со мукозни мембрани кои се составени од надворешен епителен слој и подлежен слој од сврзно ткиво. Многу патогени навлегуваат во телото преку мембраните, наспроти ова навлегување постојат голем број неспецифични одбранбени механизми. На пример, плунката, солзите и мукозното лачење ги мијат потенцијалните напаѓачи, а исто така содржат антибактериски и антивирусни супстанции. Вискозната течност наречена слуз (мукоз), која се лачи од страна на епителните клетки во мукозните мембрани, ги заробува надворешните микроорганизми. Во долниот респираторен тракт, мукозната мембрана е покриена со **ресички (цилии)**, продолжетоци во вид на коса од мембраната на епиптелната клетка. Синхронизираното движење на трепките ги придвижува мукозно заробените микроорганизми од овие системи. Со секој оброк, внесуваме огромен број микроорганизми, а тие мора да активираат палета на одбрани која започнува со противмикробски соединенија во плунката и во епителот во устата и вклучува непријателска киселина и дигестивни ензими во стомакот. Покрај редицата биохемиски и анатомски одбрани, патогените микроби мора да се натпреваруваат за телесните ресурси со многу непатогени организми кои ја колонизираат мукозната површина. Оваа *нормална флора*, која е високо адаптирана на нејзината внатрешна околина, обично ги победува патогените за местата на прикачување и неопходните хранливи материи во епителните површини.

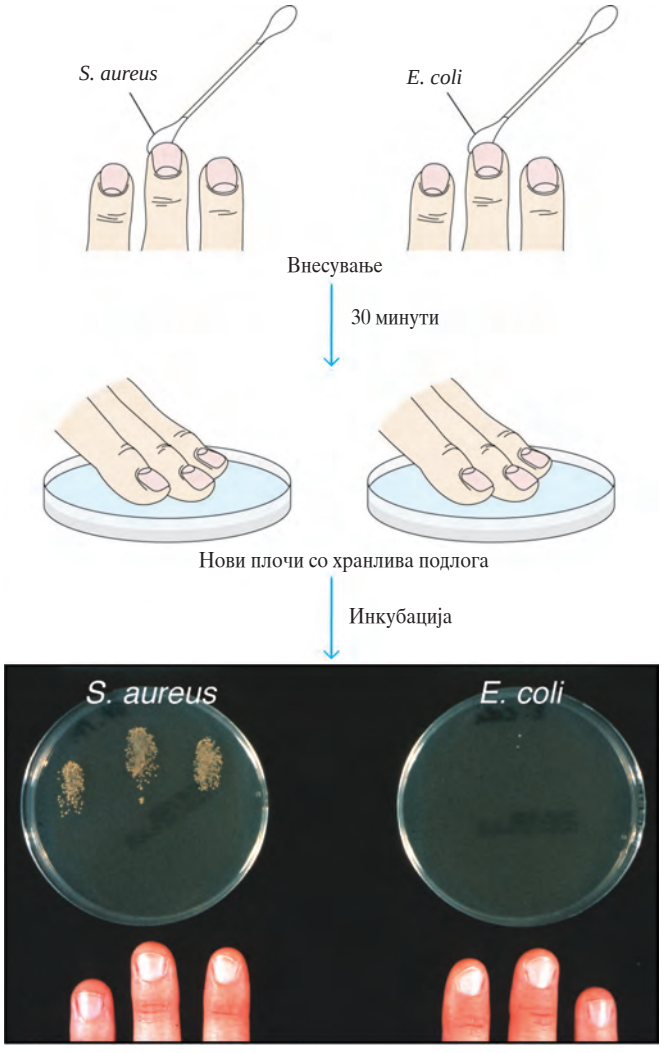
Некои организми развиле начини да ги избегнат одбраните од мукозните мембрани. На пример, вирусот на инфлуенца

Орган или ткиво	Вродени механизми кои ја штитат кожата/епителот
Кожа	Противмикробни пептиди, масни киселини во лојот
Уста и горен дигестивниот тракт	Ензими, противмикробни пептиди и чистење на површината со насочен тек на течност кон стомакот
Стомак	Низок pH, дигестивни ензими, противмикробни пептиди, течност упатена кон цревата
Тенко црево	Дигестивни ензими, противмикробни пептиди, течност упатена кон дебелото црево
Дебело црево	Нормална цревна флора која се натпреварува со напаѓачките микроби, течност/фекалија исфрлена од ректумот
Дишен пат и бели дробови	Ресичките ја чистат слузта нанадвор, кашлањето, кивањето ја исфрлаат слузта, макрофагите во алвеолите на белите дробови)

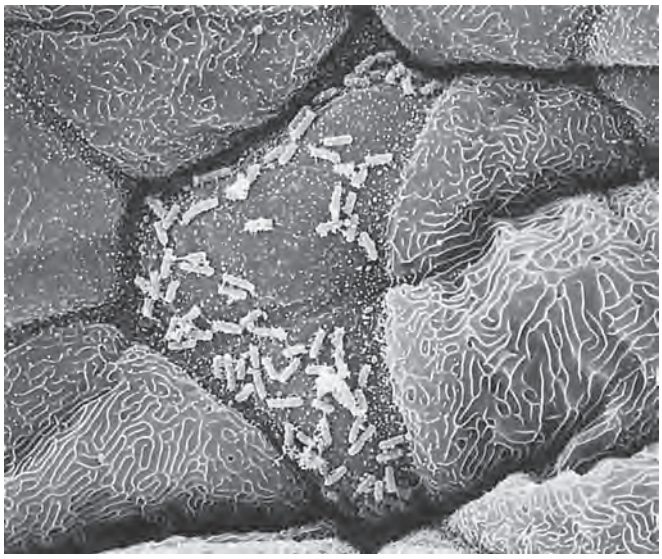


СЛИКА 3-1 Кожа и епителни бариери против инфекција. Кожата и мукозните епителни слоеви против колонизацијата од микробите се борат со мноштво механизми: хемиски (ензими, противмикробски пептиди,pH), механички (плунка, течности) и клеточни (алвеоларни макрофаги).

(агенсот кој предизвикува грип) има површински молекул кој му овозможува да се залепи цврсто за клетките од мукозната мембрана во дишниот систем, со што спречува вирусот да се отстрани од ресичките во епителните клетки. Организамот кој предизвикува гонореа има површински продолжетоци кои се врзуваат за епителните клетки во мукозната мембрана од урогенителниот тракт. Лепењето на бактериите за мукозните мембрани обично се остварува со влакнести продолжетоци на бектеријата наречени **фимбрии** или **пили**, кои стапуваат во интеракција со одредени гликопротеини или гликолипиди кои се прикажуваат само врз епителните клетки од мукозната мембрана во одредени ткива (слика 3-3). Поради овие и други причини, некои ткива се осетливи кон инвазија на одредени патогени, и покрај општата ефикасност на заштитните епителни бариери. Кога ова се случува, рецепторите на вродениот имунитет играат неопходни улоги во откривањето инфекција и поттикнуваат ефективна одбрана против тоа.



СЛИКА 3-2 Псоријазинот спречува колонизација на кожата од *E. coli*. Кожата лачи псоријазин, противмикробски протеин кој ја убива *E. coli*. Врвовите на прстите од здрав човек се обложени со *Staphylococcus aureus* и *E. coli*. По 30 минути, врвовите од прстите остават отпечатоци на хранлива подлога од агар и се определува бројот колонии од *S. aureus* и *E. coli*. Скоро сите нанесени *E. coli* се убиени. Поголемиот број од *S. aureus* преживува.
[Фотографија сопственост на Nature Immunology; од R. Gläser et al., 2005, Nature Immunology 6:57-64]



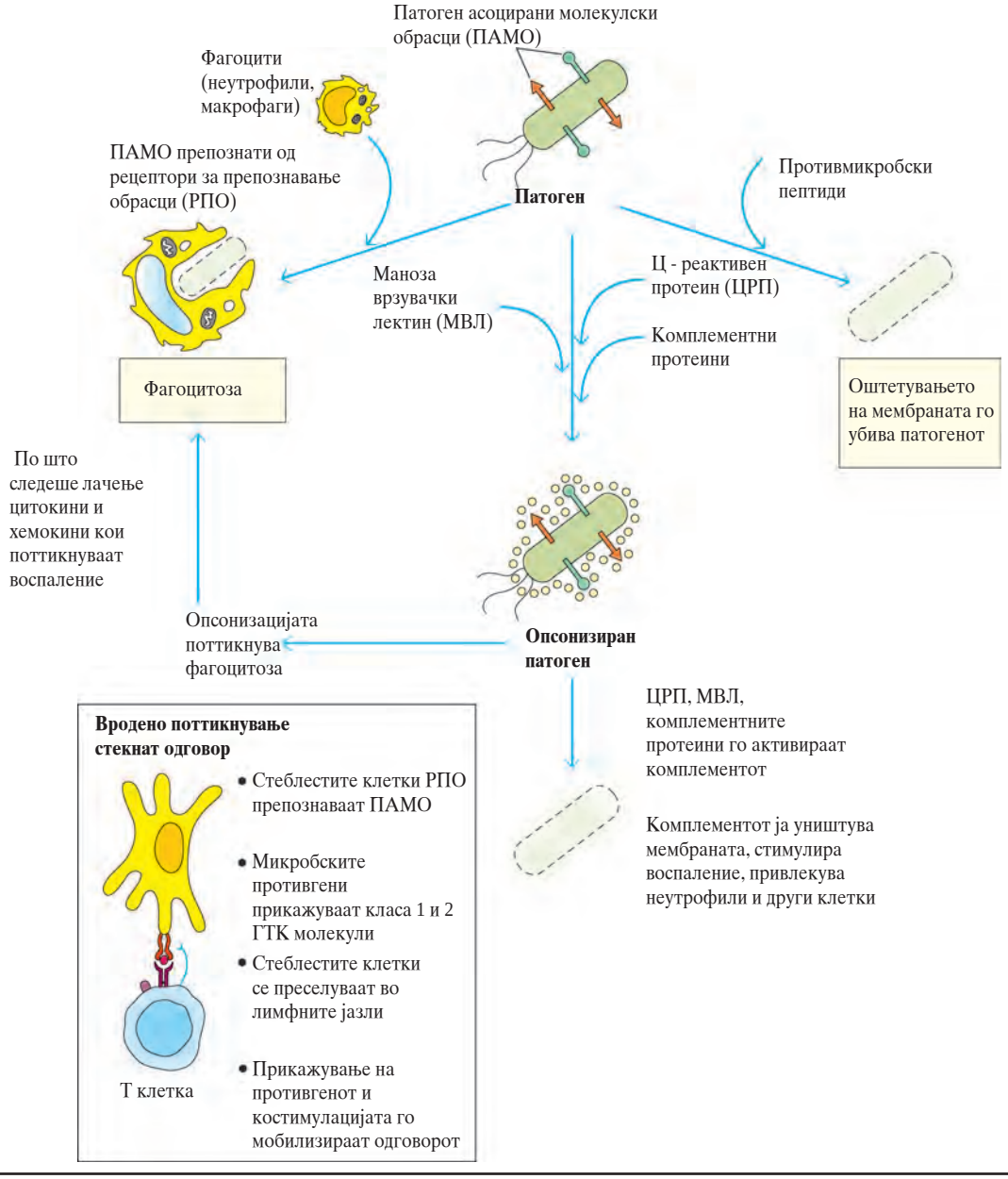
СЛИКА 3-3 Електронска микрографија од бактерија *E. coli* во вид на стапче кој се прилепува за површината од епителните клетки во уринарниот тракт
*[Од Sharon dhe H. Lis, 1993, Scientific American **268**(1):85;* сопственост на *K. Fujita.]*

Поврзаности помеѓу вродениот и стекнатиот имунитет

Штом патогенот ќе ги помине неспецифичните анатомски и физиолошки бариери на носителот, може да настанат инфекција и болест. Имуниот систем на нападот реагира со две критични функции: сензорите го откриваат напаѓачот и поттикнуваат механизам за одговор кој го напаѓа напаѓачот. Првото откривање на имуниот одговор се јавува кога напаѓачот стапува во меѓудејство со растворливите молекули или со мембрански врзаните молекули од носителот способни за прецизно разликување на своето (домаќинот) од туѓото (патогенот). Овие молекулски сензори препознаваат широки структурни мотиви кои се доста застапени кај микробските видови (а обично се потребни за опстанок), но обично се отсутни од домаќинот. Бидејќи тие препознаваат одредени молекулски обрасци, таквите рецептори се наречени **рецептори за препознавање обрасци (РПО) (pattern recognition receptors = PRR)** и кога таквите обрасци се сретнуваат кај патогените, тие се наречени патоген асоцирани **молекулски обрасци (ПАМО) (pathogen-associated molecular patterns = PAMPs)**. ПАМО препознати од страна на РПО вклучуваат комбинација од шеќери, одредени протеини, определени молекули кои носат липид и одредени нуклеинско киселински мотиви. Ограничувањето на вродената препознавање молекулски обрасци кои се сретнуваат кај микробите го фокусира вродениот систем на работи кои може да предизвикаат инфекција наместо на супстанции кои се умерено туѓи, како што се вештачките зглобови (artificial hip joints). Наспроти тоа, противтелата и Т клеточните рецептори, сензорите на стекнатиот имунитет, препознаваат ситни детали од молекулската структура и можат со голема специфичност да разликуваат противгени кои имаат само мали структурни разлики. Обично, способноста на рецепторите за препознавање обрасци да прават разлика помеѓу свое и туѓо е беспрекорна, бидејќи молекулскиот образец кој е цел на рецепторот се создава само од страна на патогенот, а никогаш од домаќинот. Ова остро се противи на повременото препознавање на домашните противгени од страна на рецепторите од стекнатиот имунитет, потенцијално опасен дефект од кој може да настанат автоимуни болести.

Откривањето на молекулските обрасци поврзани со патоген од страна на растворливите и мембрански врзаните посредници од вродениот имунитет внесува во игра повеќе компоненти од вродениот имунитет. Растворливите посредници вклучуваат

ПРЕГЛЕД НА СЛИКА 3-4:
Ефектори на вродените имуни реакции кај инфекција



Нападот на микробите во игра внесува многу ефектори од вродениот имунитет. Влезот на микробските напаѓачи преку повредите во епителните бариери создава воспалителни сигнали и ги изложува напаѓачите на напад од разни ефекторни молекули и клетки. Микробите кои се препознати од страна на Ц - реактивниот протеин (ЦРП) или маноза врзувачкиот лектин (МВЛ) се врзани преку ова опсонизирање и молекулите кои активираат комплементи. Одредени патогени, како што се габите кои носат зимосан, може да го активираат комплементот, кое може да предизвика директно разградување или опсонизација, означувајќи го патогенот за фагоцитоза од неутрофилите и макрофагите. Воспалителните сигнали предизвикуваат фагоцитите како што се макрофагите и неутрофилите да се прилепат за ѕидовите од крвните садови, да преминат и да се преместат во областа на инфекција, каде тие ги фагоцитираат и убиваат инфективните микроорганизми. При работата на овие клеточни и молекулски ефектори, се создаваат дополнителни воспалителни сигнали кои го зголемуваат одговорот со пренесување повеќе фагоцити и растворливи посредници (ЦРП, МВЛ и комплемент) од крвотекот до областа на инфекција. Стеблестите клетки голтаат микробски компоненти, созреваат и претставуваат микробски пептиди на ГТК молекулите. Потоа стеблестите клетки преку лимфните садови преминуваат до најблиските лимфни јазли, каде претставуваат противген на Т клетките. Потоа противген активираните клетки поттикнуваат стекнати имуни реакции против патогенот. Цитокините кои се создадени при вродените имуни реакции, исто така, ги поддржуваат и ги насочуваат стекнатите имуни реакции кон инфекцијата.

зпочнувачи на **комплементниот систем**, како што е **маноза врзувачкиот лектин (МВЛ)** и **Ц - реактивниот протеин (ЦРП)**. Ако патогенот носи ПАМО препознаен од овие посредници, ќе се активира комплементниот систем (види Поглавје 7). Еден дел од комплементниот систем претставува збир од протеини кои, кога ќе се активираат, формираат агрегати кои прават дупки во клеточните мембрани од целните микроби, убивајќи ги клетките со лизирање. Комплементниот систем исто така вклучува серумски гликопротеини кои, ќе се активираат, поттикнуваат голтнување микроорганизми со фагоцитоза (опсонизација). Комплементниот систем ги опфаќа и вродениот и стекнатиот имун систем: активирањето на комплементот, кое доведува до опсонизација или разградување на напаѓачите, може да се активира или преку молекули кои препознаваат ПАМО (вродено) или преку противтела (стекнато) врзување за специфични туѓи противгени. Дополнително, одредени остатоци од активирањето на комплементот поттикнуваат воспаление и притоа носат бели клетки до местото на инфекција, лансирајќи уште еден слој одбрана.

Незрелите стеблести клетки од нападнатото ткиво и макрофагите имаат разни рецептори, вклучувајќи ја најзначајната група вродени рецептори која е позната: ѕвоновидни рецептори (ТВР) (TLR, Toll - like receptors) кои откриваат микробски продукти. До денес се опишани 12 од овие рецептори кај глушецот и 11 кај луѓето. Секој ТВР реагира со специфичен микорбски продукт. Овие разновидни рецептори, кои детално се објаснети во натамошниот дел, им овозможуваат на стеблестите клетки и макрофагите да откријат широк спектар патогени. Сигналите поттикнати од ТВР на макрофагите стимулираат фагоцитна активност и создавање хемиски агенси кои се токсични за фагоцитозираните микроби. Активираните макрофаги исто така лачат класа на молекули општо познати како **цитокини**, коишто се протеини во вид на хормони или фактори за раст кои комуницираат преку клеточните рецептори за да поттикнат специфична клеточна активност (види Поглавје 12). Како и хормоните, цитокините го модифицираат однесувањето и физиологијата на целните клетки и ткива. На пример, активираните макрофаги лачат цитокини како што се интерлеукин-1 (IL-1), интерлеукин-6 (IL-6) и туморно некрозниот фактор алфа (TNF-алфа), кои поттикнуваат и поддржуваат воспалителни реакции.

Незрелите стеблести клетки во областа на инфекција го внесуваат и го обработуваат противгенот, созреваат и потоа се преселуваат во лимфоидното ткиво, каде нивното прикажување на противгенот на Т клетките претставува клучен чекор за поттикнувањето стекнат имун одговор против нападот од патогенот. Затоа оваа активност претставува врска помеѓу вродениот и стекнатиот систем на имунитетот. Стеблестите клетки, исто така, лачат мноштво цитокини кои поттикнуваат воспаление и помагаат да се насочи стекнатиот имун одговор на домаќинот.

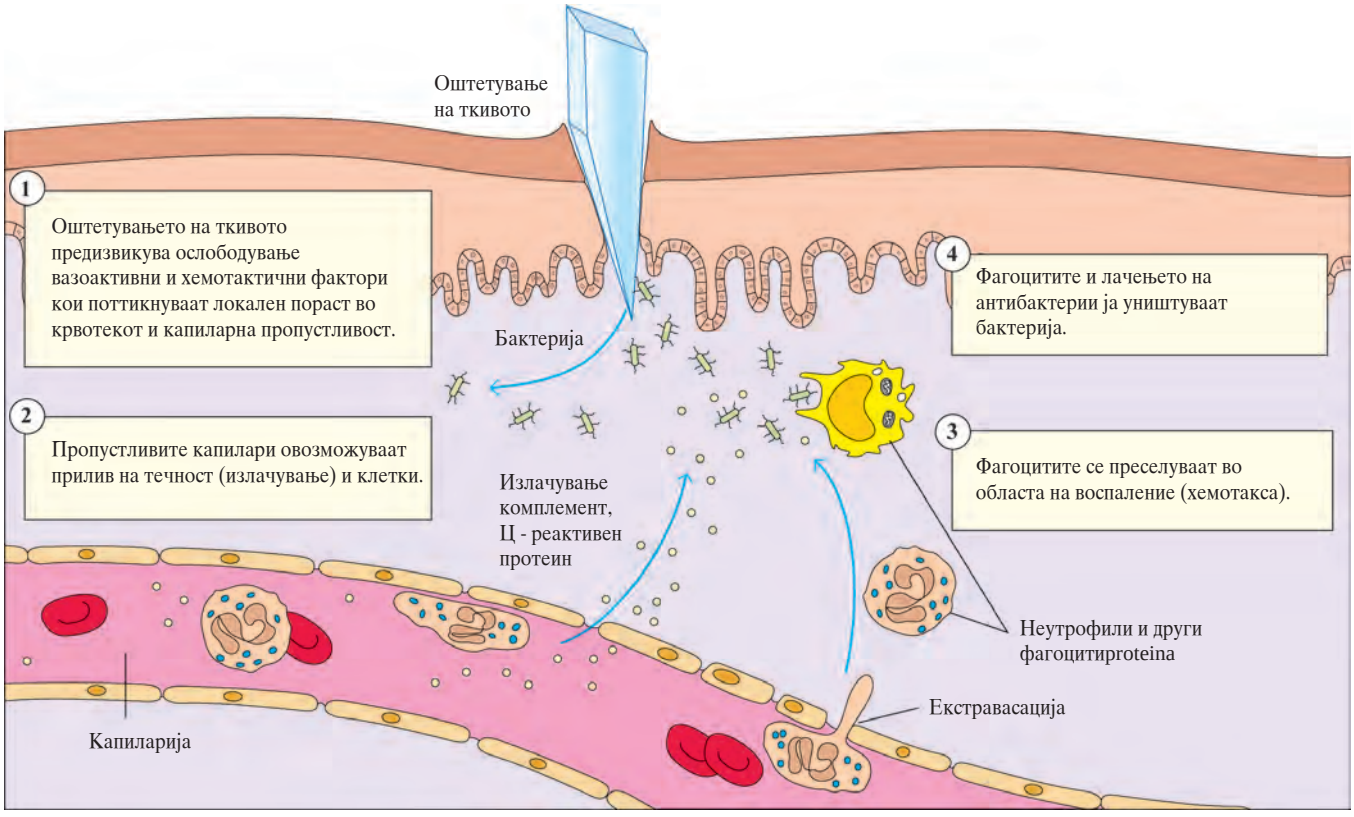
Сите функции на вродениот имунитет се јавуваат рано во текот на инфекцијата, пред создавањето значителни популации патоген специфични Т клетки и патоген специфични противтела од страна на Б клетките. Сепак, цитокините ослободени од клетките вклучени во вродениот одговор ја засегаат природата на натамошните стекнати имуни реакции на инфекција. Главните молекулски и клеточни ефектори ослободени од вродениот имун систем за напад врз инфекцијата се опишани на слика 3-4. Во многу случаи, вродениот имун систем може сам да ја порази и да ја отстрани инфекцијата. Кога не може да го стори тоа, патогенот се соочува со координиран напад од страна на стекнатиот имун систем. При стекнатиот одговор, цитотоксичните Т клетки откриваат и уништуваат патогени кои се скриени во клетките од домаќинот, а противтелата го неутрализираат капацитетот на напаѓачот да инфицира други клетки додека се зголемува веројатноста напаѓачот да биде фагоцитиран од страна на макрофагите и неутрофилите (противтелно остварено внесување, вид на опсонизиација). Противтелата, исто така, соработуваат со комплементниот систем за да предизвикаат разградување на патогените микроби. По отстранување на инфекцијата, дел од Б и Т клетките кои се создадени за време на стекнатиот имун одговор ќе опстои во носителот подолго време во форма на памтечки Т и памтечки Б клетки. Идните инфекции од патогенот ќе бидат пречекани со подготвена резерва лимфоцити кои се специфични за патогенот и кои се способни за активирање брз одговор.

Овој мал приказ ги вклучува главните играчи од вродениот имун систем и неговата поврзаност со стекнатиот имун систем. Останатиот дел од ова поглавје подетално ќе ги опише деловите и механизмите од вродениот имун систем.

Воспаление

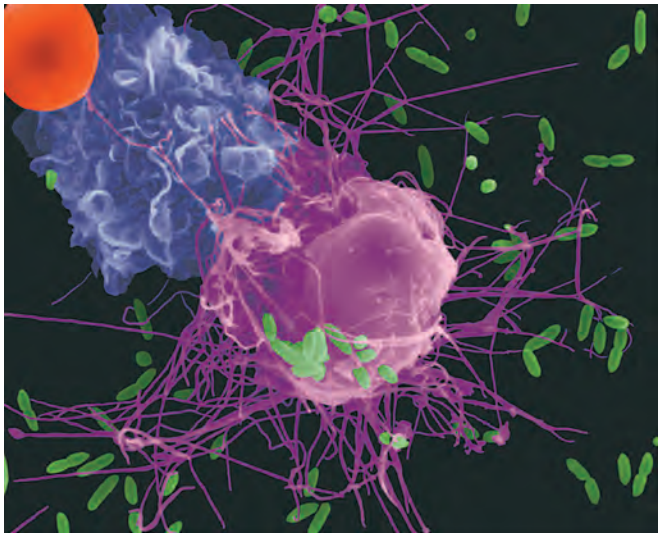
Кога патогените ќе ги поминат надворешните бариери од вродениот имунитет - кожата и мукозните мембрани - присутната инфекција или повреда на ткивото може да поттикне сложена серија настани познати како **воспалителен одговор.** Воспалението може да биде акутно, на пример при одговор на ткивно оштетување, или може да биде хронично, кое доведува до патолошки последици како што се артрит и исцрпување поврзано со одредени ракови (види Поглавје 13). Акутниот воспалителен одговор се бори со раните фази на инфекцијата и поттикнува процеси кои доведуваат до поправање на оштетеното ткиво. Знаците на локализираната воспалителна рекација прво биле опишани од Римјаните пред скоро 2000 години: отекување (латински = *тумор*), црвенило (*рубор*), топлина (*калор*) и болка (*долор*). Дополнителниот знак за воспалението додаден од вториот век од страна на лекарот Гален е губење на функциите (*функцио леза*). По неколку минути од повреда на ткивото, се јавува пораст во васкуларниот дијаметар (вазодилација), што резултира со зголемуавње на крвниот волумен во таа област. Повисокиот крвен волумен го достигнува ткивото и предизвикува вцрвување. Исто така се зголемува васкуларната пропустливост, што доведува до истечување на течноста од крвните садови, посебно во посткапиларните венули. Ова доведува до насобирање течност (**едем**) кој го отечува ткивото. По неколку часови, белите клетки се лепат за ендотелните клетки во воспалената област и поминуваат низ ѕидовите од капиларите и навлегуваат во ткивата, процес наречен **екстравазација** (слика 3-5). Овие бели клетки ги фагоцитираат напаѓачките патогени и ослободуваат молекулски посредници кои придонесуваат за воспалителниот одговор и регрутирањето и активирањето на ефекторните клетки.

Меѓу посредниците се регулаторните протеини од фамилијата на цитокините со мала молекулска тежина кои ги споменавме претходно. Цитокините се лачат од страна на белите крвни зрнца и разни други клетки во телото како одговор на стимули и играат значајна улога при регулирањето на развојот и природата на имуните ефекторни клетки. **Хемокините** (види Поглавје 13) се главна подгрупа од цитокините чија позната активност е нивниот капацитет да дејствуваат како **хемоатрактанти** (агенси што предизвикуваат клетките да се движат кон повисоките концентрации на агенсот). Сепак, сите хемоатрактанти не се хемокини. Други значајни хемоатрактанти се оста-

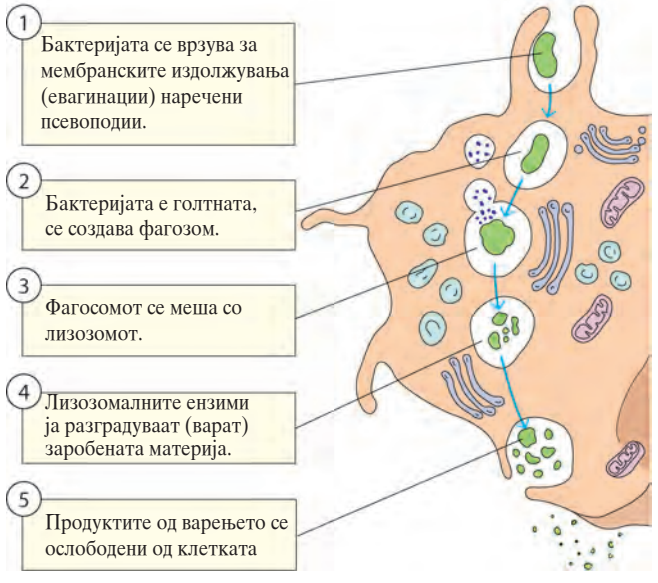


СЛИКА 3-5 Регрутирање макрофаги и противмикробски агенси од крвотекот. Влезот на бактериите преку раните поттикнува воспалителен одговор кој противмикробските супстанции и фагоцитите (прво неутрофилите, а потоа макрофагите и моноцитите) ги пренесува до областа на воспаление.

(а)



(б)



СЛИКА 3-6 (а) Електронска микрографија на макрофаг (средина - розово) како ја напаѓа *E. coli* (зелено). Батеријата е фагоцитирана како што е опишано во дел б, а се лачат распаднатите продукти. Моноцитот (виолетово, горе лево) е регрутиран во околината од страна на растворливите фактори излачени од макрофагот. Црвената сфера е црвена клетка. (б) Чекори при фагоцитозата на бактерија. *[Дел а, Dennis Kunkel Microscopy/Dennis Kunkel.]*

тоците од комплементот (Ц5а, Ц3а) и различни *N*-формилни пептиди кои се создаваат од распадот на бактриските протеини при инфекцијата. Врзувањето на хемокините или други хемоатрактанти за мембранските рецептори од неутрофилите поттикнува активирачки сигнал кој поттикнува конформациска промена во молекулот на неутрофилната мембрана наречена **интегрин**, зголемувајќи го нејзиниот афинитет за **меѓуклеточните атхезивни молекули (МКАМ) (intercellular adhesion molecules = МКАМ)** на ендотелот. Иако постојат многу различни хемоатрактанти, хемокините се најзначајни и разновидни регулатори на леукоцитното движење, кои селективно ја контролираат атхезијата, хемотаксата и активирањето мноштво леукоцитни потпопулации. Воспалителните хемокини обично се поттикнати при одговор на инфекцијата или како одговор на клетките од **провоспалителните** (поттикнување воспаление) **цитокини**. Хемокините предизвикуваат белите клетки да се движат во различни ткивни области преку поттикнување прилепување на овие клетки за васкуларниот ендотел кој ги окружува ѕидовите од крвните садови. По преселување во ткивата, белите клетки со хемотакса се движат кон поголемите концентрации на хемокини во областа на инфекција. На тој начин, целните фагоцити и ефекторните лимфоцитни популации се привлечени кон местото на воспаление.

авна улога на клетките кои се привлечени кон воспалителната област е фагоцитозата на напаѓачките организми. Ели Мечникоф го опиша процесот на фагоцитозата во 1880-тите години и нему му ја препиша главната улога во имунитетот. Тој претпоставил дека белите крвни зрнца кои консумираат и убиваат патогени се главните ефектори на имунитетот, што е поважно, во неговата оценка, отколку одбраните посредени од серум компоненти (противтела). Мечникоф беше во право при припишувањето на главната улога на пороцесот на фагоцитозата и сега знаеме дека недосток на оваа функција доведува до тежок имуно недостаток. Општиот процес на фагоцитоза на бактерија е прикажан на слика 3-6. Микроорганизамот е консумиран и разграден во макрофагот, а продуктите од разградувањето се ослободуваат. Овие продукти вклучуваат молекули кои носат ПАМП, кои ги известува рецепторите за присуството на патогенот. Групирањето на леукоцитите во областите на инфекција, орагнизирано од хемокините, е неопходна фаза при фокусираниот одговор кон инфекција.

На крај, некои сигнали созадени во местото на воспалението се пренесуваат системски до други делови од телото, каде поттикнуваат промена која го поддржува вродениот имун одговор (опишано понатаму во делот кој го опишува одговорот во акутна фаза).

Леукоцитната екстравазацијата е високо регулиран процес во повеќе чекори

Внимателно регулираниот процес на екстравазација е одговорен за преселување на белите клетки од крвотекот до областите на инфекција. Како што се развива воспалителниот одговор, различни цитокини и други воспалителните посредници дејствуваат врз ендотелот во локалните крвни садови, поттикнувајќи зголемено прикажување на клеточни атхезивни молекули (КАМ) (целл адхесион молецулес = ЦАМс). Засегнатиот епител се верува дека е воспален или активиран. Бидејќи неу**трофилите во основа претставуваат prv vid na kletki koj** се врзува за воспалениот ендотел и се преселуваат во ткивата, ќе се фокусираме на нивниот влез**, имајќи предвид дека другите бели клетки користа**т слични механизми. Екстравазацијата на неутрофилите им овозможува многу опасни предизвици. Прво, тие мора да го препознаат воспалениот ендотел. Потоа, мора цврсто да се прилепат за да не ги однесе крвта и додека се лепат за ѕидот од садот, мора да преминат низ ендотелниот слој и да навлезат во подложното ткиво.

Неутрофилната екстравазацијата може да се подели на четири чекори: (1) движење, (2) активирање од хемоатрактен стимулус, (3) заробување и атхезија и (4) трансендотелно преселување (слика 3-7а). При првиот чекор, неутрофилите лабаво се закачуваат за ендотелот преку ниско афинитетно меѓудејство помеѓу гликопротеините - муцините врз неутрофилот и селектините врз епителните клетки (слика 3-7б). Во отсуство на дополнителни сигнали, слабото меѓудејство кое го држи неутрофилот до ендотелната клетка брзо се прекинува со слабеење на силите поради циркулирачката крв. Додека одредени области од површината на неутрофилите успешно се врзуваат и слободно се раскинуваат, неутрофилите паѓа**ат врз површината на ендотелот.**

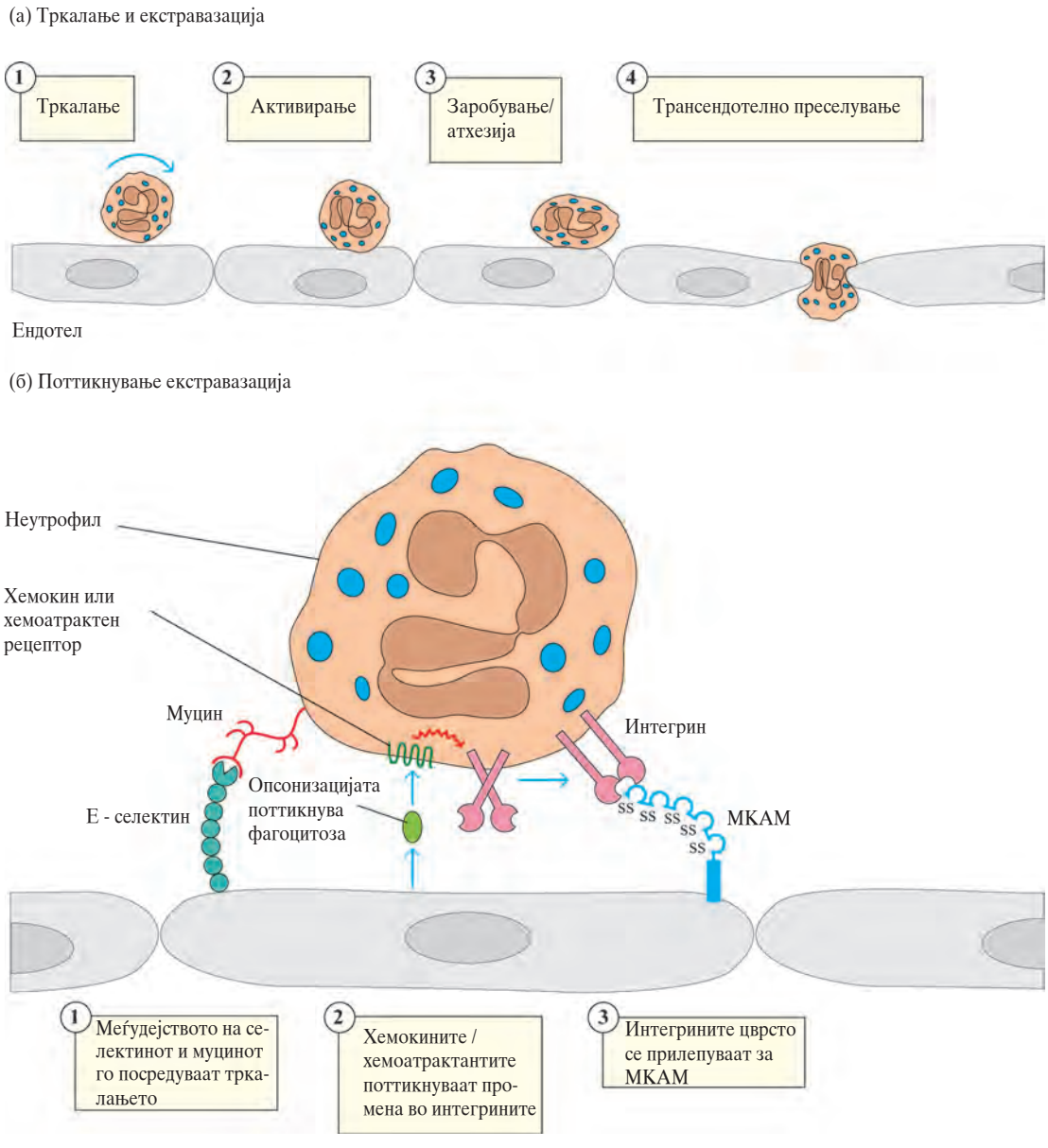
Како што се тркалаат неутрофилите по должината на ендотелот, тие можат да наидат на хемокини или други хемоатрактанти кои се прикажале на местото на воспалениот процес. Следственото меѓудејство помеѓу интегрините и МКАМ ја стабилизира атхезијата на неутрофилите врз ендотелната клетка, овозможувајќи ѝ да премине помеѓу ендотелните клетки.

Растворливи молекули и мембрански асоцирани рецептори

Вродениот имун систем е повеќестран, кој користи мноштво растворливи молекули, како и рецептори врзани за клеточната мембрана како нивни ефектори. Одредени растворливи молекули се создаваат во областа на инфекција или повреда и дејствуваат локално. Тука се вклучени противмикробските пептиди како што се дефензини и кателицидини како и интерфероните, значајна група цитокини со противвирусно дејство, опишано подолу и подетално во Поглавје 12. Други растворливи ефектори се создаваат во различни места и пристигнуваат во нивните целни ткива преку крвотекот. Комплементните протеини и протеините од акутна фаза спаѓаат во оваа група. Природата на овие ефектори и нивниот придонес за одбрана на домаќинот се објаснети подолу.

Противмикробските пептиди придонесуваат за вродената одбрана против бактериите и габите

Пептидите со противмикробска активност се изолирани од различни извори како што се луѓето, жабите, мувите, црвите и одредени видови растенија (табела 3-2). Раната еволуција и задржувањето на оваа дефанзивна стратегија, заедно со утврдувањето на повеќе од 800 различни противмикробски пепетиди, сведочи за нивната ефикасност. Нивната големина се движи од шест до 59 аминокиселински остатоци, а повеќето од нив се позитивно наелектризирани (катјонски), како магаининте најдени во кожата на жабите и дефензините кои се присутни кај луѓето и други видови. Човечките дефензини се катјонски пептиди, со 29 до 35 аминокиселински остатоци по должина, со шест непроменливи цистеини кои формираат две или три дисулфидни врски, стабилизирајќи ја релативно цврста-



СЛИКА 3-7 Неутрофилно тркалање и екстравазација. (б) Клеточни атхезивни молекули и хемокини кои се вклучени во екстравазацијата на неутрофилот. Тркалањето е посредувано од привременото врзување на селектините од васкуларниот ендотел со муцините од неутрофилот. Хемокините или други хемоатрактанти кои се врзуваат за специфичниот рецептор врз неутрофилот активираат сигнална патека за пренос, што доведува до конформациска промена на интегринските молекули и им овозможува цврсто да се залепат за внатренклеточните атхезивни молекули врз површината од ендотелните клетки.

та тридимензионална структура. Тие убиваат широк опсег бактерии, вклучувајќи ги Стапхѕлоцоццус ауреус, Стрептоцоццус **пнеумониа,** Е. Цоли, Псеудомонас аеругиноса и Хемопхилус инфлуензае. Неутрофилите претставуваат богат извор за овие пептиди, но исто така и други извори: панетните клетки лачат дефензини во цревата, а епителните клетки од панкреасот и бубрезите ослободуваат дефензини во серумот. Дефензините брзо убиваат микроби, обично за неколку минути. Дури и противмикробските пептиди кои бавно реагираат убиваат во период од 90 минути.

Антимикробските пептиди често дејствуваат со нарушување на микробските мембрани. Како овие соединенија прават разлика помеѓу микробските и сопствените мембрани се истражува во моментов. Иако нарушувањето на мембраните е главен механизам, противмикробските пептиди исто така создаваат мноштво внатреклеточни ефекти, како што е спречувањето на синтеза на ДНК, РНК или протеините

ТАБЕЛА 3-2 Некои противмикробски пептиди

Пептид	Типични создавачки видови*	Типична активноста на микробите*
Фамилија дефензини α-дефензини	Човек (се сретнуваат кај панетните клетки од тенкото црево и цитоплазминте зрнца од неутрофилите)	Антибактериска
β-дефензини	Човек (се сретнуваат кај епителот и другите ткива)	Антибактериска
Кателицидини	Човек, говеда	Антибактериска
Мегаинини	Жаба	Антибактериска; антигабична
Церкопини	Свилен молец	Антибактериска
Дрозомицин	Овошна мува	Антибактериска
Спинигерин	Термит	Антибактериска, антигабична

*Во многу случаи, создавањето на обележаниот антимикробски пептид или фамилија не е ограничено за еден создавач, туку на многу различни видови. Исто така, одредени членови од обележаниот пептид или фамилија може да имаат поширока антимикробска активност од обичните.

и со активирањето противмикробски ензими кои разградуваат делови на микробите. Противмикробските пептиди кои не ги напаѓаат само бак**териите и габите туку исто taka i virusite, se poka`a d**ека ефикасно ја напаѓаат липопротеинската обвивка на некои обвиткани вируси како што се вирусо**т на инфлуенца и одредени херпес вируси. Дел од ов**ие активности, нивната докажана противмикробска ефикасност и растечката итност за отпорност кон антибиотици го стимулираше истражувањето за прикладноста на противмикробските пептиди за терапевтска употреба. Сепак, остануваат прашањата за нивната стабилност ин виво, токсичност и ефикасност кога се применуваат во клиничка средина. Исто така се појави загриженост за опасноста дека бактеријата може нагло да стекне отпорност кон овие противмикроби ако тие се користат широко, блокирајќи неопходна група од вродениот имунитет против инфекција. Од овие причини, противмикробските пептиди сè уште не се во клиничка употреба.

Протеините од актуната фаза придонесуваат за вродениот имунитет

Во 20-тите и 30-тите години од дваесеттиот век, пред воведувањето на антибиотиците, доста внимание се обрнувало на контролирањето на пневмококалната пневмонија. Истражувачите забележале промени во концентрацијата на неколку серумски протеини за време на актуната фаза на заболувањето, фазата која му претходи на закрепнувањето или смртта. Серумските промени заедно беа наречени акутно фазен одговор (АФО) (ацуте пхасе респонсе = АПР), а протеините чии концентрации пораснале или паднале при акутната фаза сè уште се нарекуваат протеини на акутно фазен одговор (протеини на АФО). Физиолошкото значење на многу АФО протеини сè уште не се знае, но сега знаеме дека одредени протеини, како што се компонентите од комплементниот систем и Ц-реактивниот протеин, се дел од вродениот имун одговор кон инфекција. Акутно фазниот одговор (детално објаснет во Поглавје 13) е поттикнат од сигналите кои патуваат низ крвта од областа на повреда или инфекција. Црниот дроб е едно од главните места за синтеза на протеини на АФО, а провоспалителните цитокини ТНФ-алфа, ИЛ-1 и ИЛ-6 се главните сигнали кои се одговорни за поттикнување одговор во акутна фаза. Создавањето на овие цитокини е една од раните реакции на фагоцитите, а порастот во нивото на Ц-реактивниот протеин и други протеини во акутна фаза како што е комплементот придонесува за одбрана на неколку начини. Ц-реактивниот протеин припаѓа во фамилијата пентамерични протеини наречни пентраксини, кои ги врзуваат лигандите калциум зависни реакции. Меѓу лигандите препознаени од ЦРП се полисахаридите кои се сретнуваат на површината од пневмококните видови и фосфорилхолинот, кој е присутен врз површината од многу микроби. Ц-реактивниот протеин врзан за овие лиганди врз површината од микробот поттикнува голтнување во фагоцитите и активира комплементно остварен напад врз микробот. (Изводот во клиничкиот фокус на стр. 66 ја објаснува врската помеѓу улогата на ЦРП во воспалението и срцевата болест). Маноза врзувачкиот лектин е акутно фазен протеин кој препознава молекулски обрасци кои содржат маноза и се сретнуваат кај микробите, но не и кај ’рбетниците. Исто така, маноза врзувачкиот лектин го насочува комплементниот напад кон микробите за кои е врзан.

Вродениот имунитет користи мноштво рецептори за откривање инфекција

Утврден е одреден број молекули кои препознаваат обрасци, неколку примери се појавуваат во табела 3-3. Можеби Толовидните рецептори се најзначајни од сите и се опишани подолу. Други се присутни во крвотекот и ткивните течности како што се растворливите, циркулирачки протеини или се врзуваат за мембраните на макрофагите, неутрофилите и стеблестите клетки. МВЛ или ЦРП, кои се објаснети погоре, се растворливи рецептори за препознавање обрасци кои врзуваат за површината на микробите, поттикнувајќи фагоцитоза или претворајќи го напаѓачот во можна цел за комплементно остварената лиза. Исто така друг разложлив рецептор од вродениот имун систем, липополисахарид врзувачкиот протеин (ЛВП), претставува значаен дел од системот кој препознава и сигнализира одговор кон липополисахаридот, дел од надворешниот клеточен sид на грам-негативната бактерија. НОД протеините (од нуклеотидно врзувачки олигомеризациски домен) се најновата група рецептори која се откри дека играат

ТАБЕЛА 3-3 Рецептори во вродениот имун систем

Рецептор (место)	Цел (извор)	Ефект на препознавање
Комплемент (крвен ток, ткивни течности)	Микробски делови од клеточниот ѕид	Активирање комплемент, опсонизација, лиза
Маноза врзувачки лектин (МВЛ) (крвен ток, ткивни течности)	Микробски јаглехидрати кои содржат маноза (клеточен ѕид)	Активирање комплемент, опсонизација
Ц-реактивен протеин (ЦРП) (крвен ток, ткивни течности)	Фосфатидилхолин, пневмокен полисахарид (микробски мембрани)	Активирање комплемент, опсонизација
Липополисахариден (ЛПС) рецептор;* Липополисахарид врзувачки протеин (ЛВП) (крвен ток, ткивни течности)	Бактериски липополисахарид (грам-негативни бактериски клеточни ѕидови)	Доставување до клеточната мембрана
Половидни рецептори (површина на клетка или внатрешните оддели)	Кај домаќинот не се сретнуваат микробски делови	Поттикнува вродени реакции
Рецептори од семејството НОД (внатреклеточни)	Бактериски делови од клеточниот ѕид	Поттикнува вродени реакции
ЧР - чистачки рецептори (клеточна мембрана)	Многу цели, грам-позитивни и грам-негативни бактерии, апоптотични клетки од домаќинот	Поттикнува фагоцитоза или ендоцитоза

* ЛПС се врзува за клеточната мембрана преку комплекс протеини кои вклучува ЦД14, МД-2 и SBP (ТЛР) (обично SBP4)
† *Н*уклеотидно врзувачки *о*лигомеризациски *д*омен

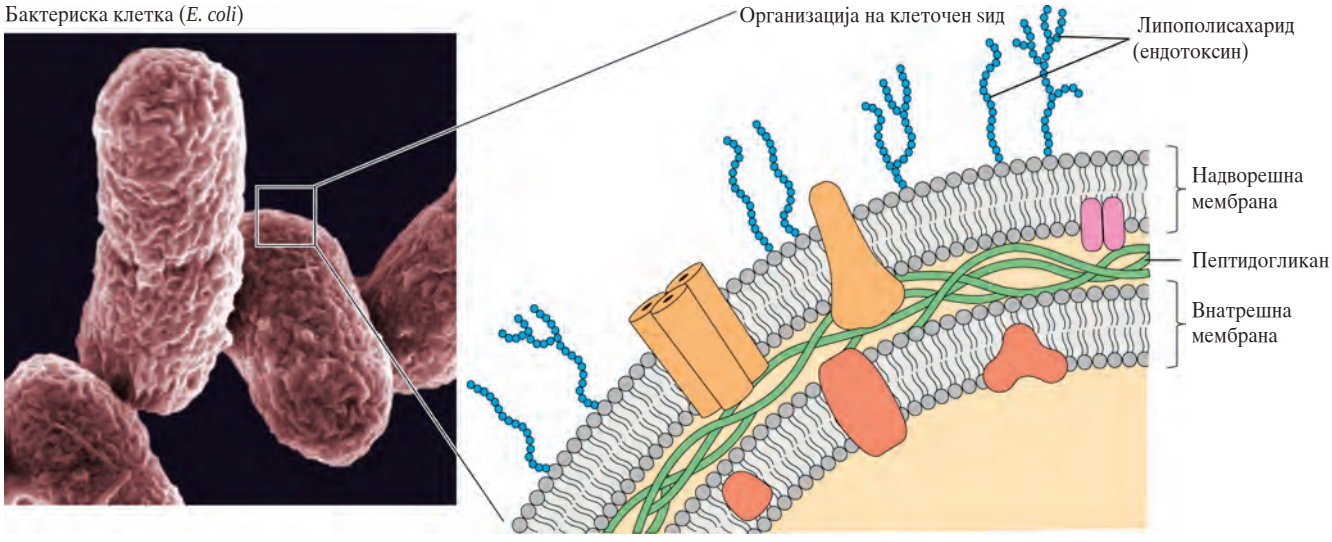


СЛИКА 3-8 Тешка габична инфекција кај овошната мува (боја) со онеспособувачка мутација за патеката на пренесување сигнал потребен за синтеза на антигабичниот пептид дрозомицин. *[Електронска микрографија адаптирана од B. Lemaitre et al., 1996, Cell 86:973; сопственост на J. A. Hoffman, University of Strasbourg.]*

улога во вродениот имунитет. Овие протеини се цитозолни, а два члена од оваа фамилија, НОД1 и НОД2, препознаваат продукти настанати од бактериските пептидогликани. НОД1 се врзува за трипептидните продукти од цепењето на пептидогликаните, а НОД2 препознаваат мурамилни депептиди, настанати со разградувањето на пептидогликаните од грам-позитивните бактериски клеточни ѕидови. Рецепторите кои препознаваат обрасци и се среќаваат врз клеточната мембрана вклучуваат чистачки рецептори (ЧР) (SR - чистачки рецептори) кои се присутни кај макрофагите и многу видови стеблести клетки. ЧР се вклучени во врзувањето и внесувањето грам-позитивни и грам-негативни бактерии како и фагоцитозата на апоптотичните клетки од домаќинот. Улогата и механизмите на чистачките рецептори се под активно истражување.

Половидни рецептори (Toll-like Receptors)

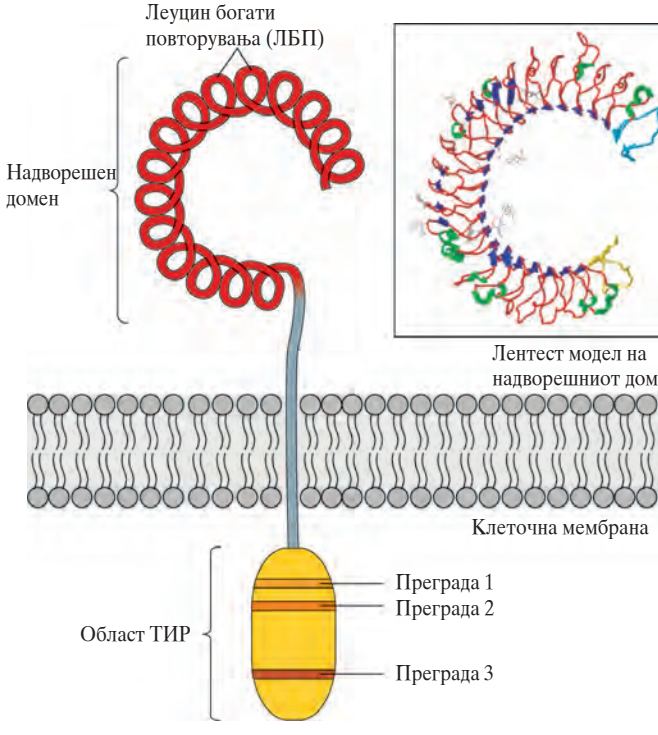
Протеинот Тол прво привлекол внимание во 80-тите години од дваесеттиот век, кога истражувачите во Германија откриле дека мувите кои се развиваат не можат да утврдат соодветна дорзално-вентрална оска без Тол. (*Тол,* што се однесува на бизарно помешаната анатомија на мутантските муви, значи „чуден“ на германски сленг). Тол претставува трансмембрански сигнално рецепторен протеин. Молекулите кои се поврзани со него познати се како **Половидни рецептори (ТВР)**. Три неодамнешни откритија направија експлозија во знаењето за централната улога во ТВР кај вродениот имунитет. Првото набљудување дојде од овошната мува. Во 1996 година, Џулс Хофман и Бруно Лемајтр откриј дека мутациите на Тол, за што претходно се знаеше дека функционираат при развојот на мувите, мувата ја прават високо осетлива за смртоносна инфекција со *Aspergillus fumigatus*, габа на кој видот на диви муви се имуни (слика 3-8). Овој значаен експеримент убедливо



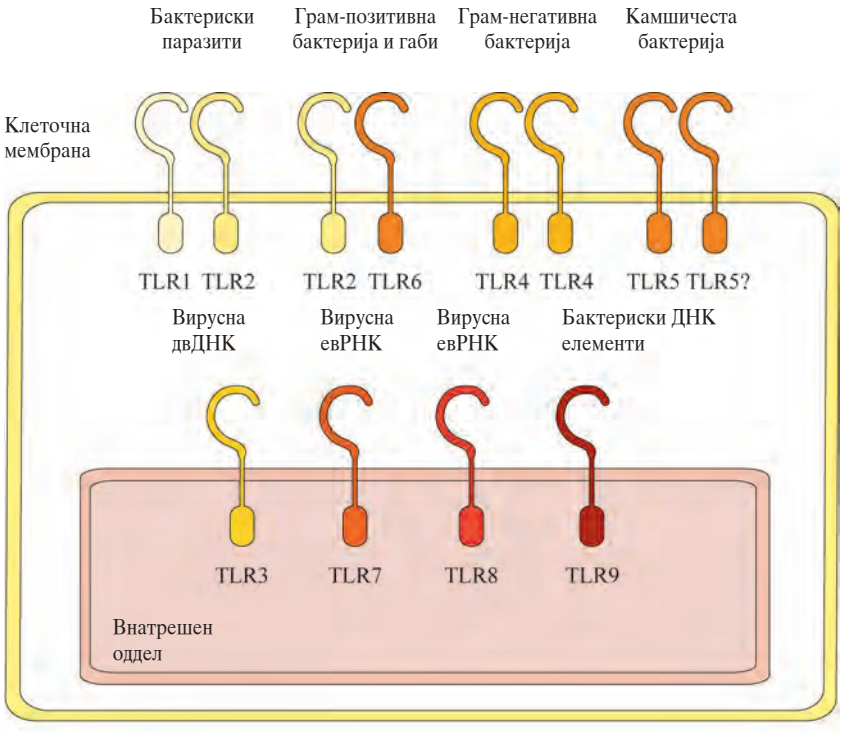
СЛИКА 3-9 **Липополисахарид (ЛПС) во клеточниот ѕид од *E. coli*.** ЛПС е моќен стимуланс на вродениот имунитет. [Фотографија од *Gary Gaugler/Visuals Unlimited*]

го прикажа значењето на имуните реакции поттикнати од патоген кај организамот на без'рбетниците. Една година подоцна, во 1997 година, Руслан Меџитов и Чарлс Џејнвеј откријa дека одреден човечки протеин, утврден по хомологијата помеѓу неговиот цитоплазматски домен и тој на Тол, го активира прикажувањето на имуно реактивните гени кога се трансфектира во хумана експериментална клеточна линија. Овој човечки протеин подоцна беше наречен ТВР4. Ова беше првиот доказ дека патеката на имуниот одговор беше сочувана помеѓу овошните муви и луѓето. Во 1998 година, доказ дека ТВР се дел од нормалната имунолошка физиологија на цицачите дојде од проучувањата со глушецот мутант спроведени во лабораторијата на Бурс Војтлер. Глушецот кој е хомозиогетен за *лпс* подрачјето беше отпорен кон липополисахарид (ЛПС), исто така познат како ендотоксин, кој доаѓа од клеточните ѕидови на грам-негативната бактерија (слика 3-9). Кај луѓето, порастот на ендотоксинот од тешка бактериска инфекција може да предизвика септичен шок, болест опасна за животот при која виталните органи како што се мозокот, срцето, бубрезите и црниот дроб може да откажат. Секоја година, околу 20000 луѓе умираат од септичен шок предизвикан од грам-негативните инфекции, така што зачудувачко беше тоа што одредени мутантски видови глувци се отпорни на фатални дози ЛПС. Испитувањето на ДНК откри дека *лпс* гените на глушецот кодираат мутантска форма на рецепторот во вид на Тол, ТВР4, кој од обичната форма се разликува само по една аминокиселина. Ова работа овозможи јасен приказ дека ТВР4 е незаменлив при откривањето ЛПС и се покажа дека ТВР навистина игра улога во нормалната имунофизиологија. За неколку години, работата на многу испитувачи покажа дека има многу ТВР. До сега, 11 се откриени кај луѓето и 12 кај глувците.

Толовидните рецептори се мембрански вгнездени протеини кои опфаќаат молекули кои делат заеднички структурен елемент во нивното вонклеточно подрачје, повторувачки сегменти од 24 до 29 амино-киселини содржат секвенца xLxxLxLx (x е која било аминокиселина, а L е леуцин). Овие структурни мотиви се наречени Леуцински богати повторувања (**ЛБП**, слика 3-10). Сите ТВР содржат неколку ЛБП, а подгрупа на ЛБП го создава вонклеточно лигандно врзувачко подрачје од ТВР. Внатреклеточниот домен од ТВР е наречено ТИР подрачје, од Тол/ИЛ-1 рецепторот, покажувајќи ја сличноста помеѓу цитоплазминте домени од ТВР и соодветните домени од рецепторот за ИЛ-1, значаен регулаторен молекул. Како што



СЛИКА 3-10 **Структура на Толовидниот рецептор (ТВР).** Толовидните рецептори имаат надворешно подрачје кое содржи многу леуцин богати повторувања (ЛБП), мембрански домен, и внатрешен домен наречен ТИР домен. Лигандно врзувачкото место на ТВР се наѓа во ЛБП. Доменот ТИР стапува во меѓудејство со ТИР домените од другите членови од ТВР сигнално преносна патека. Три високо зачувани секвенци од амино-киселини наречени преграда 1, 2 и 3 се неопходни за оваа меѓудејство и исто така претставуваат карактеристични особини на ТИР домените.



СЛИКА 3-11 Половидни рецептори и нивните лиганди. ТВР кои стапуваат во меѓудејство со вонклеточните лиганди се сместени во плазма мембраната. ТВР кои ги врзуваат лигандите создадени во клетката се локализирани на внатреклеточните мембрани. Одредени ТВР формираат димери со други ТВР. Димерите ТВР4 димеризираат сами со себе (а можеби исто и ТВР5). Може да се откријат други ТВР кои може да функционираат како мономерски или димерски партнери.

ТВР	Лиганди	Целни микроби
ТВР1	Триацил липопептиди	Микобактерии
ТВР2	Пептидогликани	Грам-позитивна бактерија
	ГПИ врзани протеини	Трипанозоми
	Липопротеини	Микобактерии
	Зимосан	Квасни и други габи
ТВР3	Двоверижна РНК (двРНК)	Вируси
ТВР4	ЛПС	Грам-негативна бактерија
	Ф протеин	Респираторно синцицијален вирус (РСВ)
ТВР5	Флагелин (камшичест протеин)	Бактерија
ТВР6	Диацил липопептиди	Микробактерија
	Зимосан	Квасци и габи
ТВР7	Едноверижна РНК (евРНК)	Вируси
ТВР8	Едноверижна РНК (евРНК)	Вируси
ТВР9	ЦпГ неметилиирани динуклеотиди	Бактериска ДНК
	Динуклеотиди	
	Инфекција со херпес вирус	Одредени херпес вируси
ТВР10, 11	Непознато	Непознат

е прикажано на слика 3-10, ТИР домените имаат три подрачја, доста запазени помеѓу сите членови од фамилијата ТИР, наречени прегради 1, 2 и 3, кои служат како врзувачки места за внатреклеточните протеини кои учествуваат во сигналните патеки посредувани од ТВР.

Утврдени се функциите за девет од 11 ТВР присутни кај луѓето. Изненадувачки, секој ТВР открива различна група на високо конзервирани (сочувани) патогени молекули. Целосната постава ТВР присутни кај глувците и луѓето може да открие мноштво вируси, бактерии, габи и дури одредени протозои. Поставата на хумани ТВР чии функции и лиганди се утврдени се прикажани на слика 3-11. Се забележува дека лигандите кои ги врзуваат ТВР се незаменливи делови од патогените: вирусот не може да функционира без неговата нуклеинска киселина, грам-негативната бактерија не може да се создаде без нејзините sидови кои содржат ЛПС, а габите мора да го вградат полисахаридот

зимосан во нивните клеточни ѕидови. Едноставно патогените немаат можност да мутираат во облици кои ги немаат неопходните градежни блокови за да бидат препознати од ТВР. Како што е прикажано на слика 3-11, ТВР што препознаваат вонклеточни лиганди се наоѓат врз површината од клетките, додека оние кои препознаваат внатреклеточни лиганди, како што се вирусната РНК или делови од бактериска ДНК, се локализирани во внатреклеточните оддели.

Неколку Толовидни рецептори, ТВР 1, 2, 4 и 6, работат како димери (во одредени случаи, уште протеини се вклучени во создадените комплекси). Еден од оваа група, ТВР4, се спојува сам со себе (создавајќи хомодимер), а другите создаваат комплекси со други ТВР (хетеродимери). Уште треба да се бараат партнери за ТВР 3, 7, 8 и 9, кои може да се однесуваат како мономери, а одредени податоци покажуваат дека ТВР5 може да опстои како хомодимер.

Спојувањето на ТВР влијае врз нивната специфичност. ТВР2 споен со ТВР6 се врзува за широк опсег молекулски класи од микробите, вклучувајќи пептидогликани, зимосани и бактериски липопептиди. Меѓутоа, кога ТВР1 ќе се спои со ТВР2 препознава бактериски липопротеини и некои карактеристични површински протеини од паразитите. ТВР4 претставува клучен рецептор за повеќето бактериски липополисахариди. ТВР5 препознава флагелин, главниот сруктурен дел од бактериското камшиче (флагела). ТВР3 препознава двоверижна РНК (двРНК) која се појавува во клетките по инфекција со вирусна едноверижна РНК, а вирусната едноверижна РНК (евРНК) е лигандот за ТВР8 и ТВР7. За крај, ТВР9 препознава и поттикнува одговор за ДНК секвенцата ЦпГ (неметилиран цитозин поврзан за гванин). Неметилираните секвенци, како овој, се во изобилството во микробската ДНК и поретко кај ДНК од ’рбетниците.

Видови клетки во вродениот имунитет

Реакциите на вродениот имунитет обично го вклучуваат учеството на многу различни видови клетки. Клучните играчи се неутрофилите, макрофагите, моноцитите, клетките природни убијци и стеблестите клетки. Улогите на главните видови клетки во вродениот имунитет се прикажани на слика 3-12.

Неутрофилите се специјализирани за фагоцитоза и убивање

Неутрофилите се првите клетки кои се преселуваат од крвта во областите на инфекција и пристигнуваат со широка низа на оружја кои ќе ги употребат против инфекциските агенси. Тие се неопходни за вродената одбрана против бактериите и габите. Иако фагоцитозата е главното оружје на неутрофилите против напаѓачите и други механизми придонесуваат за задржување и отстранување на патогени. Неутрофилите прикажуваат неколку Толовидни рецептори на нивните структури. ТВР2 им овозможува да ги откриваат пептидогликаните од грам-позитивната бактерија, а ТВР4 ги открива липополисахаридите присутни во клеточните ѕидови од грам-негативните микроби. Дополнително, постојат и други рецептори што препознаваат обрасци врз површината од неутрофилите.

Иако неутрофилите се способни за директно препознавање патогени, врзувањето и фагоцитозата значително се подобруваат кога микробите се означени (опсонизирани) од страна на прикаченото противтело, комплементните компоненти, или од двете. Дури и во отсуство на противген-специфичните противтела, комплементните протеини во серумот може да наталожат протеински делови врз површината од напаѓачките патогени кои го олеснуваат врзувањето со неутрофилите, по што следи брза фагоцитоза.

Кај неутрофилите, моноцитите и макрофагите, две дополнителни противмикробски средства, окисдациски и неоксидациски напад, придонесуваат за распространета, координирана и високо ефективна одбрана. Кислородната гранка ослободува реактивни кислородни соединенија (РКС) и реактивни азотни соединенија (РАС). Реактивните кислородни соединенија се создаваат од страна на **NADPH фагозомната оксидаза (фокс)** ензимиски комплекс. Фагоцитираните микроби се внесуваат во вакуоли наречени фагозоми, каде реактивните кислородни соединенија се користат како микробициди. Кислородот создаден од фагоцитите поддржува создавање на РКС со фокс ензимот што создава метаболичен процес познат како **респираторен прасок (експлозија)**, при кој консумирањето кислород од



Вид на клетка	Неутрофили	Макрофаги	Стеблести клетки	Клетките природни убијци
Функција	Фагоцитоза Реактивни кислородни и азотни соединенија Противмикробски пептиди	Фагоцитоза Воспалителни посредници Прикажување противгени Реактивни кислородни и азотни соединенија Цитокини Комплементни протеини	Прикажување противгени Костимулаторни сигнали Реактивни кислородни соединенија Интерферон Цитокини	Разградување на вирусно заразени клетки Интерферон Макрофагна активација

СЛИКА 3-12 Главните бели клетки од вродениот имунитет. Моноцитите, не се прикажани, имаат многу од истите способности како макрофагите.

КЛИНИЧКИ ФОКУС

Ц-реактивниот протеин е клучен означувач за кардиоваскуларен ризик

Кардиоваскуларната болест[1] е водечкиот убиец во САД и во Европа и само инфекциските болести предизвикуваат повеќе смрт во светот. Најчестата причина за кардиоваскуалрната болест е атеросклерозата, постепена акумулација на липидни и фиброзни елементи во артериите. Атеросклерозата е комплексна болест сè уште далеку од целосно разбирање. Меѓутоа, растечкиот број докази го идентифицира воспалението како значаен фактор за напредувањето на атеросклерозата. На врската меѓу воспалението, имуниот систем и артериската болест прв пат беше укажано од проучувањата кај животните кои се хранеа со храна која поттикнува атеросклероза, а потоа ѕидовите на артериите беа испитани и споредени со оние од контролните животни. Светлосната микроскопија откри дека артериските ѕидови од контролите немаа бели клетки, додека многу бели клетки беа пронајдени цврсто закачени за артериските ѕидови од животните кои се хранеа со храна која поттикнува атеросклероза. Ова беше изненадувачко бидејќи артериското крвен ток обично спречува цврсто прилепување на бели клетки за артериските ѕидови. Понатамошните проучувања покажаа дека белите клетки се значајни во развивањето на атеросклеротична наслага (плака). Во почетните фази од болеста, моноцитите се прилепуваат за артериските ѕидови и се преселуваат низ слојот ендотелни клетки и се диференцираат во макрофаги. Чистачките рецепторите во макрофагите ги врзуваат и ги внесуваат липопротеинските честички, со насобирање (акумулирање) липидни капки и попримаат ѝпенестѿ изглед. Овие пенести макрофаги лачат протеолитични ензими, реактивни кислородни соединенија (РКС) и цитокини. Протеазите го разградуваат локалниот вонклеточен матрикс, кој претрпува неколку ремоделирања при процесите на возобновување. Цитокините и РКС го засилуваат воспалението, а повеќе клетки и липиди се преселуваат во новосоздадената наслага, оставајќи ја артеријата стеснета и поосетлива на блокада. Блокираните артерии во срцето се наречени миокардни инфаркти. Тие го попречуваат крвотекот во подрачјата од срцето, спречувајќи го кислородот да дојде во мускулите низ блокираниот сад - срцев удар. Во значителен број од случаи, првиот срцев удар е смртен (фатален). Затоа корисно е за да се идентификуваат лицата со ризик од прв срцев удар за да можат да се препишат превентивни лекувања и промени во животниот стил.

Поврзаноста меѓу воспалението и создавањето наслага истражувачите ги доведе до тоа да ги испитаат воспалителните обележувачи како предвидувачи за кардиоваскуларни настани. Неодманешното испитување кај мажите и жените ги измери крвните нивоа на неколку воспалителни обележувачи, вклучувајќи го интерлеукинот-6 (ИЛ-6), растворливи рецептори за тумор некрозниот фактор алфа (ТНФ-алфа) и акутно фазниот протеин ЦРП. Во дополнение на воспалителните обележувачи кои само што ги споменавме, испитувањето исто така го разгледа потрадиционалниот фактор на ризик, холестеролот и поврзаните обележувачи ЛПНГ (ЛДЛ) и ЛПВГ (ХДЛ)2. Ризикот поврзан со воспалителните обележувачи беше спореден со ризикот на обележувачите поврзани со холестерол. Беа земени детални медицински истории, а податоците беа приспособени со ризикот поврзан со медицинската историја и факторите во животниот стил за кои е познато дека го зголемуваат ризикот од срцева болест:

- Родителска историја за коронарна срцева болест пред возраст од 60 години
- Претерано пиење алкохол
- Пушење
- Дебелина (гојност)
- Несоодветна физичка активност
- Хипертензија (висок крвен притисок)
- Дијабет

клетката се зголемува за неколку пати. РКС вклучува смеша од супероксдиран анјон ($\bullet O_2^-$), водородна пероксидаза (H_2O_2) и хипохлорна киселина (HOCl), активен дел од домашното белило. Создавањето на РКС од неутрофили и макрофаги е поттикнато со фагоцитозата, која ја активира NADPH фагозомната оксидаза. Потоа ензимскиот комплекс создава супероксид (слика 3-13). Другите високо токсични реактивни кислородни соединенија (водороден пероксид и хипохлорна киселина) се создаваат од супероксидот.

Како што е прикажано на слика 3-13, реакцијата на азотниот оксид со супероксидот создава реактивни нитрогенски соединенија. Оттука, респираторниот прасок придонесува за создавањето и на РКС и РАС. Значењето на противмикробската одбрана од NADPH фагозомната оксидаза и нејзините продукти, РКС и РАС, е прикажано со значително зголемена осетливост кон габични и бактериски инфекции кои се забележуваат кај пациенти кои се жалат на **хронична грануломатозна болест**, што е предизвикано од дефект во способноста на фокс да создава оксидизирани соединенија.

Одредени патогени, како што е квасната габа *Candida albicans* и бактерија *S. aureus*, не се убиваат ефикасно само со оксидативен напад. Вклучувањето на неоксидативните одбрани во арсеналот на неутрофилите (и макрофагите) доста ја зголемува нивната одбрана против микробите. Неоксидарните одбрани се развиваат со фузирањето на неутрофилните зрнца со фагозомите, додавајќи го нивниот товар од противмикробски пептиди и протеини во мешавината. Меѓу протеините е бактерицидно/пропусно зголемувачки протеин (БПЗ), извонреден 55-кДа протеин кој се врзува со висок афинитет за ЛПС во ѕидовите од грам-негативната бактерија и предизвикува оштетување на бактериската внатрешна мембрана. Други неутрофилни гранулни агенси вклучуваат ензими (на пример, протеаза и лизозим) што предизвикува хидролитично нарушување на неопходните структурни делови од микробите. Противмикробските пептиди вклучуваат дефензини и кателицидини, и катјонски пептиди со широк опсег противмикробска активност.

Макрофагите развиваат бројни противпатогени механизми

Макрофагите во мирувачка состојба се активираат од мноштво стимули. ТВР врз површината од макрофагите пр-

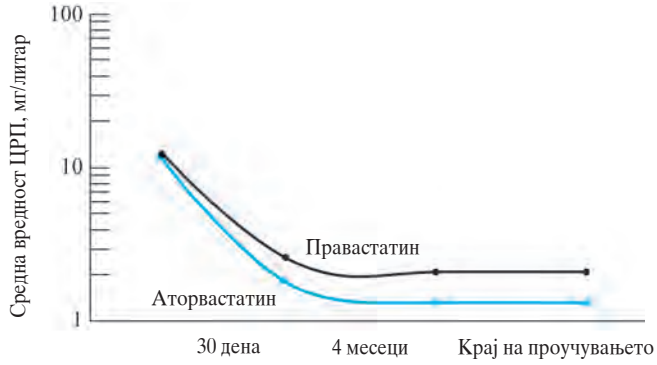
Групата која се проучуваше беше следена од 6 до 8 години и беа регистрирани бројот на несмртни и смртни срцеви напади. Од обележувачите на воспалението кои се проучуваа, само ЦРП е поврзан со повисок ризик од коронарна срцева болест. Споредувајќи ја предвидливата (предикативната) вредност за нивоата на ЦРП кај пациенти со различни односи на (вкупен холестерол)/(ЛПВГ-врзан холестерол), овој воспалителен означувач се поврза со зголемениот ризик. Посебно, проучувањето откри дека високите нивоа на ЦРП се поголем фактор на ризик за пациенти со пониски (вкупен холестерол)/(ЛПВГ-врзан холестерол) односи отколку пациенти со повисоки односи.

Последнава деценија бележи зголемена употреба на класа холестерол смалувачки лекови познати како статини. Овие лекови ја попречуваат биосинтезата на холестеролот додека исто така го намалуваат воспалението. Неодманешното истражување проучуваше дали статините ги намалиле нивоата на ЦРП и дали пациентите со акутен коронарен синдром кои имаа намалени ЦРП вредности како резулатат од терапијата со статин ќе имаат помал ризик од друг срцев напад отколку оние пациенти кои имале повисоки ЦРП нивоа. Испитувањата откриј дека земањето статини создаде импресивно намалување на нивоата на ЦРП. Испитувањето исто така откри дека оние пациенти кај кои лекувањето со статини ги намали ЦРП нивоата до 2 мг/литар или помалку, стапката на срцев удар беше значително намалена отколку кај пациенти каде вредностите останаа над ова ниво и имаше голема паралела помеѓу ниските ЦРП и ниските нивоа на ЛПВГ (ЛДЛ).

Докази за поврзаноста помеѓу кардиоваскуларната болест и воспалението се собираа многу години. Во поглед на утврдената улога на ЦРП како агенс на вродениот имунитет и посредник на воспалението, наодот дека нивоата на ЦРП се полезни при проценување на ризикот од срцева болест ја засилија оваа хипотеза. Наодот дека терапијата со статини, првично воведена да ги намали нивоата на холестеролот, исто така го намали и нивото на ЦРП како неочекувана добивка, која ја поддржува хипотезата која ги поврзува воспалението и кардиоваскуларната болест.

[1] Кардиоваскуларното заболување вклучува удари и миокардни инфаркти или срцеви удари.

[2] ЛПВГ (ХДЛ), липопротеин со висока густина, често погрешно нарекуван добар холестерол и ЛПНГ (ЛДЛ), липопротеин со ниска густина, често нарекуван лош холестерол, претставуваат комплекси од холестерол и протеин. Зголемениот ЛПНГ (ЛДЛ) е ризичен фактор за кардиоваскуларно заболување.



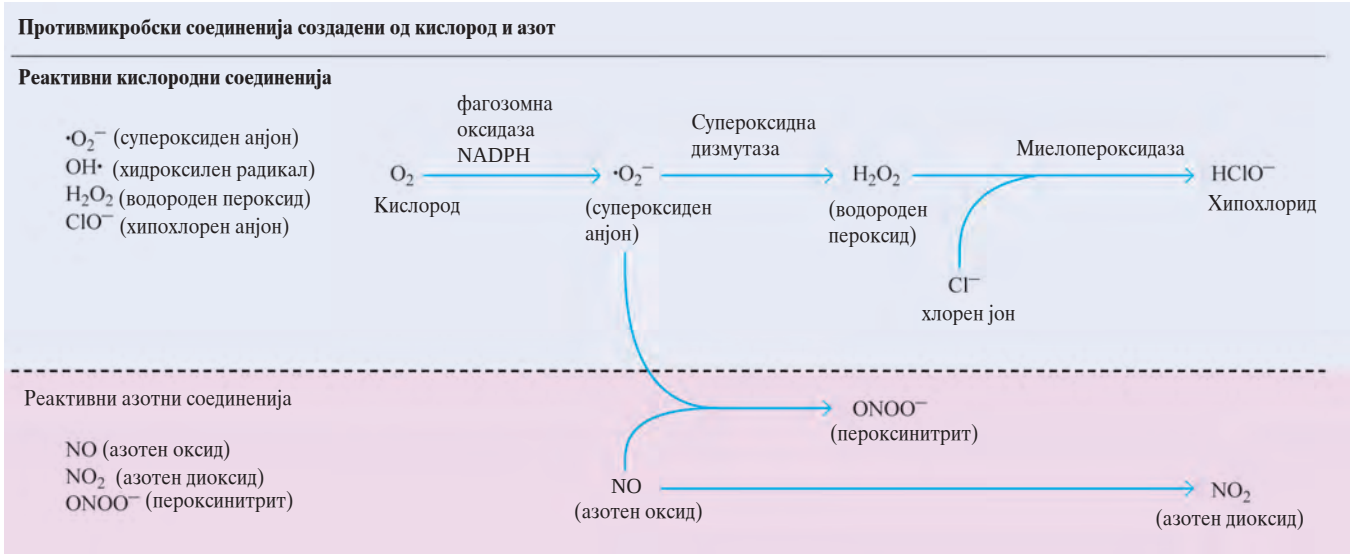
Лекувањето со статин ги намали серумските нивоа на Ц-реактивниот протеин (ЦРП). Лицата беа тестирани со некој од двата статини, правастатинот и аторвастатинот. Намалувањето на нивото на ЦРП беше извонредно и долготрајно. *[Адаптирано од P.M. Ridker et al., 2005, Mew England Journal of Medicine **352**: 20]*

епознаваат микробски делови, како што се ЛПС, пептидогликани и флагелини, а цитокинските рецептори откриваат цитокини ослободени од другите клетки како дел од воспалителниот одговор. При активирањето, макрофагите извршуваат поголема фагоцитна активност, зголемена способност за убивање на внесените макроби и лачат посредници на воспалението. Исто така прикажуваат повисоки нивоа класа 2 ГТК молекули, кои им прикажуваат противген на Тпо клетки - друга значајна точка во соработката помеѓу вродениот и стекнатиот имун систем. Голтнатите патогени во макрофагите ефикасно се убиваат во фагозомите од многу слични микробицидни агенси како кај неутрофилите, со улоги на реактивни кислородни соединенија и реактивните азотни соединенија (види слика 3-13). Дополнителното хемиско оружје во макрофагите и неутрофилите е детално проучено. По активацијата, посредувана од рецепторите како што се ТВР или изложувањето на соодветни цитокини, фагоцитите прикажуваат високи нивоа на **индуцибилна нитро оксидна синтетаза (иНОС)**, ензим кој го оксидира Л-аргининот за да даде Л-цитрулин и нитро оксид (NO).

$$\text{L-аргинин} + O_2 + \text{NADPH} \xrightarrow{\text{iNOS}} \text{NO} + \text{L-цитрулин} + \text{NADP}$$

Ензимот е наречен *поттикнувачки (индицибилен)* НОС за да се разликува од другите форми ензими кои се присутни во телото.

Азотниот оксид има моќна противмикробска активност и може да се комбинира со супероксидот за да даде уште помоќни противмикробски супстанции. Неодамнешниот доказ покажува дека азотниот оксид и супстанциите изведени од него се одговорни за поголемиот дел од анимикробската активност на макрофагите против бактериите, габите, паразитските црви и протозоата. Ова беше изонредно прикажано со употреба на глушец во кој гените кои ја кодираа поттикнувачката азотно-окислородна синтетаза беа отстранети. Овој глушец изгуби голем дел од неговата способност да ги контролира инфекциите од таквите внатреклеточни патогени како што е *Mycobacterium tuberculosis*, бактерија одговорна за туберколозата и *Leishmania major*, внатреклеточен протозоа паразит кој предизвикува лаишманијаза.



СЛИКА 3-13 Создавање противмикробски реактивно кислородни и реактивно азотни соединенија. Во границите на неутрофилите и макрофагите, неколку ензими молекуларниот кислород го претвораат во високо реактивно кислородно соединение (РКС) кое има противмикробска активност. Еден од продуктите на оваа патека, супероксидниот анјон, може да стапи во меѓудејство со реактивните азотни соединенија (РАС) за да создаде пероксинитрит, друг РАС. НО исто така претрпува оксидација за да создаде РАС азотен диоксид.

Покрај убивањето и чистењето на патогени, макрофагите исто така играат улога во координацијата со другите клетки и ткива од имуниот и други поддржувачки системи. Тие, ова влијание го извршуваат преку излачување бројни цитокини, вклучувајќи ги ИЛ-1, ТНФ-алфа и ИЛ-6. Овие цитокини се посебно ефикасни при поттикнувањето на воспалителни реакции, иако секој од овие агенси има мноштво ефекти. На пример, ИЛ-1 активира лимфоцити, а ИЛ-1, ТНФ-алфа и ИЛ-6 поттикнуваат грозница преку влијание врз терморегулаторниот центар во хипоталамусот. Овие цитокини исто така го поттикнуваат акутно фазниот одговор објаснет подоцна во Поглавје 13. Дополнително на цитокините, активираните макрофаги создаваат комплементни протеини кои поттикнуваат воспаление и помагаат во отстранувањето на патогени. Иако главното место за синтеза на комплементните протеини е црниот дроб, овие протеини исто така се создаваат и во макрофагите и во другите видови клетки.

КПУ се значајна прва линија за одбраната од вируси и овозможуваат клучен активирачки сигнал за другите клетки

Клетките природни убијци (КПУ), претставуваат прва линија на одбрана против многу различни вирусни инфекции. Со користење на системот опишан во Поглавје 14 кој им овозможува да ги разликуваат заразените од незаразените клетки од домаќинот, КПУ бараат и убиваат заразени клетки, кои се потенцијални извори на голем број дополнителни инфекциски вирусни честици. Разрушувањето посредувано од КПУ ефективно ја отстранува инфекцијата или ја држи на око за неколку дена, кога стекнатиот имун систем на инфекцијата дејствува со вирусно специфични цитотоксични Т клетки и противтела. Сепак, некои вирусни инфекции веројатно целосно се чистат од вродените механизми како што се КПУ без помош од стекнатиот имунитет. Активираните клетки природни убијци се исто така моќни создавачи на мноштво цитокини кои ги регулираат другите клетки од вродениот систем и при тоа ги обликуваат и модифицираат телесните моментални и идни одбрани против патогенот. Се забележува дека КПУ создаваат интерферон-гама и ТНФ-алфа, два моќни и различни имунорегулаторни цитокини. Овие два цитокина може да го стимулираат зреењето на стеблестите клетки, клучните координатори на вродениот и стекнатиот имунитет, објаснети во следното поглавје. Интерферонот-гама претставува исто така моќен посредник за активирање на макрофагите и значаен регулатор на развојот на Тпо клетки, со што се утврдува директна врска меѓу КПУ и стекнатиот систем.

Стеблестите клетки следат патогени и поттикнваат стекнати имуни реакции со активирање Т клетки

Стеблестите клетки овозможуваат поширока поврзаност меѓу вродениот и стекнатиот имунитет отколку другите клетки во вродениот имунитет со меѓудејство помеѓу Тпо и Тцт клетки. Зрелите стеблести клетки можат да ги активираат и Тпо и Тцт клетките, бидејќи тие можат да прикажат надворешни противгени било на ГТК класа 1 или ГТК класа 2 и доставуваат моќни костимулаторни сигнали до Т клетките. Како агенти во вродениот имунитет, незрелите стеблести клетки користат различни РПО, посебно ТВР, за да ги препознаат патогените. Препознавањето предизвикува активацијата на стеблестите клетки, кои потоа претрпуваат зреење кое вклучува зголемено создавање ГТК класа 2 молекули и костимулаторни молекули за активирање Т клетки (како повеќето јадрени клетки, стеблестите клетки нормално прикажуваат класа 1 ГТК молекули). Потоа стеблестите клетки се преселуваат во лимфоидните ткива, каде го прикажуваат противгенот и на ГТК класа 2 - зависни Т

помагачки (Тпо) клетки и ГТК класа 1 -зависни Т цитотоксични (Тцт) клетки.

Реакцијата на стеблестите клетки не е ограничена само на витално значајната улога на комуникацијата меѓу вродениот и стекнатиот имунитет. Овие различни клетки исто така започнуваат директен напад врз патогените кои ги откриваат. Стеблестите клетки се способни за создавање на реактивните кислородни соединенија и азотен оксид, а исто така се верува дека создаваат противмикробски пептиди. Патогените кои претрпуваат фагоцитоза од стеблестите клетки, се убивани од многу слични соединенија кои ги користат макрофагите. Дополнително, постои подгрупа стеблести клетки, плазмацитоидни стеблести клетки, кои се моќни создавачи на интерферони тип 1, фамилија антивирусни цитокини која поттикнува состојба кај вирусно заразените клетки и други соседни клетки која не е компитабилна со репликацијата на вирусите (дејствуваат противвирусно). Критична активност на вирусите е прикажување на нивните геноми во клетките од домаќинот. Ангажирањето на ТВР во плазмацитоидните стеблести клетки со туѓа нуклеинска киселина поттикнува создавање тип 1 интерферони кои ја блокираат репликацијата на вирусите. Други подгрупи стеблести клетки создаваат интерлеукин-12, ТНФ-алфа и ИЛ-6, моќни поттикнувачи на воспалението. Еден од оваа група, ИЛ-16, игра главна улога при обликувањето Тпо одговор во стекнатиот имунитет.

Патеки за пренесување на сигналот

Рецепторите на површината од клетката ги примаат почетните сигнали кои активираат комплекс реакции од вродениот имун систем. Следниот чекор, пренесувањето сигнали до внатрешноста на клетката, или **пренесување на сигналот**, е универзална тема во биолошките системи и област на интензивно истражување во многу полиња надвор од имунологијата. Реакцијата на сигналите бара три елементи: самиот сигнал, рецептор и **патека за пренесување на сигналот** која детекторот го поврзува со ефекторните механизми.

Сигнал→рецептор→пренесување на сигналот→ефекторен механизам

Оваа општа патека е прикажана на слика 1-6.

Во случајот со вродениот имунитет, сигналот ќе биде микробски продукт, рецепторот ќе биде РПО во леукоцитот, а сигналот ќе се пренесе со меѓудејство со специфичните внатреклеточни молекули. Ефекторниот механизам - дејството кое се случува како резултат од сигналот - доведува до отстранување на напаѓачкиот организам. Сигнализирањето и неговите последици во имунологијата, е тема која се повторува. Некои општи особини на патеките за пренесувањена сигналот се објаснети овде, придружени со пример за пренесување на сигналот преку ТВР.

ТВР сигнализирањето е типично за патеките за сигнално пренесување

ТВР и нивните улоги во вродениот имунитет се откриј неодамна, сепак главните патеки за пренесување на сигналот кои ги користат овие рецептори веќе беа разработени. Овде ќе ги разгледаме сигналните патеки (слика 3-14) кои се користат од страна на неколку ТВР, кои може да служат како пример за сигнални патеки од други рецептори во вродениот имунитет наведени во табела 3-3, каде сите од нив следат сличен облик. Патеката опишана долу резултира со поттикнување на многу уникатни карактеристики на вродениот имунитет, вклучувајќи го создавањето на воспалителни цитокини и хемокини, создавањето на противмикробски пептиди итн.

- *Започнување меѓудејство на сигнал со рецептор*: Микробските продукти се врзуваат за вонклеточниот дел од ТВР (види слика 3-10). На цитоплазминатa страна, одделен протеински домен содржи високо конзервирани ТИР структурни мотиви кои се наоѓаат кај сигналните молекули од животните и растенијата. ТИР доменот понудува врзно место за други делови од патеката.

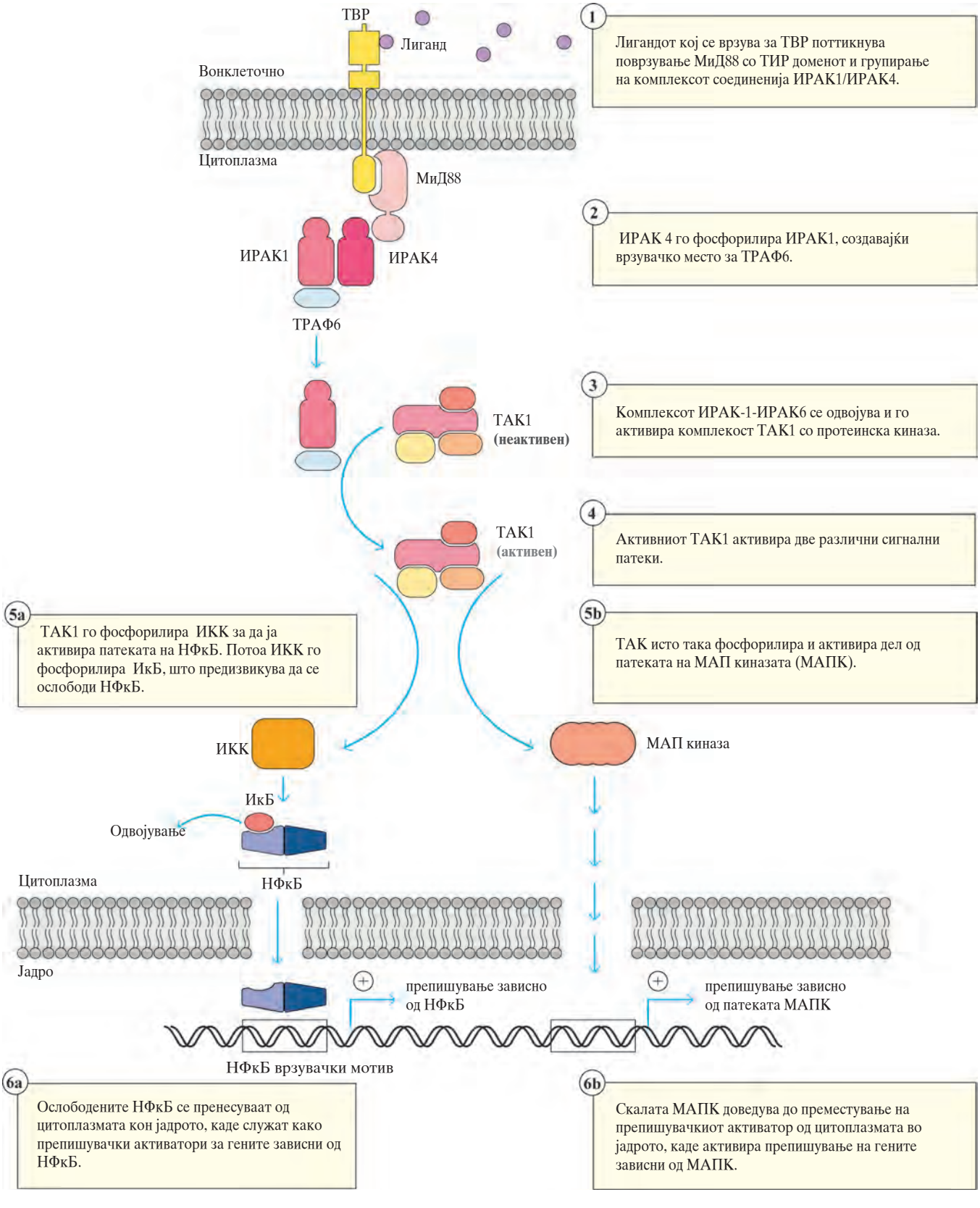
- *Сигнално поттикнато групирање на сигналните делови / вклученост на адапторниот молекул*: Адапторни протеини, кои самите содржат ТИР меѓудејствуваат со ТИР домените од ТВР. Најчест адапторен протеин за ТВР е МиД88, кој го поттикнува поврзувањето на 2 протеински кинази, ИРАК1 и ИРАК4.

- *Фосфорилација поттикната од протеинска киназа*: Протеинската киназа ИРАК4, од комплексот ИРАК1: ИРАК4, го фосфорилира неговиот партнер ИРАК1. Ново закаченият фосфат овозможува прикотвено место на ИРАК1 заТРАФ6, кој се врзува и потоа се одвојува во комбинација со ИРАК1 за да формира меѓусоединение ИРАК1: ТРАФ6. Друга протеинска киназа, ТАК1, се придружува кон оваа група со неколку други протеини, доведувајќи до активирање ТАК1 киназната активност.

- *Започнување ензимска скала (каскада)*: ТАК1 е значаен во патеката бидејќи неговата протеинско киназна активност му овозможува да ја изврши активацијата, поттикната од фосфорилацијата, на два други сигнални преносни модули. Еден од нив е митоген-активираната протеинска киназна (МАР киназа) патека, а другата е НФкБ патека (види долу). МАП киназните патеки се сигнално преносни ензимски скали кои се сретнуваат кај многу видови клетки и се сочувани низ еукариотите преку габите до луѓето. Крајниот продукт на скалата навлегува во јадрото и поттикнува фосфорилација на еден или повеќе транскрипциски фактори, кои потоа влијаат врз клеточниот циклус или врз клеточното диференцирање.

ТАК1 исто така ја фосфорилира протеинската киназа ИКК, што претставува клучен чекор за активирањето на НФкБ патека. НФкБ е моќен транскрипициски фактор чија активност е попречена од нефосфорилираната форма од цитоплазмен протеин, ИкБ. НФкБ кој се врзува за нефосфорилираниот ИкБ се разградува во цитоплазмата. ИКК го фосфорилира ИкБ, што предизвикува ослободување НФкБ, кој потоа може да се пресели во јадрото.

НФкБ во јадрото започнува препишување на многу гени неопходни за ефекторните функции во вродениот имунитет. Кај 'рбетниците, НФкБ-зависните патеки создаваат цитокини, атхезивни молекули и други ефектори од вроденият имун одговор. НФкБ исто така игра улога во некои клучни патеки за сигнално пренесување во Т и Б клетките и затоа е значаен и за стекнатиот имунитет.



СЛИКА 3-14 **Типична ТВР патека за пренесување на сигналот.** Кратенките: МиД88, миелоиден диференциски првично-реактивен протеин 88. ИРАК, киназа поврзана со ИЛ-1Р. ИЛ-1Р, интерлеукин-1 рецептор. ТРАФ6, рецептор со туморно некроз-ен фактор поврзан со фактор 6. ТАК1, киназа 1 активирана од трансформирачки фактор на пораст-бета, МАПК, митоген активирана протеин киназа. ИкБ, инхибитор на јадрениот фактор НФкБ. ИКК, киназа за ИкБ.

Активирањето на TBP сигналните патеки има многу ефекти. Тоа го поттикнува прикажувањето на гените кои придонесуваат за воспалението, поттикнува промени во противген прикажувачките клетки што ги прави поефикасни при прикажувањето на противгенот и предизвикува синтеза и изнесување на меѓуклеточни сигнални молекули кои влијаат врз однесувањето на белите клетки и другите клетки. Ангажирањето на TBP може да ја зголеми фагоцитната активност на макрофагите и неутрофилите и да ја промени нивната физиологија на начини кои ја зголемуваат нивната способност за убивање и отстранување патогени. Кај без'рбетниците, сигнализирањето на TBP активира мноштво ефективни системи од имунитет. Поголемиот број, но не сите, TBP употребуваат сигнални патеки кои се прикажани на слика 3-14. TBP3 употребува патека која е независна од МиД88, а TBP4 ги користи и двете патеки кои се објаснети погоре и МиД88-независните патеки кои ги користи TBP3.

Сеприсутност на вродениот имунитет

Одлучната потрага на противтела, Т и Б клетки во организмите од видовите кај без'рбетниците не успеа да пронајде какви било траги од овие уникатни карактеристики на стекнатиот имунитет. Но и покрај нивната истакнатост кај имуните системи на 'рбетниците, би било грешка да се заклучи дека овие извонредни молекули и различни клетки се неопходни за имунитетот. Внатрешните простори на организмите кои се различни како морските урохордати (хордат без 'рбет), овошната мува и доматот не содржат непроверени микробски популации. Деталните истражувања на овие организми и многу други претставници на без'рбетничките видови откри добро развиени системи кај вродениот имунитет. Доказите кои се собираат водат кон заклучок дека одреден систем од имунитетот ги заштитува сите повеќеклеточни организми од микробска инфекција и злоупотребување. Геномот на морскиот урохордат, *Ciona intestinalis* (слика 3-15а), кодира многу гени поврзани со вродениот имунитет, вклучувајќи ги и оние комплементновидни лектини и половидни рецептори. Кај овошните муви, патеката која вклучува член на НФкБ фамилијата е поттикната од грам-негативните бактериски инфекции, што води до создавање диптерицин, моќен противбактериски пептид. Во додаток на овие патеки, *Drosophilia* и други артроподи имаат многу други стратегии за вродениот имунитет, кои го вклучуваат активирањето на профенолоксидазните скали што доведува до складирање на меланинот околу напаѓачките организми. Доматот, *Lycopersicon esculentum* (слика 3-15б), како и другите растенија, развил група вродени имуни одбрани за да се заштити самиот против инфекција. Ова вклучува создавање кислороден прасок, покачување на внатрешната pH вредност, локализирана смрт на заразените подрачја и поттикнување мноштво протеини, вклучувајќи ензими кои можат да ги разградат ѕидовите од напаѓачките габи (читинази) или бактерии (алфа-1,3 глуканаза). Растенијата исто така реагираат на инфекција преку создавање мноштво различни противмикробски пептиди, исто како и мали непептидни органски молекули, како што се фитоалексините, кои имаат антибиотска активност. Мутациите кои ја нарушуваат синтезата на фитоалексините доведуваат до загуба на отпорот кон многу патогени за растенијата. При некои случаи, одговорот на растенијата кон патогените дури го надминува и хемискиот напад за да вклучи архитектурни одговори, при кои растенијата ги изолираат клетките од заразеното подрачје преку зајакнување на ѕидовите на клетките кои ги опкружуваат. Табела 3-4 ги споредува способностите на имуните системи кај широк опсег на повеќеклеточни организми, кај животни и кај растенија.



(а)



(б)

СЛИКА 3-15 Вродениот имунитет кај видови кои се простираат низ кралствата. а) Морски урохордати, без'рбетнички хорадати. (б) Член на кралството на растенијата, доматот. *[Дел а, Gary Bell/Getty Images; дел б, George Glod, SuperStock]*

ТАБЕЛА 3-4 Имунитет во повеќеклеточните организми

Таксономска група	Вроден имунитет (неспецифичен)	Стекнат имунитет (специфичен)	Заштитни ензими и ензмиски скали поттикнати од напад	Фагоцитоза	Противмикробски пептиди	Рецептори за препознавање обрасци	Отфрлање пресадок	Т и Б клетки	Против-тела
Повисоки растенија	+	-	+	-	+	+	-	-	-
Без'рбтеници									
Порифера (сунѓери)	+	-	?	+	?	?	+	-	-
Анелиди (глисти)	+	-	?	+	?	?	+	-	-
Артроподи (инсекти,раковидни животни)	+	-	+	+	+	+	?	-	-
'Рбетници									
Еласмобранхи ('рскавични риби. На пример, ајкули, раи)	+	+	+	+	Еднакви агенси	+	+	+	+
Телеостна риба и коскена риба (на пример, лосос, туна)	+	+	+	+	Веројатно	+	+	+	+
Водоземци	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Влекачи	+	+	+	+	?	+	+	+	+
Птици	+	+	+	+	?	+	+	+	+
Цицачи	+	+	+	+	+	+	+	+	+

КЛУЧ: + = заклучно прикажување. - = неможност да се прикаже толку далеку. ? = дали има присуство или отсуство останува да се одлучи.

ИЗВОРИ: M. J. Flajnik, K. Miller and L. Du Pasquir, 2003, „Origin and Evolution of the Vertebrate imune System", in *Fundamental Immunology*, 5th ed., W. E. Paul (ed.), Lippincott, Philadelphia: M. J. Flajnik and L. Du Pasquir, 2004, *Trends in Immunology* 25:640.

Резиме

- Два система на имунитетот ги заштитуваат 'рбетниците: вродениот имунитет, кој е на место или подготвен за активирање пред инфекцијата и стекнатиот имунитет, кој е поттикнат од инфекцијата и му требаат неколку денови или недели за да реагира.
- Рецепторите од вродениот имунитет препознаваат молекулски обрасци поврзани со патоген (ПАМП), кои претставуваат молекулски мотиви што се сретнуваат кај микробите. Наспроти тоа, рецепторите од стекнатиот имунитет препознаваат специфични детали од молекулската структура.
- Рецепторите во вродениот имунитет се кодирани во зародишната линија од домаќинот, но гените кои ги кодираат противтелата и Т клетките, специфичните рецептори на стекнатиот имунитет, се создаваат преку процес на генетска рекомбинација.
- Реакциите од стекнатиот имунитет прикажуваат памтење, додека вродените реакции не прикажуваат.
- Кожата и мукозните мембрани образуваат анатомска бариера која е високо ефикасна при заштитата од инфекција.
- Воспалението ја зголемува васкуларната пропустливост, што им овозможува на растворливите посредници од одбраната, како што се комплементот, маноза врзувачкиот лектин (МВЛ), Ц-реактивниот протеин (ЦРП) и, подоцна, противтелата да стигнат во инфицираната област. Според тоа, воспалението предизвикува преселување на фагоцитите и антивирусните клетки преку екстравазација и хемотакса до фокусот на инфекцијата.
- Противмикробските пептиди се значајни ефектори во вродениот имунитет и се пронајдени кај широк опсег видови. Тие убиваат мноштво различни микроорганизми, често работат со нарушување на мембраните на микробите.
- Во вродениот имун систем се создаваат многу цитокини. Овие цитокини вклучуваат интерферони тип 1 кои имаат антивирусни ефекти и други интерферони како што се ТНФ-алфа и интерферон-гама кои извршуваат моќни ефекти кај другите клетки и органи.
- Одредени цитокини поттикнуваат акутно фазен одговор, процес при кој одредени противмикробски протеини се ослободени од црниот дроб во крвотокот. Меѓу овие протеини се наоѓаат МВЛ, ЦРП и комплемент, кои можат да дејствуваат за да убиваат микроби.
- Вродениот имун систем употребува рецептори кои препознваат обрасци (РПО) за да ја открие инфекцијата. Толовидните рецептори (ТВР) се значајна категорија на РПО. Секој ТВР открива одредена подгрупа патогени, целата група може да открие широка палета вируси, бактерии, габи и протозои.
- Фагоцитите користат мноштво стратегии за убивање патогени. Овие стратегии вклучуваат цитолитични протеини, противмикробски пептиди и создавањето на реактивни кис-

лородни соединенија (РКС) и реактивни азотни соединенија (РАС).
- Стеблестите клетки претставуваат клучна клеточна врска помеѓу стекнатиот и вродениот имунитет. Микробските делови кои се стекнати при вродениот одговор од стеблестите клетки се пренесени од областа на инфекција до лимфоидните јазли, а микробските противгени се прикажани врз ГТК молекулите и им се прикажуваат на Т клетките, што доведува до активирање на Т клетките и стекнат имун одговор.
- ТВР се сигнално преносни патеки вообичаени за оние кои се наоѓаат во растителното и во животинското царство. ТВР сигализирањето поттикнува настани кои им овозможуваат на клетките да ги контролираат и да ги отстранат инфекциите.
- Вродениот имунитет се појавува рано во еволуцијата на повеќеклеточните организми и се сретнува кај сите повеќеклеточни растенија и животни кои се проучени. Стекнатиот имунитет се сретнува само кај 'рбетниците.

РЕФЕРЕНЦИ

Akira, S., and K. Takeda. 2004.Toll-like receptor signaling. Nature *Reviews Immunology* **4**:499.

Basset, C., et al. 2003. Innate immunity and pathogen-host interaction. *Vaccine* **21**:s2/12.

Beutler, B., and E. T. Rietschel. 2003. Innate immune sensing and its roots: the story of endotoxin. *Nature Reviews Immunology* **3**:169.

Bulet, P., R. Stocklin, and L. Menin. 2004. Antimicrobal peptides: from invertebrates to vertebrates. *Immunological Reviews* **198**:169.

Fang, F. C. 2004. Antimicrobial reactive oxigen and nitrogen species: concepts and controversies. *Nature Reviews Microbiology* **2**:820;

Iwasaki, A., and R. Medzhitov. 2004. Toll-like receptor control of the adaptive immune responses. *Nature Immunology* **5**:987.

Lemaitre, B. 2004. The road to Toll. *Nature Reviews Immunology* **4**:521.

Medzhitov, R., et al. 1997. A human homologue of the Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature* **388**:394.

O'Neill, A. J. 2005. Immunity's early warning system. Scientific *American* **292**:38.

Pai, J. K., et al. 2004. Inflammatory markers and the risk of coronary heart disease in men and women. *New England Journal of Medicine* **351**:2599;

Poltorak, A., et al. 1998. Defective LPS signaling in CS3Hej and C57BL/10ScCr mice: mutations in TLR4 gene. *Science* **282**:2085.

Ridiker, P. M., et al. 2005. C-reactive protein and outcomes after statin therapy. *New England Journal of Medicine* **352**:20.

Ulevitch, R. J. 2004. Therapeutics targeting the innate immune system. *Nature Reviews Immunology* **4**:512.

Корисни веб-страници

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed

Пубмед, Национална бибилиотека како медицинска база на податоци на повеќе од 15 милиони публикации, претставува најдеталната библиографска база на податоци за биолошката и биомедицинската литература во светот. Исто така, таа е многу пријателски настроена страница.

http://cpmcnet.columbia.edu/dept.curricpathology/pathology/pathology/pathoatlas/GP_I_menu.html

Прикажани се слики од главните воспалителни клетки вклучени во акутното и хроничното воспаление, исто како и примери од специфичните воспалителни болести.

http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/index.html

The Animal Diversity Web (ADW), со база во Универзитетот во Мичиген, е одлична и детална база на податоци за класификација на животните, исто како и извор за информации за природната историја на животните и распределбата. Овде можат да се најдат информации за животните кои не се луѓе или глувци.

Прашања за учење

Прашања од клиничкиот фокус. Дадете објаснување за воспалителните процеси при развојот и напредувањето на атеросклерозата. Како воспалението може да ги подигне ЦРП нивоата?

1. Вродениот имунитет стапува во интеракција со стекнатиот имунитет за да го заштити домаќинот. Објаснете го оваа меѓудејство, именувајќи ги клучните точки од меѓудејствата меѓу овие два система.
2. Кои се карактеристиките кои го бележат локалниот воспалителен одговор? Како овие крактеристики придонесуваат за придвижување на ефективен одговор од вродениот имунитет?
3. Употребете ја оваа листа за да ги довршите исказите кои следат. Одредени изрази може да се користат повеќе од еднаш.

Интерферон	Противмикробски пептиди
NO	ТВР8
ТВР2	NADPH фагозомна оксидаза
ТНФ-α	Противтело
КПУ	МАПС
ТВР4	O_2
НОД	Комплемент
класа 1 ГТК молекули	Класа 2 ГТК молекули
Фагоцитоза	ЦРП
иНОС	Т клеточни рецептори
Костимулаторни молекули	Вроден имунитет
Стекнат имунитет	АФО
РПО	РКС
ТВР7	РАС
Стеблеста клетка	ТВР9

$T_н$	Тцт
Аргинин	Провоспалителни цитокини
МВЛ	NADPH

а. И ____, цитокин, и ____ клетки го бранат организамот од вирусна инфекција.

б. Ензимот ____ ги користи амино киселините ____ и ____ за да создаде ____, противмикробски гас.

в. Ензимот ____ користи ____ за да создаде__ _ кој убива микроби, кој може да се комбинира со противмикробскиот гас ____ за да создаде ____, кој е исто така противмикробски.

г. При вродениот одговор, клетката позната како ____ го заробува противгенот и го прикажува на ____ и ____ за прикажување за ____ и ____ клетките кога ____ се преселува од ткивата во лимфниот јазол.

д. ____ и ____ претставуваат рецептори за препознавање обрасци кои можат да активираат комплемент и да олеснат опсонизација.

ѓ. ____ се појавува кога ____ како што се ____ се создаваат со воспалението и пристигнуваат во црниот дроб.

е. Одредени клетки користат ____ и ____ за да ги откријат вирусните инфекции кај РНК и ____ за да ги откријат инфекциите со бактериите и одредени вируси на ДНК.

ж. ____, рецепторите на вродениот имунитет, се кодирани во зародишната линија, но ____ и ____, уникатните рецептори на стекнатиот имунитет, се кодирани од страна на гени кои се создаваат преку соматска рекомбинација.

з. Стеблестите клетки, кои имаат ____, можат да прикажат противген и кај ____ и ____ и затоа претставуваат ефикасни активирачи на помагачките и цитотоксичните Т клетки.

ѕ. ____ е внатреклеточен ____ што ги открива компонентите од бактериските клеточни ѕидови.

и. ____ се рецептори од вродениот имунитет кои откриваат ____.

ј. ____ откриваат грам-позитивни бактериски инфекции, а ____ откриваат грам-негативни инфекции.

к. Одредени микробски компоненти од клеточниот ѕид може да активираат____, поттикнувајќи опсонизација и оштетување на микробската плазмина мембрана.

л. ____ ги открива инфекциите со грам-позитивни бактерии и____ ги открива грам-негативните инфекции.

љ. Определени компонентни на клеточниот ѕид на микробите може да активираат____, поттикнувајќи опсонизација и оштетување на плазмената мембрана на микробот.

За употреба со прашање 7

Лекување или експериментална модификација	**Поттикнување на стекнатиот имунитет**	**Екстравазација на белите клетки**	**Акутно фазен одговор**	**Разградување поттикнато од комплемент**	**Поттикнување воспаление**	**РКС и РАС**
а. Внесување противтела кои ги блокираат интегрин-МКАМ, стапува во меѓудејство						
б. Отстранување на генот ТВР4						
в. Противтела кои ги неутрализираат ТНФ-алфа и ИЛ-1						
г. Мутација на ензимот фокс						
д. Глушец со отстранет ген за класа 2 ГТК						

Објаснете ги своите предвидувања

а. _____

б. _____

в. _____

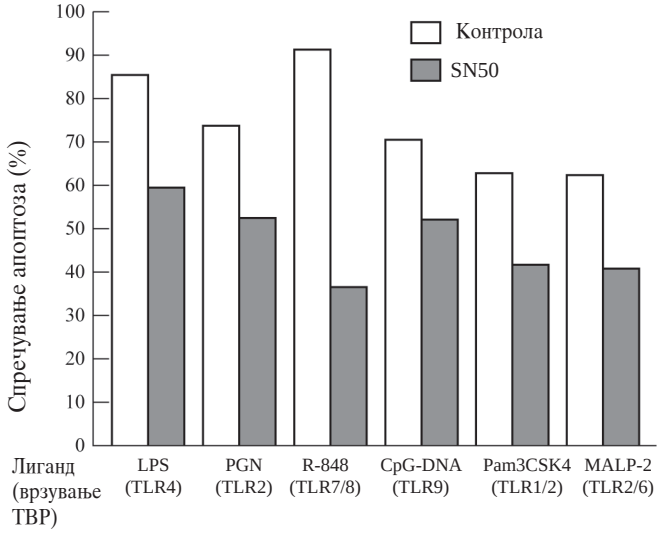
г. _____

д. _____

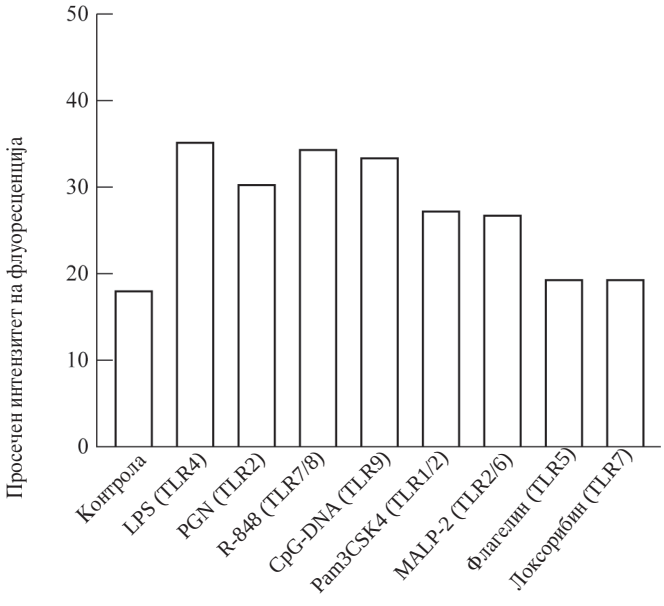
4. Кои се двата експериментални наода кои го поврзуваат ТВР со вродениот имунитет?
5. Како што се развивал стекнатиот имунитет кај 'рбетниците, се зацврстил постариот систем - вродениот имунитет. Дали можете да наведете одредени недостатоци кои ги имаат двата имуни система? Дали би коментирале кој систем е понеопходен?
6. Како може артроподот, како што е бубашвабата или бубачките, да се брани од габична инфекција? Споредете ги имуните реакции на артроподот со оние кај луѓето.
7. Каков ефект ќе имаат лекувањата или експерименталните модификации кои се прикажани во табелата на дното од страница 74 врз наведените реакции од страна на луѓето или глувците на првата инфекција со грам-позитивна бактерија? Објаснете го секој одговор.

АНАЛИЗИРАЊЕ НА ПОДАТОЦИТЕ. Франсис и колегите (референца) ги истражувале ефектите на агонистите од Толовидните рецептори (ТВР) врз апоптозата на неутрофилите, што ја сочинуваат најголемата популација на бели крвни клетки и играат улога на прв одговор наспроти бактериите. Иако неутрофилите се со кратк живот, тие играат значајна улога во вродениот имунитет со целење врз инфицираното ткиво, при што го бранат домаќинот со создавање реактивни кислородни соединенија, протеолитични ензими и противмикробски продукти. Франсис и соработниците вакцинирале неутрофилни клетки со SN50, инхибитор на НФ-кБ, или контрола. Потоа примероците биле третирани со агонисти на ТВР и била мерена инхибицијата на апоптоза (дел А од сликата долу). Испитувачите исто така ја испитале и патеката за сигнално пренесување активирана по врзувањето на ТВР лиганд (дел Б од сликата долу). Одговорете на следниве прашања кои се базираат на претставените податоци и што сте ги научиле со читањето на оваа книга.

(а) Ефектот на ангажирањето на ТВР при апоптоза



(б) Количество на фосфо-ИКК по ангажирањето на ТВР, измерено преку проточна цитометрија



а. Дали ангажирањето на ТВР рецепторите влијае врз животниот век на неутрофилите? Зошто ова претставува предност за домаќинот? Зошто ова може да биде недостаток?
б. Ако мутиран глушец има дефект во ИКК (ИкБ киназа), дали ќе предвидите подолг или пократок животен век? (*Помош*: Види слика 3-14).
в. Кои ТВР молекули употребуваат различни патеки за сигнално пренесување различни од ТВР4? Замислете дека агонистите кои се користат во проучувањето се соодветни. Објаснете го вашиот одговор.

Интерактивно учење

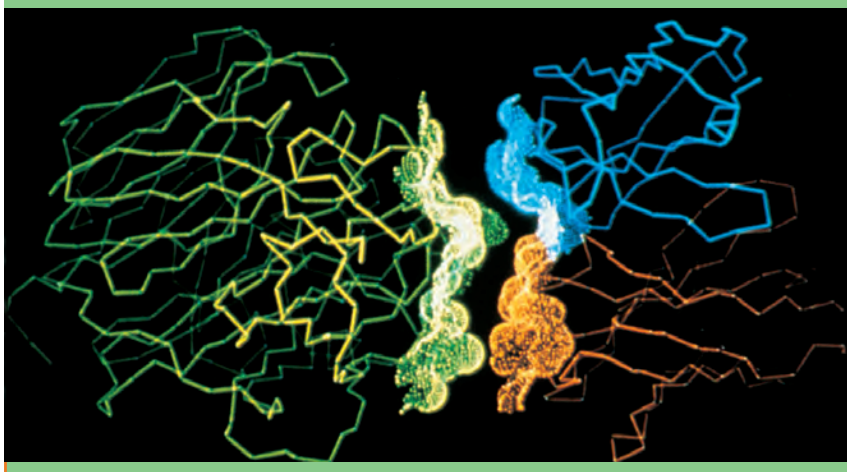
www.whfreeman.com/kuby

САМОСТОЕН ТЕСТ
Преглед на клучни поими

АНИМАЦИЈА
Екстравазација на бели клетки

Поглавје 4

Противгени и противтела



Комплементарност помеѓу противтело и инфлуенцен вирусен протеин (жолто). (Врз база на рендгенските кристалографски податоци добиени од P. M. Colman and W.R. Tulip; from G. J. V. H. Nossal, 1993, Sci. Am. 269(3): 22]

- Имуногеност наспроти противгеност
- Епитопи
- Основна структура на противтелата
- Противтелно врзувачко место
- Противтелно остварени ефекторни функции
- Противтелни класи и биолошки активности
- Противгени одредници врз имуноглобулините
- Б-клеточен рецептор
- Имуноглобулинска суперфамилија
- Моноклонски противтела

МОЛЕКУЛИТЕ КОИ ГО ОБЕЛЕЖУВААТ СТЕКНАТИОТ ИМУН систем се противтелото и Т-клеточниот рецептор. Додека деловите од вродениот имунитет се програмирани за препознавање обрасци и на тој начин препознаваат особини споделени од групи на надворешни молекули, противтелото и Т-клеточниот рецептор прикажуваат повисок степен на специфичност, препознавајќи одредени **противгени одредници (детерминанти)** или **епитопи**. Епитопите се имуни активни подрачја од имуногенот кои се врзуваат за противген специфични мембрански рецептори во лимфоцитите или излачените противтела. Противтелата се епитоп врзувачки протеини кои се сретнуваат во две форми, или како мембрански врзани соединенија врз Б-клетките или како растворливи молекули излачени од плазма клетките. Мембрански врзаните противтела поседуваат противгена специфичност за Б-клетките. Размножувањето на противген специфичните Б-клеточни клонови е поттикнато од меѓудејството на мембранското противтело со противгенот. Излачените противтела циркулираат во крвта, каде служат како ефектори на **хуморалниот** имунитет со пребарување и означување на противгените за отстранување. Сите противтела делат структурни особини, се врзуваат за противген и учествуваат во ограничен број **ефекторни функции**. Т клеточниот рецептор кој се прикажува врз површината од мембраната на Т-клетката препознава само преработени противгени фрагменти кои се споени со ГТК молекули. Иако ова поглавје ги нагласува противтелото и природата на Б клеточното препознавање противген, ќе се направи споредба со Т клеточното препознавање противген за да се развие општата тема на противгеност и да се прикаже контрастот помеѓу Т- и Б-клеточното меѓудејство со противгените. Молекулските особини на ГТК молекулите, начинот на кој противгените се обработуваат и се врзуваат со ГТК молекулите и природата на Т-клеточните рецептори кои препознаваат комплекси противген ГТК ќе се покрие во поглавјата 8 и 9.

Во основа, популацијата на противтелата кои се создаваат како одговор на одредена противгена дразба е хетерогена. Повеќето противгени се структурни комплекси, кои содржат многу различни епитопи, а имуниот систем обично реагира со создавање противтела на дел од епитопите во противгенот. Со други зборови, неколку различни Б-клеточни клонови се стимулураат и се размножуваат. Резултатот од плазма клетките во еден Б-клеточен клон е моноклонско противтело кое специфично се врзува за единечна противгена одредница. Излачените продукти од сите стимулирани Б-клеточни клонови и групата на моноклонските противтела ги сочинуваат поликлонските и хетерогените серумски противтела како одговор на имунизирачкиот противген.

Членовите од протеинската фамилија противтела имаат заеднички структурни особини и општо се познати како **имуноглобулини (Иг)**. Но и покрај нивните сличности, членовите од оваа фамилија извршуваат извонредно различни функции при врзување исто како и неколку различни ефекторски функции кои следат по врзувањето на противгенот. Пред да ја истражиме структурата и комплексноста на фамилијата противтела, ова

поглавје ќе ја опише природата на противгените и концептите и особините на имуногените супстанции.

Противгените се дефинирани специфично како молекулите кои стапуваат во меѓудејство со имуноглобулинскиот рецептор од Б-клетките (или со Т-клеточниот рецептор кога е во комплекс со ГТК). Молекулските својства на противгените и како овие својства придонесуваат за активирање на имунитетот се централни за нашето разбирање на имуниот систем. Ова поглавје ги опишува молекулските особини на противгените препознаени со противтелата и го истражува придонесот направен за имуногеноста од страна на биолошкиот систем на домаќинот.

Имуногеност наспроти противгеност

Имуногеноста и противгеноста се поврзани со различни имуни особини кои понекогаш се мешаат. **Имуногеноста** е способноста да се поттикне хуморален и/или клеточно посредуван имун одговор:

Б-клетки + Противген → Ефекторни Б-клетки +Памтечки Б-клетки
↓
Плазма клетки → Лачи противтела

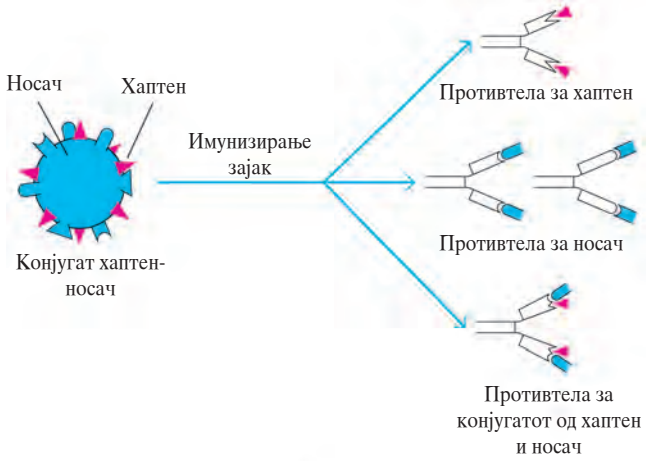
Т-клетки + Противген → Ефекторни Т-клетки + Памтечки Т-клетки
↓
ЦТЛ, Тпо и други → Лачат цитокини и цитотоксични фактори

Иако супстанцијата која поттикнува специфичен имун одговор обично се нарекува противген, посодветно е да се нарекува имуноген.

Противгеноста е способноста за да се комбинира специфичноста со крајните продукти од горните одговори (т.е. излаченото противтело и/или површинските рецептори во Т-клетките). Иако сите молекули кои имаат својството на имуногеност исто така имаат и својството на противгеност, не може обратно. Одредени мали молекули, наречени хаптени, се противгени, но не се способни самите да поттикнуваат специфичен имун одговор. Со други зборови, немаат имуногеност.

Хаптените се корисни истражувачки и дијагностички алатки

Хемиското врзување на хаптенот со голем имуноген протеин, наречен **носач**, дава имуноген **хаптен-носач конјугат**. Ж ивотните имунизирани со таков конјугат создаваат противтела специфични за три вида противгени одредници: (1) хаптенска одредница, (2) непроменети епитопи од носечкиот протеин и (3) нови епитопи создадени со комбинација од подрачја заеднички за молекулот хаптен и молекулот носач (слика 4-1). Самиот хаптен не може да функционира како имуноген епитоп. Но, кога повеќе молекули од еден хаптен се комбинираат со протеински носач (или дури и во неимуноген хомополимер), хаптенот станува



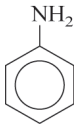
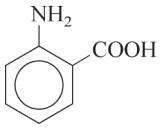
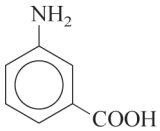
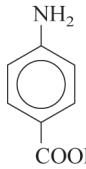
Инјекција со:	Создадени противтела:
Хаптен (ДНФ)	Ниедно
Протеински носач (ГСА)	Анти-ГСА
Конјугат од хаптен и носач (ДНФ-ГСА)	Анти-ДНФ (голем) Анти-ГСА (мал) Анти-ДНФ/ГСА (мал))

СЛИКА 4-1 На оваа слика конјугатот хаптен-носач е имуноген, а хаптен е противген кој самиот од себе не е имуноген. Имуногенот содржи повеќе копии од хаптен - мало неимуногено органско соединение, во овој случај, динитрофенол (ДНФ) - хемиски поврзан за голем протеински носач како што е говедски серум албумин (ГСА). Имунизацијата со ДНФ-ГСА создава три вида противтела. Од нив, противтелото против-ДНФ е доминантно, укажувајќи дека во овој случај хаптенот е имунодоминантен епитоп или противгена одредница, како што е често при таквите конјугати.

пристаплив за имуниот систем и може да функционира како имуноген.

Покрај широкиот опсег на епитопи кои се сретнуваат кај еден имуноген, системот хаптен-носач на имунолозите им овозможува алатка за истражување на ефектите од малите варијации во хемиската структура врз имунолошката специфичност. Хаптенот може да биде хемиски дефинирана одредница која потоа дискретно се модифицира со хемиски средства за да се одреди дали ова ќе влијае врз препознавањето од противтелата. Класичен приказ на оваа стратегија се сретнува во пионерската работа на Карл Ландштајнер, кој во 1920-тите и 1930-тите години создаде едноставен, хемиски дефиниран систем за проучување на поврзувањето на поединечно противтело. Ландштајнер работел со хаптени со мали органски молекули кои се противгени но *не се* имуногени. Во своите проучувања, Ландштајнер имунизирал зајаци со хаптен-носач конјугат, а потоа ја тестирал реактивноста на зајачкиот имун серум со истиот хаптен и со тесно поврзани хаптени врзани за различен протеински носач. На тој начин тој можел прецизно да го измери одговорот на противхаптенските противтела во имуниот серум, но не и тој од противтелата од изворните епитопи од носачот. Ландштајнер направил тестови

ТАБЕЛА 4-1 Реактивност на противсерумот со различни хаптени

	РЕАКТИВНОСТ СО			
				
Противсерум против	**Аминобензен (анилин)**	**Орто-аминобензоична киселина**	**Мета-аминобензоична киселина**	**Пара-аминобензоична киселина**
Аминобензен	+	0	0	0
Орто-аминобензоична киселина	0	+	0	0
Мета-аминобензоична киселина	0	0	+	0
Пара-аминобензоична киселина	0	0	0	+

КЛУЧ: 0= нема реактивност. + = силна реактивност

ИЗВОР: Според K. Landsteiner, 1962, *The Specificity of Serologic Reactions*, Dover Press. Modifikuar by J. Klein, 1982, *Immunology: The Science of Self-Nonself Discrimination, Wiley.*

за тоа дали противхаптенското противтело може да се врзе за други хаптени со незначително различни хемиски структури. Ако дојдеше до врзување, тоа беше наречено **вкрстена реакција**. Преку истражување кои модификации од хаптенот спречиле или дозволиле вкрстени реакции, Ландштајнер можел детално да ја разгледа специфичноста во меѓудејството на противгенот со противтелото.

Со употреба на различни деривати од аминобензен како хаптени, Ландштајнер открил дека целиот излед на хаптенот игра голема улога при одредувањето дали тој може да реагира со дадено противтело. На пример, противсерумот од зајаците имунизирани со аминобензен или еден од неговите карбоксилни деривати (орто-аминобензоична киселина, мета-аминобензоична киселина или пара-аминобензоична киселина) во комбинација со протеин носач реагирал само со изворниот имунизирачки хаптен, а не реагирал вкрстено со кој било од другите хаптени (табела 4-1). Наспроти тоа, ако целиот изглед на хаптенот се задржи ист, а хаптенот се модифицира во пара позиција со различни нејонски деривати, тогаш противсерумот покажувал различни степени на вкрстена реакција. Работата на Ландштајнер ја прикажа и специфичноста на имуниот систем за малите структурни варијации во хаптените и огромната разновидност на епитопите кои имуниот систем може да ги препознае.

Многу биолошко значајни супстанции, вклучувајќи ги лековите, пептидните хормони и стероидните хормони можат да функционираат како хаптени. Конјугатите од овие хаптени со големи протеински носачи може да се користи за создавање хаптен специфични противтела. Овие противтела се корисни за мерење на присуството на различни супстанции во телото. На пример, обичната алатка за домашно испитување бременост ослободува противхаптенски противтела за одредување дали урината на жената содржи хуман хорионски гонадотропин (ХХГ), што претставува знак за бременост.

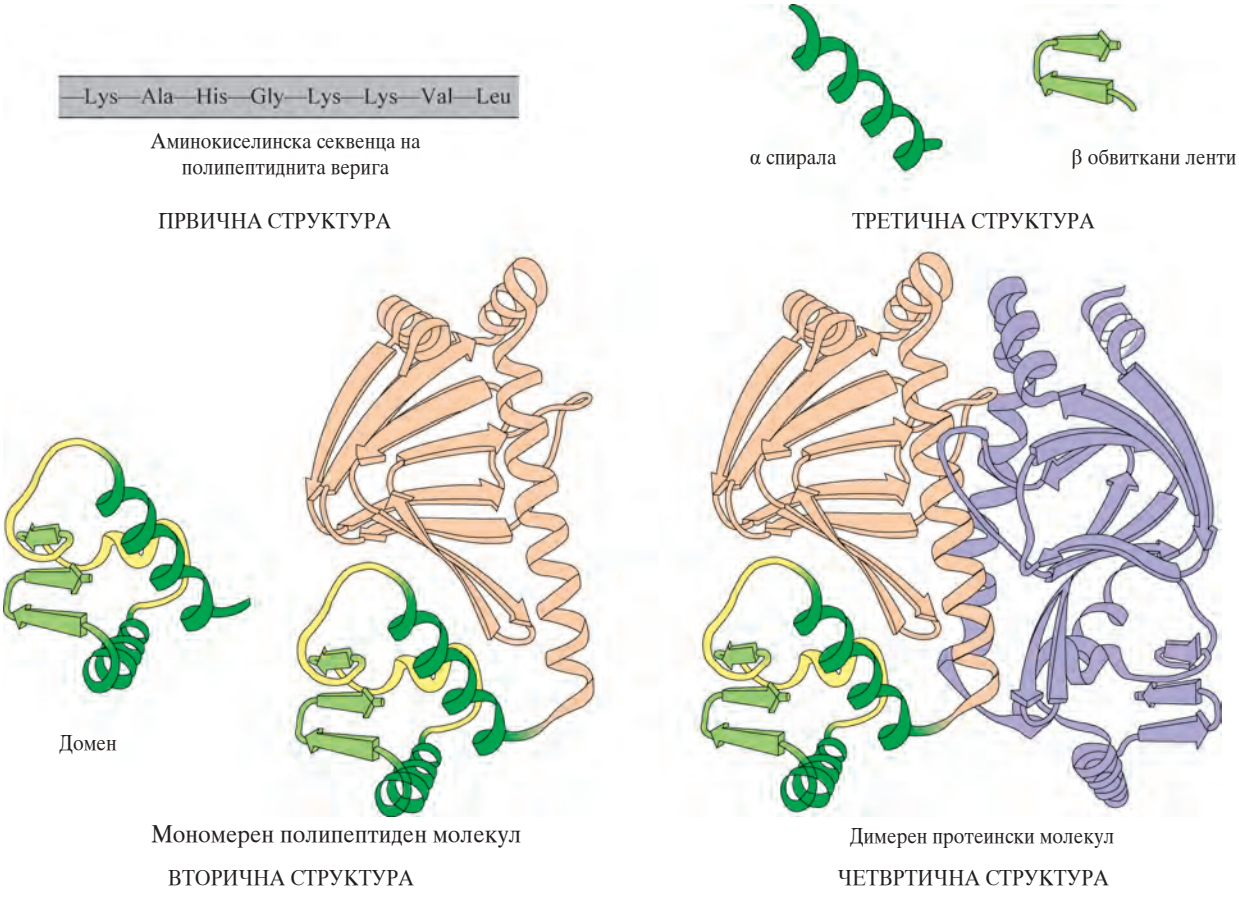
Иако проучувањата со хаптен-носач конјугати даваат јасно разграничување помеѓу концептите на противгеноста и имуногеноста, во реалноста, за одредување дали супстанцијата со која се сретнал имуниот систем ќе предизвика одговор треба да се разгледаат повеќе фактори. Имуногеноста не зависи само од внатрешните особини на противгенот туку исто така и од одреден број особини од конкретниот биолошки систем со кој се сретнал противгенот и начинот на кој е претставен имуногенот. Следниве делови ги објаснуваат особините кои ги делат повеќето имуногени и придонесот на биолошкиот систем кој создава прикажување имуногеност.

Особините на имуногенот придонесуваат за имуногеноста

Имуногеноста делумно се утврдува преку четири особини на имуногенот: неговата туѓост, молекулската големина, хемискиот состав и сложеноста и способноста за обработка и прикажување со ГТК молекулот врз површината од противген прикажувачката клетка или оштетената сопствена клетка.

Туѓост

За поттикнување имун одговор, молекулот мора да биде препознат како туѓ од страна на биолошкиот систем. Наспроти капацитетот за препознавање туѓо се наоѓа **поднесувањето** на свое, специфична поднесливост (толеранција) на свои противгени (види Поглавје 16). Поголемиот дел од способноста за поднесување свои противгени произлегува при развојот на лимфоцитот, кога незрелите лимфоцити се изложени на своите делови. Клетките кои при овој процес препознаваат свои делови се неактивни. Тие кои ќе го преживеат процесот се ослободени. Противгените кои не биле прикажани врз незрелите лимфоцити во овој критичен период подоцна од страна на имуниот систем може да бидат препознати како туѓи. Кога противгенот ќе се внесе во организмот, степенот на неговата имуногеност зависи од степенот на неговата туѓост. Во основа, колку е поголемо филогенетското растојание меѓу два вида, толку е поголема структурната (а со тоа и противгената) различност помеѓу нивните структурни молекули. На пример, вообичаениот експериментален противген говедски серум албумин (ГСА) не е имуноген кога се внесува во кравата, но е мошне имуноген кога ќе се внесе во зајак. Освен тоа, се очекува дека ГСА ќе



СЛИКА 4-2 Линискиот распоред на аминокиселините ја сочинува првичната структура. Навоите од делови на полипептидната верига (синџир) во нормални структури (на пр., алфа спирали и бета обвиткани ленти) ја создаваат вторичната структура. Третичната структура вклучува диплење подрачја меѓу вторичните особини за да се даде целиот облик на молекулот или неговите делови (домени) со специфични функционални карактеристики. Четвртичната структура настанува со спојување две или повеќе полипептидни вериги во еден полимерен протеински молекул.

извршува поголема имуногеност кај кокошката отколку кај козата, која е потесно поврзана со говедата. Постојат исклучоци од ова правило. Одредени макромолекули (на пример, колагенот и цитохромот *ц*) мошне се задржале при еволуацијата и затоа прикажуваат многу малку имуногеност низ лози од различни видови. Наспроти тоа, одредени внатрешни делови (на пр., ткивото од рожницата и спермата) ефикасно се изолираат од имуниот систем, така што ако овие ткива се внесат дури и во животното од кое потекнуваат, ќе функционираат како имуногени.

Молекулска големина

Постои поврзаност меѓу големината на макромолекулот и неговата имуногеност. Најактивните имуногени тежнеат кон молекулска маса од > 1000,000 далтони (Да). Во основа, супстанциите со молекулска маса помала од 5000 до 10000 Да се слаби имуногени, иако за одредени супстанции со молекулска маса помала од 1000 Да е докажано дека се имуногени.

Хемиски состав и хетерогеност

Големината и надворешноста не се доволни, сами по себе, за да го направат молекулот имуногеничен. Исто така потребни се и други особини. На пример, синтетичките хомополимери (полимери составени од повеќе копии од една аминокиселина или шеќер) тежнеат да немаат имуногеност без разлика на нивната големина. Хетерополимерите обично се поимуногени од хомополимерите. Овие проучувања покажуваат дека хемиската комплексност придонесува за имуногеноста. Се забележува дека сите четири нивоа од организација кај протеинот - првична, вторична, третична и четвртична - придонесуваат за структурната комплекснот на протеинот и на тој начин влијаат врз неговата имуногеност (слика 4-2).

Соодветно претставените липидни противгени можат да поттикнат Б-клеточни реакции. На пример, липидите може да служат како хаптени прикачени за соодветни молекули носачи, како што се протеините хемоцијанин од морски полжав (ХМП) (keyhole limpet hemocyanin = ХМП) или говедскиот серум албумин (БСА). При имунизирање со овие липидно-протеински конјугати, можно е да се добијат противтела кои се високо специфични за целните липиди. Со употреба на овој пристап, научниците создадоа противтела кон многу различни липидни молекули, вклучувајќи стероиди, комплекс масно-киселински продукти и масно-растворливи витамини како што е витаминот Е. Таквите противтела се од значителна практична вредност - многу клинички анализи за присуството и количествата на медицински значајните липиди се базираат на противтела.

На пример, одредувањето на нивоата на комплексната група липиди познати како леукотриени може да биде корисно при испитување на пациентите со астма (види Поглавје 15). Анализите кои се базираат на употребата на противлипидни противтела овозможуваат откривање пикограмски количини на леукотриен $Ц_4$. Бидејќи противлеукотриенот $Ц_4$ малку реагира или не реагира со слични соединенија, како што е леукотриенот $Д_4$ или $Е_4$, може да се користи за мерење леукотриенот $Ц_4$ кај примероци кои го содржат ова соединение и многу други структурно поврзани липиди. Друга медицинско значајна употреба вклучува откривање преднизон, имуносупресивен стероид кој често се внесува како дел од програмата за супресија на отфрлањето пресаден орган. Одржувањето соодветни нивоа во крв на овие и други имуносупресивни лекови е значајно за успешен резултат при пресадувањето, а имуноанализите кои се базираат на противтелата се користат рутински за да ги направат овие процени.

Прифатливост за обработка и прикажување противген

Развојот на хуморалните (противтело посредувани) и Т-клеточно посредуваните имуни реакции бараат меѓудејство на Т-клетките со противгенот кој е обработен и претставен заедно со ГТК молекулите. Големите, нерастворливи или насобраните макромолекули во основа се поимуногени од малите, растворливи бидејќи поголемите молекули полесно се фагоцитираат и се обработуваат. Макромолекулите кои не може да се разградат и да се претстават со ГТК молекулите се слаби имуногени. Ова може да се прикаже со полимери од Д аминокиселини, што претставуваат стереоизомери на Л аминокиселините кои природно се појавуваат. Бидејќи разградувачките ензими во противген прикажувачките клетки може да разградуваат само протеини кои содржат Л аминокиселини, полимерите со Д аминокиселини не може да се обработат и затоа се слаби имуногени.

Биолошкиот систем придонесува за имуногеноста

Дури ако макромолекулот има својства кои придонесуваат за имуногеноста, неговата способност за поттикнување имун одговор ќе зависи од одредени особини на биолошкиот систем со кој се сретнува противгенот. Факторите кои придонесуваат за имуногеноста вклучуваат генетски состав, начин на кој е прикажана материјата и употребата на агенси (додатоци) за засилување на имуногеноста.

Генотип од животното примател

Главниот фактор кој ја одредува имунолошката реактивност може да биде **генотипот** на примателот. Генетскиот состав (или генотипот) од имунизираното животно влијае врз типот на имуниот одговор кој животното го манифестира, како и степенот на одговорот. На пример, Хју Мек-Дејвид покажа дека два различни видови глувци реагираат доста различно по изложувањето на синтетички полипептиден имуноген. Едниот вид создава високи нивоа на серумско противтело, другиот вид создава ниски нивоа. Кога е направено вкрстување меѓу двата вида, наследниците од F_1 генерацијата покажуваат просечен одговор кон имуногенот. Со назадно вкрстување, генот кој ја контролира имунолошката реактивност беше означен во подрачјето од групата гени наречени главен ткивносовпадлив комплекс (ГТК, види Поглавје 8). Бројни експерименти со просто дефинирани имуногени покажаа генетска контрола на имунолошката реактивност, главно посредувана за гените во ГТК. Овие податоци укажуваат дека продуктите од ГТК гените, кои функционираат во прикажувањето на обработениот противген на Т-клетките, играат централна улога во одредувањето на степенот до кој животното реагира кон имуногенот.

Реакцијата на животното кон противгенот е под влијание на гените кои ги кодираат Б- и Т-клеточните рецептори и од гените кои кодираат различни протеини вклучени во имуните регулаторни механизми. Генетската променливост на сите овие гени влијае врз имуногеноста на даден макромолекул кај различни животни. Овие генетски ефекти врз имуногеноста ќе бидат подетално објаснети во натамошните поглавја.

Имуногенско дозирање и начинот на внесување

Секој експериментален имуноген создава одредена крива на дозен одговор, која се одредува со мерење на имуниот одговор на различни дози и различни начини на внесување. Рекацијата на противтелото се мери со одредување на нивото на противтелото кое е присутно во серумот од имунизираните животни. Проценувањето на Т-клеточните реакции е посложено, но може да се одреди со проценување на порастот на бројот на Т-клетките кои носат Т-клеточни рецептори кои го препознаваат имуногенот. Одредена комбинација на оптимална доза и начин на внесување ќе поттикне највисок имун одговор кај дадено животно.

Исто така недоволната доза нема да стимулира имун одговор бидејќи не може да активира доволно лимфоцити или бидејќи, во некои случаи, одредени ниски дози може да поттикнат состојба на имунолошка нереактивност, или поднесливост. Наспроти тоа, значително високата доза исто така може да поттикне поднесливост. Имуниот одговор кај глушецот кон прочистениот пневмококален капсуларен полисахарид го прикажува значењето на дозата. Доза од 0,5 мг противген не може да поттикне имун одговор кај глувците, додека 1000 пати пониска доза од истиот противген (5×10^{-4} мг) поттикнува хуморален одговор на противтела. Една доза од најголемиот број експериментални имуногени нема да поттикне силен одговор, туку, повторно внесување во период од неколку недели доколку има потреба за тоа. Таквите повторни внесувања, или **засилувачи**, го зголемуваат клонското размножување на противген специфичните Б- и Т-клетки и на тој начин ја зголемуваат лимфоцитната популација која е специфична за имуногенот.

Екпериментални имуногени обично се внесуваат парентерално (*пара*, околу - *ентерик*, утроба) - тоа значи, на начини различни од оралниот. Вообичаени се следниве начини на внесување:

- внатревенозен (вв): во вената
- внатрекожен (вк): во кожата
- поткожен (пк): под кожата

- внатремускулен (вм): во мускулот
- внатреперитонеален (вп): во перитонеалната празнина.

Начинот на внесување силно влијае кои имуни органи и клеточни популациите ќе се вклучат при одговорот. Противгенот кој се внесува внатревенозно прво се носи до слезината, додека противгенот кој се внесува поткожно прво оди во локалните лимфни јазли. Разликите во лимфоидните клетки кои ги населуваат овие органи може да влијаат врз натамошниот имун одговор.

Помагачи (Адјуванси)

Помагачи (адјуванси од латинскиот израз *адјуваре*, да помогне) се супстанции кои, кога ќе се измешаат и ќе се внесат со противгенот, ја зголемуваат имуногеноста на тој противген. Помагачите често се користат при истражување и клиничка подготовка за засилување на имуниот одговор кога противгенот има ниска имуногеност или кога противгенот е достапен во мали количини. На пример, противтелниот одговор кај глушец по имунизација со БСА може да се зголеми до пет пати или повеќе ако БСА се внесе заедно со помагач. Колку точно помагачите го зголемуваат имуниот одговор не е целосно јасно, но дел од познатите помагачи (на пример, синтетските полирибонуклеотиди и бактериските липополисахариди)сега се утврдени како лиганди за Толовидните рецептори во стеблестите клетки и макрофагите (види Поглавје 3) и на тој начин стимулираат имун одговор преку активирање на вродениот имунолошки систем.

Во основа, помагачите ги предизвикуваат еден или повеќе од следниве ефекти:

- Опстојувањето на противгенот е продолжено.
- Костимулаторните сигнали се зголемени.
- Локалното воспаление е зголемено.
- Стимулирано е неспецифичното размножување на лимфоцитите.

Алуминиум натриум сулфат (алум) е помагач кој го продолжува опстојувањето на противгенот и е единствениот помагач кој е одобрен за општа употреба кај луѓето. Кога противгенот ќе се измеша со алумот, солта го таложи противгенот. Внесувањето на овој алумен талог доведува до поспоро ослободување на противгенот од областа на внесување, така што ефективното време за изложување на противгенот се зголемува од неколку денови без помагач до неколку недели со помагач. Алумниот талог исто така ја зголемува големината на противгенот, со што ја зголемува можноста за фагоцитоза.

Помагачите вода во масло (water in oil) исто така го продолжуваат опстојувањето на противгенот. Препаратот познат како **нецелосен Фројндов помагач** содржи противген во воден раствор, растително масло и емулузивно соединение како што е манид моноолеат, кои го распрснува маслото во мали капки кои го опкружуваат противгенот. Потоа противгенот многу споро се ослободува од местото на внесување. Овој препарат се базира на **нецелосниот Фројндов помагач**, првиот намерно формулиран високо ефективен помагач, создаден од страна на Џул Фројнд пред многу години и кој содржи топлотно убиени туберкулозни бактерии (*Mycobacteria),* како дополнителна состојка. Мурамил дипептидот, дел од микробактериските клеточен sид, ги активира стеблестите клетки и макрофагите, правејќи го целосниот Фројндов помагач далеку помоќен од нецелосниот облик. Активираните стеблести клетки и макрофагите се пофагоцитни од нивните неактивирани спротивни делови и лачат повисоки нивоа на молекули кои поттикнуваат костимулација и засилување на Т-клеточниот имун одговор. Според тоа, прикажувањето на противгените и неопходниот костимулаторен сигнал обично се зголемени во присуство на помагач.

Алум и Фројндовите помагачи исто така стимулираат локален, хроничен воспалителен одговор кој ги привлекува и фагоцитите и лимфоцитите. Ова навлегување на клетки во местото на внесувањето на помагач често доведува до создавање густа, макрофагно богата маса клетки позната како **гранулом**.

Епитопи

Како што спомнавме претходно, имуните клетки не стапуваат во меѓудејство со, или препознаваат, цел имуноген молекул. Наместо тоа, лимоцитите препознаваат дискретни области на макромолекул наречени епитопи, или противгени одредници (детерминанти). Проучувањата со мали противгени откријa дека Б- и Т-клетките препознаваат различни епитопи од истиот противген молекул. На пример, кога глушецот се имунизира со глукагон, мал човечки хормон од 29 аминокиселини, беше поттикнато противтело за епитопите во амино терминалниот дел, додека Т-клетките реагираа само на епитопи во карбоксилно терминалниот дел.

Лимфоцитите може да стапат во меѓудејство со комплексен противген на неколку нивоа од структурата на противгенот. Епитоп во протеинскиот противген може да вклучи елементи од првичната, вторичната, третичната па дури и четвртичната структура на протеинот (види слика 4-2). Во полисахаридите, често се присутни разгранети вериги, а врвовите од гранката може да придонесат за создавање епитопи. Б-клетките препознаваат рaатворлив противген кога се врзува за противтелниот молекул во мембраната од Б-клетките. Бидејќи В-клетките врзуваат противген кој е слободен во раствор, епитопите кои тие ги препознаваат тежнеат да бидат доста пристапни области врз изложената површина од имуногенот. Т-клеточните епитопи од протеините се разликуваат по тоа што се пептиди кои обично произлегуваат од ензимско разградување на патогените протеини и се препознаваат од Т-клеточните рецептори само кога се во комбинација со ГТК противген. Според тоа, нема услов за пристапност во раствор како што е со Б-клеточниот епитоп. Табела 4-2 ги наведува големите разлики при противгеноста на Б- и Т-клетките.

Б-клеточните епитопи имаат карактеристични особини

Б-клеточните епитопи во природните протеини во основа се составени од хидрофилни аминокиселини врз протеинската површина кои се топографски пристапни за мемебрански врзаните или за слободните противтела. Б-клеточниот епитоп мора да биде пристаплив за да може да се врзе за противтело. Во основа, за испакнатите делови од површината на протеинот поверојатно е да бидат препознати како епитопи и овие подрачја обично се составени од доминантно хидрофилни аминокиселини. Аминокиселинските секвенци кои се скриени во внатрешноста на протеинот често се составени од доминантно хидрофобни

TABELA 4-2 Споредба за препознавање противген од страна на Б- и Т-клетките

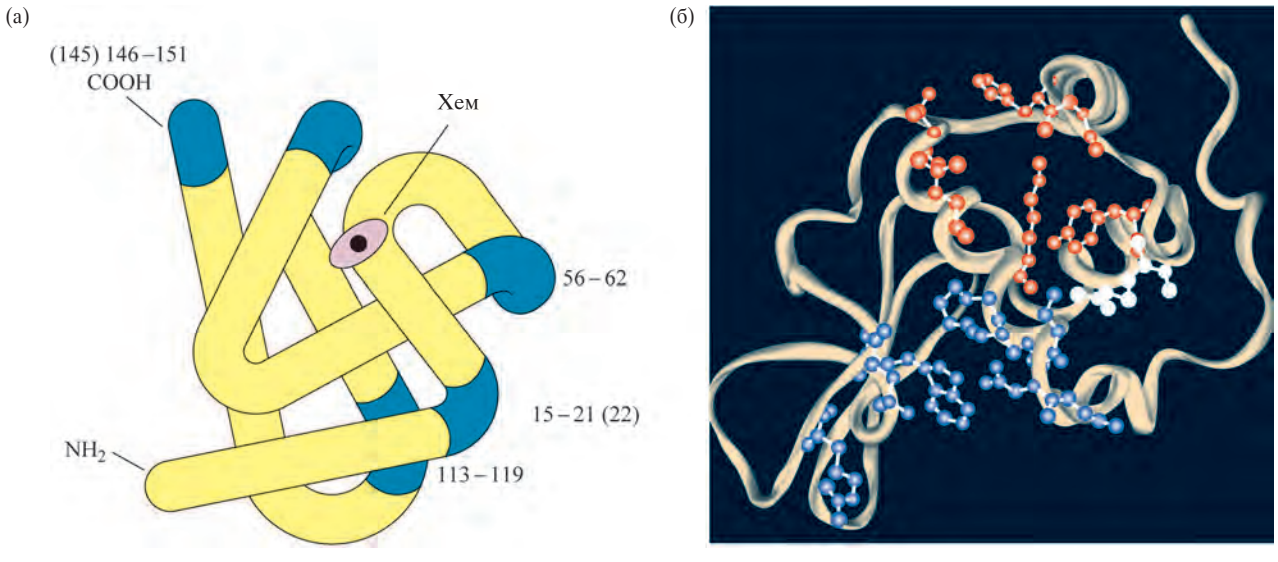
Карактеристика	Б-клетки	Т-клетки
Меѓудејство со противген	Вклучува двојни комплекси од мембрански Иг и Аг	Вклучува третично соединение од Т-клеточен рецептор, Аг и ГТК молекули
Врзување со разложлив противген	Да	Не
Вклученост на ГТК молекули	Нема потреба	Се бара да го прикаже обработениот противген
Хемиска природа на противгени	Протеин, полисахарид, липид	Најмногу протеини, но некои липиди и гликолипиди претставени врз молекулите како ГТК
Особини на епитопот	Пристапни, хидрофилни, подвижни пептиди кои содржат последователни или непоследователни аминокиселини	Внатрешните линиски пептиди создадени со обработка на противген и се врзуваат за ГТК молекули

аминокиселини и не можат да функционираат како Б-клеточни епитопи доколку прво протеинот не се денатурира.

Б-клеточните епитопи може да се составени од секвентни последователни остатоци по должината на полипептидната верига или од непоследователни остатоци од делови на веригата кои се споени со здиплената конформација на противгенот. Повеќето противтела кои настануваат од глобуларните протеини се врзуваат за протеинот само кога тој е во природна конформација. Поради тоа што таложењето на ваквите противгени обично ја менува структурата на нивните епитопи, противтелата кон природниот протеин не се врзуваат за исталожениот протеин.

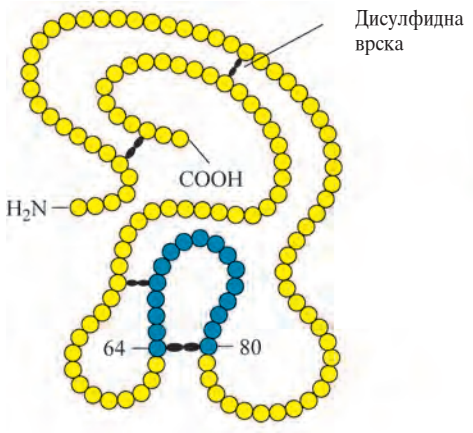
При една серија експерименти, пет различни **последователни (секвентни) епитопи**, при што секој содржеше шест до осум последователни аминокиселини, беа пронајдени во миоглобинот од сперма на кит. Секој од овие епитопи се наоѓа на површината од молекулот при врските помеѓу алфа - спиралните подрачја (слика 4-3а). Миоглобинот од спермата на китот, исто така, содржи неколку **непоследователни (несеквенти) епитопи**, или **конформациски одредници.** Остатоците кои ги сочинуваат овие епитопи се доста оддалечени во првичната аминокиселинска секвенца, но се зближуваат во третичната структура од молекулот. Ваквите епитопи се присутни само кога протеинот е во неговата природна конформација (природен

ПРЕГЛЕД НА СЛИКА 4-3

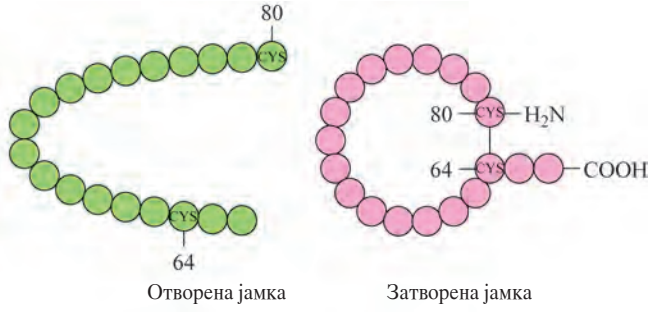


Протеинските противгени обично содржат и последователни и непоследователни Б-клеточни епитопи. (а) Шема на миоглобулин од сперма на кит ги покажува местата на 5 последователни Б-клеточни епитопи (сино). (б) Шема во вид на ленти од лизозим од белка на јајце од кокошка покажува остатоци кои сочинуваат еден непоследователен (конформациски) епитоп. Остатоците кои се допираат со лесните вериги, тешките вериги, или и со двата се прикажани во црвено, сино и бело. Овие остатоци се мошне распространети во секвенцата од аминокиселините, но се приближуваат со диплињето на протеинот.
[Дел (а) адаптирано од *M.Z. Atassi* и *A.L. Kazim, 1978, Advances in Experimental Medicine in Biology* ***98****:9;* дел (б) од *W. G. Laver et al.,1990, Cell* ***61****:554.*]

(а) Лизозим од белка од јајце од кокошка

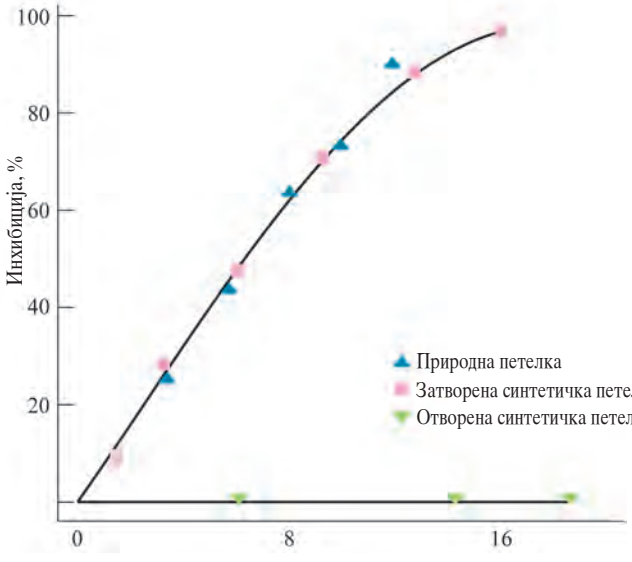


(б) Синтетски пептиди со јамка



Отворена јамка Затворена јамка

(в) Спречување одговор помеѓу ЛКБ јамката и противсерумот со противјамка



Сооднос на инхибитор на петелка и противсерум на противпетелка

СЛИКА 4-4 Експериментален приказ дека врзувањето на противтелото за конформациските одредници во лизозимот од белката на јајцето од кокошка (ЛКБ) зависи од одржувањето на третична структура на епитопите со меѓуверижни дисулфидни врски. (а) Приказ на првична структура на ЛКБ, каде кругови ги прикажуваат аминокиселинските остатоци. Јамката (сините кругови) создадена од дисулфидна врска меѓу цистеинските остатоци на позициите од 64 до 80 сочинуваат една од конформациските одредници во ЛКБ. (б) Синтетски пептиди со отворена и со затворена јамка одговараат на епитопот од ЛКБ јамката. (в) Спречување на поврзувањето меѓу епитопот на ЛКБ јамката и противсерумот за противјамка. Противсерумот со противјамка прво беше инкубиран со природна секвенца на јамката, синтетски пептид со затворена јамка или синтетски пептид со отворена јамка. Потоа беше измерена способноста на противсерумот да се врзува за природната секвенца со јамка. Отсуството на секое спречување од страна на пептидот со отворена јамка укажува на тоа дека тој не се врзува за противсерумот со противјамка.
*[Адаптирано од D. Benjamin et al., 1984, Annual Review of Immunology **2**:67.]*

облик). Добро карактеризиран непоследователен епитоп во лизозимот од белката од јајцето на кокошка (ЛБК) (hen egg-white lysozyme = HEL) е прикажан на слика 4-3б. Иако остатоците од аминокиселините кои го сочинуваат овој епитоп на ЛКБ се доста оддалечени во првичната секвенца на аминокиселините, се зближуваат со третичното диплење на протеинот.

Последователните и непоследователните епитопи во основа се однесуваат различно кога протеинот е денатуриран, поделен или намален. На пример, соодветното делење на миоглобинот од спермата на китот може да даде пет делови, при што секој задржува еден последователен епитоп, како што е прикажано од испитувањата дека противтелото може да се врзе за секој дел. Од друга страна, непоследователните епитопи во основа се губат кога протеинот се дели или кога се смалуваат неговите дисулфидни врски. На пример, ЛКБ има четири меѓуверижни дисулфидни врски, што го одредува конечниот облик на протеинот (слика 4-4а). Многу противтела во ЛКБ препознаваат неколку епитопи и секој од осумте различни епитопи е препознат како различно противтело. Повеќето од овие епитопи се конформациски одредници во зависност од целосната структура на протеинот. Ако меѓуверижните дисулфидни врски на ЛКБ се намалат со меркаптоетанол, непоследователните епитопи се губат. Поради оваа причина, противтелото за природниот ЛКБ не се врзува за намалениот ЛКБ.

Експериментот со спречување прикажан на сликата 4-4б и в убаво ја прикажува оваа идеја. Противтелото за конформациската одредница, во овој пример пептидна јамка присутна во природниот ЛКБ, можеше да се врзе за епитопот само ако дисулфидната врска која ја одржува структурата на јамката беше целосна. Информациите за стуктурните услови на противтелното комбинациско место се добија со испитување на способноста на структурните сродности на природниот противген да се врзе со тоа противтело. Ако структурната сродност ги има критичните епитопи кои се присутни во природниот противген, ќе се врзе за противтелно комбинирачкото место,

при што природниот противген ќе го блокира нејзиниот ефект. При овој метод на спречување, способноста на затворената јамка (слика 4-4б, десно) да спречи поврзување покажува дека затворената јамка беше доволно слична на ЛКБ за да биде препозната од страна на противтелото за природниот ЛКБ. Иако отворената јамка (слика 4-4б, лево) ја имаше истата аминокиселинска секвенца како и затворената јамка, немаше епитопи препознати од противтелото и затоа не можеше да го блокира врзувањето на ЛКБ (слика 4-4в).

Б-клеточните епитопи се стремат да бидат лоцирани во подвижните области на имуногенот и често ја покажуваат подвижната област. Џон А. Тајнер и неговите колеги ги анализирале епитопите на одреден број протеински противгени (миохемеритерин, инсулин, цитохром *ц*, миоглобин и хемоглобин) со споредување на позициите на познатите Б-клеточни епитопи со подвижноста на истите остатоци. Нивната анализа открила дека главните противгени одредници кај овие протеини во основа биле лоцирани во најподвижните подрачја. Овие испитувачи предложија дека подвижната област на епитопите е максимално комплементарна со областа за врзување противтело. Се испостави дека поцврстите епитопи се врзуваат понеефективно. Сепак, поради загубата на ентропија како резултат од врзувањето за подвижната област, врзувањето на противтелото за подвижниот епитоп во основа е со помал афинитет отколку врзувањето на противтелото за цврстиот епитоп.

Комплексните протеини содржат повеќе преклопувачки Б клеточни епитопи, при што дел од нив се имунодоминантни. Во текот на многу години, во имунологијата постоеше догма дека секој глобуларен протеин има мал број епитопи, секој наменет за високо пристапно подрачје и одреден по целосното создавање на протеинот. Сепак, неодамна се покажа дека повеќето од површината на глобуларниот протеин е потенцијално имуногенична. Ова се покажа со споредување на противген врзувачките облици од различни моноклонски противтела за различни глобуларни протеини. На пример, кога 64 различни моноклонски противтела за ГСА се споредуваат според нивната способност да се врзат за панел (комбинација) од 10 различни албумини од цицачи, се појавија 25 различни повторувачки противген врзувачки облици, што укажува на тоа дека овие 64 различни противтела препознале минимум 25 различни епитопи за ГСА.

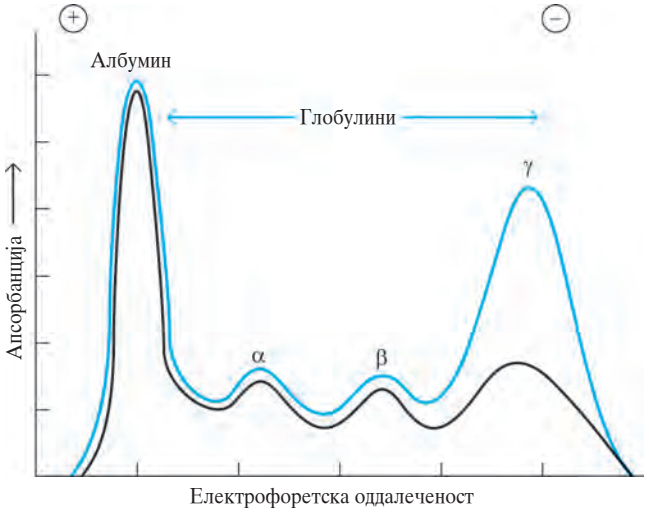
Така што, површината на протеинот претставува голем број потенцијално противгени области. Подгрупата на противгени области кај даден протеин кој е препознат од имуниот систем кај животните е доста помал од потенцијалната противгена група и варира од вид до вид, дури и кај поединци од дадени видови. Кај животните, одредени епитопи од противгенот се препознаваат како имуногени, други не. Освен тоа, одредени епитопи, наречени **имунодоминантни**, поттикнуваат понагласен имун одговор кај одредени животни отколку други епитопи. Многу е веројатно дека внатрешните топографски особини на епитопот исто како и регулаторните механизми на животните влијаат врз имунодоминацијата на епитопите.

Основна структура на противтелата

Препознавањето на имуногенот од површинските противтела во Б-клетките поттикнува размножување и диференцирање во памтечките Б-клетки и плазма клетките (види Поглавје 11). Плазма клетките лачат растворливи противтелни молекули со специфичност за противгенот кој е идентичен со површинскиот рецептор од Б-клетката родител. Следниве делови ќе ги објаснат структурните крарактеристики на противтелните молекули овозможувајќи им да ги исполнат нивните две главни функции:

1. Врзување со надворешени противгени кои се сретнале со домаќинот;
2. Посредување ефекторни функции за неутрализирање или отстранување надворешните напаѓачи.

Уште од деветнаесетиот век е познато дека противтелата се наоѓаат во крвниот серум (во средината на дваесеттиот век се покажа дека противтелата се прусутни во други течности кои ги лачи телото: млеко, солзи, плунката, жолчката итн.). Крвта во центрифугата може да се подели на течност и клеточен дел. Течниот дел е **плазмата**, а клеточниот дел содржи црвени клетки, бели клетки и крвни плочки. Плазмата ги содржи сите растворливи мали молекули и макромолекули од крвта, вклучувајќи го фибриногенот и други протеини потребни за засирување на крвта. Ако се дозволи крвта или плазмата да се засират (згрутчат), течната фаза која останува се нарекува **серум**. Првиот доказ дека противтелата се содржат во одредени делови од серумски протеини дојде од класичен експеримент на Арни Тиселиус и Елвин А. Кабат во 1939 година. Тие имунизираа зајаци со протеинот јајцев албумин (албуминот од белките во јајцата), подготвија серум и потоа го поделија серумот на два дела. Електрофоретското двоење на еден дел од серумот откри



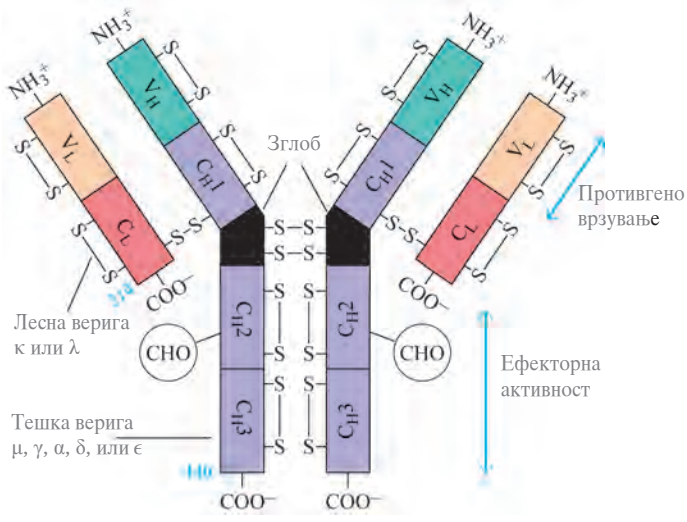
СЛИКА 4-5 Експериментален приказ дека повеќето противтела се во гама-глобулинскиот дел од серумските протеини. По имунизирањето на зајаците со јајцев албумин (ЈАА), нивниот противсерум беше исталожен и се направи електрофореза, која ги подели серумските протеини според нивниот електричен полнеж и маса. Сината линија го покажува електрофоретскиот модел на нетретираниот противсерум. Црната линија го покажува обликот на противсерумот во кој прво беше внесено ЈАА за отстранување против-ЈАА противтелото, а потоа му се направи електрофореза *[Адаптирано од A. Tiselius and E. A. Kabat, 1939, Journal of Experimental Medicine **69**:119 со дозвола за авторски права од Rockefeller University Press.]*

четири главни делови кои одговораат на серумскиот албумин и алфа-, бета- и гама-глобулините. Пред електрофорезата, другиот дел од серумот бил измешан со имунизирачкиот противген (овалбумин), овозможувајќи создавање имун преципитат (соединение од противген и противтело) кој бил отстранет, оставајќи ги останатите серум протеини, кои не реагирале со противгенот. Споредбата на електрофоретските облици на овие два дела серуми откри дека има значителен пад во гама-глобулинскиот врв во делот кој реагирал со противгенот (слика 4-5). Така што, за **гама-глобулинскиот дел** се утврди дека содржи серумски противтела, кои се наречени **имуноглобулини** за да се разликуваат од сите други протеини кои би можеле да се содржат во гама-глобулинскиот дел. Првичните експерименти на Кабат и Тиселиус ги поделија серумските протеини на три главни неалбумински делови - алфа, бета и гама. Знаеме дека иако имуноглобулинот Г (ИгГ), најобилната класа противтелни молекули, навистина најмногу се сретнува кај гама-глобулинскиот дел, значителни количини од него и други класи молекули-противтела се сретнуваат во алфа и бета деловите во серумот.

Противтелата се хетеродимери

Противтелните молекули имаат заедничка структура од четири пептидни вериги (слика 4-6). Оваа структура се состои од два идентични **лесни (Л) вериги**, полипептиди од околу 22000 Да и два идентични **тешки (Т) вериги**, поголеми полипептиди од околу 55000 Да или повеќе. Секој лесна верига се врзува за тешка верига преку дисулфидна врска и со нековалентни врски како што се солните, водородните и хидрофобичните врски стапува во меѓудејство за создавање хетеродимер (Т-Л). Слични нековалентни и дисулфидни врски меѓусебно ги поврзуваат двете комбинации од идентични тешки и лесни (Т-Л) вериги за да ја формираат основната структура на противтелото од четири вериги $(Т\text{-}Л)^2$, димер од димери. Како што ќе видиме понатаму, точниот број на прецизни позиции на дисулфидните врски кои ги поврзуваат димерите се разликува меѓу класите и поткласите на противтелата.

Првите 110 или приближно толку аминокиселини од амино крајното подрачје на лесни и тешки вериги доста варира меѓу противтелата со различна противгена специфичност. Овие сегменти од високо променливата секвенца се наречени *В подрачја*: $В_Л$ кај лесните вериги и $В_Т$ кај тешките вериги. Сите разлики во специфиноста прикажани од различни противтела може да се сведат на разлики во секвенците на аминокиселините во В подрачјата. Всушност, повеќето разлики меѓу противтелата во области во В подрачјата наречени *комплементарно одредувачко подрачје* (КОП), а ова КОП, и кај лесните и тешките вериги, го сочинуваат противгено врзувачкото место на противтелниот молекул. Наспроти тоа, во секоја посебна класа противтела, се гледаат помали разлики кога ќе се споредат секвенците низ остатокот од молекулот. Подрачјата со релативно постојана секвенца покрај променливите подрачја се идентични со К подрачјата, $К_Л$ кај лесните вериги и $К_Т$ кај тешките вериги. Противтелата се гликопротеини, со одредени исклучоци, областите на прикачување на јаглехидратите се ограничени на постојаното подрачје. Не ја разбираме целосно улогата која ја игра гликозилацијата на молекулите, но веројатно ја зголемува растворливоста на молекулите. Несоодветната гликозилација или нејзиното отсуство влијае врз стапката со која противтелата се чистат од серумот и ја намалува ефикасноста

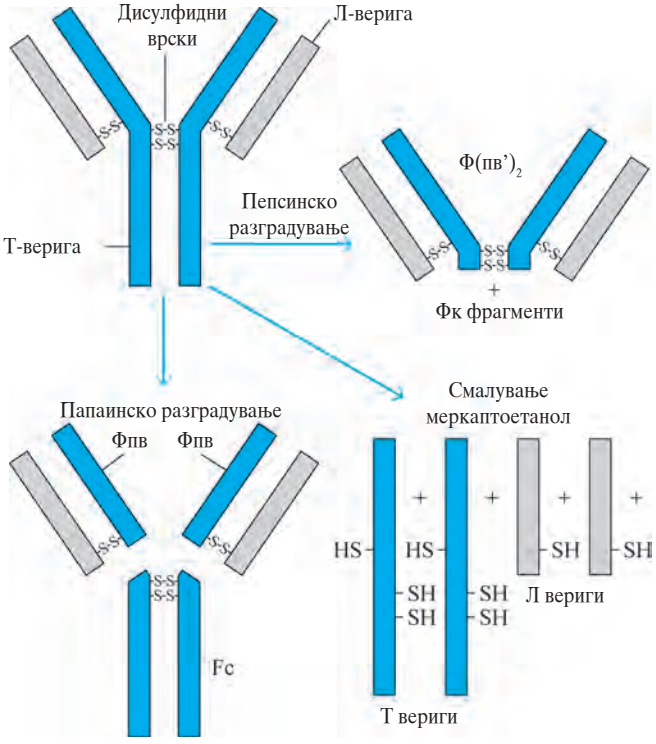


СЛИКА 4-6 Шематско прикажување на структурата на имуноглобулините изведено од анализа на секвенцата на аминокиселините. Секоја тешка и лесна верига во имуноглобулинскиот молекул содржи амино крајно променливо (В) подрачје (зелено и црно) кое се состои од 100 до 110 аминокиселини и се разликуваат од едно до друго противтело. Останатите од секоја верига во молекулот - постојаните (К) подрачја (виолетово и црвено) - извршуваат ограничена варијација која ги дефинира поттиповите на двете лесни вериги и поткласите на пет лесни вериги. Одредени тешки вериги (гама, бета и алфа) исто така содржат зглобни подрачја богати со пролин (црно). Амино крајните делови, кои одговараат на В подрачја, се врзуваат за противгенот. Ефекторните функции се посредени од карбокси-крајни домени. Ми и епсилон тешките вериги, кои немаат поврзувачки подрачја, содржат дополнителен домен во средината од молекулот. ЦХО значи јаглехидратна група поврзана за тешката верига.

на меѓудејствата меѓу противтелото и другите протеини со кој стапува во сооднос.

Хемиските и ензимските методи ја открија основната структура на противтелото

Нашето знаење за основната структура на противтелата произлегува од различни експерименти. Кога гама-глобулинскиот дел од серумот ќе се оддели на делови со голема и мала молекулска тежина, противтелата од околу 150000 Да, наречени имуноглобулин Г (ИгГ), се сретнуваат кај делот со мала молекулска тежина. При клучен експеримент, брзото разградување ИгГ со протеолитичниот ензим папаин создаде три делови, од кои два беа идентични, а третиот беше мошне различен (слика 4-7). Двата идентични делови (секој од 450000 Да) поседуваа противген врзувачка активност и беа наречени **Фпв фрагменти** („**Ф**рагмент, **п**ротивген **в**рзувачки“ или на англиски „**F**ragment, **a**ntigen **b**inding” = Fab). Другиот дел (50000



СЛИКА 4-7 **Прототип структура на ИгГ, ни ја покажува структурата на веригите и меѓуверижните дисулфидни врски.** Означени се фрагментите создадени со ензимско разградување со пепсин или папаин или со цепење на дисулфидните врски со меркаптоетанол. Лесните (Л) вериги се во сива боја, а тешките (Т) во сина.

Да) воопшто не поседуваше активност за врзување противгени. Бидејќи се откри дека тој кристализира при чување во ладно, беше наречен **Фк фрагмент** („**Ф**рагмент, **к**ристализирачки или на англиски „**F**ragment, **c**rystallizable = **Fc**). Разградувањето на ИгГ со различен протеолитичен ензим, пепсин, уште еднаш покажа дека противген врзувачките особини на противтелото може да се одделат од останатиот дел од молекулот. Разградувањето на пепесинот создаде еден фрагмент од 100000 Да, составен од две подеиници како Фпв наречени **Ф(пв')$_2$ фрагмент**, кој се врзува за противген. Фк фрагмент не се извади со третманот со пепсин бидејќи беше разграден на бројни мали пептиди.

Клучен наод се направи при сведување на повеќеверижната структура на ИгГ кога молекулот беше подложен на смалување на меркаптоетанол и алкилација, хемиско третирање кое неповратно ги расечува дисулфидните врски, но не и пептидните врски. Ако третираниот примерок се хроматографира на колона која ги одделува молекулите по големина, станува јасно дека неоштетениот молекул ИгГ од 150000 Да, всушност, бил составен од подеиници. Секој ИгГ молекул содржи два поголеми пептидни вериги од околу 50000 Да, наречени тешки (Т) вериги и две помали вериги од приближно 22000 Да, наречени лесни (Л) вериги (слика 4-7).

Самите противтела се користат за одредување како ензимските продукти при дигестија - Фпв, Ф(пв')$_2$ и Фк - се поврзани со редукциските продукти од лесните и од тешките вериги. На ова прашање се одовори со употреба на противсерум од коза која беше имунизирана или со Фпв фрагменти или со Фк фрагменти од ИгГ на зајак. Противтелото од Фпв фрагментот можеше да реагира и со Т- и Л-веригите, додека противтелото од Фк фрагментот реагираше само со Т-веригата. Овие наоди доведоа до заклучок дека Фпв фрагментот содржи дел од тешкиот плус недопрена лесна верига и дека Фк содржи само делови од тешката верига. Од овие резултати и оние кои се споменети погоре, беше создадена структурата на ИгГ прикажана на слика 4-6. Според овој модел, ИгГ молекулот се состои од две идентични Т-вериги и две идентични Л-вериги, кои се поврзани со дисулфидни врски.

Веројатниот следен чекор при добивањето слика за структурата на противтелото ја одредуваше нивната аминокиселинска секвенца, сепак настана проблем. Популацијата од противтелата во серум гама-глобулинскиот дел се состои од хетероген спектар на противтела - многу различни противтела секој присутен во мали количини. Дури и да се направи имунизација со конјугат хаптен-носач, создадената популација противтела насочена против хаптенот ќе биде хетерогена, бидејќи многу противтела препознаваат различни епитопи од хаптенот. Сепак, анализирање на секвенцата на аминокиселините, бара чист примерок од молекулот кој се проучува. Оваа пречка за анализирање на секвенцата се надмина со употреба на имуноглобулини од пациенти со **мултипен миелом**, рак на плазма клетките кои создаваат противтела. Плазма клетките кај здраво лице се клетки во крајна фаза кои лачат молекулски видови на противтела во ограничен период на време, а потоа умираат. Наспроти тоа, клон од плазма клетките кај лицето со мултипен миелом испаднал од контрола на животниот циклус и се размножува на нерегулиран начин без потреба за какво било активирање од страна на противген за поттикнување на размножувањето. Иако таквата канцерозна плазма клетка, наречена **миеломска клетка**, е трансформирана, нејзината машинерија за синтетизирање протеини и секреторните функции не се променети. Според тоа, клетката продолжува да го лачи молекулското хомогено противтело. Ова противтело не се разликува од обичните противтелни молекули, но е наречено **миеломски протеин** за да го означи неговиот извор. Кај пациент со многукратен миелом, на миеломскиот протеин отпаѓаат 95% од серумските имуноглобулини. Кај многу пациенти, миеломските клетки исто така лачат вишок количини на лесни вериги. Овој вишок лесни вериги најпрво беше откриен во урината од пациентите со миелом и беа именувани како **Бенс-Џонсонови протеини** според нивните откривачи.

Многукратниот миелом исто така се појавува кај други животни. Кај глувците може да се јави спонтано, како што се јавува кај луѓето, или со внесување минерално масло во перитонеалната празнина кое може да се создаде услови во прилог на поттикнувањето миелом. Клоновите од опасните плазма клетки кои се развиваат се наречени **плазмацитоми**, а многу од нив се наречени ПКММ, што значи поттикнување плазмацитомски клетки со минерално масло. Голем број видови на ПКММ од глушец кои лачат различни класи имуноглобулини се во употреба од страна на American Type-Culture Collection, непрофитно складиште на видови клетки кои често се користат во истражувањето. Методот за создавање моноклонски противтела со саканата специфичност кој е развиен од Горгес Кохлер и Цезар Милштајн (види долу) ги ко-

ристи плазмацитомските линии. Оваа хибридомна технологија овозможува создавање хомогени противтела за структурните и функционалните проучувања и за бројни клинички употреби.

Секвенцата од лесните вериги откри постојани и променливи подрачја

Кога секвенците на аминокиселините од неколку Бенс-Џонсонови протеини (лесни вериги) од различни лица ќе се споредат, ќе се добијат извонредни облици. За амино крајната половина од веригата, која се состои од 100 до 110 аминокиселини, се откри дека варира меѓу различни Бенс-Џонсонови протеини. Овој подрачје е наречено **варијабилно (В) подрачје**. Карбоксил крајните половини од молекулите, наречени **константни (К) подрачја**, ги имаат една од двете секвенци на аминокиселини. Ова доведе до сфаќање дека постојат два вида лесни вериги, **капа (к)** и **ламбда (λ)**. Кај луѓето, 60% од лесните вериги се капа, а 40% се ламбда, додека кај глувците 95% од лесните вериги се капа, а само 5% се ламбда. Обичен противтелен молекул содржи само еден вид лесна верига, или капа или ламбда, никогаш и двете.

Секвенците од аминокиселините на ламбда константното подрачје на лесната верига покажуваат мали разлики кои се користат за класифицирање на ламбда лесните вериги во подгрупи. Кај глувците и луѓето, постојат четири подгрупи: ламбда1, ламбда2, ламбда3 и ламбда4. Замените за аминокиселините на само неколку позиции се одговорни за разликите во поттиповите.

Постојат пет видови главни класи на тешки вериги

За анализаата на секвенцата на тешките вериги, миеломските протеини се редуцирани со меркаптоетанол и алкилирани, а тешките вериги се одвоени со гел филтрација во денатурирачки раствор. Кога ќе се споредат секвенците на аминокиселините од неколку тешки вериги на миеломски протеини, ќе се појави облик сличен како оној кај лесните вериги. Амино крајниот дел од веригата, кој се состои од 100 до 110 аминокиселини, покажа голема варијација во секвенцата помеѓу тешките вериги од миеломот и затоа беше наречено варијабилно (В) подрачје. Останатиот дел од протеинот откри пет основни модели на секвенци, што одговараат на пет различни константни (К) подрачја со тешки вериги: ми, делта, гама, епсилон и алфа. Секој од овие пет различни тешки вериги е наречен **изотип**. Должината на константното подрачје е приближно 330 аминокиселини за делта, гама и алфа и 440 аминокиселини за ми и епсилон. Тешките вериги кај даден противтелен молекул ја одредуваат *класата* на тоа противтело: ИгМ (ми), ИгГ (гама), ИгА (алфа), ИгД (делта) или ИгЕ (епсилон). Т-веригите од секоја класа може да се спојат со капа или со ламбда лесните вериги. Еден противтелен молекул има две идентични тешки и две идентични лесни вериги, $Т_2Л_2$, или повеќе $(Т_2Л_2)_n$ од оваа основна структура со четири вериги (табела 4-3).

Малите разлики во секвенците на аминокиселините со алфа и гама тешки вериги доведе до понатамошна класификација на тешките вериги во подизотипови кои ја одредуваат поткласата на противтелните молекули кои тие ги сочинуваат. Кај луѓето, постојат два вида подизотипови на алфа тешките вериги - алфа1 и алфа2 (и две поткласи, ИгА1 и ИгА2) и четири подизотипови на гама тешки вериги: гама1, гама2, гама3 и гама4 (и четири поткласи), ИгГ1, ИгГ2, Иг3 и ИгГ4). Кај глувците, постојат четири подизотипови, гама1, гама2а, гама2б и гама3 и соодветните поткласи.

ТАБЕЛА 4-3 Составот на веригите од пет класи на имуноглобулини кај луѓето

Класа*	Тешка верига	Поткласи	Лесна верига	Молекулска формула
ИгГ	γ	γ1, γ2, γ3, γ4	κ или λ	$\gamma_2 \kappa_2$ $\gamma_2 \lambda_2$
ИгМ	μ	нема	κ или λ	$(\mu_2 \kappa_2)_n$ $(\mu_2 \kappa_2)_n$ n = 1 или 5
ИгА	α	α1, α1	κ или λ	$(\alpha_2 \kappa_2)_n$ $(\alpha_2 \lambda_2)_n$ n= 1,2,3или 4
ИгЕ	ε	нема	κ или λ	$\varepsilon_2 \kappa_2$ $\varepsilon_2 \lambda_2$
ИгД	δ	нема	κ или λ	$\delta_2 \kappa_2$ $\delta_2 \lambda_2$

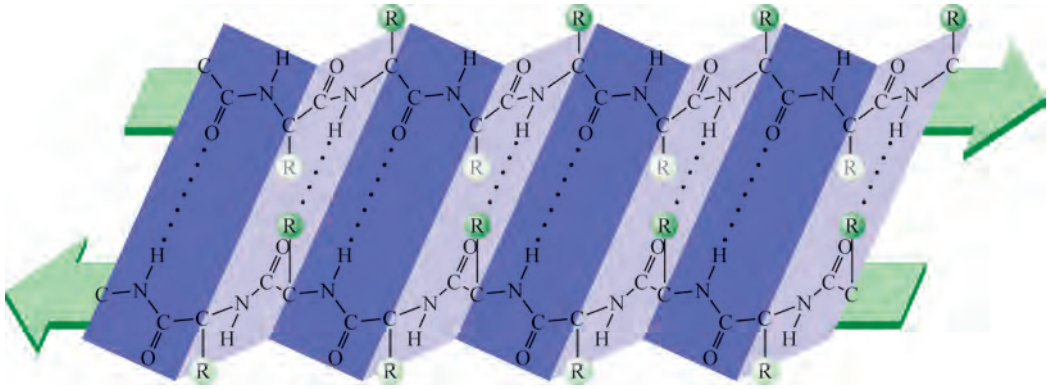
*Види слика 4-17 за општите структури на петте класи противтело.

Имуноглобулините поседуваат многу области врз база на имуноглобулинското диплење

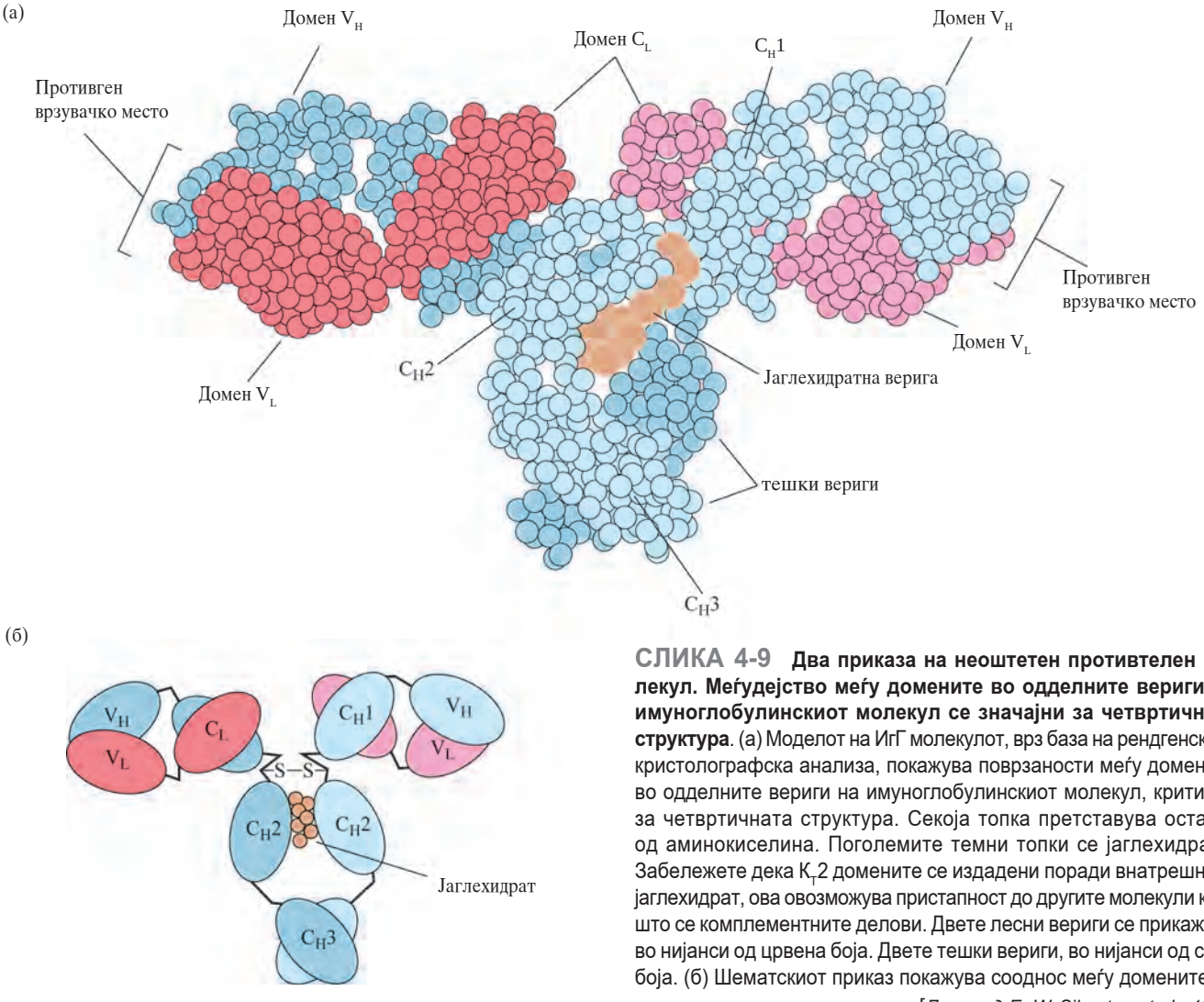
Целосната структура на имуноглобулинскиот молекул се одредува според првичната, вторичната, третичната и четвртичната организација на протеинот. Првичната структура - секвенцата од аминокиселините - ги содржи променливите и постојаните подрачја од тешките и лесните вериги. Вторичната структура се создава со диплење на издолжената полипептидна верига, прво во себе, потоа во серија противпаралелни бета здиплени ленти (слика 4-8). Потоа веригите се диплат во третична структура од компактни глобуларни домени, кои со соседните домени се поврзани полипептидни ленти помеѓу подрачјата од бета здиплената лента. На крајот, глобуларните домени од соседните тешки и лесни полипептидни вериги стапуваат во меѓудејство со четвртичната структура (слика 4-9), формирајќи функционални домени кои му овозможуваат на молекулот специфично да се врзе за противгенот и во исто време да изврши одреден број биолошки ефекторни функции.

Деталната анализа на аминокиселинските секвенци од имуноглобулинските тешки и лесни вериги покажа дека и двете вериги содржат неколку хомологни единици од околу 110 аминокиселински остатоци. Во секоја единица, наречена домен, меѓуверижната дисулфидна врска формира јамка од околу 60 аминокиселини. Лесните вериги содржат еден променлив домен, ($В_Л$) и еден постојан домен ($К_Л$). Тешките вериги содржат еден променлив домен ($В_Т$) и или три или четири постојани домени ($К_Т1$, $К_Т2$, $К_Т3$ и $К_Т4$), во зависност од класата на противтелото (слика 4-10).

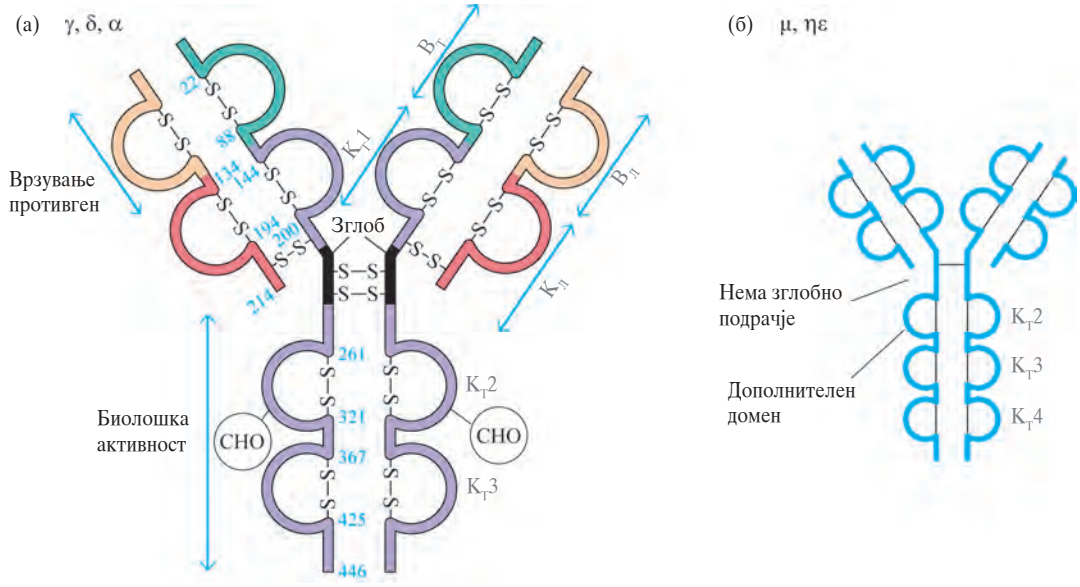
Кристалографската анализа со Икс зраци покажа дека имуноглобулинските домени се здиплени во карактеристични



СЛИКА 4-8 Структурна формула на бета здиплена плочка која содржи две противпаралелни бета ленти. Структурата е поврзана со водородни врски од соседните гранки на полипептидните вериги. Страничните групи на аминокиселини (R) се подредени перпендикуларно кон рамништето на плочката. [Адаптирано од *H. Lodish et al., 1995, Molecular Cell Biology, 4th ed., Scientific American Books, New-York;* препечатено со дозвола од *W. H. Freeman and Company.]*



СЛИКА 4-9 Два приказа на неоштетен противтелен молекул. Меѓудејство меѓу домените во одделните вериги од имуноглобулинскиот молекул се значајни за четвртичната структура. (а) Моделот на ИгГ молекулот, врз база на рендгенската кристолографска анализа, покажува поврзаности меѓу домените во одделните вериги на имуноглобулинскиот молекул, критични за четвртичната структура. Секоја топка претставува остаток од аминокиселина. Поголемите темни топки се јаглехидрати. Забележете дека K_T2 домените се издадени поради внатрешниот јаглехидрат, ова овозможува пристапност до другите молекули како што се комплементните делови. Двете лесни вериги се прикажани во нијанси од црвена боја. Двете тешки вериги, во нијанси од сина боја. (б) Шематскиот приказ покажува сооднос меѓу домените од тешките и од лесните вериги. [*Дел а од E. W. Silverton et al., 1977, Proceeding of National Academy os Science U.S.A.* ***74****:5140.]*



СЛИКА 4-10 **(а) Тешките и лесните вериги се здиплени во домени, при што секој содржи околу 110 остатоци од аминокиселини и меѓуверижна дисулфидна врска која формира јамка од 60 аминокиселини.** Амино крајните домени, кои одговораат на В подрачја, се врзуваат за противген. Ефекторните функции се посредени од другите домени. (б) Ми и епсилон тешките вериги содржат дополнителен домен кој го заменува зглобното подрачје.

компактни структури наречени **имуноглобулинска дипла**. Оваа структура се состои од "сендвич" од две поставени плочи, од кои секоја содржи противпаралелни бета ленти од аминокиселини, кои се споени со јамки со различна должина (слика 4-11). Бета лентите во плочата се стабилизираат со водородни врски помеѓу амино (-NH) групите од едната плоча со карбонилните групи од соседната плоча (види слика 4-8). Бета плочките се карактеризираат со наизменични хидрофобни и хидрофилни аминокиселини чиишто странични вериги се организирани препендикуларно на површината на плочката, односно хидрофобните аминокиселини се поставени кон внтаре од сендвичот, а хидрофилните аминокиселини гледаат кон надвор. Двете бета плочки во имуноглобулинската дипла се стабилизирани преку хидрофобни соодноси меѓу нив и преку конзервирана дисулфидна врска.

Иако променливите и постојаните домени имаат слична структура, постојат дискретни разлики помеѓу нив. Секвенцата на В домен е незначително подолга од онаа на К домен и содржи дополнителен пар бета ленти во структурата на бета плочката, исто како и дополнителна секвенца на јамка која го поврзува овој пар од бета лентите (види слика 4-11).

Основната структура на имуноглобулинската дипла придонесува за четвртината структура на имуноглобулините преку олеснување нековалентните соодноси помеѓу домените по површините на бета плочките (види слика 4-8). Меѓудејството создава врски меѓу идентичните домени (на пр., (K_T2/ K_T2, K_T3/ K_T3 и K_T4/ K_T4) и меѓу неидентичните домени (B_T /$B_Л$ и K_T1/ $K_Л$). Структурата на имуноглобулинските дипли исто така овозможува променливи должини и секвенци од аминокиселини кои ја создаваат јамката која ги поврзува бета плочките. Како што објаснува следното поглавје, дел од поврзувачките секвенци (loop sequences) на B_T и $B_Л$ домените содржат променливи аминокиселини и го сочинуваат противген врзувачкото место од молекулот.

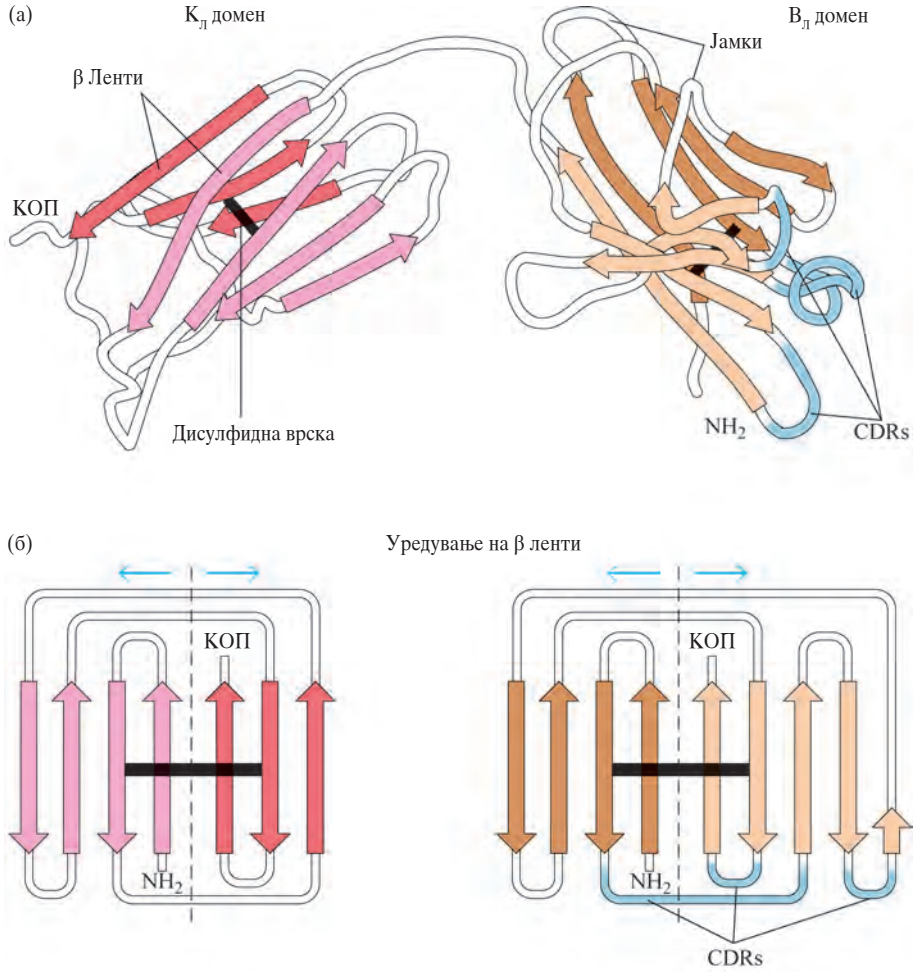
Противтелно врзувачко место

Противтелните молекули имаат две улоги, врзување на противген и посредување на ефекторни функции. Врзувањето на противгенот се постигнува со амино крајните делови и ефекторните функции со карбоксилно крајните подрачја. Структурните особини кои се поврзуваат со овие функции се објаснети во понатамошните поглавја.

Деталните споредби на секвенците на аминокиселините кај голем број B_T и $B_Л$ домени откри дека секвентната варијација е концентрирана во неколку дискретни подрачја од овие домени. Обликот на оваа варијација е најдобро опишан со квантитативната равенка на променливоста во секоја позиција од полипептидната верига. **Варијабилност (променливост)** се дефинира како:

$$\text{Варијабилност} = \frac{\text{Број на различни аминокиселини на дадена позиција}}{\text{Зачестеност на најчестата аминокиселина на дадена позиција}}$$

Така што, ако споредбата на секевенците на 100 тешки вериги откриe дека беше пронајден серин на позиција 7 од 51 во секвенците (зачестеност 0,51), таа ќе биде најчестата аминокиселина. Ако испитувањето на другите 49 секвенци покажаа дека позиција 7 е заземена од глутамин, хистидин, пролин

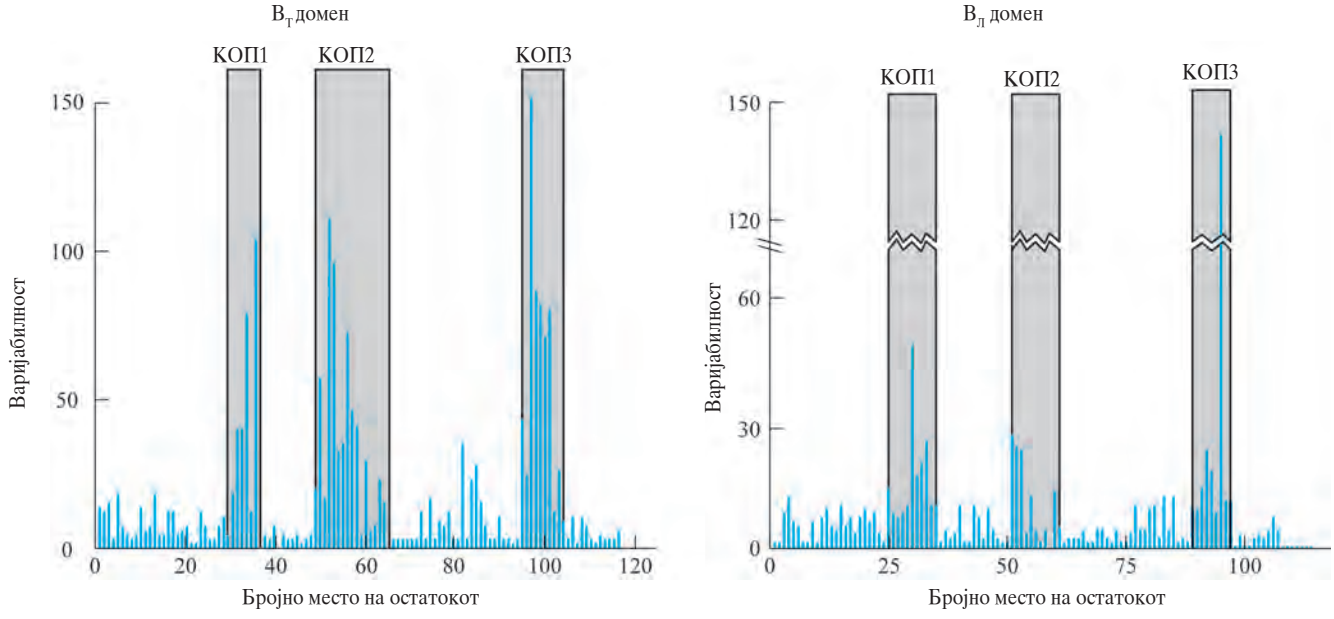


СЛИКА 4-11 **(а) Дијаграм на една имуноглобулинска лесна верига што прикажува имуноглобулин здиплена структура на нејзините варијабилни и константни домени.** Двете бета здиплени плочи од секој домен се држат заедно преку хидрофобни врски и конзервирана дисулфидна врска. Бета плочите кои ја сочинуваат секоја лента се прикжани во различни бои. Аминокиселинската секвенца во трите јамки од секој променлив домен покажува значителна варијабилност, овие хиперваријабилни подрачја (сино) го сочинуваат противген врзувачкото место. Хиперваријабилните подрачја обично се наречени КОП (комплементарно одредувачки подрачја). Домените од тешките вериги ја имаат иста карактеристична структура. (б) Бета здиплените плочи се отворени за да ја откријат врската со одделните бета ленти и поврзувачките јамки. Забележете дека варијабилниот домен содржи 2 бета плочи повеќе од константниот домен. [Дел а адаптирано од *M. Schiffer et al., 1973, Biochemistry* ***12****:4620; препечатено со дозвола; Дел б адаптирано од A. N. Barclay, 1988, Annual Review of Immunology* ***6****:381.]*

или триптофан, променливоста на таа позиција ќе биде 9,8 (5/0,51). Променливите равенки на $В_т$ и $В_л$ домените од противтелата кај луѓето покажаа дека се забележува максимална варијација во тие делови од секвенцата што одговара на јамките кои ги поврзуваат бета лентите (слика 4-12). Овие подрачја првично беа наречени **хиперваријабилни подрачја** при препознавањето на нивната висока променливост. Хиперваријабилните подрачја создаваат противген врзувачко место во противтелниот молекул. Бидејќи противген врзувачкото место е комплементарна со структурата на епитопот, овие области сега се пошироко наречени **комплементарно-одредувачки подрачја (КОП).** Трите подрачја во тешките и трите подрачја во лесните вериги се наоѓаат во јамката која ги поврзува бета лентите од $В_т$ и $В_л$ домените. Остатокот од $В_т$ и $В_л$ домените имаат мошне помала промена, овие гранки се наречени **конструкциски подрачја (КП)** (framework regions = FR). Широкиот опсег на специфичности кои ги извршуваат противтелата настанува од промените во должината од аминокиселинските секвенци од шест КОП кои спаѓаат во подрачјето кое одговара на Фпв фрагментите. Подрачјето за конструкција дејствува како скеле кое ги поддржува овие шест јамки. Тридимензионалната структура на подрачјата за конструкција кај скоро сите противтела кои се анализирани во моментов може да се стави една врз друга. Наспроти тоа, хиперваријабилните јамки (т.е. КОП) се единствени за секое противтело.

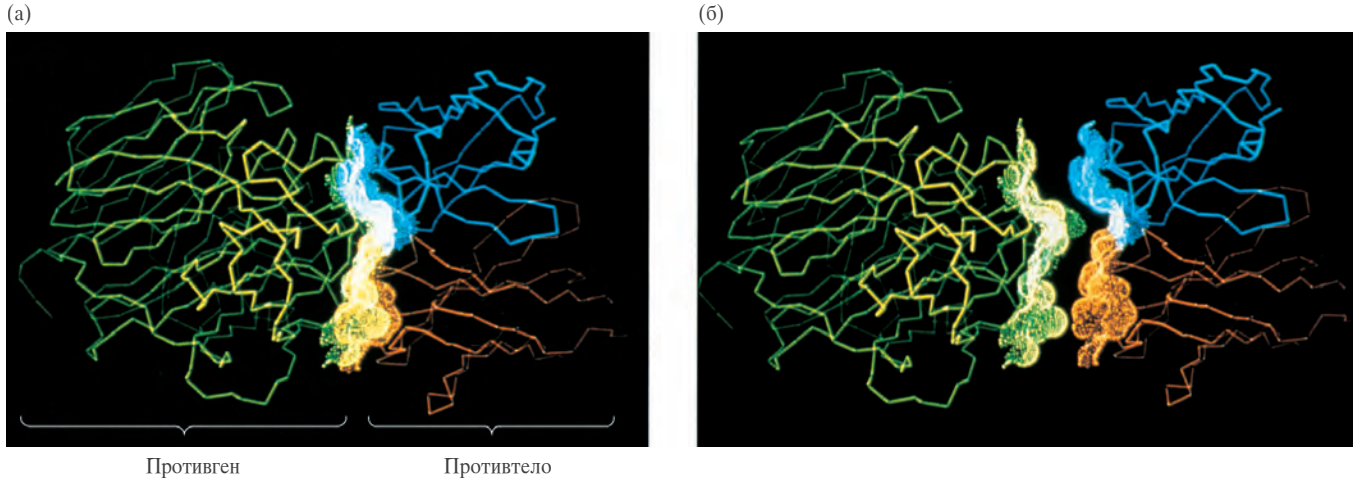
КОП врзува противген

Наодот дека КОП се противген врзувачки подрачја од противтелата се потврди директно со високо разделна кристалографија со Икс зраци на комплексот противген-противтело. Кристалографската анализа е комплетирана за многу Фпв фрагменти од моноклонските противтела во комплекс

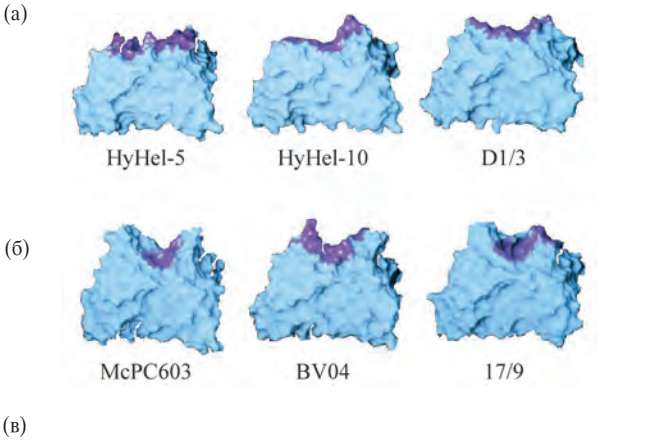


СЛИКА 4-12 Варијабилност на аминокиселинските остатоци во $В_т$ и $В_л$ домените од човечките противтела со различни специфичности. Три хиперваријабилни (ХВ) подрачја, исто така наречени комплементарно-одредувачки подрачја (КОП), се присутни кај В домени и во тешките и во лесните вериги. Како што е прикажано на слика 4-11 *(десно)*, трите ХВ подрачја во В домен од лесната верига се здружени во здипленатa структура. Истото важи и за В домен од тешките вериги.
[*Врз база на E. A. Kabat et al., 1977, Sequence of Immunoglobulin Chains, U. S. Dept. of Health, Education, and Welfare.*]

било со големи глобуларни протеински противегни или со мали противгени, вклучувајќи јаглехидрати, нуклеински киселини, пепетиди и мали хаптени. Дополнително, добиени се целосните структури за неколку неоштетени моноклонски противтела. Рендгенската дифракциска анализа на противген-противтелните комплекси покажа дека неколку КОП контактираат со противгенот, а се виде и одреден број комплекси каде сите шест КОП контактираа со противгенот. Во основа, повеќе остатоци од КОП на тешките вериги контактираат со противгенот отколку кај КОП на лесните вериги. Со други зборови, $В_т$ доменот често придонесува многу повеќе за врзувањето противген отколку $В_л$ доменот. Доминантната улога на тешката верига во врзувањето противген беше прикажана во испитување во кое една тешка верига специфична за гликопротеинсаки противген за човечкиот имунонедостаточен вирус (ХИВ) се комбинираше со различни лесни вериги со различна противгна специфичност (види Поглавје 20). Сите хибридни противтела се врзуваат за ХИВ гликопротеинскиот противген, што укажува на фактот дека само тешката верига е доволна за да поттикне специфичност. Сепак, не треба да се заклучи дека лесната верига е незначителна, во некои противген-противтелни реакции, лесната верига има позначаен придонес.



СЛИКА 4-13 Компјутерска симулација на сооднос помеѓу противтелото и противгенот од вирусот инфлуенца, глобуларен протеин. (а) Противгенот (жолто) е прикажан како стапува во сооднос со противтелниот молекул, варијабилното подрачје од тешката верига е во црвено, а променливото подрачје на лесната верига е во сино. (б) Комплементарноста на двата молекула се открива преку одделување на противгенот од противтелото со 8 ангтреми.
[*Врз база на x-ray crystalography data collected by P. M. Colman и W. R. Tulip, From G. J. H. Nossal, 1993, Scientific American* ***269****(3):22.*]



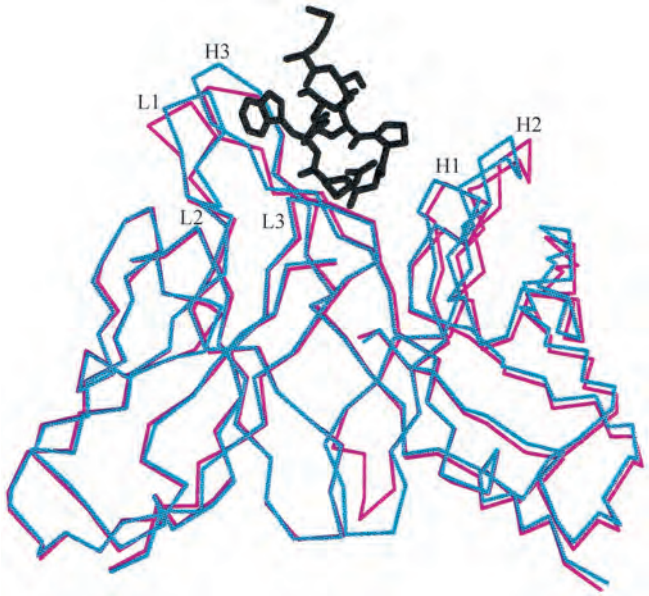
СЛИКА 4-14 **Противтелно врзувачки места.** Во основа, врзувачките места за малите молекули претставуваат длабоки џебови, додека врзувачките места за големите молекули се поплитки, побрановидни површини. (а, б) Модели на променливите домени на шест Фпв фрагменти со нивните противтген врзувачки подрачја прикажани виолетово. Трите противтела на слика (а) се специфични за лизозим, голем глобуларен протеин. Трите противтела на слика (б) се специфични за помали молекули или доста помали сегменти од макромолекулите: МцПЦ603 за фосфохолин, БВ04 за мал сегмент од едноверижна ДНК и 17/9 за пептид од хемаглутининот, протеинска обвивка на инфлуенца вирусот. (в) Детален приказ на комплексот меѓу мал пептид добиен со ХИВ протеаза и Фпв фрагмент од противпротеазното противтело.

[(а,б) Од *I. A. Wilson* и *R. L. Standfield, 1993, Current Opinion in Structural Biology* ***3****:113; (c)* Од *J. Lescar et al.,1997, Journal of Molecular Biology* ***267****:1207,* сопственост на *G. Bentley, Institute Pasteur.]*

Природата на контакната површина меѓу противтелото и противгенот е значително проучена со компјутерски создадената слика на соодносот меѓу противгенот и противтелото од вирусот на инфлуенца (слика 4-13). Контактите меѓу големиот глобуларен протеински противген и противтело се остваруваат на широка, често плитка, брановидна површина. Во областа на контактот, испакнатините или вдлабнатините на противгенот веројатно се совпаѓаат со комплементните вдлабнатини или испакнатини во противтелно врзувачкото место, создадено од страна на КОП. Во случајот на добро проучениот лизозимски/противлизозимски систем, кристалографските проучувања покажаа дека површинските области на соодност се доста големи и се протегаат од околу 650 ангстреми^2 до повеќе од 900 ангстреми^2. Во оваа област, остатоци од 15 до 22 аминокиселини во противтелото контактираат со сличен број остатоци од протеинскиот противген.

На слика 4-14, гледаме дека глобуларните протеински противгени и мали пептидни или хаптенски противгени стапуваат во соодност со противтелото на различни начини. Обично, протеинските противгени со големи површини се во соодност со големи области од противтело врзувачкото место (слика 4-14а). Помалите противгени како што се пептидите заземаат помалку простор и може да се сместат во преградите или процепот од врзувачкото место (слика 4-14б). Соодносот на пепетидите добиени со ХИВ протеаза и Фпв фрагментот од противпротеазното противтело детално ни ја прикажува блиската комплементарност помеѓу противтелото и малиот противген (слика 4-14в).

Конформациските промени може да бидат поттикнати од врзувањето противген



СЛИКА 4-15 **Конформациски промена при врзувањето на противген со противтело.** Прикажан е истиот комплекс како на слика 4-14в, меѓу пептидот добиен од ХИВ протеазата и Фпв фрагментот од противпротеазното противтело, при што се прави споредба на структурата на Фпв пред и по врзувањето на пептидот. Црвената линија ја прикажува структурата на Фпв фрагментот пред да се врзе со пептидот, а сината линија ја покажува неговата структура по неговото врзување. Доаѓа до значајни конформациски промени при создавањето кај КОП од Фпв при врзувањето на противгенот. Тие се посебно нагласени кај КОП1 (Л1) од лесната верига и кај КОП3 (Т3) од тешката верига.

*[*Од *J. Lescar et al., 1997, Journal of Molecular Biology* ***267:****1207,* сопственост на *G.Bentley, Institute Pasteur.]*

Како што се комплетираа повеќе рендгенски кристалографски анализи на Фпв фрагментите, стана јасно дека во одредени случаи, врзувањето на противгенот поттикнува конформациски промени кај противтелото, противгенот или и двете. Извонреден пример за конформациска промена се гледа кај создавањето комплекси меѓу Фпв фрагментите и нивиот пептиден епитоп прикажан на слика 4-15. При врзувањето кај Фпв се појавуваат значајни структурни промени. Подрачјето КОП1 од лесната верига се движи со 1 ангстрем, а КОП3 од тешката верига се движи со 2,7 ангстреми. Така што, дополнителни на промената на должината и на аминокиселинскиот состав на КОП јамките, способноста на овие јамки значајно да ја менуваат конформацијата при врзувањето противген им овозможува на противтелата да заземат облик кој е поефективно комплементарен од оној на нивните епитопи.

Како што веќе покажавме, конформациските промени по противгеното врзување не треба да се ограничат на противтелото. Иако не е прикажано на слика 4-15, конформацијата на протеазниот пепетид врзан за Фпв не покажува структурна сличност со соодветниот епитоп од природната ХИВ протеаза. Се предложи дека попречувањето на протеазната активност од страна на против-ХИВ протеазното противтело е резултат на неговото искривување на ензимската природна конформација.

Домени во константно подрачје

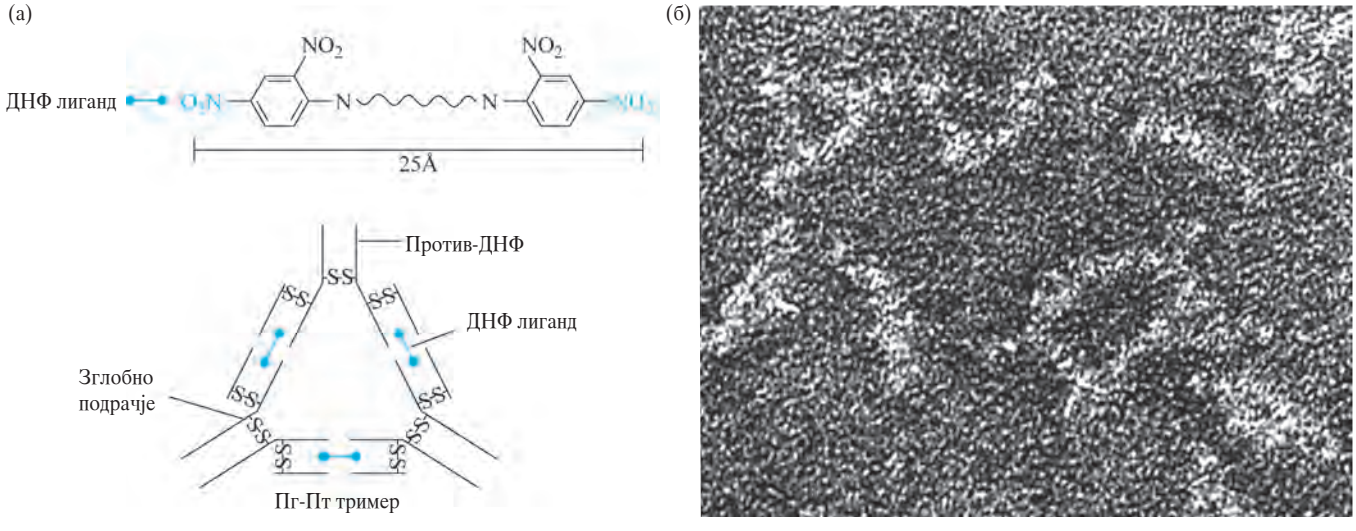
Имуноглобулинските домени од константното подрачје учествуваат во разни биолошки функции кои се одредени со аминокиселинската секвенца во секој домен.

$К_Т1$ и $К_Л$ домени

Домените $К_Т1$ и $К_Л$ служат за да ги продолжат гранките на противтелниот молекул, при тоа олеснувајќи го меѓудејството со противгенот и зголемувајќи ја максималната ротација на гранките (рацете) на Фпв. Дополнително, меѓуверижната дисулфидна врска меѓу овие домени од константното подрачје помага да се држат заедно $В_Т$ и $В_Л$ (види слика 4-10). Домените $К_Т1$ и $К_Л$ може исто така да придонесат за противтелното различие овозможувајќи послучајни врзувања меѓу домените $В_Т$ и $В_Л$ отколку ако се појави поврзаност само од соодносот помеѓу $В_Т$ и $В_Л$. Овие забелешки имаат значајно влијание врз градењето широка палета на противтела (различност или репертоар). Како што ќе ни покаже Поглавје 5, преуредувањата по случаен избор на имноглобулинските гени создава уникатни $В_Т$ и $В_Л$ секвенци за тешките и за лесните вериги прикажани врз секој Б лимфоцит, потоа поврзувањето на секвенците на $В_Т$ и $В_Л$ создава уникатно противген врзувачко место. Присуството на домените $К_Т1$ и $К_Л$ го зголемува бројот на можни стабилни интеракции помеѓу $В_Т$ и $В_Л$, на тој начин придонесуваат за целосната разновидност на противтелните молекули кои се прикажани кај животните.

Зглобно подрачје

Гама, делта и алфа тешките вериги содржат продолжена пептидна секвенца помеѓу домените $К_Т1$ и $К_Т2$ кои немаат хомологија со другите домени (види слика 4-10). Ова подрачје, наречено **зглобно подрачје**, е богато со остатоци од пролин и е подвижно, при што на ИгГ, ИгД и ИгА им дава сегментна флексибилност. Како резултат на тоа, двете раце од Фпв можат да заземат различни агли еден спрема друг кога се врзува противгенот. Оваа подвижност на зглобното подрачје може да се прикаже со електронска микрографија на комплексите противген-противтело. На пример, кога молекулот кој содржи две групи динитрофенол (ДНФ) реагира со против-ДНФ противтело, а комплексот е задржан во мрежа, се бои негативно и се набљудува со електронски миркоскоп, се гледаат големи комплекси (на пример, димери, тримери, тетрамери). Аголот помеѓу гранките на противтелниот молекул со облик на



СЛИКА 4-16 Експериментален приказ на подвижноста на зглобното подрачје кај противтелен молекул. (а) Хаптенот во кој две динитрофенилни (ДНФ) групи се поврзани со кратки поврзувачки просторни групи реагираат со против-ДНФ противтелата за да формираат тримери, тетрамери и други поголеми комплекси противген-противтело. (б) При електронска микрографија на негативно обоениот препарат од овие соединенија, јасно се гледат две триаголни тримерни структури. Противтелниот протеин се гледа како светла структура наспроти заднината на електронски густата подлога. Поради подвижноста на зглобното подрачје, аголот меѓу гранките на противтелниот молекул се менува. *[*Фотографија од *R.C. Valentine* и *N.M. Green, 1967, Journal of Molecular Biology 27:615;* препечатена со дозвола од *Academic Press Inc. (London) Ltd.]*

У се разликува кај различни комплекси, што ја отсликува подвижноста на зглобното подрачје (слика 4-16).

Двете испапчени аминокиселини во зглобното подрачје се пролин и цистин. Големиот број пролински остатоци во зглобното подрачје му дава продолжена полипептидна конформација, со што го прави значително ранлив за разградување со протеолитични ензими, поради тоа ова подрачје се разградува со папаин или пепсин (слика 4-7). Цистеинските остатоци создаваат меѓуверижни дисулфидни врски кои ги држат споени двете тешки вериги. Бројот на меѓуверижни дисулфидни врски во зглобното подрачје значително варира меѓу различни класи противтела и меѓу видови. Иако ми и епсилон веригите немаат зглобно подрачје, тие имаат дополнителен домен од 110 аминокиселини (K_T2/K_T2) кој има зглобновидна особина.

Други домени во константното подрачје

ИгА, ИгД, ИгГ	ИгЕ, ИгМ
K_T1/K_T1	K_T1/K_T1
Зглобно подрачје	K_T2/K_T2
K_T2/K_T2	K_T3/K_T3
K_T3/K_T3	K_T4/K_T4

Како што видовме претходно, тешките вериги ИгА, ИгД и ИгГ содржат три домени во константности и во зглобното подрачје, додека тешките вериги од ИгЕ и ИгМ содржат четири константни домени, но немаат зглобно подрачје. Соодветните домени во двете групи се следниве:

Иако домените K_T2/K_T2 во ИгЕ и ИгМ ја заземаат истата позиција во полипептидните вериги како и зглобното подрачје кај другите имуноглобулински класи, функцијата на овој дополнителен домен сè уште не е утврдена.

Рендгенската кристалографска анализа откри дека двата домени K_T2 на ИгА, ИгД и ИгГ (и доменитe K_T3 во ИгЕ и ИгМ) се раздвоени со олигосахаридни странични вериги кои спречуваат контакт помеѓу притиснатите домени (види слика 4-9б). Како резултат на тоа, овие два глобуларни домени се попристапни во водената средина од другите. Оваа пристапност претставува еден од елементите кои придонесуваат за биолошката активност на овие домени при активирањето комплементните делови од страна на ИгГ и ИгМ.

Карбоксилно крајниот домен во ИгА, ИгД и ИгГ е означен K_T3/K_T3, а во ИгЕ и ИгМ е означен K_T4/K_T4. Овие пет класи на противтела и нивните поткласи може да се наречат или **излачен имуноглобин (иИг)** или **мембрански врзан имуноглобулин (мИг)**. Карбоксилно крајниот домен кај излачените имуноглобилини се разликува во структурата и во функцијата од соодветните домени во мембрански врзаните имуноглобулини. Излачените имуноглобулини имаат хидрофилна аминокиселинска секвенца со различна должина на карбоксилниот крај. Функциите на овој домен кај различни класи излачено противтело ќе ги разгледаме подоцна. Во мембрански врзаниот имуноглобулин, карбоксилно крајниот домен содржи три подрачја:

- Вонклеточна хидрофилна „просторна“ секвенца составена од 26 аминокиселински остатоци
- Хидрофобна трансмембранска секвенца
- Кратка цитоплазматска опашка

Должината на трансмембранската секвенца е постојана меѓу сите имуноглобулински изотипови, додека должините на вонклеточната просторна секвенца и цитоплазматската опашка варираат.

Б-клетките лачат различни класи на мИг при различни фази во развојот. Незрелите Б-клетки, наречени пред-Б-клетки, лачат само мИгМ. Подоцна при зреењето, се појавува мИгД и заедно со ИгМ се прикажуваат врз површината од зрелите Б-клетки пред тие да се активираат со противген. Памтечката Б-клетка може да прикаже мИгГ, мИгА или мИгЕ. Дури кога истовремено врз една клетка се прикажани различни класи, противгената специфичност за сите мембрански противтелни молекули прикажани врз една клетка е идентична, така што секој противтелен молекул се врзува за истиот епитоп. Генетскиот механизам кој овозможува една Б-клетка да прикажува повеќе имуноглобулински изотипови при што сите се со иста противгена спенцифичност е објаснет во Поглавје 5.

Противтелно остварени ефекторни функции

Покрај врзувањето противген, противтелата учествуваат во широк опсег други биолошки активности. Кога се разгледува улогата на противтелото во одбрана против болест, мора да се запомни дека противтелата во основа не убиваат или остранувааат патогени само со врзување за нив. За да бидат ефикасни против патогените, противтелата не треба само да препознаваат противген, туку исто така и да поттикнуваат реакции - ефекторни функции - кои доведуваат до отстранување на противгенот и смрт на патогенот. Иако варијабилните подрачја на противтелото се единствените средства за врзување за противгенот, константното подрачје од тешките вериги (K_T) е одговорно за мноштво соодноси со други протеини, клетки и ткива што резултира со ефекторни функции на хуморалниот одговор.

Бидејќи овие ефекторни функции се јавуваат како резултат од соодносот помеѓу константните подрачја од тешките вериги и други серумски протеини или клеточни мембрански рецептори, сите класи од имуноглобулините немаат исти функционални особини. Овде е претставен преглед на четирите главни ефекторни функции остварени од страна на константните домени. Петатта функција која е единствена за мастоцитите, езинофилите и базофилите, ќе ја објасниме подоцна.

Опсонизацијата е поттикната со противтелото

Опсонизацијата, поттикнувањето фагоцитоза со противгени кај макрофагите и неутрофилите, е значаен фактор за противбактериска одбрана. Протеинските молекули наречени *Фк рецептори (ФкР)*, кои можат да се врзат за константното подрачје од Иг молекули, се присутни врз површините од макрофагите и неутрофилите како и кај други клетки кои не се вклучени во фагоцитозата. Врзувањето на фагоцитните

Фк рецептори од страна на неколку противтелни молекули во комплекс со истиот противген, како што се бактериските sидови, создава сооднос кој го обезбедува патогенот врз фагоцитната мембрана. Ова вкрстено поврзување (cross-linking) на ФкР преку врзување за низа од противтелни Фк подрачја поттикнува сигнално преносна патека што резултира со фагоцитоза на комплексот противген-противтело. Во фагоцитот, патогенот станува цел на различни деструктивни процеси кои вклучуваат ензимско разградување, оксидациско оштетување и мембранско-нарушувачки ефекти на противбактериските пептиди.

Противтелата активираат комплемент

ИгМ и, кај луѓето, повеќето поткласи на ИгГ можат да активираат колекција на серумски гликопротеини наречени **комплементен** систем. Комплементот вклучува одредена група протеини кои можат да ги издупчат клеточните мембрани. Значаен страничен продукт од комплементно активирана патека е протеинскиот дел наречен К3б, кој се врзува неспецифично за клеточните и противген противтелните комплекси блиску до местото каде бил активиран комплементот. Многу видови клетки - на пример, црвените крвни клетки и макрофагите - имаат рецептори за К3б и на тој начин се врзуваат за клетки или комплекси кон кои е залепен К3б. Врзувањето на залепениот К3б од страна на макрофаги води кон фагоцитоза на клетките или молекулските соединенија прикачени за К3б. Врзувањето на противген противтелните комплекси за рецепторите К3б од црвените крвни зрнца му овозможува на еритроцитот да ги пренесе комплексите во црниот дроб или слезината, каде макрофагите кои престојуваат таму ги острануваат без уништување на црвените крвни зрнца. Сообносот помеѓу противтелото и комплементниот систем е значаен за деактивирањето и отстранувањето на противгените и убивањето на патогените. Процесот на активирање комплемент е детално објаснет во Поглавје 7.

Противтелно зависна клеточно посредувана цитотоксичност (ПЗКЦ) ги убива клетките

Поврзувањето на противтелото кои за целните клетки (на пр., вирусно заразени клетки од домаќинот) со Фк рецепторите од одреден број клетки, посебно клетките природни убијци (КПУ), може да ги насочат цитотоксичните активности од ефекторната клетка против целната клетка. При овој процес, наречен **Противтелно зависна клеточно посредувана цитотоксичност (ПЗКЦ)**, противтелото се однесува како ново стекнат рецептор кој ѝ овозможува на напаѓачката клетка да ја препознае и да ја убие целната клетка. Феноменот ПЗКЦ е објаснет во Поглавје 14.

Некои противтела можат да го преминат епителниот слој со трансцитоза

Доставување противтело кон мукозната површина од респираторниот, гастроинтестиналниот и урогениталниот тракт, исто како неговиот пренос кон млекото во градите, бара движење на имуноглобулинот низ епителните слоеви, процес наречен **трансцитоза**. Капацитетот за транспортирање зависи од особините на константното подрачје. Кај луѓето и глувците, ИгА е главната противтелна класа која претрпува таква трансцитоза, иако и ИгМ може да се транспортира до мукозната површина. Одредени видови цицачи, како што се луѓето и глувците, исто така пренесуваат значителни количини на повеќето поткласи на ИгГ од мајаката до ембрионот. Бидејќи мајчиниот и ембрионскиот циркулаторен систем се одделни, противтелото мора да се пренесе низ плацеталното ткиво кое ги одделува мајката и ембрионот. Кај луѓето, овој пренос се случува во третиот триместер од бременоста. Значајна последица е тоа што развојот на фетусот прима примерок од колекцијата противтела од мајката како заштитен дар против патогените. Што се однесува до другите ефекторни функции објаснети овде, капацитетот за претрпување трансплацентно пренесување зависи од својствата на константното подрачје на противтелниот молекул.

Пренесување ИгГ од мајката во ембрионот е форма на **пасивна имунизација**, што претставува добивање имунитет преку примање преформирани противтела наместо со активно создавање противтела по изложување кон противгенот. Способноста да се пренесат противтелата од едно лице на друго со пренос на противтелата е основа за противтелната терапија, значајна и широко употребувана медицинска постапка (види клинички фокус, страница 98).

Противтелни класи и биолошки активности

Различните имуноглобулински изотипови и класи претходно беа кратко споменати. Секоја класа се разликува по уникатна секвенца од аминокиселини во константните подрачја од тешките вериги кои поттикнуваат специфични структурни и функционални особини. Во овој дел, подетално се објаснети структурата и ефекторните функции на секоја класа. Молекулските особини и биолошките активности на имуноглобулинските класи се опишани во табела 4-4. Структурите на петте главни класи шематски се прикажани на слика 4-17.

Имуноглобулин Г (ИгГ)

ИгГ, најобилната класа во серумот, сочинува околу 80% од вкупните серумски имуноглобулин. Молекулот ИгГ содржи две гама тешки вериги и две капа или две ламбда лесни вериги (види слика 4-17а). Постојат четири хумани поткласи на ИгГ, кои се разликуваат според секвенцата константното подрачје од гама-веригата и се обележуваат според намалувањето на нивната концентрација во серумот: ИгГ1, ИгГ2, ИгГ3 и ИгГ4 (види табела 4-3).

Секвенците на аминокиселините кои ги разликуваат четирите поткласи на ИгГ и се кодираат со различни зародишни K_T гени, чии секвенци од ДНК се 90% до 95% хомологни. Структурните особини кои ги разликуваат овие поткласи една од друга се големината на зглобното подрачје и бројот и позиции на меѓуверижните дисулфидни врски помеѓу тешките вериги (слика 4-18). Малите разлики во аминокиселините помеѓу поткласите на ИгГ влијаат врз биолошката активност на молекулот:

ТАБЕЛА 4-4 **Особини на биолошките активности* кај класите и потткласите на серумските имуноглобулини кај луѓето**

	ИгГ1	ИгГ2	ИгГ2	ИгГ4	ИгА1	ИгА2	ИгМ‡	ИгЕ	ИгД
Молекулска тежина†	150.000	150.000	150.000	150.000	150.000-600.000	150.000-600.000	900.000	190.000	150.000
Делот со тешка верига	γ1	γ2	γ3	γ4	α1	α2	μ	Є	δ
Нормално серумско ниво (мг/мл)	9	3	1	0.5	3.0	0.5	1.5	0.0003	0.03
Ин виво серумски полуживот (денови)	23	23	8	23	6	6	5	2.5	3
Активира класични пат на комплементот	+	+/–	++	–	–	–	++	–	–
Ја преминува плацентата	+	+/–	+	+	–	–	–	–	–
Присутен врз мембраната на зрелите Б-клетки	–	–	–	–	–	–	+	–	+
Се врзува за Фк рецепторите на фагоцитите	++	+/–	++	+	–	–	?	–	–
Мукозен пренос	–	–	–	–	++	++	+	–	–
Поттикнува обезззрнување (дегранулација) на мастоцити	–	–	–	–	–	–	–	+	–

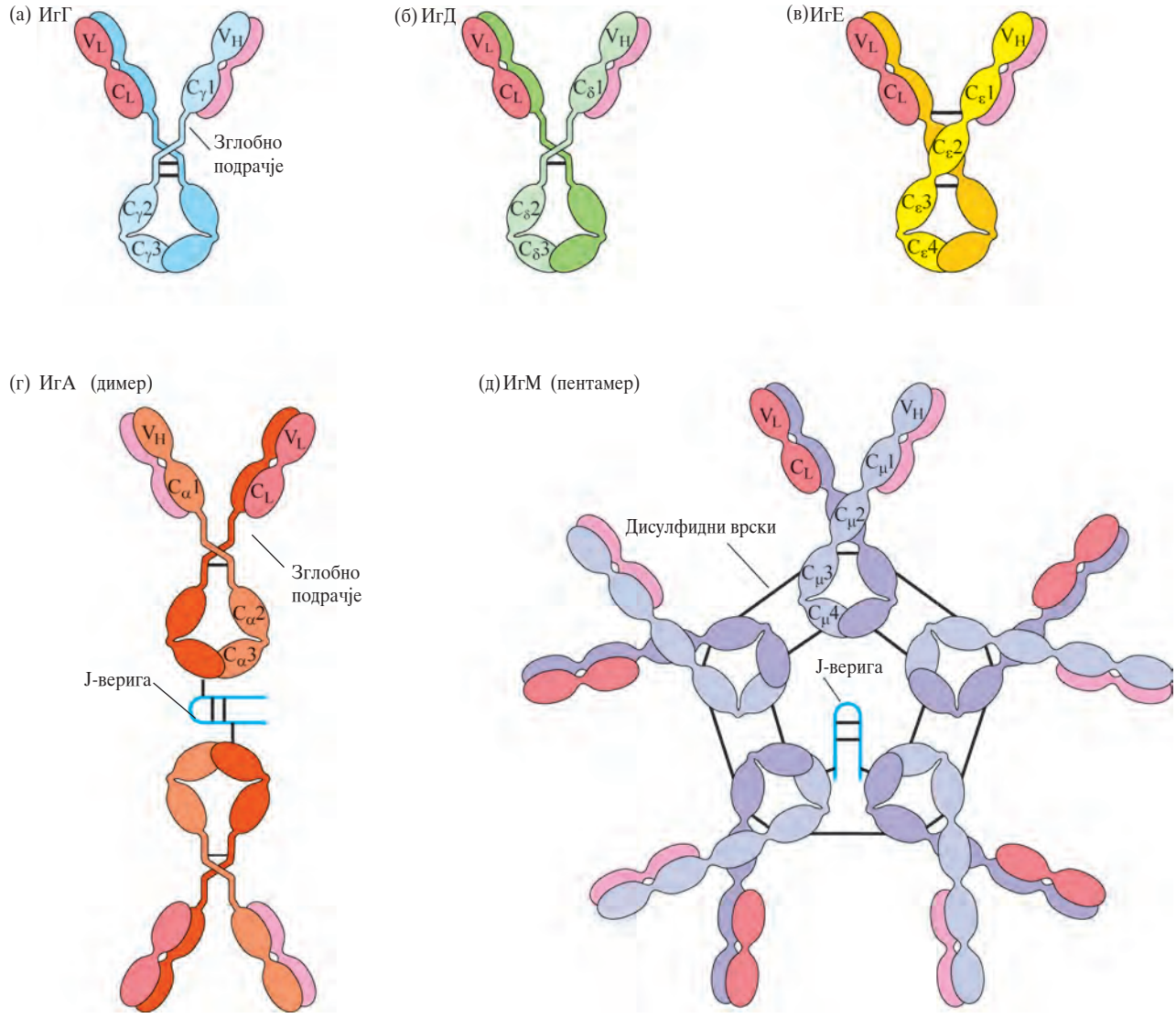
*Нивоата на активност се прикажани на следниов начин: ++ = високо. + = средно. +/-- = минимално. ? = се доведува во прашање
†ИгГ, ИгЕ и ИгД секогаш постојат како мономери. ИгА може да постои како мономер, димер, тример или тетрамер.
ИгМ кој е врзан за мембраната е мономер, но излачениот ИгМ во серумот е пентамер.
‡ИгМ е првиот изотип кој го создава новороденчето и се појавува при примарната имунолошка реакција.

- ИгГ1, ИгГ3 и ИгГ4 лесно минуваат низ плацентата и играат значајана улога во заштитата на ембрионскиот развој.
- ИгГ3 е најефикасниот комплементен активатор, кој следи по ИгГ1. ИгГ2 е помалку ефикасен, а ИгГ4 не може воопшто да активира комплемент.
- ИгГ1 и ИгГ3 се врзуваат со висок афинитет за Фк рецепторите на фагоцитните клетки и на тој начин посредуваат опсонизација. ИгГ4 има просечен афинитет за Фк рецепторите, а ИгГ2 има значително мал афинитет.

Имуноглобулин М (ИгМ)

На ИгМ отпаѓа 5% до 10% од вкупниот серумски имуноглобулин, со просечна серумска концентрација од 1,5 мг/мл. Мономерниот ИгМ (180000 Да) врз Б-клетките се прикажува како мембрански врзано противтело. ИгМ го лачат плазма клетките како пентамер во кои пет мономерни единици се споени заедно со дисулфидни врски кои ги поврзуваат карбоксилно крајните домени од тешката верига ($К_{ми}4/К_{ми}4$) и нивните $К_{ми}3/К_{ми}3$ домени (види слика 4-17е). Петте мономерни поединици се наредени со нивните Фк подрачја во центарот на пентамерот и 10 противген врзувачки места на периферија од молекулот. Секој пентамер содржи дополнителен полипептид поврзан за Фк наречен **J (врзувачка) верига**, која преку дисулфидна врска е поврзана со карбоксилно крајниот остаток од цистеинот на две од десетте ми вериги. J-веригата е потребна за полимеризација на мономерите при создавањето пентаметрен ИгМ, кој се додава непосредно пред лачењето на пентамерот.

ИгМ е првата класа која се создава во првичниот одговор кон противгенот и исто така првиот имуноглоболин кој се синтетизира во новороденчето. Поради неговата пентамерична структура со 10 противген врзни места, серумскиот ИгМ има повисока валентност од другите изотипови. ИгМ молекулот може да врзе 10 мали хаптенски молекули. Сепак, поради стеричната хидрантност (наводенетост), истовремено може да се врзат само пет или помалку молекули од поголемите противгени. Поради неговата висока валенција, пентамерниот ИгМ е поефикасен од другите изотипови при врзувањето противгени со многу повторувачки изотипови како што се вирусните честици и црвените крвни зрнца (ЦКЗ). На пример, кога ЦКЗ се инкубирани со специфично противтело, тие се групираат заедно во големи групи при процес наречен **аглутинација**. За постигнување на истото ниво на аглутинација потребни се од 100 до 1000 пати повеќе молекули од ИгГ и ИгМ. Сличен феномен се појавува со вирусните честици: за неутрализирање на вирусната активност потребни се помалку ИгМ и ИгГ. Исто така ИгМ е



СЛИКА 4-17 Основни структури на петте класи излачени противтела. Лесните вериги се прикажани во нијанси од темнорозово, дисулфидните врски се прикажани како тенки црни линии. Забележете дека ИгГ, ИгА и ИгД тешките вериги (сино, портокалово и зелено) содржат четири домени и зглобно подрачје, додека ИгМ и ИгЕ тешките вериги (виолеотово и жолто) содржат пет домени, но немаат зглобно подрачје. Полимерните форми на ИгМ и ИгА содржат полипептид. наречен J-верига, кој е поврзан со две дисулфидни врски за Фк подрачја од два различни мономери. Серумскиот ИгМ е секогаш пентамер. Најчесто серум ИгА постои како мономер, иако понекогаш се присутни димери, тримери и дури тетрамери. На овие слики не се прикажани меѓуверижните дисулфидни врски кои ги поврзуваат лесните и тешките вериги (види слика 4-6).

поефикасен отколку ИгГ при активирање на комплементот. Активирањето на комплементот бара најмалку два блиски Фк подрачја, а пентамерната структура на еден молекул од ИгМ го исполнува ова барање.

Поради неговата голема, ИгМ не дифундира добро и затоа се сретнува во многу ниски концентрации во меѓуклеточните ткивни течности. Присуството на J-веригата му овозможува на ИгМ да се врзе за рецепторите од секреторните клетки, кои го пренесуваат низ епителните обвивки за да излезат во

КЛИНИЧКИ ФОКУС

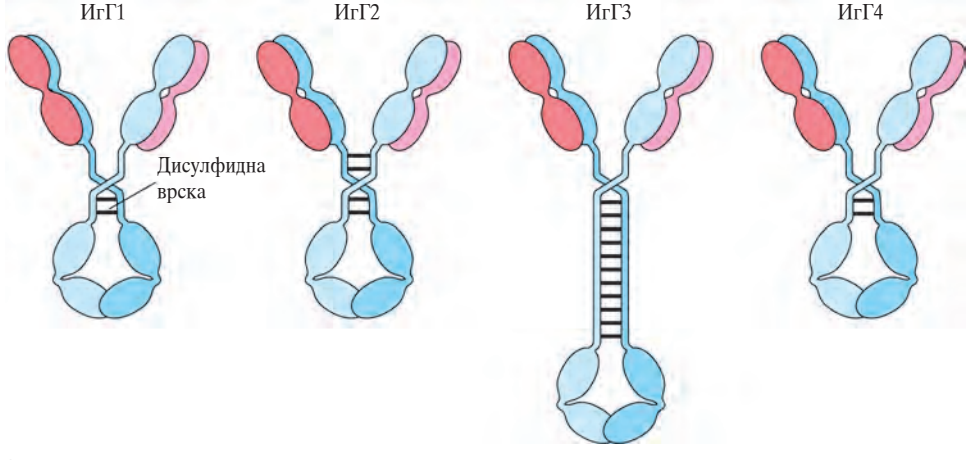
Пасивна терапија со противтела

Во 1890 година, Емил Беринг и Шибасабуро Китасато објавија извонреден експеримент. По имунизирањето на зајаци со тетанус и по собирањето на серумот од овие животни, тие внесоа 0,2 мл од имуниот серум во абдоминалната празнина на шест глувци. Дваесет и четири часа подоцна, тие ги инфицираа лекуваните животни и нелекувани контролни глувци со жива вирусна тетанусна бактерија. Сите контролни глувци умреа во период од 48 часа по инфекцијата, а лекуваните глувци не само што преживеаја, туку и не покажаа знаци на инфекција. Овој значаен експеримент покажа две важни поенти. Прво, покажа дека по имунизацијата, во серумот се појавија супстанции кои можат да го заштитат животното од патогени. Второ, ова дело покажа дека имунитетот може да биде пасивно стекнат. Имунитетот може да се пренесе од едно во друго животно со земање на серум од имунизирано животно и внесување во неимунизирано животно. Овие и понатамошните експерименти не поминаа незабележани. И Беринг и Китасато подоцна добија титули (Беринг стана фон Беринг, а Китасато стана барон Китасато). Неколку години подоцна, во 1901 година, фон Беринг ја доби првата Нобелова награда за медицина.

Овие и други истражувања го расчистија патот за воведување на пасивната имунизација во клиничката практика. Во 30-тите и 40-тите години од дваесеттиот век, пасивната имунотерапија, доблеста за отпор на патогени преку пренесување на агенсот на имунитет од имунизиран дарител на неимунизиран примател, се користеше за спречување или модифицирање на текот на сипаниците и хепатитис А. Подоцна, клиничкото искуство и напредоците во технологијата за подготовка на имуноглобулинот за пасивна имунизација овој пристап го направија стандарна медицинска практика. Пасивната имунизација која се базира на пренесувањето противтела широко се користи во лекувањето на имунонедостаточните болести и како заштита против очекуваното изложување на инфекциски и токсични агенси против кои некој нема имунитет.

Имуноглобулинот за пасивна имунизација се подготвува од собраната плазма од илјадници донатори. За дејство, примателите на овие лекови со противтела примаат примерок од противтелата создадени од страна на многу луѓе против многу разновидни патогени - еден грам од внатревенозниот имун глобулин (ВВИГ) содржи 10^{18} молекули од противтело (најмногу ИгГ) и може да вклучи повеќе од 10^7 различни противтелни специфичности. За време на терапијата, пациентите примаат значителни количини на ВВИГ, обично од 200 до 400 мг на килограм телесната тежина. Ова значи дека пациентот со имунонедостаток кој тежи 70 килограми ќе прими од 14 до 28 грама ВВИГ секои 3 до 4 недели. Продуктот направен од крвта на толку голем број донатори носи ризик од засолнување патогени агенси, посебно вируси. Ризикот се намалува со процесите кои се користат за создавање внатревенозен имуноглобулин. Создавањето на ВВИГ вклучува третирање со раствори, како што е етанол и употреба на детергент кои се мошне ефективни при деактивирање вируси како што се ХИВ или хепатит. Дополнително на отстранувањето или деактивирањето инфекциски агенси, процесот на создавање исто така мора да го отстрани наталоженият имуноглобулин, бидејќи противтелото кое се таложи може да поттикне масивно активирање комплементната патека, што води кон тешка, дури и смртна анафилакса.

Пасивно внесените противтела своето заштитно дејство го извршуваат на голем број начини. Еден од најзначајните е ангажирањето комплементарна патека за уништување или отстранување на патогенот. Кај бактериските инфекции, противтелното врзување врз површината од бактеријата поттикнува опсонизација, фагоцитоза и убивање на напаѓачот од страна на макрогафите и неутрофилите. Токсините и вирусите може да се врзат и неутрализираат со противтелото, дури и кога противтелото го означува патогенот за отстранување од телото од страна на фагоцити и органи како што се црниот дроб и бубрезите. Со поттикнување противтелно зависна клеточна цитотоксичност (ПЗКЦ), противтелата исто така можат да посредуваат при убивање на целни клетки со цитотоксични клеточни популации како што се клетките природни убијци.

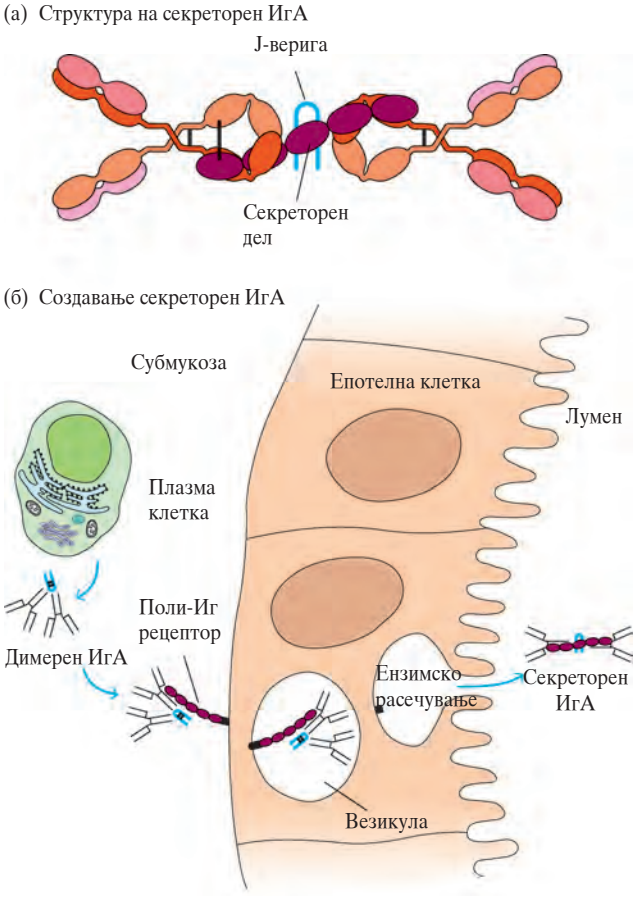


СЛИКА 4-18 Основна структура на четирите поткласи ИгГ кај луѓето, кои се разликуваат по бројот и распоредот на меѓуверижните дисулфидни врски (тенки црни линии) кои ги поврзуваат тешките вериги. Значајна карактеристика на ИгГ кај луѓето претставуваат неговите 11 дисулфидни врски меѓу веригите.

надворешните скрети кои ги мијат мукозните мембрани. Иако ИгА е главниот изотип кој се сретнува при овие секрети, ИгМ игра значајна помошна улога како лачебен имуноглобулин.

Имуноглобулин А (ИгА)

Иако ИгА сочинува само 10% до 15% од целиот имуноглобулин во серумот, тој е доминантаната имуноглобулинска класа во надворешните секрети (излачоци) како што се дојкиното млеко, плунката, солзите и слузта од бронхијалниот, генитоуринарниот и дегестивниот тракт. Во серумот, ИгА првично постои како мономер, но полимерните форми (димери, тримери и одредени тетрамери) понекогаш се гледаат, при што сите содржат полипептид со J-верига (види слика 4-17д). ИгА од надворешните лачења, наречен **секреторен ИгА**, се состои од димер или тетрамер, полипептид со J-верига и полипептидна верига наречена **секреторен дел** (види слика 4-19а). Како што е објаснето подолу, секреторниот дел се добива од рецепторот кој е одговорен за пренесувањето полимерен ИгА преку клеточните мембрани. Полипептидот со J-верига во ИгА е идентичен со оној полипептид кој се сретнува кај пентамерниот ИгМ и има слична функција при олеснувањето на полимеризацијата и на серумскиот ИгА и на секреторниот ИгА. Секреторниот дел е полипептид од 70000 Да кој е создаден од страна на епителните клетки во мукозната мембрана. Тој се состои од пет имуноглобулиновидни домени кој се врзува за домени од Фк подрачјето во ИгА димерот. Овој сооднос се стабилизира со дисулфидна врска помеѓу петтиот домен од секреторниот дел и една од веригите од димерниот ИгА.



СЛИКА 4-19 **Структура и создавање секреторен ИгА.** (а) Секреторниот ИгА се состои од најмалку два ИгА молекула, кои се ковалентно меѓусебно поврзани преку J-верига и исто така ковалентно се поврзани со секреторниот дел. Секреторниот дел содржи пет имуноглобулиновидни домени кои се поврзани со димеричниот ИгА со дислуфидна врска помеѓу неговиот петти домен и еден од ИгА тешките вериги. (б) Секреторниот ИгА се формира за време на пренесувањето низ мукозната мембрана во епителните клетки. Димеричниот ИгА се врзува за поли-Иг рецепторот во базолатералната мембрана од епителнта клетка и е внесен со рецепторски овозможена ендоцитоза. По пренесувањето на комплексот рецептор-ИгА врз површината од луменот, поли-Иг рецепторот ензимски се расечува, ослободувајќи го секреторниот дел кој е врзан за димеричниот ИгА.

Дневното производство на секреторни ИгА е поголемо отколку производството на другите класи имуноглобилини. Плазма клетките кои лачат ИгА се концентрирани по површината на мукозната мембрана. По должината на целата површина на тенкото црево, на пример, има повеќе од $2,5 \times 10^{10}$ плазма клетки кои лачат ИгА-број кој изненадувачки ја надминува целата популација плазма клетки во коскената срцевина, лимфата и слезината заедно! Секој ден, човекот доставува од 5 г до 15 г секреторен ИгА во мукозните излачоци.

Б-клетките кои создаваат ИгА повластено се преселуваат (домуваат) во субепителното ткиво, каде се делат на плазма клетки кои лачат ИгА, кој цврсто се врзува за рецепторот на полимерните имуноглобулински молекули (слика 4-19б). Овој **поли-Иг рецептор** се прикажува врз базолатералната површина од поголемиот дел мукозен епител (т.е., обложување на дигестивниот, респираторниот и гениталниот тракт) и врз жлезденият епител од млечните, плунковните и солзните жлезди. По врувањето на полимерниот ИгА за поли-Иг рецептор, комплексот рецептор-ИгА се пренесува преку епителната бариера до луменот. Пренесувањето на комплексот рецептор-ИгА вклучува рецепторски остварена ендоцитоза на обложени вдлабнатини и насочено пренесување на везикулите низ епителната клетка до луминалната мембрана, каде везикулата се фузира со плазмината мембрана. Потоа, поли-Иг рецепторот ензимски се расечува од мембраната и станува секреторендел, кој се врзува и се ослободува заедно со полимерниот ИгА во мукозните излачоци. Секреторниот дел ги маскира областите кои се осетливи на протеазно сечење во зглобното подрачје од секреторниот ИгА, овозможувајќи му на полимерниот молекул да опстои подолго во мукозната средина богата со протеази што не би било возможно без него. Исто така преку овој механизам пентамерниот ИгМ се траспортира во мукозните излачоци, иако сочинува доста помал процент противтело во мукозните излачоци отколку ИгА. Поли-Иг рецепторот стапува во меѓудејство со J-веригата и од полимерниот ИгА и од ИгМ противтелата.

Секреторниот ИгА извршува значајна ефекторна функција врз површината од мукозните мембрани, што претставуваат главни влезни места за повеќето патогени организми. Бидејќи е полимерен, секреторниот ИгА може вкрстено да поврзе големи противгени со повеќе епитопи. Врзување секреторниот ИгА за бактериските и вирусните површини на противгените спречува патогените да се прикачат за мукозните клетки, спречувајќи вирусна инфекција и бактериска колонизација. Комплексите од секреторниот ИгА и противгенот лесно се заробуваат во мукосот, а потоа се отстрануваат од страна на цилијарните епителни клетки во респираторниот тракт или со перисталтика во цревата. Се покажа дека секреторниот ИгА овозможува значајна линија на одбрана против бактериите како што се

Salmonella, Vibrio cholerae и *Neisseria gonorrhoeae* и вируси како што се полио, инфунца и реовирусот.

Млекото од градите содржи секреторен ИгА и многу други молекули кои помагаат да се заштити новороденчето против инфекција во текот на првите месеци од животот. Бидејќи имуниот систем на новороденчињата не е потполно функционален, доењето игра значајна улога во одржување на здравјето кај новороденчињата.

Имуноглобулин Е (ИгЕ)

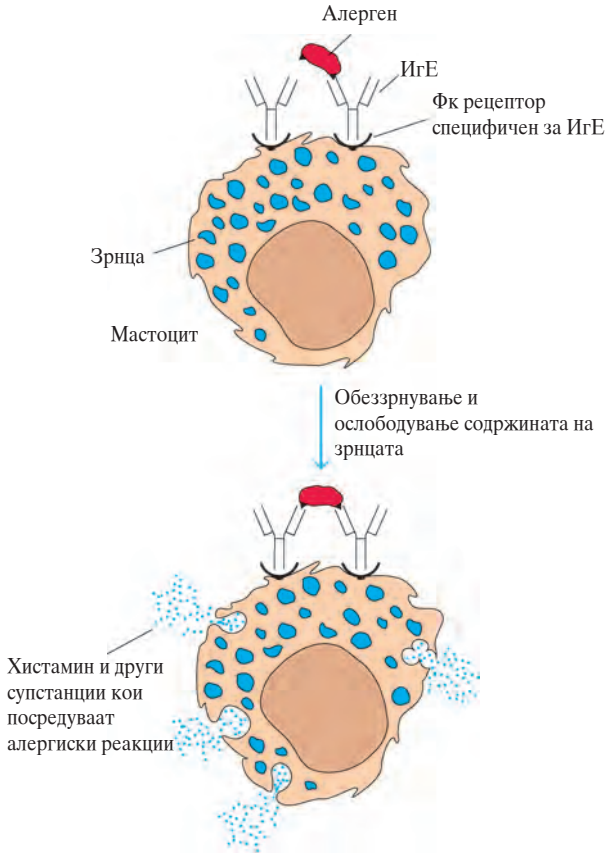
Моќната биолошка активност на ИгЕ му озмозможува да биде идентификуван во серумот и покрај неговата исклучително ниска просечна серумска концентрација (0,3 мкг/мл). ИгЕ противтелата посредуваат при брзите хиперсензитивни реакции кои се одговорни за симптомите за алергија на поленов прав, астма, сипаници и анафилактичен шок. Присуството на серумскиот дел одговорен за алергичниот одговор прво беше прикажано во 1921 година од страна на К. Прауснић и Х. Кастнер, кои внатредермално внесле серум од алергично во неалергично лице. Кога соодветниот противген подоцна бил внесен на истото место, се појавил одговор со оток и црвенило. Овој одговор, наречен **П-К одговор** (наречен според неговите основачи, Прауснић и Кастнер), ја претставуваше основата за првата биолошка анализа за активноста на ИгЕ.

Вистинската идентификација на ИгЕ направија К. и Т. Ишизака во 1966 година. Тие зеле серум од алергично лице и со него имунизирале зајаци за да го подготват противидиотипски противсерумот. На зајачкиот противсерум му било овозможено да реагира со секоја класа од човечките противтела кои биле познати до тогаш (т.е., ИгГ, ИгА, ИгМ и ИгД). На тој начин, секое од познатите противизотипни противтела било таложено и отстрането од противсерумот на зајаците. Она што останало било противизотипско противтело специфично за неидентификувана класа противтела. Се покажа дека ова противтело целосно го блокира П-К одговорот. Новото противтело било наречено ИгЕ (поради Е-противгенот од поленот од амброзија, што претставува моќен поттикнувач на оваа класа противтела).

ИгЕ се врзува за Фк рецепторите на мемебраните од крвните базофили и ткивни мастоцити. Премостувањето на рецепторските ИгЕ молекули со противген (алерген) предизвикува базофилите и мастоцитите да ги преселат нивните зрнца кон плазмината мембрана и да ја ослободат нивната содржина во вонклеточната средина, процес познат како обеззрнување (дегранулација). Како резултат на тоа, се ослободуваат голем број фармаколошки активни посредници и предизвикуваат алергиски манифестации (слика 4-20). Обеззрнувањето на локалните мастоцити поттикната од ИгЕ исто така може да ослободи посредници кои олеснуваат создавање различни клетки кои се потребни за ПЗКЦ противпаразитската одбрана (види Поглавје 15).

Имуноглобулин Д (ИгД)

ИгД прво беше откриен кога пациент доби многукратен миелом чиј миелоичен протеин не можеше да реагира со противизотипен противсерум против изотиповите кои тогаш беа познати: ИгА, ИгМ и ИгГ. Кога зајаците беа имунизирани со овој миеломски протеин, добиениот противсерум се користеше

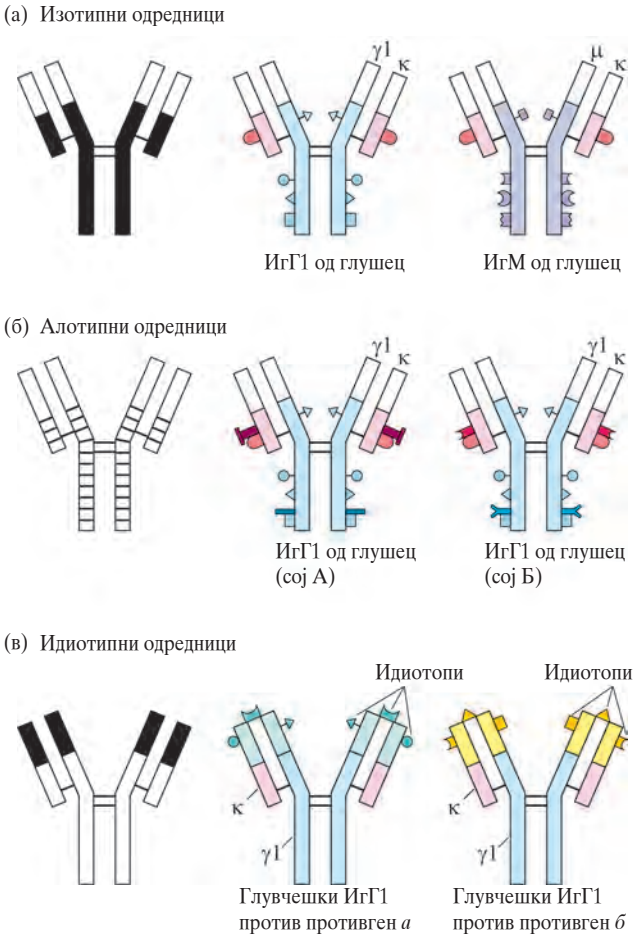


СЛИКА 4-20 **Алергенско премостување на рецепторски врзан ИгЕ во мастоцитите поттикнува обеззрнување, предизвикувајќи ослободување супстанции (сини точки) кои посредуваат алергиски појави (манифестации).**

за утврдување на истата класа противтела при ниски нивоа во нормален серум кај луѓето. Новата класа, наречена ИгД, има серумска концентрација од 30 мкг/мл и сочинува околу 0,2% од целиот имуноглобулин во серумот. ИгД, заедно со ИгМ, е главниот мембрански врзан имуноглобулин прикажан врз зрелите Б-клетки, а неговата улога во физиологијата на Б-клетките се истражува. Не е утврдена ефекторна функција за ИгД.

Противгени одредници на имуноглобулините

Имуноглобулинските молекули, кога ќе се внесат во други видови животни, можат сами по себе да функционираат како моќни имуногени за поттикнување противтелен одговор. Такви против-Иг противтела претставуваат моќни алатки за проучување развојот на Б-клетките и хуморалните имуни реакции.



СЛИКА 4-21 Противгени одредници за имуноглобулините. За секој тип на одредница, прикажани се општата локација на одредниците во противтелниот молекул *(лево)* и два примери *(средина и десно)*. (а) Изотипните одредници се одредници во константните подрачја кои прават разлика помеѓу секоја Иг-класа и потклаcа во видовите. (б) Алотипните одредници се аминокиселински мали разлики кои се кодирани од различни алели во изотипните гени. Алотипните разлики може да се откријат со споредување на истата противтелна класа меѓу различните чисти соеви. (в) Идиотипните одредници се создаваат со конформација на аминокиселинските секвенци во варијабилните подрачја од тешките и од лесните вериги кои се специфични за секој противген. Секој посебен одредница е наречен идиотоп, а збирот на посебните идиотопи е идиотип.

Противгените одредници, или епитопи, на имуноглобулинските молекули се делат во три главни категории: изотипни, алотипни и идиотипни одредници, кои се лоцирани во карактеристични делови од молекулот (слика 4-21).

Изотип

Изотипните одредници се одредници во константното подрачје кои заедно ја одредуваат секоја класа и потклаcа тешки вериги и секој вид и подвид од лесните вериги кај видовите (види слика 421а). Секој изотип се кодира со посебен ген од константното подрачје, а сите членови на видот ја носат истата група гени во константното подрачје (кои можат да вклучуваат повеќекратни алели). Кај видовите, секој обичен поединец ќе ги прикажува сите изотипови во серумот. Различни видови наследуваат различни гени во константните подрачја и затоа прикажуваат различни изотипови. Според тоа, кога противтелото од еден вид ќе се внесе во друг вид, изотипните одредници ќе бидат препознаени како туѓи, поттикнувајќи противтелен одговор кон изотипните одредници од туѓото противтело. Противизиотипното противтело се користи рутински и за истражувачки цели за одредување класата или потклаcата на серумското противтело кое се создава при имуниот одговор или за карактеризирање на класата мембрански врзани противтела присутни врз Б-клетките.

Алотип

Иако сите членови од видовите ја наследуваат истата група изотпни гени, за дел од гените постојат многу алели (види слика 4-21б). Овие алели кодираат аминокиселини со мали разлики, наречени алотипни одредници, кои се јавуваат кај дел, но не кај сите, членови од видовите. Збирот од поединечните алотипни одредници прикажан од противтелната одредница е **алотип**. Кај луѓето, алотиповите се карактеристични за сите четири ИгГ потклаcи, за една потклаcа од ИгА и за капа лесната верига. Алотиповите во гама-веригата се наречени Гм обележувачи. Утврдени се најмалку 25 различни Гм алотипови. Тие се именувани по класата и потклаcата, по што следи бројот на алелите, Г1м(1), Г2м(23), Г3м(11), Г4м(4а). Од двете потклаcи на ИгА, само потклаcата ИгА2 има алотипови, А2м(1) и А2м(2). Капа лесната верига има три алотипови, наречени капам(1), капам(2) и капам(3). Секоја од овие алотипни одредници претставува разлика во една до четирите аминокиселини кои се кодираат со различни алелели од истиот ген.

Противтелото за алотипните одредници може да се создаде со внесување противтело од еден член на видот во друг член од истиот вид кој носи различни алотипни одредници. Противтелото за алотипните одредници понекогаш се создава од страна на мајката при бременоста како одговор на алотипните одредници од ембрионските имуноглублини од таткото. Противтелата за алотипните одредници можат исто така да настанат од трансфузија на крв.

Идиотип

Уникатната аминокиселинска секвенца кај $В_Т$ и $В_Л$ домените од дадено противтело може да функционира не само како место за врзување противген туку исто така како група противгени одредници. Идиотипните одредници настануваат од секвенцата на варијабилните подрачја во тешките и во лесните вериги. Секоја одделна противгена одредница на варијабилното подрачје е именувано како **идиотоп** (види слика 4-21в). Секое противтело ќе прикаже повеќе идиотопи, од кои дел се вистинската област за врзување противгени, а дел ги сочинуваат секвенците во варијабилните подрачја надвор од областа за врзување. Збирот на посебните идиотопи е наречен **идиотип** на противтелото.

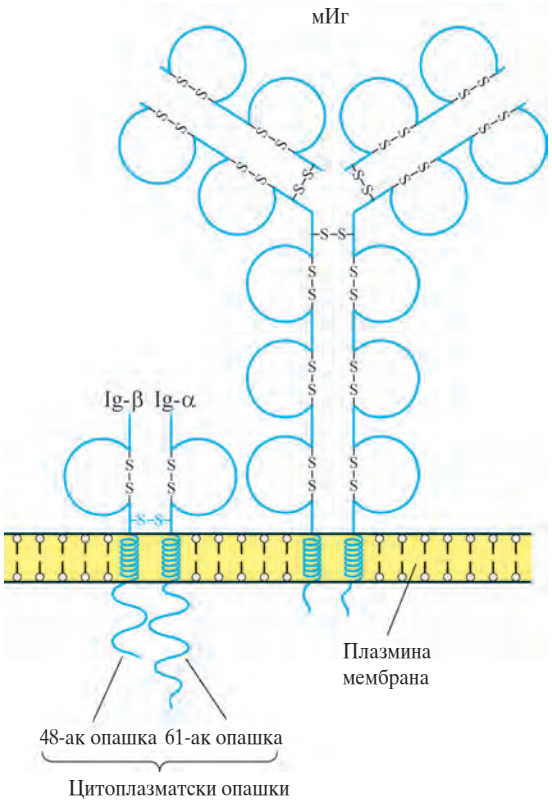
Бидејќи противтелата кои се создадени од единечна Б-клетка настанува од истиот клон кој има идентични секвенци во варијабилните подрачја, сите го имаат истиот идиотип. Противидиотипското противтело се создава со внесување противтела кои имаат минимални варијации во нивните изотипови и алотипови, така што може да се препознае разликата во идиотиповите. Често се користи хомогено противтело како што е миеломскиот протеин или моноклонско противтело. Внесувањето такво противтело во примателот

кој е генетски идентичен со дарителот ќе доведе до создавање противидиотипско противтело за идиотпските одредници.

Б-клеточен рецептор

На имунолозите долго време не им беше јасно како Иг кој се врзува за мембраната (мИг) во Б-клетките пренесува активирачки сигнал по контакт со противгенот. Дилемата е во тоа што сите изотипови на мИг имаат многу кратки цитоплазмини опашки: цитоплазминте опашки од мИгМ и мИгД содржат само три аминокиселини, крајот на мИгА - 14 аминокиселини, а краевите на мИгГ и мИгЕ - 28 аминокиселини. Во секој случај, цитоплазмината опашка е премногу кратка за да може да се поврзе со внатреклеточните сигнални молекули (на пр., тирозинска киназа и Г-протеини).

Одговорот на оваа загатка е дека мИг не го сочинува целиот рецептор за врзување противгени во Б-клетките. Туку, **Б-клеточниот рецептор (БКР)** е трансмембрански протеински комплекс кој е составен од мИг и дисулфидно врзани хетеродимери наречени Иг-алфа/Иг-бета. Молекулите од овој хетеродимер се поврзуваат со мИг молекул за да формираат БКР (слика 4-22). Иг-алфа веригата има долга цитоплазмна опашка која содржи 61 аминокиселина, опашката на Иг-бета содржи 48 аминокиселини. Опашките на Иг-алфа и Иг-бета се доволно долги за да стапат во меѓудејство со внатреклеточните сигнални молекули. Откривањето на хетеродимерот Иг-алфа/Иг-бета од страна на Мајкл Рет и неговите колеги во раните 90-ти години од дваесеттиот век значително го зголеми разбирањето за активирање на Б-клетките, што е детално објаснето во Поглавје 11.

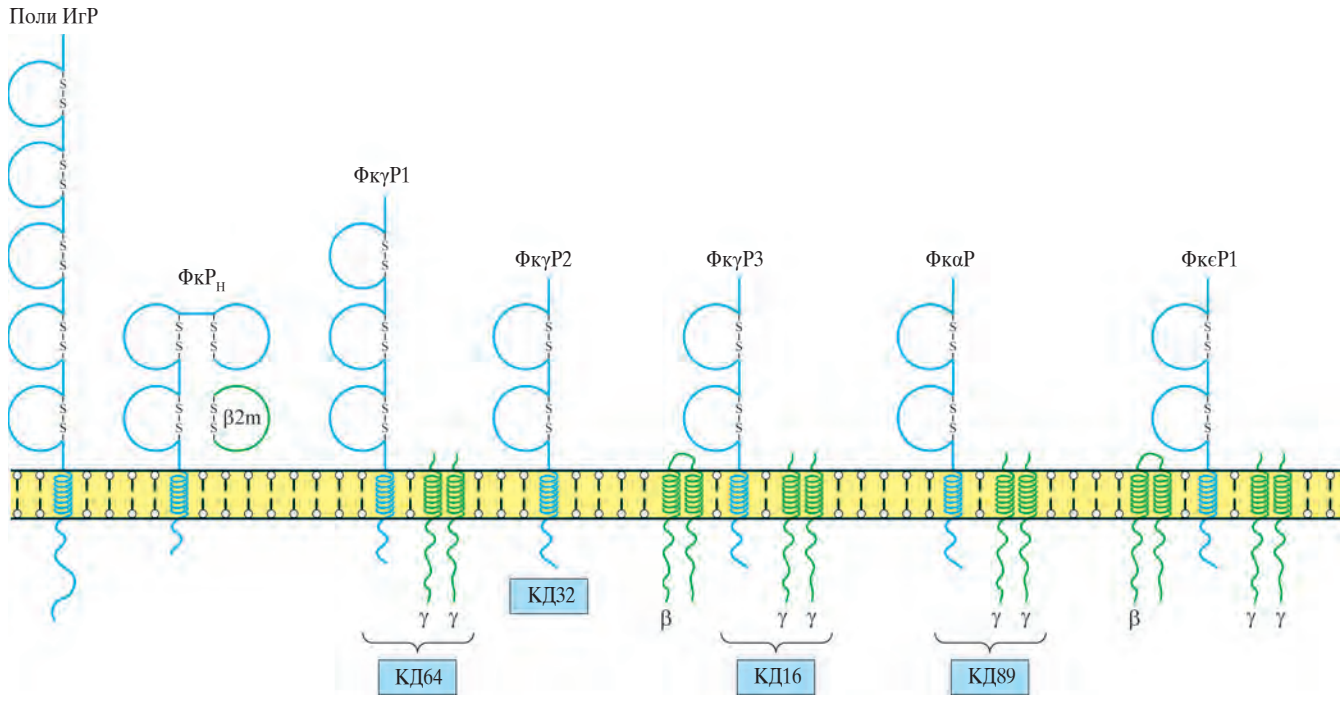


СЛИКА 4-22 Основна структура на Б-клеточниот рецептор (БКР). Овој противген врзувачки рецептор е составен од мембрански врзани имуноглобулини (мИг) и дисулфидно поврзани хетеродимери наречени Иг-а/Иг-б. Секој хетеродимер содржи имуноглобулин здиплена структура и цитоплазмини опашки многу подолги од оние кај мИг. Како што е прикажано на сликата, молекулот на мИг е поврзан со еден хетеродимер Иг-а/Иг-б. *[Адаптирано од A. D. Keegan dhe W. E. Paul, 1992, Immunology Today 13:63, and M. Reth, 1992, Annual Review of Immunology 10:97.]*

Фк рецепторите се врзуваат за Фк подрачјата од противтелата

Иако биосинтезата и површинското прикажување имуноглобулини е уникатно за потеклото на Б-клетките, многу клетки имаат мембрански гликопротеини наречени **Фк рецептори (ФкР)** кои имаат афинитет за Фк деловите од излачените противтелни молекули. Овие рецептори се неопходни за многу биолошки функции на противтелата. Фк рецепторите се одговорни за движењето на противтелата низ мембраните и пренесувањето ИгГ од мајката во ембрионот преку плацентата. Овие рецептори исто така овозможуваат пасивно добивање противтело од многу видови на клетки, вклучувајќи Б- и Т-лимфоцити, неутрофили, мастоцити, еозинофили, макрофаги и клетки природни убијци. Според тоа, Фк рецепторите овозможуваат средства со кои противтелата - продуктите од стекнатиот имун систем - можат да ангажираат такви клучни клеточни елемнти од вродениот имунитет како што се макрофагите и клетките природни убијци. Ангажирањето противгени врзани за противтело од страна на Фк рецепторите на макрофагите и неутрофилите овозможува ефективен сигнал за ефикасната фагоцитоза (опсонизација) на противген противтелните комплекси. Во однос на поттикнувањето такви ефекторни функции како што е опсонизацијата или ПЗКЦ, противген посредуваното премостување на противтелата врзани за ФкР може да создаде имунорегулаторни сигнали кои влијаат врз активацијата на клетките, поттикнуваат диференцирање и, во одредени случаи, надолно ги регулираат клеточните одговори.

Постојат многу различни Фк рецептори (слика 4-23). Рецепторот поли-Иг е неопходен за пренесување полимерните имуноглобулини (ИгА и до одреден степен, пентамерниот ИгМ) преку епителните површини. Кај луѓето, **неонаталниот Фк рецептор ($ФкР_н$)** пренесува повеќе ИгГ од мајката до ембрионот при бременоста и исто така игра улога при регулирањето на серумските нивоа на ИгГ. За многу класи од ИгГ има откриено Фк рецептори. Така, има ФкалфаР рецептор кој се врзува за ИгА, ФкепсилонР рецептор кои се врзува за ИгЕ (види исто така слика 4-20) и неколку различни ФкгамаР (Р1, Р2-А, Р2-Б1, Р2-Б2, Р3) способни да врзат ИгГ и неговите потклаcи кои се сретнуваат кај луѓето. Во многу случаи, премостувањето на овие рецептори со врзување на противген противтелните комплекси, доведува до поттикнување каскада за пренесување на сигналот и резултира со такво однесување како фагоцитоза или ПЗКЦ. Фк рецепторот често е дел од сигнално пренесувачкиот комплекс којшто вклучува учество на други помагачки полипептидни вериги. Како што е прикажано на слика 4-23, ова може да вклучува пар гама-вериги или, во случајот на ИгЕ рецепторот, посложен спој на две гама-вериги и бета-верига. Спојот на



СЛИКА 4-23 Структурата на бројни човечки Фк рецептори. Полипептидите кои се врзуваат за Фк рецепторите се прикажани во сино, а, таму каде што се присутни, помагачките сигнално преносни полипептиди се прикажани во зелено. Јамките во овие структури претставуваат делови од молекулот со карактеристична структура од имуноглобулински дипли. Овие молекули се појавуваат на плазма-мембраната од различни видови на клетки како што се клеточните површински противгени и, како што е прикажано на сликата, многу од нив се именувани со КД имиња (од кластери на диференцијација, види додаток 1). ФкгамаР2 има три различни видови, А, Б1 и Б2, кои се разликуваат по нивните внатреклеточни подрачја.

[Адаптирано од M. Dearon, 1999, in The Antibodies, M. Zanetti and J. D. Capra, eds, v l. i 5-të, f. 53, Harwood Academic Publisher, Amsterdam.]

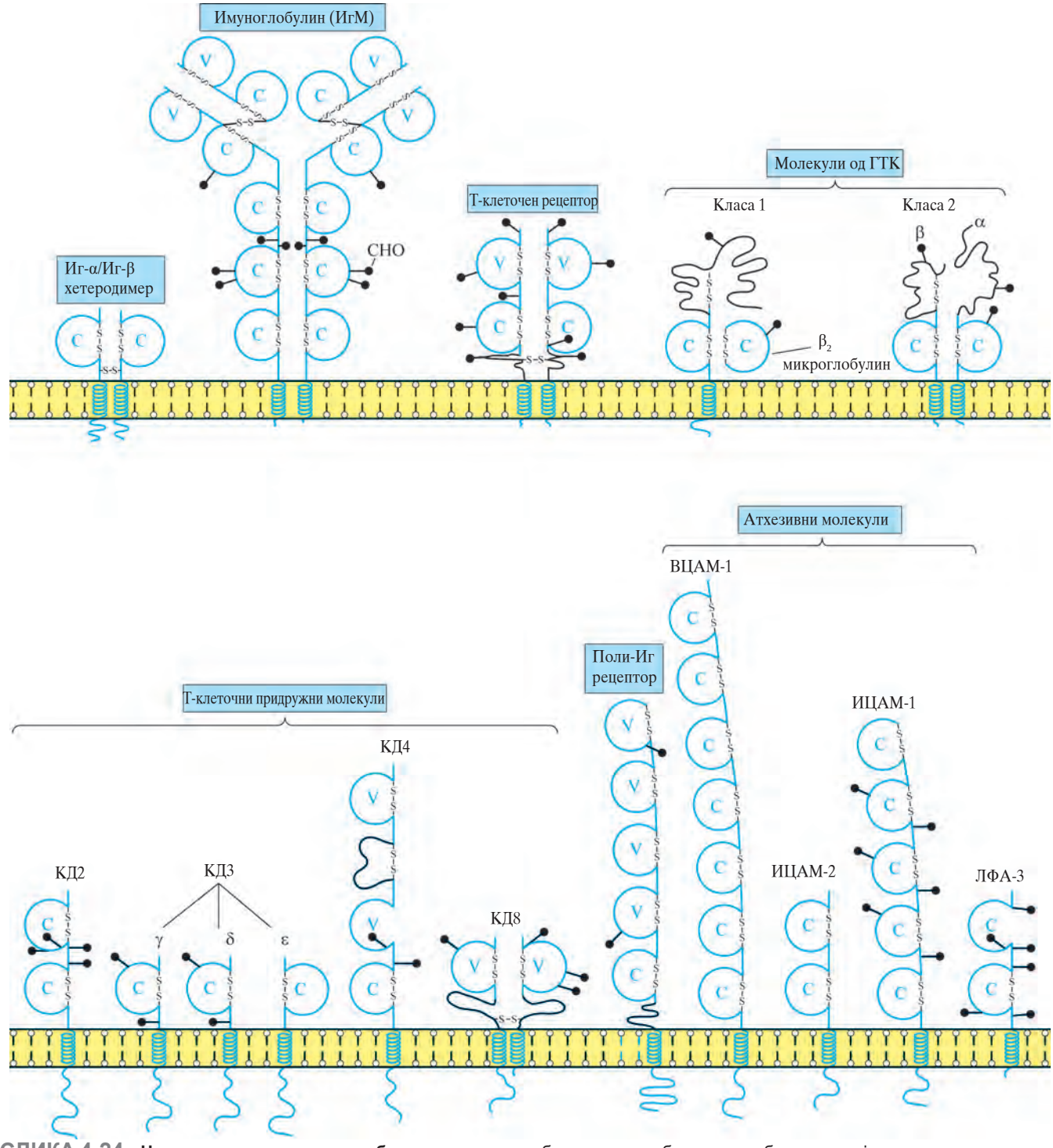
вонклеточниот рецептор со внатреклеточната сигнално преносна единица се среќава кај Б-клеточниот рецептор (слика 4-22) и претставува централна карактеристика на Т-клеточниот рецепторен комплекс (види Поглавје 9).

Имуноглобулинска суперфамилија

Структурите на различни имуноглобулински тешки и лесни вериги кои беа претходно објаснети делат неколку функции, што укажува на тоа дека тие имаат заеднички еволуциски претходник. Посебно, сите класи на тешки и лесни вериги ја имаат структурата на имуноглобулински здиплен домен (види слика 4-8). Присуството на оваа карактеристична структура кај сите имуноглобулински тешки и лесни вериги укажува на тоа дека гените кои ги кодираат нив потекнуваат од заедничко првобитно генско кодирање полипептид од околу 110 аминокиселини. Генското дуплирање и подоцнежното одвојување можело да создаде различни гени во тешките и во лесните вериги.

Се покажа дека голем број мембрански протеини поседуваат еден или повеќе подрачја кои се хомогени за имуноглобулинскиот домен. Секој од овие мембрански протеини се класифицира како член на **имуноглобулинска суперфамилија**. Изразот *суперфамилија* се користи за именување протеини чии соодветни гени произлегуваат од заедничкиот првобитен ген кој ја кодира основната структура на доменот. Овие гени се развиле независно и не делат генска поврзаност или функција. Следниве протеини, во однос на самите имуноглобулини, се претставителни членови на имуноглобулинската суперфамилија (слика 4-24):

- Хетеродимер Иг-алфа/Иг-бета, дел од Б-клеточниот рецептор
- Рецептор поли-Иг, кој придонесува за секреторниот дел во ИгА и ИгМ
- Т-клеточен рецептор
- Т-клеточни помагачки протеини, вклучувајќи ги КД2, КД4, КД8, КД28 и гама-, делта- и епсилон-вериги од КД3
- Класа 1 и класа 2 ГТК-молекули
- бета$_2$ - микроглобулин, непроменлив протеин поврзан со класа 1 ГТК-молекулите



СЛИКА 4-24 Некои членови од имуноглобулинска суперфамилија, група на структурно поврзани, обично мембрански врзани гликопротеини. Во сите прикажани случаи освен за бета$_2$-микроглобулинот, карбоксилнокрајниот дел од молекулот е прицврстен за мембраната.

- Различни клеточно атхезивни молекули, вклучувајќи ВЦАМ-1, МКАМ-1, МКАМ-2 и ЛФА-3.
- Тромбоцитен фактор за раст

Бројни други протеини, дел од нив опишани во други поглавја, исто така припаѓаат на имуноглобулинската суперфамилија.

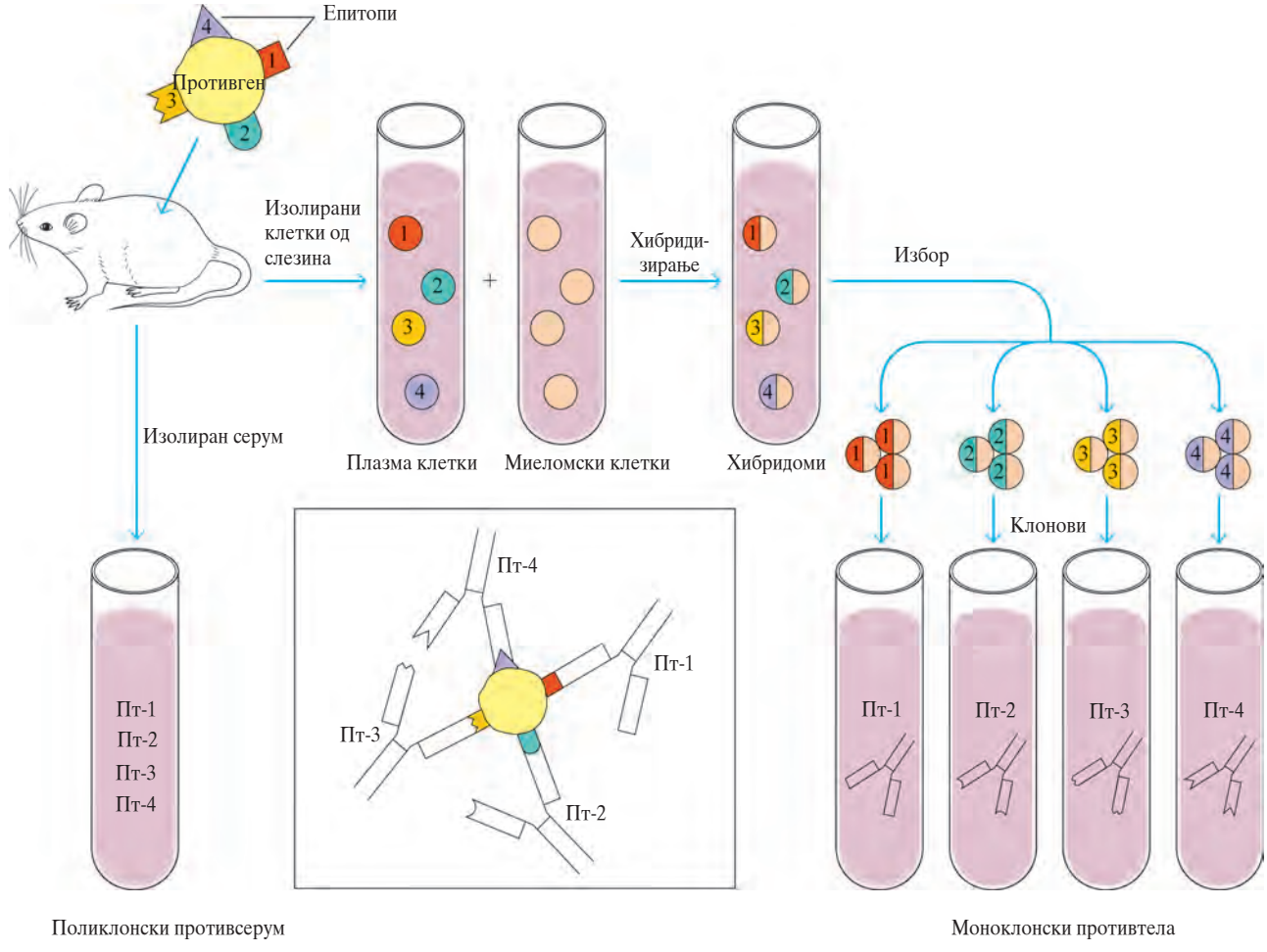
Сè уште не е извршена рендгенска кристалографска анализа на сите членови од имуноглобулинската суперфамилија. Но и покрај тоа, првичната секвенца на аминокиселините од овие протеини укажува на тоа дека сите тие го содржат обичниот имуноглобулински здиплен домен. Конкретно, сите членови од имуноглобулинската суперфамилија содржат најмалку една или повеќе вериги од околу 110 аминокиселини, способни за подредување во обвитканите ленти на противпаралените бета-плочки, обично со непроменлива меѓуверижна дисулфидна врска која затвора јамка која од 50 до 70 остатоци.

Повеќето членови од имуноглобулинската суперфамилија не можат да врзат противген. Така што, карактеристичната Иг здиплена структура најдена кај многу мембрански протеини мора да има и други функции освен врзувањето противген. Една можност е дека имуноглобулинското диплење може да ги олесни соодносите помеѓу мембранските протеини. Како што објаснивме претходно, меѓудејството може да се појави меѓу површините од бета-обвитканите плочки и кај хомологните имуноглобулински домени (на пр., меѓудејствата на K_T2/K_T2) и кај нехомологните домени (на пр., меѓудејствата на $B_T/B_Л$ и $K_T/K_Л1$).

Моноклонски противтела

Како што споменавме претходно, повеќето противгени нудат повеќе епитопи и затоа поттикнуваат размножување и диференцирање на мноштво Б-клеточни клонови, при што секој е изведен од Б-клетката која препознава посебен епитоп. Серумските противтелата кои се добиваат од тоа се хетерогениц, сочинувајќи мешавина од противтела, при што секое е специфично за еден епитоп (слика 4-25). Таквиот одговор на **поликлонско противтело** ја олеснува локализацијата, фагоцитозата и комплементарно посреденото раградување противген, на тој начин има јасни предности за организамот ин виво. За жал, хетерогеничноста на противтелото кое ја зголемува имунолошката заштита ин виво често ја намалува делотворноста на противсерумот за различни ин витро употреби. За повеќето истражувачки, дијагностички и терапевтски цели, се преферираат **моноклонски противтела,** изведени од еден клон и кои според тоа се специфични за еден епитоп.

Не е изводливо директно биохемиско прочистување моноклонското противтело од препарат на поликлонски противтела. Во 1975 год., Џорџ Колер и Цезар Милштајн осмислија метод за подготвување моноклонско противтело, што брзо стана една од имуните клучни технологии. Со спојување (фузија) нормално



СЛИКА 4-25 Вообичаениот поликлонски противсерум создаден како одговор на комплекс противген содржи мешавина од моноклонски противтела, при што секое е специфично за еден од четирите епитопи прикажани кај противгенот (вметнато). На спроти тоа, моноклонското противтело кое е изведено од една плазма клетка, е специфично за еден епитоп во комплексниот противген. Овде се прикажани контурите на основиот метод за добивање моноклонско противтело.

активирана, противтелно создавачка Б-клетка со миеломска клетка (канцерозна плазма клетка), тие можеа да создадат хибридна клетка, наречена **хибридом**, која ги поседуваше својства на бессмртен раст што ги има миеломската клетка и излачуваше противтело кое беше создадено од Б-клетките (види слика 4-25). Добиените клоновите од хибридомните клетки, кои лачат големи количини моноклонски противтела, можат неограничено да се култивираат. Развојот на техниките за создавање моноклонски противтела, деталите кои се опишани во Поглавје 22, на имунолозите им даде моќна и разновидна истражувачка алатка. Значењето на работата на Колер и Милштајн беше признато кога и двајцата беа наградени со Нобелова награда.

Моноклонските противтела имаат значајни клинички употреби

Се покажа дека моноклонските противтела се доста корисни како дијагностички, прикажувачки и терапевтски реагенси во клиничката медицина. Помеѓу повеќето дијагностички реагенси со моноклонски противтела кои се достапни во моментов се наоѓаат производите за откривање бременост, дијагностицирање бројни патогени микроорганизми, мерењето на нивоата во крвта на различни лекови, противгени за хистокомпитабилна совпадливост и откривање на противгените раширени од некои тумори.

Радиоозначените моноклонски противтела исто така може да се користат ин виво за откривање или лоцирање туморски противгени, овозможувајќи рана дијагноза на одредени првични или метастатски тумори кај пациенти. На пример, моноклонското противтело за клетки од рак на дојката се бележи со јод-131 и се внесува во крвта за откривање на раширеноста на туморот во околните лимфни јазли. Оваа техника за моноклонско прикажување може да открие метастаза на рак на дојката кој не би се открил со други, помалку чувствителни техники на скенирање.

Како што е објаснето во клиничкиот фокус на страна 98, употребата на противтелата како терпаветски агенси има долга историја. Од неодамна достапноста на моноклонските противтела и способноста за нивно „хуманизирање“ со техники за генетско модифицирање ѝ даде нов поттик на оваа област. Раните обиди за употреба на глувчешки моноклонски противтела за лекување луѓе се соочија со можноста од силен одговор против овие туѓи протеини. Најновите продукти се создаваат во човечки системи или се генетски модифицирани (види Поглавје 5) за вклучување на В-подрачјата или КДР од противтела кои не се од луѓето во К-подрачјата и скелетот на човечките противтела, намалувајќи ја можноста за активирање имун одговор против нив.

Постои растечки број на признати терапевтски противтела и над стотици нови противтела во патеките за развој на лековите. Тие придонесуваат неколку милијарди долари од продажба. Главните подрачја каде терапијата со противтела се покажа корисна се лекувањето на рак и лекување артритски нарушувања. Производите Ритуксан (генеричко име, ритуксимаб) за лекување на Нехоџкинов лимфом и Ремикејд (генеричко име, инфликсимаб) или Хумира (адалинумаб) за ревматски артрит се меѓу најмногу употребуваните. Генеричките имиња на лековите го отсликуваат видот на противтелото. На пример, суфиксот *-умаб* означува човечко моноклонски противтело, додека *-имаб* означува химерично противтело, кое содржи секвенци и од луѓето и од другите видови.

Абзимите се моноклонски противтела кои катализираат реакции

Врзувањето на противтелото за неговиот противген на многу начини е слично на врзувањето на ензимот за неговиот супстрат. И во двата случаи врзувањето вклучува слаба, нековалентна врска и поседува висока специфичност и често висок афинитет. Она што ги разликува меѓудејството на противтелото со противгенот од меѓудејството на ензимот со супстратот е тоа што противтелото не ги менува ковалентните врски на противгенот, додека ензимот катализира хемиска промена во неговиот супстрат. Сепак, како и ензимите, противтелата со соодветна специфичност може да ја стабилизираат преодната состојба на врзниот супстрат, на тој начин намалувајќи ја активациската енергија за хемиско модифицирање на супстратот.

Сличностите помеѓу меѓудејството противген-противтело и меѓудејството ензим-супстрат го поставија прашањето за тоа дали одредени противтела може да се однесуваат како ензими и да катализираат хемиски реакции. За испитување на оваа можност, се синтетизираше комплекс хаптен-носач при што хаптенот структурно наликуваше на преодната состојба на еден естер кој претрпува хидролиза. Клетките од слезината кај глушецот кој е имунизиран со овој аналог во преодна состојба беа измешани со миеломски клетки за создавање противхаптенско моноклонски противтела. Кога на овие моноклонски противтела беа инкубирани со естер супстрат, дел од нив ја забрзаа хидролизата за околу 1000 пати, тие се однесуваа како ензим кој обично ја катализира хидролизата на супстратот. Каталитичната активност на овие противтела беше високо специфична: тие хидролзираа само естери чија структура во преодна состојба доста наликуваше на аналогот во преодна состојба кој се користеше како хаптен при имунизирање со конјугатот. Овие каталитични противтела беа наречени **абзими** според нивната двојна улога како противтела и ензими.

Главната цел на истражувањето со катализирање противтела е создавање батерија од абзими кои ги делат пептидните врски на одредени аминокиселински остатоци, како што рестрикциските ензими ја сечат ДНК на специфични места. Таквите ензими се од непроценлива вредност при структурната и функционалната анализа на протеините. Дополнително, можно е создавање абзими со способност за разградување сосироци во крвта или да расечат вирусни гликопротеини во специфични места, на тој начин блокирајќи ја вирусната инфекција. За жал, каталитичните противтела кои ги расечуваат пептидните врски на протеините многу е тешко да се добијат. Голем дел од истражувањата кои во моментов се вршат се посветени на овој значаен, но тежок проблем.

Резиме

- Сите имуногени се противгени, но сите противгени не се имуногени. На пример, хаптените се противгени со мали молекули, но можат да поттикнат имун одговор (тие се имуногени) само кога се сврзуваат со голем молекул.
- Имуногеноста се одредува по многу фактори, вклучувајќи ја и туѓоста, молекулската големина, хемискиот состав, комплексноста, дозата, прифатливоста за обработување и прикажување противген, генотипот на животното примател (посебно, неговите ГТК гени), начинот на внесување и помагачите.

- Противтелата препознаваат широк опсег на противгени одредници, или епитопи. Малите противгени често се врзуваат во тесни вдлабнатини или длабоки прегради од противтелото. Поголемите противгени, како што се глобуларните протеини, стапуваат во меѓудејство со поголема, помазна копмплементарна површина на противтелниот молекул.
- Противтелниот молекул се состои од две идентични лесни и две идентични тешки вериги. Лесните вериги се поврзани со тешките вериги со дисулфидни врски, а тешките вериги меѓусебно се поврзани со дисулфидни врски. Секој верига од противтелото се состои од амино крајно варијабилно подрачје и карбокислно крајно константно подрачје.
- Кај кој било даден молекул, константното подрачје содржи еден од петте основни секвенци со тешки вериги, наречени изотипови, што ја одредуваат класата на противтела (ми, ИГМ; гама, ИгГ; делта, ИгД; алфа, ИгА; епсилон, ИгЕ) и една од двете основни видови на секвенци со лесни вериги (капа или ламбда).
- Петте класи на противтела имаат различни ефекторни функции, просечни серумски концентрации и периоди на полуживот.
- Секој од домените во имуноглобулинскиот молекул има карактеристична третична структура наречена имуноглобулинско диплење. Присуството на имуноглобулински здипленият домен исто така го има во многу други протеински не-противтела како членови од суперфамилијата имуноглобулини.
- Во амино крајното промениливо подрачје на секој од тешките и лесните вериги се наоѓаат три комплементарно детерминаторни подрачја (КДП). Овие полипептидни подрачја придонесуваат за противген врзувачкото место на противтелото, одредувајќи ја неговата специфичност.
- Имуноглобулините се лачат во две форми: излаченото противтело кое се создава во плазма-клетките и мембрански врзано противтело кое здружено со Иг-алфа/Иг-бета хетеродимерите создава Б-клеточен противген рецептор присутен врз површината од Б-клетките.
- Трите главни ефекторни функции на противтелата се (а) опсонизација, што поттикнува фагоцитоза на противген од страна на макрофаги и неутрофили. (2) Активирање комплемент, што поттикнува патека која води кон создавање колекција протеини кои можат да пробијат клеточни мембрани. (3) Противтелно зависна клеточно посредувана цитотоксичност (ПЗКЦ), која може да убие противтелно врзани целни клетки.
- За разлика од поликлонските противтела, кои настануваат од многу Б-клеточни клонови и имаат хетероген збир од врзни места, моноклонското противтело е добиено од еден клон Б-клетка и има едно врзно место.

Референци

Berzofsky, J. A., and J. J. Berkower. 1999. Immunogenicity and antigen structure. In *Fundamental Immunology*, 4th ed., W. E. Paul, ed. Lippincott-Raven, Philadelphia.

Demotz, S., H. M. Grey, E. Appella, and A. Sette. 1989. Characterization of a naturally processed MHC class II-restricted T-cell determinant of hen egg lysozyme. *Nature* **342**:682.

Frazer, J. K., and J. D. Capra. 1999. Immunoglobulins: structure and function. In *Fundamental Immunology* 4th ed. W. E. Paul, ed. Lippincott-Raven, Philadelphia.

Grey, H. M., A. Sette, and S. Buus. 1989. How T cells see antigen. *Scientific American* **261**(5):56.

Immunology Today: The *Immune Receptor Supplement*, 2nd ed. 1997. Elsevier Trends Journals, Cambridge, UK (ISSN 1365-1218).

Kindt, T. J., and J. D. Capra. 1984. *The Antibody Enigma*. Plenum Press, New York.

Köhler, G., and C. Milstein. 1975. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* **256**:495.

Kraehenbuhl, J. P., and M. R. Neutra. 1992. Transepithelial transport and mucosal defence II: secretion of IgA. *Trends in Cell Biology* **2**:134.

Landsteiner, K. 1945. *The Specificity of Serological Reactions*. Harvard University Press, Cambridge, MA.

Laver, W. G., G. M. Air, R. G. Webster, and S. J. Smith-Gill. 1990. Epitopes on protein antigens: misconceptions and realities. *Cell* **61**:553.

Reth, M. 1995. The B-cell antigen receptor complex and coreceptor. *Immunology Today* **16**:310.

Stanfield, R. L., and I. A. Wilson. 1995. Protein-peptide interactions. *Current Opinion in Structural Biology* **5**:103.

Tainer, J. A., et al. 1985. The atomic mobility component of protein antigenicity. *Annual Review of Immunology* **3**:501.

Wedemayer, G. J., et al. 1997. Structural insights into the evolution of an antibody combining site. *Science* **276**:1665.

Wentworth, P., and K. Janda. 1998. Catalytic antibodies. *Current Opinion in Chemical Biology* **8**:138.

Wilson, I. A., and R. L. Stanfield. 1994. Antibody-antibody interactions: new structures and new conformational changes. *Current Opinion in Structural Biology* **4**:857.



Корисни веб-страници

http://wwwumass.edu/microbio/rasmol/

РасМол претставува слободен софтвер за прикажување молекулска структура кој може да работи на компјутери со Виндоус, Мекинктош и Уникс. Во него може да се видат тридимензионални структури на многу видови молекули, вклучувајќи протеини и нуклеински киселини.

http://www.expasy.ch/

Ова е одлична и детална веб-страница на Швајцарскиот институт за биоинформатика (СИБ), која содржи детални информации за структурата на протеините. Од тука може да се добијат секвенците на протеините и тридимензионалните структури на протеините исто како и разновиден софтвер за прикажување (Swiss-Pdb Viewer), кој има неколку напредни можности кои не можат да се најдат кај РасМол.

http://www.bioinf.org.uk/abs

Веб-страницата за противтелата: Структура и секвенца дава корисни информации за структурата и секвенцата

на противтелата. Овозможува општи информации за противтелата и кристалните структури и линкови за други информации поврзани со противтелата.

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/

Базата на податоци за молекулско моделирање (ММДБ) содржи тридимензионални структури добиени со рендгенска кристалографија и НМР спектроскопија. Податоците од ММДБ се добиени од базата на податоци за протеините (ПДБ). Националниот центар за информации за биотехнологијата (НЦБИ) поседува структурни податоци поврзани со библиографски информации, база на податоци за протеини и нуклеински киселини и со НЦБИ базата на податоци за таксономија на животни. НЦБИ дизајнираа 3-Д прегледувач на стуктурата, Цн3Д, за лесно интерактивно прикажување молекулските структури.

http://www.umass.edu/microbio/chime/pe/protexpl/frntdoor.htm

Протеин Експлорер претставува програма за молекуалрно сликање создадена од Ерик Марц од универзитетот во Масачусетс, Амерс, со поддршка од Националната научна фондација за да им олесни на студентите, професорите и научниците да употребуваат интерактивни и динамични техники за молекулско прикажување.

http://imgt.cines.fr

ИМГТ, меѓународната база на податоци за имуногенетика која е создадена од страна на Мари-Пол Лефранц, е добро организиран, моќен и разблирлив информациски систем кој е специјализиран за имуноглобулини, Т-клеточни рецептори и молекули од главниот хистокомпитабилен комплекс (ГТК) од сите видови ’рбетници.

Прашања за учење

ПРАШАЊА ОД КЛИНИЧКИ ФОКУС - Две фармацевтски компании прават внатревенозен имуноглобулин (ВВИГ). Компанијата А својот производ го прави од колекција од 100000 дарители кои потекнуваат исклучиво од американска популација. Компанијата Б својот ВВИГ го прави од колекција од 60000 дарители добиени од еднаков број дарители од Северна Америка, Европа, Бразил и Јапонија.

а. Кој производ очекувате дека ќе има поширок спектар на патогена реактивност? Зошто?
б. Претпоставете дека пациентите кои го примаат противтелото (1) никогаш нема да го напуштат САД или (2) постојано патуваат во многу делови од светот. Чиј производ ќе го одберете за секоја од овие групи на пациенти? Објаснете ги вашите избори.

1. Наведете дали секој од следниве искази е точен или неточен. Ако мислите дека некој исказ е неточен, објаснете зошто?

а. Повеќето противгени поттикнуваат одговор од повеќе од еден клон.
б. Голем протеински противген во основа може да се комбинира со доста различни противтелни молекули.
в. Хаптенот може да стимулира создавање противтело, но не може да се комбинира со противтелните молекули.
г. ГТК гените играат главна улога при одредување степенот на имунолошката реактивност на противген.
д. Т-клеточните епитопи тежнеат да бидат пристапни остатоци од аминокиселини кои може да се комбинираат со Т-клеточниот рецептор.
ѓ. Многу Б-клеточни рецептори се непоследователни (несеквентни) аминокиселини кои се заедно споени со третична конформација од протеински противген.
е. Сите противгени се исто така имуногени.
ж. Противтелата може да се врзат за хидрофилни или хидрофобни соединенија, но Т-клеточните рецептори може да се врзат само за пептидни ГТК комплекси.
з. Б-клеточните рецептори може со голема прецизност да се определат од првичната структура на протеинот.

2. За секој пар противгени кои се наведени долу, одговорете што би можело да биде поимуногенично кога ќе се внесе во зајак. Објаснете го вашиот одговор.

а. Природен говедски серум албумин (ГСА), топлинско-денатуриран ГСА.
б. Лизозом од кокошкина белка (ЛКБ), колаген од кокошка.
в. Протеин со молекулска тежина од 30000, протеин со молекулска тежина од 150000.
г. ГСА во комплетен помагач на Фројнд, ГСА во некомплетен помагач на Фројнд.

3. Наведете кој од следниве искази за хаптените и носачите е точен.

а. Хаптените се големи протеински молекули како ГСА.
б. Кога комплексот хаптен-носач кој содржи повеќе хаптенски молекули ќе се внесе во животно, повеќето од поттикнатите противтела се специфични за хаптенот.
в. Носачите се потребни само ако сакаме да го поттикнеме клеточно посредуваниот одговор.
г. Потребно е имунизирање со комплекс хаптен-носач со цел да се добијат противтела насочени против хаптенот.
д. Носачите вклучуваат мали молекули како што е динитрофенолот и пеницилската киселина (изведена од пеницилинот).

4. За секој од следниве искази, одговорете дали е точен за Б-клеточните епитопи (Б), само за Т-клеточните епитопи (Т), или и за двата вида епитопи (БТ) во голем противген.

а. Тие скоро секогаш се состојат од линиска секвенца на остатоци од аминокиселини.
б. Обично се наоѓаат во внатрешнината од протеинскиот противген.
в. Обично се наоѓаат врз површината од протеинскиот противген.
г. Ја губат имуногеноста кога протеинскиот противген е денатуриран од топлина.
д. Имунодоминантните епитопи делумно се одредени по ГТК молекулите прикажани во поединецот.
ѓ. Во основа потекнуваат од протеините.
е. Во истиот противген може да се јават многу различни епитопи.
ж. Нивната имуногеност може да зависи од тридимензионалната структура на противгенот.
з. Имунот одговор кон нив може да се олесни со истовремено внесување комплетен Фројндов помагач.

5. Наведете дали секој од следниве искази е точен или неточен. Ако мислите дека некој исказ е неточен, објаснете зошто?

а. Зајак имунизиран со човечки ИгГ3ќе создаде противтело кое реагира со сите поткласи на ИгГ кај луѓето.

б. Сите имуноглобулински молекули врз површината од дадена Б-клетка го имаат истиот идиотип.
в. Сите имуноглобулински молекули врз површината од дадена Б-клетка го имаат истиот изотип.
г. Сите миеломски протеински молекули добиени од еден миеломски клон го имаат истиот идиотип и алотип.
д. Иако ИгА е главниот вид противтело кој претрпува трансцитоза, полимерниот ИгМ, но не сите мономерни ИгА, исто така можат да претрпат трансцитоза.
ѓ. Хиперваријабилните подрачја остваруваат значаен контакт со епитопот.
е. При бактериска аглутација ИгГ функционираа поефикасно од ИгМ.
ж. Иако моноклонските противтела често се преферираат за истражувачки и дијагностички цели, и моноклонските и поликлонските противтела може да бидат високо специфични.
з. Сите изотипови обично се врзуваат за секој поединец од видовите.
ѕ. Варијабилното подрачје ($В_Т$) од тешките вериги е двапати поголемо од варијабилното подрачје ($В_Л$) од лесните вериги.

6. Вие сте енергичен имунолошки студент кој изолирал протеин Икс, кој верувате дека е нов изотип на човечки имуноглобулин.

а. Кои структурни особини мора да ги поседува протеинот Икс за да може да се класифира како имуноглобулин?
б. Сте подготвиле зајачки противсерум кон целиот ИгГ, човечката капа-верига и човечката гама-верига. Ако претпоставиме дека протеинот Икс е, всушност, нов имуноглобулински изотип, за кој од спомнатите противсеруми ќе се врзе? Зошто?
в. Советувајте експериментална постапка за подготвување противсерум кој е специфичен за протеинот Икс.

7. Според клоналната теорија за слекција, сите имуноглобулински молекули од една Б-клетка имаат истата противгена специфичност. Објаснете зошто присуството на ИгМ и ИгД врз истата Б-клетка не ја прекршува неспецифичноста наметната со изборот на клон.

8. ИгГ, кој содржи гама тешки вериги при еволуцијата е развиен порано од ИгМ, кој содржи ми тешки вериги. Наведете две предности и два недостатоци кој ги има ИгГ во споредба со ИгМ.

9. Иако петте имуноглобулински изотипови делат многу заеднички особини во структурата, разликите во нивната структура влијаат врз нивните биолошки активности.

а. Нацртајте шема на обичен ИгГ молекул и означете го секој од следниве делови: Т-веригите, Л-веригите, меѓуверижните дисулфидни врски, зглобното подрачје, Фпв, Фк и сите домени. Наведете кои домени се вклучени во врзувањето на противгенот.
б. На кој начин треба да ја измените шемата на ИгГ за да добиете молекул на ИгА кој е изолиран од плунката?
в. На кој начин треба да ја измените шемата на ИгГ за да добиете молекул на серумски ИгА?

10. Пополнете ја следнава табела која се однесува на особините на ИгГ молекулите и нивните различни делови. Внесете (+) ако молекулот и дел од него го поседува својството, (-) ако не го поседува и (+/-) ако го поседува, но слабо.

Карактеристика	Цела ИгГ	Т-верига	Л-верига	Фпв	$Ф(пв')_2$	Фк
Врзување противген						
Биванлетно врзување противген						
Врзување за Фк-рецептори						
Фиксирање комплемент во присуство на противген						
Има В-домени						
Има К-домени						

11. Бидејќи молекулите од имуноглобулините поседуваат противгени одредници, тие можат да функционираат како имуногени, поттикнувајќи создавање противтело. За секое од следниве имунизациски сценарија, одговорете дали противтелата на противимуноглбулините ќе се формираат за изотипни (ИС), алотипни (АЛ) или идиотипни (ИД) одредници:

а. Противтелата против-ДНФ кои се создаваат кај глушецот БАЛБ/ц се внесуваат во глушецот Ц57БЛ/6.
б. Моноклонските противтела Против-ГГГ од глушецот БАЛБ/ц се внесуваат во друг БАЛБ/ц глушец.
в. Противтелата против-ГГГ кои се создаваат во глушецот БАЛБ/ц се внесуваат во неразвиен глушец.
г. Противтелата против-ГГГ кои се создаваат во глушецот БАЛБ/ц се внесуваат во истиот глушец.

12. Во следнава табела внесете *да* или *не* за да одговорите дали противсерумот кој е наведен горе реагира со противтелните делови на глушецот кои се наведени од лево.

	Верига γ	Верига к	Фрагмент Фпв од ИгГ	Фрагмент Фк од ИгГ	Верига J
γ Верига од глушец					
к Верига од глушец					
Целиот ИгГ од глушец					
Фк фрагмент од ИгМ кај глушец					

13. Карактеристичната структура на имуноглобулинските домени наречени имуноглобулински дипли, исто така се појавува во бројни мембрански протеини кои припаѓаат на имуноглобулинската суперфамилија.

а. Опишете ги типичните својства кои го дефинираат имуноглобулин здипленият домен.
б. Претпоставете протеини кои припаѓаат на имуноглобулинската суперфамилија. Што им е заедничко на сите протеини? Опишете два различни члена од суперфамилијата на Иг кои се врзуваат за противген. Наведете четири различни членови од суперфамилијата на Иг кои не се врзуваат за противген.

14. Каде се лоцирани КОП подрачјата во противтелниот молекул и кои се нивните функции?

15. Варијацијата на аминокиселинските секвенци на секоја позиција од полипептидната верига може да се прикаже со величина наречена *варијабилност (променливост)*.

а. Кои се највисоките и најниските можни вредности на варијабилност?
б. Како очекувате варијабилниот приказ на ензимот кој е присутен кај многу видови цицачи да се разликува од таа кај група човечки имуноглобулини?

16. Истражувачка сака да го направи зајачки противсерумот специфичен за глувчешки ИгГ. Таа во зајакот внесува прочистен ИгГ од глушец и зема серум кој силно реагирал со глувчешкиот ИгГ. На нејзино изненадување, противсерумот исто така реагирал со секој од глувчешките изотипови. Објаснете зошто таа го добила овој резултат. Како може таа да направи зајачки противсерум специфичен за глувчешки ИгГ?

17. Спојувате (фузирате) слезинечки клетки кои имаат нормален генотип за тешките (Т) и лесните (Л) вериги од имуноглобилинот со препарати од три миеломски клетки кои се разликуваат по нивниот генотип на имуноглобулин, како во следниве примери: (а) $Т^{+}$, $Л^{+}$. (б) $Т^{+}$, $Л^{-}$ и (в) $Т^{-}$, $Л^{-}$. Са секој хибридом, предвидете колку уникатни области за врзување противген, кои се оставени од една Т- и една Л-верига, теоретски би можеле да се создадат и покажете ја структурата на веригите во можните противтелни молекули. За секоја од можните противтелни молекули наведете дали веригите ќе потекнуваат од слезината (С) или од миеломскиот партнер за спојување (М) (на пример, $Т_{С}Л_{С}/Т_{М}Л_{М}$.

18. За секој имуноглобулински изотип (од а-д) изберете го описот(е) наведен долу (од 1-12) кои го опишуваат изотипот. Секој опис може да се употреби еднаш, повеќе од еднаш или воопшто да не се употреби. За одредени изотипови може да важи повеќе од еден опис.

Изотипови:

а. _____ ИгА
б. _____ ИгД
в. _____ ИгЕ
д. _____ ИгГ
г. _____ ИгМ

Описи:

(1) Излачената форма е пентамер од основната $Т_{2}Л_{2}$единица.
(2) Се врзува за Фк рецепторите од мастоцитите.
(3) Повеќемерните форми имаат J-верига.
(4) Присутен врз површината од зрелите, неискусни Б-клетки.
(5) Најобилниот изотип во серумот.
(6) Главно противтело при излачувањата како што е плунката, солзите и млекото од градите.
(7) Присутен врз површината од незрелите Б-клетки.
(8) Првото серумско противтело кое се создава при првичниот имун одговор.
(9) Игра значајна улога при непосредната преосетливост.
(10) Игра првична улога при заштитата против патогените кои напаѓаат низ цревната или респираторната мукоза.
(11) Повеќемерните форми може да содржат секреторен дел.
(12) Најмалку присутен изотип во серумот.

19. Само што завршивте со создавање моноклонско противтело за клеточен површински рецептор поврзан со тирозинска киназа. Кога противтелото се врзува за рецепторот прикажан врз вашите клетки, откривате дека клетките се стимулирани наместо попречувани. Всушност, противтелото не успеало да го блокира рецепторот туку довело до зголемено пренесување сигнал преку рецепторот. Дадете можно објаснување за овој резултат. Како ќе го модифицирате противтелото за да ја елиминирате стимулаторната реакција, што ќе ви овозможи да одредите дали противтелото го блокира врзувањето на лигандот?

20. ИгГ може да се пренесе од мајката во ембрионот кој се развива, посредувајќи имунолошка заштита против противгените на кои е изложена мајката во третото тримесечие. На кои други начини мајката може да овозможи имунолошка заштита за нејзиното новороденче по раѓањето?

Интерактивна настава

www.wfreeman.com/kuby

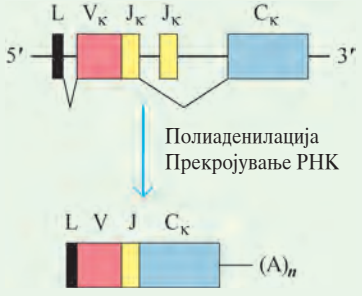
САМОСТОЕН ТЕСТ
Преглед на клучни изрази

АНИМАЦИЈА
Имуноглобулини
хХГ Тест за бременост

МОЛЕКУЛСКО ПРИКАЖУВАЊЕ
Вовед во структурата на имуноглобулините

Поглавје 5

Организација и прикажување на имуноглобулински гени



Капа-гените од лесните вериги се подредени и поделени за да создадат сложена порака.

- Создавање гентички модел компитабилен со структурата на Иг.
- Повеќегенска организација на гените од Иг.
- Преуредување гени со променливи подрачја.
- Механизам за преуредување ДНК во променливото подрачје.
- Создавање противтелна различност
- Превклучување класи меѓу гените од константно подрачје.
- Прикажување Иг гени.
- Синтеза, групирање и секреција на имуноглобулини.
- Регулирање на препишувањето на Иг гените.
- Противтелните гени и модифицирање противтела страница 111)

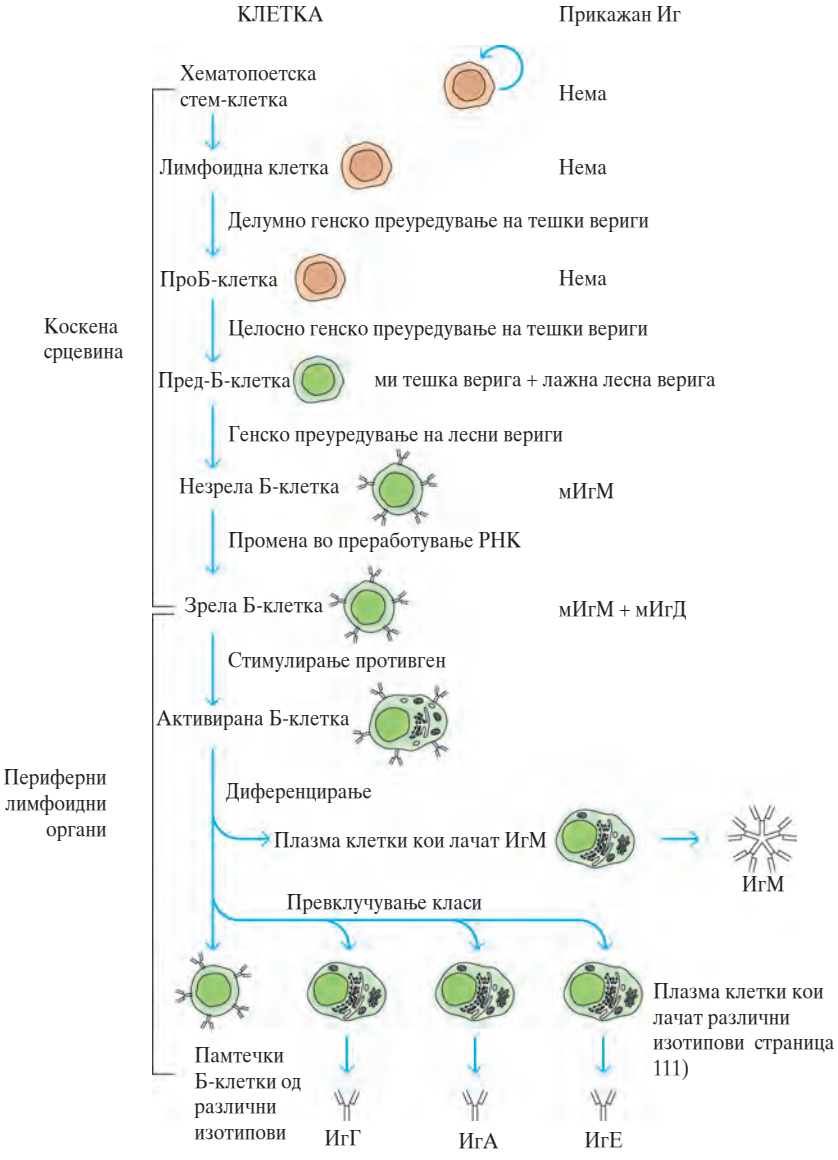
Една од најизвонредните особини на имуниот систем кај 'рбетниците претставува способноста да одговори на безгранична група туѓи противгени. Како што се собираа податоци за имуноглобулинската секвенца (Иг), скоро за секое противтело кое се проучуваше се откри дека содржи уникатна секвенца од аминокиселини во неговото варијабилно подрачје, но само една од ограниченият број непроменливи секвенци во неговото константно подрачје. Генската основа за оваа комбинација од постојаност и голема варијабилност во еден протеински молекул лежи во организацијата на имуноглобулинските гени.

Во зародишната линија од ДНК, многу генски сегементи ги кодираат деловите од една имуноглобулинска тешка и лесна верига. Овие генски сегменти се наоѓаат во зародишните клетки, но не можат да се препишат и да се преведат во целосни вериги додека не се преуредат во функционални гени. При зреењето на Б-клетките во коскената срцевина, дел од овие генски сегменти се мешаат по случаен избор во динамичкиот генски систем кој е способен за создавање повеќе од 10^6 комбинации. Последователните процеси ја зголемуваат разновидноста (разновидноста) за противтелно врзните места до голем број кој надминува 10^8. При развојот на Б-клетките, зреењето на Б-клетката прогенитор минува низ редослед од секвенци на преуредување на Иг гените кои придонесуваат за разновидноста на крајните продукти. До крајот на овој процес, зрелите, имунокомпетентни Б-клетки ќе содржат кодирачки секвенци за едно функционално варијабилно подрачје од тешките вериги и едно варијабилно подрачје од лесните вериги. Според тоа, една Б-клетка се создава со веќе предодредена специфичност. По противгената стимулација на зрелите Б-клетки во периферните лимфоидни органи, понатамошното преуредување на генските сегменти во константното подрачје може да создаде промени во прикажаниот изотип, кој создава промени во биолошките ефекторни функции на имуноглобулинскиот молекул без да ја менува неговата специфичност. На тој начин, зрелите Б-клетки содржат хромозомна ДНК која повеќе не е идентична со ДНК од зародишната линија. Иако сметаме дека геномската ДНК е стабилен генски нацрт, лимфоцитната клеточна линија не задржува неоштетена копија од овој нацрт. Геномското преуредување претставува основна карактеристика на лимфоцитното диференцирање, а се покажа дека ни еден друг вид клетки не е подложен на овој процес.

Ова поглавје прво ја опишува деталната организација на имуноглобулинските гени, процесот на преуредување Иг гените и механизмите преку кои динамичкиот имуноглобулински генски систем создава повеќе од 10^8 различни противгени специфичности. Потоа го опишува механизмот за превклучување класи, улогата на диференцијалното преработување РНК при прикажувањето на имуноглобулинските гени и регулацијата на препишувањето Иг генот. Поглавјето завршува со употреба на нашето знаење за молекулската биологија на

СЛИКА-ПРЕГЛЕД 5-1

Развој на Б-клетка



Настаните кои је јавуваат за време зреењето во коскената срцевина не бараат противген, додека активирањето и диференцирањето на зрелите Б-клетки во периферните лимфоидни органи бараат противген. Називите мИгМ и мИгд се однесуваат на имуноглобулините кои се врзани за мембрана. ИгГ, ИгА и ИгЕ се излачени имуноглобулини.

имуноглобулинските гени до модифицирање противтелните молекули за терапевтска и истражувачка примена. Поглавје 11 детално го опфаќа целиот процес на развој на Б-клетките од првото генско преуредувањете во прогениторната Б-клетка до крајното диференцирање во памтечки Б-клетки и плазма клетки кои лачат противтело. Слика 5-1 дава редоследен преглед на фазите од развојот на Б-клетките, при што многу од нив се јавуваат како резултат на значајните преуредувања.

Создавање генски модел кој е компатибилен со структурата на Иг

Резултатите од анализата на имуноглобулинската секвенца која е објаснета во Поглавје 4 го откри бројот на особини од структурата на имуноглобулините што беше тешко да се добие со класичните генски модели. Секој остварлив модел на

имуноглобулински гени треба да ги поседува следниве особини на противтелата:

- Мошне разновидни специфичности на противтелата;
- Присуството на имуноглобулинот со тешки и лесни вериги од варијабилното подрачје во амино крајниот и константното подрачје од карбоксилно крајниот дел, и
- Постоењето на изотипови со иста противгенска карактеристика, што се јавува како резултат од поврзувањето на дадено варијабилно подрачје со различни константни подрачја со тешки вериги.

Спротивставени модели на зародишна линија и соматски варијации за објаснување на противтелната разновидност

Во текот на неколку децении, имунолозите се трудеа да замислат генски механизам кој може да ја објасни големата разновидност во структурата на противтелата. Се појавија две различни теории. **Теоријата на зародишна линија** се задржа на тоа дека геномот од зародишните клетки, јајцето и спермата, содржат голема група имуноглобулински гени. Според тоа, овие теории одговорноста за разновидноста на гените не ја стават врз ниеден посебен генски механизам. Тие расправаат за тоа дека опстојувачкото преживување на имуниот систем ја оправдува посветеноста на значаен дел од геномот за кодирање противтела. Наспроти тоа, **теоријата за соматска варијација** се држи до тоа дека геномот содржи релативно мал број имуноглобулински гени, од кои во соматските клетки со мутации и рекомбинации се создаваат голем број специфични противтела.

Како што се утврдија секвенците на аминокиселините од сè повеќе имуноглбоулини, стана јасно дека мора да постојат механизми, не само за создавање разновидни противтела, туку и за одржување постојаност. Дали разновидноста е создадена од зародишните линии или од соматските механизми, останува парадоксот: Како може да се одржи стабилноста во константното (К) подрачје додека одреден вид на механизми за разновидност го создаваат варијабилното (В) подрачје?

Ниту застапниците на теоријата за зародишната линија ниту застапниците на теоријата за соматската варијација не можеа да понудат логично објаснување за оваа централна карактеристика во структурата на имуноглобулините. На застапаниците на зародишната линија им беше тешко да ги откријат еволуциските механизми кои можат да создадат разновидност во варијабилниот дел од многуте гени со тешки и лесни вериги додека константниот дел го одржуваат непроменет. На застпаниците на соматската варијација им беше тешко да го измислат механизмот кој варијабилното подрачје од генот со една тешка и една лесна верига може да го направи разновиден без да дозволи менување на секвенцата на аминокиселините кои се кодирани во константното подрачје.

Третата структурна карактеристика која бара објаснување се појави кога секвенцирањето на аминокиселините од хуман миеломски протеин наречен Ти1 откри дека идентични секвенци од варијабилно подрачје се поврзани со гама и ми константните подрачја од тешките вериги. Сличен феномен беше забележан кај зајаците од страна на Ц. Тод, кој откри дека одреден алотипен обележувач во варијабилното подрачје од тешката верига може да се поврзе со алфа, гама и ми константните подрачја со тешки вериги. Значителен дополнителен доказ потврди дека една секвенца од варијабилно подрачје, која дефинира одредена противгена специфичност, може да се поврзе со повеќе секвенци од константното подрачје во тешките вериги. Со други зборови, различни класи, или изотипови, на противтела (на пр., ИгГ, ИгМ) може да бидат прикажани со идентична секвенца од варијабилното подрачје.

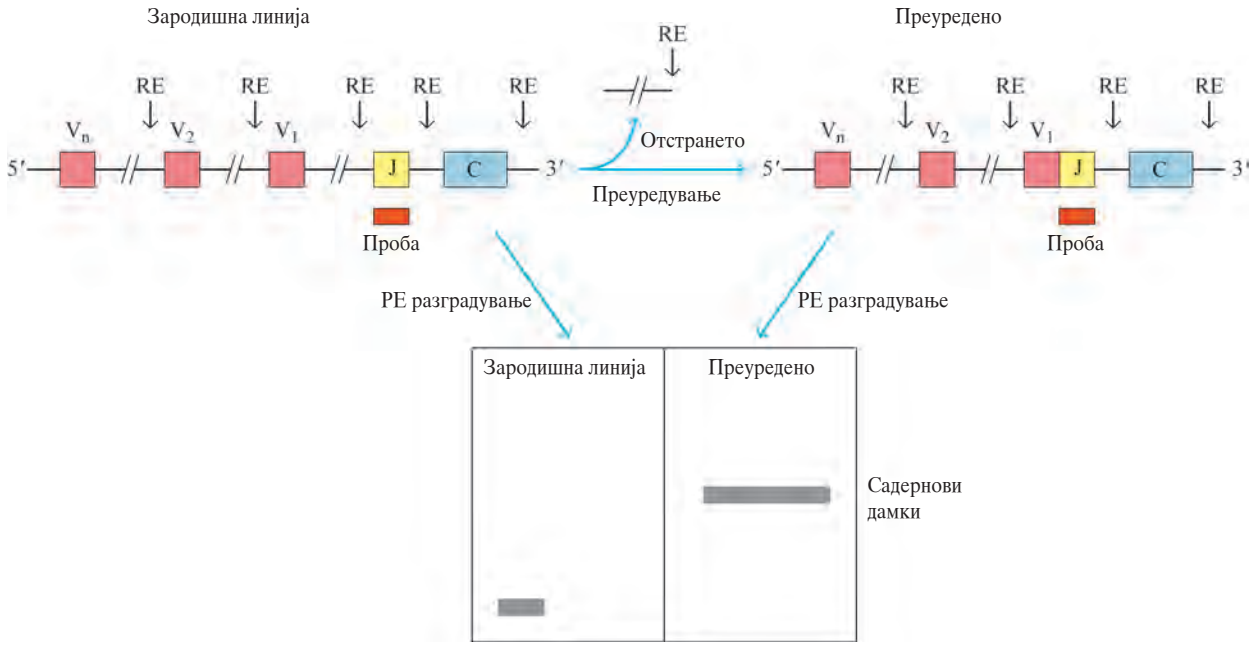
Дрејер и Бенет предложија револуционарен модел со два гена и еден полипептид

При обид да се развие генски модел кој е упорен со познатите наоди за структурата на имуноглобулините, В. Дрејер и Ц. Бенет предложија, во нивниот класичен теоретски напис од 1965 година, дека два различни гени кодираат една тешка или една лесна верига од имуноглобулините, еден ген за В-регионот (варијабилното подрачје) и другиот за К-регионот (константното подрачје). Тие тврдеа дека овие два гени мора некако да се спојат на ниво на ДНК за да создадат последователна порака која може да се препише и да се преведе во една Иг тешка или лесна верига. Во тоа време беше општо прифатено дека еден ген кодира еден полипептид, така што нивниот предлог беше револуционерен. Покрај тоа, тврдеа дека стотици или илјадници гени со В-подрачја се сместени во зародишната линија, додека постои само една копија за класата и поткласата на гени во К-подрачјето.

Силата на овој тип на модел на рекомбинација (кој комбинира елементи од теориите за зародишна линија и соматска варијација) се состоеше во тоа што тој се однесуваше на оние имуноглобулини во кои едно В-подрачје се комбинира со различни К-подрачја. Со предлагање еден ген со постојано подрачје за секој класа и потклаcа на имуноглобулини, моделот исто така овозможува зачувување на неопходните биолошки ефекторни функции додека овозможува еволуциска диверсификација на гени со променливи подрачја.

На почетокот, поддршката за хипотезата на Дрејер и Бенет беше индиректна. Првите проучувања на ДНК хибридизациската кинетика со употреба на радиоактивна проба на ДНК за константното подрачје укажа на фактот дека моделот хибридизирал само со еден или со два гени, потврдувајќи го предвидувањето на моделот само со една или со две копии од секоја класа или потклаcа на генот во константното подрачје. Сепак, индиректниот доказ не беше доволен за надминување на жестокиот отпор во научната заедница за хипотезата на Дрејер и Бенет. Тврдењето дека два гени кодираат еден полипептид се спротивставуваше на принципот еден ген - еден полипептид и беше без претходен пример во биолошките системи.

Како што често се случува во науката, теоретското и интелектуалното сфаќање за организирањето на Иг гените напредуваше заедно со достапната методологија. Иако моделот на Дрејер и Бенет овозможи теоретска рамка за решавање на дилемата помеѓу податоците за секвенцата на Иг и организацијата на гените, вистинското признание на нивната хипотеза требаше да чека неколку значајни технолошки напредоци во полето на молекулската биологија.



СЛИКА-5-2 Експериментална основа за дијагноза на преуредување на имуноглобулунското подрачје. Бројот и големината на рестрикциските фрагменти кои се создаваат при третирањето на ДНК со рестрикциски ензим се одредени од секвенцата на ДНК. Дигестијата на преуредената ДНК со рестрикцискиот ензим (RE) дава облик на рестрикциски фрагменти кои се разликува од тие кои се добиваат со дигестија на непреуреденото подрачје со истиот RE. Обично, фрагментите се анализираат со техниката на Садернови дамки (блотирање). Во овој пример, пробата што го вклучува J-сегментот се користи за идентификација на RE разградените фрагменти кои ги вклучуваат сите или дел од овој сегмент. Како што е прикажано, преуредувањето доведува до отсечувањеье сегмент од ДНК во зародишната линија и губиток на рестрикциските места. Исто така има резултат и во спојувањето на генските сегменти, во овој случај V- и J-сегментот, кои се одвоени во зародишната линија. Според тоа, фрагментите кои зависат од присуството на овој сегмент за нивното создавање се отсутни со рестрикциското ензимско разградување на ДНК од преуреденият локус. Покрај тоа, преуредената ДНК создава нови фрагменти кои ги нема по дигестијата на ДНК во зародишната линија. Ова може да биде корисно затоа што и Б-клетките и не-Б-клетките имаат две имуноглобулински локуси. Еден од нив се преуредува, а другиот не се преуредува. Според тоа, додека не се случи генетска несреќа која ќе доведе до загуба на локусот во зародишната линија, дигестијата на ДНК од миеломскиот или од Б-клеточниот клон ќе создаде облик на рестрикција што ги вклучува сите клонови добиени со дигестијата, но зародишната линија плус кој било нов фрагмент кој настанува од промената на ДНК секвенца во која настанало преуредување. Забележете дека прикажан е само еден од присутните J-генски сегменти.

Шокот на Тонегава - имуноглобулинските гени се преуредуваат

Во 1976 година, С. Тонегава и Н. Хоцуми го открија првиот директен доказ дека одделни гени ги кодираат В- и К-подрачјата во имуноглобулините и дека гените се преуредуваат за време на Б-клеточно диференцирање. Со селектирање ДНК од ембрионски клетки и миеломска клетка од возрасно лице - клетки со доста различна фаза на развој - Тонегава и Хоцуми користеа различни рестрикциски ендонуклеази за создавање ДНК фрагменти. Потоа фрагментите ги двоеа по големина и ја анализираа нивната способност да хибридизираат со радиоозначена проба од мРНК. Два различни рестрикциски фрагменти од ДНК на ембрионот хибридизираа со мРНК, додека само еден рестрикциски фрагмент од миеломската ДНК од возрасно лице хибридизираше со истиот модел. Тонегава и Хоцуми тврдеа дека при диференцијата на лимфоцитите од ембрионска состојба до фаза на целосно диференцирање на плазма клетките (во нивниот систем претставени со миеломски клетки), В и К гените претрпуваат преуредување. Во ембрионот, В и К гените содржат голем сегмент од ДНК кој содржи рестрикциско ендонуклеазно место. При диференцирање, В и К гените се спојуваат, а секвенца на ДНК меѓу нив се отстранува. Оваа работа го промени полето на имунологија, а во 1987 година, Тонегава доби Нобелова награда.

Првите експерименти на Тонегава и Хоцуми претставуваа напорна и долга постапка која оттогаш наваму е заменета со доста помоќениот пристап со анализа на боењето на Садернови дамки. Овој метод, кој сега сестрано се користи за испитување и преуредување на имуноглобулинските гени, ја елиниминира потребата за елуирање (издвојување) одвоени ДНК рестрикциски фрагменти од парчињата гел, пред да се анализира со хибридизација со проби од имуноглобулинските генски сегменти. Слика 5-2 го прикажува откривањето на преуредувањето во локусот на капа лесната верига во споредба со фрагметите добиени со разградување на ДНК од клон на Б-клетки со обликот на тие добиени со разградување на Не-Б-клетки (на пример, сперма или црнодробни клетки). Преуредувањето на В-гените брише долг дел од ДНК во зародишната линија,

при тоа создава разлики помеѓу преуредените и непреуредените Иг локуси во распределбата и бројот на рестрикциските места. Ова доведува до создавање различни рестрикциските облици од преуредените и непреуредените локуси. Зголемената употреба на овој пристап покажа дека двогенскиот модел на Дрејер и Бенет, при што едниот ген кодира варијабилно подрачје, а другиот ген кодира константно подрачје, се однесува на гените и со тешки и со лесни вериги.

Повеќегенска организација на Иг гените

Како што привршуваше клонирањето и секвенцирањето на ДНК со тешки и лесни вериги, беше откриена уште поголема комплексност отколку што беше предвидено од Дрејер и Бенет. Капа и ламбда лесните и тешките вериги се кодирани од одделни повеќегенски фамилии поставени во различни хромозоми (табела 5-1). Во ДНК од зародишната линија, секоја од овие повеќегенски фамилии содржи неколку кодирачки секвенци, наречени **генски сегменти**, одвоени со некодирачките подрачја. При зреењето на Б-клетките, овие генски сегменти се преуредуваат и се спојуваат за да формираат функционални имуноглобулински гени.

Секоја повеќегенска фамилија има различни особини

Фамилиите на капа и ламбда лесните вериги содржат **В-, Ј- и К-генски сегменти**, преуредените ВЈ-сегменти го кодираат варијабилното подрачје од лесните вериги. Фамилијата на тешките вериги содржи **В-, Д-, Ј-** и **К-генски сегменти**, преуредените ВДЈ-генски сегменти го кодираат варијабилното подрачје од тешката верига. Во секоја фамилија на гени, К-генски сегменти ги кодираат константните подрачја. Пред секој В-генски сегмент кој е поставен на неговиот ?прим? крајот претходи мал егзон кој кодира краток **сигнал** или **лидерски (Л) пептид** кој ги води тешката и лесната верига низ ендоплазматскиот ретикулум. Сигналниот пептид се одделува од првобитните тешки и лесни вериги пред комплетирањето на имуноглобулинскиот молекул. Според тоа, аминокиселините кои се кодирани од оваа лидер секвенца не се појавуваат во завршниот имуноглобулински молекул.

Повеќегена фамилија од ламбда-верига

Првиот доказ дека варијабилното подрачје од лесната верига всушност е кодирано од два генски сегменти се појави кога Тонегава ја клонираше ДНК од зародишната линија која го кодира варијабилното подрачје на ламбда лесната верига од глушецот и ја одреди целосната негова нуклеинска секвенца. Кога нуклеинската секвенца беше споредена со познатата секвенца на аминокиселини од варијабилното подрачје на ламбда-веригата, се забележа необично несповпаѓање. Иако првите 97 аминокиселини од варијабилното подрачје на ламбда-веригата одговараа на секвенцата од нуклеинскиот кодон, 13 карбоксилно крајни аминокиселини од варијабилното подрачје на протеинот не одговараа. Се испостави дека многу бази подалеку, особено, 39-бп генски сегмент, наречен Ј за *спојување*, ги кодира останатите 13 аминокиселини од варијабилното подрачје на ламбда-веригата. Според тоа, функционалното варијабилно подрачје од ламбда-веригата содржи два кодирачки сегменти, 5' В-сегмент и 3' Ј-сегмент, кои се одвоени со некодирачка секвенца од ДНК во непреуредена ДНК од зародишната линија.

Повеќегенската ламбда фамилија во глувчешката зародишна линија содржи два $В_{ламбда}$ генски сегменти, три функционални $Ј_{ламбда}$ генски сегменти и три функционални $К_{ламбда}$ генски сегменти (слика 5-3а). Дополнително на функционалните верзии од овие гени, некои форми се **псевдогени**, дефектни гени кои се неспособни за кодирање протеин, таквите гени се означени со грчката буква пси (**ψ**). Интересно е тоа што, $Ј_{ламбда}4$ партнерот во константното подрачје, $К_{ламбда}4$, претставува совршено функционален ген. $В_{ламбда}$ и трите $Ј_{ламбда}$ функционални генски сегменти го кодираат варијабилното подрачје од лесната верига, а секој од трите функционални $К_{ламбда}$ генски сегменти го кодира константното подрачје на еден од трите подтипови на ламбда лесната верига (ламбда1, ламбда2 и ламбда3). Кај луѓето, ламбда локусот е покомплексен. Постојат 30 функционални $В_{ламбда}$ генски сегменти, четири функционални $Ј_{ламбда}$ сегменти и седум $К_{ламбда}$ сегменти, при што само четири од нив се функционални. Во однос на функционалните генски сегменти, ламбда комплексот кај луѓето содржи многу $В_{ламбда}$ и $Ј_{ламбда}$ псевдогени.

Повеќегенска фамилија на капа-верига

Повеќегенската капа фамилија во глушецот содржи приближно 85 $В_{капа}$ генски сегменти, секој со соседна лидерска секвенца на почетокот со кратко растојание (т.е. на 5' страната). Има пет $Ј_{капа}$ генски сегменти (едниот од нив е нефункционален псевдоген) и еден $К_{капа}$ генски сегмент (слика 5-3б). Како и во повеќегенската ламбда фамилија, $В_{капа}$ и $Ј_{капа}$ генските сегменти го кодираат варијабилното подрачје на капа лесната верига, а $К_{капа}$ генскиот сегмент го кодира константното подрачје. Бидејќи има само еден $К_{капа}$ генски сегмент, нема подтипови на капа лесните вериги. Споредбата на деловите *а* и *б* на слика 5-3 покажува дека распоредот на генските сегменти е доста различен во фамилиите капа и ламбда гени. Повеќегенската фамилија на капа-веригата кај луѓето, која има организација слична на онаа кај глушецот, содржи приближно 40 $В_{капа}$ генски сегменти, пет $Ј_{капа}$ сегменти и еден $К_{капа}$ генски сегмент.

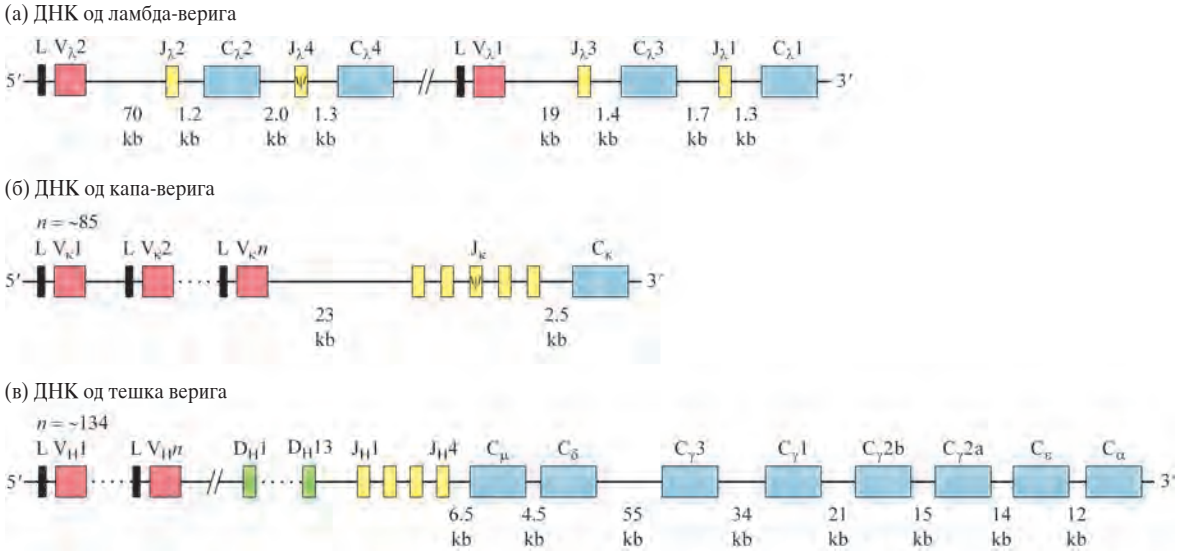
Повеќегенска фамилија на тешките вериги

Организацијата на имуноглобулинските гени од тешката верига е слична на, но доста посложена од, организацијата на гените од капа и ламбда лесните вериги (слика 5-3в). Дополнителен генски сегмент кодира дел од варијабилното подрачје во тешката верига. На постоењето на овој генски сегмент најпрво беше укажано од страна на Лирој Худ и неговите колеги, кои

ТАБЕЛА 5-1 Хромосомални локации на имуноглобулисните гени кај луѓето и глувците

	ХРОМОЗОМ	
Ген	**Луѓе**	**Глувци**
Ламбда лесна верига	22	16
Капа лесна верига	2	6
Тешка верига	14	12

ПРЕГЛЕД СЛИКА 5-3: Организација на генските сегменти од зародишната линија на имуноглобулините кај глушецот (а) ламбда лесна верига, (б) капа лесна верига и (в) тешка верига.



Ламбда и капа лесните вериги се кодирани со В, J и К генски сегменти. Растојанијата во килобази (кб) кои ги одделуваат различните генски сегменти во ДНК од зародишната линија кај глушецот се прикажани долу под секој дијаграм.

ја споредија секвенцата на аминокиселините од варијабилното подрачје на тешката верига со B_T и J_T нуклеинските секвенци. Се откри дека B_T генскиот сегмент ги кодира аминокиселините од 1 до 94 а J_T генскиот сегмент ги кодира аминокиселините од 98 до 113. Сепак, ниту еден од овие генски сегменти не носеше информација за кодирање аминокиселините од 95 до 97. Кога се утврди нуклеинската секвенца за преуредената ДНК од миеломот и се спореди со секвенцата на ДНК од зародишната линија, беше забележана дополнителна нуклеинска секвенца помеѓу B_T и J_T генските сегменти. Оваа нуклеинска секвенца одговараше на аминокиселините 95 до 97 од тешката верига.

Од овие резултати, Худ и неговите колеги тврдеа дека трет генски сегмент од зародишната линија мора да им се придружи на B_T и J_T генските сегменти кои го кодираат целото варијабилно подрачје во тешката верига. Овој генски сегмент, кој ги кодираше аминокиселините во третото комплементарно детерминирачко подрачје (КДР3), беше означен со Д за *разновидност (diversity)*, поради неговиот придонес во создавањето разновидни противтела. Тонегава и неговите колеги го лоцираа Д генскиот сегмент во ДНК од зародишната линија на глушецот со проба од кДНК (клонирана ДНК) комплементарна за Д подрачјето, која хибридизираше со верига од ДНК која се простира помеѓу B_T и J_T генските сегменти.

Повеќегенската фамилија од тешката верига во хромозомот 14 кај луѓето е прикажана со директно секвенционирање ДНК и содржи 39 B_T генски сегменти лоцирани на крајот од групата на 29 функционални $Д_T$ генски сегменти. Како и кај гените од лесните вериги, пред секој B_T генски сегмент се наоѓа лидерска секвенца на кратко растојание нагоре. Подолу од $Д_T$ генскиот сегмент се наоѓаат шест функционални J_T генски сегементи, по кои следи серија од K_T генски сегменти. Секој K_T генски сегмент го кодира константното подрачје од имуноглобулинскиот изотип од тешката верига. K_T генските сегменти се состојат од кодирачки егзони и некодирачки интрони. Секој егзон кодира различен домен на постојан подрачје од тешката верига. Слична организација на гените од тешка верига има кај глушецот.

Зачувувањето на значајни биолошки ефекторни функции на противтелниот молекул се одржува преку ограниченият број гени со константни подрачја од тешките вериги. Кај луѓето и глувците, K_T генските сегменти се уредени редоследно $K_{ми}$, $K_{делта}$, $K_{гама}$, $K_{епсилон}$, $K_{алфа}$ (види слика 5-3в). Овој редоследен распоред не е случаен. Во основа е поврзан со редоследното прикажување на класите на имуноглобулините при развојот на Б-клетките и првичниот ИгМ одговор на Б-клетката кон нејзиниот прв контакт со противгенот.

Генско преуредување во варијабилното подрачје

Предходните делови ни покажаа дека функционалните гени кои ги кодираат тешките и лесните вериги од имуноглобулините се споени од рекомбинациите кои се случуваат на ниво на

ДНК. Овие настани и паралени настани кои ги вклучуваат Т-клеточните гени, се единствено познатите преуредувања на ДНК на специфично место кај 'рбетниците. Преуредувањата на гените во варијабилно подрачје се случува по определен редослед за време на зреењето на Б-клетките во коскената срцевина. Прво се преуредуваат гените од варијабилно подрачје во тешките вериги, потоа се преуредуваат гените во варијабилно подрачје од лесните вериги. На крај од овој процес, секоја Б-клетка содржи една функционална секвенца на ДНК од варијабилното подрачје за тешката верига и уште една за лесната верига.

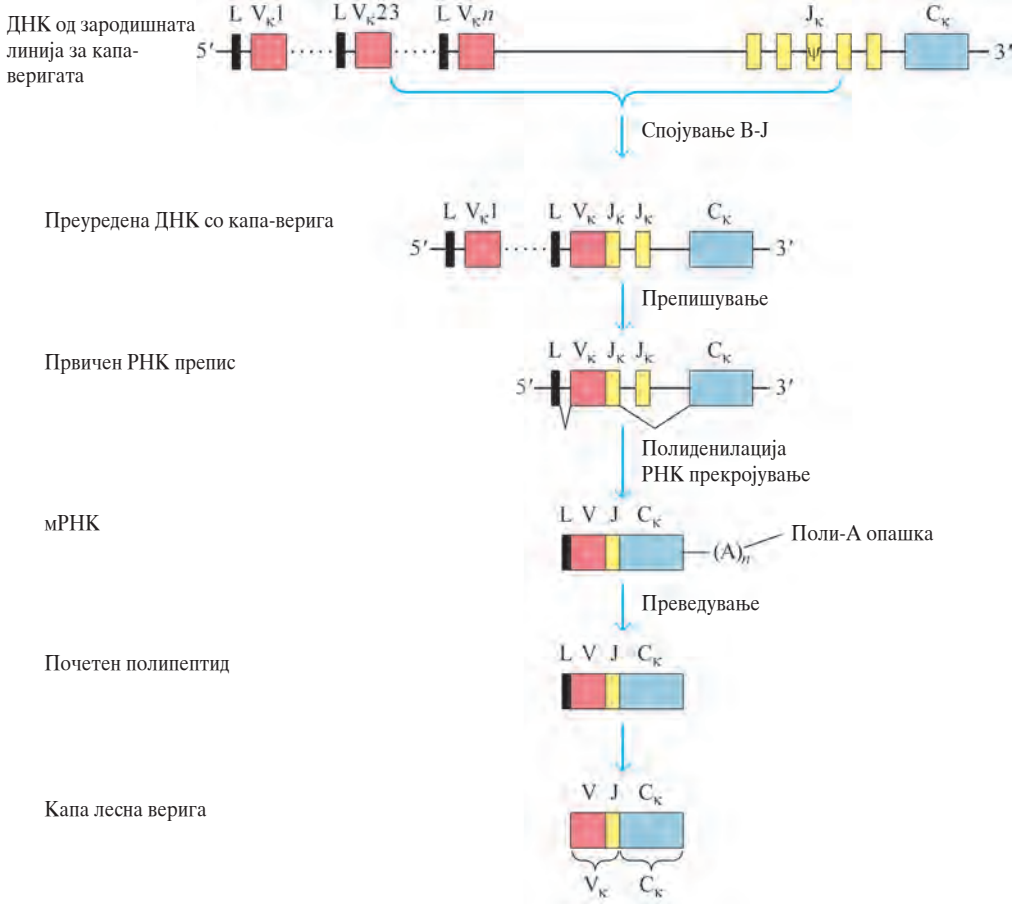
Процесот на генско преуредување во варијабилно подрачје создава зрели, имунокомпетентни Б-клетки. Секоја ваква клетка е посветена да создаде противтело со врзувачко место кодирано од определена секвенца на неговите преуредени В-гени. Како што е објаснето понатаму во ова поглавје, преуредувањата на гените во варијабилно подрачје од тешките вериги, процес наречен превклучување, ќе создаде понатамошни промени во имуноглобулинските кали (изотипови) прикажани врз Б-клетката, но тие промени нема да влијаат на добиената противгена специфичност.

Чекорите на преуредување на генот во варијабилно подрачје се појавуваат во определен редослед, но за целите на оваа дискусија може да се сметаат како секвенци по случаен избор како резултат на случајно определување на Б-клеточната специфичност. Редоследот, механизамот и последиците од овие преуредувања се објаснети во ова поглавје.

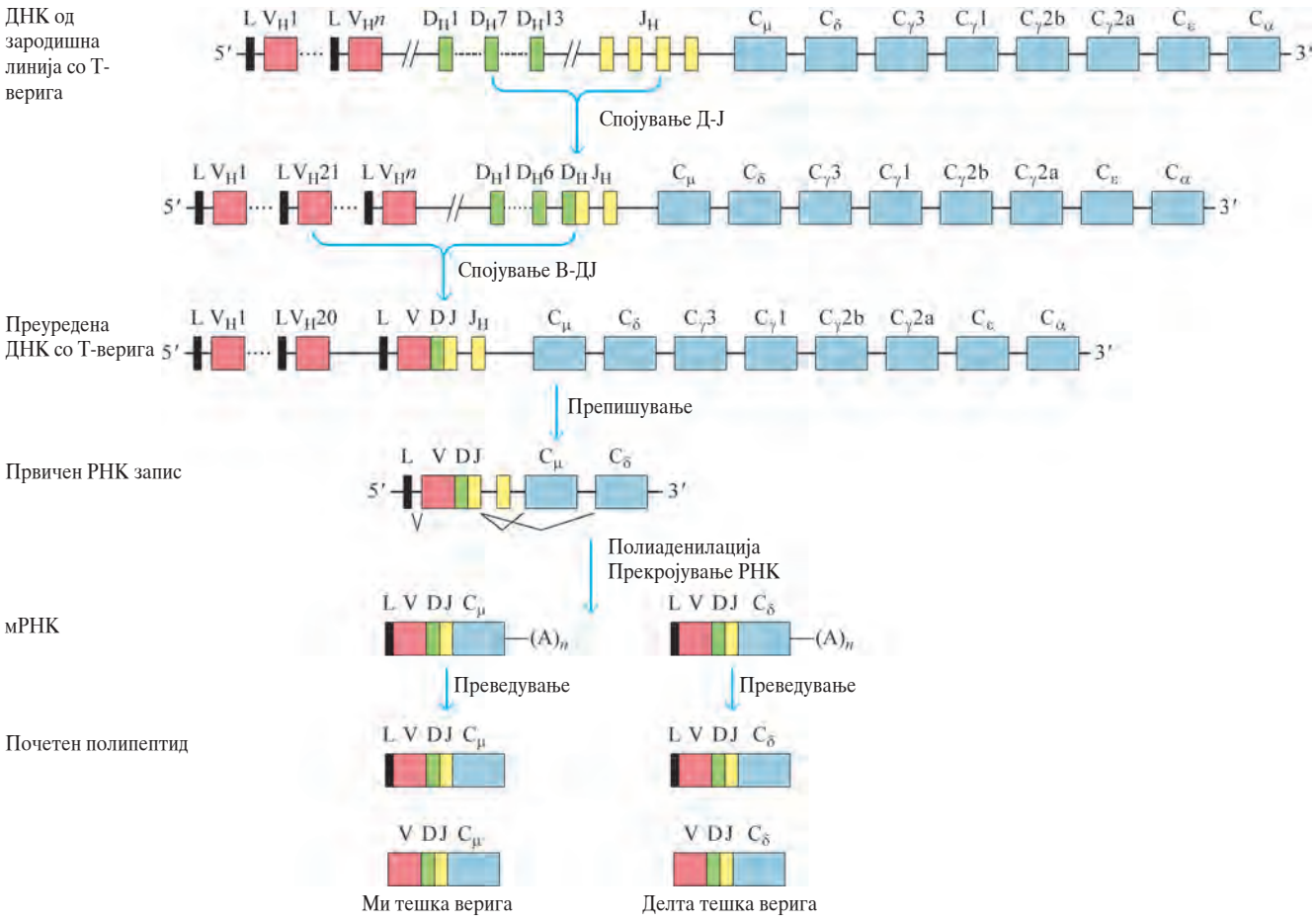
ДНК од лесната верига претрпува преуредување на B-J

Прикажувањето на капа и ламбда лесните вериги бара преуредување на варијабилното подрачје од В и J генските сегменти. Кај луѓето, кои било функционални $B_{ламбда}$ гени може да се комбинираат со кој било од четирите функционални $J_{ламбда}$-$K_{ламбда}$ комбинции. Кај глувците, работите се малку покомплицирани. Преуредувањето на ДНК може да ги спои $B_{ламбда}1$ генскиот сегмент или со $J_{ламбда}1$ или со $J_{ламбда}3$ генскиот сегмент, или $B_{ламбда}2$ генскиот сегмент може да се спои со $J_{ламбда}2$ генскиот сегмент. Кај ДНК од капа лесна верига кај луѓето и глувците, кој било од $B_{капа}$ генските сегменти може да се спои со кој било функционален $J_{капа}$ генски сегмент.

Преуредените капа- и ламбда-гени ги содржат следниве подрачја по редослед од 5' кон 3' крајот: краток лидерски (Л) егзон, некодирачка секвенца (интрон), поврзан ВЈ генски сегмент, втор интрон и константно подрачје. Пред секој лидерски генски сегмент има промотерска секвенца. Преуредената секвенца од лесна верига се препишува од страна на РНК полимераза од Л-егзонот преку К-сегментот до стоп сигналот (прекинувачкиот сигнал), создавајќи првичен РНК запис од лесната верига (слика 5-4). Интроните во првичниот запис се отстрануваат со РНК процесирачките ензими, а добиената лесно верижна месинџер РНК (мРНК) го напушта јадрото. мРНК од лесната верига се врзува за рибозомите и



СЛИКА 5-4 Генско преуредување на капа лесната верига и стапките на РНК прекројување (обработка) потребни за создавање протеин за капа лесната верига. Во овој пример, преуредувањето ги спојува $B_{капа}23$ и $J_{капа}4$.



СЛИКА 5-5 Генско преуредување на тешки вериги и преработување на РНК потребни за создавање краен протеин со тешки вериги ми или делта. Потребни се две ДНК спојувања за да се создаде функционален ген за тешката верига: поврзување $Д_т$ со $J_т$ и спојување $B_т$ со $Д_тJ_т$. Во овој пример, споени се $B_т21$, $Д_т7$ и $J_т3$. Прикажувањето функционални гени за тешка верига, иако е слично на прикажувањето на лесните вериги, вклучува диференцирано преработување РНК, кое создава неколку различни продукти, вклучувајќи ми и делта тешки вериги. Секој К (Ц) ген е нацртан како една кодирачка секвенца. Во реалноста, секој ген е организиран како серија егзони и интрони.

се преведува во лесно верижен протеин. Лидерската секвенца од амино крајниот дел од растечката полипептидна верига се протега до просторот во грубиот ендоплазматски ретикулум, се сече, така што не е присутна во крајниот протеински продукт од лесната верига.

ДНК од тешката верига претрпува преуредувања на В-Д-Ј

Создавањето функционален имуноглобулински ген за тешката верига бара два одделни процеси преуредување во варијабилното подрачје. Како што е прикажано на слика 5-5, $Д_т$ генскиот сегмент прво се спојува со Ј-генскиот сегмент за да создаде единица $B_тД_тJ_т$ која го кодира целото варијабилно подрачје. Во ДНК од тешката верига, преуредувањата во варијабилното подрачје создава преуреден ген кој се состои од следниве секвенци, почнувајќи од 5' крајот: краток Л-егзон, интрон, поврзан ВДЈ-сегмент, друг интрон и серија К-генски сегменти. Како и кај гените за лесни вериги, промотерската секвенца е сместена нагорно со кратко растојание од секоја лидер секвенца за тешката верига.

Штом заврши генското преуредување, ДНК полимеразата може да се врзе за промотерската секвенца и да го препише целиот ген од тешката верига, вклучувајќи ги интроните. На почетокот, се препишуваат истовремено $К_{ми}$ и $К_{делта}$ генскиот сегмент. Диференциската полиадинилација и прекројувањето на РНК ги отстранува интроните и се обработува првичниот мРНК запис вклучувајќи го препишувањето или на $К_{ми}$ или на $К_{делта}$. Потоа овие две мРНК се преведуваат, а лидерот пептид од првобитниот полипептид се отсечува, создавајќи завршени ми- и делта-вериги. Создавањето две различни мРНК со тешка верига ѝ овозможува на зрелата, имунокомпетентна Б-клетка да прикажува и ИгМ и ИгД со идентична противгена специфичност врз нивните површини.

Механизам за преуредувањето на ДНК во варијабилното подрачје

Сега кога ги видовме резултатите од генско преуредување во варијабилно подрачје, ајде детелно да испитаме како овој процес се случува при зреењето на Б-клетките.

Рекомбинациските сигнални секвенци ја управуваат рекомбинацијата

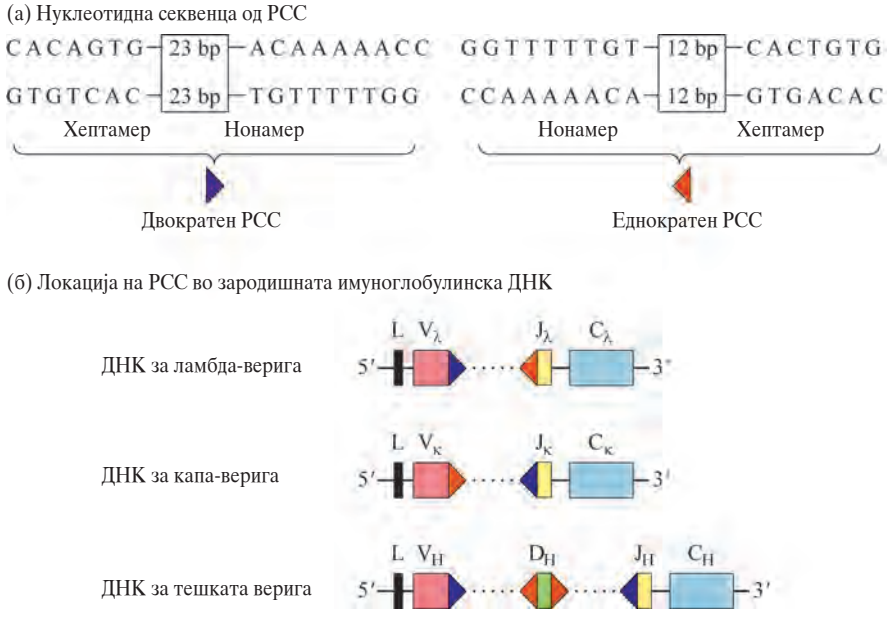
Откритието на две тесно поврзани нагласени секвенци во ДНК со тешка верига од зародишната линија го исчисти патот за потполно разбирање на механизмот за генско преуредување. Проучувањата на секвенцирањето на ДНК го открија присуството на уникатни рекомбинациски сигнални секвенци (РСС) кои го опкружуваат секој В, Д и Ј-генски сегмент од зародишната линија. Една РСС е лоциран на 3' во секој В-генски сегмент, 5' во секој Ј-генски сегмент и на двете страни од секој Д-сегмент. Овие секвенци функционираат како сигнали за процесот на рекомбинација кој ги подредува гените. Секој РСС содржи конзервиран палиндромен хептамер и конзервирана секвенца богата со АТ нонамер одвоена со една вметната секвенца од 12 до 23 базни парови (слика 5-6а). Вметнатите 12 до 23 бп секвенци одговараат, на едно и две свртувања на ДНК спиралата. Поради оваа причина секвенците се наречени **еднократна рекомбинациска сигнална секвенца** и **двократна рекомбинациска сигнална секвенца**. $В_{капа}$ сигналната секвенца има еднократен разделувач, а $Ј_{капа}$ сигналната секвенца има двократен разделувач. Кај ДНК за ламбда лесната верига, овој редослед е обратен. Така што, $В_{ламбда}$ сигналната секвенца има двократен разделувач, а $Ј_{ламбда}$ сигналната секвенца има еднократен разделувач. Кај ДНК од тешките вериги, сигналните секвенци на $В_Т$ и $Ј_Т$-генските сегменти имаат двократен разделувач, сигналите на секоја страна од $Д_Т$-генските сегменти има еднократен разделувач (слика 5-6б). Сигналните секвенци кои имаат еднократен разделувач може да се спојат само со секвенци кои имаат двократен разделувач (т.н. еднократно/двократно правило). Ова правило на спојување обезбедува, на пример, дека ВЛ-сегментот се спојува само со ЈЛ-сегмент, а не со друг ВЛ-сегмент. Правилото исто така обезбедува $В_Т$, $Д_Т$, $Ј_Т$-сегментите да се спојуваат во правилен редослед и да не се спојуваат сегменти од ист тип.

Генските сегменти се поврзуваат со рекомбинази

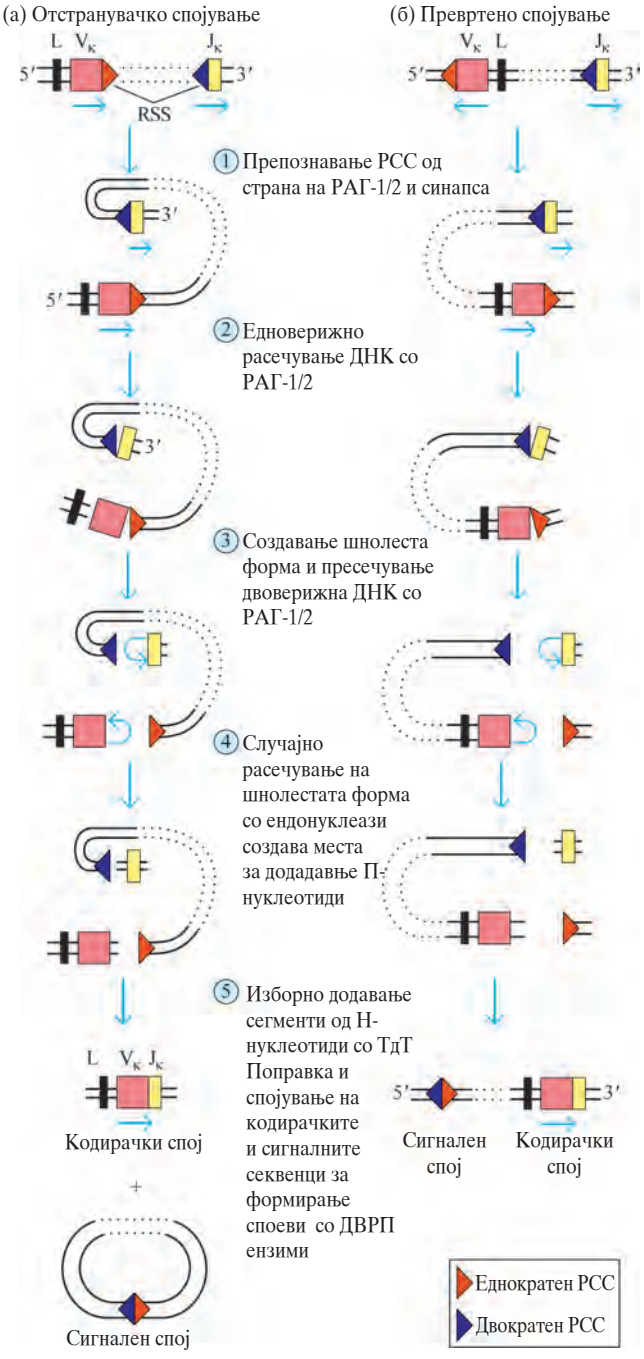
Рекомбинацијата на В-(Д)-Ј, која се случува при спојувањата помеѓу РСС и кодирачките секвенци, е катализирана од ензими кои заедно се наречени **В(Д)Ј рекомбинази**. Утврдувањето на езнимите кои ја катализираат рекомбинацијата на генските сегменти В, Д и Ј започна во доцните 80-ти години од дваесеттиот век и трае сè уште. Во 1990 година Дејвид Шатц, Марџори Отингер и Дејвид Балтимор беа првите кои го објавија утврдувањето на два **рекомбинациски активирачки гени**, наречени ***РАГ-1*** и ***РАГ-2***, чии кодирани протеини се однесуваат синергистички и се потребни да овозможат поврзување В-(Д)-Ј. Протеините РАГ-1 и РАГ-2 се единствените производи од лимфоидно специфични гени кои се вклучени во преуредувањето В-(Д)-Ј.

Рекомбинацијата на генските сегменти од варијабилно подрачје се состојат од следниве чекори, катализирани по систем на рекомбиназни ензими (слика 5-7):

1. По препознавањето на рекомбинациски сигнални секвенците (РСС) од рекомбиназните ензими, следи синапса во која двете сигнални секвенци и соседните кодирачки секвенци (генски сегменти) се спојуваат со краевите.
2. Сечење на една верига од ДНК со РАГ-1 и РАГ-2 на спојниците од сигналните секвенци и кодирачките секвенци.
3. Реакција катализирана од страна на РАГ-1 и РАГ-2 во која слободната група 3' -ОН на пресекот од ДНК ја напаѓа фос-



СЛИКА 5-6 Две конзервирани секвенци ДНК за лесната и за тешката верига функционираат како рекомбинациски сигнални секвенци (РСС). (а) И двете сигнални секвенци се состојат од конзервиран палиндромен хептамер и конзервиран нонамер богат со АТ. Тие се одвоени со неконзервиран разделувач од 12 до 23 базни парови. (б) Двата типа на РСС- наречени еднократен РСС и двократен РСС - имаат карактеристични локации во ламбда-веригата, капа-веригата и во ДНК за тешката верига во зародишната линија. При преуредувањето ДНК, генските сегменти кои се соседи на еднократен РСС може да се сврзат само со сегменти блиски на двократен РСС.

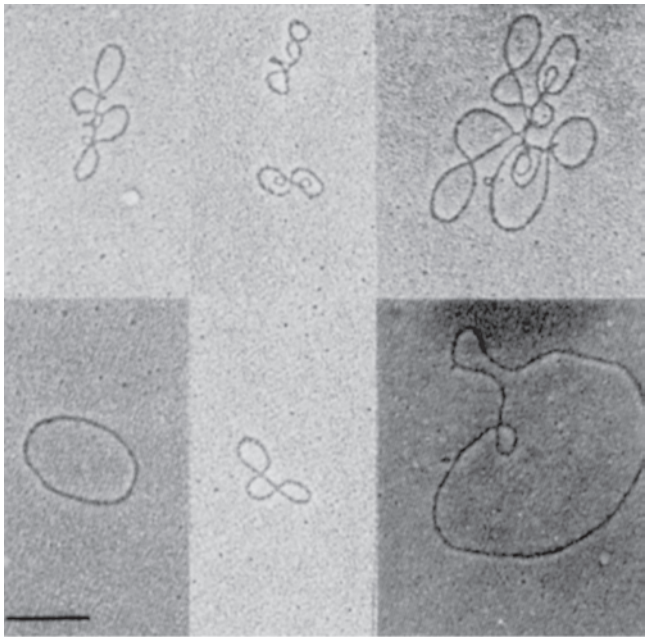


СЛИКА 5-7 Прикажан е модел со $B_{капа}$ и $J_{капа}$ кој го објаснува општиот процес на рекомбинација на имуноглобулинските генски сегменти. (а) Отстранувачко спојување настанува кога генските сегементи кои треба да се поврзат имаат иста препишувачка насока (покажано со хоризонталните сини стрелки). Овој процес дава два продукти: преуредена BJ единица која ги вклучува производите од кодната врска и тркалезниот отсечен продукт кој се состои од рекомбинациска сигнална секвенца (РСС), сигнално поврзување и вметната ДНК. (б) Превртено поврзување се јавува кога генските сегменти имаат спротивна препишувачка насока. Во овој случај, зачувани се РСС, сигналното поврзување и вметнатата ДНК, а ориентацијата на еден од поврзаните сегменти е превртена. И во двата случаи на рекомбинација, неколку нуклеотиди може да бидат отсечени или додадени на пресечените краеви од кодните секвенци пред тие да се поврзат повторно.

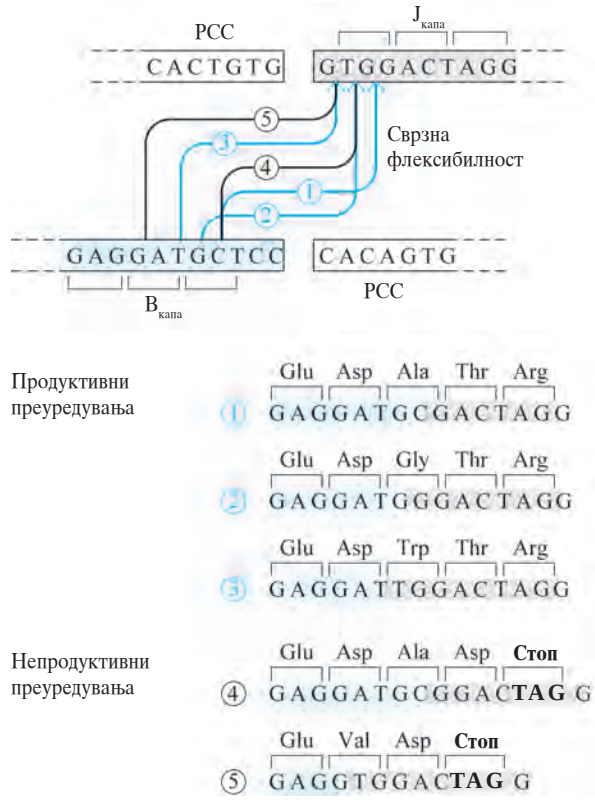
фодиестерската врска која го поврзува спротивниот крај од сигналната секвенца, во исто време создавајќи шнолеста структура на пресечениот крај од кодирачката секвенца и рамниот, 5’ фосфорилиран двојно верижен пресек во сигналната секвенца.

4. Сечењето на шнолестата структура создава места за додавање **нуклеотиди од П-подрачјето**, следено со опремување неколку нуклеотиди од кодирачката секвенца со едноверижна ендонуклеаза.
5. Додавање до 15 нуклеотиди, наречени **нуклеотиди од Н-подрачјето**, на пресечените делови од В-, Д- и J-кодирачките секвенци од тешката верига со ензимот терминалната деоксинуклеотидна трансфераза.
6. Поправката и поврзувањето на кодирачките секвенци и поврзувањето на сигналните секвенци, катализирани со нормални двоверижни ензими за репарација на прекинот (ДВРП)

Рекомбинацијата доведува до создавање **коден спој**, кој се наоѓа помеѓу кодирачките секвенци и **сигнален спој**, помеѓу РСС. Препишувачката ориентираност на генските сегменти кои треба да се спојат ја одредуваат судбината на сигналниот спој и вметнатата ДНК. Кога двата генски сегменти се со иста препишувачката насока, поврзувањето доведува до отстранување на сигналниот спој и вметнатата ДНК во вид на тркалезно отсечување (слика 5-8). Поретко, двата генски сегменти имаат спротивна насока. Во таков случај поврзувањето се случува со превртување на ДНК, што доведува до зачувување и на кодирачкиот и на сигналниот спој (и вметнатата ДНК) во хромозомот. Во човековиот капа-локус, околу половина од $B_{капа}$ генските сегменти се превртени во однос на $J_{капа}$ и затоа нивното спојување се остварува со превртување.



СЛИКА 5-8 Тркалезна ДНК изолирана од тимоцитите во која ДНК кодираните веригите од Т-клеточниот рецептор (ТКР) претрпуваат преуредување сличен на тој од имуноглобулинските гени. Изолација на овој тркалезен отсечен продукт е директен доказ за мехнизмот на отстранувачко отсечување прикажан на слика 5-7. [*Од K. Okazaki et al., 1987, Cell* ***49:****477*].



СЛИКА 5-9 **Сврзната флексибилност на генските сегменти од имуноглобулините е прикажана со $B_{капа}$ и $J_{капа}$.** Фазното поврзување (стрелки 1, 2 и 3) создава продуктивно преуредување, кое може да се преведе во протеин. Нефазното поврзување (стрелки 4 и 5) води кон непродуктивно преуредување кое содржи стоп кодони и не се преведува во протеин.

Преуредувањето на имуноглобулинските гени може да биде продуктивно или непродуктивно

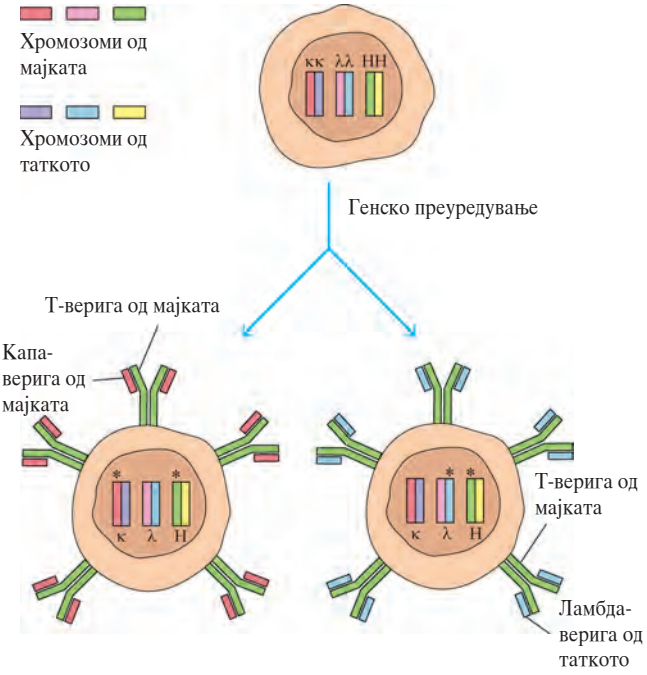
Една од значајните карактеристки на рекомбинацијата на ген-сегмент е разновидноста на кодирачките споеви кои се создаваат меѓу кои било два генски сегменти. Иако двоверижните ДНК прекини кои го започнуваат преуредувањето на В-(Д)-Ј се остваруваат прецизно на спојницата од сигналните сегменти и кодирачките секвенци, последователното спојување на кодирачките секвенци не е прецизно. Спојувачката разновидност во В-Ј И во В-Д-Ј кодирачките спојници се остварува со бројни механизми: варијации во сечењето на шолата за создавање П-нуклеотиди, варијација во сечењето на кодирачките секвенци, варијации во додавањето на Н-неуклетодите и флексибилност при поврзувањето на кодните секвенци. Внесувањето на случајност во поврзувачките процеси помага да се создадат разновидни противтела со учество на хиперпроменливоста на противген врзувачкото место. (Овој феномен е подетално објаснет понатаму во делот за создавање разновидни противтела).

Друга последица од непрецизното сврзување е тоа што генските сегменти може да се поврзат надовор од фазата, така што рамката за читање триплети за преведување не е сочувана. При такво **непродуктивно преуредување**, добиените единки ВЈ и ВДЈ веројатно содржат бројни сопирачки (стоп) кодони, кои го прекинуваат преведувањето (слика 5-9). Кога генските сегменти се поврзуваат во фаза, рамката на читање е зачувана. При такво **продуктивно преуредување**, единиците ВЈ и ВДЈ кои се јавуваат можат да се преведат целосно, што ќе создаде целосно противтело.

Ако еден алел се преуреди непродуктивно, Б-клетката сè уште ќе може продуктивно да го преуреди другиот алел. Ако во текот на фазата не се создадат гени со тешки и лесни вериги, Б-клетката умира со апоптоза. Проценето е дека само еден од три обиди при поврзувањето $B_{Л}$ и $J_{Л}$ и еден при три обиди за поврзување $B_{Т}$-$Д_{Т}J_{Т}$, се продуктивни. Како резултат на тоа, помалку од 1/9 (11%) од пред-Б клеките во рана фаза во коскената срцевина се развиваат до зрелост и коскената срцевина ја напуштаат како зрели имунокомпетентни Б-клетки.

Алелското исклучување обезбедува единечна противгена специфичност

Б-клетките, како и сите соматски клетки, се диплоидни и содржат хромозоми и од мајката и од таткото. Иако Б-клетката е диплоидна, таа прикажува преуредени гени со тешки вериги само од еден хромозом и преуредени гени за лесната верига од само еден хромозом. Процесот со кој се постигнува ова, наречен **алелско исклучување**, обезбедува функционалните Б-клетки никогаш да не содржат повеќе од една единица

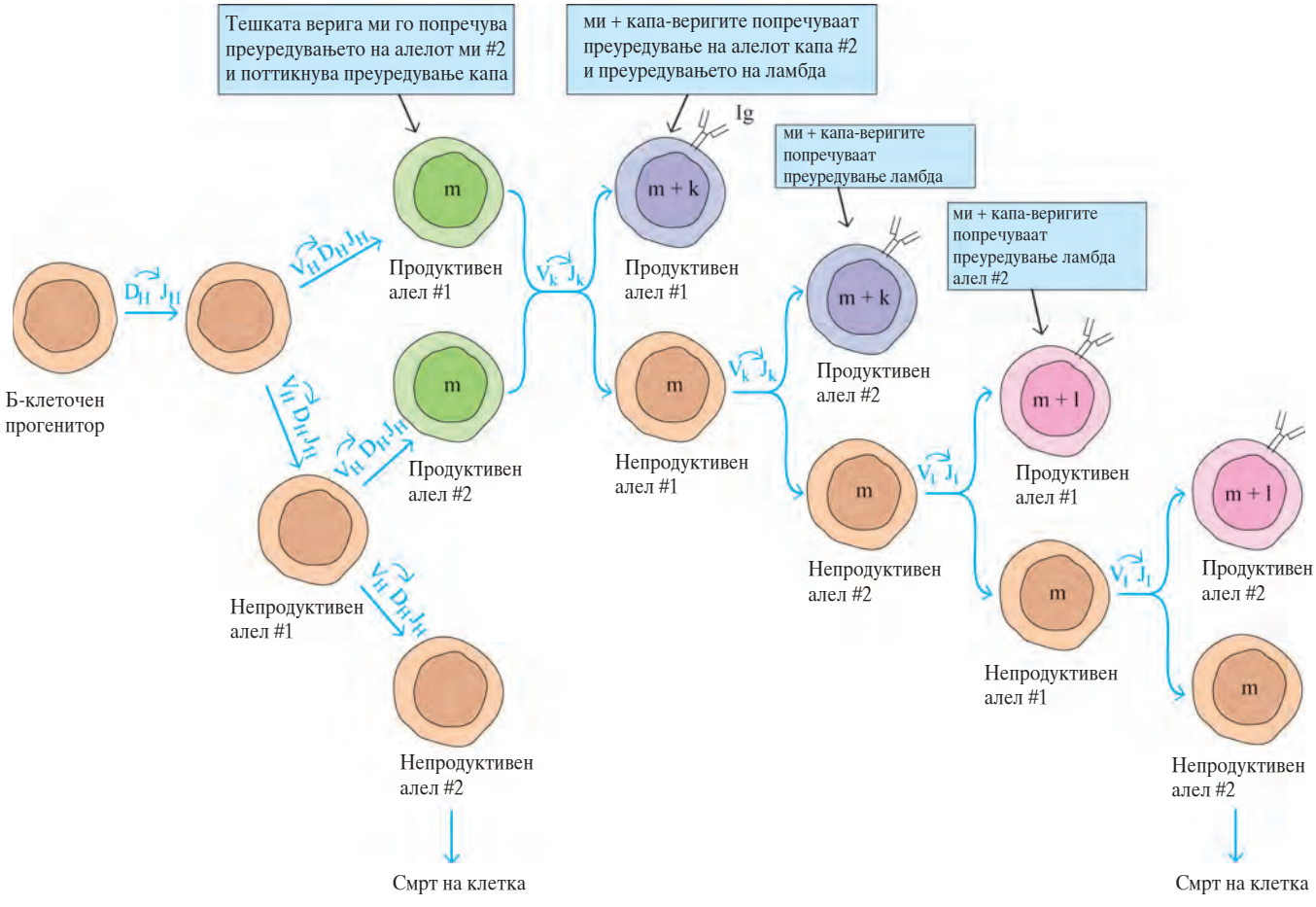


СЛИКА 5-10 **Поради алелското исклучувањето, имуноглобулинските гени за тешките и за лесните вериги од само еден родителски хромозом се прикажани по ќелија.** Процесот обезбедува Б-клетките да поседуваат една противгена специфичност. Алелот која е избран за преуредување е избран по случаен избор. Според тоа, прикажаниот имуноглобулин може да содржи една верига од мајката и една верига од таткото или и двете вериги може да се добијат само од еден родител. Само Б- и Т-клетките имаат алелско исклучување. Ѕвездичката (*) ги означува прикажаните алели.

$B_TД_TJ_T$ и една единица $B_ЛJ_Л$ (слика 5-10). Ова, се разбира, е неопходно за противгената специфичност на Б-клетката, бидејќи прикажувањето на двата алели на Б-клетката ќе ја направи повеќеспецифична. Феноменот алелско исклучување укажува на фактот дека штом се појават продуктивните преуредувања на $B_TД_TJ_T$ и $B_ЛJ_Л$, машинеријата за рекомбинација е исклучена за да не се прикажат гени со тешки и лесни вериги од хомологните хромозоми.

Г. Д. Јанкопулос и Ф. В. Алт понудија модел кој се однесува на алелското исклучување (слика 5-11). Тие тврдеа дека штом се постигне продуктивно преуредување, неговиот кодирачки протеин се прикажува, а присуството на овој протеин дејствува како сигнал за спречување понатамошно генско преуредување. Според нивниот модел, присуството на ми тешките вериги и сигнализира на Б-клетка која созрева да го исклучи преуредувањето на другиот алел со тешки вериги и да го вклучи преуредувањето на гените со капа лесните вериги. Ако се појави продуктивно капа преуредување, се создаваат капа лесни вериги, а потоа се спојуваат со ми тешките вериги за да формираат комплетен противтелен молекул. Потоа присуството на ова противтело го исклучува понатамошното преуредување на лесните вериги. Ако капа преуредувањето е непродуктивно за двата капа алели, започнува преуредување на гените за ламбда лесните вериги. Ако ниту еден ламбда-алел не се преуреди продуктивно, Б-клетката најверојатно престанува да зрее и брзо умира со апоптоза.

Две проучувања со трансгенски глувци ја поддржуваат хипотезата дека протеинските продукти кои се кодирани од преуредените гени во тешката и лесната верига го регулираат преуредувањето на останатите алели. При едното проучување, беа подготвени трансгенски глувци кои носеле преуреден трансген со ми тешка верига. Продуктот ми од трансгенот бил прикажан во голем процент врз Б-клетките, а преуредувањето на ендогените имуноглобулински гени со тешки вериги било блокирано. Слично на тоа, клетките од трансгенскиот глушец кој носел трансген со капа лесни вериги не ги преуредил ендогените гени за капа-веригата кога капа-трансгенот бил прикажан и бил поврзан со тешката верига за создавање целосен имуноглобулин. Овие проучувања сугерираат дека прикажувањето на протеините со тешки и лесни вериги може



СЛИКА 5-11 **Модел кој се однесува на алелското исклучување.** Прво се преуредуваат гените за тешките вериги и штом настане продуктивно генско преуредување на тешките вериги, протеинскиот продукт ми го спречува преуредувањето на другите алели со тешки вериги и поттикнува генско преуредување на гените за лесните вериги. Кај глувците, преуредувањето на гените за капа лесните вериги претходи на преуредување на ламбда-гените, како што е прикажано овде. Кај луѓето, или преуредувањето на гените за капа или за ламбда може да продолжи штом настане преуредување на тешките вериги. Создавањето на целосен имуноглобулин подоцна го попречува преуредувањето на гените со лесни вериги. Ако кај еден алел настане непродуктивно преуредување, тогаш клетката пробува преуредување друг алел. [*Приспособено од G.D.Yancopoulos and F. W. Alt, 1986*, Annual Review of Immunology **4**:339.].

навистина да го спречат преуредувањето на останатите алели и според тоа се одговорни за алелското исклучување.

Создавање противтелна разновидност

Како што се дешифрираше организацијата на гените во имуноглобулините, почнаа да се појавуваат многу теории за изворите на разновидноста во варијабилното подрачје. Теоријата на зародишната линија, која ја споменавме претходно, тврдеше дека целата разновидност во променливото подрачје е кодирана во зародишната линија од организамот и се пренесува од родителот на детето преку зародишните клетки (јајце или сперма). Теоријата на соматски варијации тврдеше дека зародишната линија содржи ограничен број променливи гени, кои при развојот на имуниот систем се диверзифицираат во соматските клетки преку процеси на мутации или рекомбинации. Со клонирање и секвенционирање на имуноглобулинските гени, делумно се оправдаа и двата модела. Денес, утврдени се седум механизми за диверзификација на противтелата кај луѓето и глувците:

- Повеќе генски сегменти во зародишната линија
- Комбинаторско поврзување В-(Д)-Ј
- Флексибилност при поврзување
- Додавање нуклеотиди во П-подрачјето (П-додавање)
- Додавање нуклеотиди во Н-подрачјето (Н-додавање)
- Соматска хипермутација
- Комбинаторско поврзување на лесните и тешки вериги

Иако точниот придонес на секој од овие механизми за диверзификација на вкупната противтелна разновидност не е познат, секој од нив значајно придонесува за нормалниот број различни противтела кој имуниот систем кај цицачите може да ги создаде.

Постојат бројни зародишни В, Д и Ј генски сегменти

Листата на функционални В, Д и Ј генски сегменти во ДНК од зародишната линија кај еден човек открива 48 $В_Т$, 23 $Д_Т$, 6 $Ј_Т$, 41 $В_{капа}$, 5 $Ј_{капа}$, 34 $В_{ламбда}$ и 5 $Ј_{ламбда}$ генски сегменти. Во однос на овие функционални сегменти, постојат многу псевдогени. Треба да се има предвид дека овие бројки во голем дел се изведени од значајното проучување што ја секвенционираше ДНК од имуноглобулиските локуси кај едно лице. Имуноглобулинските локуси од друго лице може да содржат малку поразличен број на одделни видови генски сегменти. Кај глувците, иако бројот кој е познат е понепрецизен отколку кај луѓето, изнесува 85 $В_{капа}$ генски сегменти и 134 $В_Т$ генски сегменти, 4 функционални $Ј_Т$, 4 функционални $Ј_{капа}$, 3 функционални $Ј_{ламбда}$ и проценети 13 $Д_Т$ генски сегменти, но само три $В_{ламбда}$ генски сегменти. Иако бројот на гени од зародишната линија кој беше откриен и кај луѓето и кај гувците е доста помал од оној кој беше предвиден со првите застапници на зародишниот модел, повеќето В, Д и Ј генски сегменти од зародишната линија јасно придонесуваат за разновидноста на противген врзувачките места во противтелата.

Комбинаторското поврзување В-Ј и В-Д-Ј создава разновидност

Придонесот на повеќе генски сегменти од зародишната линија за разновидноста на противтелата е зголемен со случајното преуредување на овие сегменти во соматските клетки. Можно е да се пресмета колку разновидност може да се постигне со генско преуредување (табела 5-2). Кај луѓето, способноста на кој било од 48 $В_Т$ генски сегменти да се комбинираат со кој било од 23 сегменти и кој било од 6 $Ј_Т$ сегменти овозможува создавање значителен број разновидност кај гените за тешките вериги (48 x 23 x 6 = 6624 можни комбинации). Слично на тоа, 41 генски сегементи кои се комбинираат по случаен избор со 5 $Ј_{капа}$ сегменти имаат потенцијал за создавање 205 можни комбинации за капа-локусот, додека 34 $В_{ламбда}$ и 5 $Ј_{ламбда}$ генски сегменти овозможуваат до 170 можни комбинации во ламбда-локусот кај луѓето. Важно е да се сфати дека ова се минимални пресметки за потенцијалната разновидност. Флексибилноста за спојување и додавањето на П и Н нуклеотидите, како што споменавме претходно, а, посебно, соматската хипермутација, која ќе ја објасниме на кратко, заедно прават огромен придонес за разновидноста на противтелата. Иако не е можно да се направи прецизна пресметка за нивниот придонес, повеќето истражувачи во ова поле се согласни дека тие го зголемуваат потенцијалот за противтелна разновидност од комбинаторското место кај луѓето до степен од 10^{10}. Ова не значи дека, во секое време, едно лице има група од 10^{10} различни противтела со комбинирачки страни. Овој голем број ја опишува групата на различни варијации, при што едно лице носи подгрупа која е помала за неколку броја.

Сврзаната флексибилност додава разновидност

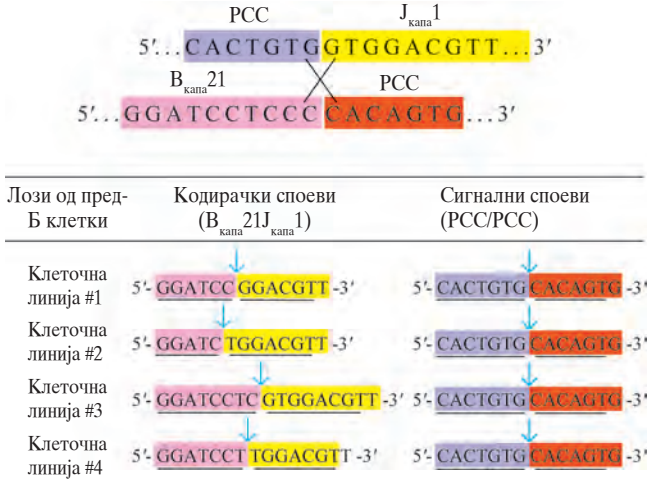
Огромната разновидност создадена со комбинирање В, Д и Ј се зголемува со феноменот наречен **сврзна флексибилност.** Како што објаснивме претходно, рекомбинацијата вклучува и поврзување секвенци за сигнално рекомбинирање за создавање сигнален спој и поврзување на кодни секвенци за создавање кодирачки спој (слика 5-7). Иако сигналните секвенци секогаш се поврзуваат прецизно, поврзувањето на кодните секвенци често е непрецизно. На пример, при едно проучување се анализираше поврзувањето на кодните секвенци $В_{капа}21$ и $Ј_{капа}1$ во неколку лози од пред-Б-клетката. Секвенциската анализа на сигналните и кодните споеви го откри контрастот во прецизноста на поврзувањето (слика 5-12).

Како што е претходно прикажано, сврзна флексибилност води кон многу непродуктивни преуредувања, но исто така создава продуктивни комбинации кои кодираат алтернативни аминокиселини при секој кодирачки спој (види слика 5-9), при тоа зголемувајќи ја противтелната разновидност. Варијацијата во секвенцата на аминокиселините создадена од страна на сврзната флексибилност во кодирачките споеви се покажа дека се наоѓа во третото хиперварибилно подрачје (КОП3) во ДНК за тешките и за лесните вериги од имуноглобилините (табела 5-3). Бидејќи КОП3 често има главен удел во врзувањето противген за противтелниот молекул, промените во аминокиселините создадени со сврзната флексибилност се значајни за создавање противтелна разновидност.

ТАБЕЛА 5-2 Комбинаторска разновидност на противтелата кај луѓето и глувците

Повеќекратни зародишни сегменти	Тешка верига	Лесни вериги: Капа	Лесни вериги: Ламбда
	ПРОЦЕНЕТ БРОЈ НА СЕГМЕНТИ КАЈ ЛУЃЕТО		
В	48	41	34
Д	23	0	0
J	6	5	5
Комбинаторско поврзување В-Д-J и В-J (можен број на комбинации)	48 × 23 × 6 = 6624	41 × 5 = 205	34 × 5 = 170
Можни комбинациски поврзувања во тешките и лесни вериги	6624 × (205 +170) = 2,48 × 10^6		+
	ПРОЦЕНЕТ БРОЈ НА СЕГМЕНТИ КАЈ ГЛУВЦИТЕ*		
В	134	85	2
Д	13	0	0
J	4	4	3
Комбинаторско поврзување В-Д-J и В-J (можен број на комбинации)	101 × 13 × 4 = 5252	85 × 4 = 340	2 × 3 = 6
Можни комбинациски поврзувања во тешките и лесни вериги	5252 × (340 +6) = 1,82 × 10^6		

*Овие бројки се добиени од проучувањата на поединечни лица, кај различни лица може да се видат мали разлики. И кај случаите со луѓе и глувци, наведени се само функционалните генски сегменти. Геномот содржи дополнителни сегменти кои не се способни за прераспоредување или содржат стопирачки кодони или пак и двете.
†Поради разновидноста придонесена од сврзната флексибилност, додавањето на нуклеотидот од П подрачје, додавањето на нуклеотидот од Н подрачје и соматската мутација, точниот потенцијал ги надминува овие предвидувања за неколку степени по големина.



СЛИКА 5-12 Експериментален доказ за сврзната флексибилност во преуредувањето на имуноглобулинските гени. Нуклеотидните секвенци околу кодирачкиот спој меѓу $B_{капа}21$ и $J_{капа}1$ и соодветната сигнална спојна секвенца беа определени кај четири пред-Б-клетки. Постојаноста на секвенцата во сигналните споеви е различна од променливоста на секвенцата во кодирачки споеви. Розовата и жолтата боја ги означуваат нуклеотидите изведени од $B_{капа}21$ и $J_{капа}1$, а виолетовата и портокаловата боја ги означуваат нуклеотидите од двете PCC.

ТАБЕЛА 5-3 Извори за промена во секвенцата кај комплементарно определените подрачја во имуноглобулинските гени за тешката и за лесната верига

Извор на промена	КОР1	КОР2	КОР3
Секвенца кодирана од:	В-сегмент	В-сегмент	$В_Л$-$J_Л$ спој; $В_Т$-$Д_Т$-$J_Т$ споеви
Сврзна флексибилност	-	-	+
Додавање П-нуклеотид	-	-	+
Додавање Н-нуклеотид*	-	-	+
Соматска хипермутација	+	+	+

*Додавањето на Н-нуклеотид настанува само во ДНК за тешката верига.

П-додавањето придава разновидност во палиндромските секвенци

Како што објаснивме претходно, по почетното делење на ДНК, по почетното едноверижно расечување на ДНК на спојот од варијабилниот генски сегмент и прикачената сигнална секвенца, нуклеотидите на крајот од кодирачката секвенца се свиткуваат за да создадат шнолеста структура (слика 5-7). Оваа шнола подоцна се расечува од ендонуклеази. Ова второ сечење понекогаш настанува на позиција која остава кратко единечно делче на крајот од кодирачката секвенца. Дополнителното додавање комплементарни нуклеотиди на оваа верига (**П-додавање**) со репаративни ензими создава палиндромна секвенца на кодирачкиот спој и затоа овие нуклеотиди се нарекуваат **П-нуклеотиди** (слика 5-13а). Варијациите на местото каде што се сече шнолата доведува до варијации во секвенците на кодирачкиот спој.

Н-додавањето придава значителна разновидност со додавање нуклеотиди

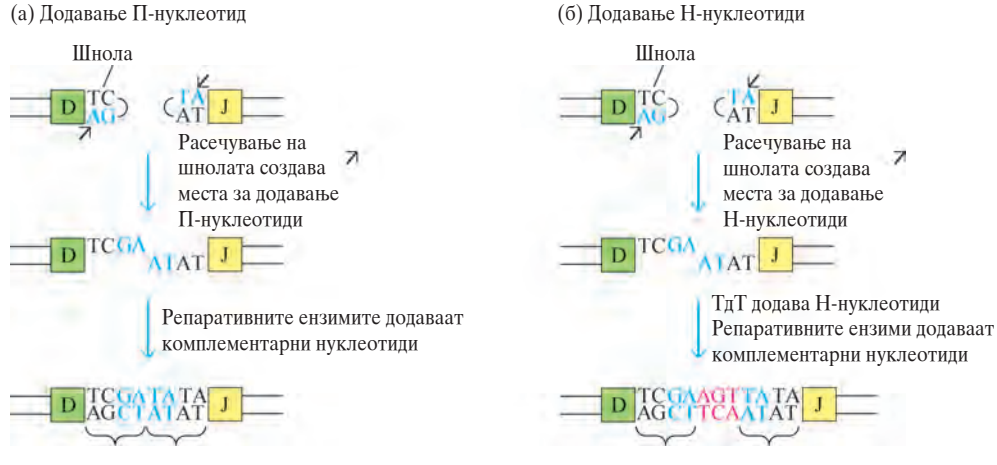
Се покажа дека кодирачките споеви во променливите подрачја во преуредените гени за тешките вериги содржат кратки аминокиселински секвенци кои не се кодирани од В, Д или Ј генските сегменти од зародишната линија. Овие аминокиселини се кодирани од нуклеотидно додавање за време на процесите на спојување на Д-Ј и В кон Д-Ј во реакција катализирана од деоксинуклеотидил трансфераза (ТдТ, слика 5-13б). Доказот дека ТдТ е одговорен за додавањето овие **Н-нуклеотиди** доаѓа од трансфекциските проучувања на фибробластите. Кога фибробластите беа трансфектирани со гените *РАГ-1* и *РАГ-2*, настана преуредување В-Д-Ј, но немаше Н-нуклеотиди присутни во кодирачките споеви. Меѓутоа, кога фибробластите беа трансфектирани со генот кој го кодира ензимот ТдТ, преуредувањето В-Д-Ј беше придружувано од додавањето на Н-нуклеотиди.

Најмногу до 15 Н-нуклеотиди може да се додадат и кај $Д_Т$-$Ј_Т$ и кај $В_Т$-$Д_ТЈ_Т$ споевите. Според тоа, целото варијабилно подрачје од тешката верига е кодирано од единицата $В_ТНД_Т$-$НЈ_Т$. Дополнителната разновидност на тешката верига создадена од додавањето на нукелотидот во Н-подрачје е доста големо бидејќи Н-подрачјата содржат секвенци кои се целосно по случаен избор. Бидејќи оваа разновидност се појавува при В-Д-Ј кодирачките споеви, таа е локализирана во КОР3 од гените за тешките вериги.

Соматската хипермутација додава/придава разновидност во веќе преуредените генски сегменти

Целата разновидност на противтелата што ја опишавме досега се однесува на механизмите кои работат при создавањето специфични променливи подрачја со генско преуредување. Дополнителната разновидност на противтелата се создава во единиците на преуредените гени за варијабилните подрачја во процес наречен **соматска хипермутација**. Како резултат на соматската хипермутација, поединечните нуклеотиди во единиците ВЈ и ВДЈ се заменети со алтернативни, на тој начин потенцијално менувајќи ја специфичноста на кодираните имуноглобулини.

Обично, соматската хипермутација настанува само во зародишните центри (види Поглавје 11), структурите кои се формираат во вторичните лимфоидни органи во текот на една недела или приближно од имунизацијата со противген кој го активира Т-клеточно зависниот Б-клеточен одговор. Соматската хипермутација е наменета за преуредување В-подрачјата сместени во ДНК секвенца која содржи околу 1500 нуклеотиди, која го вклучува целиот сегмент од ВЈ или ВДЈ. Соматската хипермутација настанува со фреквенција од околу 10^{-3} по базен пар во една генерација. Оваа стапка е најмалку сто илјади пати повисока (оттаму доаѓа и името *хипермутација*) од стапката на спонатана мутација во другите гени (околу 10^{-8}/бп/создавање). Бидејќи комбинираната должина на гените за



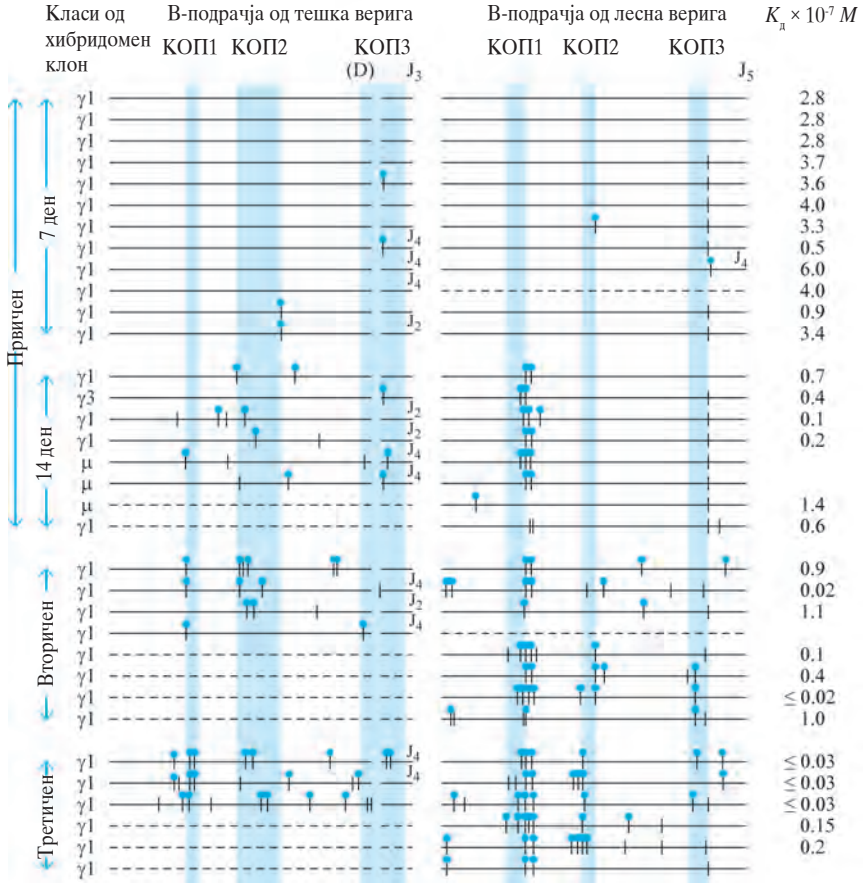
СЛИКА 5-13 Додавање П и Н нуклеотиди при поврзувањето. (а) Ако расечувањето на шнолата дава двоверижен крај во кодирачката секвенца, тогаш не се случува додавање П-нуклеотиди. Меѓутоа, во многу случаи, расечувањето дава едноверижен крај. При понатамошната поправка, се додаваат комплементари нуклеотиди, наречени П-нуклеотиди, за создавање палиндромни секвенци (означени со загради). Во овој пример, четири дополнителни базни парови (сино) се присутни во кодирачкиот спој како резултат на додавањето на П-нуклетидот. (б) Покрај додавањето на П-нуклеотиди, при спојувањето на кодирачките секвенци со тешки вериги може да настане додавање Н-нуклеотиди по случаен избор (светло црвено) од страна на терминалната деоксинуклеотидил трансфераза (ТдТ).

варијабилните подрачја од тешките и од лесните вериги е околу 600 бп, се очекува дека соматската хипермутација ќе внесе најмалку една мутација на секои две клеточни делби во парот гени B_T и $B_Л$ кои кодираат противтело.

При соматската хипермутација, повеќето од мутациите се нуклеотидни замени наместо отстранувања или вметнувања. Соматската хипермутација овие замени ги внесува најмногу, но не и целосно по случаен избор. Одредени мотиви од нуклетидните секвенци и палиндромни секвенци во B_T и $B_Л$ се посебно осетливи на соматска хипермутација и се наречени „жешки точки“.

Соматската хипермутација настанува во сегментот VJ или VDJ, но во зрелите Б-клетки тие се групирани во КОП на секвенците B_T и $B_Л$, каде најверојатно влијаат врз вкупниот афинитет на противгенот. По изложувањето на противген, овие Б-клетки со високо афинитетни рецептори ќе бидат првите кои ќе се селектираат за преживување. Резултатот од ова диференцијална селекција е пораст во афинитетот на противгенот од популацијата на Б-клетките. Целиот процес, наречен **афинитет за зреење**, се одвива во зародишните центри, а подетално е објаснет во Поглавје 11.

Во денес класичниот експеримент, Клаудија Берек и Цезар Милштајн ја документираа реалноста и текот на соматската хипермутација при имуниот одговор кон конјугат хаптен-носач. Овие истражувачи можеа да ја секвенционираат мРНК која ги кодира противтелата поттикнати како одговор на хаптенот во одговор на првичната, вторичната или третичната имунизација (прво, второ или трето изложување) со конјугат хаптен-носач. Хаптенот кој тие го одбраа беше 2-фенил 5-оксазолон (phOx), врзан за протеински носач. Тие го одбраа овој хаптен бидејќи претходно се покажа дека поголемиот дел од противтелата кој тој ги поттикнал беа кодирани од зародишната линија од еден ген B_T и $B_{капа}$. Берек и Милштајн имунизираа глушец со конјугатот phOx-носач, а потоа ги користеа клетките од



СЛИКА 5-14 Експериментален доказ за соматската мутација во варијабилните подрачја на имуноглобулинските гени. Шемата ги споредува секвенцата на мРНК од тешките и лесните вериги од хибридома која е специфична за пхОц хаптенот. Хоризонталните полни линии ги претставуваат секвенците на B_T и $B_{капа}$ Ох-1 од зародишната линија. Испрекинатите линии ги претставуваат секвенците од гените на другите зародишни линии. Сините линии ги покажуваат областите каде се групираат мутациите. Сините кругови со вертикални линии ги означуваат локациите на мутациите кои кодираат различна аминокиселина наместо секвенцата од зародишната линија. Овие податоци покажуваат дека зачестеноста на мутацијата (1) се зголемува за време на првичниот одговор (ден 7-ми наспроти ден 14-ти) и (2) е повисока по вторичната и третичната имунизација во споредба со првичната имунизација. Покрај тоа, постојаното разложување ($K_д$) на противтелата против-пхОц се намалува при преминувањето од првичен до третичен одговор, што укажува на пораст на вкупниот афинитет на противтелото. Имајте предвид дека поголемиот дел од мутациите се групирани во КОП1 и КОП2 и од тешките и од лесните вериги. *[Приспособено од C. Berek и C. Milstein, 1987,* Immunology Review **96**:23.]

слезината на глушецот за подготвување хибридома која лачи моноклонски противтела кои се специфични за хаптенот phOx. Потоа се одреди еквенцата на мРНК за Т-веригата и капа лесните вериги од секоја хибридома за да се утврди отстапување од секвенците на зародишната линија.

Резултатите од овој експеримент се објаснети на слика 5-14. Од 12 хибридоми добиени од глушецот седум дена по првичната имунизација, сите користеа одреден B_T, генски сегмент B_TOx-1 и сите освен една го користеа истиот генски сегмент $B_Л$, $B_{капа}$Ox-1. Покрај тоа, само неколку мутации од секвенцата на зародишната линија беа присутни во овие хибридоми. До 14-тиот ден по првичната имунизација, анализата на осум хибридоми откри дека шест од нив продолжиле да го користат генскиот сегмент B_TOx-1 од зародишната линија. Меѓутоа, сега сите хибридоми вклучиле една или повеќе мутации од секвенцата на зародишната линија. Анализираните хибридоми од вторичниот или од третичниот одговор покажа поголем процент на употреба на генските сегменти B_T од зародишната линија наместо генот B_TOx-1. Кај тие хибридомни клонови кои ги употребуваа генските сегменти B_TOx-1 и $B_{капа}$Ox-1, поголемиот број мутациите беа групирани во хиперваријабилните подрачја КОП1 и КОП2. Бројот на мутации во хибридомите против-phOx постепено растеше по првичната, вторичната и третичната имунизација, како што порасна и вкупниот афинитет на противтелата за phOx.

Крајниот извор за разновидност е комбинаторското спојување на тешките и лесните вериги

Кај луѓето постои потенцијал за создавање 6624 гени за тешките вериги и 374 гени за лесните вериги како резултат на генско преуредување во варијабилното подрачје. Ако се претпостави дека еден од гените за тешката и за лесната верига во истата клетка може да се појави по случаен избор, потенцијалниот број на комбинации од тешките и од лесните вериги изнесува 2484000. Овој број веројатно е повисок од бројот на комбинаторската разновидност која се создадва кај поединец, бидејќи не е веројатно дека сите B_T и $B_Л$ ќе се спојат меѓусебно. Покрај тоа, процесот на рекомбинација не настанува целосно по случаен избор: сите генски сегменти B_T, Д или $B_Л$ не се користат со истата зачестеност. Дел од нив се користат често, друг дел само повремено, а други никогаш.

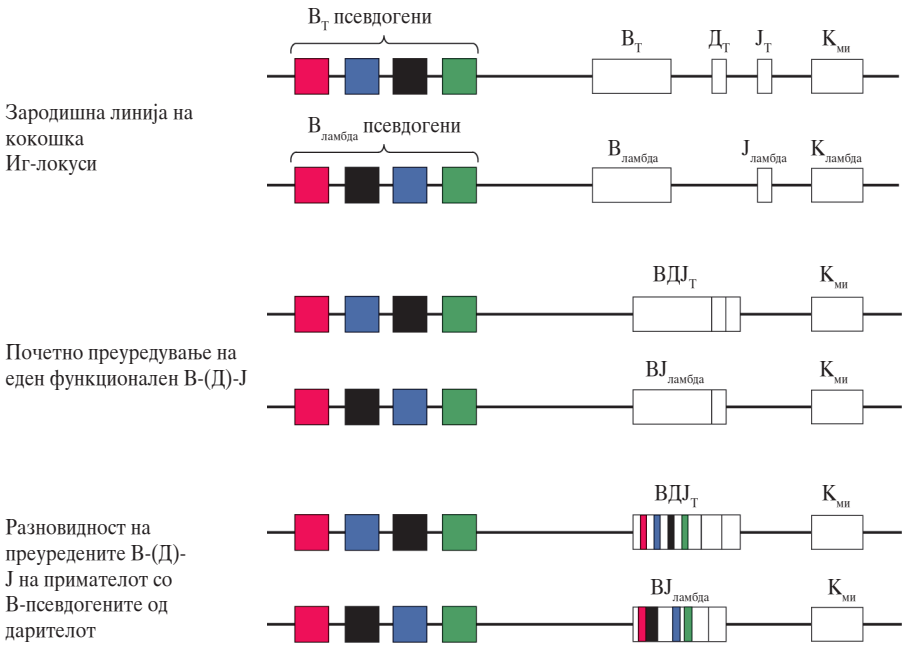
Иако бројот на различни противтелни врзувачки места кои може да ги создаде имуниот систем е тешко прецизно да се измери, знаеме дека е мошне висок. Бидејќи доста големиот број секвенци кој е создаден со сврзната флексибилност, додавањето П-нуклеотиди и Н-нуклеотиди спаѓаат во третиот КОП, тие се поставени за да влијаат врз структурата на противтелно врзното место. Дополнително на овие извори за противтелна разновидност, феноменот соматска хипермутација во голем дел придонесува за енормната разновидност (репертоар) по стимулација со противген.

Имуноглобулинската генска разновидност се разликува меѓу видовите

Кај луѓето и глувците, првичната разновидност на имуноглобулински гени е соматски создадена преку комбинаторско преуредување на целата библиотека од генските сегменти В (Д) и Ј во зародишната линија. Покрај тоа, кај глувците и луѓето создавањето на првичната разновидност главно настанува во коскената срцевина. Како што ќе биде целосно објаснето во Поглавје 11, кај многу други 'рбетници гледаме разликување од овој модел. Всушност, коскената срцевина не претставува место за развој на Б-клетките, а кај птиците, зајаците, овците, говедата и некои други видови, доста голем дел од овој клучен процес се одвива во лимфоидните ткива кои се поврзани со цревата (ГАЛТ). Исто така, многу видови користат други механизми наместо комбинаторското генско преуредување В (Д) и Ј од зародишната линија за создавање првична разновидност на противтелните гени. Кај многу други видови и луѓето и глувците се забележуваат две големи разлики. Прво, некои видови користат само едно или неколку преуредувања на гените В (Д) и Ј од зародишната линија. Ова е спротивно од многуте преуредувања кои се вообичаени кај луѓето и глувците. Второ, соматската хипермутација или друг процес наречен *преобразување на гените (gene conversion)* се користи кај други видови за големата разновидност на преуредените гени, додека кај луѓето и глувците, првичната разновидност на преуредени гени не се зголемува дополнително со соматска мутација или преобразба на гените. При **преобразување на гените**, посебен случај на соматска мутација, делови од секвенцата на еден ген, примателот, се модифицираат за да се открие соодветната секвенца на генот од дарителот. Генот од дарителот, чија секвенца останува непроменета, претставува образец за преобразување на дел од секвенцата на примателот. Всушност, преобразување на гените, кое се појавува само меѓу гените кои се слични на секвенцата (>80% идентични), понекогаш се нарекува **образец за соматска мутација** бидејќи дарителот претставува образец за модифицирање на хомологното подрачје од примателот за секвенцата на генот од дарителот.

Кај кокошките, зародишната линија содржи само еден функционален ген $B_Л$, B_T и (Д)-Ј кој може да претрпи преуредување и голем број на горно поставени псевдогени $B_{ламбда}$ и B_T кои не можат да се преуредат (слика 5-15). По преуредувањето посредено од РАГ на нивното мошне ограничен разновидност од гени В-(Д)-Ј во зародишната линија, која дава една В-(Д)-Ј единица, Б-клетките од кокошката се преселуваат во орган наречен бурза на Фабрициус, што е дел од ГАЛТ кај птиците. Во специјализираната микрооколина во бурзата, Б-клетките претрпуваат брзо размножување и огромна разновидност преку преобразување на гените на нивните преуредени имуноглобулински гени. Големиот број горно поставени псевдогени се однесуваат како дарители за преобразување на кратки делови од преуредените В-(Д)-Ј од примателот. Како што е прикажано на слика 5-15, неколку псевдогени може да се однесуваат како дарители за еден преуреден ген В-(Д)-Ј, модифицирајќи ја неговата секвенца од зародишната линија на неколку места. Во однос на преуредувањето на гените, кокошките, исто така претрпуваат одредена обична соматска хипермутација.

Зајаците исто така преуредуваат многу малку B_T гени со тешки вериги и ја зголемуваат разновидноста на противтелата со преобразување на гените и соматска хипермутација. Кај зајаците, како и кај птиците, овие процеси се одвиваат во ГАЛТ, посебно во специјализираната микросредина во слепото црево. Преживарите како што се говедата и овците нивната противтелна разновидност ја постигнуваат со соматска хипермутација во Пејеровата плочка, вид на ГАЛТ.



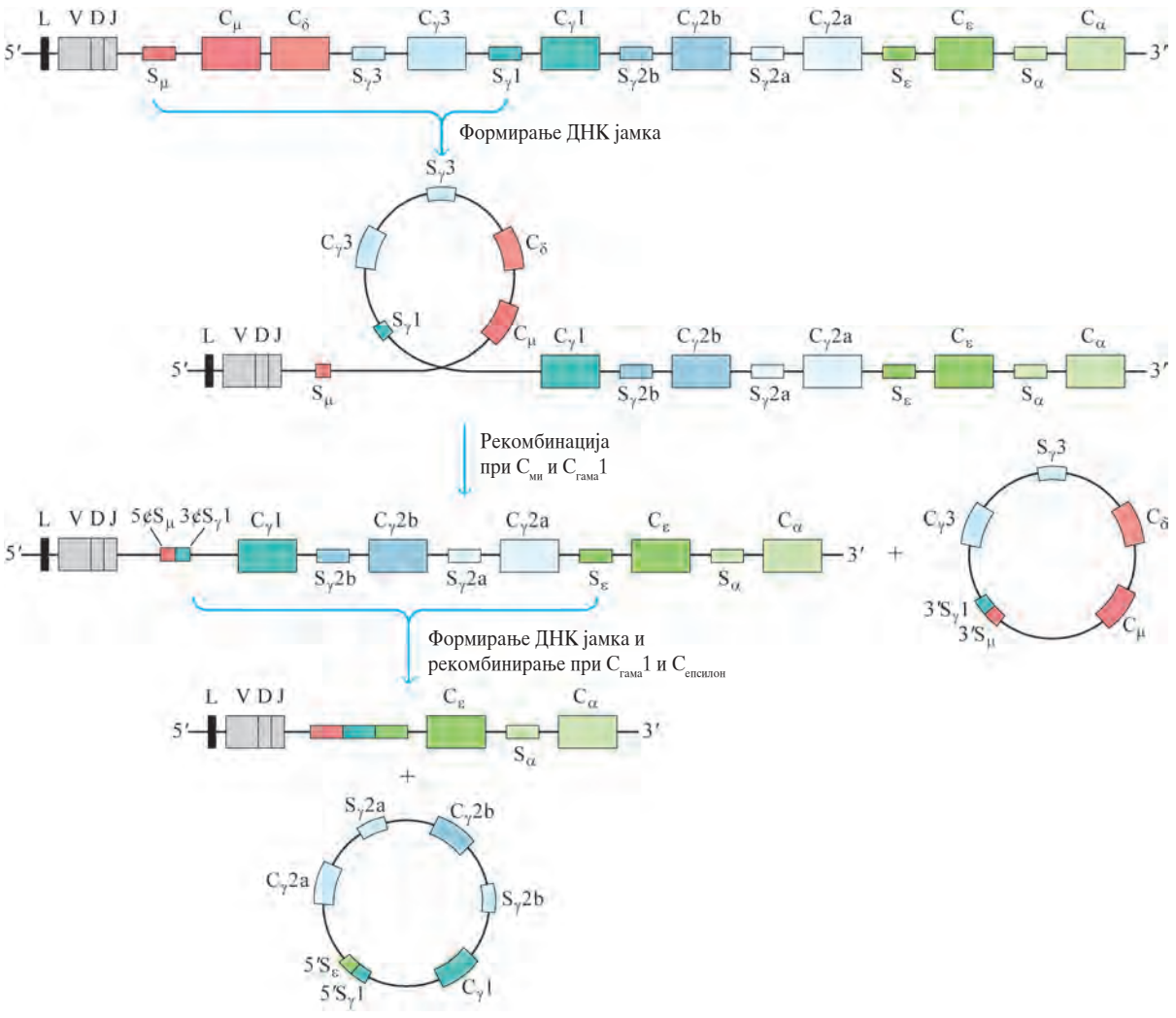
СЛИКА 5-15 Имуноглобулинската разновидност кај кокошките настанува поради преобразувањето на гените. Во зародишната линија на кокошките, пред поединечните функционални имуноглобулински гени $В_Т$ и $В_{гама}$ се наоѓаат многу псевдогени. Преуредувањето создава поединечни функционални преуредени В-(Д)-J. Преобразбата на гените внесува разновидност во В-сегментите од преуредените гени В-(Д)-J преку користење на псевдогените од горниот дел од В како образец.

Превклучување класи меѓу гени со константно подрачје

По противгената стимулција на Б-клетките, ДНК за тешката верига може да претрпи понатамошно преуредување при кое единицата $В_ТД_ТJ_Т$ може да се комбинира со кој било $К_Т$ генски сегмент. Точниот механизам на овој процес, наречен **превклучување класи** или **менување изотип**, не е јасен, но вклучува диплење ДНК секвенци (наречени **менување подрачја**) лоцирани на 2 до 3 кб од горниот дел од секој $К_Т$ сегмент (освен $К_{делта}$). Овие подрачја кои се менуваат, иако се големи (2-10 кб), се составени од повеќе копи на кратки повторувања (ГАГЦТ и ТГГГГ). Една хипотеза е дека протеинот или системот на протеини кои ги сочинува превклучувачката рекомбиназа ги препознава овие повторувања и при поврзувањето го извршува рекомбинирањето на ДНК кое доведува до превклучување класи. Меѓуклеточните регулаторни протеини познати како цитокини дејствуваат како „фактори за превклучување“ и играат главна улога при одредувањето на конкретната имуноглобулинска класа која се прикажува како последица од менувањето. На пример, интерлеукин-4 (ИЛ-4) поттикнува превклучување класи од $К_ми$ до $К_{гама}$ или $К_{епсилон}$. Кај одредени класи, се забележа дека ИЛ-4 поттикнува превклучување класи на редоследен начин: прво од $К_ми$ до $К_{гама}1$ а потоа од $К_{гама}1$ до $К_{епсилон}$ (слика 5-16). Испитувањето на отсечените делови на ДНК кои се создале при превклучувањето класи од $К_ми$ до $К_{гама}1$ покажа дека се создале тркалезни отсечени делови кои содржат $К_ми$ заедно со 5’ крајот од $_{гама}1$ ($К_{гама}1$) подрачјето за превклучување и 3’ крајот од ми подрачјето за превклучување ($К_ми$). Покрај тоа, промената од $К_{гама}1$ во $К_{епсилон}$ создаде тркалезни отсечени делови кои содржат делови од подрачјата за превклучвање ми, гама и епсилон. Кога ќе се земе сè превид, превклучувањето класи зависи од меѓудејствата на четирите елементи: превклучување подрачја, превклучувачка рекомбиназа, цитокински сигнали кој го диктираат изотипот кон кој се менува Б-клетката и ензимот наречен *активациски индуцирана цитидин деминаза (АИД)*, чија критична улога е објаснета во следното поглавје. Подетален опис на улогата на цитокините во менувањето класи е даден во Поглавје 11.

АИД (активациски индуцирана цитидин деминаза) ги посредува и соматската хипермутација и превклучувањето класи

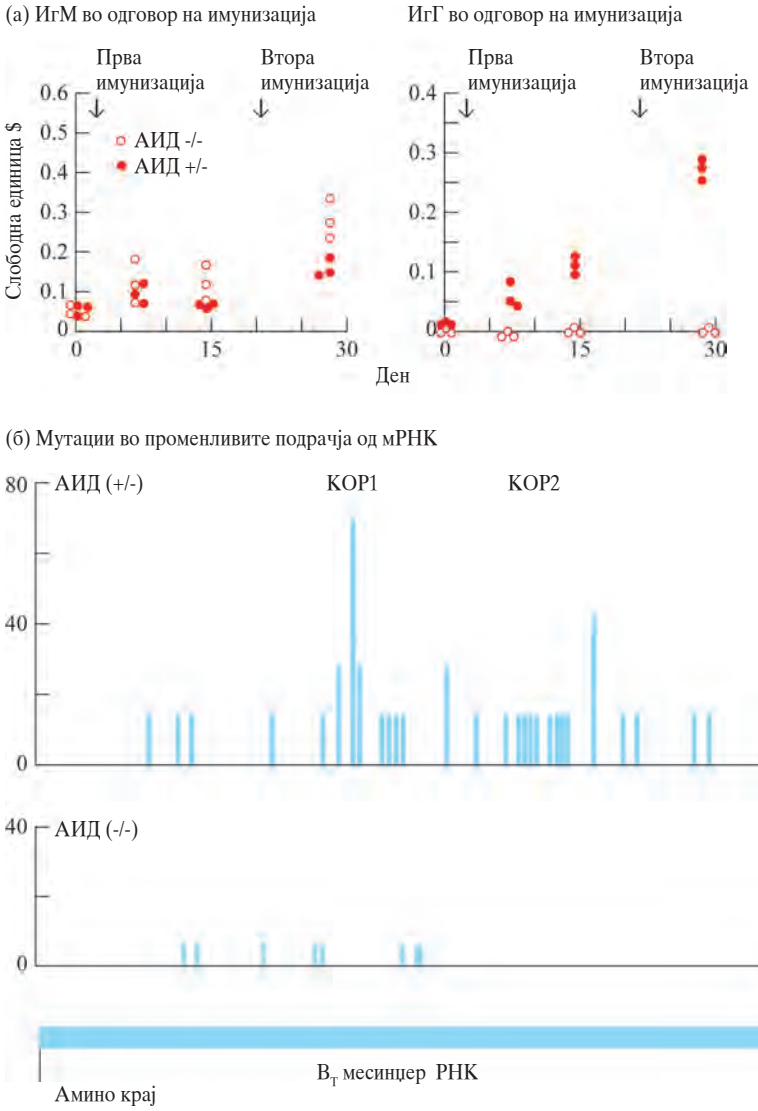
Во ова поглавје, три различни типови на модифицирање на имуноглобулинските гени се претставени за луѓето и глувците: рекомбинирање В-(Д)-J, соматска хипермутација и рекомбинација со превклучување класи. (Исто така го претставивме преобразувањето гени кај другите видови). Преуредувањето и групирањето на генските сегменти од зародишната линија при рекомбинацијата на В-(Д)-J создава функционален имуноглобулински ген. Соматската хипермутација внесува промени во варијабилното подрачје од Иг-гените кои може да влијаат врз својствата на противген врзувачките особини кои тие го кодираат. Рекомбинирањето со превклучување класи ѝ овозможува на дадена единица В-(Д)-J да се поврзе со различни константни подрачја, што ја одредува ефекторната функција на Иг-молекулот. Гените кои активираат рекомбинација, *РАГ1* и *РАГ2* се одговорни за рекомбинирањето на В-(Д)-J. Неодамнешните резултати покажаа дека еден ензим, **активациски индуцирана цитидин деминаза (АИД)**, претставува клучен посредувач за соматската хипермутација, преобразување на гените и рекомбинацијата со превклучување класи. АИД припаѓа на фамилијата ензими наречена ензими кои ја корегираат РНК. АИД деаминира селектирани цитозини во одредени мРНКи, менувајќи ги цитозините во урацил на тој начин ги нарушува (коригира) протеин кодирачките инструкции на целната месинџер РНК. Постојат извештаи дека овој ензим исто така е способен за директно модифицирање ДНК со менување цитозинот, што уште еднаш доведува до создавање урацил, кој не е еден од вообичаените четири нуклеотиди во ДНК. Тогаш, местото



СЛИКА 5-16 Предложен механизам за превклучување класи поттиканто од интерлеукин-4 во преуредени имуноглобулински гени за тешката верига. Областа за превклучување класи се наоѓа на горниот дел од секој K_T сегмент, освен $K_{делта}$. Утврдувањето на означените тркалезни отсечени делови од местата на превклучување укажа на фактот дека ИЛ-4 поттикнува редоследно превклучување класи од Кми до $K_{гама}1$ или $K_{епсилон}$.

за деаминација може да се коригира за да формира пар А-Т на местото од Г-Ц или алтернативно урацилот може да се замени со една од четирите ДНК бази. Иако презицниот механизам за дејство на АИД активно се испитува, неговото значење за соматската хипермутација и рекомбинацијата при превклучување класи е мошне јасно (слика 5-17а).

Во драматичен експеримент извршен во Универзитетот Куото во Јапонија, Тасуку Хонџо и неговите колеги создадоа глушец со отстраенти гени за АИД. Способноста на овие глувци (АИД -/-) да извршуваат превклучување класи и соматска хипермутација беше споредна со способноста на глушецот кој задржува функционална копија од генот АИД (АИД +/-). Податоците од слика 5-17б покажуваат како имуниот одговор се развива по успешното имунизирање, глушецот со функционална копија на генот АИД ги создава прво ИгМ а потоа и ИгГ противтела наспроти целниот противген. Меѓутоа, кај глушецот со отстранет АИД се создаваат само ИгМ противтелата како одговор на имунизацијата со истиот противген. За тестирање соматската хипермутација, испитувачите ја тестираа мРНК која ги кодира варијабилните подрачја од тешките вериги на противтелата против противгенот и од глушецот (АИД -/-) и од глушецот (АИД +/-). Тие открија дека додека глушецот (АИД +/-) има нормално ниво на хипермутација, глушецот со отстранет АИД воопшто не покажува соматска хипермутација. Изненадувачкиот резултат покажа дека истиот протеин, АИД, е неопходен и за соматската хипермутација и за рекомбинацијата при превклучувањето класи. При понатамошната работа на овие испитувачи, генот АИД го внесоа во фибробластите, за кои се знае дека не извршуваат ниту соматската хипермутација ниту рекомбинацијата при превклучување класи. Двете функции станаа активни кога АИД со прикажување во овие нелимфоидни клетки. Овој мошне значаен наод покажа дека АИД е единствениот фактор кој е потребен за извршување на секој од овие значајни процеси во Б-клетките.



СЛИКА 5-17 **Експериментално прикажување на улогата на ензимот АИД во превклучување класи и соматската хипермутација.** (а) Глушецот кој прикажува АИД (+/-) и глушецот со отстранет АИД (-/-) беа имунизирани два пати со конјугат хаптен-носач, а противхаптенскиот противтелен одговор беше измерен и претставен во слободни единици. Рекациите од ИгМ се забележаа кај двата вида на глувци. Создавањето на ИгГ, кое бара превклучување класи, се појави само кај глушецот кој прикажува АИД (+/-). (б) мРНК која ги кодира варијабилните подрачја на противген реактивните противтела во имунизираните глувци кои прикажуваат АИД и кај тие со отстранет АИД беа секвенционирани, а беа прикажани местото и зачестеноста на мутациите. Кај глушецот кој прикажува АИД се забележуваат многу мутации, кај глушецот со отстранет АИД се забележуваат само основни нивоа на мутација. *[Приспособено од M. Muramatzu et al., 2000*, Cell **102:**560.]

Прикажување Иг-гени

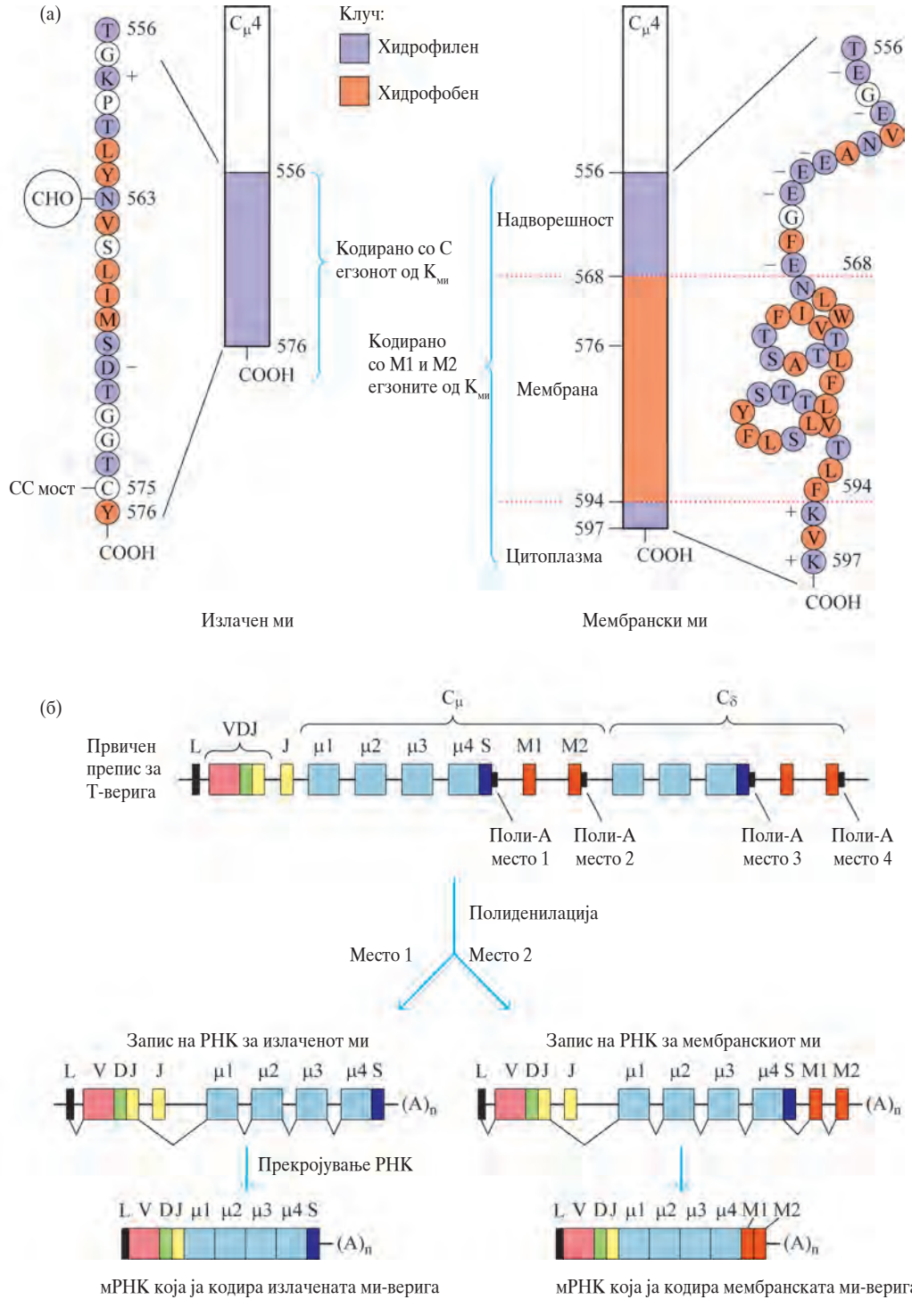
Како што е вистина за многу гени, за создавање функционална мРНК потребно е постпрепишувачко преработување на имуноглобулинските првични записи (види слика 5-4 и 5-5). Првичните записи кои се создаваат од страна на преуредените гени за тешките и за лесните вериги содржат вметнати ДНК секвенци кои вклучуваат некодирачки интрони и J-генските сегменти не се губат при преуредувањето В-(Д)-J. Дополнително, на тоа што видовме преходно, К-генски сегменти од тешките вериги се организирани како серија од кодирачки егзони и некодирачки интрони. Секој егзон во $К_Т$-генскиот сегмент одговара на домен со константно подрачје или зглобно подрачје од полипептидот за тешката верига. Првичниот запис мора да се преработи за отстранување на вметнатите ДНК секвенци, а останатите егзони мора да се поврзат во процес наречен прекројување на РНК. На кратко, просечно конзервираните прекројувачки секвенци, или прекројувачки места, кои се наоѓаат во границите на интрон-егзон во првичниот запис, ги сигнализираат местата во кои настанува прекројување. Преработување на првичниот запис во јадрото ги отстранува сите вметнати секвенци за да го создаде крајниот прозивод од мРНК. Тогаш мРНК излегува од јадрото за да се преведе во рибозомите во целосни Т- и Л-вериги.

Првичните записи до тешките вериги претрпуваат различна обработка на РНК

Преработувањето на имуноглобулинскиот првичен запис од тешките вериги може да даде неколку различни мРНК, што објаснува како една Б-клетка може да создаде излачена форма или мембрански врзана форма од ИгМ и ИгД.

Прикажување мембрански или излачен имуноглобулин

Како што објаснивме во Поглавје 3, некој имноглобулин може да постои во мембрански врзана форма или во излачена форма. Двете форми се разликуваат по секвенцата на аминокиселините на карбоксилно крајните домени од тешки вериги ($К_Т3/К_Т3$ во ИгА и ИгГ и $К_Т4/К_Т4$ во ИгЕ и ИгМ). Излачената форма има хидрофолна секвенца од 20



СЛИКА 5-18 **Прикажување излачени и мембрански форми на тешки вериги преку алтернативно преработување РНК.** (а) Аминокиселинската секвенца од карбоксил крајниот дел од излачените и мембранските ми тешки вериги. Остатоците се означени со код на аминокиселината со една буква. Хидрофилните и хидрофобните остатоци и подрачја се означени со виолетова и портокалова боја, а наполнетите аминокиселини се означени со + или -. Белите подрачја од секвенците се идентични кај двете форми. (б) Структура на првичниот препис од преуредениот ген за тешката верига кој покажува егзони Кми и области поли-А. Полиаденилацијата на првичниот препис и од областа 1 и од областа 2 и последотавелното прекројување (означени во линиите во вид на В) создава мРНК која ги кодира или излачените или мембранските ми-вериги.

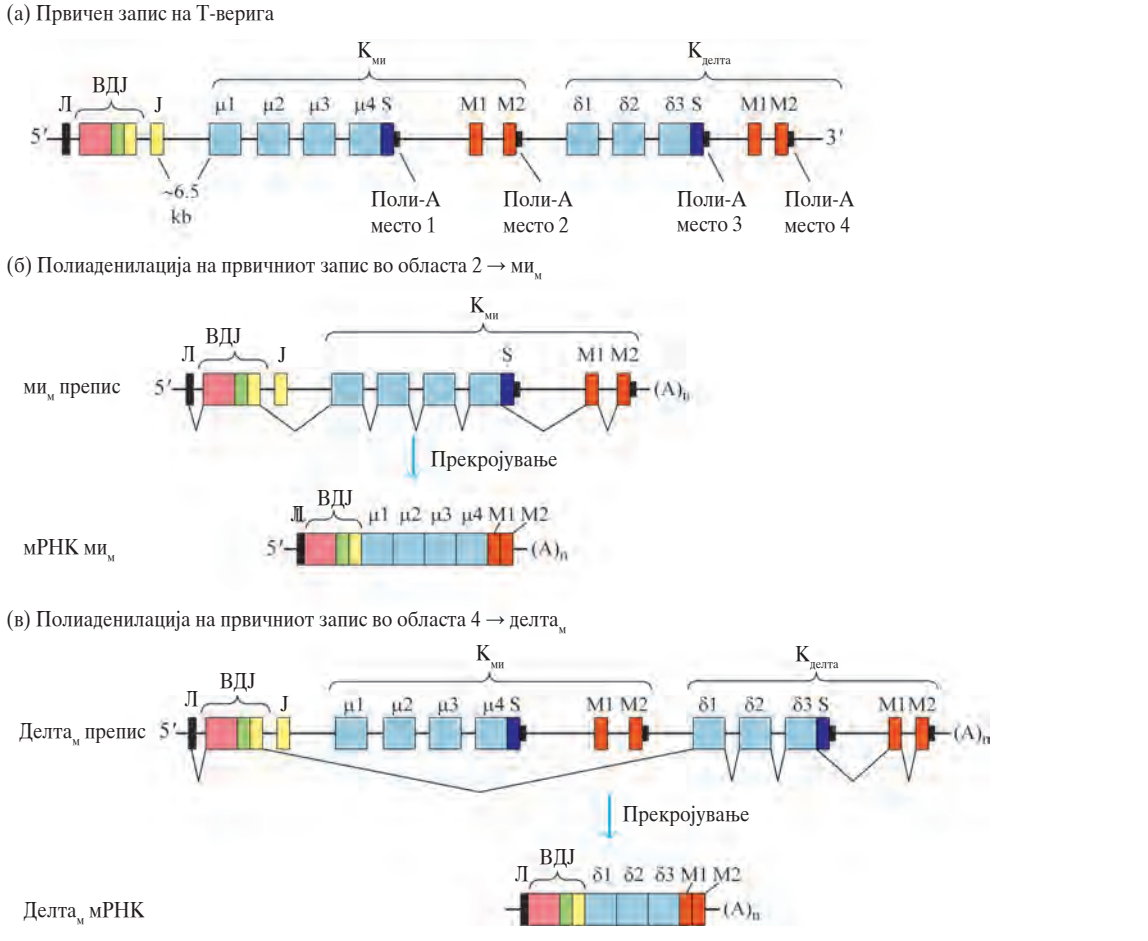
аминокиселини во карбоксилно крајниот домен, ова е заменето кај мембрански врзаната форма со секвенца од околу 40 аминокиселини кои содржат хидрофилен сегмент кој се протега надвор од клетката, хидрофобен трансмембрански сегмент и краток хидрофилен сегмент во карбоксилниот крај кој се протега во цитоплазмата (слика 5-18а). Во текот на еден период,

постоењето на овие две форми изгледаше неконзистентно со структурата на ДНК за тешките вериги од зародишната линија, за која се покажа дека содржи еден генски сегмент K_T кој одговара на секоја класа и потклаша.

Решението на оваа загатка дојде со секвенцирањето на ДНК во генскиот сегмент $K_{ми}$, кој се состои од четири егзони ($K_{ми}1$, $K_{ми}3$, $K_{ми}3$ и $K_{ми}4$) кои одговараат на четири домени од молекулот на ИгМ. Егзонот $K_{ми}4$ содржи нуклеотидна секвенца (наречена С) на нејазиниот 3' крај кој ја кодира хидрофилната секвенца од доменот $K_{ми}4$ од излачениот ИгМ. Два дополнителните егзони кои се наречени М1 и М2 се лоцирани во 1,8 кб долниот дел од 3' крај од егзонот $K_{ми}4$. Егзонот М1 го кодира трансмембранскиот сегмент, а М2 го кодира цитоплазминиот сегмент од доменот $K_{ми}4$ во мембрански врзаниот ИгМ. Секвенционирањето на ДНК откри дека сите генски сегменти K_T имаат два дополнителни егзони М1 и М2 од долниот дел кои ги кодираат трансмембранските и цитоплазмичните сегменти.

Првичниот препис кој се создава со препишување на преуреденият ми-ген со тешки вериги содржи две сигнални секвенци за полиаденилација, или поли-А области, во сегментот $K_{ми}$. Областа 1 се наоѓа на 3' крајот од егзонот $K_{ми}4$, а областа 2 се наоѓа на 3' крај од егзонот М2 (слика 5-18б). Ако во областа 1 настане сечење на првичниот запис и додавање на поли-А крајот, егзоните М1 и М2 се губат. Отсечувањето на интроните и прекројувањето на останатите егзони тогаш создаваат мРНК која ја кодира излачената форма на тешката верига. Ако наместо тоа расечувањето и полиаденилацијата на првичниот препис се случи во местото 2. тогаш се добива различен вид на прекројувачки резултат. Во ваков случај, прекројувањето ја отстранува севенцата С од 3' крајот и $K_{ми}4$ егзонот, кој го кодира хидрофилниот карбоксилно краен дел од излачената форма и се поврзува со остатокот од егзонот $K_{ми}4$ со егзоните М1 и М2, создавајќи мРНК за мембранската форма од тешката верига.

Според тоа, диференцијалното преработување на обичниот првичен запис одредува дали ќе се создадат излачените или мембранските форми од имуноглобулинот. Како што видовме преходно, зрелите неискусни Б-клетки создаваат само противтело кое се врзува за мембраната, диференцијалните плазма клетки создаваат излачени противтела. Останува прецизно да се одреди како младите Б-клетки и плазма клетките преработувањето на ДНК го упатуваат најчесто кон создавање мРНК која кодира една форма или друга.



СЛИКА 5-19 Експресија на мембрански форми на тешките вериги ми и делта со преработување алтернативната ДНК. (а) Структура од преуредени гени за тешката верига која ги покажува $K_{ми}$ и $K_{делта}$ егзоните и поли-А местото. (б) Структура на мим препис и $ми_м$ мРНК како резултат од полиаденилација на местото 2 и прекројување. (в) Структура на $делта_м$ препис и $делта_м$ мРНК како резултат на полиаденилација на местото 4 и прекројување. Двете обработувачки патеки можат да се остварат во било која Б-клетка.

Истовремено прикажување на ИгМ и ИгД

Диференцијалното преработување РНК исто така му подлежи на истовременото прикажување мембрански врзани ИгМ и ИгД врз зрелите Б-клетки. Како што споменавме претходно, препишувањето на преуредените гени од тешката верига во зрелите Б-клетки создава првични записи кои содржат генски сегменти и од $К_{ми}$ и од $К_{делта}$. Генските сегменти $К_{ми}$ и $К_{делта}$ се поврзани блику еден до друг во преуреденият ген (одделени се само за 5 кб), а недостатокот на превклучувачко место меѓу нив му овозможува на цел ВДЈ$К_{ми}К_{делта}$ подрачје да се препише во еден првичен РНК запис долг околку 15 кб, кој содржи четири поли-А области (слика 5-19). Областите 1 и 2 се поврзани со $К_{ми}$, како што објаснивме во предходниот дел. Областите 3 и 4 се наоѓаат на слични места во генскиот сегмент $К_{делта}$. Ако записот од тешката верига се расече и се полиаденилира во областа 2 по егзоните Кми, тогаш мРНК ќе ја кодира мембранската форма од тешката верига ми (слика 5-19б). Ако, наместо тоа, полиаденилацијата се продолжи до долниот дел во областа 4, по егзоните $К_{делта}$, тогаш прекројувањето на РНК ќе ги отстрани вметнатите егзони $К_{ми}$ и ќе создаде мРНК која ја кодира мембранската форма од тешката верига делта (слика 5-19в).

Бидејќи зрелите Б-клетки прикажуваат и ИгМ и ИгД врз нивните мембрани, двете патеки за преработување мора да се јават истовремено. Исто како тоа, расечувањето и полиаденилацијата на првичниот запис од тешката верига на поли-А областа 1 и 3 во плазма клетките и нејзиното делење ќе ја даде излачената форма на тешките вериги ми и делта (види слика 5-18б).

Синтеза, склопување и лачење имуноглобулини

Создавањето противтела наметнува уникатни проблеми поврзани со променливоста на продуктот и количината која се создава. Извонредно разновидна група на противтела се создава од страна на механизмите за преуредување гени, непрецизното поврзување на сегментите V-(D)-J, додавањето нуклеотиди на расечените краеви од овие сегменти и, во многу случаи, соматска хипермутација, но скапиот несакан продукт од цела оваа променливост е создавањето значителен број противгелни гени кои ги засолнуваат недозреаните стопирачки кодони или создаваат имуноглобулини кои не се диплат или се склопуваат соодветно. Вториот проблем настанува од скалата на создавање противтела од страна на плазма клетките. Покрај протеините кои се потребни за сите нивни нормални метаболни функции, плазма клетките создаваат и излачуваат повеќе од 1000 противтелни молекули по клетка во секунда. Наједноставното движење на внатреклеточните везикули кои содржат товар од противтела кон плазма мембраните за испуштање бара извонредна сила за внатреклеточна контрола на движењето и координацијата.

Како и сите протеини кои се предодредени за сместување во мембраните или отпуштање во внтреклеточната средина, имуноглобулинските полипептиди се синтетизираат во грубиот ендоплазматски ретикулум (РЕР). Имуноглобулинските тешки и лесни верижни мРНКи се преведува во одделни полирибозоми од РЕР (слика 5-20). Новосинтетизираните вериги содржат амино крајна лидерска секвенца, која им служи како водич на веригите кон просторот на РЕР, каде се расечува сигналната секвенца. Редоследот на склопување лесни (Л) и тешки (Т) вериги варира помеѓу имуноглобулинските класи. Во случајот со ИгМ, Л- и Т-веригите се склопуваат во РЕР за да формираат половина молекули, а потоа две половини молекули се склопуваат за да формираат еден цел молекул. Во случајот со ИгГ, се склопуваат две Т-вериги, а потоа се склопува среден $Т_2Л$ и на крајот се формира целосен $Т_2Л_2$ молекул. Ензимите присутни во РЕР го катализираат создавањето меѓуверижни дисулфидни врски неопходни за склопување имуноглобулинските полипептиди, како и меѓуверижните С-С врски кои го обезбедуваат диплењето на имуноглобулинските домени. Гликозилацијата на противтелните молекули исто така се извршува од страна на ензимите во РЕР.

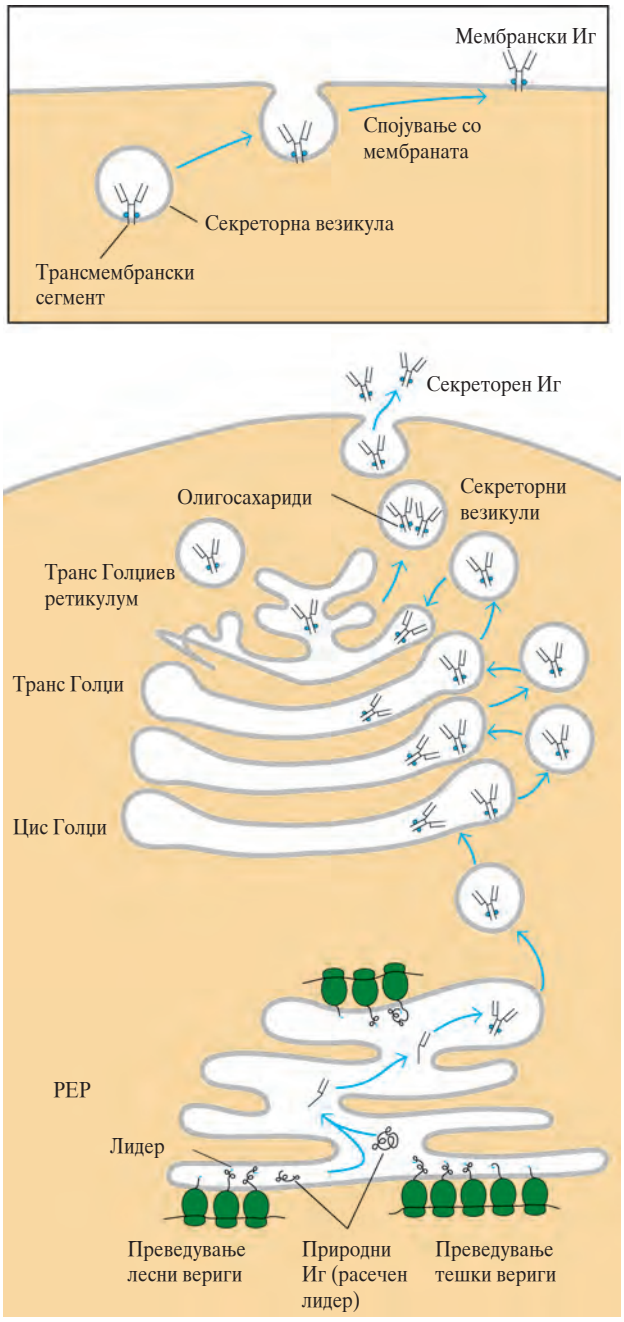
Противтелата се упатени кон нивните места (или излачените или врзаните за мембрана) врз база на присуството на хидрофобни или хидрофилни карбоксилно крајни домени во нивните тешки вериги, кои ги спомнавме претходно. Мембрански врзаните противтела содржат хидрофобна секвенца, која се прицврстува за мембраната на секреторната везикула. Кога везикулата се соединува со плазмината мембрана, противтелото се сместува во плазмината мембрана (слика 5-20, на врвот). Противтелата кои содржат хидрофилна секвенца која е карактеристична за излачените имуноглобулини се транспортираат како слободни молекули во секреторните везикули и се ослободуваат од клетката кога овие везикули се спојуваат со плазмината мембрана.

ЕР има механизами за контрола на квалитетот (слика 5-21), кои обезбедуваат изнесување на само целосно склопени противтелни молекули и поттикнуваат разградување на нецелосните или несоодветно здиплените Иг молекули. Еден посредник на овие функции е БиП (врзувачки протеин од имуноглобулинската тешка верига), кој се врзува за нецелосно склопените противтелни молекули, но се одвојува од целосно склопените. Специфична секвенца на аминокиселините во БиП (лизин-глутамат-аспартат-леуцин) предизвикува негово задржување во ендоплазматскиот ретикулиум, спречувајќи ги нецелосните противтелни молекули, за кои е врзан, да го напуштат ЕР. Противтелните молекули кои се погрешно здиплени или задржани во ЕР евентуално се означуваат за разградување преку прикачување за протеинот наречен убиквитин. Протеините означени со убиквитин се преместуваат надвор од јадрото и се подлегнуваат на протеолиза во претозомите, големи повеќеензимни коплекси кои подетално ќе ги објасниме во Поглавје 8.

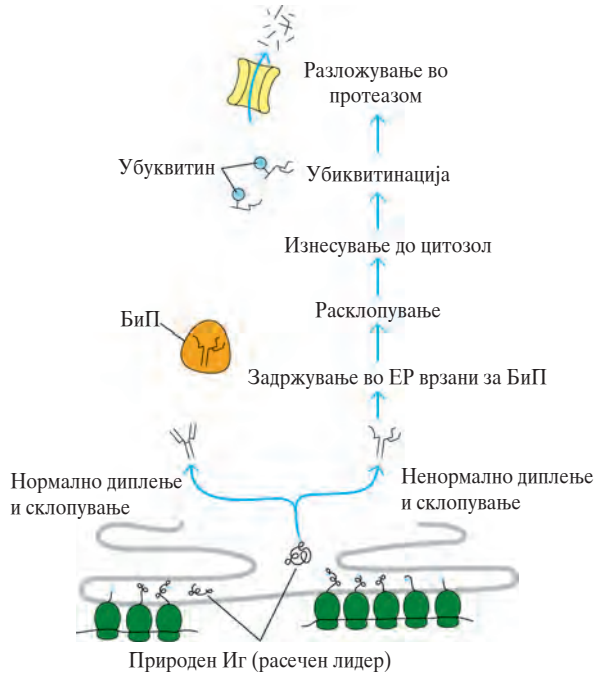
Регулирање на препишувањето на имуноглобулинските гени

Имуноглобулинските гени се прикажуваат само кај Б-клетките и дури кај овие клетки, гените се прикажуваат со различни стапки при различните фази од развој. Што се однесува до другите евкариотични гени, две класи на цис регулаторните секвенци во ДНК го регулираат препишувањето на имуноглобулинските гени:

- **Поттикнувачи (промотери):** релативно кратки нуклеотидни секвенци, со должина околу 200 бп од горниот дел од областа за почеток на препишувањето, кои помагаат поттикнување на препишување РНК во специфичен правец



СЛИКА 5-20 Синтеза, склопување и лачење на имуноглобулински молекул. Тешките и лесните вериги се синтетизираат во одделни полирибозоми (полизоми). Склопувањето на веригите, создавањето на меѓуверижни и внатреверижни дисулфидни врски и додавањето на јаглехидратот, сè се случува во грубиот ендоплазматски ретикулум (RER). Везикуларниот пренос ги доведува Иг до Голџиевиот систем, кој се пренесува, и патува со везикулите кои се спојуваат со клеточната мембрана. Главната слика го прикажува групирањето на излачениот противтело. Прилогот го прикажува мембрански врзаното противтело кое содржи карбоксилно краен трансмембрански сегмент. Оваа форма се прицврстува за мембраната од секреторните меурчиња и останува во клеточната мембрана кога везикулите се спојуваат со клеточната мембрана.



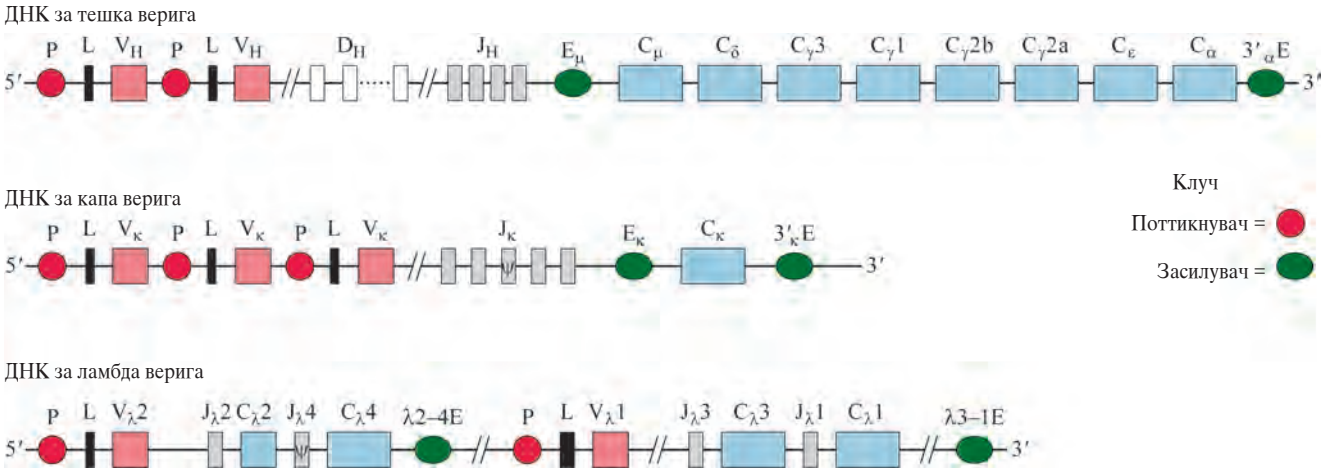
СЛИКА 5-21 **Контрола на квалитетот при синтезата на противтелото.** Иг молекулите кои не успеале да се свиткаат или да се групираат соодветно остануваат врзани за чаперонскиот протеин ВиП. Сообносите со БиП и другите фактори предизвикува деформираното противтело да се раздвои, да се изнесе од ЕР, да се означи за разложување преку конјугација со убикватин и да се разложи во протеазомот.

- **Засилувачи (енхансери):** нуклеотидни секвенци сместени на определена оддалеченост нагоре или надолу од генот кој активира препишување од поттикнувачката секвенца на начин кој не зависи од ориентираноста

На слика 5-22 се прикажани локациите на регулаторните елементи од ДНК во зародишната линија на имуноглобулините. Сите овие регулаторни елементи имаат група на секвенциски мотиви кои можат специфично да се врзат за еден или повеќе јадрени протеини.

Секој генски сегмент со $В_Т$ и $В_Л$ има поттикнувач поставен непосредно пред лидерската секвенца. Дополнително, пред групата $J_{капа}$ и пред сите $Д_Т$ гени од локусот за тешките вериги постојат поттикнувачи. Како и другите поттикнувачи, имуноглобулинските поттикнувачи содржат високо зачувана секвенца богата со АТ наречена ТАТА кутија, која служи како место за поврзување одреден број протеини неопходни за поттикнување на препишувањето на РНК. Конкретниот процес на препишување се извршува од страна на РНК полимераза 2, која започнува да ја препишува ДНК од поттикнувачката област, која се наоѓа околу 25 бп под ТАТА кутијата. Иг поттикнувачите исто така содржат неопходен и зачуван (конзервиран) октамер кој ја следи Б-клеточна специфичност на поттикнувачот. Октамерот се врзува за два препишувачки фактори, окт-1, кои се среќаат кај многу видови на клетки и окт-2, кој се наоѓа само во Б-клетките.

Иако има уште доста да се учи за функцијата на засилувачите, тие нудат места за поврзување за одреден број протеини,



СЛИКА 5-22 Местоположба на поттикнувачите (темноцрвено) и засилувачите (зелено) за тешката верига на глушецот, лесната верига капа и лесната верига ламбда во ДНК од зародишната линија. Преуредувањето на ДНК во варијабилно подрачје го приближува засилувачот доволно близу до поттикнувачот што засилувачот може да активира препишување за поттикнувачот. Поттикнувачите кои ѝ претходат на групата ДТ, одреден број на К-гени и групата Јламбда се испуштени во шемата за да биде појасно.

многу од нив се препишувачки фактори. Посебно значајна улога играат два протеини кодирани од генот *E2A*, кој има алтернативно прекројување за да создаде два соработувачки протеини, од кои двата се врзуваат за ми и капа интронските засилувачи. Овие протеини се неопходни за развојот на Б-клетките. Глушецот кај кој се отстранува *E2A* создава нормален број на Т-клетки, но покажува целосно отсуство на Б-клетки. Интересно е тоа што трансфекцијата на овие засилувачко врзувачки протеини Т-клеточните линии доведува до драматичен пораст во препишувањето на мРНК за веригата ми и дури ја поттикнува Т-клетката да претрпи преуредување на $Д_Т + J_Т \rightarrow Д_Т$.

Еден засилувач во тешка верига е поставен во интронот помеѓу последниот (3’) генски сегмент J и првиот (5’) генски сегмент К ($К_{ми}$), кој ја кодира тешката верига ми. Бидејќи овој засилувач со тешка верига ($Е_{ми}$) е поставен на 5’ од областа за менување $С_{ми}$ близу до $К_{ми}$, може да продолжи да функционира по превклучувањето на класи. Друг засилувач за тешката верига (3’ $_{алфа}$Е) е откриен на 3’ од генскиот сегмент $К_{алфа}$. Еден засилувач до капа лесната верига ($Е_{капа}$) е поставен помеѓу генскиот сегмент $J_{капа}$ и сегментот $К_{капа}$, а друг засилувач (3’ $_{капа}$Е) е поставен во 3’ од сегментот $К_{капа}$. Засилувачите за ламбда лесните вериги се поставени во 3’ од $К_{ламбда}4$ и 3’ од $К_{ламбда}1$.

Преуредувањето на ДНК во голем степен го забрзува препишувањето

Поттикнувачите поврзани со имуноглобулинските генски сегменти В се врзуваат за РНК полимеразата 2 мошне слабо, а засилувачите од варијабилното подрачје на ДНК од зародишната линија се мошне далеку од поттикнувачите (околу 250-300 кб), премногу далеку за да имаат значајно влијание врз препишувањето. Поради оваа причина, стапката на препишување на кодираните подрачја $В_Т$ и $В_Л$ е занемарлива во непреуредената ДНК од зародишната линија. Генското преуредување во варијабилно подрачје ги приближува поттикнувачот и засилувачот на растојание од 2 кб, доволно близу за да влијае засилувачот врз препишувањето од блискиот поттикнувач. Како резултат на тоа, стапката на препишување кај единицата $В_ЛJ_Л$ или единицата $В_ЛД_ЛJ_Л$ е 10^4 пати поголема од стапката на препишување кај непреуредените сегменти $В_Л$ или $В_Т$. Овој ефект беше прикажан директно при проучување на Б-клетките кои беа трансфектирани со преуредените гени од тешките вериги од кои беше избришан засилувачот и не ги препишаа гените, додека Б-клетките кои беа трансфектирани со слични гени кои содржеа засилувач со висока стапка ги препишаа транфектираните гени. Овие наоди го нагласија значењето на засилувачите при нормалното препишување на имуноглобулинските гени.

Гените кои го регулираат размножувањето на клетките или спречуваат апоптоза понекогаш се преселуваат во локусите од тешките и лесните вериги од имуноглобулините. Овде, под влијание на имуноглобулинскиот засилувач, прикажувањето на овие гени е значително зголемено, што доведува до високи нивоа на протеини кои поттикнуваат раст или протеини кои попречуваат апоптоза. Преселувањето на онкогените *c-myc* и *bcl-2* е поврзано со малигните Б-клеточни лимфоми. Преселувањето на *c-myc* води кон вродено прикажување на с-Мус и агресивен, високо пролиферативен Б-клеточен лимфом наречен Буркитов лимфом. Преселувањето на *bcl-2* води кон одложување на програмираната смрт на Б-клетките, што доведува до фоликуларен Б-клеточен лимфом. Овие преселување кои поттикнуваат рак се детално објаснети во Поглавје 21.

Прикажувањето на Иг генот е попречено кај Т-клетките

Како што видовме претходно, мутацијата на специфично место во Б-клетките има паралела во Т-клетките. ДНК од зародишната линија која го кодира Т-клеточниот рецептор (ТКР) претрпува преуредување на В-(Д)-Ј за создавање функционални гени за ТКР. Преуредувањето на имуноглобулинот и ТКР во ДНК од зародишната линија се остварува преку слични процеси на рекомбинација посредувани од РАГ-1 и РАГ-2 и вклучува рекомбинациски сигнални секвенци со еднократни

или двократни одделувачи (види слика 5-7). Покрај сличноста на овие процеси, целосното преуредување Иг генот со Т- и Л-вериги настанува само во В-клетките, а целосното преуредување на ТКР генот е ограничено кај Т-клетките.

Хитоши Сакано и неговите соработници добија резултати кои укажуваат на фактот дека секвенцата во веригата капа во 3' од засилувачот (3' $_{капа}$E) служи за регулирање на поврзувањето $В_{капа}$ со $J_{капа}$ во Б- и Т-клетките. Кога секвенцата позната како ПУ.1 врзувачкото место од веригата капа во 3' од засилувачот била мутирана, овие истражувачи откриле дека и во Т- и во Б-клетките настанало поврзување $В_{капа}$ со $J_{капа}$. Тие предложија дека поврзувањето на протеинот кој е прикажан врз Т-клетките, но не врз Б-клетките, до немутираниот засилувач од капа лесната верига нормално го спречува поврзувањето на $В_{капа}$ со $J_{капа}$ во Т-клетките. Идентитетот на овој ДНК врзувачки протеин во Т-клетките останува да се открие. Слични процеси може да го спречат преуредувањето на ДНК за тешката верига и за ламбда лесната верига во Т-клетките.

Противтелни гени и модифицирање противтела

Во многу клинички примени, големата специфичност на глувчешките моноклонски противтела би можела да биде полезна. Меѓутоа, кога глувчешките моноклонски противтела се внесуваат во луѓето, тие се препознаваат како туѓи и предизвикуваат *човечки противглувчешки противтелен* (ЧМГП) одговор кој брзо ги чисти глувчешките моноклонски противтела од крвотекот и ја намалува терапевтската ефикасност при понатамошното внесување противтело. Циркулирачките комплекси од глувчешките и човечките противтелата може да предизвикаат алергиски реакции, а во одредени случаи, создавањето на овие комплекси во органи како што се бубрезите може да предизвикаат сериозни дури и реакции опасни по живот. Јасно е дека, еден начин за избегнување на овие несакани реакции е да се користат човечки моноклонски противтела за клиничките употреби, Меѓутоа, употребата на хибридомната технологија за подготвување човечки моноклонски противтела е отежната од бројни технички проблеми, а создавањето човечките противтела кои лачат хибридоми останува главен предизвик. За надминување овие тешкотии, развиени се алтернативни методи за модифицирање на противтелата со употреба на технологија за рекомбинација на ДНК.

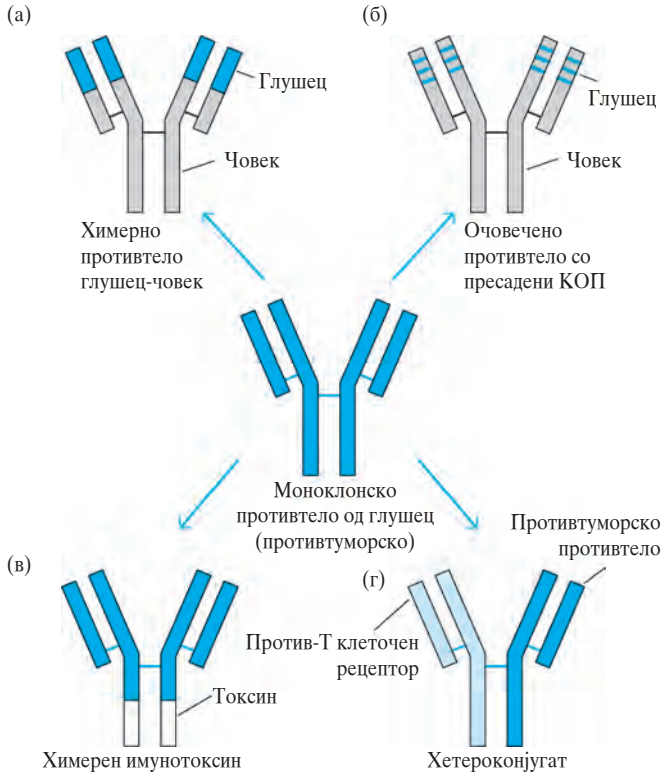
Познавањето на противтелната генска секвенца и противтелната структура беа соединети со техниките на молекулската биологија му овозможија на Цезар Милштајн, еден од пронаоѓачите на технологијата за моноклонски противтела, да ја нарече „противтела направени од човек". Сега е можно да се дизајнираат и создадат гени кои кодираат имуноглобулински молекули во кои променливите подрачја доаѓаат од еден вид, како што е глушецот, за кој лесно се создаваат хибридоми со посакувана противгена специфичност, а константните подрачја доаѓаат од друг вид, како што се луѓето. Создадени се нови гени кои ги поврзуваат нуклеинските секвенци кои ги кодираат непротивтелните протеини со секвенците кои ги кодираат варијабилните подрачја во противтелата за одредени противгени.

Овие молекулски хибриди, **химери**, можат да овозможат моќни токсини за одредени противгени цели, како што се туморските клетки. Со заробување значаен примерок од сите имуноглобулински гени со варијабилно подрачје со тешки и лесни вериги преку вклучување во библиотеки од бактериофаги, можно е да се постигнат значајни и полезни реконструкции на целокупното разновидност противтела кај поединците. (Следните неколку делови го објаснуваат секој од овие видови на генетски модицирани противтела). На крајот, со замена на имуноглобулинските локуси од еден вид со локусите од друг вид, животни од еден вид, како што се глувците или говедата, се надарени со капацитетот да реагираат на имунизација со создавање противтела кои се кодирани со пресадени Иг гени од луѓето.

Химерните и очовечените моноклонски противтела имаат моќен клинички потенцијал

Еден пристап за модифицирање противтелото е да се клонира рекомбинираната ДНК која го содржи поттикнувачот, лидерот и секвенците со варијабилно подрачје од глувчешкиот противтелен ген и екосоните од константното подрачје од човековиот противтелен ген (слика 5-23). Противтелото кое е кодирано од таков рекомбинантен ген химера глушец-човек, општо познато е како **химерно противтело**. Неговата противгена специфичност, која се одредува според варијабилното подрачје, е изведена од ДНК на глушецот, а неговиот изотип, кој се одредува по константното подрачје, е изведен од ДНК на луѓето. Бидејќи константните подрачја од овие химерни противтела се кодирани со човечки противгени, противтелата имаат помалку глувчешки противгени одредници и се доста помалку имуногени кога се внесуваат во луѓето отколку моноклонските противтела од глушецот (слика 5-23а). Едно такво химерно противтело глушец-човек се користи за лекување пациенти со разни Б-клетки од неХочкинов лимфом (види Клинички фокус, страница 140). Меѓутоа, бидејќи целите глувчешки V_T и V_L подрачја се задржани во химерните противтела, тие содржат значителни количини на Иг секвенца од глушец, која може да предизвика ЧПГП реакции. За среќа, можно е да се модифицираат противтелата во кои сè од секвенцата е човечко освен КОП, кои се земени од глувчешките моноклонски противтела со посакувана противгена специфичност. Овие о**човечени противтела** се прикажани на слика 5-23б. Очовечените противтела ги задржуваат биолошките ефекторни функции од човечките противтела и се поефикасни од противтелата од глушецот при поттикнување на активирањето на комплементот и процеси посредувани од Фк рецепторите, како што е фагоцитозата, кај луѓето. Меѓутоа, тие се помалку имуногени во луѓето отколку химерните противтела глушец-луѓе. Химерните моноклонски противтела исто така може да се приспособат за да служат како имунотоксини. На пример, терминалниот домен од константното подрачје во тумор специфично противтело може да стане високо радиоактивен со конјугација со радиоактивен обележувач како што е итриум-90, или може да се замени или конјугира со токсин како што е дифтериското токсин (слика 5-23в). Овие имунотоксини се одбрани поради нивната способност за врзување за туморски клетки, правејќи ги високо специфични како терапевтски реагенси.

Хетероконјугатите, или **биспецифичните противтела**, се хибриди од два различни противтелни молекули (слика 5-23г). Тие може да се создадат со хемиско вкрстено поврзување две различни противтела, или со нивно синтетизирање во хибридомите кои се состојат од две споени (фузирани) различни



СЛИКА 5-23 Противтела модифицирани со технологијата за рекомбинирање ДНК. (а) Химерно глушец-човек моноклонско противтело кое содржи домени $В_Т$ и $В_Л$ од глувчешко моноклонско противтело (сина боја) и домените $К_Т$ и $К_Л$ од човечкото моноклонско противтело (сива боја). (б) Очовеченото моноклонско противтело кое ги содржи само КОП од глувчешкото моноклонско противтело (сините линии) пресадени во рамковните подрачја од човечкото моноклонско противтело. (в) Химерно моноклонско противтело во кое терминалниот Фк домен е заменет со токсични вериги (бела боја). (г) Хетероконјугат во кој една половина од глувчешкиот противтелен молекул е специфична за туморска клетка, а другата половина е специфична за КДЗ/Т-клеточен рецепторен комплекс.

клеточни лози кои создаваат моноклонски противтела. И двата методи создаваат мешавини од моноспецифични и биспецифични противтела од кои посакуваниот биспецифичен молекул мора да се пречисти. Поедноставен и поелегантен пристап е да се користи генетско модифицирање за да се создадат гени кои кодираат молекули само со двете посакувани специфичности. Создадени се неколку биспецифични молекули во кои едната половина од противтелото има специфичност за туморската клетка, а другата половина има сепецифичност за молекул од имунолошка ефекторна клетка, како што е КПУ или цитотоксичен Т-лимфоцит (ЦТЛ), при тоа поттикнувајќи уништување на туморската клетка од страна на ефекторната клетка.

Модифицрани се глувци со човечки имуноглобулински локуси

Со употреба на технологија за отстранување (knockout), можно е оневозможување на капацитетот на глушецот за преуредување на неговите локуси од тешките и лесните вериги во зародишната линија. Овие отстранети глувци не создаваат глувчешки Иг, а бидејќи развојот на Б-клетките бара создавање функционален имуноглобулин ми, глушецот не создава ниту Б-клетки. Сепак, способноста за создавање Б-клетки и за создавање противтела може да се врати со внесување функционални Иг од зародишната линија на глушецот во линијата од Иг отстранет глушец. Одредени испитувачи кои располагаат со многу извори покажаа дека внесувањето делови од човечки Т- и Л-локуси во зародишната линија може да го врати развојот на Б-клетките исто како и да создаде глушец кој синтетизира човечки противтела. Меѓутоа, комплетните Иг локуси од зародишната линија се мошне долги молекули од ДНК (човечкиот Т-локус е 1,5 Мб а човечкиот ламбда-локус е 1 Мб) и техничките потешкотии го спречуваат внесувањето целите човечки Т- и Л-локуси во глушецот. Само делумни сегменти од локусите може да се внесат, а понатаму, може да не бидат прикажани сите елементи од овие големи и сложени локуси. За овој проблем се појави нов и моќен пристап која Исао Ишида и неговите колеги при Кирин фармацевтика во Јапонија создадоа вештачки човечки хромозом (ВЧХ) кој ги контролира комплетните човечки локуси од тешката верига и од ламбда лесната верига. Потоа тие го внесле ВЧХ во ембрионските стем-клетки добиени од Т-и Л-веригата на отстранет глушец и користеле ВЧХ-трансгенични клетки за добивање трансгенични глувци кои на противген предизвик реагираат со создавање противген-специфични *човечки* противтела (слика 5-24). Имунизирањето на овие ВЧХ-трансгенични глувци со човечки серум албумин поттикна одговор кој се состои од човечки противчовечки серум албумински противтела.

Една од силите на овој метод, исто како и други пристапи за пресадување на Иг локуси од човечката зародишна линија во глувците, е дека овие целосно човечки противтела се создаваат во клетки од Б-клеточно потекло од глушец, од кои хибридомите кои лачат противтела лесно се добиваат со спојување клетки. Според тоа, овој пристап нуди решение за проблемот на создавање човечки моноклонски противтела со која било посакувана специфичност. Понатамошна и уникатна предност на ВЧХ пристапот е дека леснотијата со која може да се употребува за пренесување комплетни човечки имуноглобулински локуси во видови кои не се глувци. Неодамна, се покажа дека клонираното ВЧХ-тарансгенетично говедо создава човечки поликлонски противтела. Бидејќи говедата имаат голем крвен волумен (~60 литри), собирањето дел од нивниот серум нуди потенцијал за создавање големи количини поликлонски противтела. Како што е објаснето во Клиничкиот фокус во Поглавје 4, човечките поликлонски противтела имаат значајна и растечка улога во спречувањето и лекувањето на болестите, а стратегиите за нивно создавање кај нечовечки домаќини, е во голема мерка од значаен биохемиски интерес.

Збирките на фагите овозможуваат создавање моноклонски противтела без имунизација

Друг пристап за создавање моноклонски противтела целосно ја заобиколува технологијата на хибридоми. Започнувајќи со популацијата на Б-клетките, генските сегменти од преуредените домени $В_Т$ и $В_Л$ од Б-клеточните противтела се изолирани. Резултатот е голема и разновидна збирка на гените $В_Т$ и $В_Л$ кои претставуваат разновидност од преуредени В-гени присутни во изворот од Б-клеточната популација. Потоа, овие $В_Т$ и $В_Л$ гени се поврзуваат, заедно со вметната пептидно поврзувачка секвенца,



СЛИКА 5-24 Човечко противтело од глушец со вештачки човечки хромозом (ВЧХ) кој вклучува комплетни човечки локуси од тешките и од лесните вериги. Човечки вештачки хромозом кој носи комплетни непреуредени човечки локуси со тешка верига и со ламбда лесна верига се внесува во ембрионски стем (ЕС) клетки од глушец во кој локусите за тешката верига и за лесните вериги капа и ламбда се остранети. Модифицираните ЕС клетки се внесуваат во бластоцитите, кои се пренесуваат во сурогат-мајките и овозможуваат создавање химерен глушец. Вкрстувањето на химерниот глушец создава глушец кој произведува човечки противтела, но не и глувчешки Иг. Имунизација на овие глувци овозможува создавање на противген специфичен противсерум кој содржи само човечки противтела или создавање хибридоми кои излачуваат човечки противген специфични моноклонски противтела.

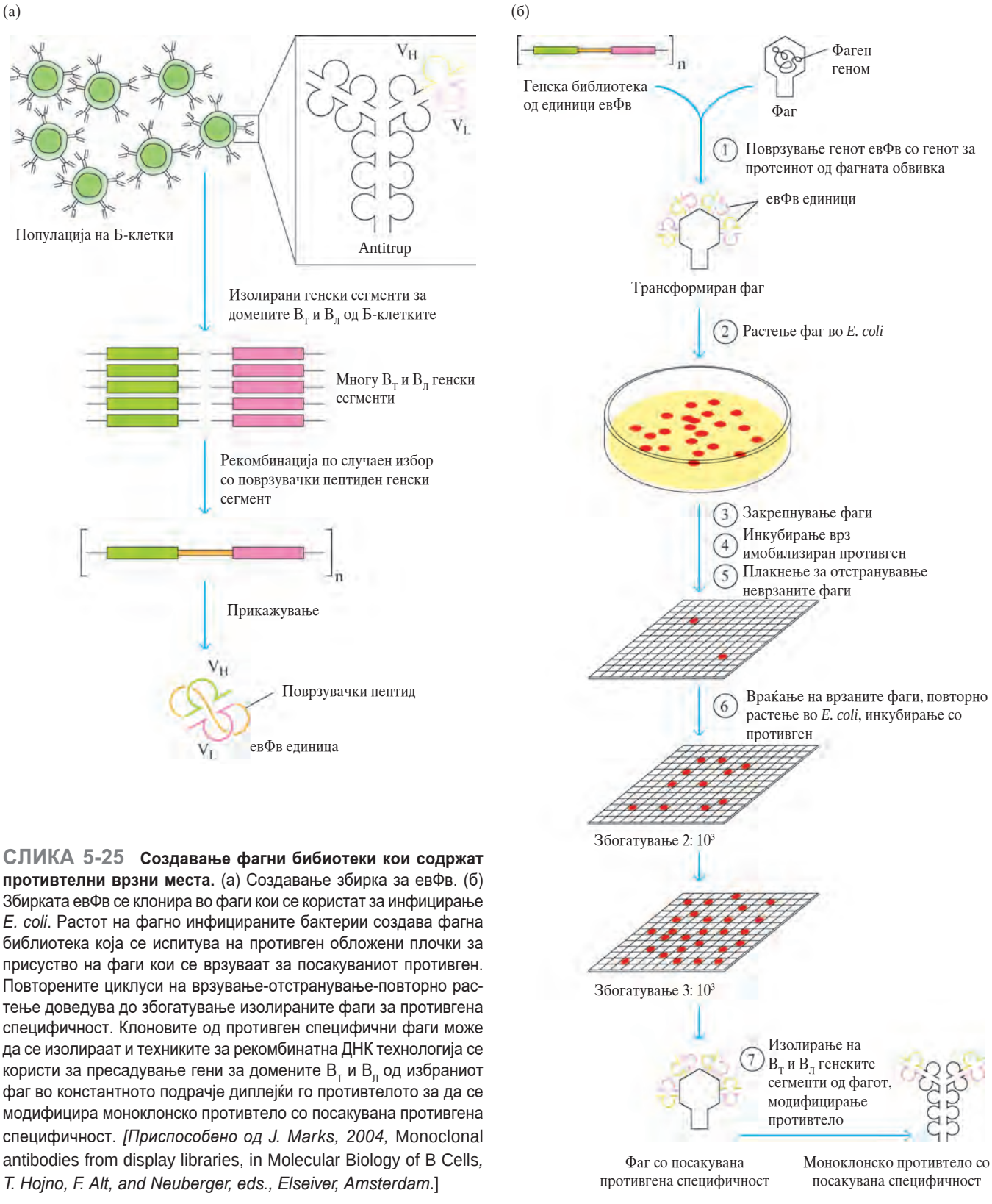
за да создадат колекција на гени кои кодираат полипептиди познати како едноверижни фрагметни варијабли (евФв) (слика 5-25а). Во секоја евФв единица, доменот $В_Т$ се спојува со $В_Л$ за да создаде минимална противген врзувачка единица. Кога евФв се формираат за создавање фагна библиотека, кој било ген $В_Л$ може да се поврзе со кој било ген $В_Т$, создавајќи енормна разновидност од противтелна специфичност, а добиените фагни библиотеки содржат многу повеќе од 10^{11} оригинални членки. Ова ниво на разновидност е споредливо со ин виво човечката разновидност, а овие мошне разновидни библиотеки содржат противтелни врзни места специфични за значително широк опсег на противтела.

Силата на гените од големата библиотека на евФв единици е насочена во протокол наречен **технологија за прикажување фаги** (слика 5-25б). Фагите (накратко од бактериофаги) се бактериски вируси кои се составени од геном и протеинска обвивка. Генетското модифицирање се користи за поврзување на гените кои кодираат единиците евФв со генот кој кодира еден од заштитните протеини прикажани врз површината од фагот. Потоа, генски трасфомираниот фаг создава изменети заштитни протеини кои ја прикажуваат единицата евФв (домените $В_Т$ и $В_Л$ кои се поврзани со пептид) врз површината од фагот. Многу голема разновидност (10^6-10^9 различни противтелни врзни места) од евФв гени може да се заробат со клонирање во фагите, создавајќи библиотека од прикажани фаги.

Популацијата на фагите е засилена со внесување фагите во *E. coli.* Прогениот фаг може да се испита за специфичноста преку инкубирање на библиотеката со имобилизиран противген. Фагите кои не врзуваат противген се плакнат, оставајќи ги оние фаги кои прикажуваат единици евФв кои специфично се врзуваат за противгенот, заедно со некои фаги кои неспецифично се врзуваат за плочката. За понатамошно збогатување на фагите кои се противген специфични, кај закрепнати фаги се повторува инфекцијата во *E. coli*, по што следат повторни процеси на селекција. Преку повторување на растот, избирање противген и жнеење, можно е да се изолираат противген специфични фаги во мал број од 1 до 10^9.

Штом се утврдат фагите кои ги носат посакуваните врзни места, за враќање на кодирачките подрачја $В_Т$ и $В_Л$ од фагниот геном може да се користат техники за генетско модифицирање, кои потоа се пресадуваат во гените кои ги кодираат имуноглобулинските тешки и лесни константни подрачја. Кога модифицираните гени за тешката и за лесната верига се прикажуваат во клетките, се создава моноклонско противтело специфично за посакуваниот противген. Според тоа, можно е целосно да се заобиколи имунизацијата и да се создаде полезно противтело без потпора на технологијата

за хибридоми. Покрај тоа, ако збирката на фаги се создаде користејќи човечки Б-клетки како извор на $В_Т$ и $В_Л$ и ако овие фрагменти се пресадат во човечките константни подрачја Т и Л, противтелото кое ќе се создаде е наполно човечко. Навистина, оваа технологија успешно се користи за создавање човечко моноклонско противтело против воспалителниот цитокин ТНФ-алфа. Ова противтело е одобрено од ФДА и сега е во клиничка употреба за лекување ревматиден артрит.



СЛИКА 5-25 Создавање фагни бибиотеки кои содржат противтелни врзни места. (а) Создавање збирка за евФв. (б) Збирката евФв се клонира во фаги кои се користат за инфицирање *E. coli*. Растот на фагно инфицираните бактерии создава фагна библиотека која се испитува на противген обложени плочки за присуство на фаги кои се врзуваат за посакуваниот противген. Повторените циклуси на врзување-отстранување-повторно растење доведува до збогатување изолираните фаги за противгена специфичност. Клоновите од противген специфични фаги може да се изолираат и техниките за рекомбинатна ДНК технологија се користи за пресадување гени за домените $В_Т$ и $В_Л$ од избраниот фаг во константното подрачје диплејќи го противтелото за да се модифицира моноклонско противтело со посакувана противгена специфичност. *[Приспособено од J. Marks, 2004,* Monoclonal antibodies from display libraries, in Molecular Biology of B Cells, *T. Hojno, F. Alt, and Neuberger, eds., Elseiver, Amsterdam.*]

КЛИНИЧКИ ФОКУС

Терапија за не-Хочкинов лимфом и други болести со генски модифицирани противтела

Лимфомите се ракови на лимфатичното ткиво каде туморните клетки се од лимфоцитно потекло. Постојат две главни форми на лимфоми: Хочкинов лимфом и не-Хочкинов лимфом. Поретката форма е Хочкиновиот лимфом, наречен по нејзиниот пронаоѓач, Томас Хочкин, англиски лекар. Необично надареният патолог, кој работел без предностите од микроскоп, ова заболување го препознал кај неколку пациенти и бил прв кој ги опишал анатомските особини на болеста во 1832 година. Бидејќи многу примероци од ткива земени од пациенти за кои Хочкин се сомневал дека го имаат ова заболување се зачувани во музејот Гордон при болницата Гаја во Лондон, им овозможило на следните генерации да судат за прецизноста на на овие дијагнози. Хочкин поминал добро. Проучувањата на овие зачувани примероци потврдија дека тој е во право во 60% од случаите, изненадувачко постигнување, имајќи ја превид технологијата во тоа време. Всушност, повеќето лимфоми се од не-Хоџкинов тип и вклучува околу 10 различни типови на болест. Б-клеточните лимфоми се значаен дел од нив.

Веќе неколку години, значајните терапии насочени против лимфомите се зрачење, хемотерапија или комбинација од двете. Иако овие терапии бележат голем број на пациенти со преживување, повторните болести (релапси) по лекувањето се чести, а многу лекувани пациенти претрпуваат исцрпувачки несакани ефекти. Несаканите ефекти се очекувана последица од овие терапии, бидејќи агенсите кои се користат убиваат или сериозно уништуваат широк спектар на нормални исто како и туморни клетки. Еден од светите камења во лекувањето на канцерот е откритието на терапии кои дејствуваат само врз туморските клетки и целосно ги штедат нормалните клетки. Ако одреден вид на клетки од рак има противгени специфични за тумор, овие противгени би биле идеални цели за имуниот напад. За жал, многу малку вакви молекули се познати. Сепак, познат е голем број противгени кои се ограничени на клеточните линии од кои потекнува туморот и кои се прикажани врз туморските клетки.

Многу противгени кои се специфични за линиите на клетките се идентификувани за Б-лимфоцитите и Б-лимфомите, вклучувајќи го имуноглобулинот, белегот на Б-клетките и КД20, мембрански врзан фосфопротеин. КД20 се појави како привлечен кандидат за противтелно посредуваната имунотерапија бидејќи е присутна во Б-лимфомите, а вкрстеното поврзување посредувано од противген не предизвикува надолна регулација или интернализација (внесување во клетката). Навистина, пред неколку години, против КД20 беа создадени глувчешки моноклонски противтела и еден од нив ја постави основата за имунотерапијата на против-Б-клеточен лимфом. Се чини дека овој пристап е подготвен да го заземе неговото место како додаток или алтернатива за радијацијата и хемотерапијата. Развојот на ова противтуморско противтело претставува одлична анализа на случај за комбинирана употреба на имуните погледи и молекулската биологија за модифицирање нов терапевтски агенс.

Оригиналното противтело против-КД20 беше глувчешко моноклонско противтело со глувчешки тешки вериги и гама и капа лесни вериги. Секвенците од ДНК на варијабилните подрачја од тешките и од лесните вериги на ова противтело беа засилени со полимеразно верижна реакција (ПВР). Тогаш се создаде химерен ген со замена на КОП генските секвенци од човечка гама1 тешка верига наместо тие од глувчешката тешка верига. Во слична постапка, КОП од глувчешката капа беа слепени со човечкиот ген за капа. Химеричните гени создадени на тој начин се внесуваат во векторите кои дозволуваат високо ниво на прикажување кај клетките од цицачите. Кога соодветната клеточна линија беше контрансфектирана и со двата конструкти, таа создава химерни противтела кои содржат КОП од глувчешко потекло заедно со човечката варијабилна работна рамка и константното подрачје. По пречистувањето, се проценува биолошката активност на противтелото, прво ин витро, а потоа во модел на животно примат. Почетните резултати беа мошне надежни. Пресаденото човечко константно подрачје ги поддржа ефекторните функции како што се разградувањето посредувано од комплемент или клеточно противтело зависната клеточна цитотоксичност (ПЗКЦ) на човечките Б-лимфоидни клетки. Покрај тоа, неделните инјекции на противтело во мајмуните доведувајќи до нагло и одржливо намалување на Б-клетките од периферната крв, лимфните јазли дури и во коскената срцевина. Кога сопреа инфузиите на противтелото против-КД20, диференцирањето на Б-клетките од популацијата на прогенитори ѝ овозможи на Б-клеточната популација со текот на времето да се возобнови и да достигне нормални нивоа. Од овие резултати, порасна надежта дека ова имуно активно химерно противтело може да се користи за отстранување цела Б-клеточна популација, вклучувајќи ги клетките од Б-лимфомот, од телото на начин кој ќе ги поштеди другите популации на клетки.

Човечките испитувања вклучија пациентите со Б-клеточен лимфом кај кои има повторување по лекувањето со зрачење или хемотерапија. Овие испитувања вклучуваа три значајни прашања: ефикасност, безбедност и имуногеност. Иако сите пациенти не реагираа на лекувањето со против-КД20, близу 50% имаа целосна или делумна ремисија. Според тоа, се покажа ефикасноста, бидејќи степенот на одговор се споредува со успешната стапка на обични методи кои употребуваат високо цитотоксични лекови или зрачење - тоа нуди вистинско алтернативно лекување. Кај одредени пациенти забележани се несакани ефекти, како што се гадење, низок крвен притисок и недостаток на воздух (обично при, или кратко по започнувањето на терапијата). Овие ефекти, во поголемиот дел, не беа сериозни или опасни за животот. Според тоа, лекувањето со химерното против-КД20 изгледа безбедно. Пациентите кои го примиле противтелото детално се испитуваат за појава на човечки противглувчешки Иг противтелен (ЧПГП) и човечки противхимерен противтелен (ЧПХП) одговор. Такви реакции не беа забележани. Оттука, противтелото не беше имуногенично. Отсуството на таквите реакции покажа дека противтелата може генски да се модифицираат за да ги сведат на минимум, или дури и да се избегнат, несаканите имуни реакции. Друга причина за очовечување на глувчешки противтела е мошне краткиот период на полураспаѓање (неколку часови) на ИгГ глувчешките противтела кај луѓето во споредба со периодот на полураспаѓањето од три недели кај луѓето или очовечените соодветни делови.

Модифицирањето на противтелата исто така придонесе за лекувањето на други опасности, како што е рак на дојката, кој се дијагностицира кај повеќе од 180000 американски жени секоја година. Малку повеќе од четвртина од сите пациенти со рак на дојката имаат рак кој прекумерно го прикажува рецепторот на факторот за раст наречен ХЕР2 (хуман епидермален рецептор на фактор за раст 2). Многу тумори кои прекумерно го прикажуваат ХЕР2 растат побрзо и претставуваат посериозна закана од оние тумори со нормално ниво на овој протеин врз нивната површина. Со генетско модифицирање се создаде химерно моноклонско противтело против-ХЕР2 во кој сите протеини освен КОР се од човечко потекло. Попрецизно, секвенците на ДНК за КОП од тешките и од лесните вериги беа земени од клонирани глувчешки гени кои го кодираа моноклонското противтело против-ХЕР2. Како при стратегијата против-КД20 која е опишана претходно, секој глувчешки генски сегмент КОП беќе употребен за соодветна замена на човечките КОР генски сегменти од човечките гени кои кодираат човечки ИгГ1 тешки вериги и човечка капа лесна верига. Кога ова модифицирано противтело се користи во комбинација со хемотерапевтскиот лек, тоа е мошне ефективно против метастатскиот рак на дојката. Ефектите врз пациенти на кои им беше даден само хемотерапевтски лек беа споредени со оние пациенти кои го примаат и хемотерапветскиот лек и модицираното противтело против-ХЕР2. Комбинираното лекување со против-ХЕР2/хемотерапија покажна значително намалени стапки на развој на туморот, висок процент од оние пациенти кои реагираа и повисока стапка на преживување за една година. Лекувањето со херцептин, како што гласи името на ова модифицирано моноклонско противтело, стана дел од стандардната разновидност на терапии за рак на дојката.

Развојот на модифицираните и обичните моноклонски противтела е една од најактивните области во фармацевтската индустрија. Табелата овозможува делумно прикажување моноклонски противтела кои се одобрени од Администрацијата за храна и лекови (Food and Drug Administration = FDA) за употреба при лекување човечки болести. Многу повеќе се во различни фази на развој и тестирање.

Некои моноклонски противтела во клиничката употреба

Моноклонско противтело (мПТ) (име на производот)	Потекло на противтелото	Цел (противтелна специфичност)	Лекување за
Муромонаб-КД3 (Ортоклон ОКТ3)	Глувчешко мМП	Т-клетки (КД3, Т-клеточен противген)	Акутно отфрлање на трансплантите на црниот дроб, срцето и бубрезите
Абциксимаб (РеоПро)	Химерно човек-глушец	Сосирувачки рецептор за крвни плочки (ГП 2б/3а)	Сосирување крв при ангиопластика и други кардиолошки постапки
Даклизумаб (Зенапакс)	Очовечено мПТ	Активирани Т-клетки (рецептор ИЛ-2 подединица алфа)	Акутно отфрлање на бубрежни трансплантит
Инфликсибмаб (Ремикад)	Химерно човек-глушец	Туморно некрозен фактор (ТНФ), посредник на воспаление	Ревматски артрит и Кронова болест
Паливизумаб (Синагис)	Очовечено мПТ	Респираторно синцицијален вирус (РСВ) (протеин Ф, компонента од РСВ)	Инфекција РСВ кај деца, посебно новороденчиња
Гемтузумаб (Милотарг)	Очовечено мПТ	Многу клетки од миелоидно потекло (КД33, атхезивен молекул)	Акутна миелоидна леукемија (АМЛ)
Алемтузумаб (Кампат)	Очовечено мПТ	Многу видови бели клетки (КД52 клеточно површински противген)	Б-клеточна хронична лимфоцитна леукемија
Трастузумаб (Херцептин)	Очовечено мПТ	Рецептор за епидермален фактор за раст (рецептор ХЕР2)	ХЕР2 рецептор позитивен, напреден рак на дојката
Ритуксимаб (Ритуксан)	Химерено човек-глушец	Б-клетки (КД20, Б-клеточен површински противген)	Повторен или упорен не-Хочкинов лимфом
Ибритумомаб (Зевалин)	Глувчешко мПТ	Б-клетки (КД20, Б-клеточен површински противген)	Повторен или упорен не-Хочкинов лимфом

ИЗВОР: Прилагодено од P. Carter 2001, Improving the efficacy of antibody-based cancer therapies, *Nature Reviews/Cancer* 1:118.

РЕЗИМЕ

- Имуноглобулинските капа и ламбда лесни вериги и тешките вериги се кодирани со три одделни повеќегенски фамилии, при што секој содржи бројни генски сегменти кои се поставени на различни хромозоми.
- Функционалните гени за тешките и за лесните вериги се создаваат со случајно преуредување на генските сегменти во варијабилно подрачје во ДНК од зародишната линија.
- Поврзувањето В(Д)Ј е катализирано од рекомбиназно активирачките гени, *РАГ-1* и *РАГ-2* и учеството на други ензими и протеини. Поврзувањето на сегментите е управувано од рекомбинациска сигнална секвенца (РСС), конзервирана ДНК секвенца која ги дипли секој генски сегмент од В, Д и Ј.
- Секоја рекомбинациска сигнална секвенца содржи конзервирана (зачувана) хептамерна секвенца, зачувана секвенца нонамер и било еднократен одделувач од 12 бп (едно поместување) или двократен одделувач од 23 бп (две поместувања). При преуредувањето, генските сегменти се лепат со еднократен одделувачот со едно поместување само до сегментите прилепени на двократен одделувач, обезбедувајќи соодветно поврзување на $В_Л$-$Ј_Л$ и $В_Т$-$Д_Т$-$Ј_Т$.
- Преуредувањето на имуноглобулинските гени настанува во последователен редослед: прво преуредувањето на тешките вериги, потоа преуредувањето на лесните вериги. Алелското исклучување е последица од функционалното преуредување на имуноглобулинската ДНК од само еден родителски хромозом и неопходно е потребно зрелата Б-клетка да прикажува имуноглобулин со специфичност за еден противген.
- Главните извори за противтелна разновидност, која може да создаде повеќе од 10^{10} можни области за комбинирање противтела, се: случајно спојување на повеќе генски сегменти В, Д и Ј од зародишната линија; случајно поврзување на тешките и лесните вериги; врзната флексибилност; П-додавање; Н-додавање; и соматски мутации. Сепак, кај одредени видови, како што се птиците и преживарите, процесите на соматска диверсификација се главни создавачи на првичниот репертоар од разновидност.
- По имунизацијата, соматската хипермутација е главен фактор за создавање противтела со зголемен афинитет за имунизираиот противген.
- По противгената стимулација на зрелите Б-клетки, превклучувањето класи доведува до прикажување различни класи на противтела (ИгГ, ИгА и ИгЕ) со иста противгена специфичност.
- Активациски индуцираната цитидна деаминаза (АИД) е неопходна за соматската хипермутација, преобразувањето гени и превклучувањето класи.
- Диференцијалното РНК прекројување на имуноглобулинскиот првичен запис од тешките вериги создава мембрански врзано противтело во зрелите Б-клетки, излачено противтело во плазма клетките и истовремено прикажување ИгМ и ИгД врз зрелите неискусни Б-клетки.
- Препишувањето на имуноглобулинските гени се регулира со најмалку два вида ДНК регулаторни секвенци: поттикнувачи и засилувачи.
- Растечкото знаење за молекулската биологија на имуноглобулинските гени овозможи модифицирање на противтела за истражување и терапија. Пристапите вклучуваат химерни противтела, фаго базирани библиотеки на Ig гени и внесување комплетни човечки имуноглобулински локуси во глувците или говедата за создавање човечки противтела.

Референци

Dreyer, W. J., and J. C. Bennett. 1965. The molecular basis of antibody formation. Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A. 54:864.

Eichmann, K. 2005. Köhler's Invention. Birkhäuser, Boston.

Flajnik, M. F. 2002. Comparative analyses of immunoglobulin genes: Surprises and portents. Nature Reviews Immunology 2:688.

Fugmann, S. D., et al. 2000. The RAG proteins and V(D)J recombination: Complexes, ends and transposition. Annual Review of Immunology 18:495.

Hozumi, N., and S. Tonegawa. 1976. Evidence for somatic rearrangement of immunoglobulin genes coding for variable and constant regions. Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A. 73:3628.

Hudson, P. J., and C. Souriau. 2003. Engineered antibodies. Nature Medicine 9:129.

Maizels, N., and M. D. Scharff. 2004. Molecular mechanism of hypermutation. In Molecular Biology of B Cells. T. Honjo, F. Alt, and M. Neuberger, eds. Elsevier, Amsterdam.

Maloney, D. G., et al. 1997. IDEC-C2B8 (Rituximab) anti-CD20 monoclonal antibody therapy in patients with relapsed low-grade non-Hodgkin's lymphoma. Blood 90:2188.

Marks, J. D. 2004. Monoclonal antibodies from display libraries. In Molecular Biology of B Cells. T. Honjo, F. W. Alt, and M. S. Neuberger, eds. Elsevier, Amsterdam.

Matsuda, F., et al. 1998. The complete nucleotide sequence of the human immunoglobulin heavy chain variable region locus. Journal of Experimental Medicine 188:2151.

Max, E. E. 2004. Immunoglobulins: molecular genetics. In Fundamental Immunology, 5th ed., W. E. Paul, ed. Lippincott-Raven,v Philadelphia.

Mostoslavsky, R., F. W. Alt, and K. Rajewsky. 2004. The lingering enigma of the allelic exclusion mechanism. Cell 118:539.

Muramatsu, M., et al. 2000. Class switch recombination and hypermutation require activation-induced cytidine deaminase (AID), a potential RNA editing enzyme. Cell 102:553.

Oettinger, M. A., et al. 1990. RAG-1 and RAG-2, adjacent genes that synergistically activate V(D)J recombination. Science 248:1517.

Tonegawa, S. 1983. Somatic generation of antibody diversity. Nature 302:575.

Корисни веб-страници

www.clinicaltrials.gov

Оваа страна овозможува најнови информации за федерално и приватно поддржаните клинички испитувања

преку употреба на волонтери. Дава информации за намерата, упатствата за регрутирање лица, локации и телефонски броеви за повеќе детали. Деталните информации за резултатите од клиничките испитувања кои вклучуваат моноклонски противтела може да се најдат на оваа страница.

www.google.com

Одберете Google groups, слободен онлајн сервис за заедницата и дискусијата на групите кој нуди детална архива на написите од Usenet за многу теми. На страницата на Google group, внесувањето на изразите *противтело* и *прикажување фаѓи* ќе даде многу страници со корисни информации за модифицирањето на противтелата.

www.imgt.cines.fr

Страницата IMGT содржи колекција од бази на податоци за гените кои се значајни за имуниот систем. Базата на податоци IMGT/LIGM содржи секвенци кои припаѓаат на суперфамилијата на имуноглобулините и секвенци на Т-клеточниот противген рецептор.

Прашања за учење

ПРАШАЊЕ ОД КЛИНИЧКИОТ ФОКУС Делот на клиничкиот фокус вклучува табела на моноклонски противтела кои се одобрени за клиничка употреба. Два од нив, ритуксан и зевалин, се користат за лекување не-Хочкинов лимфом. И двата целат кон КД20, Б-клеточен површински противген. Зевалин е хемиски модифициран со прикачување радиоактивни изотопови (итриум-90, бета-предавател или индум-111, високо-енергетски гама-предавател) кои смртно ги озрачуваат клетките за кое се врзува моноклонското противтело. Раните експерименти откриј дека зевалин без закачување радиоактивен изотоп беше неефективен терапевтски агенс, додека неозначениот ритуксан, очовечено мПТ, беше ефикасен. Понатаму, ритуксан со закачен радиоактивен изотоп беше претоксичен. Зевалин кој го носи истиот изотоп во иста количина беше доста понетоксичен. Објаснете ги овие резултати (помош: Колку подолго радиоактивниот изотоп се наоѓа во телото, толку е поголема дозата на зрачење апсорбирана од телото).

1. Означете кој од следниве искази е точен или неточен. Доколку мислите дека одреден исказ е неточен, објаснете зошто.
   а. Генските сегменти $В_{капа}$ понекогаш се врзуваат за генските сегменти $К_{ламбда}$.
   б. Со исклучок на превклучувањето во ИгД, превклучувањето на класата на имуноглобулини е посредувано со преуредувањето на ДНК.
   ц. Различни егзони го кодираат трансмембранскиот дел од секој мембрански имуноглобулин.
   д. Иако секоја Б-клетка носи два алели кои ги кодираат имуноглобулинските лесни и тешки вериги, прикажан е само еден алел.
   е. Првичните записи се преработуваат во функционална мРНК со отстранување на интроните, капа (capping) и додавање на поли-А опашка.
   ф. Првичниот запис претставува РНК комплементарна на кодирачката верига од ДНК и вклучува интрони и егзони.
2. Објаснете зошто сегментот $В_Т$ не може да се поврзе директно со сегементот $Ј_Т$ во генското преуредување на тешката верига.
3. Имајќи ги предвид само комбинаторското поврзување на генските сегменти и поврзувањето на лесните и тешките вериги, колку различни противтелни молекули потенцијално може да се создадат од зародишна ДНК која содржи 500 $В_Л$ генски сегменти и 4 $Ј_Л$ и 300 $В_Т$, 15 $Д_Т$ и 4 $Ј_Т$ генски сегменти?
4. За секој нецелосен исказ (а-е), одберете ја/ги фразата/-те која/и точно го дополнува/ат исказот. Може да биде точен повеќе од еден исказ.
   а. Рекомбинацијата на имуноглобулинските генските сегменти служи за:
   (1) да овозможи диверзификација на Иг,
   (2) склопување комплетна Иг кодирачка секвенца,
   (3) овозможување на промените во кодирачките информации при зреењето на Б-клетките,
   (4) да го зголеми афинитетот на имуноглобулинот за противтелото,
   (5) сите од горе наведените.
   б. Соматската мутација на имуноглобулинските гени се однесува на:
   (1) алелско исклучување,
   (2) превклучување класи од ИгМ кон ИгГ,
   (3) афинитетно зреење,
   (4) сите од горе наведените,
   (5) никој од горе наведените.
   ц. Зачестеноста на соматската мутација на Иг гени е најголема при:
   (1) диференцирање на пред-Б-клетките во зрели Б-клетки,
   (2) диференцирање на пред-Т-клетките во зрели Т-клетки,
   (3) создавање памтечки Б-клетки,
   (4) лачење противтело од плазма клетките,
   (5) никој од горе наведените.
   д. Капа- и ламбда-гените за лесните вериги
   (1) се наоѓаат во ист хромозом,
   (2) се поврзуваат со само еден тип на тешка верига,
   (3) можат да бидат прикажани во иста Б-клетка,
   (4) сите од горе наведените,
   (5) никој од горе наведените.
   е. Создавањето на комбинаторна разновидност меѓу имуноглобулините вклучува
   (1) прекројување мРНК,
   (2) преуредување ДНК,
   (3) рекомбинациска сигнална секвенца,
   (4) правило на еднократно/двократно спојување,
   (5) превклучувачки места.
   ф. Б-клетката станува имунокомпетентна:
   (1) по продуктивното преуредување на варијабилните генски сегменти од тешките вериги во зародишната ДНК,
   (2) по продуктивното преуредување на варијабилните генските сегменти од тешките вериги и од лесните вериги во зародишната ДНК,
   (3) по превклучувањето класи,
   (4) при афинитетно зреење,
   (5) по врзување Тпо цитокини за нивните рецептори во Б-клетките.
   г. Механизамот кој овозможува имуноглобулините да се синтетизираат или во мембрански врзана форма или во излачена форма е:

(1) алелско исклучување,
(2) кодоминантно прикажување,
(3) превклучување класи,
(4) правило на еднократно/двократно спојување,
(5) диференцијално прекројување РНК.

5. Кои механизми ги создаваат трите хиперваријабилни подрачја (комплементарно одредувачки подрачја) во тешките и лесните вериги од имуноглобулините? Зошто третото хиперваријабилно подрачје (КОП3) е попроменливо отколку другите две (КОП1 и КОП2)?

6. Дадена е клонирана миеломна клетка која лачи ИгГ со молекулска формула гама$_2$ ламбда$_2$. И тешките и лесните вериги во оваа клетки се кодирани од гените кои се изведени од алелот 1. Со употреба на следниве симболи означете ја/ги формата/те во која/и секој од гените кои се долу наведени ќе се појави во оваа клетка: З = зародишна форма, Р = продуктивно преуредена форма, НП = непродуктивно преуредена форма. Наведете ја причината за вашиот избор при секој случај.

а. Алел 1 од тешка верига.
б. Алел 2 од тешка верига.
ц. Алел 1 од лесната верига капа.
д. Алел 2 од лесната верига капа.
е. Алел 1 од лесната верига ламбда.
ф. Алел 2 од лесната верига ламбда.

7. Имате Б-клеточен лимфом кој создал непродуктивно преуредување на двата алели од тешката верига. Каков е распоредот на нејзината ДНК од лесните вериги? Зошто?

8. Наведете кој од следниве превклучувачи на класи кои се наведени долу може да се појави (*да*) или не може да се појави (*не*).

а. ИгМ во ИгД.
б. ИгМ во ИгА.
ц. ИгЕ во ИгГ.
д. ИгА во ИгГ.
е. ИгМ во ИгГ.

9. Објасните една предност и еден недостаток на Н-нуклеотидно додавање при преуредувањето на генските сегменти во тешка верига од имуноглобулините.

10. Икс рендгенската кристалографска анализа на многу противтелни молекули кои се врзани за противгени откри дека КОП3 и од тешката и од лесната верига контактираат со епитопот. Покрај тоа, анализата на секвенцата укажа дека променливоста на КОП3 е поголема од онаа и на КОП1 и КОП2. Кој механизам е одговорен за поголемата разновидност на КОП3?

11. Колку шанси има Б-клетката која се развива за создавање функционален имуноглобулински ген за лесна верига?

12. Поврзете ги изразите (а-ж) со описот/те кои се означени со (1-11). Секој опис може да се искористи еднаш, повеќе од еднаш или воопшто да не се искористи. Повеќе од еден опис може да биде точен за одредени изрази.

Изрази

а. ____ РАГ-1 и РАГ-2
б. ____ репаративни ензими за рапарација на две вериги (ДСБР)
ц. ____ Кодирачки споеви
д. ____ РСС
е. ____ П-нуклеотиди
ф. ____ Н-нуклеотиди
г. ____ Поттикнувачи
х. ____ Засилувачи

Описи

(1) Врски меѓу имуноглобулинските генски сегменти создадени при преуредувањето.
(2) Извор за разновидност во тешките вериги на противтелото.
(3) ДНК регулаторни секвенци.
(4) Зачувани ДНК секвенци, поставени соседно на сегментите В, Д и Ј, кои помагаат да се насочи со генското преуредување.
(5) Ензимите прикажани во Б-клетките кои се развиваат.
(6) Ензимите прикажани во зрелите Б-клетки.
(7) Нуклеотидните секвенци поставени блиску до секој лидерски сегмент во имуноглобулинските гени за кои се врзуваат РНК полимеразите.
(8) Продукт од ендонуклеазното расечување на шнолата посредува во преуредувањето на Иг.
(9) Ензими кои се дефективни во СКИД глушецот.
(10) Нуклеотидните секвенци кои во голема мера ја зголемуваат стапката на препишувањето на преуредените имуноглобулински гени споредени со зародишната ДНК.
(11) Нуклеотидите додадени со ензимот ТдТ.

13. Многу Б-клеточни лимфоми прикажуваат површински имуноглобулини врз нивните плазма мембрани. Можна е изолација на ова лимфомно противтело и да се создаде високо афинитетно, високо специфично глувчешко моноклонско против идиотипно противтело против него. Кои чекори треба да се преземат за да се направи ова глувчешко моноклонско противтело најсоодветно за употреба кај пациент? Мошне е веројатно дека штом се создаде, таквото модифицирано противтело ќе биде општо корисно за пациентите со лимфом?

14. На кое ниво, ДНК или РНК, ја одредуваат секоја од следниве секвенци?

а. Мембранско наспроти излачено противтело.
б. ИгМ наспроти ИгД.
ц. Поврзување В-Ј.
д. ИгА наспроти ИгЕ.
е. Поврзување В-Д-Ј.

15. Тенденцијата да станат алергични може да се наследи, врз база на генската предиспозиција која го фаворизира создавањето на ИгЕ противтела. Сепак, противгенот на кој едно лице е алергично (на алерген) не се наследува. Имајќи предвид како се создава специфичноста на противтелото, објаснете ја оваа јасна контрадикторност.

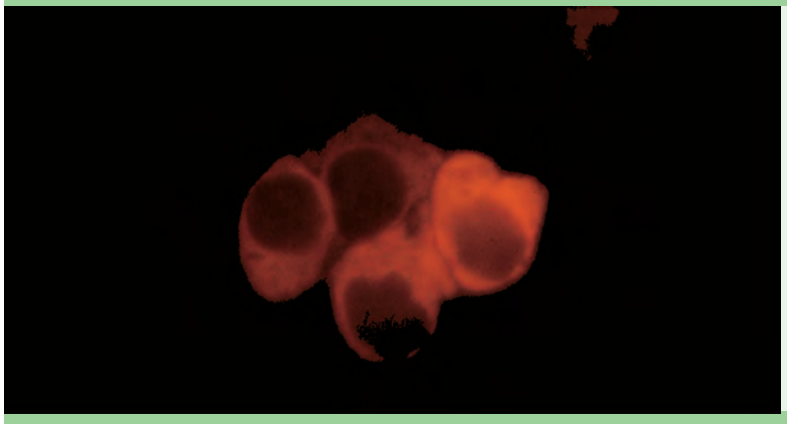
Интрактивно учење

www.whfreeman.com/kuby

Самостоен тест
Преглед на клучни изрази

Поглавје 6

Меѓудејства противген-противтело. Начела и примени



Флуоресцентно боење на противтелата открива внатреклеточен имуноглобулин. [H. A. Schreuder et al, 1997, Nature 386:196; сопственост H. Schreuder, Hoechst Marion Roussel.]

- Сила на меѓудејствата противген-противтело
- Вкрстена реактивност
- Површна пазмонска резонанца (ППР)
- Таложни реакции
- Слепувачки реакции
- Радиоимунолошки метод
- Ензимски-врзан имуноапсорбентен метод
- Вестерново дамкосување
- Имуноталожење
- Имунофлуоресценција
- Проточна цитометрија и флуоресценција
- Алтернативи на реакциите противген-противтело
- Имуноелектронска микроскопија

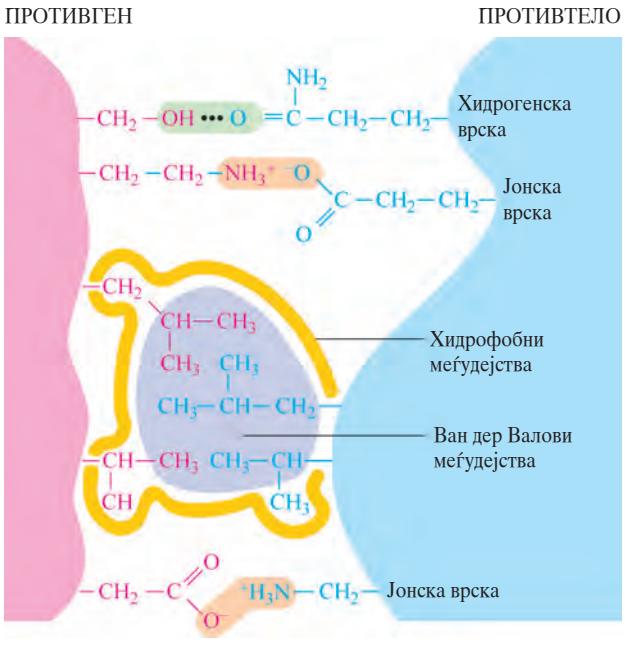
Меѓудејство противген-противтело е биомолекулско поврзување кое е слично на меѓудејствата ензим-супстрат, со значајна разлика: тоа не води до неповратно хемиско менување на противгенот или противтелото. Врската меѓу противгенот и противтелото вклучува разни нековалентни меѓудејства меѓу противгената одредница, или епитопот, на противгенот и доменот во варијабилното подрачје ($В_Т/Л_Т$) од противтелниот молекул, посебно хиперваријабилните подрачја или комплементарно одредувачките подрачја (КОП). Големата специфичност на меѓудејството противген-противтело доведе до развој на разни имуни анализи, кои се користат за откривање на присуството на противген или противтело. Имуноанализите одиграа значајна улога при дијагностицирање на болестите, надгледување на хуморалниот имун одговор и утврдување на молекулите кои се од биолошки или медицински интерес. Овие анализи се разликуваат по нивната брзина и сензитивност, дел од нив се строго квалитативни, други се квантитативни. Ова поглавје ја истражува природата на меѓудејствата противген-противтело и различни имуни анализи кои го мерат или го искористуваат ова меѓудејство.

Сила на меѓудејствата противген-противтело

Нековалентните меѓудејства кои ја формираат основата за врзувањето противген-противтело (Пг-Пт) вклучуваат водородни врски, јонски врски, хидрофобни меѓудејства и ван дер Валови меѓудејства (слика 6-1). Бидејќи овие меѓудејства сами по себе се слаби (во споредба со ковалентната врска), потребни се голем број вакви реакции за формирање силно меѓудејство Пг-Пт. Покрај тоа, секоја од овие нековалентни меѓудејства работи на многу кратко растојание, во основа околу 1 x 10^{-7} мм (1 ангстром, Å). Според тоа, силното меѓудејство Пг-Пт зависи од мошне блиската врска меѓу противгенот и противтелото. Таквите врски бараат висок степен на комплементарност меѓу противгенот и противтелото, барање кое ѝ подлежи на големата специфичност која ги карактеризира меѓудејствата противген-противтело.

Противтелниот афинитет е квантитативна мерка за силата на врзување

Комбинираната сила на нековалентните меѓудејства меѓу *едно* противген врзувачко место и *еден* епитоп е **афинитетот** на противтелото за тој епитоп. Противтелата со низок афинитет за противген се врзуваат слабо и тежнеат лесно да се одделат, додека противтелата со висок афинитет поцврсто се врзуваат за противгенот и остануваат врзани подолго време. Врската меѓу противтелното врзно место (Пт) со моновалентен противген (Пг) може да се прикаже како равенка



СЛИКА 6-1 **Меѓудејството меѓу противтелото и противгенот зависи од четири типови нековалентни сили: (1) хидрогенски врски, во кои водородниот атом се дели меѓу два електронегативни атоми. (2) Јонски врски меѓу спротивно наелектризираните остатоци. (3) Хидрофобни меѓудејства, каде што водата присилува зближување на хидрофобните групи. (4) Меѓудејствата ван дер Вал меѓу надворешните електронски групи од два или повеќе атоми.** Во водена средина, нековалентните меѓудејства се доста слаби и зависат од блиската комплементарност на облиците на противтелото и противгенот.

$$\text{Пг} + \text{Пт} \underset{\kappa_{-1}}{\overset{\kappa_1}{\rightleftharpoons}} \text{Пг-Пт}$$

каде κ_1 е константата на предната (поврзувачка) стапка а κ_{-1} е константата на спротивната (одвојувачка) стапка. Во биохемиски рамки, односот на κ_1/κ_{-1} е **поврзувачка (асоцијациска) константата, K_a** (на пример, $\kappa_1/\kappa_{-1} = K_a$) мерка за афинитет. Во имунологијата K_a е наречена **афинитетна константата**. Бидејќи K_a е константата на рамнотежата за реакцијата на противтелното врзно место со противгенот и бидејќи моларната концентрација на едно врзно место е еднакво на концентрацијата на противтелото, K_a може да се пресмета од односот на моларната концентрација на врзаниот комплекс Пг-Пт со моларната концентрација на неврзаните противген и противтело при рамнотежата:

$$K_a = \frac{[\text{Пг-Пт}]}{[\text{Пг}][\text{Пт}]}$$

Вредноста на K_a варира за различни комплекси Пг-Пт и зависи и од κ_1, која се изразува во единици литар/мол/секунда (Л/мол/с) и κ_{-1}, кој е изразен во единици 1/секунда. За малите хаптени, константата на предната (поврзувачка) стапка κ_1 може да биде мошне голема, во одредени случаи, висока од 4 x 10^8 Л/мол/с, доближувајќи се до теоретската горна граница која е ограничена од дифузиската реакција (10^9 Л/мол/с). За поголемите протеински противгени, κ_1 е помала, со вредност во опсег од 10^5 Л/мол/с.

Стапката при која поврзаниот противген го напушта противтелното врзно место (т.е., константата на стапката при одвојување, κ_{-1}) е главна одредница за афинитетот на противтелото за противген. Табела 6-1 ја прикажува улогата на κ_{-1} при одредувањето на константата на поврзување K_a за неколку меѓудејства Пг-Пт. На пример, κ_1 за системот ДНФ-Л-лизин е околу една петтина отколку кај флуоресцеинскиот систем, но нејзината κ_{-1} е 200 пати поголема. Според тоа, афинитетот на противфлуоресцеинското противтело K_a за флуоресцеинскиот систем е 1000 пати повисок отколку афинитетот на противтелото против-ДНФ. Ниско афинитетните комплекси Пг-Пт имаат K_a вредности меѓу 10^4 и 10^5 Л/мол, високо афинитетните комплекси може да имаат K_a вредности високи до 10^{11} Л/мол.

За одредени цели, оддвојувањето на комплексот противген-противтело е од интерес:

$$\text{Пг-Пт} \rightleftharpoons \text{Пг} + \text{Пт}$$

Константата на рамнотежата за овој одговор на одвојување, $K_д$, **одвојувачка (дисоцијациска) константа**, е еднаква на реципроцитетната K_a:

$$K_д = \frac{[\text{Пг}][\text{Пт}]}{[\text{Пг-Пт}]} = 1/K_a$$

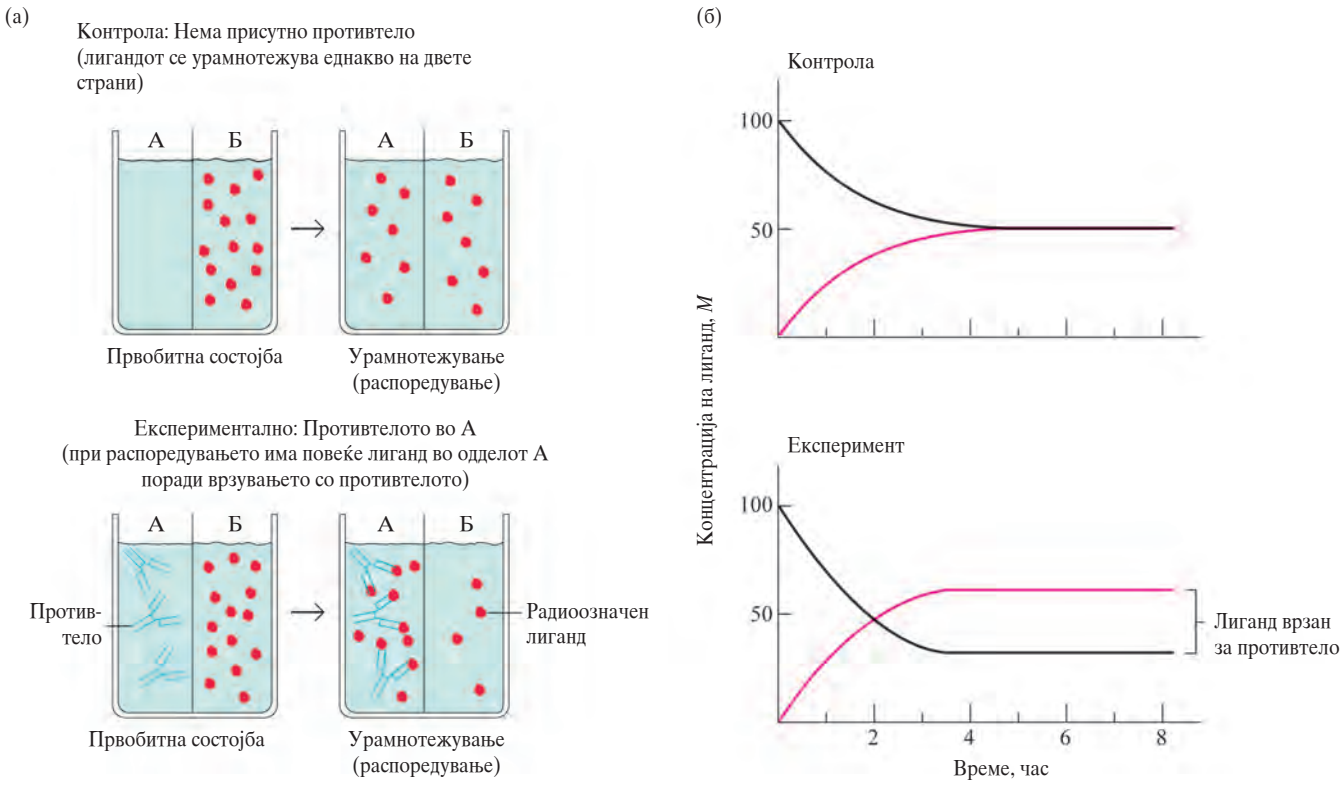
Многу стабилните комплекси имаат многу ниски вредности на $K_д$, а помалку стабилните имаат повисоки вредности. Иако $K_д$ не е константа за афинитет, константата за афинитет, K_a, може лесно да се пресмета од $K_д$ на следниов начин: $K_a = 1/K_д$.

Константата за афинитет, K_a претходно одредена со **рамнотежна дијализа**, сега се изведува преку нови методи, посебно

TABELA 6-1 **Константите на предната и спротивната стапка (κ_1 и κ_{-1}) и константите на поврзување и одвојување (K_a и $K_д$) за три меѓудејства лиганд-противтело**

Противтело	Лиганд	κ_1	κ_{-1}	K_a	$K_д$
Анти-ДНФ	Епсилон-ДНФ-Л-лизин	8 x 10^7	1	1 x 10^8	1 x 10^{-8}
Антифлуоресцеин	Флуоресцеин	4 x 10^8	5 x 10^{-3}	1 x 10^{11}	1 x 10^{-11}
Антиговедски серум албумин (ГСА)	Данзил-ГСА	3 x 10^5	2 x 10^{-3}	1,7 x 10^8	5,9 x 10^{-9}

ИЗВОР: Приспособено од H. N. Eisen, 1990, Immunology, 3rd ed., Harper & Row, Publishers.



СЛИКА 6-2 Одредување противтелен афинитет преку рамнотежната дијализа. (а) Комората за дијализа содржи два оддели (А и Б) кои се одвоени со полупропустлива мембрана. Противтелото се додава во еден оддел, а радиоозначениот лиганд во друг. При рамнотежата, се мери концентрацијата на радиоактивноста во двата оддели. (б) Претставување на концентрацијата на лигандот во секој оддел со време. При рамнотежата, разликата во концентрацијата на радиоактивниот лиганд во двата оддела ја претставува количината на лигандот кој е врзан за противтелото.

површна плазмонска резонанца (ППР), која е објаснета во следниот дел. Бидејќи рамнотежната дијализа ги покажува значајните начела и за одредени имунолози и понатаму останува стандард според кој се проценуваат другите методи, таа е објаснета овде. Оваа постапка користи комора за дијализа која содржи два еднакви оддели одвоени со полупропустна мембрана. Противтелото е поставено во едниот оддел, а радиоактивно означениот лиганд кој е доволно мал за да помине низ полупропустната мембрана е поставен во другиот оддел (слика 6-2). Соодветните лиганди вклучуваат хаптени, олигосахариди и олигопептиди. Во отсуство на противтело, лигандот кој се додава во одделот Б ќе се урамнотежи на двете страни од мембраната (слика 6-2а). Од друга страна, во присуство на противтело, дел од означниот лиганд ќе се врзе за противтелото при урамнотежувањето, заробувајќи го лидандот на страната на противтелото во садот, додека неврзаниот лиганд еднакво ќе се распореди во двата оддели. Според тоа, вкупната концентрација на лигандот ќе биде поголема во одделот кој го содржи противтелото (слика 6-2б). Разликата во концентрацијата на лигандот во двата оддела ја претставува концентрацијата на лигандот кој се врзува за противтелото (т.е. концентрацијата на комплексот Пг-Пт). Колку е поголем афинитетот на противтелото, толку повеќе лиганд се врзува.

Бидејќи е позната концентрацијата на противтелото во комората при рамнотежната дијализа, концентрацијата на комплексите противген-противтело може да се одреди со [Пг-Пт]/*н*, каде *н* е бројот на врзувачки места во противтелниот молекул. Константата на рамнотежа или константа на афинитетот, K_a, за единечно место на врзување е:

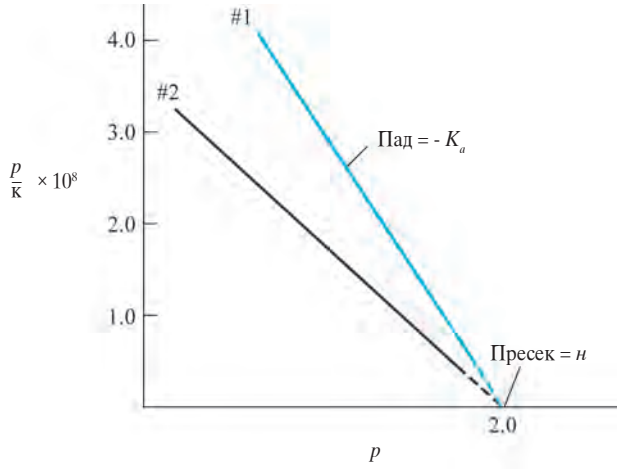
$$K_a = [\text{Пг-Пт}]/[\text{Пг}][\text{Пт}] = \frac{p}{к(н\text{-}p)}$$

каде *p* е еднаков на односот од концентрацијата на врзаниот лиганд со вкупата концентрација на противтелото, *к* е концентрацијата на слободниот лиганд, а *н* останува бројот на врзни места по еден противтелен молекул. Овој израз може да се преуреди за да ја даде **Скачардовата равенка** (**Scatchard equation**):

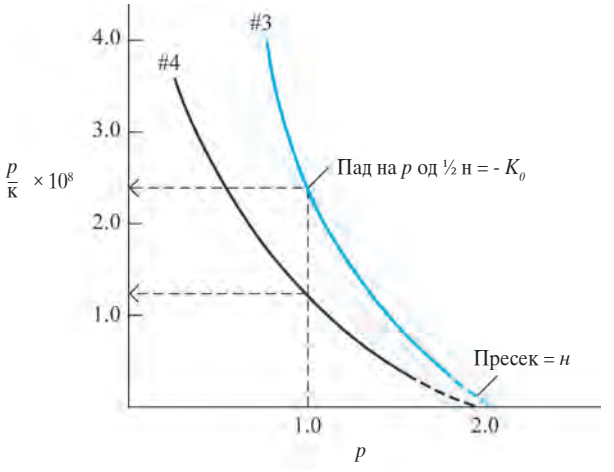
$$\frac{p}{к} = K_a н - K_a p$$

Вредностите за *p* и *к* може да се добијат со повторувачки рамнотежни дијализи со истата концентрација на противтелото, но со различни концентрации на лигандот. Ако K_a е константна, т.е., ако сите противтела во комората за дијализа имаат ист афинитет за лигандот, тогаш претставувањето на Скачардовиот дијаграм на *p*/*к* наспроти *p* ќе даде права линија со пад од - K_a (слика 6-3а). Како што концентрацијата на неврзаниот лиганд *к* се зголемува, *p*/*к* се приближува до 0, а *p* се приближува до

(а) Хомогено противтело



(б) Хетерогено противтело



СЛИКА 6-3 Скачардовата равенка базира на повторена рамнотежна дијализа со постојана концентрација на противтело и променлива концентрација на лиганд. При овие прикажувања, р е еднакво на молите од врзаниот лиганд/мол противтело, а к ја претставува концентрацијата на слободниот лиганд. Од равенката на Скачард можат да се добијат и константата на рамнотежата ($К_а$) и бројот на противтелно врзувачки места по противтелен молекул (*н*), или неговата валентност. (а) Ако сите противтела го имаат истиот афинитет, тогаш равенката на Скачард ќе даде права линија со пад - $К_а$. Пресекот *x* е *н*, валенцијата на противтелото, што е 2 за ИгГ и за другите двовалентни имуноглобулини. За ИгМ, кој е пентамер, *н*=10, а за дијамерниот ИгА, *н*=4. На оваа шема, противтелото бр. 1 има повисок афинитет од противтелото бр. 2. (б) Ако подготовката на противтелото е поликлонска и има голем број афинитети, равенката на Скачард дава искривена линија чиј пад постојано се менува. Константата за просечен афинитет $К_0$ може да се пресмета со одредување на вредноста на Ка кога половина од противген врзните места се пополнети (т.е. кога *p=1*, во овој пример). На овој графикон, противсерумот бр. 3 има повисок афинитет (K_0 = 2.4 x 10^8) од противсерумот бр.4 (K_0 = 1.25 x 10^8). Забележете дека кривите кои се прикажани на сл. (а) и (б) се дивалентни противтела како што е ИгГ.

н, **валентноста**, која е еднаква на бројот на врзни места по противтелен молекул.

Најголемиот број подготовени противтела се поликлонски, - присутна е хетерогена смеша од противтела со голем број афинитети. Равенката на Скачард за хетерогено противтело дава искривена линија чиј пад постојано се менува, изразувајќи ја хетерогеноста на противтелото (слика 6-3б). Со овој вид на равенка на Скачард, можно е да се одредени константата за просечен афинитет, K_0, со одредување на вредноста на K_a кога половина од противген врзните места се пополнети. Ова обично се прави со одредување на падот на кривата во момент кога половина од областите за поврзување противген се пополнети.

Противтелниот афинитет вклучува афинитет од повеќекратни врзни места

Афинитетот на противтелото секогаш не ја отсликува вистинската сила на меѓудејствата противтело-противген. Кога сложените противгени кои содржат повеќе, повторувачки противгени одредници ќе се измешаат со противтелата кои содржат повеќе страни за поврзување, меѓудејствата на противтелниот молекул со противгениот молекул во едно место ќе ја зголеми можноста за одговор меѓу два молекула во втората област. Силата на таквите повеќекратни меѓудејства меѓу повеќевалентното противтело и противгенот е наречена **авидитет**. Авидитетот подобро се мери отколку афинитетот за кватифицирање на врзувачкиот капацитет на противтелото во биолошките системи (т.е. реакцијата на противтелото со противгените одредници во вирусната или бактериската клетка). Авидитетот е константата за рамнотежа, $К_{eq}$, за меѓудејството меѓу незасегнатото противтело и противгенот, афинитетот е константа за рамнотежа за реакцијата меѓу единечно врзно место за противтелото и противгенот. Во идеални услови, авидитетот треба да биде продуктот од афинитетите на секое единечно врзно место на противтелото. За молекулот на ИгГ, која има две страни за поврзувања со идентични афинитети, авидитетот во идеални услови ќе биде:

$$\text{Авидитет} = K_а \times K_а = (K_а)^2 = K_{eq} = \frac{[\text{Пг}][\text{Пт}]}{[\text{Пг}][\text{Пт}]}$$

Оваа равенка го претставува теоретскиот максимум за авидитетот. Вистинските авидитети се секогаш неколку пати помали од продуктот од афинитетите. Разликата првенствено се јавува поради геометријата на поврзувањето Пт-Пг. Врзното место на едно противтело кое е во контакт со еден епитоп од противгенот може да биде оптимално ориентирано за најдобро вклопување, додека поврзувањето на повеќе епитопи на целниот противген до одреден степен може да бара делумна геометрија и помалку оптимално поврзувачко меѓудејство. Покрај геометриските бариери за постигнување максимални теоретски вредности на авидитетот, авидитетот е поголем од афинитетот. Според тоа, високиот авидитет може често

да надомести низок афинитет. На пример, врзните места од лачебните пентамерни ИгМ молекули често имаат значително помал афинитет од мономерните ИгГ, но повисокиот авидитет на ИгМ, кој резултира од нејзината висока валенција, му овозможува ефективно да се врзе за противтело. Во суштина, во случајот на противгенот со мошне близу поставени, повторувачки епитопи, како што се оние кои се среќаваат на површината од бактеријата и други патогени, ИгМ со врзни места со низок афинитет може поцврсто да се поврзе отколку ИгГ со врзни места со висок афинитет.

Вкрстена реактивност

Иако реакциите Пг-Пт се високо специфични, во одредени случаи противтелото кое е поттикнато од еден противген може вкрстено да реагира со неповрзаниот противген. Таква **вкрстена реактивност** настанува кога два различни противгени делат идентичен или доста сличен епитоп. Во вториот случај, афинитетот на противтелото за епитопот кој вкрстено реагира обично е помал од оној за оригиналниот епитоп.

Вкрстената реактивност често се среќава кај полисахардните противгени кои содржат слични олигосахаридни остатоци. На пример, **противгените од крвната група АБО**, се гликолипиди кои се прикажани врз црвените крвни клетки. Мали разлики во терминалните остатоци од шеќерот кој е прикачен за овие клеточно површински гликолипиди прават разлика меѓу противгените од А и Б крвната група. Иако механизмите за поднесување (толеранција) спречуваат создавање противтела против противгените од сопствената крвна група, лице кое нема ниеден од овие противгени ќе има серумски противтела за противгенот(ите) кој/и недостасува/ат, кои не се поттикнати од изложување кон противгени од црвените крвни зрнца, туку со изложување кон микробски противгени кои вкрстено реагираат и кои се присутни во вообичаените тенкоцревни бактерии. Овие микробски противгени го поттикнуваат создавањето противтела кај лицата кои немаат противгени со слична крвна група во нивните црвени клетки (кај лицата кои ги имаат овие противгени, комплементните противтелата ќе се отстранат при фазата на развој, при која Б-клетките кои создаваат противтела кои препознаваат внатрешни епитопи се отстрануваат). (Види Поглавје 16). Противтелата од оваа крвна група, иако се поттикнати од микробските противгени, вкрстено ќе реагираат со слични олигосахариди врз туѓи црвени крвни клетки, овозможувајќи ја основата за правење тестови за одредување крвни групи и се одговорни за потребата од соодветни крвни групи при трансфузијата на крв. Лицето тип А има противтела против-Б, лицето тип Б има противтела против-А, а лицето О има против-А и против-Б (табела 6-2).

Одреден број вируси и бактерии имаат противгени одредници кои се идентични или слични со нормалните делови од клетката на домаќинот. Во одредени случаи, се покажа дека овие микробски противгени поттикнуваат противтело кое вкрстено реагира со деловите од клетката на домаќинот, што доведува до автоимун одговор кој го оштетува ткивото. Бактеријата *Streptococcus pyogenes*, на пример, лачи протеини од ѕидот на клетката наречени М-противгени. Се покажа дека противтелата создадени кон стрептококните М-противгени вкрстено реагираат со неколку миокардни и скелетно мускулни протеини и по стрептококната инфекција се вклучени во оштетувањето на срцето и бубрезите. Улогата на другите противгени кои вкрстено реагираат во развојот на автоимуните болести се објаснети во Поглавје 16.

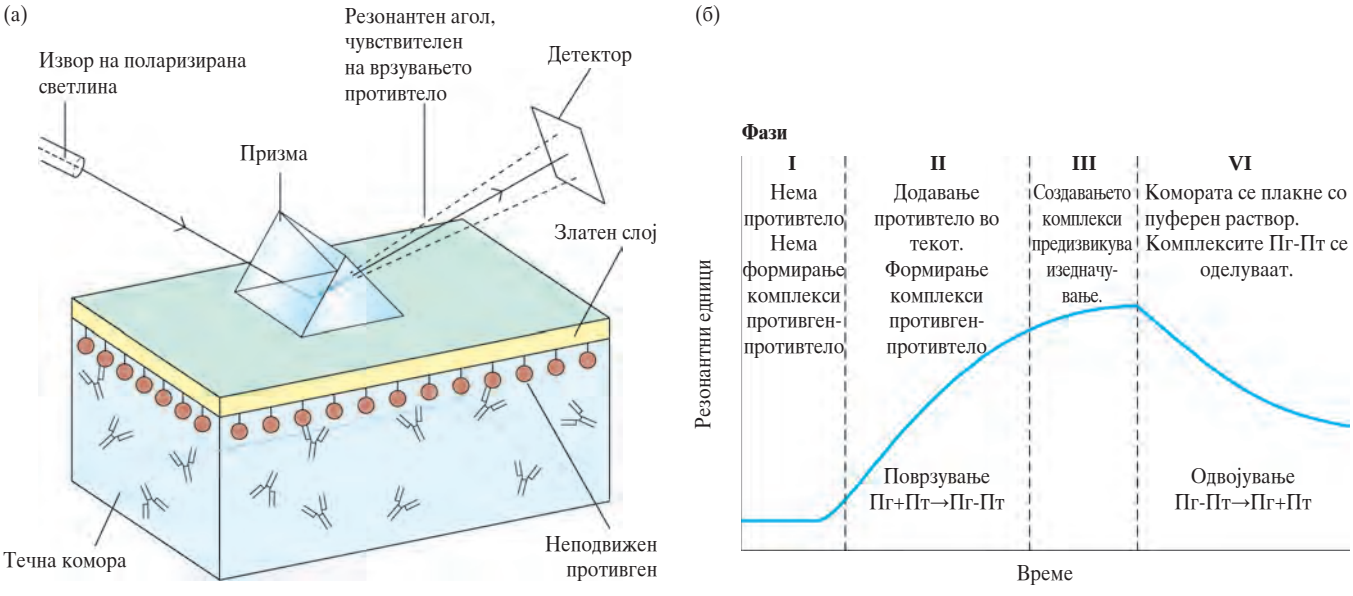
Одредени вакцини, исто така, извршуваат вкрстена реактивност. На пример, вакцинија вирусот, кој предизвикува кравји сипаници, прикажува епитопи кои вкрстено реагираат со вариола вирусот, агенс кој предизвикува големи сипиници. Вкрстената реактивност ја претставуваше основата за методот на Џенер за употреба на вакцинија вирусот за поттикнување имунитет за големите сипаници, како што е споменато во Поглавје 1.

ТАБЕЛА 6-2 Крвни групи АБО

Крвна група	Противгени врз ЦКК	Серумски противтела
А	А	Против-Б
Б	Б	Против-А
АБ	А и Б	Ниту една
О	Ниту една	Против-А и против-Б

Површна пазмонска резонанца (ППР)

Методите за рамнотежна дијализа за мерење на афинитетот на противтелото беа спречени уште од средните 90-ти години од дваесеттиот век и заменети со **површна плазмонска резонанца (ППР)**, која е далеку посензитивна, соодветна и брза (слика 6-4а). Покрај мерењето афинитетни константи, ППР може да се употреби за одредување на стапките на реакциите противген-противтело и дури може да се адаптира за мерење на концентрациите на противтелото. ППР работи со откривање промени во својствата кои ги отсликува на површината од сензорот кој е обвиткан со противген кога се врзува за противтело. Иако физиката која подлежи на ППР е мошне софистицирана и најдобро се разбира со читање на референцата (Рич и Мишка, 2003 година) и веб-страницата која е наведена на крајот од ова поглавје, методот е отворен и генијален. Зрак од поларизирана светлина е насочен низ призмата кон тенок златен филм (обвиткан со противген на спротивната страна) и прекршен од златниот филм кон сензор кој собира светлина. Сепак, од уникатен агол, дел од непрекршената светлина се апсорбира од златниот филм, нејзината енергија се трансформира во наелектризирани бранови наречени површински плазмони. При тој агол може да се измери остар наклон од интензитетот на прекшената светлина, кој е наречен резонантен агол. Аголот зависи од бојата на светлината, дебелината и спроводливоста на металниот филм и оптичките својства на материјалот кој е близок со површините на златниот слој. Методот ППР го искористува следниов фактор: врзувањето на противтелата за противгенот кој е прикачен за чипот има доволно силен ефект за да создаде видна промена во резонантниот агол. Се откри дека оваа промена е пропорционална на бројот на поврзани противтела. Со мерење на стапката при која се менува резонантиот агол при одговорот противген-противтело, може да се одреди



СЛИКА 6-4 Површна плазмонска резонанца (ППР). (а) Пуферен раствор кој содржи противтело минува низ течната комора, од кој еден ѕид содржи слој од неподвижен противген. Како што објаснивме во текстот, создавањето на противген противтелните комплекси врз овој слој предизвикува промена во резонантниот агол на снопот од поларизирна светлина на задниот дел од слојот. Чувствителен сензор ги снима промените на резонантниот агол при формирањето на противген противтелните комплекси. (б) Толкување на сензограмот. Постојат четири фази во пресметување на одговорот на детекторот (изразени како резонантни еденици, кои претставуваат промена од 0,0001 степени во резонантниот агол) наспроти времето. Фаза 1: Пуферот минува низ течната комора. Нема присуство на комплекси Пг-Пт, се утврдува основната линија. Фаза 2: Противтелото се внесува во текот и создава комплекси Пг-Пт. Растечкиот наклон од оваа крива е пропорционален со предната стапка од одговорот. Фаза 3: Кривата достигнува горна граница (плато) кога сите места кои можат да се врзат во моменталната концетрација на противтелото се пополнети. Фаза 4: Течната келија е исплакната со пуфер кој не содржи противтело, а комплексите Пг-Пт се раздвојуваат. Стапката на одвојување е пропорционална од наклонот на кривата на одвојување. Односот на наклони, растење над опаѓање, е еднаков на $\kappa_1/\kappa_2 = \kappa_a$

стапката на одговорот противген-противтело (слика 6-4б). При работа, ова се извршува преку минување раствор со позната концентрација на противтело врз противген обложен чип. Прикажувањето на промените кои се мерат при експериментот со ППР наспроти времето е наречено *сензограм*. Во текот на одговорот противген-противтело, резулататот на сензограмот расте сè додека сите места кои се способни за поврзување противтело (при дадена концентрација) не го направат истото. Сензограмот постигнува плато до таа точка. Податоците од овие мерења може да се користат за пресметување на κ_1, константа на стапката за поврзување во одговорот:

$$\text{Пт} + \text{Пг} \underset{\kappa_1}{\rightarrow} \text{Пт-Пг}$$

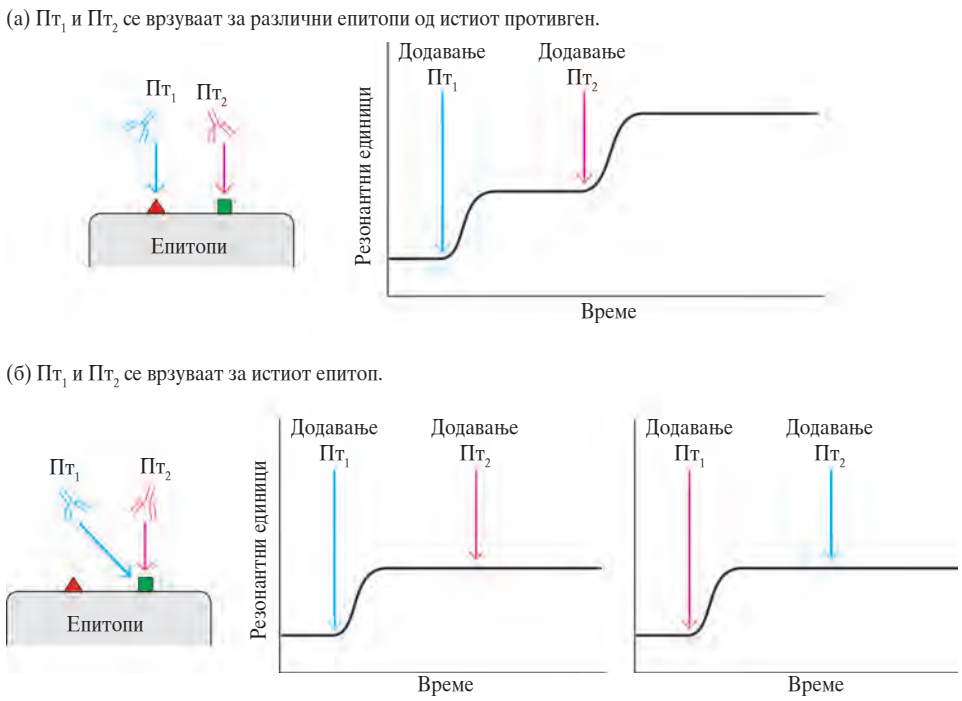
Штом ќе ја достигне горната граница, растворот кој не содржи противтела може да помине низ комората. При овие услови, противген противтелните комплекси се одвојуваат, овозможувајќи пресметување на константата на стапката за одвојување, κ_2. Мерењето на κ_1 и κ_2 овозможува одредување афинитетна константа, K_a, бидејќи $K_a = \kappa_1/\kappa_2$.

Површна плазмонска резонанца исто така може да се користи за мерење на концентрацијата на противтелото во примерокот. Количината на комплексот противген-противтело кој е создаден врз чипот е претставена со висината на сензограмот, а оваа мерка е директно пропорционална со количината на противтелото во растворот кој се движи низ комората. Преку споредување со референтните податоци (стандарди), може да се измерат концентрациите на противтелата.

ППР може да се користи за карактеризирање епитопски својства при собирање противтела

ППР се користи и за други работи покрај мерење на афинитетот или концентрацијата на противтелата. Да претпоставиме дека постојат две различни моноклонски противтела против еден противген како што е гп120, протеинот од обвивка на ХИВ. Дали овие противтела се врзуваат за исти или различни епитопи на овој клучен протеин. Површна плазмонска резонанца овозможува моќен пристап за одговор на ова прашање. Противтелата кои се врзуваат за различни епитопи од противгенот даваат карактеристичен резултат од сензограмот кога сериски се додаваат во комората (слика 6-5а). Противтелата кои се врзуваат за истиот епитоп се натпреваруваат за врзните места, при што секој го блокира врзувањето на другиот, прикажно со линии на слика 6-5б.

Како варијанта од оваа процедура, може да се користи хемиска синтеза или правилна ензимска хидролиза за создавање група фрагменти од противген, кои потоа се фиксираат секој од овие фрагменти врз чипот. Ако се претпостави дека противгените фрагменти ја имаат истата тридимензионална структура како и првобитниот противген, може да се одредат реактивностите (или нивниот недостаток) на противтелата, а местата на епитопите во првобитниот противген-молекул може да се изолираат, постапка која е позната како **епитопско мапирање**.



СЛИКА 6-5 ППР може да се користи за одредување дали различни противтела се врзуваат за истите или за различни епитопи. (а) $Пт_1$ и $Пт_2$ препознаваат различни епитопи од противгенот. Почетното внесување $Пт_1$ предизвикува пораст на основната линија до плато, последователното додавање $Пт_2$ предизвикува пораст до второ, повисоко плато. Ова укажува дека $Пт_1$ и $Пт_2$ реагираат со различни епитопи од противгенот, на пример, два просторно оддалечени различни подрачја од протеинот. (б) $Пт_1$ и $Пт_2$ го препознаваат истиот епитоп од противгенот. При првиот сензограм, додавањето на $Пт_1$ открива одговор, а последователното внесување $Пт_2$ не создава дополнителен одговор. При вториот сензограм, додавањето на $Пт_2$ прво открива одговор, но последователното додавање $Пт_1$ не создава дополнителен одговор. Овој модел укажува дека $Пт_1$ и $Пт_2$ се врзуваат натпреварувачки, при што и двете го препознаваат истиот епитоп од противгенот, врзувањето на едниот го блокира понатамошното врзување на другиот.

Таложни реакции

Противтелото и растворливиот противген кои стапуваат во меѓудејство во воден раствор создаваат решетка која подоцна се развива во видлив талог (талог). Противтелата кои се слепуваат со растворливите противгени се наречени **преципитини**. Иако создавањето на разложливиот комплекс Пг-Пт настанува за неколку минути, создавањето на видлив талог настанува поспоро, често трошејќи ден или два за завршување.

Создавањето на решетката од Пг-Пт зависи од валенцијата и на противтелото и на противгенот:

- Противтелото мора да биде бивалентно. Талогот нема да се создаде со моновалентни фрагменти Фпв.
- Противгенот мора да биде или бивалентен или поливалентен. Со други зборови, мора да има најмалку две копии од истиот епитоп или да има различни епитопи кои реагираат со различни противтела кои се присутни во поликлонскиот противсерум.

Иако едно време главни видови на анализа кои се користеа во имунологијата беа различните модификации на таложниот одговор, тие во голем дел се заменети со методи кои се побрзи и, бидејќи тие се мошне почувствителни, бараат само мали количини од противген и противтело. Исто така, модерните методи за анализа не се ограничени на реакциите противген-противтело кои создаваат талог. Табела 6-3 прави споредба на *чувствителноста*, или минимална количина на откривливо противтело, од бројот на имуноанализи.

Таложните реакции во гелот даваат видливи линии од талози

Имуните талози може да се создадат не само во раствор, туку исто така и во агарна матрица. Кога противгенот и противтелото патуваат еден кон друг или кога противтелото ќе се внесе во агарот, а антигенот се шири во матрицата која содржи противтело, ќе се формираат видливи линии од талози. Кога настанува таложен одговор во течност, видливите талози настануваат во подрачјето на рамнотежа, додека не се создаде видлив талог кој се создава како резултат од вишокот противтело или противген. За одредување на релативните концентрации на противтелата и противгените можат да се користат два вида на *имунодифузни реакции*, за споредување противгени или за одредување на релативната чистота на подготовениот противген. Тие се **радијална имунодифузија** (методот на Манчини) и **двојна имунодифузија** (методот на Октерлони). И двете реакции се извршуваат во полуцврст медиум како што е агарот. Во радијалната имунодифузија, примерок од противген се внесува во бунарче и му се дозволува да се шири во агарот кој содржи разреден противсерум. Како што противгенот дифундира во агарот, се воспоставува рамнотежа и се формира околу бунарчето прстен од талог, таложен прстен, (слика 6-6, горната слика). Површината на

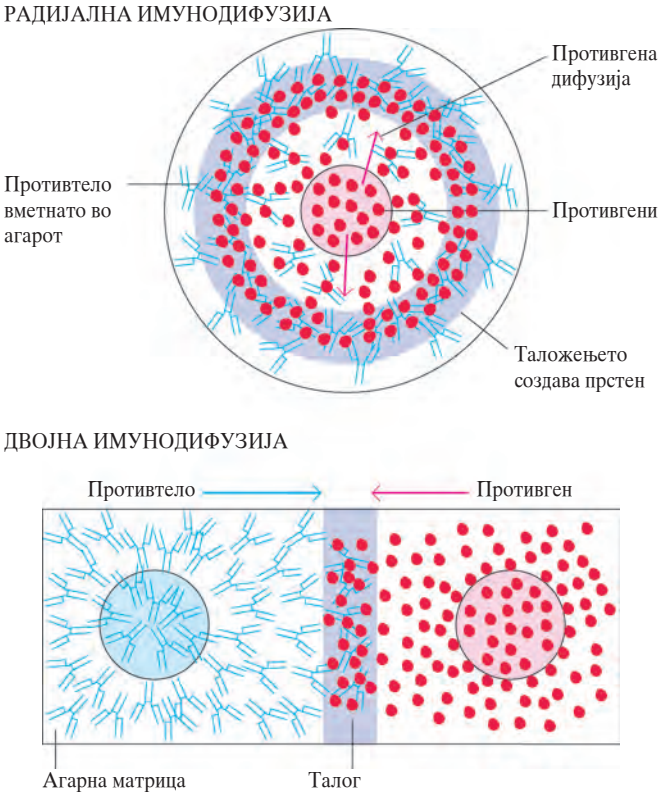
ТАБЕЛА 6-3 Чувствителноста кај различни имуноанализи

Анализа	Чувствителност* (мкг противтело/мл)
Таложна реакција во течности	20-200
Таложна реакција во гелови	
Манчини радијална имунодифузија	10-50
Октерлони двојна имунодифузија	20-200
Имуноелектрофореза	20-200
Ракетна електрофореза	2
Реакција на слепување (аглутинација)	
Директно слепување	0,3
Пасивно слепување	0,006-0,06
Попречување на слепување	0,006-0,06
Радиоимуноанализа (РИА)	0,0006-0,006
Ензимски-врзана имуносорбентна анализа	~0,0001-0,01†
ЕЛИСА користејќи хемилуминисценција	1,0
Имунофлуоресценција	0,006-0,06
Проточна цитометрија	

*Чувствителноста зависи од афинитетот на противтелото кое се користи при анализата, исто како и густината на епитопот и распределбата на противгенот.

†Забележете дека чувствителноста на ЕЛИСА анализата која се базира на хемилуминисценција може да се спореди со чувствителноста на РИА.

ИЗВОР: Ажурирано и прилагодено од *N. R. Rose et al., eds., 1997, Manual of Clinical Laboratory Immunology, 5th ed., American Society for Microbiology, Washington, DC.*



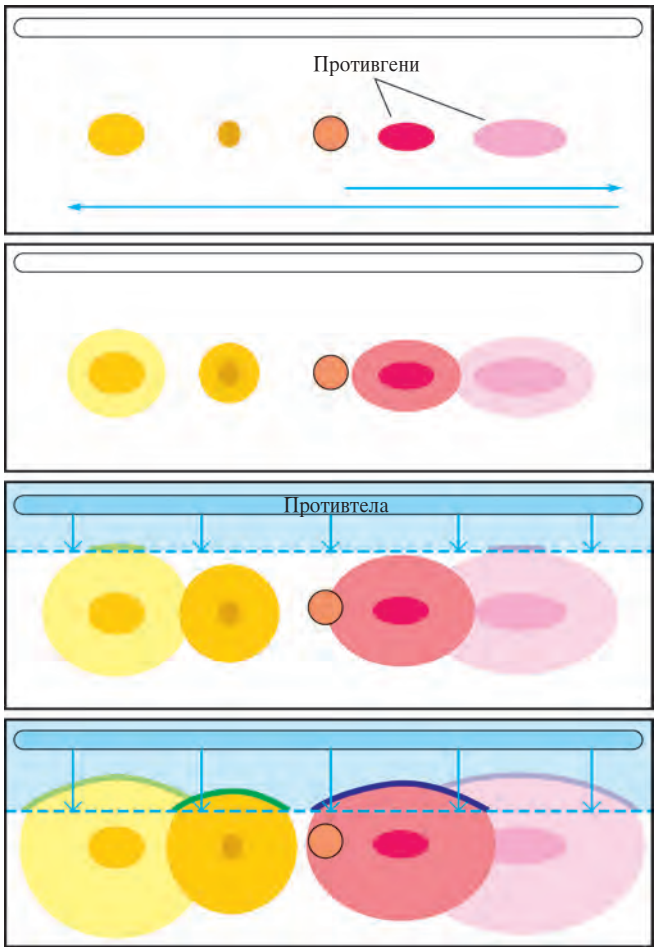
СЛИКА 6-6 Шематско прикажување на радијална имунодифузија (методот на Манчини) и двојна имунодифузија (методот на Октерлони) во гел. И во двата случаи, големите нерастворливи комплекси кои се создаваат во агарот во зоната на изедначување, се видливи како линии од преципитација (виолетовите подрачја). Само противгенот (црвена боја) се шири во радијалната имунодифузија, додека и противтелото (сина боја) и противгенот (црвена боја) се шират при двојната имунодифузија.

таложниот прстен е пропорционална со концентрацијата на противгенот. Со споредување на областа на таложниот прстен со стандардната крива (добиена со мерење на таложните површини од познатите концентрации на противгенот), може да се одреди концентрацијата на противгениот примерок. При методот на Октерлони, и противтелото и противгенот се шират радијално од бунарчето еден кон друг, при тоа утврдувајќи го концентрацискиот градиент. Како што се постигнува рамнотежа, се формира видлива линија од таложењето, таложна линија (слика 6-6, долната слика).

Имуноелектрофорезата ги комбинира електрофорезата и двојната имунодифузија

При **имуноелектрофорезата**, на противгената смеша прво ѝ се извршува електрофореза за да се одделат нејзините делови по наелектризираност. Потоа во агарниот гел паралелно со електричното поле се сечат каналите и во каналите се додава противсерум. Потоа противтелото и противгенот се шират (дифузираат) еден кон друг и создаваат линии на таложење каде тие се сретнуваат во соодветни пропорции (слика 6-7). Имуноелектрофорезата во клиничките лаборатории се користи за откривање на присуството или отсуството на протеините во серумот. На примерокот од серум му се врши електрофореза и поединечните серумски делови се утврдуваат со противсерумот кој е специфичен за даден протеин или класа на имуноглобулини. Оваа техника е полезна за одредување дали пациентот создава абнормално ниски количини на еден или повеќе изотипови, што е карактеристично за одредни болести со имунонедостаток. Исто така може да покаже дали пациентот одредени серум протеини ги создава во преголеми количества, како што се албумин, имуноглобулин или трансферин. Имуноелектрофоретските модели на серум од пациенти со многукратен миелом покажуваат голема количина на миеломскиот протеин. Бидејќи имуноелектрофорезата е строго *квалитативна* техника која открива само релативно високи концетрации на противтела (поголеми од неколку стотици мкг/мл), нејзината употреба е ограничена на откривање квантитативни абнормалности само кога одделувањето од нормалата е мошне големо, како при заболувањата при имунонедостаток и имунопролиферативните нарушувања.

Поврзаната *квантитативна* техника, **ракетна електрофореза,** дозволува мерење на нивоата на противгенот. При ракетната електрофореза, негативно наелектризираниот противген се електрофорезира во гелот кој содржи противтело. Талогот кој се формира меѓу противгенот и противтелото



СЛИКА 6-7 Имуноелектрофореза на мешавината од противгенот. Прво противгенот (портокалово) се електрофорезира, која ги одделува противгените врз основа на полнежот. Потоа противсерумот (сино) се додава во каналите од едната или од двете страни на одделените противгени и се дозволува да се распространува, таму каде што спеицифчното противтело и противгенот стапуваат во меѓудејство се создаваат линии од талогот (обоени сводови).

има форма на ракета, висината на која е пропорицонална со концентрацијата на противгенот во бунарчето. Едно од ограничувањата на ракетната електрофореза е потребата противгенот да биде негативно наелектризиран, што е услов електрофоретското движење да се оствари во агарната матрица. Некои протини, на пример имуноглобулините, не се доволно наелектризирани за да можат квантитативно да се анализираат со ракетна електрофореза, ниту е можно да се измерат количините на неколку противгени од мешавината во исто време.

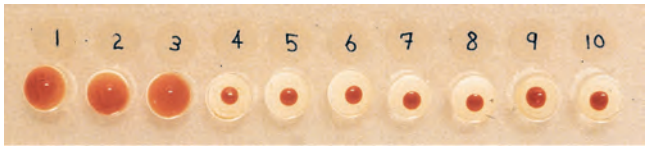
Аглутинациски реакции

Меѓудејствата меѓу противтелото и одредениот противген доведуваат до видливо групирање наречено **аглутинација (слепување)**. Противтелата кои создаваат такви рекции се наречени **аглутинини**. Рекциите на аглутинација по принцип се слични на таложните реакции, тие зависат од вкрстеното поврзување на поливалентните противгени. Како што вишокот на противтело ги попречува таложните реакции, таквиот вишок исто така може да ги попречи реакциите на аглутинација. Ова попречување е наречено **прозонски ефект**. Бидејќи прозонските ефекти се среќаваат кај многу видови на имуноанализи, од општа важност е да се разбере основата на овој феномен.

Неколку механизми можат да го предизвикаат прозонскиот ефект. Прво, при високи концентрации на противтелата, бројот на противтелно врзни местато може во голем степен да го надмине бројот на епитопи. Како резултат на тоа, повеќето противтела за противгенот се врзуваат само унивалентно наместо повеќевалентно. Противтелата кои се врзуваат унивалентно не можат вкрстено да поврзат еден противген со друг. Прозонските ефекти лесно се дијагностицираат со извршување анализа на различни концентрации на противтело. Како што примерокот се разредува до оптимални концентрации на противтело, се забележуваат повисоки нивоа на аглутинација или мерење на кој било параметар кој се користи во анализата. Кога се користат поликлонски противтела, прозонскиот ефект може да настане и од друга причина. Противсерумот може да содржи високи концентрации на противтела кои се врзуваат за противгенот но не поттикнуваат аглутинација. Овие противтела, кои се наречени **нецелосни противтела**, се често од класата ИгГ. При високи концентрации на ИгГ, нецелосните противтела може да го заземат поголемиот дел од противгените области, на тој начин блокирајќи го пристапот на ИгМ, кој претставува добар аглутинин. Овој ефект не се среќава кај моноклонските противтела кои аглутинираат. Недостатокот на аглутинирачка активност кај нецелосното противтело може да биде како резултат на ограничена подвижност во зглобното подрачје, отежнувајќи му на противтелото да го открие потребниот агол за оптимално вкрстено поврзување на епитопите во два или повеќе одредени противгени. Како алтернатива, густината на распределбата на епитопите или местоположбата на одредени епотопи во длабоките прегради на одреден противген можно е да им отежнуваат на противтелата кои се специфични за овие епитопи да аглутинираат одредени противгени. Кога е можно, решените за овие два проблеми е да се пробаат различни противтела кои може да реагираат со други епитопи од противгенот кои не ги претставуваат овие ограничувања.

Хемаглутинацијата се користи за одредување крвна група

Реакциите на аглутинација (слика 6-8) рутински се извршуваат за да се типизираат црвените крвни зрнца (ЦКЗ). Со извршу-



СЛИКА 6-8 Прикажување хемаглутинација со употреба на противтела против овнешки црвените крвни зрнца (ОЦКЗ). Контролната епруветка (10) содржи само ОЦКЗ, кои се позиционираат во цврсто їкопчеѣ. Експерименталните епруветки од 1 до 9 содржат постојан број на ОЦКЗ плус сериски двојни разредувања од серумот против-ОЦКЗ. Моделот кој се шири при експерименталната серија укажува на позитивна хемаглутинација низ епруветката 3. *[Louisiana State Medical Center/MIP. Riprodhuar me lejen e Harriet C. W. Thompson]*

вање стотици милиони одредувања на крвна група секоја година, оваа е една од најчесто користени имуноанализи во светот. При одредување на противгените од АБО, на стаклењето ЦКЗ се мешаат заедно со противсерумот за противсерумот од А или Б крвната група. Ако противгенот е присутен врз клетките, тие аглутинираат, формирајќи видлив куп на стаклењето. Како дополнителна проверка, крвта од дарителот се испитува за присуство на противтела против противгените од АБО. Ако дарителот не содржи противтела против сопствените АБО противгени, одредувањето на клетката и противтело се ускладени, а типизирањето на клетките се потврдува како точно. Ако резултатите не се ускладени и ако анализите од аглутинација укажуваат дека дарителот има противтела кои реагираат со сопствените противтела од АБО, тогаш или има грешка при анализата (анализата на клетката или противтелото не е точна) или дарителот создава противтела за себе, манифестација на автоимунитетот (види Поглавје 16). Примероците кои создаваат неускладени резултати при повторното тестирање не се користат при трансфузија.

За дијагнозирање на инфекцијата се користи бактериска аглутинација

Бактериската инфекција често го поттикнува создавањето на серумски противтела кои се специфични за површинските противгени во бактериските sидови. Присуството на таквите противтела може да се открие со реакции на бактериска аглутинација. Серумот од пациент за кој се верува дека е инфициран со дадена бактерија сериски се разредува во редица епруветки во кои се додава бактеријата. Последната епруветка која покажува видлива аглутинација ќе го прикаже **титарот** на серумското противтелото кај пациентот. Аглутинацискиот титар се дефинира како реципроцитет на најголемото разредување на серумот кој поттикнува позитивен одговор за аглутинација. На пример, ако се подготват серумски двојни разредувања на серумот и ако разредувањето на 1/640 покажува аглутинација но ако разредувањето на 1/1280 не покажува аглутинација, тогаш аглутинацискиот титар на серумот од пациентот ќе биде 640. При одредени случаи, серумот може да биде разреден и до 1/50000 и сè уште да покажува аглутинација на бектеријата.

Аглитинацискиот титар на противсерумот може да се користи за дијагноза на бактериската инфекција. На пример, пациентите со тифоидна треска покажуваат значителен пораст во аглутининскиот титар за *Salmonella typhi*. Аглутинациските реакции исто така овозможуваат начин за одредување тип на бактеријата. На пример, различни типови на бектеријата *Salmonella* можат да одредат преку слепувачки реакции со панел за одредување на противсерумот.

Пасивната аглутинација е корисна со растворливи противгени

Чувствителноста и едноставноста на реакциите на аглутинација може да се прошири и на растворливи противгени преку техниката на пасивна хемаглутинација. При оваа техника, црвените крвни зрнца обвиткани со противген се подготвуваат со мешавина на растворлив противген и црвените крвни зрнца кои реагирале со танинска киселина или хром хлорид, при што и двете поттикнуваат абсорбирање на противгенот врз површината на клетките. Серумот кој содржи противтело сериски се разредува во микротитарски бунарчиња од плочката, а потоа црвените крвни зрнца кои се обвиткани од противген се додаваат во секое бунарче. Аглутинацијата се проценува по бројот на карактеристичното ширење на обликот на аглутинирани црвени клетки на дното од бунарчето, како и обликот кој се гледа при реакциите на аглутинација (види слика 6-8).

Во последниве години, дојде до менување далеку од црвените крвни зрнца до синтетичките честички, како што се латекс зрната, како матрица за слепувачки реакции. Штом противгенот е групиран со латекс зрнцата, препаратот може да се користи веднаш или да се зачува. Употребата на синтетичките зрнца ги нуди предностите постојаност, единственост и стабилност. Според тоа, реакциите на аглутинација кои користат синтетички зрнца можат лесно да се прочитаат, често по 3 до 5 минути од мешањето на зрнцата со примерокот за тестирање. Независно дали се базираат на црвените крвни црнца или повалентни и поразновидни синтетички зрнца, реакциите на аглутинација лесно се ивршуваат, не бараат скапа опрема и можат да откријат мало количество на противтело (концентрации ниски како нанограми по милилитар).

При аглутинациска инхибиција, отсуството на аглутинација е дијагностичка за противгенот

Модификација на одговорот на аглутинација, наречена **аглутинациска инхибиција**, овозможува високо чувствителна анализа на мали количини противген. Анализата на аглутинациска инхибиција исто така може да се користи за одредување дали лицето користи одредени забранети дроги, како што се кокаин или хероин. Прво примерокот од крвта или уринатa се инкубира со противтелото кое е специфично за дрогата за која постои сомнение. Се додаваат честици кои се обвиткани со противген. Ако честиците не се аглутинираат од страна на противтелото, тоа укажува на фактот дека примерокот содржел противген кој е препознат од противтелото, што укажува на фактот дека лицето користело дрога. Еден проблем со овие тестови се легалните лекови кои имаат слична хемиска структура со забранетите дроги и може вкрстено да реагираат со противтелото, давајќи грешно-позитивен одговор. Поради оваа причина, позитивните реакции се потврдуваат со неимун метод.

Анализите за аглутинациска инхибиција широко се користат во клиничките лаборатории за одредување дали лицето било изложено на одредени видови вируси кои предизвикуваат аглутинација на црвени клетки. Ако серумот на лицето содржи специфични противвирусни противтела, тогаш противтелата ќе се врзат за вирусот и ќе се интерферираат со хемаглутинација од страна ан вирусот. Оваа техника често се користи при предбрачното тестирање за одредување на имунолошката состојба на жената во однос вирусот рубела. Реципроцитетот на последното разредување на серумот за да покаже аглутинациска инхибиција од рубела претставува титар на серумот. Титар поголем од 10 (1:10 разредување) укажува дека жената е имуна на рубела, додека титар помал од 10 е знак за недостаток на имунитет и потреба за имунизација со рубела вакцина.

Радиоимуноанализа

Една од најчувствителните техники за откривање на противгенот или противтелото е **радиоимуноанализата (РИА)**.

Техниката прво беше развиена во 1960 година од двајца ендокринолози, С. А. Берсон и Розалин Јелоу, за одредување на нивоата на комплексите инсулин-против-инсулин кај дијабетичарите. Иако нивната техника наишла на скептицизам, брзо ја достигна нејзината вредност при мерење на хормоните, серум протеините, лековите и витамините со концетрации од 0,001 *микрограми* по мililитар или помалку. Во 1977 година, неколку години по смртта на Берсон, значењето на техниката беше потврдено со Нобелова награда за Јелоу.

Начелото на РИА вклучува натпреварувачко врзување на радиоозначниот противген и неозначениот противген за противтело со висок афинитет. Означениот противген се меша со противтелото при концентрација која ги пополнува местата за поврзување на противтелото. Потоа тестираните примероци на неозначеното противтело со непозната концентрација се додаваат во растечко поголеми количини. Противтелото не разликува означено од неозначено противтело, така што двата вида на противгени се натпреваруваат за достпаните места за поврзување во противтелото. Како што концентрацијата на неозначениот противген расте, повеќе означени противгени ќе се отстранат од местата за поврзување. Намалувањето на количината на радиоозначениот противген кој се врзува за специфичното противтело во присуството на примерокот кој се тестира се мери со цел да се одреди количината на противгенот кој е присутен во примерокот кој се тестира.

Противгенот обично се означува со изотоп кој емитира гама зраци како што ^{125}J, но изотопите кои емитираат бета зраци како што се тритиум (^{3}H) исто така рутински се користат за означување. Радиоозначениот противген е дел од мешавината на анализата. Примерокот кој се тестира може да биде сложена мешавина, како што е серум или други телесни течности, кои го содржат неозначениот противген. Првиот чекор при утврдување РИА е да се одреди количината на противтелото кое е потребно за врзување 50% до 70% од фиксната количина на радиоактивен противген (Пг*) во мешавината на анализата. Овој однос на противтело со Пг* се бира за да се обезбеди дека бројот на епитопи кои се прикажани од страна на означениот противген секогаш го надминува целиот број на места за поврзување на противтелата. Според тоа, неозначениот противген кој е додаден во мешавината на примерокот ќе се натпреварува со радиоозначниот противген за ограниченото присуство на противтелото. Дури и мало количество на неозначен противген кој е додаден во анализата на мешавината од означениот противген и противтело ќе предизвика пад во количината на радиоактивниот противген кој е врзан, а ова намалување ќе биде пропорционално со количината на додаденит неозначен противген. За одредување на количината на врзаниот означен противген, комплексот Пт-Пг се таложи за да се оддели од слободниот противген (противген кој не е врзан за противтелото) и се мери радиоактивноста во талогот. Со употреба на примероци од неозначен противген со позната концентрација може да се создаде стандардна крива (не местото од примерокот кој се тестира) и од ова равенка може прецизно да се одреди количината на противгенот во мешавината која се тестира.

За одделување на врзниот противген од слободниот противген при РИА се развиени неколку методи. Еден метод вклучува таложење на соединенијата Пт-Пг со вторичен противсерум против-изотип. На пример, ако комплексот Пг-Пт содржи ИгГ противтело од зајак, тогаш против-зајачки ИгГ од коза ќе се врзе за ИгГ од зајакот и ќе го исталожи комплексот. Друг метод го користи факотот дека протинот А од *Staphilococcus aureus* има висок афинитет за ИгГ. Ако комплексот Пт-Пг содржи противтело ИгГ, комплекост може да се исталожи со мешање со *S. aureus* кој е убиен со формалин. По отстранување на комплексот со кој било од овие методи, количеството на слободен означен противген кој останува во супернатантот може да се измери во бројач за радијација. Одземајќи ја оваа вредност од целата количина на додадениот означен противген ја дава количината на означениот противген кој е врзан.

Различни РИА во цврста фаза се развиени што го олеснува одделувањето на комплексот Пт-Пг од неврзаниот противген. При одредени случаи, противтелото е ковалентно вкрстено поврзано со зрнцата Сефароза. Количината на радиоозначениот противген кој е врзан за зрнцата може да се измери по центрифугирање и миење на зрнцата. Како алтернатива, противтелото може да се прицврсти за резервоарите на полистиренот или поливинилхлоридот, а количината на слободниот означен противген во супернатанот може да се одреди со мерач за радијација. При друг пристап, противтелото се прицвртсува за ѕидовите од микротитарските бунарчиња и да се одредни количината на врзаниот противген. Бидејќи постапката има потреба од само мали количини од примерокот и може да се изврши во мали микротитарски плочки со 96 бунарчиња (малку поголеми од картичка 3 x 5), оваа постапка е добро поставена за одредување на концентрацијата на определен противген кај голем број примероци. На пример, микротитарската РИА широко се користи за испитување на присуството на вирусот хепатит Б (слика 6-9). Испитувањето за РИА кај крвта од дарителот доста ја намали зачестеноста на инфекциите со хепатит Б кај примателите на трансфузија на крв.

Имуноапсорбентна анализа поврзана со ензим

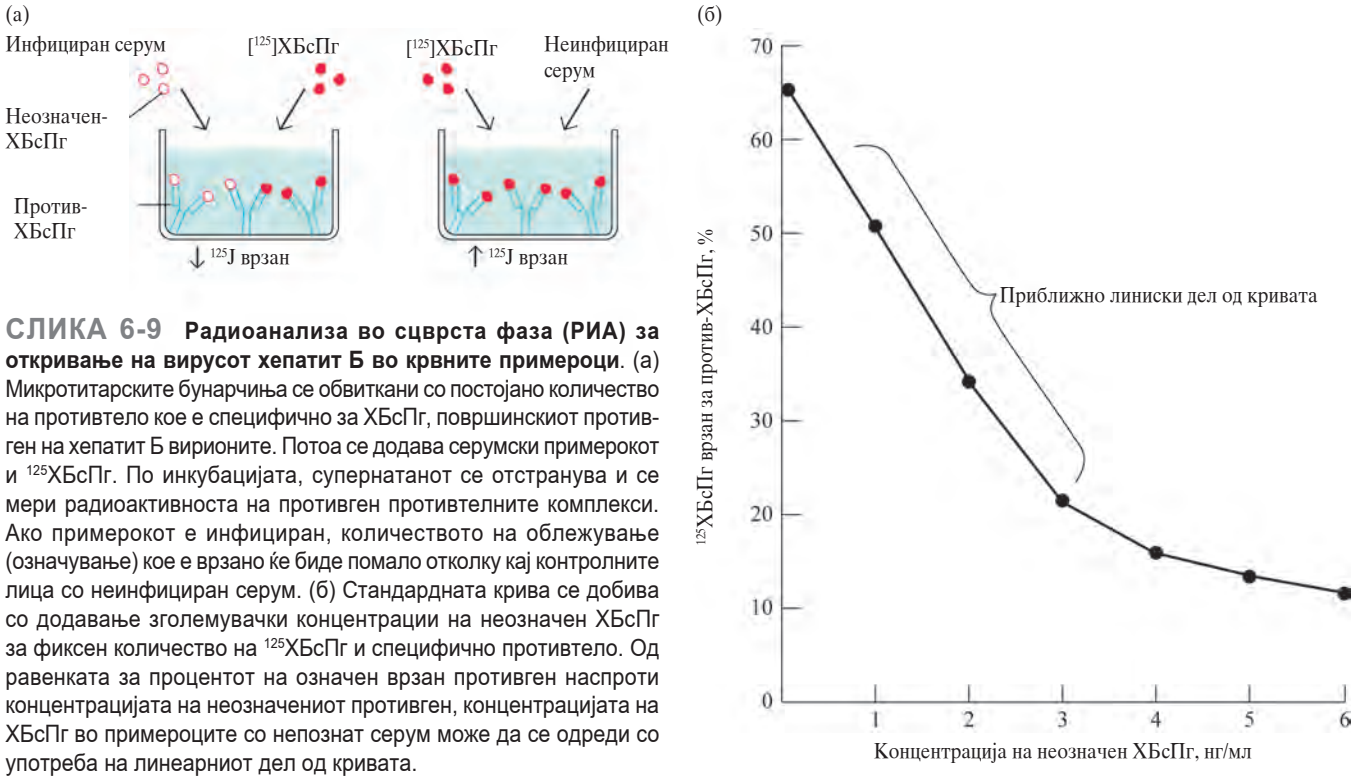
Имуноапсорбентната анализа поврзана со ензим, општо позната како **ЕЛИСА** (или ЕИА), е сличен по принципот на РИА, но зависи од ензимот наместо од радиоактивното означување. Ензимот кој е конјугиран со противтелото реагира со безбоен супстрат за да создаде обоен продукт при одговор. Таквиот супстрат е наречен **хромоген супстрат**. Одреден број на еними се употребени во ЕЛИСА, вклучувајќи алкална фосфатаза, ренска пероксидаза (horseradish peroxidase) и бета-галактосидаза. Овие анализи се совпаѓаат со чувствителноста на РИА и ја имаат предноста да се побезбедни и поевтини.

Постојат бројни варијанти на ЕЛИСА

Развиен е одреден број варијанти на ЕЛИСА, што овозможува квалитативно откривање или квантитативно мерење на или противгенот или противтелото. Секој тип на ЕЛИСА може да се користи квалитативно за откривање присуство на противтелото или противгенот. Како алтернатива, се подготвува стандардна крива која се базира на познатите концентрации на противтело или противген, од каде може да се одреди непознатата концентрација на примерокот.

Индиректна ЕЛИСА

Противтелото може да се открие или квалитативно да се одреди со индиректна ЕЛИСА (слика 6-10а). Серум или друг примерок кој содржи првично противтело ($Пт_1$) се додава во микротитарското бунарче кое е обвиткано со противген и му се дозволува да реагира со противгенот кој е прикачен за бунарчето. По отстранување на кое било слободно $Пт_1$,



СЛИКА 6-9 Радиоанализа во сцврста фаза (РИА) за откривање на вирусот хепатит Б во крвните примероци. (а) Микротитарските бунарчиња се обвиткани со постојано количество на противтело кое е специфично за ХБсПг, површинскиот противген на хепатит Б вирионите. Потоа се додава серумски примерокот и ^{125}ХБсПг. По инкубацијата, супернатанот се отстранува и се мери радиоактивноста на противген противтелните комплекси. Ако примерокот е инфициран, количеството на облежување (означување) кое е врзано ќе биде помало отколку кај контролните лица со неинфициран серум. (б) Стандардната крива се добива со додавање зголемувачки концентрации на неозначен ХБсПг за фиксен количество на ^{125}ХБсПг и специфично противтело. Од равенката за процентот на означен врзан противген наспроти концентрацијата на неозначениот противген, концентрацијата на ХБсПг во примероците со непознат серум може да се одреди со употреба на линеарниот дел од кривата.

присуството на противтелото кое е врзано за противгенот се открива со додавање вторично противтело конјугирано од ензим ($Пт_2$) кое се врзува за првичното противтело. Потоа се отстранува секое слободно противтело $Пт_2$ и се додава супстрат за ензимот. Количината на обоениот продукт кој се формира се мери со специјализирани читачи за спектофотометриски плочки, кои можат да го мерат абсорбирањето на сите бунарчиња од плочка со 96 бунарчиња во секунди.

Индиректната ЕЛИСА е метод по избор за откривање на присуството на противтелата против хуман имунонедостаточен вирус (ХИВ), предизвикувачот на СИДА. При оваа анализа, рекомбинантната обвивка и главните протеини од ХИВсе адсорбираат во микротитарските бунарчиња како противгени во цврста фаза. Лицата кои се заразени со ХИВ ќе создадат серумски противтела за епитопите од овие вирусни протеини. Во основа, серумските противтела за ХИВ може да се откријат со индиректна ЕЛИСА во рок од 6 недели по инфекцијата.

Сендвич ЕЛИСА

Противгенот може да се открие или измери со сендвич ЕЛИСА (слика 6-10б). При оваа техника, противтелото (а не противгенот) се фиксира во микротитарското бунарче. Се додава примерок кој содржи противген и му се дозволува да реагира со фиксираното противтело. По миење на резервоарот, се додава противтело, поврзано со вторичен ензим, кој е специфичен за различен епитоп во противгенот и му се дозволува да реагира со врзаниот противген. По отстранување на кое било вторично противтело со миење, се додава супстрат и се мери обоениот продукт од одговорот.

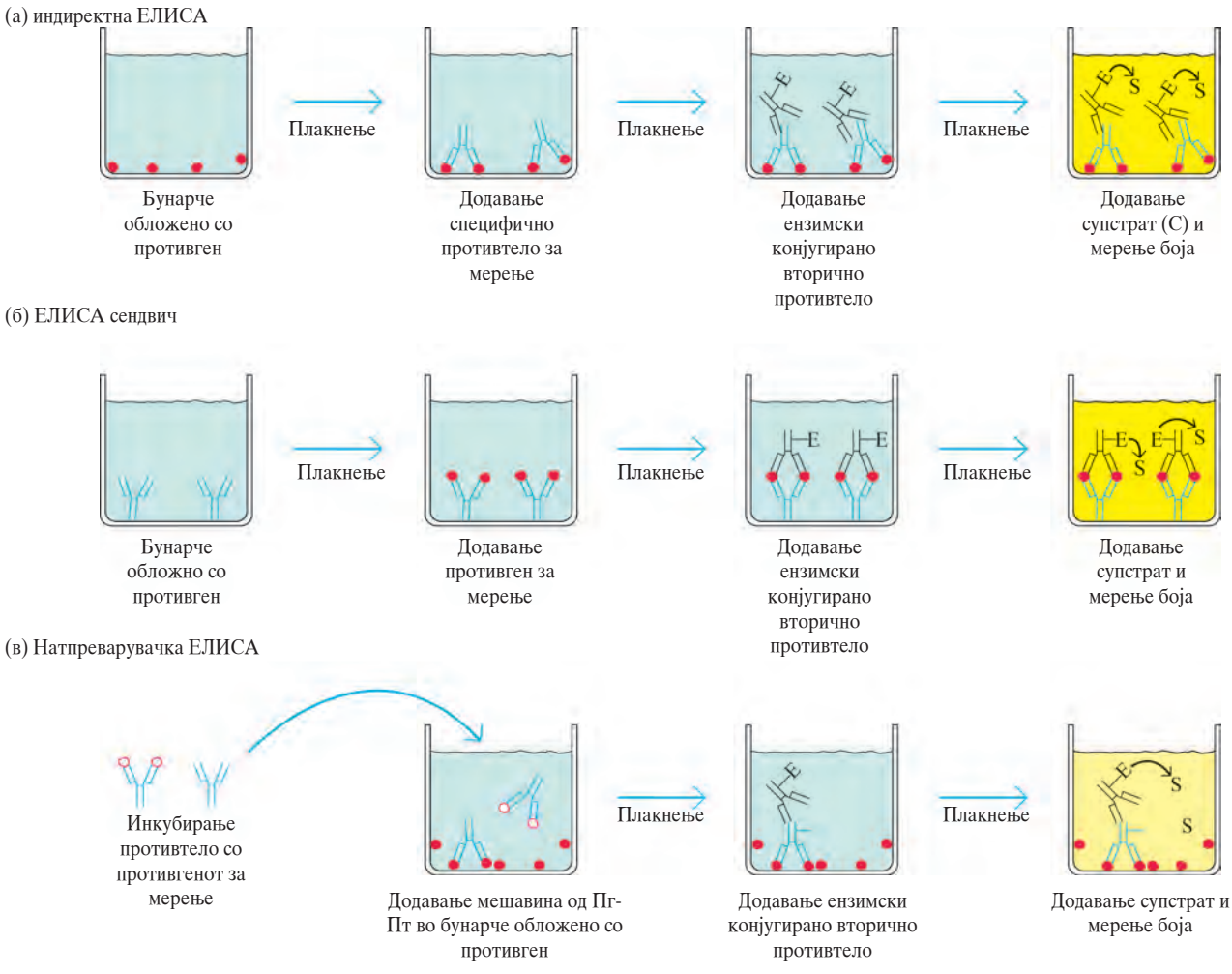
Натпреварувачка ЕЛИСА

Друга варијанта за мерење на количината на противгенот е натпреварувачката ЕЛИСА (слика 6-10в). При оваа техника, противтелото прво се инкубира во раствор кој содржи противген. Потоа мешавината противген-противтело се додава во микротитарскиот резервоар кој е обвиткан со противген. Колку повеќе е присутен противгенот во примерокот, толку помалку ќе има слободно противтело кое е достапно за врзување со резервоарот кој е обвиткан со противген. Додавањето на вторичното противтело, кое е конјугирано од ензим, ($Пт_2$) кое е специфично за изотипот на првичаното противтело може да се користи за одредување на количеството на првичното противтело кое е врзано за резервоарот, како при индиректната ЕЛИСА. Сепак, при натпреварувачка ЕЛИСА колку е поголема концентрацијата на оригиналниот примерок, толку пониско е абсорбирањето.

Хемилимунисценција

Светлината создадена од хемилимунисценцијата при одредени хемиски реакции овозможува соодветна и високо сензитивна алтернатива за мерењата на абсорбцијата при ЕЛИСА. Во варијантите на ЕЛИСА кои користат хемилимунисценција, луксогенски (кој создава светлина) супстрат го зазема местото на хромогениот супстрат при обичните реакции на ЕЛИСА. На пример, оксидацијата на соединението луминол со H_2O_2 и ренската пероксидаза на енизмот (РП) создава светлина:

$$Пг\text{-}РП + Пт \rightarrow Пг\text{-}РП\text{-}Пт \xrightarrow{\text{луминол} + H_2O_2} \text{светлина}$$

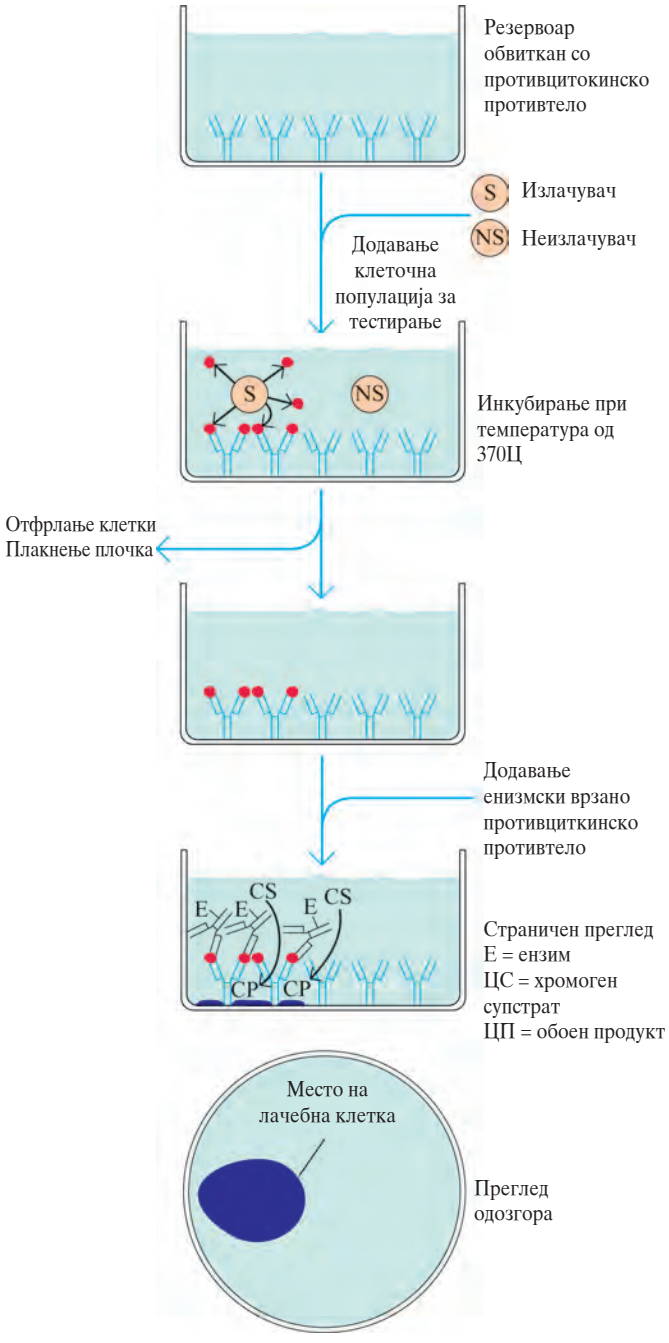


СЛИКА 6-10 Варијации на техниките при имуноапсорбентна анализа поврзана со ензим (ЕЛИСА) овозможува одредување противтело или противген. Секоја анализа може да се користи квалитативно или квантитативно при споредба со стандардните криви подготвени со познати концентрации на противтело или противген. Противтелото може да се одреди со индиректна ЕЛИСА (а), додека противгенот може да се открие со ЕЛИСА сендвич (б) или натпреварувачка ЕЛИСА (в). При натпреварувачката ЕЛИСА, која е анализа од типот на инхибитори (попречувачи), концентрацијата на противгенот е спротивно пропорционална со добиената боја.

Светлината која се создава при луксогенските реакции може да се открие по нејзината способност за изложување врз фотографскиот филм. Квантитативното мерење на зрачењето на светлината може да се изврши со употреба на луминометар. Предноста на анализата со хемилуминисценција пред хромогенската анализа е подобрената чувствителност. Во основа, границата за откривање може да се зголеми најмалку 10 пати со премин од хромоген на луксоген супстрат и, со додавање подобрени агенси, повеќе од 200 пати. Всушност, во идеални услови, се открива мало количество од 5×10^{-18} моли (5 молекули) од целниот противген.

Анализа ЕЛИСПОТ

Модификација на ЕЛИСА наречена анализа ЕЛИСПОТ овозможува квантитативно мерење на бројот на клетки кај дадена популација која создава противтела кои се специфични за даден противген или противген за кој постои специфично противтело (слика 6-11). При овој метод, плочките се обложени или со противген (заробен противген) кој е препознаен од противтелото кое се испитува или со противтелото (заробено противтело) кое е специфично за противгенот чие создавање се анализира. Потоа во обложените плочки се додава суспензија од клеточната популација која се испитува и се инкубира. Клетките се поставуваат на површината од плочката, а излачените молекули кои се реактивни со заробените молекули се врзани во близина на излечените клетки, при што се создава прстен од соединенија противтело-противген околку секоја клетка кои ја создаваат молекулата која се испитува. Потоа плочката се мие и се додава противтелото поврзано со ензим кој е специфичен за излачениот противген или кој е специфичен за видовите (на пример, козји против-зајачки) на излаченото противтело и му се овозможува да се врзе. Последователниот развој на анализата се овозможува со додавање соодветен хромоген или луксогент супстрат кој ја открива позицијата на секоја клетка која создава противтело или противген како точка боја или светлина.



СЛИКА 6-11 **При анализата ЕЛИСПОТ, резервоарот е обвиткан со противтело против противгенот кој се испитува, во овој пример цитокинот, а потоа на дното од бунарчето поставен е слој на суспензија од клеточната популација за која се верува дека содржи одредени клетки кои го синтетизираат и лачат цитокинот**. Повеќето од цитокинските молекули кои се излачени од одредена клетка реагираат со блиските противтела кои се врзани за бунарчето. По периодот на инкубација, бунарчето се мие и се додава противцитокинско противтело кое е означено со ензим. По плакнење на неврзаното противтело, се додава хромоген супстрат кој создава нерастворлив обоен продукт. Обоениот продукт (виолетова боја) се таложи и создава дамка само во области на бунарèето каде се поставени клетките кои лачат цитокини. Со броење на обоените дамки, можно е да се одреди колку келтки кои лачат цитокини се присутни во додадената клеточна суспенција.

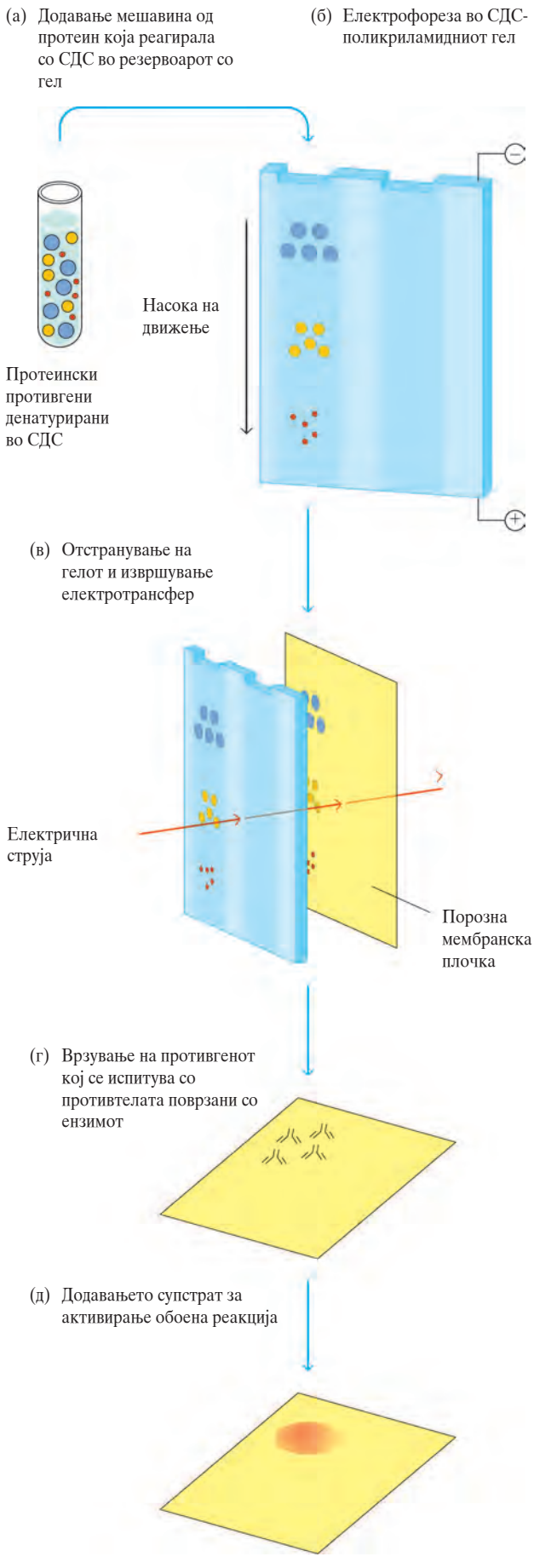
Вестерново дамкосување

Утврдување на специфичниот протеин во сложена мешавина од протеини може да се изврши преку техника позната како **Вестерново дамкосување,** именувано по неговата сличност со Саутерновото дамкосување, кое открива ДНК фрагмент или Нортерновото дамкосување, кое открива мРНКи. Во Вестерновото дамкосување, протеинската мешавина електрофоретски се двои врз **СДС-поликриламиден гел** (**СДС-ПАГЕ**), плочест гел е измешан со содиум додецил сулфат (СДС), дисоцијациски агенс (слика 6-12). Протеинските ленти се пренесуваат во нитроцелулозната мембрана со електрофореза, а поединчните протеински ленти се утврдуваат со потопување на мембраната со радиоозначено, поликлонско или моноклонско противтело поврзано со ензим кој е специфичен за протеинот кој се испитува. Комплексите Пт-Пг кои се формираат на лентата која го содржи протеинот кој е препознат од противтелото може да се претстави на различни начини. Ако протеинот кој се испитува е врзан за радиоактивното противтело, неговата позиција врз дамката (блотот) може да се одреди со нанесување на мембраната врз рендгенскиот филм, постапка наречена авторадиографија. Сепак, најопшто употребуваните методи за откривање користат ензимски врзани противтела против проетинот. По врзувањето на конјугатот ензим-противтело, додавањето на хромоген супстрат создава високо обоен и нерастворлив продукт кој предизвикува појавата на обоена лента на местото од целниот противген. Ако се користи хемилуминисцентно соединение со соодветни засилувачки агенси за создавање светлина на местото од противгенот може да се постигне поголема чувствителност.

Вестерновото дамкосување (блотирање) исто така може да утврди специфично противтело во мешавината. Во овој случај, познатите противгени со добро дефинирана молекулска тежина се одделуваат со СДС-ПАГЕ и се пренесуваат врз нитроцелулозата. Потоа резделените ленти од познатите противгени се испитуваат со примерок за кој се верува дека го содржи противтелото кое е специфично за едно или повеќе од тие противгени. Реакцијата на противтелото со лентата се открива со употреба на радиоозначено противтело или вторично противтело поврзано со ензим кој е специфичен за видовите на противтелата во примерокот кој се тестира. Најшироко користена употреба на оваа процедура претставува потврдното тестирање за ХИВ, каде Вестерновото дамкосување се користи за одредување дали пациентот има противтела кои реагираат со еден или со повеќе вирусни протеини.

Имуноталожење (имунопреципитација)

Техниката на имуноталожење ја поседува предноста што го овозможува излолирањето на противгенот кој се испитува за понатамошни анализи. Исто така овозможува сензитивна анализа за присуството на одреден противген во дадена клетка или вид на ткиво. Екстрактот кој се создава при распаѓање на клетките или ткивата се меша со противтелото против испитуваниот противген со цел да се формира комплекс противген-противтело кој ќе се таложи. Сепак, ако концентрацијата на противгенот е ниска (чест случај кај екстрактите од клетките или ткивата), групирањето на противген противтелните комплекси во талозите може да трае со часови,

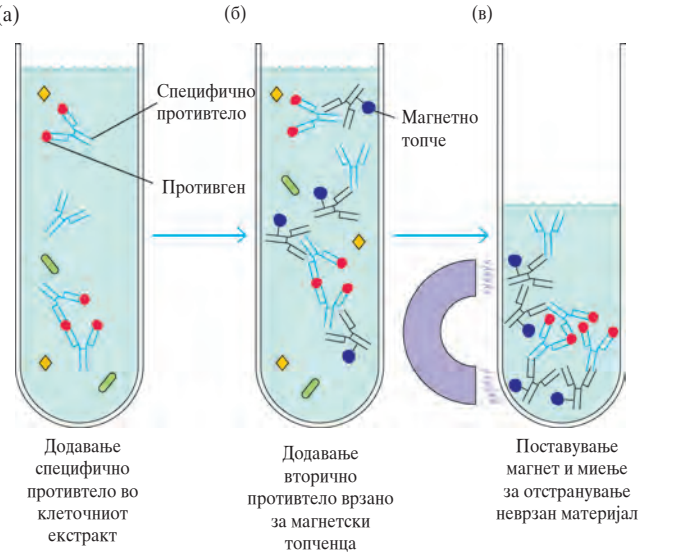


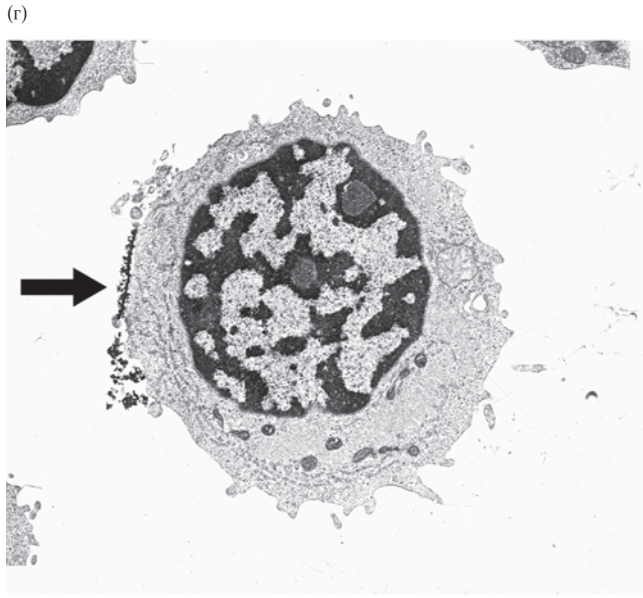
СЛИКА 6-12 **При Вестерновото дамкосување, мешавината од протеини (а) реагира со СДС, силен денатурирачки детергент, (б) потоа се одделува со електрофореза во СДС полиакриламидниот гел (СДС-ПАГЕ), што ги одделува деловите според нивната молекулска тежина. Деловите со пониска молекулска тежина патуваат подалеку од комонентите со повисока молекулска тежина.** (в) Гелот се отстранува од апаратурата и се нанесува врз плоча од нитроцеулоза или најлон за кои се врзуваат протеини, а протеините во гелот се пренесуваат врз плочата преку минување електрична струја. (г) Додавањето на ензимски врзани противтела поврзани со ензим го детектира противгенот кој се испитува, а (д) позицијата на противтела се возуелизира преку методите од реакцијата на ЕЛИСА која создава високо обоен нерастворлив продукт кој се таложи на местото на реакцијата. Како алтернатива, хемилимунисцентната ЕЛИСА може да се користи за создавање светлина која лесно се открива со изложување на дамката врз фотографски филм.

дури и денови и тешко е да се изолира малата количина на имуноталогот кој се создава.

Постојат бројни начини за избегнување на овие ограничувања. Еден е да се прикачи противтелото за цврста подлога, како што е синтетичкото зрно, што му овозможува на комплексот противген-противтело да се собере со центрифугирање. Друг начин е да се додаде вторично противтело кое е специфично за првичното противтело за да ги врзе противген противтелните комплекси. Ако вторичното противтело се прикачи за топченце, имуните комплекси можат да се соберат со центрифугирање. Одредена досетлива верзија на оваа постапка вклучува врзување на вторичното противтело за магнетни зрнца. По врзувањето на вторичното противтело за првичното противетело, имуноталозите се собираат со поставување магнет спрема страната од епруветката (слика 6-13).

Кога се користи во комбинација со биосинтетско означување со радиоизотопи, имуноталожењето исто така може да се користи за одредување дали одредениот противген всушност е синтетизиран од клетка или од ткиво. Радиоозначувањето на протеините синтетизирани од страна на клетките кои се испитуваат може да се направи со растење на клетките медиум за култура кој содржи една или повеќе радиоозначени амино киселини. Во основа, амино киселините кои се користат при оваа употреба се оние кои се најотпорни на метаболна модификација, како што се леуцинот, цистеинот или метионинот. По растото во радиоактивен медиум, клетките се разложуваат и се испитуваат со првично противтело кое е специфично за противелото кое се испитува. Комплексот Пт-Пг се собира со имуноталожење, се мие од невклучените радиоозначени амино киселини и други примеси, а потоа се анализира. Комплексот може да се мери со сцинтилациски бројач за да се добие квантитативно одредување на количината на протеинот кој е синтетизиран. Понатамошните анализи често вклучуваат раздвојување на комплексот, обично преку употреба на СДС и топлина, така што идентитетот на имуноталожниот противген може да се потврди со проверување дали неговата молекулска тежина е онаа која се очекуваше за противгенот кој се испитува. Ова се прави со одделување на раздвоениот комплекс од страна на СДС-ПАГЕ и понатамошна авторадиографија за одредување на местото на радиоозначениот противген во гелот.





СЛИКА 6-13 Имуноталозите може да се соберат со употреба на магнетски топченца врзани за секундарно противтело. (а) Третман на клеточниот остаток кој содржи противген А (црвена боја) со противтелото А од глушец (сина боја) доведува до создавање противген-противтело комплекси. (б) Додавањето магнетни топченца за кои е поврзано зајачко противглувчешко противтелото се врзува за противген противтелните комплекси (и за сите неизреагирани глувчешки Иг). (в) Поставувањето магнет спрема страната на епруветката овозможува брзо собирање на противген противтелните комплекси. По миење за отстранување секоја неврзана материја, противген противтелните комплекси може да се одвојат, а противгенот да се проучува. (г) Електронска микрографија кој покажува клетка со магнетни топченца прикачени за нејзината површина преку противтелата. [*Дел г, P. Groscurth, Institute of Anatomy, University of Zurich-Irchel.*]

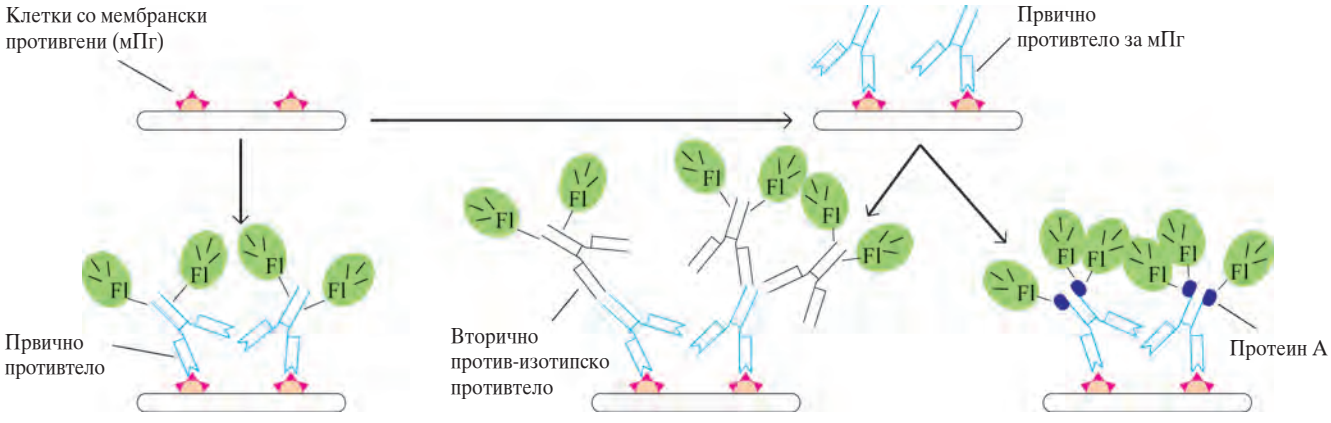
Имунофлуореесценција

Во 1944 година, Алберт Кунс покажал дека противтелата можат да се означат со молекули кој го поседуваат својството на флуоресценција. Флуоресцентните молекули абсорбираат светлина од една бранова должина (надразнување) а емитираат светлина од друга бранова должина (емисија). Ако противтелните молекули се означат со флуоресцентна боја, или **флуорохром**, имуните соединенија кои ги содржат овие флуоресцентно означени противтела (ФП) може да се откријат преку обоена светлосна емисија кога се надразнети од светлина со соодветна бранова должина. Противтелните молекули кои се врзуваат за противгените во клеточните или ткивните делови можат да бидат слично прикажани. Емитираната светлина може да се види со флуоресцентен микроскоп, кој е опремен со светлосен извор за УВ зраци. При оваа техника, позната како **имунофлуоресценција**, најчесто се користат флуоресцентните соединенија како што се флуоресцеинот и родаминот, но се користат и други високо флуоресцентни супстанции, како што се фикоеритринот, мошне обоен и флуоресцентен пигмент добиен од алгите. Овие молекули може да бидат конјугирани за Фк подрачјето од противтелна молекулата без засегнување на специфичноста на противтелото. Секој од флуорохромите кои се наведени долу абсорбира светлина со една бранова должина а емитува светлина со подолга бранова должина:

- **Флуоресцеин**, органска боја која претставува најчесто користен означувач за имунофлуоресцентните постапки, абсорбира сина светлина (490 нм) а емитира интензивна жолто-зелена флуоресценција (517 нм).
- **Родамин**, друга органска боја, абсорбира жолто-зелен опсег (515 нм) а емитира длабока црвена флуоресценција (546 нм). Бидејќи емитира флуосресценија со подолга бранова должина од флуоресцеинот, може да се користи во имуноабсорбентните анализи со две бои. Противтелото специфично за една одредница е означено со флуоресцеин, а противтелото кое препознава различен противген е означено со родамин. Локацијата на противтелото означено со флуоресцеин ќе се гледа со жолто-зелена боја, која лесно ќе се препознава од емитирањето црвена боја каде се врзува противтелото означено со родамин. Со конјугирање флуоресцеин за едно противтело и родамин за друго, може, на пример, во истата клетка истовремено да се прикажат две различни клеточни мембрански противтела.
- **Фикоеритрин** е ефикасен абсорбирач на светлина (до 30 пати повеќе од флуоресцеинот) и брилијантен емитувач на црвена флуоресценција, поттикнувајќи ја неговата широка употреба како ознака за имунофлуоресценцијата.

Обојувањето на клеточните мембрански молекули или ткивните делови со флуоресцентно противтело може да биде директно или индиректно (слика 6-14). При **директното обојување**, специфичното противтело (првичното противтело) е директно конјугирано со флуоресцеин. При **индиректното обојување**, првичното противтело е неозначено и се открива со дополнителен флурохромно означен реагенс. За индиректното обојување развиен е одреден број реагенси. Најчесто е флурохромно означеното вторично противтело кое се развива во еден вид против противтелата од друг вид, како флуоресцеинско означен козји противглувчешки имуноглобулинот.

Индиректното имунофлуоресцентно обојување има две предности пред директното обојување. Прво, првичното противтело не треба да биде конјугирано со флурохром. Бидејќи снабдувањето со првично противтело често претставува ограничувачки фактор, индиректните методи ја избегнуваат загубата на противтело која обично се појавува при конјугациската реакција. Второ, индиректните методи ја зголемуваат чувствителноста на обојување бидејќи многу молекули од флурохромниот реагенс се врзуваат за секоја првич-



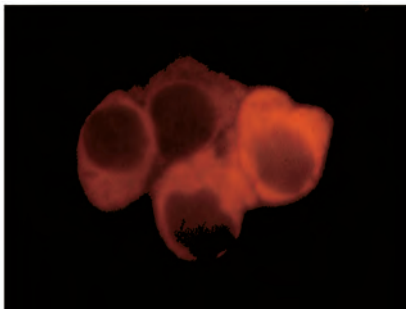
(а) Директен метод со флуорохромски означено противтело кон мПг

(б) Индиректен метод со флуорохромски означено против идиотипско противтело

(в) Индиректен метод со флуорохромски означен протеин А

СЛИКА 6-14 Директно и индиректно флуоресцентно обојување на мембранскиот противген (мПг). Клетките се зацврстуваат за микроскопското стакло. При директниот метод (а), клетките се бојат против-мПг противтело кое е означено со флурохром (Фл). При индиректните методи (б и в), клетките прво се инкубираат со неозначено против-мПг противтело, а потоа се бојат со вторичен реагенс, означен со флурохром, кој се врзува за првичното противтело. Клетките се гледаат под флуоресцентен микроскоп за да се види дали се обоени. (г) При оваа микрографија, противтелните молекули кои имаат *ми* тешки вериги се откриваат преку индиректно боење на клетките со вторично противтело конјугурано со родамин.

(г)



на противтелна молелекула, зголемувајќи го количеството на светлина која е емитирана на местото од секоја првична противтелна молекула.

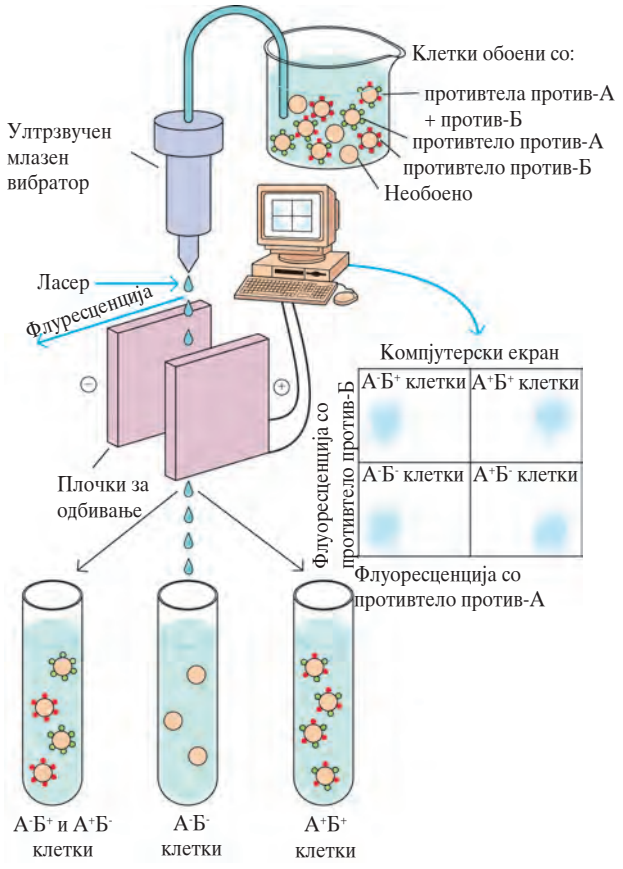
Имунофлуоресценцијата се применува за да се утврди одреден број на подпопулации на лимфоцитите, посебно КД4$^+$ и КД8$^+$ Т-клеточните подпопулации. Техниката исто така е соодветна и за утврдување на бактериските видови, откривање комплекси Пт-Пг во автоимунте болести, откривајќи ги комплементните делови во ткивата и за локализирање на хормоните и други клеточни продукти кое се обоени ин ситу. Всушност, главна употреба на техниката со флуоресцентно противтело претставува локализацијата на противгените во ткивните делови или во подклеточните оддели. Бидејќи може да се користи за означување на точното место на целните противгени, флуоресцентната микроскопија претставува моќна алатка за поврзување на молекулската архитектура на ткивата и органите со нивната целосна анатомија.

Проточна цитометрија и флуоресценција

Техниките со флуоресцентното противтело кои се опишани се мошне корисни квалитативни алатки, но не даваат квантитативни податоци. Овој недостаток беше поттикнат со развојот на проточниот цитомер, кој е направен за да ја автоматизира анализата и одделувањето на клетките кои се обоени со флуоресцентно противтело. Течниот цитомер користи ласерски сноп и светлосен детектор за броење единечни неоштетени клетки во суспенсија (слика 6-15). Секогаш кога клетката ќе го помине ласерскиот сноп, светлината се одбива од детекторот, а ова прекинување на ласерскиот сигнал се регистрира. Клетките кои имаат флуоресцентно означено противтело кое е врзано за противгените од нивната клеточна површина се надразнети од ласерот и емитуваат светлина која се регистрира со втор детектор кој се наоѓа под прав агол од ласерскиот сноп. Најпростата форма на инструментот ја брои секоја клетка која минува низ ласерскиот сноп и го регистрира нивото на флуоресценција која клетките го емитуваат, прикачениот компјутер врши прикажување на бројот на клетките на ординатата и интензитетот на флуоресценцијата на апсцисата. Пософистицираните варијанти на инструментот се способни за сортирање на популациите на клетките во различни резервоари според нивниот флуоресцентен изглед. Употребата на инструментот за одредување кои и колку членови од клеточната популација врзуваат флуоресцентно означени противтело е наречено *анализа*, а употребата на инструментот за поставување на клетките кои имаат различни облици на реактивност во различни резервоари е наречено *клеточно сортирање*.

Течниот цитомер има повеќекратна употреба при клиничките и истражувачките проблеми. Обичната клиничка употреба е да се одреди видот и бројот на белите крвни зрнца во примероците од крвта. Со соодветна обработка на крвни примероци со флуоресцентното означено противтело и извршувањето на анализи со проточна цитометрија, можат да се добијат следниве информации:

- *Колку клетки го прикажуваат целниот противген како цел број и како процент од клетки кои минуваат низ зракот.* На пример, ако се користи флуоресцентно противтело кое е специфично за противгенот кој е присутен кај сите Т клетки, ќе биде можно да се одреди процентот



СЛИКА 6-15 Одделување на клетките кои се означени со флурохром со протчен цитометар. Во прикажаниот пример, измешаната клеточна популација се бои со две противтела, едното специфично за површинскиот противген А и другото специфично за површинскиот противген Б. Противтелата против-А се означени со флуоресцеин (зелена боја) а противтелата против-Б со родамин (црвена боја). Обоените клетки се внесуваат во комората за примероци на цитометарот. Клетките се внесуваат, една по една, од мал вибрирачки млазник кои создава микрокапки, при што секоја содржи по една клетка. Како што го напуштаат млазнакот, секоја клетка прима мал електричен полнеж, а компјутерот кој го контролира проточниот цитометар може точно да одреди кога капката која се создава од млазнакот минува низ снопот ласерска светлина која го надразнува флурохромот. Интензитетот на флуоресценцијата која е емитувана од секоја капка која содржи клетка се надгледува се детектор и се прикажува на компјутерскиот екран. Бидејќи компјутерот ја следи позицијата на секоја капка, можно е да се одреди кога одредена капка ќе пристигне меѓу плочките за отфрлање. Со нанесување на моменталниот полнеж на плочките за отфрлање кога капката минува меѓу нив, можно е да се промени патеката на одредената капка во еден или друг сад за собирање. Ова овозможува сортирање популација на клетки во потпопулации кои имаат различни профили на површинските обележувачи. На компјутерскиот екран, секоја точка претставува клетка. На клетките кои спаѓаат во левиот долен дел и имаат позадински нивоа на флуоресценција се смета дека не реагираат со противтелото против-А или противтелото против-Б. Оние кои се појавуваат во левиот горен агол реагираат со против-Б, но не и против-А, а оние во долниот лев агол реагираат со против-А, но не и со против-Б. Горниот десен агол содржи клетки кои реагираат и со против-А и со против-Б. Во овој пример, $А^{-}$ $Б^{-}$ - и $А^{+}Б^{+}$-субпопулациите се сортирани во одделна епруветка. Обојувањето со флуоресцентните противтела против-А и против-Б овозможува разликување четири субпопулации: $А^{-}$ $Б^{-}$, $А^{+}Б^{+}$, $А^{-}$ $Б^{+}$ и $А^{+}Б^{-}$.

на Т клетки во целата популација од бели клетки. Потоа, користејќи ги можностите на течниот цитомер, можно е да се излолира Т-клеточниот дел од популацијата на белите клетки.

- *Распределбата на клетките во популацијата од примерокот според густината на противгенот како што е одредено со интензитетот на флуоресценцијата.* Според тоа, може да се добие мерка за распределбата на густината на противгенот во популацијата клетките кои го поседуваат противгенот. Ова претставува моќна карактеристика на инструментот, бидејќи истиот тип на клетки може да прикажува разлинични нивоа на противген зависно од неговата развојна и физиолошка состојба.
- *Големина на клетки.* Информациите се добиваат од анализа на особините за светлосно разлевање на членка од клеточната популација која се испитува.

Проточната цитометрија исто така овозможува анализирање на клеточната популација која е означена со две или три различни флуоресцентни противтела. На пример, ако примерок од крвта реагира со противтело, означено со флуоресцеин, кое е специфично за Т клетките и истовремено со фикоеритрин означено противтело специфично за Б-клетките, процентите на Б- и Т-клетките можат со една анализа да се одредат истовремено. Чести се бројни варијации на таквите анализи со повеќе бои, вклучувајќи експерименти кои користат многу бои одеднаш.

Во моментов проточната цитометрија држи клучна позиција во имунологијата и во клеточната биологија и исто така стана незаменлива клиничка алатка. Во многу медицинските центри, проточниот цитометар е еден од најнеопходните алатки за утврдување и класифицирање на леукемиите (види клинички фокус). Изборот за лекувањето на леукемијата во голем степен зависи од видовите на клетките кои се вклучени, а прецизното утврдување на неопластичните клетки е неопходен дел од клиничката работа. Слично на тоа, брзото мерење на Т-клеточните суппопулации, што претставува прогонозирачки показател за СИДА, се иврзшува рутински со анализа на протчна цитометрија. При оваа процедура, означените моноклонски противтела против главните Т-клеточни подпопулации кои имаат КД4 и КД8 противгени се користат за одредување на нивните односи во крвта од пациентот. Кога бројот на КД4 Т клетки паѓа под одредено ниво, пациентот е на висок ризик од опортунистички инфекции.

Алтернативи за противген-противтелни реакции

Како одбрана против противтелата на домаќинот, одредени бактерии развиле способност за создавење протеини кои се врзуваат Фк подрачјето од ИгГ молекулите со висок афинитет ($К_а$ приближно 10^8). Една таква молекула, позната како **протеин А**, се сретнува во клеточните ѕидови од некои видови *Staphilococcus aureus*, а друга, **протеин Г**, се појавува во ѕидовите на група Ц и Г *Streptococcus*. Со клонирање на гените за протеин А и протеин Г и создавањето хибриди за двата, може да се направи рекомбинирн протеин, познат како **протеин А/Г**, кој ги комбинира особините и од двата. Овие молекули се корисни бидејќи тие го врзуваат ИгГ од многу различни видови. Според тоа, тие може да се означат со флурохроми или радиоактивност и да се користат за откривање ИгГ молекули во противген противтелните комплекси кои се зодаваат при ЕЛИСА, РИА или такви анализи кои се базираат на флуосресценција како

КЛИНИЧКИ ФОКУС

Проточна цитометрија и одредување на леукемијата

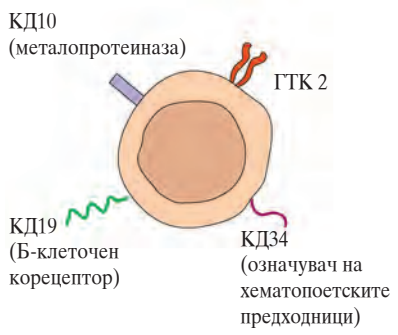
ЛЕКУМИЈАТА Е непроверено размножување на абнормален клон хематопоетски клетки. Обично, леукемичните клетки на регулаторните сигнали реагираат слабо или несоодветно, прикажуваат абнормални обрасци на деференцијација или не успеваат да се диференцираат. Понатаму, тие понекогаш го супресираат растот на нормалните лимфоидни и миелоидни клетки. Леукемијата може да настане во која било фаза на зреење кај било кое хематопоетско потекло на клетките. Лимфоцитните леукемии, прикажуваат многу особини на клетки од лимфоидно потекло, друга широка група, миелогени леукемии, имаат особини на членови од миелоидно потекло. Освен потеклото, многу леукемии можат да се класифицираат како акутни или хронични. Одредни примери се акутната лимфоцитична леукемија (АЛЛ) - најчестиот тип на детска леукемија, акутната миелогена леукемија (АМЛ) - која почесто се среќава кај возрасни отколку кај деца и хроничната лимфоцитна леукемија (ХЛЛ) - која ретко се гледа кај деца, но во западниот свет е најчеста форма на леукемија кај возрасните. Четвртиот тип, хронична миелогена леукемија (ХМЛ), се појавува почесто кај другите ворзасни отколку кај децата.

Дијагнозата за леукемија се базира на откривањето абнормални клетки во крвотекот и коскената срж. Дизајнирањето најсоодветна терапија за пациентот бара познавање за тоа кој тип на леукемија е присутен. Во овој поглед, две од значајните прашања се: (1) Од која линија се абнормалните клетки и (2) која е нивната фаза на зреење? Многу пристапи, вклучувајќи цитолошко испитување на клеточната морфологија и особините на обојување, имунофенотипизирањето и, во одредени случаи, анализа на генското преуредување, се корисни во одговарањето на овие прашања. Еден од најмоќните пристапи е имунофенотипизирањето, одредување на профилот на прикажани површински обележувачи во леукемичната клетка. Иако противгените кои се специфични за леукемија сèуште не се пронајдени, од изгледот на прикажаните површински противгени често може да утврди клеточно потекло, а тие често се корисни при одредување на фазите на зреење присутни во леукемичните клеточни популации. На пример, абнормалната клетка која прикажува површински имуноглобулин ќе биде означена од Б-клеточното потекло, а нејзината фаза на зреење ќе биде иста како кај зрелата Б-клетка. Од друга страна, клетката која има цитоплазмини тешки вериги *ми*, но не и површински имуноглобулин, ќе биде леукемична клетка од Б потекло, но во фаза на зреење како пред-Б-клетката. Најефикасната и прецизна технологија за имунофенотипирањето употребува проточна цитометрија и моноклонски противтела. Достапноста на моноклонските противтела кои се специфични за секое мнозинство противгени кои се среќаваат кај различни типови и подтипови на хематопоетски клетки овозможи утврдување облици на прикажување на противгени кои се типични за потеклата на клетките, фазите на созревање и бројот на различни видови на леукемија. Повеќето центри за рак се опремени со проточни цитометри кои се способни за извршување и толкување на повеќепраметарските анализи неопходни за да овозможат корисен облици на површинските обележувачи врз туморските клеточни популации. Одредувањето на имунофенотиповите со проточна цитометрија овозможува:

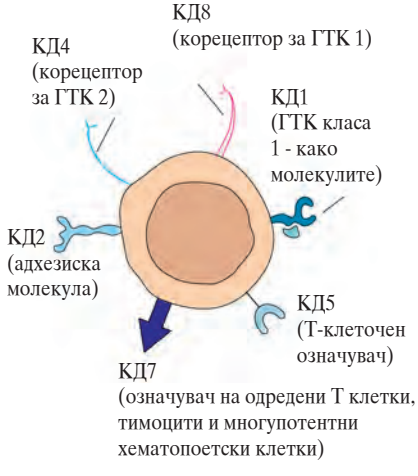
- Потврда на дијагнозата
- Кога нема јасна проценка, дијагнозата може да се базира на морфологија или облици на цитохемиско обојување
- Утврдување облици на абнормални противгени кои можат да помогнат да се утврди враќањето леукемијата по ремисија
- Подобрено предвидување текот на болеста

Распределба на одбрани обележувачи кај одредени видови леукемични клетки. Прикажани се вообичаените изгледи на површинските противгени профиле кои се среќаваат кај многу, но не сите, АЛЛ и ХЛЛ.

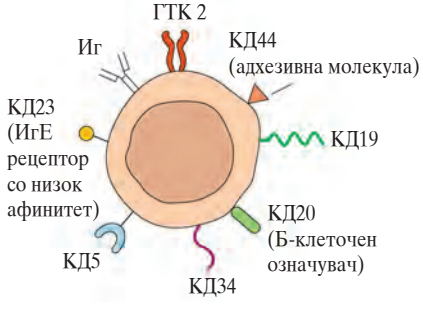
АЛЛ од потекло на пред-Б (АЛЛ која најчесто се појавува)



АЛЛ од Т потекло



ХЛЛ од Б потекло

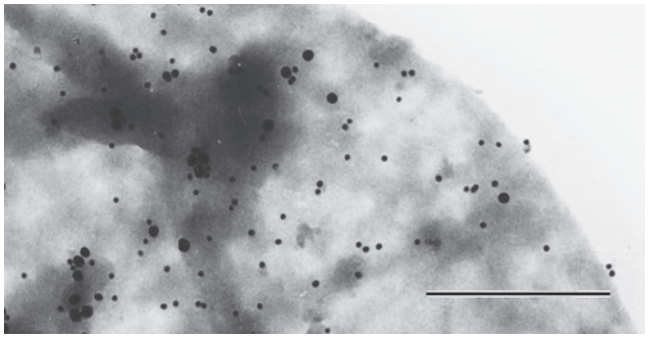


проточната цитометрија или флуоресцентната микроскопија. Овие бактериски протеини кои се врзуваат за ИгГ исто така може да се користат за да се направат афинитетни колони за изолацијата на ИгГ.

Белките од јајцата содржат протеин наречен *авидин* кој врзува биотин, витамин кој е потребен за синтеза на мастите. За авидинот се верува дека еволуирал како одбрана против грабливците кои ограбуваат гнездата и ги јададат украдените јајца. Врзувањето меѓу авидинот и биотинот е мошне специфично со доста повисок афинитет (K_a приближно 10^{15}) од кој било друг одговор на противген-противтело. Бактериски протеин наречен **стрептавидин**, создаден од *Streptomyces avidinii*, има слична висок афинитет и специфичност. Извонредниот афинитет и уникатната специфичност на меѓудејството на овие протеини со биотинот широко се користи кај многу имунолошки процедури. Првичното или вторичното противтело се означува со биотин и му се овозможува да реагира со целниот противген, а неврзаното противтело потоа се мие. Последователно, стрептавидинот или авидинот кои конјугираат со ензимот, флурохромот или радиоактивниот означувач се користат за откривање на врзаното противтело.

Имуноелектронска микроскопија

Добрата специфичност на противтелата ги направи моќни алатки за визуелизирање на специфичните внатреклеточни ткивни делови со **имуноелектронска микроскопија**. При оваа техника, електронското означување или е конјугирано за Фк делот од специфичното противтело со директно обојување или конјугирано за противимуноглобулинскиот реагенс за индиректно обојување. Се употребуваат одреден број електронски густински ознаки, вклучувајќи *феритин* и *колоидно злато*. Електронското густинско означување со електронски микроскоп може да се прикаже како мали црни точки. Во случајот на имунозлатното означување, различни противтела може да се конјугираат со златни честички од различни големини, овозможувајќи утврдување на неколку противгени во клетката со различни големини од електронските златни честички прикачени за противтелата (слика 6-16).



СЛИКА 6-16 Имуноелектромикрографија на површината од Б-клеточна миелома обоена со две противтела: едно против молекулите ГТК класа 2 означени со златни честички од 30-нм, а друго против молекулите од ГТК класа 1 означени со златни честички од 15-нм. Густината на молекулите од класа 1 ја надминува густината на класата 2 кај оваа клетка. Линија = 600 нм. [*Од A. Jeniet et al., 1997, PNAS 94:7269-7274; сопственост на A. Jenei* и *S. Damjanovich, University Medical School of Debrecen, Hungary.]*

Резиме

- Меѓудејствата противген-противтело зависат од четири видови на нековалентни меѓудејства: водородни врски, јонски врски, хидрофобни меѓудејства и меѓудејства ван дер Вал.
- Афинитетната константа, која може да се одреди со анализата на Скачард, овозможува квантитативно мерење на силата на меѓудејствата меѓу епитопот на противгенот и едно противтелно врзно место. Авидитетот ја отсликува вкупната сила на меѓудејствата меѓу повеќевалентната противтелна молекула и повеќевалентната противгена молекула во повеќе места.
- Површинската плазмонска резонанца (ППР) го овозможува карактеризирањето на афинитетот и кинетиката на меѓудејствата противген-противтело.
- Меѓудејствота на растворливиот противген и таложното противтело во течност или гел создава талог Пт-Пг. Електрофорезата може да се комбинира со таложење во гел при техника наречена имуноелектрофореза.
- Меѓудејствата меѓу одредениот противген и слепувачкото противтело (аглутинин) создава видливо групирање или аглутинација, која ја создава основата за едноставните, брзи и чувствителни имуноанализи.
- Радиоимуноанализата (РИА) е високо чувствителна и квантитативна постапка која користи радиоактивно означен противген или противтело.
- Ензимски врзаната имуносорбентна анализа (ЕЛИСА) зависи од реакцијата ензим-супстрат која создава реакциски обоен продукт. Анализите ЕЛИСА кои користат хемилуминисценција наместо хромогена реакција се најчувствителните достапни имуноанализи.
- При Вестерновото дамкосување, протеинската мешавина се одделува со електрофореза. Потоа протеинските ленти се пренесуваат електрофоретски врз нитроцелулоза и се утврдуваат со означено противтело или означен противген.
- Флуоресцентната микроскопија која користи противтела со флуоресцентни молекули може да се користи за прикажување на противгенот на или во клетките.
- Проточната цитометрија овозможува необично моќна технологија за квантитативна анализа и сортирање на клеточните популации означени со едно или со повеќе флуоресцентни противтела.

Референци

Bierer, B., et al. 2005. Current Protocols in Immunology. Wiley, New York.

Harlow, E., and D. Lane. 1999. Using Antibodies: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.

Herzenberg, L. A., ed. 1996. Weir's Handbook of Experimental Immunology, 5th ed. Oxford, Blackwell Scientific Publications.

Malmqvist, M. 1993. Surface plasmon resonance for detection and measurement of antibody-antigen affinity and kinetics. Current Opinion in Immunology 5:282.

Rich, R. L., and D. G. Myszka. 2003. Spying on HIV with SPR. Trends in Microbology 11:124.

Rose, N. R., et al. 1997. Manual of Clinical Laboratory Immunology. American Society of Microbiology, Washington, DC.

Wild, D., ed. 2005. The Immunoassay Handbook, 3rd ed. Elsevier, Amsterdam.

Корисни веб-страни

http://pathlabsofark.com/flowcyttests.html

Истражете ги патолошките лаборатории на Арканзас за да видите какви примероци се земени од пациенти и какви обележувачи се употребуваат за проценување на популацијата на лимфоцитите со проточна цитометрија.

http://jcsmr.anu.edu.au/facslab/protocol.html

На доста информативната веб-страна на Australian Flow Citometry Group, може да се најде детален и сликовит водич за толкување на цитометриските анализи на клиничките примероци.

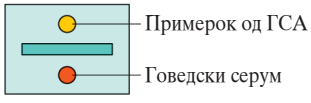
http://www.rockefeller.edu/spectroscopy/instruments_spr.php

Одлична дефиниција за едниците на одговор изразени при површна плазмонска резонанца.

Прашања за учење

ПРАШАЊЕ ОД КЛИНИЧКИОТ ФОКУС Анализата со проточната цитометрија за откривање и мерење на субпопулациите на белите клетки, вклучувајќи ги и субпопуалциите на леукемијата, обично се извршува со употреба на моноклонски противтела. Зошто?

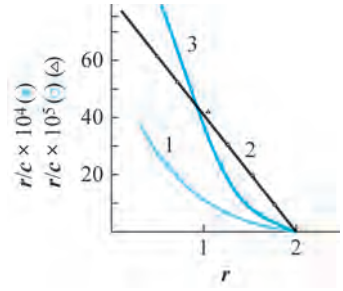
1. Наведете дали секој од следниве искази е точен или неточен. Ако мислите дека одреден исказ е неточен објаснете зошто.
   а. Индиректната имунофлуоресценција е почувствителна техника од директната имунофлуоресценција.
   б. Повеќето противгени поттикнуваат поликлонски одговор.
   ц. Папаинскиот продукт од против-ОЦКЗ противтела може да аглутинира овнешки црвени крвни зрнца (ОЦКЗ).
   д. Пепсинскиот продукт од против-ОЦКЗ противтела може да аглутинира ОЦКЗ.
   е. Индиректната имунофлуоресценција може да се изврши со употреба на Фпв фрагмент како првично, неозначено противтело.
   ф. За да настане таложење, и противгенот и противтелото мора да бидат милтивалентни.
   г. Анализата на клеточната популација со проточна цитометрија во исто време може да даде информации и за големината на распределбата и изгледот на противгенот во клеточната популација која содржи неколку различни видови на клетки.
   х. Тестовите ЕЛИСА кои користат хемилуминисценција се почувствителни од хромогените, а таложните тестови се почувствителни од тестовите со аглутинација.
   и. Вестерновото дамкосување и имуноталожните анализи се корисни квантитативни анализи за мерење на нивоата на протеините во клетките или ткивата.
   ј. Да претпоставиме дека противтелото А и противтелото Б реагираат со епитопот Ц. Понатаму, претпоставете дека противтелото А има K_a 5 пати поголемо од колку кај противтелото Б. Силата на моновалентната реакција на противтелото А со епитопот Ц секогаш ќе биде поголема од авидитетот на противтелото Б за противгенот со повеќекратни копии од епитопот Ц.
2. Добивте препарат од прочистениот говедски серум албумин (ГСА) од нормален говедски серум. За да утврдите дали други останале други серумски протеини во препаратот од ГСА, одлучивте да користите имуноелектрофореза.
   а. Кој противген ќе го користите за да подготвите противсерум кој е потребен за откривање на примеси во препаратот од ГСА?
   б. Да претпоставиме дека препаратот од БСА е чист, нацртајте имуноелектрофоретски модел кој го очекувате ако анализата се ивршеше со говедски серум во резервоарот над каналот кој го содржи противсерумот кој го подготвивте во (а) и примерокот од ГСА во резервоар под каналот кој прикажан долу:



3. Ознаките од четирите шишиња (А, Б, В, Г) за конјугатите хаптен-носач беа несакајќи отстранети. Сепак, познато е дека секое шише содржи или (1) хаптен 1-носач 1 (Х1-Н1), (2) хаптен 1-носач 2 (Х1-Н2), (3) хаптен 2-носач 1 (Х2-Н1), (4) хаптен 2-носач 2 (Х2-Н2). Носачот 1 има молекулска тежина од 60000 далтони, а носачот 2 има молекулска тежина од над 120000 далтони. Претпоставете дека имате противтело против-Х1 и противтело Х2 и означувач за молекулската тежина кој е 100000 далтони. Употербете Вестерново дамкосување за да ја утврдите содржината на секое шише и покажете ги резултатите од Вестерновото дамкосување кои ги очекувате за 1, 2, 3 и 4. Вашиот одговор исто така треба да каже кое противтело или комбинација на противтела се користи за откривање на секоја дамка.
4. Со која од следниве анализи може да се утврди концентрацијата на мала количина (250 нанограми/мл) хаптен: (а) ЕЛИСА (хромогено), (б) методот на Октерлони, (в) РИА, (г) флуоресцентната микроскопија, (д) проточната цитометрија, (ѓ) имуноталожење, (е) имуноелектронска микроскопија, (ж) анализата ЕЛИСПОТ, (з) хемилуминисцентна ЕЛИСА?
5. Имате миеломски протеин, Х, чиј изотоп е непознат и неколку други миеломски протеини со сите познати изотипови (на пр., ИгГ, ИгМ, ИгА и ИгЕ).
   а. Како ќе создадете противтела специфични за изотипови кои може да се користат за одредување на изотипот на миеломскиот протеин, Х?
   б. Како може да го употребите ова против-изотипско противтело за мерење на нивото на миелмскиот протеин Х во обичниот серум?
6. За секој противген и противтело кои се наведени долу, наведете соодветен метод за анализа и потребните реагенси за тестовите. Имајте ја предвид чувствителноста на анализата и очекуваната концентрација на секој протеин.

а. ИгГ во серум
б. Инсулин во серум
в. ИгЕ во серум
г. Комплементна К3 компонента во гломерулската базална мембрана
д. Против-А противтела кон крвно групниот противген А во серумот
ѓ. Загадување на хамбургер со коњско месо
е. Сифилисна спирохета во размаска од тврд улкус (шанкр)

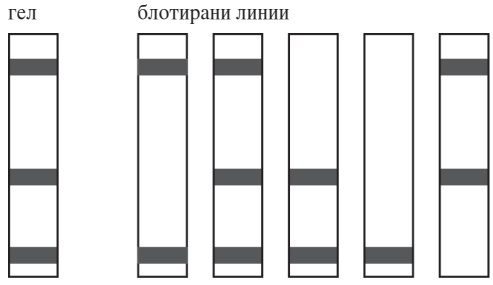
7. Што од следново *не* се таложи при создавањето на противген противтелни комплекси?
   а. Хидрофобни врски
   б. Ковалентни врски
   в. Електростатски меѓудејства
   г. Хидрогенски врски
   д. Силите на Ван дер Вал
8. Објаснете ја разликата меѓу противтелниот афинитет и противтелниот авидитет. Која од овие особини на противтелото подобро ја одразува способноста да придонесе во хуморалниот имун одговор кон навлегување бактерии?
9. Сакате да развиете чувствителна имуноанализа за хормон кој се појавува во крвтаа при концентрации близу 10^{-7} *M*. Понуден ви е избор за три различни противсерумии чии афинитети за тој хормон се одредени со рамнотежна дијализа. Резултатите се прикажани долу равенката на Скачард.
   а. Која е вредноста на K_0 за секој противсерум?



   б. Која е валентноста на секое од противтелата?
   в. Кој противсерум може да биде моноклонско противтело?
   г. Кој противсерум ќе употребите за вашата анализа? Зошто?
10. Во подготовка на демонстрација за нејзиниот час по имунологија, професорката прочистила противтела ИгГ за овнешки црвени крвни зрнца (ОЦКЗ) и дел од противтелата ги разградила во фрагментите Фпв, Фк и $Ф(пв')_2$. Таа го ставила секоја препарат во посебна епруветка, ги означила епруветките со означувач кој е растворлив во вода и ги оставила во мраз. Кога дошла времето за нејзиниот час, таа видела дека ознаките се избришале и не биле читливи. Решена да го спаси часот, таа ги преозначила епруветките 1, 2, 3 и 4 и продолжила. Врз база на резулатите од тестовите кои се наведени долу, објаснете кој препарат се наоѓал во секоја епруветка и објаснете како ја утврдивте нивната содржина.
    а. Препаратот во епруветка 1 аглутинирал ОЦКЗ, но не ги лизирал во присуство на комплемент.
    б. Препаратот во епруветка 2 не аглутинирал ОЦКЗ, ниту ги лизирал во присуство на комплемент. Сепак, кога овој препарат бил додаден во ОЦКЗ пред додавањето на целиот против-ОЦКЗ, спречил аглутинација на клетките од страна на целиот противсерум против-ОЦКЗ.
    в. Препаратот во епруветка 3 аглутинирал ОЦКЗ и исто така ги лизирал клетките во присуство на комплемент.
    г. Препаратот во епруветка 4 не ги аглутинирал ниту ги разложил ОЦКЗ и не ја попречил аглутинацијата на ОЦКЗ од страна на целиот противсерум против-ОЦКЗ.
11. Разгледајте ја формулата 1 и изведете ја формата од равенката на Скачард која се појавува во формула 2.
    1. $S + L = SL$
    2. $B/F = K_a([S]_t - B)$

    Каде S = противтелни врзни места, [S] = моларната концентрација на противтелно врзно место, L = лиганд (моновалентен противген); [L] = моларната концентрација на лигандот, SL = комплекс место-лиганд, [SL] = моларна концентрација на комплексот место-лиганд, Б = замена за [SL] а Ф за [L]. Помош: Би било корисно да почнете со пишување на законот за дејство на масата за одговорот кој е прикажана во формула 1.
12. Преку летото најдовте работа во клиничка лабораторија за да ги покриете вашите студентски трошоци. Нарачавте опрема дизајнирана за откривање на Хантавирусните противтела во серумот од пациентите со употреба на индиректна ЕЛИСА, но кога пристигна опремата немаше упатство, само шишиња означени „реагенс А“, „реагенс Б“, итн. Неколку пациенти се потенцијално изложени на Хантавирусот, а вие треба да ја користите опремата за да одредите дали навистина тие биле изложени.
    а. Што од следново ќе биде вклучено во опремата како реагенси кои се потребни за извршување на анализата?
       1. Позитивна контрол од растворлив противген
       2. Првично противтело за Ханта вирус
       3. Супстрат
       4. Ензимски обележено вторично противтело кон првичното
       5. Ензимски обележено вторично противтело кон вирусот
       6. Противген обложени плочки
    б. Со употреба на опремата, добивте резулатати за серумите од три пациенти (П1-П3 во табелата долу). Кои се титрате на серумите од пациентите (наведете титар за сите три пациенти)? Кои (доколку воопшто) од овие пациенти биле изложени?
13. Откриен е нов вид на грип кој има потенцијал да инфицира голем број на луѓе поради високата стапка на пренесување. За да се процени тежината на инфекцијата која се шири, испитувате дали просечните граѓани веќе прикажале противтела кои можат вкрстено да реагираат со противгените од грипот. Прво вметнувате растворлив површински противгени од видот на грип на лента со гелот

Слепа	- Контрола	+ Контрола		1:1	1:10	1:100	1:1000	1:10000	1:100000
0,001	0,103	0,857	P1	1,002	0,562	0,352	0,202	0,096	0,005
0,006	0,056	0,952	P2	0,002	0,005	0,008	0,002	0,004	0,001
0,005	0,096	0,903	P3	0,568	0,203	0,086	0,079	0,082	0,045

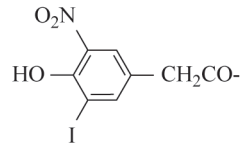
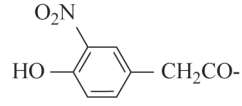
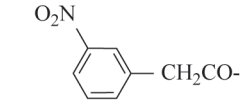
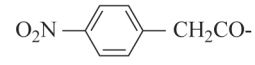
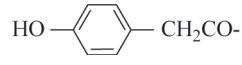


СДС-ПАГЕ. Потоа една лента потемнува со неспецифична Комаси сина боја (лево на сликата горе). Останатите ленти електрофоретски се пренесуваат во нитроцелулозата и се делат на линии, така што секоја лента ќе може да се пополни со нормален серум од волонтер како првично противтело за откривањето Вестернови дамки. Резулатите од експериментот се прикажани долу. Од овие резулатите, дали ќе очекувате широка здравствена криза од овој нов вид на грип.

14. Вашиот советник за испитување само што откри нов рецептор за кој се верува дека е значаен при развојот на Алцахајмеровата болест. Други членови од лабораторијата го клонирале рецепторот и генот го инфицирале во клеточна линија за понатамошно испитување. Ваша задача е да извршите клеточно сортирање на заразените клетки за да ги отстраните неприкажувачите и да одберете популација со висок степен прикажувачи. Имате достапно противтело од зајак за рецепторот, противтело од контролен глушец кое се врзува за незаразените клетки, флуоресцеински конјугирано козјо против глувчшко противтело и родаминсо конјугирано магарешко против зајашко противтело.
    а. Објаснете како ќе го подготвите експериментот FACS.
    б. Нацтајте хистограм FACS за очекуваните резулати со оска *x* која го покажува нивото на флуоресцеин и оска *y* која го покажува нивото на родамин. Во вашиот хистограм вклучете ги позициите каде ќе ги поставите границите за одделувањето на клетките.
15. Која е предноста при употребата на ЕЛИСПОТ наспроти стандардниот сендвич ЕЛИСА? Кои се сличностите и разликите меѓу овие два анализи?

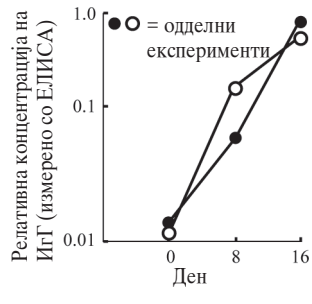
АНАЛИЗИРАЊЕ ПОДАТОЦИ Канајама и колегите (референца) создадоа трансгеничен глушец (QM глушец) чии главен Б-клеточен рецептор (присутен кај 80% од сите Б-клетки во глушецот) се сосостоеше од B_T 17.2.25 - кодирани тешки вериги и лесни вериги ламбда1 и ламбда2. Противгениот рецептор беше специфичен за хаптен4-хидрокси-3-нитрофенилацетил (NP). Овие испитувачи утврдија дека релативниот афинитет на овие Б-клетки за другите хаптени кои се поврзани со NP користат соодветни анализи за компетитивна инхибиција (IC_{50}= концентрацијата која е потребна за натпреварување за 50% за врзување на радиоозначените NP) претставени на табелата. Тие исто така ги имунизираа шепите на глушецот QM со pNP-CGG (глобулин од кокошка) а потоа на глушецот му вадеа крв во различни интервали (слики). Врз база на претставените информации и од она што го научивте од оваа книга одговорете на следниве прашања.

а. Точно или неточно: Овој идиотип (противген рецептор) е специфичен за хаптенот NP. Според тоа, Иг рецепторот секогаш ќе има највисок афинитет за NP во споредба со другите хаптени кои се поврзани со NP. Објаснете
б. Дали менувањето на класи се јавува како одговор на имунизација? Објасните го вашиот одговор.
в. Како двата процеси придонесоа за резултатот прикажан на сликата б?

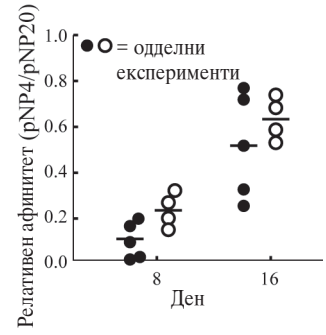
ДНФ лиганд		IC_{50} (M)
NIP		2×10^{-5}(15)
NP		3×10^{-4}(1)
mNP		3×10^{-4}(1)
pNP		6×10^{-3}(0.05)
HP		Нема инхибиција

г. Лесните вериги ламбда се прикажани врз Б-клетките од глушецот QM кои се проучуваат во ова испитување. Што ќе кажете за процесите кои настанале во пред-Б клеточната фаза од диференцирањето на Б-клетките што доведе до создавање противтело со лесни вериги ламбда?
д. Дали Б-клетките кои лачат ИгМ со B_T 17.2.25 - кодирани тешки вериги и лесна верига ламбда1 го имаат истиот идиотип како и Б-клетките кои го лачат ИгГ со B_T 17.2.25 - кодирани тешки вериги и лесна верига ламбда2.

(а) Против-ИгГ одговор на pNP со време



(б) Релативен афинитет од против-pNP одговор со време



Интерактивна настава

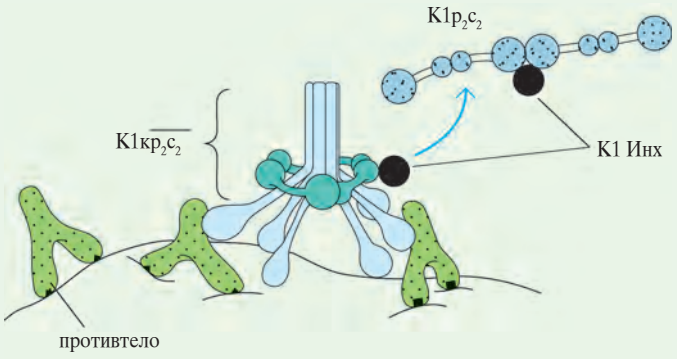
www.whfeeman.com/kuby

Самостоен тест
Преглед на клучни изрази

Анимација
xXГ тест за бременост (ЕЛИСА)

Поглавје 7

Систем на комплемент



Поттикнување на класичната патека за активација на комплементот од страна на противтелото кое се врзува за клеточната мембрана и нејзиното инхибирање од страна на K1 инхибиторот.

- Функции на комплементот
- Компоненти на комплементот
- Активирање на комплементот
- Таложни реакции
- Биолошки последици од активирање на системот на комплементот
- Недостатоци на системот на комплемент

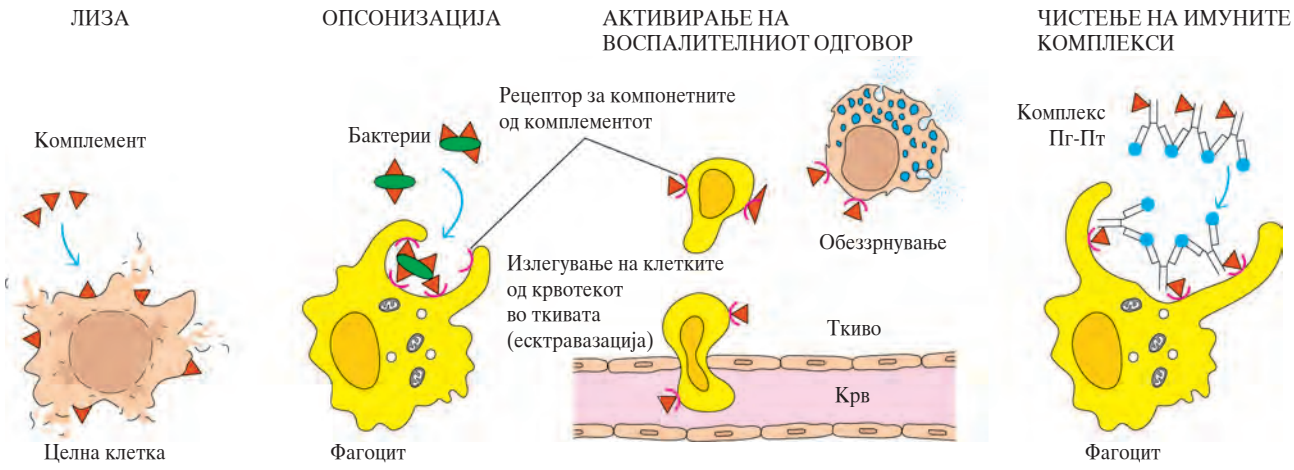
Системот на комплементот е главниот извршен ефекторен механизам на хуморалниот дел од имуниот систем. Истражувањата за системот на комплементот започнале во 90-тите години од 19 век, кога Џул Бордет од институтот Пастер во Париз утврдил дека противсерумот од овцата, кој предизвикувал разградување на бактеријата *Вибрио колере,* по неговото загревање ја губел својата бактериолитична активност. Изненадувачки било и тоа што способноста на загреаниот серум за уништување на бактеријата можела да се обнови со додавање свеж серум, кој не содржел специфични противтела бактеријата *Вибрио колере* и кој сам по себе неможел да ја уништи бактеријата. Бордет исправно размислувал дека ваквата бактериолитичната активност се должи на две различни материи: прво, на специфичните противбактериски противтела, кои можат да го издржат процесот на загревање и второ, на една компонента кој е чувствителен на топлина и која е одговорна за лизата на бактеријата. Бордет смислил еден едноставен тест за утврдување на оваа литичка активност, манифестиран преку лесно забележливо разградување на црвените крвни зрнца обложени со противтела, наречен **хемолиза**. Независно од ова, Пол Елрих изведувал слични експерименти во Берлин и прв започнал да го употребува поимот *комплемент*, дефинирајќи го како „активност на крвниот серум која го дополнува дејството на противтелото“. Во наредните години, истражувачите откриле дека литичкото дејство на комплементот е како резултат на заемните меѓудејствата на една сложена група на протини. Понатаму се покажало дека резулататите од активирањето на системот на комплементот имаат многу подалекусежно дејство од она за кое на почетокот се мислело дека го има, односно со противтела-посредуваната лиза на клетките. Се покажало и дека системот на комплементот игра клучна улога, како во вродениот така и во стекнатиот имун одговор.

Значаен аспект на активноста на комплементот е неговата позиција во вродениот имун систем. Иако откривањето на комплементот и најголемиот дел од првичните истражувања биле во врска со активноста на комплементот кој се јавувал по врзувањето на противтелото, главната улога во овој систем ја има препознавањето и уништувањето патогени. Ова препознавање се заснова повеќе на за патогенот асоцираните молекулскии обрасци или ПАМО (pathogen-associated molecular patterns = PAMPs), отколку на специфичноста на противтелото. Активирањето на каскадата на комплементот може да биде поттикната од страна на неколку различни протеини, кои циркулираат во нормалниот серум. Овие молекули, наречени **протеини на акутната фаза**, чија концентрацијата се менува во текот на процесите на воспалението, поседуваат способност за препознавање одредени обрасци. Од ова произлегува дека различните дејства на комплементниот систем можат да бидат поттикнати не само од страна на противтело, како што првично било прикажано од Бордет, туку исто така и од различните компоненти кои учествуваат во остварувањето на вродниот имунитет.

Во ова поглавје се опишани компонентите од системот на комплементот, трите главни патеки преку кои настанува нивното активирање, начинот на регулација на системот на комплементот, извршните ефекторни функции на различните компоненти на комплементот и клиничките манифестации кои се јавуваат поради недостатоците во поедини компоненти од комплементниот систем. Делот за клиничкиот фокус ги објаснува последиците кои се јавуваат поради недостаткот на протеините кои ја регулираат активноста на системот на комплементот.

Функциите на комплементниот систем

Истражувањето на полето на комплементот продолжуваат и понатаму за да ги вклучи големиот број на растворливи протеини и протеини кои се врзани за површината на клетката. Биолошките активности на овој систем влијаат и врз вродениот и врз стекнатиот имунитет и се протегаат многу подалеку од обичната, со противтела посредувана лиза на бактериите и црвените крвни зрнца. Споредбата на структурните на протеините кои се вклучени во патеките на комплементот, го



СЛИКА 7-1 Многукратните активности на комплементниот систем. Протеините од комплементот во серум и рецепторите за комплементот, кои се наоѓаат врз површината од мембрните на клетките, земаат учество во бројни активности од имунолошкиот систем: лиза на туѓите клетки со помош на противтело-зависни и противтело независни патеки, опсонизација или внесување на одредените противегени, вклучувајќи ги тука и бактериите, во фагоцитите, активирање на восплалителниот одговор и чистење на циркулирачките имуни комплекси во црниот дроб и слезината. Растворливите протеини од комплементот шематски се прикажани во форма на триаголник, рецепторите за комплементот во форма на полукруг. Овде не постои обид да се направи разлика помеѓу поединечните компоненти од комплементниот систем.

сместуваат потеклото на овој систем во делот на безр'бетните организми, кои поседуваат закржлавен вроден имун систем. Примитивните повеќеклеточни организми, кои не ги поседуваат елементите од стекнатиот имун систем, поседуваат протеини кои се слични на протеините од комплементниот систем. Наспроти тоа, заемното дејство меѓу рецепторите на клетките и протеините на комплементот може да ја насочи активноста на Б-клетките, што укажува на улогата на овој систем во високо развиениот стекнат имун систем. Според тоа, кај р'бетниците, имаат систем кој учествува и во вродениот и во стекнатиот имун систем, придонесувајќи за секој од нив на различен начин.

По настанатото активирање на системот на комплементот, различни негови компоненти стапуваат во заемно меѓудејство, во една прецизно регулирана каскада, за да извршат одреден број основни функции (слика 7-1), вклучувајќи ги тука и

- Лиза на клетките, бактериите и вирусите
- Опсонизација, која поттикнува фагоцитоза на соодветните противгени
- Врзување за специфичните рецептори за комплементот кои се наоѓаат на површината на клетките од имунолошкиот систем, поттикнување на специфичните клеточни функции, воспалението и излачувањето имунорегулаторни молекули
- Имунолошко чистење, со кое се остранувааат имуните комплекси од крвотекот и се депонираат во слезината и црниот дроб.

Компоненти на комплементот

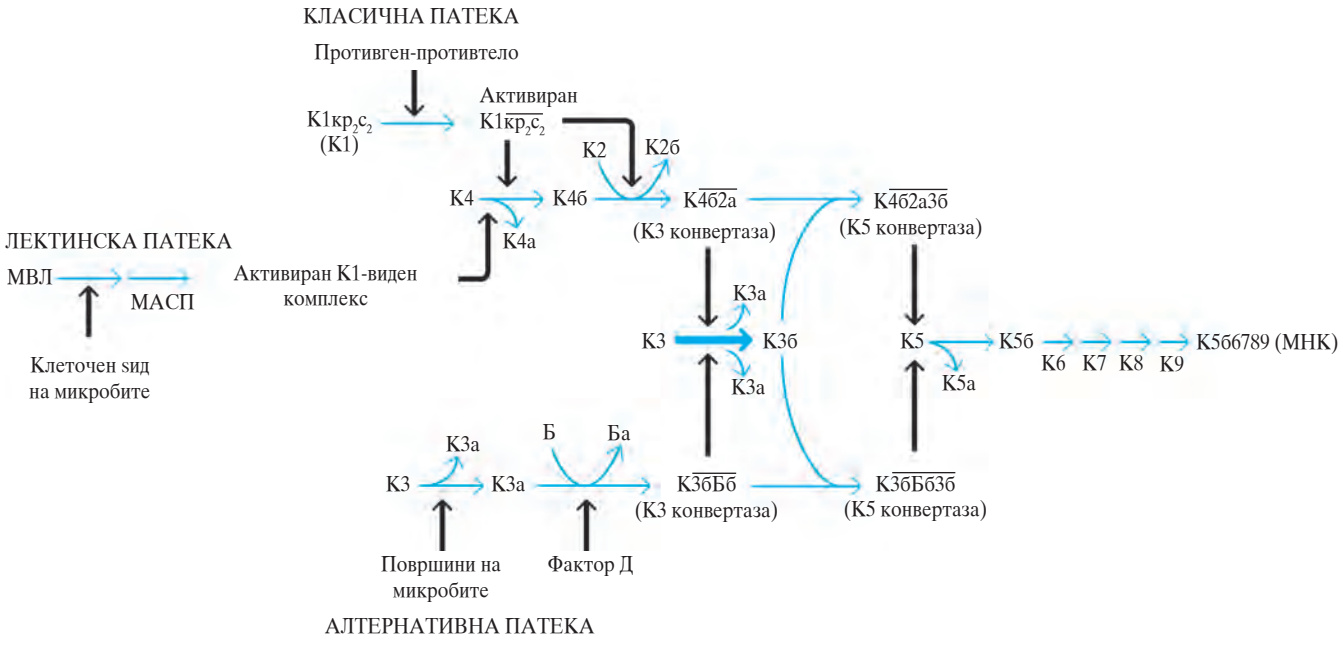
Растворливите протеини и гликопротеините кои го сочинуваат системот на комплементот воглавно се синтетизираат од страна на клетките (хепатоцитите) од црниот дроб, иако, исто така, значајни количини се создаваат и од страна на моноцитите во крвта, макрофагите во ткивата и епителните клетки во гастроинтестиналниот и генитоуринарниот систем.

На системот на комплементот отпаѓа 5% (од тежината) од вкупните глобулини во серумот. Повеќето од нив циркулираат во серумот во функционална неактивна форма како проензими или *зимоѓени*, кои се неактивни сè додека со протеолитичното расцепување не се отстрани инхибиторниот фрагмент и се изложи активното место од молекулот. Секвенцата на активацијата на комплементниот одговор започнува со активирање на ензимската скала (каскадата).

Деловите од комплементот се означени со бројки (К1-К9), со букви (на пр., фактор Д) или со обични имиња (на пр., хомологнен рестрикциски фактор). Пептидните фрагменти кои се создадаваат со активирањето на комплементот се означени со мали букви. Во поголемиот дел од случаите, помалиот фрагмент кој се создава како резултат на расцепувањето на компонентата на комплементот се означува со „а", додека поголемиот фрагмент се означува со „б" (на пр., К3а, К3б. Да се има во предвид дека К2 е исклучок: К2а е поголемиот фрагмент кој се создава со расцепувањето на К2 компонентата од комплементот). Поголемите фрагменти се врзуваат за целта близу местото на активирање, додека помалите фрагменти се рашируваат од местото на активација и можат да поттикнат појава на локален воспалителен одговор преку врзувањето за нивните специфични рецептори. Фрагментите од комплементот стапуваат во заемно дејство еден со друг, при што доаѓа до формирање на функционални комплекси. Оние комплекси кои имаат ензимска активност се означени со цртичка врз бројот или симболот (на пр., К4б2а, К3бББ).

Активирање на комплементот

На слика 7-2 се прикажани патеките на активирање комплементот. Почетните фази, кои кулуминираат со создавање К5б, можат да настанат со активирање на **класичната патека**, на **алтернативната патека** или на **лектинската патека на активација на комплементот**. Крајните фази кои доведуваат до создавање на мембрански напаѓачки комплекс или МНК (membrane-attack complex = MAC), се идентични кај сите три патеки.



СЛИКА 7-2 Прглед на патеките за активирање на комплементот. Класичната патека е поттикната кога К1 се врзува за комплексот противген-противтело. Алтернативната патека е поттикната со врзување на спонатано создадената К3б за активните површини, како што се на пример клеточните ѕидови на микробите. Лектинската патека е поттикната со врзување на серумскиот протеин МВЛ за површината на патогенот. Сите три патеки создаваат К3 и К5 ковертази и го врзуваат К5б, кој се преобразува во мембрански напаѓачки комплекс (МНК) преку заедничката патека на терминалните реакции.

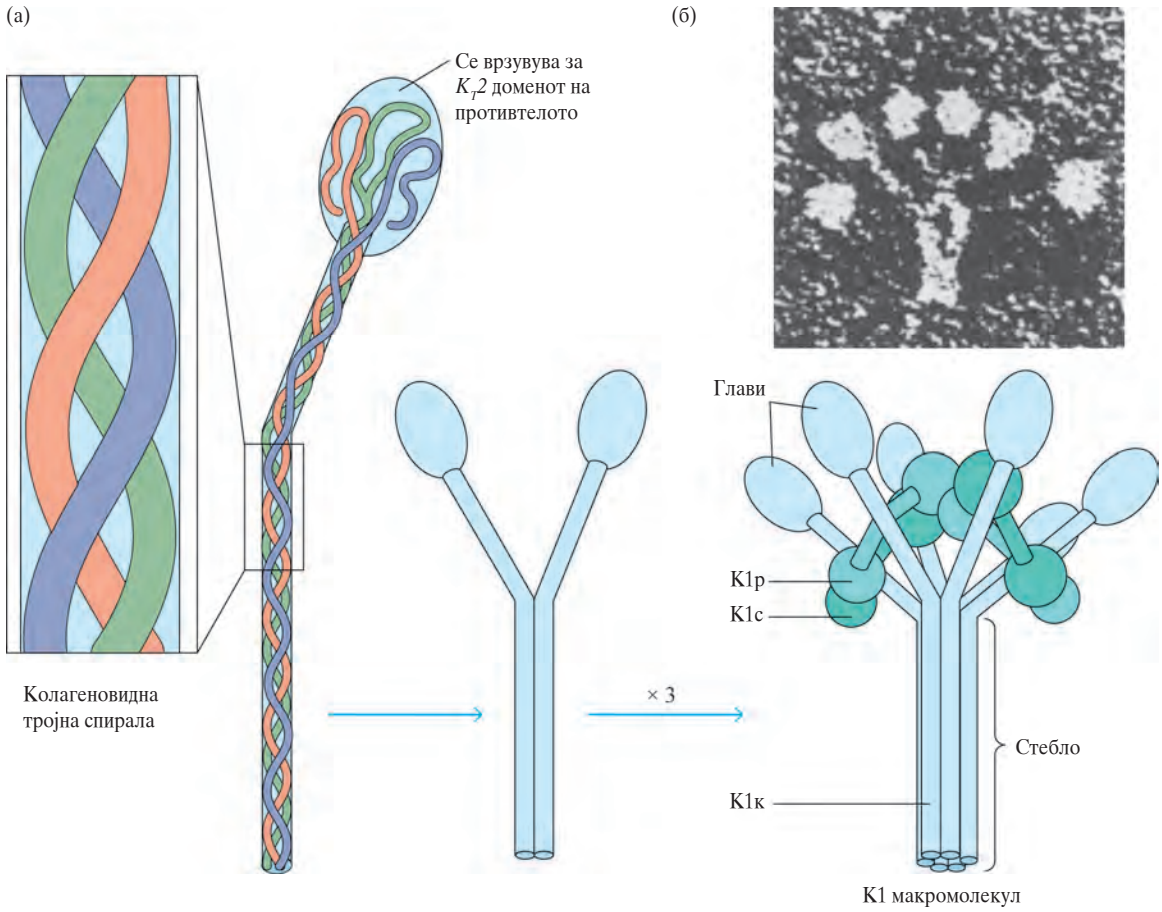
Класичната патека на активација на комплементот започнува со врзување на противген-противтело

Активирањето на системот на комплементот преку класичната патека на активација обично започнува со создавање на растворливи комплекси противген-противтело (имуни комплекси) или со врзувањето на противтелото за соодветниот противген, како што е на пример ѕидот на бактериите. ИгМ и одредени поткласи на ИгГ (хуманите ИгГ1, ИгГ2 и ИгГ3, но не и ИгГ4) можат да ја активираат класичната патека на комплементот. Почетната фаза на активирање на класичниот пат на комплементот ги вклучува К1, К2, К3 и К4 компонентите од комплементот, кои се присутни во плазамата како функционално неактивни форми. Бидејќи компонентите од комплементот се именувани по редослед на нивното откривање, пред да се одреди нивната вистинска функција, нивните нумерички ознаки не го прикажуваат вистинскиот редослед по кои тие стапуваат во реакција.

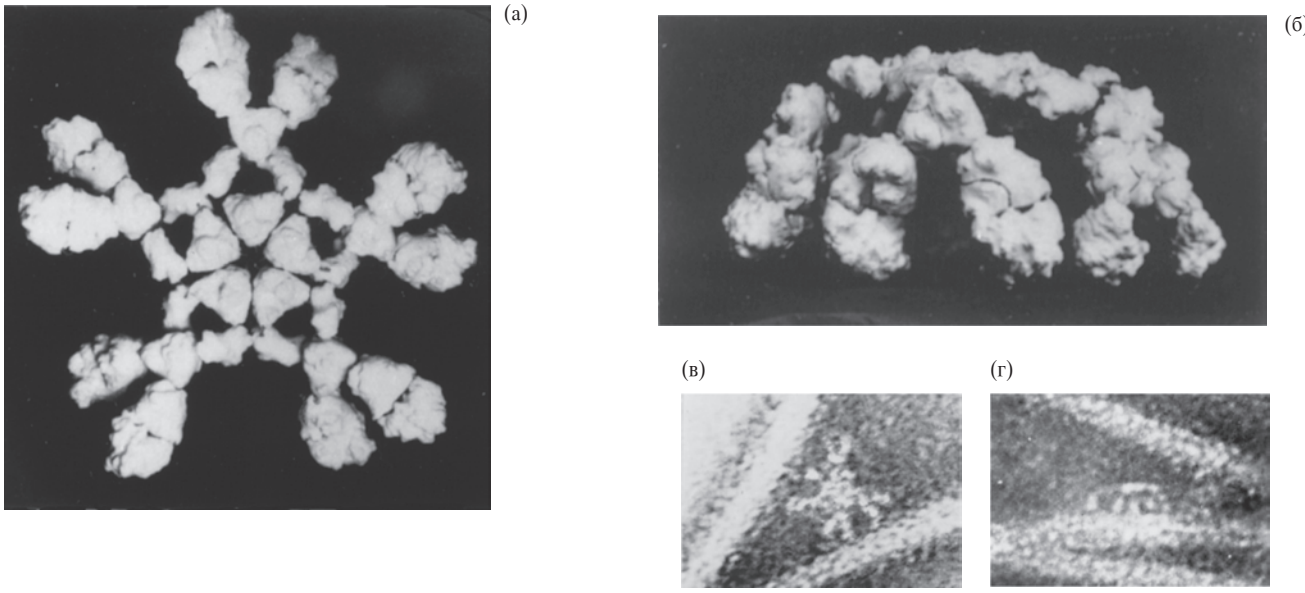
Создавањето на противтело-противген комплексот поттикнува структурни промени во Фк делот од молекулот на ИгМ, со што се изложува неговото активно место за поврзување со К1 компонентата на комплементниот систем. К1 компонентата во серумот е во вид на макромолекуларен комплекс, кој се состои од еден молекул на К1к и од по два молекули на К1р и К1с. Овој комплекс ($К1кр_2с_2$) опстојува балгодарение на јони на Ca^{2+}кои го стабилизираат. К1к молекулот е составен од 18 полипептидни вериги кои се поврзуваат меѓу себе и формираат шест колагеновидни тројни спирални гранки, чии што врвови се врзуваат за изложените К1-к врзни места кои се наоѓаат во К*Т*2 доменот од противтелниот молекул (слика 7-3). Секој мономер на К1р и К1с содржи каталитичен домен и домен за заемно дејство. Доменот за заемно дејство го олеснува како меѓудејството со К1к, така и нивното заемно меѓудејство.

За да настане стабилна врска помеѓу К1 компонентата-противтелото, глобуларни глави на К1к молекулот од К1 макромолекуларен комплекс мора да се врзе за најмалку два Фк дела од противтелото. Кога пентамерниот ИгМ ќе се врзе за противгенот на целната површина, доаѓа до превиткување на нормалната ѕвездовидна стуктура и создавање на една структура хефтерковидна (во вид на хевтерка), во која има изложено најмалку три слободни врзни места за К1к. За разлика од ова, циркулирачкиот ИгМ зазема планарна конфигурација во просторот, каде нема изложување на врзните места за К1к (Слика 7-4), поради што не може да ја активира скалата на коплементот. Од друга страна, молекулот на ИгГ содржи само едно врзно место за поврзување со К1к, кое е сместено во К*Т*2 доменот на Фк. Поради ова, цврстото врзување на К1к се постигнува само кога два ИгГ молекула се на растојание од 30 до 40 нм една од друга на целната површина или се во форма на комплес, со што се овозможува појава на 2 врзни места за К1к. Со оваа разлика може да се објасни фактот дека само еден молекул од ИгМ е доволен да се врзе за црвените крвни зрнца, за да може да активира класична патека на активација на комплементот и да настане лиза на црвените крвни знрца, додека во исто време потребно е да се врзат околу 1000 молекули на ИгГ врз површината на клетката, за да се обезбеди два молекула од ИгГ да се најдат доволно близу на клеточната површина со што би се овозможило врзување на К1к.

Фазите во класичната патека за активирање на комплементот шематски се прикажани на слика 7-5. Врзувањето на К1к за врзните места на Фк делот од молекулот на противтелото предизвикуваат структурна промена на К1р, која го преобразува К1р во активен ензим од типот на серинските протеази ($\overline{К1р}$), кој потоа го цепи $\overline{К1с}$ на сличен активен ензим ($\overline{К1с}$). К1с има два супстрати, К4 и К2. К4 компонентата претставува гликопротеин составен од три полипептидни вериги алфа, бета и гама. К4 се активира кога $\overline{К1с}$ хидролизира еден мал фрагмент (К4а) од



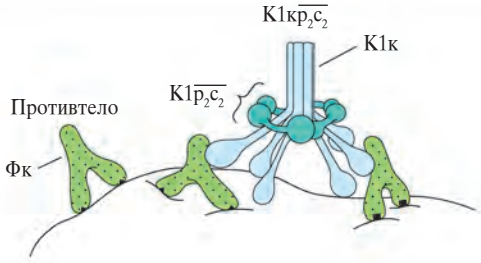
СЛИКА 7-3 Структурата на К1 макромолекулскиот комплекс. (а) К1к молекулот се состои од 18 полипептидни вериги во шест колагеновидни тројни спирали, каде секоја од нив содржи еден синџир А, Б или В, прикажани во сина, зелена и црвена боја. Главната група од секој триплет содржи елементи од сите три вериги. Во К1 макромолекулот, К1к стапува во меѓудејство со два молекула К1р и К1с. Секој К1р и К1с мономер содржи каталитичен домен со ензимска активност и заемнодејствувачки домен, кој го олеснува врзувањето со К1к или врзувањето помеѓу нив. (б) Електронската микрографија на К1к молекулот покажува форма на стебло со шест топчести глави. (*Вметната електронска микрографија од H.R. Knobel et al., 1975, European Journal of Immunologu 5:78*)



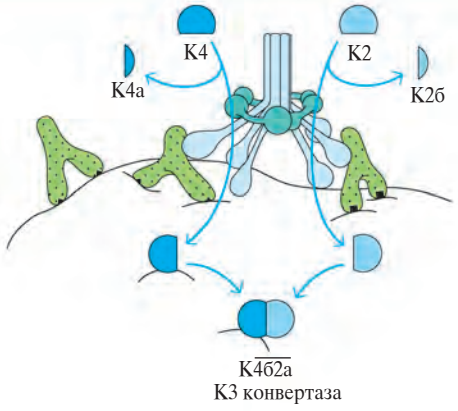
СЛИКА 7-4 Модели на пентамерниот ИгМ во планарана форма (а) и во форма на „хефтерка“ (б). Ниедно од неколкуте К1к-врзни места во Фк регионот, кои се достапни откога ИгМ ќе ја промени својата структура во форма на хевтерка, не е достапно кога молекулот на ИгМ е во планарна форма. Електронските микрографии на ИгМ противтелото насочено кон камшичето на бактеријата, прикажано во планарната форма (в) и во форма на хефтерка (г). *(Од A. Feinstein et al., 1981, Monographs in Allergy, 17:28 i 1981, Annals of the New York Academy of Sciences 190:1104)*

СЛИКА НА ДЕТАЛНИОТ ПРЕГЛЕД 7-5: Шематски приказ на меѓуфазите од класичната патека на активирањето на комплементот.

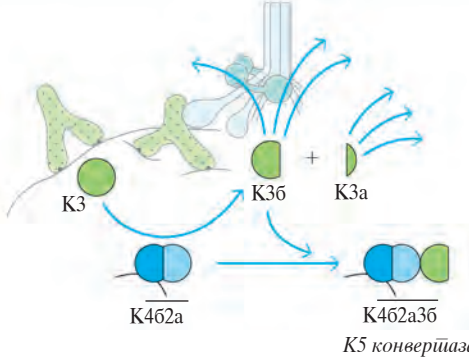
1 К1к се врзува зе противтелото кое е врзано за противгенот. К1р се активира автокаталитички и го активитира вториот К1р, додека двата заедно го активираат К1с.



2 К1с ги расцепува К4 и К2. Расцепениот К4 го изложува своето врзно место за К2. К4 се врзува за површината близу до К1, додека К2 се врзува за К4, при што се создава К3 конвертаза.

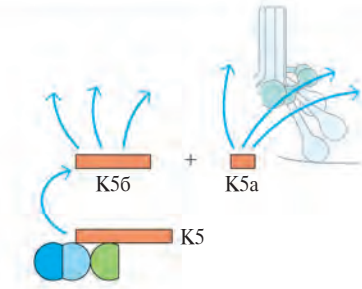


3 К3 конвертазата хидролизира многу К3 молекули. Дел од нив се комбинираат со К3 конвератазата и формираат К5 конвертаза.



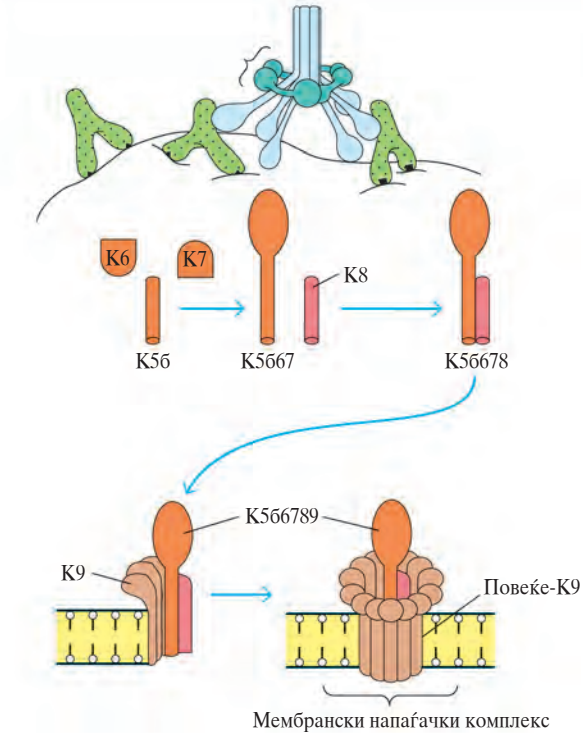
К5 конвертаза

4 К3б компонентата од К5 конвертазата се врзува за К5, овозможувајќи му на К4б2а да го расцепи К5.

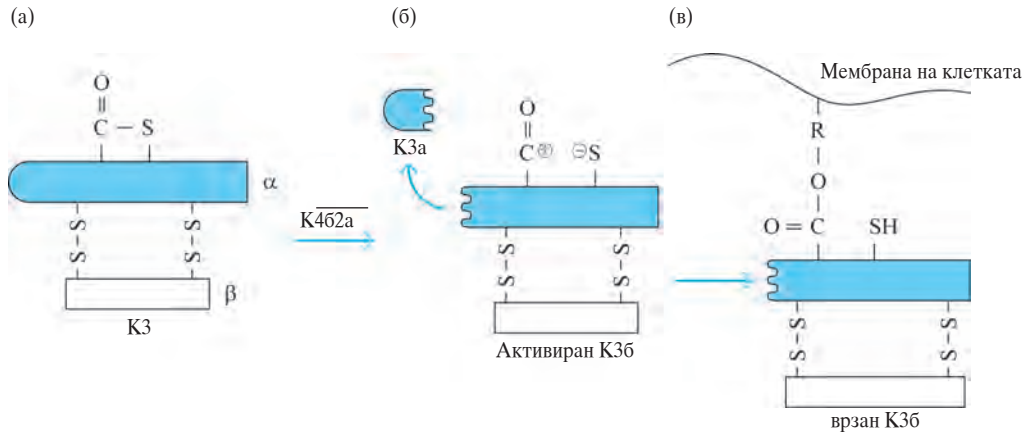


К5 конвертаза

5 К5б се врзуваза за К6, поттикнувајќи создавање на мембрански напаѓачки комплекс.



Целосно формираниот мембрански напаѓачки комплекс (МНК, долу десно) создава големи пори во мембраната на клетките.



СЛИКА 7-6 Хидролиза на К3 од страна на К3 конвертазата К4б2а. (а) Природна форма на К3. (б) Активираната К3 компонета прикажува место за цепење од страна на К4б2а, што доведува до создавање на К3а и К3б фрагментите. (в) Кога се создава К3б се активира слабата внатрешна тиостерна врска во К3, што му овозможува на К3б фрагментот да се врзе за слободните хидриоокси или аминогрупи (Р) на клеточната мембрана. Врзаниот К3б врши различни биолошки активности, вклучувајќи го тука врзувањето за К5 и врзувањето за рецепторите за К3б на површината на фагоцитните клетки.

амино крајот на алфа веригата, откривајќи го врзното место на поголемиот фрагмент (К4б). К4б фрагментот се врзува за целната површина во близина на К1, по што проензимот К2 се врзува за новоизложеното врзно место на К4б, при што настанува цепење на К2 од страна на блиску поставениот на него К1с. Помалиот фрагмент кој се создава при ова (Кб2) дифундира наоколу. Новосоздадениот комплекс К4б2а е наречен К3 конвертаза, благодарение на неговата способност да ја претвори К3 компонентата од неактивна во активната форма. Помалиот фрагмент кој се добива од цепењето на К4, К4а, е анафилатоксин или посредник во воспалението и не учествува директно во литичката функција на скалата од комплементот. Во анафилатоксините, во кои се вклучени и малите фрагменти на К4, К3 и К5 се опишани подолу.

Природно К3 компонентата се состои од две полипептидни вериги, алфа и бета. Хидролизата на краткиот фрагмент (К3а) од амино крајот на алфа веригата, од страна на К3 конвертазата, создава К3б (слика 7-6). Еден молекул од К3 конвертазата може да создаде над 200 молекули К3б, што резултира до значително засилување во оваа фаза од активацијата на комплементот. Некои од К3б фрагментите се врзуваат за К4б2а, при што се создава тримолекуларен комплекс К4б2а3б, наречен К5 конвертаза. К3б компоентата од овој комплекс се врзува за К5, ја менува нејзината структура, овозможувајќи и на К4б2а компонентата да го расцепи К5 на К5а, кој дифундира наоколу и К5б, кој се врзува за К6 компонентата и го поттикнува создавањето на мембранскиот напаѓачки комплекс во еден процес објаснет подолу. Некои од К3б фрагментите, кои се создадаваат од активноста на К3 конвертазата, не се поврзуваат со К4б2а. Наместо тоа, тие дифузираат и ги обвиткуваат имуните комплекси и одредените противгени, функционирајќи на тој начин како опсонини или поттикнувачи на фагоцитозата. К3б може, исто така, да се врзе директно за клеточните мембрани.

Алтернативната патека е независна од противтелата

Во алтернативната патека се создаваат активни продукти кои се слични на оние од кај класичната патека, но за разлика од класичната патека, за нејзиното активирање нема потреба од присуство на комплекс противген-противтело. Бидејќи за активирање на алтернативната патека нема потрба од противтело, таа претставува дел од вродениот имун систем. Оваа главна патека на активирањето на комплементот вклучува четири серумски протеини: К3, фактор Б, фактор Д и пропердин. Алтернативната патека во повеќето случаи се активира од

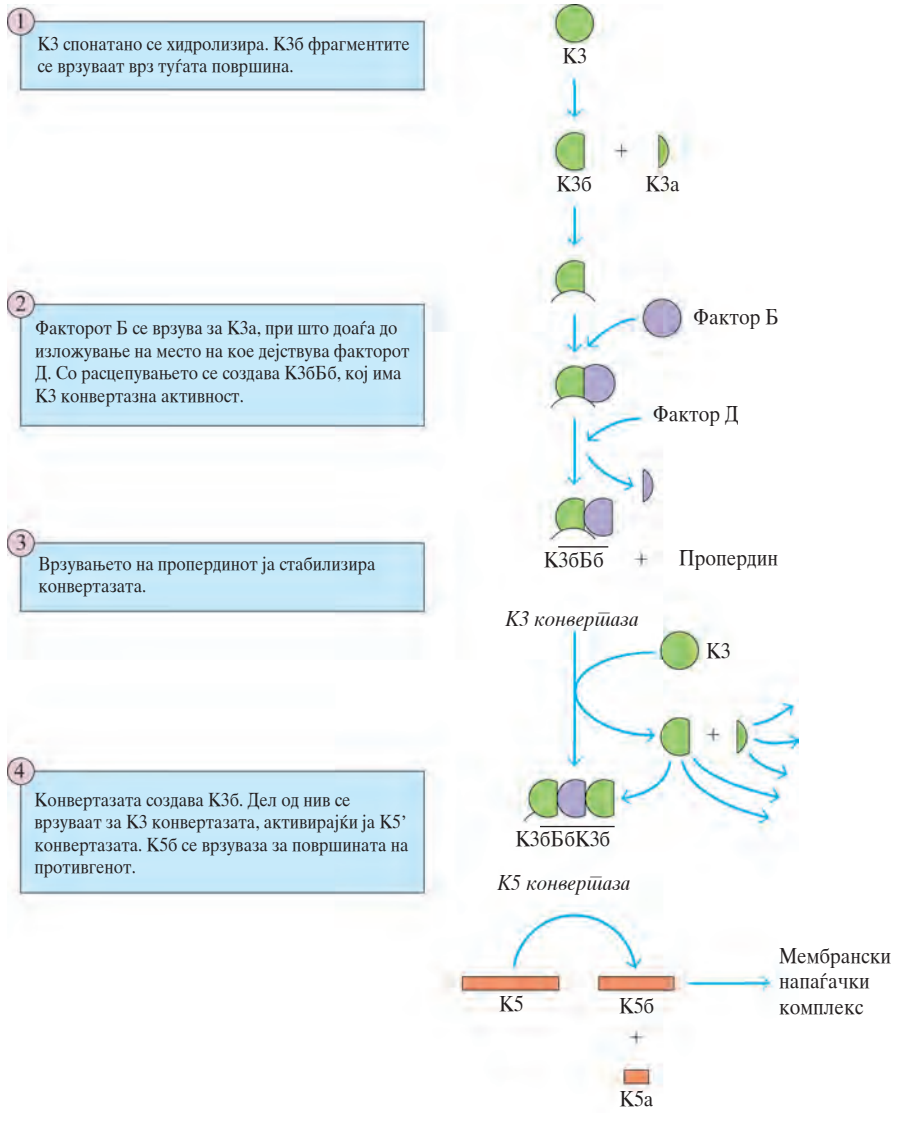
ТАБЕЛА 7-1 Поттикнувачи на алтернативната патека за активирање комплементот.

ПАТОГЕНИ И ЧЕСТИЧКИ СО МИКРОБНО ПОТЕКЛО
Многу видови на грам-негативни бактерии
Липополисахаридите од грам-негативни бактерии
Многу видови од грам-позитивни бактерии
Теихолична киселина од sидови на грам-позитивни бактерии
Клеточните sидови на габите и квасците (зимосан)
Некои вируси и вирусно-заразени клетки
Некои туморски клетки (Раџи)
Паразити (трипаносоми)
НЕПАТОГЕНИ
Хуманите ИгГ, ИгА и ИгЕ во комплексите
Зајачки и заморчки ИгГ во комплексите
Фактор од отровот на кобра
Црвени крвни клетки од други животински видови (хетерологни) (зајак, глушец, кокошка)
Анјонски полимери (декстран сулфат)
Чисти јаглехидрати (агароза, инулин)

Извор: Приспособено од M.K. Pangburn, 1986, во *Immunobiology of the Complement System*, G. Ross ed., Academic Press, Orlando.

СЛИКА НА ДЕТАЛНИОТ ПРЕГЛЕД 7-7

Шематски приказ на меѓуфазите при создавањето на врзаниот К5б од страна на алтернативната патека на активирање на комплементот.



Комплексот К3бББб се стабилизира преку врзување за пропердинот. Претворбата на врзниот К5б во мембрански напаѓачки комплекс настанува со ист редослед на реакции како и во класичната патека (види слика 7-5).

страна на составните мембрански делови од клетката кои се туѓи за домаќинот (табела 7-1). На пример, и грам-негативните и грам-позитивните бактерии во својот клеточен ѕид имаат составни делови кои можат да ја активираат алтернативната патека. Фазите по активација на алтернативната патека, при што се создава К5б шематски се прикажани на слика 7-7.

Во класичната патека, К3 брзо се цепи на К3а и К3б благодарение на ензимската активност на К3 конвертазата. Во алтернативната патека, серумската К3, која содржи нестабилна тиоестерска врска, е подложна на спора спонатана хидролиза при што се создаваат К3а и К3б. К3б компонентата може да се врзе како за туѓите површински противгени (како што се на пример, противгените од бактериските ѕидови или вирусните честички) така и за противгените на спствените клетки на домаќинот (види слика 7-6в). Мембраните од повеќето клетки на цицачите содржат високо ниво на сијалинска киселина, што придонесува за брзото инактивирање на К3б молекулите кои ќе се врзат за клетките на домаќинот. Според тоа, ваквото врзување на К3б молекулите ретко доведува до понатамошни реакции на мембраната на клетките од домаќинот. Бидејќи голем дел од туѓите противгенски површини (на пример, бактерискиот клеточен ѕид, клеточниот ѕид од квасците и

одредени вирусни обвивки) имаат ниски нивоа на сијалинска киселина, К3б кој се врзува за овие површини останува активен подолго време. К3б кој се врзува за површината на туѓите клетки може да се врзе за еден друг серумски протеин наречен фактор Б и да формира комплекс, кој е стабилизран со Mg^{2+}. Врзувањето за К3б го отвара врзното место на факторот Б, кој служи како супстрат за ензимски активниот серумски протеин наречен фактор Д. Факторот Д го расцепува за К3б врзаниот факторот Б, при што се создава $\overline{К3бБб}$ и се ослободува еден мал фрагмент (Ба), кој се дифундира наоколу. Комплексот $\overline{К3бБб}$ има К3 конвертазна активност, што го прави аналоген на $\overline{К4б2а}$ комплексот од класичната патека. К3 конвертазната активност на $\overline{К3бБб}$ има ограничено време на полуживот, освен доколку за неа не се врзе серумскиот протеинот пропердин.

$\overline{К3бБб}$, кој што е создаден во алтернативната патека, може да ги активира нехидролизираните К3 молекули за да од нив со автокатализа се создадат уште повеќе К3б. Како резултат на тоа, доаѓа до повторување и засилување на почетните чекори, што доведува до тоа да повеќе од $2x10^6$ К3б молекули, за помалку од 5 минути, можат да се депонираат на противгената површина. К3 конвертазата активност на К3бБб доведува до создавање на комплексот К3бБб3б, кој покажува К5 конвертазна активност, аналогна на онаа на К4б2а3б комплексот кај класичната патека. К3б компонентата, која нема ензимска активност, се врзува за К5, додека потоа компонентата Бб го хидролизира врзаниот К5, при што се создадаваат К5а и К5б (види Слика 7-7). К5б се врзува за противгената површина, со што започнува последната фаза од циклусот на лиза.

Лектинската патека започнува кога протеините од домаќинот ќе се врзат за површината на микробите

Лектините се протеини кои ги препознаваат и се врзуваат за специфичните јаглехидратни цели. Бидејќи лектинот кој активира комплемент се врзува за манозните остатоци, одредени истражувачи оваа патека ја нарекле МВЛектин патека или манан-врзувачка лектинска патека. Лектинската патека, исто како и алтернативната патека, нема потреба од противтело за нејзиното активирање. Сепак, механизамот на лектинската патека е посличен на оној кај класичната патека, отколку на оној кај алтернативната патека, бидејќи по нејзиното активирање таа продолжува со дејство врз К4 и К2 за да се создадат активните протеини од комплементниот систем (види слика 7-2).

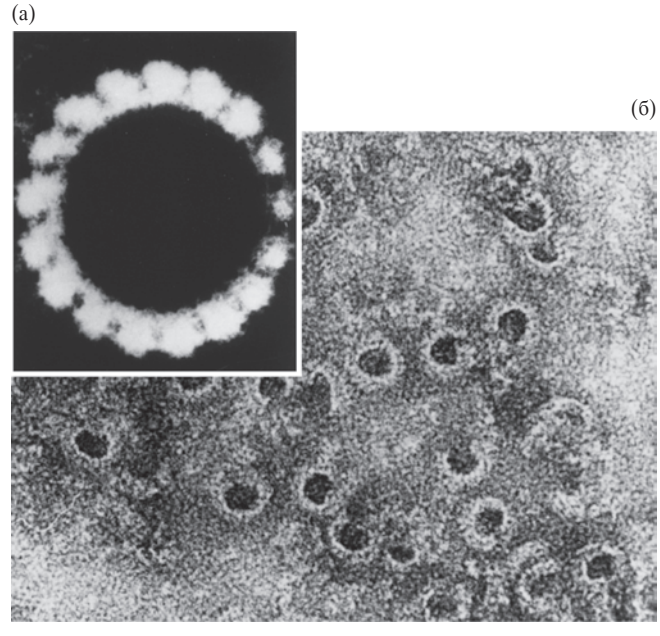
Лектинската патека се активира со врзување на манозаврзувачкиот лектин (МВЛ) (mannose-binding lectin = MBL) за манозните остатоци од гликопротеините или јаглехидратите на површината од микроогранизмите, вклучувајќи ги тука и бактериите, како што се видовите на *Салмонела*, *Листерија* и *Наисерија,* габите *Криптококус неоформанс* и *Кандида албиканс* и одредени вируси, вклучувајќи ги тука и ХИВ-1 и респираторниот синцициелен вирус. Човечките клетки обично имаат остатоци од сијалинска киселина кои ги покриваат шеќерните групи кои се препознаваат од страна на МВЛ, поради што не стануваат цел за врзување.

МВЛ, член на фамилијата колектини, претставува протеин на акутна фаза чија концентрација се зголемува во текот на воспалителниот одговор. Неговата функција во патеката на комплементот е слична на онаа на К1к, на кого наликува и по структура (види слика 7-3). Откога МВЛ ќе се врзе за јаглехидратните остатоци на површината од клетката или патогенот, со МВЛ-асоцираните серински протеази МАСП-1 и МАСП-2, се врзуваат за МВЛ. Активниот комплекс кој се формира при оваа асоцијација предизвикува расцепување и активирање на К4 и К2. Протеините МАСП-1 и МАСП-2 по својата структура се слични на К1р и К1с и ги имитираат нивните активности. Ова значи дека активирањето на компонентите од К2 до К4 за да се формира К5 конвертаза, без да има потреба од противтело, претставува значаен одбранбен механизам на вродениот имунитет, кој по важност е сличен како алтернативната патека за активација на комплементот, но механизам кој ги користи елементите од класичната патека, освен К1 протеините.

Трите патеки на активирање на комплементот се сретнуваат во мембрански напаѓачкиот комплекс

Крајната секвенца во активирањето на комплементот ги вклучува К5б, К6, К7, К8 и К9, кои последователно стапуваат во меѓудејство за да формираат една макромолекулска структура наречена **мембрански напаѓачки комплекс (МНК)**. Овој комплекс создава голем канал низ мембраната од целната клетка, овозможувајќи им на јоните и малите молекули да дифундираат слободно низ мембраната.

Крајниот резултат од активирањето на класичната, алтернативната или лектинската патека е создавањето на активната К5 конвертаза. Овој ензим го расцепува К5, кој содржи две протеински вериги, алфа и бета. По врзувањето на К5 за неензимската К3б компонента од конвертазата, доаѓа до цепење на амино крајот од алфа-веригата. Ова создава мал фрагмент К5а, кој дифундира наоколу и голем К5б фрагмент, кој се врзува за површината на целната клетка и создава врзно место

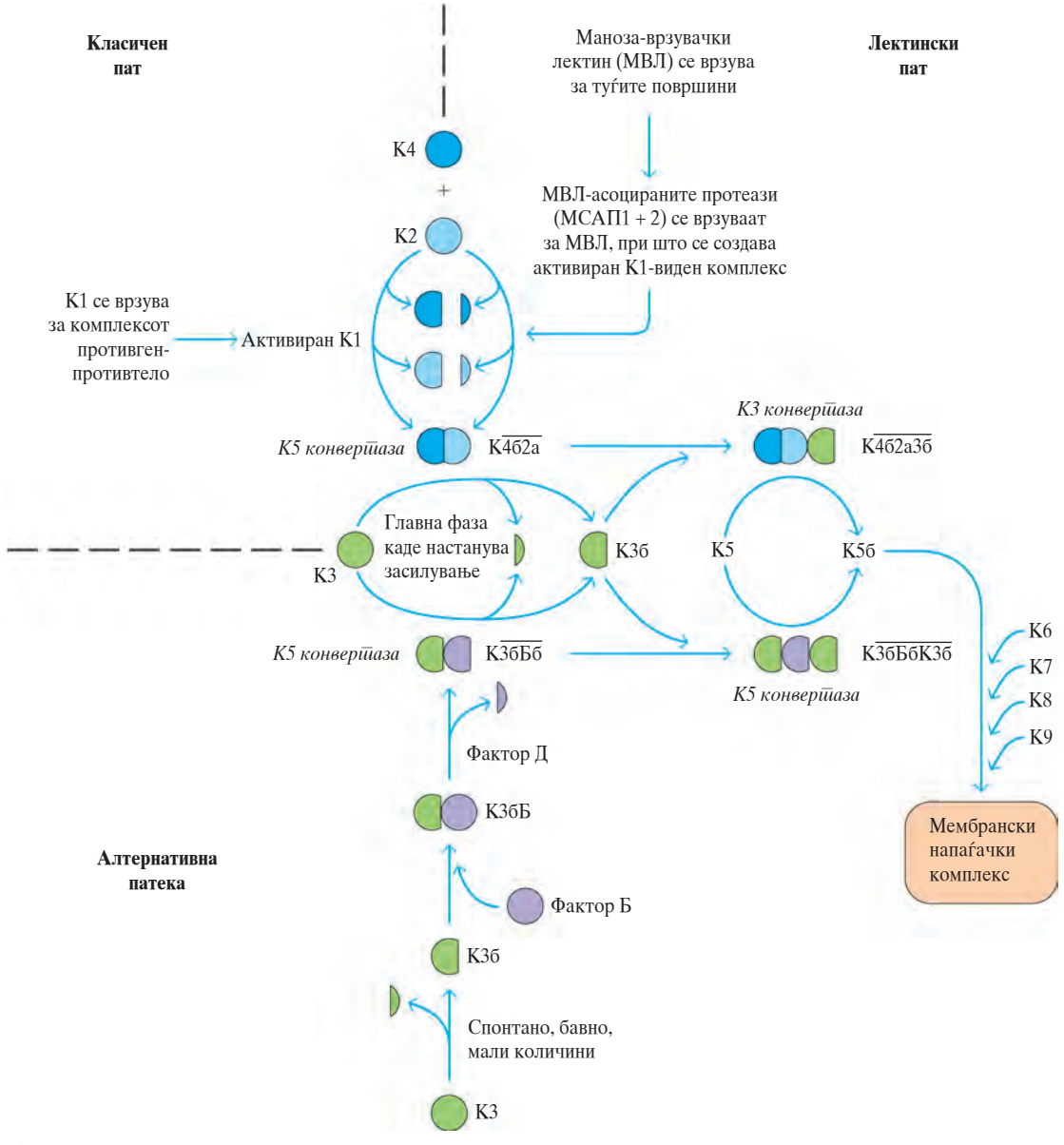


СЛИКА 7-8 (а) Фотомикрографија на комплексот од повеќе-К9 кој што се создава со ин витро полимеризација на К9 и (б) со комплемент-предизвикани оштетувања на мембраната од црвените крвни зрнца.
Овие оштетувања се резултат на создавањето на мембрански напаѓачкиот комплекс. *Делот а од E.R. Podack, 1986, во Immunobiologyof the Complement System, G. Ross, ed., Academic Press, Orlando; delot b od J. Humphrey и R. Dourmashkin, 1969, Advances in immunology 11: 75*

за поврзување за следните компоненти од мембранскиот напаѓачки комплекс (види слика 7-5, чекор 5). К5б компонентата е исклучително нестабилна и многу брзо станува неактивна, освен ако не се стабилизира со врзувањето за К6.

Се до овој момент, сите реакции на комплементот се одвиваат на хидрофилните површини од мембраните или во имуните комплекси кои се во течната фаза. Кога К5б6 се врзува за К7, новосоздадениот комплес претрпува структурни промени кои доведуваат до изложување на хидрофобните подрачја, кои служат како врзни места за мембранските фосфолипиди. Доколку оваа реакција се случи на мембраната од целната клетка, хидрофобните врзувачки места му овозможуваат на К5б67 комплексот да се вметне во фосфолипидниот двослој. Меѓутоа, доколку реакцијата се случи врз имуниот комплекс или врз некоја друга неклеточна активирачка површина, хидрофобните врзни места не можат да го прицврстат комплексот, поради што тој се ослободува. Ослободените К5б67 комплекси можат да се вметнат во мембраната на околните клетки и да посредуваат во лизата на „невините набљудувачи". Во нормални услови ваквото нешто се спречува со помош на регулаторните протеини, но при одредени нарушувања, поради ваквата лиза на околните нормални клетки може да настане оштетување на ткивата. Хемолитичното нарушување кое се јавува како резултат од недостатокот на регулаторниот протеин е објаснето во Клиничкиот фокус на страна 183, додека автоимуните процеси во кои имуните комплекси посредуваат во оштетувањето на ткивата ќе се разгледува во Поглавје 15.

Врзувањето на К8 за мембрански врзаниот К5б67, предизвикува промена на положбата на К8 во просторот, поради што претрпува структурна промена и го изложува своето хидрофобно подрачје, кое стапува во заемно дејство со плазматската мембрана. К5б678 комплексот создава мала пора со дијаметар од 10 ангстреми. Создавањето на оваа пора може да доведе до лиза на црвените крвни зрнца, но не и на клетките



СЛИКА 7-9 Сумарен приказ на трите патеки од активирање на комплементот, на кој е прикажано дека активацијата преку класичниот пат започнува со врзувањето на К1 за комплексот противген-противтело, додека активациите на алтернативниот и лектинскиот пат се независни од присуството на противтело. Кај сите патеки доаѓа до претворање на К3 во неговата активна форма К3б, која што учествува во создавањето на К5 конвертазата. Со создавањето на К5б, сите три патеки се сретнуваат и формираат мембрански напаѓачки комплекс.

коишто имаат јадро. Крајниот настан при создавањето на МНК е врзувањето и полимеризацијата на перфориновиден молекул К9, за К5б678 комплексот. Од 10 до 17 молекули на К9 може да се врзат и да полимеризираат од страна на еден К5б678 комплекс. При полимеризацијата К9 молекулот претрпува промена, така што и тој исто така може да се вметне во мембраната. Целосно формираниот МНК, има цевчеста форма и создава функционална пора со големина од 70 до 100 ангстреми, која се состои од К5б678 комплексот опкружен со комплекс од повеќе-К9 (Слика 7-8). Бидејќи јоните и малите молекули можат слободно да дифундираат низ централниот канал на МНК, клетката не може да ја одржува нејзината осмотска стабилност и умира поради навлегувањето на вода во неа и поради загубата на електролитите. Серијата на настани кои се случуваат во трите патеки од активирањето на комплементот, се резимирани на слика 7-9.

Регулирање на системот на комплементот

Бидејќи голем дел од елементите на комплементниот систем се способни, покрај туѓите клетки и микроорганизми, да ги напаѓаат и клетките на домаќинот, развиен е одреден број на регулаторни механизми кои се пособни да ја органичат активноста на комплементот кон назначените цели. Еден од пасивните регулаторни механизами, кој е вклучен во сите три патеки од активирање на комплементот, го вклучува постоењето на високо лабилни компоненти, кои претрпуваат спонатано губење на активноста доколку не се стабилизираат преку заемна реакција со другите компоненти. На пример, активноста на К3 конвертазата, која се создава во алтернативната патека, има активен период на полуживот од само 5 минути, освен доколку не се стабилизира со врзување за пропердинот. Активното регулирање на активноста на комплементот се постигнува преку серија на регулаторни протеини, кои ги инактивираат различните компоненти од комплементот (табела 7-2). На пример, К1 инхибиторот е гликопротеин (К1Инх) кој може да формира комплекс со $К1р_2с_2$ и да предизвика одделување на К1р, што ќе го спречи понатамошно активирање К4 и К2 (слика 7-10а).

Реакцијата која е катализирана од страна на ензимите на К3 конвертазата на класичната, лектинската и алтернативната патека е главната реакција за засилување при активацијата на комплементот, во која доаѓа до создавање на стотици молекули на К3б. К3б кој е создаден од страна на овие ензими има потенцијал да се врзе за околните клетки и да посредува во оштетувањето на здравите клетки преку создавањето на мембранскиот напаѓачки комплекс. Оштетувањето на нормалните клетки од домаќинот е сведено на минимум бидејќи К3б претрпува спонтана хидролиза додека за времето кое му е потребно да дифундира само 40 нм подалеку од К4б2а или К3бБб конвертазните ензими, при што се елиминира неговата способност да се врзе за неговото целно врзно место. Потенцијалното уништување на здравите клетки на домаќинот

ТАБЕЛА 7-2 Протеини кои учествуваат во регулирација на системот на комплементот

Протеин	Тип на протеин	Пат на кој влијае	Имунолошка функција
Ки инхибитор (К1 инх)	Растворлив	Класичен	Инхибитор на серинските протеази: предизвикува К1р2с2 да се одвои од К1к
К4б-врзувачки протеин (К4бВП)*	Растворлив	Класичен или лектински	Блокира создавање на К3 конвертаза со врзување за К4б; кофактор за цепење на К4б од фактор И
Фактор Х*	Растворлив	Алтернативен	Блокира создавање на К3 конвертаза со врзување за К3б; кофактор за цепење на К3б од фактор И
Комплементен рецептор тип 1 (КР1 или КД35)* Мембрански-кофакторен протеин (МКП или КД46)*	Врзан за мембраната	Класичен, алтернативен и лектински	Блокира создавање на К3 конвертаза со врзување за К4б или К3б; кофактор за фактор И - катализира цепење на К4б или К3б
Фактор кој го забрзува распаѓањето (ФЗР или КД55)*	Врзан за мембраната	Класичен, алтернативен и лектински	Забрзува разградување на $К\overline{4б2а}$ и $К\overline{3бБб}$ (класична и алтернативна К3 конвертаза)
Фактор И	Растворлив	Класичен, алтернативен и лектински	Серински протеази: ги расцепува К4б или К3б со употреба на К4бВП, КР1, фактор Х, ДАЕ или МКФ како кофактор
С протеин	Растворлив	Заеднички	Врзува растворливи К5б67 и го спречува нивното вметнување во мембраната на клетката
Хомологен рестриктивен фактор (ХРФ), наречен уште и мембрански инхибитор на реактивната лиза (МИРЛ или КД59)*	Врзан за мембраната	Заеднички	Се врзува за К5б678 на автологните клетки и го блокира врзувањето на К9
Анафилатоксински инактиватор	Растворлив	Извршен	Ја инактивира анафилатоксинската активност на К3а и К5а со карбоксипептидазно Н-катализирачко отстранување на Арг од јаглеродниот крај

* РАК (регулатор на активноста на комплементот) протеин. Кај луѓето сите РАК протеини се кодирани од гени сместени во една област на првиот хромозом, кој содржи кратки консензусни повторувања.

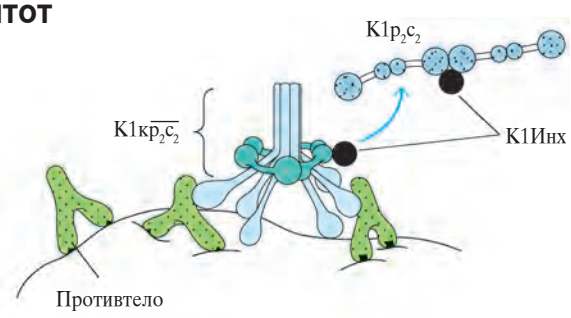
СЛИКА НА ДЕТАЛНИОТ ПРЕГЛЕД 7-10:

Регулирација на системот на комплементот со помош на регулаторните протеини

Регулирање на комплементниот систем

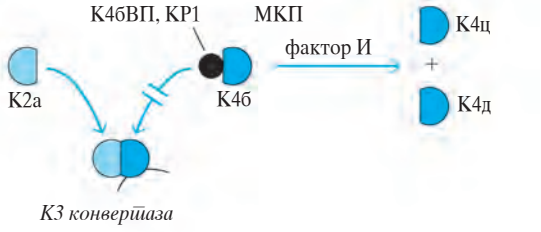
(а) Пред создавање на конвертазната активност

1. К1 инхибиторот (К1Инх) се врзува за $К1р_2с_2$, предизвикувајќи одделување од К1к.



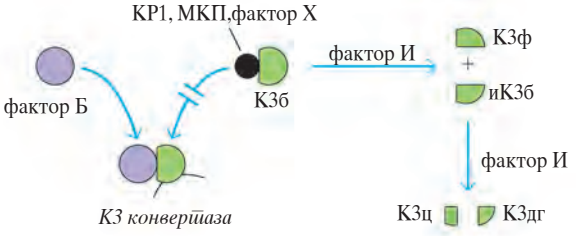
2. Поврзувањето на К4б и К2а е блокирано со врзувањето на К4б-врзувачкиот протеин (К4бВП), комплементарниот рецептор тип 1 или мембранскиот кофакторен протеин (МКП).

3. К4б кој е врзан за инхибиторот се расцепува од страна на факторот И.



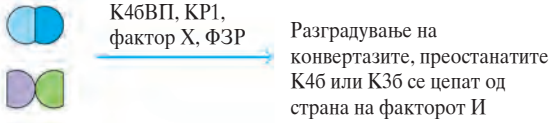
4. Во алтернативната патека, КР1, МКП или факторот Х спречуваат врзување на К3б и факторот Б

5. К3б кој е врзан за инхибиторот се расцепува од страна на факторот И.



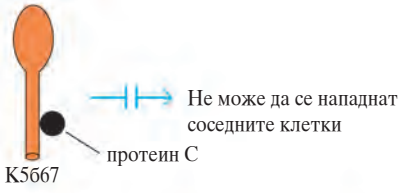
(б) По создавањето на конвертазата

К3 конвертазите се разградуваат од страна на К4бВП, КР1, факторот Х и факторот кој го забрува распаѓањето (ФЗР).

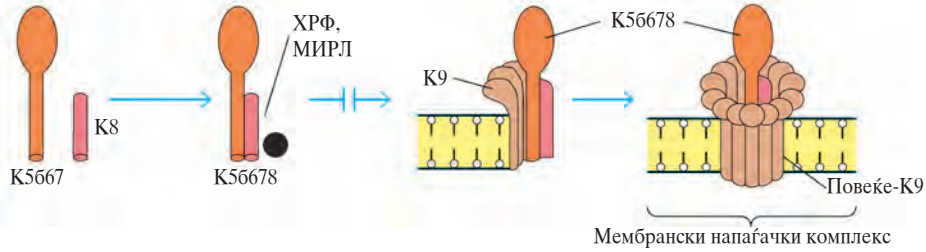


(в) Регулирање на создавањето на мембрански напаѓачки комплекс (МНК)

1. Протеинот С спречува вметнување на К5б67 компонентата од МНК во мембраната



2. Хомологниот рестриктивен фактор (ХРФ) или мембранскот инхибитор на реактивната лиза (МИРЛ или КД59) се врзува за К5б678, при што спречува создавање на повеќе-К9 формацијата и се блокира формирањето на МНК.



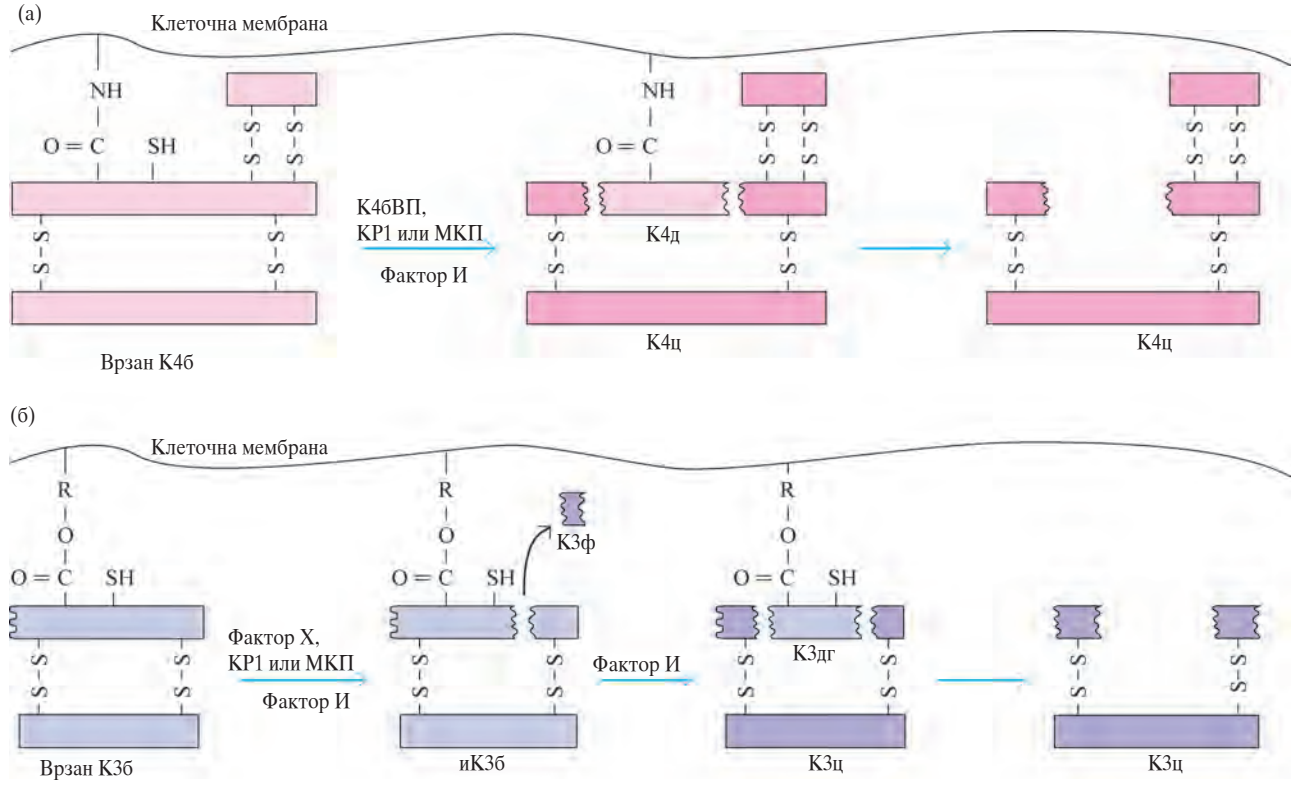
Овие протеини (прикажани со црна боја) дејствуваат на различни места во скалата од комплементот.

од страна на К3б, исто така, е ограничено и од една фамилијата на сродни протеини, кои учествуваат во регулација на активноста на К3 конвертазата во класичната и алтернативната патека. Сите овие регулаторни протеини содржат повторувачки аминокиселински секвенци (или мотиви) од 60 остатоци, наречени *кратки консензусни повторувања* (ККП) (short consensus repeats = SCRs). Сите овие протеини се кодирани на една област на хромозомот 1 кај луѓето, позната како генска група на *регулаторите на активноста на комплементот* (РАК) (regulators of complement activation = RCA).

Во класичната и лектинската патека, три структурно различни РАК протеини дејствуваат слично за да спречат создавање на К3 конвертаза (слика 7-10а (2)). Во овие регулаторни протеини спаѓаат растворливиот К4б-врзувачки протеин (К4бВП) (C4b-binding protein = C4bBP) и два протеини кои се врзани за мембраната, комплементниот рецептор тип 1 (КР1) и мембранскиот кофакторен протеин (МКП) (membrane cofactor protein = МСП). Секој од овие регулаторни протеини се врзуваат за К4б и го спречуваат неговото поврзување со К2а Штом К4бВП, КР1 или МКП еднаш ќе се врзат за К4б, еден друг регулаторен протеин, наречен фактор И, го цепи К4б на врзан К4д и растворлив К4ц (слика 7-10а(3)). Слична регулаторна секвенца дејствува во алтернативната патека за да го спречи создавањето на К3 конвертазата К3бБб. Во овој случај, КР1, МКП или регулаторната компонента наречена фактор Х, се врзуваат за К3б и го спречуваат нејзиното поврзување со факторот Б (слика 7-10а(4)). Еднаш штом КР1, МКП или факторот Б ќе се врзат за К3б, фактор И ја расцепува К4б на врзаниот иК3б фрагмент и растворливиот фрагмент К3ф. Понатамошното цепење на иК3б од страна на факторот И предизвикува ослободување на К3ц, додека К3дг останува врзан за мембраната (слика 7-10а(5)). Молекулските процеси кои учествуваат во регулирањето на клеточно-врзаните К4б и К3б се прикажани на слика 7-11.

Неколку РКА протеини исто така дејствуваат врз создавањето на К3 конвератазата, предизвикувајќи таа да се распадне. Во нив спаѓаат претходно споменатите К4бВП, КР1 и факторот Х. Освен тоа, факторот кој забрзува распаѓање (ФЗР или КД55) (decay-accelerating factor = DAF), кој инаку претставува гликопротиен кој е ковалентно прицврстен за гликофосфолипидниот мембрански протеин, поседува способност да ја разгради К3 конвертазата. Последиците од недостатокот на ФЗР се опишани во делот Клинички фокус. Секој од овие РКА проетини го забрзува распаѓањето на К3 конвертазата, преку ослободување на компонента која има ензимска активност (К2а или Бб) од мембрански-врзаните компоненти (К4б или К3б). Откога ќе настане разградување на К3 конвертазата, факторот И ги расцепува преостанатите К4б и К3б кои се врзани за мембрана, неповратно деактивирајќи ја конвертазата (слика 7-10б).

Регулаторните протеини исто така дејствуваат и врз ниво на мембрански напаѓачкиот комплекс. Потенцијалното ослободување на К5б67 комплексот претставува закана за лиза на "невините набљудувачи" односно на здравите околни клетки. Одреден број на серумски протеини на оваа закана ѝ се спротивставуваат на тој начин што го врзуваат ослободениот К5б67 и го спречуваат неговото вметнување во мембраните од околните клетки. Серум протеинот наречен протеин С може



СЛИКА 7-11 Инактивирање на врзаните К4б и К3б од страна на регулаторните протеини од комплементниот систем. (а) Во класичната патека, К4бВП (протеинот кој се врзува за К4б) КР1 (комплементниот рецептор тип 1) или МКП (мембрански кофакторен протеин) се врзуваат за К4б и дејствуваат како кофактори во со фаторот И-посредуваното разградување на К4б. (б) Во алтернатнивната патека, факторот Х, КР1 и МКП се врзуваат за К3б и дејствуваат како кофактори во со фаторот И-посредуваното разградување на на К3б. Слободните фрагменти кои дифундираат се прикажани со темната боја, додека деловите кои се врзани за мембрана се прикажани со светла боја.

да се врзе за К5б67 и да предизвика негова промена, со што го спречува вметнувањето на К5б67 во мембраните од околните клетки (слика 7-10в(1)).

Со комплемент-посредуваната лиза на клетките е многу поефикасна доколку комплементот е од вид на организми кој е различен од видот на организми од кој потекнуваат клетките кои се лизираат. Овој феномен зависи од мембранскиот протеин кој го блокира создавањето на МНК. Овој протеин, кој е присутен кај многу видови на клетки, е наречен *хомологно рестриктивен фактор (ХРФ) (homologous restriction factor = HRF)* или *мембрански инхибитор на реактивната лиза (МИРЛ или КД59)* (*membrane inhibitor of reactive lysis = MIRL*). КД59 ги штити клетките од неспецифичната со комплемент-посредувана лиза со врзување за К8, спречувајќи создавање на повеќе-К9 и неговото вметнување во плазматската мембрана (слика 7-10в(2)). Сепак, оваа инхибиција се случува само доколку компонентите од комплементот се од истиот вид на организми како и целните клетки. Поради тоа, се верува дека КД59 прикажува хомологна рестрикција, по што бил и првенствено наречен.

Биолошки последици од активацијата на комплементот

Комплементот служи како значаен посредник на хуморалниот одговор, благодарение на својата способност за засилување на одговорот и негово претворање во ефективен одбранбен механизам за уништување на туѓите микроорганизми кои навлегле во организамот. МНК посредува при разградувањето на клетките, додека другите компоненти од комплементот или продуктите кои се добиваат со цепењето учествуваат во воспалителниот одговор, опсонизацијата на противгенот, неутрализацијата на вирусите и отстранувањето на имуните комплекси (табела 7-3).

Голем дел од биолошките активности од системот на комплементот зависат од врзувањето на фрагментите од комплементот за комплементните рецептори, кои се прикажани врз различни видови клетки. Покрај тоа, одредени рецептори за комплементот играат значајна улога при регулирање на комплементната активност благодарение на нивното врзување за биолошки активните компоненти од комплементот. Рецепторите за комплементот и нивните примарни лиганди, во кои се вклучени различните компоненти од комплементот и нивните продукти од протеолитичниот распад, се наброени во табела 7-4.

Мембранскиот напаѓачки комплекс може да лизира широк спектар на клетки

Мембранскиот напаѓачки комплекс којшто се создава со активирање комплементот може да ги лизира грам-негативните бактерии, паразитите, вирусите, црвените крвни клетки и клетките кои имаат јадро. Бидејќи за активирање на алтернативната и лектинската патека во основа нема потреба од постоење на комплекс противтело-противген, овие патеки служат како значајна вродена имунолошка одбрана кон инфективните микроорганизми. Потребата за постоење на почетна реакција помеѓу противгенот-противтелото во класичната патека, ја надополнува оваа неспецифична вродена одбрана со еден многу поспецифичен одбранбен механизам. Во одредени случаи, потребата за постоење на противтело во процесот на активирање може да се замени со таканаречените природни противтела, кои настануваат против заедничките компоненти на нормалните непатогени сеприсутни микроби.

Значењето на клеточно посредуваниот имунитет во одбраната на домаќинот од вирусните инфекции е нагласено во бројни студии и за него ќе се зборува во понатамошните поглавја. И покрај тоа, противтелото и комплементот играат улога во одбраната на домаќинот против вирусите и се често неопходни во задржувањето на ширењето на вирусите при акутна инфекција и во зашититата против повторната инфекција. Повеќето, - можеби сите, - вируси кои имаат капсула се прифатливи за со комплементот посредуваната лиза. Вирусната обвивка кај најголемиот дел од вирусите потекнува од плазматската мембрана на заразените клетки на домаќинот и поради тоа е прифатлива за создавање на пори од страна на

ТАБЕЛА 7-3 Преглед на биолошките ефекти посредувани од продуктите на комплементот

Ефект	Посредување на продуктот на комплементот*
Лиза на клетки	К5б-9, мембрански напаѓачки комплекс
Воспалителен одговор	
Обеззрнување на мастоцитите и базофилите†	К3а, К4а и К5а (анафилатоксини)
Обеззрнување на еозинофилите	К3а, К5а
Преминување низ ѕидот од крвните садови и хемотакса на белите клетки на местото на воспалението	К3а, К5а, К5б67
Слепување на крвните плочки	К3а, К5а
Инхибиција на миграцијата на моноцитите/макрофагите и поттикнување на нивното раширување	Бб
Ослободување на неутрофили од коскената срцевина	К3ц
Ослободување на хидролитички ензими од неутрофилите	К5а
Зголемено прикажување на рецептори за комплементот тип 1 и 3 (КР1 и КР3) на неутрофилите	К5а
Опсонизација на соодветниот противген со зголемување на фагоцитозата	К3б, К4б, иК3б
Неутрализација на вирусите	К3б, К5б-9 (МНК)
Растворање и чистење на имуните комплекси	К3б

* Компонентите кои се дадени со масни букви се најважните во посредувањето на даденият ефект.
†Обеззрнувањето доведува до ослободување на хистаминот и другите посредници кои предизвикуваат контракција на мазната мускулатура и зголемување на пропусливоста на крвните садови.

ТАБЕЛА 7-4 Рецептори за врзување на комплементот

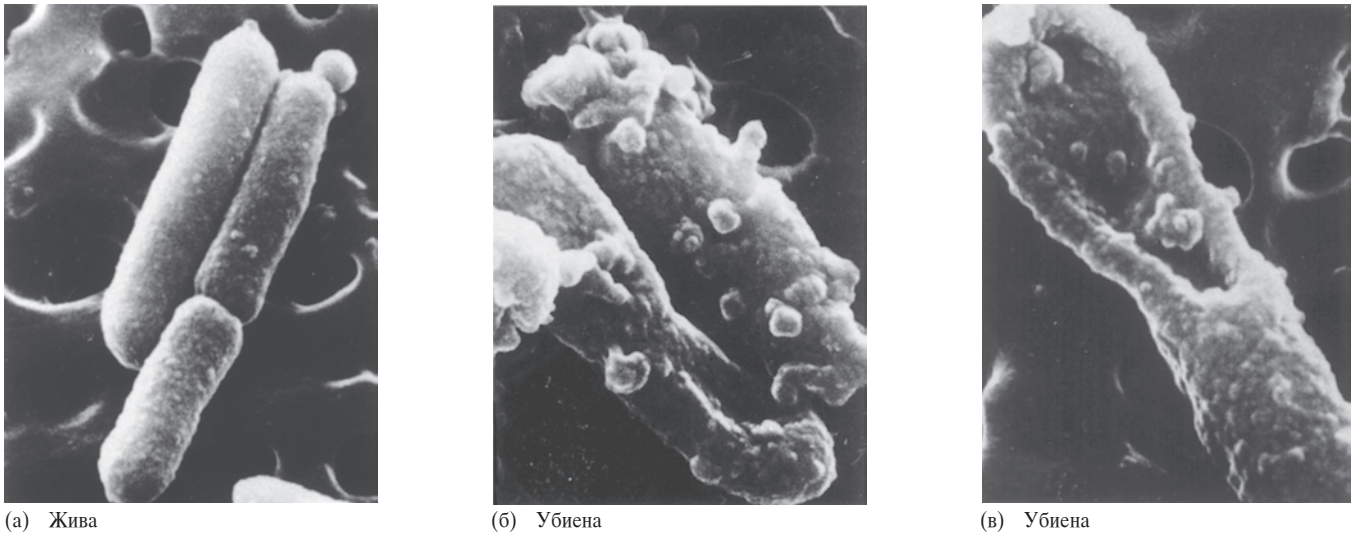
Рецептор	Главен лиганд	Активност	Застапеност на клетките
КР1 (КД35)	К3б, К4б	Блокира создавање на К3 конвертаза; ги врзува имуните комплекси за клетките	Еритроцити, неутрофили, моноцити, макрофаги, еозинофили, влакнести стеблести клетки, Б клетки, некои од Т клетките
КР2 (КД21)	К4д, К3дг*, иК3б	Дел од Б-клеточниот рецептор; го врзува Епштајн-Баровиот вирус	Б клетки, влакнести стеблести клетки, некои од Т клетките
КР3 (КД11б/18) КР4 (КД11ц/18)	иК3б	Се врзува за клеточните адхезивни молекули врз неутрофилите, го олеснува нивното поминување низ ѕидот од крвните садови; ги врзува имуните комплекси со што ја забрзува нивната фагоцитоза	Моноцити, макрофаги, неутрофили, клетки природни убијци, некои од Т клетките
К3а/К4а рецептор	К3а, К4а	Предизвикува обезѕрнување на мастоцитите и базофилите	Мастоцити, базофили, гранулоцити
К5а рецептор	К5а	Предизвикува обезѕрнување на мастоцитите и базофилите	Мастоцити, базофили, гранулоцити, моноцити, макрофаги, крвни плочки, ендотелни клетки

*Со цепењето на К3дг од страна на серумските протеази се создава К3д и К3г.

мембрански напаѓачкиот комплекс. Меѓу патогените вируси кои се прифатливи за лиза со посредство на комплемент се херпесвирусите, ортомиксовирусите (како што се на пример оние вируси кои предизвикуваат сипаници и заушки), парамиксовируси (како што е инфлуенцата) и ретровирусите.

Комплементниот систем во основа е мошне ефекасен при разградување на грам-негативните бактерии (слика 7-12). Сепак, одредени грам-негативни бактерии и повеќето од грам-позитивните бактерии имаат механизми за избегнување на оштетувањето предизвикано со посредство на комплементот (табела 7-5). На пример, мал дел од грам-негативните бактерии можат да развијат отпор кон комплемет-посредуваната лиза на начин кој корелира со вируленцијата на организмот.

Кај *Escherichia coli* и *Salmonella*, отпорноста кон комплементот е поврзана со мазниот бактериски фенотип, кој се карактеризиира со присуство на долги полисахаридни странични вериги во липополисахаридната компонента (ЛПС) на бактерискиот клеточен ѕид. Се мисли дека зголемената количина на ЛПС во ѕидот на отпорните соеви од овие бактерии, може да спречи навлегување МНК во бактериската мембрана, поради што комплексот наместо да формира пора се ослободува од бактерискиот клеточен ѕид. Соевите на *Neisseria gonorrheae* кои се отпорни на убивање посредувано со комплемент, се асоцирани со раширените гонококни инфекции (исто така познати како гонококен артрит) кај луѓето. Одредени докази укажуваат на фактот дека мембранските протеини на отпорните *Neisseria* видови претрпуваат нековалентни заемни дејства со МНК, со што се спречува неговото вметнување во надворешната мембрана од бактериските клетки. Овие примери за отпорните грам-негативни бактерии кон дејството на комплементот се исклучок. Повеќето грам-негативни бактерии се осетливи за лизата која е посредувана од комплементот.



(а) Жива (б) Убиена (в) Убиена

СЛИКА 7-12 Скенирана електронска микрографија на *E. coli* која покажува (а) неоштетени цели клетки и (б, в) клетки кои се убиени од страна на комплемент-посредуваната лиза. Да се обрне внимание на неправилните испакнувања кои се формираат врз мембраната од лизираните клетки. (Од *R.D. Schreiber et al.,* 1979, Journal of Experimental Medicine ***149:870.***)

ТАБЕЛА 7-5 Начини на кој микробите го избегнуваат оштетувањето посредувано со комплементот

Компонента од микробите	Механизам за избегнување	Примери
	Грам-негативни бактерии	
Долги полисахаридни вериги во ЛПС од клеточниот ѕид*	Страничните ланци го спречуваат вметнувањето МНК во мембраните од бактериите*	Отпорни соеви на *E. coli* и *Salmonella*
Протеини од надворешните мембрани	МНК стапува во заемно дејство со мембранските протеини и неможе да се вметне во бактериската мембрана	Отпорни соеви на *Neisseria gonorrhoeae*
Еластаза	Анафилатоксините К3а и К5а се инактивираат од страна на еластазата на микробите	*Pseudomonas aeruginosa*
	Грам-позитивни бактерии	
Пептидогликански слој во клеточниот ѕид	Вметнувањето на МНК во бактериската мембрана е спречено од дебелиот слој на пептидогликани	*Streptococcus*
Бактериска капсула	Капсулата претставува физичка бариера помеѓу депозитите на К3б врз површината на бактерискиот ѕид и КР1 на фагоцитните клетки*	*Streptococcus pneumoniae*
	Останати микроби	
Протеини кои ги имитираат протеините кои го регулираат комплементот	Протеините присутни кај различни бактерии, вируси, габи и протозои ја инхибираат скалата од комплементот	Вирусот на вакцинијата, вирусот на херпес симплекс, Епштајн-Баровиот вирус, *Trypanosoma cruzi, Candida albicans*

* КР1 = комплементен рецептор тип 1; ЛПС = липополисахарид.

Грам-позитивните бактерии се во основа отпорни на лиза посредувана од комплемент, бидејќи поседуваат дебел пептидогликански слој го спречува вметнувањето на МНК во внатрешната мембрана од бактериските клетки. Иако активирањето на комплементот може да настане врз површината на клеточната мембрана на бактериите со капсула, како што е на пример *Streptococcus pneumoniae*, обвивката го спречува заемното дејство помеѓу К3б, кој што е складиран врз површината на мембраната од бактериската клетка и КР1 на фагоцитните клетки. Одредени бактерии поседуваат еластаза која ги инактивира К3а и К5а, спречувајќи ги овие продукти кои се добиени со цепењето да предизвикаат појава на воспалителен одговор. Покрај овие механизми за одбегнување, различни бактерии, вируси, габи и протозои содржат протеини кои можат да ја нарушат комплементарната скала врз нивната површина, имитирајќи ги на тој начин ефектите од нормалните протеини кои го регулираат комплементот К4бВП, КР1 и КД55 (ФЗР).

Додека еден МНК може да ги лизира црвените крвни клетки, за лиза на клетките кои имаат јадро потребно е да се создадат повеќе мембрански напаѓачки комплекси. Многу од клетките со јадро, вклучувајќи ги и најголемиот дел од туморските клетки, можат да го внесат (по пат на ендоцитоза) МНК во нивната внатрешност. Доколку комплексот се отстрани доволно брзо, клетката може да го поправи секое оштетување на мембраната и да ја обнови својата осмотска стабилност. Несакана последица од овој ефект е тоа што лизата на клетките посредувана од комплемент со помош на противтелата кои се специфични за противгените од клетките на туморот, што претставува потенцијално оружје против ракот, може да се направи неефикасно поради ендоцитозата на МНК (види Поглавје 21).

Продуктите од цепењето на компонентите на комплементот посредуваат во воспалението

Иако расправиите за каскадата на комплементот вообичаено се фокусираат врз неговата улога во лизата на клетките, при процесот на активирање комплементот се случуваат и други еднакво значајни процеси. Од големо значење се различните мали фрагменти кои се создаваат при формирањето на МНК. Овие пептиди играат одлучувачка улога во развојот на ефикасен воспалителен одговор (види табела 7-3). Малите фрагменти кои се резултат на цепењето на поедини К3а и К5а компонентите на комплементот, наречени уште и **анафилатоксини**, се врзуваат за рецепторите на мастоцитите и крвните базофили и предизвикуваат обеззрнување, при што се ослободуваат хистамин и други фармаколошки активни посредници. Анафилатоксините исто така поттикнуваат и контракција на мазната мускулатура и големување на пропустливоста на крвните садови. Според тоа, активирањето на системот на комплементот доведува до прилив на течности, кои ги носат противтелата и фагоцитните клетки до областа каде што навлегол противгенот. Активностите на овие високо реактивни анафилатоксини се регулирани со една серумска протеазата наречена карбоксипептидаза Н, која го отцепува Арг остаток од јаглеродниот крај на молекулите, што пак доведува до создавање на така наречени *дес-Арг* форми. дес-Арг формата од К3 е целосно неактивна, додека таа од К5а задржува дел од својата хемотаксичната активност и дел од нејзината способност да предизвика контракција на мазната мускулатура.

К3а и К5а можат да ги поттикнат моноцитите и неутрофилите да се прилепат за површината на ендотелните клетки од крвните садови, да поминат од крвта во ткивата низ ендотелни-

КЛИНИЧКИ ФОКУС

Пароксизмална ноќна хемоглобинурија: Дефект при регулирање на лизата предизвикана од комплементот

Состојбите кои се асоцирани со недостаток на компоненти на комплементот вклучуваат зголемена прифатливост кон бактериски инфекции и системски лупус еритематозус, кој е поврзан со неспособноста да се отстранат имуните комплекси од организмот. Недостатокот на протеините кои ја регулираат активноста на комплементот може да предизвикаат подеднакво сериозни проблеми. Пример за тоа е пароксизмалната ноќна хемоглобинурија или ПНХ, која се манифестира како зголемена кршливост на црвените крвни клетки, што доведува до појава на хронична хемолитична анемија, панцитопенија (намалување на бројот на сите видови на крвни клетки) и венска тромбоза (појава на згрутчување на крвта). Името ПНХ потекнува од присуството на хемоглобин во урината, кој најчесто се забележува во првата урина по ноќното спиење. Причината за појава на ПНХ е дефект во синтезата на протеините од клеточната површина, што влијае врз прикажувањето на два регулатори од комплементот, ФЗР или КД55 и МИРЛ или КД59.

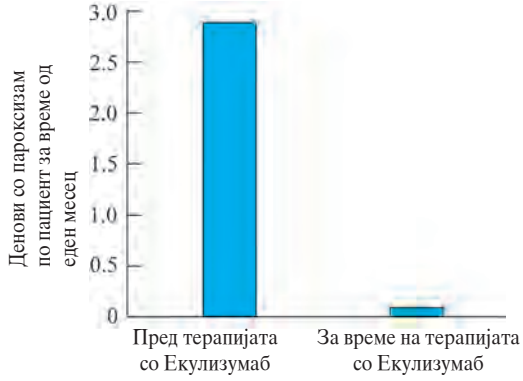
КД55 и КД59 се протеини од површината на келтката кои функционираат како инхибитори на лизата на клетките која е посредувана од комплемент. Дејствуваат во различни фази од овој процес. КД55 ја инхибира лизата на клетките преку разградување и инактивирање на К3 конвертазата од класичната, лектинската и алтернативната патека (види слика 7-10б). КД59 дејствува во подоцнежните фази од комплементната петката, преку врзување за К5б678 комплексот, што доведува до инхибиција на врзувањето на К9 и спречување во создавањето пори, кои би ја уништиле нападнатата клетка. И двата протеини се прикажни врз површината на црвените клетки, како и на одреден број на типови на крвни клетки. Недостатокот на овие протеини доведува до појава на крајно зголемена чувствителност на клетките од домаќинот за литичкиот ефект на неговиот сопствен комплементен систем. ПНХ, која претставува клиничка последица од недостатокот на КД55 и КД59, е хронична болест со просечно време на преживување помеѓу 10 и 15 години. Најчестите причини за смртност кај ПНХ се постепеното откажување на коскената срцевина и венската тромбоза, која ги зафаќа вените од црниот дроб.

Интересна карактеристика на ова ретко но опасно заболување, е фактот дека во неговата патогенеза се вклучени два различни протеини. Истовремената појава на генски дефект кај двата протеини би бил многу редок, со инциденца од 1 на 100000. Всушност, кај ПНХ ниту еден од протеините сам по себе не е дефектен. Дефектот лежи во постпреведувачката модификација на пептидите кои служат за закотвување на протеините во клеточната мембрана. Додека најголемиот дел од протеините кои се прикажани врз површината од клетките имаат хидрофобни секвенци кои попречно поминуваат низ липидниот двослој од клеточната мембрана, некои од нив се врзани со помош на гликолипиди во форма на сидро (гликозил фосфатидилинозитол или ГФИ) (глsцocsл пхоспхатидsлиноситол = ГПИ) прицврстени за аминокиселинските остатоци од протеинот. Ако недостатува способноста за формирање на ГФИ засидрувачи, протеините кои се прицврстуваат на овој начин, како што се КД55 и КД59, ќе отсуствуваат од површината на клетката.

Дефектот кај ПНХ настанува рано во ензимската патека која води до создавање ГФИ засидрувачот и е сместен во фиг-а генот (фосфатидилинозитол гликан комплементарен ген од класа А) (phosphatidylinositol glycan complementation class A gene = pig-a). Инфективниот трансфер (трансфекција) на неоштетен фиг-а ген во клетките од пациентите со ПНХ, ја обновува нивната отпорност кон лизата предизвикана од сопствениот комплемент. Со испитувањето на секвенците на фиг-а генот, кај популацијата на пациенти со ПНХ, е утврдено постоење на одреден број на различни дефекти кај овој ген поврзан со Х хромозомот. Ваквото нешто повеќе укажува на соматско, отколку на генетско потекло на овој дефект. Бидејќи дефектот влијае врз голем број клетки, лекување на болеста со генска терапија не е практична опција.

Од неодамна, значаен напредок во лекувањето на ПНХ е постигнат со употребата на хуманизирано моноклонско противтело (види Поглавје 4) насочено кон К5 компонентата од комплементот, Со употребата на ваквото противтело се попречуваат крајните чекори од комплементната каскада и создавањето на мембрански напаѓачки комплекс. Ова противтело, со трговско име Екулизумаб (Ецулизумаб), е давано кај пациенти со инфузија, кои потоа беа следени за да се утврди загубата на црвени крвни клетки од настанатата лиза. Во период од 12 недели од лекувањето со Екулизумаб, кај пациентите е забележано значително подобрување на заболувањето и повлекување на симптомите (види Клинички фокус, слика 1).

Карактеристиките на ПНХ го нагласуваат фактот дека комплементниот систем претставува моќен, но истовремено и опасен, заштитник на домаќинот. Неопходни се комплексни системи за регулација, за да се заштитат клетките на домаќинот од активираните комплекси на комплементот, кои се создадаваат за да се изврши лиза на туѓите клетки.



Лекувањето на пациентите со ПНХ со Ецулизумаб доведува до повлекување на појавата на крв во урината (хемоглобинуријата). Прикажан е бројот на денови со пароксизам (почеток на нападите) по пациент за време од еден месец, еден месец пред лекувањето (столпчето лево) и за време од 12-месечниот период на лекување со Eculizumab (столпчето десно). (*Од Hillmen P. et al. 2004.* New England Journal of Medicine 350:6, 552-59)

от слој од клетки во капиларите и да мигрираат кон местото каде настанува активирање на комплементот во ткивата. Најпотентен во посредувањето на овие процеси е К5а. Неговата ефикасност се изразува во пикомолни количини. Улогата на комплементот во хемотакстата на белите клетки е подетално објаснета во Поглавјето 14.

Врзувањето на К3б иК4б ја олеснува опсонизацијата

Главниот опсонин во комплементниот систем е К3б, иако и К4б и иК3б исто така поседуваат опсонизирачка активност. Засилувањето кое настанува со активирањето на К3, резулатира со обвиткување имуните комплекси и одредените противгени со К3б. Фагоцитните клетки, исто како и некои други клетки, прикажуваат рецептори за комплементот врз својата површина (КР1, КР3 и КР4), кои се врзуваат за К3б, К4б или иК3б (види табела 7-4). Противгенот кој е обвиткан со К3б, се врзува за клетките кои имаат КР1 врз својата површина. Ако клетката е фагоцит (на пример неутрофил, моноцит или макрофаг), ќе дојде до олеснување на фагоцитозата (слика 7-13). Активирањето на фагоцитните клетки од страна на разните причинители, вклучувајќи го тука и анафилатоксинот К5а, се покажало дека го зголемува бројот на КР1 од 5000 кај фагоцитите во мирување, до 50000 кај активираните клетки, со што во голем степен се олеснува процесот на фагоцитоза на противгенот кој е обвиткан со К3б.

Неодманешните проучувања, исто така, покажале дека К3б фрагментот од комплементот може да дејствува и како додаток ако се даде врзан за протеинските противгени. К3б овозможува директна фагоцитоза на противгенот, забрзувајќи ја на тој начин обработката на противгенот и создавањето на специфични противтела.

Комплементниот систем ја неутрализира и инфективноста на вирусите

За повеќето од вирусите, врзувањето на серумското противтело за повторувачките поединици од вирусните структурни протини создава определени имуни комплекси, кои се идеално прикладни за активирањето на класичната патека од активација на комплементот. Некои вируси, (на пример ретровирусите, Епштајн-Баровиот вирус, вирусот за Њукасл заболувањето и вирусот на рубела) можат да ја активираат алтернативната, лектинската или дури и класичната патека, иако има отсуство на противтело.

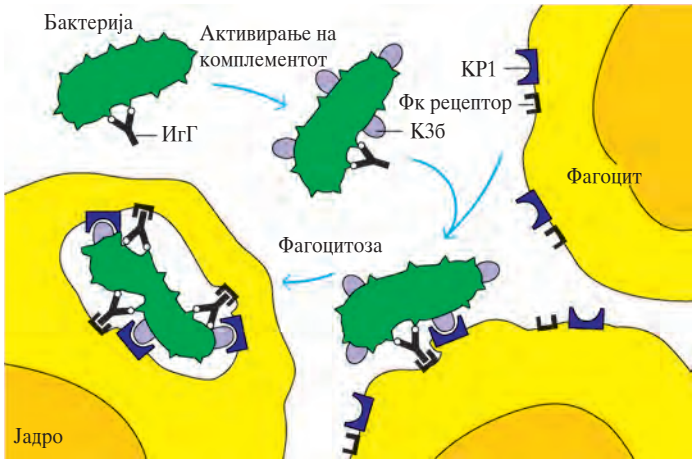
Комплементниот систем посредува во неутрализацијата на вирусите преку одреден број механизми. Одреден степен на неутрализација се постигнува со создавањето на големи вирусни агрегати, бидејќи овие вирусни агрегати го намалуваат нето бројот на инфективните вирусни честички. Иако противтелото игра улога во создавањето на вирусните агрегати, ин витро проучувањата покажале дека К3б компонентата го олеснува создавањето на аграгатите во присуство на мала количина противтела, односно во присуство на по два противтелни молекули врз еден вирион. На пример, полиома вирусот, кој е обложен со противтело, може да се неутрализира со додавање на серум кој содржи активиран К3.

Врзувањето на противтелото и/или комплементот за површината на вирусната честичка, создава дебела протеинска обвивка која може да се види со електронски микроскоп (слика 7-14). Ова обложување ја неутрализира вирусната инфективност преку блокирање способноста на вирусот да се прилепува за прифатливите клетки од домаќинот. Депозитите на противтелата и комплементот врз вирусните честици, исто така го олеснуваат врзувањето на вирусната честичка за клетките кои поседуваат Фк или комплементни рецептори тип 1 (КР1). Во случајот со фагоцитните клетки, ваквото врзување може да предизвика фагоцитоза и внатреклеточно разградување внесената вирусна честичка. И на крајот, комплементот е мошне ефективен при лизата на повеќето, ако не и сите, вируси кои имаат обвивка, при што доаѓа до парчосување на обвивката и распаѓање на нуклеокапсидот (формација составена од јадро од нуклеинска киселина обвиткано со протеинска обвивка).

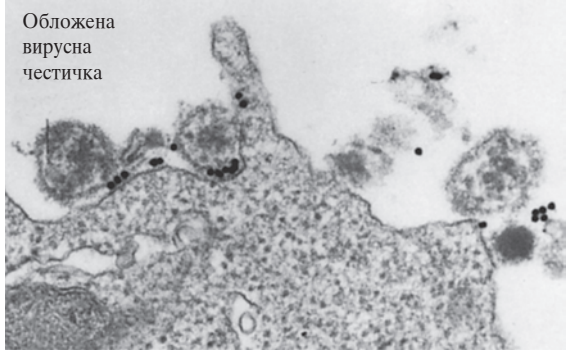
Вирусите развиле бројни различни стратегии за одбегнување на активноста на комплементот. Овие стратегии спаѓаат во три различни категории:

1. *Попречување на врзувањето на комплементот за комплексот противтело-противген.* Оваа стратегијата на избегнување ја употребува вирусот на херпрес, кој синтетизира вирусни протеини кои имаат иста активност како и рецепторот за Фк. Врзувањето на овие протеини за не-

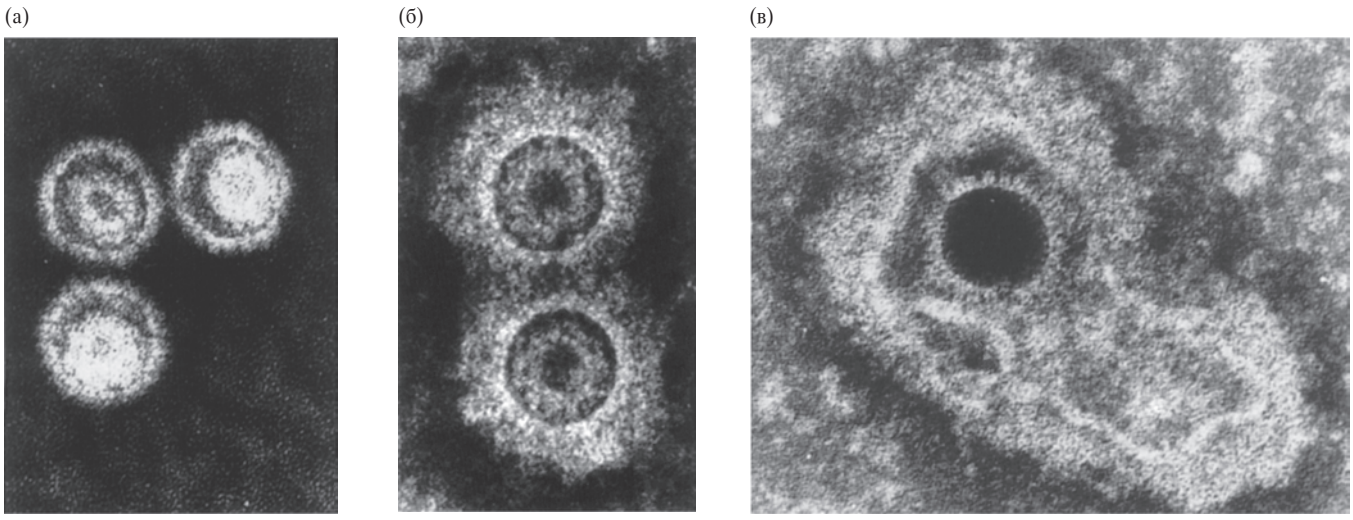
(а)



(б)



СЛИКА 7-13 (а) Шематски приказ за улогите на К3б и противтелото во опсонизацијата. (б) Електронска микрографија на Епштајн-Баровиот вирус кој е обложен со противтело и К3б и е врзан за Фк и К3б рецепторот (КР1) од Б лимфоцитот. (Делот б од *N.R. Cooper and G.R. Nemerow, 1986, in* Immunobiology of the Complement System, *G. Ross, ed., Academic Press, Orlando.)*



СЛИКА 7-14 Електронската микрографија на негативно обоените препарати на Епштајн-Баровиот вирус. (а) Контрола без противтело. (б) Честички обложени со противтело. (в) Честички обложени со противтело и комплемент. (Од *N.R. Cooper* и *G.R. Nemerow, 1986, in* Immunobiology of the Complement System, *G. Ross, ed., Academic Press, Orlando.)*

специфичните имуноглобулини го блокира врзувањето на специфичните противвирусни противтела.

2. *Вирусната мимикрија на регулаторите на комплементот кај цицачите*. Вакцинија вирусот создава протеин кој се врзува за К4б и К3б, со што влијае врз нивната активност. Подоцна се однесува како кофактор за инхибиторниот фактор И.
3. *Вклучување на клеточните регулатори на комплементот во вирионот*. ХТЛВ-1 (вирус на хумана леукемија) вклучува значителни нивоа на сијалинска кислеина во својата вирусна обвивка, со што го маскира вирусот со карактеристики кои ги поседуваат клетките на цицачи.

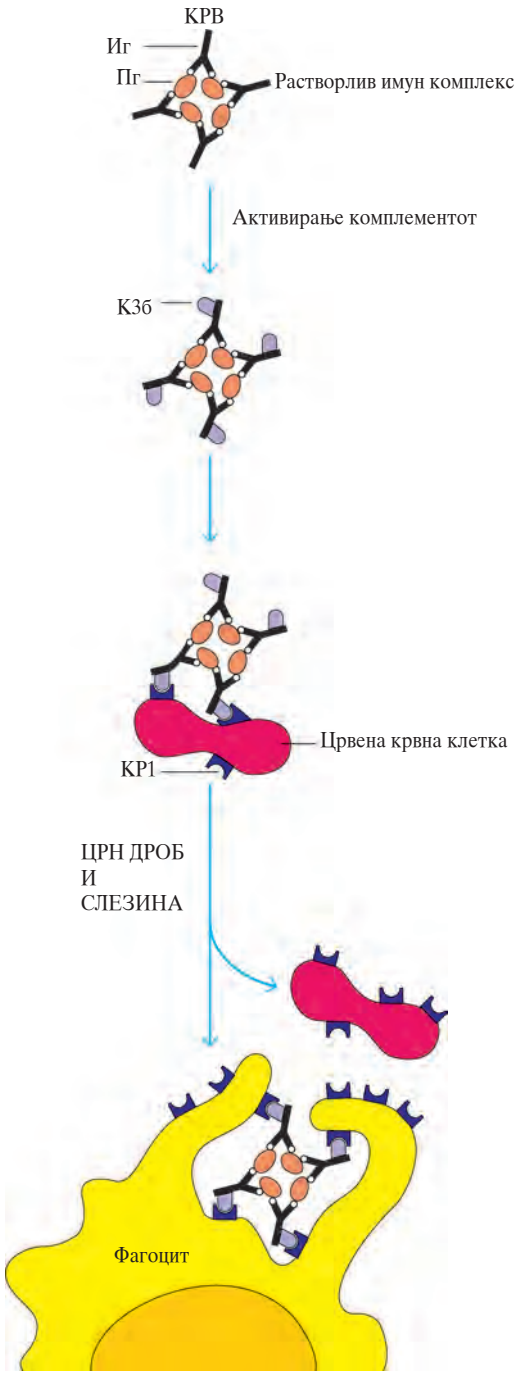
Комплементниот систем ги отстранува имуните комплекси од циркулацијата

Значењето на комплементниот систем при отстранување имуните комплекси може да се види кај луѓето кои имаат автоимуно заболување наречено системски лупус еритематозус (СЛЕ). Кај овие лица се создаваат големи количини имуни комплекси. Како резултат на ова, претрпуваат оштетување на ткивата благодарение на лизата посредувана од комплемент и на поттикнувањето на преосетливост тип 1 и тип 3 (види Поглавје 15). Иако комплементот игра значајна улога во развојот на оштетувањето на ткивото при СЛЕ, парадоксалниот наод е дека недостатоците на К1, К2, К4 и КР1 го предиспонираат лицето кон развивање на СЛЕ. Така, утврдено е дека 90% од лицата кај кои целосно недостасува К4, развиваат СЛЕ. Се смета дека недостатоците во комплементот влијаат врз ефективното растворање и отстранување на имуните комплекси. Како резултат на ова, комплексите опстојуваат подолго време во организмот, што доведува до оштетување предизвикано од истиот систем, чиј недостаток е одговорен за неговото настанување.

Обложувањето на растворливите имуни комплекси со К3б, се верува дека го олеснува нивното врзување за КР1 на црвените крвни клетки. Иако црвените крвни клетки прикажуваат на својата површина пониски нивоа на КР1 (приближно околу 5 x 10^2 по клетка) одколку гранулоцитите (приближно околу 5 x 10^4 по клетка), постојат по околу 10^3 црвени крвни клетки за секоја бела крвна клетка. Затоа, се смета дека на црвените крвни клетки се наоѓаат околу 90% од КР1 во крвта. Поради оваа, црвените крвни клетки играат значајна улога во врзувањето на имуните комплекси обложени со К3б и во пренесувањето на овие комплекси до црниот дроб и слезината. Во овие органи, имуните комплекси се откачуваат од црвените крвни клетки и се фагоцитираат, спречувајќи го на тој начин нивното депонирање во ткивата (слика 7-15). Кај пациентите со СЛЕ, недостатоците на секоја од К1, К2 и К4 компонентите може да допринесе за намалување на нивото на К3б врз имуните комплекси и на тој начин го попречува нивното отстранување. И послабото прикажување на КР1 врз црвените крвни клетки кај пациенти со СЛЕ, исто така, може да влијае врз соодветното врзување и отстранување на имуните комплекси.

Недостатоци на комплементот

Познати се генски недостатоци за секоја од компонентите на комплементот. Хомозиготните недостатоци на секоја од компонентите кои учествуваат во почетните фази на класичната патека (К1к, К1р, К1с, К4 и К2) доведуваат до слични симптоми, односно до значителен пораст на болестите предизвикани од имуните комплекси, како што се на пример системскиот лупус еритематозус, гломерулонефиритисот и воспалението на крвните садови. Ефектите од овие недостатоци го нагласуваат значењето на првичните реакции на активацијата на комплементот во создавањето на К3б, како и на клучната улога на К3б во растворувањето и отстранувањето на имуните комплекси. Покрај болестите предизвикани од имуните комплекси, лицата кои имаат ваков недостаток на компонентите од комплементот, може да страдаат од повторувачки инфекции предизвикани од пиогени (кои создаваат гној) бактерии, како што се на пример стрептококите и стафилококите. Овие организми се грампозитивни и се отпорни на лизирачките ефекти на МНК. И покрај тоа, првичните компоненти од комплементот вообичено ги спречуваат повторувачките инфекциии преку посредување на локален воспалителен одговор и опсонизација на бактеријата. Недостатоците на факторот Д и пропердинот - првичните делови од алтернативната патека - се поврзуваат со инфекциите предизвикани од *Neisseria*, но не и со заболувањата предизвикани



СЛИКА 7-15 Отстранувањето на циркулирачките имуни комплекси преку реакција со рецепторите за продуктите од комплементот врз црвените крвни клетки и отстранувањето на овие комплекси со рецептори врз макрофагите од црниот дроб и слезината. Бидејќи црвените крвни клетки имаат помал број на рецептори од макрофагите, макрофагите можат да ги откачат комплексите од црвените крвни клетки додека тие минуваат низ црниот дроб и слезината. Недостатокот во овој процес може да доведе до оштетување на бубрезите, поради акумулација на имуните комплекси.

од имуните комплекси. Се покажало дека недостатокот на МВЛ е релативно чест и доведува до сериозни пиогени инфекции кај новороденчињата и децата. Децата кои имаат недостаток на МВЛ, страдаат од зголемен број инфекции на дишните патишта. Се покажло дека овој недостаток е два до три пати почест кај пациентите со СЛЕ, отколку кај нормалните лица, додека одредени мутирани форми се широко распространети кај пациентите со хроничнен хепатит Б.

Луѓето со недосаток на К3 ги имаат најтешките клинички манифестации, отсликувајќи ја централната улога на К3 во активирањето на К5 и создавањето на МНК. Првата личност кај која е откриен недостаток на К3 било дете кое страдало од чести тешки бактериски инфекции и кое првично било дијагностицирано како агамоглобулинемија. Откога со тестовите се утврдило постоење на нормално ниво на имуноглоблини во серумот, бил откриен недосаток на К3. Овој случај ја нагласува клучната улога на комплементниот систем при претворањето хуморалниот противтелен одговор во ефикасен одбрамбен механизам. Поголемиот дел од луѓето со недостаток на К3 имаат повторувачки бактериски инфекции и можат да имаат заболувања предзвикани од имуни комплекси.

Нивото на К4 во серумот значително варира помеѓу населението. Луѓето кои имаат пониско ниво на К4, можат да бидат поподложни на појава од автоимуни заболувања. Гените кои го кодираат К4 се сместени во главниот ткивносовпадлив комплекс (види Поглавје 8). Кај еден човек, бројот на гените за К4 може да варира од две до седум копии. Најновите проучувања ги поврзуваат генски условените ниски нивоа на К4 со зголемениот ризик за појава на СЛЕ.

Лицата хомозиготи за недостаотците на компонентите кои се вклучени во создавањето на МНК, развиваат повторувачки менингококни и гонококни инфекции предизвикани од соевите на *Neisseria*. Кај нормалните здрави лица, овие грамнегативни бактерии во основа се многу прифатливи за лиза која е посредувана од комплемент или пак се отстрануваат со опсонизирачката активност на К3б. Лицата кои имаат недостаток на МНК ретко имаат заболувања предизвикани од имуни комплекси, што укажува на фактот дека тие создаваат доволна количина на К3б за да ги отстранат имуните комплекси. Интересно е дека недостатокот на К9 не дава клинички манифестни симптоми, што укажува на фактот дека секогаш е неопходно целосно да се формира МНК, за да настане лиза посредувана со комплемент.

Исто така утврдено е и постоење на вродени недостатоци на регулаторни протеини на комплементните. К1 инхибиторот (Ц1Инх) го регулира активирањето на класичната патека, поради тоа што го спречува прекумерното активирање на К4 и К2 од страна на К1. Недостатокот на К1Инх се наследува автосомно доминантно, со фреквенција од 1 на 1000. Овој недостатокот предизвикува заболување наречено наследен ангионевротски едем, кое клинички се манифестира како локализиран оток на ткивото. Овој оток најчесто се јавува после повреда, иако понекогаш може да се јави и без позната причина. Отокот може да се јави во подкожното ткиво, во цревата (при што предизвикува појава на стомачна болка) или во горните дишни патишта, каде предизвикува стоп во протокот на воздух со можен фатален исход.

Проучувањата кај луѓето и експерименталните животни со хомозиготни недостатоци на компонентите од комплементните делови се главниот извор на информации за улогата на поединечните компоненти од комплементот во имунитетот. Овие наоди понатаму се проучувани со употреба на глувци кај кои е отстранет соодветниот ген (knockout mice) и на тој начин се генски модицифирани за да имаат недостаток на специфични компоненти од комплементот. Ин виво истражувањето на активноста на комплементот кај овие животни, овозможи анализа на комплексниот систем на протеините на комплементот и утврдувањето на точната биолошка улога на секој до нив.

Збирен приказ

- Комплементниот систем се состои од група серумски протеини. Голем дел од нив се во неактивна форма.
- Активирањето на комплементот настанува со помош на класичната, алтернативната или лектинската патека. Секоја од овие патеки започнува на различен начин.
- Трите патеки се сретнуваат и продолжуваат да течачат како една, при што се создавава мембрански напаѓачки комплекс, кој предизивкува лиза на клетката.
- Класичната патека започнува кога противтелото ќе се врзе за целната клетка. Реакциите од страна на ИгМ и одредени потокласи на ИгГ ја активираат оваа патека.
- Активирањето на алтернативната и лектинската патека е независно од противтелата. Овие патеки започнуваат откога протеините од комплементот ќе се врзат за молекулите од површината на микроорганизмите.
- Покрај неговата клучна улога во лизата на клетките, комплементниот систем посредува во опсонизацијата на бактериите, активирањето на воспалението и отстранувањето на имуните комплекси.
- Заемното дејство на комплементните протеини и протеинските фрагменти со рецепторите кои се наоѓаат врз клетките од имуниот систем, ги контролираат и вродениот и стекнатиот имун одговор.
- Поради неговата способност да го оштети организамот на домаќинот, комплементниот систем има потреба од комплексни пасивни и активни регулаторни механизми.
- Клиничките последици од наследните недостатоци во комплементот, се движат од зголемена прифатливост за инфекција до оштетување ткивото предизвикано од имуните комплекси.

Референции

Carroll, M. C. 2004. The complement system in regulation of adaptive immunity. Nature Immunology 5:981.

Davis, A. E., III. 2005. The pathophysiology of hereditary angioedema. Clinical Immunology 114:3.

Favoreel, H. W., et al. 2003. Virus complement evasion strategies. Journal of General Virology 84:1.

Hillmen, P., et al. 2004. Effect of Eculizumab on hemolysis and transfusion requirements in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. New England Journal of Medicine 350:552.

Holmskov, U., S. Thiel, and J. C. Jensenius. 2003. Collectins and ficolins: Humoral lectins of the innate immune defense. Annual Review of Immunology 21:547.

Kishore, U., et al. 2004. C1q and tumor necrosis factor superfamily: Modularity and versatility. Trends in Immunology 25:551.

Lindahl, G., U. Sjobring, and E. Johnsson. 2000. Human complement regulators: A major target for pathogenic microorganisms. Current Opinion in Immunology 12:44.

Manderson, A. P., M. Botto, and M. J. Walport. 2004. The role of complement in the development of systemic lupus erythematosus. Annual Review of Immunology 22:431.

Matsumoto, M., et al. 1997. Abrogation of the alternative complement pathway by targeted deletion of murine factor B. Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A. 94:8720.

Muller-Eberhard, H. J. 1988. Molecular organization and function of the complement system. Annual Review of Biochemistry 57:321.

Nonaka, M., and F. Yohizaki. 2004. Primitive complement system of invertebrates. Immunological Reviews 198:203.

Rautemaa, R., and S. Meri. 1999. Complement-resistance mechanisms of bacteria. Microbes and Infection/Institut Pasteur 1:785.

Sloand, E. M., et al. 1998. Correction of the PNH defect by GPI-anchored protein transfer. Blood 92:4439.

Turner, M. W. 2003. The role of mannose-binding lectin in health and disease. Molecular Immunology 40:423.

Wen, L., J. P. Atkinson, and P. C. Gicias. 2004. Clinical and laboratory evaluation of complement deficiency. Journal of Allergy and Clinical Immunology 113:585.

Yu, C. Y., and C. C. Whitacre. 2004. Sex, MHC and complement C4 in autoimmune diseases. Trends in Immunology 25:694.

Zarkadis, I. K., D. Mastellos, and J. D. Lambris. 2001. Phylogenetic aspects of the complement system. Developmental and Comparative Immunology 25:745.

Корисни веб-страници

http://www.complement-genetics.uni-mainz.de/

Страната на Complement Genetics од Универзитетот во Мајнц ги дава локациите на хромозомите и дава информации за генските недостатоци на протеините на комплементот.

http://www.cehs.siu.edu/fix/medmicro/cfix.htm

Интелигентно графичко прикажување на основните тестови за анализа на комплементната активност со употреба на црвени крвни клетки, од Д. Фикс од Универзитетот од Јужен Илиноис, Карбондејл.

Прашања за учење

Прашање од клинички фокус: Објаснете зошто нарушувањата во комплементот во кои се вклучени регулаторните компоненти, како што е на пример ПНХ, можат да бидат посериозни отколку недостатоците на активните компоненти на комплементот.

1. Наведете дали секој од следниве искази е точен или не. Доколку мислите дека одреден исказ не е точен, објаснете зошто.
   а. Еден молекул од врзниот ИгМ може да ја активира К1к компонентата од класичната патека на комплементот.
   б. К3а и К3б се фрагменти од К3.
   в. К4 и К2 компонентите од комплементот се присутни во серумот во функционално неактивна проензимска форма.
   г. Клетките со јадро тежнеат да бидат поотпорни на лиза посредувана од комплементот, отколку црвените крвни клетки.
   д. Вируси кои имаат капсула не можат да бидат лизирани од страна на комплементот, бидејќи нивната надворешна обвивка е отпорна кон создавање пори од страна на мембранскиот напаѓачки комплекс.

ѓ. Лицата кои имаат недостаток на К4 имаат тешкотии при отстранувањето на имуните комплекси.

2. Објаснете зошто серумскиот ИгМ неможе сам од себе да го активира комплементот.
3. Кај пациентите опишани се генетски недостатоци за сите компоненти од комплементот освен за факторот Б. Посебно тешките последици се резултат на недостатокот на К3. Објаснете ги последиците од отсуството на К3 за секое од следново:
   а. Активирање на класичната и алтернативната патека
   б. Отстранување на имуните комплекси
   в. Фагоцитоза на инфективните бактерии
   г. Прикажување противгени пептиди од инфективните бактерии
4. Дајте краток приказ на четирите главни функции на комплементниот систем.
5. Активирањето на комплементот може да настане преку класичната, алтернативната или лектинската патека.
   а. Како трите патеки се разликуваат во супстанциите кои можат да го предизвикаат активирањето?
   б. Кој дел од целата секвенца кој доведува до активирање се разликува кај трите патеки? Кој дел е сличен за сите три патеки?
   г. На кој начин се разликуваат биолошките последици кои се јавуваат по активирањето на комплементот кај трите различни патеки?
6. Клетките кои немаат јадро, како на пример црвените крвни, се повеќе прифатливи за лиза која е посредувана со комплементот, отколку што се клетките кои имаат јадро.
   а. Објаснете зошто црвените крвни клетки кај здрава особа нормално не се уништуваат како резултат од лизата на "невините набљудувачи" од страна на комплементот.
   б. Под кои услови комплементот може да предизвика разградување на сопствените црвени крвни клетки?
7. Накратко објаснете го механизмот на дејствување за следниве протеини регулатори на комплементот. Наведете кој протеин која патека ја регулира.
   а. К1 инхибиторот (Ц1Инх)
   б. К4б-врзувачкиот протеин (К4бВП)
   в. Хомологен рестиктивен фактор (ХРФ)
   г. Фактор за забрзување на распаѓањето (ФЗР)
   д. Фактор Х
   ѓ. Мембрански кофакторен протеин (МКП)
8. За секоја компонента(и) од комплементот или одговор (а-ј), одберете го најсоодветниот опис кој е наведен (1-13). Секој опис може да се користи еднаш, повеќе од еднаш или воопшто да не се користи.
   Компонента(и) на комплементот /Реакции
   а. _____ К3б
   б. _____ К1, К4, К2 и К3
   в. _____ К9
   г. _____ К3, факторБ и фактор Д
   д. _____ К1к
   ѓ. _____ К4б2а3б
   е. _____ К5б, К6, К7, К8 и К9
   ж. _____ К3 → К3а + К3б
   з. _____ К3а, К5а и К5б67
   s. _____ К3а, К4а и К5а
   и. _____ К4б2а
   ј. _____ К3б + Б → К3бБб + Бб
   Описи
   (1) Реакција која создава големо засилување при активирањето
   (2) Претставуваат рани компоненти од алтернативната патека
   (3) Го сочинуваат мембранскиот напаѓачки комплекс
   (4) Посредува опсонизација
   (5) Претставуваат рани компоненти од класичната патека
   (6) Имаат перфориновидна активност
   (7) Се врзуваат за Фк подрачјето од противтелата
   (8) Имаат хемотаксична активност
   (9) Имаат К3 конвертазна активност
   (10) Потикнуваат обеззрнување на мастоцитте (претставуваат анафилатоксини)
   (11) Имаат К5 конвертазна активност
   (12) Реакција катализирана од страна на фактор Д
   (13) Реакција катализирана од страна на $К1кр_2с_2$
9. Сте подготвиле глувци со отстранет ген со мутации во гените кои кодираат различни копоненти од комплементот. Секој од соевите на глувци со отстранет ген не може да создаде една од компонентите на комплементот наведени на горниот дел од табелата која се наоѓа подолу. Предвидете го ефектот на секоја мутација во фазите на активирање комплементот и во комплементните извршни (ефекторни) функции наведени во табелата, со употреба на следниве симболи: НЕ = нема ефект, Д = процес/ намалена функција, но сеуште присутна, А = процес/ отсутна функција.

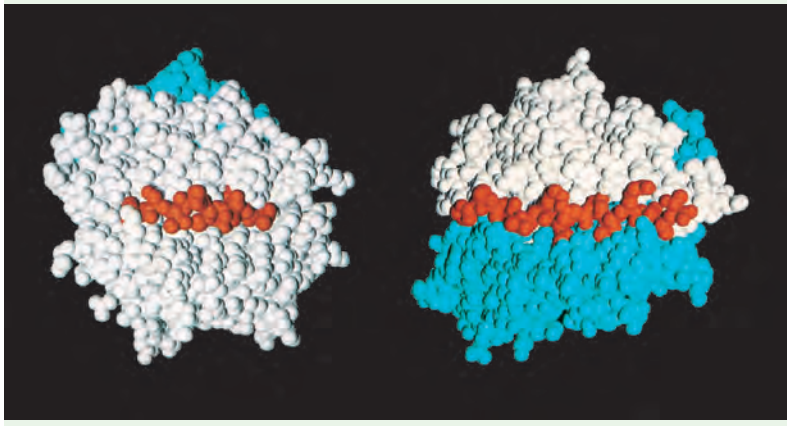
	Отстранет ген за компонентата						
	К1к	К4	К3	К5	К6	К9	Фактор Б
Активирање на комплементот							
Создавање К3 конвертаза во класичната патека							
Создавање К3 конвертаза во алтернативната патека							
Создавање К5 конвертаза во класичната патека							
Создавање К5 конвертаза во алтернативната патека							
Ефекторни Функции							
К3б-посредувана опсонизација							
Неутрофилна хемотакса							
Лиза на клетките							

Интрактивно учење
www.whfreeman.com/kuby

САМОСТОЕН ТЕСТ
Преглед на клучни поими

Поглавје 8

Главен ткивно-совпадлив комплекс и противгенско прикажување



Klasa I e MHC

Klasa II e MHC

Просторни модели на класа 1 и класа 2 ГТК молекули кои прикажуваат врзани пептиди во црвена боја. Од D. A. Vignali and J. Strominger, 1994, The Immunologist 2:112.]

- Основна организација и наследување ГТК
- ГТК молекули и гени
- Детална геномска мапа на ГТК гените
- Клеточно прикажување на ГТК молекулите
- Регулација на прикажувањето на ГТК
- ГТК и осетливост кон болест
- ГТК и имуна реактивност
- Сопствено ГТК ограничување на Т-клетките
- Улога на противген-прикажувачките клетки
- Докази за различните патеки на обработување и прикажување противгени
- Ендогени противгени: Цитосолна патека
- Егзогени противгени: Ендоцитна патека
- Вкрстено-прикажување егзогени противгени
- Прикажување непептидни противгени

За разлика од противтелата или Б-клеточните рецептори, кои можат да препознаат слободен противген, Т-клеточните рецептори препознаваат само противгени кои се преработени и прикажани во контекст на молекули кои се кодирани од **главниот ткивносовпадлив комплекс (ГТК)**. Во почетокот, ГТК беше проучуван и именуван како генски комплекс кој влијае врз способноста на организамот да прифати или да отфрли пресадено ткиво од друга единка од истиот вид. Првите студии од страна на Р. Цинкернагел и П. Доерти, Б. Бенакераф и други, покажаа дека молекулите кодирани од ГТК играат мошне значајна улога во стекнатите имуни реакции и дека определениот комплет на ГТК молекули прикажани на клетките на една индивидуа влијае врз репертоарот на противгени кон кои Тпо и ТцТ-клетки на таа индивидуа можат да реагираат. ГТК влијае врз одговорот на индивидуата кон противгени од инфективни организми па затоа се поврзува и со осетливоста кон болест како и со развојот на автоимуни реакции. Неодамнешното откритие дека клетките природни убијци прикажуваат рецептори за ГТК класа I противгените, како и фактот дека меѓудејството рецептор-ГТК може да доведе до инхибиција или активирање на овие клетки, расветлува нова улога на оваа фамилија гени (види Поглавје 14). Механизмите со кои оваа фамилија на молекули влијае врз развојот на имунитетот против скоро сите видови противгени стана многу важна тема во имунологијата, а проучувањето на ГТК добива многу пошироко значење од објаснување на биологијата на трансплантацијата.

Во ова поглавје на кратко е опишана историјата на ГТК и се објаснети гените и молекулите кодирани од ГТК. Ќе биде спомената поврзаноста на одредени ГТК гени со осетливост кон одредени болести, како и разновидноста на овие гени во човечката популација. Акцент е ставен на тоа како ГТК продуктите создаваат комплекс пептид-ГТК кој потекнува од протеинските противгени (**преработување противген**) заедно со начинот на кој овој молекулски комплекс се пренесува врз мембраната на клетката, каде противгенот се прикажува заради препознавање од страна на Т-клетките (**обработување противген**). Понатаму, ќе биде објаснета улогата на други

молекули кои не се кодирани од ГТК во прикажувањето на одредени класи на противген.

Основна организација и наследување на ГТК

Сите рани видови на цицачи проучувани до денес, поседуваат тесно поврзана група на гени кои го сочинуваат ГТК, а нивните продукти играат главна улога во меѓуклеточното препознавање и во разликувањето помеѓу свое и туѓо. ГТК учествува во развојот и на хуморалните и на клеточно-посредуваните имуни реакции. Проучувањата на оваа група гени започнале кога било откриено дека отфрлањето на туѓо ткиво е резултат на имун одговор кон молекули кои се наоѓаат врз површината на клетките, а денес познати како **ткивносовпадливи (хистокомпатибилни) противгени**. Во средните 30-ти години од дваесеттиот век, Питер Горер, кој користел генетски чисти соеви на глувци за испитување на противгени од крвните групи, утврдил четири групи на гени кои кодираат противгени од крвните клетки, и ги именувал од I до IV. Истражувањата во 40-тите и 50-тите години од дваесеттиот век од страна ан Горер и Џорџ Шнел потврдиле дека противгените кои се кодирани од гените во групата II учествуваат во отфрлањето на пресадени тумори или други ткива. Овие гени Шнел ги нарекол „гени за хистокомпатибилност“; нивниот сегашен назив хистокомпатибилни-2 (Х-2) гени се однесува на крвногрупните противгени од групата II според Горер. Иако Горер починал пред неговиот научен придонес целосно да биде признат, Шнел во 1980 година ја добил Нобеловата награда за неговата работа.

ГТК кодира три главни класи молекули

Главниот ткивносовпадлив комплекс е група на гени распоредени во еден долг континуиран ДНК сегмент на хромозомот 6 кај луѓе и хромозомот 17 кај глувци. ГТК се нарекува и **ХЛА комплекс** кај луѓето и **Н-2 комплекс** кај глувците. Иако распоредот на гените по малку се разликува кај двата вида, и во двата случаи ГТК гените се организирани во подрачја кои кодираат три класи на молекули (слика 8-1):

- **Гените од ГТК класа 1** кодираат гликопротеини кои се прикажуваат врз површината на скоро сите клетки со јадро; главната функција на продуктите од класа 1 е прикажување на пептидните противгени врз ТцТ-клетки.
- **Гените од ГТК класа 2** кодираат гликопротеини кои главно се прикажуваат врз клетки прикажувачи на противгени

СЛИКА НА ДЕТАЛНИОТ ПРЕГЛЕД 8-1

Поедноставена организација на главниот ткивносовпадлив комплекс (ГТК) кај глушец и човек

Глувчешки Х-2 комплекс

Комплекс	Х-2						
ГТК класа	I	II		III		I	
Подрачје	K	IA	IE	S		D	
Генски продукти	H-2K	IA αβ	IE αβ	Протеини C’	TNF-α TNF-β	H-2D	H-2L*

* Не е присутен во сите хаплотипови

Човечки ХЛА комплекс

Комплекс	**ХЛА**							
ГТК класа	II			III		I		
Подрачје	DP	DQ	DR	C4, C2, BF		B	C	A
Генски продукти	DP αβ	DQ αβ	DR αβ	Протеини C’	TNF-α TNF-β	HLA-B	HLA-C	HLA-A

ГТК кај глувците е иминуван Х-2 а кај луѓето како ХЛА комплекс. И кај двата вида, ГТК е организиран во одреден број генски подрачја кои кодираат продукти од класа 1 (розева боја), класа 2 (сина боја) и класа 3 (зелена боја). Генските продукти на класата 1 и 2 прикажани на оваа слика, се сметаат за “класични ГТК молекули”. Генските продукти на класата 3 ги вклучуваат комплементните (Ц’) протеини и тумор-некротизирачките фактори (ТНФ-алфа и ТНФ-бета).

(макрофаги, стеблести клетки и Б-клетки), а преработените противгени пептиди ги претставуваат на Тпо клетки.

- **Гените од ГТК класа 3** покрај другите продукти кодираат различни излачени протеини со имуни функции, вклучувајќи компоненти од комплементниот систем и молекули кои се вклучени во воспалителни реакции.

ГТК молекулите од класа 1 кодирани од К и Д подрачјата кај глувци и од А, Б и Ц локусите кај луѓето, беа откриени први, а се прикажуваат во најширока палета на клетки. Тие се наречени *класични класа 1 молекули*. Дополнителни гени или групи на гени во Х-2 и ХЛА комплексите исто така кодираат молекули од класа 1, кои се наречени *некласични класа 1 гени*. Прикажувањето на некласичните генски продукти е ограничено на одредени спефични видови на клетки. Иако не се познати функциите на сите генски продукти, дел од нив може да имаат високо специјализирани улоги во имунитетот. На пример, прикажувањето на ХЛА-Г молекулите од класа 1 на цитотрофобластите од фето-матерналната бариера се поврзува со заштитата на ембрионот од негово препознавање како туѓо тело (ова може да се случи кога почнуваат да се појавуваат противгените наследени од таткото) и да биде отфрлено од страна на ТцТ-клетки на мајката.

Двете вериги од ГТК класа 2 молекулите се кодирани од ИА и ИЕ подрачјата кај глувци и од страна на ДП, ДКу и ДР генските подрачја кај луѓето. Терминологијата е малку збунувачка, бидејќи регионот Д кај глувците кодира молекули од класа 1, додека ДР, ДКу и ДП кај луѓе се однесуваат на гени и молекули од класа 2. Како и кај локусите од класа 1, дополнителните молекули од класа 2 кодирани во ова подрачје имаат специјализирани функции во имуните реакции.

ГТК молекулите од класа 1 и 2 имаат заеднички структурни особини и молекулите од двете класи имаат улоги во обработувањето и прикажувањето на противгени. За разлика од нив, класа 3 регионот од ГТК, кој е локализиран помеѓу класите 1 и 2, а кодира молекули кои се од огромна важност за имунолошките функции, но имаат малку заедничко со молекулите од класа 1 и 2. Продуктите од класа 3 ги вклучуваат комплементните компоненти К4, К2 и фактор Б (кодирани од на *БФ*, види Поглавје 7) и неколку воспалителни цитокини, вклучувајќи го тумор-некротизирачкиот фактор (ТНФ).

Алелски форми на ГТК гените се наследуваат во поврзани групи наречени хаплотипови

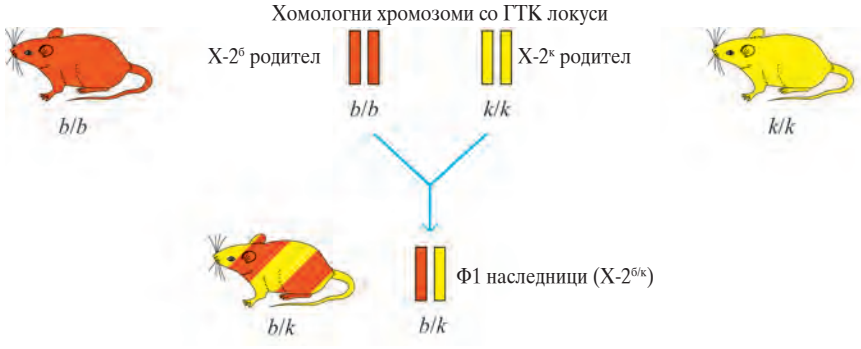
Како што е подетално објаснето подоцна, локусите кои го сочинуваат ГТК се високо **полиморфни**, што значи дека многу алтернативни форми од овој ген, или **алели**, постојат во секој локус кај различни индивидуи во популацијата. Гените од ГТК локусите се локациски тесно поврзани. На пример, фреквенцијата на рекомбинации во Х-2 комплексот (т.е. фреквенцијата на хромозомско вкрстување или кросинг-овер при мејозата, кои укажуваат на растојанието помеѓу дадени генски сегменти, при што вкрстувањето е поверојатно кога гените се поодалечени) е само 0,5% - вкрстување настанува само еднаш на секои 200 мејотични цилкуси. Од оваа причина, повеќето индивидуи ги наследуваат алелите кодирани од овие тесно поврзани локуси во вид на два комплета, по еден од секој родител. Секој комплет алели е наречен **хаплотип**. Една индивидуа наследува еден хаплотип од мајката и еден од таткото. Кога населението е измешано, децата во основа се хетерозиготи во многу локуси и прикажуваат ГТК алели и од мајката и од таткото. Алелите се прикажуваат *кодоминантно*. што значи дека во истата клетка се прикажуваат генските продукти и од мајката и од таткото. Ако се вкрстат глувци кои имаат идентични алели во сите локуси, секој Х-2 локус ќе биде хомозиготен бидејќи хаплотиповите од мајката и таткото се идентични, па затоа и сите нивни деца ќе прикажуваат идентични хаплотипови.

ТАБЕЛА 8-1 Х-2 хаплотипови на некои видови глувци

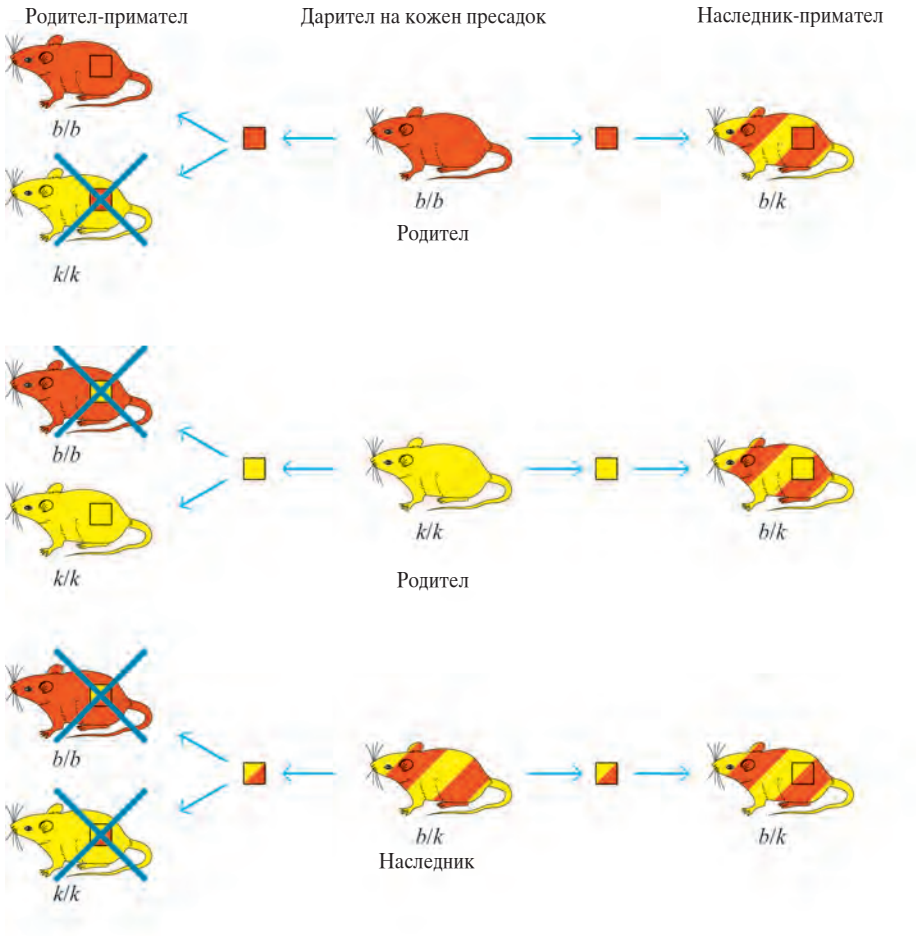
Прототип вид	Други видови со истиот хаплотип	Хаплотип	Х-2 алели K	IA	IE	S	D
CBA	AKR, C3H, B10, Br, C57Br	k	k	k	k	k	k
DBA/2	BALB/c, NZB, SEA, YBR	d	d	d	d	d	d
C57BL/10 (B10)	C57BL/6 C57L, C3H.SW, LP, 129	b	b	b	b	b	b
A	A/He, A/Sn, A/Wy, B10.A	a	k	k	k	d	d
B10.A (2R)*		b2	k	k	k	d	b
B10.A (3R)		i3	b	b	k	d	d
B10.A (4R)		b4	k	k	b	b	b
A.SW	B10.S, SJL	s	s	s	s	s	s
A.TL		t1	s	k	k	k	d
DBA/1	STOLI, B10.Q, BDP	q	q	q	q	q	q

* Р се однесува на рекомбинатниот хаплотип, во овој случај помеѓу Х-2а и Х-2б типовите. Генскиот придонес од видот а е прикажан со жолта боја, а од видот б со црвена боја.

(а) Парењето на генетски чисти соеви на глувци со различни ГТК хаплотипови

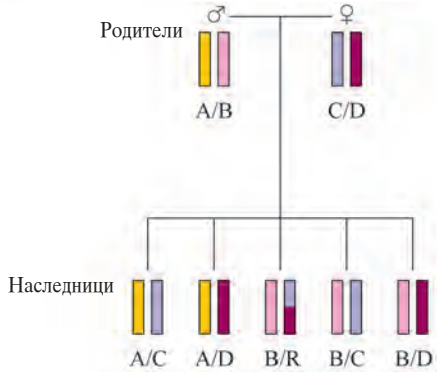


(б) Пресадување на кожа помеѓу генетски чисти соеви на глувци со исти или различни ГТК хаплотипови



СЛИКА 8-2 **(а) Приказ на наследување ГТК хаплотиовите кај генетски чисти соеви на глувци.** Буквите *б/б* означуваат глушец кој е хомозигот за ГТК хаплотипот X-2^{б}, буквите *к/к означуваат* хомозигот за ГТК хаплотипот X-2^{к}и буквите *б/к* означуваат хетерозигот. Бидејќи ГТК локусите се тесно поврани и се наследуваат како комплет, лесно може да се предвиди ГТК хаплотипот на Ф1 генерацијата која потекнува од парењето на двата соеви. (б) Прифаќањето или отфрлањето на кожните пресадоци зависи од ГТК типот на новороденият глушец. Глувците родени по вкрстувањето помеѓу двата генетски чисти соеви со различни хаплотипови на ГТК (X-2^{б}и X-2^{к}) ќе ги прикажуваат и двата хаплотипови (X-2$^{б/к}$) и ќе прифаќаат пресадоци од двата родители и од другите единки на Ф1 генерацијата. Ниеден од родителските видови нема да прифати пресадок од Ф1 единка. (в) Наследување на ХЛА хаплотиповите во измислено човечко семејство. Кај луѓето, ХЛА хаплотиповите од таткото се договорно именувани како А и Б, а од мајката Ц и Д. Забележете дека нов хаплотип Р (рекомбинација), настанува при рекомбинацијата на хаплотиповите од мајката. Бидејќи луѓето се вид кај кој парењето е случајно, а во популацијата постојат многу алели за секој ХЛА локус, за одредување на алелите кои ги сочинуваат хаплотиповите, мора да бидат анализирани и родителите и потомците. (г) Гените кои го сочинуваат секој родителски хаплотип од замисленото семејство во (в) се прикажани заедно со новиот хаплотип (Р) кој настанува од рекомбинацијата на хаплотиповите од мајката.

(в) Наследување на ХЛА хаплотиповите во типично човечко семејство



(г) Нов хаплотип (Р) настанува со рекомбинација на хаплотиповите од мајката

ХЛА алели

Хаплотипови	A	B	C	DR	DQ	DP
A	1	7	w3	2	1	1
B	2	8	w2	3	2	2
C	3	44	w4	4	1	3
D	11	35	w1	7	3	4
R	3	44	w4	7	3	4

Одредени генетски чисти видови на глувци се наречени прототипски видови, а ГТК хаплотиповите кои се прикажуваат од страна на овие видови договорно се означуваат со закосена суперскрипта.(на пример Х-2^{а} и Х-2^{б}). Овие ознаки се однесуваат на целиот комплет наследени Х-2 алели кај единките на тој вид без притоа да се наведува секој алел поединечно (табела 8-1). Различни генетски чисти видови на глувци може да го имаат истиот комплет од алели, односно, истиот ГТК хаплотип, како прототипскиот вид. На пример, видовите ЦБА, АКР и Ц3Х видовите, го имаат истиот ГТК хаплотип (Х-2^{к}). Сепак, тие видови се разликуваат по гените кои се надвор од Х-2 комплексот.

Ако два глувци од генетски чисти видови кои имаат различни ГТК хаплотипови се вкрстат еден со друг, единките од Ф1 генерацијата наследуваат хапотипови од двата родители и ќе прикажуваат алели од двата родители во секој ГТК локус. На пример, ако видот Х-2^{б} се вкрсти со видот Х-2^{к}, тогаш Ф1 генерацијата ги наследува и двата родителски комплети на алели, па ќе биде означена како Х-2$^{б/к}$(слика 8-2а). Бидејќи таквата Ф1 генерација прикажува ГТК молекули од двата родителски видови на своите клетки, таа е ткивносовпадлива и со двата вида и може да прифати пресадоци од кој било родителски вид (слика 8-2б). Од друга страна, ниту еден од вкрстените родителски видови не може да прифати пресадок од Ф1 глушец бидејќи половина од неговите ГТК молекули ќе бидат туѓи за родителот.

Наследувањето на ХЛА хаплотпиповите од хетерозиготните родители кај луѓето е прикажано на слика 8-2в. Кај измешано население, секој поединец е во основа хетерозиготен во секој локус. ХЛА комплексот кај луѓето е мошне полиморфен и постојат многу алели за секој од локусите за класа 1 и 2. Сепак, како и кај глувците, ГТК локусите кај човекот се тесно поврзани и обично се наследуваат како хаплотип. Кога таткото и мајката имаат различни хаплотипови, како на прикажаниот пример (слика 8-2в) постои веројатност од 25% дека две од децата ќе ги наследат истите хаплотипови од мајката и таткото и според тоа ќе бидат ткивносовпадливи еден со друг. При тоа, никој од децата нема да биде ткивносовпадлив со родителите.

Иако стапката на рекомбинации во ХЛА комплексот е ниска, тие сепак значително придонесуваат за разновидноста на локусите во човечките популации. Генетските рекомбинации создаваат нови алелски комбинации (слика 8-2г), а високиот број на новосоздадени генерации од појавата на човечкиот вид овозможил значајни рекомбинации. Како резултат на рекомбинациите и други механизми за создавање мутации, многу ретко може да се случи две роднински неповрзани индивидуи да имаат идентични комплети од ХЛА гени.

Генетски чистите соеви на глувци помогнаа во проучувањето на ГТК

Деталната анализа на соединението Х-2 кај глушецот беше овозможена со развивањето на генетски чисти соеви на глувци. Глувците кои припаѓаат на ваков сој се **сингенични** или идентични во сите генски локуси. Два соеви се **конгенични** ако се генетски идентични во сите, освен во еден генски локус или подрачје. Какви било фенотиписки разлики кои можат да се откријат помеѓу конгеничните соеви се поврзани со генското подрачје во кој двата соја се разликуваат. Конгенични соеви кои се идентични еден со друг освен во ГТК генското подрачје, може да се создадат преку серија на вкрстувања и селектирања помеѓу два генетски чисти соеви кои се разликуваат во ГТК. Често употребуван конгеничен сој на глувци, наречен В10.А, потекнува од В10 глушец (Х-2^{б}), но го поседува Х-2^{а} хаплотипот. Во одредени случаи, рекомбинантни хаплотипови се сретнуваат кај конгеничните соеви глувци, овозможувајќи проучување на поединечни ГТК гени и нивните продукти. Вакви примери се вклучени во листата на табела 8-1. На пример сојот Б10.А (2Р) ги има сите ГТК гени од хаплотипот *а*, освен за регионот Д, што потекнува од родител со Х-2^{б}.

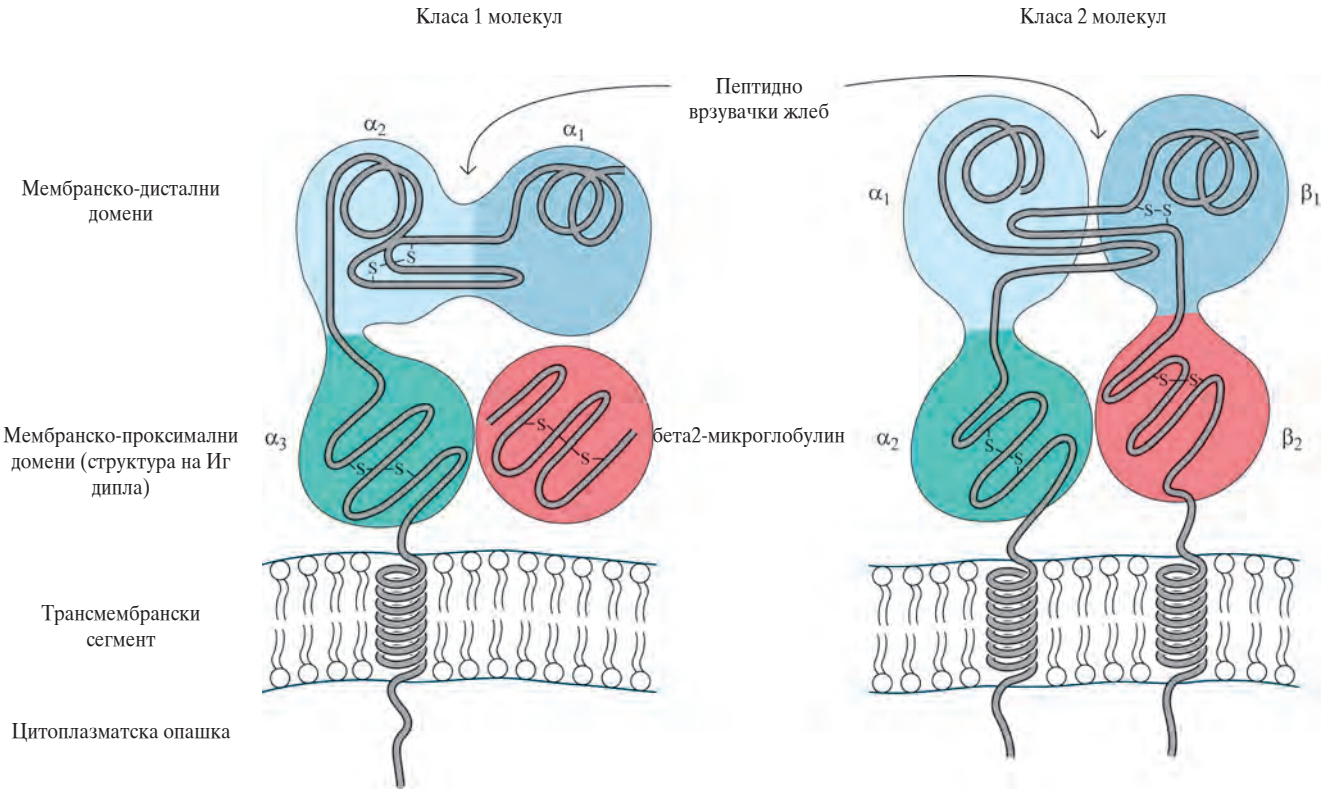
Понатамошно разјаснување на функцијата на ГТК продуктите беше овозможено со создавањето на глувци кај кои се отстранети различни гени (knockout mice). Еден од најраните вакви примери беше сој на глувци кај кои генот за бета-2 микроглобулинот (кој се прикажува со молекулите од класа 1 врз површината од клетката) беше избришан, оневозможувајќи го прикажувањето ГТК молекули од класа 1 врз површината од клетките. Иако не можеа да се откријат противгени од класа 1 кај ваквите животни, тие сепак изгледаа нормални и можеа да се размножуваат; сепак, тие имаа недостаток на КД8^{+} цитотоксични Т-лимфоцити и имаа потешкотии при отстранување инфекции и при отфрлање на трнсплантирани тумори. Глувците со отстранети гени за класа 2 имаа недостаток на КД4^{+} Т-лимфоцити во слезината и лимфните јазли и не можеа да реагираат на Т-зависните противгени (види Поглавје 10). Соодветните улоги за класа 1 и класа 2 противгените во развојот на имунитетот ќе бидат објаснети подоцна.

ГТК молекули и гени

Молекулите од класа 1 и класа 2 претставуваат гликопротеини врзани за мембраната кои се тесно поврзани по структурата и функцијата. ГТК молекулите од класа 1 и класа 2 се изолирани и прочистени, а тродимензионалната структура на нивните надворклеточни домени е утврдена со рендгенска кристалографија. И двата вида мембрански гликопротеини функционираат како високо специјализирани противген прикажувачки молекули кои формираат невообичаено стабилни комплекси со пептидни лиганди, прикажувајќи ги врз површината од клетката за да бидат препознаени од страна на Т-клетките. Наспроти нив, ГТК молекулите од класа 3 се група на неповрзани протеини кои немаат структурна ниту функционална сличност со молекулите од класа 1 и 2. Молекулите од класа 3 вклучуваат комплементни протеини (Поглавје 7).

Молекулите од класа 1 имаат гликопротеинска тешка верига и мала протеинска лесна верига

ГТК молекулите од класа 1 содржат алфа-верига од 45 килодалтони (кДа) нековалентно поврзана со **бета$_2$микроглобулински** молекул од 12-кДа (слика 8-3). Алфа-веригата претставува трансмембрански гликопротеин кој е кодиран од полиморфните гени во подрачјата А, Б и Ц од човечкиот ХЛА генски комплекс и во подрачјата К и Д во Х-2 комплексот кај глувците (види слика 8-1). Бета$_2$микроглобулинот претставува протеин кој е кодиран од високо конзервиран ген кој се наоѓа во друг хромозом. Поврзувањето на алфа-веригата со бета$_2$ микроглобулинот е неопходно за прикажување на молекулот од класа 1 врз површината од клетките. Алфа-веригата е прицврстена за плазматската мембрана преку неговиот хид-



СЛИКА 8-3 Шематски приказ на ГТК молекул од класа 1 и класа 2 на кој се прикажани надворешните домени, трансмембранскиот сегмент и цитоплазматската опашка. Процепот во кој се врзува пептидот се формира од страна на мембранско-дисталните домени кај молекулите од класа 1 и класа 2. Мембранско-проксималните домени имаат структура слична со имуноглобулините. Според тоа, ГТК молекулите од класа 1 и класа 2 се класифицираат како членови од имуноглобулинската суперфамилија.

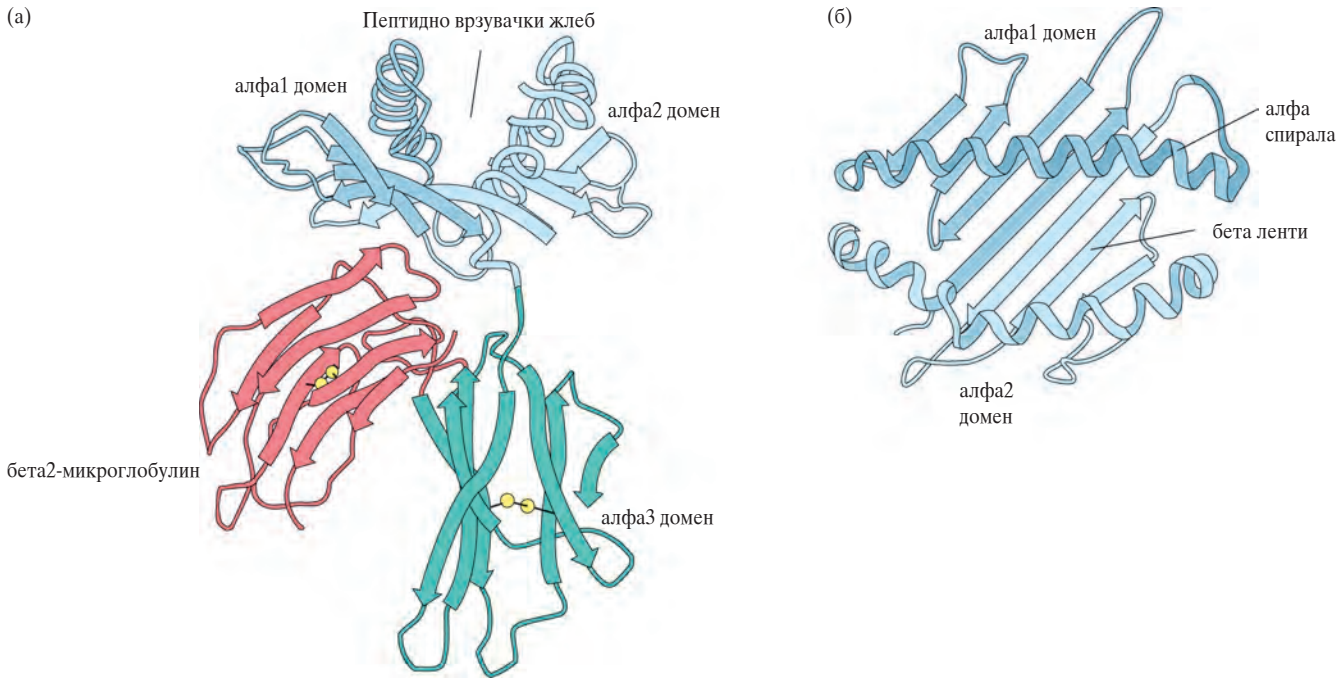
рофобен трансмембрански сегмент и хидрофилниот цитоплазматски крај.

Со структурни анализи е откриено дека алфа-веригата на молекулите од класа 1 е организирана во три надворешни домени (алфа1, алфа2 и алфа3), при што секој содржи по приближно 90 аминокиселини; трансмембрански домен од околу 25 хидрофобни аминокиселини по што следуваат кратка низа од наелектризирани (хидрофилни) аминокиселини и цитоплазматски закачувачки сегмент од 30 аминокиселини. Бета$_2$микроглобулинот е сличен по големина и организација на алфа3 доменот; не содржи трансмембранско подрачје и е нековалентно врзан за гликопротеинот од класа 1. Податоци за секвенцата откриваат хомологија помеѓу алфа3 доменот, бета$_2$ микроглобулинот и домените од константното подрачје на имуноглобулините. Ензимот папин ја пресекува алфа-веригата само 13 остатоци проксимално од неговиот трансмембрански домен, ослободувајќи го надворклеточниот дел од молекулот, кој се состои од алфа1, алфа2, алфа3 и бета$_2$ микроглобулинот. Пречистување и кристалзиација на надворклеточниот дел откриваат два пара на домени кои стапуваат во меѓудејство: мембранско-дистален пар, составен од домените алфа1 и алфа2 и мембранско-проксимален пар, составен од доменот алфа3 и бета$_2$ микроглобулинот (слика 8-4а).

Домените алфа1 и алфа2 стапуваат во меѓудејство за да формираат структура од осум противпаралени бета нишки поврзани со два долги алфа хеликсни подрачја. Структурата создава голема вдлабнатина, или процеп, од приближно 25 Å x 10 Å x 11 Å, со долгите алфа спирали како страни и бета нишките од бета листот како дно (слика 8-4б). Овој *пептид-врзувачки процеп* се наоѓа врз површината од ГТК молекулите од класата 1 и е доволно голем да врзе пептид со големина од 8 до 10 аминокиселини. Големо изненадување при рендгенските кристалографски анализи на молекулите од класа 1 беше наодот на мали пептиди во процепот кои беа кокристализирани заедно со протеинот. Всушност, овие пептиди се преработен противген и сопствени пептиди поврзани за алфа1 и алфа2 домените во оваа длабока вдлабнатина.

Алфа3 доменот и бета$_2$ микроглобулинот се организирани во две бета дипли, при што секоја од нив е формирана од противпаралени бета нишки на аминокиселини. Како што е објаснето во Поглавје 4, оваа структура, позната како имуноглобулинско диплење, е карактеристична за имуноглобулинските домени. Поради оваа сличност во структурата, која не претставува изненадување ако се земе предвид значителната сличност во секвенците со константните подрачја на имуноглобулините, молекулите од класата 1 и бета$_2$ микроглобулинот се класифицирани како членови на имуноглобулинската суперфамилија (види слика 4-23). Алфа3 доменот е високо конзервиран помеѓу ГТК молекулите од класа I и содржи секвенца која стапува во меѓудејство со мембранскиот молекул КД8 присутен на Т^c клетките.

Бета$_2$ микроглобулинот во голем дел стапува во меѓудејство со алфа3 доменот и исто така со аминокиселините од алфа1 и алфа2 домените. Меѓудејството на бета$_2$ микроглобулинот



СЛИКА 8-4 Приказ на тродимензионалната структура на надворешните домени од класа 1 ГТК молекулите кај човек базиран врз рендгенска кристалографска анализа. (а) Страничен поглед во кој бета-нишките се прикажани како дебели стрелки, а алфа-спиралите како спирални ленти. Дисулфидните врски се прикажани како две поврзани сфери. Алфа1 и алфа2 домените стапуваат во меѓудејство за да го формираат процепот во кој се врзува пептидот. Забележете ја имуноглобулинската структура од алфа3 доменот и бета$_2$ микроглобулинот. (б) Гледани од горе, алфа1 и алфа2 домените покажуваат процеп во кој се врзува пептидот, кој се состои од основа од противпаралени бета-нишки и страни од алфа-спирали. Процепот во класа 1 молекулите може да прими пептиди кои содржат 8 до 10 остатоци.

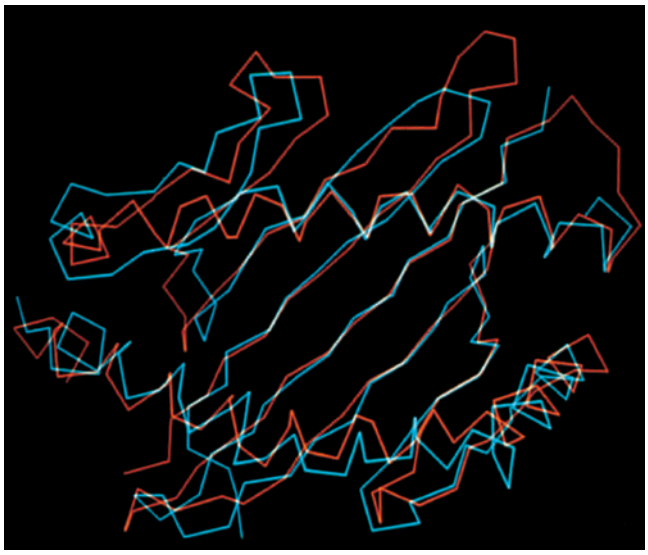
и пептидот со алфа-веригата од класа 1 е неопходна за класа 1 молекулот да постигне целосно здиплена конформација. Како што е подоцна подетално објаснето, се верува дека склопувањето на класа 1 молекулите настанува со првично меѓудејство на бета$_2$ микроглобулинот со здиплената алфа-верига од класа 1. Потоа, овој метастабилен „празен“ димер се стабилизира со поврзување со соодветен пептид за да формираат природна тримерна структура за класа 1 која се состои од алфа-верига од класа 1, бета$_2$ микроглобулин и пептид. Овој комплетен молекуларен комплекс на крајот се пренесува врз површината на клетките.

Ин витро експериментите укажуваат дека во отсуство на бета$_2$ микроглобулинот, алфа-веригата од класа 1 од ГТК не се прикажува врз клеточната мембрана. Ова е илустрирано со туморските клетки од клеточната линија Дауди, кои не можат да синтетизираат бета$_2$ микроглобулин. Овие туморски клетки создаваат алфа-вериги од ГТК класа 1, но не ги прикажуваат врз мембраната. Но, ако клетките Дауди се трансфектираат со функционален ген кој кодира бета$_2$ микроглобулин, молекулите од класа 1 ќе се појават врз мембраната.

ГТК молекулите од класа 2 имаат две различни гликопротеински вериги

ГТК молекулите од класа 2 содржат две различни полипептидни вериги, алфа-верига од 33-кДа и бета-верига од 28-кДа, кои се поврзани преку нековалентни врски (види слика 8-3, десно). Како и алфа-веригата од класа 1, ГТК молекулите од класа 2 се гликопротеини врзани за мембраната кои содржат надворешни домени, трансмембрански сегмент и цитоплазматски прицврстувачки сегмент. Секоја верига во молекулот од класа 2 содржи два надворешни домени: алфа1 и алфа2 домени во едната верига и домени бета1 и бета2 во другата. Мембранско-проксималните домени алфа1 и алфа2, слично како и мембранско-проксималните домени алфа3/ бета$_2$ микроглобулин кај ГТК молекулите од класа 1, имаат слична секвенца како имуноглобулинското диплење. Поради оваа причина, ГТК молекулите од класа 2 исто така се класифицирани во имуноглобулинската суперфамилија. Мембранско-дисталниот дел од класа 2 молекулот е составен од алфа1 и бета1 домени и го формира процепот во кој се врзуваат пептидите од преработениот противген.

Рендгенските кристалографски анализи откриваат голема сличност помеѓу молекулите од класа 1 и класа 2, особено видлива кога молекулите се поставени една над друга (слика 8-5). Процепот во ХЛА-ДР1 во кој се врзуваат пептидите, како и тој кај молекулите од класа 1, е составен од дно од противпаралени бета нишки и страни од противпаралени алфа-спирали. Сепак, молекулот од класа 2 не ги содржи конзервираните остатоци во моелкулот од класа 1 кои се врзуваат за терминалните остатоци на кратките пептиди, туку наместо тоа формира отворен џеб; така класа 1 молекулот



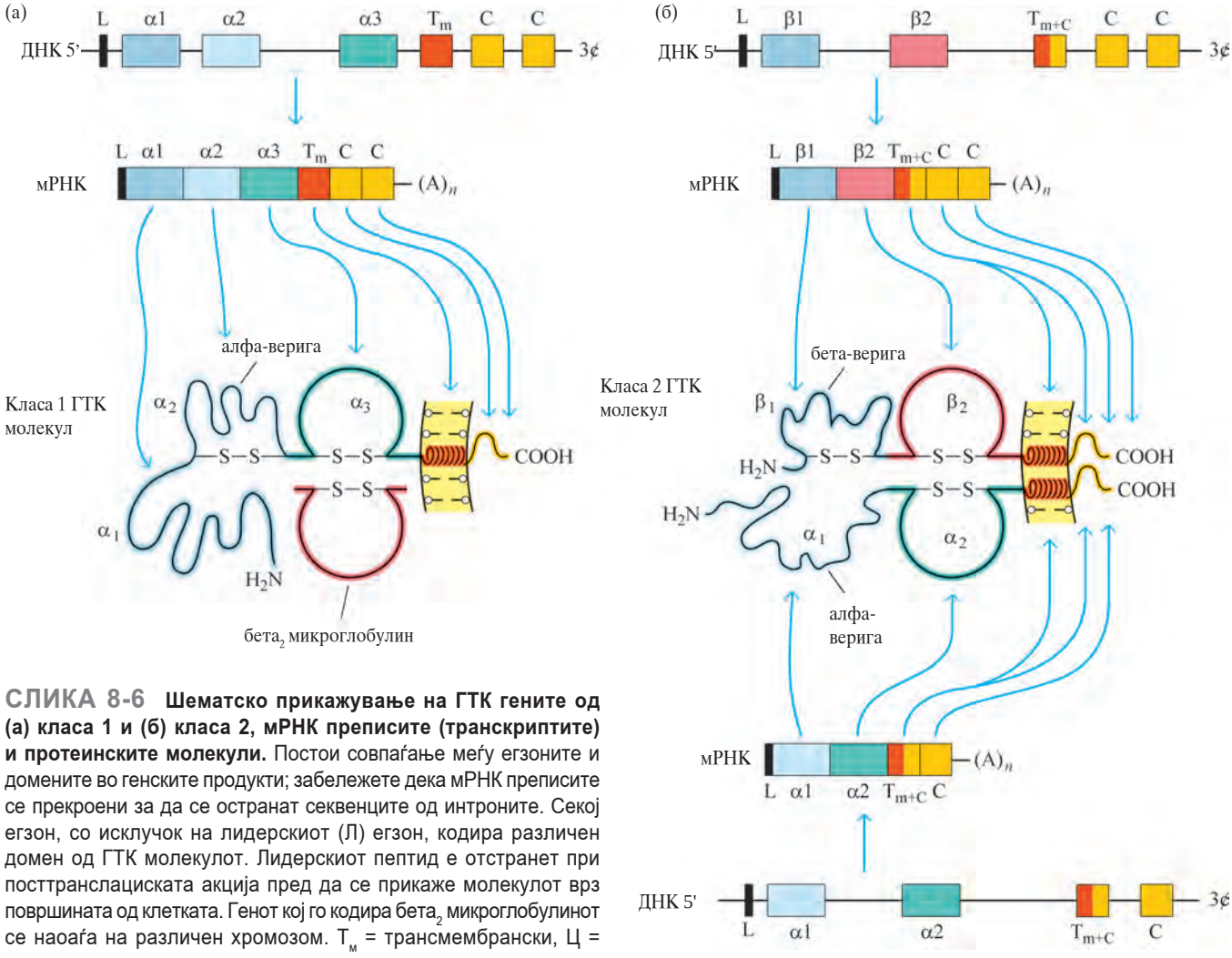
СЛИКА 8-5 Мембранско-дисталниот пептид-врзувачки процеп на човечка класа 2 ГТК молекул, ХЛА-ДР1 (сина боја), поставен врз соодветните подрачја од ГТК молекул од класа И, ХЛА-А2 (црвена боја). *[Од J. H. Brown et al., 1983, Nature **364:**33.]*

повеќе наликува на жлеб, а класа 2 наликува на вдлабнатина со отворени краеви. Функционалните последици од овие разлики во деталната структура ќе ги разгледаме подоцна.

Егзон/интрон распоредот на гените за класа 1 и 2 ја отсликува нивната доменска структура

Различни егзони го кодираат секое подрачје од претеините од класа 1 и 2 (слика 8-6). Секој од класа I гените кај глувците и луѓето има 5' лидерски егзон кој кодира краток сигнален пептид по што следат пет или шест егзони кои ја кодираат алфа-веригата од класа 1 молекулите (види слика 8-6а). Сигналниот пептид служи за олеснување на вметнувањето на алфа-веригата во ендоплазматскиот ретикулум по завршувањето на пресадувањето. Следните три егзони ги кодираат надворшноклеточните домени алфа1, алфа2 и алфа3, а следниот егзон го кодира трансмембранското (T_m) подрачје. Конечно, два или три 3' - терминални егзони ги кодираат цитоплазматските домени (С).

Како и ГТК гените од класа 1, гените од класа 2 се организирани во серија на егзони и интрони кои ја отсликуваат доменската структура на алфа и бета-веригите (види слика 8-6б). И алфа и бета-гените кои ги кодираат ГТК молекулите од класа 2 кај глувците и луѓето имаат лидерски егзон, алфа1



СЛИКА 8-6 Шематско прикажување на ГТК гените од (а) класа 1 и (б) класа 2, мРНК преписите (транскриптите) и протеинските молекули. Постои совпаѓање меѓу егзоните и домените во генските продукти; забележете дека мРНК преписите се прекроени за да се остранат секвенците од интроните. Секој егзон, со исклучок на лидерскиот (Л) егзон, кодира различен домен од ГТК молекулот. Лидерскиот пептид е отстранет при посттранслациската акција пред да се прикаже молекулот врз површината од клетката. Генот кој го кодира бета$_2$ микроглобулинот се наоаѓа на различен хромозом. $T_м$ = трансмембрански, Ц = цитоплазматски.

TABELA 8-2 Врзување на пептид со ГТК класа 1 и класа 2 молекули

	Молекули од класа 1	Молекули од класа 2
пептид-врзувачки домен	алфа1/алфа2	алфа1/бета1
Својства на процепот во кој се врзува пептидот	Затворен на двата краја	Отворен на двата краја
Општа големина на врзаните пептиди	8-10 аминокиселини	13-18 аминокиселини
Пептидни мотиви вклучени во врзувањето за ГТК молекулот	Прикачувачки остатоци на двата краја од пептидот, обично хидрофобен карбоксилно-терминален прикачувач	Прикачувачки остатоци се распределени по целата должина на пептидот
Својства на врзаниот пептид	Издолжена струкура каде и двата краја стапуваат во меѓудејство со ГТК процепот, но средината се издигнува од ГТК молекулот	Издолжена струкура која се одржува во постојана издигнатост над дното од ГТК процепот страница 197)

и бета1 егзон, алфа2, бета2, трансмембрански егзон и еден или повеќе цитоплазматски егзони.

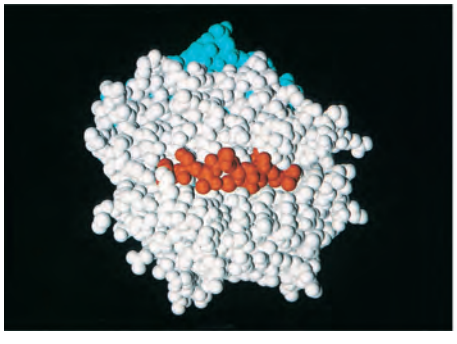
Молекулите од класа 1 и класа 2 покажуваат полиморфизам во регионот кој ги врзува пептидите

Неколку стотици различни алелски варијанти на ГТК молекулите од класа 1 и класа 2 се утврдени кај луѓето. Сепак, секоја индивидуа прикажува само мал број од овие молекули - до шест различни молекули од класа 1 и до 12 различни молекули од класа 2. Сепак, овој ограничен број на ГТК молекули мора да може да прикажува огромен број различни противгени пепетиди врз Т-клетките, овозможувајќи му на имуниот систем специфично да реагира кон широка палета на противгени. Според тоа, пептидот кој се врзува за молекули од класа 1 и класа 2 не покажува фина специфичност која е карактеристична за врзувањето на противгенот за противтелата и Т-клеточните рецептори. Наместо тоа, даден ГТК молекул може да врзе бројни различни пептиди, а и различни пептиди можат да се врзат за повеќе различни ГТК молекули. Поради оваа широка специфичност, врзувањето меѓу пептидот и ГТК молекулот често се нарекува „промискуитетно“.

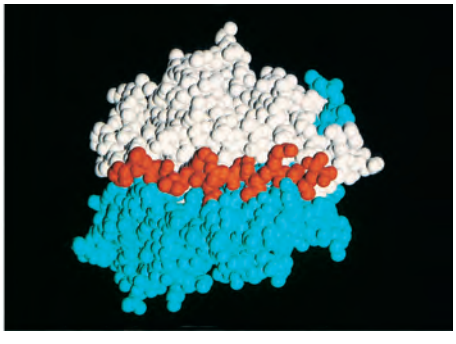
Имајќи ги предвид сличностите во структурата на процепите кои врзуваат пептиди кај ГТК молекулите од класа 1 и класа 2, не е изненадувачки што тие прикажуваат одредени заеднички особини поврзани со врзувањето на пептид (табела 8-2). И кај двата вида на ГТК молекули, пептидните лиганди се одржуваат во издолжена струкура по целата должина на процепот. Процепот во кој се врзува пептидот кај молекулите од класа 1 е затворен од двете страни, додека процепот кај молекулите од класата 2 е отворен (слика 8-7). Како резултат на оваа разлика, молекулите од класа 1 врзуваат пептиди кои обично содржат 8 до 10 аминокиселини, додека отворениот процеп на класа 2 молекулите врзува за нијанса поголеми пептиди, од 13 до 18 аминокиселини. Друга разлика, која подолу е подетелно објаснета, е тоа што врзувањето за класа 1 бара пептидот да содржи остатоци од специфични аминокиселини близу Ц и Н краевите, ваква специфичност не е потребна за врзувањето на пептидите со класата 2.

Поврзувањето на пептидот и ГТК молекулот е многу стабилно во физиолошки услови (вредностите на Кд се движат од ~10^{-6} до 10^{-10}), така што повеќето од ГТК молекулите прикажани

(а) Класа 1 ГТК



(б) Класа 2 ГТК



СЛИКА 8-7 ГТК молекули од клас а 1 и класа 2 со врзани пептиди. (а) Просторен модел на молекул ХЛА-А2 од човек (бела боја) со пептид (црвена боја) од ХИВ реверзна транскриптаза (аминокиселински остатоци од 309-317) во врзувачкиот процеп. Бета$_2$микроглобулинот е прикажан со сина боја. Остатоците над пептидот се од алфа1 доменот, а тие кои се наоѓаат под пептидот се од алфа2. (б) Просторен модел на ХЛА-Д1 молекул од класа 2 кај човек со ДР алфа-верига прикажана со бела боја и ДР бета-верига прикажана со сина боја. Пептидот (црвена боја) во врзувачката вдлабнатина е од инфуленца хемаглутинин (аминокиселински остатоци од 306-318). *[Од D.A. Vignali и J. Strominger, 1994, The Immunologist 2:112.]*

врз површиината на клетката ќе бидат поврзани со пептид од сопствено или туѓо потекло.

Меѓудејство меѓу класа 1 од ГТК и пептидот

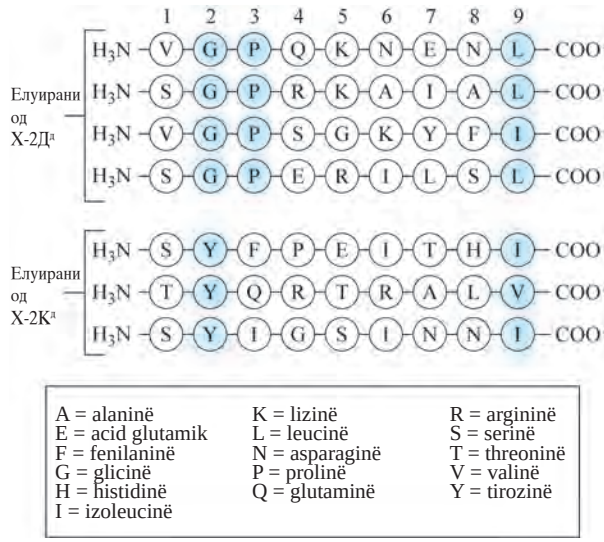
ГТК молекулите од класа 1 ги врзуваат пептидите и ги претставуваат на КД8+ цитотоксичните Т-клетки. Во основа, овие пептиди потекнуваат од ендогените внатреклеточни протеини кои се разградени во цитосолот. Пептидите потоа се транспортираат од цистолот во цистерните на ендоплазматскиот ретикулум, каде стапуваат во меѓудејство со ГТК молекулите од класа 1. Овој процес, кој е познат како цитосолна или ендогена патека на преработка, е подетално објаснет понатаму.

Секој тип на ГТК молекул од класа 1 (К, Д и Л кај глувците или А, Б и Ц кај луѓето) се врзуза за специфична група на пептиди. Понатаму, секоја алелска варијанта на ГТК класа 1 молекулите (на пример, Х-2К^{к} и Х-2К^{д}) се врзуза за одделна група на пептиди. Бидејќи една јадрена клетка прикажува околу 10^5 копии од секој молекул од класа 1, многу различни пептиди истовремено ќе бидат прикажани врз површината од јадрената клетка од страна на ГТК молекулите од класа 1.

Во мошне значајна студија за врзувањето на пептидите со ГТК молекулите, пептидите врзани со две алелски варијанти на ГТК молекул од класа 1 беа хемиски ослободени и анализирани со моќна течна хроматографија (HPLC). Помеѓу пептидните лиганди кои беа ослободени од страна на двете класа 1 ГТК молекули беа пронајдени повеќе од 2000 различни пептиди. Имајќи предвид дека на секоја клетка постојат приближно 10^5 копии од секоја алелска варијаната на класа 1, се проценува дека секој од 2000-те различни пептиди е претставен со честота од 100 до 4000 копии по клетка. Докази укажуваат на фактот дека дури и еден пептид-ГТК комплекс е доволен за целно препознавање и разградување на клетката од страна на цитотоксичен Т-лимфоцит со рецептор кој е специфичен за целната структура.

Откриено е дека, врзаните пептиди кои се изолирани од различни класа 1 молекули имаат две особини кои ги карактеризираат: имаат од осум до десет аминокиселини во должина, најчесто девет и содржат специфични аминокиселински остатоци кои се неопходни за врзувањето за одреден ГТК молекул. Проучувања на врзувањето покажаа дека нонамерните пептиди се врзуваат за класа 1 молекулите со повисок афинитет за разлика од пептидите кои се подолги или пократки, што укажува на фактот дека оваа должина на пептидот е најкомпатибилна со затвореният процеп кој го врзува пептидот кај класа 1 молекулите. Способноста на секој ГТК молекул од класа 1 да врзува различен спектар на пептиди се должи на присуството на исти или слични аминокиселински остатоци на неколку одредени позиции по должината на пептидите (слика 8-8). Бидејќи овие аминокиселински остатоци го прикачуваат пептидот во вдлабнатината од ГТК молекулот, тие се наречени *прикачувачки остатоци.* Страничните вериги од прикачувачките остатоци во пептидот се комплементарни со површинските карактеристики на поврзувачкиот процеп во ГТК молекулот од класа 1. Аминокиселинискте остатоци кои се ноаѓаат до врзувачките подрачја се различни помеѓу различните алелски варијанти на класа 1 молекулите и го одредуваат идентитетот на прикачувачките остатоци кои можат да стапат во контакт со даден молекул од класа 1.

Сите пептиди кои се врзуваат за класа 1 молекули испитани до денес содржат карбоксилно-терминален прикачувач. Овие прикачувачи во основа се хидрофобни остатоци (на пример, леуцин, изолеуцин), иако се откриени и одреден број наелектризирани аминокиселини. Покрај прикачувачкиот остаток кој се наоѓа на карбоксилниот крај, исто така уште



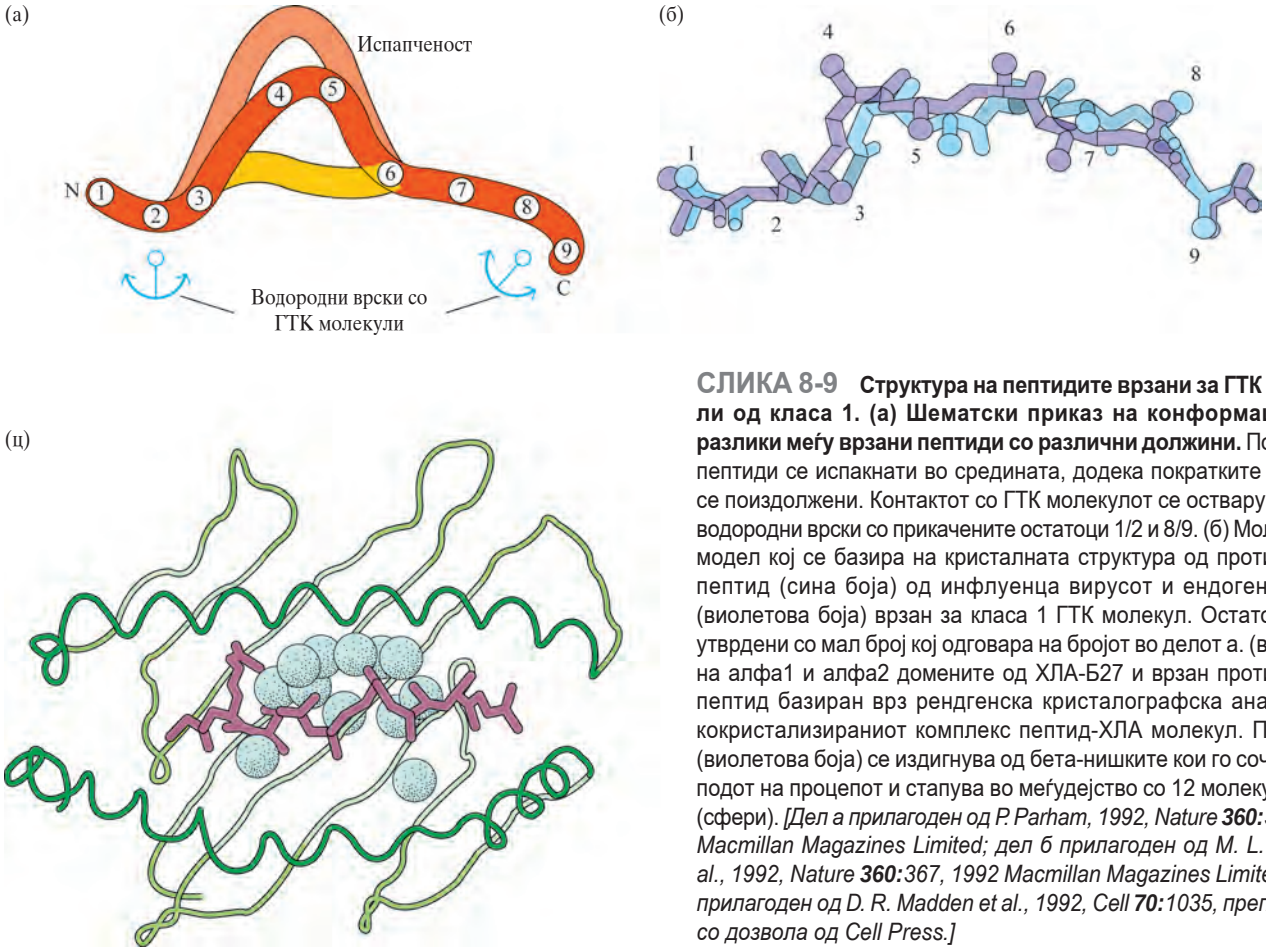
СЛИКА 8-8 Примери за прикачувачки остатоци (сина боја) кај нонамерните пептиди елуирани од два ГТК молекули од класа 1. Прикачувачките остатоци кои стапуваат во меѓудејство со ГТК молекулите од класа 1 најчесто се хидрофобни аминокиселини. *[Податоци од V. H. Engelhard, 1994, Current Opinion in Immunology 6:13.].*

еден прикачувач често постои на втората или на втората и третата позиција од амино крајот на пептидот (види слика 8-8). Во основа, секој пептид со одговарачка должина кој содржи исти или слични прикачувачки остатоци ќе се врзе за истиот ГТК молекул од класа 1. Откривањето на конзервираните прикачувачки остатоци во пептидите кои се врзуваат за различни ГТК молекули од класа 1 може да овозможи предвидување кои пептиди во комплексен противген ќе се врзат за одреден ГТК молекул, а врз база на присуството или отсуството на овие мотиви.

Реднгенските кристалографски анализи на комплексите од пептиди и ГТК класа 1 молекули откриваат како е можно стабилно врзување на процепот од одреден ГТК молекул со широк спектар на различни пептиди. Прикачувачките остатоци од двата краја на пептидот се вкопани во врзувачкиот жлеб, при тоа задржувајќи го пептидот цврсто на место (види слика 8-7). Како што беше кажано порано, најдобро се врзуваат нонамерните пептиди; главниот контакт меѓу ГТК молекулот од класа 1 и пептидите ги вклучува остатокот 2 од амино крајот и остатокот 9 од карбоксилниот крај на нонамериниот пептид. Помеѓу прикачувачите, пептидот се издигнува од дното на процепот во средината (слика 8-9), овозможувајќи им на пептидите кои се малку подолги или пократки да се позиционираат. Аминокиселините кои се одделуваат од ГТК молекулот се поизложени и подиректно можат да стапат во меѓудејство со Т-клеточниот рецептор.

Меѓудејство меѓу класа 2 од ГТК и пептидот

ГТК молекулите од класа 2 врзуваат пептиди и ги претставуваат на КД4+ Т-клетките. Како и молекулите од класа 1, молекулите од класа 2 можат да врзат голем број пептиди. Во основа, овие пептиди потекнуваат од егзогените протеините (сопствени или туѓи), кои се разложуваат преку ендоцитната



СЛИКА 8-9 Структура на пептидите врзани за ГТК молекули од класа 1. (а) Шематски приказ на конформациските разлики меѓу врзани пептиди со различни должини. Подолгите пептиди се испакнати во средината, додека пократките пептиди се поиздолжени. Контактот со ГТК молекулот се остварува преку водородни врски со прикачените остатоци 1/2 и 8/9. (б) Молекулски модел кој се базира на кристалната структура од противгенски пептид (сина боја) од инфлуенца вирусот и ендоген пептид (виолетова боја) врзан за класа 1 ГТК молекул. Остатоците се утврдени со мал број кој одговара на бројот во делот а. (в) Приказ на алфа1 и алфа2 домените од ХЛА-Б27 и врзан противгенски пептид базиран врз рендгенска кристалографска анализа на кокристализираниот комплекс пептид-ХЛА молекул. Пептидот (виолетова боја) се издигнува од бета-нишките кои го сочинуваат подот на процепот и стапува во меѓудејство со 12 молекули вода (сфери). *[Дел а прилагоден од P. Parham, 1992, Nature **360:**300 1992 Macmillan Magazines Limited; дел б прилагоден од M. L. Silver et al., 1992, Nature **360:**367, 1992 Macmillan Magazines Limited; дел ц прилагоден од D. R. Madden et al., 1992, Cell **70:**1035, препечатено со дозвола од Cell Press.]*

патека за преработување (види подолу). Повеќето од пептидите кои се поврзани со ГТК молекулите од класа 2 потекнуваат од сопствените протеини врзани врз мембраната на клетките или надворешни протеини кои се голтнати со фагоцитоза или ендоцитоза посредувана со рецептор, а потоа преработени во ендоцитната патека, На пример, пептидите кои потекнуваат од дигестијата на ГТК молекулите од класа 1 врзани за мембраната често се врзани за ГТК молекулите од класа 2.

Пептидите добиени од комплексите меѓу ГТК молекули од класа 2 и пептиди, во основа содржат од 13 до 18 аминокиселински остатоци и се нешто подолги од нонамерните пептиди кои најчесто се врзуваат за молекулите од класа 1. Процепот кој врзува пептиди кај молекулите од класа 2 е отворен на двата краја (види слика 8-7б), овозможувајќи им на подолгите пептиди да се се сместат во жлебот, слично како долг хотдог во лепче. Пептидите кои се врзани за ГТК молекулите од класа 2 задржуваат релативно постојано издигнување на дното од врзувачкиот процеп, што е друга карактеристика која ги разликува врзувањето на пептид кај молекули од класа 1 и класа 2.

Студии за врзувањето на пептиди и податоците за структурата на класа 2 молекулите укажуваат дека главното јадро од 13 аминокиселини ја одредува способноста на пептидот да се врзе за класа 2. Подолги пептиди исто така може да бидат врзани во процепот на молекулите од класа 2, но врзувачките особини се одредени од страна на централните 13 остатоци. Пептидите кои се врзуваат за одреден молекул од класа 2 често имаат внатрешни конзервирани секвенци, но за разлика од пептидите кои се врзуваат за класа 1, немаат конзервирани прикачувачки остатоци. Наместо тоа, водородните врски помеѓу ’рбетот на пептидот и молекулот од класа 2 се распределени низ целата поврзувачката област, наместо да се групирани главно на краевите од поврзувачкото подрачје како кај пептидите кои се врзуваат за класа 1. Пептидите кои се врзуваат за ГТК молекулите од класа 2 содржат внатрешна секвенца од 7 до 10 аминокиселини кои ги овозможуваат главните контактни точки. Во основа, оваа секвенца има ароматичен или хидрофобен остаток на амино крајот и три дополнителни хидрофобни осатоци во средниот дел и карбоксилно крај од пептидот. Понатаму, над 30% од пептидите елуирани од молекулите од класа 2 содржат пролиниски остаток на позиција 2 и друга група на пролини на карбоксилниот крај.

Молекулите од класа 1 и класа 2 на ГТК прикажуваат разноликост во рамките на еден вид, а повеќе форми се прикажуваат кај една индивидуа

ГТК молекулите прикажуваат огромна шареноликост во рамките на видовите и кај поединечни индивидуи. Оваа варијабилност наликува на разновидноста (разноликоста)

на противтелата и Т-клеточните рецептори, но природата на разновидноста на ГТК молекулите е сепак поинаква. Противтелата и Т-клеточните рецептори се создаваат преку одредени соматски процеси, вклучувајќи генско преуредување и соматски мутации на преуредените гени (види табела 5-2). Според тоа, создавањето на Т и Б-клеточните рецептори е динамично и при тоа се менува во тек на времето кај секоја индивидуа. Наспроти тоа, ГТК молекулите прикажании кај една индивидуа се фиксирани во гените и не се менуваат во тек на времето. Разновидноста на ГТК која се набљудува во рамките на еден вид, произлегува од генскиот полиморфизам, т.е. постоење на повеќе алалели за даден генски локус кај одреден вид. Разновидноста на ГТК молекулите кај една индивидуа пак, не резултира само од постоењето различни алели за секој ген, туку исто така и од присуството на дуплирани гени со слични или преклопувачки функции, слично како изотиповите од имуноглобулините. Бидејќи се вклучени гени со слична, не не идентична структура функција (на пример, ХЛА-А, -Б и -Ц), за ГТК се вели дека е **полигенски** систем.

ГТК поседува извонредно голем број различни алели за секој локус и претставува еден од најполиморфните генски системи познати кај повисоките класи ’рбетници. Овие алели се разликуваат во нивните ДНК секвенци од едно лице до друго од 5% до 10%. Бројот на разлики во аминокиселините помеѓу ГТК алелите може да биде значителен, до 20 аминокиселински остатоци, што придонесува за уникатната структура на секој алел. Со анализа на човечките HLA гени од класа 1 до 2006 година се откриени, приближно 370 алели А, 660 алели Б и 190 алели С. Кај глувците, полиморфизмот е исто така, огромен. Човечките гени од класа 2 се исто така високо полиморфни, а во одредени случаи, различни лица имаат различен број на гени. Бројот на ХЛА-ДР гените за бета-веригата (ДБР) може да варираат од два до девет кај различни хаплотипови, а приближно 480 алели од ДРБ гените се објавени. Интересно е тоа што, веригата ДРА е мошне конзервирана, при што за неа се објавени само три различни алели. Моментните пресметки за актуелниот полиморфизам во хуманиот ГТК веројатно се потценети бидејќи најдетални податоци се добиени од населението со европско потекло. Фактот дека многу неевропски популациски групи не можат да се типизираат со употреба на постоечките серолошки реагенси за типизирање на ГТК укажува дека разновидноста на ГТК гените во светот е далеку поголема. Сега кога ГТК гените можат директно да бидат секвенционирани, се очекува да се откријат многу нови алели.

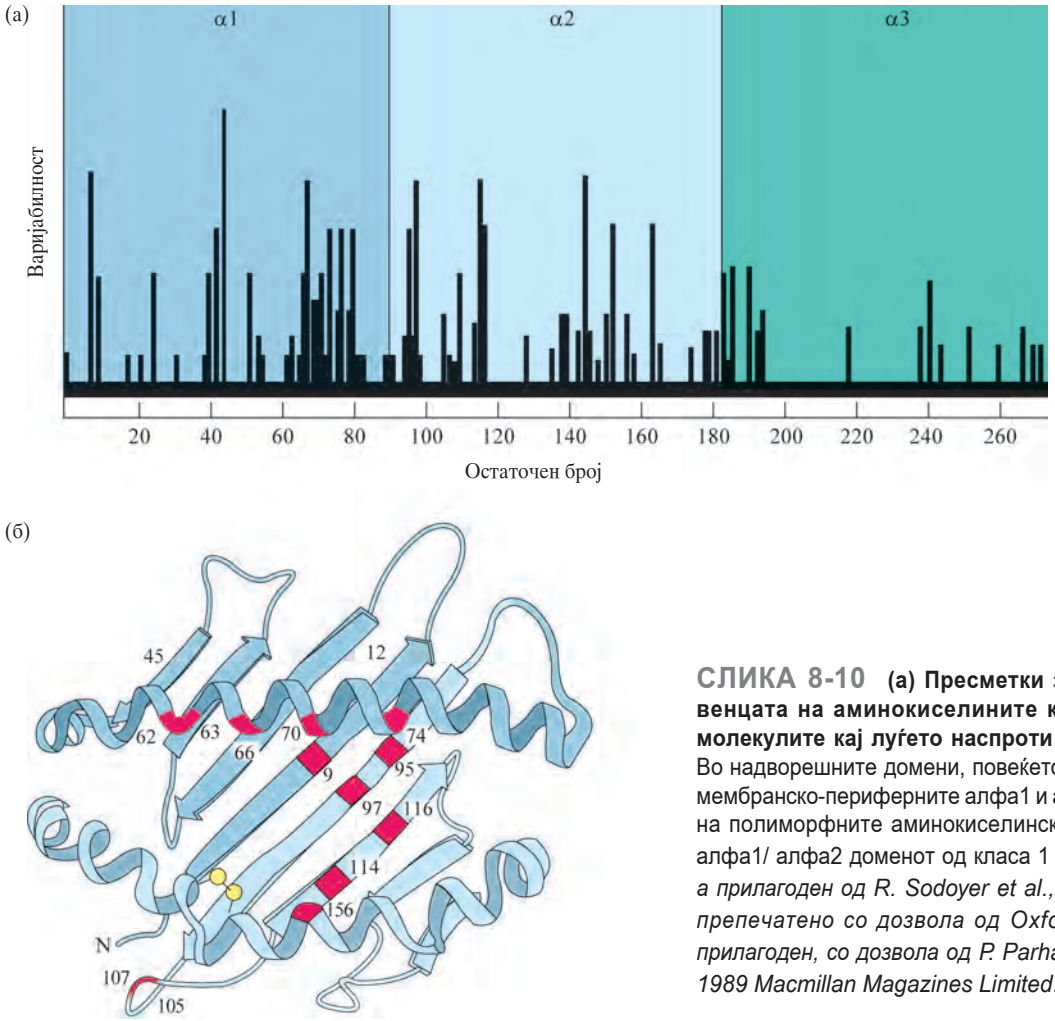
Овој енормен полимофирзам доведува до огромна разновидност на ГТК молекулите во рамките на видовите. Со примена на претходно спомнатите бројки за алелските форми на човечките ХЛА-А, -Б и -Ц, може да се пресмета теоретскиот број на комбинации кои можат да постојат со множење на 370 x 660 x 190, давајќи повеќе од 460 милиони различни хаплотпиови од класа И кои се можни во популацијата. Ако се земат предвид локусите од класа 2, петте гени кои ја кодираат бета-веригата (ДРБ гени, Б1 до Б5) имаат 400, 1, 42, 13 и 18 алели, соодветно, ДКуА1 и Б1 придонесуваат со 28 до 62 алели соодветно и ДПБ1 придонесува со 118 алели; ова овозможува приближно 8,0 x 10^{11} различни комбинации на класа 2. Бидејќи секој хаплотип ги содржи гените и од класа 1 и од класа 2, множењето на бројките го дава вкупниот број кој изнесува приближно 4 x 10^{19} можни комбинации на алелите од класа 1 и класа 2.

Неурамнотежено поврзување

Пресметката во претходниот параграф која води до астрономски проценки на можните ХЛА хаплотипови претпоставува потполно случајно комбинирање на алелите. Познато е дека реалната разновидност е помала, бидејќи одредени алелски комбинации се појавуваат почесто во ХЛА хаплотиповите отколку што се предвидува со комбинирањето по случаен избор, состојба позната како *неурамнотежено поврзување*. На кратко, неурманотеженото поврзување претставува разлика помеѓу честотата која се *набљудува* за одредена комбинација на алели и честотата која се *очекува* според фреквенциите на поединечните алели. Очекуваната честотата на комбинацијата може да се пресмета со множење на честотите на двата алели. На пример, ако ХЛА-А1 се појавува кај 16% од индивидуите во популацијата (честота = 0,16) и ХЛА-Б8 постои кај 9% од таа група (честота = 0,09), се очекува дека околу 1,4% од групата ќе ги имаат и двата алели (0,16 x 0,09 = 0,014). Сепак, податоците покажуваат дека ХЛА-А1 и ХЛА-Б2 заедно се среќаваат кај дури 8,8% од проучуваните индивидуи. Оваа разлика е мерка за неурманотеженото поврзување помеѓу овие алели на ГТК гените од класа 1.

Неколку објаснувања се предложени за да се објасни неурамнотеженото поврзување. Најпростото гласи дека премногу малку генерации поминале за да се достигне бројот на вкрстувања кој е неопходен за да се постигне рамнотежа помеѓу алелите присутни кај основачите на населението. Хаплотиповите кои денес се почесто застапени кај населението ги прикажуваат комбинациите на алелите кои се присутни кај основачите. Алтернативно, селективни ефекти може да довеле до повисока зачестеност на одредени комбинации алели. На пример, одредени комбинации на алели може да создадат отпорност кон одредени болести, предизвикувајќи да бидат селектирани и според тоа да бидат почесто застапени. Од друга страна, хаплотиповите кои се поретко застапени, може да предизвикуваат опасни ефекти, како што е осетливност кон автоимуни нарушувања и да претрпат негативна селекција. Трета теорија е дека вкрстувањата се почести кај одредени ДНК подрачја, па присуството или отсуството на подрачја подложни на вкрстување (т.н. жешки точки) помеѓу алелите може да ја диктираат честотата на поврзаноста на алелите. Податоци за поддршка на оваа хипотеза се среќаваат во проучувањата со генетски чисти соеви глувци кај кои биле создадени нови рекомбинантни Х-2 типови. Точките на вкрстување кај новите ГТК хаплотипови не биле распределни по целата должина на комплексот. Наместо тоа, истите подрачја на вкрстување биле најдени кај повеќе од еден рекомбинантен хаплотип. Ова укажува дека постојат жешки точки за рекомбинација кои влијаат врз неурманотеженото поврзување во популацијата.

Покрај неурманотеженото поврзување, во човечкиот ГТК сè уште постои огромен полиморфизам. Овој полиморфизам се создава со рекомбинации, точкести мутации и генски промени, при што сите придонесуваат за разновидноста на ГТК гените во популацијата. Споредбата на алелските секвенци покажува поединечни замени, кои се доказ за точкестите мутации во гените, исто како и групите на варијации во високо зачуваните подрачја, што укажува на фактот дека се случило преобразување на гените (види Поглавје 5). Високиот степен на разновидност помеѓу ГТК локусите на различни индивидуи во голем степен го отежнува совпаѓањето на ГТК типовите меѓу дарителот и примателот на одреден орган за успешно пресадување на органи. Последиците од оваа важна пречка за терапевтската употреба на пресадувањето се објаснети во Поглавје 17.



СЛИКА 8-10 **(а) Пресметки за варијабилноста на секвенцата на аминокиселините кај алелските класа 1 ГТК молекулите кај луѓето наспроти позицијата на остатоците.** Во надворешните домени, повеќето променливи остатоци се во мембранско-периферните алфа1 и алфа2 домени. (б) Локацијата на полиморфните аминокиселински остатоци (црвена боја) во алфа1/ алфа2 доменот од класа 1 ГТК молекулот кај луѓе. *[Дел а прилагоден од R. Sodoyer et al., 1984, EMBO Journal 3:879, препечатено со дозвола од Oxford University Press; дел б прилагоден, со дозвола од P. Parham, 1989, Nature 342:617, © 1989 Macmillan Magazines Limited.*]

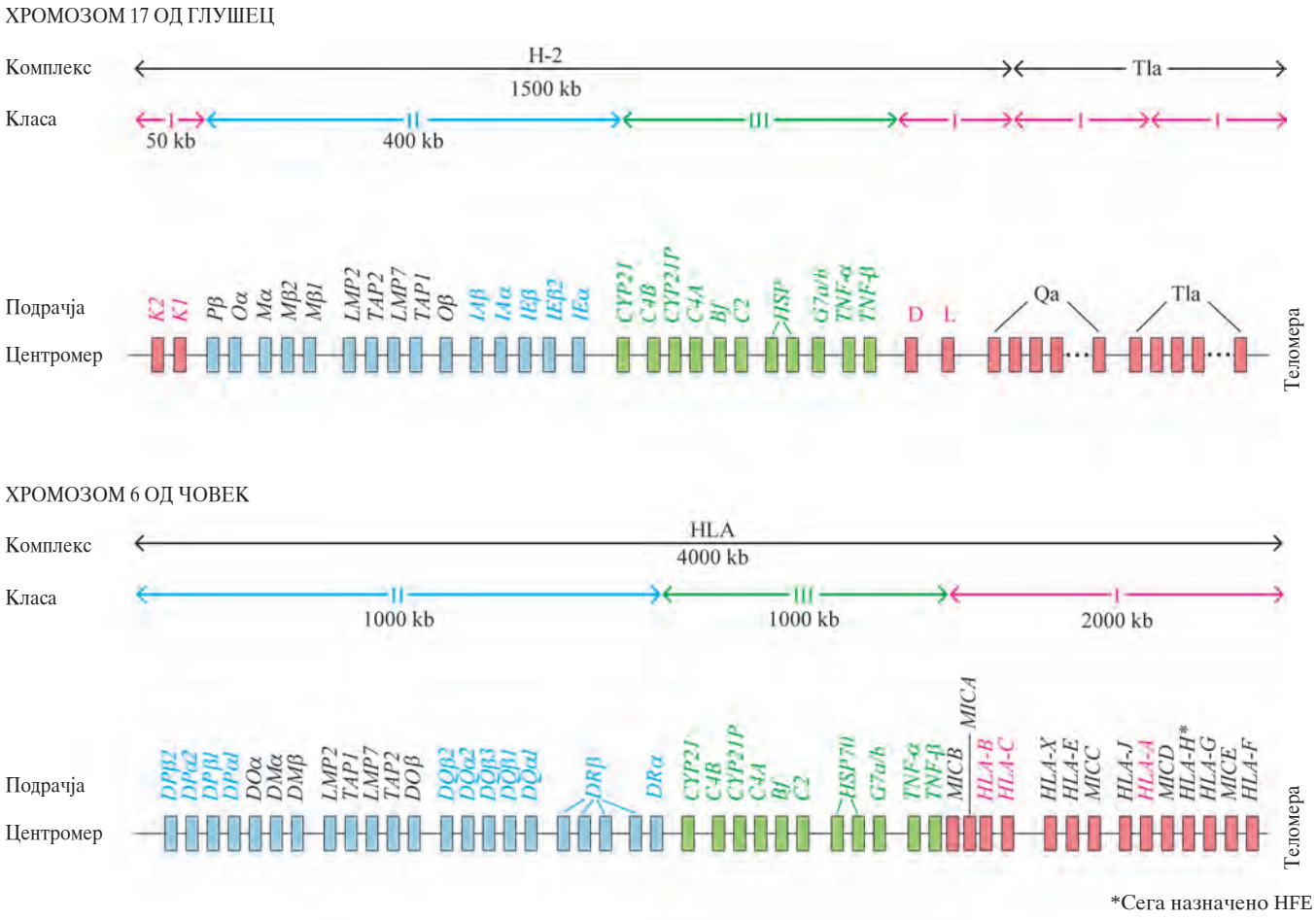
Функционално значење на ГТК полиморфизмот

Отстапувањето помеѓу ДНК секвенците на различни ГТК алели во рамките на еден вид е доста високо, слично колку како и отстапките кои се набљудуваат за гените кои кодираат одредени ензими кај различни видови. Исто така од интерес е дека разликите во секвенците кај ГТК молекулите не се распределени случајно по целиот полипептиден ланец, туку се групирани во кратки подрачја, најмногу во мебранско-периферните алфа1 и алфа2 домени од молекулите од класа 1 (слика 8-10а). Слични модели на разновидност се среќаваат и кај алфа1 и бета1 домените од молекулите од класа 2.

Со структурни споредби лоцирани се полиморфните остатоци во тридимензионалната структура на мембранско-периферните домени на ГТК молекулите од класа 1 и класа 2 и алелските разлики беа поврзани со функционалните разлики (слика 8-10б). На пример, од 17 аминокиселини за кои претходно било покажано дека прикажуваат значителен полиморфизам во молекулот ХЛА-А2, за 15 со рендгенска кристалографска анализа било покажано дека се наоѓаат во процепот кој ги врзува пептидите од овој молекул. Постоењето на толку многу полиморфни аминокиселини во врзувачкото место на преработениот противген силно укажува на фактот дека алелските разлики придонесуваат за постоечите разлики во способноста на ГТК молекулите да стапат во меѓудејство со даден пептиден лиганд.

Детална геномска мапа на ГТК гените

ГТК се зафаќа околу 2000 кб од ДНК на глушец и околу 4000 кб од ДНК на човек. Неодамна комплетираната секвенцата на човечкиот геном, покажа дека ова подрачје е густо пополнето со гени, од кои повеќето имаат познати функции. Нашите сегашни сознанија за геномската организација на ГТК гените кај глувците и луѓето се прикажани на слика 8-11.



Клучни поими

Ген	Кодиран протеин
C2, C4A, C4B, Bf	Комплементни компоненти
CYP21, CYP21P	Стероид 21-хидроксилаза
G7a/b	Валил-тРНК синтетаза
HSP	Протеини на топлотен шок
LMP2, LMP7	Поединици слични на протеазом
TAP1, TAP2	Поединици од пептид-транспортер
TNF-α, TNFβ	Тумор-некротизирачки фактори алфа и бета

СЛИКА 8-11 Детална геномска мапа на ГТК кај глувците и луѓето, вклучувајќи ги гените кои ги кодираат класичните и некласичните ГТК молекули. ГТК гените од класа 1 се обоени во црвена боја, ГТК гените од класа 2 се обоени во сина боја, а гените од ГТК класа 3 се обоени во зелена боја. Класичните класа 1 гени се означени со црвена боја, гените од класа 2 се означени со сина боја, а некласичните ГТК гени се означени со црна боја. Концептот на класични и некласични не се однесува за класа 3. Функциите на одредени протеини кодирани од страна на некласичните гени од класа 1 се познати. Кај глувците, има некласични гени кои се наоѓаат понатаму од Тла кои не се прикажани.

Подрачјето од класа 1 кај луѓето зафаќа околу 2000 кб на теломерниот крај од ХЛА комплексот

Кај луѓе, ГТК регионот од класа 1 е долг околку 2000 кб и содржи приближно околу 20 гени. Кај глувците, ГТК класа 1 се состои од две генски подрачја разделени со класа 2 и класа 3 подрачјата. Во класа 1 регионот се вклучени гените кои кодираат добро категоризирани класични ГТК молекули од класа 1, наречени ХЛА-А, ХЛА-Б и ХЛА-Ц кај луѓе и Х-2К, Х-2Д и Х-2Л кај глувците (гените Х-2Л се присутни само кај одредени хаплотипови). Многу некласични класа 1 гени, утврдени со молекуларно мапирање, се присутни кај ГТК и на луѓето и на глувците. Кај глувците, некласичните класа 1 гени се лоцирани во три подрачја (*Х-2Ку, Т и М*) после Х-2 комплексот (*М* не е прикажан на слика 8-1). Кај луѓе, некласичните класа 1 гени ги вклучуваат локусите *ХЛЕ-Е, ХЛА-Ф, ХЛА-Г, ХФЕ, ХЛА-Ј* и *ХЛА-Х,* исто како и неодамна откриената фамилија на гени наречена *МИЦ*, која вклучува локуси од *МИЦА* до *МИЦЕ*. Некои од некласичните класа 1 ГТК гени се псевдогени и не кодираат протеински продукт, но други, како што се ХЛА-Г и ХФЕ, кодираат продукти слични на класата 1 со високо специјализирани функции. МИЦ фамилијата на гени од класа 1 има само 15% до 30% секвенцна идентичност со класичните класа 1, а од нив, МИЦА се високо полиморфни. МИЦ генските

прозиводи се прикажуваат во ниско ниво на епителните клетки, а нивното прикажување се поттикнува со топлина или други стимули кои влијаат на протеините на топлотен шок.

Функциите на некласичните ГТК молекули од класа 1 остануваат во голем дел непознати, иако неколку студии укажуваат дека дел од овие молекули, како и класичните ГТК молекули од класа I, може да претставуваат пептиди на Т-клетките. Интересно е што молекулот кодиран од локусот H-2M кај глушецот се врзува за пептид кој потекнува од подединицата на дехидрогеназата NADH, ензим кој е кодиран од митрохондријалниот геном. Овој конкретен сопствен пептид содржи амино-терминален формилиран метионински остаток. Она што е интересно во овој наод е дека пептидите кои потекнуваат од прокариотските организми често имаат формилиран амино-терминален метионински остаток. Според тоа, оваа класа 1 молекул кодиран од Х-2М може да биде уникатно способен да претставува пептиди од прокариотските организами кои можат да растат интраклеточно. Еден таков организам е *Листерија моноцитоѓенес*, а молекулите од Х-2М презентираат пептиди од оваа бактерија.

ГТК гените од класа 2 се наоѓаат на центромерниот крај од ХЛА

ГТК регионот од класа 2 ги содржи гените кои ги кодираат алфа и бета-веригите на класичните класа 2 ГТК молекули наречени ХЛА-ДР, ДП и ДКу кај луѓето и Х-2ИА и ИЕ кај глувците. Молекулското мапирање на ГТК класа 2 откри повеќе гени за бета-вериги во некои подрачја и кај глувците и кај луѓето, како и повеќе гени за алфа-вериги кај луѓето (види слика 8-11). На пример, во ДР регионот кај луѓето има три или четири функционални гени за бета-вериги. Во дадена клетка, сите генски продукти за бета-веригите можат да бидат прикажани заедно со генскиот продукт за алфа-веригата, при тоа зголемувајќи го бројот на различни противген-прикажувачки молекули во клетката. Иако ДР регионот кај луѓето содржи само еден ген за алфа-верига, подрачјата ДП и ДКу содржат два алфа-вериги.

Гени кои кодираат некласични ГТК молекули од класа 2 се откриени и кај луѓето и кај глувците. Кај глувците, неколку класа 2 гени (Оалфа, Обета, Малфа и Мбета) кодираат некласични ГТК молекули од класа 2 кои прикажуваат ограничен полиморфизам и различен модел на прикажување од класичните молекули од класа 2 ИА и ИЕ. Во човечкото класа 2 ГТК подрачје, откриени се некласични гени наречени ДМ и ДО. ДМ гените кодираат молекул слична на класа 2 (ХЛА-ДМ) кои го олеснуваат прикажувањето на противгените пептпиди во ГТК молекулите од класа 2. Утврдено е дека ДО молекулите од класа 2, кои се прикажуваат само во тимусот и зрелите Б-клетки служат како регулатори на преработувањето на противгени од класа 2 молекулите. Функциите на ХЛА-ДМ и ХЛА-ДО се објаснети понатаму.

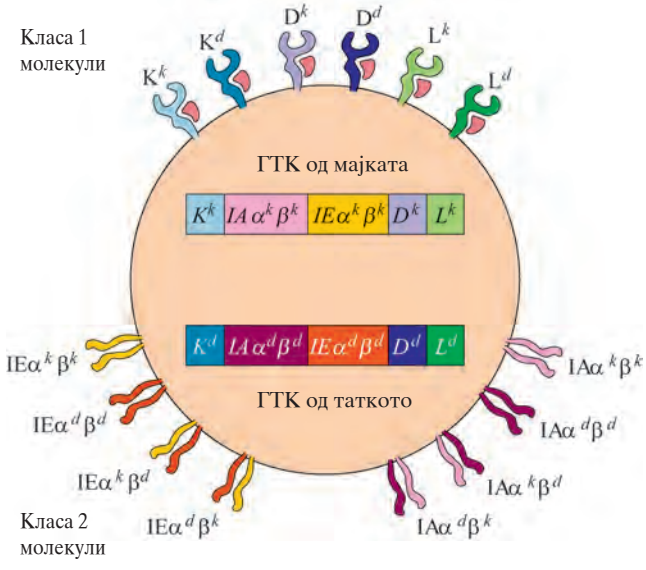
ГТК гените од класа 3 кај човекот се наоѓаат меѓу класа 1 и класа 2

Класа 3 од ГТК регионот кај луѓето и глувците содржи хетерогена колекција од гени (види слика 8-11). Овие гени кодираат неколку комплементни протеини, две стероидни 21-хидроксилази, два протеини на топлотен шок и два цитокини (ТНФ-алфа и ТНФ-бета). Некои од овие класа 3 ГТК генски продукти играат улога во одредени болести. На пример, мутации во гените кои ја кодираат 21-хидролазата се поврзани со вродената адренална хиперплазија. Интересно е што, присуството на поврзаниот класа 3 генски кластер е конзервиран кај сите видови со ГТК подрачје.

Клеточно прикажување на ГТК молекули

Во основа, класичните ГТК молекули од класа 1 се прикажани на скоро сите клетки со јадро, но нивото на прикажување се разликува помеѓу различни видови на клетки. Највисоките ниво на класа 1 молекули се прикажуваат од страна на лимфоцитите, каде сочинуваат приближно 1% од вкупниот број на протеини во мембраната, или околу 5×10^5 молекули по клетка. Наспроти тоа, фибробластите, мускулните клетки, хепатоцитите од црниот дроб и невралните клетки прикажуваат многу ниски нивоа на ГТК молекули од класа 1. Ниското ниво на ГТК молекули на клетките од црниот дроб може да придонесе за значителен успех при пресадување на црн дроб и намалување на веројатноста за отфрлање на калемот од страна на T^c на примателот. Се чини дека неколку видови на клетки (на пр., неурони, спермални клетки во одредени стадиуми од развојот) имаат комплетен недостаток на ГТК молекули од класа 1.

Како што беше изнесено претходно, кој било ГТК молекул може да врзе многу различни пептиди. Бидејќи ГТК молекулите се прикажуваат кодоминантно, хетерозиготните индивидуи во нивните клетки прикажуваат генски производи кодирани од двата алела во секој ГТК локус. На пример, глушец од



СЛИКА 8-12 Шематски приказ на различни ГТК молекули прикажани на противген-прикажувачките клетки на хетерозиготен глушец од сојот Х-2$^{к/д}$. Се прикажуваат ГТК гените и од мајката и од таткото. Бидејќи класа 2 молекулите се хетеродимери, се создаваат хетерологни молекули кои содржат по една верига од мајката и една верига од таткото. Бета$_2$микроглобулинот од класа 1 молекулите (розева боја) е кодиран од ген на различен хромозом и може да потекнува од кој било родител

$Ф_1$ генерацијата прикажува К, Д и Л од секој родител (шест различни ГТК молекули од класа 1) во секоја од неговите јадрени клетки (слика 8-12). Слична ситуација постои и кај луѓето, т.е. хетерозиготна индивидуа прикажува А, Б и Ц алели од секој родител (шест различни ГТК молекули од класа 1) врз мембраната од секоја јадрена клетка. Прикажувањето на толку многу ГТК молекули од класа 1 ѝ овозможува не секоја клетка да прикаже голем број пептиди во врзувачките процепи на ГТК молекулите.

Кај нормалните, здрави клетки, молекулите од класа 1 прикажуваат сопствени пептиди кои потекнуваат од нормалниот метаболизам на сопствените протеини. Кај клетките кои се заразени со вирус, ќе бидат прикажани вирусни пептиди како и сопствени пептиди. Треба да се замисли дека една клетка која е инфицирана од вирус на нејзината мембрана има различни молекули од класа 1, при што секој молекул прикажува различна група на вирусни пептиди. Поради поединечните алелски разлики во пептид-врзувачките процепи во ГТК молекулите од класа 1, различни индивидуи од еден вид ќе имаат способност да се врзат за различни групи на вирусни пептиди.

За разлика од ГТК молекулите од класа 1, молекулите од класа 2 конститутивно се прикажуваат само на противген-прикажувачките клетки, главно макрофаги, зрели стеблести клетки и Б-клетки; тимусните епителни клетки и некои други видови на клетки можат да бидат поттикнати да прикажуваат молекули од класа 2 и да функционираат како противген-прикажувачки клетки во одредени околности и при стимулација со одредени цитокини. Помеѓу различните видови клетки кои прикажуваат ГТК молекули од класа 2, забележани се значајни разлики во прикажувањето. Во некои случаи, прикажувањето на класа 2 молекулите зависи од стадиумот на клеточно диференцирање. На пример, молекулите од класа 2 не се сретнуваат кај пре-Б-клетките, додека конститутивно се прикажуваат врз мембраната на зрелите Б-клетки. Слично на тоа, моноцитите и макрофагите прикажуваат само ниско ниво на класа 2 молекули додека не се активираат преку интракција со противген, по што нивото на прикажување значително се зголемува.

Бидејќи секој класичен ГТК молекул од класа 2 е составен од две различни полипептидни вериги, кодирани од различни локуси, хетерозиготната индивидуа не прикажува само молекули од класа 2 од родителите, туку исто така и молекули кои содржат алфа и бета-вериги од различни хромозоми. Не постои генетско ограничување за паровите на алфа и бета-вериги кои можат заедно да се прикажат. На пример, $Х\text{-}2^k$ глушецот прикажува молекули од класа 2 $ИА^k$ и $ИЕ^k$; слично на тоа, $Х\text{-}2^d$ глушецот прикажува молекули од класа ИИ $ИА^d$ и $ИЕ^d$. Потомството во Ф1 генерацијата која потекнува од вкрстување на глувци со овие два хаплотипови прикажува четири видови родителски молекули од класа 2 и четири молекули кои содржат алфа-верига од едниот родител и бета-верига од другиот родител (како што е прикажано на слика 8-12). Бидејќи ГТК кај луѓето содржи три класични молекули од класа 2 (ДП, ДКу и ДР), хетрозиготната индивидуа прикажува шест родителски молекули од класа 2 и шест молекули кои содржат комбинации на алфа и бета-вериги од секој родител. Бројот на различни класа 2 молекули прикажани од страна на индивидуата понатаму се зголемува со присуството на повеќе гени за бета-веригата кај глувците и луѓето и повеќе гени за алфа-веригата кај луѓето. Разновидноста создадена со овие механизми, логично, го зголемува бројот на различни противгени пептиди кои можат да бидат презентирани и според тоа е придобивка за организмот.

Регулација на прикажувањето на ГТК

Истражувањата за регулаторните механизми кои го контролираат различното прикажување на ГТК гените кај различни видови на клетки сè уште се во рана фаза, но од нив е научено доста. Сегашната достапност на комплетната геномска мапа од ГТК се очекува во голем степен да го забрза утврдувањето и испитувањето на кодирачките и регулаторните секвенци и да доведе до нови насоки во истражувањата за тоа како е контролиран овој систем.

ГТК гените од класа 1 и од класа 2 се граничат со поттикнувачки секвенци на 5' крајот, кои се врзуваат за препишувачки фактори кои се специфични за одредена ДНК секвенца. Поттикнувачките мотиви и препишувачките фактори кои се врзуваат за овие мотиви се идентификувани за голем број на ГТК гени. Регулацијата на препишувањето на ГТК се остварува со позитивни и негативни елементи. На пример, откриено е дека препишувачкиот активатор на класа 2 од ГТК наречен *ЦИИТА* и друг препишувачки фактор наречен РФИкс се врзуваат за исто поттикнувачко подрачје на гените од класа 2 од ГТК. Дефекти во овие препишувачки фактори предизвикуваат т.н. *синдром на голи лимфоцити* (види Клинички фокус на страна 213). Пациентите со ова нарушување имаат недостаток на ГТК молекули од класа 2 на нивните клетки и како резултат на тоа страдаат од тежок имунонедостаток поради централната улога на ГТК молекулите од класа 2 во зреењето и активирањето на Т-клетките.

Прикажувањето на ГТК молекулите исто така е регулирано од страна на различни цитокини. Покажано е дека интерфероните (алфа, бета и гама) и тумор-некрозниот фактор го зголемуваат прикажувањето на ГТК молекулите од класа 1. На пример, интерферонот гама(ИФН-гама) поттикнува создавање на специфичен препишувачки фактор кој се врзува за поттикнувачката секвенца која се граничи со ГТК гените од класа 1. Врзувањето на овој препишувачки фактор за поттикнувачката секвенца го контролира зголемувањето на препишуавњето на гените кои ги кодираат алфа-веригата од класа 1, $бета_2$-микроглобулинот и други протеини кои се вклучени во прикажувањето и преработувањето на противгени. Исто така е покажано дека ИФН-гама го поттикнува прикажувањето на препишувачкиот активатор на класа 2 (ЦИИТА), со што индиректно го зголемува прикажувањето на ГТК молекулите од класа 2 во разни клетки, вклучувајќи ги и клетките кои не презентираат противген (на пример, кератиноцитите од кожата, цревните епителни клетки, васкуларниот ендотел, плацеталните клетки и панкреатичните бета-клетки). Други цитокини влијаат врз прикажувањето на ГТК само кај одредни видови на клетки; на пример, ИЛ-4 го зголемува прикажувањето на молекулите од класа 2 врз мирувачките Б-клетки. Прикажувањето на молекулите од класа 2 од страна на Б-клетките се намалува од страна на ИФН-гама; кортикостероидите и просталгандините исто така го намалуваат прикажувањето на ГТК молекулите од класа 2.

Прикажувањето на ГТК врз површината од клетките е намалено при инфекција со некои вируси, вклучувајќи хуман цитомегаловирус (ЦМВ), вирус на хепатитис Б (ХБВ) и аденовирус 12 (Ад12). Во некои случаи, намаленото прикажување на ГТК молекулите од класа 1 се јавува како резултат на намаленото ниво на компоненти потребни за транспортирање на пептидите или склопување на ГТК класа 1 молекулот, а не е резултат на намаленото препишување. На пример, при

инфекцијата со цитомегаловирус, вирусниот протеин се врзува за бета$_2$-микроглобулинот, спречувајќи го склопувањето на ГТК молекулите од класа 1 и нивното транспортирање до плазматската мембрана. Инфекција со аденовирусот 12 предизвикува нагласен пад на препишувањето на гените за транспортерите (ТАП1 и ТАП2). Како што е објаснето подолу, генските прозиводи ТАП играат значајна улога во транспортот на пептидите од цитоплазмата до рапавиот ендоплазматски ретикулум. Блокирањето на прикажувањето на ТАП гените го попречува транспортот на пептидите; како резултат на тоа, ГТК молекулите од класа 1 не можат да се склопат со бета$_2$-микроглобулинот или да се транспортираат до клеточната мембрана. Намаленото прикажување на ГТК молекулите од класа 1, независно преку кој механизам е постигнато, веројатно им помага на вирусите да го избегнат имунот одговор со намалување на веројатноста вирусно-заразените клетки да прикажат комплекси ГТК-вирусни пептиди и со тоа да станат целни клетки за уништување посредувано од $T_ц$. Клиничкиот фокус на страница 213 објаснува како недостатокот на ТАП е имплициран во синдромот на голи лимфоцити.

ГТК и осетливост на болест

Одредени ХЛА алели се појавуваат во доста повисока фреквенција кај луѓе кои страдаат од одредена болест отколку во општата популација. Болестите поврзани од одредени ГТК алели вклучуваат автоимуни заболувања, одредени вирусни болести, нарушувања на комплементниот систем, одредени невролошки болести и неколку различни алергии. Поврзаноста помеѓу ХЛА алелот и дадена болест може да се измери со одредување на фреквенцијата на ХЛА алелот кај лица засегнати со болеста и потоа со споредување на овие податоци со фреквенцијата на истиот алел кај општата популација. Ваквата споредба овозможува пресметување на **релативен ризик (РР).**

$$RR = \frac{(Ag^+/Ag^-) \text{ заболена група}}{(Ag^+/Ag^-) \text{ контролна група}}$$

Вредност "1" за релативниот ризик значи дека ХЛА алелот е прикажан со истата фреквенција кај пациентите и кај општата популација, што укажува на фактот дека алелот не носи зголемен ризик за болеста. Вредност на релативниот ризик значително над 1, укажува на поврзаност помеѓу ХЛА алелот и болеста. На пример, лицата со алелот ХЛА-Б27 имаат 90 пати поголем ризик (релативен ризик од 90) да развијат автоимуна болест анкилозирачки спондилитис, воспалителна болест на 'рбетните зглобови која се карактеризира со оштетување на 'рскавицата, отколку индивидуи кои го немаат овој ХЛА-Б алел. Други поврзаности со болести со значаен релативен ризик се ХЛА-ДР2 и нарколепсија (РР 130) и наследна хемохроматоза и хаплотип А3/Б14 со РР 90.

Постоењето на поврзаност помеѓу ГТК алел и болест не треба да се толкува едноставно дека прикажувањето на одреден алел ја предизвикува болеста - врската помеѓу ГТК алелите и развојот на болест е сложена. На пример, во случајот со анкилозирачкиот спондилитис се претпоставува дека поради тесната поврзаност на гените за ТНФ-алфа и ТНФ-бета со ХЛА-Б локусот, овие цитокини може да се вклучени во оштетувањето на 'рскавицата. Поврзаноста на хемохроматозата и А3/Б14 веројатно се должи на мутации во ХФЕ, кој е поврзан со овие гени од класа 1. ХФЕ кодира мембрански протеин со улога во метаболизмот на железото; неговото отсуство или нарушена функција предизвикува натрупување на преголемо количество железо во клетките, што е основната карактеристика на хемохроматозата.

Кога поврзаноста помеѓу ГТК алелите и болеста е слаба, што се отсликува со низок релативниот ризик, веројатно е дека повеќе гени влијаат врз осетливоста, при што ГТК е само еден од нив. Генското потекло на неколку автоимуни болести, како што е мултипната склероза (поврзана со ДР2, со РР 5) и ревматоиден артритис (поврзан со ДР4, РР 10) е темелно проучувано. Дека овие заболувања не подлежат на просто Менделеево наследување на ГТК алелите може да се види кај иднетични близнаци: и двата близнаци го наследуваат истиот ГТК фактор на ризик, но тоа воопшто не значи дека и двата ќе ја добијат болеста. Овој наод укажува дека бројни генски фактори и фактори од околината имаат улога во развојот на заболување, особено автоимуно заболување, при што ГТК играат заначајна, но не и ексклузивна улога. Дополнителна потешкотија при поврзувањето на одреден ГТК алел со болест претставува генското неурамнотежено поврзување, коешто претходно беше објаснето. Фактот што некои од ГТК алелите од класа 1 се во неурамнотежено поврзување со ГТК алелите од класа 2 го прави нивниот придонес за осетливоста кон некоја болест понагласен отколку што навистина е. На пример, ако ДР4 придонесува за ризик од заболување и ако тој се појавува често во комбинација со А3 поради неурамнотежено поврзување, тогаш неправилно ќе се покаже дека А3 е поврзан со болеста. Подобрените техники за генско мапирање овозможуваат подетално анализирање на поврзаноста меѓу ГТК и различни болести и проценување на придонесот од други локуси.

Понудени се доста хипотези за објаснување на улогата на ГТК во осетливоста кон болести. Како што е наведено претходно, алелските разлики можат да доведат до разлики во имунолошката реактивност заради разликите во способноста да се претстави преработен противген или пак способноста на Т-клетките да препознаат претставен противген. Алелските форми на ГТК гените исто така може да кодираат молекули кои се препознати како рецептори од страна на вируси или бактериски токсини. Како што ќе биде објаснето во Поглавје 15, при генетската анализа на болеста, мора да се земе предвид можноста дека гени од различни локуси може да бидат вклучени и дека може да бидат потребни сложени меѓудејства меѓу нив за да се поттикне болеста.

Некои докази укажуваат дека намалување на ГТК полиморфизмот кај еден вид може да го предиспонира тој вид на инфективни болести. Гепардот и одредени други диви мачки, како пантерот од Флорида, за кои е потврдено дека се мошне осетливи на вирусни болести, имаат прилично ограничен ГТК полиморфизам. Се претпоставува дека денешната популација на гепарди (слика 8-13), потекнува од ограничен генски пул, што предизвикало намалување на разновидноста на ГТК. Зголемената осетливост на гепардите кон различни вирусни болести може да се објасни со намалувањето на бројот на различни ГТК молекули присутни во рамките на видот како целина и соодветно ограничување на спектарот на преработени противгени со кои овие ГТК молекули можат да стапат во меѓудејство. Според тоа, високото ниво на ГТК полиморфизам кое се забележува кај различни видови може да овозможи предност со постоењето на широка палета на ГТК молекули кои претставуваат противгени. Иако некои поединци во видот веројатно нема да можат да развијат имун одговор кон некој



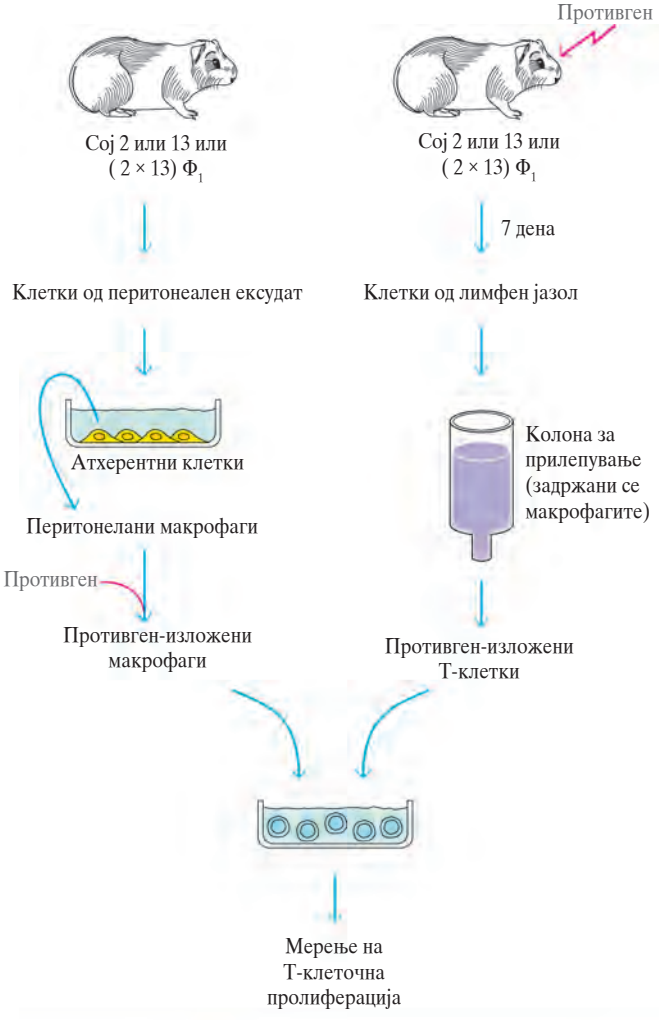
СЛИКА 8-13 Гепард-женка со два скоро целосно порасна-ти гепарди. Полиморфизмот во ГТК гените на гепардот е доста ограничен, веројатно поради тесното грло во парењето кое се случило во не толку далечно минато. Се претпоставува дека сите гепарди кои живеат денес се потомци на мала група во која се случувало парењето. Фотографијата ја направи Т.Џ.Кинд во Окаванго Делта во Боцвана.

даден патоген и поради тоа ќе бидат осетливи на инфекција со тој патоген, извонредниот полиморфизам обезбедува барем некои членови од видот да можат да одговорат и ќе бидат отпорни кон него. На овој начин, разновидноста на ГТК се чини ги штити видовите од широка палета на инфективни болести.

ГТК и имунолошката реактивност

Првичните проучувања од страна на Банакераф во кои заморчињата биле имунизирани со прости синтетички противгени беа првите кои покажаа дека способноста на животните да воспостават имун одговор, мерлив преку создавањето на серумски противтела, е одредена според ГТК хаплотипот. Подоцнежните експерименти од страна на Х. Мек-Девит, М. Села и нивните колеги вклучуваа употреба на конгенични и рекомбинантни конгенични видови од глувци за мапирање на контролата на *имунолошката реактивност* во ГТК гените од класа 2. Во раните експерименти, гените одговорни за овој фенотип беа наречени *Ир* или гени за имуна реактивност; со задржување на почетното *И*, продуктите од класа 2 кај глувци се наречени ИА и ИЕ. Денес е познато дека зависноста на имунолошката реактивност од ГТК класа 2 ја отсликува централната улога на класа 2 ГТК молекулите во прикажувањето противген на Тпо клетки.

Две хипотези се предложени за објаснување на варијабилноста на имунолошката реактивност која се сретнува кај различни хаплотипови. Според *моделот за избирање на одредница*, различните класа 2 ГТК молекули се разликуваат по нивната способност да врзат преработен противген. Според алтернативниот *модел празнини-во-репертоарот*, Т-клетките кои имаат рецептори што препознаваат туѓи противгени кои се слични на сопствените противгени може да бидат елиминирани при зреењето во тимусот. Бидејќи Т-клеточниот одговор на противген вклучува тримолекуларен комплекс составен од Т-клеточниот рецептор, противгениот пептид и ГТК молекул (детално објаснето во Поглавје 9), двата модели може да се точни. Тоа значи, отсуство на ГТК молекул кој може да се врзе и да се претстави на даден пептид, или отсуството на Т-клеточен рецептор кој може да препознае даден комплекс пептид-ГТК молекул, може да води до отсуство на имунолошка реактивност и со тоа се објаснува поврзаноста помеѓу ГТК хаплотиповите и имунолошката реактивност кон егзогени противгени.



Противген-изложени Т-клетки	Противген-изложени макрофаги		
	Сој 2	Сој 13	(2 × 13)Ф1
Сој 2	+	–	+
Сој 13	–	+	+
(2 × 13)Ф1	+	+	+

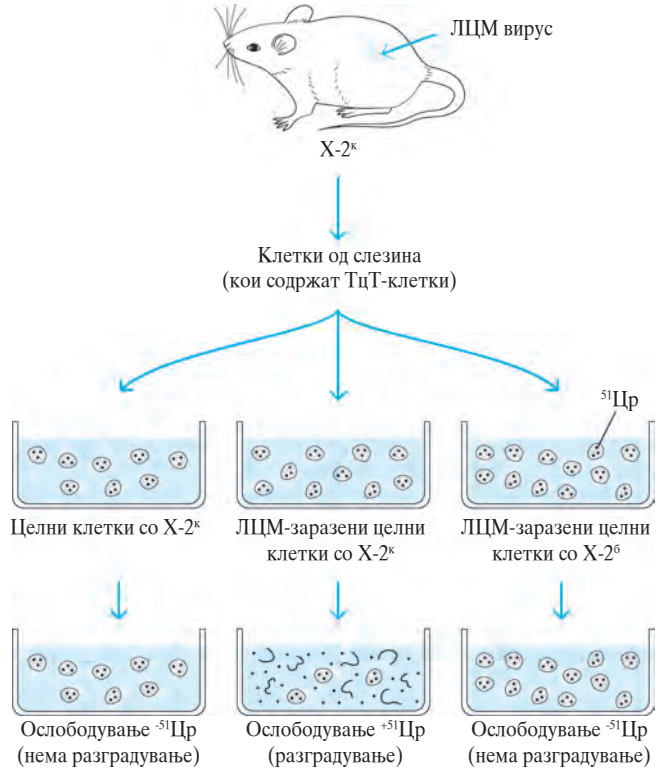
СЛИКА 8-14 Експериментален доказ на спрегнување на Тпо клетките со сопствениот ГТК. Клетки од перитонеален ексудат од видот 2, видот 13 или (2 x 13) $Ф_1$ заморчиња се инкубирани во пластични Петриеви садови, овозможувајќи збогатување со макрофаги, клетки кои имаат способност за атхеренција. Потоа перитонеалните макрофаги се инкуибирани со противген. Овие макрофаги кои биле во контакт со противген їпротивген-пулсираниї се инкубирани ин витро со Т-клетки од видот 2, видот 13 или (2 x 13) $Ф_1$ заморчиња и е направена проценка на пролиферацијата на Т-клетките. Резултатите укажуваат дека Тпо клетки можат да се размножуваат само како одговор на противген кој е претставен од страна на макрофагите кои ги делат заеднички ГТК алели. *[Прилагодено од A. Rosenthal and E. Shevach, 1974, Journal of Experimental Medicine 138:1194, со одобрение од Rockefeller University Press.]*

Спрегнатост на Т-клетките и сопствениот ГТК

Во 70-тите години од дваесеттиот век беа извршени серија експерименти за подетално истражување на односот помеѓу ГТК и имунот одговор. Овие истражувања потврдија дека и КД4⁺ и КД8⁺ Т-клетките можат да препознаат противген само кога тој е претставен од страна на сопствен ГТК молекул, ограничување кое е наречено спрегнато препознавање со сопствени ГТК молекули. А. Розентал и Е. Шевач покажаа дека противген-специфична пролиферација на Тпо клетките се јавува само како одговор на противген кој е претставен од страна на макрофаги со истиот ГТК хаплотип како и Т-клетките. Во нивниот експериментален систем, макрофагите од заморчиња од сој 2 првично биле инкубирани со противген. По преработувањето на противгенот од страна на „противген-пулсираните“ макрофаги и по неговото прикажување врз нивната површина, тие биле измешани со Т-клетки од истиот сој (сој 2), различен сој (сој 13) или $Ф_1$ генерација (2 x 13) и била мерена Т-клеточната пролиферација како одговор кон „противген-пулсираните“ макрофаги.

Резултатите од овие експерименти, прикажани на слика 8-14, покажаа дека противген-пулсираните макрофаги од сој 2 ги активирале Т-клетките од сој 2 и F_1, но не и Т-клетките од сојот 13. Слично на тоа, противген-пулсираните макрофаги од сој 13 ги активирале Т-клетките на сој 13 и $Ф_1$, но не и Т-клетките од сојот 2. Според тоа, конгеничните и рекомбинираните конгенични видови на глувци, кои меѓу себе се разликуваат само во селектирани подрачја на Н-2 комплексот, беа користени како извор на макрофаги и Т-клетки. Овие експерименти потврдиле дека КД4⁺ Тпо клетка се активира и може да пролиферира само во присуство на противген-пулсирани макрофаги кои имаат исти класа 2 ГТК молекули. Од тука, препознавањето противген од КД4⁺ Тпо клетки е спрегнато со *класа 2 од ГТК*.

Во 1974 година Цинкернагел и Доерти ја прикажале спрегнатоста на КД8⁺ Т-клетките со ГТК. Во нивните експерименти, глувци биле имунизирани со лимфоцитен хориоменингитис вирус (ЛЦМ). Неколку дена подоцна, клетки од слезената на животното, кои вклучуваа ТцТ-клетки специфични за вирусот, биле изолирани и инкубирани со ЛЦМ-заразени целни клетки со ист или различен хаплотип (слика 8-15). Тие откриле дека ТцТ-клетки ги убиле само сингеничните вирусно-заразени целни клетки. Подоцнежните студии со конгенични и рекомбинирани конгенични соеви покажале дека ТцТ-клетки и вирусно-заразените целни клетки мора да имаат заеднички молекули до класа 1 кодирани од подрачјата К и Д од ГТК. Според тоа, препознавањето на противгените од страна на КД8⁺ ТцТ-клетки е спрегнато *со ГТК од класа 1*. Во 1996 година, Доерти и Цинкернагел ја добиле Нобеловата награда за нивниот голем придонес во разбирањето на улогата на ГТК во клеточно-посредуваниот имунитет.



СЛИКА 8-15 Класичниот експеримент на Доерти и Цинкернагел со кој покажаа дека препознавањето на противгенот од страна на ТцТ-клетки е спрегнато со ГТК. Глувците X-2ᵏ беа изложени на лимфоцитен хориоменингитис вирус (ЛЦМ) за да ги поттикнат цитотоксичните Т-лимфоцити (ЦТЛ) специфични за вирусот. Потоа, клетки од слезината од овој глушец изложен на ЛЦМ биле додадени на целни клетки со различни X-2 хаплотипови кои внатреклеточно биле обележани со ⁵¹Цр (црни точки) и клетки кои или биле заразени со ЛЦМ вирусот или не биле заразени. Убивањето на целните клетки од ЦТЛ, измерено преку ослободување на ⁵¹Цр во супернатанот, настанало само ако целните клетки биле заразени со ЛЦМ и го имале истиот ГТК хаплотип како и ЦТЛ. *[Прилагодено од P. C. Doherty and R. M. Zinkernagel, 1975, Journal of Experimental Medicine 141:502.]*

Улога на противген-прикажувачките клетки

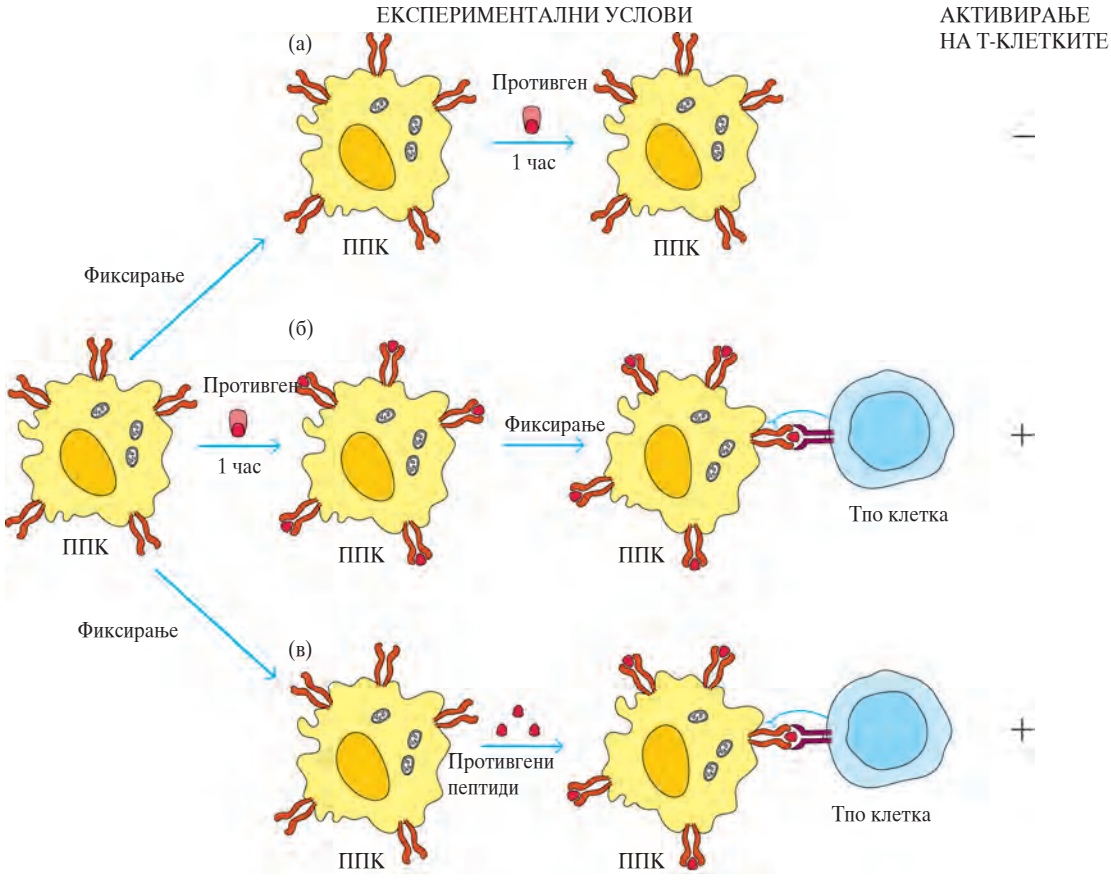
Уште во 1959 година, имунолозите биле соочени со податоците кои укажувале дека Т и Б-клетките препознаваат противгени преку различни механизми. Догмата во тоа време, која опстојувала до 80-тите години од дваесеттиот век, била дека клетките од имуниот систем го препознаваат целиот протеин во неговата природна конформација. Сепак, експериментите на П. Г. Х Гел и Бенакераф покажале дека, додека и примарниот противтелен одговор и клеточно-посредуваниот одговор биле поттикнати од протеин во неговата природна конформација, секундарен противтелен одговор (посредуван од Б-клетките) може да биде поттикнат само од страна на природниот протеин, додека вторичниот клеточно-посредуван одговор може да биде поттикнат или од природниот или од денатурираниот протеин. На овие наоди се гледало како на интересна енигма, но нејзините импликации врз прикажувањето на противгени биле целосно прескокнати сè до раните 80-ти години од дваесеттиот век.

Преработување на противгенот е неопходно за препознавање од страна на Т-клетките

Резултатите добиени од К. Циглер и Е.Р. Унани биле помеѓу оние кои се противречеле на догмата која преовладува, дека препознавањето на противген од страна на Б и Т-клетките во основа е слично. Овие истражувачи увиделе дека активирањето на Тпо клетки со бактериски протеински противген било спречено со третирање на противген-прикажувачки клетки со параформалдехидот пред изложувањето на противген. Сепак, ако на противген-прикажувачките клетки прво внеселе противген, а по 1 до 3 часа од внесувањето биле третирани со параформалдехид, повторно настанувало активирање на Тпо клетки (слика 8-16а, б). Во интервалот од 1 до 3 часа, противген-прикажувачките клетки го преработиле противгенот и го прикажале врз мембраната во форма која може да ги активира Т-клетките.

Подоцнежните експерименти од страна на Р. П. Шимонкевич покажале дека интернализацијата и преработувањето можат да се заобиколат ако противген-прикажувачките клетки се изложат на пептидни дигестирани противгени наместо на нативни противгени (слика 8-16в). Во овие експерименти, противген-прикажувачките клетки биле третирани со глутаралдехид (оваа хемикалија, слично како и параформалдехидот, ја фиксира клетката, со што ја прави метаболно неактивна), а потоа биле инкубирани со нативен овалбумин или со овалбумин кој бил подложен на делумна ензиматска дигестија. Дигестираниот јајцев албумин можел да стапи во меѓудејство со противген-прикажувачките клетки фиксирани со глутералдехид, при тоа активирајќи ги ТцТ-клетки специфични за овалбуминот, додека нативниот јајцев албумин не можел да го направи тоа. Овие резултати укажуваат на фактот дека преработувањето на противгенот вклучува дигестија на протеинот во пептиди кои се препознати од ТцТ-клетки специфични за јајцев албумин.

Во скоро исто време, неколку истражувачи, вклучувајќи ги В. Жерард, А. Таунсенд и нивните колеги, започнале да ги утврдуваат протеините од инфлуенца вирусот кои биле препознати од страна на ТцТ-клетки. Наспроти нивните очекувања, откриле дека внатрешните протеини од вирусот, како што се полимеразата и нуклеокапсидните протеини, често биле препознати подобро од страна на ТцТ-клетките отколку поизложените протеини врз обвивката. Освен тоа, студиите на Таунсенд открија дека ТцТ-клетки препознаваат кратки линеарни пептидни секвенци од инфуленца протеинот. Всушност, кога незаразени целни клетки биле инкубирани ин витро со синтетички пептиди кои одговараат на секвенците од внатрешните инфлуенца протеини, овие клетки можеле да бидат препознати од страна на ТцТ-клетки и последователно да



СЛИКА 8-16 **Експериментален приказ дека преработувањето противген е неопходно за активирње Тпо клетките**. (а) Кога противген-прикажувачките клетки (ППК) се фиксирани пред изложување на противгенот, не можат да ги активираат Т**по** клетките. (б) Наспроти тоа, ППК фиксирани најмалку 1 час по изложувањето на противген можат да ги активираат Т**по** клетките. (Оваа упростена слика не покажува костимулаторни молекули кои се потребни за активирање на Т-клетките). (в) Кога ППК се фиксирани пред изложување на противген и инкубирани со пептидите од дигестираниот противген (наместо нативен противген), исто така можат да ги активираат Т**по** клетките. Активирањето на Т**по** клетките е одредено со мерење на специфичниот одговор на Т**по** клетките (на пример, лачење на цитокините).

бидат уништени исто како и целните клетки кои биле заразени со инфлуенца вирус. Овие наоди, заедно со наодите претставени на слика 8-16, укажуваат дека преработувањето на противгенот е матаболен процес во кој се дигестираат протеините во пептиди, кои потоа можат да бидат прикажани врз клеточната мембрана заедно со ГТК молекулот од класа 1 или класа 2.

Повеќето клетки можат да претстават противген со ГТК класа 1, прикажувањето со ГТК класа 2 е ограничено кај РРК

Бидејќи сите клетки прикажуваат ГТК молекули или од класа 1 или од класа 2 кои можат да ги претстават на Т-клетките, ако говориме буквално гледајќи, сите тие можат да бидат наречени противген-прикажувачки клетки. Сепак, договорно, клетките кои прикажуваат пептиди поврзани со ГТК молекулите од класа 1 на КД8$^+$ ТцТ-клетки се наречени *целни клетки*; клетките кои претставуваат пептиди поврзани со ГТК молекулите од класа 2 на КД4$^+$Тпо клетките се наречени **противген-прикажувачки клетки** (**ППК**). Оваа договорна основа е присутна на секаде низ текстот. Треба да се напомене дека во некои случаи ППК исто така претставуваат противгени во контекст на ГТК молекулите од класа 1.

Повеќе различни клетки можат да функционираат како противген-прикажувачки клетки. Нивни основни карактеристики што ги разликуваат од останатите клетки претставува нивната способност за прикажување на ГТК молекули од класа 2 и доставувањето на костимулаторен сигнал. Три вида на клетки се класифицирани како *професионални* противген-прикажувачки клетки: стеблести клетки, макрофаги и Б лимфоцити. Тие се разликуваат едни од други по нивните механизми за консумирање противген, дали тие конститутивно прикажуваат ГТК молекули од класа 2 и во нивната костимулаторна активност:

- Стеблестите клетки се најефикасни од противген-прикажувачките клетки. Бидејќи овие клетки конститутивно прикажуваат високо ниво на ГТК молекули од класа 2 и имаат костимулаторна активност, тие можат да активираат наивни Тпо клетки.
- Макрофагите мора да бидат активирани со фагоцитоза на одредени противгени пред да прикажат ГТК молекули од класа 2 или костимулаторни мембрански молекули како што е Б7.
- Б-клетките конститутивно прикажуваат ГТК молекули од класа 2, но мора да бидат активирани пред да прикажат костимулаторни молекули.

Неколку други видови клетки, класифицирани како *непрофесионални* противген-прикажувачки клетки, можат да бидат поттикнати да прикажуваат ГТК молекули од класа 2 или костимулаторен сигнал (табела 8-3). Многу од овие клетки учествуваат во прикажувањето на противгени само за краток период при постоечки воспалителен одговор.

ТАБЕЛА 8-3 Противген-прикажувачки клетки

Професионални противген-прикажувачки клетки	Непрофесионални противген-прикажувачки клетки	
Стеблести клетки (неколку видови)	Фибробласти (кожа)	Тимусни епителни клетки
Макрофаги	Глијални клетки (мозок)	Тироидни епителни клетки
Б-клетки	Панкреасни бета-клетки	Васкуларни ендотелни клетки

Бидејќи скоро сите јадрени клетки прикажуваат ГТК молекули од класа 1, скоро секоја јадрена клетка може да биде целна клетка која претставува ендогени противгени на ТцТ-клетките. Најчесто, целните клетки се клетки кои се заразени со вирус или друг внатреклеточен микроорганизам. Сепак, променетите сопствени клетки како што се клетките од рак, остарени клетки од телото или алогеничните клетки од калем можат да послужат како целни клетки.

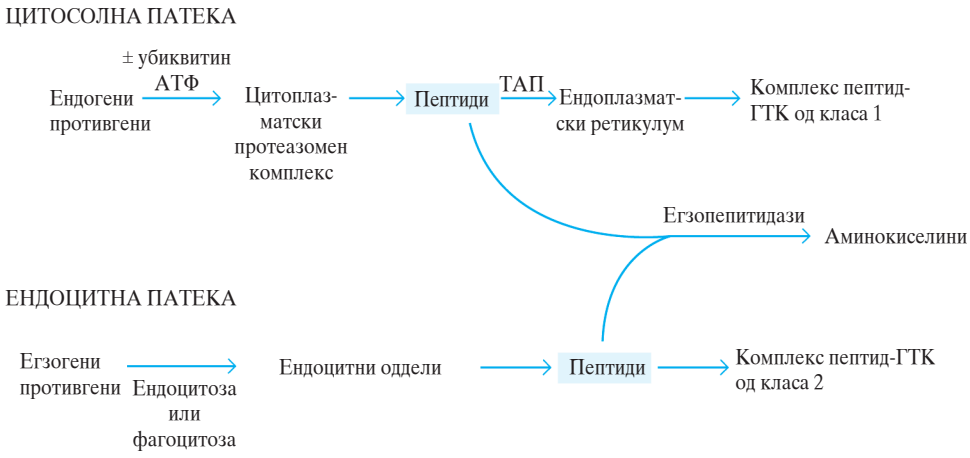
Докази за различното преработување на противгени и прикажувачки патеки

Имунот систем користи различни патеки за отстранување на внатреклеточните и надворклеточните противгени. По правило, внатреклеточните противгени (оние кои се создаваат во клетката) се преработуваат во *цитосолната патека* и се претставени врз мембраната со ГТК молекули од класа 1, а надворклеточните противгени (оние кои потекнуваат од ендоцитоза) се преработуваат во *ендоцитната патека* и се преставени врз мембраната со ГТК молекулите од класа 2 (слика 8-17).

Експерименти извршени од страна на Л. А. Морисон и Т. Ј. Брачале овозможија одличен приказ дека противгените пептиди претставени од страна на ГТК молекулите од класа 1 и класа 2 произлегуваат од различни патеки на преработување. Со употреба на клон на Т-клетки кои препознавале противген од инфлуенца вирус поврзан со класа 1 молекул од ГТК и друг клон на Т-клетки кои го препознавале истиот противген поврзан со ГТК молекулите од класа 2, тие ги дефинирале основните прицнипи за двете патеки:

- Прикажувањето со класа 1 бара синтеза на вирусен протеин, што било покажано со неопходноста целната клетка да биде инфицирана од жив вирус и со попречувањето на претставување со класа 1 кога бил применет инхибитор на протеинската синтеза (еметин).
- Прикажувањето со класа 2 настанува било со жив вирус или со вирус неспособен за реплицикација, инхибиторите на протеинската синтеза немаат влијание, укажувајќи на фактот дека синтеза на нов протеин не е неопходен услов за прикажување со класа 2.
- Прикажувањето на класа 2, но не и на класа 1, е попречено со третирање на клетките со агенс (хлорокин) кој го блокира ендоцитното преработување во клетката.

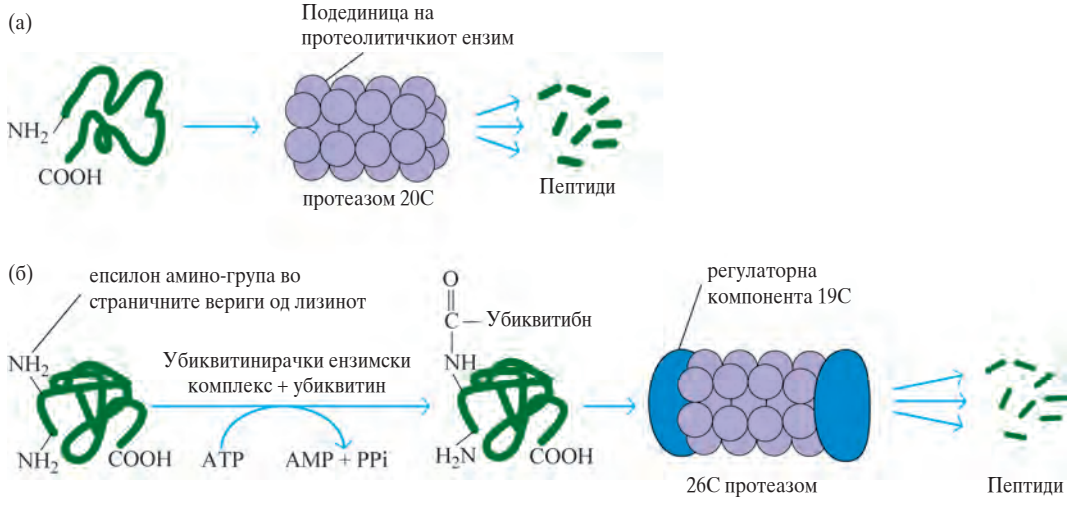
Овие резултати се во прилог на постоење разлика помеѓу преработувањето на егзогените и ендогените противгени, вклучувајќи ја и значајната, но не и апсолутна поврзаност на егзогените противгени со ГТК молекулите од класа 2 и енгогените противгени со ГТК молекулите од класа 1. За поврзување на вирусен противген со ГТК молекулите од класа 1 неопходно е размножување на вирусот од инфлуенца и синтеза на вирусните протеини во целните клетки; за поврзување со класа 2, тоа не е неопходно. Овие наоди укажаа дека пептидите претставени од страна на ГТК молекулите од класа 1 и класа 2 минуваат низ одделни внатреклеточни оддели; ГТК молекулите од класа 1 стапуваат во меѓудејство со пептиди кои произлегуваат од цитосолното разградување на ендогено синтетизирани протеини, а класа 2 молекулите, со пептиди кои произлегуваат од ендоцитното разградување на егзогени противгени. Во продолжение детално се објаснети овие две патеки.



СЛИКА 8-17 Преглед на цитосолните и ендоцитните патеки за преработување противген. Протеазомниот комплекс содржи ензими кои ги разградуваат пептидните врски, претворајќи ги протеините во пептиди. Противгените пептиди кои настануваат со разградувањето во протеазомот и пептидите од ендоцитните оддели се поврзуваат со ГТК молекулите од класа 1 и класа 2, а потоа комплексите ГТК-пептид се пренесуваат до клеточната мембрана. ТАП (транспортер поврзан со *преработката на противгенот*) ги транспортира пептидите до ендоплазматскиот ретикулум. Треба да се нагласи дека повеќето пептиди во клетката не поминуваат во ниту една од овие патеки туку целосно се разградуваат до аминокиселини.

Ендогени противгени: цитосолна патека

Кај еукариотските клетки, нивоата на протеините внимателно се регулирани. Секој протеин е подложен на постојан обрт и се разложува со стапка која се изразува во однос на времето на неговиот полуживот. Одредени протеини (на пример, транскрипциските фактори, циклини и клучните метаболни ензими) имаат многу краток полуживот. Денатурираните, погрешно здиплените или абнормалните протеини исто така се разградуваат брзо. Дефектните рибозомни продукти, или ДРиП се полипептиди кои се синтетизираат со недостатоци и сочинуваат голем дел од продуктите кои брзо се разложуваат. Просечниот полуживот за клеточните протеини е околу 2 дена, но многу од нив се разложуваат во период од 10 минути. Последица на стабилниот метаболизам на нормалните и дефектните протеини е слевање на продуктите од разградувањето во клетката. Поголемиот дел од нив ќе се разградат до нивните составни аминокиселини, но некои опстојуваат во цитсолот ако пептиди, па имуниот систем ги преработува и ги претставува врз површината на клетката



СЛИКА 8-18 Цитосолен протеолитичен систем за разградување на внатреклеточни протеини (а) Разградувањето на погрешно здиплените протеини и дефектните рибозомни продукти настанува во централниот канал на протеазомот, каде се создаваат различни пептиди. Протеазомот 20С е голема цилиндрична честица чии поединици го катализираат разградувањето на пептидните врски. (б) Неоштетените протеини кои треба да се разградат се ковалентно поврзани со мал протеин наречен убиквитин. Во процесот на убиквитинизација, кој бара АТФ, ензимскиот комплекс поврзува неколку молекули убиквитин со епсилон амино групата од лизинскиот остатокот близу амино крајот на протеинот. Убиквитинираните протеини се предодредени да се деградираат од страна на протеазомот 26С, кој се состои од протеазомот 20С и регулаторната компонента 19С која може да се прикачи и на двата краја од единицата 20С.

во комбинација со ГТК молекул од класа 1. Патеката по која ендогените пептиди се разложуваат за прикажување со ГТК молекулите од класа 1 користи механизми кои се слични на механизмите вклучени во нормалниот метаболизам на внатреклеточните проетеини, но останува нејасно како се селектираат одредени пептиди.

Пептидите за прикажување се создаваат со протеазни комплекси наречени протеасоми

Внатреклеточните протеини се разградуваат во кратки пептиди од страна на цитосолниот протеолитичен систем се присутни кај сите клетки, наречен протеазом (слика 8-18а). Големиот (20С) протеазом е составен од 14 поединици подредени во структура од симетични прстени во вид на буре. Некои, но не сите од поединиците, имаат протеазна активност. Навлегувањето во протеазомот настанува низ тесни канали на двата краја.

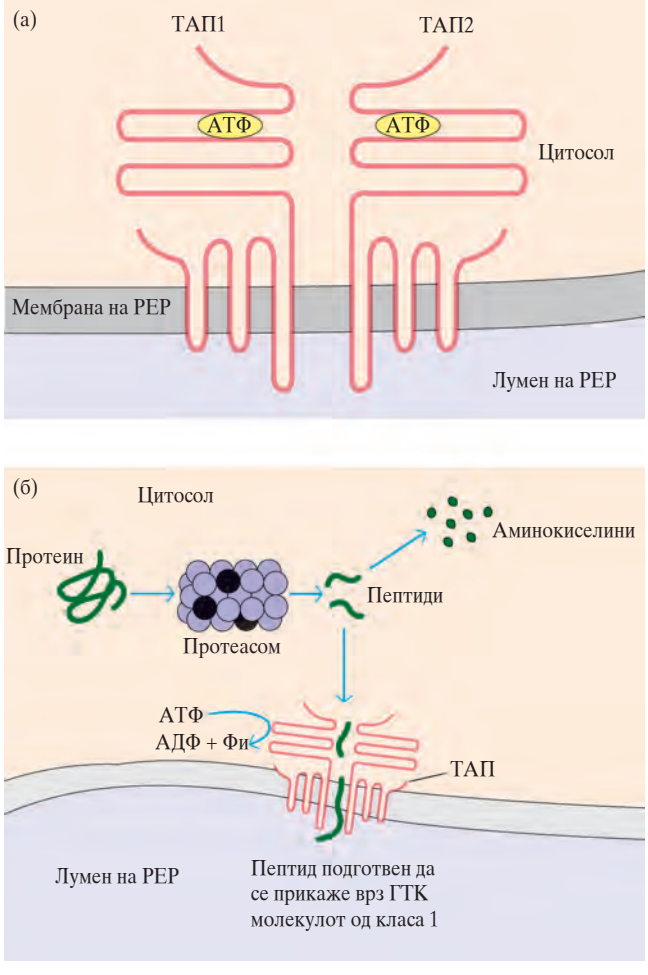
Голем дел од протеините кои се наменети за протеолиза имаат мал протеин, наречен *убиквитин*, кој е прикачен за нив (слика 8-18б). Комплексите протеин-убиквитин можат да се разградат со мултифункционален протеазен комплекс кој е составен од протеазом 20С на кој се додава регулаторната компонента 19С. Протеазомот кој се создава на ваков начин 26С, ги разградува пептидните врски преку процес кој е зависен од АТФ (слика 8-18б). Се верува дека разградувањето на комплексите убиквитин-протеин настанува во средишниот простор од протеазомот.

Експерименталните докази укажуваат дека имунолошкиот систем ја користи оваа општа патека за разградување протеини за да создаде мали пептиди за прикажување во ГТК молекулите од класа 1. Покрај стандардните протеазоми 20С кои се присутни во клетките, уште еден различен протеазом со иста големина е присутен во клетките со имунолошка активност. Овој имунопротеазом, кој може да биде поттикнат од инетефереонгама или ТНФ алфа, се сретнува кај вирусно заразените клетки, што укажува на улога во преработувањето на вирусните протеини за прикажување со ГТК класа 1. Имунопротеазомот преработува побрзо од обичните протеазоми, веројатно бидејќи зголеменото ниво на разградување на протеини во негово присуство може да има последици поопасни од сигнализирањето на вирусно заразените клетки. Можно е автоимунитетот да потекнува од зголеменото преработување внатрешни протеини во клетките со високо ниво на имунопротеазоми.

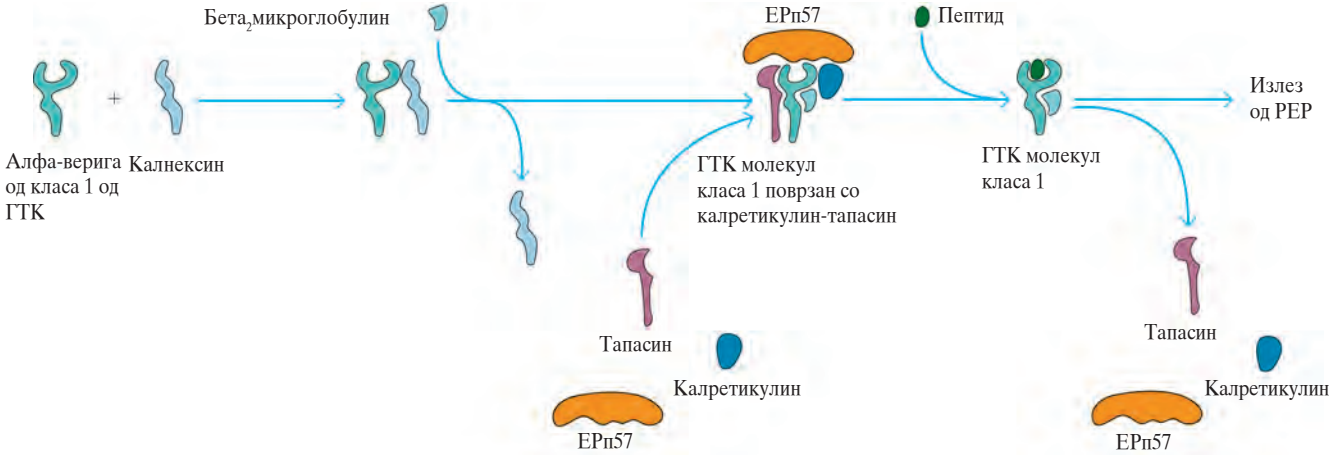
Пептидите се транспортираат од цитосолот во рапавиот ендоплазмен ритикулум

Детали за улогата која ја има транспортот на пептидите и нивното доставување до ГТК молекулот преку цитосолната патека за преработување доаѓаат од проучувањата на клеточни линии со дефекти во прикажувањето пептид од страна на ГТК молекулите од класа 1. Една таква мутирана клеточна линија, наречена РМА-С, прикажува околу 5% од нормалното ниво на ГТК молекули од класа 1 врз нејзините мембрани. Иако РМА-С клетките синтетизираат нормални нивоа на алфа-вериги од класа 1 и бета$_2$-микроглобулин, само мал број класа 1 молекули се појавуваат врз мембраната. Објаснение за оваа мутација во клетките РМА-С било откритието на Таунсенд и неговите колеги дека со „хранење“ на овие клетки со пептиди се нормализирало нивото на ГТК молекули од класа 1 кои се прикажани врз мембраната. Овие истражувачи покажале дека пептидите може да се потребни за стабилизирање на меѓудејството помеѓу алфа-веригата од класа 1 и бета$_2$микроглобулинот. Способноста за нормализирање на прикажувањето на ГТК молекулите од класа 1 врз мембраната преку хранење на клетките со претходно дигестирани пептиди укажала на фактот дека клетките РМА-С можеби имаат дефект во транспортирањето на пептидите.

Следни експерименти покажале дека дефектот кај клетките РМА-С настанува кај протеин кој ги транспортира пептидите од цитоплазмата во РЕР, каде што молекулите од класа 1 се синтетизираат. Кога РМА-С клетките биле трансфектирани со функционален ген кој го кодира транспортниот протеин, клетките врз нивната површина започнувале да прикажуваат



СЛИКА 8-19 ТАП (транспортер поврзан со преработката на противген). (а) Шематски приказ на ТАП, хетеродимер прикачен за мембраната од рапавиот ендоплазматски ритикулум (РЕР). Двете вериги се кодирани од *ТАП1* и *ТАП2*. Цитосолниот домен во секоја поединица на ТАП содржи АТФ врзувачко место, а транспортот на пептидите зависи од хидролизата на АТФ. (б) Во цитосолот, поврзувањето на ЛМП2, ЛМП7 и ЛМП10 (црните сфери) со протеазомот ја менува неговата каталитичка специфичност за да се фаворизира создавањето пептиди кои можат да се врзат за ГТК молекули од класа 1. Овие пептиди се пренесуваат од страна на ТАП во луменот на РЕР, каде, преку процес посредуван од неколку други протеини, ќе се поврзат со ГТК молекулите од класа 1.



СЛИКА 8-20 Склопување и стабилизирање на молекулите од класа 1 на ГТК. Во мембраната на РЕР, ново-синтетизираната алфа-верига од класа 1 се поврзува со калнексин, молекулски придружник, додека бета$_2$-микроглобулинот се врзува за алфа-веригата. Последователното врзување за бета$_2$-микроглобулин го ослободува калнексинот и овозможува врзување за придружникот калретикулин и тапасин, кој е поврзан со пептидниот транспортер ТАП. Ова поврзување поттикнува врзување за противгениот пептид, кој го стабилизира комплексот класа 1 молекул-пептид, овозможувајќи го неговото ослободување од РЕР.

молекули од класа 1. Транспортниот протеин, наречен **ТАП** (за **транспортер поврзан со преработката на противген**), претставува хетеродимер распореден во мембраната, кој се состои од од два протеини: ТАП1 и ТАП2 (слика 8-19а). Покрај нивните повеќе трансмембрански сегменти, протеините и ТАП1 и ТАП2 имаат домен кој навлегува во луменот на РЕР и домен кој навлгува во цитосолот, а има и АТТ- врзувачко место. ТАП1 и ТАП2 припаѓаат на семејство касетни, АТФ-врзувачки протеини, кои се сретнуваат во мембраните на многу клетки, вклучувајќи бактерии; овие протеини посредуваат во АТФ-зависниот транспорт на аминокиселини, шеќери, јони и пептиди.

Пептидите создадени во цитосолот од страна на протеазомот се пренесуваат од ТАП во РЕР со процес за кој е неопходна хидролиза на АТФ (слика 8-19б). ТАП има афинитет за пептидите кои содржат од осум до 16 аминокиселини. Оптималната должина на пептидот за врзување во ГТК од класа 1 е приближно девет аминокиселини, а оваа должина се постигнува со скратување на пептидите со аминопептидази присутни во ЕР, како што ЕРАП. Понатаму, се чини дека ТАП фаворизира пептиди со хидрофобни или базни аминокиселини на карбоксилниот крај, преферираните прикачувачки остатоци за ГТК молекулите од класа 1. Според ова, ТАП е оптимизиран за транспортирање на пептиди кои стапуваат во меѓудејство со ГТК молекули од класа 1.

Гените ТАП1 и ТАП2 се наоѓаат во ГТК регионот од класа 2, блиску до гените ЛМП2 и ЛМП7 (види слика 8-11) и различни алелски форми на овие гени постојат во популациите. Недосаток на ТАП може да доведе до синдром кој има аспекти и на имунонедостаток и на авотимунитет (види клинички фокус).

Склопување на пептидите и класа 1 од ГТК, потпомогнато од придружните молекули

Како и другите протеини, алфа-веригата и бета$_2$-микроглобулин од ГТК молекулот од класа 1 се синтетизираат во полизомите од рапавиот ендоплазматски ретикулум. Склопувањето на овие делови во стабилен класа 1 ГТК молекулски комплекс кој може да го напушти РЕР бара присуство на пептид во врзувачкиот процеп од молекулот класа 1. Процесот на склопување вклучува неколку чекори и учество на *молекулски придружници*, кои го олеснуваат диплењето на полипептидите. Првиот молекулски придружник кој е вклучен во склопувањето на ГТК од класа 1 е *калнексин*, мембрански протеин од ендоплазматскиот ретикулум. Калнексинот се поврзува со слободната алфа-верига од класа 1 и го поттикнува нејзиното диплење. Кога бета$_2$-микроглобулинот се врзува со алфа-веригата, калнексинот се ослободува, а молекулот од класа 1 се поврзува со придружниците *калретикулин* и со *тапасин*. Тапасинот (протеин поврзан со ТАП) го доближува транспортерот ТАП до молекулот од класа 1 и му овозможува поврзување на противгениот пептид (слика 8-20). Тапасинот може да постои во повеќемерна форма од најмногу четири молекули, но овде заради поедноставување е прикажан како мономер. Друг протеин со ензимска активност, ЕРп57, формира дислуфидна врска со тапасинот и се поврзува нековалентно со калретикулинот за да го стабилизира нивното меѓудејство и да овозможи ослободување на алфа-веригата и бета$_2$-микроглобулинот од ГТК по врзувањето на пептидот. ТАП протеинот (види слика 8-19б) поттикнува заробување на пептидот од страна на молекулот од класа 1 пред пептидите да бидат изложени кон содржината од луменот на РЕР.

Егзопротеазите во ЕР ќе дејствуваат врз пептидите кои не се врзани со ГТК молекулите од класа 1. Една ЕР аминопептидаза, ЕРАП1, која претходно беше спомената, ги отстранува остатоците од амино крајот на пептидите за да постигне оптимална големина за нивно врзување. ЕРАП1 има мал афинитет за пептиди кои се пократки од осум аминокиселини. Друга ЕР аминопептидаза, ЕРАП2, може да разложи пептиди со каква било должина, така што ги отстранува сите пептиди кои се прекратки за оптимално врзувавање со ГТК молекул од класа 1. Активноста на ЕРАП на слободните пептиди кои не се врзани за молекулите од класа 1 во ЕР овозможува во овој оддел да бидат отстранети пептидите кои не се соодвтени за врзување со класа 1. Како последица на продуктивното врзување на пептидите,

КЛИНИЧКИ ФОКУС

Недостаток на транспортерите поврзани со преработката на противгени (ТАП) доведува до разновиден спектар на болести

Релативно ретката состојба, позната како синдром на голи лимфоцити, или БЛС, е позната повеќе од 20 години. Лимфоцитите кај пациентите со БЛС прикажуваат ГТК молекули под нормалното ниво а, во одредени случаи, воопшто не ги прикажуваат. Кај БЛС од тип 1, постои недостаток на ГТК молекули од класа 1, а кај БЛС од тип 2, пореметено е прикажувањето на молекулите од класа 2. Патогенезата на тип 1 БЛС го нагласува значењето на фамилијата молекули од класа 1 на ГТК и нејзината двојна улога во спречувањето на автоимунитетот, како и одбраната против патогените.

Дефектите кои го ослабуваат или исклучуваат препишувањето на ГТК гените се пронајдени за одредени случаи на БЛС од тип 2, но во многу случаи природата на дефектот не е позната. Неодманешна студија откри група на пациенти со БЛС од тип 1 поради дефекти во гените ТАП1 и ТАП2. Манифестациите на недостатокот на ТАП биле униформни во оваа група на пациенти, па дефинирана е уникатна болест. Како што е објаснето во ова поглавје, ТАП протеините се потребни за вклучување на пептидите во молекулите од класа 1, чекор кој е неопходен за прикажување на ГТК молекулите од класа 1 врз површината од клетката. Лимфоцитите на лицата со недостаток на ТАП прикажуваат значително помали нивоа на молекули од класа 1 од оние кај нормалните контроли. Другите клеточни абнормалности вклучуваат зголемен број на КПУ и гама-делта Т-клетки и намалено ниво на алфа-бета КД8+ Т-клетки. Како што ќе видиме подоцна, манифестациите на болеста се логично објаснети со отстапувањата во нивоата на одредени клетки кои се вклучени во имунолошката функција.

Во раниот период на животот, лицата со недостаток на ТАП страдаат од чести бактериски инфекции на горниот респираторен тракт, а во втората деценија почнуваат да добиваат хронични инфекции на белите дробови. Се верува дека синдромот на постназално слевање, кој е чест кај помладите пациенти, поттикнува бактериски инфекции на белите дробови во подоцнежниот живот. Значајно е отсуството на тешки вирусни инфекции, кои се вообичаени кај имунонедостатоците кои вклучуваат Т-клетки (види Поглавје 20). Често се појавуваат бронхиектазии (проширување на бронхијалните цевки), а повторувачките инфекции може да доведат до оштетување белите дробови па дури и да бидат фатални. Најкарактеристичент знак за овој недостаток претставува појавата на некротизирачки кожни лезии на екстремитетите и во средниот дел од лицето. Овие лезии загнојуваат и може да предизвикаат изобличување. Кожните лезии веројатно се јавуваат поради активираните КПУ и гама-делта Т-клетките. КПУ се изолирани од кожа добиена со биопсија кај неколку пациенти, што оди во прилог на оваа можност. Нормално, активноста на КПУ клетките е ограничена преку активноста на инхибиторните рецептори (КИР), кои испраќаат негативен сигнал до клетката КПУ по меѓудејството со молекули од класа 1 (види Поглавје 14). Недостатокот на молекулите од класа 1 кај пациентите со БЛС поврзан со ТАП ја објаснува прекумерната активност на клетките КПУ. Активирањето на КПУ дополнително го објаснува отуството на тешки вирусни инфекции, кои се ограничени од страна на клетките КПУ и гама-делта клетките.

Најдобро лекување за карактеристичните инфекции на белите дробови се антибиотиците и интарвенозните имуноглобулини. Обидите да се ограничи болеста на кожата со имуносупресивни режими, како што е лекувањето со стероиди или цитотоксичните агенси, може да доведат до влошување на лезиите и затоа не се препорачуваат. Мутациите во поттикнувачкото подрачје на ТАП генот кои спречуваат прикажување на гените се опишани кај неколку пациенти, со што се отвора можност за генска терапија, но клеточната распределба на класа 1 е толку распространета што не е јасно кои клетки треба да се корегираат за да се отстранат сите симптоми.



Некротизирачки грануломатозни лезии во средниот дел од лицето на пациентот со синдром на недостаток на ТАП. Недостатокот на ТАП води до состојба со симптоми кои се карактеристични за автоимунитет, како што се кожни лезии кои се појавуваат на екстремитетите и во средниот дел од лицето, како и имунонедостаток кој предизвикува хроничен синузитис, кој води до повторувачки инфекции на белите дробови. *[Од S. D. Gadola et al., 1999, Lancet 354:1598, and 2000, Clinical and Experimental Immunology 121:173.]*

молекулот од класа 1 прикажува зголемена стабилност и може да се оддели од комплексот со калретикулин, тапасин и ERp57; напуштање на РЕР; продолжување до површината на клетката преку Голџиев комплекс.

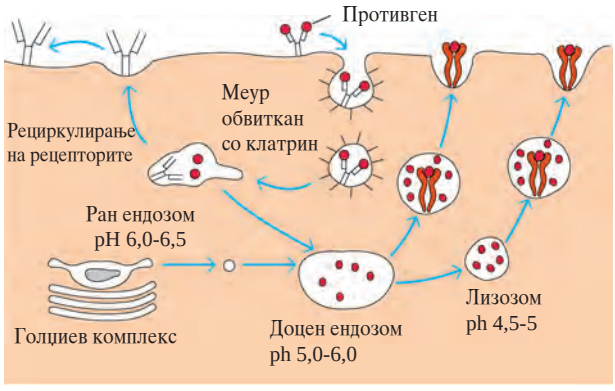
Егзогени противгени: Ендоцитна патека

Противген-прикажувачките клетки можат да интернализираат противген преку фагоцитоза, ендоцитоза или и двете. Макрофагите и стеблестите клетки интернализираат противгени преку двата процеси, додека повеќето други ППК не се фагоцитни или слабо фагоцитираат и затоа интернализираат надворешни противгени само преку ендоцитоза (ендоцитоза посредувана од рецептор или пиноцитоза). На пример, Б-клетките, многу ефективно интернализираат противген преку ендоцитоза посредувана од рецептор при што мембранското противтело кое е специфично за противген го користат како рецептор.

Пептидите се создаваат од интернализираните молекули во ендоцитните меурчиња

Штом противгенот е интернализиран, тој се разложува на пептиди во одделите на ендоцитната патека за преработување. Како што е прикажано со експериментот на слика 8-16, на интернализираниот противген му се потребни од 1 до 3 часа да помине низ ендоцитната патека и да се појави врз површината од клетката во форма на комплекс пептид-ГТК од класа 2. Ендоцитната патека вклучува три оддели со растечка киселост на средината: рани ендозоми (pH 6,0-6,5), доцни ендозоми или ендолизозоми (pH 5,0-6,0) и лизозоми (pH 4,5-5,0). Интернализираниот противген се движи од раните до доцните ендозоми и на крајот до лизозомите, каде се сретнува со хидролитички ензими и понизок pH во секој следен оддел (слика 8-21). На пример, лизозомите содржат единствена колекција на повеќе од 40 хидролази зависни од киселост, вклучувајќи протеази, нуклеази, гликозидази, липази, фосфолипази и фосфатази. Во одделите од ендоцитната патека, противгенот се разложува на олигопептиди од околу 13 до 18 остатоци, кои се врзуваат за ГТК молекулите од класа 2 и на тој начин се заштитени од понатамошна протеолиза. Бидејќи хидролитичките ензими се оптимално активни во кисела средина (низок pH), преработувањето на противгенот може да биде попречено од хемиски агенси кои го зголемуваат pH на одделите (на пример, хлорикин) како и со протеазни инхибитори (на пример, леупептин).

Механизмот преку кој интернализираниот противген се движи од еден ендоцитен оддел во друг е целосно расветлен. Се претпоставува дека раните ендозоми од периферијата се движат кон напред за да станат доцни ендозоми и на крајот лизозоми. Алтернативно, мали транспортни меурчиња може да ги носат противгените од еден оддел во друг. Конечно, ендоцитните оддели, или делови од нив, се враќаат до периферијата на клетката, каде се спојуваат со плазматската мембрана. На овој начин, се рециклираат површинските рецептори.

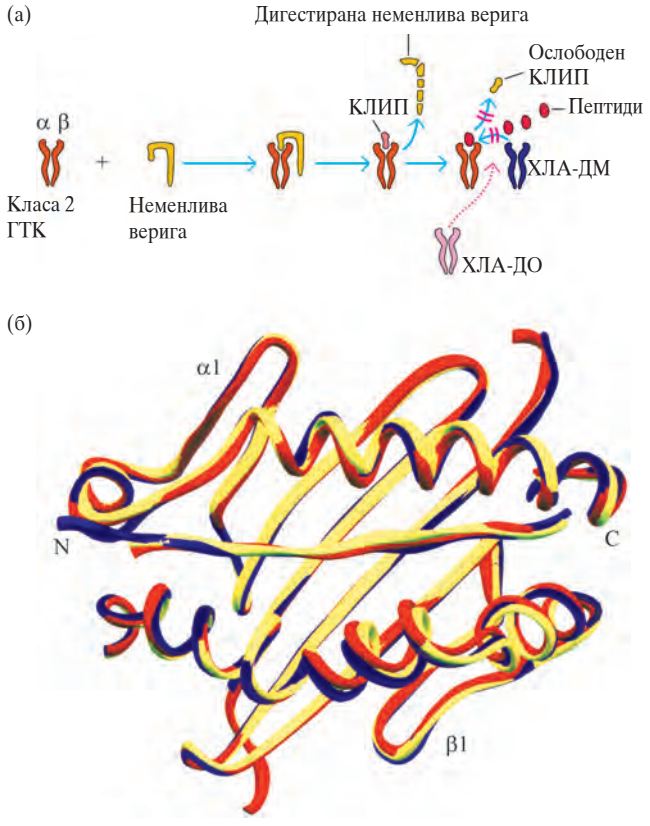


СЛИКА 8-21 Создавање противгени пептиди во ендоцитната патека за преработка. Интернализираниот надворешен противген се движи низ неколку оддели со кисела средина, каде се разградува на пептиди кои на крајот се поврзуваат со ГТК молекулите од класа 2 и се транспортираат во меурчињата од Голџиевиот комплекс. Прикажаната клетка е Б-клетка, која интернализирала противген преку ендоцитоза посредувана од рецептор, а противтелото врзано врз мембраната функционира како рецептор специфичен за противген.

Неменливата верига го води транспортот на ГТК молекулите од класа 2 до ендоцитните меурчиња

Имајќи предвид дека противген-прикажувачките клетки прикажуваат ГТК молекули и од класа 1 и од класа 2, мора да постои некој механизам кој ги спречува ГТК молекулите од класа 2 да се врзат за истата група на противгени пептиди како и молекулите од класа 1. Кога ГТК молекулите од класа 2 се синтетизираат во РЕР, три пара на алфа-бета-вериги од класа 2 се поврзуваат со претходно склопен тример на протеин наречен **неменлива верига (Ли, КД74)**. Овој тримерен протеин стапува во меѓудејство со процепот кој врзува пептиди во молекулите од класа 2, спречувајќи ги така ендогено создадените пептиди да се врзат за процепот додека молекулите од класа 2 се во РЕР (слика 8-22а). Неменливата верига исто така е вклучена во диплењето на алфа и бета-веригите од класа 2, нивното излегување од РЕР и понатамошното патување на молекулите од класа 2 по ендоцитната патека за преработување од транс-Голџиевата мрежа.

Улогата на непроменливата верига во насочувањето на молекулите од класа 2 е прикажана на експерименти со трансфекција на клетки кои имаат недостаток на гени кои ги кодираат ГТК молекулите од класа 2 и неменливата верига. Со имунофлуоресцентно обележување на таквите клетки трансфектирани само со ГТК гени за класа 2, се откриваат молекули од класа 2 локализирани во Голџиевиот комплекс. Од друга страна, кај клетките кои биле трансфектирани со ГТК гените од класа 2 и генот за неменливата верига, молекулите од класа 2 биле локализирани во цитоплазматските везикуларни структури од ендоцитната патека. Неменливата верига во нејзината цитоплазматска опашка содржи места кои



СЛИКА 8-22 **(а) Склопување на ГТК молекулите од класа 2**. Во рапавиот ендоплазматски ретикулум, новосинтетизираниот ГТК молекул од класа 2 се врзува за неменливата верига. Врзаната верига спречува предвремено врзување на пептиди за молекулот од класа 2 и помага во насочувањето на комплексот до ендоцитните оддели кои содржат пептиди кои потекнуваат од егзогените противгени. По дигестијата на неменливата верига останува КЛИП, мал фрагмент кој останува во врзувачката вдлабнатина на ГТК молекулот од класа 2. ХЛА-ДМ, некласичен ГТК молекул од класа 2 која е прикажана во ендозомалните оддели, посредува при размената на противгените пептиди за КЛИП. Некласичниот молекул од класа 2 ХЛА-ДО може да дејствува како негативен регулатор на преработувањето на противгени од класа 2 со врзување за ХЛА-ДМ и спречување на неговата улога во одделувањето на КЛИП од молекулите од класа 2. (б) Споредбата на тридимензионалните структури кои ја покажуваат врзувачката вдлабнатина на ХЛА молекулите од класа 2 (алфа1 и бета1) кои содржат различни противгени пептиди или КЛИП. Црвените линии го покажуваат комплексот од ДР4 со пептидот колаген 2, жолтите линии се ДР1 заедно со пептидот инфлуенца хемаглутинин, а сините линии се ДР3 поврзан со КЛИП. (Н го означува амино крајот, а Ц карбоксилниот крај на пептидите). Не се забележуваат големи разлики во структурата на молекулите од класа 2 или во конформацијата на врзаните пептиди. Споредбата покажува дека КЛИП се врзува за молекул од класа 2 на начин кој е идентичен со начинот на кој се врзуваат противгените пептиди. *[Делот б од Dessen et al., 1987, Immunity, 7:473-481; сопственост на Don Wiley, Harvard University.]*

даваат сигнали за распоредување и влијаат на транспортот на класа 2 од ГТК комплексот од транс-Голџиевата мрежа кон ендоцитните оддели.

Пептидите се склопуваат со ГТК молекулите од класа 2 преку разместување на КЛИП

Неодамнешни експерименти укажуваат дека најголем дел од комплексите меѓу ГТК од класа 2 и неменливата верига се транспортираат од РЕР, каде што се формираат, низ Голџиевиот комплекс и транс-Голџиевата мрежа, а потоа низ ендоцитната патека, движејќи се од раните ендозоми до доцните ендозоми и најпосле до лизозомите. Како што се зголемува протеолитичката активност во секој следен оддел, неменливата верига постепено се разложува. Сепак, мал фрагмент од неменливата верига, наречен КЛИП (*пептид од неменливата верига поврзан со класа 2*) останува врзан за молекулот од класа 2 по разградувањето на неменливата верига во ендозомалниот оддел. КЛИП физички ја пополнува пептид-врзувачката вдлабнатина во молекул од класа 2, веројатно спречувајќи на тој начин какво било предвремено врзување на противгени пептиди (види слика 8-22а).

Некласичниот ГТК молекул од класа 2 наречен ХЛА-ДМ е потребен за катализирање на размената на КЛИП со противгените пептиди (види слика 8-22а). Како и други ГТК молекули од класа 2, ХЛА-ДМ е хетеродимер изграден од алфа и бета-вериги. Сепак, за разлика од другите молекули од класа 2, ХЛА-ДМ не е полиморфен и не се прикажува врз мембраната од клетката, туку првенствено се сретнува во ендозомалниот оддел. ДМ алфа и ДМ бета гените се наоѓаат близу до гените ТАП и ЛМП во ГТК на луѓето, а ДМ се прикажува во клетките кои прикажуваат класични класа 2 молекули.

Реакцијата помеѓу ХЛА-ДМ и КЛИП од класа 2, комплексот кој ја олеснува размената на КЛИП за друг пептид, во присуство на ХЛА-ДО е ослабена, бидејќи тој се врзува за ХЛА-ДМ и ја намалува ефикасноста на размената. ХЛА-ДО, како и ХЛА-ДМ, е некласичен и неполиморфен молекул од класа 2 кој, исто така, се сретнува во ГТК на другите видови. ХЛА-ДО се разликува од ХЛА-ДМ по тоа што се прикажува само врз Б клетките и во тимусот и за разлика од другите молекули од класа 2, нејзиното прикажување не е поттикнато од страна на ИФН-гама. Дополнителна разлика е тоа што гените кои ги кодираат алфа и бета-веригите на ХЛА-ДО не се соседни во ГТК, како сите останати парови на алфа и бета-гени од класа 2 (види слика 8-11).

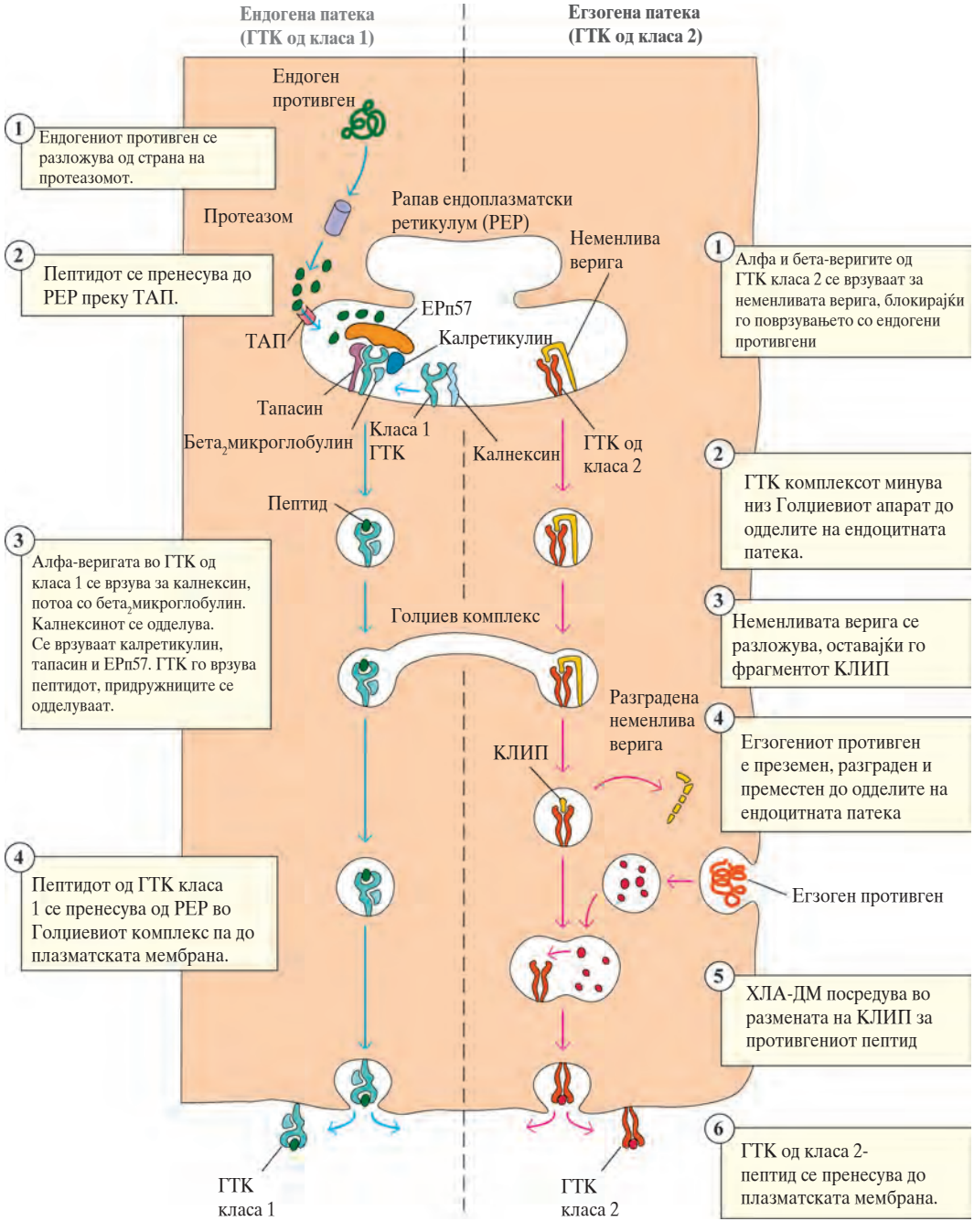
Изолирани се молекули ХЛА-ДР, поврзани со КЛИП од клеточна линија која не прикажува ХЛА-ДМ и поради тоа има дефектно преработувањето на противгени. Со споредување на структурата на ХЛА-ДР3-КЛИП со друг ДР молекул врзан за противгениот пептид открива дека КЛИП се врзува за класа 2 на истиот стабилен начин како и противгениот пептид (слика 8-22б). Откритието на ова стабилно соединение во клетката со дефектен ХЛА-ДМ го поддржува тврдењето дека ХЛА-ДМ е потребен за размена на КЛИП.

Иако е јасно дека ХЛА-ДО ја прилагодува активноста на ХЛА-ДМ, нејзината прецизна улога на останува нејасна. Една можност е дека таа учествува во избирањето на пептиди кои се врзани за ГТК молекулите од класа 2 во Б-клетките. Во овие клетки ДО се појавува во комплекс со ДМ, а оваа поврзаност продолжува и во ендозомалните оддели. Состојбите со повисока киселост ја ослабуваат врската ДМ/ДО и ја зголемуваат можноста за врзување на противгените пептиди и покрај присуството на ДО. Такво меѓудејство зависно од пХ може да доведе до селективно врзување на пептиди за класа 2 кои

потекнуваат од лизозомалните оддели во Б-клетките за разлика од другите ППК.

Како и со ГТК молекулите од класа 1, за одржување на структурата и стабилноста на ГТК молекулите од класа 2 потребно е врзување пепиди. Штом пептидот се врзе, комплексот пептид-класа 2 се пренесува во плазматската мембрана, каде неутралната pH на средината овозможува комплексот да заземе компактна, стабилна форма. Пептидите многу силно се врзани во оваа компактна форма, што е тешко да се замени пептид, врзан за класа 2 врз мембраната со друг пептид при физиолошки околности.

На слика 8-23 е сумирана ендогената патека (лева страна) и е споредена со засебната егзогена патека (десно), која беше објаснета погоре. Дали противгениот пептид ќе се врзе со молекулите од класа 1 или класа 2 зависи од начинот на влегување во клетката, егзоген или ендоген и зависи од местото каде се преработува. Сепак, поврзаноста не е апсолутна и егзогените противгени можат, кај некои ППК, да бидат

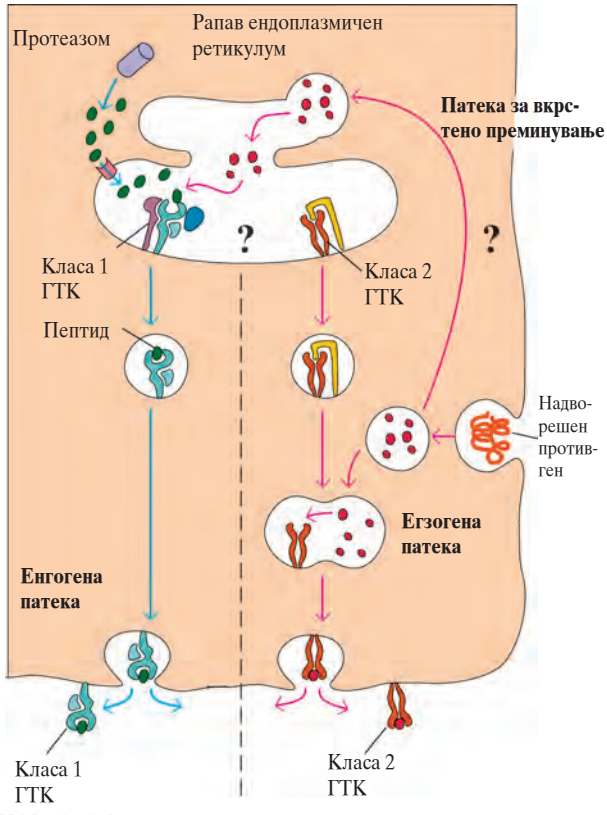


СЛИКА 8-23 За ендогените (зелена боја) и егзогените (црвена боја) противгени се употребуваат одделни патеки за прикажување противген. Начинот за влез на противгенот во клетките и областа за преработување противгенот одредува дали противгените пептиди се поврзуваат со ГТК молекулите од класа 1 во рапавиот ендоплазмичен ретикулум или со молекулите од класа 2 во ендоцитните оддели.

претставени од страна на молекулите од класа 1 преку процес наречен вкрстено прикажување.

Вкрстено-прикажување егзогени противгени

Во одредени случаи, ППК може да претстави егзоген противген врз цитотоксичните Т-клетки во контекст на ГТК молекулите од класа 1. Феноменот вкрстено-прикажување кој прво бил објаснет од Мајкл Беван, а неодамна и подетално расветлен од Питер Кресвел, бара интернализираните противгени кои обично се прифатени од егзогената патека која води до прикажување со ГТК од класа 2, да се вкрстат со ендогената патека за прикажување на пептид од класа 1. Потоа овие пептиди се претставени (вкрстено-претставени) во контекст на ГТК молекулите од класа 1. Предложените механизми за вкрстено прикажување вклучуваат размена во ендозомалните оддели на егзогените пептиди со оние пептиди кои веќе се вклучени во молекулите од класа 1 во ЕР. Исто така, можно е егзогените пептиди да имаат пристап до ЕР во текот на целиот период на преработување. Во моментов, не е познато дали ППК кои се способни за вкрстено прикажување



СЛИКА 8-24 Хипотетски механизам за вкрстено прикажување на егозгени противгени од страна на ГТК молекулите од класа 1. Овој процес настанува само кај одредени видови противген-прикажувачки клетки и овозможува ГТК од класа 1 да се врзе за противгени кои се интернализирани преку механизми на ендоцитоза и фагоцитоза. Противгенот може да биде интернализиран од страна на која било патека и преработен за да се создадат пептиди прикладни за врзување со класа 1. Прашалниците означуваат нејасни фази во патеката за вклучување на пептидот во ГТК класа 1.

го користат овој механизам како алтернатива за обичното прикажување на ендогени противгени, или тоа е единствена патека за прикажување на ГТК од класа 1 во овие клетки. Хипотетска патека за вкрстеното прикажување е прикажана на слика 8-24. Точните начини преку кои противгенот го постигнува вкрстувањето од егзогената во ендогената патека остануваат нејасни.

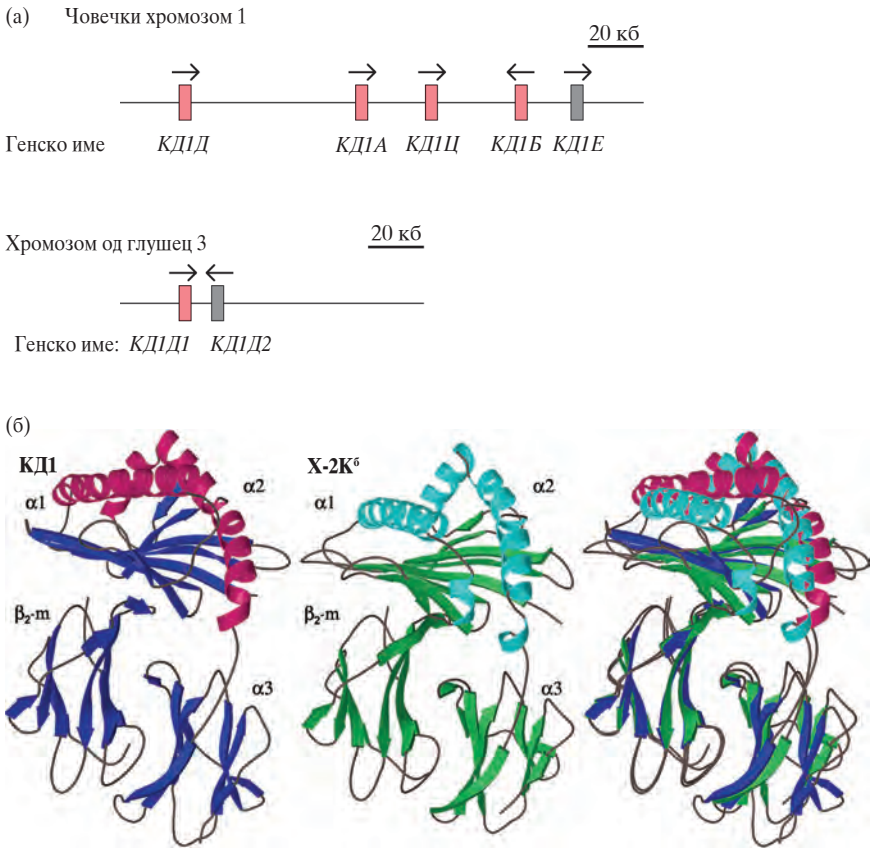
Најчисти примери за вкрстено прикажување се сретнуваат кај стеблестите клетки; не е сигурно дали вкрстеното прикажување функционира и кај други ППК, иако првичните извештаи укажуваат дека макрофагите би можеле исто така да ја имаат оваа способност. Како што беше објаснето во Поглавје 14, способноста на стеблестите клетки вкрстено да претставувтаат противгени претставува голема предност за домаќинот, со тоа што им овозможува на стеблестите клетки да заробат вируси, да ги преработат вирусните противгени и да создаваат ЦТЛ кои можат да напаѓаат вируси и вирусно заразени клетки пред вирусните инфекции масовно да се прошират.

Иако стеблестите клетки имаат недостаток на рецептори кои вирусите ги користат за влез во клетката на домаќинот, сепак тие можат да заробат многу различни вируси за преработување и прикажување. Можеби главното прашање кое останува отворено за вкрстеното прикажување е како и каде во клетката се спојуваат двете добро дефинирани патеки за претставување на противген за да му овозможат на егозгениот противген да се претстави како ендоген противген. Ова е мошне активна област за истражување, а одговорите ќе стигнат набрзо.

Прикажување на непептидни противгени

До овој момент, расправата за прикажувањето на противгените беше ограничена на пептидните противгени и нивното прикажување од страна на класичните ГТК молекули од класа 1 и класа 2. Добро е познато дека непротеинските противгени исто така се препознаваат од страна на Т-клетките, а во 80-тите години од дваесеттиот век размножување на Т-клетките беше откриено во присуство на непротеински противгени кои потекнуваат од инфективни агенси. Поновите студии покажуваат дека Т-клетките кои прикажуваат ТКР со гама-делта-вериги (Т-клеточните рецептори се димери составени од вериги алфа-бета или гама-делта) реагираат со гликолипидни противгени кои потекнуваат од бактерии како што се *Микобактериум туберколозис*. Овие непротеински противгени се прикажани од членови на КД1 фамилијата на некласични класа 1 молекули.

КД1 фамилијата на молекули се поврзува со бета$_2$-микроглобулинот и има структурна сличност со ГТК молекулите од класа 1. Пет гени ги кодираат човечките КД1 молекули (КД1А-Е, ги кодираат генските продукти КД1а-е). Овие гени не се наоѓаат во ГТК генското подрачје, туку на првиот хромозомот (слика 8-25а). Врз база на хомологијата во секвенцата, гените се класифицираат во две групи. Група 1 вклучува КД1А, Б, Ц и Е, а КД1Д е во група 2. Сите до сега проучувани видови на цицачи имаат КД1 гени, иако бројот варира. Глодарите имаат КД1 гени од група 2, еквивалент на човечките КД1Д, додека зајаците, како и луѓето, имаат пет гени, вклучувајќи ги и група 1 и група 2. Секвенцата на КД1 се разликува повеќе од таа на класичните молекули од класа 1 за разлика од сличностите



СЛИКА 8-25 Фамилијата на КД1 гени и структурата на КД1молекулот. (а) Гените кои ја кодираат фамилијата на молекули КД1 кај луѓето (горе) и глувците (долу). Врз основа на сличноста во секвенците, гените се поделени во две групи: КД1А, Б, Ц и Е се група 1, гените КД1Д се група 2. Продуктите од розевите гени се карактеризирани; За продуктите од сивите гени сè уште не се утврдени функциите. (б) Споредбата на кристалните структури на некласичниот КД1 и класичниот молекул X-2K^{б} кај глушец. Забележете ги разликите кај вдлабнатините во кои се врзува противгенот. *[Делот б е препечатен од Trends in Immuology (formely immuology Today), vol. 19, S.A. Porcelli and R.L.Modin, The CD1 family of lipid antigen presenting molecules, f. 362-68, 1998, со одобрение од Elsevier Science.]*

помеѓу молекулите од класа 1 една со друга. Споредбата на тридимензионалната структура на КД1 кај глувци со ГТК молекулот X-2K^{б} од класа 1 покажува дека вдлабнатината која врзува противген во молекулот КД 1 е подлабока и поволуминозна од вдлабнатината кај класичниот молекул од класа 1 (слика 8-25б).

Прикажувањето на КД1 молекулите варира според подгрупата, гените КД1Д1 се прикажуваат главно кај непрофесионалните ППК и кај одредени подгрупи на Б-клетки. КД1д1 од глушецот се пошироко распространети и се сретнуваат кај Т-клетките, Б-клетките, стеблестите клетки, хепатоцитите и некои епителни клетки. Гените КД1А, Б и Ц се прикажуваат на незрелите тимоцити и професионалните ППК , главно оние од стеблест тип. Прикажувањето на генот КД1Ц се сретнува кај Б-клетките, за разлика од КД1А и Б продуктите. Прикажувањето на КД1 гените може да биде поттикнато со изложување на одредени цитокини како што се ГМ-КСФ или Ил-3. Обрасците на внатреклеточно движење кај молекулите КД1 се разликуваат. На пример, КД1а најмногу се сретнува кај раните ендозоми или врз површината од клетката, КД1б и КД1д се локализирани кај доцните ендозоми, а КД1ц се сретува низ ендоцитниот систем.

Одредени КД1 молекули се препознаваат од страна на Т-клетките во отсуството на надворешни противгени и при овие реакции може да се прикаже само ограничувањето. Испитувања на противгените кои се претствени од страна на КД1 молекулите откриле дека тие се липидни компоненти (миколична киселина) од клеточниот sид на *M. туберкулозис*. Понатамошни проучувања на прикажувањето на КД1 покажаа дека гликолипидот (липоарабиноманан) од *Микобактериум лепрае* исто така може да биде претставен од страна на овие молекули. Податоците што се добиени со расветлување на прикажувањето на противгенот од КД1 укажуваат на постоењето на трета патека за преработување на противгените, патека со различни внатреклеточни чекрои кои не ги вклучуваат молекулите кои го олеснуваат преработувањето на противгените кај класа 1. На пример, КД1 молекулите можат да преработат противген и кај клетки со недостаток на ТАП. Нодамнешни податоци покажуваат дека КД1 молекулите поинаку се движат, при што КД1а се наоѓа на клеточната површина или во ендоцитните оддели за преработување, а КД1б и КД1д во лизозомалните оддели. Како точно КД1 патеката ја дополнува или како се вкрстува со подобро разбраните патеки од класа 1 и класа 2 останува отворено прашање. Прво се мислеше дека Т-клетките кои реагираат со КД1 се ограничени на Т-клетки кои прикажуваат ТКР гама-делта, а немаат КД4 и КД8 или на Т-клетки со ТКР верига алфа специфична за КД1, но неодамнешни студии укажуваат на фактот дека поширока палета на Т-клетки ги препознаваа Т-клетките кои прикажуваат КД1. Неодамнешни докази потврдуваат дека клетките природни убијци (КПУ) препознаваат КД1д молекули кои претставуваат сопствен противген, како и бактериски гликосфинголипиди, укажувајќи на нивната улога во вродениот имун одговор на одредени бактерии. Оваа активност е објаснета во Поглавје 14.

РЕЗИМЕ

- Главниот ткивносовпадлив комплекс (ГТК) кодира молекули од класа 1 и 2, кои учествуваат во прикажување на противгени на Т-клетките и молекули од класа 3, кои имаат различни функции.
- ГТК гените се тесно поврзани и во основа се наследуваат како единици од родителите, овие поврзани единици се наречени хаплотипови.
- ГТК гените се полиморфни - за секој ген постојат многу алели; и полигени-постојат многу различни ГТК гени.
- ГТК молекулите од класа 1 се состојат од голема гликопротеинска верига и бета$_2$-микроглобулин, протеин со еден домен.
- ГТК молекулите од класа 2 се составени од два нековалентно поврзани гликопротиени, алфа и бета-вериги, кодирани од различни ГТК гени.
- Молекулите од класа 1 се прикажуваат на повеќето јадрени клетки, молекулите од класа 2 се ограничени на Б-клетки, макрофаги и стеблести клетки.
- Деталните генски мапи на ГТК од човек и глушец откриваат присуство на гени кои се вклучени во преработувањето на противгенот, вклучувајќи протеазоми и транспортери.
- ГТК алелите влијаат врз имуната реактивност и на способноста да прикажуваат противген, како и на осетливоста на некои болести.
- Генерално, молекулите од класа 1 им претставуваат преработен ендоген противген на КД8$^+$ Тцт, а класа 2 молекулите им претставуваат преработен егзоген противген на КД4$^+$ Тпо.
- Ендогените противгени се разложуваат на пептиди во цитосолот со помош на протеазоми, се склопуваат со молекулите од класа 1 во РЕР и се прикажуваат врз мембраната на КД8$^+$ ТцТ-клетки.
- Егзогените противгени се интернализираат и разложуваат во киселите ендоцитни оддели и последователно се комбинираат со молекулите од класа 2 во РЕР па се прикажуваат врз мембраната на КД4$^+$ ТцТ-клетки.
- Врзувањето на пептидите за молекулите од класа 2 вклучува замена на фрагмент од неменливата верига во пептид-врзувачкиот процеп низ процес кој е катализиран од неклассичниот ГТК молекул ХЛА-ДМ.
- Егзогените пептидни противгени кај одредени типови на клетки може да пристапат до патеките за прикажување од класа 1 преку фагозомите во процес наречен вкрстено прикажување.
- Прикажувањето на непептидните (липидни и гликолипидни) противгени кои произлегуваат од бактерии ги вклучуваат КД1 молекулите слични на молекулите од класа 1.

Референции

Ackerman, A. L., and P. Cresswell. 2004. Cellular mechanisms governing cross-presentation of exogenous antigens. Nature Immunology 5:678.

Brigl, M., and M. B. Brenner. 2004. CD1: Antigen presentation and T cell function. Annual Review of Immunology 22:817.

Brode, S., and P. A. Macary. 2004. Cross-presentation: Dendritic cells and macrophages bite off more than they can chew! Immunology 112:345.

Brown, J. H., et al. 1993. Three-dimensional structure of the human class II histocompatibility antigen HLA-DR1. Nature 364:33.

Doherty, P. C., and R. M. Zinkernagel. 1975. H-2 compatibility is required for T-cell mediated lysis of target cells infected with lymphocytic choriomeningitis virus. Journal of Experimental Medicine 141:502.

Fahrer, A. M., et al. 2001. A genomic view of immunology. Nature 409:836.

International Human Genome Sequencing Consortium. 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. Nature 409:860.

Gadola, S. D., et al. 2000. TAP deficiency syndrome. Clinical and Experimental Immunology 121:173.

Horton, R., et al. 2004. Gene map of the extended human MHC. Nature Reviews Genetics 5:1038.

Kelley, J., et al. 2005. Comparative genomics of major histocompatibility complexes. Immunogenetics 56:683.

Madden, D. R. 1995. The three-dimensional structure of peptide-MHC complexes. Annual Review of Immunology 13:587.

Margulies, D. 1999. The major histocompatibility complex. In Fundamental Immunology, 4th ed. W. E. Paul, ed. Lippincott-Raven, Philadelphia.

Parham, P. 1999. Virtual reality in the MHC. Immunological Reviews 167:5.

Rock, K. L., et al. 2004. Post-proteosomal antigen processing for major histocompatibility complex class I presentation. Nature Immunology 5:670.

Rothenberg, B. E., and J. R. Voland. 1996. Beta 2 knockout mice develop parenchymal iron overload: A putative role for class I genes of the major histocompatibility complex in iron metabolism. Proceedings of the National Academy of Science U.S.A. 93:1529.

Rouas-Freiss, N., et al. 1997. Direct evidence to support the role of HLA-G in protecting the fetus from maternal uterine natural killer cytolysis. Proceedings of the National Academy of Science U.S.A. 94:11520.

Sugita, M., et al. 2004. New insights into pathways for CD1-mediated antigen presentation. Current Opinion in Immunology 16:90.

Корисни веб-страници

http://www.bioscience.org/

Страницата *Bioscience* вклучува дел наречен Бази на податоци, каде се наведени отстранети гени (knockouts). Достапни се информации од проучувањата на последиците од целното отстранување на ГТК молекулите и други

делови од молекули, вклучувајќи бета$_2$-микроглобулин и неменливата верига од класа 2.

http://www.bshi.org.uk/

Страницата на Британското здружение за хистокомпатибилност и имуногенетика содржи информации за типизирањето на ткивата и пресадување и линкови до веб-страници во светот поврзани со ГТК.

www.nature.com/nrg/journal/v5/n12/poster/GTKmap

Слика со детална мапа на гените од човечкиот ГТК од Нортон и др. кои се цитирани претходно.

http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla/

Базата на податоци International Imunogenetics (IMGT) содржи линкови од веб-страници со информации за структурата на ХЛА гените и најнови листи и секвенци за сите ХЛА алели кои официјално се признати од одборот за номенклатура на ХЛА при Светската здравствена организација.

Прашања за учење

ПРАШАЊЕ ОД КЛИНИЧКИ ФОКУС Пациенти со недостаток на ТАП имаат делумен имунонедостаток како и автоимуни манифестации. Како профилот на имуните клетки од пациентот го објаснуваат делумниот имунонедостаток? Зошто е тешко да се измисли лекување со генска терапија за оваа болест, покрај фактот дека е вклучен само еден генски дефект?

1. Наведете кој од следниве искази е точен или неточен. Ако мислите дека одреден исказ е неточен, објаснете зошто.
   а. Моноклонско противтело кое е специфично за бета$_2$-микроглобулин- може да се користи за откривање на двете ГТК молекули од класа 1 К и Д врз површината од клетките.
   б. Противген-прикажувачките клетки врз нивните мембрани прикажуваат ГТК молекули од класа 1 и класа 2.
   в. ГТК гените од класа 3 кодираат протеини врзани за мембраната.
   г. Кај измешана популација, поверојатно е поединец да е хистокомпатибилен со еден од неговите родители отколку со неговите браќа и сестри.
   д. ГТК молекулите од класа 2 обично се врзуваат за подолги пептиди отколку молекулите од класа 1.
   ѓ. Сите клетки прикажуваат ГТК молекули од класа 1.
   е. Поголемиот дел пептиди кои се прикажани на клетките од страна на ГТК молекулите од класа 1 и класа 2 потекнуваат од сосптвените протеини.

2. Вкрстувате глушец БАЛБ/ц (Х-2^d) со глушец ЦБА (Х-2^k). Какви ГТК молекули ќе прикажува Ф1 потомството на (а) клетките од црниот дроб и (б) нивните макрофаги?

3. За да ги проучите структурата и функцијата на ГТК молекулот од класа 1 К^d и ГТК молекулот од класа 2 ИА^d, одлучувате да ги трансфектирате гените кои ги кодираат овие протеини во клеточна линија на фибробласти од глушец (Л клетка) кои потекнуваат од сојот ЦЗИкс (Х-2^k). Л-клетките нормално не функционираат како противген-прикажувачки клетки. Во следната табела, наведете која од наведените ГТК молекули ќе биде (+) или нема да биде (-) прикажана врз мембраната од трансфектираните Л-клетки.

	ГТК молекули прикажани врз мембраната од трансфектираните L-клетки					
Трансфектиран ген	**D^k**	**D^b**	**K^k**	**K^b**	**IA^k**	**IA^b**
Нема						
K^b						
IAалфаb						
IAбетаb						
IAалфаb и IAбетаb						

4. Кај СЈЛ сојот на глушец, кој го има хаплотипот Х-2^c, е отстранет локусот *ИЕалфа*.
   а. Наведи ги класичните ГТК молекули кои се прикажани врз мембраната од макрофагите на СЈЛ глувците.
   б. Ако гените од класа 2 *ИЕалфа* и *ИЕбета* од сојот Х-2^k се трансфектираат во СЈЛ макрофагите, кои други класични ГТК молекули ќе се прикажат врз трансфектираните макрофаги?

5. Нацртајте шема која ќе ја прикаже општата структура, вклучувајќи ги домените од ГТК молекулите од класа 1, ГТК молекулите од класа 2 и противтело врзано врз мембраната од Б-клетките. Означете ја секоја верига и домените кои се наоѓаат во неа, противген-врзувачите подрачја и подрачјата кои имаат имуноглобулинска здиплена структура.

6. Карактеристична особеност на ГТК е големиот број на различни алели во секој локус.
   а. Каде во ГТК молекулите се наоѓаат повеќето од полиморфните аминокиселински остатоци.
   б. Како се верува дека настанал полиморфизмот на ГТК?

7. Како студент на час по имунологија во лабораторија, дадени ти се клетки од слезина на глушец кој е имунизиран со вирусот ЛЦМ (ЛЦМВ). Функционалните активности, кои се специфични за противген, на овие клетки ги одредувате со две различни анализи. Во анализата 1, клетките од слезината се инкубираат со макрофаги кои биле кусо изложени на ЛЦМВ; создавањето на интерлеукин 2 (Ил-2) е позитивен одговор. Во анализата 2, клетките од слезината се инкубирани со целни клетки инфицирани со ЛЦМВ; разградување на целните клетки претставува позитивен одговор во оваа анализа. Резултатите од анализата со употреба на макрфаги и целни клетки од различни хаплотипови се претставени во табелата најгоре на страница 221. Забележете дека експериментот е спороведен на начин кој ги исклучува сите алореактивни реакции (реакциите против туѓиите ГТК молекули).
   а. Која клеточна популација покажува активност при двете анализи?
   б. Кај кои ГТК молекули е откриена функционална активност при двете анализи?
   в. Од резултатите на овој експеримент, кои ГТК молекули се неопходни, покрај вирусот ЛЦМ, за специфична реактивност на клетките од слезината во секоја од двете анализи?
   г. Кои дополнителни експерименти можете да ги изведете за недвојбено да потврдите кои ГТК молекули се не-

Сој на глувци кој се користи како извор на макрофаги и целни клетки	ГТК хаплотип на макрофаги и вирусно-заразени целни клетки				Реакција на клетките од слезината	
	K	IA	IE	D	Создавање на ИЛ-2 како одговор на ЛЦМВ-пулсираните макрофаги (анализа 1)	Разградување на ЛЦМВ-заразените клетки
C3H	k	k	k	k	+	-
BALB/c	d	d	d	d	-	+
(BALB/c X B10.A)F1	d/k	d/k	d/k	d/d	+	+
A.TL	s	k	k	d	+	+
B10.A (3R)	b	b	b	d	-	+
B10.A (4R)	k	k	-	b	+	-

Për përdorim me Pyetjen 7

опходни за реактивност на клетките од слезината специфична за противгенот?

д. Кои од соевите на глувци кои се наведени во табелата би можеле да бидат изворот за имунизираните клетки од слезина кои се тестирани во функционалните анализи? Наведете ги вашите причини.

8. Клон на ТцТ-клетки препознава одделни пептиди од вирусот на сипаници кога тој е претставен од страна на Х-2Д^{б}. Друг ГТК молекул има пептид-врзувачки процеп кој е идентичен на процепот кај Х-2Д^{б}, но се разликува од него во неколку аминокиселини во алфа1бета1 доменот. Предвидете дали вториот ГТК молекул може овие вирусни пептиди да му ги претстави на клонот на ТцТ-клетки. Накратко обајаснете го вашиот одговор.

9. Црвените крвни зрнца од човек немаат јадро и не прикажуваат ГТК молекули. Зошто ова својство претставува олеснителна околност при трансфузија на крв?

10. Хипотетската комбинација на алелите *ХЛА-А99* и *ХЛА-Б276* носи релативен ризик 200 за ретката, сè уште неименувана болест која е фатална за децата во предадолесценција.
    а. Дали секое лице со А99/Б276 ќе заболи?
    б. Дали секој со оваа болест ќе ја има ХЛА комбинацијата А99/Б276 ?
    в. Колку често комбинацијата на алелите А99/Б276 ќе се сретнува во општата популација? Дали мислите дека оваа комбинација ќе биде помалку или повеќе честа отколку што се предвидува од фреквенцијата на двата поединечни алели. Зошто?

11. Објаснете ја разликата помеѓу поимите *противген-прикажувачка клетка* и *целна клетка*, земајќи предвид дека тие често се употребуваат во имунологијата.

12. Одредете ги следниве изрази:
    а. Спрегнатост со сопствен ГТК
    б. Преработување на противген
    в. Ендоген противген
    г. Егзоген противген

13. За секоја од следниве клеточни компоненти или процеси, наведете дали се вклучени во преработувањето и прикажувањето на егзогените противгени (ЕЦ), ендогените противгени (ЕН) или и двата (Д). Накратко објаснете ја функцијата на секоја компонента.
    а. _____ГТК молекули од класа 1
    б. _____ГТК молекули од класа 2
    в. _____Неменлива (Ли) верига
    г. _____Лизозомални хидролази
    д. _____Протеини ТАП1 и ТАП2
    ѓ. _____Транспорт на меурчињата од РЕР во Голџиевиот комплекс
    е. _____Протеазоми
    ж. _____Фагоцитоза или ендоцитоза
    з. _____Калнексин
    s. _____КЛИП
    и. _____Тапасин

14. Покажано е дека противген-прикажувачки клетки претставуваат лизозомен пептид 46-61 заедно со молекулот од класа 2 ИА^{к}. Кога КД4^{+} Тпо клетки се инкубирани со ППК и нативен лизозомен пептид или синтетички лизозомен пептид 46-61, настанува активирање на Тпо клетки.
    а. Ако хлорокин се додаде во инкубираната мешавина, прикажувањето на нативниот протеин е спречено, но пептидот и понатаму го поттикнува активирањето на Тпо клетки. Објаснете зошто настанува ова?
    б. Ако додавањето на хлорокин се одложи 3 часа, нема попречување на прикажувањето на нативниот пептид. Објаснете зошто настанува ова?

15. Клетките кои можат да прикажуваат противген врз Тпо клетки се класифицирани во две групи - професионални и непрофесионални ППК.
    а. Наведете ги трите вида на професионални ППК . За секој вид, наведете дали конститутивно прикажува ГТК молекули од класа 2 и костимулаторен сигнал или мора да биде активиран пред да го прави тоа.
    б. Наведете три примери за непрофесионални ППК. Кога е најверојатно дека овие клетки ќе функционираат во прикажување на противген?

16. Предвидете дали ќе настане размножување на Тпо клетките или ЦТЛ-посредувана цитолиза на целните клетки во следниве смеши на клетки. КД4^{+} Тпо клетки од глушец имунизиран со лизозим, а КД8^{+}ЦТЛ се од глушец инфициран со инфуленца. Користете Р за да означите одговор и НР за да означите дека нема одговор.
    а. _____Тпо клетките со Х-2^{к} + лизозим-пулсирани макрофаги Х-2^{к}
    б. _____Тпо клетките со Х-2^{к} + лизозим-пулсирани макрофаги Х-2$^{б/к}$
    в. _____Тпо клетките со Х-2^{к} + лизозим-пулсирани макрофаги Х-2^{д}

г. _____ЦТЛ со Х-2^{к} + Х-2^{к}од макрофаги заразени со инфлуенца
д. _____ЦТЛ со Х-2^{к} + Х-2^{д}од макрофаги заразени со инфлуенца
ѓ. _____ЦТЛ со Х-2^{к} + Х-2$^{д/к}$од макрофаги заразени со инфлуенца

17. ХЛА-ДМ и ХЛА-ДО се наречени некласични ГТК молекули од класа 2. Како се разликуваат од класичните ГТК молекули од класа 2? Како се разликуваат меѓу себе?

18. Неодмана е покажано дека молекулите од КД1 фамилијата прикажуваат непептидни противгени.
    а. Кој е главниот извор на непептидни противгени?
    б. Зошто КД1 молекулите не се класифицирани како членови на ГТК фамилијата и покрај тоа што тие се поврзуваат со бета$_2$-микроглобулинот-?
    в. Кој доказ укажува дека КД1 патеката е различна од патеката која ја користат ГТК молекулите од класа 2?

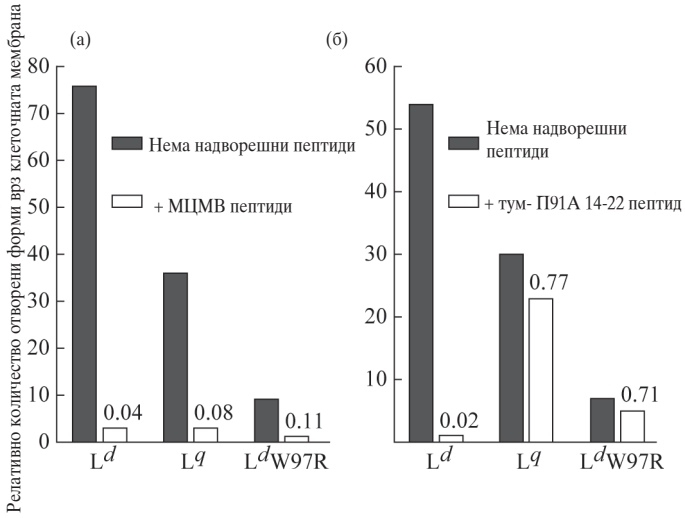
19. Предметно стакло од макрофаги е обоено со имунофлуоресценција со употреба на моноклонски противтела за ТАР1/ТАР2 комплексот. Кој од следниве внатреклеточни оддели ќе прикаже позитивно боење со ова противтело?
    а. Површината на клетката.
    б. Ендоплазматскиот ретикулум
    в. Голџиевиот апарат
    д. Клетките нема да бидат позитивни бидејќи соединението ТАР1/ТАР2 не се прикажува кај макрофагите.

20. ХЛА одредниците не се користат само за типизирање на ткивата при пресадување на органи, туку и како обележувачи за тестирање на татковство. Ако се дадени следниве фенотипови, кој од потенцијалните татковци е најверојатно вистинскиот биолошки татко? Објаснете зошто секој од нив би можел или не би можел да биде биолошки татко?

	ХЛА-А	ХЛА-Б	ХЛА-Ц
Потомок	A3,43	B 54, 59	C5, 8
Биолошка мајка	A3, 11	B 59, 78	C8, 8
Потенцијален татко 1:	A3, 33	B 54, 27	C5, 5
Потенцијален татко 2:	A11,43	B 54, 27	C5, 6
Потенцијален татко 3:	A11,33	B 59, 26	C6, 8

АНАЛИЗИРАЊЕ ПОДАТОЦИ. Смит и колегите (*J. Immunology* ***169****: 3105, 2002)* ја испитале способноста на два пептиди да се врзат за два различни алотипови, Л^{d} и Л^{q}, од ГТК молекул од класа 1 кај глушец. Тие го проучувале (а) врзувањето на пептидот од глувчешки цитомегаловирус (МЦМВ, со секвенца на аминокиселините YPHFMPTNL) и (б) синтетизираниот пептид, тум$^{-}$ П91А 14-22 (TQNHRALDL). Пред и по пулсирањето на клетките со целните пептиди, испитувачите ја измериле количината на ГТК молекулите без пептиди врз површината од клетките кои прикажувале или Л^{d}, Л^{q}, или мутантен Л^{d} каде триптофанот мутирал во аргинин на 97-та аминокиселина (Л^{d} Њ97Р). Способноста на пептидот да го намали релативниот број на отворени форми врз површината од клетката го отсликува зголеменото врзување пептидот за ГТК молекулите од класа 1. Одговорете на следните прашања врз база на податоците и она што сте го научиле од оваа книга.

а. Дали има алотипски разлики во врзувањето на пептидот од страна на нативните ГТК молекули од класа 1 врз површината од клетката?
б. Дали има разлика во врзувањето на пептидот МЦМВ за Л^{d} по мутацијата на трипофанот (W) во аргинин (R)



во молекулот L^{d} на позиција 97? Објаснете го вашиот одговор.
в. Дали има разлика во врзувањето на пептидот тум$^{-}$ Р91А 14-22 за Л^{d} по мутацијата на трипофанот (W) во аргинин (R) во молекулот L^{d} на позиција 97? Објаснете го вашиот одговор.
г. Доколку сакате успешно да поттикнете одговор на КД8^{+}Т-клетките против пептидот тум$^{-}$ Р91А 14-22, дали ќе вакцинирате глушец кој ги прикажува Л^{d} и Л^{q}? Објаснете го вашиот одговор.
д. Т-клетките кои се создадени против пептидот МЦМВ имаат различна специфичност од Т-клетките кои се создаваат против пептидот тум$^{-}$ П91А 14-22 кога Л^{d} е спрегнатиот ГТК молекул. Објаснете како различните пептиди можат да се врзат за истиот Л^{d} молекул и спрегнати ќе може да претставуваат пептид на Т-клетки со различни противгени особености.

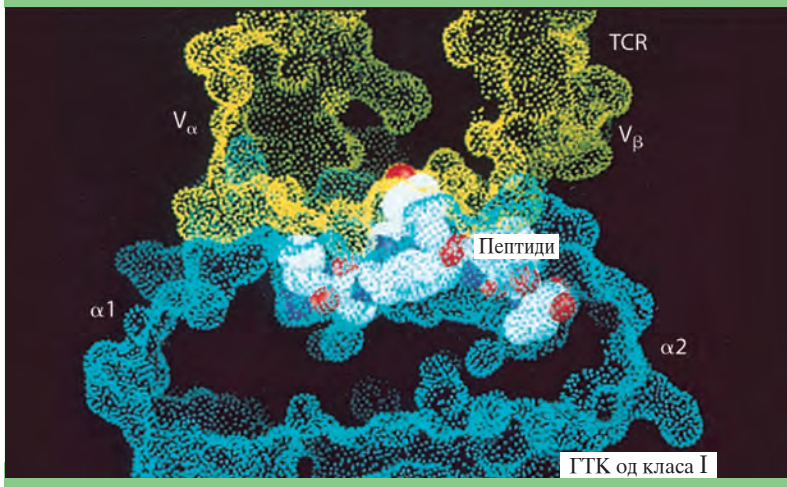
Интерактивна настава

www.whfreeman.com/kuby

САМОСТОЕН ТЕСТ
Преглед на клучни изрази

Поглавје 9

Т-клеточен рецептор



Меѓусебно дејство помеѓу Т-клеточниот рецептор (жолта боја) и ГТК молекул од класа 1 (сина боја) кој претставува врзан пептид (бела и црвена боја). [Од D.N. Garboczi et al., 1996, Nature *384: 134-141, сопственост на D.C.Wiley, Harvard University.]*

- Поранешни проучувања на Т-клеточниот рецептор
- Алфа-бета и гама-делта Т-клеточни рецептори: структура и улоги
- Организација и преуредување на гените со ТКР
- Комплекс на Т-клеточен рецептор: ТКР-КД3
- Т-клеточни помагачки мембрански молекули
- Тридимензионални структури на соединенијата ТКР-пептид-ГТК
- Алореактивност на Т-клетките

Противген-специфичната природа на Т-клеточните одговори јасно покажува дека Т-клетките поседуваат рецептор кој е специфичен за противген и рецептор кој е клонално ограничен. Сепак, идентитетот на овој рецептор останал непознат долго време по утврдувањето на Б-клеточниот рецептор (имуноглобулински молекул). Релевантните експериментални резултати беа контрадикторни и тешки за концепирање во еден модел бидејќи Т-клеточниот рецептор (ТКР) на значајни начини се разликува од Б-клеточниот рецептор кој се врзува за противген. Прво, Т-клеточниот рецептор е врзан за мембраната и не се појавува во растворлива форма како Б-клеточниот рецептор. Според тоа, утврдувањето на неговата структура со класични биохемиски методи беше сложено, па за да се одредеди неговата специфичност беа потребни комплексни клеточни анализи. Второ, меѓудејството на врзување на Т-клеточниот рецептор за противгенот е послабо од она кај противтелата, што бара почувствителни анализи. На крајот, повеќето Т-клеточни рецептори не се специфични само за противген, туку и за противген во комбинација со молекул кој е кодиран од страна на главниот ткивносовпадлив комплекс (ГТК). Оваа особина не дозволува прочистување на Т-клеточниот рецептор со вообичаени техники за врзување на противгенот и го усложнува секој експериментален систем кој е создаден за истражување на рецепторот.

Комбинацијата од имунолошките, биохемиските и молекуларно-биолошките постапки ги надмина овие проблеми. Молекулот кој е одговорен за специфичноста на Т-клетките е хетеродимер составен или од алфа и бета-вериги или од гама и делта-вериги. Пронајдено е дека геномската организација на генската фамилијата од Т-клеточниот рецептор и начините на кои се создава разноликоста на составните вериги се слични како кај гените од Б-клеточниот рецептор. Освен тоа, Т-клеточниот рецептор е поврзан врз мембраната со повеќекомпонтен сигнал-пренесувачки комплекс, КД3, чии функции се слични со оние на Иг-алфа/Иг-бета кај Б-клеточниот рецептор.

Од неодамнешните проучувања се добија нови значајни информации кои се однесуваат на Т-клеточните рецептори, вклучувајќи го и новото сознание за големите разлики меѓу клетките кои имаат рецептори составени од алфа и бета-вериги и клетките со гама и делта-вериги. Алфа-бета ТКР, како и противтелото, се карактеризира со висок степен на специфичност и поради тоа се смета за значаен молекул на стекнатиот имун систем. Наспроти тоа, одредени рецептори на гама-делта Т-клетките изгледа препознаваат класи на противгени кои се присутни и во групи на патогени и според тоа функционираат на начин кој е доследен на вродениот имун систем.

Структурните испитувања со употреба на рендгенска кристалографија открија разлики за тоа како алфа-бета ТКР се врзува за противгени кои се претставени од страна на класа 1 молекулите од ГТК наспроти класа 2 и дадоа резултати за тоа како гама-делта ТКР препознава одредени противгени во нивната природна форма. Ова поглавје ќе ја истражи природата на молекулите на Т-клеточниот рецептор и гените кои ги кодираат и ќе го дискутираме препознавањето на ТКР на туѓите и сопствените противгени.

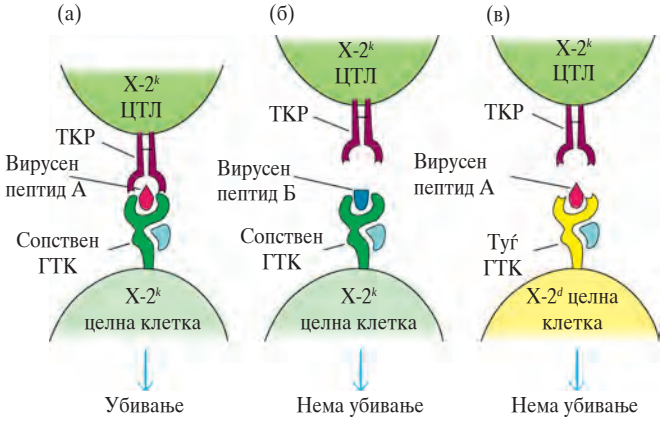
Поранешни проучувања на Т-клеточниот рецептор

До раните 80-ти години од дваесеттиот век, истражувачите научија многу за функцијата на Т-клетката, но беа спречени во нивните обиди за утврдување и изолирање на нејзиниот рецептор кој се врзува за противген. Очигледните паралели помеѓу функциите за препознавање на Т и Б-клетките стимулираа голем експериментален напор за искористувањето на предвидените структурни сличности меѓу имуноглобулините и Т-клеточните рецептори. Извештаите објавени во 70-тите

години од дваесеттиот век тврдеа дека се откриени изотиповите на имуноглобулините кои се поврзани исклучиво со Т-клетките (ИгТ) и од противсерумот кој препознава обележувачи (идиотипови) со променливи подрачја вообичаени за противтелата и Т-клеточните рецептори со слична специфичност. Овие експерименти не можат да се повторат и се докажаа како неточни кога се покажа дека Т-клеточниот рецептор и имуноглобулините немаат заеднички елементи за препознавање и се кодирани од потполно различни фамилии на гени. Како што ќе видите во следниве делови, за правилно да се одговорат прашањата за структурата на Т-клеточниот рецептор, гените кои го кодираат и начинот на кој тој препознава противгени беа потребни добро организирани експерименти кои ги користеа тогашните развојни технологии за создавање на моноклонско противтело и молекулска биологија.

Класичните експерименти го покажаа ограничувањето на сопствениот-ГТК кај Т-клеточниот рецептор

До раните 70-ти години од дваесеттиот век, имунолозите научија да произведат цитотоксични Т-лимфоцити (Тцт) кои се специфични за вирусно заразените целни клетки. На пример, кога глувците беа заразени со вирус од лимфоцитен хориоменингитис (ЛЦМ), тие создаваат Тцт кои можат ин витро да ги разложат заразените со ЛЦМ целни клетки. Сепак, овие Тцт не можеа да се врзат за слободниот ЛЦМ вирус или за вирусните противгени. Зошто Тцт не се врзуваат за вирусот или за вирусните противгени диркетно како што се врзуваат имуноглобулините? Одоговорот започна да се појавува при класичните експерименти на Р.М. Цинкернагел и П.Ц.Доерти во 1974 година (види слика 8-15). Овие проучувања покажаа дека препознавањето на противгенот од страна на Т-клетките не е специфично само за вирусен противген, туку и за противген поврзан со молекул од ГТК (слика 9-1). Се покажа дека Т-клетките го препознаваат противгенот само кога е претставен врз мембраната на клетката од страна на сопствените ГТК молекули. Оваа карактеристика, наречена *ограничување на сопствениот ГТК*, прави разлика



СЛИКА 9-1 Ограничување на сопствениот ГТК на Т-клеточниот рецептор (ТКР). Определен ТКР кој е специфичен и за противгениот пептид и за молекулот од сопствениот ГТК. Во овој пример, Тцт Х-2^k е специфичен за вирусниот пептид А кој е претставен на Х-2^k целната клетка (а). Препознавањето на противгенот не настанува кога пепетидот Б е претставен на Х-2^k целната клетка (б) ниту кога пептидот А е прикажан на Х-2^d целната клетка (в).

помеѓу препознавањето на противгенот од страна на Т-клетките и Б-клетките. Во 1996 година, Цинкернагел и Доерти беа наградени со Нобелова награда за нивната работа.

За објаснување на ограничувањето на ГТК кај Т-клеточниот рецептор беа предложени два модели. *Моделот на двоен рецептор* кој претпоставува дека Т-клетката е со два одделни рецептори, еден за противгенот и еден за молекулот од класа 1 или класа 2 од ГТК. *Моделот на самооштетување* предлагаше дека единечен рецептор препознава промена кај сопствените молекули од ГТК предизвикана од нивното поврзување со туѓи противгени. Повеќе години се водеше дебата меѓу застапниците на двата модела, сè додека привлечниот експеримент на Ц. Кеплер и П. Марак покажа дека специфичноста и за ГТК и за противгенот лежи во еден рецептор. Оттогаш, огромен број на структурни и функционални податоци се додадени како поддршка на моделот на самооштетување.

Т-клеточните рецептори беа изолирани со употреба на клонотипскии противтела

Идентификацијата и изолацијата на Т-клеточниот рецептор се изврши со создавање голем број моноклонски противтела за различни клонови од Т-клетката, а потоа се испитаа противтелата за да се пронајде едно противтело кое е специфично за клон, или *клоноштипско*. Овој приод претпоставуваше дека штом Т-клеточниот рецептор е специфичен и за противгенот и за молекулот од ГТК, тогаш треба да има значајни структурни промени кај рецепторот од клон до клон. Секој клон на Т-клетката треба да има противгенски означувач кој е сличен на означувачот на идиотиповите кои ги карактеризираат моноклонските противтела. Со употреба на овој пристап, истражувачите во раните 80-ти години од дваесеттиот век го изолираа рецепторот и откриј дека е хетеродимер кој се состои од алфа и бета-вериги.

Кога се подготвуваше противсерум со употреба на алфа-бета хетеродимери изолирани од мембраните за различни Т-клеточни клонови, дел од противсерумот се врза за алфа-бета хетеродимерите од сите клонови, додека другиот дел беше клонски специфичен. Овој наод предлагаше дека аминокиселинските секвенци од алфа и бета-веригите кај ТКР, како и секвенците од тешките и лесните вериги од имуноглобулините, имаат константно и варијабилно подрачје кои се распознаваат од противтелата кои препознаваат изотипски или идиотипски одредници (одредница - детерминанта). Подоцна, се идентификуваше втор вид на ТКР хетеродимер кој содржи гама и делта-вериги. Кај луѓето и глувците, поголемиот дел од Т-клетките го прикажуваат алфа-бета хетеродимерот, а останатите Т-клетки го прикажуваат гама-делта хетеродимерот. Како што е објаснето подолу, точниот сооднос на Т-клетките кои прикажуваат ТКР со алфа-бета или гама-делта-вериги се разликува кај различни органи и видови, но обично преовладуваат алфа-бета Т-клетките. Поради преовладувањето на клетките кои поседуваат алфа-бета ТКР и многуте достапни информации за нив, идните дискусии за Т-клеточниот рецептор ќе земаат во предвид дека се мисли на алфа-бета ТКР доколку посебно не е назначено гама-делта.

Генот за ТКР со бета-верига беше клониран со употреба на одземачка хибридизација

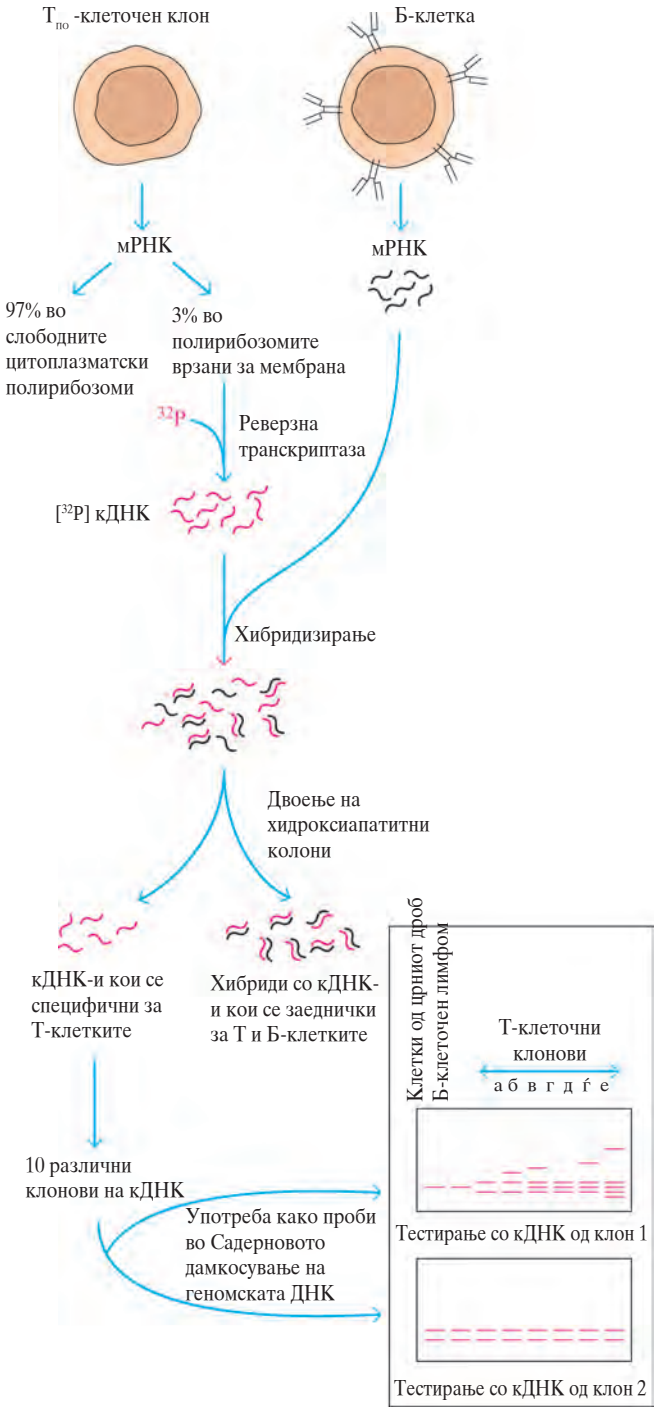
Со цел да се идентификуваат и изолираат гените од ТКР С. М. Хедрик и М.М. Дејвис се трудеа да изолираат мРНК која ги

кодира алфа и бета-веригите од клонот на Тпо клетки. Ова не беше лесна задача бидејќи рецепторот на мРНК претставува само мал дел од вкупната клеточна мРНК. Наспроти тоа, во плазма клетките имуноглобулинот е главниот клеточен продукт кој се лачи, а иРНК кои ги кодираат тешката и лесната верига се среќаваат во изобилство и се лесни за прочистување.

Успешната метода на Hedrick и Davis претпоставува дека мРНК на ТКР како и мРНК која ги кодира другите составни мембрански протеини - ќе биде поврзана со полирибозомите врзани за мембраната наместо со слободните цитоплазматски рибозоми. Затоа тие ја изолираа полирибозомната мРНК врзана за мембраната од клонот на Тпо клетка и користеа реверзна транскриптаза за да ги синтетизираат кДНК означена со ^{32}P (слика 9-2). Бидејќи само 3% од мРНК на лимфоцитите е полирибозомен дел кој се врзува за мембрана овој чекор елиминираше 97% од иРНК на клетката.

Hedrick и Davis потоа користеа техника наречена *одземачка хибридизација на ДНК* за да ја отстранат кДНК означена со ^{32}P која не беше единствена за Т-клетките од нивниот препарат. Нивниот основен принцип за овој чекор се базираше врз претходните мерења на Davis кои покажале дека 98% од гените прикажани на лимфоцитите се заеднички и за Б и за Т-клетките. 2% од гените кои се единствени за Т-клетките треба да вклучуваат гени кои кодираат Т-клеточен рецептор. Затоа, со хибридизирање на Б-клеточната мРНК со нивната Тпо - клеточна кДНК означена со ^{32}P, тие можеа да ја отстранат, или одземат, цела кДНК која беше заедничка за Б и Т-клетките. Нехибридизираната кДНК означена со ^{32}P која остана по овој чекор веројатно ја претставуваше прикажаната полирибозомска мРНК која беше единствена за Тпо клеточниот клон, вклучувајќи ја мРНК која го кодира неговиот Т-клеточен рецептор.

Клонирањето на нехибридизираната кДНК означена со ^{32}P создаде библиотека од која се идентификуваа 10 различни клонови на кДНК. За да се утврди кој од овие Т-клеточно специфични кДНК клонови го прикажуваат Т-клеточниот рецептор, сите се употребуваа како проби за да се најдат гените кои се преуредени во зрелите Т-клетки. Овој пристап се базира на претпоставката дека алфа-бета Т-клеточниот рецептор се покажа дека има константни и варијабилни подрачја, неговите гени треба да подложат на преуредување на ДНК како кај гените на Иг од Б-клетките. Двајцата истражувачи тестираа ДНК од Т-клетки, Б-клетки, клетки од црн дроб и макрофаги со анализата на Садерново дамкосување со употреба на 10 проби од кДНК означена со ^{32}P за да се утврдат единствените Т-клеточни геномски ДНК секвенци. Еден клон покажа ленти кои укажуваат на преуредување на ДНК во Т-клетките, но не и кај другите видови на клетки. Оваа кДНК проба откри шест различни ленти за ДНК од шест различни зрели Т-клетки (види



СЛИКА 9-2 Создавање и идентификување на кДНК клонот кој го кодира Т-клеточниот рецептор. Сликата ја прикажува процедурата која ја користеле С. М. Хедрик и М.М. Дејвис за да добијат клонови од кДНК означена со 32П кои одговараат на мРНК од Т-клетката. Техниката одземачка хибридизација на ДНК им озможи да ја изолираат [32П] кДНК која е единствена за Т-клетката. Означените Тпо-клеточни кДНК клонови беа користени како проби (додаток) при анализите на Садерновото дамкосување на геномската ДНК од хепатоцотите, клетките од Б-лимфомот и шест различни Тпо-клеточни клонови (а-ф). Користењето на кДНК клон 1 даде различен облик за откривање на секој Т-клеточен клон, додека испитувањето со кДНК клон 2 не различен облик. Кога се претпостави дека клетките од црниот дроб и Б-клетките содржат неизменета ДНК од зародишната линија на ТКР и дека секој Т-клеточен клон содржи различно преуредени ТКР гени, резултатите со употреба на кДНК од клон 1 како проба го идентификуваа клонот 1 како Т-клеточен рецепторен ген. кДНК од клонот 2 го идентификува генот за друг Т-клеточен мембрански молекул кој е кодиран од страна на ДНК и кој не подлежи на преуредување. [*Базирано на S.Hendrick et al., 1984,* Nature ***308***:*149*.]

слика 9-2, додаток на долниот дел од сликата). Овие различни ленти веројатно претставуваат преуредени ТКР гени. Такви резултати ќе се очекуваат ако преуредените ТКР гени настануваат само кај зрелите Т-клетки. Забелешката дека секоја од шестте Т-клетки покажала различни ленти при Садерновот тестирање беше во согласност со претпоставените разлики за специфичноста на ТКР од секоја Т-клеточна линија.

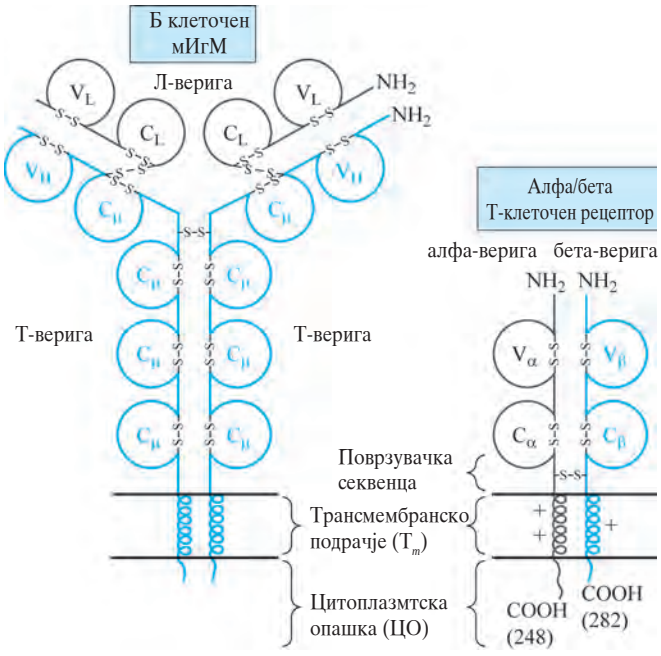
кДНК клонот 1 кој беше откриен со анализата на Садерново дамкосување прикажан на слика 9-2 ги имаше сите знаци на наводен ТКР ген: тоа претставува генска секвенца која се преруредува, прикажана е од мембрански-врзан протеин и се прикажува само кај Т-клетките. Се покажа дека овој кДНК клон ја кодира бета-веригата од Т-клеточниот рецептор. Подоцна, беа утврдени кДНК клоновите кои ја кодираат алфа-веригата, гама-веригата и на крајот делта-веригата. Овие наоди го отворија патот за разбирање на Т-клеточниот рецептор и овозможија понатамошни структурни и функционални проучувања.

Алфа-бета и гама-делта Т-клеточни рецептори: Структура и функција

Структурата на домените на алфа-бета и гама-делта ТКР хетеродимерите се во голема мера слични со домените од имуноглобулините. Според тоа, тие се класифицираат како членови на имуноглобулинската суперфамилија (види слика 4-24). Секој верига во ТКР има два домени кои содржаат внатрешна дисулфидна врска која опфаќа 60 до 75 аминокиселини. Амино крајниот домен кај двете вериги покажува значајна варијација во секвенцата, но задржани се секвенците од остатокот на секоја верига. Според тоа, ТКР домените - еден варијабилен (В) и еден константен (К) - се структурно хомологни на В и К домените на имуноглобулините, а ТКР молекулот е сличен на Фаб фрагментот кој е прикачен за клеточната мембрана наместо за константното подрачје на имуноглобулинскиот молекул. (слика 9-3). Варијабилните подрачја на ТКР имаат три хипервариабилни подрачја, кои се еквивалентни на комплементарно одредувачки подрачја (КОП) во лесните и тешките вериги од имуноглобулините.

Во однос на константното подрачје, секоја верига од ТКР содржи кратка поврзувачка секвенца, каде цистеинскиот остаток формира дисулфидна врска со другата верига од хетеродимерот. По подрачјето на поврзување следува трансмембранско подрачје од 21 до 22 аминокиселини, кое ја поврзува секоја верига за плазмината мембрана. Трансмембранските домени од двете вериги се необични по тоа што содржат позитивно наелектризирани остатоци од аминокиселини. Како што ќе објасниме подолу, овие остатоци поттикнуваат меѓудејство меѓу веригите од ТКР хетеродимер и веригите од сигнално спроведувачкиот КД3 комплекс. На крајот, секоја верига од ТКР содржи кратка цитоплазматска опашка од пет до 12 аминокиселини на карбоксилноиот крај.

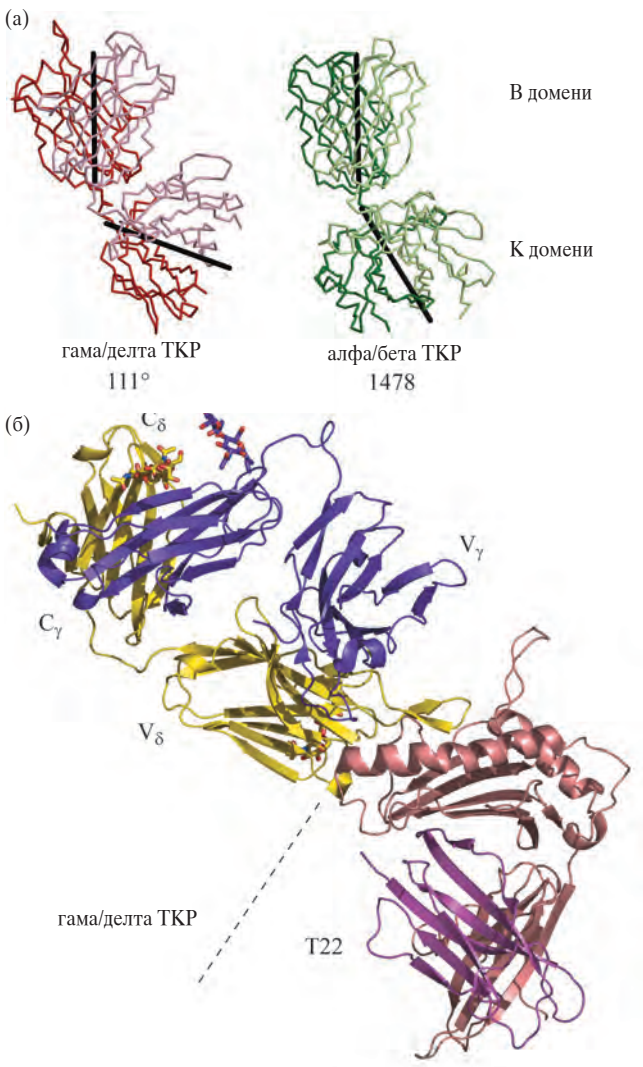
На почетокот беше тешко да се истражуваат алфа-бета и гама-делта Т-клеточните рецептори бидејќи, како и сите трансмембрански протеини, тие се нерастворливи. Овој проблем беше надминат со прикажување на модифицирани форми од протеинот ин витро кој е модифициран да создржи незрели внатрерамковни стоп кодони кои спречуваат преведување на мембрански врзаната секвенца што го прави молекулот нерастворлив.



СЛИКА 9-3 Шематско прикажување на структурната сличност меѓу алфа-бета Т-клеточниот рецептор и ИгМ кој се врзува за мембраната на Б-клетките. Алфа и бета-веригите од ТКР содржат два домени со структура која е имуноглобулиновидно здиплена. Амино крајните-домени (Валфа и Вбета) прикажуваат варијација во секвенцата и содржат три хипервариабилни подрачја кои се еквивалентни на КОП кај противтелата. Секвенцата на константните подрачја (Калфа и Кбета) не варираат. Двете вериги од ТКР се поврзани со дисулфидна врска меѓу постојаните секвенци. Т веригите од ИгМ меѓусебно се поврзани со дисулфидна врска во зглобното подрачје од Т-верига, а веригите Л се поврзани со веригите Т со дисулфидни врски помеѓу К краевите од веригите Л и регионот Кми. ТКР молекулите со КД3 стапуваат во меѓудејство преку позитивно наелектризирани остатоци од аминокиселини (означени со +) во нивните трансмембрански подрачја. Броевите ја означуваат должината на веригите во ТКР молекулот. За разлика од противтелниот молекул, кој е бивалентен, ТКР е моновалентен.

Поголемиот дел од циркулирачките Т-клетки кај луѓето и глувците прикажуваат Т-клеточни рецептори кодирани од алфа-бета гените. Овие рецептори стапуваат во меѓудејство со пептидните противгени кои се преработени и претставени врз површината од противген-прикажувачките клетки. Првичните показатели дека одредени Т-клетки реагирале со *непептидните* противгени не беа јасни додека проблемот не почна да се разјаснува кога се откри дека продуктите од фамилијата на КД1 гените претставуваат непептидни противгени како што се гликолипидите и фосфолипидите. Од неодамна, откриено е дека одредени гама-делта клетки реагираат со протеинските противгени кои ниту се преработени ниту прикажни во ГТК молекулите.

Разликите во противген-врзувачките подрачја од алфа-бета и гама-делта ТКР беа очекувани поради различните противгени кои тие ги препознаваат, но не беа очекувани големи разлики. Сепак, тридимензионалната структура на гама-делта рецепторот која реагира со фосфолипидниот противген, објавена од



СЛИКА 9-4 Споредба на кристалните структури од гама-делта ТКР и алфа-бета ТКР. (а) Човековиот гама-делта молекул ја покажува разликата (означено со црни линии) во аголот на лактот во споредба со аголот на лактот на алфа-бета молекулот. (б) Гама-делта од ТКР од глушец Г8 во комплекс со некласичниот ГТК молекул Т22. Ова поврзување настанува независно од областа за поврзување пептиди кај Т22. Забележете како поврзувањето вклучува главно контакт со КОП3 од веригата делта во рецепторот. [*Дел а од T.Allison et al, 2001,* Nature ***411:***820; *Дел б од E.J. Adams et al., 2005, Science* **308:***227*]

Тим Алисон, Дејв Гарбоци и нивните соработници, открива значителни разлики во целосната структура на двата типа рецептори, укажувајќи на можните разлики во функцијата. Рецепторот кој тие го проучуваа беше димер со гама и делта-вериги (гама9 и делта2), а тие се најчесто прикажни во периферната крв на луѓето. Длабок жлеб врз површината од молекулот го приспособува микробниот фосфолипид за кој гама-делта рецепторот е специфичен. Овој противген се препознава без прикажување со ГТК.

Најголемата карактеристика на оваа структура е како таа се разликува од алфа-бета рецепторот во насока на неговите В и К подрачја . Така наречениот агол на лактот помеѓу долгите оски на В и К подрачје во гама-делта ТКР е 111°. Во алфа-бета ТКР аголот на лактот изнесува 147°, давајќи му на молекулот посебен облик (слика 9-4а). Целосното значење на оваа разлика не е познато, но може да придонесе за разликите кај сигналните механизми и за тоа како молекулите стапуваат во меѓудејство со корецепторните молекули.

Неодмнешна рендгенска кристалографска структура, од Гарсија и колегите, на глушец со гама-делта рецептор во комплекс со некласичен молекул од класа 1 кој е наречен Т22 укажува на фактот дека гама-делта рецепторот се врзува директно за Т22, без потреба од присуство на пептиден противген (слика 9-4б). Последователно тие, со употреба на површна плазмонска резонанца (види слика 6), покажаа дека врзувањето меѓу гама-делта од ТКР со Т22 беше доста цврсто (K_d= 0,10 М). Структурата на комплексот откри дека главниот контакт меѓу противгенот и гама-делта од ТКР вклучува КОП3 јамка од делта-веригата. При меѓудејството помеѓу алфа-бета ТКР и противгенот, КОП3 го овозможува првичниот контакт со противгениот пептид претставен од страна на ГТК молекулите. КОП1 и 2 јамките стапуваат во меѓудејство со зачуваните површински особини од ГТК молекулот. При меѓудејствата на гама-делта ТКР со Т22 , КОП3 повторно го овозможува главниот контакт со противгенот, но контактот не е со претставениот пептид во ГТК молекулот, туку со област надвор од подрачјето за поврзување на пептид врз самиот некласичен ГТК молекул (Т22). Ова препознавање на молекулот Т22 во отсуство на прикажаниот пептид укажува на фактот дека гама-делта рецепторот е посличен на рецепторот за препознавање облици (РПО, види Поглавје 3) отколку на алфа-бета рецепторот.

Додека алфа-бета Т-клетките препознаваат преработен противген и го претставуваат во контекст на ГТК молекулот, голем број податоци покжуваат дека гама-делта Т-клетките не бараат ГТК преработување или прикажуавање за препознавање на противгенот. Прецизните функции на гама-делта Т-клетките сè уште не се познати, а нивната улога во имунитетот треба да се проучи. Препознавањето на противгените кои се заеднички за класите на микроорганизмите, исто како и способноста на гама-делта ТКР да се врзува за некласични молекули од сопствениот-ГТК, како што е објаснето претходно, укажува на улогата за брз одговор која е покарактеристична за вродениот отколку за стекнатиот имунитет.

Бројот на гама-делта Т-клетки во циркулацијата е мал во споредба со клетките кои имаат алфа-бета рецептори, а В генските сегменти од гама-делта рецепторите прикажуваат ограничено различие. Како што се гледа од податоците во табела 9-1, поголемиот дел од гама-делта клетките имаат недостаток и на КД4 и на КД8 и поголемиот дел прикажуваат ист пар на гама-делта-вериги. Кај луѓето доминантниот рецептор кој е прикажан кај циркулирачките гама-делта клетки препознава микробен фосфолипиден противген, пирофосфат 3-формил-1-бутил, кој се среќава кај *Mycobacterium tuberculosis* и други бактерии и паразити. Оваа специфичност за противгените која често се среќава ја поддржува претпоставката дека гама-делта клетките може да функционираат како дел од одговорот на вродениот имунитет, овозможувајќи брза реактивност кон одредени противгени без потребата за преработување. Интересно е тоа што, специфичноста на гама-делта циркулирачките клетки кај глувците и другите видови кои се проучуваат не е паралелна со специфичноста кај луѓето, што укажува на фактот дека одговорот на гама-делта може да биде насочен против патогените со кои често се среќаваат различни видови. Кај одредени видови инфекции, процентот на гама-делта Т-клетки во крвта или во специфичен орган може значително да порасне. Инфекциите со различни бактерии, вклучувајќи ги

ТАБЕЛА 9-1 Споредба на алфа-бета Т-клетките со гама-делта во периферната крв

Карактеристика	алфа-бета Т-клетки	гама-делта Т-клетки
Сооднос од КД3+ клетките	90–99%	1–10%
ТКР В ген од разноликоста во зародишната линија	I madh	Мало
Фенотип КД4/КД8		
КД4+	~ 60%	< 1%
КД4+	~ 30%	~ 30%
КД4+ КД8+	< 1%	< 1%
КД4- КД8-	< 1%	~ 60%
Ограничување на ГТК	КД4+: ГТК од класа 2 КД8+: ГТК од класа 1н	Нема ограничување на ГТК
Лиганди	ГТК + пептиде противген	Фосфолипид, неоштетен протеин

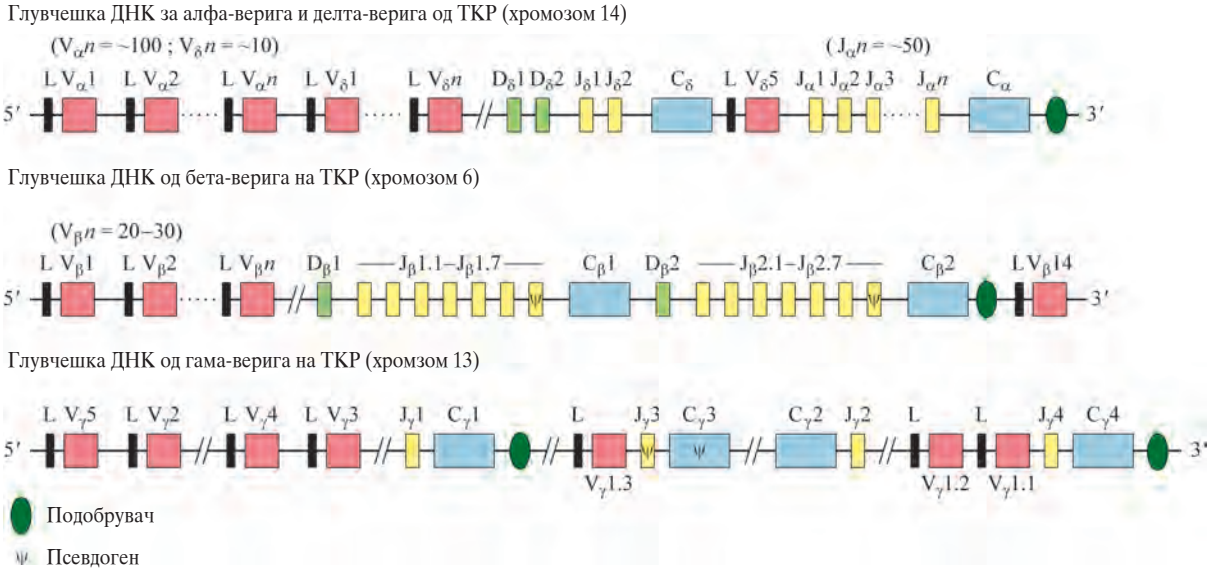
ИЗВОР: D. Kabelitz et al, 1999, *Spreinger Seminars in Immunopathology* **21** (55):36.

доста честите *М. туберколозис* и *Хемофилиус инфуленца* исто како и паразити од маларија и леишманија, доведоа до зголемен број на гама-делта клетки. Гама-делта клетките може да убијат заразени клетки или организми со употреба на механизми кои се слични на механизмите од Тцт (гранулизин и перфорин, види Поглавје 14). Дополнителни податоци за гама-делта клетките ги вклучуваа Т-клетките во хроничните автоимуни болести, вклучувајќи лупус, миозитис и мултипла склероза. Според тоа, податоците кои покажуваат дека гама-делта клетките можат да лачат спектар од хемокини и цитокини укажуваат на фактот дека тие може да играат регулаторна улога во регрутирањето на алфа-бета Т-клетките во областа на инвазија од патогените. Регрутираните алфа-бета Т-клетки првенствено ќе прикажат широк спектар на рецептори. Оние клетки со највисок афинитет селективно ќе се активираат и ќе се засилат за да се справат со патогенот.

Улогите и механзнимите на функцијата на гама-делта Т-клетката претставуваат активна истражувачка област и доста останува да се научи. Од посебен интерес е попрецизниот профил на опсегот на противгените кои можат да бидат препознаени од страна на гама-делта рецепторот и дали тој може да препознае противген во смисла на некласичните ГТК молекули. Неодманешните проучувања исто така покажаа дека самите гама-делта клетки може да служат како противген прикажувачки клетки (ППК), на тој начин во голема мера дополнувајќи го нивниот функционален потенцијал.

Организација и преуредување на гените од ТКР

Гените кои ги кодираат алфа-бета и гама-делта Т-клеточните рецептори се прикажани само во клетките од Т-клеточната линија. Четирите ТКР подрачја (алфа, бета, гама и делта) во зародишната линија се организирани на начин кој е доста сличен со повеќегенската организација на имуноглобулинските (Иг) гени (слика 9-5). Како во случајот на Иг гените, функционалните ТКР гени се создаваат со преуредување на В и J сегментите во фамилиите со алфа и гама-верига и В, Д и J сегментите во фамилиите со бета и делта-верига. Кај глушецот, генските сегменти со алфа, бета и гама-верига се наоѓаат во хромозомите



СЛИКА 9-5 Организација на зародишната линија кај ТКР генски сегменти со алфа, бета, гама и делта-веригата кај глушец. Секој генски сегмент К е составен од серија егзони и интрони, кои не се прикажани. Организацијата на ТКР генските сегменти кај луѓето е слична, иако бројот на различните генски сегменти во одредени случаи се разликува (види табела 9-2). Бројот на генските сегменти кој е овде прикажан се средните вредности за различните видови на глушец, а вклучени се и псевдогени. *[Прилагодено од D. Raulet, 1989,* Annual Review of Immunology ***7:****175, and M. Davis, 1990,* Annual Review of Biochemistry **59:**475.*]*

ТАБЕЛА 9-2 ТКР повеќегенски фамилии кај луѓето

Ген	Локација во хромозомот	БРОЈ НА ГЕНСКИ СЕГМЕНТ * В	Д	Ј	К
Алфа-верига	14	54		61	1
Делта-верига†	14	3	3	3	1
Бета-верига‡	7	67	2	14	2
Гама-верига§	7	14		5	2

* Сите клетки кои се наведени овде не создаваат ТКР продукти, псевдогените се вклучени во оваа листа.
† Генските сегменти со верига бета се наоѓаат помеѓу сегментите Валфа и Јалфа.
‡ Има две повторувања, секоја верига содржи еден $Д_{бета}$, шест или седум $Ј_{бета}$ и еден $К_{бета}$.
§ Има две повторувања, секоја верига содржи два или три $Ј_{гама}$ и еден $К_{гама}$.
ИЗВОР: Податоците се од Immunogenetics Database, http://imgt.cines.fr.

14, 6 и 13. Генските сегменти со делта-верига се локлизирани на хромозомот 14 помеѓу сегментите $В_{алфа}$ и $Ј_{алфа}$. Местоположбата на генскиот сегмент со делта-верига е значајна: продуктивното преуредување на генските сегменти со алфа-верига го брише $К_{делта}$, така што, кај дадена Т-клетка, ТКР рецепторот со алфа-бета не може да се коприкажува со рецепторот гама-делта. За откривање на другите функции на Т-клетките со алфа-бета и делта-гама значајно е решителното посветување на клетките.

ДНК од зародишната линија на глушецот содржи околу 80 генски сегменти $В_{алфа}$ и 40 генски сегменти $Ј_{алфа}$ и еден генски сегмент $К_{алфа}$. Фамилијата на гените со делта-верига содржи околу 10 генски сегменти В, кои се доста различни од генските сегменти $В_{алфа}$, иако забележано е одредено делење на сегментите В кај преуредените гени со алфа и делта-верига. Исто така утврдени се два генски сегменти $Д_{делта}$ и $Ј_{делта}$ и еден сегмент $К_{делта}$. Фамилијата на гените на бета-веригата има од 20 до 30 генски сегменти В и две скоро идентични повторувања на сегментите Д, Ј и К, при што секое повторување се состои од еден $Д_{бет}$а, шест $Ј_{бета}$ и еден $К_{бета}$. Фамилијата на гените од гама-веригата се состои од седум сегменти Вгамаи три различни функционални повторувања $Ј_{гама}$- $К_{гама}$. Организацијата на фамилиите на ТКР од повеќе гени кај луѓето е слична со онаа кај глувците, иако се разликува во бројот на сегменти (табела 9-2). При сите случаи, фамилиите на гени може да вклучуваат членови со мутации кои ги прават нефункционални (псевдогени) и овие гени нормално се вклучени во бројот на гените во фамилијата, освен ако не се назначат *функционални* гени. На пример, табела 9-3 вклучува само функционални гени бидејќи псевдогените не придонесуваат за разноликоста, додека слика 9-5 ги вклучува сите гени од зародишната линија.

ТКР гените со варијабилно подрачје се преуредуваат на начин кој е сличен на противтелните гени

Веригата алфа, како и веригата Л од имуноглобулинот, е кодирана со генските сегменти В, Ј и К. Веригата бета, како и веригата Т од имуноглобулинот, е кодирана од генските сегменти В, Д, Ј и К. Преуредувањето на ТКР генските сегменти со верига алфа и бета доведува до поврзување ВЈ за веригата алфа и поврзување ВДЈ за веригата бета (слика 9-6).

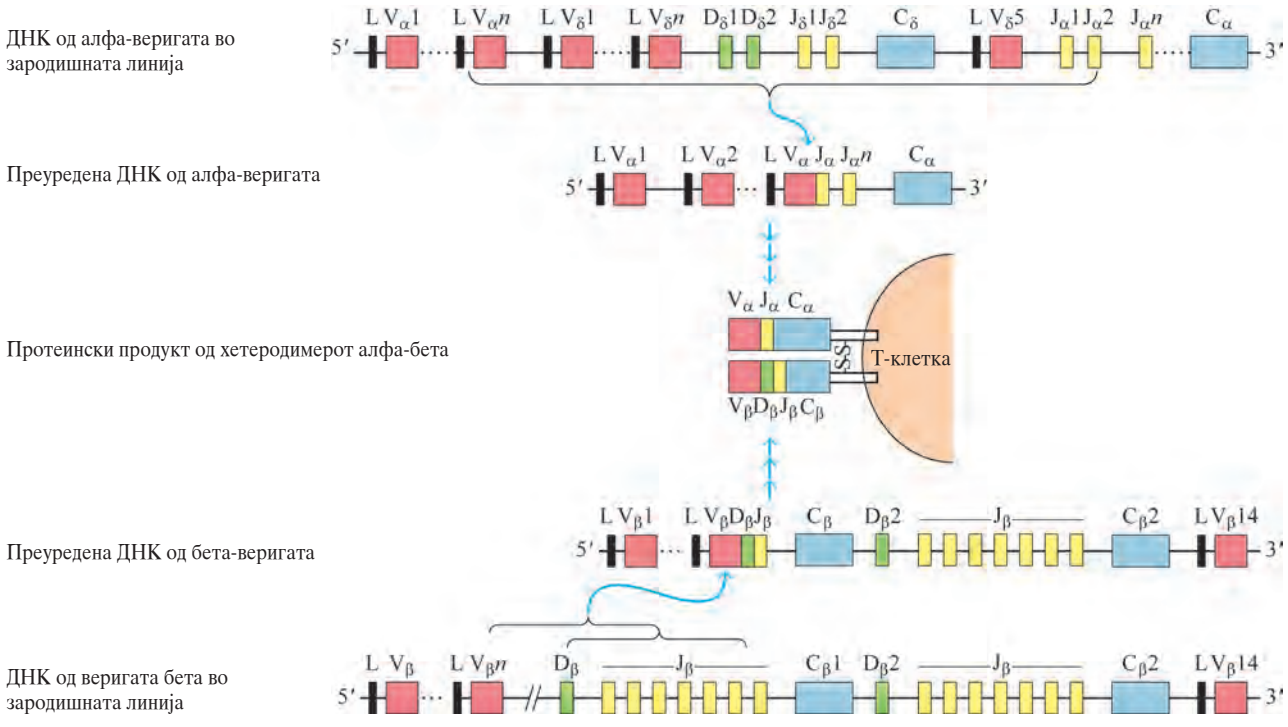
ТАБЕЛА 9-3 Извор на можна разноликост кај имуноглобулините и ТКР гените кај глувците

Механизам за разноликост	ИМУНОГЛОБУЛИНИ верига Т	верига капа	АЛФА-БЕТА Т-КЛЕТОЧЕН РЕЦЕПТОР верига алфа	верига бета	ГАМА-ДЕЛТА Т-КЛЕТОЧЕН РЕЦЕПТОР верига гама	верига делта
	ПРОЦЕНЕТ БРОЈ НА ФУНКЦИОНАЛНИ ГЕНСКИ СЕГМЕНТИ*					
В	101	85	79	21	7	6
Д	13	0	0	2	0	2
Ј	4	4	38	11	3	2
	МОЖЕН БРОЈ НА КОМБИНАЦИИ†					
Комбинаториско поврзување В-Ј и В-Д-Ј	101 x 13 x 4 5,3 x 10^3	85 x 4 3,4 x 10^2	79 x 38 3,0 x 10^3	21 x 2 x 11 4,6 x 10^2	7 x 3 21	6 x 2 x 2 24
Алтернативно поврзување на генските сегменти Д	-	-	-	+ (по некој)	-	+ (често)
Сврзна флексибилност	+	+	+	+	+	+
Нуклеотидно додавање во Н-подрачје ‡	+	+	-	+	+	+
Нуклеотидно додавање во П-подрачје	+	+	+	+	+	+
Соматска мутација	+	+	-	-	-	-
Комбинаторско поврзување на веригите страница 229)	+		+		+	

* Податаци за имуноглобулините од табела 5-2; TCR податоци од Baum et al., 2004, *Nucleic Acids Research* **32:**D51.
† Знакот (+) означува механизам кој прави значаен придонес за разноликоста, но до непознат степен.
Знакот (-) означува механизам кој не работи.
‡За теоретскиот број на комбинации кои се создаваат со додавањето во подрачјето Н, види слика 9-8д.

СЛИКА НА ДЕТАЛНИОТ ПРЕГЛЕД 9-6:

Пример за преуредување на гените кои овозможуваат кодирање на алфа-бета Т-клеточниот рецептор од страна на функционалниот ген



ДНК од алфа-веригата, која е аналогна на ДНК од лесната верига на имуноглобулинот, подлежи на поврзување на променливите подрачја $B_{алфа}$ и $J_{алфа}$. ДНК од бета-веригата, која е аналогна на ДНК од тешката верига на имуноглобулинот, подлежи на две поврзувања во променливото подрачје: прво $Д_{бета}$ со $J_{бета}$ а потоа $B_{бета}$ за $Д_{бета}J_{бета}$. Препишувањето на преуредените гени дава првични препишувања, кои се преработуваат за да дадат мРНК кој ги кодира алфа и бета-веригите на ТКР кој се врзува за мембрана. Лидерската секвенца се разградува од страна на почетната полипептидна верига и не е присутна во крајниот протеин. Земајќи предвид дека нема создавање на излачен ТКР, не настанува диференциско преработување на првичните препишувања за да се создадат форми кои се лачат на, или се врзуваат за мембраната. Иако ДНК од бета-веригата содржи два гени К, генските продукти од овие два К гени не прикажуваат познати функционални разлики. Гените К се составени од одреден број егзони и интрони, кои овде не се поединечно прикажани (види слика 9-7).

По препишувањето на преуредените ТКР гени, преработувањето и преведувањето на РНК, алфа и бета-веригите се прикажани како дисулфидно-поврзан хетродимер врз мембраната од Т-клетката. За разлика од имуноглобулините, кои можат да бидат излачени или прикажани врз мембраната, хетеродимерот алфа се прикажува само во форма која е врзана за мембраната. Според тоа, нема диференцијално преработување на РНК за создавање форми кои се лачат на, или се врзуваат врз мембраната. Секој ТКР со константно подрачје вклучува константен домен, секвенца за поврзување, трансмембранска секвенца и цитоплазматска секвенца.

ДНК од зародишната линија која ги кодира константните подрачја од веригите алфа и бета од ТКР е подноставна од ДНК за тешката верига од зародишната линија кај имуноглобулините, која има повеќе генски сегменти К кои кодираат различни изотипови со различни ефекторни функции. ДНК од веригата алфа на ТКР има само еден генски сегмент К, ДНК од верига бета вклучува дупли генски сегменти J и К. Протеинските сегменти од двете групи се разликуваат само по одреден број аминокиселини и немаат познати функционални разлики.

Механизам на преуредување на ДНК за ТКР

Механизамите преку кои ДНК од зародишната линија на ТКР се преруредува за да се создадат функционални рецепторни гени е слична на механизмите за преуредувања на Иг гените. На пример, за рекомбинациските сигнални секвенци (РСС) кај хептамерите и нонамерите, кои содржат одделувачки севенци или од 12-бп (едно поместување) или од 23-бп (две поместувања), утврдено е дека го попречуваат секој генски сегмент В, Д и J

во ДНК од зародишната линија кај ТКР (види слика 5-6). Сите преуредувања на гените кај ТКР го следат правилото за поврзување од едно/две поместувања кое среќава кај Иг гени, така што рекомбинацијата може да настане само помеѓу два различни типови на РСС.

Како и пре-Б-клетката, пре-Т-клетката ги прикажува гените кои се активираат со рекомбинација (РАГ-1 и РАГ-2). Рекомбинаторскиот ензим РАГ-1/2 ги препознава сигналите за препознавање кај хептамерот и нонамерот и го катализира поврзувањето В-Ј и В-Д-Ј при преуредување на гените од ТКР преку истите механизми за бришење и инверзија кои се појавуваат кај Иг гени (види слика 5-7). Како што е објаснето во Поглавје 5 за имуноглобулинските гени, РАГ-1/2 започнува со засек на дел на ДНК меѓу кодните и сигналните секвенци и продолжува да ги сече јамките на ДНК кои се формираат при процесот. Продуктите од тркалезното сечење за кои се верува дека настануваат со отстранување и бришење при преуредување на гените од ТКР се утврдени кај тимоцитите (види слика 5-8).

Проучувањата со СЦИД глувците, кои имаат недостаток на функционални Т и Б-клетки, овозможуваат доказ за сличноста на механизмите за преуредувањето на Иг-гени и ТКР гените. Како што е објаснето во Поглавје 20, СЦИД глувците имаат дефект во генот кој е потребен за поправка на процепите кај двоверижната ДНК. Како резултат на овој дефект, генските сегменти Д и Ј не се поврзани при преуредување на ДНК од Иг или од ТКР (види слика 5-10). Овој наод укажува на фактот дека истите ензими кои поправаат процеп кај двојните вериги се вклучени во преуредувањата В-Д-Ј кај Б-клетките и Т-клетките.

Иако Б и Т-клетките користат доста слични механизми за генско преуредување на варијабилното подрачје, кај Т-клетките не настанува целосно преуредување на Иг гените и кај Б-клетките не настанува целосно преуредување на ТКР гените. Не само што рекомбинантниот ензимски систем е различно регулиран кај секоја лоза, туку хроматинот е посебно реконфигуриран кај Б и Т-клетките за да ѝ овозможи на рекомбиназата влез до содветните рецепторни гени кои се специфични за противген. Преуредувањата на генските сегменти кај Т и Б-клетките создава секвенци од ДНК кои се единствени за таа клетка и за нејзиниот потомок. Големиот број на можни конфигурации за преуредените гени оваа нова секвенца ја прави означувач кој е специфичен за клонот на клетката. Овие уникатни секвенци од ДНК се користат за поставување на дијагнозата и лекувањето на лимфоидните леукемии и лимфоми, канцери кои вклучуваат размножување на клоновите од Т и Б-клетките (види Клинички фокус на страница 232).

Алелско исклучување кај ТКР гените

Како што споменавме претходно, делта-гените се поставени во комплексот на алфа-генот и се бришат со преуредување на алфа-веригата. Овој процес овозможува незаменлив начин на исклучување на делта-гените кои се поставени на истиот хромозом како и преруредувачките гени алфа. Исто така настанува и алелско исклучување кај алфа и бета ТКР гените, но има и исклучоци.

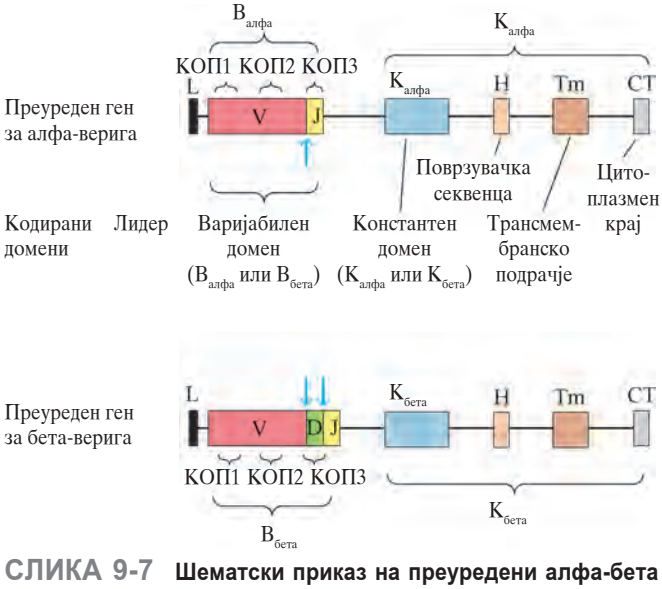
Организацијата на генските сегменти Ј и К со бета-веригата во две дупли групи значи дека ако настане непродуктивно преуредување, тимоцитот може да проба да направи второ преуредување. Ова ја зголемува можноста за продуктивно преуредување на В-Ј за веригата бета. Штом настане продуктивно преуредување за еден алел од бета-веригата, преуредувањето на другиот бета алел не може да се спречи.

Исклучоците за алелско исклучување најчесто се среќаваат кај ТКР гени со алфа-веригите. На пример, анализите на Т-клеточните клонови кои прикажуваат функционален алфа-бета Т-клеточен рецептор откриј одреден број на клонови со продуктивни преуредувања кај двата алела од алфа-веригата. Покрај тоа, кога незрел Т-клеточна лимфом кој прикажува посебен алфа-бета Т-клеточен рецептор е потклон, добиени се одреден број на подклонови кои го прикажуваат истиот алел од бета-веригата, но алелот од алфа-веригата кој е различен од алелот прикажан од клонот на оригиналниот родител. Проучувањата со трансгеничните глувци исто така укажуваат на фактот дека алелското исклучување е помалку ограничено за ТКР гените за алфа-веригата отколку за гените за бета-веригата. Сепак, ендогените гени со алфа-веригата понекогаш се прикажуваат на различни нивоа на местото од трансгенот со алфа-верига кој е веќе преуреден.

Земајќи предвид дека алелското исклучување не е целосно за ТКР со алфа-верига, во одредени случаи врз мембраната од дадена Т-клетка се прикажани повеќе од една алфа-верига. Неизбежно прашање е, како ретките Т-клетки кои прикажуваат два алфа-бета Т-клеточни рецептори одржуваат иста специфичност за поврзување противген? Еден предлог тврди дека кога Т-клетката прикажува два различни алфа-бета Т-клеточни рецептори, само едниот рецептор може да биде со ограничување кон сопствениот-ГТК и на тој начин таа е функционална.

Преуредените гени од ТКР се групираат од генските сегменти В, Ј и Д

Основната структура на преуредените гени кај ТКР е прикажана на слика 9-7. Променливите подрачја од Т-клеточните рецептори се, се разбира, кодирани од страна на преуредените секвенци ВДЈ и ВЈ. Кај гените од ТКР, комбинаторското поврзување на генските сегменти В со алфа и бета-вериги ги создава



СЛИКА 9-7 Шематски приказ на преуредени алфа-бета Т-клеточни гени кои покажуваат егзони кои ги кодираат различните домени од Т-клеточниот рецептор алфа-бета и приближната позиција на КОП. Разновидноста при поврзување (вертиканлните стрелки) создаваат КОП3 (види слика 9-8). Структурите на преуредните гени со гама и делта-верига се слични, иако кај гените со делта-верига може да настане дополнителелна разновидност при поврзување.

КЛИНИЧКИ ФОКУС

Преуредувања во Т-клетките во улога на обележувачи за канцерогените клетки

Т-клеточните канцери, каде се вклучени леукемијата и лимфомот, вклучуваат неконтролирано размножување на клоналната популација од Т-клетките. Со цел да се примени најефикасниот третман, успешното лекување бара брза, одредена и детална дијагноза. Штом започне лекувањето, за одредување дали режимот на лекување е успешен потребни се веродостојни тестови. Во принцип, бидејќи Т-клеточните канцери се клонски по природа, канцерозната клеточната популација може да се утврди и да се следи со прикажување на нејзините единствени молекули од Т-клеточниот рецептор. Утврдувањето на ТКР кој е специфичен за клон со моноклонски противтела е ретко практично бидејќи бара упорна и долга подготовка на специфично противтело кое е насочено против неговото варијабилно подрачје (противтело против-идиотип). Исто така, сите канцери нема да прикажат ТКР молекул кој е забележлив од противтелото. Како алтернативни средства за утврдување на клонската популација на Т-клетката е да се истражува нивната ДНК наместо протеинските продукти. Образецот кој резултира од преуредувањето на гените на ТКР овозможува единствен означувач за канцерозната Т-клетка. Бидејќи преуредувањето на гените кај ТКР од Т-клетките настанува пред прикажување на молекулскиот продукт, Т-клетките можат да се откријат во раните фази од развојот. Единствените генски фрагменти кои резултираат од преуредувањето на ТКР гените може да се забележат со прости молекулско-биолошки техники и да овозможат вистински отпечаток за клонската популација на Т-клетки.

Обрасците на ДНК кои резултираат од преуредувањето на гените во подрачјето бета од ТКР најчесто се користат како обележувачи. Постојат приближно 70 генски сегменти Вбета кои можат да се преуредат во еден од двата генски сегменти со подрачје Д и понатамошно еден од 14 генски сегменти J (види слики 9-6 и 9-8). Бидејќи секој ген од подрачјето В е попречен од единствени секвенци, овој процес создава нови секвенци од ДНК кои се единствени за секоја клетка која подлежи на преуредувањето. Овие нови секвенци можат да се октријат со Садернови техники или со ПВР (полимеразно верижна реакција). Имајќи предвид дека позната е целата секвенца од подрачјата Д, J и К од коплексот на бета ТКР генот, за техниката Садерн лесно се одбрани соодветни проби и рестрикциски ензими.

Откривањето на преуредената ДНК од ТКР може да користи како дијагностичка алатка кога опстојуваат абнормално зголемените лимфни јазли, ова заболување може да резултира или од воспалување поради хронична инфекција или поради размножување на канцерозна лимфоидна клетка. Ако воспалението е причина, клетките ќе дојдат од различни клонови, а ДНК која е излолирана од нив ќе биде мешавина од многу различни ТКР секвенци кои резултираат од повеќе преуредувања, нема да откријат уникатни фрагменти. Ако постојаното зголемување на јазлите претставува клонско размножување, ќе има еден доминантен фрагмент од ДНК, бидејќи сите канцерски клетки ќе ја содржат истата секвенца од ДНК кај ТКР која е создадена од страна на преуредувањето на ДНК кај клетката-родител. Според тоа, прашањето дали набљудуваното зголемување ќе се појави како резултат од канцерскиот пораст на Т-клетките може да се одговори со присуството на еден нов генски сегмент во ДНК од популацијата на хетерогените клетки. Бидејќи гените од Иг се преуредуваат на истиот начин као и гените од ТКР, Иг проби користат слични техники за откривање на популацијата на клонските Б-клетки преку нивните единствени обрасци на ДНК. Затоа техниката е корисна за широка палета на канцери со лимфоидни клетки.

Иако откривањето на единствениот ДНК фрагмент кој резултира од преуредените гени од ТКР или Иг покажува размножување на клоновите и можна опасност од страна на Т и Б-клетките, отсуството на таквиот фрагмент не го отстранува ракот од популацијата на лимфоидните клетки. Клетката која е вклучена може да не содржи преуредени гени за ТКР или Иг кои можат да се откријат со методот или пробата кои се користат. Земајќи предвид дека опасниот клон може да настане од Т-клетките гама-делта, примероците ако се негативни за бета треба да се тестираат со проби за гама и делта.

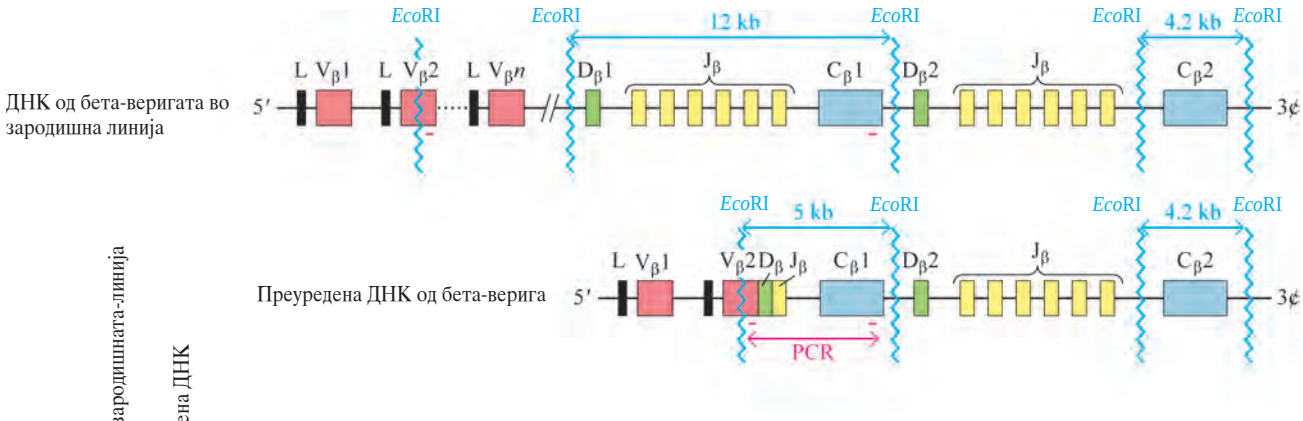
Ако тестот за фрагментот од ДНК и другите дијагностички критериуми покажуваат дека пациентот има рак од лимфоидна клетка, следи лекување со соодветна терапија. Успехот на ова лекување може да се следи преку тестирање на ДНК од пациент за единствената секвенца која се среќава кај канцерозната клетка. Ако режимот на лекување е успешен, бројот на канцерозни клетки ќе се намали во голем степен. Ако бројот на канцерозни клетки падне под 1% до 2% од целата поопулација на Т-клетки, анализите со техниката Садерновото дамкосување може повеќе да не го откриваат единствениот фрагмент. При овој

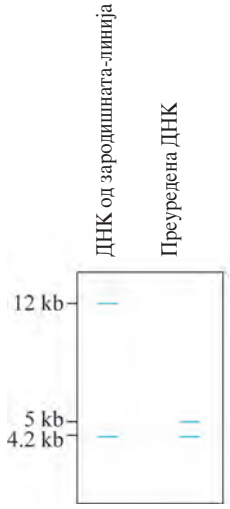
КОП1 и КОП2, додека флексибилноста при поврзување и додавањето на нуклеотидното подрачје Н создава КОП3. Преуредените гени од ТКР исто така содржат краток лидерски (Л) егзон од горниот крај од поврзните секвенци ВЈ и ВДЈ. Аминокиселините кои се кодирани од лидерскиот егзон се разложуваат кога првичниот полипептид навлегува во ендоплазматскиот ретикулум.

Константното подрачје од секоја верига од ТКР е кодирано од страна на генскиот сегмент К која има повеќе егзони (види слика 9-7), кои одговараат на структурните домени во протеинот (види слика 9-3). Првиот егзон во генскиот сегмент К го кодира поголемиот дел од доменот К во соодветната верига. Следен е краток егзон кој ја кодира поврзувачката секвенца, по што следат егзони кои го кодираат трансмембранското подрачје и цитоплазминиот крај.

Разноликоста на ТКР се создава слично како разноликоста на противтелото, но без соматска мутација

Иако ДНК од ТКР во зародишната линија содржи доста помалку генски сегменти В отколку ДНК во зародишната линија на Иг, неколку механизми кои работат при преурдувањето





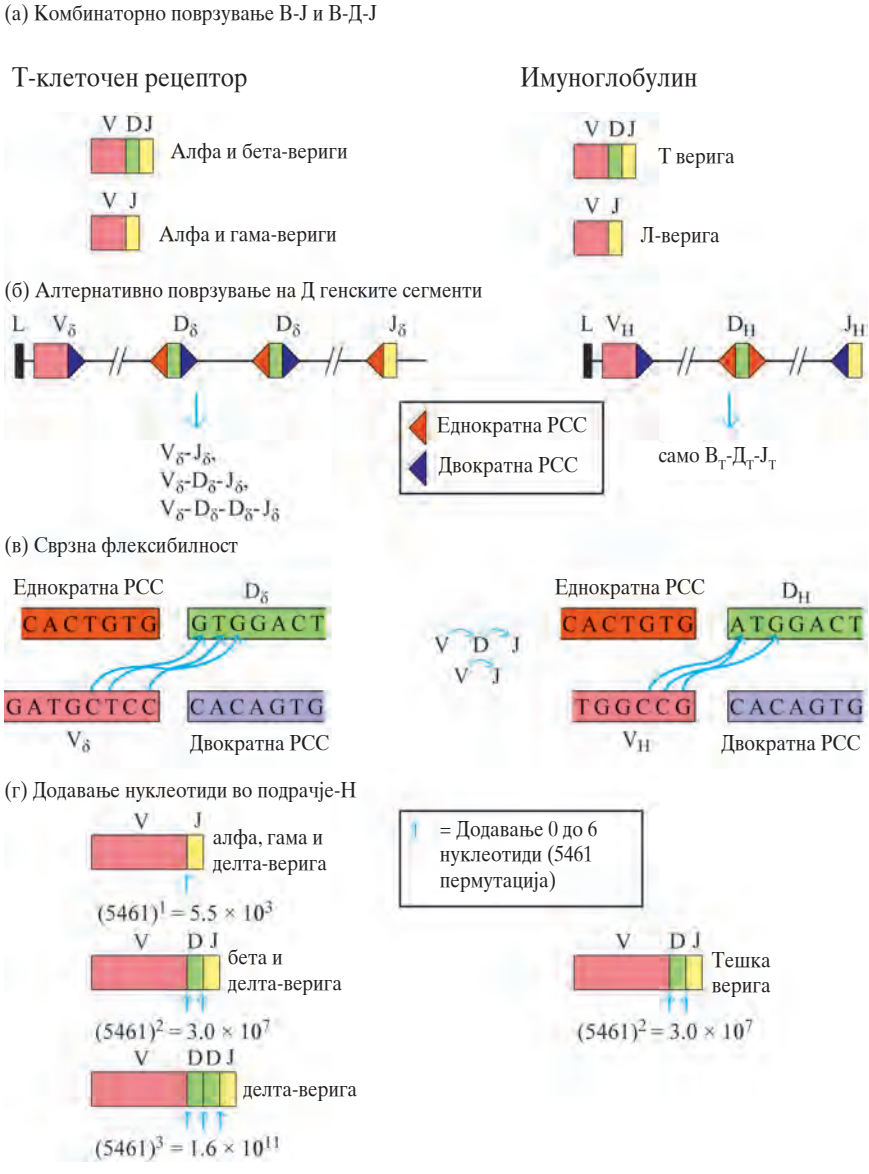
Техника на Садерн применета со проба на К ДНК

Дигестија на ДНК од човечки ТКР со бета-верига во (непреуредена) конфигурацијата од зародишната линија со *Eco*RI, а потоа испитувањето со Садернова техника на секвенцата од К подрачјето ќе ги открие покажаните фрагментите, кои содржат К. Кога ДНК ќе се преуреди, ќе се пресече 5' рестрикциската област. Дигестијата со *Eco*RI ќе даде различен фрагмент кој е единствен за генските сегменти $B_{бета}$ и $J_{бета}$ со специфично подрачје кое е вклучено во преуредениот ген, како што е прикажано во овој хипотетски пример. Техниката која се користи за оваа анализа произлегува од првата техника која ја користел С. М. Хедрик и неговите соработници за да ги откријат уникатните ТКР гени бета во серија клонови од Т-клетки од глушец (види слика 9-2). За високо чувствителното откривање на преуредената секвенца за ТКР, се користи полимеразната верижна реакција (ПВР). Секвенцата на 5' започнувачот (црвена линија) се базира на уникатната секвенца на генскиот сегмент ($B_{бета}$) кој го користи канцерозниот клон (во овој пример $B_{бета}2$) и 3' започнувачот (црвена линија) како секвенца од константно подрачје. За примероците на ДНК каде овој ген В не е преуреден, фрагментот ќе биде отсутен бидејќи е преголем за да биде ефикасно засилен и откриен со тениката на Садерн.

случај, може да се користи почувствителна техника, ПВР. (Со ПВР можно е да се засили, или да се синтетизираат повеќе копии од, специфичната секвенца од ДНК во примерокот. Започнувачите може да се хибридизираат на двата краја од таа специфична секвенца и да ѝ наредат на полимеразата да го копира тоа, за детали види Поглавје 22). За да се открие делот од преуредената ДНК од ТКР, засилувањето кое употребува секвенца од преуреденото подрачје В како еден започнувач и секвенца од регионот К со бета-верига како друг започнувач ќе даде прераспореден фрагмент од ТКР ДНК со очекувана големина во доволен број за да може да се открие со електрофореза (види ја црвената стрелка на сликата). За следење на пациентите кои се лекуваат со цел да се донесат решенија за продолжување на третманот ако бројот на канцерозни клетки, како што се пресметува со техниките, е пораснат над сигурното ниво од неодмна се користат квантитативни ПВР методи. Присувото на прераспоредената ДНК во клонската популација на Т-клетките на докторот му дава вредна алатка за дијагностицирање на ракот од лимфодина клетка и за следење на напредокот на лекувањето.

на ТКР гените придонесуваат за висок степен на различие кај Т-клеточните рецептори. Табела 9-3 и слика 9-8 прават споредба на создавањето и разновидноста на молекулите од противтелата и молекулите од ТКР.

Комбинаторско поврзување на варијабилното подрачје на генските сегменти создава голем број на случајни комбинации на гени за сите вериги од ТКР, како што тоа го прави кај тешките и лесните вериги во Иг гени. На пример, кај глувците 79 функционални $B_{алфа}$ и 38 $J_{алфа}$ генски сегменти може да создадат 3,0 x 10^3 можни комбинации на ВЈ за алфа-веригата во ТКР. Слично на тоа, 21 генски сегмент $B_{бета}$ 2 генски сегменти $Д_{бета}$ и 11 генски сегменти $J_{бета}$ можат да дадат $4{,}6 \times 10^2$ можни комбинации за бета-веригата. Иако има помалку генски сегменти $B_{алфа}$ и $B_{бета}$ отколку сегменти $B_{Т}$ и $B_{Л}$ кај имуноглобулините оваа разлика е надмината со поголем број генски сегменти J во ДНК од зародишната линија кај ТКР. Ако се претпостави дека специфичноста за врзување противген кај даден Т-клеточен рецептор зависи до варијабилното подрачје во двете вериги, поврзувањето по случаен избор на 3 x 10^3 комбинации на $B_{алфа}$ со $4{,}6 \times 10^2$ комбинации на $B_{бета}$ може да создаде $1{,}4 \times 10^6$ можни комбинации за алфа-бета Т-клеточниот рецептор. Дополнителните начини за создавање разноликост кај В гените во ТКР се понатаму објаснети, кои прават 1,4 милиони комбинации како минимална пресметка.



СЛИКА 9-8 **Споредба на механизмите за создавање разноликост кај гените од ТКР и имуноглобулинските гени.** Во прилог на механизмите кои се прикажани овде додавањето на нуклеотидното П-подрачје настанува и кај гените од ТКР и кај гените од Иг, а кај Иг гени настанува соматска мутација. Комбинаторското поврзување на прикажаните вериги создава дополнителна разноликост кај молекулите на ТКР и Иг.

Како што е прикажано на слика 9-8б, локацијата на рекомбинациските сигнални секвенци (РСС) од едно (12-бп) и две поместувања (23-бп) во ТКР во бета и делта-веригите од ДНК се разликува од ДНК во тешката верига кај Иг. Поради распоредувањето на РСС во ДНК од зародишната линија на ТКР се забележува алтернативно спојување на Д генските сегменти кое може да се јави при правилото за спојување од едно или две поместувања. Според тоа, можно е генските сегменти $В_{бета}$ директно да се поврзат со генскиот сегмент $Ј_{бета}$ или $Д_{бета}$, создавајќи единица $(ВЈ)_{бета}$ или $(ВДЈ)_{бета}$.

Алтернативното поврзување на генските сегменти од делта-веригата создава слични единици. Според тоа, еден Дделта може да се поврзе со друг давајќи $(ВДДЈ)_{бета}$ и кај луѓето $(ВДДДЈ)_{бета}$. Овој механизам, кој не може да функционира во ДНК од тешката верига кај Иг создава значајна дополнителна разноликост кај гените од ТКР.

Поврзувањето на генските сегменти при преуредувањето на гените од ТКР покажува **флексибилност при поврзување**. Како и со гените од Иг флексибилноста може да создаде многу непродуктивни преуредувања, но исто така ја зголемува разноликоста со кодирањето на неколку алетернативни аминокиселини при секое поврзување (види слика 9-8в). И кај гените од Иг и кај гените од ТКР на споевите може да се додадат нуклеотиди меѓу одреден број генски сегменти при преуредувањето (види слика 5-13). Варијацијата во ендонуклеазното расечување води кон додавање на понатамошни нуклеотиди кои се палиндромини. Такво **додавање во нуклеотидно подрачје-П** може да настане кај гените кои ги кодираат сите вериги од ТКР и Иг. **Додавањето на**

нуклеотидите во подрачје Н, кое е катализирано од страна на терминалната деоксинуклеотидна трансфераза создава дополнителна разновидност при поврзувањето. Додека додавањето на нуклеотидите во подрачјето Н во имуноглобулините настанува само кај гените од Иг тешка верига тоа настанува во гените кои ги кодираат сите вериги од ТКР. Приближно шест нуклеотиди може да се додадат со овој механизам при секој спој, создавајќи до 5461 можни комбинации, со избор на нуклеотиди по случаен избор (види слика 9-8д). Сепак, дел од овие комбинации води кон непродуктивни преуредувања со моментално вметнување на стоп кодони кои предвремено ја прекинуваат веригата од ТКР или преку замена на аминокиселините го прават производот нефункционален. Иако секое поврзувачко подрачје во генот на ТКР кодира само 10 до 20 аминокиселини, во овие подрачја може да се создаде огромна разноликост. Проценките покажуваат дека комбинираните ефекти при додавањето на нуклеотидите во подрачјата Н и П и флексибилноста при поврзување може да создадат до 10^{13} можни секвенци од аминокиселини во поврзувачките подрачја од ТКР.

Механизамот со кој се создава разноликоста во ТКР мора да му овозможи на рецепторот да препознае голем број на различни преработени противгени истовремено ограничувајќи ја неговата разноликост за препознавање на репертоарот на ГТК на доста помал број на молекули од сопствениот ГТК. ДНК од ТКР има доста помалку генски сегемнти В од ДНК кај Иг (види табела 9-3). Истражувачите претпоставиле дека за кодирање ограниченият број на подрачја на КОП1 и КОП2 со афинитет за подрачја од молекулите од ГТК со алфа-спирали е избран помал број на генски сегменти В во ДНК од ТКР. Најверојатно оваа привлечна идеја е неточна според најновите податоци од структурата на комплексот ТКР-пептид-ГТК кој покажува контакт помеѓу пептидот и КОП1 исто како и КОП3. Според тоа, остатоците од ТКР кои се врзуваат за пептидот наспроти остатоците кои се врзуваат за ГТК не се само на високото варијабилно подрачје КОП3.

Наспроти ограничената разноликост на КОП1 и КОП2, КОП3 од ТКР сепак има поголема разноликост отколку разноликоста која се среќава кај имуноглобулините. Разновидноста на КОП3 се создава со разноликоста при поврзувањето на сегментите В, Д и Ј, поврзувањето на повеќе генски сегменти Д и вклучувањето на П и Н нуклеотидите при поврзувањето на В-Д-Ј и В-Ј (види слика 9-7).

За разлика од гените на Иг, гените од ТКР не претрпуваат соматска мутација. Односно, функционалните ТКР гени кои се создаваат преку генско преуредување при зреењето на Т-клетките во тимусот ги имаат истите секвенци како секвенците кои се среќаваат кај популацијата на зрелите периферни Т-клетки. Отсуството на соматската мутација кај Т-клетките обезбедува специфичноста на Т-клетките да не се менува по изборот на тимусот и со тоа ја намалува можноста мутацијата по случаен избор да создаде Т-клетка која е самореактивна. Иако неколку експерименти овозможија доказ за соматската мутација на рецепторните гени во Т-клетките од зародишниот центар, ова е исклучок, а не правило.

Т-клеточен рецепторен комплекс: ТКР-КД3

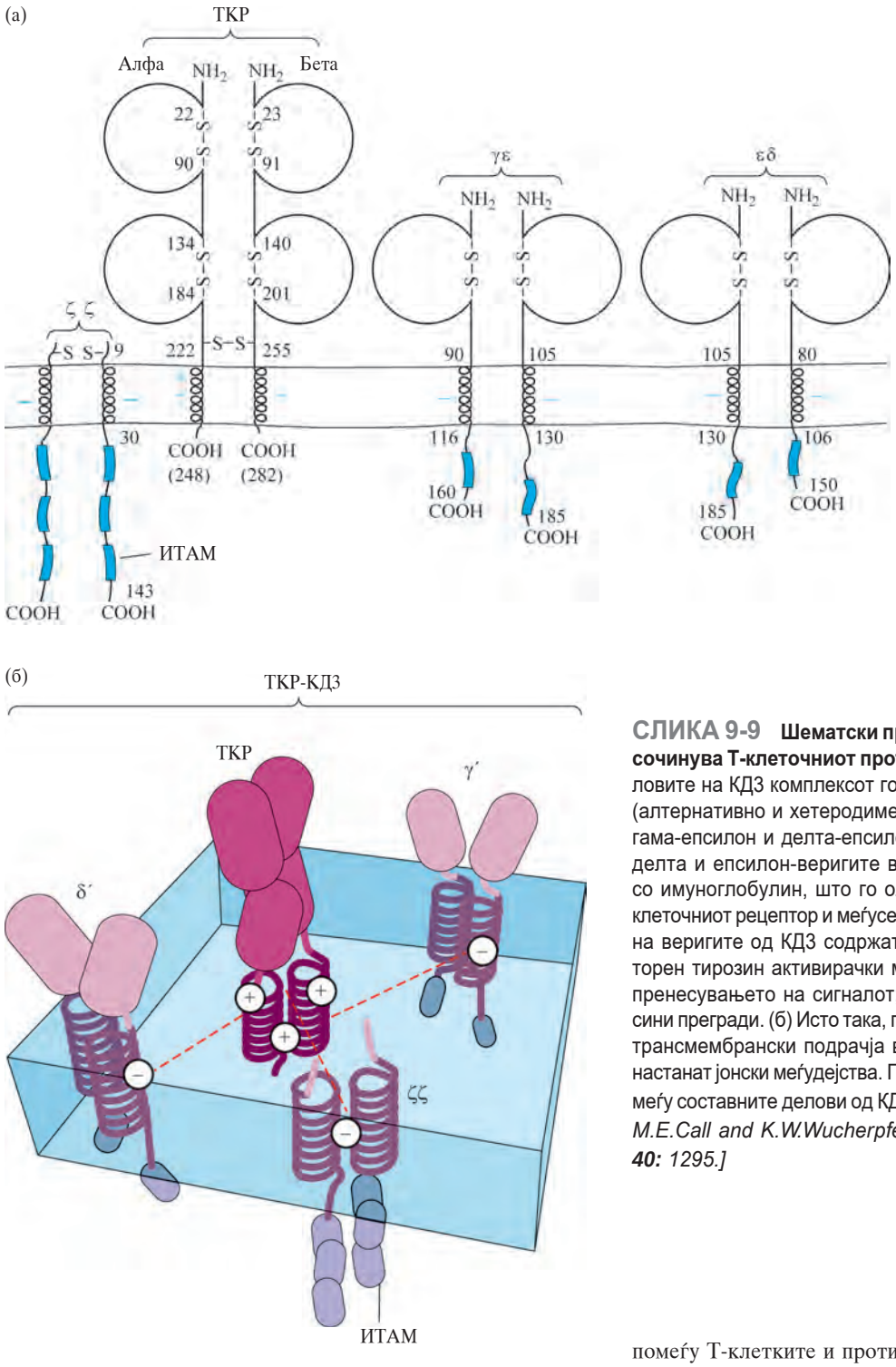
Како што објаснивме во Поглавје 4, мембрански врзаниот имуноглобулин во Б-клетките се поврзува со друг мембрански протеин, хетеродимерот Иг-алфа/Иг-бета, за да го фомира Б-клеточниот противген рецептор (види слика 4-22). Слично на тоа, Т-клеточниот рецептор се поврзува со **КД3**, формирајќи мембрански комплекс ТКР-КД3. И во двата случаи, помошниот молекул учествува во пренесувањето на сигналот *по* меѓудејството на Б и Т-клетката со противгенот. Тој не влијае на меѓудејството со противгенот.

Првиот доказ кој предлага дека Т-клеточниот рецептор е поврзан со друг мембрански молекул доаѓа од експериментите при кои флуоресцентното противтело за рецепторот предизвикува насобирање на друг мембрански протеин, наречен КД3. Подоцнежните експерименти од страна на Џ. П. Алисон и Л. Ланиер кои користат реагенси за вкрстено поврзување покажаа дека двете вериги мора да бидат во 12Å. Понатамошните експерименти покажаа дека не само што КД3 е тесно поврзан со алфа-бета хетеродимерот, туку исто така неговото прикажување е потребно за мембранското прикажување на алфа-бета и гама-делта Т-клеточните рецептори - секој хетеродимер формира комлекс со КД3 на Т-клеточната мембрана. Загубата на гените кои го кодираат КД3 или веригите од ТКР резултира со загуба на целиот молекулски комплекс од мембраната.

КД3 е соединение од пет непроменливи полипептидни вериги кои се поврзуваат за да формираат три димери: хетеродимер со вериги гама и епсилон (гама-епсилон), хетеродимер со вериги делта и епсилон (делта-епсилон) и хомодимер од два зета вериги (зета-зета) или хетеродимер со вериги зета и ета (зета-ета) (сл. 9-9А). Веригите зета и ета се кодирани од страна на истиот ген, но се разликуваат во нивните карбоксилно-терминални краеви заради разликите во прекројувањето на првичниот запис од РНК. Приближно 90% од КД3 комплексите кои до денес се испитани го вклучуваат зета-зета хомодимерот, а остатокот имаат хетеродимер зета-ета. На тој начин Т-клеточниот комплекс може да се замисли како четири димери: алфа-бета или гама-делта ТКР хетеродимер ја одредува лиганд врзувачката специфичност, додека КД3 димерите (гама-епсилон, делта-епсилон и зета-зета или зета-ета) се потребни за мембранско прикажување на Т-клеточниот рецептор и за пренесување на сигналот.

Гама, делта и епсилон-веригите од КД3 се членови на имуноглобулинската суперфамилија, при што секој содржи имуноглобулински-сличен вонклеточен домен по кој следи трансмембранско подрачје и цитоплазматски домен со повеќе од 40 аминокиселини. Веригата зета има посебно различна структура, со доста кратко надворешно подрачје од само девет аминокиселини, трансмембранско подрачје и долга цитоплазматска опашка која содржи 113 аминокиселини. Трансмембранското подрачје од сите КД3 полипептидни вериги содржат негативно наелектризирани остатоци од аминокиселини (аспаргинска или глутаминска киселина) која стапува во меѓудејство со една или две позитивно наелектризирани аминокиселини во трансмембранското подрачје на секоја верига од ТКР. Деловите од КД3 комплексот и средствата преку кои тие стапуваат во меѓудејство со алфа-бета ТКР се прикажани на слика 9-9б.

Цитоплазматските опашки на веригите во КД3 создржат мотив наречен **имунорецепторен тирозин активирачки мотив (ИТАМ)**. ИТАМ се среќават кај бројни други рецептори, вклучувајќи го и Иг-алфа/Иг-бета хетеродимерот од Б-клеточно рецепторниот комплекс и Фк рецепторите од ИгЕ и ИгГ. Се покажа дека областите на ИТАМ стапуваат во меѓудејство со тирозин киназата и играат значајна улога во пренесувањето на сигналот. Кај КД3, гама, делта и епсилон-веригите содржат еден ИТАМ, додека веригите зета и ета содржат три копии (види слика 9-9а). Функцијата на КД3 во пренесувањето на сигналот е подетално објаснета во Поглавје 10.



СЛИКА 9-9 Шематски приказ на ТКР-КД3 комплексот, кој го сочинува Т-клеточниот противген врзувачки рецептор. (а) Деловите на КД3 комплексот го вклучуваат хомодимерот зета-зета (алтернативно и хетеродимерот зета-ета) плус хетеродимерите гама-епсилон и делта-епсилон. Надворешните домени на гама, делта и епсилон-веригите во КД3 се состојат од обвиткувања со имуноглобулин, што го олеснува нивното меѓудејство со Т-клеточниот рецептор и меѓусебно. Долгите цитоплазматски опашки на веригите од КД3 содржат заедничка секвенца, имунорецепторен тирозин активирачки мотиф (ИТАМ), кој има функција во пренесувањето на сигналот; овие секвенци се прикажани како сини прегради. (б) Исто така, помеѓу спротивно наелектризираните трансмембрански подрачја во веригите од ТКР и КД4 може да настанат јонски меѓудејства. Прикажани се понудените меѓудејства меѓу составните делови од КД3 и алфа-бета ТКР. *[Адаптирано од M.E.Call and K.W.Wucherpfennig, 2004,* Molecular Immunology ***40:*** *1295.]*

Т-клеточни помагачки мембрански молекули

Иако препознавањето на противген-ГТК комплексите е посредувано само од страна на ТКР-КД3 комплексот, разни други мембрански молекули играат значајни помагачки улоги во препознавањето на противгенот и активирањето на Т-клетката (табела 9-4). Дел од овие молекули го зајакнуваат меѓудејството помеѓу Т-клетките и противген прикажувачките клетки или целните клетки, некои од нив имаат улога во пренесувањета на сигналот, а некои учествуваат и во двата процеса.

Корецепторите КД4 и КД8 се врзуваат за зачуваните подрачја од молекулите од класа 1 и класа 2 од ГТК

Т-клетките можат да се поделат на две суппопулации според нивното прикажување врз мембранските молекули КД4 и КД8. Како што е објаснето во предходните поглавја, КД4$^+$ Т-клетките

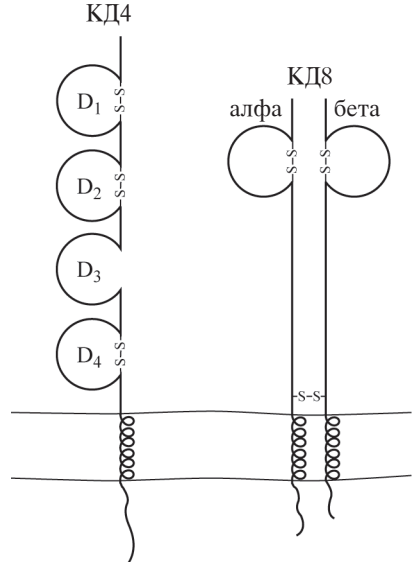
ТАБЕЛА 9-4 Избрани Т-клеточни помагачки молекули

		ФУНКЦИЈА		
Име	**Лиганд**	**Прилепување**	**Сигнално пренесување**	**Член на имуноглобулинската суперфамилија**
КД4	Класа 2 ГТК	+	+	+
КД8	Класа 1 ГТК	+	+	+
КД2 (ЛФА-2)	КД58 (ЛФА-3)	+	+	+
ЛФА-1 (КД11а/КД18)	ИКАМ-1 (КД54)	+	?	+/(-)
КД28	Б7	?	+	+
ЦТЛ-4	Б7	?	+	-
КД45Р	КД22	+	+	+
КД5	КД72	?	+	-

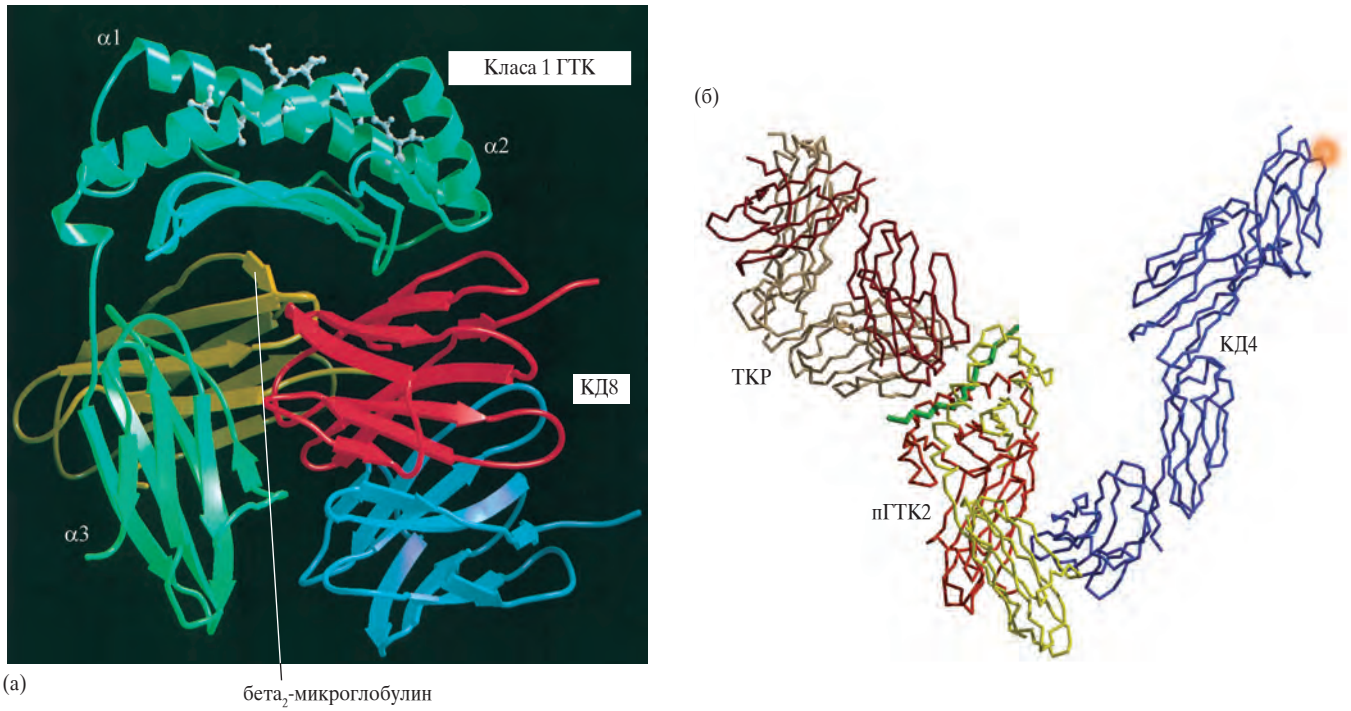
препознаваат противген кој е споен со молекулите од класа 2 од ГТК и во голем дел функционират како помагачки клетки, додека КД8$^+$ Т-клетките препознаваат противген кој е поврзан со молекулите од класа 1 од ГТК и во голем дел функционираат како цитотоксични клетки. КД4 е мономерен мембрански гликопротеин од 55 кДа кој содржи четири вонклеточни слични на имуноглобулините домени ($Д^1$-$Д^4$), хидрофобно трансмембранско подрачје и долга цитоплазматскна опашка (слика 9-10) која се состои од три остатоци на серин врз кои може да се изврши фосфорилација. Во основа КД8 ја зема формата на дисулфидно поврзан алфа-бета хетеродимер или на хомодимер алфа-алфа. И алфа и бета-веригата од КД8 се мали гликопротеини од приближно 30 до 38 кДа. Секоја верига содржи еден вонклеточен имуноглобулински сличен домен, подрачје кое лови, хидрофобно трабсмембранско подрачје и цитоплазматска опашка (слика 9-10) која содржи 25 до 27 остатоци, при што врз дел од нив може да се изврши фосфорилација.

КД4 и КД8 се класифицираат како *корецептори* базирано на нивните способности да го препознаат комплексот пептид-ГТК и нивната функција во пренесувањето на сигналот. Вонклеточните домени на КД4 и КД8 се врзуваат за зачуваните подрачја на молекулите од ГТК на противген прикажувачките клетки (ППК) или на целните клетки. Кристалографските проучувања на комлексот кој е составен од молекулите од класа 1 ХЛА-А2 од ГТК, противгенскиот пептид и КД8 хомодимерот алфа-алфа покажуваат дека КД8 се врзува за молекули од класа 1 преку стапување во контакт со домените од класа 1 алфа2 и алфа3 од ГТК исто како и остварувањето контакт со микроглобулинот $бета_2$ (слика 9-11а). Насочувањето на класа 1 алфа3 доменот при поврзување со КД8 малку се менува. Оваа структура е во складност со единствениот ГТК молекул врзан за КД8. Не се забележи никаков доказ за можноста на повеќемеричните класа 1 до КД8 комлекси. Слични структурни податоци го потврдуваат начинот на кој КД4 се врзува за молекулот од класа 2. Меѓудејството помеѓу КД4 и ГТК 2 вклучува контакт на крајните домени од мембраната на КД4 со хидрофобната преграда која се формира со остатоци од алфа2 и бета2 домените од ГТК 2 (слика 9-11б). КД4 го олеснува пренесувањето на сигналот и Т-клеточното активирање на клетките кои ги препознаваат комплексите класа 2-пептид.

Дали има разлика во улогите кои ги играат корецепторите КД4 и КД8 останува отворено за дискусија. Покрај сличностите во структурата, сетете се дека природата на поврзувањето на пептидот за класа 1 и класа 2 молекулите се разликува по тоа дека молекулот од класа 1 има затворен жлеб кој се врзува за краток пептид со повисок степен на специфичност. Неодамнешните податоци покажуваат дека аголот под кој ТКР му пристапува на комплексот пептид- ГТК се разликува помеѓу класа 1 и класа 2. Разликите во улогите кои ги играат корецепторите КД4 и КД8 може да произлегуваат од разликите во потребите за поврзување. Како што ќе објасниме во Поглавје 10, поврзувањето на молекулите КД4 и КД8 служи за пре-



СЛИКА 9-10 Основна структура на корецепторите КД4 и КД8; имуноглобулиновидните домени се прикажани како кругови. КД8 ја зема формата на алфа-бета хетеродимерот или на алфа-алфа хетеродимерот. Мономерниот КД4 молекул содржи четири домени обвиткани со имуноглобулини; секоја верига во молекулот КД4 содржи еден домен.



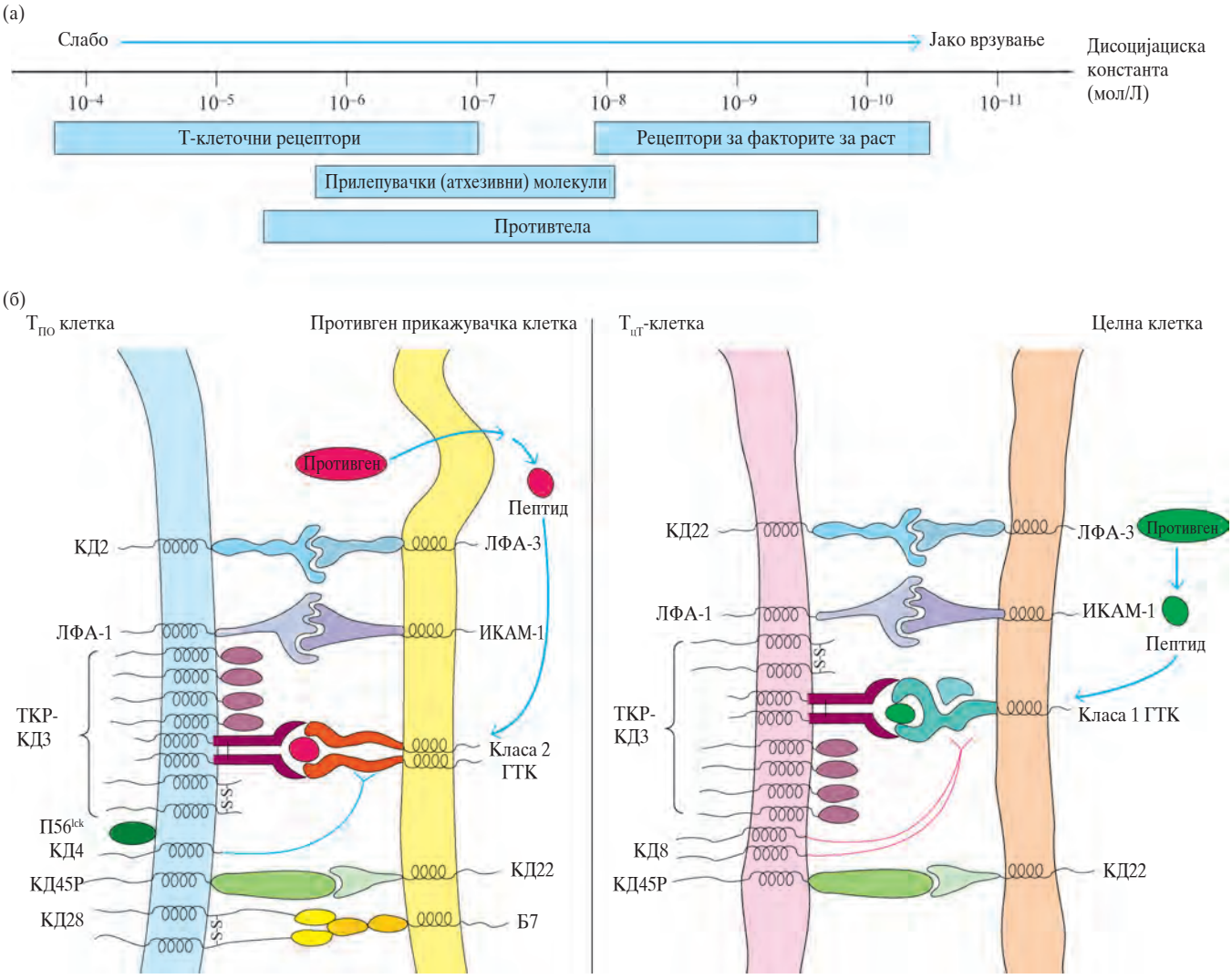
СЛИКА 9-11 Меѓудејството на корецепторите со ТКР и ГТК молекулите. (а) Спиралната шема покажува тридимензионална структура на молекулот од класа 1 ХЛА-А2 од ГТК врзан за хомодимерот КД8 алфа-алфа. Тешката верига на ХЛА-А2 е прикажана со зелена боја, микроглобулинот-бета2со жолта боја, КД8 алфа1 со црвена боја, КД8 алфа2 со сина боја, а врзаниот пептид со бела боја. Подвижната јамка на алфа3 доменот (остатоци 223-229) е во контакт со двете подединици на КД8. Во овој модел, десната страна на КД8 ќе се приклучи за Т-клеточната мембрана, а долниот лев крај од молекулот од класа 1 (доменот алфа3) од ГТК е прикачен за површината на целната клетка. (б) Меѓудејството на вонклеточниот домен на КД4 со комплексот класа 2 од ГТК пептид (пГТК2). *[Дел а од Gao et al, 1997,* Nature, ***387:****630; дел b од Wang et al, 2001,* Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A., ***98*** *(19): 10799.]*

несување на стимулаторни сигнали до Т-клетките; својствата на пренесувањето на сигналот кај КД4 и КД8 се посредувани преку нивните цитоплазмини домени.

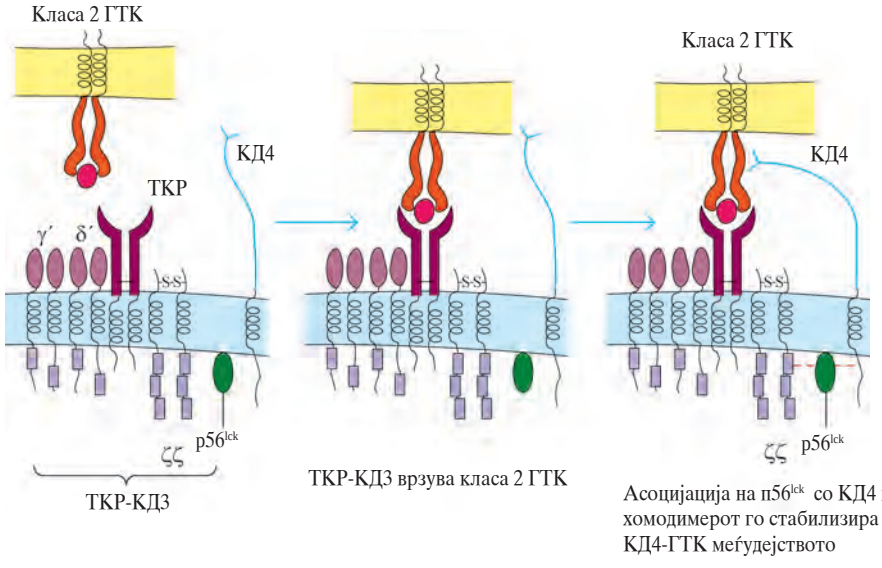
Афинитетот на ТКР за комплексот пептид-ГТК е засилен преку корецепторите

Афинитетот (склоноста) на Т-клеточните рецептори за комплексот пептид-ГТК е низок до среден, каде вредностите на K_d се движат од 10^{-4} до 10^{-7} М. Ова ниво на афинитет е слабо во споредба со меѓудејството противген-противтело кои имаат вредности за K_d од 10^{-6} до 10^{-10} М (слика 9-12а). Сепак, меѓудејствата на Т-клетката не зависат единствено од врзувањето на ТКР. *Клеточно-прилепувачките молекули* ја зацврстуваат врската помеѓу Т-клетката и противген-прикажувачката клетка или целната клетка. Неколку други помагачки мембрански молекули, вклучувајќи ги КД2, ЛФА-1, КД28 и КД45Р независно се поврзуваат за други лиганди на противген-прикажувачките клетки или на целните клетки (види табела 9-4 и слика 9-12б). Штом прилепувачките молекули ќе го остварат контактоТ-клетка-со-клетка, Т-клеточниот рецептор може да ја пребарува мембраната за комплекси пептид-ГТК. При активирањето на Т-клетката од страна на пептид-ГТК комплексот доаѓа до краткотраен пораст во мембранското прикажување на клеточно прилепувачките молекули, предизвикувајќи поблизок контакт меѓу клетките кои стапуваат во меѓудејство и кои овозможуваат поефикасен пренос на цитокините или цитокинските супстанци. Набрзо по активирањето, степенот на прилепување се намалува и Т-клетката се одвојува од противген-прикажувачката клетка или од целната клетка. Како и КД4 и КД8, дел од овие други молекули функционираат како сигнални пренесувачи. Значењето на нивната улога е прикажано со способноста на моноклонските противтела кои се специфични за врзувачките места на клеточните прилепувачки молекули да го блокираат активирањето на Т-клетката.

Најновите податоци за меѓудејството на вонклеточните делови на КД4 и комплексот пептид-класа 2 покажуваат дека меѓу нив има мал афинитет, а при некои експерименти нема врзување. Овој наод не е доследен на доказот кој покажува блискост на КД4 со молекулите од класа 2 (види слика 9-11). Соодветно објаснување за оваа разлика е дадено на слика 9-13, каде е прикажано меѓудејството во повеќе чекори помеѓу КД4 и ТКР комплексот. Сликата покажува дека меѓудејството меѓу комплексот ТКР и молекулот КД4 е стабилизирано преку двојни меѓудејства меѓу молекулот за спроведување на сигналот $p56^{lck}$ и КД4 и хомодимерот ζζ од КД3 комплексот. Сликата покажува и дека вклучувањето на молекулите кои се вклучени во спроведувањето на сигналот може да имаат главната улога за КД4 врз Т-клеточната мембрана.



СЛИКА 9-12 **Улогата на корецепторите во врзувачкиот афинитет на ТКР.** (а) Раздвојувањето е постојано во различни биолошки системи. (б) Шематско прикажување на меѓудејствата помеѓу Т-клеточниот рецептор и пептид-ГТК комплексот и различни помагачки молекули со нивните лиганди на противген-прикажувачката клетка (*лево*) или целната клетка (*десно*). Поврзувањето на корецепторите КД4 и КД8 и другите помагачки молекули за нивните лиганди ја зајакнува врската помеѓу клетките кои стапуваат во меѓудејство и/или го олеснува пренесувањето на сигналот што води до активирање на Т-клетката.

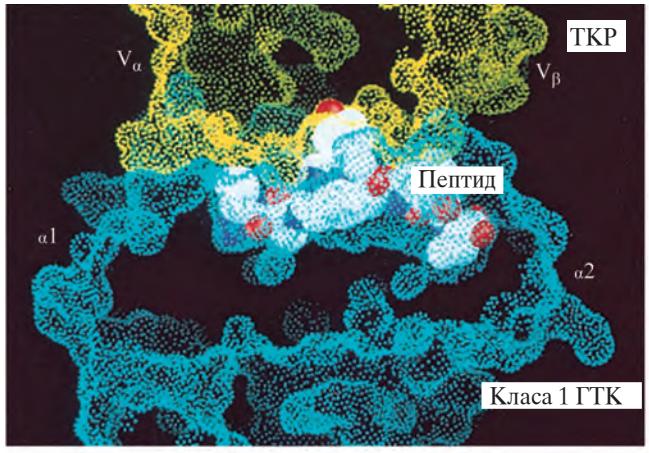


СЛИКА 9-13 **Улогата на КД4 при стабилизирањето на меѓудејството помеѓу Т-клетката и противген прикажувачката клетка е значително олеснета со контактот на две точки кој не ги вклучува само вонклеточните делови од КД4 и ГТК молекулите од класа 2 (види слика 9-11), туку исто така и внатреклеточното меѓудејство на КД4 и поврзаниот молекул за пренесување на сигналот п56lck со зета-веригата од КД3 комплексот.** *[Адаптирано од Davis et al., 2003,* Nature Immunology ***4:****217.]*

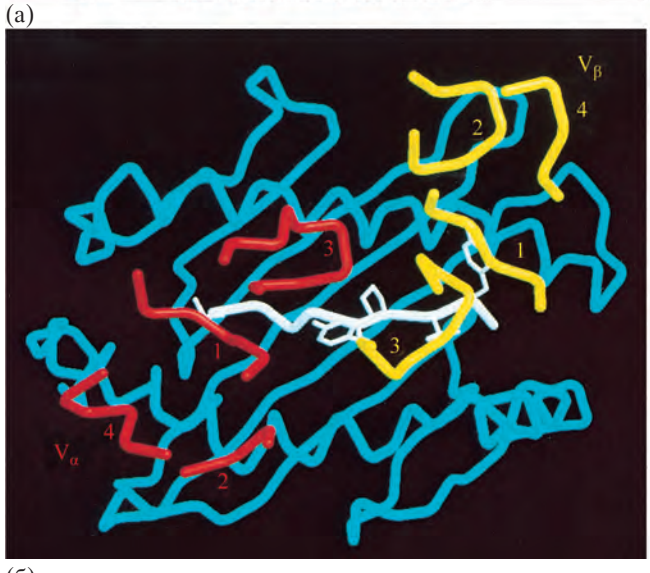
Тридимензионални структури на комплексите ТКР-пептид-ГТК

Меѓудејството меѓу Т-клеточниот рецептор и противгенот врзан за ГТК молекулот е главно и за хуморалните и за клеточно-посредуваните одговори. Молекулските елементи од ова меѓудејство се детално објаснети со рендгенска кристалографија за молекулите на ТКР кои врзуваат пептиди кои се врзани за молекули од класа 1 и класа 2 од ГТК. Тридимензионалната структура на тримолекулскиот комплекс најпрво беше објавена од Дејв Гарбоци, Дон Вили и нивните колеги. Оваа оригинална структура вклучува ТКР со алфа и бета-вериги и ХЛА-А2 молекул за кој е врзан противгениот пептид од човечкиот ретровирус ХТЛВ-1. Споредбите на ТКР во комплекс од молекулите или од класа 1 или од класа 2 покажуваат дека постои разлика во тоа како ТКР контактира со комплексот ГТК-пептид. Овие структури на ТКР значително се разликуваат од структурите на гама-делта рецепторот, кој е релативно едноставен и може да биде врзан за противген кој не бара преработување или за ГТК молекул кој е независен од врзувачкиот пептид (види слика 9-4).

Рендгенската анализа покажува дека комплексот алфа-бета ТКР-пептид-ГТК се состои од една ТКР молекул кој е врзан за еден молекул од ГТК и неговиот пептид. ТКР контактира со ГТК молекулот преку варијабилните домени на ТКР (слика 9-14 а, б). Доколку го погледнеме ГТК молекулот со неговиот врзан пептид од горе можеме да видиме дека ТКР е дијагонално поставена што одговара на долгата оска на пептидот (види слика 9-14в). Јамките на КОП3 на алфа и бета-веригите

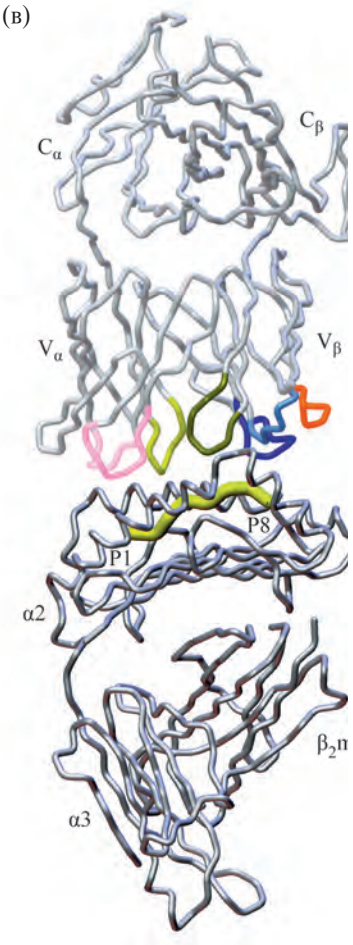


(а)



(б)

(в)



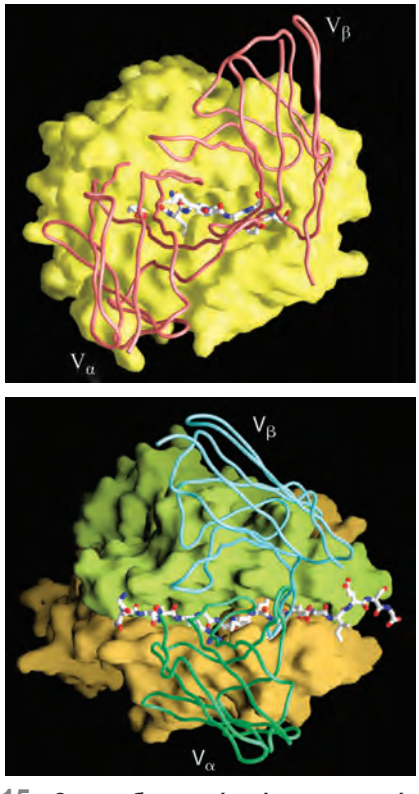
СЛИКА 9-14 Тридимензионални структри на комплексот ТКР-ГТК-пептид. (а) Модел кој покажува меѓудејство меѓу човечкиот ТКР (горе, жолта боја) и молекулот од класа 1 ХЛА-А2 од ГТК (долу, сина боја) со врзаниот ХТЛВ-1 Такс пептид (бела и црвена боја). (б) Потпорно цевчеста шема на тројното соединение од ТКР на глушец кој е врзан за молекулот од класа 1 од ГТК Х-2Кбета и пептидот (зеленото цевче означено со П1-П8). КОП1 и 2 во варијабилниот домен од алфа-веригата кај ТКР (Валфа) се обоени со розева боја. КОП1 и 2 во варијабилниот домен од бета-веригата кај ТКР (Вбета) се обоени со сина боја и КОП3 од двата вериги се со зелена боја. ХВ4 од бета-веригата е со портокалова боја. (в) Молекулот од ГТК гледан одозгора, односно, од врвот на дел а, со хиперваријабилните јамки (1-4) од варијабилните вериги алфа (црвена боја) и бета (жолта боја) од хуманиот ТКР поставени врз Такс пептидот (бела боја) и алфа1 и алфа2 доменте од молекулот од класа 1 ХЛА-А2 од ГТК (сина боја). *[Дел а и ц од D.N Garboczi et al, 1996.* Nature ***384:****134-41, сопственост на D.C. Wiley, Harvard University; дел б од C. Garcia et al., 1996,* Science ***274:****209, C. Garcia Stanford University.]*

од ТКР се среќаваат во средината на пептидот, а јамката на КОП1 од алфа-веригата од ТКР се наоѓа на Н терминалниот крај од пептидот, додека КОП1 од бета-веригата се наоѓа на Ц терминалниот крај од пептидот. Јамките од КОП2 се во контакт со ГТК молекулот; КОП2алфа се наоѓа над алфа2 доменот од алфа-спиралата, а КОП2бета над алфа1 доменот од алфа-спиралата (слика 9-14в).

Како што се предвидува од податоците за имуноглобулините, препознавањето на комплексот пептид-ГТК настанува преку варијабилните јамки во структурата на ТКР. КОП1 и КОП3 и од алфа и од бета-веригата во ТКР контактираат со пептидот и со голем дел од ГТК молекулот. Пептидот е подлабоко поставен во ГТК молекулот отколку што е во ТКР (види слика 9-14а, б), а молекулот на ТКР се поставува наспроти молекулот на ГТК стапувајќи во контакт преку мазната површина од ТКР со „високите точки" на ГТК молекулот. Фактот што регионот КОП1 стапува во контакт и со пептидот и со ГТК покажува дека подрачјата кои не се од КОП3 се вклучени во врзувањето на пептидот.

ТКР-и различно стапуваат во меѓудејство со молекулите од класа 1 и класа 2

Дали од заклучоците донесени од тридимензионалната структура на комплексите ТКР-пептид-класа 1 може да се донесе заклучок за меѓудејствата на ТКР со комплексите од класа 2? Елис Рајнхерц и неговите колеги ова прашање го



СЛИКА 9-15 Споредба на меѓудејствата помеѓу алфа-бета ТКР (а) и класа 1 ГТК- пептид (б) и класа 2 ГТК- пептид. ТКР (приказот со жиците) е во црвена боја во (а), сино-зелена боја во (б); ГТК молекулите се прикажани како површински модели; пептидот е прикажан како топка и прачка. *[Од Reinherz et al, 1999,* Science ***286:****1913.]*

одговориле со анализа на молекулот на ТКР во комплекс со молекули од класа 2 кај глушец и нивниот специфичен противген. Иако структурата на пептид-врзувачките подрачја во молекулите од класа 1 и класа 2 се слични, во Поглавје 8 видовме дека постојат разлики во начинот на кој овие молекули се приспособуваат на врзаниот пептид (види слика 8-7а, б). Споредбата на меѓудејствата на ТКР со класа 1 ГТК пептид и класа 2 - пептид открива значителна разлика во аголот во кој молекулот на ТКР лежи во ГТК комплексот (слика 9-15). Исто така, се забележува поголем број на контактни остатоци помеѓу ТКР и класа 2 од ГТК, кој е во согласност со познатиот повисок афинитет на меѓудејство. Сепак, останува да се види дали забележливата разлика во бројот на контактни точки ќе постои во сите класа 1 и класа 2 структури.

Алореактивност на Т-клетките

Предходните делови се фокусираа врз улогата на молекулите од ГТК во прикажување на противгенот од Т-клетките и меѓудејствата на Т-клеточните рецептори со пепетид-ГТК комплексот. Сепак, како што објаснивме во Поглавје 8, прво беа идентификувани молекулите од ГТК поради нивната улога во отфрлањето на туѓото ткиво. Реакциите на отфрлање на пресадок се резултат од препознавањето на молекулите на ГТК од страна на Т-клетките кои функционираат како **ткивносовпадливи противгени**. Поради извонредниот полиморфизам на ГТК повеќето поединци од ист вид имаат единствени (уникатни) сетови од ГТК молекули или ткивносовпадливи противгени и се сметаат за **алогенски**, израз кој се користи за објаснување на генетски различните поединци од истиот вид (види Поглавје 17). Според тоа, Т-клетките реагираат силно на **алотрансплантанти** (пресадоци од членови од ист вид), а молекулите од ГТК се сметаат за *алопротивгени*. Во основа, КД4+ Т-клетките се алореактивни за алопротивгените од класа 2, а КД8+ Т-клетките реагираат на алопротивгени од класа 1.

Алореактивноста на Т-клетките е збунувачка од две причини. Прво, способноста на Т-клетките да реагираат кон алогените ткивносовпадливи противгени се спротивставува на сите докази кои покажуваат дека Т-клетките можат да одговорат само врз туѓ противген плус на *сопствените* молекули од ГТК. Сепак, при одговор на алогенски пресадоци Т-клетките препознаваат *туѓ* (не-сопствен) молекул од ГТК. Втор проблем од страна на Т-клеточниот одговор на алогените молекули од ГТК е тоа што зачестеноста на алореактивните Т-клетки е мошне висока. Се проценува дека од 1% до 5% од сите Т-клетки се реактивни на даден алопротивген, што е повисоко од нормалната зачестеност на Т-клетките кои се реактивни со кој било друг одреден туѓ противгенски пептид плус молекулот од сопствениот ГТК. Оваа висока зачестеност на алореактивните Т-клетки се спортивставува на основниот принцип за клонско одбирање (селекција). Ако една Т-клетка од 20 реагира со даден алопротивген и ако се препостави дека има 100 различни хаплотипови Х-2 кај глувците, тогаш нема доволно различни Т-клеточни особености за да ги покријат сите единствени Х-2 алопротивгени, а да не говориме за туѓи противгени кои се прикажани од страна на молекулите од сопствениот ГТК.

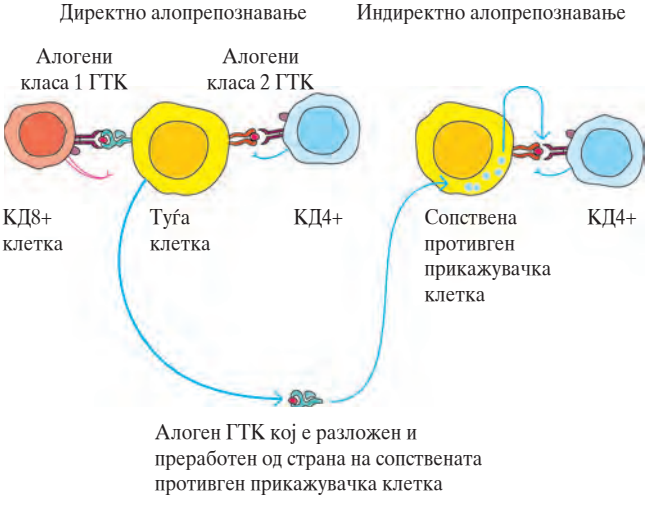
Едно можно и биолошки задоволително објаснување за високата зачестеност на алореактивните Т-клетки е дека одреден Т-клеточен рецептор кој е специфичен за туѓ противген пептид плус молекулот од сопствениот ГТК исто така може вкрстено да реагира со одредени алогени молекули од ГТК. Со други зборови, ако алогениот молекул од ГТК плус алогениот пептид

структурно наликуваат на преработен туѓ пептид плус молекулот од сопствениот ГТК, истиот Т-клеточен рецептор може да ги препознае и двата комплекса на пептид-ГТК. Бидејќи алогените клетки прикажуваат по 10^5молекули од ГТК од класа 1 по клетка, Т-клетките кои имаат рецептори за вкрстено реагирање со низок афинитет би можеле да се врзат поради високата густина врз мембранскиот алопротивген. Од друга страна, туѓиот противген ќе биде ретко прикажан врз мембраната на противген прикажувачката клетка или на изменета сопствена клетка која е поврзана со класа 1 или класа 2 молекул од ГТК ограничувајќи ја реакцијата само на оние Т-клетки кои имаат рецептори со висок афинитет.

Информациите кои се важни за механизмите за врзувањето на алореактивниот ТКР се добиени од Џ-Б. Реизер и колегите, кои ја одредија структурата на ТКР кај глушец во комплекс со алогените класа 1 молекули кои содржат врзан октапептид. Оваа анализа открива структура која е слична на структурите кои се прикажани за ТКР врзан во комлекс со сопствениот ГТК водејќи ги авторите до заклучок дека препознавањето на алогените не се разликува од препознавањето на молекулите од сопствениот ГТК.

Вистинското препознавање на туѓ ГТК може да биде директно-Т-клетките препознаваат алогени молекули од ГТК на туѓите клетки како да се молекули од сопствениот ГТК-или индиректно што значи дека Т-клетките препознаваат туѓ ГТК по неговото преработување, а фрагментите од него се претставени како врзани за сопствениот ГТК. И двете опции можат да создадат голем број комбинации кои се препознатливи од страна на Т-клетките на домаќинот. Кај индиректниот модел, отсуството на негативниот избор (негативна селекција) за пептидите кои се содржат во молекулите од туѓиот ГТК може да придонесе за високата зачестеност на алореактивните Т-клетки. Овој услов, во комбинација со разликите во структурата на изложените делови од алогениот молекул од ГТК може да се смета како феномен на алореактивност. Објаснувањето за големиот број алореактивни клетки може да се најде кај големиот број на возможни (потенцијални) противтела добиени од молекулите на туѓ ГТК плус можните пептидни противгени кои се веќе врзани за туѓите ГТК молекули за време на нивното преработување пред прикажувањето.

Исто така, алореактивноста може детално да придонесе за општото прашање на вкрстената реактивност, или „мешавината“ на ТКР, со последици за нашето разбирање на автореактивноста и етиологијата на автоимуните болести. При организирано прочување создадено за мерење на степенот на вкрстената реактивност на ТКР, Гарсија и неговите колеги развија декапептидна библиотека во која кај сите позиции од 10 остатоци на аминокиселини беа вметнати како замена за сите 20 аминокиселини. Оваа соединета (комбинирана) библиотека беше тестирана со употреба на ТКР за кој е познато дека препознава пептид од миелинскиот основен протеин (MBP-myelin basic protein) во контекст на ГТК молекулот од класа 2 кај глушец. Тридимензионалната структура на комплексот е разјаснета, а контактот на ТКР со остатоците е претходно утврден. Истражувачите открија дека пептиди од комбинираната библиотека, кои ги претставуваат сите можни замени на сите места во пептидот, воопшто не регирале со ТКР кога аминокиселините биле заменети во подрачјата од пептидот кои се вклучени во всидрувањето (вкотвување) на молекулите од ГТК. Освен тоа, иако изненадувачки број на замени во другите позиции на пептидот резултираа со одреден степен на препознавање во основа тој беше доста помал од степенот кој се среќава кај изворниот (оригинален) противген. Замените на позициите за кои е познато дека стапуваат во контакт со врзувачката страна на ТКР во основа го имаше најзначајниот негативен ефект на афинитетот што авторите ги доведе до заклучок дека ТКР најверојатно ќе се врзе со висок афинитет само за единствените комбинации ГТК-пептид додека со помал афинитет се врзува за сите варијанти што укажува на фактот дека опасноста за ТКР кој стапува во меѓудејство е доста ниска. Како последица вкрстената реактивност на ТКР е веројатно од биолошко значење само во исклучителни околности, како во случај на само-реактивноста која води до автоимуно заболување.



СЛИКА 9-16 Алореактивноста на Т-клетките може да настане како резултат од директното или индиректното препознавање на алопротивгените. Во директниот модел, молекулот од туѓиот ГТК е препознаен во неговата непроменета природна форма. Индирекното препознавање произлегува од пептидите кои произлегуваат од преработениот ГТК молекул која е претставен во контекст на молекулите од сопствениот ГТК. *[Адаптирано од A. Whitelegg and L. D. Barber, 2004,* Tissue Antigens ***63:****101.]*

РЕЗИМЕ

- Повеќето Т-клеточни рецептори, за разлика од противтелата, не реагираат со растворлив противген туку со преработен противген кој е врзан за молекулот од сопствениот ГТК.
- Т-клеточните рецептори, кои прво се изолираат со клонотипски моноклонски противтела, се хетеродимери кои се состојат од алфа и бета-верига или од гама и делта-верига, одредени гама-делта рецептори препознаваат противгени кои не се преработени и претставени од ГТК.
- Веригите од Т-клеточниот рецептор кој е врзан за мембраната се организирани во променливи и константни подрачја. Домените од ТКР се слични на домените кај имуноглобулините, а В подрачјето има хиперваријабилни подрачја.
- ДНК од зародишната линија во ТКР е организирана во повеќегенски фамилии кои одговараат на алфа, бета, гама и делта-веригите. Секоја фамилија содржи повеќе генски сегменти.
- Механизмите кои создаваат разноликост кај ТКР во основа се слични на механизмите кои создаваат разноликост кај

противтелата, иако кај гените од ТКР не настанува соматска мутација, како што се појавува кај имуноглобулинските гени.

- Т-клеточниот рецептор е тесно поврзан со КД3, соединение од полипептидни вериги кој е вклучен во пренесувањета на сигналот, КД3 е потребен за површинското прикажување на ТКР. Т-клетките прикажуваат мембрански молекули, вклучувајќи КД4, КД8, КД2, ЛФА-1, КД28 и КД45Р, кои играат помагачки улоги во Т-клеточната функција или пренесување на сигналот.
- Создавањето на тројниот комплекс ТКР-противген-ГТК бара поврзување на пептид за ГТК молекулот, потоа врзување на комплекотс ГТК-пептид со Т-клеточниот рецептор.
- Меѓудејствата меѓу ТКР и ГТК од класа 1/пептид се разликуваат од меѓудејствата со ГТК од класа 2/пептид при контактните точки меѓу ТКР и ГТК молекулите.
- Гама-делта Т-клеточниот рецептор од алфа-бета Т-клеточниот рецептор се разликува по неговата способност да се врзе за природните противгени и по разликите во ориентацијата на променливите и константните подрачја.
- Во однос на одговорот кон сопственотГТК плус туѓите противгени, Т-клетките реагираат на туѓи ГТК молекули, одговор која води кон отфрлање на алогенските транспланти.

Референца

Adams, E. J., Y-H. Chien, and K. C. Garcia. 2005. Structure of a gd T cell receptor in complex with the nonclassical MHC T22. *Science* **308:**227.

Allison, T. J., et al. 2001. Structure of a human gd T-cell antigen receptor. *Nature* **411:**820.

Baum, T-P., et al. 2004. IMGT/Geneinfo: Enhancing V(D)J recombination database accessibility. *Nucleic Acids Research* **32:** D51.

Call, M. E., and K. W. Wucherpfennig. 2004. Molecular mechanisms for the assembly of the T cell receptor-CD3 complex. *Molecular Immunology* **40:**1295.

Chen, Z. W., and N. L. Letvin. 2003. Vg2Vd21 T cells and antimicrobial immune responses. *Microbes and Infection* **5:**491.

Davis, S. J., et al. 2003. The nature of molecular recognition by T cells. *Nature Immunology* **4:**217.

Gao, G. F., et al. 1997. Crystal structure of the complex between human CD8aa and HLA-A2. *Nature* **387:**630.

Garboczi, D. N., et al. 1996. Structure of the complex between human T-cell receptor, viral peptide, and HLA-A2. *Nature* **384:** 134.

Garcia, K. C., et al. 1996. An ab T-cell receptor structure at 2.5 Å and its orientation in the TCR-MHC complex. *Science* **274:** 209.

Garcia, K. C., et al. 1998. T-cell receptor–peptide–MHC interactions: biological lessons from structural studies. *Current Opinions in Biotechnology* **9:**338.

Hodges, E., et al. 2003. Diagnostic role of tests for T cells receptor (TCR) genes. *Journal of Clinical Pathology* **56:**1.

Kabelitz, D., et al. 2000. Antigen recognition by gd T lymphocytes. *International Archives of Allergy and Immunology* **122:**1.

Krogsgaard, M., and M. M. Davis. 2005. How T cells "see" antigen. *Nature Immunology*. **6:**239.

Maynard, J., et al. 2005. Structure of an autoimmune T-cell receptor complexed with class II peptide-MHC: insights into MHC bias and antigen specificity. *Immunity* **22:**81.

Reinherz, E., et al. 1999. The crystal structure of a T-cell receptor in complex with peptide and MHC class II. *Science* **286:** 1913.

Reiser, J-B., et al. 2000. Crystal structure of a T-cell receptor bound to an allogeneic MHC molecule. *Nature Immunology* **1:** 291.

Whitelegg, A., and L. D. Barber. 2003. The structural basis of T-cell recognition. *Tissue Antigens* **63:**101.

Xiong, Y., et al. 2001. T-cell receptor binding to a pMHCII ligand is kinetically distinct from and independent of CD4. *Journal of Biological Chemistry* **276:**5659.

Zinkernagel, R. M., and P. C. Doherty. 1974. Immunological surveillance against altered self-components by sensitized T lymphocytes in lymphocytic choriomeningitis. *Nature* **251:** 547.

Корисни веб-страници

http://imgt.cines.fr

Детална база на податоци на генетски информации за ТКР, ГТК молекулите и имуноглобулините од Меѓународната база на податоци за имуногенетика, Универзитет Монепелје, Франција.

http://www.bioscence.org/knockout/tcrab.htm

Ова место дава детално резиме на ефектите на отстранување на гените за ТКР.

http://mif.dfci.harvard.edu/Tools/rankpep.htlm

Овој сервер предвидува кој пептид ќе се врзе со ГТК молекулите од класа 1 и класа 2 врз база на протеинските секвенци или распоредот на гените со употреба на матрици за специфично откривање позиции.

Прашања за учење

Прашање од клинички фокус. Можно е пациент да има зголемен лимфен јазол и Т-клеточен лимфом. Сепак, кога се испитуваа гените од алфа и бета ТКР, ДНК која беше земена од ткивото не покажа доказ за доминантно генско преуредување. Што треба следно да се направи за да се одреди малигноста на лимфоцитите?

1. Наведете кој од следниве искази е точен или неточен. Ако мислите дека одреден исказ е неточен, објаснете зошто.
   а. Моноклоналното противтело кое е специфично за КД4 ќе го копреципитира Т-клеточниот рецептор заедно со КД4.
   б. Одземачката хибридизација може да се користи за збогатување мРНК која е присутна во една клетка, но отсутна во друг вид на клетка од истиот вид.
   ц. Клонотипското моноклонско противтело се користи за изолирање Т-клеточниот рецептор.

д. Т-клетката ја користи истата група на генски сегменти В, Д и J како и Б-клетките, но користи различни генски сегменти К.

е. Алфа-бета ТКР е бивалентен и има две области за поврзување противгенот.

ф. Секој алфа-бета ТКР прикажува само еден алел од алфа и бета-веригата.

г. Механизмите за создавање разноликост кај Т-клеточните рецептори се идентични со механизмите кои ги користат имуноглобулините.

х. Хетеродимерот Иг-алфа/Иг-бета и КД3 имаат аналогни функции со Б-клеточниот рецептор и Т-клеточниот рецептор.

2. Што ги довело Зинкернагел и Доерти да заклучат дека препознавањето на Т-клеточниот рецептор бара молекули од противген и ГТК.

3. Насликајте ја основната структура на Т-клеточниот рецептор алфа-бета и споредете ја со основната структура на имуноглобулинот кој се врзува за мембрана.

4. Дел од мембранските молекули, во однос на Т-клеточниот рецептор, се вклучени во препознаавњето на противгенот и активирањето на Т-клетката. Објаснете ги особините и различните функции на следните Т-клеточни мембрански молекули: (а) КД3, (б) КД4 и КД8 и (в) КД2.

5. Наведете дали секоја од особините кои се наведени долу се однесува на Т-клеточниот рецептор (ТКР), Б-клеточниот имуноглобулин (Иг) или и двете (ТКР/Иг).

а. _____ е поврзан со КД3.

б. _____ е моновалентен.

ц. _____ постои во форма која е врзана врз мембраната и форма која се лачи.

д. _____ содржи домени со структура која е обвиткана од имуноглобулините.

е. _____ е со ограничен ГТК.

ф. _____ прикажува разновидност која е создадена со непрецизното поврзување на генските сегменти.

г. _____ прикажува разновидност која е создадена со соматската мутација.

6. Голема пречка при утврдувањето и клонирањето на ТКР гените е ниското ниво на мРНК од ТКР во Т-клетките.

а. За надминувањето на оваа пречка, Хедрик и Дејвис направија 3 значајни претпоставки кои се покажаа дека се точни. Објаснете ја секоја претпоставка и објаснете како го олеснува утврдувањето на гените кои го кодираат Т-клеточниот рецептор.

б. Наместо тоа, претпоставете дека Хедрик и Дејвис сакале да ги утврдат гените кои го кодираат ИЛ-4. Кои промени во трите претпоставки треба да ги направат?

7. Хедрик и Дејвис за изолирање на клоновите од кДНК која го кодираше Т-клеточниот рецептор ја користеа техниката на одземачка хибридизација. Сакате да ја користете оваа техника за изолирање на клоновите од кДНК која кодира одреден број генски продукти и имаат клонови од различни видови на клетки кои се достапни како извор на кДНК или мРНК за хибридизација. За секој наведен генски продукт во левата колона на табелата, изберете го најсоодветниот. Клоновите кои служат како извор за кДНК и мРНК произлегуваат од следниве типови на клетки: клетка $Т_{по}1$ (А), $Т_{по}2$ (Б), $Т_{цт}$-клетка (В), макрофаг (Г), миеломска клетка која лачи ИгА (Д), миеломска клетка која лачи ИгГ (Ѓ), миелоидна прогениторска клетка (Е) и Б-клетка (Ж). Во одредени случаи може да е точен повеќе од еден вид на клетки.

Генски продукт	Извор на кДНК	Извор на мРНК
ИЛ-2		
КД8		
J-верига		
ИЛ-1		
КД3		

8. Глувците кои се од различни природни видови кои се наведени во левата колона во придружната табела се заразени со вирус ЛЦМ. Потоа клетките од слезината кои се изведени од глувците кои се заразени со ЛЦМ и се тестираат за нивната способност за разградување на целните клетки кои се заразени со ЛЦМ и означени со ^{51}Cr од видовите кои се наведени во горниот дел од табелата. Означете со (+) или (-) дали очекувате ^{51}Cr да се ослободи од означените целни клетки.

Извор на клетки од слезината од глувци кои се заразени со ЛЦМ	Ослободување 51Цр од целните клетки кои се заразени со ЛЦМ			
	B10.D2 (H-2^d)	B10 (H-2^b)	B10.BR (H-2^k)	(BALB/c x B10) F_1 (H-$2^{b/d}$)
B10.D2 (H-2^d)				
B10 (H-2^b)				
BALB/c (H-2^d)				
BALB/b (H-2^d)				

9. Гама-бета Т-клеточниот рецептор се разликува од алфа-бета Т-клеточниот рецептор и по структурните и по функционалните критериуми. Објаснете како се тие *слични* едни со друг и различни од Б-клеточните противгенски рецептори.

10. Значително голем дел од Т-клетките се алореактивни. Објаснете како количина од еден на 20 Т-клетки може да реагира на алографтите.

11. Расеан и заборавен истражувач разрешил тридимензионална структура за ТКР молекулот во комплекс со противгенот. Истражувачот исчезнал од лабораторијата брзо без давање информации за контакт, но зад себе оставил целосна структура со висока резулуција. Кои карактеристики од структурата ќе ги испитате за да утврдите ТКР од кој вид е? Како ќе добиете информации за противгенот и ГТК молекулот која претставува, ако воопшто постои?

12. Глувците со генот за отстранување (knock out) со веригата алфа од ТКР доста подобро се развиваат од глувците за отстранување веригата зета кај КД3. Можете ли да објасните зошто?

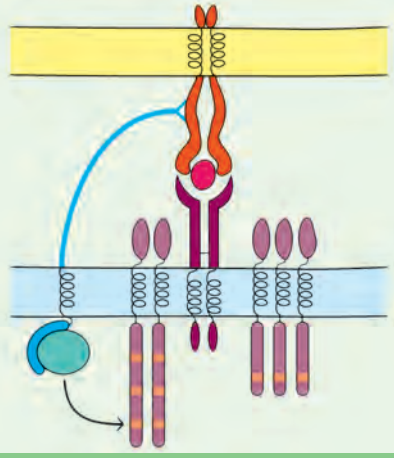
13. Споредете ги механизмите за создавање разноликост кај алфа-бета ТКР и БКР. Во вашиот одоговор објаснете ги поединците за секој рецептор.

Интерактивно учење
www.whfreeman.com/kuby

САМОСТОЕН ТЕСТ
Преглед на клучни изрази

Поглавје 10

Т-клеточно зреење, активација и диференцијација



Поврзување на ТКР со пептид-ГТК поттикнува пренесување на сигналот.

- Зреење на Т-клетките и тимусот
- Селекција на Т-клеточната разноликост во тимусот
- Активација на Т-клетките
- Диференцијација на Т-клетките
- Клеточна смрт и Т-клеточни популации

Карактеристиката по која се разликува препознавањето на противгенот од страна на повеќето Т-клетки и препознавањето на противгенот од страна на Б-клетките е ГТК спрегнувањето. Во повеќето случаи, и зреењето на родителските (прогениторни) Т-клетки во тимусот и активацијата на зрелите Т-клетки во периферијата е под влијание на вклучувањето на ГТК молекулите. Потенцијалната противгена разновидност на Т-клеточната популација е намалена при зреењето низ процес на селекција кој дозволува да созреат само ГТК-спрегнати и нереактивни кон себе Т-клетки. Крајните фази од зреењето на повеќето Т-клетки продолжуваат во две различни развојни патеки, кои создаваат функционално различни суппопулации КД4$^+$ и КД8$^+$ кои прикажуваат класа 2 и класа 1 ГТК спрегнување, соодветно.

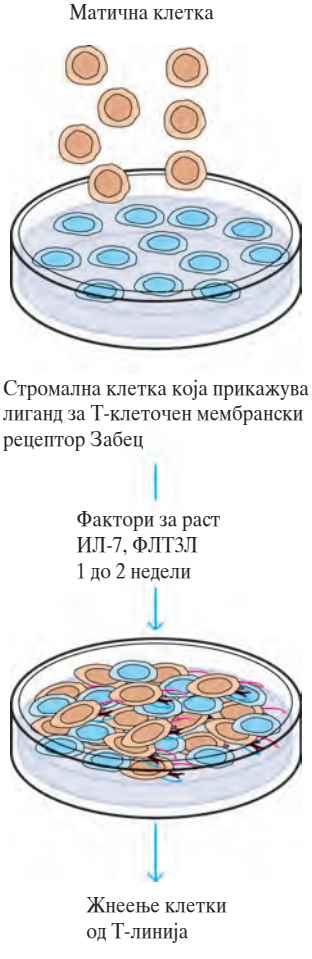
Активацијата на зрелите периферни Т-клетки започнува со меѓудејството на Т-клеточниот рецептор (ТКР) со противгениот пептид кој е прикажан во вдлабнатината од ГТК молекулот. Иако специфичноста на ова меѓудејство е управувано од ТКР, неговиот низок афинитет бара вклучување на корецепторите и други помагачки мембрански молекули кои ја зајакнуваат врската ТКР-противген-ГТК и го пренесуваат активирачкиот сигнал. Активацијата води кон пролиферација и диференцијација на Т-клетките во различни типови на ефекторни клетки и памтечки Т-клетки. Бидејќи повеќето тимоцити и периферни Т-клетки прикажуваат алфа-бета Т-клеточен рецептор за разлика од гама-делта ТКР, сите референци за Т-клеточниот рецептор во ова поглавје се однесуваат на алфа-бета рецепторот, освен ако не е поинаку наведено.

Т-клеточно зреење и тимусот

Родителските Т-клетки започнуваат да мигрираат во тимусот од раните места на хематопоезата околу 11-тиот ден од бременоста кај глувците и во осмата или деветтата недела од бременоста кај луѓето. На начин кој е сличен на Б-клеточното зреење во коскената срцевина, зреењето на Т-клетките вклучува преуредување на ТКР гените од зародишната линија и прикажување на различни мембрански обележувачи. Во тимусот, развојните Т-клетки, познати како **тимоцити**, пролифералат и се диференцираат преку развојни патеки кои создаваат функционално различни суппопулации на зрели Т-клетки.

Како што е прикажано во Поглавје 2, тимусот зазема централна улога во Т-клеточната биологија. Покрај тоа што е главен извор на сите Т-клетки, тоа е место каде Т-клетките се видоизменуваат и се обликуваат во ефекторна примарна Т-клеточна разноликост преку посебен пар на селективни процеси. Еден од нив, **позитивната селекција**, дозволува опстанок само на оние Т-клетки чиишто ТКР е способен за препознавање на сопствените ГТК молекули. Според тоа, тој е одговорен за создавањето на сопствена ГТК-спрегната Т-клеточна разноликост. Другиот процес на селекција, **негативната селекција**, ги отстранува Т-клетките кои реагираат премногу силно со сопствените ГТК молекули или со сопствените ГТК плус сопствени пептиди. Негативната селекција е многу важен фактор за создавањето на првична самотолерантна Т-клеточна разноликост.

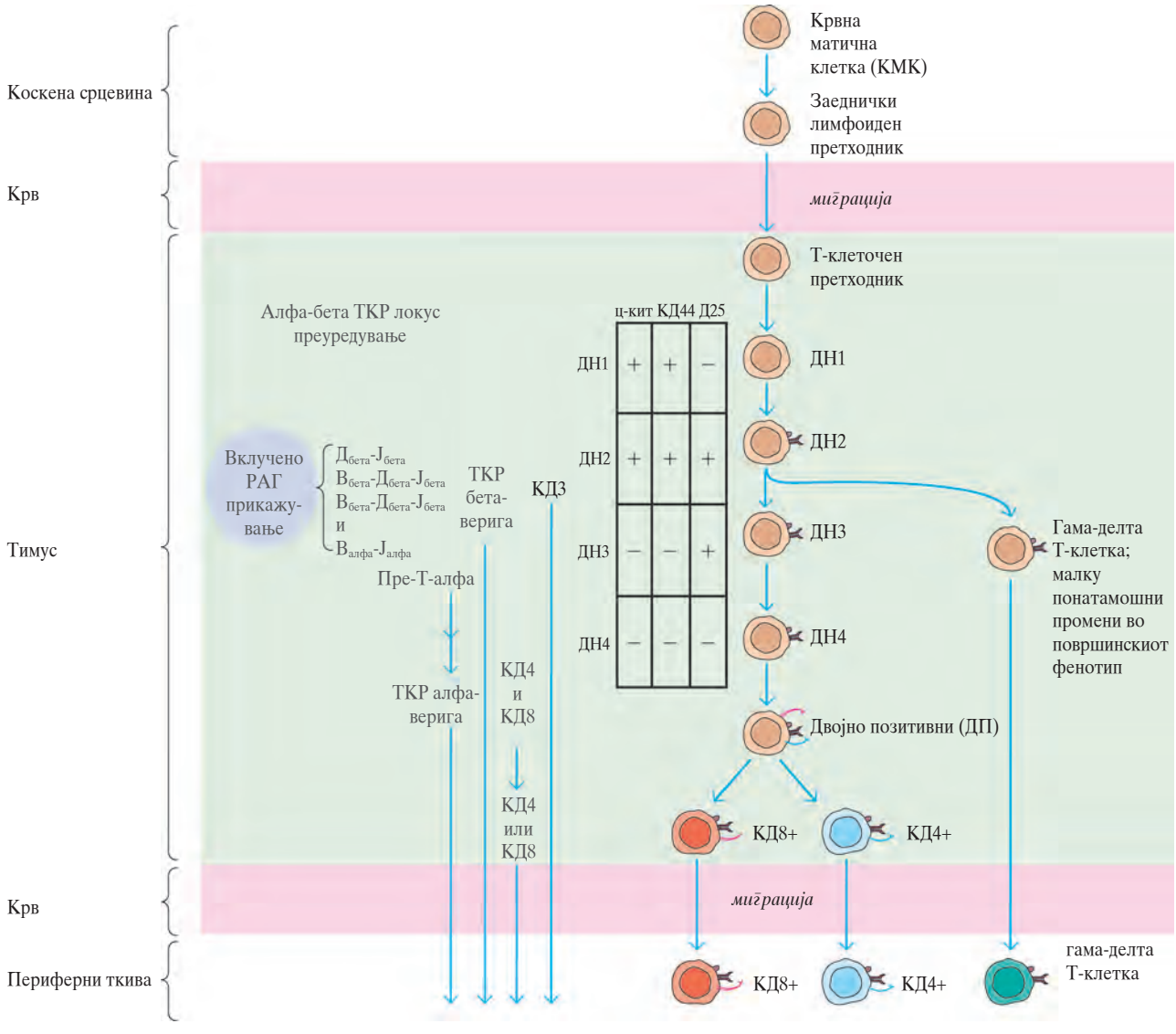
Развојот на Т-клетките започнува со пристигнувањето на мал број лимфоидни претходници кои мигрираат од крвта во тимусот, каде што пролиферираат, се диференцираат и претрпуваат селективни процеси кои резултираат до развој на зрели Т-клетки. До неодмна, се веруваше дека неоштетената структура на тимусот е неопходен услов за да настане овој развоен процес. Во раните години, ин витро експериментите за развојот на Т-клетките беа ограничени на култура на фетален тимусен орган, каде што беа култивирани ин витро делови од фетален тимус. Ова е спротивно на Б-клеточниот развој, кој може да биде повторен ин витро со употреба на матични клетки од коскената срцевина кои пораснале на стромални клетки во присуство на соодветни цитокини. Во големото откритие од 2002 година, J. C. Zuniga-Pfluker и колегите покажаа дека Т-клетките можат да се поттикнат на развој во отсуство на тимусни делови кога матичните клетки од коскената срцевина се култивираат на стромална клеточна линија која прикажува лиганд за Т-клеточниот мембрански рецептор Забец. Во ретроспектива, барањето да бидат присутни сигнални патеки кои се посредувани од Забец (Notch) за ин витро развој на Т-клетките е укажано од страна на повеќе линии на докази, вклучувајќи го наодот дека раните Т-клетки кои имаат отстранет (нокаутиран) Забец *1* ген не созреале. (Забец *1* е еден од четирите членови на фамилијата Забец). Како што е прикажано на слика 10-1, растот на крвните матични клетки (КМК) на стромални клетки кои прикажуваат Забец лиганд го насочува развојот на овие мултипотентни матични клетки кон Т-лозата. Всушност, присилното прикажување на Забец на КМК кај животните резултира со Т-лимфоцити, но не и Б-лимфоцити. Овој резултат ни кажува дека прикажувањето на еден протеин, Забец, може да го смени правецот на потенцијалната Б-клетка во клетка од Т-лозата и цврсто го воспоставува Забец како клучен протеин во специфицирањето на Т-лозата.



СЛИКА 10-1 Развој на Т-клетките од крвни матични клетки на стромални клетки од коскената срцевина кои прикажуваат Забец лиганд. *[Адаптирано од J. C. Zuniga-Pfucker, 1002,* Nature Reviews Immunology *4:67-72]*

Како што е прикажано на слика 10-2, кога предходниците од Т-клетките пристигнуваат во тимусот, тие не ги прикажуваат препознатливите површински обележувачи за Т-клетките како што се Т-клеточниот рецептор, КД3 комплексот, или корецепторите КД4 и КД8. Всушност, овие родителски клетки сè уште не ги преуредиле нивните ТКР гени и не ги прикажуваат протеините како што се РАГ-1 и РАГ-2, кои се потребни за преуредувањето. По пристигнувањето во тимусот, претходничките Т-клетки навлегуваат во надворешната кора и бавно пролиферираат. Во периодот од приближно три недели од развојот во тимусот, диференцирачките Т-клетки минуваат низ серија фази кои се означени со карактеристични промени во нивниот површински клеточен фенотип. На пример, на тимоцитите кои се наоѓаат во раната фаза на развојот им недостасуваат видливи КД4 и КД8. Бидејќи овие клетки се КД4$^-$ КД8$^-$ се наречени **двојно-негативни (ДН)** клетки. Всушност, ДН Т-клетките можат да се поделат во четири подгрупи (ДН1-4), кои се карактеризираат со присуство или отсуство на други површински клеточни молекули покрај КД4 и КД8, како што се ц-Кит, рецепторот за факторот на раст на матичните клетки; КД44, атхезивен молекул и КД25, алфа-веригата од Ил-2 рецепторот. Клетките кои навлегуваат во тимусот - ДН1 клетки - се способни за создавање на сите подгрупи Т-клетки и фенотипски се ц-кит$^+$, КД44^{високо} и КД25$^-$. Штом ДН1 клетките ќе се најдат во тимусот, тие започнуваат да пролиферираат и прикажуваат КД25 и стануваат ц-кит$^+$, КД44^{ниско} и КД25$^+$. Овие клетки се наречени ДН2 клетки. За време на критичната ДН2 фаза од развојот, започнува преуредувањето на гените за ТКР гама, делта и бета-веригите; сепак, локусот алфа од ТКР не се преуредува, бидејќи подрачјето од ДНК кое ги кодира алфа-гените од ТКР е густо збиен и не е пристапен за рекомбинантната машинерија. Како што клетките напредуваат до ДН3, прикажувањето на ц-кит и КД44 е исклучено, а преуредувањата на ТКР-гама, ТКР-делта и ТКР-бета продолжуваат. Клетките кои се предодредени да станат гама-делта Т-клетки (мал процент (<5%) од зрелите тимоцити) се двојат на преминот меѓу ДН2 и ДН3 и стануваат зрели гама-делта Т-клетки со многу малку промени во нивниот површински фенотип. Кај глувците, оваа суппопулација на тимоцити може да се открие 14-тиот ден од бременоста, достигнува максимален број од 17 до 18-тиот ден, а потоа опаѓа до раѓањето (слика 10-3). Повеќето ДН2 клетки се предодредени да доведат до создавање на алфа-бета Т-клетки, а по прептпоставка на ДН3 фенотипот (ц-кит$^-$, КД44$^-$, КД25$^+$), клетките ја стопираат пролиферацијата, а во цитоплазмата на овие клетки се забележуваат протеински продукти од преуредувањето на ТКР-бета. Новосинтетизираните бета-вериги се спојуваат со 33-кДа гликопротеин познат како пре-Т алфа-верига и се поврзува со КД3 групата за да формира комплекс наречен **пре-Т-клеточен рецептор** или **пре-ТКР** (слика 10-4). Забелешка, протеините Забец играат витална улога во оваа фаза од раз-

СЛИКА НА ДЕТАЛНИОТ ПРЕГЛЕД 9-6: Развој на Т-клетките кај глувците



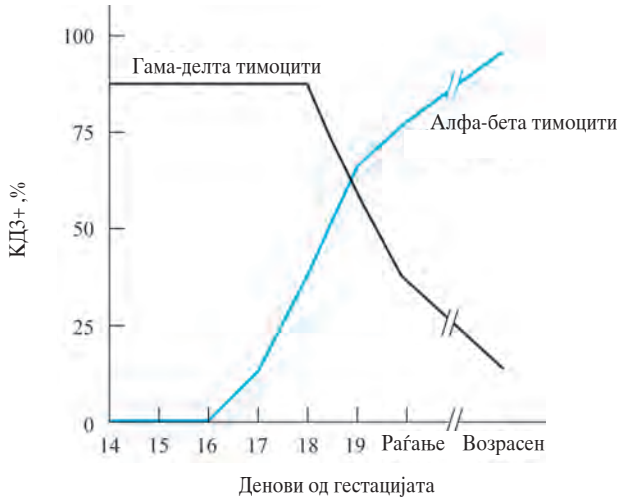
Т-клеточните претходници пристигнуваат во тимусот од коскената срцевина преку крвотокот, претрпуваат развој до зрели Т-клетки и се испорачуваат до периферијата, каде може да претрпат активација - поттикната од противген и диференцијација во ефекторни клетки и памтечки клетки. Секоја фаза од развојот се карактеризира со внатреклеточни процеси специфични за одредената фаза и прикажување на различни површински клеточни обележувачи.

војот на Т-клетките: клетките кои не прикажуваат Забец не созреваат по оваа фаза.

Создавањето на пре-ТКР ја активира сигнално-пренесувачката патека која има одреден број на последици:

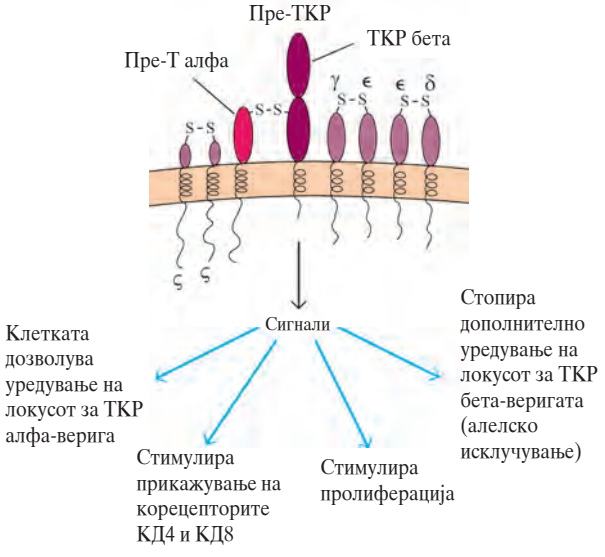
- Покажува дека клетката направила продуктивно преуредување на ТКР бета-веригата и ја сигнализира нејзината понатамошна пролиферација и зреење.
- Попречува понатамошно генско преуредување на ТКР бета-веригата, што доведува до алелско исклучување.
- Ја прави клетката попустлива за преуредување на ТКР алфа-веригата.
- Поттикнува развоен напредок до КД4^{+}8^{+} *двојно-позитивната* состојба.

По завршување на преуредувањето на бета-веригата, ДН3 клетките брзо напредуваат до ДН4, нивото на КД25 опаѓа и се прикажуваат двата корецептори КД4 и КД8. Оваа **двојно-позитивна (ДП)** фаза е период на брза пролиферација. Сепак, во овој период сè уште се нема случено генско преуредување на



СЛИКА 10-3 Временски период за појавување на гама-делта и алфа-бета тимоцитите за време на ембрионалниот развој на глувците. Графиконот го покажува процентот на КД3+клетки во тимусот кои се двојно негативни (КД4–8–) и поседуваат гама-делта Т-клеточен рецептор (црна боја) или се двојно позитивни (КД4+8+) и поседуваат алфа бета Т-клеточен рецептор (сина боја).

ТКР алфа-веригата. Генското преуредување на алфа-веригата не почнува се додека двојно-позитивните тимоцити не запрат со пролиферацијата и додека не се зголеми нивото на протеинот РАГ-2. Пролиферативната фаза која претходи на генското преуредување на алфа-веригата ја зголемува разновидноста на Т-клеточната разноликост со создавање клонови на клетки со единечно преуредување на ТКР бета-веригата. Секоја клетка од овој клон може да преуреди различен ген за алфа-веригата, притоа создавајќи поразлична популација отколку ако оригиналната клетка претпела преуредување на локусите и за алфа и за бета-веригата пред да пролиферирала. Кај глувците, гените за ТКР алфа-веригата не се прикажуваат до 16 или 17 ден од бременоста; двојно позитивните клетки кои прикажуваат КД3 и алфа-бета Т-клеточен рецептор почнуваат да се појавуваат на 17-тиот ден и постигнуваат максимални нивоа околу времето на раѓање (види слика 10-3). Поседувањето на целосен ТКР им овозможува на ДП тимоцитите да ги претрпат строгите правила од позитивната и негативната селекција.



СЛИКА 10-4 Структура и активност на пре-Т-клеточниот рецептор (пре-ТКР). Врзувањето на лигандите, кои допрва треба да се идентификуваат, за пре-ТКР создава интраклеточни сигнали кои поттикнуваат мноштво процеси.

Развојот на Т-клетките е скап процес за домаќинот. Проценето е дека 98% од сите тимоцити не созреваат - тие умираат во тимусот со апоптоза бидејќи не успеваат да направат успешно преуредување на гените за ТКР или бидејќи не успеваат да ја преживеат селекцијата во тимусот. Двојно позитивните тимоцити кои прикажуваат алфа-бета ТКР-КД3 комплекс и ја преживуваат тимусната селекција се развиваат во незрели **единечно позитивни КД4+** тимоцити или **единечно позитивни КД8+** тимоцити. Овие единечно позитивни клетки подлежат на дополнителна негативна селекција и мигрираат од кортексот во медулата, каде што поминуваат од тимусот во циркулаторниот систем.

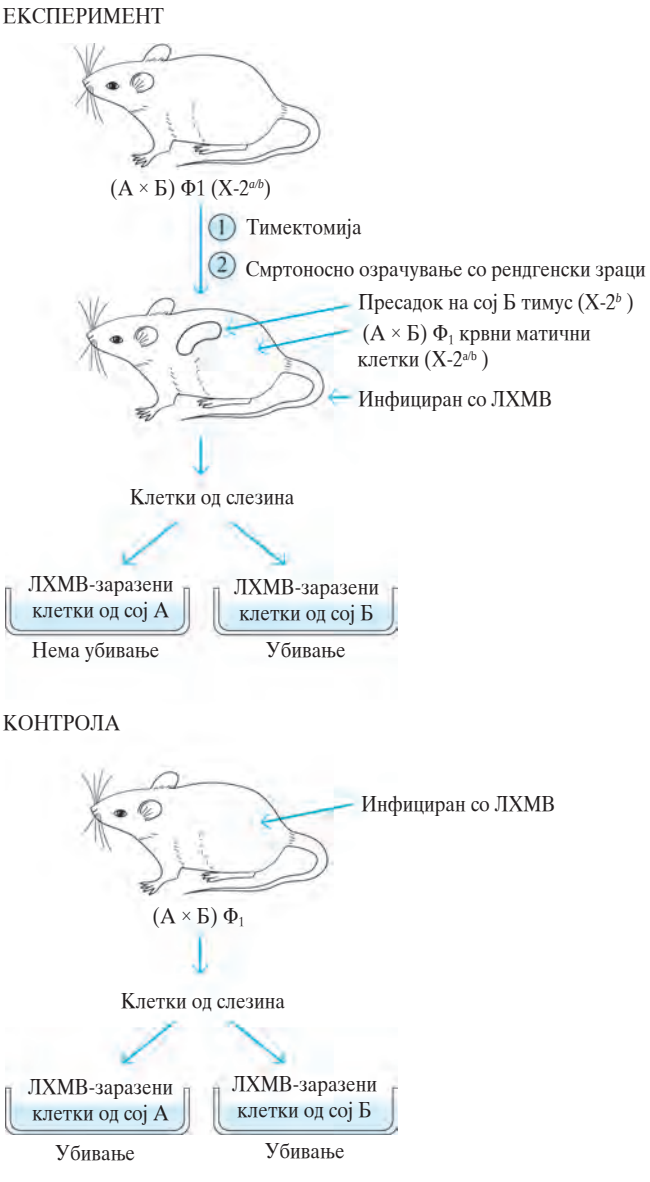
Селекција на Т-клеточната разноликост во тимусот

Случајните генски преуредувањата на ТКР во ДНК зародишната линија во комбинација со разновидноста при поврзувањето може да создаде огромна ТКР разноликост, со проценета потенцијална разновидност која надминува 10^{15} за алфа-бета рецепторот и 10^{18} за гама-делта рецепторот. Генските продукти кои се кодирани од страна на преуредени ТКР гени немаат наследен афинитет кон надворешен противген плус сопствен-ГТК молекул; теоретски тие треба да се способни за препознавање растворлив противген (сопствен или туѓ), сопствени ГТК молекули, или противген плус несопствен-ГТК молекул. И покрај тоа, најспецифичната особина на зрелите Т-клетки е дека тие препознаваат само надворешен противген кој е комбиниран со сопствен-ГТК молекул.

Како што забележавме, тимоцитите подлежат на два процеси на селекција во тимусот:

- Позитивна селекција за тимоцитите кои поседуваат рецептори способни за врзување со сопствените-ГТК молекули, што доведува до **ГТК спрегнување**. Клетките кои не успеваат да ја поминат позитивната селекција се елиминираат во тимусот со апоптоза.
- Негативна селекција која ги отстранува тимоцитите кои имаат високо афинитетни рецептори само кон сопствените-ГТК молекули или сопствен противген презентиран од страна на сопствен ГТК, што доведува до **самотолеранција**.

Двата процеси се неопходни за создавање на зрели Т-клетки кои се сопствено-ГТК спрегнати и самотолерантни. Како што забележавме претходно, околу 98% или повеќе од сите тимоцити умираат во тимусот со апоптоза. Масата на оваа висока стапка на смрт ја рефлектира отстранувањето на тимоцитите кои не успеале да ја поминат позитивната селекција бидејќи нивните рецептори не препознаваат специфично сопствени-ГТК молекули. Овие клетки не примаат стимулација за раст и умираат во процес познат како смрт од запоставеност.



СЛИКА 10-5 Експериментален приказ дека тимусот за зреење ги селектира само оние Т-клетки чиишто Т-клеточни рецептори препознаваат противген кој е прикажан на целните клетки со хаплотип на тимусот. На тимектомизираните и смртоносно озрачени (А × Б) Ф1 глувци им е пресаден сој Б тимус и се обновени со (А × Б) Ф1 клетки од коскена срцевина. По инфекцијата со ЛХМВ, анализирана е способноста на ЦТЛ клетките за убивање на 51Цр- обележани целни клетки од сој А или сој Б заразени со ЛХМВ. Само целните клетки од сој Б беа лизирани, што укажува на фактот дека Х-2б пресадениот тимус ги селектирал за зреење само оние Т-клетки кои можат да препознаат противген поврзан со Х-2б ГТК молекули.

Првиот доказ за улогата на тимусот во селекцијата на Т-клеточната разноликост дојде од експериментите со химерични глувци од страна на R.M. Zinkernagel и неговите колеги (слика 10-5). Овие истражувачи во тимектомизирани и озрачени $Ф_1$ глувци (А х Б) имплантираа тимус Б сој, а потоа го реконструираа имуниот систем на животните со интравенозна инфузија на $Ф_1$ клетки од коскена срцевина. Тимусниот пресадок бил озрачен пред пресадувањето за да се осигура дека не содржи зрели Т-клетки. При таков експериментален систем, родителските Т-клетки од пресадокот (А х Б) $Ф_1$ коскена срцевина созреваат во тимусот кој прикажува само Б-хаплотип ГТК молекули на неговите стромални клетки. Дали сега овие (А х Б) $Ф_1$ Т-клетки ќе бидат ГТК спрегнати за хаплотипот на тимусот? За да се одговори на ова прашање, химерните глувци се заразени со лимфоцитниот хориоменингитисен вирус (ЛХМВ), а потоа е тестирана способноста на Т-клетките од слезината да убиваат заразени со ЛХМВ целни клетки од сој А или сој Б глувци. Како што е прикажано на слика 10-5, кога Т од химерниот глушец се тестираа на ВЛХМ заразени целни клетки од сој А или сој Б глувци, тие ги лизираа ЛХМВ заразените целни клетки од сојот Б глувци. Овие глувци го имаат истиот ГТК хаплотип, Б, како и трансплантираниот тимус. Оттука, ГТК хаплотипот на тимусот каде што се развиваат Т-клетките го одредува нивното ГТК спрегнување.

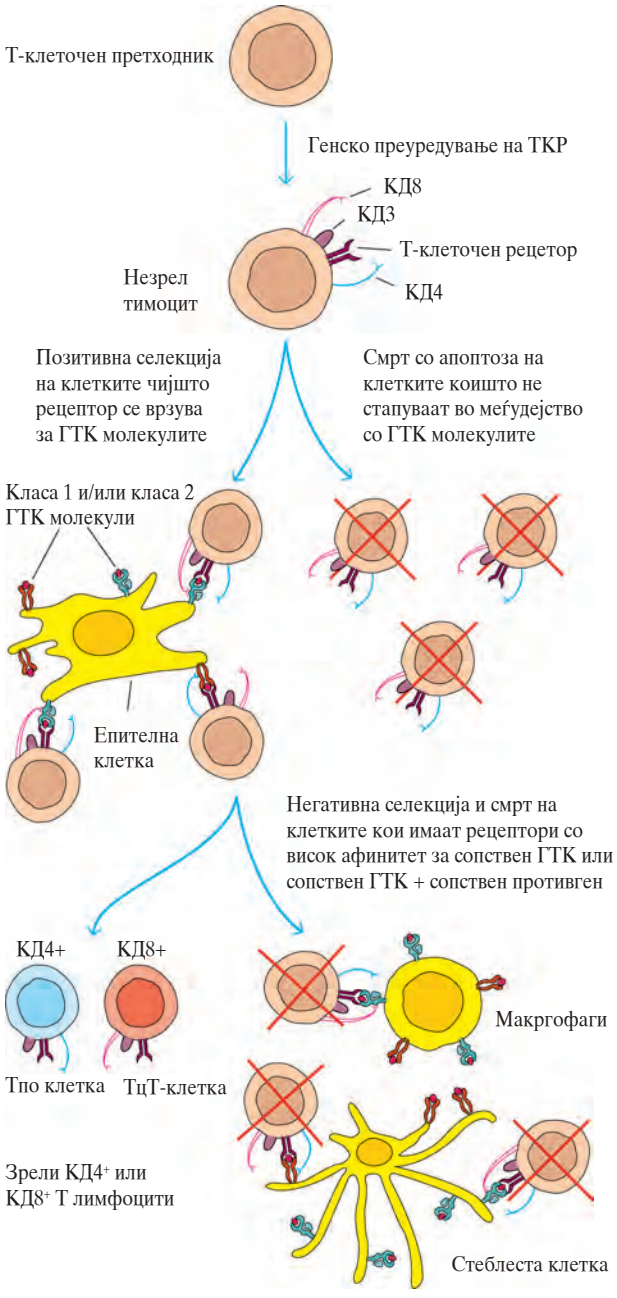
цТ-клетки

Тимусните стромални клетки, вклучувајќи ги епителните клетки, макрофагите и стеблестите клетки, играат значајни улоги во позитивната и негативната селекција. Овие клетки прикажуваат класа 1 ГТК молекули и исто така можат да прикажат високи нивоа на класа 2 ГТК молекули. Меѓудејството на незрелите тимоцити кои прикажуваат ТКР-КД3 комплекс со популациите на тимусни стромални клетки доведува до позитивна и негативна селекција со механизми кои се под интензивно истражување. Прво, ќе ги разгледаме деталите на секој процес на селекција, а потоа ќе разгледаме одредени експерименти кои овозможуваат увид во работата на овие процеси.

Позитивната селекција обезбедува ГТК спрегнување

Позитивната селекција се случува во кортикалното подрачје на тимусот и вклучува меѓудејство на незрелите тимоцити со кортикалните епителни клетки (слика 10-6). Постојат докази дека Т-клеточните рецептори на тимоцитите тежнеат да се групираат со ГТК молекулите на кортикалните клетки во областите на контакТ-клетка со клетка. Одредени истражувачи предложиле дека овие меѓудејства на незрелите тимоцити им овозможуваат да примат заштитен сигнал кој спречува да доживеат клеточна смрт. Клетките чиишто рецептори не можат да се врзат за ГТК молекулите нема да стапат во меѓудејство со тимусните епителни клетки и последователно нема да го примат заштититниот сигнал, што води до нивна смрт со апоптоза.

При позитивната селекција, протеините РАГ-1, РАГ-2 и ТдТ кои се потребни за генското преуредување и модифицирање продолжуваат да бидат прикажани (види слика 5-7). Според тоа, сите незрели тимоцити во клонот кои прикажуваат дадена бета-верига имаат можност да преуредат различни гени за ТКР алфа-веригата, а потоа резултирачките ТКР се селектираат за препознавање на сопствениот ГТК. Само оние клетки чиишто алфа-бета ТКР хетеродимер препознава сопствен ГТК молекул се селектираат за преживување. Според тоа, присуството на повеќе од една комбинација на алфа-бета ТКР веригите меѓу членовите на клонот е значајно бидејќи ја зголемува можноста одредени членови да го „поминат“ тестот на позитивната селекција. Секоја клетка која ќе успее да ја преуреди алфа-веригата што овозможува резултирачкиот алфа-бета ТКР да го препознае сопствениот ГТК ќе биде поштедена; сите членови



СЛИКА 10-6 Позитивна и негативна селекеција на тимоцитите во тимусот. Тимусното селектирање вклучува тимусни стромални клетки (епителни клетки, стеблести клетки и макрофаги) и резултира со зрели Т-клетки кои се и сопствено ГТК спрегнати и самотолерантни.

на клонот кои нема да успеат да го направат ова ќе умрат со апоптоза за 3 до 4 дена.

Негативната селекција обезбедува самотолеранција

Популацијата на ГТК спрегнати тимоцити кои ја преживеале позитивната селекција вклучува клетки со рецептори кои имаат од низок до висок афинитетен опсег за сопствениот противген кој е презентиран од страна на сопствените ГТК молекули. Тимоцититите со високо афинитетни рецептори се отстрануваат при негативната селекција со меѓудејство со стромалните клетки на тимусот. За време на негативната селекција, стеблестите клетки и макрофагите кои имаат класа 1 и класа 2 ГТК молекули стапуваат во меѓудејство со тимоцитите кои имаат рецептори со висок афинитет за сопствен противген плус сопствен ГТК молекул или само за сопствени ГТК молекули (види слика 10-6). Сепак, точните детали за процесот сè уште не се познати. Забележано е дека клетките кои доживуваат негативна селекција, умираат со апоптоза. Според тоа толеранцијата кон сопствени противгени, со кои се среќаваат во тимусот, се постигнува со отстранување на Т-клетките кои се реактивни кон овие противгени.

Експериментите ги открија потребните елементи на позитивната и негативната селекција

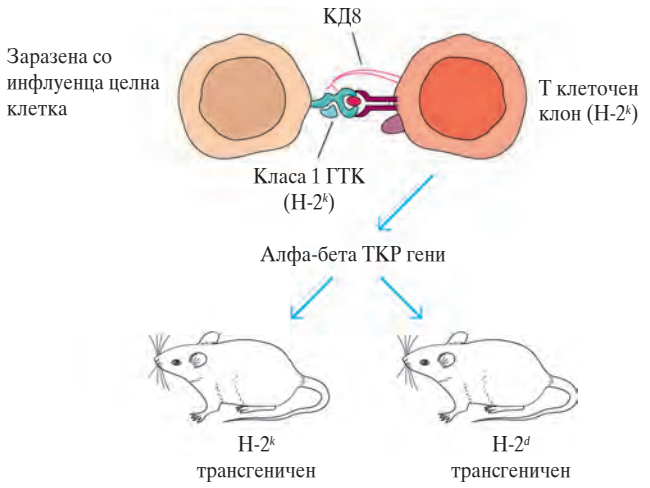
Директниот доказ дека позитивната селекција во тимусот бара врзување на тимоцитите за класа 1 или класа 2 ГТК молекулите доаѓа од експерименталните студии со глувци со отстранети гени (нокаутирани глувци) кои не се способни за создавање функционални класа 1 или класа 2 ГТК молекули (табела 10-1). Откриено е дека глувците со недостаток на класа 1 имаат нормална распределба на двојно негативни, двојно позитивни и КД4$^+$ тимоцити, но не можат да создадат КД8$^+$ тимоцити. Глувците со недостаток на класа 2 имале двојно негативни, двојно позитивни и КД8$^+$ тимоцити, но им недостасувале КД4$^+$тимоцити. Не е за изненадување дека во лимфните јазли на овие глувци, со недостаток на класа 2, недостасуваа КД4$^+$ Т-клетки. Според тоа, отсуството на класа 1 или класа 2 ГТК молекулите ја спречува позитивната селекција на КД8$^+$ или КД4$^+$ Т-клетките, соодветно.

Понатамошните експерименти со трансгеничните глувци овозможија дополнителни докази дека меѓудејството со ГТК молекулите игра улога во позитивната селекција. Во овие експерименти, преуредените алфа-бета ТКР гени кои произлегуваат од КД8$^+$ Т-клеточниот клон специфичен за противгенот на инфлуенца плус X-2^k класа 1 ГТК молекул беа инјектирани во оплодени јајца од два различни соеви на глувци, еден со хапло-

ТАБЕЛА 10-1 Ефект од недостаток на класа 1 или класа 2 ГТК во тимоцитните популации*

		ГЛУВЦИ СО ОТСТРАНЕТ ГЕН	
Вид на клетка	**Контролен глушец**	**Недостаток на класа 1**	**Недостаток на класа 2**
КД4-КД8-	+	+	+
КД4+КД8+	+	+	+
КД4+	+	+	-
КД8+	+	-	+

* Знакот плус покажува нормална распределба на означените типови на клетки во тимусот. Знакот минус означува отсуство на клеточниот тип.



Тимоцити кај трансгеничните	Н-2^k трансгеничен	Н-2^d трансгеничен
ТКР$^+$/КД4$^+$8$^+$	+	+
ТКР$^+$/КД8$^+$	+	–

СЛИКА 10-7 Ефект на хаплотипот на домаќинот врз Т-клеточното зреење кај глувци кои носат трансгени кои кодираат Н-2^b класа 1 спрегнат Т-клеточен рецептор кој е специфичен за инфлуенца вирусот. Присуството на преуредените ТКР трансгени ги супресира другите генски преуредувања кај трансгеничните глувци. Поради тоа, повеќето тимоцити кај трансгеничните го прикажуваат алфа-бета Т-клеточниот рецептор кодиран од трансгенот. Незрелите двојно-позитивни тимоцити созреваат во КД8$^+$Т-клетки само кај трансгеничните со хаплотип (Х-2^k) кој одговара на ГТК спрегнувањето на ТКР трансгенот.

тип Х-2^k и еден со хаплотип Х-2^d (слика 10-7). Бидејќи рецепторните трансгени веќе беа преуредени, другите преуредувања на ТКР гените беа супресирани во трансгеничните глувци. Поради тоа, голем процент од тимоцититите во трансгеничните глувци прикажуваа Т-клеточен рецептор кој е кодиран од страна на трансгенот. Откриено е дека тимоцитите кои прикажуваат ТКР трансген созреваат во КД8$^+$Т-клетки само кај трансгеничните глувци со хаплотип Х-2^k класа 1 ГТК (т.е, хаплотипот за кој е спрегнат трансгеничниот рецептор). Кај трансгеничните глувци со различен ГТК хаплотип (Х-2^d), присутни се незрели, двојно позитивни тимоцити кои го прикажуваат трансгенот, но овие клетки не можат да созреат во КД8$^+$Т-клетки. Овие наоди потврдија дека меѓудејството помеѓу Т-клеточните рецептори на незрелите тимоцити и сопствените ГТК молекули е потребно за позитивна селекција. Во отуство на сопствени ГТК молекули, како кај трансгеничните глувци Х-2^d, не настанува позитивна селекција и последователното зреење.

Доказот за отстранување на тимоцитите кои се реактивни кон сопствениот противген плус ГТК молекул доаѓа од бројни експериментални студии. Во една студија, зреењето на тимоцитите е анализирано кај трансгенични глувци кои имаат алфа-бета ТКР трансген кој е специфичен за класа 1 D^b ГТК молекул плус противген Н-Y, мал протеин кој е кодиран на Y хромозомот и според тоа е сопствен молекул само кај глувците од машки пол. При овој експеримент, ГТК хаплотипот на трансгеничниот глушец е Н-2^b, ист како спрегнувањето на ГТК трансген-кодираниот рецептор. Според тоа, сите разлики во селекцијата на тимоцитите кај трансгеничните мажјаци и женки ќе бидат поврзани со присуството или отсуството на Н-Y противгенот.

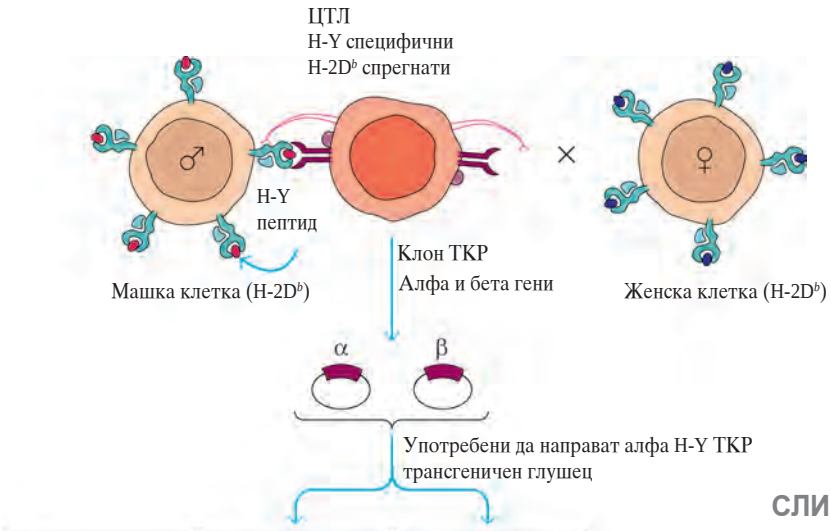
Анализата на тимоцитите од трансгеничните глувци откри дека глувците од женски пол содржат тимоцити кои прикажуваат Н-Y специфичен ТКР трансген, а глувците од машки пол не го содржат (слика 10-8). Со други зборови, Н-Y реактивните тимоцити кај глувците од машки пол се сопствено реактивни и се отстрануваат. Сепак, кај трансгеничните женки кои не го прикажуваат противгенот Н-Y, овие клетки не се сопствено реактивни и според тоа не се отстрануваат. Кога тимоцитите од овие машки трансгенични глувци се култивирани ин витро со противген прикажувачки клетки, кои го прикажуваат Н-Y противгенот, забележано е дека тимоцитите претрпуваат апоптоза, што е значаен пример за негативна селекција.

Одредени важни проблеми за тимусната селекција остануваат нерешени

Иако доста е научено за развојните процеси кои создаваат зрели КД4$^+$ и КД8$^+$ Т-клетки, сепак сè уште има мистерии. Меѓу нив значаен е парадоксот: Ако позитивната селекција овозможува само тимоцитите кои се реактивни со сопствените ГТК молекули да преживеат и ако негативната селекција ги отстранува тимоцитите кои се реактивни кон сопствените ГТК молекули, тогаш на ниедна Т-клетка нема да ѝ биде дозволено да созрее. Имајќи предвид дека ова не е резултатот од развојот на Т-клетките, јасно е дека други фактори работат за да спречат овие два ГТК-зависни процеси да ја отстранат целата разноликост на ГТК спрегнатите Т-клетки.

Експерименталниот доказ од култура на фетален тимусен орган (КФТО) е полезен при решавањето на оваа загатка. Во овој систем, тимусните лобуси на глушецот се пресечени 16-тиот ден од гестацијата и ставени во култура. Во тој момент, лобусите содржат главно КД4$^-$8$^-$ тимоцити. Бидејќи овие незрели, двојно негативни тимоцити продолжуваат да се развиваат во орган-културата, тимусната селекција може да се проучува под услови кои дозволуваат опсег на информативни експерименти. Посебно се употребуваат глувци кај кои е отстранет пептидниот транспортер, ТАП-1. Во отсуство на ТАП-1, само ниски нивоа на класа 1 ГТК се прикажуваат врз тимусните клетки, а развојот на КД8$^+$ тимоцитите е блокиран. Сепак, кога се додаваат егзогени пептиди во овие орган-култури, врз површината на тимусните клетки се појавуваат класа 1 ГТК молекули кои носат пептиди и се обновува развојот на КД8$^+$Т-клетките. Значајно е тоа што, кога се додава мешавина од различни пептиди, степенот на обновување на КД8$^+$Т-клетките е поголем отколку кога се додава еден пептид. Ова укажува дека улогата на пептидите не е само да го поддржуваат стабилното прикажување на ГТК, туку исто така и самите да бидат препознаени во процесот на селекција.

Две спротивставени теории се обидуваат да го објаснат парадоксот на ГТК зависната позитивна и негативна селекција. *Хипотезата на авидитетот* тврди дека разликите во силата на сигналите кои ги примаат тимоцитите кога претрпуваат позитивна и негативна селекција го одредуваат резултатот, каде што силата на сигналот е диктирана од авидитетот на меѓудејството ТКР-ГТК-пептид. *Хипотезата на различното сигнализирање*



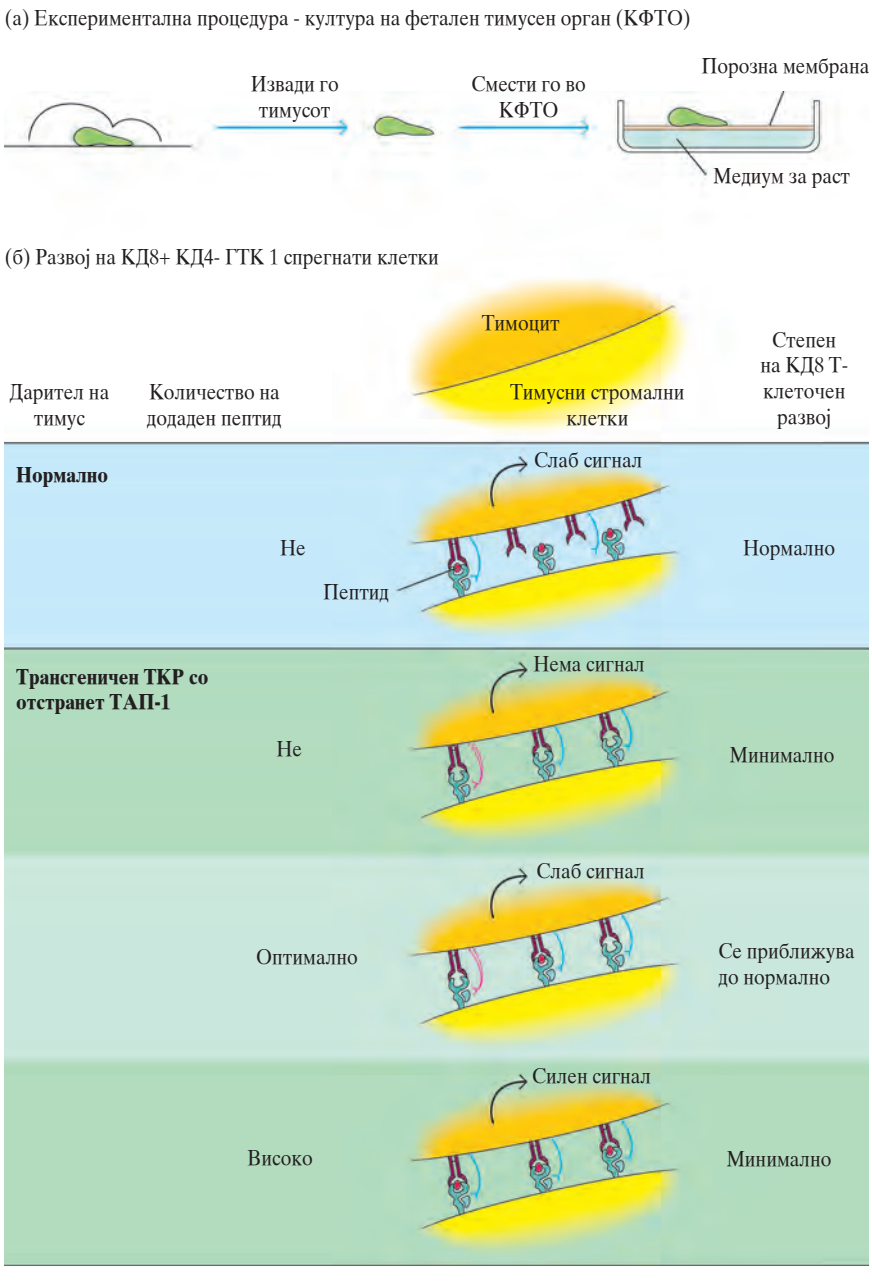
	Машко H-2D^b	Женско H-2D^b
Прикажување на H-Y	+	−
Тимоцити		
КД4$^-$8$^-$	++	+
КД4$^+$8$^+$	+	++
КД4$^+$	+	+
КД8$^+$	−	++

СЛИКА 10-8 Експериментален приказ дека негативната селекција на тимоцитите бара и сопствен противген и сопствен ГТК. При овој експеримент, H-2^b трансгеничните машки и женски се подготвени да носат ТКР трансгени специфични за H-Y противгенот плус молекулот D^b. Овој противген се прикажува само кај мажи. FACS анализата на тимоцитите од трансгеничните покажа дека зрелите КД8+ Т-клетки кои го прикажуваат трансгенот се отсутни кај глувците од машки пол, но присутни кај глувците од женски пол, што покажува дека тимоцитите кои се реактивни кон сопствениот противген (во овој случај, противгенот H-Y кај глувците од машки пол) се отстранети при селекцијата во тимусот. *[Адаптирано од H. Von Boehmer и P. Kisielow, 1990,* Science ***248****:1370.]*

тврди дека резултатите од селекцијата се диктирани од различни сигнали наместо различна сила на истиот сигнал.

Хипотезата за авидитетот била тестирана на глувци на кои им е отстранет ТАП-1 трансгенични за алфа-бета ТКР кој го препознал комплексот ЛХМВ пептид-ГТК. Овие глувци биле употребени за подготвување на култури на фетален тимусен орган (слика 10-9). Авидитетот на меѓудејството ТКР-ГТК варирало со употребата на различни концентрации од пептидот. При ниски концентрации на пептидот, неколку ГТК молекули се врзуваат за пептидот и авидитетот на меѓудејството ТКР-ГТК е низок. Како што расте концентрацијата на пептидите, се зголемува бројот на комплекси пептид-ГТК, а исто така се зголемува и авидитетот на меѓудејството. При овој експеримент, се појавиле многу малку КД8$^+$ клетки кога не бил додаден пептид, но дури и ниски концентрации на значајниот пептид резултирале со појава на значаен број на КД8$^+$ Т-клетки кои имаат трансгеничен ТКР рецептор. Со зголемување на концентрацијата на пептидите до оптимално ниво се добил највисок број на КД8$^+$ Т-клетки. Сепак, при повисоки концентрации на пептидот, бројот на создадени КД8$^+$ Т-клетки се намалувал постепено. Резултатите од овие експерименти покажуваат дека позитивна и негативна селекција може да се постигне со сигнали создадени од истата комбинација на пептид-ГТК. Немање сигнал (нема пептид) не ја поддржува позитивната селекција. Слаб сигнал (ниско ниво на пептид) поттикнува позитивна селекција. Сепак, прејакиот сигнал (високо ниво на пептид) доведува до негативна селекција.

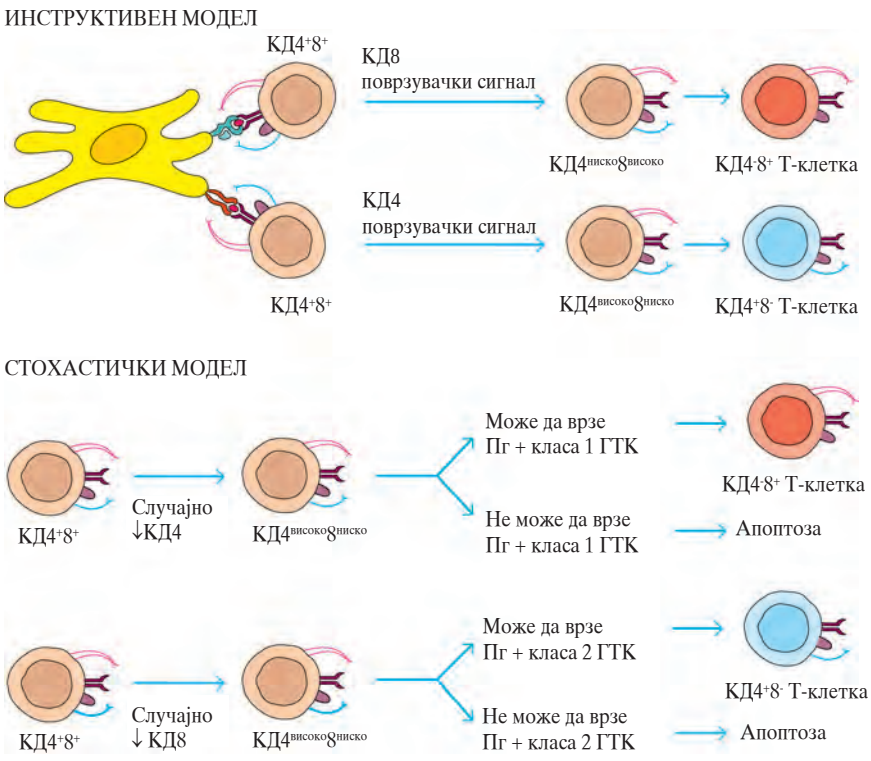
Моделот на различно сигнализирање овозможува алтернативно објаснување за одредувањето дали Т-клетката претрпува позитивна или негативна селекција. Овој модел е квалитативен наместо квантитативен и ја нагласува природата на сигналот кој е доставен од ТКР наместо неговата сила. Во средиштето на овој модел е забелешката дека одредени комплекси ГТК-пептид можат да достават само слаб или делумно активен сигнал додека други можат да достават целосен сигнал. Во овој модел, позитивна селекција настанува кога ТКР од развојните тимоцити се сретнуваат со комплекси ГТК-пептид кои доставуваат слаб или парцијален сигнал до нивните рецептори, а негативната селекција се случува кога сигналот е целосен. Во овој момент не е можно да се одлучи помеѓу моделот на авидитет и моделот на различно сигнализирање, затоа што и двата имаат експериментална поддршка. Можеби во одредени случаи, еден од овие механизми работи со целосно исклучување на другиот. Исто така е можно дека ниту еден механизам не е сам одговорен за клеточните меѓудејства кои се случуваат во тимусот и повеќе од еден механизам може да игра значајна улога. За комплетирање на информациите за овој проблем потребна е понатамошна работа.



СЛИКА 10-9 Улогата на пептидите во селекцијата. Тимусите кои се жнеат пред нивните тимоцитни популации да претрпат позитивна и негативна селекција овозможуваат проучување на развојот и селекцијата на еднопозитивните ($КД4^+КД8^-$ и $КД4^-КД8^+$) Т-клетки. (а) Приказ на експерименталната постапка за ин витро култивирање фетален тимусен орган (КФТО). (б) Развојот и селекцијата на $КД8^+КД4^-$ класа 1 спрегнати Т-клетки зависи од меѓудејството ТКР пептид-ГТК 1. Глувците на кои им е отстранет ТАП-1 не можат да формираат комплекси пептид-ГТК освен ако не им е додаден пептид. Глувците кои беа користени во оваа студија се трансгенични за алфа и бета-веригите на ТКР кој го препознава додадениот пептид врзан за ГТК 1 молекулите кај ТКР трансгеничните глувци на кои им е отстранет ТАП-1. Со менување на концентрацијата на додадениот пептид е откриено дека ниските концентрации на пептид, кои создаваат низок авидитет за врзување, резултира со позитивна селекција и скоро нормални нивоа на $КД4^-КД8^+$ клетките. Високите концентрации на пептидот, кои создаваат висок авидитет за врзување со ТКР, предизвикаа негативна селекција и се појавија мал број $КД4^-КД8^+$ Т-клетки. [*Адаптирано од P.G. Ashton Rickardt et al*, 1994, Cell **25:**651.]

Различното прикажување на корецепторот КД8 исто така може да влијае врз тимусната селекција. Во експеримент каде што прикажувањето на КД8 вештачки беше покачено до двата пати над неговото ниво, концентрацијата на зрели $КД8^+$ клетки во тимусот беше една тринаесетина од концентрацијата кај контролните глувци кои имаат нормални нивоа на КД8 врз нивната површина. Штом меѓудејството на Т-клетките со класа 1 ГТК молекулите е зајакнато со учеството на КД8, можеби зголеменото прикажување на КД8 ќе го зголеми авидитетот на тимоцитите за класа 1 молекулите, по можност правејќи ја нивната негативна селекција поверојатна.

Друго важно отворено прашање за тимусната селекција е како двојно позитивните тимоцити се насочуваат да станат $КД4^+8^-$ или $КД4^-8^+$ Т-клетки. Селекцијата на $КД4^+8^+$ тимоцитите доведува до класа 1 ГТК-спрегнати $КД8^+$Т-клетки и класа 2 спрегнати $КД4^+$ Т-клетки. За објаснување на трансформацијата на двојно позитивниот претходник во една од двете различни еднопозитивни лози, предложени се два модели (слика 10-10). *Инструктивниот модел* предлага дека повеќе меѓудејства помеѓу ТКР, $КД8^+$ или $КД4^+$ корецепторите и класа 1 или класа 2 ГТК молекулите им наложуваат на клетките да се диференцираат или во $КД8^+$ или $КД4^+$ еднопозитивни клетки, соодветно. Овој модел предвидува дека класа 1 ГТК-специфичниот ТКР заедно со корецепторот КД8 ќе создаде сигнал кој е различен од сигналот кој е поттикнат од класа 2 ГТК-специфичниот ТКР заедно со корецепторот КД4. *Стохастичниот модел* предвидува дека прикажувањето на КД4 или КД8 е исклучено по случаен избор без да биде поврзана со специфичноста на ТКР. Само оние



СЛИКА 10-10 Предложени модели за улогата на корецепторите КД4 и КД8 при тимусната селекција на двојнопозитивните тимоцити кои водат до еднопозитивни Т-клетки. Според инструктивниот модел, меѓудејството на еден корецептор со ГТК молекулите на стромалните клетки доведува до намалување на другиот корецептор. Според стохастичниот модел, намалувањето на КД4 или КД8 е случаен процес.

тимоцити чиишто ТКР и останатиот корецептор ја препознаваат истата класа на ГТК молекул ќе созреат. Во моментов, не е можно да се избере едниот модел пред другиот.

Активација на Т-клетките

Главниот настан во создавањето и на хуморалните и на клеточно посредуваните имуни одговори е активацијата и клоналната експанзија на Т-клетките. Т-клеточната активација е поттикната од меѓудејството на комплексот ТКР-КД3 со обработен противген пептид кој е врзан или за класа 1 ($КД8^+$ клетките) или за класа 2 ($КД4^+$ клетките) ГТК молекули врз површината на противген прикажувачките клетки. Ова меѓудејство и резултантните активирачки сигнали исто така вклучуваат различни помошни мембрански молекули врз Т-клетката и врз противген прикажувачката клетка. Меѓудејството на Т-клетката со противгенот започнува редица на биохемиски процеси кои ја поттикнуваат мирувачката Т-клетка да влезе во клеточниот циклус, при што пролиферираат и се диференцираат во памтечки или ефекторни клетки. Многу од овие генски продукти кои се појавуваат при меѓудејството со противгенот може да се групираат во една од трите категории, во зависност од тоа колку рано тие може да бидат откриени по препознавањето на противгенот (табела 10-2):

- *Непосредни гени*, кои се прикажуваат половина час по препознавањето на противгенот, кодираат одреден број на транскрипциски фактори, вклучувајќи ги ц-Фос, ц-Мѕц, ц-Јун, НФАТ и НФ-кБ.
- *Рани гени*, кои се прикажуваат од 1 до 2 часа по препознавањето на противгенот, ги кодираат ИЛ-2, ИЛ-2Р (ИЛ-2 рецептор), ИЛ-3, ИЛ-6, ИФН-гама и бројни други протеини.
- *Доцни гени*, прикажани по повеќе од 2 дена од препознавањето на противгенот, кодираат различни атхезивни молекули.

Овие длабоки промени се резултат на сигнално-пренесувачките патеки кои се активираат при контакт помеѓу ТКР и ГТК-пептид комплексот. Преглед на дел од основните стратегии на клеточното сигнализирање ќе претставува корисна подлога за ценење на специфичните сигнални патеки кои ги користат Т-клетките.

Повеќе сигнални патеки се поттикнуваат со поврзување на ТКР

Како што објаснивме претходно, откривањето и толкувањето на сигналите од околината се неопходни особини на сите клетки, вклучувајќи ги и клетките од имуниот систем. Одредени заеднички особености се вообичаени за овие значајни процеси на спојување. Овие особености накусо се наведени тука, подетално објаснување е дадено во Поглавје 1, посебно слика 1-6.

- *Пренесувањето на сигналот започнува со меѓудејство помеѓу сигналот и неговиот рецептор.*
- *Многу патеки за пренесување на сигналот вклучуваат сигнал -поттикнато групирање на некои компоненти од патеката, овие групи користат адапторни протеини.*
- *Примањето на сигналот често води до создавање на „втор гласник" во клетката, молекул или јон кој може да дифундира до другите делови на клетката и да предизвика метаболични промени.*

ТАБЕЛА 10-2 Временски тек на прикажување на гените од страна на Тпо клетки по меѓудејството со противген

Генски продукт	Функција	Време кога почнува мРНК прикажувањето	Локација	Однос на активирани наспроти неактивирани клетки
		НЕПОСРЕДНИ		
c-Fos	Прото-онкоген; протеин кој се врзува за јадрото	15 мин	Јадро	>100
c-Jun	Клеточен онкоген; транскрипциски фактор	15-20 мин	Јадро	?
NFAT	Транскрипциски фактор	20 мин	Јадро	50
c-Myc	Клеточен онкоген	30 мин	Јадро	20
НФ-кБ	Транскрипциски фактор	30 мин	Јадро	>20
		РАНИ		
ИФН-гама	Цитокин	30 мин	Се лачи	>100
ИЛ-2	Цитокин	45 мин	Се лачи	>1000
Инсулински рецептор	Хормонски рецептор	1ч	Клеточна мембрана	3
ИЛ-3	Цитокин	1-2 ч	Се лачи	>100
ТГФ-бета	Цитокин	<2 ч	Се лачи	>10
ИЛ-2 рецептор (п55)	Цитокински рецептор	2 ч	Клеточна мембрана	>50
ТНФ-бета	Цитокин	1-3 ч	Се лачи	>100
Циклински	Протеин на клеточниот циклус	4-6 ч	Цитоплазма	>10
ИЛ-4	Цитокин	<6 ч	Се лачи	>100
ИЛ-5	Цитокин	<6 ч	Се лачи	>100
ИЛ-6	Цитокин	<6 ч	Се лачи	>100
c-Myb	Прото-онкоген	16 ч	Јадро	100
ГМ-КСФ	Цитокин	20 ч	Се лачи	?
		ДОЦНИ		
ХЛА-ДР	Класа 2 ГТК молекул	3-5 дена	Клеточна мембрана	10
ВЛА-4	Атхезивен молекул	4 дена	Клеточна мембрана	>100
ВЛА-1, ВЛА-2, ВЛА-3, ВЛА-4	Атхезивни молекули	7-14 дена	Клеточна мембрана	>100,?, ?, ?

ИЗВОР: Адаптирано од G. Crabtree, 1989, *Science* **243:**355.

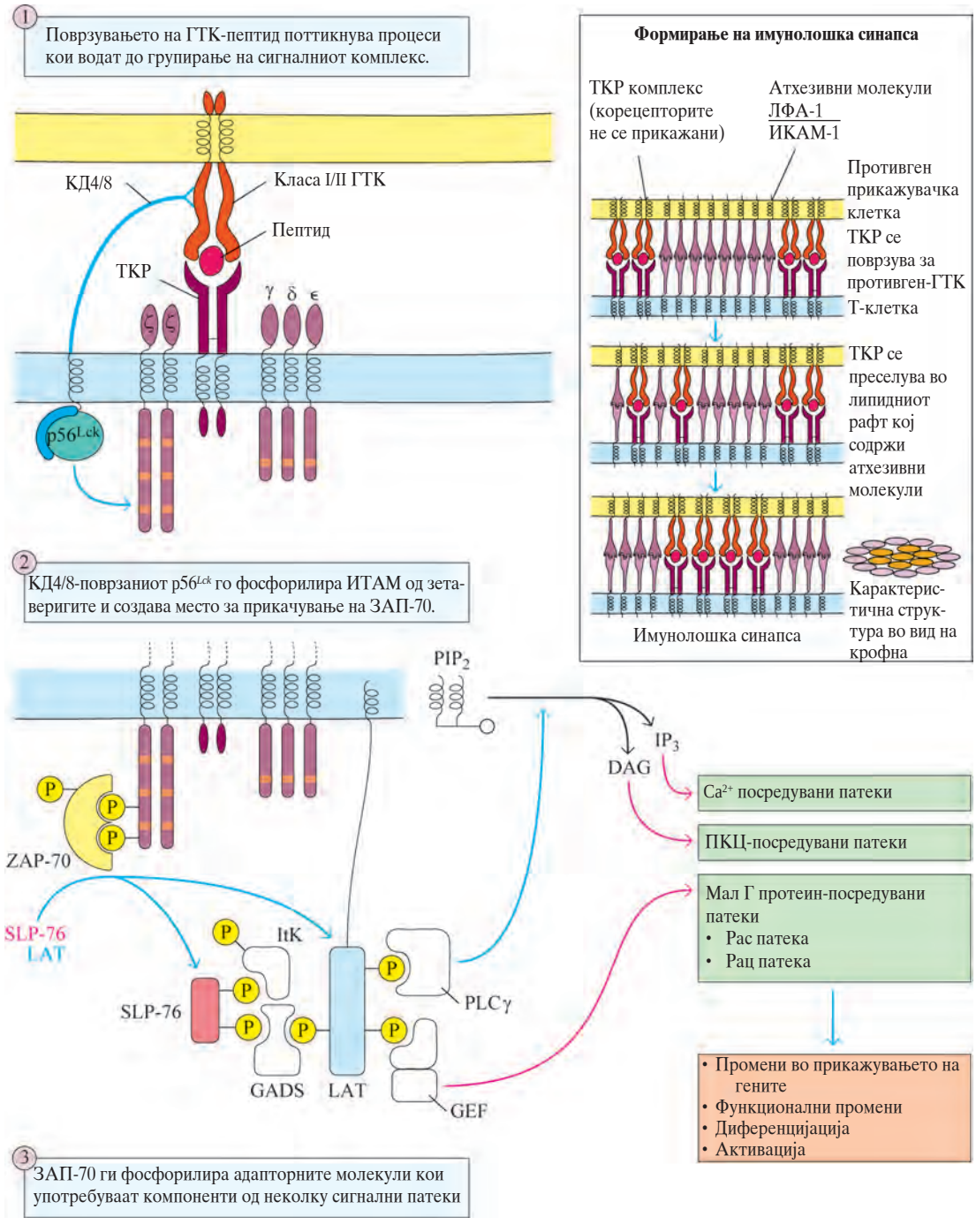
- *Протеин киназите и протеин фосфатазите се активираат или инхибираат.*
- *Сигналите се засилени од ензимската скала (каскада).*

Настаните кои го поврзуваат препознавањето на противгенот од страна на Т-клеточниот рецептор со активацијата на генот отсликуваат многу од овие особености. Клучниот елемент при поттикнувањето на активацијата на Т-клетките претставува нивното препознавање на ГТК-пептид комплексите врз противген прикажувачките клетки. Овој настан катализира серија на внатреклеточни процеси кои започнуваат на внатрешната површина од плазмината мембрана и кулминираат во јадрото, што доведува до транскрипција на гените кои го контролираат клеточниот циклус и/или диференцијацијата на Т-клетката.

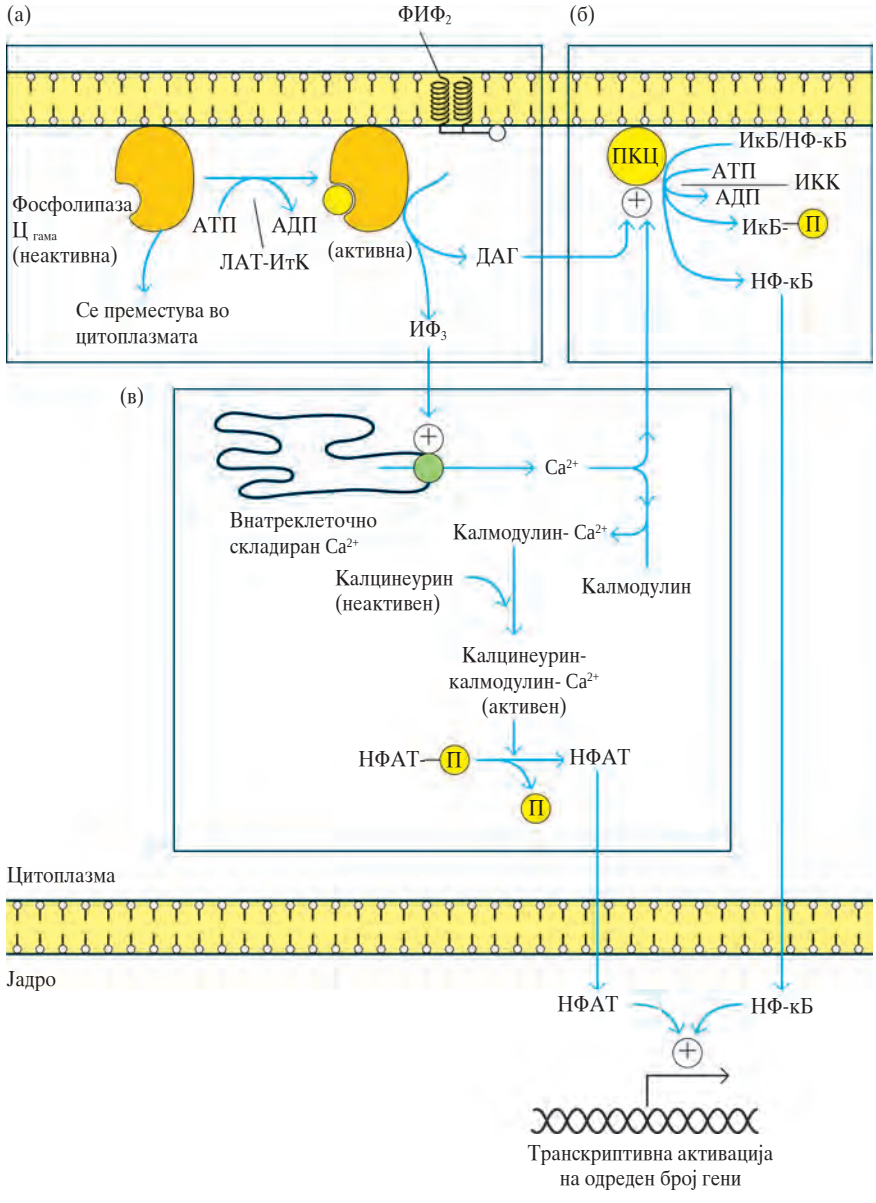
Како што објаснивме во Поглавје 9, ТКР во најголем дел се состои од надворешноклеточна лиганд-врзувачка единица, внатреклеточна сигнална единица, КД3 комплексот и хомодимер од зета-вериги. Експериментите со глувци со отстранети гени покажаа дека сите овие делови се неопходни за пренесување на сигналот. Можат да се препознаат две фази при противген-посредуваното поттикнување на Т-клеточниот одговор: почеток и создавање на сигнал:

- *Почеток*. Важно е Т-клеточното сигнализирање да се регулира, а активацијата настанува како резултат на специфичното врзување на противгенот. Кај Т-клетката која мирува, p56^{Lck}, протеинска тирозин киназа која е неопходна за поттикнување на ТКР сигнализирањето, е излолирана од ТКР комплексот. Киназата p56^{Lck}обично се наоѓа во *липидните рафтови (прегради)*, мембрански микродомени кои се богати со свингомиелин, гликосфинголипиди и холестерол. Неврзаниот ТКР комплекс е исклучен од овие домени. Кога ТКР ќе се поврзе со ГТК-пептид, ТКР комплексот се поврзува со липидните рафтови, по што следи групирање со корецепторите КД4 или КД8 кои се врзуваат за непроменливите подрачја на ГТК молекулот (слика 10-11). Потоа тирозинската киназа p56^{Lck}, која е поврзана со цитоплазматските краеви на корецепторите кога клетката е во мирувачка состојба, се доближува до цитоплазматските краеви на ТКР комплексот, каде ги фосфорилира имунорецепторските тирозин-базирани активирачки мотиви (ИТАМ, види слика 9-9) од компонентните полипептиди на КД3. Фосфорилираните тирозини во ИТАМ од зета-веригата овозможуваат места за прикачување на друга протинска тирозин киназа наречена ЗАП-70 (чекор 2 на слика 10-11) и таа станува активна. Потоа ЗАП-70

СЛИКА НА ДЕТАЛНИОТ ПРЕГЛЕД 10-11: Сигнализирање посредувано од ТКР



Поврзувањето на ТКР со пептид-ГТК комплексот го поттикнува групирањето на сигналниот комплекс. Прв чекор претставува п56Лцк посредуваната фосфорилацијата на ИТАМ на зета-веригата од ТКР комплексот, создавајќи места за кои се прикачува ЗАП-70 и се активира преку фосфорилација. Серија на ЗАП-70 катализирани протеински фосфорилации го овозможуваат создавањето на бројни сигнали. (Кратенки: ДАГ=диацилглицерол, GADS= GRb2-сличен адаптор подолу од Shc (GRb2-like adaptor downstream of Shc), ГРФ= гванин нуклеотид размењувачки фактор, ИТАМ=имунорецепторски тирозин-базиран активирачки мотив, ИтК= индуцибилна Т-клеточна киназа, $ИФ_3$=инозитол 1,4,5 трифосфат, ПАТ=поврзувач на активирани Т-клетки, $ФИФ_2$=фосфоинозитол бифосфат, $ФЛЦ_{гама}$=фосфолипаза Ц гама, СЛП-76= SH_2 содржечки леукоцит-специфичен протеин од 76 кДа, ЗАП-70= зета- асоциран протеин од 70 кДа).



СЛИКА 10-12 Патеки за пренесување на сигналот поврзани со активација на Т-клетките. (а) Фосфолипазата $Ц_{гама}$ ($ФЛЦ_{гама}$) се активира со фосфорилација. Активираната $ФЛЦ_{гама}$ ја хидролизира фосфолипидната компонента на плазма мембраната за да создаде вторични гласници, ДАГ и $ИФ_3$. (б) Протеинската киназа Ц (ПКЦ) е активирана од ДАГ и Ca^{2+}. Меѓу бројните ефекти на ПКЦ е активацијата на ИКК, што го фосфорилира ИкБ, цитоплазматски протеин кои се врзува за препишувачкиот фактор НФ-кБ и спречува негово навлегување во јадрото. Фосфорилацијата на ИкБ го ослободува НФ-кБ, кој потоа се преселува во јадрото. (в) Ca^{2+} зависно активирање на калцинеурин. Калцинеуринот е Ca^{2+}/калмодулин зависна фосфатаза. $ИФ_3$ посредува при ослободувањето на Ca^{2+} од ендоплазматскиот ретикулум. Ca^{2+} се врзува за протеинот калмодулин, кој потоа се поврзува и го активира Ca^{2+}/калмодулин зависниот фосфатазен калцинеурин. Активираниот калцинеурин отстранува фосфатна група од НФАТ, што му овозможува на овој транскриптивен фактор да се пресели во јадрото.

ја катализира фосфорилацијата на неколку мембрански-асоцирани адапторни молекули, вклучувајќи ги Vav-1, Sch, LAT i SLP-76 (чекор 3), кои делуваат како потпора за вклучување на посредничките молекули кои се поврзани со одреден број внатреклеточни патеки за пренесување на сигналот. Една од овие патеки вклучува форма на ензимот фосфолипаза Ц (ФЛЦгама), која се прилепува за адапторен молекул, се активира со фосфорилација и го разложува мембранскиот фосфолипид за да создаде вторични гласници. Оваа патека исто така доведува до активирање на транскрипцискиот фактор, нуклеарен фактор капа Б, или НФ-кБ. Друга патека го активира протеинот Г.

- *Создавање повеќе внатреклеточни сигнали.* Многу сигнални патеки се активираат како последица на чекорите кои се случуваат во почетната фаза, како што е прикажано долу десно на слика 10-11 и објаснето подолу.

Карактеристика на почетната фаза од ТКР сигнализирањето претставува создавањето на супрамолекулска структура позната како *имунолошка синапса,* или ИС. ИС, наречен така како аналогија на синапсата помеѓу невроните, е динамична и високо организирана структура која се формира таму каде што Т-клетките стапуваат во контакт со противген прикажувачките клетки. Се верува дека навлегувањето на ТКР во липидните рафтови е значајна карактеристика при создавањето на ИС. Централното подрачје на ИС е многу богато со ТКР/КД3 комплекси како и со други интраклеточни сигнални протеини поврзани со ТКР комплексот, додека надворешниот, прстен во вид на крофна кој го опкружува централното подрачје содржи адхезивни молекули како што е ЛФА-1 (слика 10-11, прилог). Иако создавањето на ИС не е потребно за почетната фаза на ТКР сигнализирањето, Т-клеточната активација е поефикасна ако се формира ИС.

Ќе разгледаме дел од сигналните патеки кои се користат при активацијата на Т-клетките, но целиот процес е мошне комплексен и овде ќе изоставиме многу детали. Прилозите во прегледот на крајот од поглавјето овозможуваат детално покривање на оваа многу активна истражувачка област.

Фосфолипаза Ц $_{гама}$ ($ФЛЦ_{гама}$)

ФЛЦгама се активира со фосфорилација и добива пристап до неговиот супстрат преку врзување со мембрана-поврзаниот адапторниот протеин ЛАТ во комбинација со индуцибилната Т-клеточна киназа (ИтК) (слика 10-12а). ФЛЦгама го хидролизира фосфоинозитол бифосфатот, $ФИФ_2$, фосфолипидна компонента на мембраната, за да создаде инозитол 1,4,5-трифосфат ($ИФ_3$) и диациглицерол (ДАГ). $ИФ_3$ предизвикува брзо ослободување на Ca^{2+} од ендоплазматскиот ретикулум и ги отвара Ca^{2+}-овите канали во клеточната мембрана (слика 10-12в). ДАГ ја активира протеинската киназа Ц, повеќефункционална киназа која фосфорилира многу различни цели (слика 10-12б).

Ca2+

Калциумовиот јон е вклучен во широк спектар на процеси, вклучувајќи ги видот, контракција на мускулите и многу други. Тој претставува неопходен елемент во многу Т-клеточни реакции, а ослободувањето на калциумот од ендоплазматскиот ретикулум на крајот доведува до фосфорилација на значајниот транскриптивен фактор, NFAT, кој кулминира со транспорт на NFAT од цитоплазмата во јадрото (слика 10-12в). Во јадрото, NFAT ја поддржува транскрипцијата на гените кои се потребни за прикажување на цитокините кои го поттикнуваат растот на Т-клетките ИЛ-2, ИЛ-4 и други.

Протеин киназа Ц (ПКЦ)

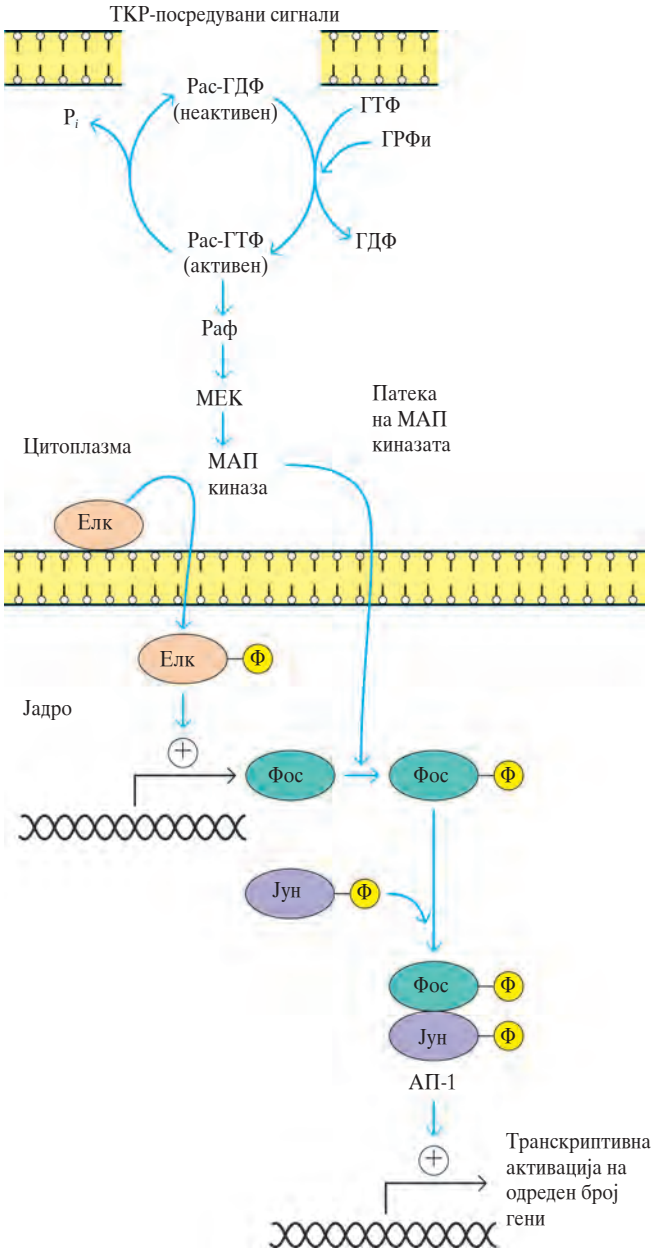
Создавањето на ДАГ од страна на ФЛЦгама доведува до активација на протеин киназата Ц (ПКЦ). Активацијата води кон пренесување на ПКЦ до липидните рафтови, каде што ензимот поттикнува серија на процеси кои водат до активација на препишувачкиот фактор НФ-кБ (слика 10-12б).

Нуклеарен фактор капа Б (НФ-кБ)

Нуклеарниот фактор капа Б е значаен транскриптивен фактор поттикнат од голем број на сигнали кај многу видови на клетки, вклучувајќи ги и клетките од имуниот систем. Сепак, патеката која води до активација на НФ-кБ во Т-клетките е нова. Активацијата на ПКЦ од страна на ФЛЦгама води до групирање на мембрански врзан комплекс од протеини во кои спаѓаат КАРМА1, БЦЛ-10 и МАЛТ1. Овој комплекс, штом се соедини, ја води активацијата на повеќепротеинскиот ензим познат како ИКК (инхибитор на кБ киназата). ИКК, по редослед, го фосфорилира инхибиторот на кБ или ИкБ (слика 10-12б). ИкБ обично се врзува за НФ-кБ, задржувајќи го во цитоплазмата, но при фосфорилација на ИкБ од страна на ИКК, НФ-кБ се ослободува и мигрира во јадрото, каде ја активира транскрипцијата на гените. ИЛ-2 е значајна мета на НФ-кБ.

Патеката на Рас/МАП киназата

Рас е неопходна компонента во сигнално пренесувачките патеки којашто се среќава кај многу видови на клетки и еволутивно е зачувана во спектар на еукариоти од квасците до луѓето. Рас е мал Г протеин чија активација од страна на ГТФ поттикнува серија на протеински кинази позната како митоген-активирана протеин киназна (МАП киназна) патека. Фосфорилацијата на крајниот продукт од оваа серија, МАП киназа (исто така наречена ЕРК), овозможува да се активира Елк, транскриптивен фактор потребен за прикажувањето на Фос (слика 10-13). Фосфорилацијата на Фос од страна на МАП киназата му овозможува да се поврзе со Јун за да формира АП-1, кој е неопходен транскриптивен фактор за Т-клеточната активација. АП-1 исто така ја регулира и транскрипцијата на ИЛ-2.



ТАБЕЛА 10-13 Активација на малиот Г протеин Рас. Сигналите од Т-клеточниот рецептор резултираат со активација на Рас преку работата на специфичните гванин нуклеотид размену вачки фактори (ГРФ) кои ја катализираат размената на ГДФ за ГТФ. Активираниот Рас предизвикува серија реакции кои резултираат со зголемено создавање на препишувачкиот фактор Фос. По нивната фосфорилација, Фос и Јун димеризираат за да го дадат препишувачкиот фактор АП-1. Забележете дека сите овие патеки имаат значајни ефекти кои се различни од специфичните примери кои се прикажани на сликата.

Колку ТКР комплекси мора да бидат поврзани за да се поттикне активација на Т-клетките?

Прашањето колку лиганди Т-клетката мора да препозне пред да настане активацијата е поставено од многумина.

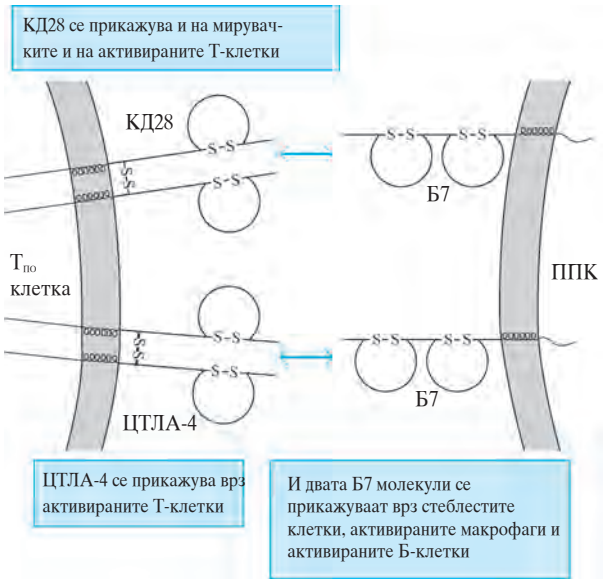
До неодамнешните нови информации за едноклеточното прикажување, овие пресметки се одредуваа со индиректни и непрецизни средства. Марк Дејвис и колегите од медицинското училиште Станфорд на ова прашање му пристапија со употреба на акутно-чувствителна, техника со микроскопска визуалиција составена од два дела. Противген прикажувачките клетки кратко беа тратирани со пептид кој содржи терминално биотински молекул. Бројот на пептиди кои се врзани за ГТК може да се одредени со додавање конјугат стрептавидин-фикоеритрин, кој се врзува за биотинот од биотинизираниот пептид и може да се поттикне да зрачи светлина за понатамошно прикажување. Т-клетките кои се специфични за биотинизираниот пептид-ГТК комплекс се полнат со фура-2, боја која се користи за прикажување на слободниот внатреклеточен калциум, кој ќе служи како показател за Т-клеточната активација. Потоа Т-клетките се додаваат на противген прикажувачките клетки. Со употреба на оваа многу чувствителна техника, овие истражувачи можат да одредат (1) дали Т-клетката е активирана и (2) колку молекули пептид биле присутни во моментот на контакт помеѓу Т-клетката и противген прикажувачката клетка - со други зборови, колку ТКР-ГТК-биотинилирани пептидни комплекси се формирале. Истражувачите утврдиле дека само еден пептид доведува до ослободување на Ca^{2+} и дека максималното ослободување на Ca^{2+} се постигнува кај КД4$^+$Т-клетките кога се поврзани околу 10 ТКР. Слични резултати се добиени и со КД8$^+$Т-клетките.

За целосна активација на Т-клетките потребни се костимулаторни сигнали

За Т-клеточната активација потребно е динамично меѓудејство на повеќе мембрана поврзани молекули кои се објаснети погоре, но овие меѓудејства не се доволни сами по себе за целосна активација на неискусните Т-клетки. Неискусните Т-клетки бараат повеќе од еден сигнал за активација и последователна пролиферација во ефекторни клетки:

- *Сигнал 1*, почетниот сигнал се создава со меѓудејството на противгениот пептид со ТКР-КД3 комплексот.
- Последователниот противген-неспецифичен костимулаторен сигнал, *сигнал 2*, во основа се остварува примарно од меѓудејството помеѓу КД28 од Т-клетката и членови од Б7 фамилијата на противген прикажувачката клетка (слика 10-14).

Постојат две поврзани форми на Б7: Б7-1 и Б7-2. Овие молекули се членови на имуноглобулинската суперфамилија и имаат слична организација на надворклеточните домени, но значително различни цитоплазматски домени. Двата Б7 молекули во основа се прикажуваат врз стеблестите клетки и се поттикнуваат на активираните макрофаги и активираните Б-клетки. Лигандите за Б7 молекулите се КД28 и ЦТЛА-4 (исто така познат како КД152), при што и двете се прикажуваат на Т-клеточната мембрана како дисулфидно-поврзани хомодимери. Како и Б7, и тие се членови на имуноглобулинската суперфамилија (види слика 10-14). Иако КД28 и ЦТЛА-4 претставуваат структурно слични гликопротеини, тие се однесуваат антагонистички. Сигнализирањето низ КД28 доставува позитивен костимулаторен сигнал до Т-клетката, сигнализирањето низ ЦТЛА-4 е инхибиторно и ја намалува активацијата на Т-клетката. КД28 е прикажан и на Т-клетките кои се во мирување и на активираните Т-клетки, но во клетките кои мируваат

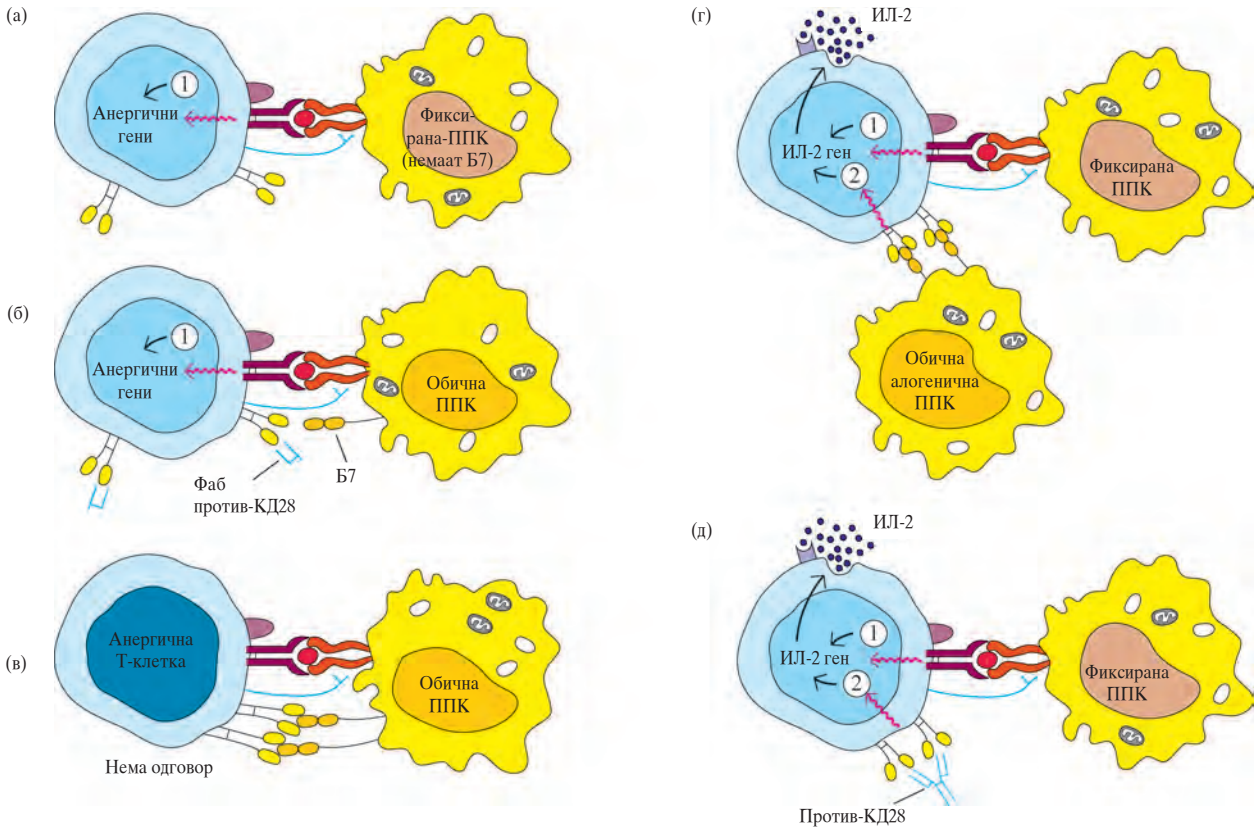


СЛИКА 10-14 Активацијата на Тпо-клетка бара костимулаторен сигнал овозможен од страна на противген прикажувачките клетки (ППК). Меѓудејството на членовите од Б7 фамилијата на ППК со КД28 го доставува костимулаторниот сигнал. Поврзувањето на тесно поврзаниот молекул ЦТЛА-4 со Б7 создава инхибиторен сигнал. Сите овие молекули содржат најмалку еден имуноглобулиновиден домен и според тоа припаѓаат на имуноглобулинската суперфамилија. [*Адаптирано од P. S. Linsley и J. A. Ledbetter, 1993,* Annual Review of Immunology **11:**191.]

ЦТЛА-4 е практично незабележлив. Обично, поврзувањето на ТКР го поттикнува прикажувањето на ЦТЛА-4, а ЦТЛА-4 лесно се забележува во период од 24 часа по стимулацијата, со максимално прикажување од 2 до 3 дена по стимулацијата. Иако највисоките нивоа на ЦТЛА-4 се пониски од нивоата на КД28, ЦТЛА-4 со благонаклоност сè уште се натпреварува за Б7 молекулите бидејќи има значително повисок афинитет за тие молекули од КД28. Интересно е тоа што, нивото на прикажување на ЦТЛА-4 се зголемува од КД28-создадениот костимулаторен сигнал. Ова овозможува регулаторно сопирање преку ЦТЛА-4 кое е во пропорција со забрзувањето кое го прима преку КД28. Дел од значењето на ЦТЛА-4 за регулирање на активацијата и пролиферацијата на лимфоцитите се открива преку експерименти со глувци кај кои е отстранет ЦТЛА-4. Кај овие глувци Т-клетките масовно пролиферираат, што води до лимфаденопатија (многу зголемени лимфни јазли), спленомегалија (зголемена слезина) и смрт 3 до 4 недели по раѓањето. Јасно е дека создавањето инхибиторни сигнали при поврзувањето на ЦТЛА-4 е значајно за хомеостазата на лимфоцитите.

Клонална анергија настанува кога костимулаторниот сигнал е отсутен

Т-клеточното препознавање на противгениот пептид-ГТК комплекс понекогаш доведува до состојба на нереактивност наречена **клонална анергија**, која се бележи со неспособност на клетките да пролиферираат како одговор на поврзувањето на пептид-ГТК комплексот. Дали следи клонална експанзија или клонална анергија зависи од присуството или отсуството



СЛИКА 10-15 Екпреиментален приказ на клоналната анергија наспроти клоналната експанзија. (а, б) Се создава само сигнал 1 кога мирувачките Тпо клетки се инкубираат со глутаралдехид-фиксирани противген прикажувачки клетки (ППК) или со обични ППК во присуство на Фаб делот од против-КД28. (в) Резултантните анергични Т-клетки не можат да реагираат на обични ППК. (г, д) Во присуство на нормални алогенични ППК или против-КД28, при што и двата го создаваат костимулаторниот сигнал 2, Т-клетките се активирани од фиксираните-ППК.

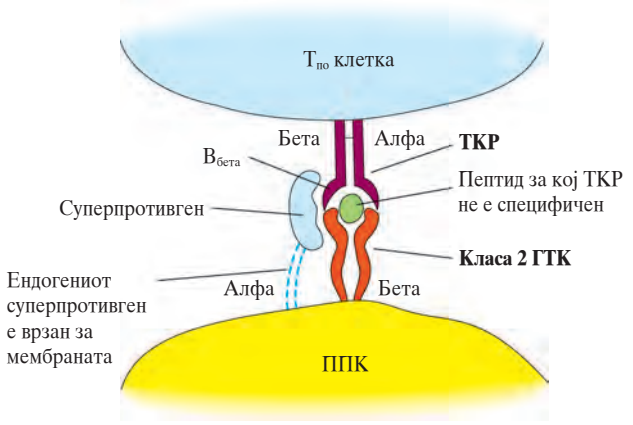
на костимулаторниот сигнал (сигнал 2), како што е сигналот создаден од меѓудејството на КД28 врз Т-клетките со Б7 врз противген прикажувачките клетки. Експериментите со култура на клетки покажаа дека, ако мирувачката Т-клетка прими ТКР-посредуван сигнал (сигнал 1) во отсуство на соодветен костимулаторен сигнал, тогаш Т-клетката ќе стане анергична. Посебно, ако мирувачките Т-клетки се инкубираат со глутаралдехид-фиксирани ППК, кои не прикажуваат Б7 (слика 10-15а), фиксираните ППК се способни да ги прикажат пептидите заедно со класа 2 ГТК молекулите, при тоа овозможувајќи го сигналот 1, но не можат да го достават потребниот костимулаторен сигнал 2. Во отсуство на костимулаторниот сигнал има минимално создавање на цитокини, посебно на ИЛ-2. Анергијата исто така може да биде поттикната со инкубирање на Т-клетки со обични ППК во присуство на Фпв делот од против-КД28, кој го блокира меѓудејството на КД28 со Б7 (слика 10-15б).

Два различни контролни експерименти покажаа дека фиксираните-ППК кои имаат соодветни пептид-ГТК комплекси можат да достават ефективен сигнал посредуван од Т-клеточните рецептори. Во еден експеримент, Т-клетките се инкубирани и со фиксирани-ППК кои имаат пептид-ГТК комплекси препознаени од страна на ТКР врз Т-клетките и обични ППК, кои прикажуваат Б7 (слика 10-15г). Фиксираните-ППК се врзуваат за ТКР врз Т-клетките, а Б7 молекулите од површината на обичните ППК вкрстено се поврзуваат со КД28 врз Т-клетките. Според тоа овие Т-клетки ги примаат и двата сигнали и се активираат. Додавањето на бивалентен против-КД28 во мешавината на фискирани-ППК и Т-клетки исто така овозможува ефективна костимулација преку вкрстено поврзување со КД28 (слика 10-15д).

Постои добар доказ дека и КД4+ и КД8+ Т-клетките можат да се анергизираат, но повеќето инспитувања на анергијата се направени со КД4+ $T_{по}$ клетки. Т-клетката може да биде анергизирана на неколку начини. Како додаток на недостатокот на костимулаторни сигнали, сигналот 2, појавувањето на ЦТЛА-4 на клетката која ги примила и сигналот 1 и сигналот 2 може да ја блокира костимулацијата и функционално доведува до анергија. Иако постоењето на анергијата е утврдено, прецизните биохемиски патеки кои ја регулираат оваа состојба на нереактивност не се добро разбрани. Сепак, во текот на последните неколку години експерименталните системи кои користат микроанализи (види поглавје 22) идентификувале неколку клучни молекулски компоненти на анергичните Т-клетки, кои вклучуваат неколку убиквитин лигази, кои најверојатно нишанат врз клучни компоненти од ТКР сигналната патека за деградирање од страна на протеозомот.

Суперпротивгените поттикнуваат Т-клеточна активација преку истовремено поврзување со ТКР и ГТК 2

Суперпротивгените се вирусни или бактериски протеини кои истовремено се врзуваат за $B_{бета}$ доменот од Т-клеточниот рецептор и за алфа-веригата од класа 2 ГТК молекулот. Идентификувани се и егзогени и ендогени суперпротивгени.



СЛИКА 10-16 Вкрстено поврзување на Т-клеточниот рецептор и класа 2 ГТК молекулите со посредство на суперпротивген. Суперпротивгенот се врзува за сите ТКР кои имаат посебна Вбета секвенца независно од нивнатата противгенска специфичност. Егзогените суперпротивгени се растворливи излачени бактериски протеини, вклучувајќи различни егзотоксини. Ендогените суперпротивгени се мембрански вградени протеини кои се создаваат од страна на одредени вируси. Тие ги вклучуваат противгените Млс кои се кодирани од страна на глувчешкиот туморен вирус кај цицачите (ТВЦ).

Вкрстеното поврзување на Т-клеточниот рецептор и класа 2 ГТК молекулот од било кој тип на суперпротивген создава активирачки сигнал кој поттикнува активација и пролиферација на Т-клетките (слика 10-16).

Егзогените суперпротивгени претставуваат растворливи протеини кои ги лачат бактериите. Меѓу нив се наоѓаат бројни **егзотоксини** кои ги лачат грам-позитивните бактерии, како што се стафилококните ентеротоксини, токсинот на токсичен шок синдром и токсинот на ексфолијативен дерматитис. Секој од овие егзогени суперпротивгени се врзува за посебни $В_{бета}$ секвенци од Т-клеточните рецептори (табела 10-3) и вкрстено го поврзува ТКР за класа 2 ГТК молекул.

Ендогените суперпротивгени претставуваат протеини од клеточната мембраната кои се кодирани од одредени вируси кои ги инфицираа Т-клетките на цицачите. Една група, кодирана од глувчешки туморен вирус кај цицачите (ТВЦ), може да се соедини со ДНК-та на одредени генетски чисти соеви на глувци. По соединувањето, ретровирусните протеини се прикажуваат врз мембраната од заразените клетки. Овие вирусни протеини, наречени **мали лимфоцитни стимулирачки (Млс) детерминанти**, се врзуваат за посебни $В_{бета}$ секвенци од Т-клеточните рецептори и вкрстено го поврзуваат ТКР за класа 2 ГТК молекула. Откриени се четири суперпротивгени Млс, кои потекнуваат од различни ТВЦ видови.

Бидејќи суперпротивгените се врзуваат надвор од ТКР противген врзувачкиот процеп, секоја Т-клетка која прикажува посебна $В_{бета}$ секвенца ќе се активира преку содветниот суперпротивген. Според тоа, активацијата е поликлонска и може да влијае врз значаен процент (5% не е невообичаено) од целата популација на $Т_{по}$ клетки. Масовната активација која следи по вкрстеното поврзување со суперпротивгенот резултира со прекумерно создавање на $Т_{по}$-клеточни цитокини, што води до системска токсичност. Труењето со храна предизвикано од стафилококниот ентеротоксин и токсичниот шок предизвикан од токсинот за токсичниот шок синдром се два примери за последиците од прекумерното создавање на цитокини поттикнати од суперпротивгените.

Суперпротивгените исто така можат да влијаат и врз Т-клеточното зреење во тимусот. Суперпротивгенот кој е присутен во тимусот за време на тимусната обработка ќе поттикне негативна селекција во сите тимоцити кои имаат ТКР $В_{бета}$ домен кој одговара на специфичноста на суперпротивгенот. Такво масовно отстранување може да биде предизвикано од егзогените и ендогените суперпротивгени и се карактеризира со отсуство на сите Т-клетки чии што рецептори поседуваат $В_{бета}$ домени кои се мета на суперпротивгенот.

TABELA 10-3 Егзогени суперпротивгени и нивната $В_{бета}$ специфичност

Суперпротивген	Болест*	$В_{бета}$ СПЕЦИФИЧНОСТ	
		Глушец	Човек
Ентеротоксинат стафилококсике			
СЕА	Труење со храна	1, 3, 10, 11, 12, 17	нд
СЕБ	Труење со храна	3, 8.1, 8.2, 8.3	3, 12, 14, 15, 17, 20
СЕЦ1	Труење со храна	7, 8.2, 8.3, 11	12
СЕЦ2	Труење со храна	8.2, 10	12, 13, 14, 15, 17, 20
СЕЦ3	Труење со храна	7, 8.2	5, 12
СЕД	Труење со храна	3, 7, 8.3, 11, 17	5, 12
СЕЕ	Труење со храна	11, 15, 17	5,1, 6,1-6,3, 8, 18
Токсичен шок синдром токсин (ТШСТ1)	Токсичен шок синдром	15, 16	2
Ексфолијативен дерматитисен токсин (ЕксФТ)	Синдром на попарена кожа	10, 11, 15	2
Микоплазмен артритисен супернатант (МАС)	Артритис, шок	6, 8,1-8,3	нд
Стрептококни пирогени егзотоксини (СПЕ-А, Б, Ц, Д)	Ревматска грозница, шок	нд	нд

*болеста која резултира од инфекцијата со бактерии кои ги создаваат наведените суперпротивгени.

Диференцијација на Т-клетките

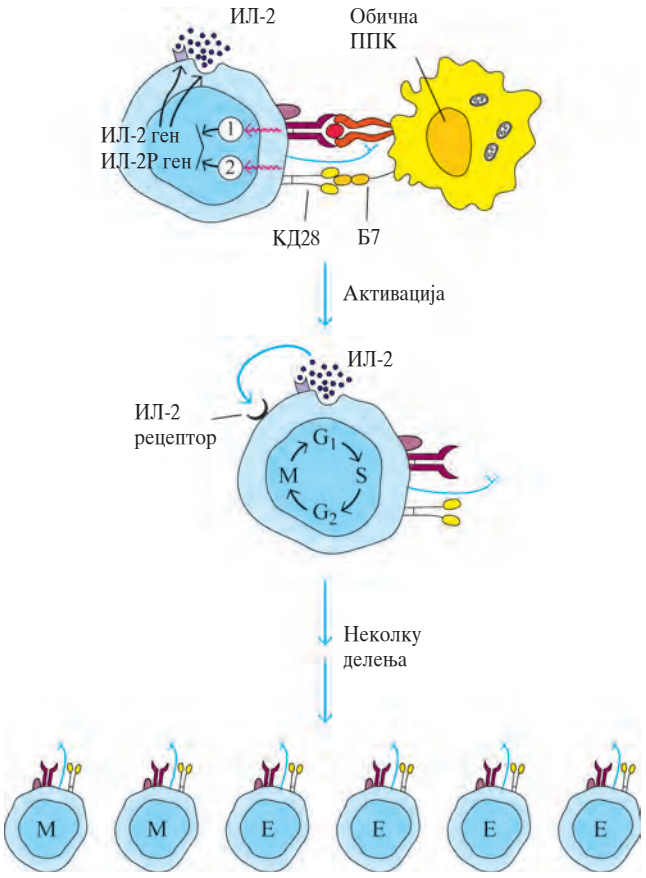
КД4⁺ и КД8⁺ Т-клетките го напуштаат тимусот и навлегуваат во циркулацијата како клетки во мирување во $Г_0$ стадиум од клеточниот циклус. Во периферијата има околу два пати повеќе КД4⁺ Т-клетки во однос на КД8⁺Т-клетки. Т-клетките кои сèуште немаат сретнато противген (неискусни Т-клетки) се карактеризираат со густ хроматин, многу малку цитоплазма и мала препишувачка активност. Неискусните Т-клетки постојано рециркулираат помеѓу крвта и лимфните системи. При рециркулацијата, неискусните Т-клетки остануваат во секундарните лимфоидни ткива како што се лимфните јазли. Ако неискусната Т-клетка не сретне противген во лимфниот јазол, таа излегува преку еферентните лимфни садови, се дренира во торакалниот дуктус и повторно и се приклучува на крвта. Проценето е дека секоја неискусна Т-клетка рециркулира од крвта до лимфните јазли и назад секои 12 до 24 часа. Бидејќи само околу 1 на 10^5 неискусни Т-клетки се специфични за некој даден противген, ова голема рециркулацијата ги зголемува шансите неискусните Т-клетки да се сретнат со соодветниот противген.

Активираните Т-клетки создаваат ефекторни и памтечки Т-клетки

Ако неискусната Т-клетка препознае противген-ГТК комплекс на соодветната противген-прикажувачка клетка или целна клетка, таа ќе се активира, поттикнувајќи *прв̄ичен одг̄овор*. Околу 48 часа по активацијата, неискусната Т-клетка се зголемува во бласТ-клетка и започнуваат повторувачки циклуси на клеточна делба. Како што објаснивме претходно, активацијата зависи од сигналот поттикнат од поврзувањето на ТКР и костимулаторниот сигнал поттикнат од КД28-Б7 меѓудејството (види слика 10-16). Овие сигнали поттикнуваат влез на Т-клетката во $Г_1$ стадиумот од клеточниот циклус и во исто време, поттикнуваат транскрипција на генот за ИЛ-2 и за алфа-веригата од високо-афинитетниот ИЛ-2 рецепор (КД25). Освен тоа, костимулаторниот сигнал го зголемува полуживотот на ИЛ-2 мРНК. Зголемувањето на транскрипцијата на ИЛ-2, заедно со стабилизирањето на ИЛ-2 мРНК, го зголемува создавањето на ИЛ-2 за 100 пати во активната Т-клетка. Излачувањето на ИЛ-2 и неговото понатамошно врзување за високо-афинитетниот ИЛ-2 рецептор ја поттикнува активираната неискусна Т-клетка да пролиферира и да се диференцира (слика 10-17). Т-клетките кои се активирани на овој начин се делат од 2 до 3 пати дневно во период од 4 до 5 дена, создавајќи клон од прогениторски клетки, кои се диференцираат во памтечки и ефекторни Т-клеточни популации.

Различните *ефекторни Т-клетки* поседуваат специјализирани функции како што се секреција на цитокини и Б-клеточна помош (активираните КД4⁺ $Т_{по}$ клетки) и цитотоксично убивање (КД8⁺ ЦТЛ). Создавањето и активноста на ЦТЛ клетките детално е објаснето во Поглавје 14. Ефекторните клетки се создаваат и од неискусните и од памтечките клетки по противгена активација. Ефекторните клетки се со краток живот, чијшто живот се движи од неколку дена до неколку недели. Ефекторните и неискусните популации прикажуваат различни молекули врз клеточната мембрана, што придонесува за различни модели на рециркулација.

Како што е подетално објаснето во Поглавје 12, КД4⁺ ефекторните Т-клетки формираат две суппопулации кои се разликуваат по различните групи на цитокини кои ги лачат. Една популација, наречена **$Т_{по}$1 подгрупа**, лачи ИЛ-2, ИФН-гама и ТНФ-бета. Подгрупата $Т_{по}$1 е одговорна за класичните клеточно-посредувани функции, како што се доцен тип на преосетливост и активацијата на цитотоксичните Т лимфоцити. Другата подгрупа, наречена **$Т_{по}$2 подгрупа**, лачи ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6 и ИЛ-10. Оваа група функционира поефективно како помагач на Б-клеточната активација.



Популација на памтечки и ефекторни клетки

СЛИКА 10-17 Активацијата на Тпо клетка и од сигналот 1 и од костимулаторниот сигнал 2 нагорно го регулира прикажувањето на ИЛ-2 и на високо- афинитетниот ИЛ-2 рецептор, што води до влез на Т-клетката во клеточниот циклус и неколкукратна пролиферација. Дел од клетките се диференцираат во ефекторни клетки, а други во памтечки клетки.

Популацијата на *памт̄ечки Т-клет̄ки* произлегува и од неискусните Т-клетки по нивниот контакт со противген и од ефекторните клетки по противгената активација и диференцијација. Памтечките Т-клетки се создадени од противген, во основа се со долг живот, пасивни клетки кои реагираат со зголемена активност на повторен напад со истиот противген, создавајќи *в̄торичен одг̄овор*. Проширена популација на памтечки Т-клетки опстојува долго по опаѓањето на популацијата на ефекторни Т-клетки. Во основа, памтечките Т-клетки прикажуваат голем број исти површински клеточни обележувачи како и ефекторните Т-клетки; ниеден површински обележувач не ги идентификува со сигурност како памтечки клетки.

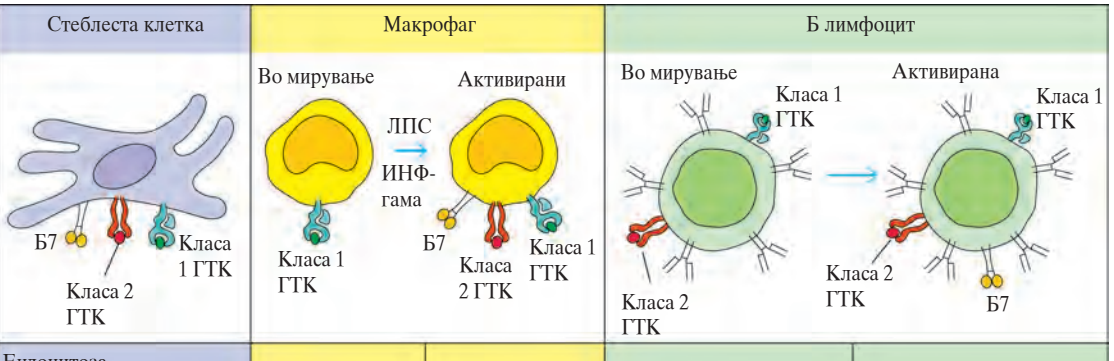
Како и неискусните Т-клетки, повеќето памтечки Т-клетки се мирувачки клетки во $Г_0$ стадиумот од клеточниот циклус, но тие имаат помалку строги барања за активација од неискусните Т-клетки. На пример, неискусните $Т_{по}$ клетки се активираат скоро

исклучиво од стеблестите клетки, додека памтечките $T_{по}$ клетки можат да бидат активирани од макрофаги, стеблести клетки и Б-клетки. Се верува дека прикажувањето на високи нивоа на бројни атхезивни молекули од страна на памтечките $T_{по}$ клетки им овозможува на овие клетки да се поврзат со широк спектар на противген прикажувачки клетки. Памтечките клетки исто така прикажуваат модели на рециркулација кои се разликуваат од оние кај неискусните или ефекторните Т-клетки.

КД4+ КД25+ субпопулацијата на Т-клетки негативно ги регулира имуните одговори

Во раните 70-ти години од дваесеттиот век, истражувачите прво ги опишаа Т-клеточните популации кои можат да ги супримираат имуните реакции. Овие клетки се наречени супресорни Т-клетки (T_c) и се веруваше дека се $КД8^+$ Т-клетки. Сепак, клеточната и молекулската основа на забележаната супресија останаа нејасни, и со текот на времето се јави голем сомнеж за постоењето на $КД8^+$ супресорните Т-клетки. Неодамнешните истражувања покажаа дека навистина постојат Т-клетки кои ги супресираат имуните реакции. Неочекувано е тоа што, се утврди дека овие клетки се $КД4^+$ наместо $КД8^+$ Т-клетки. Во популацијата на $КД4^+$ $КД25^+$ Т-клетки се наоѓаат регулаторни Т-клетки ($T_{рег}$ клетки) кои можат да го попречат размножувањето на другите Т-клеточни популации ин витро. Студиите на животни покажаа дека членови од $КД4^+$ $КД25^+$ популацијата го попречуваат развојот на автоимуните болести како што се експериментално поттикнатата воспалителна болест на цревата, експериментален алергичен енцефалитис и автоимун дијабетес. Супресијата од овие регулаторни клетки е противген специфична бидејќи зависи од активацијата преку Т-клеточниот рецептор. Потребен е клеточен контакт помеѓу супримирачките клетки и нивните мети. Ако регулаторните клетки се активирани од противген, но одделени од нивните мети со пропустлива бариера, не настанува супресија. Постоењето на регулаторни Т-клетки кои специфично ги супримираат имуните одговори има клинички импликации. Отстранувањето или попречувањето на регулаторните Т-клетки по имунизацијата може да ги засили имуните реакции на обичните вакцини. Во тој поглед, некои луѓе тврдат дека отстранувањето на Т-клетките кои ги супресираат реакциите кон туморските противгени може да го олеснат развојот на противтуморскиот имунитет. Наспроти тоа, зголемувањето на супримирачката активност на регулаторните Т-клеточни популации може да биде полезно при лекувањето на алергиски или автоимуни болести. Способноста да се зголеми активноста на регулаторните Т-клеточни популации може исто така да биде полезно при супримирање на орган или ткивно отфрлање. Истражувачите кои ќе работат во иднина на оваа регулаторна клеточна популација ќе гледаат подлабоко во механизмите преку кои $КД4^+$ $КД25^+$ Т-клеточните популации ги регулираат имуните реакции. Тие исто така ќе се обидуваат да пронајдат начини на кои активностите на овие популации ќе може да се зголемат за да се отстранат несаканите имуни реакции и да се намалат за да ги поттикнат посакуваните реакции.

Противген-прикажувачките клетки имаат карактеристични костимулаторни својства



	Стеблеста клетка	Макрофаг		Б лимфоцит	
Конзумирање противген	Ендоцитоза Фагоцитоза (од Лангерхансовите клетки)	Фагоцитоза	Фагоцитоза	Рецепторно посредувана ендоцитоза	Рецепторно посредувана ендоцитоза
Класа 2 ГТК прикажување	Структурно (+++)	Поттикнат (–)	Поттикнато (++)	Структурно (++)	Структурно (+++)
Костимулаторна активност	Структурно Б7 (+++)	Поттикнато Б7 (–)	Поттикнат Б7 (++)	Поттикната Б7 (–)	Поттикната Б7 (++)
Т-клеточна активација	Неискусни Т-клетки Ефекторни Т-клетки Памтечки Т-клетки	(–)	Ефекторни Т-клетки Памтечки Т-клетки	Ефекторни Т-клетки Памтечки Т-клетки	Неискусни Т-клетки Ефекторни Т-клетки Памтечки Т-клетки

СЛИКА 10-18 Разликите во својствата на професионалните противген прикажувачки клетки влијаат врз нивната способност да прикажуваат противген и да поттикнат Т-клеточна активација. Забележете дека активацијата на ефекторните и памтечките Т-клетки не бара костимулаторна Б7 молекул.

Само професионалните противген-прикажувачки клетки (стеблестите клетки, макрофагите и Б-клетките) можат да го претстават противгенот заедно со класа 2 ГТК молекулите и да достават костимулаторен сигнал кој е неопходен за целосна Т клеточна активација што води до пролиферација и диференцијација. Основните костимулаторни молекули кои се прикажани врз противген-прикажувачките клетки се гликопротеините Б7-1 (КД80) и Б7-2 (КД86) (види слика 10-14). Професионалните противген прикажувачки клетки се разликуваат по нивната способност да прикажат противген и да го достават костимулаторниот сигнал (слика 10-18).

Во основа стеблестите клетки прикажуваат високи нивоа на класа 1 и класа 2 ГТК молекули како и високи нивоа на Б7-1 и Б7-2. Поради ова, стеблестите клетки се многу моќни активатори на неискусните, памтечките и ефекторните Т-клетки. Наспроти тоа, на сите други професионални ППК им е потребна активација за прикажување на костимулаторните Б7 молекули врз нивните мембрани. Според тоа, мирувачките макрофаги не можат да ги активираат неискусните Т-клетки и се слаби активатори на памтечките и на ефекторните Т-клетки. Макрофагите може да се активираат преку фагоцитоза на бактерии или од бактериските продукти како што се ЛПС или од ИФН-гама, цитокин кој се лачи од $T_{по}1$. Активираните макрофаги нагорно го регулираат нивното прикажување на класа 2 ГТК молекулите и костимулаторните Б7 молекули. Според тоа, активираните макрофаги се заеднички активатори на памтечките и ефекторните Т-клетки, но нивната ефикасност при активацијата на неискусните Т-клетки се смета за мининална.

Б-клетките исто така служат како противген-прикажувачки клетки при Т клеточната активација. Мирувачките Б-клетки прикажуваат класа 2 ГТК молекули, но не можат да прикажат костимулаторни Б7 молекули. Според тоа, мирувачките Б-клетки не можат да активираат неискусни Т-клетки, иако можат да ги активираат ефекторните и памтечките Т-клеточни популации. По активацијата, Б-клетките нагорно го регулираат нивното прикажување на класа 2 ГТК молекулите и започнуваат со прикажување на Б7. Овие активирани Б-клетки сега можат да ги активираат неискусните Т-клетки како и памтечките и ефекторните популации.

Клеточна смрт и Т-клеточни популации

Клеточната смрт е значајна карактеристика на развојот на сите повеќеклеточни организми. За време на феталниот период, таа се користи за калапење и обликување, со што се отстрануваат непотребните клетки за да се овозможи облик и форма. Исто така таа е значајна карактеристика на лимфоцитната хомеостазата, со што ги враќа Т и Б-клеточните популации на нивните соодветни нивоа по брзото појавување на противген-поттикнатата пролиферација. Апоптозата исто така игра клучна улога при отстранувањето на потенцијално автореактивните тимоцити за време на негативната селекција и при отстранувањето на развојните Т-клетки кои не можат да ги препознаат сопствените-ГТК молекули (не можат да претрпат позитивна селекција).

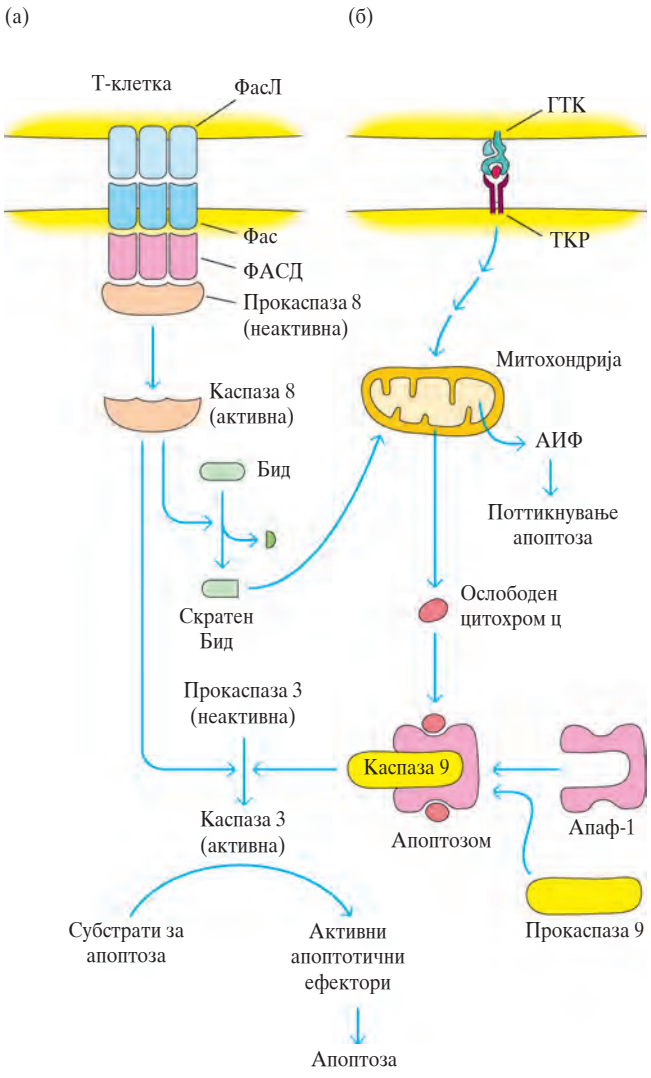
Иако поттикнувањето на апоптоза вклучува различни сигнали во зависност од типот на клетката кој е вклучен, вистинската смрт на клетката е високо конзервиран процес меѓу 'рбетниците и без'рбетниците. На пример, Т-клетките можат да бидат поттикнати да умрат од доста различни сигнали, вклувајќи го повлекувањето на факторот на раст, лекувањето со гликокортикоиди или ТКР сигнализирање. Секој од овие сигнали користи уникатна сигнална патека, но во сите случаи, вистинската егзекуција на клетката вклучува активација на специјализираната група на протеази познати како *каспази.* Улогата на овие протеази прво била откриена во студиите на развојно програмираната клеточна смрт во црвот *Caenorhabditis elegans*, каде што се покажа дека смртта на клетките е целосно зависна од активноста на генот кој ја кодира цистеинската протеаза со специфичност за остатоците од аспартанска киселина. Во моментов е познато дека цицачите имаат најмалку 14 цистеински протеази или каспази и сите клеточни умирања имаат потреба од активноста на, во најмала рака, подгрупа од овие молекули. Исто така е познато дека во основа секоја клетка во телото создава каспазни протеини, што укажува на фактот дека секоја клетка поседува потенцијал за поттикнување на сопствената смрт.

Клетките во нормални околности се штитат од апоптотичната смрт преку чување на каспазите во неактивна форма во клетката. По примањето на соодветниот сигнал за смрт, одредени каспази се активираат преку протеолитично разложување, а потоа активираат други каспази кои се на ред, што води до активација на *ефекторните каспази*. Каталитичната каскада кулминира со клеточна смрт. Иако точно не е познато како каспазната активација директно доведува до апоптотична смрт на клетката, веројатно тоа се случува со разложување на важните делови кои се неопходни за клеточен опстанок.

Т-клетките употребуваат две различни патеки за активација на каспазите (слика 10-19). Кај периферните Т-клетки, противген стимулацијата доведува до пролиферација на стимулираната Т-клетка и создавање на одреден број цитокини, вклучувајќи го ИЛ-2. При активацијата, Т-клетките го зголемуваат прикажувањето на два клучни клеточно површински протеини кои се вклучени во Т-клеточната смрт, Фас и Фас лиганд (ФасЛ). Кога Фас се врзува за неговиот лиганд, ФасЛ, потребен е ФАСД (Фас-асоциран протеин со смрттен домен) кој се врзува за Фас, по што следи употреба на прокаспаза 8, неактивна форма на каспаза 8. Поврзувањето на ФАСД со прокаспазата 8 доведува до протеолитично разложување на прокаспазата 8 во нејзината активна форма. Потоа каспазата 8 ја поттикнува протеолитична каскада која води до клеточна смрт.

Освен во тимусот, повеќето од ТКР-посредуваните апоптози во зрелите Т-клетки се посредувани од Фас патеката. Повторената или постојаната стимулација на периферните Т-клетки доведува до ко-прикажување на Фас и Фас лигандот, следено со апоптотична смрт на клетката. Фас/ФасЛ посредуваната смрт на Т-клетките како последица од активацијата е наречена *активациски поттикната клеточна смрт* (АПКС) и претставува главен хомеостатски механизам кој што ја регулира големината на Т клеточниот базен (пул) и ги отстранува Т-клетките кои одговараат на стимулација од сопствените противгени.

Значењето на Фас и ФасЛ при отстранувањето на активираните Т-клетки е нагласено кај *lpr/lpr* глувците, природна мутација која резултира со нефункционален Фас. Кога Т-клетките кај овие глувци се активираат, Фас/ФасЛ патеката не е во употреба, Т-клетките продолжуваат да се размножуваат, создавајќи ИЛ-2 и ја одржуваат активираната состојба. Овие глувци спонтано развиваат автоимуна болест, имаат прекумерен број на Т-клетки и јасно ги прикажуваат последиците од неуспехот за бришење на активираните Т-клетки. Исто така е полезна и дополнителната мутација *gld/gld.* На овие глувци им недостасува фунцкионален ФасЛ и прикажуваат абнормалности кои се слични на оние кои се наоѓаат кај *lpr/lpr* глувците. Од неодамна, откриени се луѓе



СЛИКА 10-19 Две патеки на апоптоза кај Т-клетките. (а) Активираните периферни Т-клетки се поттикнати да прикажуваат високи нивоа на Фас и ФасЛ. ФасЛ ја поттикнува тримеризацијата на Фас во соседната клетка. ФасЛ исто така може да го врзе Фас од истата клетка, што доведува до самопоттикнувачки смртен сигнал. Тримеризацијата на Фас води до регрутирање на ФАСД, што по редослед води до разложување на поврзаните молекули на прокаспазата 8 за формирање на активна каспаза 8. Каспазата 8 ја разложува прокаспазата 3, создавајќи активна каспаза 3, што доведува до клеточна смрт. Каспазата 8 исто така може да го разложи Бид до скратена форма која може да ја активира митохондријалната патека на смрт. (б) Други сигнали, како што е поврзувањето на ТКР со пептид-ГТК комплексот на ППК, резултира со активација на митохондријалната патека на смрт. Клучна карактеристика на оваа патека е ослободувањето на АИФ (апоптоза индуцирачки фактор) и на цитохормот ц од внатрешната митохондријална мембрана во цитозолот. Цитхромот ц стапува во меѓудејство со Апаф-1 и последователно со прокаспазата 9 за да го формира активниот апоптозом. Апоптозомот поттикнува разложување на прокаспазата 3, создавајќи активна каспаза 3, што ја поттикнува извршната фаза на апоптозата преку протеолиза на супстанциите чие разложување ја обврзува клетката на апоптоза. [*Адаптирано од S. H. Kafmann и M. O. Hengartner, 2001*, Trends in Cell Biology 11:526.]

со дефекти на Фас. Како што се очекува, овие лица покажуваат особини на автоимуна болест (види клинички фокус).

Фас и ФасЛ се членови од фамилијата на поврзани рецептор/лиганд каде се вклучени тумор некротичниот фактор (ТНФ) и неговиот лиганд, ТНФР (тумор некротичен фактор рецептор). Како Фас и ФасЛ, мембрански врзаниот ТНФР стапува во меѓудејство со ТНФ за да поттикне апоптоза. Исто така слична на Фас/ФасЛ поттикната апоптоза, ТНФ/ТНФР посредуваната смрт е резултат од активацијата на каспазата 8 по што следи активација на ефекторните каспази како што е каспаза 3.

Освен активацијата на апотозата преку смрттните рецепторни протеини како што се Фас и ТНФР, Т-клетките можат да умрат преку други патеки кои не ја активират каспазата 8. На пример, негативната селекција во тимусот ја поттикнува апоптотичната смрт на развојните Т-клетки преку сигналната патека која потекнува од ТКР. Сè уште целосно не разбираме зошто одредени сигнали преку ТКР поттикнуваат позитивна селекција, а други сигнали поттикнуваат негативна селекција, но знаеме дека силата на сигналите игра значајна улога. Силен, негативно селектирачки сигнал поттикнува пат до апоптоза во кој митохондриите играат значајна улога. Во митохондријално зависните апоптотични патеки, цитохромот *ц*, кој обично се наоѓа на внатрешната митохондрена мембрана, се излегува во цитозолот. Цитохромот *ц* се врзува за протеин кој е познат како Апаф-1 (апоптотичен протеазно активирачки фактор 1) и претрпува АТР зависна структурна промена и олигомеризација. Врзувањето на олигомерната форма на Апаф-1 за прокаспазата 9 доведува до нејзина трансформација во активна каспаза 9. Комплексот цитохром *ц*/Апаф-1/каспаза-9, наречен *апоптозом*, протеолитички ја разложува прокаспазата 3, со што создава активна каспаза 3, која поттикнува серија на реакции кои ја убиваат Т-клетката (види слика 10-19). На крајот, митохондриите исто така ослободуваат друг молекул, АИФ (апоптоза индуцирачки фактор), која игра значајна улога во поттикнувањето на клеточна смрт.

Клеточната смрт поттикната од Фас/ФасЛ е брза, со нагло активирање на серија каспази, која води до клеточна смрт во период од 2 до 4 часа. Од друга страна, ТКР поттикната негативна селекција изгледа дека е поспоредна патека, која бара активација на неколку процеси, вклучувајќи слабеење на митохондријалната мембрана, ослободување на цитохромот *ц* и создавање на апоптозомот пред да се вклучат каспазите. Според тоа, ТКР посредуваната негативна селекција може да трае од 8 до 10 часа.

Значајна карактеристика на митохондријално поттикната патеката на клеточна смрт претставува регулаторната улога на членовите од Бцл-2 фамилијата. И Бцл-2 и Бцл-ИксЛ се наоѓаат на митохондријалната мембрана. Овие протеини се силни инхибитори на апоптозата и иако не е јасно како ја попречуваат клеточната смрт, една теорија е дека тие на некој начин го регулираат ослободувањето на цитохромот *ц* од митохондриите. Постојат најмалку 3 групи на членови на Бцл-2 фамилијата. Членовите од група 1 се против-апоптотични и ги вклучуваат Бцл-2 и Бцл-ИксЛ. Членовите од група 2 и група 3 се про-апоптотични и ги вклучуваат Бакс и Бак во група 2 и Бид и Бим во групата 3. Постојат јасни докази дека нивоата на против-апоптотичните членови на Бцл-2 фамилијата играат значјна улога во регулирањето на апоптозата кај лимфоцитите. Членовите на Бцл-2 фамилијата димеризираат, па членовите од против-апоптотичната група можат да ја контролираат апоптозата преку димеризирање со про-апоптотичните членови, блокирајќи ја нивната активност. Како што е означено на слика 10-19, разложувањето на Бид, кое е катализирано од каспазата 8 создадена од Фас патеката, може да ја активира митохондријалната патека на смрт. Според тоа,

КЛИНИЧКИ ФОКУС

Откажувањето на апоптозата предизвикува дефектна лимфоцитна хомеостаза

Одржувањето на соодветен број различни типови на лимфоцити е многу важно за ефикасен имун систем. Еден од најзначајните елементи во оваа регулација е апоптозата посредувана од Фас/ФасЛ лиганд системот. Следниве извадоци од медицинските истории покажуваат што може да се случи кога ќе откаже овој клучен регулаторен механизам.

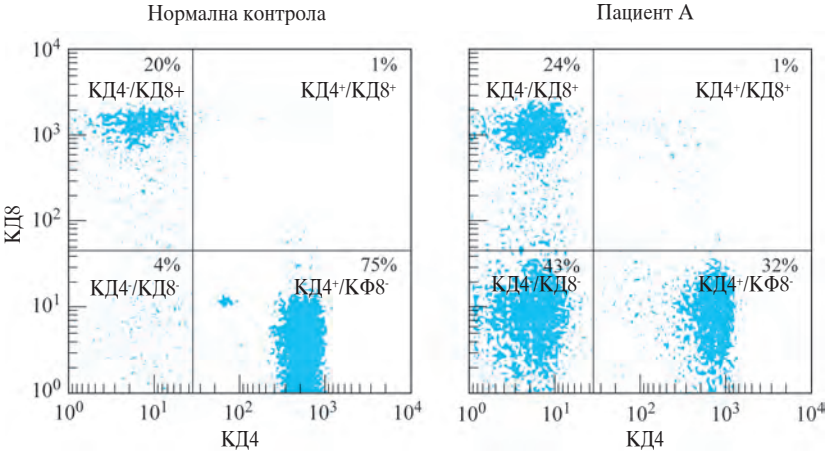
Пациент А: Жена, сега 43 годишна, имала долга историја на имунолошка нерамнотежа и други медицински проблеми. На возраст од 2 години, дијагностицирана е со Канал-Смит синдром (КСС), тешко зголемување на лимфоидните ткива како што се лимфните јазли (лимфаденопатија) и слезината (спленомегалија). Биопсијата на лимфните јазли покажала дека, исто како кај многу други пациенти со КСС, таа имала многу зголемен број на лимфоцити. Таа имала намален број на крвни плочки (тромбоцитопенија) и, бидејќи нејзините црвени крвни клетки биле лизирани, таа била анемична (хемолитична анемија). Намалувањето на бројот на крвните плочки и лизирањето на црвените крвни клетки може да се должат на работата на циркулирачките противтела кои реагирале со овие делови на домаќинот. На возраст од 21 година, таа била дијагностицирана со многу зголемени карлични лимфни јазли кои морале да бидат отстранети. Десет години подоцна, било откриено дека повторно има зголемена абдоминална маса, која при хируршкото отстранување се испостави дека е група на лимфни јазли тешка 220 грама. Таа продолжила да има блага лимфаденопатија и, обично кај овие пациенти, лимфоцитната популација на зголемените јазли има зголемен број на Т-клетки (87% наспроти нормалниот опсег од 38%-67% Т-клетки). Испитувањето на овие клетки со проточна цитометрија и боењето со флуоресцентни противтела открија вишок на двојно-негативни Т-клетки (клинички фокус слика 1). Исто како и многу пациенти со Канал-Смит синдромот, таа имала рак: рак на дојката на возраст од 22 години и рак на кожата на возраст од 22 и 41 година.

Пациент Б: Маж кој со текот на времето е дијагностициран со Канал-Смит синдром имал тешка лимфаденопатија и спленомегалија како новороденче и како дете. Тој бил лекуван со кортикостероиди и имуносупресивниот лек меркаптопурин на возраст од 4 до 12 години. Ова се покажало како корисно, а отокот на лимфоидните ткива се намалил во текот на адолесценцијата и полнолетството. На возраст од 42 години, тој починал од рак на црниот дроб.

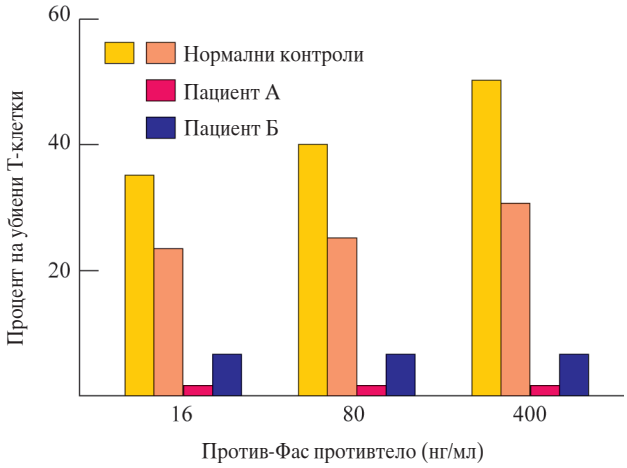
Пациент В: 8-годишно момче, син на пациентот Б, исто така пати од Канал-Смит синдромот и имал зголемен број на Т-клетки и тешка лимфаденопатија на возраст од седум месеци. На возраст од 2 години неговата слезина толку многу се зголемила така што требала да биде отстранета. Тој исто така развил хемолитична анемија и тромбоцитопенија. Сепак, иако тој продолжил да има зголемен број на Т-клетки, тежината на хемолитичната анемија и тромбоцитопенијата за сега биле контролирани со метотрексат, лек кој ја попречува синтезата на ДНК и се користи за имуносупресија и хемотерапија.

Препознавањето на сериозните последици од неуспехот да се регулира бројот на лимфоцитите, како што е прикажано во овие случаи, произлегло од деталното проучување на неколку деца чиишто зголемени лимфоидни ткива го привлекоа медицинското внимание. Во сите овие случаи на Канал-Смит синдромот, испитувањето откри многу зголемени лимфни јазли кои се од 1 до 2 см во обем и понекогаш се доволно големи да ја нарушат локалната анатомија. Кај четири од група на пет деца кои интензивно се проучуваа, слезините биле толку големи што морало да бидат отстранети.

Иако клиничката слика на Канал-Смит синдромот може да варира од лице до лице, каде што одреден број на луѓе страдаат од тешка хронична болест, а други имаат само повремени епизоди на болест, сите имаат заедничка карактеристика: неуспех на активираните лимфоцити да претрпат Фас посредувана апоптоза. Изолирањето и секвенцирањето на Фас гените од одреден број на пациенти и повеќе од 100 контроли открива дека пациентите со КСС се хетерозиготи (фас+/–) за фас локусот и затоа носат една копија од дефектниот фас ген. Споредбата на



Проточна цитометрија на Т-клетките од крвта на пациентот А и контролен субјект. Соодветното боење со против-КД8 противтело е прикажано на у оската, а соодветното боење со против-КД4 противтелото е прикажано на х оската. Зрелите Т-клетки се или КД4+ или КД8+. Иако скоро сите Т клеки кај контролниот субјект се КД4+ или КД8+, пациентот со КСС покажува висок број на двојно-негативни Т-клетки (43%), кои не прикажуваат ниту КД4 ниту КД8. Процентот на секоја категорија Т-клетки е означен во квадратите. [*Адаптирано од M. D. Drappa et al*, *1996*, New England Journal of Medicine ***335****:1643*.]



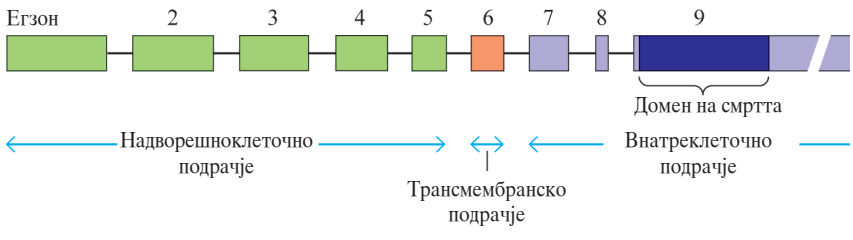
Фас-посредуваното убивање настанува кога Фас е вкрстено-поврзан со ФасЛ, неговиот нормален лиганд, или при лекување со против-Фас противтело кое вештачки вкрстено се поврзува со Фас молекулите. Овој експеримент покажува намалување на бројот на Т-клетки по поттикнувањето на апоптозата на Т-клетките кај пациентите и контролите со вкрстеното поврзување на Фас со зголемувачки количини на против-Фас моноклонското противтело. Т-клетките од пациентите со Канал-Смит (А и Б) се отпорни на Фас посредуваната смрт. [*Адаптирано од M.D.Drappa et al*, *1996*, New England Journal of Medicine ***335:****1643.]*

Фас посредувана клеточна смрт на Т-клетките на нормалните контроли кои не носат мутирани Фас гени со смртта поттикната кај Т-клетките на пациенти со КСС покажа значителен дефект кај Фас посредуваната смрт (Клинички фокус слика 2). Карактеризирањето на Фас гените кои досега се видени кај пациентите со КСС откри дека тие имаат мутации во или околу подрачјето кој го кодира смртно поттикнувачкиот домен ("доменот на смртта") на овој протеин (Клинички фокус слика 3). Таквите мутации резултираат со создавање на Фас протеин кои има недостаток на биолошка активност, но сè уште е во конкуренција со нормалните Фас молекули за меѓудејство со потребните делови на Фас-посредуваната патека на смртта. Во надворклеточниот домен на Фас се најдени други мутации, кои често се поврзани со поблаги форми на КСС или не се поврзани со болест воопшто.

Одреден број на истражувачки групи спроведоа детални клинички испитувања на пациентите со КСС и според тоа се донесени следниве општи забелешки:

- Клеточните популации во крвта и лимфоидните ткива кај пациентите со КСС покажаа значајни зголемувања (од 5 до 20 пати) во бројот на лимфоцити од сите видови, вклучувајќи ги Т-клетките, Б-клетките и КПУ клетките.
- Повеќето пациенти имаат зголемени нивоа на една или повеќе класи имуноглобулини (хипергамаглобулинемија).
- Имунолошката хиперактивност е одговорна за таквите автоимуни феномени како што е создавањето на автопротивтела против црвените крвни клетки, што резултира со хемолитичка анемија, и пад на бројот на крвните плочки поради активноста на автопротивтелата против крвните плочки.

Овие забелешки го утврдија значењето на смртно посредуваната регулација на лимфоцитните популации во лимфоцитната хомеостаза. Таквата клеточна смрт е потребна бидејќи имунот одговор на противген доведува до ненадеен и голем пораст на популациите на клонови лимфоцити кои реагираат и повремено го нарушува прикажувањето на овие клонови во различието. Во отсуство на клеточна смрт, периодичната стимулација на лимфоцитите која се случува нормално во текот на животот, доведува до постепено зголемување, и на крајот до неодржливо ниво на лимфоцитите. Како што покажува Канал-Смит синдромот, без неопходното убивање на лимфоцитите со апоптоза, може да настане животозагрозувачка болест.



Мапа на локусот фас. фас генот е составен од девет егзони одделени со осум интрони. Егзоните од 1 до 5 го кодираат надворклеточниот дел од протеиниот, егзонот 6 го кодира трансмембранското подрачје, а егзоните од 7 до 9 го кодираат внатреклеточниот дел од молекулата. Поголемиот дел од егзон 9 е одговорен за кодирањето на критичниот домен на смртта. *[Адаптирано од G. H. Fisher et al, 1995,* Cell ***81:****935.]*

Иако на лимфоцитот може да му биде сигнализирано да умре на неколку начини, сите овие патеки на клеточна смрт конвергираат кон активација на каспазите. Овој дел од патеката на клеточната смрт, извршната фаза, е заедничка скоро за сите патеки на клеточна смрт кои се познати кај 'рбетниците и без'рбетниците, покажувајќи дека апоптозата е стар процес кој е зачуван во текот на еволуцијата.

РЕЗИМЕ

- Родителските Т-клетки од коскената срцевина навлегуваат во тимусот и ги преуредуваат нивните ТКР гени. Во повеќето случаи, овие тимоцити ги преуредуваат алфа-бета ТКР гените и стануваат алфа-бета Т-клетки. Мал дел ги преуредуваат гама-делта ТКР гените и стануваат гама-делта Т-клетки.
- На најраните тимоцити им недостасуваат забележливи КД4 и КД8 и се наречени двојно негативни клетки. За време на развојот, мнозинството на двојно негативни тимоцити се развиваат во КД4$^+$КД8$^-$ алфа бетаТ-клетки или КД4$^-$ КД8$^+$ алфа бетаТ-клетки.
- Позитивната селекција во тимусот ги отстранува Т-клетките кои не можат да го препознаат сопствениот ГТК и претставува основа за ГТК спрегнувањето. Негативната селекција ги отстранува тимоцитите кои поседуваат високо афинитетни рецептори само за сопствените ГТК молекули или сопствен противген плус сопствен ГТК и создава самотолеранција.
- Т клеточната активација е поттикната од меѓудејството на ТКР-КД3 комплексот со пептид-ГТК комплексот на противген прикажувачката клетка. Активацијата исто така бара активност и на помагачките молекули, вклучувајќи ги корецепторите КД4 и КД8. Многу различни внатреклеточни сигнално пренесувачки патеки се активираат со врзувањето на ТКР.
- Т-клетките кои прикажуваат КД4 препознаваат противген врзан со класа 2 ГТК молекул и во основа функционираат како $Т_{по}$ клетки. Т-клетките кои прикажуваат КД8 препознаваат противген врзан со класа 1 ГТК молекул и во основа функционираат како $Т_{цт}$-клетки.
- Освен сигналите кои се посредувани од Т-клеточниот рецептор и неговите поврзани помагачки молекули (сигнал 1), активацијата на $Т_{по}$ клетка бара костимулаторен сигнал (сигнал 2) кој е овозможен од противген прикажувачката клетка. Костимулаторниот сигнал обично е поттикнат од меѓудејството на молекулите од Б7 фамилијата врз мембраната на ППК со КД28 од $Т_{по}$ клетка. Поврзувањето на ЦТЛА-4, близок роднина на КД28, со Б7 ја попречува активацијата на Т-клетките.
- Поврзувањето на ТКР со противгениот пептид-ГТК може да поттикне активација или клонска анергија. Присуството или отсуството на костимулаторниот сигнал (сигнал 2) одредува дали активацијата ќе доведе до клонска експанзија или клонска анергија.
- Неискусните Т-клетки се мирувачки клетки ($Г_0$) кои не стапиле во контакт со противген. Активацијата на неискусните клетки води до создавање на ефекторни и памтечки Т-клетки. Памтечките Т-клетки, кои полесно се активираат од неискусните клетки, се одговорни за вторичните реакции. Ефекторните клетки се кратко-живеачки и извршуваат помагачки, цитотоксични или функции од доцен тип на преосетливост.
- Т-клеточната разноликост е обликувана со апоптоза во тимусот и на периферијата.

Референци

Ashton-Rickardt, P. G., et al. 1994. Evidence for a differential avidity model of T-cell selection in the thymus. *Cell* **74:**577.

Bosselut, R. 2004. CD4/CD8-lineage differentiation in the thymus: from nuclear effectors to membrane signals. *Nature Reviews Immunology* **4:**529–40.

Davis, D. M., and M. L. Dustin. 2004. What is the importance of the immunological synapse? *Trends in Immunology* **25:**323–27.

Drappa, M. D., et al. 1996. Fas gene mutations in the Canale-Smith syndrome, an inherited lymphoproliferative disorder associated with autoimmunity. *New England Journal of Medicine* **335:**1643.

Grakoui, A., et al. 1999. The immunological synapse: a molecular machine controlling T cell activation. *Science* **285:**221–27.

Hayday, A. 2000. gd Cells: a right time and right place for a conserved third way of protection. *Annual Review of Immunology* **18:**1975.

Herman, A., J. W. Kappler, P. Marrack, and A. M. Pullen. 1991. Superantigens: mechanism of T-cell stimulation and role in immune responses. *Annual Review of Immunology* **9:**745.

Huang, Y., and R. L. Wange. 2004. T cell receptor signaling: beyond complex complexes. *Journal of Biological Chemistry* **279:**28827–30.

Irvine, D. J., M. A. Purbhoo, M. Krogsgaard, and M. M. Davis. 2002. Direct observation of ligand recognition by T cells. *Nature* **419:**845–49.

Macian, F. 2005. NFAT proteins: key regulators of T-cell development and function. *Nature Review of Immunology* **5:**472–84.

Myung, P. S., N. J. Boerthe, and G. A. Koretzky. 2000. Adapter proteins in lymphocyte antigen-receptor signaling. *Current Opinion in Immunology* **12:**256.

Palmer, E. 2003. Negative selection—clearing out the bad apples from the T-cell repertoire. *Nature Reviews Immunology* **3:**383–91.

Rothenberg, E. V., and T. Taghon, T. 2005. Molecular genetics of T cell development. *Annual Review of Immunology* **23:**601–49.

Rothenberg, E. V., M. A. Yui, and J. C. Telfer. 2002. T cell developmental biology. In *Fundamental Immunology*, 5th ed., W. Paul, ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia.

Salomon, B., and J. A. Bluestone. 2001. Complexities of CD28/B7: CTLA-4 costimulatory pathways in autoimmunity and transplantation. *Annual Review of Immunology* **19:**225.

Vaishnaw, A. K., et al. 1999. The molecular basis for apoptotic defects in patients with CD95 (Fas/Apo-1) mutations. *Journal of Clinical Investigation* **103:**355.

Weil, R., and A. Israel. 2004. T-cell-receptor- and B-cell-receptor-mediated activation of NF-kappaB in lymphocytes. *Current Opinion in Immunology* **16:**374–81.

Zuniga-Pflucker, J. C. 2004. T-cell development made simple. *Nature Review of Immunology* **4:**67–72.

Корисни веб-страници

http:/www.nxbi.nlm.nih.gov/Omim/

Веб-страницата The Online Mendelian Inheretence in Man содржи потстраница која прикажува 10 различни наследни болести поврзани со дефекти во ТКР комплексот или поврзаните протеини.

http:/www.ultranet.com/~jkimball/BiologyPages/A/Apoptosis.html

http:/www. ultranet.com/~jkimball/BiologyPages/B/B_and_Tcells.html

Овие потстраници на веб-страницата на John Kimball's Biology овозможуваат јасно запознавање со Т-клеточната биологија и добра основа за апоптозата.

http/www.bioscience.org/knockout/knochome.htm

На Frontiers in Bioscience Database of Gene Knockouts, може да се најдат информации за ефектите што настануваат при отстранување на повеќето гени кои се вклучени во развојот и функционирањето на Т-клетките.

Прашања за учење

ПРАШАЊЕ ОД КЛИНИЧКИ ФОКУС Во период од неколку години, на група деца и адолесценти редовно им се дава доза на состојката X, лек кој го спасува животот. Меѓутоа, покрај неговиот корисен ефект, откриено е дека овој лек интерферира со Фас-посредуваното сигнализирање.

а. Кои клинички манифестации на несканите ефекти на состојката X можат да се сретнат кај овие пациенти?

б. Ако белите крвни клетки од зафатениот пациент се обојат со флуоресцеин обележани против-КД4 и фикоеритрин обележани против-КД8 противтела, што може да се види со проточна цитометрија на овие клетки? Кој образец ќе се очекува ако истата постапка се направи на белите крвни клетки од здраво контролно лице?

1. Имате КД8$^+$ ЦТЛ клон (од X-2^k глушец) кој има Т-клеточен рецептор специфичен за противгенот H-Y. Ги клонирате алфа-бета ТКР гените од овие клонирани клеточни линии и ги користите да подготвите трансгеничен глушец со X-2^k или X-2$^\partial$ хаплотип.

   а. Како ќе ги разликувате незрелите тимоцити од зрелите КД8$^+$ тимоцити кај трансгеничниот глушец?

   б. За секој трансгеничен глушец кој е наведен во долната табела, означете со (+) или (-) дали глушецот ќе има незрели двојно-позитивни и зрели КД8$^+$ тимоцити кои имаат трансгеничен Т-клеточен рецептор.

   в. Објаснете ги вашите одговори за X-2^k трансгеничните.

   г. Објаснете ги вашите одговори за X-2^d трансгеничните.

Трансгеничен глушец	Незрели тимоцити	Зрели КД8$^+$ тимоцити
X-2^k женски		
X-2^k машки		
X-2^d женски		
X-2^d машки		

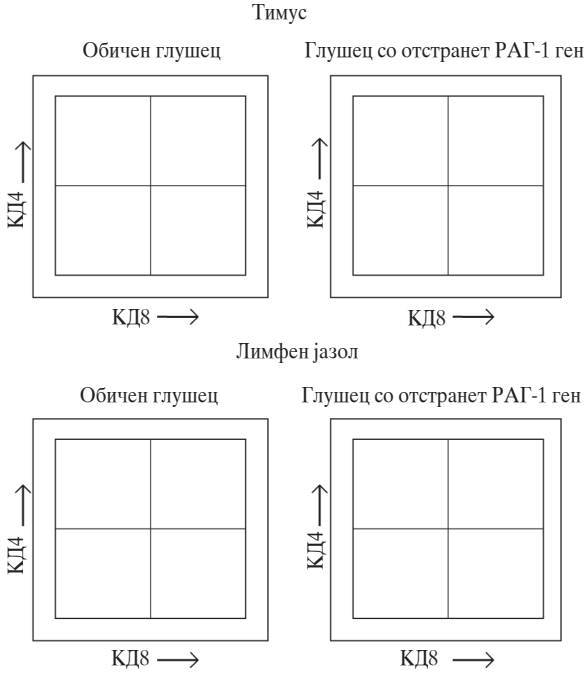
2. Циклоспоринот и FK506 се моќни имуносупресивни лекови кои им се даваат на примателите на пресадоци. И двата лека го спречуваат формирањето на комплекс помеѓу калцинеуринот и Ca^{2+}/калмодулинот. Објаснете зошто овие елементи ги супресираат Т-клеточно посредуваните аспекти на отфрлањето на пресадокот. (Помош: Види слика 10-12).

3. Противгенската активација на Т-клетките води до ослободување или поттикнување на разни нуклеарни фактори кои ги стимулираат препишувачките гени.

   а. Кои препишувачки фактори кои го поддржуваат размножувањето на активираните Т-клетки се присутни во цитоплазмата од мирувачките Т-клетки во неактивна форма?

   б. Штом навлезат во јадрото, што може да направат овие препишувачки фактори?

4. Имате флуоресцеин обележано против-КД4 и фикоеритрин обележано против-КД8 противтело. Овие противтела ги користите за боење на тимоцитите и клетките од лимфните јазли од



обичен глушец и од глушец кај кој е отстранет РАГ-1 генот. На сликите, нацртајте ги FACS скиците кои би ги очекувале.

5. Со цел експериментално да се прикаже позитивната селекција во тимусот, истражувачите ги анализирале тимоцитите од нормални X-2^d глувци, кои имаат отстранет класа 2 ИЕ ген и X-2^b глувци кај кои е отстранет класа 2 ИА генот.

   а. Кои ГТК молекули ќе ги најдете врз противген-прикажувачките клетки од нормалните X-2^b глувци?

   б. Кои ГТК молекули ќе ги најдете врз противген прикажувачките клетки на X-2^b глувците на кои им е отстранет ИА генот?

   в. Ќе очекувате да најдете КД4$^+$ Т-клетки, КД8$^+$ Т-клетки или и двата кај секој сој на глувци? Зошто?

6. При неговите класични експерименти со химерични глувци, Zinkernagel земал коскена срцевина од глушец 1 и тимус од глушец 2 и ги пресадил во глушец 3, кој бил тимектомизиран и смртно озрачен. Потоа модифицираниот глушец го нападнал со ЛХМВ и ги отстранил неговите слезински клетки. Овие слезински клетки се инкубирани со ЛХМВ-заразени целни клетки со различни ГТК хаплотипови и била надгледувана лизата на целните клетки. Резултатите од двата такви експерименти со употреба на X-2^b сој Ц57БЛ/6 глушец и X-2^d сој БАЛБ/ц глушец се прикажани во табелата на почетокот на страна 270.

Експеримент	Дарител на коскена срцевина	Тимектомизиран рендгенски озрачен примател	Лизирање на ЛХМВ-заразените целни клетки		
			H-2^d	H-2^k	H-2^b
А	C57BL/6 X BALB/c	C57BL/6 X BALB/c	+	-	-
Б	C57BL/6 X BALB/c	C57BL/6 X BALB/c	-	-	+

а. Кој е хаплотипот на сојот на тимусен дарител во експериментот А и експериментот Б?
б. Зошто X-2^b целните клетки не беа лизирани во експериментот А, но беа лизирани во експериментот Б?
в. Зошто X-2^k целните клетки не беа лизирани во ниеден експеримент?

Протеин фосфатаза(и)	КД8	Класа 1 ГТК	КД45
Протеин киназа(и)	КД4	Класа 2 ГТКI	Б7
ЦД28	ИЛ-2	ИЛ-6	ЦТЛА-4

7. Пополнете ги празните места кај секој исказ подолу (а-и) со најсоодветниот израз од табелата. Изразите може да се употребат еднаш, повеќе од еднаш или воопшто да не се употребат.
   а. p56^{lck} и ЗАП-70 се ____.
   б. _____ е Т-клеточен мембрански протеин кој има цитоплазматски домени со фосфатазна активност.
   в. Стеблестите клетки прикажуваат ____ структурно, додека Б-клетките мора да се активираат пред да го прикажат овој мембрански молекул.
   г. Активацијата на $T_{по}$ клетки доведува до излачување на ____ и прикажување на неговиот рецептор, што води до пролиферација и диференцијација.
   д. Костимулаторниот сигнал кој е потребен за целосна активација на Т-клетките е поттикнат од меѓудејството на ____ на Т-клетките и ____ на ППК.
   ѓ. Глувците на кои им се отстранети класа 1 ГТК молекулите не можат да создадат тимоцити кои имаат ____.
   е. Макрофагите мора да бидат активирани пред да прикажат ____ молекули и ____ молекули.
   ж. Т-клетките кои имаат ____ се отсутни во лимфните јазли од глувците кај кои се отстранети класа 2 ГТК молекулите.
   з. $ФИФ_2$ се дели со ____ за да даде ДАГ и $ИФ_3$.
   s. Кај активираните Т-клетки, ДАГ ја активира ____, која дејствува да го создаде препишувачкиот фактор НФ-кБ.
   и. ____ стимулира а ____ попречува Т-клеточна активација кога е поврзан со ____ или на противген прикажувачка клетка.

8. Сакате да го одредите процентот на различни типови тимоцити во примерок клетки од глувчешки тимус со употреба на метод на индиректна имунофлуоресценција.
   а. Прво го обојувате примерокот со против-КД3 (првично противтело) од коза, а потоа со зајачки ФИТЦ обележан противкозји Иг (вторично противтело), кое емитува зелена боја. Анализата на обоениот примерок со проточна цитометрија покажува дека 70% од клетките се обоени. Врз основа на овој резултат, колку од тимусните клетки од вашиот примерок прикажуваат противген-врзувачки рецептори врз нивните површини? Дали сите ќе прикажуваат ист тип на рецептор? Објаснете го вашиот одговор. Кои се останатите необоени клетки?
   б. Потоа ги одделувате КД3$^+$ клетките со флуоресцентно активен клеточен разделувач (FACS) и повторно ги обојувате. Во овој случај, првичното противтело е заморечко против-КД4, а вторичното противтело е зајачки ПЕ-обележан противзаморечки Иг, кое емитува црвена боја. Анализата на обоените КД3$^+$ клетки покажува дека 80% од нив се обоени. Од овој резултат, дали можете да одредите колку $T_{цТ}$-клетки се присутни во овој примерок? Ако да, тогаш колку $T_{цТ}$-клетки се присутни? Ако не, кој дополнителен експеримент ќе го направите за да го одредите бројот на присутни $T_{цТ}$-клетки?

9. Многу од ефектите кои настануваат при поврзувањето на ТКР со ГТК-пептидот можат да се повторат со внесување на јономицин плус форбол естер. Јономицинот е Ca^{2+} јонофор, соединение кое им овозможува на калциумовите јони во средината да ја преминат плазма мембраната и да навлезат во клетката. Форбол естерите се аналози на диацилглицеролот (ДАГ). Зошто внесувањето на форбол и калциумовите јонофори имитира многу ефекти на поврзувањето на ТКР?

10. Кои ефекти од клеточната смрт очекувате дека ќе ги сретнете кај глувците кои ги имаат следниве генски модификации? Објаснете ги вашите одговори?
    а. Глувци кои се трансгенични за БЦЛ-2 и прекумерно го прикажуваат овој протеин.
    б. Глувци кај кои е отстранета каспазата 8.
    в. Глувци кај кои е отстранета каспазата 3.

11. Во ова поглавје беа утврдени и објаснети неколку основни теми за сигналното пренесување. Кои се овие теми? Размислете за процесите на сигнално пренесување на Т-клеточната активација и дадете пример за секоја од петте спомнати теми.

12. Додека поголемиот број Т-клетки во нашите тела прикажуваат алфа-бета ТКР, до 5% од Т-клетките наместо тој прикажуваат гама-делта ТКР. Објаснете ја разликата во препознавањето на противгнот помеѓу овие два клеточни типа.

13. Најдено е дека Т-клетките може да не се стимулираат кога им е претставен нивен сроден противген, додека други Т-клетки може да дејствуваат како ефекторни клетки без да им биде претставен нивен сроден противген. Објаснете како може да настане таквата Т-клеточна активација/недостаток на активација. Во одговорот споредете ги сигналните процеси кои водат до овие реакции.

Интерактивно учење

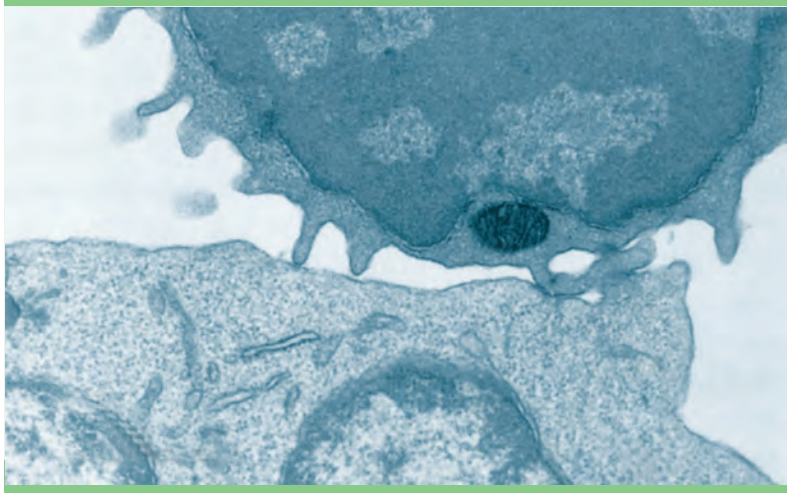
www.wfreeman.com/kub

САМОСТОЕН ТЕСТ
Преглед на клучни изрази

АНИМАЦИЈА
Клеточна смрт

Поглавје 11

Создавање, активација и диференцијација на Б-клетките



Почетен контакт помеѓу Б и Т-клетките. [Od V. M. Sanders et al., 1986, J. Immunol. 137:2395].

- Б-клеточно зреење
- Б-клеточна активација и пролиферација
- Хуморален одговор
- Ин виво области за поттикнување на хуморални одговори
- Зародишни центри и противгенпоттикната Б-клеточна диференцијација
- Регулирање на имунолошкиот ефекторен одговор

Развојниот процес кој доведува до создавање на плазма клетки и памтечки Б-клетки може да се подели во три широки стадиуми: создавање зрели, имунокомпетентни Б-клетки (зреење), активација на зрелите Б-клетки кога тие стапуваат во меѓудејство со противген и диференцијација на активираните Б-клетки во плазма клетки и памтечки Б-клетки. Кај многу 'рбетници, вклучувајќи ги луѓето и глувците, коскената срцевина ги создава Б-клетките. Овој процес е уреден редослед на Иг-генско преуредување, кој се случува во отсуство на противген. Ова е противген-независната фаза од Б-клеточниот развој.

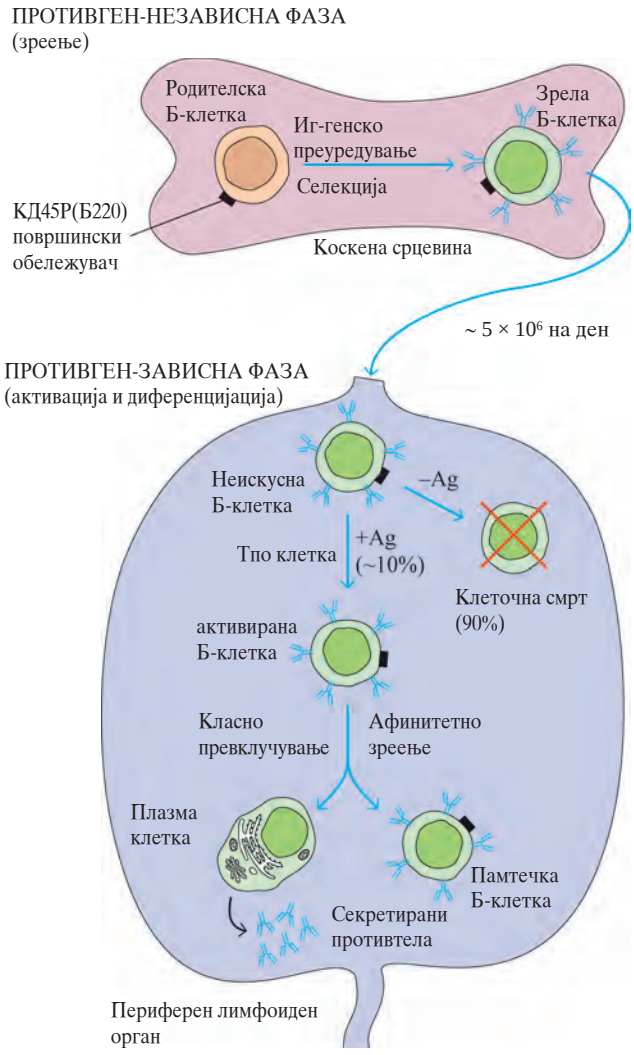
Незрелата Б-клетка која има ИгМ врз својата мембрана ја напушта коскената срцевина и созрева за да ги прикаже ИгМ и ИгД врзани врз мембраната (мИгМ и мИгД) со една противгенска специфичност. Овие **неискусни** Б-клетки, кои немаат дојдено во контакт со противген, циркулираат во крвта и лимфата и се пренесуваат до вторичните лимфоидни органи, најзабележливо во слезината и лимфните јазли (види поглавје 2). Ако Б-клетката е активирана од меѓудејство со противген кој е препознат од мембрански-врзаното противтело, клетката пролиферира (клонална експанзија) и се диференцира за да создаде популација на противтело секретирачки плазма клетки и памтечки Б-клетки. Како последица на активирањето, одредени Б-клетки ќе претрпат **афинитетно зреење**, постепен пораст во просечниот афинитет на противтелата кој се создава како одговор од активацијата која претходи. Исто така многу од нив ќе претрпат **класно превклучување**, промена на изотипот на противтелото кое е создадено од Б-клетката од ми во гама, алфа или епсилон. Бидејќи за Б-клеточната активација и диференцијација во периферијата е потребно присуство на противген, оваа фаза ја претставува противген-зависна фазата од Б-клеточниот развој.

Во текот на животот многу Б-клетки се создадени во коскената срцевина, но само неколку од тие клетки созреваат. Кај глувците, големината на рециркулирачкиот базен на Б-клетки е околу 2 x 10^9 клетки. Повеќето од овие клетки циркулираат како неискусни Б-клетки, и имаат краток животен век (време на полураспад од помалку од 3 дена до околу 8 недели) ако не успеат да се сретнат со противген или ако загубат во натпреварот со други Б-клетки за престој во лимфоидната средина. Ако се земе предвид дека имуниот систем може да создаде вкупна противтелна разновидност која се движи над 10^{10}, само мал дел од овој потенцијал е прикажан во секое време од страна на мембранскиот имуноглобулин на рецикулирачките Б-клетки. Во претходните поглавја се објаснети одредени аспекти од развојните процеси на Б-клетките. Целата патека, започнувајќи со најраната специфична Б-клетка од лозата, е објаснета во продолжение на ова поглавје. Слика 11-1 дава преглед на главните процеси на Б-клеточниот развој кај луѓето и глувците. Проучувањата од широкиот спектар на 'рбетници покажале изненадувачка разновидност од патеки и резултати во Б-клеточниот развој, дел од нив ќе бидат нагласени.

Б-клеточно зреење

Создавањето зрели Б-клетки започнува уште во ембрионските фази и продолжува во текот на животот. Пред раѓањето, жолчната ќеса, црниот дроб на ембрионот, и коскената срцевина од ембрионот се главните места за Б-клеточно зреење, по

ДЕТАЛНА СЛИКА 11-1 Развој на Б-клетките

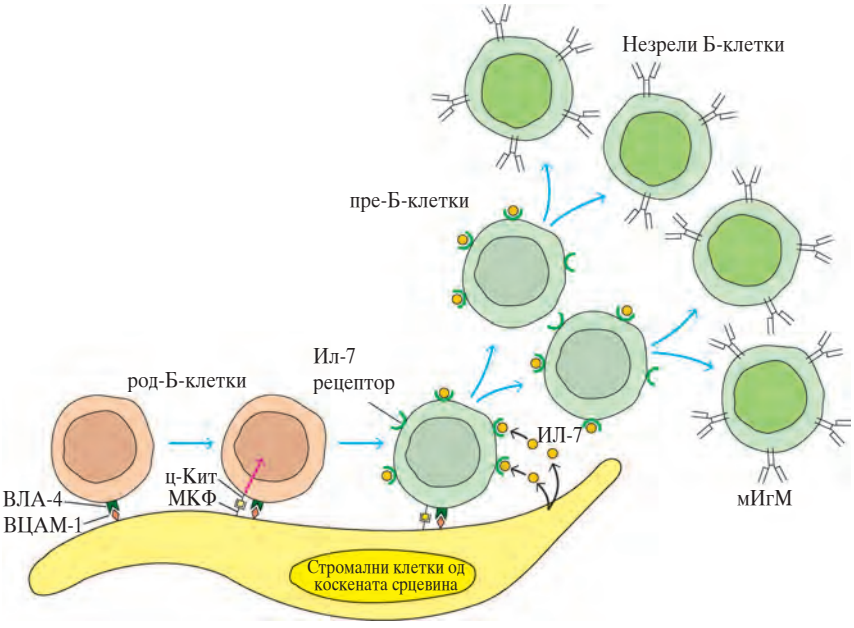


При противген-независната фаза на зреење, незрелите Б-клетки кои прикажуваат мембрански ИгМ се создаваат во коскената срцевина. Овие клетки навлегуваат во кртокот и се развиваат во зрели неискусни Б-клетки кои ги прикажуваат мИгМ и мИгД. Само околу 10% од базенот на потенцијалните Б-клетки достигнуваат зрелост и излегуваат од коскената срцевина. Неискусните Б-клетки умираат во периферијата доколку не се сретнат со растворлив протеински противген и активирани $T_{по}$ клетки. Штом се активираат, Б-клетките пролиферираат во вторичните лимфоидни органи. Тие кои имаат мИг со висок афинитет се диференцираат во плазма клетки и памтечки Б-клетки, кои можат да прикажат различни изотипови поради класното превклучување. Броевите наведени на сликата се однесуваат на Б-клеточниот развој кај глувците, но сите правила важат исто така и за луѓето.

раѓањето, создавањето на зрелите Б-клетки се случува само во коскената срцевина.

Родителските Б-клетки пролиферираат во коскената срцевина

Б-клеточниот развој започнува кога лимфоидните претходнички клетки се диференцираат во најраната специфична Б-клетка од лозата – **родителската Б-клетка (род-Б-клетка)** – која прикажува трансмембранска тирозин фосфатаза наречена КД45Р (понекогаш кај глувците нарекувана Б220). Пролиферацијата и диференцијацијата на род-Б-клетките во претходнички **Б-клетки (пре-Б-клетки)** бараат микросредина која ја овозможуваат стромалните клетки од коскената срцевина. Ако род-Б-клетките се отстранат од коскената срцевина и се култивираат во ин витро услови, тие нема да се развијат во позрели Б-клетки доколку не се присутни стромалните клетки. Стромалните клетки имаат две значајни улоги: тие стапуваат во директно меѓудејство со



СЛИКА 11-2 Стромалните клетки од коскената срцевина се потребни за зреење на родителските Б-клетки во претходнички Б-клетки. Род-Б-клетките се врзуваат за стромалните клетки преку меѓудејство со ВЦАМ-1 од стромалната клетка и ВЛА-4 од род-Б-клетката. Оваа меѓудејство го поттикнува врзувањето на ц-Кит од род-Б-клетката за матичниот клеточен фактор (МКФ) од стромалната клетка, што поттикнува сигнал, посредуван од тирозин киназната активност на ц-Кит, што ја стимулира род-Б-клетката да прикаже рецептори за Ил-7. Потоа Ил-7 кој е ослободен од стромалните клетки се врзува за Ил-7 рецепторите, поттикнувајќи ја род-Б-клетката да созрее во пре-Б-клетка. Пролиферацијата и диференцијацијата со текот на времето создаваат незрели Б-клетки.

род-Б и пре-Б-клетките и лачат различни цитокини, посебно ИЛ-7, кој го поддржува развојниот процес.

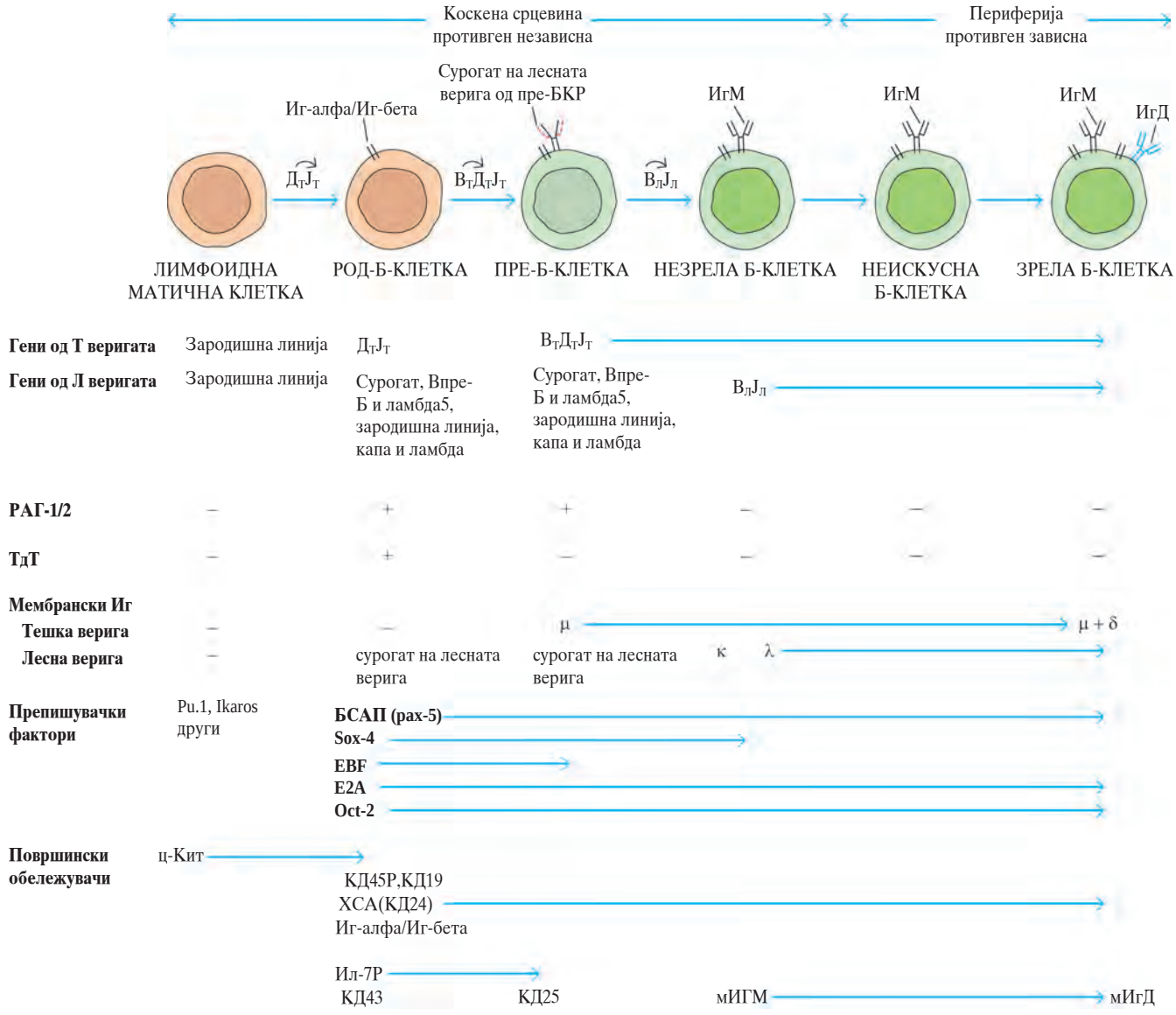
Во најраниот развоен стадиум, род-Б-клетките бараат директен контакт со стромалните клетки во коскената срцевина. Оваа меѓудејство е посредувано од неколку клеточни атхезивни молекули (КАМ), вклучувајќи ги ВЛА-4 на род-Б-клетката и неговиот лиганд, ВЦАМ-1, на стромалната клетка (слика 11-2). По остварувањето на почетниот контакт, рецепторот на род-Б-клетката наречен ц-Кит стапува во меѓудејство со површинскиот молекул од стромалната клетка наречен матичен клеточен фактор (МКФ). Оваа меѓудејство ја активира тирозин киназната активност на ц-Кит, и род-Б-клетката започнува да се дели и да се диференцира во пре-Б-клетка. Ил-7 кој е излачен од стромалните клетки се врзува за Ил-7 рецепторот на пре-Б-клетката и го управува процесот на зреење, на крајот ја поттикнува надолната регулација на атхезиските молекули на пре-Б-клетките, така што пролифериранте клетки можат да се одделат од стромалните клетки. При овој стадиум, пре-Б-клеточниот развој повеќе не бара контакт со стромалните клетки, но и понатаму му е потребен Ил-7.

Иг-генското преуредување создава незрели Б-клетки

Б-клеточното зреење зависи од преуредувањето на имуноглобулинската ДНК во лимфоидните матични клетки. Механизмите на Иг-генското преуредување се објаснети во поглавјето 5. Прво што се случува во род-Б-клеточната фаза е генско преуредување на $Д_Т$-до-$J_Т$ од тешката верига, по што следи $В_Т$-до-$Д_TJ_Т$ преуредување (слика 11-3). Ако првото преуредување на тешката верига не е продуктивно, тогаш продолжува со $В_TД_Т$-$J_Т$ преуредување од другиот хромозом. По завршување на преуредувањето на тешката верига, клетката се класифицира како пре-Б-клетка. Понатамошниот развој од пре-Б-клетка во незрела Б-клетката бара продуктивно генско преуредување на лесната верига. Поради алелското исклучување, само еден изотип од лесната верига се прикажува на мембраната од Б-клетката. Завршувањето на продуктивното преуредување на лесната верига ја врзува сега веќе незрелата Б-клетка на одредена противгенска специфичност која е определена од ВДЈ секвенцијата од тешката верига и ВЈ секвенцијата од лесната верига. Незрелите Б-клетки прикажуваат мИгМ (мембрански ИгМ) на својата површина заедно со Иг-алфа и Иг-бета, на тој начин создавајќи го Б-клеточниот рецептор (БКР) целосно способен за сигнализирање на средбата со противген.

Како што се очекува, рекомбиназните ензими РАГ-1 и РАГ-2, кои се потребни за преуредувања на гените од тешката и лесната верига, се лачат во текот на род-Б и пре-Б-клеточните фази (види слика 11-3). Ензимот терминална деоксирибонуклеинска трансфераза (ТдТ), која го катализира привклучувањето на Н-нуклеотидите во кодирачките споеви $Д_Т$-$J_Т$ и $В_Т$-$Д_Т$-$J_Т$, е активен за време на про-Б-клеточната фаза и престанува да биде активна рано во пре-Б-клеточната фаза. Бидејќи прикажувањето на ТдТ е исклучено за време на пре-Б-клеточната фаза кога настанува преуредување на лесната верига, Н-нуклеотидите обично не се среќаваат во кодирачките споеви $В_Л$-$J_Л$.

Фазата од Б-клеточниот развој во коскената срцевина достигнува кулминација со создавањето на незрела Б-клетка која прикажува ИгМ. Во овој стадиум од развојот Б-клетката не е целосно функционална, и ангажирање на БКР од страна на противген поттикнува попрво смрт или нереактивност (анергија) отколку делење и диференцијација. Целосното зреење е сигнализирано со соприкажување на ИгД и ИгМ врз мембраната. Ова напредување вклучува промени во преработувањето на првичниот препис на РНК од тешката верига со цел да се дозволи создавање две мРНК, едната ја кодира мембранската форма на ми веригата и другата ја кодира мембранската форма на делта веригата. Иако ИгД е карактеристичен клеточен површински обележувач за зрелите неискусни Б-клетки, неговата функција не е јасна. Сепак, имајќи предвид дека глувците со отстранет ген за имуноглобулинот делта обично имаат нормален број на



СЛИКА 11-3 Редослед на процеси и особини од фазите на Б-клеточното зреење во коскената срцевина. Пре-Б-клетката прикажува мембрански имуноглобулин кој се состои од тешка (Т) верига и сурогати на лесните вериги, Впре-Б и ламбда5. Промените во РНК преработувањето на преписите од тешката верига по пре-Б-клеточната фаза водат до синтеза на мембрански-врзаните ИгМ и ИгД на зрелите Б-клетки. РАГ-1/2 = два ензима кодирани од страна на гените кои се активираат со рекомбинација, ТдТ = терминална деоксирибонуклеинска трансфераза. Одреден број на Б-клеточно поврзани препишувачки фактори се значајни при различните стадиуми од Б-клеточниот развој, дел од нив се наведени овде.

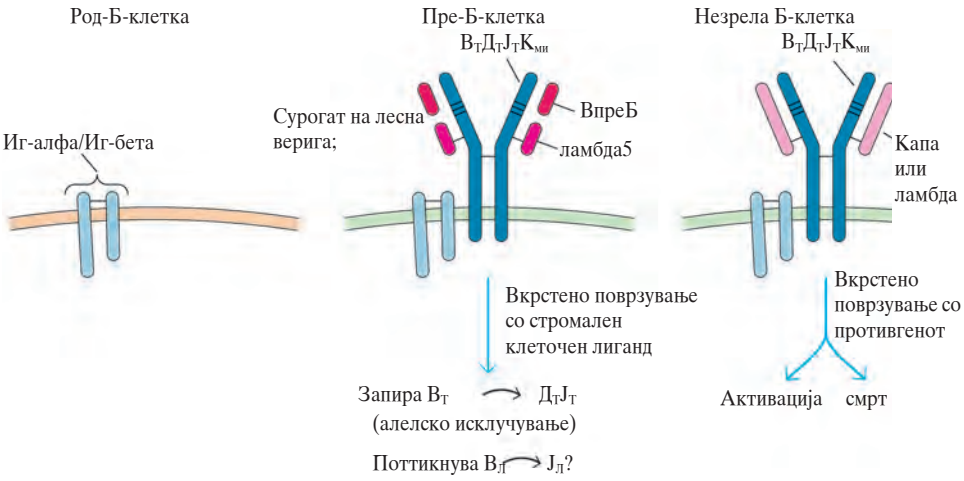
целосно функционали Б-клетки, ИгД не е неопходен ниту за Б-клеточниот развојот ниту за реактивноста кон противгенот.

Пре-Б-клеточниот рецептор е неопходен за Б-клеточниот развој

Како што видовме во поглавје 10, при еден стадиум од Т-клеточниот развој, бета веригата од Т-клеточниот рецептор се поврзува со пре-Талфа за да го формира пре-Т-клеточниот рецептор (види слика 10-2). Паралелна ситуација настанува и при Б-клеточниот развој. Кај пре-Б-клетката, мембранската ми верига е поврзана со **сурогат на лесната верига**, комплекс кој се состои од два протеина: секвенција слична на В доменот наречена **Впре-Б** и секвенција на К доменот наречена ламбда5, кои нековалентно се поврзуваат за да формираат структура во вид на лесна верига.

Мембрански врзаниот комплекс од ми тешката верига и сурогатот на лесната верига, кои се појавуваат во пре-Б-клетката, поврзан со Иг-алфа/Иг-бета хетеродимер го формираат пре-Б-клеточниот рецептор (слика 11-4). Само пре-Б-клетките кои можат да прикажат ми тешки вериги врзани за мембраната во комбинација со сурогати на лесните вериги можат да продолжат по патеката за зреење.

Одредени истражувачи тврдат дека пре-Б-клеточниот рецептор пренесува сигнали кои се неопходни за понатамошно напредување на Б-клеточниот развој и за спречување на $В_Т$ до $Д_Т J_Т$ преуредување на другите алели од тешката верига, на тој



СЛИКА 11-4 Шематски приказ на последователното прикажување на мембранскиот имуноглобулин и сурогатот на лесната верига во различни стадиуми од Б-клеточната диференцијација во коскената срцевина. Пре-Б-клеточниот рецептор содржи сурогат лесна верига, составен од полипептид ВпреБ и полипептид ламбда5 нековалентно поврзани. Незрелата Б-клетка повеќе не прикажува сурогат на лесната верига и наместо тоа прикажува капа или ламбда лесна верига заедно со ми тешка верига.

начин водејќи до алелско исклучување. По воспоставувањето на ефективен пре-Б-клеточен рецептор, секоја пре-Б-клетка претрпува повеќе клеточни делења, можеби од шест до осум, создавајќи 256 потомци. Секој од овие потомци на пре-Б-клетките може да преуреди различни генски сегменти од лесната верига, при тоа ја зголемуваат вкупната разновидност на противтелниот репертоар.

Значајната улога на пре-Б-клеточниот рецептор била прикажана со глувци со отстранет ген, каде генот кој го кодира протеинот ламбда5 од рецепторот бил нарушен. Се покажало дека Б-клеточниот развој кај овие глувци бил блокиран во пре-Б фазата, што укажува дека сигналот кој се создава преку рецепторот е потребен за пре-Б-клетките да продолжат во фазата на незрели Б-клетки.

Експериментите со отстранети гени ги утврдија неопходните препишувачки фактори

Како што објаснивме во поглавје 2, голем број различни препишувачки фактори дејствуваат во развојот на хематопоетските клетки. Досега се покажа дека скоро десетина од нив играат улога во Б-клеточниот развој. Експериментите во кои одредени препишувачки фактори се отстранети со генско нарушување покажаа дека четири такви фактори**, Е2А, ран Б-клеточен фактор (РБФ), Б-клеточно специфичен активирачки протеин (БСАП)** и **Сокс-4**, се посебно значајни за Б-клеточниот развој (види слика 11-3). Сите овие препишувачки фактори влијаат врз развојот во раната фаза, дел од нив исто така се активни во подоцнежните фази. Глувците чии Б-клетки имаат недостаток на Е2А не прикажуваат РАГ-1, не можат да направат преуредувања на $Д_ТJ_Т$ и не можат да прикажат ламбда5, значајна компонента од сурогатот на лесната верига. Сличен модел се среќава кај глувците кои имаат недостаток на ЕБФ. Овие сознанија укажуваат на значајна улога за двата препишувачки фактори во раниот Б-клеточен развој, а тие исто така може да имаат суштинска улога и во раните фази во обврзувањето на Б-клеточната лоза. Отстранувањето на ***Пакс-5*** генот, чиј продукт е препишувачкиот фактор БСАП, исто така доведува до запирање на развојот на Б-клетките во раната фаза. Поврзувачки места за БСАП се најдени во поттикнувачките подрачја на одреден број гени специфични за Б-клетките, вклучувајќи ги ВпреБ и ламбда5, поттикнувачот за РАГ-2, во бројни Иг прекинувачки подрачја и во Иг подобрувач на тешката верига. Овие наоди укажуваат дека БСАП има и друга улога покрај во раните фази на Б-клеточниот развој. БСАП исто така се лачи во централниот нервен систем, а неговото отсуство доведува до тешки дефекти во развојот на средниот мозок. Иако точното место на дејство на препишувачкиот фактор Сокс-4 не е познато, тој е потребен во раните фази на Б-клеточната активација.

Клеточно-површинските обележувачи ги утврдуваат развојните стадиуми

Развојното напредување од родителска до зрела Б-клетка се карактеризира со променлив модел на површински обележувачи (види слика 11-3). Во род-Б фазата, клетките не ги прикажуваат тешките и лесните вериги од противтелото, но прикажуваат КД45Р, протеин тирозин фосфатаза кој се среќава кај белите клетки и сигналнопренесувачките молекули Иг-алфа/Иг-бета, кои се среќаваат во комбинација со мембранските форми на противтелото во понатамошните фази од Б-клеточниот развојот. Исто така, врз површината од род-Б-клетките се прикажуваат КД19 (дел од Б-клеточниот корецептор), КД43 (леукосијалин) и КД24, молекул исто така познат како топлотностабилен противген (ТСП). Во оваа фаза, ц-Кит, рецептор за растпоттикнувачкиот лиганд присутен во стромалните клетки, исто така се наоѓа врз површината од род-Б-клетките. Како што клетките напредуваат од род-Б во пре-Б стадиум, тие прикажуваат голем број од истите обележувачи присутни во род-Б стадиумот, сепак, тие престануваат со прикажувањето на ц-Кит и КД43 и започнуваат со прикажување на КД25, алфа веригата од Ил-2 рецепторот. Прикажувањето на пре-В клеточниот рецептор (пре-БКР) е главна карактеристика на пре-Б-клеточниот стадиум. По преуредувањето на лесната верига, се појавува површинскиот имуноглобулин кој сега ги содржи и двете вериги, тешката и лесната, а клетките, сега се класифицирани како незрели Б-клетки, го губат пре-БКР и повеќе не прикажува КД25. Достапни се моноклонски противтела кои можат да ги препознаат сите овие противгенски обележувачи, овозможувајќи препознавање и изолирање на различни стадиуми од Б-клеточниот развој преку техники на имунохистологија и проточна цитометрија кои се објаснети во поглавје 6.

Б-1 Б-клетките се самообновлива Б-клеточна подгрупа

Б-клеточната подгрупа, наречена Б-1 Б-клетки, се создаваат пред главната група на Б-клетки (понекогаш нарекувани



Карактеристика	Обични Б-клетки (Б-2 Б-клетки)	Б-1 Б-клетки
Главни места (локации)	Вторични лимфоидни органи	Перитонејална и плеврална празнина
Извор на нови Б-клетки	Од претходниците во коскената срцевина	Самообновливи (делење на постојните Б-1 клетки)
Разновидност на В-подрачјето	Голема разновидност	Ограничена разновидност
Соматска хипермутација	Да	Не
Потреба од Т-клеточна помош	Да	Не
Создадени изотипови	Високи нивоа на ИгГ	Високи нивоа на ИгМ
Одговор кон јаглехидратни противгени	Можна	Дефинитивна
Одговор кон протеински противгени	Дефинитивна	Можна
Памтење	Да	Многу мала или воопшто нема
Површински ИгД кај зрелите Б-клетки	Присутна кај неискусните Б-клетки	Мала или воопшто нема

СЛИКА 11-5 **Споредба на обични Б-клетки и Б-1 Б-клетки**. Обичните Б-клетки, главната Б-клеточна популација, понекогаш се нарекуваат Б-2 клетки бидејќи се развиваат по Б-1 клетките.

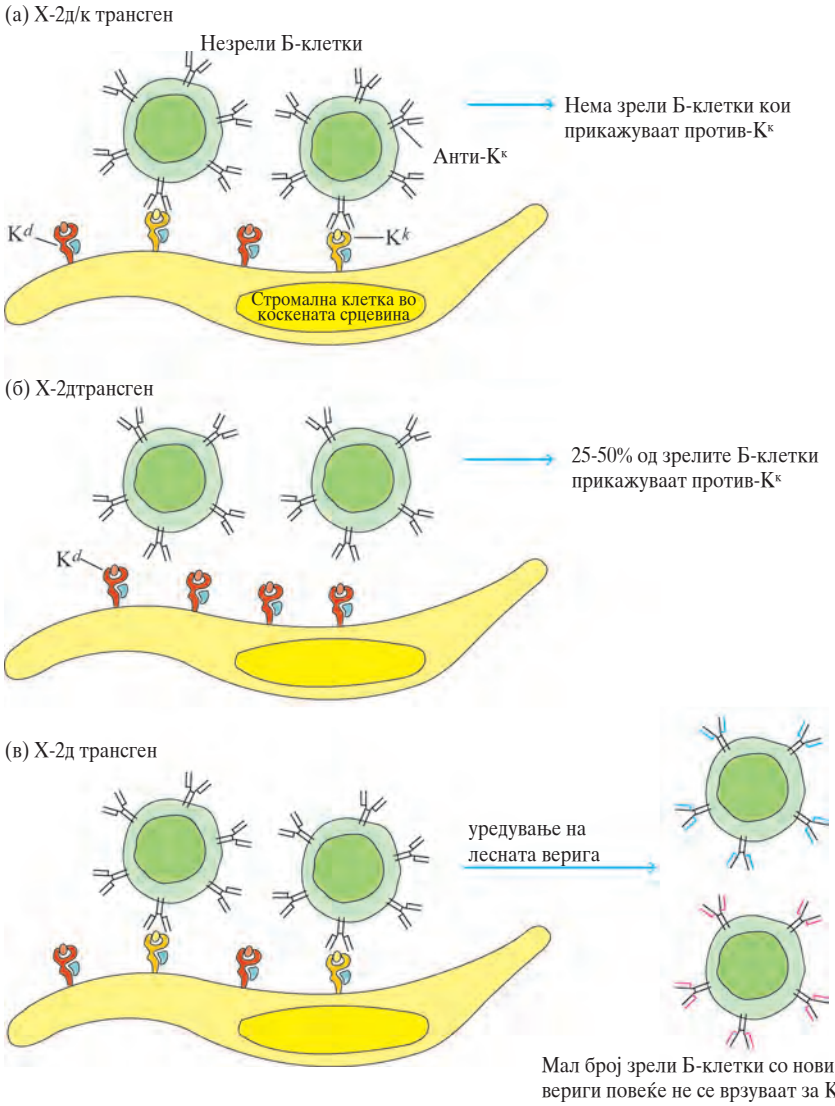
Б-2 клетки поради нивното доцно појавување) кај луѓето и глувците. Кај луѓето и глувците, Б-1 Б-клетките претставуваат само околу 5% од целокупната Б-клеточна популација. (Кај одредени видови, како што се зајаците и добитокот, клетки со многу особини на Б-1 Б-клетките се главната Б-клеточна популација). Б-1 Б-клетките се создаваат од матичните клетките во текот на феталниот живот и прикажуваат површински Иг, главниот обележувач на Б-клетките. Сепак, повеќето Б-1 Б-клетки носат површински ИгМ наместо ИгГ и имаат малку или воопшто немаат ИгД. За разлика од неискусните Б-2 Б-клетки, Б1 Б-клеточната популација е самообновлива и може да создава неискусни Б-1 клетки. Б-1 Б-клетките исто така се разликуваат по прикажување на КД5, обележувач кој обично е поврзан со Т-клетките. Сепак, КД5 не е неопходен составен дел на Б-1 лозата. Не се појавува врз Б-1 клетките од стаорците, а глувците кои имаат недостаток на функционален КД5 ген сè уште создаваат Б-1 клетки. Кај суштествата како што се луѓето и глувците, каде Б-2 клетките се главната Б-клеточна популација, Б-1 клетките се помала популација во таквите вторични ткива како што се лимфните јазли и слезината. Покрај нивната реткост во многу лимфоидни места, тие се главната Б-клеточна популација во перитонеалната и плевралната празнина.

Покрај самообновливоста и прикажувањето на КД5, постојат и други особини по кои се разликуваат Б-1 Б-клетките од Б-2 Б-клетките кај луѓето и глувците. Репертоарот на В подрачјата кај Б-1 Б-клетките е мошне поограничен отколку кај доминантната Б-2 популација. Исто така, противтелата создадени од Б-1 Б-клетките во основа се врзуваат за противгенот со помал афинитет од противтелата создадени од Б-2 клеточната популација. Проучувањата на Б-1 популацијата покажува дека овие клетки поверојатно се активираат како одговор на јаглехидратен противген отколку на протеински противген. Тие не бараат Т-клеточна помош и појавуваат мал афинитет да се диференцираат во памтечки клетки. Класното превклучување не е вообичаено, и како што е веќе споменато, повеќето Б-1 клетки носат ИгМ. Оваа популација исто така покажува мала или воопшто никаква соматска хипермутација на Иг-гените. Според тоа, немаат афинитетно зреење, што може да биде една од причините што противтелата во голем размер создадени од Б-1 клетките појавуваат низок афинитет кон своите противтела. Покрај нивниот понизок афинитет, многу од противтелата создадени од страна на Б-1 клетките се повеќеспецифични, т.е. тие можат да се врзуваат за голем број различни противгени, вклучувајќи некои присутни во патогените. Одредени имунолози укажуваат дека повеќеспецифичните противтела кои ги создава оваа подгрупа на Б-клетки придонесуваат за вродениот имунитет на домаќинот. Особините на Б-1 и Б-2 клетките се прикажани на слика 11-5.

Самореактивните Б-клетки се селектираат во коскената срцевина

Коскената срцевина на глушецот е проценета дека создава околу 5 x 10^7 Б-клетки дневно, но само 5 x 10^6 (или околу 10%) навистина се употребуваат во базенот на рециркулирачките Б-клетки. Ова значи дека 90% од Б-клетките кои се создаваат секој ден умираат без воопшто да ја напуштат коскената срцевина. Дел од оваа загуба се припишува на **негативната селекција** и последователната елиминација (**клонална делеција**) на незрелите Б-клетки кои прикажуваат автопротивтела против сопствените противгени во коскената срцевина.

Одамна е утврдено дека вкрстеното поврзување мИгМ во незрелите Б-клетки, експериментално прикажано со третирање на незрелите Б-клетки со противтело против непроменливото ми подрачје, може да предизвика клеточна смрт со апоптоза во коскената срцевина. Се верува дека сличен процес настанува ин виво кога незрелите Б-клетки кои прикажуваат самореактивен мИгМ се врзува за сопствените противгени во коскената срцевина. На пример, Д. А. Немази и К. Бурки ги



СЛИКА 11-6 Експериментален доказ за негативна селекција (клонална делеција) на самореактивните Б-клетки при зреењето во коскената срцевина. Присуството или отсуството на зрелите периферни Б-клетки кои прикажуваат трансгенокодиран ИгМ против $К^к$ од X-2 класа 1 молекулот се одредени во $X\text{-}2^{д/к}$глувци(а) и $X\text{-}2^{д}$ глувци(б). Кај $X\text{-}2^{д/к}$трансгените, незрелите Б-клетки го препознале сопствениот $К^к$противген и се отстранети со негативна селекција. Кај $X\text{-}2^{д}$трансгените, незрелите Б-клетки не се врзале за сопствениот противген и последователно созреале, така што 25% до 50% од Б-клетките во слезината го прикажале трансгенско-кодираниот против-$К^к$ како мембрански Иг. По подетална анализа на $X\text{-}2^{д/к}$ трансгените откри неколку периферни Б-клетки кои ја прикажувале трансгенокодираната ми верига. но различна лесна верига (в). Наводно, неколку незрели Б-клетки претрпеле уредување на лесната верига, така што повеќе не се врзуваат за молекулот $К^к$ и последователно ја избегнале негативната селекција. [*Адаптирано од D. A. Nemazee и K. Burki, 1989*, Nature **337**: 562; S. I. Tiegs et al., 1993, Journal of Experimental Medicine **177**: 1009.]

претставија трансгено кодираните тешки и лесни вериги на ИгМ противтелото специфично за $К^к$, $X\text{-}2^{к}$класа 1 молекул од ГТК, во $X\text{-}2^{д}$ и $X\text{-}2^{д/к}$глувци (слика 11-6а,б). Бидејќи класа 1 молекулите од ГТК се прикажуваат врз мембраната на сите клетки со јадро, ендогените $X\text{-}2^{к}$ и $X\text{-}2^{д}$класа 1 молекули од ГТК ќе бидат присутни врз стромалните клетки од коскената срцевина во трансгените глувци. Кај $X\text{-}2^{д}$глувците, кои не прикажуваат $К^к$, повеќето од зрелите, периферни Б-клетки прикажуваат против-$К^к$ кој е трансгенокодиран како мембранско противтело и како противтело кое се лачи. Спротивно, кај $X\text{-}2^{д/к}$глувците, кои прикажуваат $К^к$, не постојат зрели, периферни Б-клетки кои го прикажуваат трансгенокодираното противтелото за $X\text{-}2^{к}$ (табела 11-1). Овие резултати укажуваат дека има негативна селекција против сите незрели Б-клетки кои прикажуваат автопротивтела врз нивните мембрани бидејќи овие противтела реагираат со сопствен противген (на пример, молекулот $К^к$ во $X\text{-}2^{д/к}$трансгенот) присутен во стромалните клетки, а тоа води

ТАБЕЛА 11-1 Прикажување на трансгено кодираното ИгМ противтело на $X\text{-}2^{к}$ класа 1 ГТК молекули

Експериментално животно	Број на тестирани животни	ПРИКАЖУВАЊЕ НА ТРАНСГЕНОТ	
		Како мембранско Пт	Како излачено Пт (мкг/мл)
Нетрансген	13	(-)	< 0,3
$X\text{-}2^{д}$трансген	7	(+)	93,0
$X\text{-}2^{д/к}$трансген	6	(-)	<0,3

ИЗВОР *Адаптирано од D. A. Nemazee и K. Burki, 1989*, Nature **337**: 562

до вкрстено поврзување на противтелата и последователна смрт на незрелите Б-клетки.

Самореактивните Б-клетки може да се спасат со уредување на гените од лесната верига

Подоцнежната работа со употреба на трансгениот систем објаснет од страна на Немази и Бурки покажа дека негативната селекција на незрели Б-клетки секогаш не доведува до нивно брзо отстранување (слика 11-6в). Наместо тоа, зреењето на самореактивната клетка запира додека Б-клетката „го уредува" генот за лесната верига од својот рецептор. Во овој случај, трансгенот Х-2$^{л/к}$ создал одреден број зрели Б-клетки кои прикажале мИгМ кој ја содржи ми веригата кодирана од трансгенот, но различни ендогени лесни вериги. Кога незрелите Б-клетки се врзуваат за сопствен противген, зреењето запира, а клетките нагорно го регулираат прикажувањето на РАГ-1 и РАГ-2 и започнува понатамошно преуредување на нивната ендогена ДНК од лесната верига. Дел од овие клетки успеваат во заменувањето на лесната верига на противтелото кое е реактивно кон сопствен противген со различна лесна верига кодирана од страна на други генски сегменти од лесната верига. Како резултат на тоа, овие клетки ќе започнат да прикажуваат „уредени" мИгМ со различна лесна верига. Ако оваа употребата на различна лесна верига доведува до БКР кој не е самореактивен, тогаш овие клетки ќе ја одбегнат негативната селекција и ќе ја напуштат коскената срцевина. Неодамнешните докази укажуваат дека уредувањето на рецепторот претставува главниот механизам на толеранција за противгенот кој е прикажан во коскената срцевина.

Б-клеточна активација и пролиферација

По излезот на Б-клетките од коскената срцевина, во периферијата како одговор на противген настанува активација, пролиферација и диференцијација. Противген-управуваната активација и клонална селекција на неискусните Б-клетки води до создавање на плазма клетки и памтечки Б-клетки. Во отсуство на противген-поттикната активација, неискусните Б-клетки во периферијата имаат краток животен век, умираат за неколку недели со апоптоза (слика 11-1).

Тимуснозависниот и тимуснонезависниот противген имаат различни потреби за одговор

Набљудувањата кај голите глувци и кај пациентите родени без тимус доведоа до сфаќање дека во зависност од природата на противгенот, постојат две патеки од Б-клеточната активација до создавањето на противтелото. Истражувачите откриле дека иако одговорите на повеќето противгени бараат тимус (**тимусзависни противгени**), неколку видови противгени (**тимуснезависни противгени**) поттикнале противтело дури и во отсуство на тимус. Б-клеточниот одговор кај тимуснозависните (ТЗ) противгени бара директен контакт со $Т_{по}$ клетки, а не само изложување на цитокини создадени од нив. Противгените кои можат да активираат Б-клетки во отсуство на овој вид директно учество на $Т_{по}$ клетките, тимуснонезависни (ТН) противгени, се поделени во типови, 1 и 2, и ги активираат Б-клетките преку различни механизми. Некои делови од бактерискиот клеточен sид, вклучувајќи го липополисахаридот, функционираат како *тип 1 тимуснонезависни (ТН-1) противгени. Тип 2 тимуснонезависни (ТН-2) противгени* се мошне повторливи молекули како што се полимерните протеини (пр., бактерискиот флагелин) или полисахаридите од бактерискиот клеточен sид со повторувачки полисахаридни единици.

Повеќето ТН-1 противгени се поликлонски Б-клеточни активатори (**митогени**), односно тие се способни да ги активираат Б-клетките независно од нивната противгена специфичност. Механизмот преку кој Т-1 противгениот **липополисахарид (ЛПС)**, главната компонента од клеточниот sид на грам-негативните бактерии, поттикнува создавање на противтело независно од присуството на Т-клетките е добро сфатен. ЛПС стапува во меѓудејство со два различни рецептори од Б-клетките. Еден е Толовидниот рецептор ТВР4, значаен рецептор за вродениот имун систем (види поглавје 3). Другиот е Б-клеточниот рецептор. Само неколку членови од Б-клеточната популација имаат БКР специфичен за ЛПС, но сите имаат ТВР4. Оние Б-клетки со БКР кои препознаваат ЛПС се стимулирани да се делат и да лачат против-ЛПС противтело преку две независни патеки, кои се или со БКР или со ТВР4 потекло. Другите Б-клетки (оние чиј БКР не препознава ЛПС) се поттикнати да се делат и диференцираат во противтело-секретирачки клетки преку меѓудејството на ЛПС со ТВР4. Активацијата на голем број различни Б-клеточни клонови од страна на ЛПС создава голема разновидна група противтела, при што некои од нив можат да стапат во меѓудејство со напаѓачката грам-негативна бактерија и да придонесат за нејзина неутрализација.

Т-клеточната независност на ТН-1 противгените е јасно прикажана преку експериментите со употреба на голи глувци, кои немаат тимус и имаат малку Т-клетки. Ако популацијата на голи глувци се подели на две групи, А и Б, и во група А се внесат Т-клетки од нормални глувци, а потоа и двете групи се имунизираат со ТН-1 противген, двете групи на животни создаваат мошне слично ниво на противтела против имунизираниот противген. Фактот што одговорот кај безтимусните глувци не е зголемен со внесувањето на Т-клетките покажува дека ТН-1 противгените се навистина Т-клеточно независни.

ТН-2 противгените ги активираат Б-клетки преку проширено вкрстено поврзување со мИг рецептор. ТН-2 противгените се разликуваат од ТН-1 противгените во три значајни погледи. Прво, тие не се Б-клеточни митогени и според тоа немаат улога како поликлонски активатори. Второ, ТН-1 противгените активираат и зрели и незрели Б-клетки, додека ТН-2 противгените активираат само зрели Б-клетки, но ги инактивираат незрелите Б-клетки. Трето, иако Б-клеточниот одговор на ТН-2 противгените не бара директно вклучување на $Т_{по}$ клетки, цитокините создадени од $Т_{по}$ клетки се потребни за ефикасна пролиферација на Б-клетките и за класно превклучување на останатите изотопови освен ИгМ. Ова може да се прикаже со споредување на ефектот на ТН-2 противгените кај глувци со Т-клеточен недостаток која им е направена на неколку различни начини. Кај голите глувци, кои имаат недостаток на тимусно-создадени Т-клетки, но сепак содржат одреден број Т-клетки кои најверојатно се создаваат во тенките црева, ТН-2 противгените поттикнуваат Б-клеточни одговори. Делумната зависност на ТН-2 противгените од мали популации на Т-клетките е прикажана со експерименти кои покажуваат дека внесувањето на одреден број Т-клетки во глувци со Т-клеточен недостаток ја враќа нивната способност да поттикнуваат Б-клеточни одговори на ТН-2 противгените.

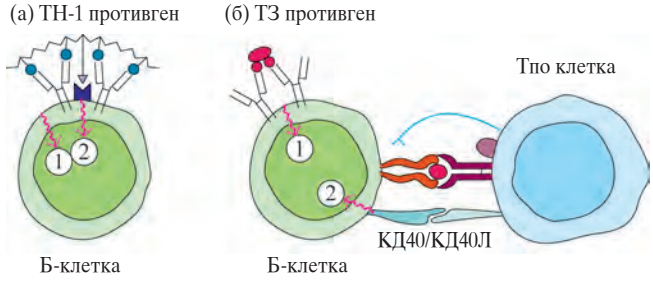
табела 11-2 Својства на тимуснозависни и тимуснонезависни противгени

Својство	ТЗ противгени	ТН противгени	
		Тип 1	Тип 2
Хемиска природа	Растворлив протеин	Делови од бактерискиот клеточен ѕид (т.е. ЛПС)	Полимерни протеински противгени, капсуларни полисахариди
Хуморален одговор			
Изотипско превклучување	Да	Не	Ограничено
Афинитетно зреење	Да	Не	Не
Имунолошко памтење	Да	Не	Не
Поликлонска активација	Не	Да (високи дози)	Не

Хуморалниот одговор на тимуснезависните противгени е различен од одговорот на тимусзависните противгени (табела 11-2). Одговорот на ТН противгени во основа е послаб, нема создавање памтечки клетки, отсликувајќи го ниското ниво на класно превклучување. Овие разлики ја нагласуваат значајната улога која $T_{по}$ клетките ја играат при создавањето на памтечки Б-клетки, афинитетното зреење и класното превклучување на други изотипови.

Два типа сигнали ги управуваат Б-клетките во и низ клеточниот циклус

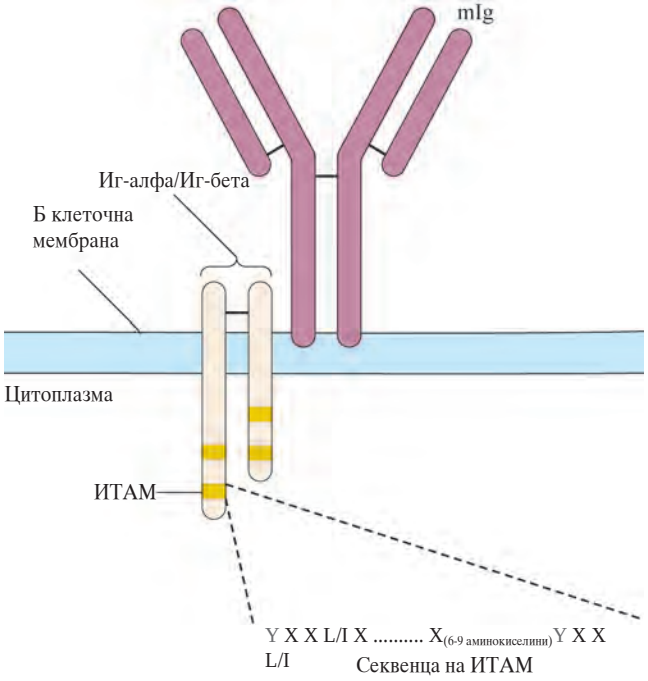
Неискусните или Б-клетки во мирување се неделиви клетки во фаза $Г_0$ од клеточниот циклус. Активацијата ги управува клетките во мирување низ клеточниот циклус, напредувањето низ $Г_1$ до фазата С, во која ДНА се удвојува. Преминот од $Г_1$ во С е значајна ограничувачка точка во клеточниот циклус. Штом клетката ќе стигне до С, таа го завршува клеточниот циклус, движејќи се низ $Г_2$ и навлегува во митомоза (М). Активацијата на Б-клетката да продолжи низ клеточниот циклус не бара една, туку две различни групи на сигнализирачки процеси: првата група колективно е наречена *сигнал 1,* а втората *сигнал 2*. Овие сигнализирачки процеси се создаваат по различни патеки како одговор на ТН и ТЗ противгените, но и двете патеки вклучуваат сигнали кои се создаваат кога се врзува повеќевалентен противген и вкрстено ќе се поврзат со мИг (11-7). Штом Б-клетката е стимулирана од сигнал 1, сигнал 2, кој може да вклучи цитокини и веројатно други лиганди, доведува до целосна активација, која води до клеточна делба и диференцијација во памтечки клетки или противтело-секретирачки плазма клетки.



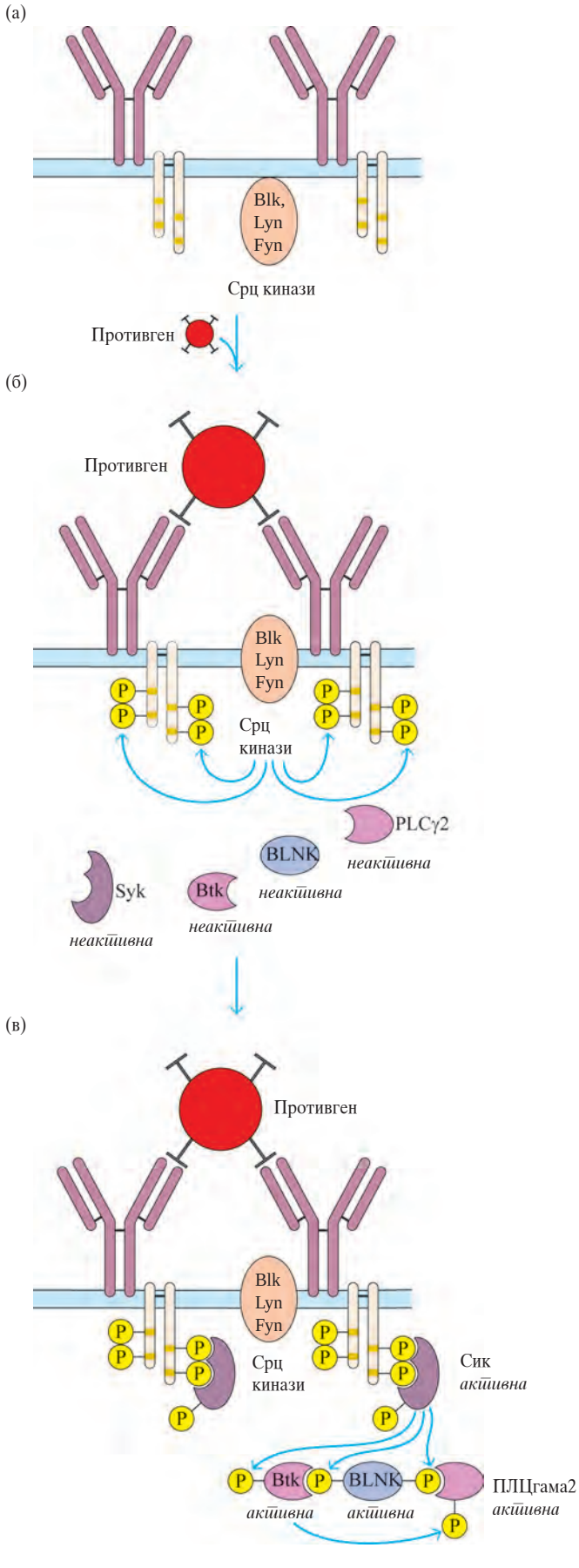
СЛИКА 11-7 Ефикасниот сигнал за Б-клеточната активација вклучува два различни сигнали од мембранско потекло. Врзувањето на тип 1 тимуснезависниот (ТН-1) противген со Б-клетка ги дава и двата сигнала. Тимусзависниот (ТЗ) противген го дава сигнал 1 преку вкрстено поврзување со мИг, но за создавање на сигнал 2 потребно е посебно меѓудејство помеѓу КД40 во Б-клетката и КД40Л од активираната $T_{по}$ клетка.

Пренесувањето на активирачките сигнали вклучува Иг-алфа/Иг-бета хетеродимери

Многу години, имунолозите се прашувале како ангажманот на Иг рецептор со противген ги активира внатреклеточните сигнални патеки. Сите изотипови на мИг имаат многу кратки цитоплазматски краеви. И мИгМ и мИгД врз Б-клетките се продолжени во цитоплазмата со само три аминокиселини, крајот на мИгА се состои од 14 аминокиселини, а краевите на мИгГ и мИгЕ содржат по 28 аминокиселини. При секој случај, цитоплазматскиот крај е премногу краток за да може да создаде сигнал преку поврзување со внатреклеточните сигнални молекули, како што се тирозин киназата и Г протеините. Откритието дека мембранскиот Иг е поврзан со дисулфидно-врзан Иг-алфа/Иг-бета хетеродимер, создавајќи го **Б-клеточниот рецептор (БКР)**, ја разреши оваа загатка која долго опстојуваше. Иако првично се мислеше дека двата Иг-алфа/Иг-бета хетеродимери се поврзани со еден мИг за да формираат Б-клеточен рецептор, деталната биохемиска анализа покажа дека само еден Иг-алфа/Иг-бета хетородимер, се поврзува со еден молекул мИг за да го формира рецепторниот комплекс (слика 11-8). Според тоа, БКР функционално е поделен на лиганд-поврзувачки имуноглобулински молекул и сигнал-преносник Иг-алфа/Иг-бета хетеродимер. Слична функционална поделба го означува и пре-БКР, кој пренесува сигнали преку комплекс кој се состои од Иг-алфа/Иг-бета хетеродимер и ми тешки вериги во комбинација со сурогатот на лесната верига (види слика 11-4). Иг-алфа веригата има долг цитоплазматски крај кој содржи 61 аминокиселина, крајот на Иг-бета веригата содржи 48 аминокиселини. Цитоплазматските краеви на Иг-алфа и Иг-бета содржат 18-остаточен мотиф наречен **имунорецепторски тирозин-базиран активирачки мотиф** (**ИТАМ**, слика 11-8), кој исто така е присутен во неколку молекули од Т-клеточниот рецептор (види слика 10-11). Меѓудејствата со цитоплазматските краеви на Иг-алфа/Иг-бета го пренесуваат стимулот создаден со вкрстеното поврзување на мИг молекули во ефективен внатреклеточен сигнал. Овој образец каде различни членови од повеќемеричниот рецептор кој ги претставува функциите на врзувањето на лигандот и сигналната преносливост исто така се среќава кај рецепторите за Фк подрачјата од посебните Иг класи (Фк-епсилонР1 за ИгЕ, Фк-гамаР2А, Фк-гамаР2Ц, Фк-гамаР3А за ИгГ). Кај овие рецептори и кај БКР и ТКР, врзувањето на



СЛИКА 11-8 **Б-клеточен рецептор.** БКР е составен од мембрански имуноглобулински молекул поврзан со дисулфидноврзаниот Иг-алфа/Иг-бета хетеродимер. Противгенот е препознат од страна на надворклеточниот дел од комплексот, а преносот на сигналот е поттикнат од цитоплазматските краеви на Иг-алфа/Иг-бета. Фосфорилацијата на тирозините во ИТАМ (имунорецепторски тирозинбазиран активирачки мотив) на Иг-алфа/Иг-бета формира прикачувачки места за врзување на повеќемолекулските сигналнопренесливи комплекси. Мошне зачуваниот секвенцијален мотив на ИТАМ е прикажан со аминокиселински код од една буква, со тирозини (Y) во црвена боја, L/I значи дека на таа позиција се појавува или леуцинот или изолеуцинот, а X означува која било аминокиселина.



СЛИКА 11-9 **Поттикнување на сигналните патеки кои водат до Б-клеточна активација.** (а) Кај клетките во мирување, деловите кои се потребни да се поттикне БКР-но сигнализирање се неактивни, и потпората за прикачувачките места на елементите од сигналниот комплекс сè уште не е групирана. (б) Вкрстеното поврзување на комплексите од БКР поттикнува фосфорилација на ИТАМ од Иг-алфа и Иг-бета преку протеин тирозин киназите, како што се Срц киназата Lyn, Blk и Fyn. Овие фосфорилации создаваат прикачувачки места за кои се прикачува Syk. Потоа Syk подлежи на активирачки фосфорилации. (в) Активираниот Сик го фосфорилира адапторниот протеин BLNK, создавајќи прикачувачки места за ФЛЦгама2 и Бтк. Фософрилацијата на Бтк од страна на Сык ја активира нејзината протеин тирозин киназна активност, а Бтк го фосфоризира и активира ФЛЦгама2, кој исто така се прикачил за БЛНК. Кратенки – Бтк = брутонова тирозин киназа, ФЛЦгама2=фосфолипаза Цгама2.

лигандот и сигналната преносливост се функционално посебни, со лигандповрзувачки делови од овие комплекси (мИг во случајот со БКР) лоцирани врз површината од клетката и сигналнопренослив дел кој со поголемиот дел или целосно е во клетката. Ако е вистина за ТКР, протеин тирозин киназата (ПТК) игра централна улога во сигнализирањето од сите овие рецептори. Според тоа, како и ТКР, БКР самиот нема ПТК активност, оваа активност ја стекнува со регрутирањето на одреден број различни кинази за цитоплазматските краеви на сигналот.

Б-клеточното сигнализирање е поттикнато од врзување на противгенот и поттикнува голем број сигнално преносливи патеки

Противгенпосредуваното вкрстено-поврзување на БКР поттикнува процеси за пренесување на сигналот што резултираат со Б-клеточна активација. Како што е прикажано на слика 11-9, врзувањето на противгенот доведува до фосфорилација на тирозините во ИТАМ од Иг-алфа и Иг-бета веригите од БКР. Фосфорилацијата на овие вериги од страна на рецепторповрзаната ПТК е помеѓу најраните процеси на Б-клеточната активација и игра клучна улога во создавањето на прикачувачки места за другите молекули кои се неопходни за почетните фази од Б-клеточната активација. Овие молекули ги вклучуваат значајните ПТК, Syk и адапторен протеин познат како BLNK (Б-клеточно поврзувачки протеин), што обезбедува прикачувачки места потребни за другите протеини да му се приклучат на сигнализирачкиот комплекс. Штом BLNK е фосфоризиран од страна на Syk, овој адапторен протеин се поврзува со Брутоновата тирозин киназа (Бтк) и фосфолипазата Цгама2 (ФЛЦгама2). Овој чекор е неопходен за фосфолипаза Ц зависната активација од раното калциумско сигнализирање и поттикнувањето на протеин киназа Ц зависни патеки. Како што е прикажано на слика 11-9, поврзувањето на Бтк и ФЛЦгама2 со адапторниот протеин BLNK му овозможува на Бтк да го фосфорилира ФЛЦгама2, притоа активирајќи го. Сепак, Бтк мора да биде претходно фосфоризиран од страна на Csк за да може да го активира ФЛЦгама2. Поврзаноста на Бтк со BLNK го доближува доволно близу до Syk за да му овозможи на овој значаен Б-клеточен ензим да изврши активирачка фосфорилација на Бтк.

Овие почетни фази придвижуваат серија од процеси кои поттикнуваат голем број различни сигнализирачки чекори кои се потребни за активирање на Б-клетката. Како што е прикажано на слика 11-10, овие сигнализирачки чекори вклучуваат мали патеки на протеинот Г, калциум посредувани патеки и патеки посредувани од протеин киназа Ц, вклучувајќи ја и патеката која води до создавање разновиден препишувачки фактор НФ-кБ. Сите овие патеки исто така се вклучени и при Т-клеточната активација. Меѓу големиот број сличности помеѓу БКР и ТКР сигнализирањето, може да се забележи следново:

- *Поделбата на функцијата меѓу поединиците во рецепторот*: Б-клеточните и Т-клеточните патеки започнуваат со противгени рецептори кои се составени од противгенповрзувачка и од сигнализирачка единица. Противгенповрзувачката единица поседува специфичност, но има премногу кратки цитоплазматски краеви за да пренесува сигнали до цитоплазмата на клетката. Сигнализирачката единица има долги цитоплазматски краеви кои се сигнални пренесувачи од рецепторниот комплекс.

- *Активирањето од страна на мембранскоповрзан Src протеин тирозин киназа*: Рецепторно поврзаните ПТК (п56^{лцк} во Т-клетките и Lyn, Blk и Fyn во Б-клетките) катализираат фосфорилации во текот на раните фази од сигналното пренесување кои се неопходни за создавањето на функционален рецепторен сигнализирачки комплекс.

- *Група голем сигнализирачки комплекс со протеин тирозин киназна активност*: Фосфорилизираните тирозини во ИТАМ на БКР и ТКР овозможуваат прикачувачки места за молекулите кои ги помагаат овие рецептори со ПТК активност: ZAP-70 во Т-клетките и Csл во Б-клетките. Адапторните молекули, BLNK во Б-клетките и LAT и SLP-76 во Т-клетките, играат слични улоги во овозможувањето потпора за групирање на неопходните елементи од сигнализирачкиот комплекс.

- *Вклучување на други сигнално пренесувачки патеки:* Активацијата на Б и Т-клетките бара координирани активности на голем број различни сигналнопренесувачки патеки. Активацијата на овие лимфоцити *не е* последица на една единствена сигналнопренесувачка патека.

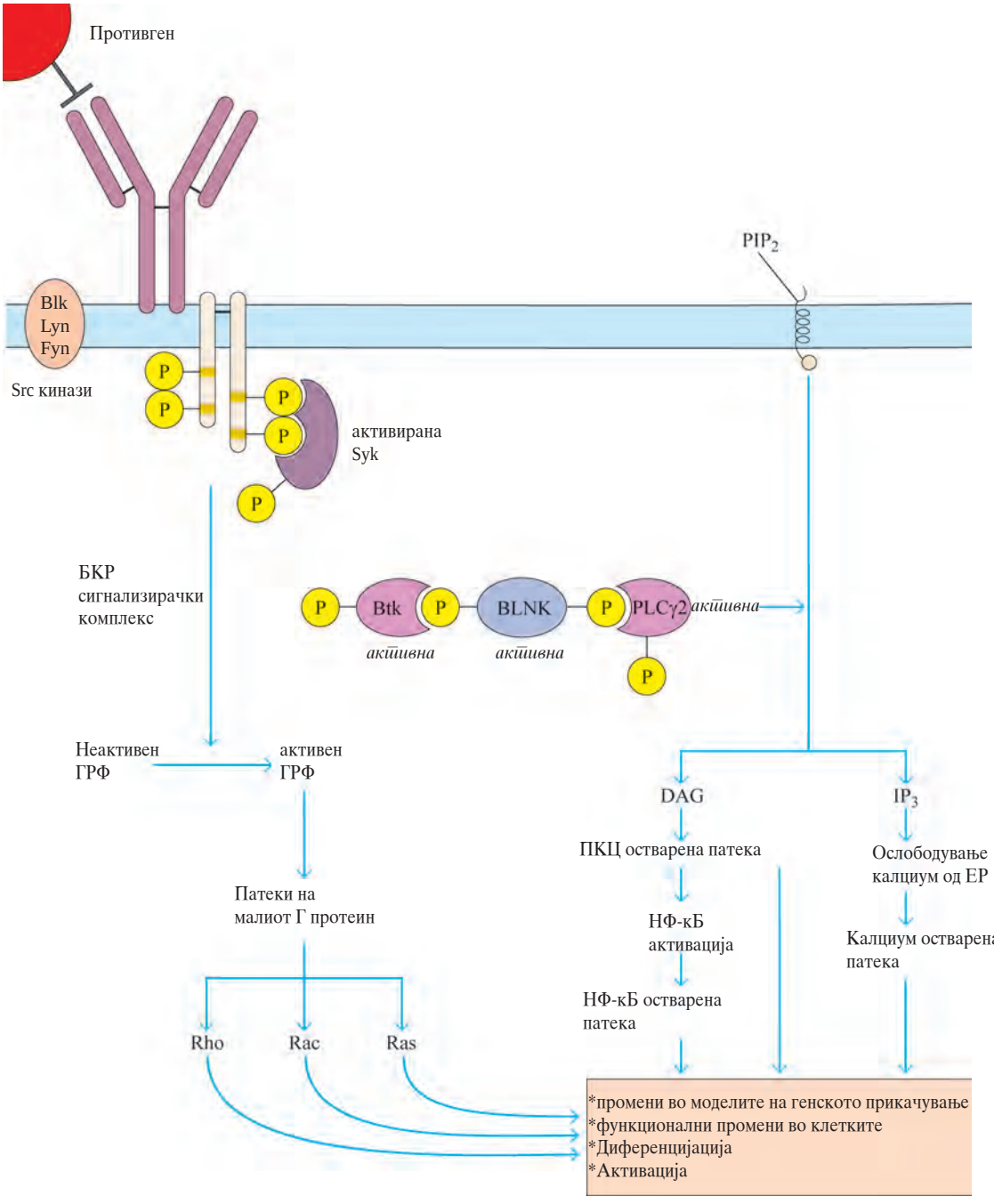
- Промени во *генското* прикажување: Еден од важните исходи на сигналнопренесувачките процеси кои се поттикнати од поврзувањето на БКР или ТКР е создавањето или пренесувањето во јадрото на активните препишувачки фактори кои го стимулираат или инхибираат препишувањето на специфични гени.

Недостатоците во сигналното пренесување може да имаат тешки последици за имуниот систем. Клиничкиот фокус на икс-врзаната агамаглобулинемијата (страна 284) го објаснува ефектот на непотполното сигналнопренесување врз развојот на Б-клетките.

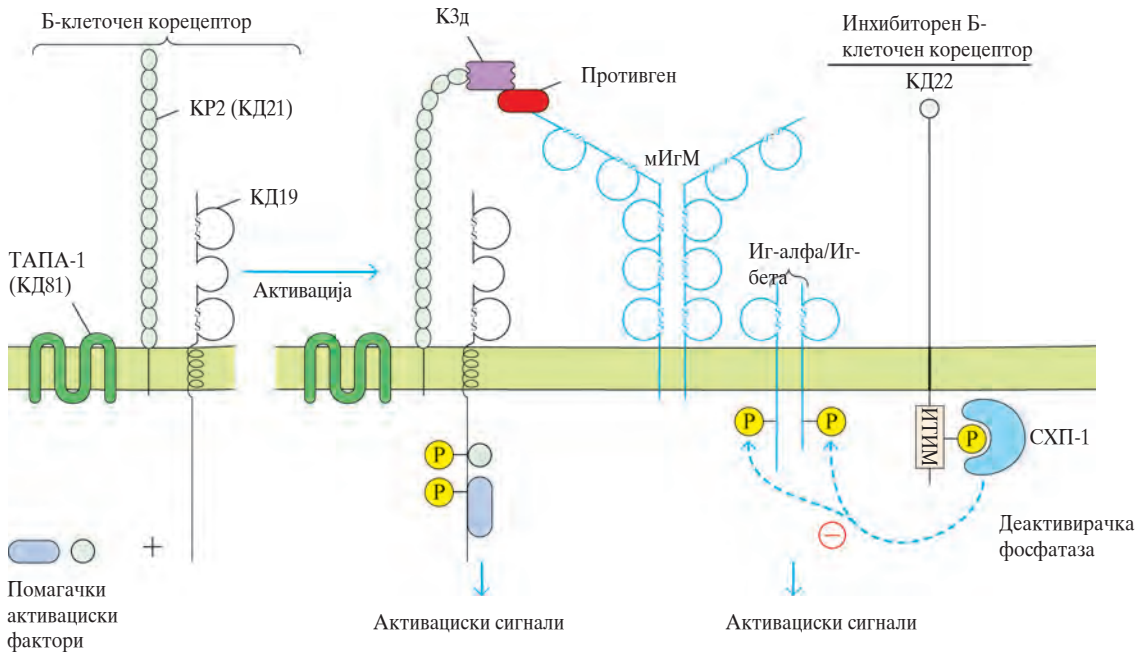
Б-клеточниот корецепторен комплекс може да ги засили Б-клеточните одговори, а КД22 може да ги попречи

Стимулирањето преку противгенските рецептори може значително да биде модифицирано од страна на сигналите низ корецепторите. Сетете се дека костимулирањето низ КД28 е суштинска карактеристика за ефективно позитивно стимулирање на Т-лимфоцитите, додека сигнализирањето низ ЦТЛА-4 го попречува одговорот на Т-клетката. Кај Б-клетките, еден дел од Б-клеточната мембрана, наречен **Б-клеточен корецептор**, овозможува стимулаторно модифицирачки сигнали, а друг мембрански протеин КД22, овозможува попречувачки сигнали. Б-клеточниот корецептор е комплекс од три протеини: КД19, КР2 (КД21) и ТАПА-1 (КД81) (слика 11-11). КД19 е клучниот член од овој комплекс и има долг цитоплазмен крај кој овозможува прикачувачки места за молекулите кои ги зголемуваат сигналите кои се доставуваат од БКР комплекс. Делот КР2 е рецептор за К3д, распаден продукт од комплементниот систем, што претставува значаен ефекторен механизам за уништување на напаѓачите (види поглавје 7), забележете дека вклучувањето на К3д во патеката за активноста на рецепторот открива различни гранки во имуниот систем кои стапуваат во меѓудејство. КР2 исто така функционира како рецептор за мембрански молекул и трансмембранскиот протеин

ДЕТАЛНА СЛИКА 11-10: Дел од големиот број патеки за пренесување на сигналот кои се активирани од БКР



Сериите на фосфорилации поттикнати од Блк, Лsн и Фsн водат до создавањето на БКР сигнализирачкиот комплекс. Адапторниот протеин БЛНК ја олеснува фосфоризацијата на ФЛЦгама$_2$ преку создавање комплекс кој ги вклучува ФЛЦгама$_2$ и Бтк. Активацијата на ФЛЦгама$_2$ води до хидролиза на ПИП$_2$, мембрански фосфолипид и ги создава вторичните гласници ДАГ и ИП3. ДАГ и Ca^{2+}, кои се ослободени од дејството на IP$_3$, во соработка ја активираат протин киназата Ц (ПКЦ), која поттикнува дополнителни сигналнопренесувачки патеки, вклучувајќи една која поттикнува НФ-кБ. Активираниот рецепорен комплекс исто така создава сигнали кои ги активираат патеките на малиот Г протеин. Резултатот од активирањето на сите овие разновидни патеки претставуваат промени во моделите на генското прикажување и функционални промени во клетката кои доведуваат до активација и диференцијација. BLNK= клеточен поврзувачки протеин. Blk, Btk, Lyn, Fyn и Syk се протеин тирозински кинази. ДАГ=диацилглицерол. ГРФ= гванин нуклеотиден размενувачки фактори. IP$_3$= инозитол 1,4,5-трифосфат. ПКЦ=протеин киназа Ц. ФЛЦгама$_2$= фосфолипаза Цгама$_2$. Rho, Rac и Ras се мали Г протеини



СЛИКА 11-11 Б-клеточниот рецептор е комплекс од три клеточни мембрански молекули: ТАПА-1 (КД81), КР2 (КД21) и КД19. Фосфорилацијата и поврзувањето на компонентата КД19 делот од овој комплекс со БКР обезбедува дополнителни сигнали за Б-клеточната активација. Еден од механизмите кој го олеснува поврзувањето на стимулаторниот корецептор од комплексот со БКР претставува врзувањето на КР2 делот со комплемент добиениот К3д, кој се прилепува за противгенот кој е заробен од мИг-ска компонента од БКР. КД22 содржи ИТИМ (имунорецепторски тирозин-базирани инхибициски мотиви) кој има прикачувачки места за СХП-1, тирозин фосфатаза која доставува негативни сигнали од дефосфоризираните тирозини од БКР.

ТАПА-1. Како што е прикажано на слика 11-11, КР2 делот од корецепторниот комплекс се врзува за комплементобвитканиот противген кој е обвиткан со комплемент и кој бил заробен од страна на мИг врз Б-клетката. Ова вкрстено го поврзува корецепторот со БКР и му овозможува на КД19 делот од корецепторот да стапи во меѓудејство со Иг-алфа/Иг-бета делот од БКР. КД19 содржи шест тирозински остатоци во неговиот долг цитоплазматски крај и претставува главна подлога за протеин тирозин киназната активноста која е посредувана со вкрстеното поврзување на БКР. Фосфорилацијата на КД19 му овозможува да се врзат одреден број сигнализирачки молекули, вклучувајќи ја протеин тирозинската киназа Лин.

Доставувањето на овие сигнализирачки молекули за БКР комплекс придонесува за активациските процес, а корецепторниот комплекс служи за засилување на активирачкиот сигнал кој е пренесен преку БКР. На пример, во еден ин витро експериментален систем, 10^4 молекули од мИгМ требаше да бидат засегнати од противген за да настане Б-клеточна активација кога корецепторот не е засегнат, но кога корецепторот КД19/КД2/ТАПА-1 бил вкрстено поврзан со БКР, само 10^2 молекули од мИгМ требало да бидат засегнати за Б-клеточна активација. Друг значаен експеримент ја нагласува улогата која ја игра Б-клеточниот корецептор. Глувци биле имунизирани со немодифицираниот лизозом или со хибриден протеин каде се користело генетско модифицирање за да се поврзе лизозомот од јајцето на кокошка со К3д. Протеинот за фузија, кој има две до три копии на К3д, создал одговори на лизозомот кои биле од 1000 до 10000 пати поголеми од одговорите на лизозомот кога бил сам. Можеби корецепторскиот феномен како овој објаснува како неискусните Б-клетки кои често прикажуваат мИг со низок афинитет за противген можат да реагираат на ниски концентрации на противгенот при првичен одговор. Таквите реакции, иако на почетокот со низок афинитет, може да имаат значајна улога во крајното создавање на високоафинитетно противтело. Како што ќе видиме подоцна во ова поглавје, одговорот на противген може да доведе до афинитетно зреење, што доведува до повисок просечен афинитет на Б-клеточната популација. На крајот, две експериментални набљудувања покажале дека делот КД19 од Б-клеточниот рецептор може да игра улога независно од КР2, комплементниот рецептор. Прво, кај нормалните глувци, вештачки вкрстено поврзување на БКР со против-КД19 противтела доведува до стимулирање на дел од сигналнопренесувачките патеки кои се карактеристични за Б-клеточната активација. Второ, Б-клеточната активација кај глувците каде КД19 е генски отстранет е значајно намалена, и глувците со генски отстранет КД19 покажуваат мошне намален одговор на противтелата против повеќето противгени.

Во однос на стимулаторниот корецептор КД19, друг молекул, КД22, кој во основа е поврзан со Б-клеточниот рецептор кај Б-клетките во мирување, доставува негативен сигнал кој ја усложнува Б-клеточната активација (види слика 11-11). Б-клеточна активација доведува до фосфорилација на имунорецепторските тирозин-базирани инхибициски мотиви (ИТИМ во цитоплазматскиот крај од КД22). Ова ѝ овозможува

КЛИНИЧКИ ФОКУС

Икс-врзана агамаглобулинемија: Слабост во сигналното пренесување и во Б-клеточниот развој

Икс-врзана агамаглобулинемија претставува генетски предодредена имунонедостаточна болест која се карактеризира со неспособност да ги синтетизира сите класи од противтелата. Откриена е во 1952 година од О. Ц. Брутон при што сè уште се смета за извонреден пример за истражување во клиничката имунологија. Брутоновите испитувања вклучија младо момче кое имало три пати заушки и доживеало 19 различни епизоди на сериозни бактериски инфекции во период од само четири години. Бидејќи пневмококната бактерија била изолирана од крвта на детето при 10 епизоди од бактериските инфекции, биле направени обиди за поттикнување имунитет против пневмококус преку имунизирање со пневмококна вакцина. Неуспехот на овие обиди да се поттикнат противтелни одговори го натераа Брутон да одреди дали кај пациентот може да се зголемат противтелните одговори кога е предизвикан од други противгени. Изненадувачки, имунизацијата со вакцинските препарати против дифтерија и тифус не подигна хуморални одговори кај овој пациент. Електрофоретската анализа на серумот од пациентот открила дека иако имало присуство на нормални количини на албумин и други типични серумски протеини, гамаглобулинот, главна противтелна фракција во серумот, била отсутна. Кога го открил имунонедостатокот на противтела, Брутон се обидел со нов храбар третман. Тој применил месечни дози на човечки серумски глобулин. 14-месечниот период без бактериска сепса кај пациентот ја потврдил употребливоста на имуноглобулинското надополнување како третман на имунонедостатокот.

Иако на почетокот била нарекувана Брутонова агамаглобулинемија, оваа наследна имунонедостаточна болест била преименувана во икс-врзана агамаглобулинемија или ИВА, по откривањето дека одговорниот ген се наоѓа на икс-хромозомот. Болеста ги има следниве клинички особини:

- Бидејќи овој дефект е икс-врзан, скоро сите заболени лица се од машки пол.
- Знаци за имунонедостаток може да се појават најрано 9 месеци по раѓањето, кога присуството на противтела стекнати ин утеро од мајката се намалуваат под заштитните нивоа.
- Постои голема зачестеност на инфекција со *Streptococcus pneumoniae* и *Haemophilus influenzae*. Често кај овие пациенти се среќаваат бактериска пневмонија, синузитис, менингитис или септикемија.
- Иако инфекцијата со многу вируси кај овие пациенти не е посериозна отколку кај здравите лица, не е потребен долготраен противвирусен имунитет.
- Анализата со флуоресцентна микроскопија или проточна цитометрија покажува малку или воопшто не покажува зрели Б-клетки во крвта.

Проучувањето за оваа болест на клеточно и молекулско ниво овозможи поглед во функционирањето на имуниот систем. Недостатокот на Б-клетки во периферијата ја објаснува неспособноста на пациентите со ИВА да создадат противтело. Проучувањата на клеточните популации во коскената срцевина го пронајдоа неуспехот во Б-клеточниот развој како причина за недостатокот на Б-клетки. Примероците го прикажале односот од род-Б-клетките до пре-Б-клетките како 10 пати од нормалниот, укажувајќи на попречување на преминот од род- во пре-Б-клеточниот стадиум. Присуството на мал број зрели Б-клетки во коскената срцевина укажало на подлабока блокада во пре-Б-клетките во развојот на Б-клетките.

Во раните 90-ти години од дваесеттиот век, се клонирал генот кој е одговорен за ИВА. Здравиот соодветен дел од овој ген кодира протеин тирозин киназа која била наречена Брутонова тирозин киназа (Бтк) во чест на вредниот и заслужен доктор кој ја откри ИВА и смисли третман за неа. Паралелните проучувања кај глувците покажаа дека отсуството на Бтк предизвикува синдром познат како хид, болест со имунонедостаток која е идентична на истото заболување кај луѓето, ИВА. Се открило дека Бтк игра значајна улога во Б-клеточното сигнализирање. На пример, вкрстеното поврзување на Б-клеточниот рецептор доведува до фосфорилација на тирозинскиот остаток во каталитичкиот домен на Бтк. Оваа ја активира протеин-тирозин киназната активност на Бтк, која потоа ја фосфорилира фосфолипазата Цгама^2 (ФЛЦгама^2). Ин витро проучувањата на клеточни култури во кои генетски е отстранет Бтк покажале загрозена ФЛЦгама^2 активност. Штом се активира, ФЛЦгама^{2}ги хидролизира мембранските фосфолипиди, ослободувајќи ги моќните вторични гласници IP^3 и ДАГ. Како што е споменато претходно, IP^3 предизвикува пораст во внатреклеточниот Ca^{2+}, а ДАГ е активирач на протеин киназа Ц (ПКЦ). Според тоа, Btk игра главна улога во активирање на мрежата на внатреклеточни сигнали, витални за функцијата на зрелите Б-клетки и раните членови од Б-клеточната лоза. Истражувањето покажало дека тој припаѓа на фамилијата ПТК позната како Tec кинази, неговиот близнак во Т-клетките е Itk. Деталите добиени од проучувањата на ИВА, xid и Btk се импресивни примери за тоа како проучувањето на патолошките состојби може да го разјасни работењето на здравите клетки.

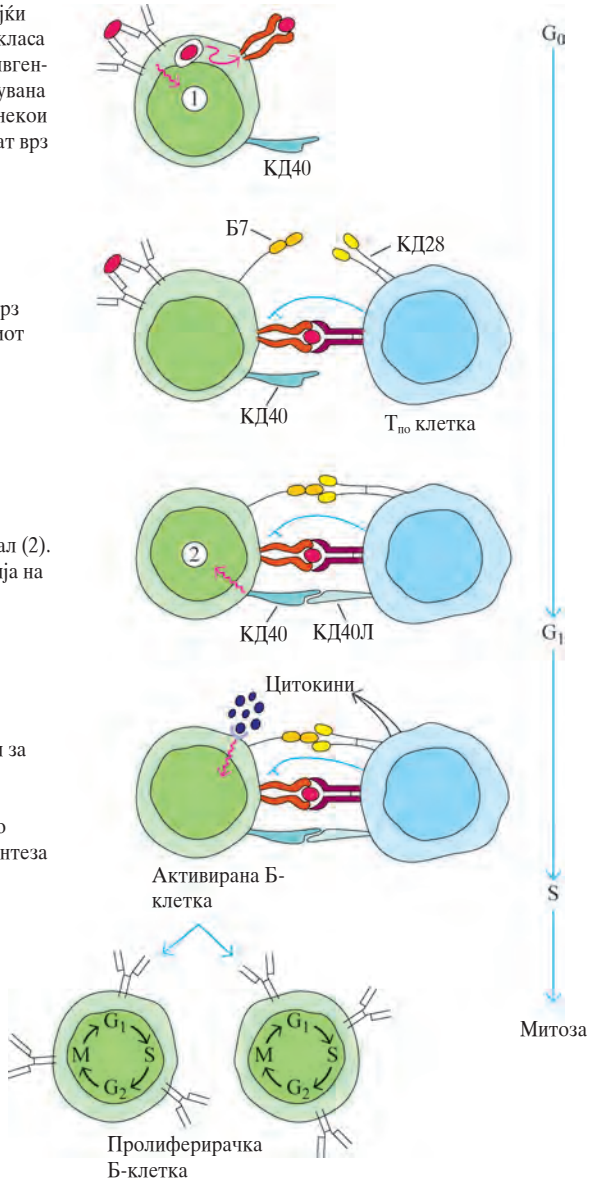
на тирозин фосфатазата да се врзе за ИТИМ од КД22 и да ги оддели активирачките фосфатази од тирозините од соседните сигнализирачки комплекси. Сетете се дека тирозинската фосфорилација е клучна карактеристика при Б-клеточната активација. КД22 функционира за да ги деактивира Б-клетките и игра улога во негативната регулација на Б-клетките. Нивото на Б-клеточната активација делумно е покачено кај глувците каде КД22 е генетски отстранет, а остарените глувци со

(а) Противгенот вкрстено се поврзува со мИг, создавајќи сигнал (1), кој води до зголемено прикажување на класа 2 ГТК и костимулаторниот Б7. Комплексите противген-противтело се внесуваат преку рецепторно-посредувана ендоцитоза и се разложуваат на пептиди, при што некои од нив се врзуваат за класа 2 ГТК и се претставуваат врз мембраната како комплекси од пептид-ГТК.

(б) $T_{по}$ клетка го препознава противген-класа 2 ГТК врз Б-клеточната мембрана. Ова плус костимулаторниот сигнал ја активира $T_{по}$ клетката.

(в) 1. $T_{по}$ клетката започнува да прикажува КД40Л.
2. Меѓудејството на КД40 и КД40Л обезбедува сигнал (2).
3. Меѓудејството Б7-КД28 овозможува костимулација на $T_{по}$ клетката.

(г) 1. Б-клетката започнува да прикажува рецептори за различни цитокини.
2. Врзувањето на цитокините ослободени од $T_{по}$ клетката на директен начин праќа сигнали кои го поддржуваат напредувањето на Б-клетката до синтеза на ДНК и до диференцијација.



СЛИКА 11-12 Серија настани при Б-клеточната активација од страна на тимуснозависниот противген. Фазата на клеточниот циклус на клетката која стапува во меѓудејство е прикажана на десната страна.

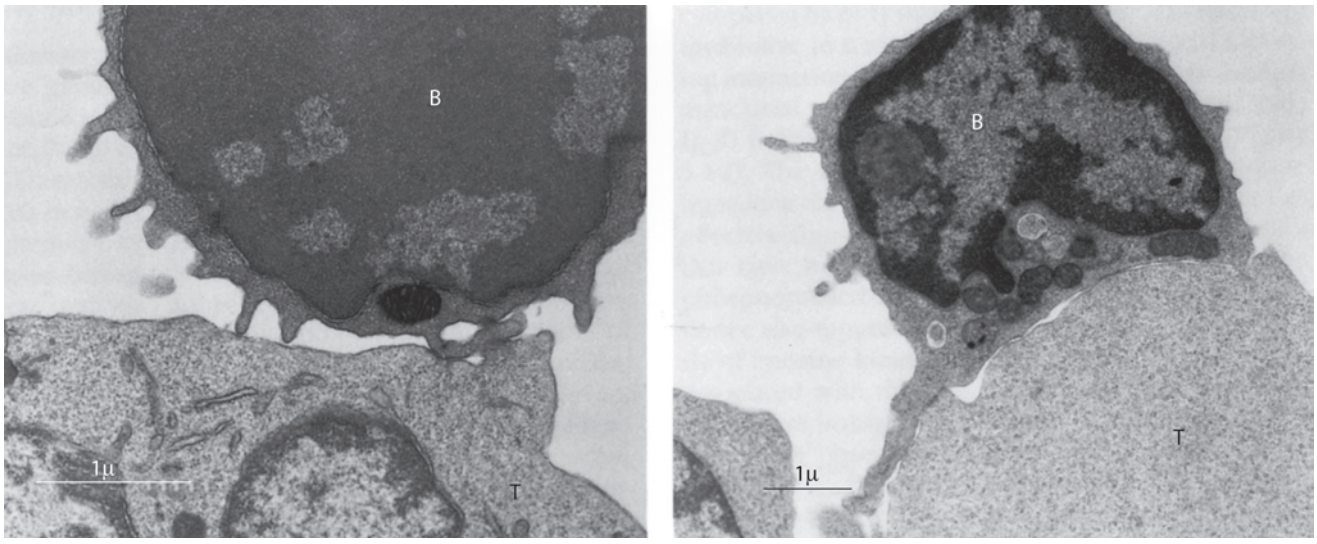
генски отстранети КД22 имаат зголемени нивоа на автоимуност, прикажувајќи го значењето на оваа негативна регулација.

$T_{по}$ клетки играат значајна улога во повеќето Б-клеточни реакции

Како што видовме претходно, Б-клеточната активација од протеински растворливи противгени бара вклучување на $T_{по}$ клетки. Врзувањето на противгенот за Б-клеточниот мИг само по себе не поттикнува пролиферација и диференцијација до ефекторни клетки без дополнителни меѓудејства со мембранските молекули на $T_{по}$ клетката и без присуство на соодветните цитокини. Слика 11-12 го прикажува можниот распоред на настани во Б-клеточната активација преку тимуснозависен (ТЗ) противген. Овој процес е значително посложен од активацијата поттикната од тимуснонезависните (ТН) противгени.

Создавање Т-Б конјугати

По врзувањето на противгенот со мИг од Б-клетките, противгенот е внесен преку рецептор-посредувана ендоцитоза и е обработен преку ендоцитната патека до пептиди. Врзувањето на противгенот исто така поттикнува сигнализирање низ БКР, што поттикнува во Б-клетката нагорна регулација на прикажување на одреден број клеточно-мембрански молекули, вклучувајќи ги класа 2 ГТК молекулите и костимулаторниот лиганд Б7 (види слика 11-12а, б). Зголеменото прикажување на овие два мембрански протеина ја олеснува способноста на Б-клетката да функционира како противген прикажувачка клетка при Тпо клеточната активација. Б-клетките може да се сметаат дека им помагаат на своите помагачи бидејќи противгенските пептиди кои се создадени во ендоцитната преработувачка патека се поврзани со класа 2 ГТК молекули и се претставени врз мембраната од Б-клетката за $T_{по}$ клетката, поттикнувајќи ја нејзината активација. Обично по внесувањето на противгенот се потребни од 30 до 60 минути за обработените противгени пептиди да се прикажат врз Б-клеточната мембрана заедно со класа 2 ГТК молекули.



СЛИКА 11-13 Трансмисиска електронската микрографија на почетниот контакт помеѓу Т-клетката и Б-клетката (*лево*) и Т-Б конјугатот (*десно*). Заебележете го широкиот просторен мембрански контакт помеѓу клетките по создавањето на конјугатот. *[Од V. M. Sanders et al.,* 1986, Journal of Immunology **137**:2395.]

Бидејќи Б-клетката специфично го препознава и внесува противгенот, преку нејзиниот мембрански врзан Иг, Б-клетката е способна да го прикаже противгенот врз $Т_{по}$ клетките во концентрации на противгенот кои се од 100 до 10000 пати пониски од нивото кое е потребно за прикажување од страна на макрофагите или стеблестите клетки. Кога концентрациите на противгенот се високи, макрофагите или стеблестите клетки се ефикасни противген прикажувачки клетки, но како што опаѓа нивото на противгенот, Б-клетките ја преземаат улогата на главен прикажувач на противгенот за $Т_{по}$ клетките.

Штом $Т_{по}$ клетката го препознае преработениот противгенски пептид прикажан од страна на класа 2 ГТК молекул врз мембраната од Б-клетката, двете клетки стапуваат во меѓудејство за да формираат Т-Б конјугат (слика 11-13). Микрографии од Т-Б конјугатите откриваат дека во $Т_{по}$ клетки кои се врзани во противгенспецифични конјугати, Голџиевиот систем и микротубуларниот организирачки центар мигрираат кон спојот со Б-клетката. Структурното приспособување го олеснува ослободувањето на цитокините кон противгенспецифичната Б-клетка.

Контактнозависна помош посредувана од КД40/КД40Л меѓудејство

Создавањето на Т-Б конјугатот не само што води до ослободување $Т_{по}$ клеточни цитокини туку исто така прави нагорна регулација на КД40Л (КД154), $Т_{по}$ клеточен мембрански протеин кој потоа стапува во меѓудејство со КД40 во Б-клетките за да го даде неопходниот сигнал за Т-клеточно зависната Б-клеточна активација. КД40 припаѓа во фамилијата од туморно некротизирачки фактор (ТНФ) на клеточно-површинските протеини и растворливи цитокини, кои ја регулираат клеточната пролиферација и програмираната клеточна смрт со апоптоза. КД40Л припаѓа на ТНФ рецепторна фамилија (ТНФР). Меѓудејството на КД40Л со КД40 врз Б-клетката доставува сигнал (сигнал 2) до Б-клетката, кој заеднички со сигналот создаден од вкрстеното поврзување на мИг (сигнал 1), ја внесуваат Б-клетката во $Г_1$ (види слика 11-12в). Сигналите од КД40 се пренесени од одреден број внатреклеточни сигнални патеки, што на крај доведува до промени во генското прикажување. Проучувањата покажале дека иако КД40 нема киназна активност, по вкрстеното поврзување на КД40 со неговиот Т-клеточен лиганд, КД40Л, е проследен со активација на протеин тирозински кинази како што се Лин и Сик. Вкрстеното поврзување на КД40 со КД40Л исто така резултира со активација на фосфатазата Ц, и последователното создавање на вторите гласници IP_3 и ДАГ и активација на бројни препишувачки фактори. На крајот, вкрстеното поврзување на КД40 доведува до меѓудејство со членовите од фамилијата на ТНФР-поврзаните фактори (ТНПФ). Последица од оваа меѓудејство е активација на препишувачкиот фактор НФ-кБ.

Неколку докази го утврдија КД40/КД40Л меѓудејството како посредувач во контактнозависната помош. Улогата на поттикнувачкиот Т-клеточен мембрански протеин во Б-клеточната активација прво била откриена со експерименти каде неискусните Б-клетки биле инкубирани со противген и плазма мембрани, добиени или од активирани или од Т-клеточните клонови во мирување. Само мембраните од активираните $Т_{по}$ клетки поттикнале Б-клеточна пролиферација, што укажува на тоа дека една или повеќе молекули кои се прикажани врз мембраната од активираната $Т_{по}$ клетка се врзуваат за рецепторите од Б-клетката за да обезбедат контактнозависна помош. Според тоа, кога противгенстимулираните Б-клетки реагираат со против-КД40 моноклонските противтела во отсуство на $Т_{по}$ клетките, тие се активираат и пролиферираат. Според тоа, засегањето на КД40, независно дали од страна на противтела за КД40 или со КД40Л, е мошне значајно во овозможувањето на сигнал 2 за Б-клетката. Ако во овој експериментален систем исто така се додадат соодветни цитокини, тогаш пролифериранитe Б-клетки ќе се диференцираат во плазма клетки. Наспроти тоа, се покажало дека КД40Л-противтелата ја блокираат Б-клеточната активација со блокирање на меѓудејството помеѓу КД40/КД40Л.

Сигнали овозможени од $Т_{по}$ клеточни цитокини

Иако Б-клетките кои се стимулирани со мембранските протеини од активираните $Т_{по}$ клетки можат да пролиферираат,

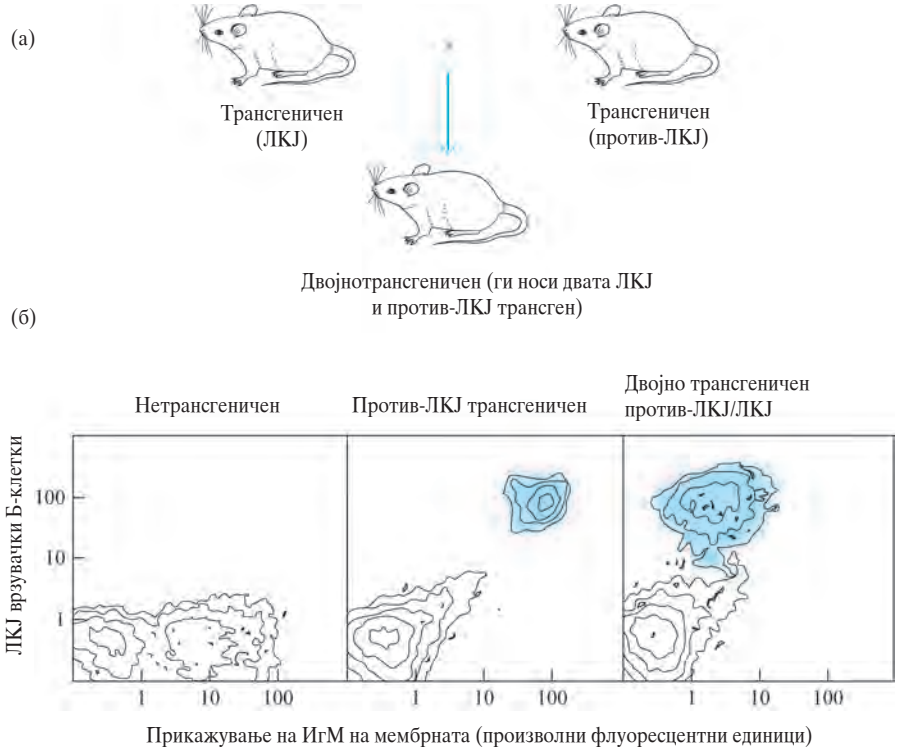
тие не можат да се диференцираат ако нема присуство на цитокини. Овој наод укажува дека и мембранскиот контактен сигнал и сигналите од цитокините се неопходни за поттикнување на Б-клеточна пролиферација и диференцијација. Конфокусната микроскопија на Т-Б конјугатите открива дека противгенспецифичното меѓудејство помеѓу $T_{по}$ и Б-клетките поттикнува создавање на имунски синапси (види слика 10-11) кои се придружени со преуредување на Тпо-клеточни протеини и цитоскелетни елементи што доведуваат до поларизирано ослободување на цитокини кон Б-клетката со која е во меѓудејство.

Штом е активирана, Б-клетката започнува со прикажување на мембранските рецептори за различни цитокини, вклучувајќи ги Ил-2, Ил-4 и Ил-5. Овие рецептори потоа се врзуваат за цитокините создадени од $T_{по}$ клетка со која се во меѓудејство. Сигналите кои се создадени од овие цитокинрецепторски меѓудејства ја поддржуваат Б-клеточната пролиферација и можат да поттикнат диференцијација во плазма клетки и памтечки Б-клетки, класно превклучување и афинитетно зреење. Секој од овие процеси е објаснет во следниот дел.

Зрелите самореактивни Б-клетки можат да бидат негативно селектирани во периферијата

Бидејќи одредени сопствени противгени немаат пристап во коскената срцевина, Б-клетките кои прикажуваат мИгМ специфични кон таквите противгени не можат да бидат отстранети со процесот на негативна селекција во коскената срцевина кој беше претходно објаснет. За да се одбегнат автоимуните одговори од таквите зрели самореактивни Б-клетки, мора да настане некој процес за нивно отстранување или нивно претворање во неактивни во периферното лимфоидно ткиво.

Трансгеничниот систем развиен од страна на Ц. Гуднов и неговите соработници помогна да се разјасни процесот на негативна селекција на Б-клетките во периферијата.



СЛИКА 11-14 Гудновиот експериментален систем за прикажување на клонска анергија во зрелите периферни Б-клетки. (а) Создавање двојнотрансгенични глувци кои го имаат трансгенетски кодираниот ЛКЈ (лизозом од белката на кокошкиното јајце) и против-ЛКЈ противтело. (б) Анализа со проточна цитометрија на периферните Б-клетки кои се врзуваат со ЛКЈ во споредба со нивоата на ИгМ. Бројот на Б-клетки кои врзуваат ЛКЈ бил измерен со одредување на клетките кои се врзале за флуоресцентно означениот ЛКЈ. Нивоата на мембранскиот ИгМ биле одредени со инкубирање на клетките со означено противглувчешко ИгМ противтело кое е флуоресцентно различно означено од тоа што се користеше за означување на ЛКЈ. Мерењето на емитуваната флуоресценцијата на оваа ознака го покажува нивото на мембранскиот прикажан ИгМ од страна на Б-клетките. Нетрансгеничните глувци (*лево*) имаат многу Б-клетки кои прикажувале високи нивоа на површински ИгМ, но скоро немале Б-клетки кои се врзани за ЛКБ над ниво 1. Против-ЛКЈ трансгените (*средина*) и против-ЛКБ/ЛКБ двојнотрансгените (*десно*) имат голем број на Б-клетки кои се врзуваат за ЛКЈ (сина боја), иако нивото на мембранскиот ИгМ било 20 пати пониско кај двојнотрансгеничните. Податоците во табела 11-3 покажуваат дека Б-клетките кои прикажуваат против-ЛКЈ кај двојнотрансгените не можат да поттикнат хумурален одговор за ЛКБ.

ТАБЕЛА 11-3 Прикажување на трансгенот против-ЛКЈ од страна на зрелите периферни Б-клетки кај единично- и двојнотрансгените глувци

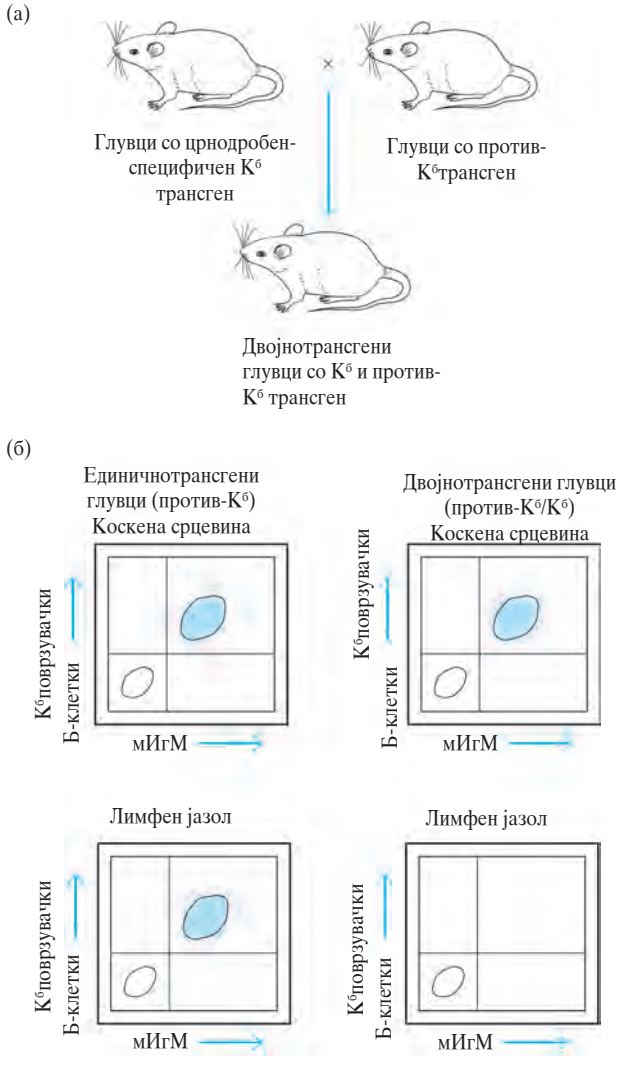
Експериментална група	Ниво на ЛКЈ	Мембрански против-ЛКЈ	Против-ЛКЈ ПФК/ слезина*	Против-ЛКЈ серумски титар*
Против-ЛКЈ единичнотрансгени глувци	Нема	+	Високо	Високо
Против-ЛКЈ/ЛКЈ двојнотрансгени глувци (група 1)	10^{-9} М	+	Ниско	Ниско

ИЗВОР: Прилагодено од C. C. Goodnow, 1992, Annual Rewiew of Immunology 10:489.
* Експерименталните животни се имунизирани со лизозом од белката на кокошкино јајце (ЛКЈ). Неколку дена подоцна била извршена анализа со хемолитична плоча за одредување на бројот на плазма секретирачки против-ЛКЈ противтелни клетки и е одреден серумскиот титар. ПФК = противген-формирачки клетки.

Експерименталниот систем на Гуднов вклучуваше две групи трансгенични глувци (слика 11-14а). Едната група го имала трансгенот со лизозом од белката на кокошкино јајце (ЛКЈ) поврзан со металотионинскиот поттикнувач, кој препишувањето на ЛКЈ генот го става под контрола на нивото на цинк. Другата група трансгенични глувци кои имаа преуредена имуноглобулинска тешка и лесна верига трансгенски кодираат против-ЛКЈ противтело. Кај обичните глувци, застапеноста на ЛКЈ реактивните Б-клетки е во редослед од 1 до 10^3, но кај трансгеничните глувци преуредениот против-ЛКЈ трансген е прикажан кај 60% до 90% на зрелите периферни Б-клетки. Гуднов ги измешал двете групи на трансгени за да создаде „двојно негативни“ потомци кои ги имаат и ЛКЈ и против-ЛКЈ трансгените. Потоа Гуднов се запрашал каков ефект ЛКЈ, кој е прикажан во периферијата, но не и во коскената срцевина, ќе има врз развојот од Б-клетките кои го прикажуваат против-ЛКЈ трансгенот.

Ваквиот пристап дал неколку интересни наоди за негативната селекција на Б-клетките (табела 11-3). Двојнотрансгените глувци прикажувајќи високи нивоа на ЛКЈ (10^{-9} М) и понатаму имаат зрели, периферни Б-клетки кои го носат мембранското против-ЛКЈ противтело, но овие Б-клетки биле функционално нереактивни т.е. тие беа анергични. Анализата со проточна цитометрија на Б-клетките од двојнотрансгените глувци покажала дека, иако голем број анергични против-ЛКБ-клетки биле присутни, тие прикажувале околу 20 пати пониски нивоа на ИгМ од против-ЛКЈ единично-трансгените глувци (слика 11-14б). Понатамошното проучување покажало дека двојнотрансгените глувци ги имале двата површински ИгМ и ИгД, покажувајќи дека анергијата е поттикната кај зрелите наместо кај незрелите Б-клетки. Кога на овие глувци им била дадена имунизирачка доза на ЛКЈ, мал број против-ЛКЈ плазма клетки биле поттикнати и серумското ниво на против-ЛКЈ било ниско.

За да проучат што ќе се случи ако класа 1 ГТК сопствен противген биде прикажан само во периферијата, Немази и Бурки го модифицирале трансгениот систем кој се користел во експериментите за негативната селекција во коскената срцевина кој беше претходно објаснет (слика 11-6а). Тие прво создале трансген кој се состоел од класа 1 $K^б$ген поврзан со специфичен-црнодробен поттикнувач, за да може класа 1 $K^б$ молекулот да се прикаже само во црниот дроб. Исто така биле создадени трансгени глувци кои прикажувале против-$K^б$противтело врз нивните Б-клетки, а потоа двете групи од трансгенични глувци биле споени (слика 11-5а). Кај добиените двојнотрансгени



СЛИКА 11-15 **Експериментално прикажување на клоналната делеција на самореактивните зрели периферни Б-клетки од страна на Немази и Бурки**. (а) Создавање на двојнотрансгените глувци кои прикажуваат класа 1 $K^б$молекул и против-$K^б$противтело. Бидејќи $K^б$трансгенот содржи црнодробен-специфичен поттикнувач, $K^б$ не се прикажува во коскената срцевина на трансгените глувци. (б) Анализата со проточната цитометрија на Б-клетките од коскената срцевина и периферијата (лимфниот јазол) кои врзувале $K^б$ наспроти мембранскиот ИгМ (мИгМ). Кај двојнотрансгените глувци, во коскената срцевина биле присутни Б-клетки кои прикажуваат против-$K^б$(сина боја), но биле отсутни во лимфните јазли, покажувајќи дека зрелите самореактивни Б-клетки се отстранети во периферијата.

глувци, незрелите Б-клетки кои прикажувале против-$K^б$ мИгМ нема да се сретнат со класа 1 $K^б$ молекули во коскената срцевина. Анализата со проточна цитометрија на Б-клетките кај двојнотрансгените глувци покажала дека незрелите Б-клетки кои прикажуваат трансгени кодирани против-$K^б$ клетки биле присутни во коскената срцевина, но не и во периферните лимфоидни органи (слика 11-15б). Во претходните експерименти на Немази и Бурки, класа 1 ГТК сопствениот противген (Х-$2^к$) бил прикажан на сите клетки со јадро, а незрелите Б-клетки прикажувачи на трансгено-кодираното противтело на оваа класа 1 молекул биле негативно-избрани и отстранети во коскената срцевина (види слика 11-6а). Сепак, во нивниот втор систем класа 1 сопствениот противген ($K^к$) бил прикажан само во црниот дроб, така што негативната селекција и отстранувањето се случиле во периферијата во зрелата фаза на Б-клетките.

Хуморален одговор

Во овој дел ќе ги разгледаме разликите помеѓу првичниот и вторичниот хуморален одговор и употребата на хаптен-носечки конјугати при проучувањето на хуморалниот одговор.

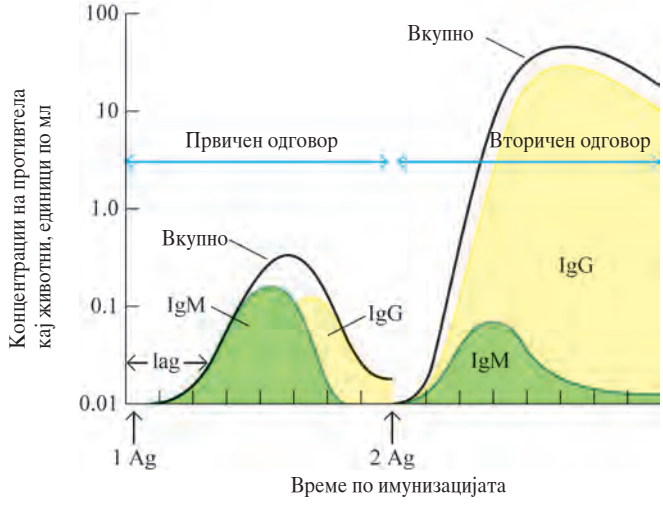
Првичните и вторичните одговори значително се разликуваат

Кинетиката и другите карактеристики на хуморалниот одговор значително се разликуваат во зависност од тоа дали хуморалниот одговор се јавува како резултат од активација на неискусните лимфоцити (првичен одговор) или памтечките лимфоцити (вторичен одговор). Во двата случаја, активацијата води до создавање на излачувачки противтела со различни изотипови, кои се разликуваат по нивната способност да посредуваат специфични ефекторни функции (види табела 4-4).

Првиот контакт на егзогениот противген со единката создава првичен хуморален одговор, која се карактеризира со создавање на противтелно-секретирачки плазма клетки и памтечки Б-клетки. Кинетиката на првичниот одговор, измерена преку серумското ниво на противтелото, зависи од природата на противгенот, начинот на противгенското внесување, присуството и отсуството на потпомагачите и видовите или сојот кој бил имунизиран.

При сите случаи, првичниот одговор на противген се карактеризира со фаза на задоцнување, при која неискусните Б-клетки претрпуваат клонска селекција, последователна клонска експанзија и диференцијација во памтечки и плазма клетки (слика 11-16). По фазата на задоцнување следува логоритамски пораст на серумското ниво на противтелото, кое достигнува врв, одржува плато различен период, а потоа опаѓа. Траењето на фазата на задоцнување варира во зависност од природата на противгенот. Имунизацијата на глувците со противген како што се овнешките црвени крвни клетки (ОЦКК) обично резултираат со фаза на задоцнување од 4 до 5 дена пред сигурно да се открие противтелото во серумот, а врвот на серумското ниво на противтелото се постигнува околу 7. до 10. ден. Кај растворливите протеински противтела, фазата на задоцнување е малку подолга, често траејќи околу една недела, а највисокиот серумски титар настанува околу 14. ден. При првичниот

ДЕТАЛНА СЛИКА 11-16: Концентрација и изотипот на серумското противтело по првична (1º) и вторична (2º) имунизација со противген



Концентрациите на противтелата се впишани на логоритамска скала. Временските единици не се назначени бидејќи кинетиката прилично се разликува во зависност од типот на противгенот, начинот на внесување, присуството или отсуството на потпомагачи, видовите или сојот на животното.

ТАБЕЛА 11-4 Споредба на првични и вторични реакции на противтело

Карактеристика	Првичен одговор	Вторичен одговор
Реагирачка Б-клетка	Неискусна Б-клетка	Памтечка Б-клетка
Период на задоцнување што следи по внесувањето на противгенот	Обично 4-7 дена	Обично 1-3 дена
Време на највисок одговор	7-10 дена	3-5 дена
Големината на врвниот противтелен одговор	Варира во зависност од противгенот	Обично 100-1000 пати повисока од првичниот одговор
Создаден изотип	ИгМ предоминира рано во одговорот	Предоминира ИгГ
Противгени	Тимус зависни и тимус независни	Тимуснозависни
Противтелен афинитет	Ниска	Повисока

хуморален одговор, ИгМ почетно се излачува, по што често следи пропорционално зголемување на ИгГ.

Памтечките Б-клетки кои се формирани при првичниот одговор запираат со делење и навлегуваат во G_0 фазата од клеточниот циклус. Овие клетки имаат променлив животен век, каде некои опстојуваат во текот на целиот живот на единката. Капацитетот за развивање вторичен хуморален одговор (види слика 11-14) зависи од постоењето на оваа популација памтечки Б-клетки исто како и од памтечки Т-клетки. Активацијата на памтечките клетки од страна на противгенот резултираат со вторичен противтелен одговор кој од првичниот одговор може да се разликува на неколку начина (табела 11-4). Вторичниот одговор има пократок период на задоцнување, постигнува поголема вредност и трае подолго. Вторичниот одговор исто така се карактеризира со излачување на противтело со повисок афинитет кон противгенот, а изотиповите кои доминираат не се ИгМ.

Главен фактор во побрзиот почеток и поголема величина на вторичните одговори е фактот што популацијата на памтечките Б-клетки кои се специфични за конкретниот противген е значително поголема од популацијата на соодветните неискусни Б-клетки. Според тоа, памтечките клетки полесно се активираат од неискусните Б-клетки. Процесите на афинитетно зреење и класното превклучување се одговорни за повисокиот афинитет и различните изотипови кои се појавуваат во вторичните одговори. Повисоките нивоа на противтела заедно со повисокиот вкупен афинитет овозможуваат ефективна одбрана на домаќинот против реинфекцијата. Промената на изотипот овозможува противтела чии ефекторни функции специјално одговараат кон конкретниот патоген.

Постоењето на долгоживеечки памтечки Б-клетки се припишува на феноменот наречен „оригинален противгенски грев“, кој првпат бил забележан кога одговорот од противтелото на вакцината против инфлуенца се набљудувал кај возрасни. Надгледувањето открило дека имунизацијата со вакцина против инфлуенца од еден сој поттикна одговор на противтело кон тој сој, но, парадоксално, исто така поттикна одговор на противтелото со поголема величина кон другиот сој на инфлуенца, на кој единката била изложена во детството. Личело како памтењето од првото изложување на противгенот да оставило доживотен белег во имуниот систем. Феноменот може да се објасни со присуството на популацијата на памтечките клетки, поттикната од инфлуенца сојот со кој бил изложен во детството, кој се активира со вкрстенореагирачки епитопи од сојот на вакцина со кој се сретнал подоцна. Потоа овој процес создава вторичен одговор, која се карактеризира со противтела со повисок афинитет за претходниот вирусен сој.

Т-помагачките клетки играат значајна улога во хуморалниот одговор кон хаптен-носечки конјугати

Кога животните се имунизирани со мали органски делови (хаптени) конјугирани со големи протеини (носачи), конјугатот поттикнува хуморален имун одговор кој се состои од противтела против епитопи од хаптенот и против епитопи од носечкиот протеин. Хаптен-носечките конјугати на имунолозите им овозможија идеален систем за проучување на клеточните меѓудејства во хуморалниот одговор, а таквите студии покажаа дека создавањето на хуморален противтелен одговор бара препознавање на противгенот од страна на $T_{по}$ и Б-клетки, при што и двете клетки препознаваат различни епитопи од истиот противген. При имунолошките истражувања се употребуваат голем број различни хаптен-носечки конјугати (табела 11-5).

Еден од првите наоди со хаптен-носечки конјугати бил дека хаптенот треба да биде хемиски поврзан со поголем носечки молекул за да се поттикне хуморален одговор на хаптенот.

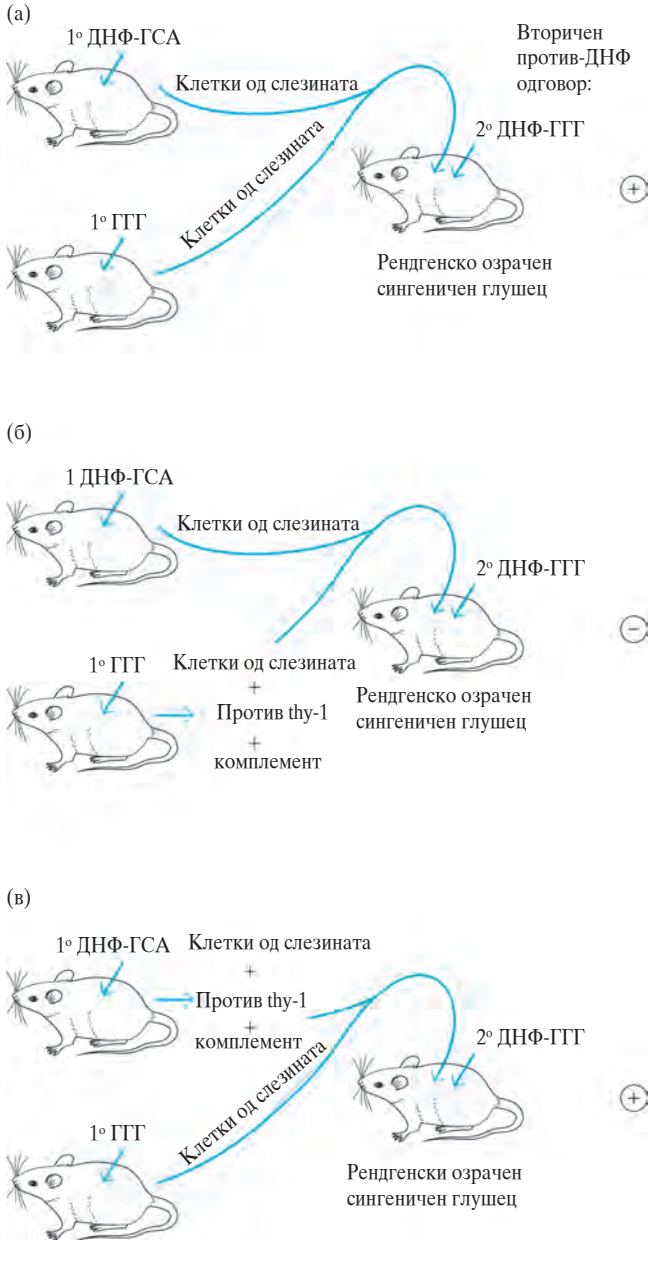
ТАБЕЛА 11-5 Најчесто употребуваните хаптен-носечки конјугати при имунолошко истражување

Кратенки на хаптен-носачи	Хаптен	Протеин носач
ДНФ-ГГГ	Динитрофенол	Говедски гамаглобулин
ТНФ-ГСА	Тринитрофенил	Говедски серумски албумин
НИФ-ХМП	5- Нитрофенил ацетна киселина	Школкин хемоцијанин
АРС-ОВА	Азофениларсонат	Јајцев албумин
ЛАЦ- ХГГ	Фениллактосид	Хуман гамаглобулин

Ако животно се имунизира посебно со хаптенот и посебно со носачот, многу мал број или воопшто ќе нема создадени хаптен-специфични противтела. Втора значајна забелешка била дека, со цел да се создаде вторичен противтелен одговор против хаптен, животното требало да биде повторно имунизирано со истиот хаптен-носечки конјугат кој се користел во првичната имунизација. Кога вторичната имунизација била со истиот хаптен, но конјугирана со друг, несроден носач, немало вторичен противхаптенски одговор. Овој феномен, наречен **носачки ефект**, може да се заобиколи со одделно првично изложување на животното со несродниот носач.

Слични експерименти спроведени со систем на клеточно пренесување покажаа дека клетките кои се имунизирани против хаптенот и клетките кои се имунизирани против носачот се различни популации. При овие проучувања, еден глушец бил првично изложен со конјугатот ДНФ-ГСА, а друг првично изложен со несроден носач говедски гамаглобулин (ГГГ), кој не бил конјугиран со хаптенот. При еден експеримент, клетките од слезината од двата глувци биле измешани и внесени во смртоносно озрачен сингеничен примател. Кога овој глушец бил предизвикан со ДНФ конјугиран со несроден носач ГГГ, настанал секундарен противхаптенски ДНФ одговор (слика 11-17а). При вториот експеримент, клетките од слезината на ГГГ имунизираните глувци биле третирани со против-Т-клеточен противсерум (против-Thy-1) и комплемент за лизирање на Т-клетките. Кога овој Т-клеточно осиромашен примерок бил измешан со ДНФ-ГСА првично изложени клетки од слезината и заедно внесени во озрачен глушец, не настанал вторичен противхаптенски одговор при имунизирањето со ДНФ-ГГГ (слика 11-17б). Сепак, сличниот третман на ДНФ-ГСА првично изложените клетки од слезината со против-Thy-1 и комплементот не го уништиле вторичниот противхаптенски одговор на ДНФ-ГГГ (слика 11-17в). Подоцнежните експерименти, каде биле користени противсеруми за специфично отстранување на КД4$^+$ или КД8$^+$Т-клетките, покажале дека популацијата од КД4$^+$Т-клеточната подгрупа е одговорна за носачкиот ефект. Овие експерименти покажале дека одговорот на хаптен-првично изложените Б-клетки кон хаптенносечкиот конјугат бараат присуството на носачки изложени КД4$^+$ Тпо клетките специфични за носечките епитопи. Имајте предвид дека Б-клеточниот одговор не е ограничен само на хаптенот. Всушност, одредени Б-клетки реагираат со епитопи на носачот. Сепак, може да се изврши анализа на начин да се откријат само противхаптенски одговори.

Експериментите со хаптенносечки конјугати открија дека двете и $T_{по}$ клетките и Б-клетките мора да препознаат противгени одредници од истиот молекул за да настане Б-клеточна активација. Оваа карактеристика на Т и Б-клеточно меѓудејство при хуморалниот одговор е наречена асоцијативно или поврзано препознавање. Заклучоците кои се извлекуваат од експериментите со хаптен-носач во основа се припишуваат општо на хуморалниот одговор на противген и го поддржуваат



СЛИКА 11-17 Клеточнопренесувачките експерименти покажуваат дека хаптенизложените и носачизложените клетки се различни популации. (а) Рендгенско озрачени сингенични глувци обновени со клетки од слезината од двата ДНФ-ГСА изложените глувци и ГГГ-изложените глувци при предизвикување со ДНФ-ГГГ создадоа вторичен против-ДНФ одговор. (б) Отстранувањето на Т-клетките од ГГГ-изложените клетки од слезината, при третман со против-Тхs-1 противсерум, го уништиле вторичниот против-ДНФ одговор. (в) Отстранувањето на Т-клетките од клетките од ДНФ-ГСА-изложени клетки од слезината немало ефект на вторичниот одговор против ДНФ. Овие експерименти покажале дека носачкиизложените клетки се Т-клетки, а хаптенизложените клетки се Б-клетки.

барањето за Т-клеточна помош во Б-клеточна активација што е објаснето претходно во ова поглавје.

Ин виво области за поттикнување на хуморални одговори

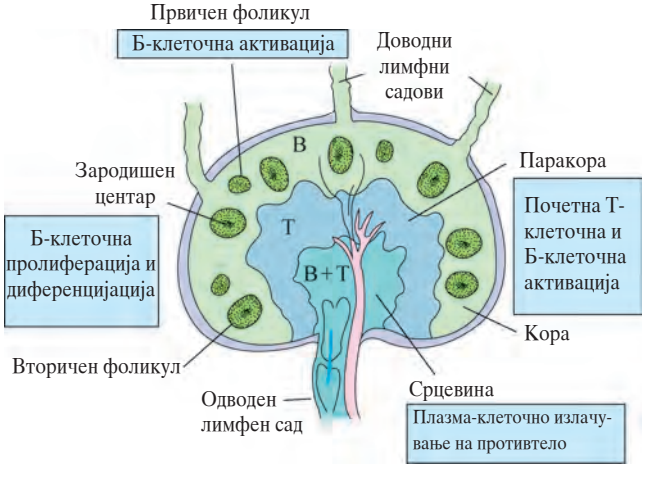
Ин виво активацијата и диференцијацијата на Б-клетките настанува во дефинирани анатомски области чии структурни места наметнуваат одредени ограничувања на видовите клеточни меѓудејства кои може да настанат. Кога противген е внесен во телото, тој е концентриран во различните периферни лимфоидни органи. Противгенот од крвта се филтрира во слезината, додека противгенот од ткивните простори дрениран од лимфниот систем се филтрира во регионалните лимфни јазли или лимфни јазолчиња. Следниов опис се фокусира на создавањето хуморален одговор во лимфните јазли.

Лимфниот јазол е многу ефикасен филтер кој е способен за заробување на повеќе од 90% од кој било противген кој се внесува во него преку дојдовните лимфни патишта. Противгенот или противген-противтело комплексите во лимфните јазли навлегуваат или сами или во комбинација со противген-пренесувачките клетки (пр. Лангерхансовите клетките или стеблестите клетки) и макрофагите. Како што противгенот се пробива низ клеточната архитектура на јазолот, се среќава со еден од трите вида противгенприкажувачки клетки: стеблестите клетки во паракортексот, макрофагите распрскани низ јазолот или специјализирани фоликуларни стеблести клетки во фоликулите и зародишните центри. Противгенскиот напад кој води до хуморален имун одговор вклучува сложена серија процеси-настани, кои се случуваат во различни микросредини во лимфниот јазол (слика 11-8). Малку поразлични патеки може да произлезат при првичниот и вторичниот одговор бидејќи поголемиот дел од ткивниот противген е во комплекс со циркулирачкото противтело при вторичниот одговор.

Развојот на внатревиталната микроскопија (види двофотонска микроскопија во поглавје 22) овозможи моментално набљудување во реално време на живите клетки во внатрешноста од живите ткива. Од неодамна, испитувачите ја користеле оваа техника за да ги проучат меѓудејствата на Т и Б-клетките во лимфните јазли. Тие внеле флуоресцентно означени Т и Б-клетки од имунизирани глувци со белкин лизозим од кокошкино јајце (БЛКЈ) во неимунизирани глувци. Потоа овие приматели биле имунизирани со БЛКЈ, а одговорот на означените Т и Б-клетки кон противгенот и кон самите себе бил снимен на видео внатре во лифниот јазол. Набљудувањата направени 30 часа по имунизацијата покажале дека противгенспецифични Т и Б-клетки пристапуваат едни кон други и стапуваат во меѓудејство за да формираат конјугати (11-19). Овие конјугати, кои се брзо формирани (< 1 минута), траеле од 10 минути до еден час или повеќе. Наспроти тоа, животниот век на конјугатите помеѓу означените Т и Б-клетки од неимунизираните животни траел мошне пократко (< 10 минути). Се забележало дека противгенспецифичните Т и Б-клетки во лимфниот јазол мигрираат низ своите области од лимфниот јазол (Б-клетките низ Б-клеточно богатата кора, Т-клетките низ Т-збогатениот паракортекс) и стигнувале до границата помеѓу овие области, каде стапуваат во меѓусебно меѓудејство за да формираат Т и Б-конјугати.

Штом настане противгенпосредувана Б-клеточна активација, мали фокуси од пролиферирачки Б-клетки се создаваат на рабовите од Т-клеточно богатата зона. Тие Б-клетки се диференцираат во плазма клетките кои излачуваат ИгМ и ИгГ изотипови. Повеќето противтела кои се создадени при првичниот одговор произлегуваат од плазма клетките од овие фокуси. Слична серија настани се случуваат и во слезината, каде почетна Б-клеточна активација настанува во Т-клеточно богатиот периартериски лимфен систем, ПАЛС (види слика 2-17).

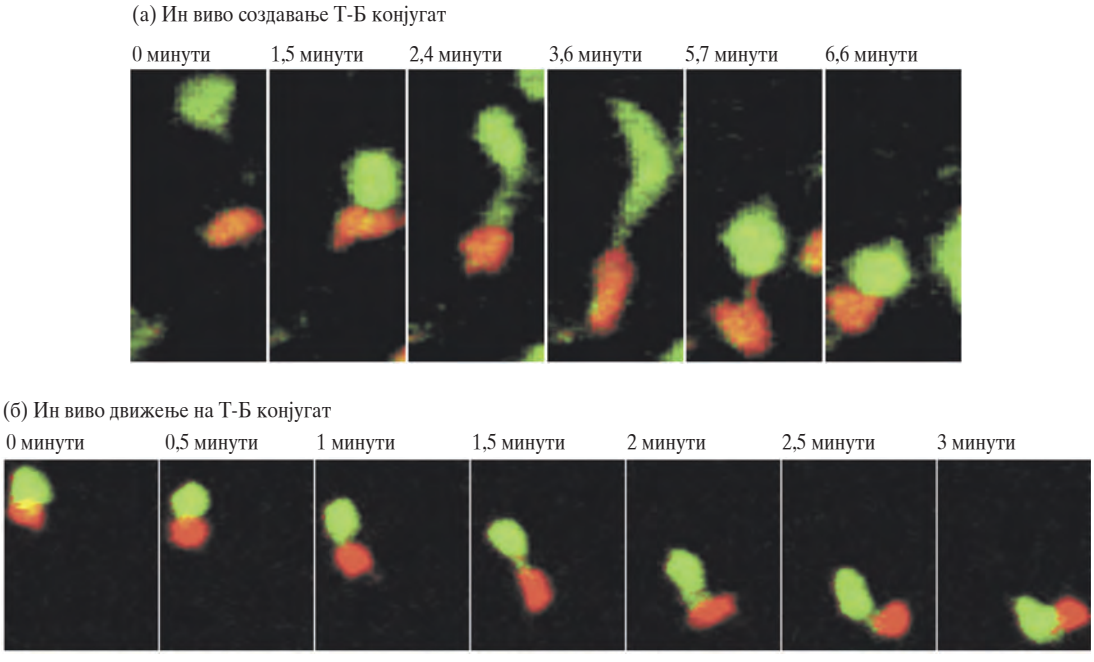
Неколку дена по формирањето на фокусите внатре во лимфните јазли, неколку активирани Б-клетки, заедно со неколку $T_{по}$ клетки, се верува дека мигрираат од фокусите во првичните фоликули. Овие фоликули потоа се развиваат во вторични фоликули, што обезбедува специјализирана микросредина која е погодна за меѓудејства помеѓу Б-клетките, активните $T_{по}$ клетки и фоликуларните стеблести клетки. Иако тие делат многу сродна морфологија на професионални противген-прикажувачки стеблести клетки произлезени од коскената срцевина, фоликуларните стеблести клетки не се појавуваат во коскената срцевина, не прикажуваат класа 2 ГТК молекули и не прикажуваат противген на КД4$^+$Т-клетките. Фоликуларните стеблести клетки имаат долги продолженија на кои се подредени Фк рецептори и комплементни рецептори. Овие рецептори им овозможуваат на фоликуларните стеблести клетки да ги задржат и прикажат противген-противтелните комплекси подолг период, дури и со месеци, врз површината од клетката. Активираните Б-клетки, заедно со одредени активни $T_{по}$ клетки, може да мигрираат кон центарот на вторичниот фоликул, формирајќи зародишен центар.



СЛИКА 11-18 Шематски приказ на периферниот лимфен јазол со покажување на анатомските области во кои настануваат различни чекори од Б-клеточна активација, пролиферација и диференцијација. Кората е богата со Б-клетки, а паракората со Т-клетки. И двата вида клетки се присутни во голем број во срцевината. Вторичната фоликула ги содржи фоликуларната наметка и зародишниот центар.

Зародишни центри и противгенпоттикната Б-клеточна диференцијација

Зародишните центри настануваат по 7 до 10 дена по почетното изложување на тимусзависен противген. Три значајни процеси од Б-клеточната диференцијација настануваат во



СЛИКА 11-19 Ин виво динамиката на меѓудејството помеѓу противгензасегнатата Б-клетка и помошничка Т-клетка. (а) Двофотонската микроскопија била употребена за набљудување на контактот на живите $T_{по}$ клетки (зелена боја) и Б-клетки (црвена боја) во лимфниот јазол. Т-Б-клеточниот конјугат се формира во период од една минута и останува недопрен во текот на неколку минути потоа. (б) Набљудувањето на живите Т-Б конјугати во лимфниот јазол покажува дека тие не се статични, туку се подвижни. При повеќето набљудувања Б-клеточниот член од конјугатот ја води преселбата. *[Од T. Okada et al.,* 2005, Public Library of Science Biology ***3**:1047]*

зародишните центри: афинитетно зреење, класно превклучување и создавање плазма клетки и памтечки Б-клетки. Афинитетното зреење и создавањето памтечки клетки бараат зародишни центри. Дел од класното превклучување и значителна количина на плазма клеточно создавање може да настане и надвор од зародишните центри. Во текот на првата фаза од создавањето на зародишниот центар, активираните Б-клетки подлежат на интензивна пролиферација. Овие пролиферирачки Б-клетки, познати како центробласти, се појавуваат во зародишните центри кај човекот како добродефинирана **темна зона** (слика 11-20). Центробластите се разликуваат по нивната големина, издолжена цитоплазма, дифузиран хроматин и отсуство или речиси отсуство на површински Иг. Центробластите последователно созреваат до центроцити, кои се мали, неделиви Б-клетки кои сега прикажуваат мембрански Иг. Центроцитите се движат од темната зона кон подрачјето кое содржи фоликуларни стеблести клетки наречено **светла зона**, каде одредени центроцити остваруваат контакт со противгенот кој е прикажан како противген-противтелен комплекс врз површината од фоликуларните стеблести клетки.

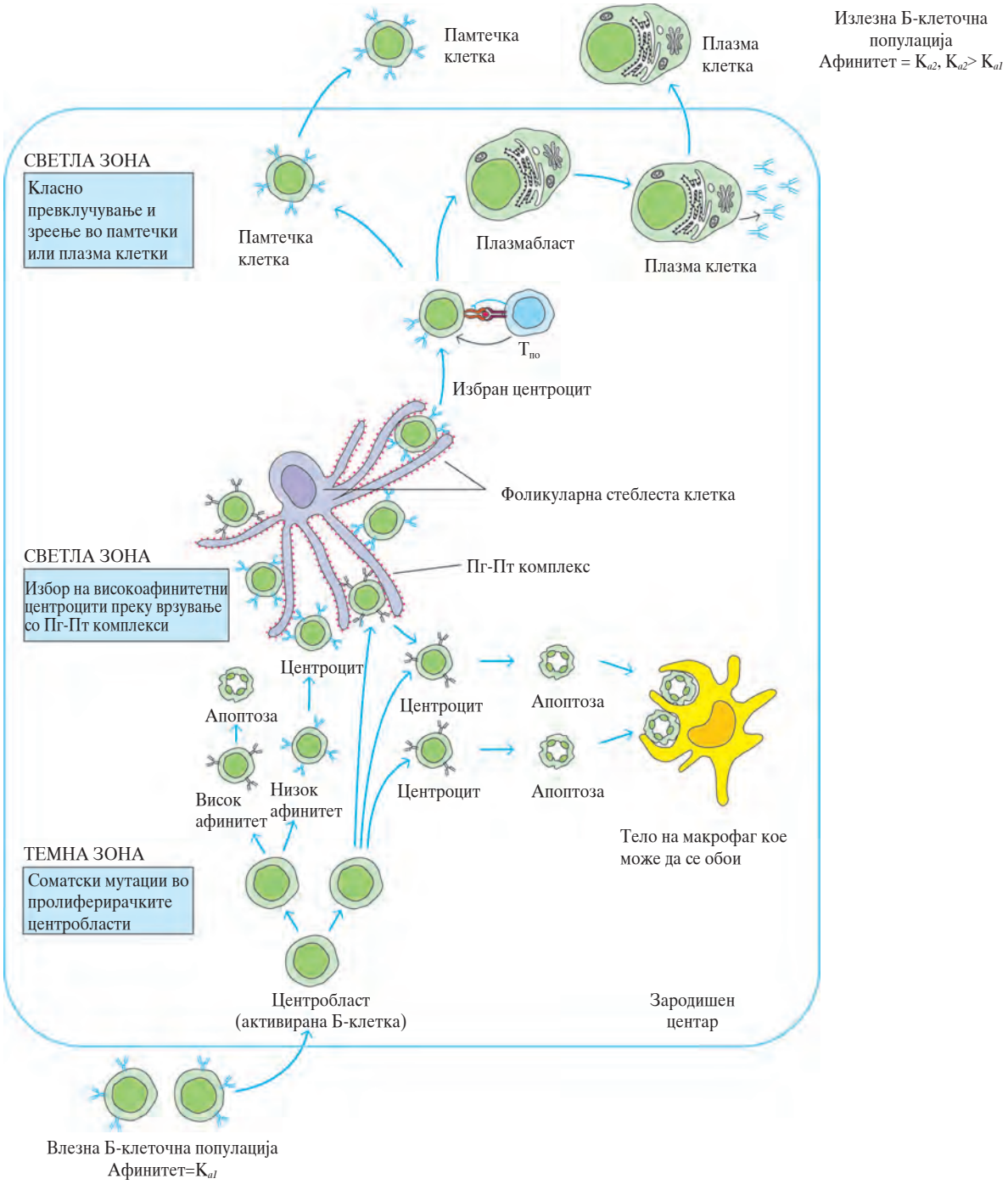
Афинитетното зреење е резултат од повторено зреење и селекција

Просечниот афинитет за противтелата кои се создадени во текот на хуморалниот одговор значително се зголемува при процесот на афинитетно зреење, накратко објаснето во поглавје 5, ефект кој прво беше забележан од страна на Х.Н. Ајсен и Ц.В. Сискинд кога тие имунизирале зајаци со хаптен-носечки ДНФ-ГГГ комплекс. Потоа афинитетот на серумските против-ДНФ противтела кои се создадени како одговор кон противгенот бил измерен во 2., 5. и 8. недела по имунизацијата. Просечниот афинитет на против-ДНФ противтелата се зголеми околу 140 пати од 2. до 8. недела. Последователната работа покажа дека афинитетното зреење претставува главно резултат од соматската хипермутација.

Улогата на соматската хипермутација

Набљудувањето на противтелните гени во текот на имуниот одговор покажа дека продолженото зреење на Иг гените кои одговориле на инфекцијата настанува во Б-клетките од зародишните центри. Директниот приказ дека зародишните центри се областите за соматска хипермутација доаѓа од работата на Г. Келсо и неговите колеги. Овие работници ја споредиле зачестеноста на мутациите на Б-клетките кои се изолирани од зародишните центри со тие од областите со интензивна Б-клеточна активација кои се наоѓаат надвор од зародишните центри. За да го остварат ова, тие подготвиле тенки слоеви од ткиво од слезината кај животните имунизирани со хаптен 4-хидрокси-3-нитрофенилацетил (НФ) конјугиран со гамаглобулин од кокошка како носач. Овој систем е употреблив бидејќи почетниот одговор кон овој хаптен доминира со посебно генско преуредување на тешката верига и употреба на ламбда лесна верига (кај глувците, >95 % од противтелата имаат капа лесни вериги). Според тоа, противтелата против идиотипот од ова противтело можат да се користат за брзо распознавање на реагирачките Б-клетки. Со употреба на противтела за идиотипот и имунохистолошките техники на обојување, овие истражувачи ги утврдија Б-клетките кои поседуваат против-НФ противтело во зародишните центри и фокуси од незародишен-центар во Б-клеточна активација присутни во тенките слоеви во пресекот од слезините на неодмнешно имунизираните глувци. Тие ги изолирале овие Б-клетки преку микродисекција, користеле ПВР за да ги амплифицираат имуноглобулинските гени на секоја клетка, а потоа ги клонирале и секвенционирале

ДЕТАЛНА СЛИКА 11-20:
Клеточни процеси во зародишните центри



Противгенстимулираните Б-клетки мигрираат во зародишните центри, каде го намалуваат прикажувањето на површинскиот Иг и претрпуваат брза клеточна делба и мутација на преуредените имуноглобулински гени од В-подрачјето во темната зона. Потоа, делењето запира и Б-клетките мигрираат во светлата зона и го зголемуваат прикажувањето на површинскиот Иг. Во оваа фаза тие се нарекуваат центроцити. Во светлата зона центроцитите мора да стапат во меѓудејство со фоликуларните стеблести клетки и Т-помагачките клетки за да преживеат. Фоликуларните стеблести клетки се врзуваат за противген-противтелните комплекси преку нивните долги продолженија, а центроцитите мора да се натпреварууваат меѓусебно за да се врзат со противгенот. Б-клетките кои носат високоафинитетен мембрански имуноглобулин (противтелата прикажани во сино) најверојатно успешно го завршуваат натпреварувањето. Оние противтела кои нема да ја преживеат оваа противгенпосредувана селекција (противтелата прикажани во црно) умираат со апоптоза. Б-клетките кои ја поминуваат противгенската селекцијата и примаат вторичен преживувачки сигнал од $T_{по}$ клетките се диференцираат или во памтечки Б-клетки или во противтелосекретирачки плазма клетки. Контактот со $T_{по}$ клетките исто така може да поттикне класно превклучување. Главниот резултат од зародишниот центар е да создаде високоафинитетни Б-клетки (K_{a2}) од нискоафинитетните Б-клетки (K_{a1}).

имуноглобулинските гени. Голем број мутации биле забележани кај имуноглобулинските гени добиени од Б-клетките во зародишните центри, но мал број кај гените добиени од активираните Б-клетки во фокусите од незародишниот центар. Кога ги испитале мутираните секвенции од колекцијата на Б-клетките од зародишните центри, секвенциите на многу клетки биле доволно слични за да покажат дека имаат заедничко потекло од истата клетка. Деталната анализа на секвенциите им овозможила на овие доктори да направат генеолошки стебла, каде што може јасно да се види потеклото на предците преку прогресивна соматска хипермутација.

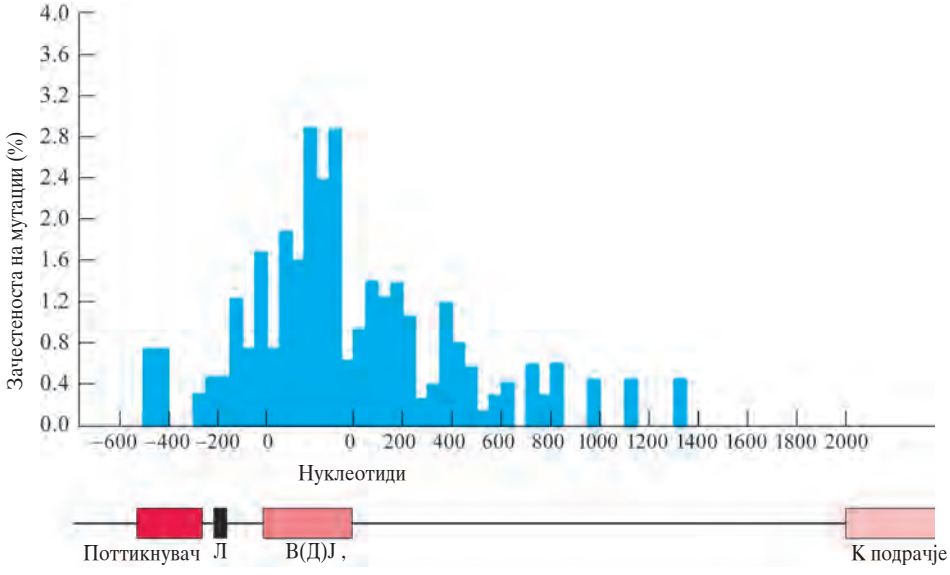
Прикажувањето на точкестите мутации, делеции и инсерции кај преуредените имуноглобулински гени е впечатливо – мошне фокусирано. Слика 11-21 покажува дека поголемиот дел од мутациите настануваат во подрачјето кое се протега од 0,6 кб 5' до околу 1,5 кб 3' од В(Д)J сегментите од преуредените имуноглобулински гени. Иако хипермутацискиот процес испорачува мутации низ В-подрачјето, противгенуправуваната селекцијата доведува до можно појавување на имуноглобулински гени каде поголемиот број мутации лежат во трите комплементарно одредувачки подрачја (КОП). Се проценува дека стапката на мутација при соматската мутација е приближно 10^{-3}/базен пар/делба, што е милион пати поголема од обичната стапка на мутација за другите гени кај луѓето и глувците. Имајќи предвид дека В(Д)J сегментите од тешката и од лесната верига имаат вкупно околу 700 базни пара, значи дека стапката на мутација, за секои две клеточни делби кои ги претрпува, центробластот ќе стекне мутација кај променливите подрачја или на тешката или на лесната верига. Мошне високите стапки и прецизното насочување на соматската хипермутација се значајни особини кои се единствени за имуниот систем. Ензимот активациски поттикната цитидин деаминаза (АПД), објаснет во поглавје 5, е значаен дел од молекулската основа за овој извонреден процес, но целосното разбирање останува предизвик во имунологијата, вклучувајќи ги прашања за тоа како овој процес е првенствено насочен кон промеливите подрачја од преуредените имуноглобулински гени.

Бидејќи соматската мутација настанува по случаен избор, тие би создале неколку клетки со рецептори со висок афинитет, а многу клетки со рецептори со непроменет или понизок афинитет за одреден противген. Според тоа, селекцијата е потребна за да се создаде популација на клетки која има зголемен афинитет. Зародишниот центар е местото за селекција. Како што е објаснето долу, Б-клетките кои имаат високоафинитетни рецептори за противгенот веројатно се позитивно селектирани и го напуштаат зародишниот центар. Оние рецептори со низок афинитет веројатно претрпуваат негативна селекција и умираат во зародишниот центар.

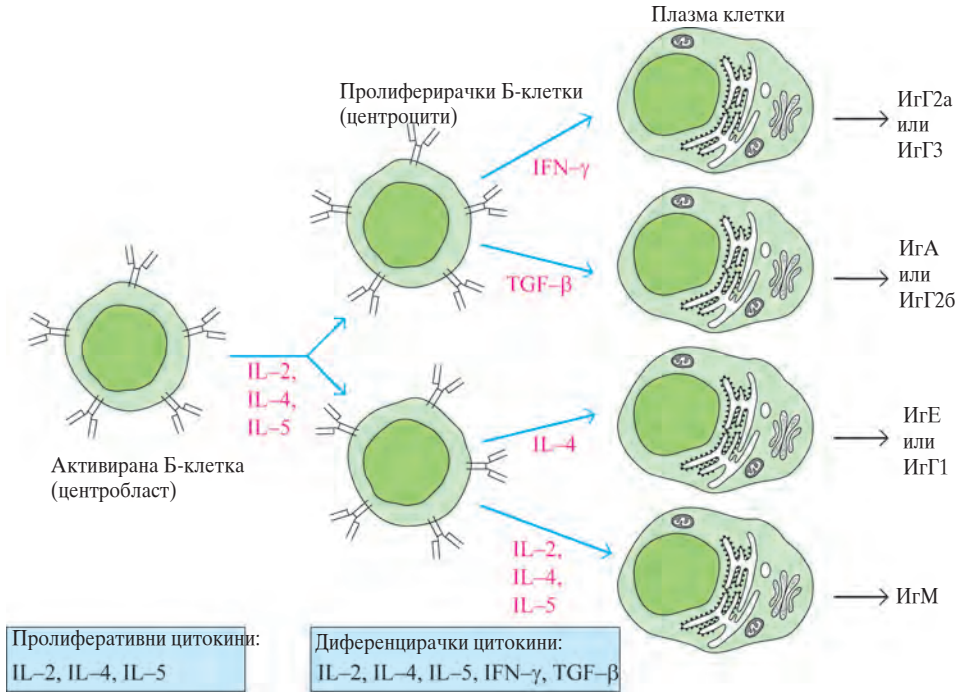
Улогата на селекцијата

Соматската хипермутација на гените во променливото подрачје од тешката и лесната верига настанува кога центробластите пролиферираат во темната зона од зародишниот центар. Селекцијата настанува во светлата зона, меѓу неделивата центроцитна популација. Најзначајниот фактор кој влијае врз селекцијата е способноста на мембранските Иг молекули на центроцитот да препознаат и врзат противген кој е прикажан од страна на фоликуларните стеблести клетки (ФСК). Бидејќи површините од ФСК се мошне богати со Фк рецептори и комплементни рецептори, противгенот кој создал комплекс со противтелото или противгенот кој е врзан за К3 фрагментите создадени при комплементната активација (види поглавје 7) може да се врзат со ФСК преку противтелото или К3 мостовите. Центроцитот чиј мембрански Иг се врзува и вкрстено се поврзува со противгенот поврзан за ФСК прима сигнал кој е неопходен за неговото опстојување. Оние центроцити кои нема да примат такви сигнали умираат. Сепак, центроцитите мора да се натпреваруваат за малата количина противген кој е присутен на ФСК. Бидејќи количината на противгенот е ограничена, центроцитите со рецепторите со висок афинитет веројатно се поуспешни во противгенското врзување од оние со низок афинитет (види слика 11-20).

Додека врзувањето на противгенот е неопходно за центроцитот да опастане, сепак, тоа не е доволно. Центроцитот исто така мора да прими сигнали создадени од меѓудејството со КД4$^+$$Т_{по}$ клетка за да преживее. Незаменлива карактеристика на оваа меѓудејство е средбата на КД40 во Б-клетката (центроцитот) и КД40Л на помошничката Т-клетка. Исто така неопходно е преработениот противген од класа 2 ГТК молекулите од Б-клетката да стапи во меѓудејство со ТКР од соработувачката $Т_{по}$ клетка. Центроцитите кои нема да примат сигнал или од $Т_{по}$ клетка или од противгенмембранскиот Иг ќе претрпат апоптоза



СЛИКА 11-21 Зачестеноста на соматската хипермутација се намалува со растојанието од преуредениот В(Д)J ген. Експерименталното мерење на зачестеноста на мутацијата покажува дека мал број, или воошто не се среќаваат мутации нагорно од поттикнувачот на преуредениот ген. Мутациите не се продолжуваат до делот на генот кој го кодира постојаното подрачје бидејќи на позициите кои се повеќе околу 1,5 кб 3' од преуредениот ген нема мутации. [*Прилагодено од P. Gearhart,* in Fundamental Immunology, botimi i 3rd, Lippincott Williams и Wilkins, *Philadelphia, f. 877].*



СЛИКА 11-22 Меѓудејствата на бројни цитокини со Б-клетките создаваат сигнали потребни за пролиферација и класно превклучување при диференцијацијата на Б-клетките во плазма клетките. Врзувањето на пролиферативните цитокини, ослободени од страна на активираните Тпо клетки, ги дава сигналите потребни за пролиферација на активираните Б-клетки. Слични или идентични ефекти може да бидат посредувани од страна на цитокините кои се зад оние кои се прикажани овде. Класното превклучување при одговор на тимусзависни противгени исто така бара КД40/КД40Л меѓудејство, кое овде не е прикажано.

во зародишниот центар. Всушност, една од значајните особини на зародишниот центар е продолжената клеточна смрт со апоптоза која настанува таму. Ова е јасно видливо од присуството на густите хроматински фрагменти, кои се индикативни за апоптозата, во макрофагите со тело кое се бои, необичен тип макрофаг кој ги отстранува клетките од лимфоидните ткива преку фагоцитоза.

Класно превклучување

Противтелата исполнуваат две важни активности: специфично врзување за противген, што е одредено од B_T и $B_Л$домените и учеството во различни биолошки ефекторни функции, кои се одредени од изотипот на постојаното подрачје од тешката верига. Како што е објаснето во поглавје 5, класното превклучување му овозможува на секој B_T домен да се поврзе со постојаното подрачје од кој било изотип. Ова овозможува противтелната специфичност да остане постојана додека биолошко ефекторните активности на молекулот варираат. Бројни цитокини влијаат врз одлуката за тоа која Иг класа е избрана кога ИгМ-носечката клетка претрпува класно менување-вклучување (слика 11-22). Како што видовме претходно, хуморалниот одговор на тимусзависните противгени е означен со широко класно превклучување на изотиповите освен на ИгМ, додека противтелниот одговор на тимуснезависните противгени е доминиран од ИгМ. Во случај на тимусзависните противгени, мембранското меѓудејство помеѓу КД40 од Б-клетката и КД40L од $T_{по}$ клетка е неопходно за поттикнување на класното превклучување. Значењето од КД40/КД40L меѓудејството е прикажано кај **икс-врзаниот хипер-ИгМ синдром**, имунонедостаток каде $T_{по}$ клетка не може да прикаже КД40L (види поглавје 20). Пациентите со ова нарушување создаваат ИгМ, но не и други изотипови. Таквите пациенти не можат да создадат памтечко-клеточни популации, не можат да формираат зародишни центри и нивните противтела не претрпуваат соматска хипермутација.

Памтечките Б-клетки и плазма клетките се создаваат во зародишните центри

Откако Б-клетките се селектирани во зародишниот центар за оние кои носат мИг кој се врзува со висок афинитет за противгенот кој е претставен врз фоликуларните стеблести клетки, одредени Б-клетки се диференцираат во плазма клетки, а други стануваат памтечки Б-клетки (види слика 11-20). Иако зародишните центри се значајни области за создавањето на плазма клетките, овие Иг-секретирачки клетки исто така се создаваат и во други области. Плазма клетките обично немаат видливи мембрански врзани имуноглобулини и, наместо тоа, синтетизираат високи нивоа на излачени противтела (со стапка во висина од 1000 молекули на Иг по клетка во секунда). Диференцијацијата на зрелите Б-клетки во плазма клетки бара промена во преработувањето на РНК така што се синтетизира излачувачката форма на тешката верига, а не на мембранската. Според тоа, стапката на препишување на

ТАБЕЛА 11-6 Споредба на неискусни и памтечки Б-клетки

Карактеристика	Неискусна Б-клетка	Памтечка Б-клетка
Мембрански обележувач		
Имуноглобулин	ИгМ, ИгД	ИгМ, ИгД(?), ИгГ, ИгА, ИгЕ
Комплементен рецептор	Ниско	Висок
Анатомска локација-локализација	Слезина	Коскена срцевина, лимфен јазол, слезина
Животен век	Краткотрајни	Може долго да живеат
Рециркулација	Да	Да
Афинитет на рецепторот	Понизок просечен афинитет	Повисок афинитет поради афинитетното зреење[1]
Атхезивни молекули	Низок МКАМ-1	Висок МКАМ-1

*Афинитетно зреење се јавува како резултат на соматската мутација при пролиферација на центробластите и последователната антигена селекција на центроцитите кои имаат високоафинитетен мИг.

гените од лесната и тешката верига е значително поголемо кај плазма клетките отколку кај помалку диференцираните Б-клетки. Неколку автори сугерирале дека зголеменото препишување кај плазма клетките може да се објасни со синтеза на поголемо ниво на препишувачките фактори кои се врзуваат за имуноглобулинските засилувачи. Некој механизам исто така мора да го координира порастот на препишувањето на гените од тешката и лесната верига, без разлика што овие гени се на различни хромозоми.

Како што е наведено претходно, Б-клетките кои ја преживуваат селекцијата во светлата зона од зародишните центри исто така се диференцираат во памтечки клетки. Одредени особини на неискусните и памтечките Б-клетки се опишани и сумирани во табела 11-6. Со исклучок на мембрански врзаните имуноглобулини, утврдени се неколку мембрански молекули по кои се разликуваат неискусните Б-клетки од памтечките Б-клетки. Неискусните Б-клетки прикажуваат само ИгМ и ИгД. Сепак, како последица од класното менување, памтечките Б-клетки прикажуваат дополнителни изотипови, вклучувајќи ги ИгГ, ИгА и ИгЕ.

Регулација на имуниот ефекторен одговор

При контактот со противген, имуниот систем или ќе развие имун одговор или ќе навлезе во состојба на нереактивност наречена толеранција. Развојот на имунитетот или толеранцијата, при што и двете вклучуваат специфично препознавање на противгенот преку противгенреактивни Т и Б-клетки, мора да бидат внимателно регулирани бидејќи несоодветниот одговор – независно дали е имунитет кон сопствени противгени или толеранција на потенцијален патоген – може да има сериозни и опасни последици по животот.

Регулирањето на имуниот одговор се случува во двете, и во хуморалната и во клеточнопосредуваната гранка. Секогаш кога ќе навлезе противген, значајни регулаторни одлуки ја определуваат гранката од имуниот систем која ќе се активира, интензитетот на одговорот и нејзиното траење. Поглавје 12 го објаснува значењето на цитокините за организирањето на соодветни имуни одговори. Во однос на цитокините, други регулаторни механизми може да играат значајни имунорегулаторни улоги. Поголемиот број информации за овие регулаторни процеси, кои сè уште не се добро разбрани, може да овозможи промислена манипулација на имуните одговори, селективна нагорна регулација на посакуваните одговори и надолна регулација на непосакуваните.

Различни противгени може да се натпреваруваат меѓусебно

Имунолошката историја на животното влијае врз квалитетот и квантитетот на имунолошкиот одговор. Неискусното животно на нападите од противгенот реагира различно од претходно изложено животно. Претходниот контакт со противген може да го направило животното толерантно на противгенот или може да резултирало со создавање памтечки клетки. Во некои случаи, присуството на натпреварувачкиот противген може да го регулира имуниот одговор на несроден противген. Ова противгенско натпреварување е прикажано со внесување натпреварувачки противген во глувците еден или два дена пред имунизацијата со тест противгенот. На пример, одговорот кон коњски црвени крвни клетки (КЦКК) е мошне намален од претходната имунизација со овчешки црвени крвни клетки (ОЦКК) и обратно (табела 11-7). Иако противгенскиот натпревар е добро утврден феномен, неговата молекулска и клеточна основа не е добро разбрана.

Присуството на противтело може да го супресира одговорот на противгенот

Како и многу биохемиски реактанти, противтелото извршува повратно попречување на сопственото создавање. Поради противтелнопосредуваната, одредени вакцини (на пр., против сипаници и заушки) не се внесуваат кај деца пред возраст од една година. Нивото на природно стекнатиот мајчин ИгГ, кој фетусот го добива преку трансплацентален трансфер, останува висок околу 6 месеца по раѓањето. Ако новороденчето е имунизирано со вакцини против сипаници и заушки додека овие мајчински противтела се сè уште присутни, хуморалниот одговор е низок, а создавањето на памтечките клетки е недоволно за да даде долготраен имунитет. Ако животно е имунизирано со специфичен противген и тој е внесен со претходно создадено противтело за противгенот непосредно пред или во текот на неколку дена по противгенското изложување, имуниот одговор на противгенот може да се намали за 100 пати.

ТАБЕЛА 11-7 Противгенско натпреварување помеѓу ЦКК од овца и коњ

ИМУНИЗИРАЧКИ ПРОТИВГЕН		АНАЛИЗА СО ХЕМОЛИТИЧНА ПЛОЧА (ден 8)	
Пг1 (ден 0)	**Пг2 (ден 3)**	**Тестирачки Пг**	**КФП/10^{6*} клетки од слезината**
Нема	КЦКК	КЦКК	205
ОЦКК	КЦКК	КЦКК	13
Нема	ОЦКК	ОЦКК	626
КЦКК	ОЦКК	ОЦКК	78

*КФП= клеточно формирана плоча.

Противтелнопосредуваната супресија може да се објасни на два начина. Првото објаснување е дека циркулирачкото противтело се натпреварува со противгенреактивните Б-клетки за противгенот, попречувајќи ја клонската експанзија на Б-клетките. Второто објаснување е дека врзувањето на противген-противтелниот комплекс со Фк рецепторите на Б-клетките го намалува сигнализирањето од страна на Б-клеточен рецепторен комплекс.

Како што противтелниот одговор продолжува да се одвива, противтелото повратно создава инхибиција на одговорот. Колку повеќе излачени ИгГ молекули се вклучуваат во противгено-противтелните комплекси, Иг делови од овие комплекси се врзуваат за Фк-гама рецепторите присутни на Б-клеточната мембрана, а противгенот од комплексот се врзува за Иг од Б-клеточните рецептори. Ова вкрстено поврзување ги доближува ФКгама рецепторите во тесна поврзаност со активните Б-клеточни рецепторни комплекси, овозможувајќи им на фосфатазите да се врзани за цитоплазмичните краеви од Фк рецепторот да дефосфоризираат местата во БКР комплекси кои мора да останат фосфорилирани за да се одржи Б-клеточната активација. Како последица од тоа, активноста на Б-клетката постепено надолно се регулира како што се зголемува количината на ИгГ која е врзана за противгенот. Доказ за таквиот натпревар помеѓу пасивно внесеното противтело и противгенреактивните Б-клетки доаѓа од проучувањата каде за поттикнување споредбена супресија е потребно 10 пати повеќе противтело против-ДНФ со низок афинитет од противтело против-ДНФ со висок афинитет. Според тоа, натпреварувањето за противгенот помеѓу пасивно внесеното противтело и противгенреактивните Б-клетки го води Б-клеточниот одговор кон противтелото со повисок афинитет. Само противгенреактивните клетки со повисок афинитет можат успешно да се натпреваруваат со пасивно внесеното противтело за достапниот противген.

Резиме

- Б-клетките се развиваат во коскената срцевина и претрпуваат противгенпоттикната активација и диференцијација во периферијата. Активните Б-клетки можат да создаваат противтелосекретирачки плазма клетки или памтечки Б-клетки.
- При Б-клеточниот развој, последователните Иг-генски преуредувања ја трансформираат род-Б-клетката во незрела Б-клетка која прикажува мИгМ со единечна противгенска специфичност. Понатамошниот развој создава зрели неискусни Б-клетки, сè уште со единечна специфичност, прикажувајќи ги мИгМ и мИгД.
- Кога самореактивниот БКР е прикажан во коскената срцевина, настанува негативна селекција, а самореактивните клетки се отстрануваат со апоптоза или претрпуваат рецепторно уредување за да создадат несамореактивен мИг. Б-клетките што реагираат со сопствен противген кој го среќаваат во периферијата се прават анергични.
- Во периферијата, противгенпоттикнатата активација и диференцијација на зрелите Б-клетки создава противтелен одговор. За повеќето противгени, овој одговор бара $Т_{по}$ клетки, тие се тимуснозависни (ТЗ) одговори. Одговорите на одредени противгени, како што се одредени бактериски продукти од клеточниот зид (на пр., ЛПС) и полимеричните молекули со повторувачките епитопи, не бараат $Т_{по}$ клетки и се тимуснонезависни (ТН) противгени.
- Б-клеточната активација е последица од сигналнопренесувачките процесите кои се поттикнати од употребата на Б-клеточниот рецептор, кој понатаму води до многу промени во клетката, вклучувајќи промени во прикажувањето специфични гени.
- Б и Т-клеточната активација делат многу паралели, вклучувајќи ја поделбата на функциите во поединиците од рецепторот, активацијата од мембрански поврзаните протеински тирозински кинази, група големи сигнални комплекси со протеин тирозин киназна активност и употребата на одреден број сигналнопренесувачки патеки.
- Б-клеточниот корецептор може да го интензивира активирачкиот сигнал добиен од вкрстеното поврзување на мИг, што може да биде особено значајно при првичниот одговор кон противген со ниска концентрација.
- Мембрански поврзаниот молекул КД22 врз клетката може да дејствува како негативен регулатор на Б-клеточната активација. Протеин тирозин фосфатазите прикачени за ИТИМ од цитоплазминиот крај од КД22 ги деактивира БКР-поврзаните сигнални комплекси преку отстранување на фосфатази кои се додадени од страна на активирачките протеин тирозински кинази.
- Активацијата поттикната од страна на ТЗ противгени, бара контактнозависна помош која е доставена од меѓудејството помеѓу КД40 на Б-клетките и КД40Л на активираните $Т_{по}$ клетки. Меѓудејството КД40/КД40Л е неопходно за опстанокот на Б-клетките, за создавањето на зародишните центри, за создавањето на памтечки клеточни популации и за соматската хипермутација.
- Особините на првичните и вторичните противтелни одговори се разликуваат. Првичниот одговор има долг период на задоцнување, а ИгМ ја претставува првата класа на противтело која се создава, по што следи постепено менување кон други класи. Вторичниот одговор има пократко време на задоцнување и одговорот трае подолго. ИгГ и другите изотипови се главните продукти кои се создаваат при вторичниот одговор наместо ИгМ, а просечениот афинитет на создаденото противтело е повисок.

- Зародишните центри, областите за соматска хипермутација на прераспоредените имуноглобулински гени, се формираат во тек на една недела или околу една недела по изложувањето на ТЗ противген. Зародишните центри се областите за афинитетно зреење, создавањето на памтечки Б-клетки, класно превклучување и создавањето плазма клетки.
- Хуморалните имуни одговори може да се попречат од противтелната ретроакција, процес при кој врзувањето на противген-противтелниот комплекс со Фкгама рецепторите на Б-клетките го попречува БКР-то сигнализирање.

Референции

Berek, C. 1999. Affinity maturation. In Fundamental Immunology, 4th ed. W. E. Paul, ed. Lippincott-Raven, Philadelphia and New York.

Berland, R., and H. H. Wortis. 2002. Origins and functions of

B-1 cells with notes on the role of CD5. Annual Review of Immunology 20:253.

Bromburg, J. S. 2004. The beginnings of T-B collaboration. Journal of Immunology 173:7.

Bruton, O. C. 1952. Agammaglobulinemia. Pediatrics 9:722.

Burrows, P. D., et al. 2004. The development of human B lymphocytes. In Molecular Biology of B Cells. T. Honjo, F. W. Alt, and M. Neuberger, eds. Elsevier Academic Press, Amsterdam.

Dal Porto, J. M., et al. 2004. B cell antigen receptor signaling 101. Molecular Immunology 41:599.

Jacob, J., G. Kelsoe, K. Rajewsky, and U. Weiss. 1991. Intraclonal generation of antibody mutants in germinal centres. Nature 354:389.

Manis, J. P., M. Tian, and F. W. Alt. 2002. Mechanism and control of class-switch recombination. Trends in Immunology 23:31.

Matthias, P. and A. G. Rolink, A. G. 2005. Transcriptional networks in developing and mature B cells. Nature Reviews Immunology 5:497.

Matsuuchi, L., and M. R. Gold. 2001. New views of BCR structure and organization. Current Opinion in Immunology 13:270.

Melchers, F., and A. Rolink. 1999. B-lymphocyte development and biology. In Fundamental Immunology, 4th ed. W. E. Paul, ed. Lippincott-Raven, Philadelphia and New York.

Meffre, E., R. Casellas, and M. C. Nussenzweig. 2000. Antibody regulation of B-cell development. Nature Immunology 1:379.

Nitschke, L., and D. T. Fearon. 2004. Regulation of antigen receptor signaling by the co-receptors, CD19 and CD22. In Molecular Biology of B Cells. T. Honjo, F. W. Alt, and M. Neuberger, eds. Elsevier Academic Press, Amsterdam.

Okada, T., et al. 2005. Antigen-engaged B cells undergo chemotaxis toward the T zone and form motile conjugates with helper T cells. Public Library of Science Biology 3:1047.

Papavasiliou, F. N., and D. G. Schatz. 2002. Somatic hypermutation of immunoglobulin genes: merging mechanisms for genetic diversity. Cell 109:S35.

Корисни веб-страни

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Omim/getmorbid.cgi

Веб-страната на The online Mendelian Inheretence in Man содржи поединица која ги прикажува наследните болести, вклучувајќи ги и тие поврзани со Б-клеточните дефекти.

http://www.bioscience.org/knockout/knochome.htm

На Frontiers in Bioscience Database od Gene Knockouts, може да се најдат информации за ефектите при отстранување на повеќето гени кои се вклучени во развојот и функционирањето на Б-клетките.

http://stke.sciencemag.org/

Одлична и детална понуда од *Science,* што ги покрива сигналнопренесувачките патеки. Базата на податоци вклучува написи, прегледи и експериментални протоколи.

Прашања за учење

ПРАШАЊА ОД КЛИНИЧКИОТ ФОКУС. Пациентите со икс-врзана агамоглобулинемија се подложни на инфекција од широк опсег на патогени. Претпоставете дека имате три извори на високопрочистен хуман имуноглобулин (ВпИг) за лекување на пациенти со икс-врзана агамаглобулинемија. Човечкиот Иг од сите три извори се поедначкво прочистени агенси кои предизвикуваат болест и поедначкво добро се поднесувани од страна на примателите, но бројот на дарители чија крв е земена за подготвување на секој извор се разликува во голема мера: 100 лица за извор А, 1000 за извор Б и 60000 за извор Ц. Кој ќе го одберете вие и која е основата за вашиот извор?

1. Наведете кој од следниве искази кој се однесува на Б-клеточното зреење е вистинит или невистинит. Ако мислите дека одреден исказ не е точен, објаснете зошто.

   а) $В_Т$-$Д_Т$-J преуредувањето на тешката верига започнува во пре-Б-клеточната фаза.
   б) Незрелите Б-клетки прикажуваат мембрански ИгМ и ИгД.
   в) Ензимот терминална деоксирибонуклеинска трансфераза (ТдТ) е активен во пре-Б-клеточната фаза.
   г) Сурогатот на лесната верига е прикажан од страна на пре-Б-клетките.
   д) Сопственореактивните Б-клетки може да се спасат од негативната селекција преку прикажување на различна лесна верига.

ѓ) Со цел да се развијат во незрели Б-клетки, пре-Б-клетките мора да стапат во директно меѓудејство со стромалните клетки од коскената срцевина.
е) Повеќето Б-клетки кои се создаваат секој ден никогаш не ја напуштаат коскената срцевина како зрели Б-клетки.

2. Ju 2. Имате флуоресцеински (FI) означено противтело за мишката верига и родаминско (Rb) означено противтело за делта тешката верига. Објаснете го моделот на флуоресцентно противтелно обојување од следниве фази на Б-клеточното зреење, претпоставувајќи дека ќе ги замислите обојувањата на цитоплазмата и мембраната: (а) родителска Б-клетка (род-Б-клетка), (б) претходничка Б-клетка (пре-Б-клетка), (в) незрела Б-клетка, (г) зрела Б-клетка и (д) плазма клетка пред настанување какво било класно превклучување.

3. Објаснете ја општата структура и можната функција на Б-клеточниот корецепторен комплекс.

4. Во експериментот на Гуднов кој ја прикажува клонската анергија на Б-клетките, се споредуваат два типа трансгени глувци: единичнотрансгени кои носат трансгенокодирачко противтело против лизозомот од белката на кокошкиното јајце (ЛКЈ) и двојнотрансгени кои носат трансген против-ЛКБ и трансген ЛКБ поврзани за цинкактивиран металотионински поттикнувач.

а) Кај единично и двојнотрансгените, 60% до 90% од Б-клетките прикажуваат против-ЛКБ мембрански поврзано противтело. Објаснете зошто.
б) Како може да покажете дека мембранското противтело на овие Б-клетки е специфично за ЛКБ и како може да го одредите неговиот изотип?
ц) Зошто при создавањето на ЛКБ трансгенот се употребувал металотионинскиот поттикнувач?
д) Направете експеримент за да докажете дека Б-клетките, не Тпо клетките, од двојнотрансгените биле анергични.

5. Објаснете го потеклото на способноста и постепените сигнали кои се потребни за активацијата и пролиферацијата на Б-клетките поттикнати од (а) растворливи протеински противгени и (б) бактериски липополисахарид (ЛПС).

6. Пополнете ги празните полиња на секој исказ долу (а-ж) со најсоодветниот/те израз(и) кои се наведени. Изразите може да се користат и повеќе од еднаш или воопшто да не се користат.

темна зона	центробласти	памтечки Б-клетки
светла зона	центроцити	плазмабласти
паракортекс	фоликуларни стеблести клетки	$T_{по}$ клетки
кора	срцевина	

а) Повеќето центроцити умираат од апоптоза во _____.
б) Почетното активирање на неискусните Б-клетки кои се поттикнати од тимуснозависните антигени настанува во _____ од лимфните јазли.
в) _____ претставуваат лесно деливи Б-клетки кои се лоцирани во _____ од зародишните центри.
г) _____ кои прикажуваат мИг со висок афинитет стапуваат во меѓудејство со противген кој е заробен од страна на _____ во светлата зона.
д) Класното превклучување настанува во _____ и бара директен контакт помеѓу Б-клетките и _____.
ѓ) Центроцитите кои прикажуваат мИг специфичен за сопствен противген кој е присутен во коскената срцевина се подложни на негативна селекција во _____.
е) Во лимфните јазли, плазма клетките обично се среќаваат во _____ од вторичните фоликули.
ж) Соматската хипермутација, која настанува при пролиферација на _____, е значајна за афинитетното зреење.

7. Активацијата и диференцијацијата на Б-клетките при одговор на тимуснозависните (ТЗ) противгени бара $T_{по}$ клетки, додека Б-клеточниот одговор на тимуснонезависните (ТН) противгени не бара $T_{по}$ клетки.

а) Објаснете ги разликите во структурата на ТЗ, ТН-1 и ТН-2 противгените и особините на хуморалните одговори кои се поттикнати од нив.
б) Врзувањето на која класа од противген за мИг овозможува ефективен и способен сигнал за Б-клеточна активација?

8. Б-клеточно активирачките сигнали мора да се пренесат во внатрешноста на клетката за да влијаат врз развојните процеси. Но и покрај тоа цитоплазминте краеви на сите изотипови од мИг во Б-клетките се прекратки за да функционираат во сигналното пренесување.

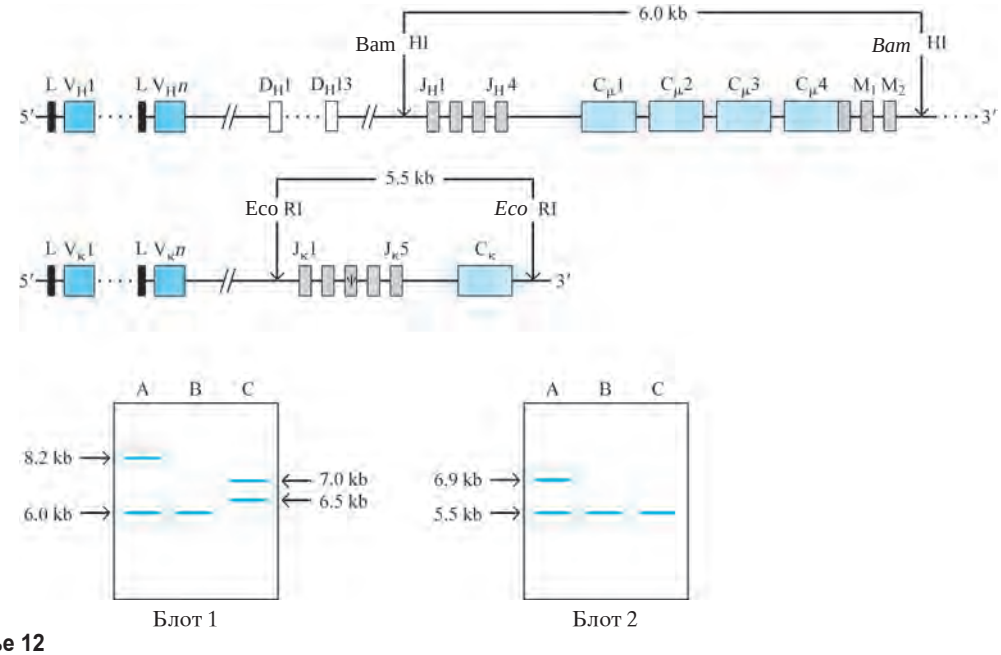
а) Како неискусните Б-клетки го пренесуваат сигналот поттикнат од вкрстеното поврзување на мИг со противген?
б) Објаснете го општиот резултат од сигналното пренесување во Б-клетките при противгенпоттикната активација и пролиферација.

9. Во дел од своите експерименти, Немази и Бурки измешаа глувци кои имаат трансген кој кодира $K^б$, класа 1 ГТК молекул, поврзан со црнодробноспецифичен поттикнувач со глувци кои носат трансгено кодирачко противтело против $K^б$. Кај двојнотрансгеничните глувци кои се јавуваат како резултат од експериментот, во коскената срцевина, но не и во лимфните јазли, биле пронајдени $K^б$врзувачки Б-клетки. Наспроти тоа, против-$K^б$единичнотрансгените глувци имале $K^б$врзувачки Б-клетки и во лимфните јазли и во коскената срцевина.

а) Дали хаплотипот кој го примија глувците кои ги примија трансгените бил Х-$2^б$ или некој друг хаплотип?
б) Зошто при овие експерименти трансгенот $K^б$ бил поврзан со црнодробноспецифичен поттикнувач?
в) Што кажуваат овие резултати за поттикнувањето на Б-клеточна толеранација кон сопствени противгени?

10. Наведете кој од следниве искази е точен или неточен. Ако мислите дека одреден исказ не е точен, објаснете зошто.

а) Цитокините може да одредат која гранка од имуниот систем е активирана.
б) Имунизацијата со хаптенносачки конјугат доведува до создавање противтела за епитопите од хаптенот и носачот.
в) Сите противтела кои ги лачат плазма клетките го имаат истиот идиотип и изотип.
г) Ако глувците се имунизирани со КЦКК, а ден подоцна се имунизирани со ОЦКК, противтелниот одговор на ОЦКК ќе биде мошне повисок од одговорот кој е постигнат кај контролните глувци кои се имунизирани само со ОЦКК.



Блот 1 Блот 2

За потребите на прашање 12

11. Четири глувци се имунизирани со противген под условите кои се наведени долу (а-г). Во секој случај означете дали поттикнатите серумски противтела ќе имаат висок афинитет или низок афинитет и дали поголемиот дел од нив ќе бидат ИгМ или ИгГ.

    а) Првичен одговор на ниска противгенска доза.
    б) Вторичен одговор на ниска противгенска доза.
    ц) Првичен одговор на висока противгенска доза.
    д) Вторичен одговор на висока противгенска доза.

12. ДНК била изолирана од три извори: клетки од црниот дроб, пре-Б лимфомски клетки и миеломски клетки кои лачат ИгМ. Секој примерок на ДНК бил одделно дигериран со рестриктивните ензими *Bam*HI и *Eco*RI, кои ја разложуваат зародишната ДНК од тешката верига и капа лесната верига како што е означено во делот а од сликата погоре. Дигерираните примероци се анализирани со Садерново дамкосување со употреба на радиоозначена сонда $Ц_m1$ со дигестирање *Bam*HI (дамка 1) и радиоозначена сонда $С_к$ со дигестирање *Eco*RI (дамка 2). Моделите на дамкосување се прикажани во делот *б* од сликата.
    Од овие информации, кој примерок на ДНК (означен со А, Б и В) е изолиран од (а) клетки од црниот дроб, (б) пре-Б лимфомна клетка и (в) миеломски клетки кои лачат ИгМ? Објаснете ги вашите задачи.

13. Наведете кој од следниве искази е точен или неточен. Ако мислите дека одреден исказ не е точен, објаснете зошто.

    а) КД21 не само што е комплементен рецептор туку исто така е и неопходен дел од Б-клеточниот рецепторен комплекс.
    б) Сигналното пренесувањето низ БКР комплекс доведува до пренесување АР-1 во цитосолот.
    в) Ревакцините се потребни бидејќи повтореното изложување на противгенот гради посилен имун одговор.
    г) ИгА е направен против ТН-противгените.
    д) Б-клетките созреваат во ефекторните клетки од тимусот.
    ѓ) По лачењето големи количини противтело од страна на плазма клетките и присуството на мала количина на слободен противген, клетките запираат со секреција на противтела бидејќи БКР повеќе не е стимулиран.
    е) ТН-1 противгените се супстанции како што е ЛПС кои можат да ги активираат Б-клетките неспецифично при високи концентрации.

14. Секој од следните искази, надополнете го со соодветниот збор или фраза.

    а) Икс-врзаниот хипер-ИгМ синдром се јавува како резултат на дефект во КД40 лигандот на Т-клетките, кој влијае на Б-клетките при блокирање _____.
    б) Цитокинот _____ ги поттикнува Б-клетките да претрпат класно превклучување на ИгЕ.
    в) Сурогатот на лесната верига од пре-БКР е составен од _____ и _____.
    г) Зрелите _____ создаваат големи количества растворлив ИгГ.

Интерактивно учење

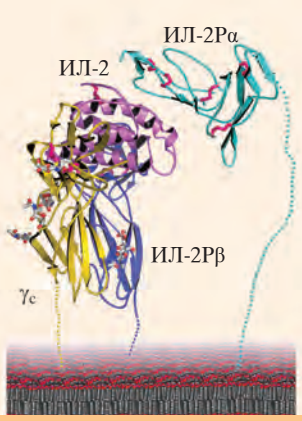
www.whfreeman.com/kuby

Самостоен тест
Преглед на клучните изрази

Анимација
Сигнално пренесување

Поглавје 12

Цитокини



ИЛ-2 рецептор со врзан ИЛ-2 лиганд [Од X. Wang, M. Rickert и K. C. Garcia, 2005, Science 310:1159.]

- Особини на цитокините
- Цитокински рецептори
- Цитокински противници
- Цитокинско лачење од Тпо1 и Тпо2 подгрупите
- Цитокински поврзани болести
- Терапии базирани на цитокин
- Цитокини во хематопоезата

Развојот на ефективен имун одговор вклучува лимфоидни клетки, воспалителни клетки и хематопоетски клетки. Сложените меѓудејства помеѓу овие клетки се посредувани од група протеини наречени **цитокини** за да се означи нивната улога во комуникацијата клетка-со-клетка (*цито-*, „клетка“, од грчкиот збор *кинеин-*, „да се движи“). Цитокините се регулаторни протеини со мала молекулска тежина или гликопротеини кои се лачат од страна на белите крвни клетки и разни други клетки во телото како одговор на бројни стимулуси. Овие протеини помагаат при регулирањето на развојот на имуните ефекторни клетки, а одредени цитокини поседуваат директни ефекторни функции.

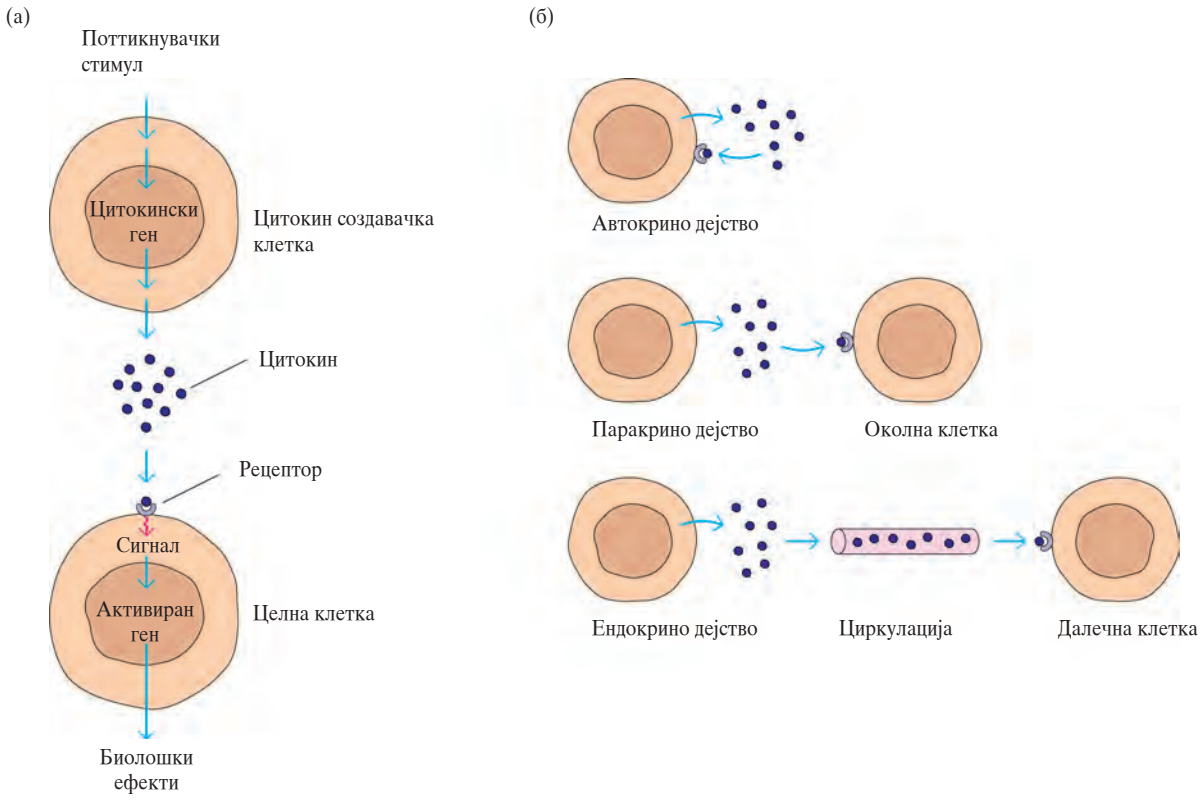
Изразот *цитокин* ги опфаќа цитокините кои се лачат од страна на лимфоцитите, супстанции претходно познати како **лимфокини** и оние цитокини кои се лачат од страна на моноцитите и макрофагите, супстанции претходно познати како **монокини**. Иако овие два израза и понатаму се користат, тие се неправилни бидејќи лачењето голем број лимфокини и монокини не е ограничено за лимфоцити и моноцити како што укажуваат овие изрази, туку се протега на широк спектар клетки и видови. Поради оваа причина, се преферира повклучувачкиот израз *цитокин*.

Многу цитокини се наречени **интерлеукини**, име кое означува дека тие се излачени од некои бели клетки и дејствуваат врз други бели клетки. Опишани се интерлеукините означени со ИЛ-1 до ИЛ-29. Има причина за претпоставка дека ќе се откријат дополнителни цитокини и дека групата на интерлеукините дополнително ќе се прошири. Некои цитокини се познати по вообичаени имиња, вклучувајќи ги туморнонекротизирачките фактори и интерфероните, иако на одредени интерферони кои од неодамна се опишани како членови од фамилијата на интерферонот ламбда им е дадена ознака ИЛ. Друга подгрупа цитокини се **хемокините**, група цитокини со мала молекулска тежина кои влијаат врз хемотаксата и други аспекти од однесувањето на белите клетки. Овие молекули, кои играат значајна улога при воспалителниот одговор, беа претставени во глава 3, а подетално се објаснети во глава 13.

Оваа глава се фокусира на биолошката активност на цитокините, структурата на цитокините и нивните рецептори, сигналното пренесување преку цитокинските рецептори, улогата на цитокинските абнормалности во патогенезата на одредени болести и терапевтската примена на цитокините и нивните рецептори. Значајната улога на цитокините во воспалителниот одговор е објаснета во глава 13.

Особини на цитокините

Цитокините се врзуваат за специфични рецептори врз мембраната од целните клетки, поттикнувајќи ги сигналнопренесувачките патеки кои на крајот го менуваат генското прикажување во целните клетки (слика 12-1а). Осетливоста на целната клетка кон одреден цитокин е одредена со присуството на специфични мембрански рецептори. Понатаму ќе видиме дека цитокинските рецептори можат да бидат направени од неколку различни вериги и дека рецепторот за даден цитокин може да постои во различни комбинации на овие вериги врз клеточната површина. Овие комбинации на вериги варираат по афинитетот со кои тие се врзуваат за цитокинот и исто така можат да варираат и во нивната способност да поттикнат сигналнопренесувачка патека по врзувањето. Во основа, цитокините и нивните целосно групирани рецептори меѓусебно покажуваат мошне голем афинитет и доставуваат внатреклеточни сигнали. Константа на дисоцијација на цитокините и нивните оптимални рецептори се движи од 10^{-10} и 10^{-12} М. Бидејќи нивните афинитети се мошне високи, цитокините можат да посредуваат биолошки ефекти при пикомоларни концентрации.



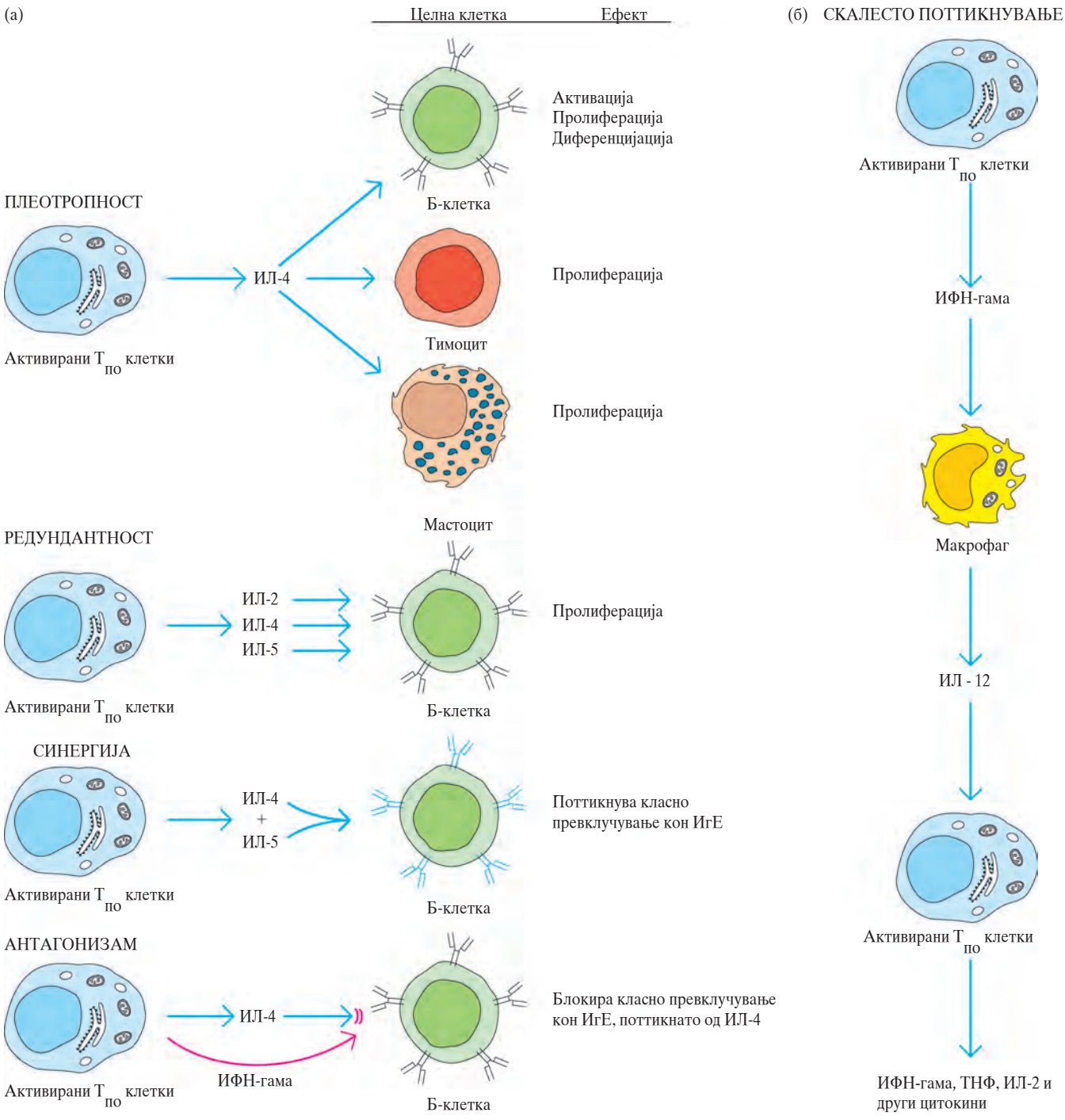
СЛИКА 12-1 **(а) Преглед на поттикнувањето и функцијата на цитокините**. (б) Повеќето цитокини извршуваат автокрино и/или паракрино дејство, помалку извршуваат ендокрино дејство.

Одреден цитокин може да се врзе за рецептори врз мембраната од иста клетка која го излачила, извршувајќи **автокрино** дејство. Може да се врзе за рецептори од целната клетка во блиската околина на создавачката клетка, извршувајќи **паракрино** дејство. Во неколку случаи, може да се врзе за целните клетки во далечни делови од телото извршувајќи **ендокрино** дејство (слика 12-1б). Цитокините го регулираат интензитетот и траењето на имуниот одговор преку стимулирање или попречување на активацијата, пролиферацијата и/или диференцијацијата на разни клетки и преку регулирање на лачењето на противтела или други цитокини. Како што објаснивме претходно, врзувањето на даден цитокин со реактивните целни клетки во основа стимулира зголемено прикажување на цитокинските рецептори и лачење други цитокини, кои по ред влијаат врз другите целни клетки. Според тоа, дури и цитокините кои се излачени од мал број лимфоцити активирани од противген, можат да влијаат врз активноста на бројните клетки вклучени во имуниот одговор. На пример, цитокините кои се создадени од страна на активираните Тпо клетки можат да влијаат врз активноста на Б-клетките, Тцт-клетки, клетките природни убијци, макрофагите, гранулоцитите и хематопоетските матични клетки, оттука мобилизирајќи цела мрежа клетки кои стапуваат во меѓудејство.

Цитокините покажуваат особини на плеотропност, редундантност, синергија, противништво и скалесто поттикнување, што им дозволува да ја регулираат клеточната активност на координиран, интерактивен начин (слика 12-2). Даден цитокин кој има различни биолошки ефекти врз различни целни клетки има плеотропно дејство. За два или повеќе цитокини кои посредуваат слични функции се вели дека се редундантни. Редундантноста го отежнува припишувањето на одредена активност на еден цитокин. Цитокинскиот синергизам настанува кога комбинираниот ефект од два цитокина врз клеточната активност е поголем од адитивните ефекти на одделните цитокини. При одредени случаи, цитокините извршуваат противништво (антагонизам), односно ефектите на еден цитокин ги попречува или ги неутрализира ефектите на друг цитокин. Скалестото поттикнување настанува кога дејството на еден цитокин врз целната клетка поттикнува таа клетка да создава еден или повеќе други цитокини, кои во редослед можат да поттикнат други клетки да создаваат други цитокини.

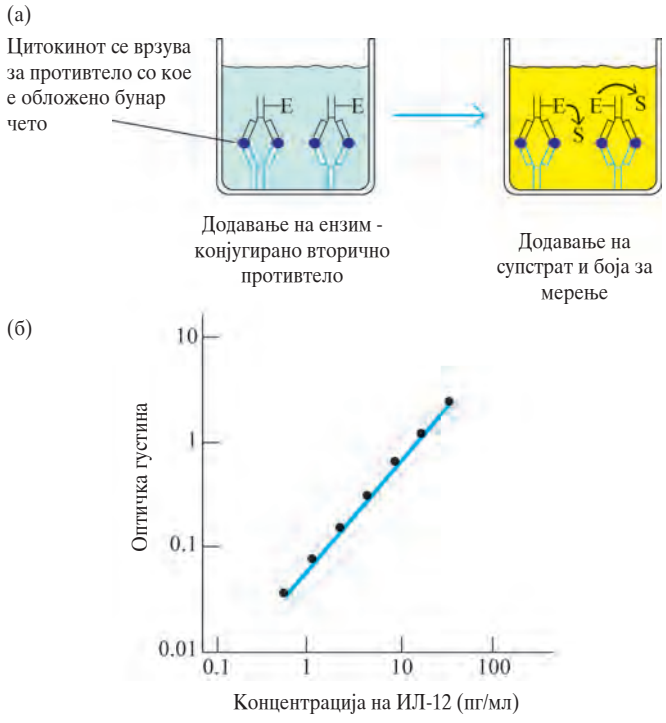
Бидејќи цитокините делат голем број особини со хормоните и факторите за раст, разликата помеѓу овие три класи на посредници често се мешаат. Сите три се секретирани растворливи фактори кои ги изнудуваат нивните биолошки ефекти при пикомоларни концентрации преку врзување за рецептори од целните клетки. Сепак, одредени разлики во нивните општи особини ги одделуваат. На пример, трите посредници се разликуваат по нивните начини на прикажување: факторите за раст се стремат да се создаваат постојано, додека цитокините и хормоните се лачат како одговор на дискретни стимулси, а лачењето е краткотрајна, обично се движи од неколку часа до неколку дена. За разлика од хормоните, кои обично дејствуваат широко на ендокрин начин, повеќето цитокини дејствуваат на кратко растојание преку автокрин или паракрин начин. Според тоа, повеќето хормони се создадени од специјализирани жлезди и се стремат да имаат уникатно дејство врз еден или повеќе типови на целна клетка. Наспроти тоа, цитокините често се врзуваат со и се создаваат од разни клетки.

Активноста на цитокините прво била препознаена во средните шеесетти години од дваесеттиот век, кога се откри дека супернатантите создадени од ин витро култивирања на



СЛИКА 12-2 Цитокински својства на (а) плеотропност, редундантност, синергија (синергизам), противништво (антагонизам) и (б) скалесто поттикнување.

лимфоцитите содржат растворливи фактори кои можат да ја регулираат пролиферацијата, диференцијацијата и зреењето на клетките од имуниот систем, вклучувајќи ги клетките од домаќинот кои се разликуваат по нивната генетска структура. Набргу потоа, се откри дека создавањето на овие цитокини од страна на култивираните лимфоцити е поттикнато од активацијата со противген или со неспецифични митогени. Биохемиската изолација и прочистувањето на цитокините биле оневозможени поради нивната ниска концентрација во супернатантите од културата и отсуството на добро дефинирани системи за испитување на поединечните цитокини. Големиот напредок бил направен со развојот на ген-клонирачките техники во 70-те и 80-те години од дваесеттиот век, што овозможи создавање на чисти цитокини преку прикажување на протеинот од клонираните гени. Откритието на клеточните лози чиј раст зависи од присуството на одредени цитокини на истражувачите им ги даде првите едноставни системи за испитување. Создавањето на моноклонските противтела кои се специфични за секој од позначајните цитокини го овозможија развојот на брзите квантитативни имуноанализи за секој



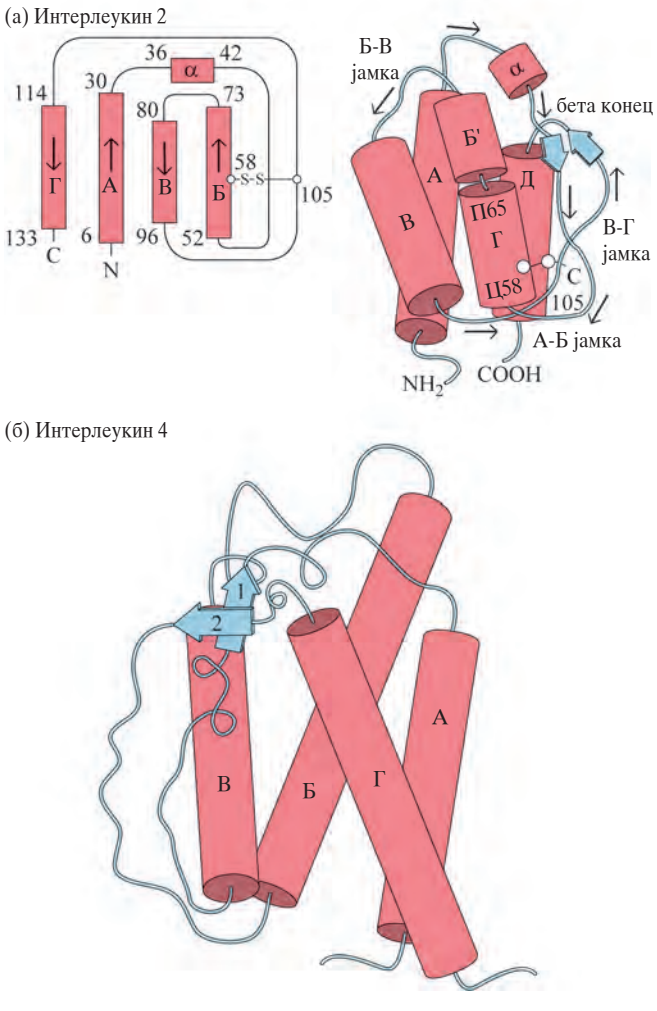
СЛИКА 12-3 **Анализа ЕЛИСА на цитокини.** (а) Примерокот кој го содржи цитокинот кој се испитува е врзан од специфично противтело (сина боја) обложено во бунарчињата на микротитарската плочка. Второ специфично противтело (сина боја), конјугирано со ензим (Е) како што е ренска пероксидаза, формира сендвич со заробениот цитокин, врзувајќи го ензимот во микротитарното бунарче. Додаден е хромогенски супстрат (С), а ензимот создава боја чиј интензитет е пропорционален со количината на цитокинот кој е заробен од противтелото. Оптичката густина од оваа боја која потекнува од непозната концентрација на цитокинот се споредува со вредностите на соодветно одредена стандардна крива. (б) Стандардната крива која е овде прикажана е за хуман интерлеукин-12 (ИЛ-12). Јасно е дека оваа анализа е доволно чувствителна за да открие мали количини како 1 пикограм од ИЛ-12. *[Дел Б, сопственост на R&D Systems.]*

цитокин (слика 12-3). Во однос на ЕЛИСА која е прикажана овде, специфични противцитокински противтела се користат за внатреклеточното боење на клетките со ФАЦС анализата и при ЕЛИСПОТ анализата, кои го мерат лачењето на специфичниот цитокин од клетките во популацијата (слика 6-11).

Цитокините припаѓаат на четири фамилии

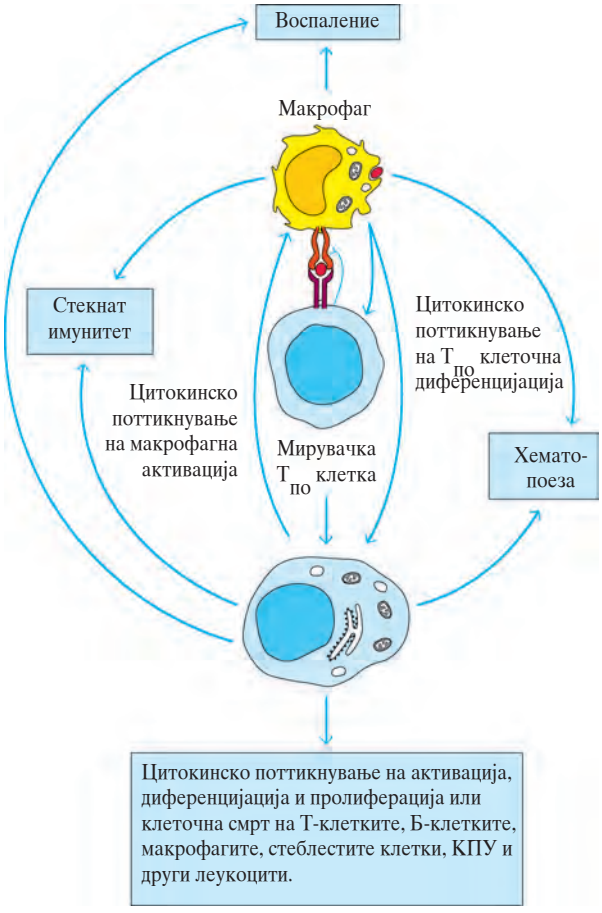
Во последниве години видовме експлозија на податоци за нови цитокини и нови рецептори. Истражувачите ќе продолжат да насобираат информации во оваа област, откривајќи многу деликатни особини за цитокините и нивните повеќекратни активности и меѓудејства. Важно е тоа да се нагласи без разлика колку и да стане долга оваа листа на молекули, каде сите делат исти особини и скоро сите од неодамна опишаните цитокини дејствуваат заеднички со други. Напредоците во геномската анализа овозможија истражување на геномот за протеини кои делат мноштво особини. Според тоа, откривме дека има седум членови на групата ИЛ-1, наспроти двата кои претходно беа откриени. Вистинското значење на ова за имуната функција останува да се открие и не е во доменот на оваа дискусија. Целта овде не е да се претстави детална листа на цитокини (види додаток II), туку да се дадат општите начела кои треба да се применат кога се откриваат нови цитокини.

Штом гените кои кодираат различни цитокини се клонирани, доволни количини на прочистени препарати стануваат достапни за детални проучувања на нивната структура и функција. Овие студии ги открија заедничките особини. Во основа цитокините имаат молекулска маса која е помала од 30 кДа. Студиите за структурата покажаа дека цитокините кои до сега се карактеризирани припаѓаат на една од четирите фамилии: хематопоетинска фамилија, интерферонска фамилија, хемокинска фамилија или фамилија на тумор некротизирачкиот фактор.



СЛИКА 12-4 **Некои претставувања на структурите во хематопоетинска фамилија**. (а) *Лево*: Топографско прикажување на примарната структура на ИЛ-2 која ги покажува алфа спиралните подрачја (алфа и А-Г) и поврзувачките вериги од молекулот. *Десно*: Предложен тридимензионален модел на ИЛ-2. (б) Модел на лента на ИЛ-4 добиен од рендгенско кристалографско испитување на молекулот. Во *а* и *б* алфа спиралите се прикажани со црвена боја, а бета плочите во сина боја. Структурите на другите цитокини кои припаѓаат на хематопоетинската фамилија се верува дека во основа се слични. [*Дел Б од J. L. Boulay* и *W. E. Paul. 1993, Current Biology* ***3****:573.]*

СЛИКА НА ДЕТАЛНИОТ ПРЕГЛЕД 12-5:
Цитокинските функции во вродениот и стекнатиот имунитет



Меѓудејството на противгенот со макрофагите и последователна активација на мирувачките Тпо клетки води до ослободување на бројни цитокини (сините стрелки), создавајќи сложена мрежа клетки кои стапуваат во меѓудејства при имуниот одговор.

Структурите на два члена од хематопоетинската фамилија, ИЛ-2 и ИЛ-4, се прикажани на слика 12-4. Иако аминокиселинските секвенции од овие фамилијарни членови значително се разликуваат, сите имаат висок степен на алфа спирална структура и мала или воопшто немаат бета плочеста структура. Молекулите делат слични полипептидни дипли, со четири алфа спирални подрачја (А-Д) каде првата и втората спирала и третата и четвртата се поставени грубо паралелно и се поврзани со јамки.

Цитокините имаат бројни биолошки функции

Иако мноштво клетки можат да лачат цитокини, основните произведувачи се Тпо клетки, стеблестите клетки и макрофагите. Цитокините кои се ослободени од овие видови клетки активираат цела мрежа клетки кои стапуваат во меѓудејство (слика 12-5). Меѓу бројните физиолошки реакции кои бараат цитокинско вклучување се развојот на клеточните и хуморалните имуни одговори, поттикнувањето на воспалителен одговор, регулирањето на хематопоезата, контрола на клеточната пролиферација и диференцијација и лекувањето на раните. Иако имуниот одговор на специфичен противген може да вклучува создавање цитокини, важно е да се запомни дека цитокините дејствуваат на противген неспецифичен начин. Односно, тие влијаат врз која било клетка со која ќе се сретнат која има соодветни рецептори и се во физичка состојба која им овозможува да реагираат.

Сè вкупно, вкупниот број на протеини со цитокинска активност надминува 200, а истражувањата продолжуваат да откриваат нови. Табела 12-1 ги резимира активностите на одредени често сретнувани цитокини и ги сместува во функционални групи. Во додаток II може да се најде проширената листа на цитокини. Треба да се има предвид дека повеќето од наведените функции се утврдени со анализа на ефектите од

ТАБЕЛА 12-1 Функционални групи на селектираните цитокини*

Цитокин †	Излачени од ‡	Цели и ефекти
ОДРЕДЕНИ ЦИТОКИНИ ОД ВРОДЕНИОТ ИМУНИТЕТ		
Интерлеукин 1(ИЛ-1)	Моноцити, макрофаги, ендотелни клетки, епителни клетки	Крвни садови (воспаление), хипоталамус (треска), црн дроб (поттикнување протеини на акутна фаза)
Туморно некротизирачки фактор-алфа (ТНФ-алфа)	Макрофаги	Крвни садови (воспаление), црн дроб (поттикнување протеини на акутна фаза), загуба на мускулна маса, телесни масти (кахексија), поттикнување на смртта кај многу клеточни видови, неутрофилна активација
Интерлеукин 12 (ИЛ-11)	Макрофаги, стеблести клетки	КПУ, влијаат врз стекнатиот имунитет (поттикнуваат Тпо1 подгрупа)
Интерлеукин 6 (ИЛ-6)	Макрофаги, ендотелни клетки	Црн дроб (поттикнување протеини на акутна фаза), влијае на стекнатиот имунитет (пролиферација и противтелно излачување од страна на Б-клеточната лоза)
Интерферон алфа (ИНФ-алфа) (ова е фамилија на молекули)	Макрофаги	Поттикнува противвирусна состојба во повеќето јадрени клетки; зголемуваат ГТК класа 1 прикажување; активираат КПУ
Интерферон бета (ИНФ-бета)	Фибробласти	Поттикнува противвирусна состојба во повеќето јадрени клетки; зголемуваат ГТК класа 1 прикажување; активираат КПУ
ОДРЕДЕНИ ЦИТОКИНИ ОД СТЕКНАТИОТ ИМУНИТЕТ		
Интерлеукин 2 (ИЛ-2)	Т-клетки	Т-клеточна пролиферација, може да поттикне АИЦД. Активација и пролиферација на КПУ, Б-клеточна пролиферација
Интерлеукин 4 (ИЛ-4)	Тпо2 клетки, мастоцити	Поттикнува Тпо2 диференцијација, изотипско превклучување кон ИгЕ
Интерлеукин 5 (ИЛ-5)	Тпо2 клетки	Еозинофилна активација и создавање
Трансформирачки фактор на раст бета (ТФР-бета)	Т-клетки, макрофаги, други клеточни видови	Попречуваат Т-клеточна пролиферација и ефекторни функции; попречуваат Б-клеточна пролиферација; поттикнува изотипско превклучување кон ИгА; ги попречуваат макрофагите
Интерферон гама (ИНФ-гама)	Тпо1 клетки, КД8⁺ клетки, КПУ	Активираат макрофаги; зголемува прикажување на ГТК класа 1 и класа 2 молекулите; зголемува противгенско прикажување

* Голем број цитокини имаат улоги во повеќе од една функционална категорија.
† Наведени се само главните клеточни видови кои го создаваат цитокинот за означената активност. Други клеточни видови можат исто така да имаат капацитет за синтетизирање на даденот цитокин.
‡ Исто така имајте предвид дека активираните клетки во основа лачат поголеми количини цитокин од неактивираните клетки.

рекомбинантни цитокини, често додадени во ин витро системи на нефизиолошките концентрации. Сепак, ин виво цитокините ретко, можеби никогаш, дејствуваат сами. Наместо тоа, целната клетка е изложена на средина која содржи смеша од цитокини чии комбинирани синергични или антагонистички ефекти можат да имаат многу различни последици. Според тоа, цитокините често поттикнуваат синтеза на други цитокини, што доведува до скала од активности.

Неспецифичноста на цитокините се чини дека противречи на утврдената специфичност во имуниот систем. Што ги спречува цитокините да ги активираат клетките на неспецифичен начин при имуниот одговор? Еден начин на кој е одржана специфичноста е преку внимателна регулација на прикажувањето на цитокинските рецептори врз клетките. Често, цитокинските рецептори се прикажани врз клетката само по меѓудејството на клетката со противгенот, ограничувајќи го цитокинскиот одговор на противген активираните лимфоцити. Специфичноста исто така може да се одржи ако цитокинското лачење настане само кога цитокинсоздавачката клетка директно стапи во меѓудејство со целната клетка, на тој начин обезбедувајќи дека ефективни концентрации на цитокинот ќе се појавуваат само во близина на избраната цел. Во случајот со Тпо клетка, главен создавач на цитокини, клеточното меѓудејство настанува кога Т-клеточниот рецептор препознава противген-ГТК комплекс на соодветната противген прикажувачка клетка, како што е макрофагот, стеблестата клетка или Б-лимфоцитот. Концентрацијата на цитокините кои се излачени при спојот на овие клетки кои стапуваат во меѓудејство достигнува доволно високи локални концентарции за да влијае врз целната ППК, но не и врз далечните клетки. Според тоа, периодот на полураспаѓање на цитокините во крвотокот или во другите надворклеточни течности каде тие се излачени е обично многу краток, обезбедувајќи дека тие дејствуваат во ограничен период и според тоа на кратко растојание.

Цитокински рецептори

Како што видовме, цитокините ги вршат нивните биолошки ефекти преку врзување за специфични рецептори кои се прикажани врз мембраната од реактивните целни клетки. Многу типови на клетки ги прикажуваат тие рецептори и се осетливи на дејството на цитокините. Биохемискиот опис на цитокинските рецептори на почетокот напредувал многу бавно бидејќи нивоата на овие рецептори врз мембраната од реактивните клетки се многу ниски. Што се однесува до самите цитокини, клонирањето на гените кои ги кодираат цитокинските рецептори доведе до брз напредок во утврдувањето и карактеризирањето на овие рецептори.

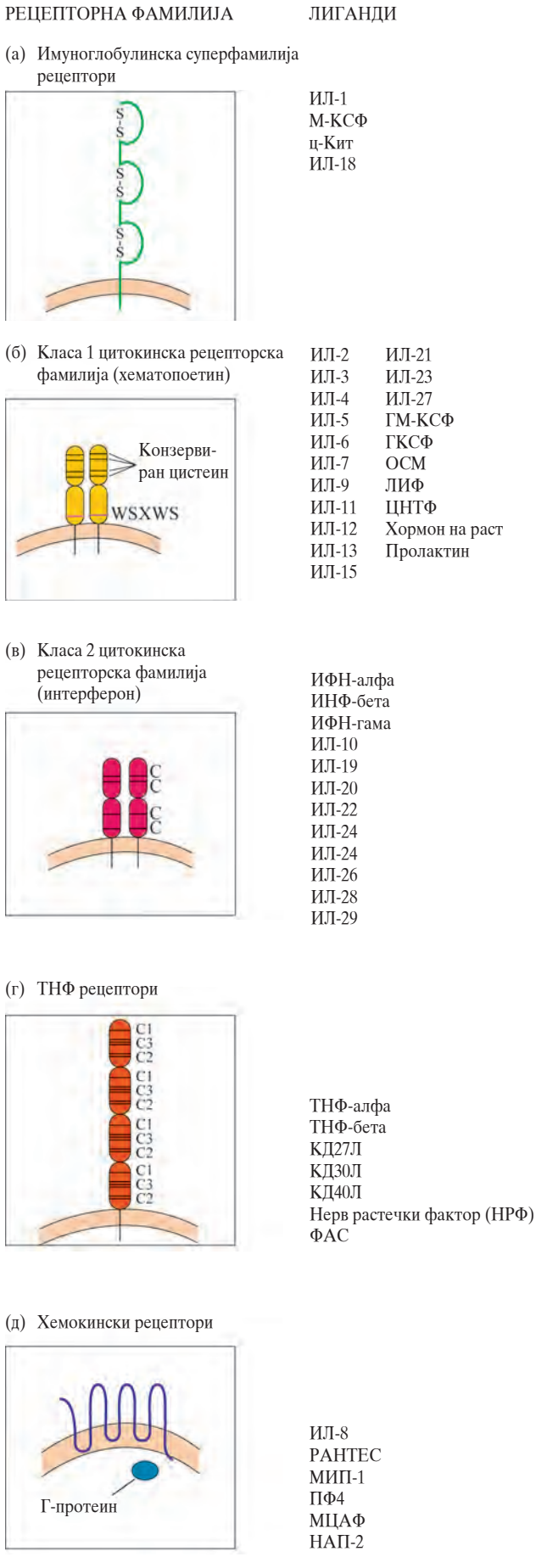
Цитокинските рецептори припаѓаат на четири фамилии

Рецепторите за различни цитокини се мошне разновидни по структура, но скоро сите припаѓаат во една од петте фамилии на рецепторни протеини (слика 12-6):

- Имуноглобулинска суперфамилија рецептори
- Класа 1 цитокинска рецепторска фамилија (исто позната како хематопоетинска рецепторска фамилија)
- Класа 2 цитокинска рецепторска фамилија (исто позната како интерферонска рецепторска фамилија)
- ТНФ рецепторска фамилија
- Хемокинска рецепторска фамилија

Имуноглобулинската суперфамилија го вклучува рецепторот за ИЛ-1. Две форми на ИЛ-1, наречени ИЛ-1алфа и ИЛ-1бета, се добро карактеризирани. Иако овие два протеина се само околу 30% идентични во секвенцијата, тие се идентични по функцијата и се врзуваат за истите рецептори и ги посредуваат истите реакции. Познати се два различни рецептора за ИЛ-1, двата се членови од Иг суперфамилијата на протеините. Типот 1 ИЛ-1Р е прикажан на многу клеточни видови, додека типот 2 ИЛ-1Р е ограничен на Б-клетките. Врзувањето на ИЛ-1 за рецепторот од тип 2 не поттикнува одговор кој е типичен за ИЛ-1, укажувајќи дека тип 2 ИЛ-1Р претставува мамка која е потребна за да се отстрани ИЛ-1, при тоа спречувајќи го неговото врзување за рецепторите од тип 1. Со тип 1 рецепторот за ИЛ-1 се сретнавме во глава 3, кога Толовидните рецептори беа претставени. Во цитоплазматскиот домен од ТВР, ТИР или Тол/ИЛ-1, рецепторот е сличен на подрачјето кај ИЛ-1Р (види слика 3-10). ИЛ-1 игра клучна улога во воспалението и е наречен провоспалителен цитокин. ИЛ-18 е поврзан со ИЛ-1, ја користи истата рецепторна фамилија и има слична функција.

Поголемиот дел цитокин врзувачки рецептори кои функционираат во имуните и хематопоетските системи ѝ припаѓаат на класа 1 цитокин рецепторската фамилија, исто така наречена хематопоетинска рецепторска фамилија. Членовите од оваа фамилија имаат зачувани мотифи од аминокиселинска секвенција во надворклеточниот домен кој се состои од четири позициски зачувани цистеински остатоци (ЦЦЦЦ) и зачувана секвенција на триптофан-серин-(која било аминокиселина)-триптофан-серин (WSXWS, каде X е менлива аминокиселина). Рецепторите за сите цитокини кои се класифицирани како хематопоетини припаѓаат во класа 1 цитокинска рецепторската фамилија. ИЛ-2 и околу 13 други интерлеукини, исто како и неколку колонии стимулирачки фактори и хормони за раст, се врзуваат за рецепторите од оваа фамилија. Достапни се структурните податоци за повеќето рецептори од тип 1 групата, со исклучокот



СЛИКА 12-6 Шематски прикази кои ги прикажуваат структурните особини што ги дефинираат четирите типа на рецепторски протеини за кои повеќето цитокини се врзуваат. Рецепторите за повеќето интерлеукини ѝ припаѓаат на класа 1 цитокин рецепторската фамилија. Ц се однесува на зачуваниот цистеин.

на неодамна опишаниот ИЛ-27Р, кој има една верига заедничка со другите рецептори од фамилијата, а другата верига сè уште не е утврдена.

Класа 2 цитокинските рецептори (понекогаш наречена интерферонска рецепторска фамилија) го поседуваат зачуваниот ЦЦЦЦ мотив, но го немаат WSXWS мотивот, кој е присутен кај класа 1 цитокинските рецептори. На почетокот се веруваше дека само интерфероните алфа, бета и гама се лиганди за овие рецептори. Но, неодамнешната работа покажа дека фамилијата која се состои од 12 рецепторски вериги при нивните различни сортирања се врзува за 27 различни цитокини вклучувајќи шест члена од ИЛ-10 фамилијата, 17 тип 1 интерферони, еден тип 2 интерферон и три члена од неодамна опишаната интерферон ламбда фамилијата, вклучувајќи ги ИЛ-28а, ИЛ-28б и ИЛ-29.

Карактеристика која е заедничка за повеќето од класа 1 и 2 цитокинските рецепторски фамилии се големиот број поединици, често вклучувајќи една поединица која се врзува за специфични цитокински молекули и друга која посредува при сигналното пренесување. Овие две функции не се секогаш поверени на едната поединица или на другата. Сепак, при сите случаи кои се проучени до денес употребата на класа 1 и 2 цитокински рецептори поттикнува тирозин фосфорилација на рецепторот преку активноста на протеинот тирозин киназа кој е тесно поврзан со цитосолниот домен на рецепторите.

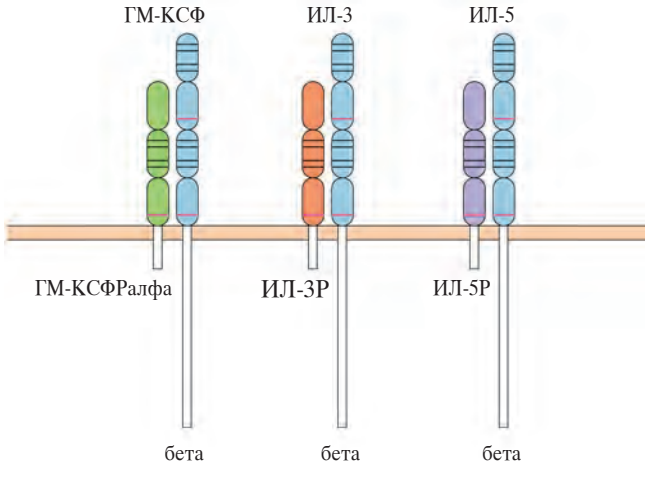
Хемокинските рецептори се различни по структура од другите цитокински рецептори и ќе бидат објаснети во глава 13.

Потфамилиите од класа 1 цитокинските рецептори имаат заеднички сигнални поединици

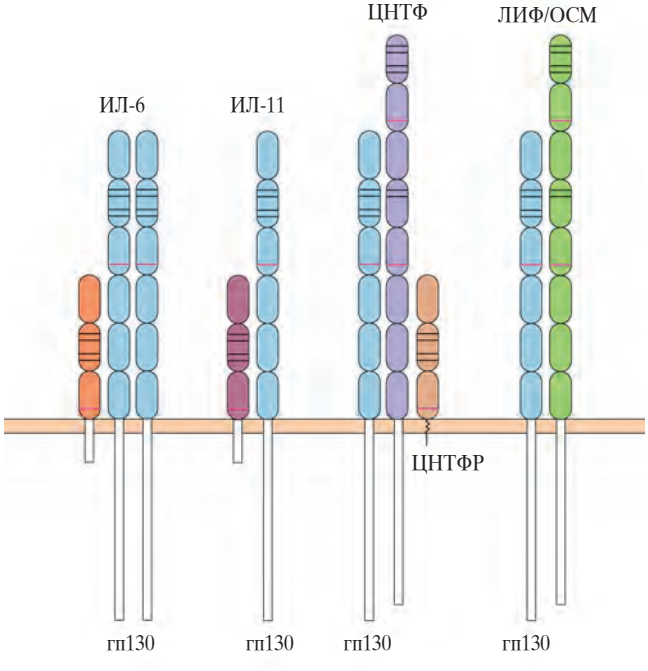
Утврдени се неколку потфамилии од класа 1 цитокинските рецептори, каде сите рецептори од потфамилијата имаат идентична сигнално-преносна поединица. Слика 12-7 дава шематски приказ на членовите од трите рецепторни потфамилии. Именувани по ГМ-КСФ, ИЛ-2 и ИЛ-6.

Делењето на сигнално-преносливите поединици меѓу рецепторите ги објаснува редундантноста и антагонизмот кои го покажуваат одредени цитокини. Разгледувајќи ја ГМ-КСФ рецепторската потфамилија, која ги вклучува рецепторите за ИЛ-3, ИЛ-5 и ГМ-КСФ (слика 12-7а), секој од овие цитокини со низок афинитет се врзува за уникатен цитокинспецифичен рецепторски протеин, алфа поединицата на димерниот рецептор. Сите три нискоафинитетни поединици можат нековалентно да се поврзат со заедничката сигнално-преносливата бета поединица. Како резултат на тоа, димерниот рецептор покажува зголемен афинитет за цитокинот и е способен за пренесување на

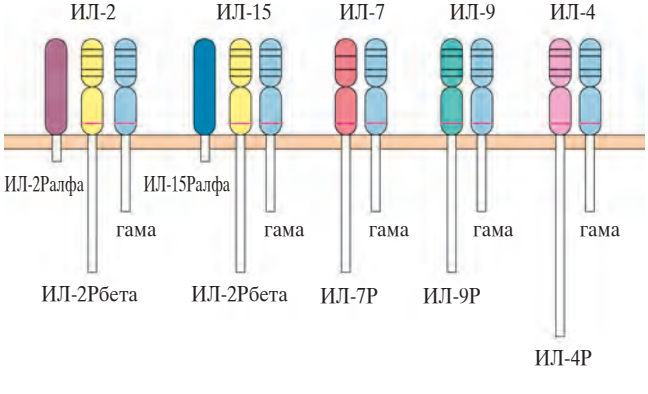
(а) ГМ-КСФ рецепторска потфамилија (заедничка бета поединица)



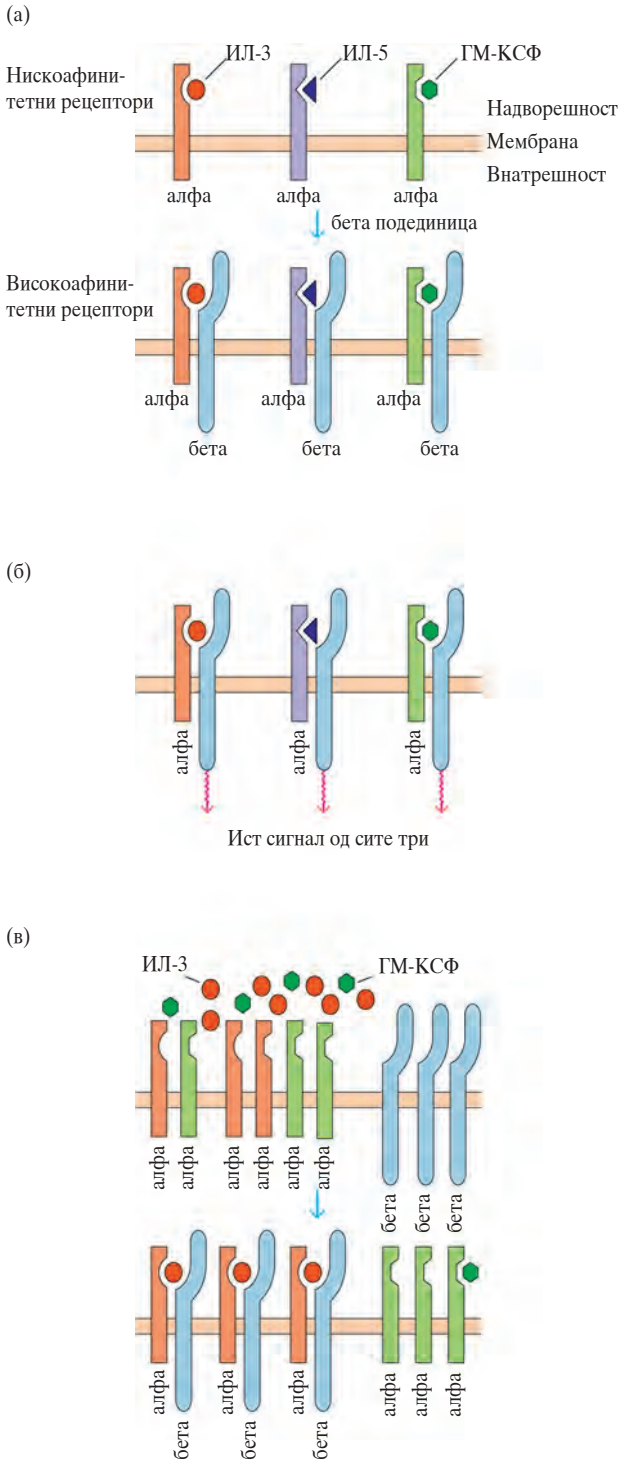
(б) ИЛ-6 рецепторска потфамилија (заедничка гп130 поединица)



(в) ИЛ-2 рецепторска потфамилија (заедничка гама поединица)



СЛИКА 12-7 Шематски приказ на трите потфамилии од класа 1 цитокински рецептори. Сите членови од потфамилијата имаат заедничка сигнално-пренослива поединица (сина боја), но единствена цитокин-специфична поединица. Во однос на зачуваните цистеини (двојните црни линии) и WSXWS мотивите (црвени линии) кои ги карактеризираат класа 1 цитокинските рецептори, домените во вид на имуноглобулин се присутни кај дел од овие рецептори. ЦНТФ = цилијарен невротрофичен фактор. ЛИФ/ОСМ = леукемија инхибиторен фактор/онкостатин. *[Адаптирано од K. Sagamura и останати, 1996, Annual Review of Immunology **14:**179.]*



СЛИКА 12-8 Меѓудејства помеѓу цитоткинспецифичните поединици и заедничките сигнално-преносливи поединици од цитокинските рецептори. (а) Шематски приказ на ниско и високоафинитетните рецептори за ИЛ-3, ИЛ-5 и ГМ-КСФ. Цитокинспецифичните поединици прикажуваат нискоафинитетно поврзување и не можат да го пренесат активирачкиот сигнал. Нековалентното поврзување на секоја поединица со заедничката бета поединица дава високоафинитетен димерен рецептор кој може да пренесе сигнал преку мембраната. (б) Поврзувањето на цитокинспецифичните поединици со заедничката сигнална единица, бета поединицата, го овозможува создавањето идентични сигнали од страна на различните цитокински рецептори кои се прикажани. (в) Натпреварот на лигандповрзувачките вериги од различни рецептори за заедничката поединица може да создаде антагонистички ефекти помеѓу цитокините. Овде врзувањето на ИЛ-3 со алфа поединици од ИЛ-3 рецепторот им овозможува да ги победат алфа веригите од ГМ-КСФ рецепторот за бета поединиците. *[Делот а адаптиран од T. Kishimoto dhe të tjerë,* 1992, Science **258**:593.*]*

сигнал низ мембраната откако цитокинот ќе се поврзе (слика 12-8а). Интересен е фактот што ИЛ-3, ИЛ-5 и ГМ-КСФ извршуваат редундантни активности. ИЛ-3 и ГМ-КСФ дејствуваат на хематопоетските матични клетки и родителските клетки, ги активираат моноцитите и поттикнуваат мегакариоцитна диференцијација и сите три цитокини поттикнуваат еозинофилна пролиферација и базофилно обеззрнување со ослободување хистамин.

Имајќи предвид дека ИЛ-3, ИЛ-5 и ГМ-КСФ делат заедничка сигнално-пренослива бета поединица, секој од овие цитокини се очекува да пренесува сличен активациски сигнал, имајќи ја предвид редундантноста помеѓу нивните биолошки ефекти (слика 12-8б). Всушност, сите три цитокини поттикнуваат исти патеки од протеинска фосфорилација, но и покрај тоа ИЛ-3 и ГМ-КСФ покажуваат антагонизам: врзувањето на ИЛ-3 е попречено од ГМ-КСФ, а врзувањето на ГМ-КСФ е попречено од ИЛ-3. Овој антагонизам е предизвикан од натпреварот за ограничен број бета поединиците кои се достапни за поврзување со цитокинспецифичните алфа поединици од димерните рецептори (слика 12-8в).

Слична ситуација се наоѓа и помеѓу ИЛ-6 рецепторската потфамилија, која ги вклучува рецепторите за ИЛ-6, ИЛ-11, леукемијаинхибиторен фактор (ЛИФ), онкостатин М (ОСМ) и цилијарно невротрофичниот фактор (ЦНТФ) (види слика 12-7б). Во овој случај, заедничката сигналнопренослива поединица која е наречена гп130 се поврзува со еден или два различни цитокинспецифични поединици. ЛИФ и ОСМ, кои делат одредени структурни особини, и двете се врзуваат за иста алфа поединица. Како што се очекува, цитокините кои се врзуваат за рецептори од оваа потфамилија прикажуваат биолошки активности кои се поклопуваат: ИЛ-6, ОСМ и ЛИФ поттикнуваат синтеза на протеини на акутната фаза преку црнодробните хепатоцити и диференцијација на миелоидните леукемични клетки во макрофаги. ИЛ-6, ЛИФ и ЦНТФ влијаат врз невронскиот развој и ИЛ-6, ИЛ-11 и ОСМ стимулираат созревање на мегакароцитите и создавање на крвни плочки. Присуството на гп130 кај сите рецептори од ИЛ-6 потфамилијата ги објаснува нивните заеднички сигнални патеки како и натпреварот за врзување на ограничените гп130 молекули кои се среќаваат помеѓу овие цитокини.

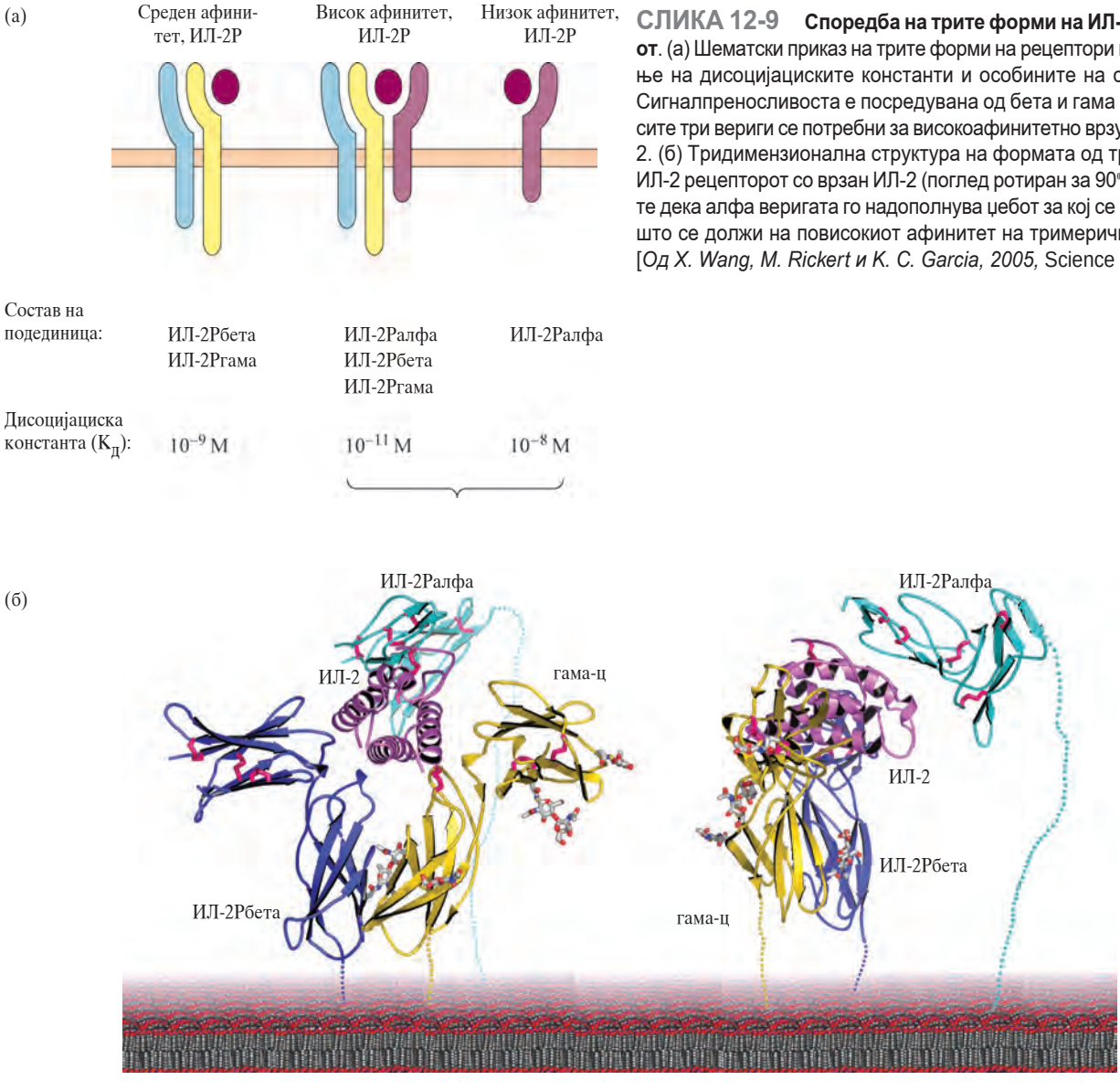
Третата сигналнопренослива поединица ја дефинира ИЛ-2 рецепторската потфамилија, која вклучува рецептори за ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-7, ИЛ-9, ИЛ-15 и ИЛ-21 (види слика 12-7в). ИЛ-2 и ИЛ-15 рецепторите се хетеротримери, составени од цитокинспецифична алфа верига и две вериги бета и гама – одговорни за сигнално пренесување. ИЛ-2 рецепторската гама верига функционира како сигнално пренесувачка поединица кај другите рецептори од оваа потфамилија, каде сите се димери. Од неодамна, се покажа дека вродениот **Икс-врзан тежок ком-**

биниран имун недостаток (Икс-ТКИН) се јавува како дефект на генот за гама веригата, кој се наоѓа на Икс хромозомот. Имуниот недостаток кој се среќава при ова нарушување, вклучува губиток на активноста на Т-клетките и КПУ, се јавува поради губење на сите цитокински функции кои се посредувани преку ИЛ-2 потфамилија на рецептори. Формата на ТКИН каде Т-клетките се дефектни, а КПУ нормални, е предизвикана од генски дефекти во ИЛ-7 рецепторот (види глава 20 за целосен опис на ТКИН).

ИЛ-2Р е најдетално проучуваниот цитокински рецептор

Поради централната улога на ИЛ-2 и неговиот рецептор при клонската пролиферација на Т-клетките, ИЛ-2 рецепторот беше детално проучуван. Како што забележавме во претходниот дел, целиот тримеричен рецептор вклучува три различни поединици – алфа, бета и гама вериги. Бета и гама веригите ѝ припаѓаат на класа 1 цитокин рецепторската фамилија, кои ги содржат карактеристичните ЦЦЦЦ и WSXWS мотиви, додека алфа веригата има мошне различна структура и не е член на оваа рецепторска фамилија (види слика 12-7ц).

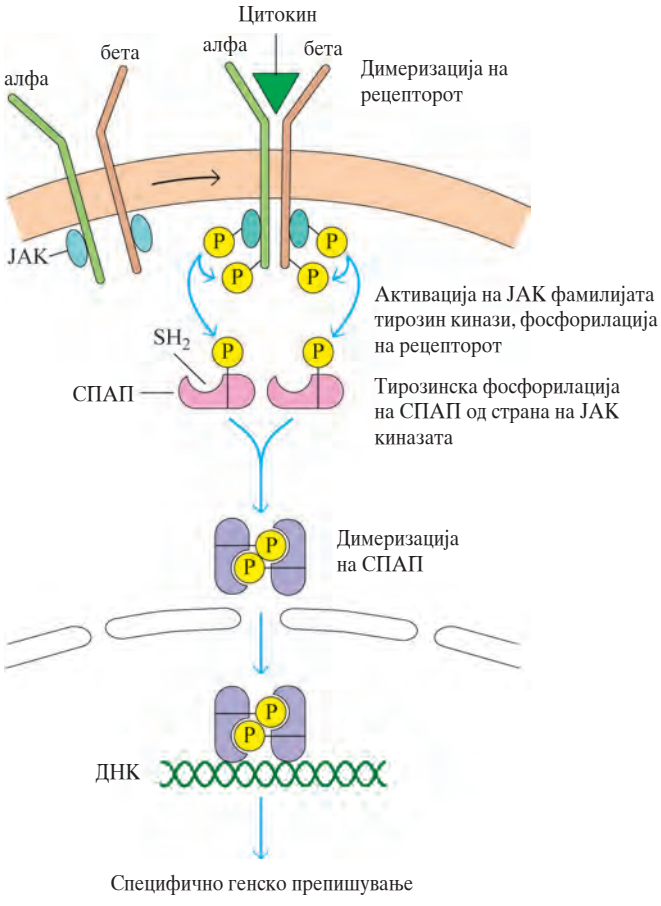
ИЛ-2 рецепторот се појавува во три форми кои покажуваат различни афинитети за ИЛ-2: нискоафинитетниот мономеричен ИЛ-2Ралфа, средноафинитетниот димеричен ИЛ-2Рбета-гама и високоафинитетниот тримеричен ИЛ-2Ралфа-бета-гама (слика 12-9а). Неодамнешната рендгенска кристалографска структура на високоафинитетната тримерична форма на ИЛ-2 рецепторот со ИЛ-2 молекулот во неговата врзувачка област откри дека ИЛ-2 се врзува за џеб кој е формиран од бета и гама веригите (слика 12-9б). Значајни дополнителни контакти со ИЛ-2 лигандот се добиваат кога е присутна алфа веригата, благодарение на повисокиот афинитет за врзување со тримерот. Врзувањето на



СЛИКА 12-9 **Споредба на трите форми на ИЛ-2 рецепторот**. (а) Шематски приказ на трите форми на рецептори и прикажување на дисоцијациските константи и особините на секој од нив. Сигналпреносливоста е посредувана од бета и гама веригите, но сите три вериги се потребни за високоафинитетно врзување на ИЛ-2. (б) Тридимензионална структура на формата од три вериги на ИЛ-2 рецепторот со врзан ИЛ-2 (поглед ротиран за 90°). Забележете дека алфа веригата го надополнува џебот за кој се врзува ИЛ-2, што се должи на повисокиот афинитет на тримеричната форма. [*Од X. Wang, M. Rickert и K. C. Garcia, 2005,* Science ***310*****:** 1159.]

ИЛ-2 за рецепторот вклучувајќи ги само бета и гама веригите настанува при среден афинитет и оваа форма на рецепторот е способна за сигнално пренесување.

Бидејќи ИЛ-2Р алфа веригата е прикажана само во активираните Т-клетки, понекогаш е нарекуван ТАС (Т-клеточна активација) противген или КД25, сетете се дека го споменавме КД25 претходно како карактеризирачки површински обележувач при зреењето на Т-клетките (види слика 10-2). Моноклонско противтело (против-ТАС или против-КД25) кое се врзува за тешката 55-кДа алфа верига често се користи за да го утврди ИЛ-2Ралфа во клетките. Присуството на високи нивоа на КД25 кај зрелите Т-клетки во основа означува дека клетките се во состојба на активација и, како што опишано во глава 2, а подетално во глава 16, можат исто така да укажат дека се присутни клетките од Treg подгрупата (КД4$^+$ клетки со високи нивоа на КД25). Прикажувањето на трите вериги од ИЛ-2 рецепторот варира помеѓу различните клеточни видови: гама веригата се појавува во основа прикажана врз повеќето лимфоидни клетки, додека прикажувањето на алфа и бета веригите е поограничено и значително засилено откако противгенот ги активира мирувачките лимфоцити. Ограниченото прикажување обезбедува дека само противген активираните КД4$^+$ и КД8$^+$ Т-клетки ќе го прикажат високоафинитетниот ИЛ-2 рецептор и пролиферира во одговор на физиолошките нивоа на ИЛ-2. Активираните Т-клетки прикажуваат приближно 5 x 10^3 високоафинитетни рецептори и 10 пати повеќе нискоафинитетните рецептори. КПУ основно ги прикажуваат бета и гама поединиците, благодарение на нивната способност за врзување на ИЛ-2 со среден афинитет и да бидат активирани од ИЛ-2.



СЛИКА 12-10 **Општ модел за сигнално пренесување посредено од повеќето класа 1 и класа 2 цитокински рецептори.** Врзувањето на цитокинот поттикнува димеризација на рецепторските поединици, што води до активација на рецепторно поединично-поврзаната JAK тирозин киназа со реципрочна фосфорилација. Според тоа, активираните JAK фосфоризираат разни тирозински остатоци, што доведува до создавање области за врзувачки места за СПАП во рецепторот и активацијата на еден или повеќе СКАП препишувачки фактори. Фосфорилизираните СПАП се димеризираат и се пренесуваат во јадрото, каде го активираат препишувањето на специфичните гени.

Цитокинските рецептори поттикнуваат сигнализирање

Иако одредени значајни цитокински рецептори се наоѓаат надвор од класа 1 и класа 2 фамилиите, поголемиот дел се вклучени во овие две фамилии. Како што видовме, на класа 1 и класа 2 цитокинските рецептори им недостасуваат сигнални мотиви (на пример, внатрешни тирозин киназа домени). Сепак, првите студии покажаа дека еден од првите настани по меѓудејството на цитокинот со еден од овие рецептори е серија на протеин тирозински фосфорилации. Овие резултати во почетокот биле збунувачки, но се разјасниња кога произлезе целосен модел од студиите на молекулските процеси кои се поттикнати од врзувањето на интерферонот гама (ИФН-гама) со неговиот рецептор, член на класа 2 фамилијата.

ИФН-гама беше првично откриен поради неговата способност да ги поттикнува клетките да го блокираат или попречуваат размножувањето на широка палета вируси. Противвирусната активност е особина која ја дели со ИФН-алфа и ИФН-бета. Сепак, за разлика од другите интерферони, ИФН-гама игра главна улога во многу имунорегулаторни процеси, вклучувајќи го регулирањето на еднојадрените фагоцити, Б-клеточното превклучување кон одредени ИгГ класи и поддршката или попречувањето на развојот на Тпо подгрупи. Откритието на главната сигнализирачка патека која е поттикната од меѓудејството на ИФН-гама со неговиот рецептор доведе до заклучок дека сигналното пренесување низ повеќето, ако не и низ сите, класа 1 и класа 2 цитокински рецептори ги вклучуваат следниве чекори, кои се основата за обединувачкиот цитокинсигнализирачки модел (слика 12-10).

- *Цитокинскиот рецептор е составен од одделни поединици*, едната верига е потребна главно за цитокинско врзување и сигнално пренесување, а другата верига е потребна за сигнализирањето, но често со мала улога во врзувањето.
- *Различни неактивни протеин тирозински кинази се поврзани со различни поединици од рецепторот*. Алфа веригата од рецепторот е поврзана со новата фамилија на протеин тирозински кинази, Јанус киназа (JAK)* фамилија. Поврзувањето на JAK со рецепторската поединица настанува спонтано и не бара поврзување со цитокин. Сепак, во отсус-

* Римскиот бог Јанус имал две лица. Киназите од Јанус фамилијата имаат две функционални области: врзувачка област која се поврзува со цитокинската рецепторна поединица и каталазна област која, кога е активирана, има протеин тирозин киназна активност. Некои биохемичари, уморни од многубројните различни протеински кинази кои се откриени, тврдат дека JAK значи *уште една киназа*.

тво на цитокинот, JAK има недостаток на протеин тирозин киназната активност.

- *Цитокинското врзување го поттикнува поврзувањето на две одделни цитокинрецепторски подединици и активација на рецепторско поврзаните JAK.* Способноста на ИФН-гама, кој се врзува со класа 2 цитокинскиот рецептор, да придонесе за здружување на лиганд поврзувачките вериги од неговиот рецептор е директно прикажана со рендгенски кристалографски проучувања, како што е прикажано на слика 12-11.
- *Активираните JAK создаваат прикачувачи за препишувачките фактори на СПАП со фосфорилација на специфични тирозински остатоци на цитокинските рецепторски подединици.* Штом рецепторско здружените JAK се активирани, тие ги фосфорилираат специфичните тирозини на рецепторските подединици од комплексот. Членови од фамилијата на препишувачките фактори позната како СПАП (сигнални **пренесувачи и активатори на препишувањето**) се врзуваат за овие фосфоризирани тирозински остатоци. Специфичните СПАП играат значајна улога во сигнализирачките патеки на бројни различни цитокини (табела 12-2). Врзувањето на СПАП за рецепторските подединици е посредувано со поврзувањето на SH_2 доменот од STAT со прикачувачкото место создадено од JAK-посредуваната фосфорилација на одреден тирозин во рецепторските подединици.
- *По претрпувањето на JAK-посредуваната фосфорилација, СПАП препишувачките фактори се преместуваат од рецепторските прикачувачки места врз мембраната од јадрото, каде тие поттикнуваат препишување на специфични гени.* Додека се прикачени за рецепторските подединици, СПАП претрпуваат JAK-катализирана фосфорилација на клучниот тирозин. Ова е следено со одвојување на СПАП од рецепторските подединици и нивна димеризација. Потоа СПАП димерите се преместуваат во јадрото и поттикнуваат прикажување на гените кои ги содржат соодветните регулаторни секвенции и нивните поттикнувачки подрачја.

ТАБЕЛА 12-2 **Меѓудејство на СПАП и JAK со селектирани цитокински рецептори при сигналното пренесување**

Цитокински рецептор	JAK	СПАП
ИФН-гама	JAK1 и JAK2	Спап1
ИФН α/β	JAK1 и Tyk-2*	Спап2
ИЛ-2	JAK1 и JAK3	Спап5
ИЛ-3	JAK2	Спап5
ИЛ-4	JAK1 и JAK3	Спап6
ИЛ-6	JAK1 (и понекогаш и други)	Спап3
ИЛ-10	JAK1 и Tyk-2	Спап3
ИЛ-12	JAK2 и Tyk-2	Спап4

*Без разлика на неговото име, Tyk-2 е исто така Јанус киназа.
ИЗВОР: Адаптирано од E. A. Bach M. Aguet and R. D. Schreiber, 1997, Annual Review of Imunnology 15:563.



СЛИКА 12-11 **Комплекс помеѓу ИФН-гама и лигандврзувачките вериги од неговиот рецептор.** Моделот се базира на рендгенската кристалографска анализа на кристалниот комплекс од интерферонот-гама (темна и светла лилјакова боја) врзан за лигандврзувачките алфа вериги од рецепторот (зелена и жолта боја). Забележете дека ИФН-гама е прикажан во неговата оригинална димерна форма, секој член од димерот цели на алфа веригата од ИФН-гама рецепторот, при тоа предизвикувајќи димеризација на рецепторот и сигнално пренесување. *[Од F. R Walter et. al., 1995, Nature **376:**230, courtesy M. Walter, Universiteti i Alabamës].*

За ИФН-гама, кој е член од класа 1 и класа 2 лигандите се покажа дека предизвикува димеризација на нивните рецептори. Значаен елемент од цитокинската специфичност произлегува од извонредната специфичност за спарување помеѓу цитокините и нивните рецептори. Друг аспект од цитокинската специфичност е тоа што секој посебен цитокин (или група од редундантни цитокини) поттикнува препишување на специфична подгрупа гени кај даден клеточен вид. Потоа создадените генски продукти посредуваат различни ефекти кои се вообичаени за тој цитокин. Специфичноста на цитокинските ефекти се сведува на три фактори. Прво, посебни цитокински рецептори започнуваат посебни JAK-СПАП патеки. Второ, препишувачката активност на активираните СПАП е специфична бидејќи посебен СПАП хомодимер или хетеродимер ќе препознае само одредени секвенциски мотиви и според тоа може да стапи во меѓудејство само со поттикнувачите на одредени гени. Трето, само оние целни гени чие прикажување е дозволена од одредениот клеточен вид можат да се активираат кај повеќето клетки. Тоа значи, кај секој даден клеточен вид може да се дозволи прикажување само

на подгрупата од потенцијалните целни гени за одредени СПАП. На пример, ИЛ-4 поттикнува една група гени во Т-клетките, друга во Б-клетките, а трета во еозинофилите.

Вреди да се спомене дека ИЛ-1 не сигнализира преку JAK-СПАП патеката, но користи киназа наречена ИЛ-1 рецепторски здружена киназа, или ИРЗК. ИРЗК протеините се исто така употребени од страна на ТВР за сигнално пренесување (види слика 3-14).

Цитокински противници

Пријавен е одреден број протеини кои ја попречуваат биолошката активност на цитокините. Овие протеини дејствуваат на еден од следниве два начина: или директно се поврзуваат за цитокинскиот рецептор, но не ја активираат клетката, или се врзуваат директно за цитокинот, попречувајќи ја неговата активност. Најдобро објаснет попречувач е ИЛ-1 рецепторскиот противник (ИЛ-1 Рп), кој се врзува за ИЛ-1 рецепторот, но нема активност. Врзувањето на ИЛ-1Рп за ИЛ-1 рецепторот го блокира врзувањето на ИЛ-1алфа и ИЛ-1бета, на тој начин припишувајќи го тоа на неговите противнички особини. Некои веруваат дека создавањето на ИЛ-1Рп игра улога во регулирањето на интензитетот на воспалителниот одговор. Тој е клониран и во моментов се испитува како потенцијално лекување за хроничните воспалителни болести.

Цитокинските попречувачи се среќаваат во крвотокот и надворклеточната течност. Овие растворливи противници настануваат од ензимското разложување на надворклеточниот домен од цитокинските рецептори. Меѓу растворливите цитокински рецептори кои се откриени спаѓаат тие за ИЛ-2, -4, -6 и -7, ИФН-гама и -алфа, ТНФ-бета и ЛИФ. Од нив, најдобро е објаснет растворливиот ИЛ-2 рецептор (рИЛ-2Р), кој се ослободува при хроничната Т-клеточна активација. Со протеолитичното разложување се ослободува сегментот кој го содржи амино-крајот од 192 аминокиселини од алфа поединицата, при што се создава 24-кДа растворлив ИЛ-2 рецептор. Ослободениот рецептор може да се врзе за ИЛ-2 и да го спречи неговото меѓудејство со мембрански врзаниот ИЛ-2 рецептор. Присуството на рИЛ-2Р се користи како клинички обележувач за хронична Т-клеточна активација и се среќава кај бројни болести, вклучувајќи автоимунитет, пресадочното отфрлање и СИДА.

Одредени вируси развиле стратегии за попречување на цитокинската активност. Еволуцијата на таквите противцитокински стратегии од микробиолошките патогени е биолошки доказ за важноста на цитокините при организирањето и поттикнувањето на ефикасни противмикробни имуни одговори. Меѓу различните противцитокински стратегии кои ги користат вирусите се:

- Цитокински хомолози
- Растворливи цитокинврзувачки протеини
- Хомолози на цитокинските рецептори
- Мешање во внатреклеточното сигнализирање
- Мешање во цитокинското лачење
- Поттикнување на цитокински попречувачи во домаќинската клетка

TABELA 12-3 Вирусни имитатори на цитокините и цитокинските рецептори

Вирус	Продукти
Лепорипоксвирус (миксома вирус)	Растворлив ИФН-гама рецептор
Одреден број поксвируси	Растворлив ИФН-гама рецептор
Вацинија, вирус на големи сипаници	Растворлив ИЛ-1бета рецептор
Епштајн-Бар	ИЛ-10 хомолог
Хуман херпесвирус-8	ИЛ-6 хомолог, исто така хомолози на хемокините МИП-1 и МИП-2
Цитомегаловирус	Три различни хемокински рецепторни хомолози, каде еден од нив врзува три различни растворливи хемокини (РАНТЕС, МЦП-1 и МИП-1алфа)

Епштајн-Бар вирусот (ЕБВ) создава молекул во вид на ИЛ-10 (вирусен ИЛ-10 или вИЛ-10) кој се врзува за рецепторот ИЛ-10 и, како и клеточниот ИЛ-10, ги супресира Тпо1 клеточно посредуваните одговори (погледнете во следниот дел), кои се ефикасни против многу внатреклеточни паразити како што се вирусите. Молекулите кои се создадени од вирусите кои ги имитираат цитокините му овозможуваат на вирусот да манипулира со имуниот одговор на начини кои го помагаат преживувањето на патогенот. Ова е интересна и моќна адаптација што некои вируси ја претрпеле во нивната продлабочувачка борба да ја надминат застрашувачката бариера на имунитетот од домаќинот. ЕБВ исто така создава поттикнувач за ИЛ1-Рп, противник од домаќинот на ИЛ-1. Се покажало дека поксвирусите од сипаниците го кодираат растворливиот ТНФ-врзувачки протеин и растворливиот ИЛ-1 врзувачкиот протеин. Имајќи предвид дека ТНФ и ИЛ1 извршуваат широк спектар активности при воспалителниот одговор, овие растворливи цитокинврзувачки протеини може да ги попречат или намалат воспалителните ефекти на цитокините, при тоа давајќи му на вирусот селективен напредок. Табела 12-3 дава листа на одреден број вирусни продукти кои ги попречуваат цитокините и нивните активности.

Цитокинско лачење од $T_{по}1$ и $T_{по}2$ подгрупите

Имуниот одговор на одреден патоген мора да поттикне соодветна група ефекторни функции кои можат да го отстранат агенсот на болеста или неговите токсични продукти од домаќинот. На пример, неутрализацијата на растворливиот бактериски токсин бара противтела, додека одговорот на внатреклеточниот вирус или бактериската клетка бара клеточно-посредувана цитотоксичност или оддложен тип на преосетливост. Голема количина докази вклучуваат разлики кај моделите на цитокинско лачење помеѓу Тпо-клеточни подгрупи како одредници од типот на имун одговор направен од одреден противгенски напад.

КД4+ Тпо клетки поголемиот дел од нивните помагачки функции ги извршуваат преку излачените цитокини, кои или дејствуваат врз клетките кои ги создаваат на автокрин начин или ги менуваат одговорите на другите клетки низ паракринските патеки. Иако КД8+ ЦТЛ исто така лачат цитокини, нивната ревија на цитокини во основа е поограничена од КД4+ $Т_{ПО}$ клетки. Како што е накратко објаснето во глава 10, двете КД4+ Тпо клеточни потпопулации наречени Тпо1 и Тпо2 може да се разликуваат ин витро преку цитокините кои тие ги лачат. Двете подгрупи лачат ИЛ-3 и ГМ-КСФ, но се разликуваат по другите цитокини кои ги создаваат (табела 12-4). Тпо1 и Тпо2 клетките се карактеризираат со следниве функционални разлики:

- Тпо1 подгрупата е одговорна за многу клеточно-посредувани функции, како што е оддложениот тип на преосетливост и активација на Тцт клетки и за создавањето на опсонизација-промовирачки ИгГ противтела, тоа значи, противтелата кои се врзуваат за високо афинитетните Фк рецептори од фагоцитите и стапуваат во меѓудејство со комплементниот систем. Оваа подгрупа исто така е поврзана со поттикнувањето на прекумерното воспаление и ткивна повреда.
- Тпо2 подгрупа стимулира еозинофилна активација и диференцијација, обезбедува помош за Б-клетките и го поттикнува создавањето на релативно големите количини на ИгМ, ИгЕ и некомплементно активирачките ИгГ изотипови. $Т_{по}2$ подгрупата исто така ги поддржува алергиските реакции.

Разликите во цитокините излачени од $Т_{по}1$ и Тпо2 клетки ги одредуваат различните биолошки функции на овие две подгрупи. Одреден цитокин од $Т_{по}1$ подгрупата, ИНФ-гама, активира макрофаги, ги стимулира овие клетки да ја зголемат микробицидната активност, нагорно регулирајќи го нивото на класа2 ГТК молекулите и лачењето на цитокини како што е ИЛ-12, што ги поттикнува $Т_{по}$ клетки да се диференцираат во Тпо1 подгрупа. ИФН-гама лачењето од Тпо1 клетките исто така поттикнува противтелно класно превклучување кон ИгГ класите (како што е ИгГ2а кај глушецот) кои поддржуваат фагоцитоза и фиксирање на комплементот. ТНФ-бета и ИФН-гама се цитокини кои посредуваат при воспаление, а нивното лачење е дел од придонесот на Тпо1 клетки во воспалителниот феномен како што е одложената преосетливост (види глава 15). Тпо1 клетките создаваат ИЛ-2 и ИФН-гама цитокини кои поттикнуваат диференцијација на целосно цитотоксични $Т_{цт}$ клетки од КД8+ претходници. Овој модел на цитокинско создавање ја прави Тпо1 подгрупата особено соодветна да одговори на вирусните инфекции и внатреклеточните патогени. На крајот, ИФН-гама го попречува проширувањето на Тпо2 популацијата.

Лачењето на ИЛ-4 и ИЛ-5 од клетките на Тпо2 подгрупата поттикнува создавање на ИгЕ и поддржува еозинофилен посредуван напад врз хелминтни (валчестоцревни) инфекции. ИЛ-4 поттикнува модел на класно превклучување, создава ИгГ кој не ја активира комплементната патека (ИгГ1 кај глувците, на пример). ИЛ-4 исто така го зголемува степенот до кој Б-клетките превклучуваат од ИгМ кон ИгЕ. Овој ефект за создавањето на ИгЕ се совпаѓа со еозинофилната диференцијација и активација од ИЛ-5, бидејќи еозинофилите се мошне збогатени со Фк-епсилон, кои се врзуваат за ИгЕ. Во основа, валчестоцревните инфекции поттикнуваат Тпо2 одговори и поттикнуваат создавање противцрвести ИгЕ противтела. Противтелото се врзува за црвот вкрстено-поврзано со Фк-рецепторите на еозинофилите, на тој начин формирајќи противгенспецифични мостови помеѓу црвот и еозинофилите. Нападот на еозинофилот врз црвот е поттикнат од вкрстеното поврзување на ФкЕпсилон-врзаното ИгЕ. Меѓу корисните дејства на ИгЕ, исто така е Иг класата која е одговорна за алергијата. На крајот, ИЛ-4 и ИЛ-10 ја супресираат експанзијата на Тпо1 клеточни популации.

Бидејќи Тпо1 и Тпо2 подгрупите првично биле утврдени при долготрајните ин витро култури на клонираните Т-клеточни линии, одредени истражувачи се сомневаа дека тие ги претставуваат вистински ин виво потпопулациите. Тие тврделе дека овие подгрупи може да претставуваат различни фази на зреење на една лоза. Исто така, почетниот неуспех, да се лоцира секоја подгрупа кај луѓето, доведе некои до верување дека $Т_{по}1$ и $Т_{по}2$ и други подгрупи на Т-помагачките клетки, не се појавиле кај овие видови. Понатамошното истражување ги коригираше овие аспекти. Кај многу ин виво системи, целосното посветување на популациите на Т-клетките или на Тпо1 или Тпо2 фенотип често ја сигнализира крајната точка на хронична инфекција или алергија. Оттука, било тешко да се пронајдат чисти Тпо1 и Тпо2 подгрупи при проучувањето со здрави човечки лица, кои нема да бидат во оваа фаза на одговорот.

ТАБЕЛА 12-4 Цитокинско лачење и основни функции на глувчешките Тпо1 и Тпо2 подгрупи

	$Т_{по}1$	$Т_{по}2$
ЦИТОКИНСКО ЛАЧЕЊЕ		
ИЛ-2	+	-
ИФН-гама	++	-
ТНФ-бета	++	-
ГМ-КСФ	++	+
ИЛ-3	-	++
ИЛ-4	-	++
ИЛ-5	-	++
ИЛ-10	-	++
ИЛ-13	-	++
ФУНКЦИИ		
Помош на целосното противтелно создавање	+	++
Помош за ИгЕ создавање	-	++
Помош за ИгГ2а создавање	++	+
Создавање на еозинофили и мастоцити	-	++
Макрофагна активација	++	-
Одложен тип на преосетливост	++	-
Тцт-клеточна активација	++	-

ИЗВОР: Адаптирано од F. Powrie and RL. Coffman, 1993, *Imunnology Today*, 14:270.

Експериментите со трансгените глувци убедливо покажале дека Тпо1 и Тпо2 клетките настануваат независно. Според тоа, било можно да се прикажат Тпо1 и Тпо2 потпопулациите кај Т-клетките изолирани од луѓето во текот на хронична инфективна болест или хроничните напади од алергија. Исто така важно е да се нагласи дека многу помагачки Т-клетки не ги покажуваат или Тпо1 или Тпо2 профилот. Поединечни клетки покажале значителна хетерогеност кај Тпо клеточна популација.

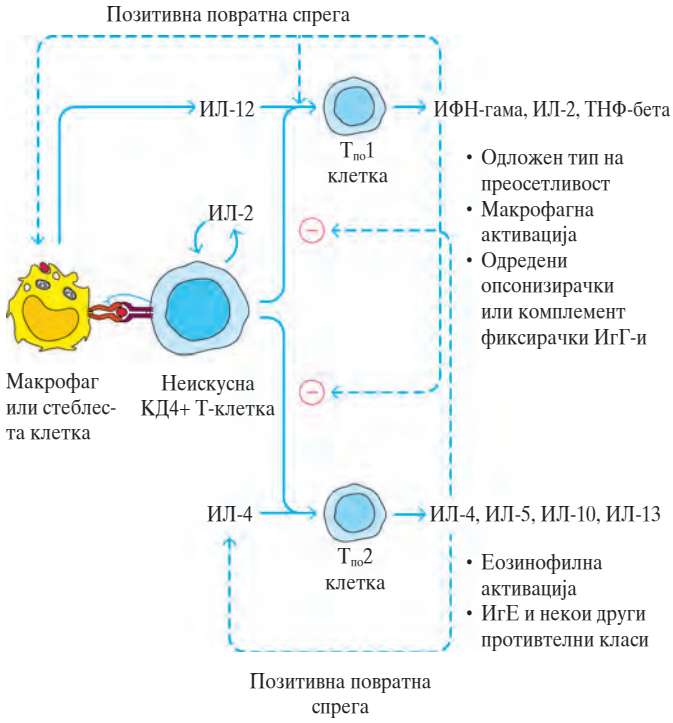
Бројни извештаи од студиите кај глувците и луѓето денес документираат дека ин виво резултатот од имуниот одговор може значајно да биде под големо влијание на релативните нивоа од активноста која е слична со активноста кај Тпо1 и Тпо2. Обично, Тпо1 профилот на цитокините е повисок при одговор на внатреклеточните патогени, а Тпо2 профилот е повисок при алергиските болести и хелминтските инфекции.

Развојот на Тпо1 и Тпо2 подгрупите се одредени од цитокинската средина

Цитокинската средина во која противген изложените $T_{по}$ клетки диференцираат ја одредува подгрупата која се развива (слика 12-12). Посебно, ИЛ-4 е неопходен за развојот на $T_{по}2$ одговорот, а ИФН-гама, ИЛ-12 и ИЛ-18 се сите значајни за физиологијата и развојот на $T_{по}1$ клетките. Развојот на $T_{по}1$ во голем степен е зависен од ИФН-гама, кој поттикнува бројни промени, вклучувајќи ја нагорната регулација на ИЛ-12 создавањето од макрофагите и стеблестите клетки и активацијата на ИЛ-12 рецепторот врз активираните Т-клетки, кое се постигнува со нагорна регулација на прикажувањето на бета веригата од ИЛ-12 рецепторот. На почетокот од имуниот одговор, ИФН-гама е создаден од стимулацијата на Т-клетките и исто така може да дојде од активните КПУ. Изворот на ИЛ-12, еден од клучните посредници на Тпо1 диференцијацијата, се обично макрофагите или стеблестите клетки активирани од контакт со внатреклеточните бактерии или други внатреклеточни паразити или со бактериски продукти како што е ЛПС-от. Уште еден цитокин, ИЛ-18, поттикнува пролиферација и ИФН-гама создавање од страна на развојните и целосно диференцирани $T_{по}1$ клетки и од КПУ-и. Според тоа, регулаторната мрежа на цитокини позитивно го контролира создавањето на $T_{по}1$ клетките. Значајната улога одиграна од секој од овие цитокини и неговите рецептори е прикажана во експерименти каде или цитокинот или неговиот рецептор се генски отстранети. Овие глувци не успеваат да создадат популации на $T_{по}1$ клетки.

Неодамнешните студии откриј два нови цитокини од ИЛ-12 фамилијата, ИЛ-23 и ИЛ-27, со значајни импликации за развојот на $T_{по}1$ клетки. ИЛ-23 има една верига заедничка со ИЛ-12 (ИЛ-12 п40), а двете вериги од ИЛ-12 хетеродимерот се сродни со тие од ИЛ-12. ИЛ-23 и ИЛ-27 делат функции со ИЛ-12. Сите тие се вклучени во диференцијацијата на Тпо1 подгрупата, а некои активности кои обично се припишуваат на ИЛ-12 може да поизлегуваат единствено од ИЛ-23 или во синергија со ИЛ-12.

Како што $T_{по}1$ бараат ИЛ-12 и ИФН-гама, создавањето на $T_{по}2$ клетките зависи одлучувачки од ИЛ-4. Изложувањето на неискусните помагачки клетки на ИЛ-4 на почетокот од имуниот одговор предизвикува тие да диференцираат во $T_{по}2$



СЛИКА 12-12 Цитокинпосредуваното создавање и вкрстена регулација на Тпо-те подгрупи. Противген активираната неискусна КД4+ Т-клетка создава ИЛ-2 и пролиферира. Ако пролиферираат во ИЛ-12 доминантна средина, создава популација на Тпо1 клетки кои лачат карактеристичен профил на цитокини, вклучувајќи го и ИНФ-гама. Позитивна повратна спрега е воспоставена кога ИФН-гама излачен од растечката $T_{по}1$ популација ги стимулира стеблестите клетки или макрофагите да создадат повеќе ИЛ-12. Ако во средината доминира ИЛ-4, се појавува $T_{по}2$ популацијата и лачи профил на цитокини кои поттикнуваат еозинофилна активација и синтеза на одредени противтелни класи. Клучните цитокини создадени од секоја подгрупа позитивно ја регулираат подгрупата која ги создава, а негативно ја регулираат другата подгрупа. [*Адаптирано од R. Rengarjan, S. Szabo и L.Glimcher, 2000,* Immunology today **21**:479.]

клетки. Всушност, ова влијание на ИЛ-4 е предоминантно при упатување на Тпо клетки кон Тпо2 патеката. Обезбедувањето на почетното ниво на ИЛ-4, Тпо2 развојот е мошне наклонет кон Тпо1 дури и кога ИФН-гама и ИЛ-12 се присутни. Значајната улога на сигналите од ИЛ-4 во Тпо2 развојот е прикажан преку забелешката дека отстранувањето на генот кој го кодира ИЛ-4 го спречува развојот на оваа Т-клеточна подгрупа. Дополнителен доказ кој ја поддржува главната улога на ИЛ-4 доаѓа од експериментот кој ја прекинува ИЛ-4 сигнално пренесувачката патека. Како и многу други цитокини, ИЛ-4 употребува патека која вклучува JAK и СПАП протеини. Спап6 препишувачкиот фактор е оној кој се активира при сигнализирање на ИЛ-4. Според тоа, кај глувците каде генот за Спап6 е нарушен (Спап6 генски

отстранет), ИЛ-4 посредуваните процеси се во голем степен попречени или отсутни. Забелешката дека глувците кај кои Спап6 е отстранет имаат мал број Тпо2 клетки го потврдува значењето на ИЛ-4 за диференцијацијата на оваа група. На сличен начин, нарушувањето на Спап1, кој е активиран од ИФН-гама, интерферира во развојот на $T_{по}1$ клетките.

Цитокинските профили се вкрстено регулирани

Значајните цитокини создадени од Тпо1 и Тпо2 подгрупите имаат два карактеристични ефекти врз подгрупниот развој. Прво, тие поттикнуваат раст на подгрупата која ги создава, второ, тие го попречуваат развојот и активноста на спротивната група, ефект познат како *вкрстена регулација* (види слика 12-12). На пример, ИФН-гама (излачен од Тпо1 подгрупа) првенствено ја попречува пролиферацијата на Тпо2 подгрупата, а ИЛ-4 и ИЛ-10 (излачени од Тпо2 подгрупа) надолно го регулираат лачењето на макрофагите и стеблестите клетки од ИЛ-12, еден од значајните цитокини за Тпо1 диференцијација. Слично на тоа, овие цитокини имаат спротивни ефекти врз целните клетки кои не се од Тпо подгрупите. Кај глувците, каде Тпо1 и Тпо2 подгрупите детално се проучени, ИФН-гама излачен од Тпо1 подгрупата поттикнува ИгГ2а создавање од Б-клетките, но го попречува ИгГ1 и ИгЕ создавањето. Од друга страна, ИЛ-4 излачуван од Тпо2 подгрупата поттикнува создавање на ИгГ1 и ИгЕ, а спречува создавање на ИгГ2а. Според тоа, различни противтелни профили резултираат од Тпо1 и Тпо2 одговорот. Феноменот на вкрстената регулација ја објаснува забелешката дека често постои инверзен однос помеѓу противтелното создавање и клеточно-посредуваниот имунитет. Тоа значи, кога противтелното создавање е високо, клеточно-посредуваниот имунитет е низок и обратно. Понатаму, неодамнешното истражување покажа дека ИЛ-4 и ИФН-гама се членови на Т-клеточната подгрупа која ги прави помалку реактивни за цитокините кои ја водат диференцијацијата на другата Т-клеточна подгрупа. Според тоа, ИЛ-4 го олеснува Тпо2 развојот со правење на Тпо-те клетки помалку прифатливи за цитокинските сигнали што предизвикува овие клетки да навлезат во патека за диференцијација која би ги однела до Тпо1 развој. Но, како што е објаснето понатаму, ИФН-гама нагорно го регулира прикажувањето на клучниот регулаторен молекул кој ја фаворизира диференцијацијата и активноста на $T_{по}1$ клетки.

Трета $КД4^+$ Т-клеточна подгрупа извршува регулаторна контрола врз Т-клеточните одговори и може да ја ограничи автоимуната Т-клеточна активност. Оваа подгрупа на Т-клетки, наречена Treg, се карактеризира со прикажување на ИЛ-4, ИЛ-10 и ТРФ-бета, а својот супресивен ефект го прикажува преку контакт со целните Т-клетки. Деталите за развојната патека која води до Tregклетки е тема на моментални испитувања.

Неодамнешната работа овозможи увид во молекулската основа за цитокинпосредуваната вкрстена регулација каде што едната подгрупа го поттикнува своето проширување и развој додека го попречува развојот на спротивната подгрупа. Два препишувачки фактори, Т-Бет и ГАТА-3, се клучни елементи во одредувањето на подгрупна испорака и вкрстена регулација. Прикажувањето на Т-Бет ги предизвикува клетките да се диференцираат во $T_{по}1$ клетки и супресира нивна диференцијација во Тпо2 патеката. Прикажувањето на ГАТА-3 го прави спротивното, го поттикнува развојот на неискусните Т-клетки во $T_{по}2$ клетки додека ја супресира нивната диференцијација во $T_{по}1$ клетки. Како што е прикажано на слика 12-13, прикажувањето на Т-Бет наспроти ГАТА-3 е одредено со цитокините ИФН-гама и ИЛ-4. Во присуство на ИФН-гама, Т-клетките нагорно го регулираат прикажувањето на Т-Бет, а надолно го регулираат ГАТА-3. Овој ИФН-гама рецептор/Спап1 зависен процес го променува цитокинскиот профил кон создавање на ИФН-гама, препознатливиот цитокин за $T_{по}1$ клетки и други цитокини кои се типични за Тпо1 групата. Но во процес кој го вклучува ИЛ-4 рецепторот и Спап6, ИЛ-4 ја поттикнува клетката да создава ИЛ-4 и други $T_{по}2$ цитокини. Понатамошното проучување откри дека нагорната регулација на Т-Бет го спречува прикажувањето на ГАТА-3. Слично на тоа, прикажувањето на ГАТА-3 надолно го регулира Т-Бет. Според тоа, цитокинските сигнали кои поттикнуваат една од овие препишувачки факторни групи предизвикуваат верижни процеси кои ги потиснуваат другите. На внатреклеточно ниво, диференцијацијата на Т-клетки во Тпо1 патеката го попречува развојот на особини на Тпо2 и обратно.

Вкрстената регулација на Тпо1 клетките од ИЛ-10 излачен од страна на Тпо2 клетките не претставува директно

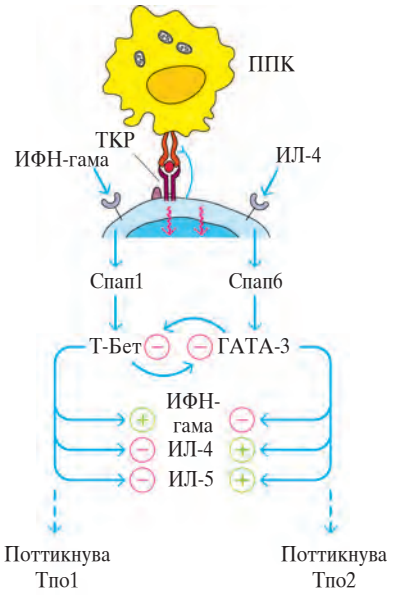


FIGURA 12-13 Вкрстената-регулација на внатреклеточно ниво. Сигналите низ ТКР и цитокинските рецептори одредуваат дали клетката ќе го создаде Тпо1 поттикнувачки препишувачки фактор, Т-Бет или Тпо2 поттикнувачкиот препишувачки фактор, ГАТА-3. Експерименталниот доказ поддржува модел во кој изложувањето на клетките кои имаат рецептори за ИФН-гама кон ИФН-гама го поттикнува создавањето на Т-Бет, кој нагорно ја регулира синтезата на ИФН-гама и го спречува прикажувањето на ГАТА-3. Изложувањето на ИЛ-4Р-носечките клетки за ИЛ-4 го поттикнува создавањето на ГАТА-3, кој нагорно ја регулира синтезата на ИЛ-4 и ИЛ-5, а го спречува прикажувањето на Т-Бет. [*Адаптирано од Rengarajan, S, Szabo* и *L. Glimcher, 2000* Immunology today **21**:479]

попречување на Тпо1 клетките. Наместо тоа, ИЛ-10 дејствува врз моноцитите и макрофагите, интерферирајќи се во нивната способност да ја активираат Тпо1 подгрупата. Се верува дека ова меѓудејство е резултат од прикажаната способност на ИЛ-10 да направи надолна регулација на прикажувањето на класа 2 ГТК молекулите кај овие противген прикажувачки клетки. ИЛ-10 има други моќни имуносупресивни ефекти врз моноцит-макрофагната лоза, како што е супресијата на создавањето на азотниот оксид и други бактериски метаболити кои се вклучени во уништувањето на патогените и супресијата на создавањето на различни воспалителни посредници, како на пример, ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ГМ-КСФ, Г-КСФ и ТНФ-гама. Овие супресивни ефекти врз макрофагот служат за дополнително намалување на биолошките последици од Тпо1 активација.

Тпо1/Тпо2 рамнотежата ги одредува резултатите од болеста

Напредокот на одредени болести може да зависи од рамнотежата помеѓу Тпо1 и Тпо2 подгупите. Кај луѓето, добро проучен пример за овој феномен е лепрата, која е предизвикана од *Mycobacterium leprae*, внатреклеточен патоген кој може да опстои во фагозомите од макрофагите. Лепрата не е единствен клинички ентитет. Наместо тоа, болеста претставува спектар на клинички одговори, со две главни форми на болеста, туберкулоид и лепроматоза, на секој крај од спектарот. Кај **туберкулоидната лепра**, клеточнопосредуваниот имун одговор формира грануломи, што резултираат со уништување поголемиот дел од микобактериите, така што само неколку организми остануваат во ткивата. Иако кожните и периферните нерви се оштетени, туберкулоидната лепра напредува бавно, и пациентите обично преживуваат. Кај **лепроматозната лепра**, клеточнопосредуваниот одговор е потиснат и наместо тоа се создадени хуморални противтела, што понекогаш доведува до високи нивоа на имуноглобулин (хипергамаглобулинемија). Микобактериите се широко распространети во макрофагите, често достигнувајќи висок број од 10^{10} по грам на ткиво. Лепроматозната лепра напредува во проширена инфекција на коските и 'рскавицата со опширно нервно и ткивно оштетување.

Развојот на лепроматозната или туберкулоидната лепра зависи од рамнотежата на Тпо1 и Тпо2 клетките (слика 12-14). Кај туберкулоидната лепра, имуниот одговор се карактеризира со Тпо1 тип одговор со одложен тип на преосетливост и цитокински профил кој се состои од високи нивоа на ИЛ-2, ИФН-бета од ТНФ-гама. Кај лепроматозната лепра, постои Тпо2 тип имун одговор со високи нивоа на ИЛ-4, ИЛ-5 и ИЛ-10. Овој цитокински профил го објаснува прошириниот клеточнопосредуван имунитет и зголеменото создавање на серумско противтело во лепроматозната лепра.

Исто така постојат докази за промени во Тпо подгрупната активност кај СИДА-та. Во првиот период од болеста, Тпо1 активноста е висока, но како што се развива СИДА-та, одредени соработници тврделе дека може да настане промена од Тпо1 во Тпо2 одговор. Според тоа, одредени патогени може да влијаат врз активноста од подгрупите Тпо. На пример, Епштајн-Бар вирусот создава хомолог на човечкиот ИЛ-10 наречен вИЛ-10, кој има слична активност како ИЛ-10. Овој вирусен имитатор, како клеточниот ИЛ-10, се стреми да ја супресира Тпо1 активноста преку вкрстена регулација. Одредени истражувачи

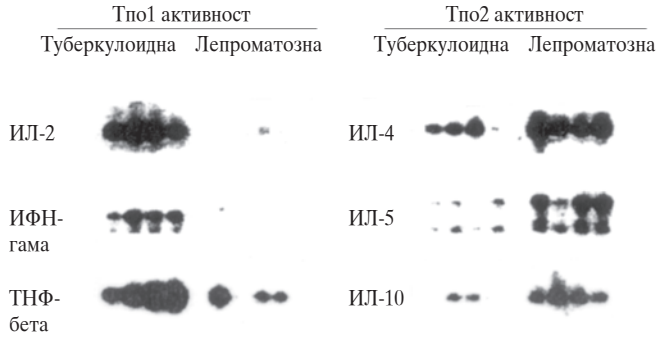


FIGURA 12-14 Корелација помеѓу типот на лепрата и реалтивната Тпо1 и Тпо2 активност. Гласничката РНК изолирана од раните кај пациенти со туберкулоидна и лепроматозна лепра била анализирана со Садерново дамкосување преку употреба на цитокински сонди кои се прикажани на сликата. Цитокините создадени од Тпо1 клетки доминираат кај туберкулоидните пациенти, додека цитокините кои се создадени од Тпо2 клетките доминираат кај лепроматозните пациенти. [*Од P. A. Sieling и R. L. Modlin, 1994, Immunology* **191**:378.]

тврдеа дека вИЛ-10 може да го намали клеточнопосредуваниот одговор на Епштајн-Бар вирусот, на тој начин посредувајќи преживувачка предност на вирусот.

Цитокински поврзани болести

Дефектите во сложените регулаторни мрежи кои управуваат со прикажувањето на цитокините и цитокинските рецептори се вмешани во бројни болести. Генските дефекти во цитокините, нивните рецептори, или молекулите вклучени во сигналното пренесување што следи по рецептор-цитокинското меѓудејство водат до имунинедостатоци како што е тешкиот комбиниран имунонедостаток (ТКИН), објаснет во глава 20. Други дефекти во цитокинската мрежа можат да предизвикаат неспособност за одбрана против специфични фамилии од патогени. На пример, лицата со дефектен рецептор за ИФН-гама се осетливи кон микобактериски инфекции кои ретко се појавуваат кај здравата популација. Во однос на болестите вкоренети во генетските дефекти кај цитокинската активност, бројни патолошки состојби резултираат од прекумерното и недоволното прикажување на цитокините или цитокинските рецептори. Одредени примери за овие болести се дадени долу, следени со бројни терапии кои целат кон спречување на потенцијалната повреда предизвикана од цитокинската активност.

Септичниот шок е чест и потенцијално смртоносен

Покрај широката употреба на антибиотиците, бактериските инфекции остануваат главна причина за септичниот шок, кој

може да се развие по неколку часа од инфекцијата со одредени грам-негативни бактерии, вклучувајќи ги *E.coli, Klebsiella pneumoniae, Pesudomonas aeruginosa, Enterobacter aerogenese* и *Neisseria meningitides*. Симптомите од бактерискиот септичен шок, кој често е фатален, вклучува пад на крвниот притисок, треска, дијареја и широко крвно сосирување во разни органи.

Бактерискиот септичен шок очигледно се развива бидејќи **ендотоксините** од бактерискиот клеточен ѕид се врзуваат за ТВР-и од стеблестите клетки и макрофагите, предизвикувајќи прекумерно создавање ИЛ-1 и ТНФ-алфа до нивоа кои предизвикуваат септичен шок. На пример, во една студија, повисоки нивоа на ТНФ-алфа биле пронајдени кај пациенти кои починале од менингитис од оние што закрепнале. Според тоа, состојба која наликува на бактерискиот септичен шок може да се добие со инјектирање на рекомбинантен ТНФ-алфа кај глушец во отсуство на грам-негативна бактериска инфекција. Некои студии даваат надеж дека неутрализацијата на активноста на ТНФ-алфа и ИЛ-1 со моноклонски противтела или противници ќе спречат развивање на фаталниот шок. Во една студија, моноклонското противтело за ТНФ-алфа ги заштитило животните од ендотоксинпоттикнатиот шок. Во друга студија, внесувањето на рекомбинантниот рецепторен противник (ИЛ-1Рп), кој го спречува врзувањето на ИГ-1 со ИЛ-1 рецепторот, резултирал со тројно намалување на смртноста. Сепак, неутрализацијата на ТНФ-алфа не го исклучува развивањето на септичкиот шок кај сите пациенти, и противтелата против ТНФ-алфа во мал степен придонеле кај пациентите со развиена болест. Неодамнешните студии во кои цитокинските профили од пациентите со септичен шок биле прекувремено следени овозможија одредени детали кон овој очигледен парадокс.

Бактерискиот септичен шок е една од болестите која спаѓа под општиот назив за сепса, кое може да биде предизвикано не само од бактериска инфекција, туку исто така од траума, повреда, исхемија (намалување на крвното снабдување на орган или ткиво) и одредени канцери. Сепсата е најчеста причина за смрт кај болничките единици за интензивна нега во САД и ѝ се припишуваат 9,3% од вкупниот број смртни случаи во САД. Таа е трета главна причина за смрт во развиените земји. Честа карактеристика на сепсата, без разлика на причината, претставува прекумерното создавање провоспалителните цитокини како што се ТНФ-алфа и ИЛ-1бета. Цитокинската неурамнотеженост често предизвикува многу неправилна телесна температура и респираторна стапка и висок број бели крвни клетки, по што следи капиларно течење, повреда на ткивото и смртоносно откажување на органите.

Зголемувањето на ТНФ-алфа и ИЛ-1 настанува брзо во раната сепса, па неутрализирањето на овие цитокини е најполезно во раниот период од овој процес. Кај експериментите со животните, раната интервенција може да ја спречи сепсата во потполност. Како и да е, приближно по 24 часа од развојот на сепсата, нивоата на ТНФ-алфа и ИЛ-1 значително паѓаат и други фактори стануваат позначајни. Цитокините кои се значајни во доцните фази може да ги вклучат ИЛ-6, МИФ и ИЛ-8. Сепсата останува област за интензивно проучување, а разјаснувањето на овој процес вклучен во бактерискиот септичен шок и други форми на сепса може да се очекува дека ќе доведе до терапија за овој голем убиец.

Бактерискиот токсичен шок е предизвикан од суперпротивгените

Голем број микроорганизми создаваат токсини кои дејствуваат како **суперпротивгени**. Како што е објаснето во глава 10, суперпротивгените се поврзуваат стимулаторно за класа 2 ГТК молекул и за Вбета доменот од Т-клеточниот рецептор, активирајќи ги сите Т-клетки кои го имаат одредениот Вбета домен (види слика 10-16). Поради нивната уникатна врзувачка способност, суперпротивгените можат да активираат голем бројни Т-клетки без разлика на нивната противгенска специфичност.

Иако помалку од 0,01% од Т-клетките реагираат на даден вообичаен противген, 5% или повеќе од Т-клеточната популација реагираат на даден суперпротивген. Голем дел од Т-клетките реактивни на одреден суперпротивген резултираат од ограниченият број на ТКР Вбета гените кои се наоѓаат во зародишната линија. Глувците, на пример, имаат околу 20 Вбета гени. Ако се претпостави дека секој Вбета ген е прикажан со еднаква зачестеност, тогаш се очекува дека секој суперпротивген ќе стапи во меѓудејство со една од 20 Т-клетки, или 5% од целата популација на Т-клетките.

Бактериските суперпротивгени се вклучени како предизвикувачки агенс на неколку болести, како што е бактерискиот токсичен шок и труењето со храна. Меѓу овие бактериски суперпротивгени спаѓаат и одреден број ентеротоксини, ексфолијативни токсини и токсин на токсичен шок синдром (TSST1) од *Staphylococcus aureus*, пирогенични токсини од *Streptcoccus pyrogenes* и *Mycoplasma artgritidis* суперантиген (МАС). Голем број Т-клетки активирани од овие суперпротивгени резултираат со прекумерно создавање цитокини. На пример, се покажало дека токсинот на токсичен шок синдром поттикнува мошне високи нивоа на ТНФ-алфа и ИЛ-1. Како и бактерискиот септичен шок, овие зголемени концентрации на цитокините можат да поттикнат системски реакции кои вклучуваат треска, широко крвно сосирување и шок.

Цитокинската активност е вклучена во лимфоидните и миелоидните карциноми

Абнормалностите во создавањето на цитокините или нивните рецептори биле поврзани со одреди типови рак. На пример, абнормално високи нивоа на ИЛ-6 се излачени од срцевите миксомски клетки (бениген срцев тумор), миеломски и плазмацитомски клетки и цервикалните и канцерозни клетки на мочниот меур. Кај миеломските и плазмоцитомските клетки, ИЛ-6 дејствува на автокрин начин за стимулирање клеточна пролиферација. Кога моноклонските противтела за ИЛ-6 ќе се додадат во ин витро културите на миеломските клетки, нивниот раст е попречен. Во спротивно, пронајдено е дека трансгените глувци кои прикажуваат високи нивоа на ИЛ-6 извршуваат масивна, смртоносна плазма клеточна пролиферација, наречена плазмацитоза. Иако овие плазма клетки не се малигни, високата стапка на плазмаклеточната пролиферација веројатно придонесува за развојот на ракот.

Чагасовата болест е предизвикана од паразит

Протозоата *Trypanosoma cruzi* е предизвикувачкиот агенс на Чагасовата болест, која е карактеризирана со тешка имуна супресија. Способноста на *T. cruzi* да посредува имуна супресија може да се види кај култивираните периферни крвни Т-клетки

во присуство или отсуство на *T. cruzi*, а потоа да се проценува нивната имуна реактивност. Противгенот, митогенот или против-КД3 моноклонското противтело обично може да активира периферни Т-клетки, но во присуство на *T. cruzi*, Т-клетките не се активирани од никој од овие агенси. Дефектот кај овие лимфоцити е припишан на значително намаленото прикажување на 55 кДа алфа поединица од ИЛ-2 рецепторот (КД25). Како што е наведено претходно, високоафинитетниот ИЛ-2 рецептор содржи алфа, бета и гама поединици. Алфа поединицата е специфична за цитокинското врзување (види слика 12-9). Кокултивирањето на Т-клетките со *T. cruzi* и последователното боење со флуоресцеин-означен против-КД25, кој се врзува за алфа поединицата, откри 90% пад во нивото на алфа поединицата.

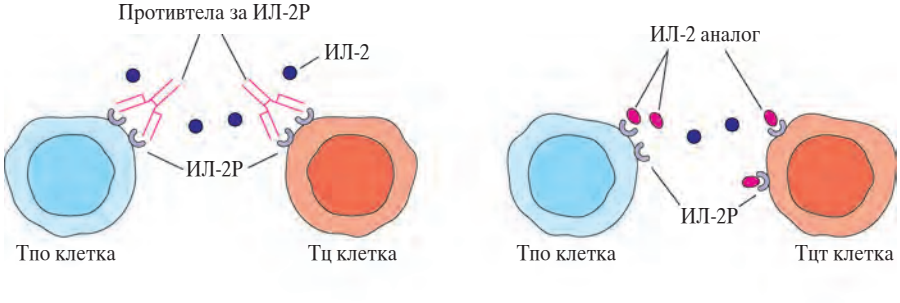
Иако механизмот преку кој *T. cruzi* го супресира прикажувањето на поединицата е сè уште непознат, супресијата може да се поттикне преку филтер кој спречува контакт на лимфоцитите и протозоите. Овој наод покажува дека супресијата ја посредува дифузен фактор. Таквиот фактор, штом се изолира, може да има бројни клинички примери за регулирање на нивото на активираните Т-клетки кај леукемиите и автоимуните болести.

Цитокин базирани терапии

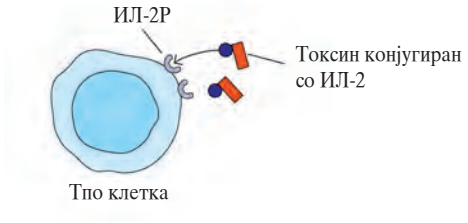
Достапноста на прочистените клонирани цитокини, моноклонските противтела упатени против цитокини и растворливи цитокински рецептори нудат можност специфичните клинички терапии да го променат имуниот одговор. Неколку цитокинбазирани терапии – посебно, интерфероните (види Клинички фокус на страна 322), колониистимулирачките фактори, како што се ГМ-КСФ и блокирачите на ТНФ-на активност – се покажале терапевтски корисни при одредени болести. Сепак, и покрај големиот потенцијал, цитокин-базираната терапија не била успешна при сите примени. Како што објаснивме претходно, употребата на блокатори за ТНФ-алфа не е универзален лек за септичен шок бидејќи септичниот шок не е посредуван еднинствено од ТНФ-алфа. Наспрема тоа, растворливиот ТНФ-алфа рецептор (Enbrel) и моноклоналните противтела против ТНФ-алфа (Remicade и Humira) се употребуваа за лекување ревматоиден артрит кај повеќе од милион пациенти. Овие против-ТНФ-алфа лекови ја намалуваат серијата на провоспалителните цитокини и резултирачкиот воспалителен одговор. За оние лица кои страдаат од ревматоиден артрит, лековите ја запираат болката, вкочанетоста и зглобните отоци и поттикнуваат заздравување и ткивна поправка. Но оваа терапија носи зголемен ризик од инфекција, посебно од туберкулоза и пневмонија, поради намалената цитокинска активност. Ризикот од лимфом исто така се зголемува кај долготрајни корисници на ТНФ-алфа блокатори.

Проблемите настанале при приспособувањето на цитокините за безбедна, рутинска медицинска употреба. Еден проблем е одржувањето на нивоата на ефикасната доза во текот на клиничкизначајниот период. При имуниот одговор, клетките кои стапуваат во меѓудејство создаваат доволно високи концентрации од цитокини во близината на целните клетки, но тешко е да се постигнат такви локални концентрации кога цитокините треба да се внесуваат системски за клиничкото лекување. Според тоа, цитокините често имаат краток период на полураспаѓање, така што може да биде потребно континуирано внесување. На пример, рекомбинантниот хуман ИЛ-2 има период на полураспаѓање од само 7 до 10 минути кога се внесува интервенски. На крајот, цитокините се крајно моќни модификатори на биолошкиот одговор и можат да предизвикаат непредвидливи и непознати несакани ефекти. На пример, несаканите ефекти од внесувањето на рекомбинантниот ИЛ-2

(а) Супресија на Тпо клеточната пролиферација и Тцт клеточната активација



(б) Уништување на активираните Тпо клетки



СЛИКА 12-15 Експерименталните цитокинповрзани терапевтски агенси ја нудат можноста за селективно менување на имуниот одговор. (а) Против-ИЛ-2Р моноклонско противтело се врзува за цитокинскиот рецептор (ИЛ-2Р) врз клеточната површина, при тоа спречувајќи меѓудејство на цитокинот со неговиот рецептор. (б) Конјугацијата на токсинот со цитокинот доведува до уништување на клетките кои го прикажуваат цитокинскиот рецептор.

се протегаат од благи, како што се треска, настинка, дијареја и зголемување на тежината, до сериозни, како што се анемија, тромбоцитопенија, шок, респираторен дистрес и кома. Покрај овие тешкотии, повеќенационалниот обид за рекомбинантниот ИЛ-2 (Proleukin) покажа преелиминирачки успех во враќањето на КД4+ Т-клеточните нивоа кај пациенти со СИДА (види глава 20). Цитокинот се внесува поткожно два пати дневно во период од 5 дена на секои 8 недели кај пациенти кои истовремено примале противретровирусни лекови. Зголемените нивоа на КД4+ Т-клетките биле задржани подолг период кај оние лица кои примиле ИЛ-2 со оние кои примиле само противретровирусна терапија. Ил-2 групата исто така се зголемила во КД8+ клеточната подгрупа која имала противвирусна активност, но не покажала цитоксичност против ХИВ заразените клетки. Несаканите ефекти од ИЛ-2 кој е внесен во овој режим биле минимални, главно грипозен синдром и болка во областите за инјектирање.

Други пристапи за медицинска примена на цитокините вклучува цитокинрецепторска блокада и употреба на цитокински аналози и цитокин-токсински конјугати. На пример, пролиферацијата на активираните Тпо клетки и активацијата на Тцт клетки може да биде блокирана со против-КД25, моноклонско противтело кое се врзува за алфа поединицата од високоафинитетниот ИЛ-2 рецептор (слика 12-15а). Внесувањето на против-КД25 ја продолжила стапката на преживување на срцевите пресадоци кај стаорците. Против-КД25 исто така било користено за Т-клеточната леукемија кај возрасните, која може да е резултат од инфекција со хуман ретровирус ХТЛВ-1 и е карактеризиран со пролиферација на Т-клеточната популација која прикажува ИЛ-2Рп во абнормално високи количини. Слични резултати се добиени со ИЛ-2 аналозите кои ја задржуваат нивната способност да се врзат за ИЛ-2 рецепторот, но ја немаат биолошката активност на ИЛ-2 (види слика 12-15а). Таквите аналози се создаваат кај мутагенезата на клонираните ИЛ-2 гени. На крајот, се покажа дека цитокините конјугирани со различни токсини, како што е бета веригата од дифтеричниот токсин, го намалуваат отфрлањето на бубрежните и срцевите пресадоци кај животните. Конјугатите кои содржат ИЛ-2 селективно се врзуваат и ги убиваат активираните Тпо клетки (слика 12-15б).

Употребата на цитокините во клиничката медицина ветува многу, а напорите да се развијат безбедни и ефикасни цитокинповрзани стратегии продолжува, посебно во области како што се воспалението, лекувањето на ракот и модификацијата на имуниот одговор при пресадувањето органи, инфективните болести и алергиите.

Цитокините во хематопоезата

Раните истражувања во Австралија и Израел покажале дека растворливите фактори можат да го поддржат растот и диференцијацијата на црвените и белите крвни клетки. Првиот од овие растворливи фактори кој се карактеризираше, еритропоетинот, бил изолиран од уринатa на анемични пациенти и се покажал дека го поддржува развојот на црвените крвни клетки. Дополнително, се покажало дека многу цитокини играат значајна улога во хематопоезата (табела 12-5). Во текот на хематопоезата, цитокините дејствуваат како развојни сигнали кои управуваат со обврзувањето на родителските клетки во и низ одредени лози. Како што е прикажано на

ТАБЕЛА 12-5 Хематопоетски цитокини

Хематопоетски фактор на раст	**Области на создавање**	**Главни функции**
Еритропоетин	Бубрези, црн дроб	Создавање црвени клетки
Г-КСФ	Ендотелни клетки, фибробласти, макрофаги	Создавање неутрофили
Тромбопоетин	Црн дроб, бубрег	Создавање крвни плочки
М-КСФ	Фибробласти, ендотелни клетки, макрофаги	Создавање макрофаги и остеокласти
МКФ/ц-Кит лиганд	Коскеносрцевински стромални клетки, првенствено	Матични клети, преживување/делење на родителските клетки, диференцијација на мастоцити
Лиганд Флт-3	Фибробласти, ендотелни клетки	Експанзија на рани родителски клетки, пре-Б клетки
ГМ-КСФ	Т-клетки (Тпо1 и Тпо2), макрофаги, мастоцити	Макрофагно, гранулоцитно создавање, зреење и активација на стеблестите клетки
ИЛ-3	Т-клетки (Тпо1 и Тпо2), макрофаги	Матични клетки и раст на миелоидни родителски клетки, мастоцити
ИЛ-5	Активирани помагачи, Т-клетките -само Тпо2 одговор	Еозинофилно создавање, глувчешки Б-клеточен раст
ИЛ-6	Активирани Т-клетки, моноцити, фибробласти, ендотелни клетки	Родителска клеточна стимулација, создавање крвни плочки, имуноглобулинско создавање во Б-клетките
ИЛ-7	Коскеносрцевинските и лимфоидните стромални клетки	Т-клеточно преживување
ИЛ-11	Коскеносрцевински стромални клетки и ИЛ-1 стимулирани фибробласти	Фактор за раст на мегакариоцитите

Г-КСФ, гранулоцитен колониистимулирачки фактор. ГМ-КСФ, гранулоцитен-макрофаген колониистимулирачки фактор; ИЛ, интерлеукин. М-КСФ, макрофаген колониистимулирачки фактор. МКФ, матичен клеточен фактор. Адаптирано од D. Thomas dhe A. Lopez, 2001, Encyclopedia Of Life Sciences: Encyclopedia of life sciences, Nature Publishing Group.

КЛИНИЧКИ ФОКУС
Терапија со интерферони

Интерфероните се извонредна група протеини чија противвирусна активност довела до нивно откривање пред скоро 50 години. Последователните студии покажале дека интерфероните имаат други ефекти, вклучувајќи ја способноста да поттикнуваат клеточна диференцијација, попречувањето на пролиферацијата од истите клеточни видови, попречувањето на ангиогенезата и да функционираат во различни имунорегулаторни улоги. Овие ефекти на имуниот систем се значајни и драматични. Интерфероните поттикнуваат пораст на прикажувањето на класа 1 и класа 2 ГТК молекули и раст на активноста на КПУ. Зголеменото прикажување на класа 1 го зголемува прикажувањето на противгенот на КД8⁺ клетките, класа која го вклучува поголемиот дел од Тцт популацијата. Ова олеснето прикажување на противгенот не само што ги прави противген прикажувачките клетки поефикасни во поттикнувањето на цитотоксичните Т-клеточни популации туку и ги прави подобри цели за напад од Тцт клетки. Во однос на зголемувањето на нагорната регулација на класа 1 ГТК молекулите кај многу клеточни видови, ИФН-гама го зголемува прикажувањето на класа 2 ГТК молекулите кај таквите противген прикажувачки клетки како што се макрофагите и стеблестите клетки. Ова ги прави подобри претставувачи на противген за Тпо клетки. ИФН-гама е исто така моќен поттикнувач на макрофагната активација и општ поттикнувач на воспалителните реакции. Клонирањето на гените кои ги кодираат сите три вида интерферон, ИФН-алфа, ИФН-бета и ИФН-гама, ѝ овозможи на биотехнолошката индустрија да создава голема количина од сите овие интерферони со трошоци кои ја прават нивната клиничка примена практична. Одредени клинички употреби од секој тип на интеферон се следниве:

- ИФН-алфа (исто така познат по неговите трговски имиња Роферон и Интрон А) се користи за лекување на хепатит Ц и хепатит Б. Исто така има голем број различни примени во терапијата на ракот. Тип на Б-клеточна леукемија позната како влакнеста клеточна леукемија (бидејќи клетките се покриени со нежни цитоплазмини продолженија во вид на коса) реагира добро на ИФН-алфа. Хроничната миелоична леукемија, болест која се карактеризира со зголемување на бројот на гранулоцити, започнува со бавна развивачка хронична фаза, која се менува во забрзувачка фаза и завршува во експлозивна фаза, која обично е отпорна на лекувањето. ИФН-алфа е ефективен третман за оваа леукемија во хроничната фаза (пријавени се 70% стапки на одговор), а одредени пациенти (до 20% во некои студии) подлежат на целосно повлекување. Капошиевиот сарком е рак кој често се среќава кај американските граѓани кои имаат СИДА, и исто така одговара на лекувањето со ИФН-алфа, а има извештаи за тенденција од подолго преживување и помалку опортунистички инфекции кај пациентите кои се лекуваат со овој агенс. Повеќето од ефектите кои се споменати овде се добиени од клинички студии каде се користел само ИФН-алфа, но одредени примени како што е терапијата за хепатит Ц често го употребуваат со противвирусен лек како што е рибавиринот. Времето на отстранување на ИФН-алфа е продолжено со третманот со полиетилен гликол (ПЕГ), и оваа форма, наречена пегилиран интерферон, или Пегаз, често се користи.
- ИФН-бета се појави како првиот лек способен за создавање клиничко подобрување кај мултипната склероза (МС). Младите лица се првични цели на оваа автоимуна невролошка болест, во која нервите од централниот нервен систем (ЦНС) претрпуваат демиелинизација. Ова доведува до постепено невролошко нарушување, што води до значаен и, во голем број случаи, тежок инвалидитет. Оваа болест е често карактеризирана со периоди на неразвивање и ремисија која се јавува наизменично со периоди на повторување. Лекувањето со ИФН-бета овозможува подолги периоди на ремисија и ја намалува тежината на повторувањата. Според тоа, студиите со визуализација со магнетна резонанција на оштетувањата во ЦНС кај лекуваните и нелекуваните пациенти открија дека МС-поттикнатите оштетувања биле помалку тешки кај групата на ИФН-бета третирани пациенти од нетретираните.
- ИФН-гама се користи, со варирачки степен на успех, за лекување на разни малигни болести кои ги вклучуваат не-Хоџкинсовиот лимфом, кожниот Т-клеточен лимфом и мултипниот миелом. Поуспешна клиничка употреба на ИФН-бета во клиниката е лекувањето на наследната имунонедостаточна хронична грануоматозна болест (ХГБ, види глава 20). ХГБ се карактеризира со сериозно намалување на способноста на фагоцитните клетки да ги убиваат консумираните микроби, а пациентите со ХГБ страдаат од повторувачки инфекции на бројни бактерии (*Staphyloccous aureus, Klebsiella, Pseudomanas* и други) и габи како што се *Apsergillus* и *Candida*. Пред интерферонската терапија, стандардниот третман за оваа болест вклучуваше напори да се избегне инфекција, брзо внесување на антибиотици и хируршко празнење на апсцесите. Неуспехот да се создадат микробицидни оксиданси (H_2O_2, супероксид и други) е основата на ХГБ, а внесувањето на ИФН-гама значително го преобразува овој дефект. Лекувањето со ИФН-гама

слика 12-6, миелоидната родителска клетка во присуство на еритропоетинот ќе продолжи низ патека која води до создавање еритроцити. Погодни концентрации на група цитокини вклучувајќи ги ИЛ-3, ГМ-КСФ, ИЛ-1 и ИЛ-6 ќе предизвикаат навлегување во патеките за диференцијација која води до создавање моноцити, неутрофили и други бели клетки од миелоидната група. Учеството на белите клетки во имуните одговори често доведува до нивна смрт и отстранување. Сепак, стекнатите и вродените имуни одговори создаваат цитокини кои стимулираат и

на пациенти со ХГБ значително ја намалува инциденцијата на инфекции. Исто така, инфекциите кои настанале се помалку тешки и просечниот број денови кои пациентите ги поминале во болница се намалува.

- Исто така се покажа дека ИФН-гама е ефективен при лекувањето на остеопетрозата (не остеопорозата), животозагрозувачко вродено нарушување кое се карактеризира со прекумерен раст на коските што доведува до слепило и глувост. Друг проблем од страна на оваа болест е тоа што растењето на коските ја намалува количината на просторот кој е достапен за коскената срцевина, а намалувањето на хематопоезата доведува до помал број црвени крвни клетки и анемија. Намаленото создавање на белите крвни клетки предизвикува зголемена осетливост кон инфекција.

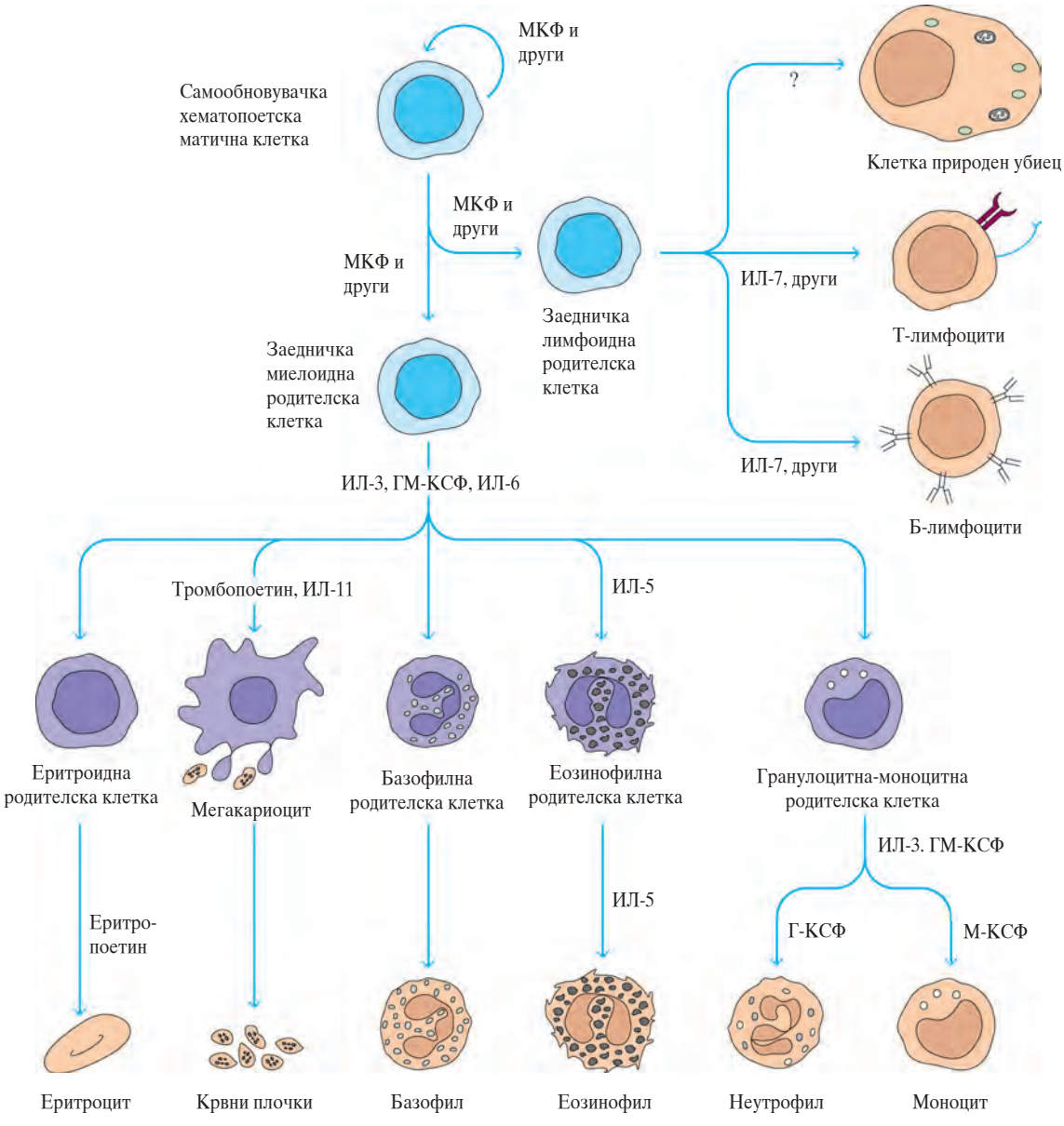
Употребата на интерфероните во клиничката практика е можно да се продолжи како што сè повеќе се дознава за нивните ефекти во комбинација со други терапевтски агенси. Иако интерфероните, заедно со другите цитокини, се моќни модифицирачи на биолошките одговори, несаканите ефекти кои ја придружуваат нивната примена за среќа се мошне благи. Типичните несакани ефекти вклучуваат грипозни симптоми, главоболка, треска, настинка и слабост. Овие симптоми во голем степен може да се намалат со ацетаминофен (Тиленол) и намалување на интензитетот при продолженото лекување. Иако токсичноста на интерферонот обично не е тешка, се гледаат сериозни манифестации како што се анемија и намален број крвни плочки и бели крвни клетки.

Терапии врз база на цитокин во клиничката примена

Агенс	Природа на агенсот	Клиничка примена
Енбрел	Химеричен ИНФ-рецептор/ИгГ константно подрачје	Ревматоиден артрит
Ремикејд и Хумира	Моноклонско противтело против ТНФ-алфа рецепторот	Ревматоиден артрит Кронова болест
Роферон	Интерферон алфа-2а*	Хепатит Б Леукемија со влакнести клетки Капоши сарком
Интрон А	Интерферон алфа-2б	Хепатит Ц † Меланом
Бетасерон	Интерферон бета-1б	Мултипна склероза
Авонекс	Интерферон бета-1а	Мултипна склероза
Актиимун	Интерферон гама-1бета	Хронична грануломатозна болест (ХГБ) Остеопетроза
Неупоген	Г-КСФ (хематопоетски цитокин)	Стимулира создавање неутрофили Намалување на инфекциите кај пациентите со рак кои се лекуваат со хемотерапија, пациенти со СИДА
Леукин	ГМ-КСФ (хематопоетски цитокин)	Стимулира создавање миелоидни клетки при коскеносрцевинското пресадување
Неумега или Неуласта	Интерлеукин-11 (ИЛ-11), хематопоетски цитокин	Стимулира создавање крвни плочки
Епоген	Еритропоетин (хематопоетски цитокин)	Стимулира создавање црвени крвни клетки

* Интерферон алфа-2а исто така е лиценциран за ветеринарна употреба да се бори против мачешката леукемија.
† Обично се користи во комбинација со противвируснилекови (рибавирин) за лекување на хепатитот Ц.

поддржуваат создавање бели клетки. Чекорите при кои одреден број цитокини учествуваат во хематопоезата се прикажани на слика 12-6. Хематопоетските цитокини кои стимулираат создавање неутрофили (Г-КСФ), миелоидни клетки (ГМ-КСФ), крвни плочки (ИЛ-11) и црвени крвни плочки (еритропоетин) се користени во клинички примени, многу често како дополнителна терапија за пациенти со имунонедостаток кои се резултат од генетски дефекти или од канцерозна хемотерапија (види Клинички фокус).



СЛИКА 12-16 **Хематопоетски цитокини и хематопоеза**. Разновидни цитокини се вклучени во поткрепата на растот и насочувањето на диференцијацијата на хематопоетските клетки. Забележете дека може да се потребни дополнителни фактори за дел од патеките кои се прикажани на сликата.

РЕЗИМЕ

- Цитокините се протеини со мала молекулска тежина кои се создаваат и се лачат од различни клеточни видови. Тие играат главна улога во поттикнувањето и регулирањето на клеточните меѓудејства кои вклучуваат клетки од имуниот, воспалителниот и хематопоетскиот систем.
- Биолошките активности на цитокините извршуваат плеотропија, редундантност, синергизам, противништво и, во одредени случаи, скалесто поттикнување.
- Од повеќето од 200 различни цитокини, поголем дел спаѓаат во една од следниве фамилии: хематопоетини, интерферони, хемокини и туморно некротизирачки фактори.
- Цитокините дејствуваат преку врзување со цитокински рецептори, каде повеќето од нив може да се класифицираат како имуноглобулинска суперфамилија рецептори, класа 1 и класа 2 цитокински рецептори, членови на ТНФ рецепторна фамилија и хемокински рецептори.
- Цитокинот може да дејствува само на клетката која прикажува рецептор за него. Активноста на одредени цитокини е насочена кон специфични клетки преку регулирањето на клеточните профили на цитокински рецептори.
- Цитокинпоттикнатата мултимеризација на класа 1 и класа 2 цитокинските рецептори ја активира ЈАК/СПАП сигналнопренесувачката патека.
- Противген стимулацијата на Тпо клетките во присуство на одредени цитокини може да доведе до создавање пот-

популации на помагачките Т-клетки познати како Тпо1 и Тпо2. Секоја подгрупа прикажува особини и различни профили од цитокинско лачење.

- Цитокинскиот профил на Тпо1 клетките поддржува имуни одговори кои вклучуваат подредување на фагоцитите, ЦТЛ-те и КПУ да ги отстранат внатреклеточните патогени. Тпо2 клетките создаваат цитокини кои поддржуваат создавање одредени имуноглобулински изотипови и ИгЕ посредувани одговори.
- Терапии базирани на цитокини и цитокински рецептори навлегоа во клиничката практика.

Референции

Abbas, A., K. M. Murphy, and A. Sher. 1996. Functional diversity of helper T lymphocytes. Nature 383:787.

Bach, E. A., M. Aguet, and R. D. Schreiber. 1998. The IFN-g receptor: a paradigm for cytokine receptor signaling. Annual Review of Immunology 15:563.

Darnell, J. E., Jr. 1997. STATs and gene regulation. Science 5332:1630–35.

Feldman, M., and L. Steinman. 2005. Design of effective immunotherapy for human autoimmunity. Nature 435:612.

Fitzgerald, K. A., et al. 2001. The Cytokine Facts Book, 2nd ed. Academic Press, New York.

Flynn, J. L., and J. Chan. 2001. Immunology of tuberculosis. Annual Review of Immunology 19:93–129.

Gadina, M., et al. 2001. Signaling by type I and II cytokine receptors: ten years after. Current Opinion in Immunology 3:363–73.

Jaeckel, E., et al. 2001. Treatment of acute hepatitis C with interferon a-2b. New England Journal of Medicine 345:1452–57.

Johnson, D. C., and G. McFadden. 2002. Viral immune evasion. In Immunology of Infectious Diseases. S. H. E. Kaufman, A. Sher, and R. Ahmed, eds. ASM Press, Washington, p. 357.

Kotenko, S. V., and J. A. Langer. 2004. Full house: 12 receptors for 27 cytokines. International Immunopharmacology 4:593.

Kovanem, P. E., and W. J. Leonard. 2004. Cytokines and immunodeficiency diseases: critical roles of the gc-dependent cytokines interleukins 2, 4, 7, 9, 15, and 21, and their signaling pathways. Immunological Reviews 202:67.

Mossman, T. R., et al. 1986. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. Journal of Immunology 136:2348.

Pestka, S., C. D. Krause, and M. R. Walter. 2004. Interferons, interferon-like cytokines and their receptors. Immunological Reviews 202:8–32.

Szabo, S. J., et al. 2000. A novel transcription factor, T-bet, directs TH1 lineage commitment. Cell 100:655–69.

Szabo, Susanne J., Brandon M. Sullivan, Stanford L. Peng, and Laurie H. Glimcher. 2003. Molecular mechanisms regulating TH1 immune responses. Annual Review of Immunology 21:713.

Ulloa, L., and K. J. Tracey. 2005. The “cytokine profile”: a code for sepsis. Trends in Molecular Medicine 11:56.

Vandenbroeck, K., et al. 2004. Inhibiting cytokines of the interleukin-12 family: recent advances and novel challenges. Journal of Pharmacy and Pharmacology 56:145.

Walter, M. R., et al. 1995. Crystal structure of a complex between interferon-g and its soluble high-affinity receptor. Nature 376:230.

Wang, X., Rickert, M., and K. C. Garcia. 2005. Structure of the quaternary complex of interleukin-2 with its a, b, and gc receptors. Science 310:1159.

Корисни веб-страни

http://www.rndsystems.com/

Мини-прегледите на цитокините кои се среќаваат на веб-страната на P&D Systems, овозможуваат неисцрпни, детални, доброзначени и често извонредни сликовити прегледи на многу цитокини и нивните рецептори.

http://www.ncbi.nlm.nih.gov:80/Lokus Link/index.html

Entrez Gene овозможува влез до секвенциски и описни информации за генските локуси на цитокините и другите протеини. Исто така овозможува линкови до веб-страни кои ја објаснуваат основаната биологија (функцијата и структурата) на генот или протеинот кој се испитува.

Прашања за учење

ПРАШАЊЕ ОД КЛИНИЧКИ ФОКУС. Цитокините се докажаа дека се моќни лекови, но нивната употреба е придружувана со несакани ефекти кои можат да бидат опасни за пациентите. Кои се некои од несакани ефекти кои ги создаваат Актиимунот, Роферонот и интерферонот бета? (Помош: Веб-страната на производителите често овозможува детални информации за несаканите ефекти на лековите кои тие ги произведуваат).

1. Наведете кој од следниве искази е точен или неточен. Ако мислите дека одреден исказ е неточен, објаснете зошто.
   а. Високоафинитетниот ИЛ-2 рецептор се состои од два трансмембрански протеини.
   б. Против-ТАС моноклонското противтело го препознава ИЛ-2 рецепторот врз Т-клетките.
   ц. Сите цитокинврзувачки рецептори се состојат од две или три подединици.
   д. Прикажувањето на бета подединицата од ИЛ-2 рецепторот укажува на Т-клеточна активација.
   е. Одредени цитокински рецептори имаат домени со тирозинкиназна активност кои функционираат при сигналното пренесување.
   ф. Сите членови од секоја потфамилија од класа 1 цитокинските рецептори (хематопоетин) споделуваат заедничка сигналнопренесувачка подединица.

2. Кога ИЛ-2 се лачи од една Т-клетка во периферниот лимфоиден орган, дали сите Т-клетки во близина пролиферираат при одговор на ИЛ-2 или само дел од нив? Објаснете.

3. Накратко објаснете ги сличностите и разликите помеѓу цитокините, факторите за раст и хормоните.

4. Наведете која/кои поединица/и од ИЛ-2 рецепторот се прикажани од страна на следните типови на клетки:

   а. _____ Мирувачки Т-клетки
   б. _____ Активирани Т-клетки
   ц. _____ Активирани Т-клетки + циклоспорин А
   д. _____ Мирувачки Тцт клетки
   е. _____ ЦТЛ
   ф. _____ КПУ

5. Суперпротивгените се вклучени во одреден број болести и се користат како истражувачки алатки.

   а. Кои особини на суперпротивгените ги разликуваат од обичните противгени?
   б. Преку кој механизам се верува дека бактериските суперпротивгени предизвикуваат симптоми кои се поврзани со труењето од храна и токсичен шок синдром?
   ц. Дали активноста на суперпротивгените извршува ГТК ограничување?

6. ИЛ-3, ИЛ-5 и ГМ-КСФ покажуваат значителна редундантност при нивните ефекти. Која структурна особина од рецепторите за овие цитокини може да ја објасни редундантноста?

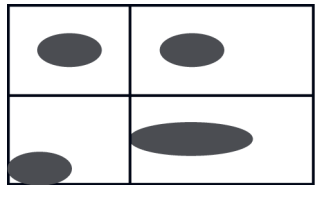
7. Значаен доказ укажува на постоењето на две Т-клеточни подгрупи, кои се разликуваат по моделот на цитокините кои тие ги лачат.

   а. Каков вид имун одговор е посредуван од Тпо1 подгрупата? Каков вид противгенски напад веројатно ќе предизвика Тпо1 посредуван одговор?
   б. Каков вид имун одговор е посредуван од Тпо2 подгрупата? Каков вид противгенски напад веројатно ќе предизвика Тпо2 посредуван одговор?

8. Наведете кој од следниве искази е точен или неточен. Ако мислите дека одреден исказ е неточен, објаснете зошто.

   а. ИЛ-6 го стимулира црниот дроб да создаде протеини на акутна фаза кои го исклучуваат имуниот одговор по вирусните инфекции.
   б. Цитокините се прикажуваат при релативно ниски концентрации и се многу моќни, така што тие можат да дејствуваат врз клетките во близина на клетката што ги лачи.
   ц. Дали клетката ќе одговори на цитокинот или не, зависи од тоа кои поединици од рецепторот се прикажани и нивото на прикажување на рецепторот врз клеточната површина.
   д. Тпо1 клетките ослободуваат цитокини кои резултираат со зголемено создавање на еозинофилите и мастоцитите во коскената срцевина.
   е. ИЛ-4 ја попречува диференцијацијата на Т0 клетките во Тпо1 клетки.
   ф. Активацијата на Т-клетките резултира со лачење на ИЛ-1 и неговиот рецептор врз Т-клеточната површина.

9. Следнава слика го покажува резултатот од проточна цитометрија на човечките крвни клетки. Клетките се обоени со противхумана ИЛ-2 рецепторска алфа поединица од зајак конјугирана со ФИТЦ (у-оска) и противхумана ИЛ-2 рецепторска гама поединица од глушец конјугирана со ПЕ (х-оска). Кој квадрат ги покажува клетките кои прикажуваат рецептор со среден афинитет?



10. За секој од следниве цитокини, наведете кој од ефектите ќе настане како резултат на создавањето на цитокинот.

Цитокини	*Ефекти*
а. ИЛ-1	1. Активација на макрофагите
б. ИЛ-4	2. Зголемена атхезивност на васкулатурата
в. ИЛ-7	3. Поттикнува Тпо1 развој
г. ИЛ-5	4. Поттикнува Тпо2 развој
д. Еритропоетин	5. Создавање на еозинофили
ѓ. Интерферон гама	6. Создавање на ЦКК
е. ИЛ-25	7. Поттикнување на протеини на акутната фаза
	8. Изотипско превклучување кон ИгЕ
	9. Развој на лимфоцити

11. Пополнете ги празните полиња во секој исказ.

   а. Цитокинот _____ ги поттикнува Б-клетките да претрпат класно превклучување кон ИгЕ.
   б. _____ се хемотактички цитокини.
   в. Серијата на сигнално пренесување која започнува со хемокинско врзување за нивните рецептори вклучува _____.
   г. _____ е значаен за развојот на лимфоцитите во текот на хематопоезата.
   д. Ако клетката ги прикажува сите три поединици на ИЛ-2 рецепторот (ИЛ-2Р), таа ќе реагира на _____ концентрации на ГМ-КСФ.
   ѓ. _____ е цитокиниот кој очекувате дека ќе се зголеми кај лице со вирусна инфекција (не мора да значи обвиткан вирус).

12. Кој од следниве искази што се однесува на Тпо1 клетките не е точен?

   а. Тие се клучни во одложен тип на преосетливост.
   б. Ги активираат Тцт клетки.
   в. Поттикнуваат воспаление.
   г. Поттикнуваат алергиски реакции преку поттикнување класно превклучување кон ИгЕ.

13. Што од следново за ИФН-гама е вистина?

   а. Поттикнува диференцијација на Тцт клетките.
   б. Ја зголемува противмикробната активност на макрофагите.
   в. Ја попречува диференцијацијата на Т0 во Тпо2.
   г. Им помага на Б-клетките да создадат ИгГ поттипови кои се добри за опсонизација.

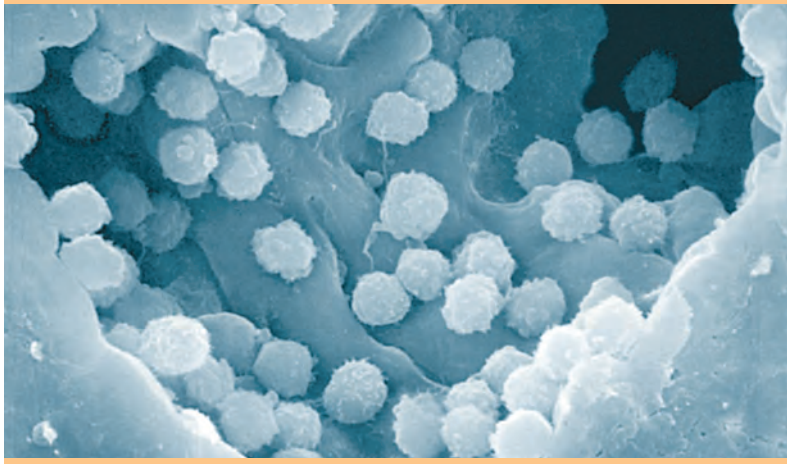
Интерактивно учење

www.whfreeman.com.kuby

САМОСТОЕН ТЕСТ
Преглед на клучни изрази

Поглавје 13

Активирање и мигрирање на белите клетки



Лимфоцити прикачени за површината од високоендотелна венула. [Од S. d. Rosen and L. M. Stoolman 1987, Vertebrae Lectins, Van Nostrand Reinhold.]

- Клеточни адхезивни молекули
- Хемокини
- Екстравазација на бели клетки - Повеќечекорна парадигма
- Рециркулација на лимфоцитите
- Екстравазација на лимфоцитите
- Други посреденици на воспалението
- Процес на воспаление
- Противвоспалителни агенси

Кога напаѓачите го инфицираат нашиот организам, клетките од имуниот систем се собираат и се организираат за негова одбрана. Клетките од вродениот имун систем пристигнуваат први на местото на инфекцијата и ја организираат имунолошката одбрана, со што му овозможуваат на стекнатиот имун одговор да создаде долготрајна заштита. Белите клетки непрекинато го надгледуваат нашиот организам патувајќи постојано низ крвосадниот систем. Кога ќе се открие инфекција, клетките ја преминуваат крвната бариера и патуваат до местото на инфекција.

Воспалението претставува сложен одговор на локалната повреда или друг вид траума. Тоа се карактеризира со црвенило, топлина, оток и болка, како што е опишано во третото поглавје. Во остварувањето на воспалението се вклучени разни видови на клетки од имуниот систем и бројни посреденици. Собирањето на клетките кои учествуваат во воспалението и регулирањето на **воспалителните реакции** би било неможно без да постои контролирана миграција на популациите на белите клетки. Во поглавјата 10 и 11 е објаснето како се активираат лимофицитите, како одговор на средбата со противгените. Ова поглавје ги опишува молекулите и процесите кои играат улога во миграцијата на белите клетки, различните молекули кои посредуваат во воспалението и карактеристичните физиолошки промени кои ги придружуваат воспалителните реакции.

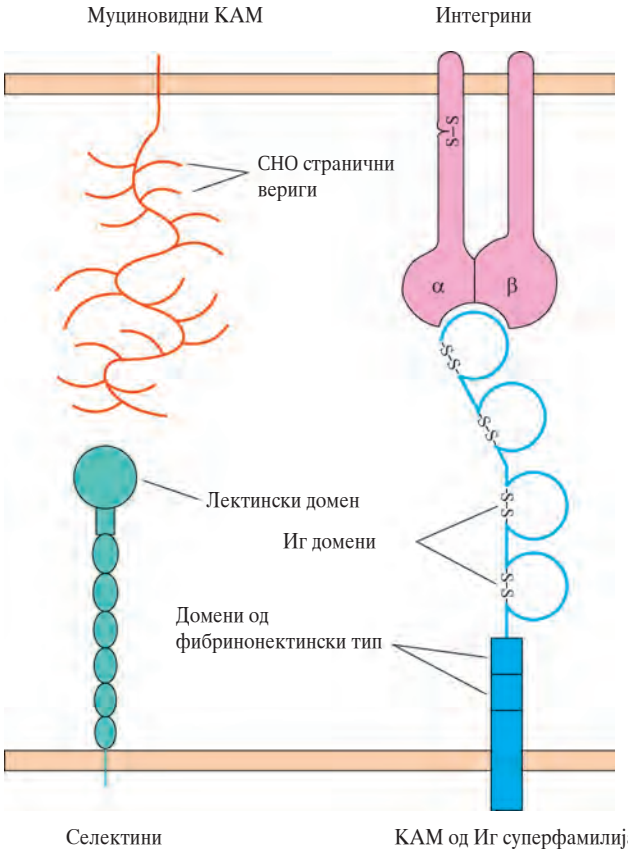
Клеточни адхезиски молекули

Ткивата во нашите тела се држат заедно благодарение на молекулските меѓудејства меѓу клетките. Само кај имуниот систем клетките можат да патуваат од еден дел од телото до друг. Истите молекули кои ги држат заедно нашите ткива, наречени уште и **клеточни адхезивни молекули (КАМ)** (cell adhesion molecules = CAMs), може да бидат искористени и од страна на белите клетки за да стапат во заемно дејство со клетките од ткивата.

Крвосадниот ендотел служи како значаен „чувар“, кој го регулира движењето на крвните молекули и белите клетки кон ткивата. За да можат циркулирачките бели клетки да навлезат во воспаленото ткиво или периферните лимфоидни органи, клетките мора да се прилепат и да поминат меѓу ендотелните клетки кои ги обложуваат ѕидовите од крвните садови, процес кој се нарекува **екстравазација**. Ендотелните клетки прикажуваат на својата површина КАМ кои се специфични за белите клетки. Дел од овие мембрански протеини се составен дел од клетката и се постојано прикажани врз нејзината површина. Други пак протеини се прикажуваат само како одговор на локалните концентрации на цитокини, кои се создадаваат при воспалителниот одговор. Рециркулирачките лимфоцити, моноцити и гранулоцити поседуваат рецептори кои се врзуваат за КАМ од крвосадниот ендотел, што им овозможува на овие клетки да преминат во ткивата.

Покрај нивната улога во адхезијата на белите клетки врз ендотелните клетки од крвните садови, КАМ од белите клетки служат и за да ја зголемат силата на функционалните заемни дејства помеѓу клетките од имуниот систем. Се покажало дека различни адхезивни молекули играат улога во заемното дејство меѓу Тпо клетки и ППК, Тпо и Б клетките, како и меѓу ЦТЛ и целните клетки. Клонирани и карактеризирани се одреден број на КАМ од ендотелните и белите клетки, овозможувајќи нови податоци за процесот на екстравазација. Повеќето од

(а) Општа структура на КАМ фамилиите



(б) Одбрани КАМ кои припаѓаат на секоја фамилија

Муциновидни КАМ	Селектини
ГлиКАМ-1	Л-селектин
КД34	П-селектин
ПСГЛ-1	Е-селектин
ЛАдКАМ-1	

КАМ од Иг суперфамилијата	Интегрини
ПКАМ-1, -2, -3	алфа4бета1 (МДП-4, АМЛП-4)
ККАМ-1	алфа4бета7 (АМЛП-1)
ЛФП-2 (КД2)	алфа6бета1 (МДП-6)
ЛФП-3 (КД58)	алфаЛбета2 (ЛФП-1)
ЛАдКАМ-1	алфаМбета2 (МАК-1)
	алфаХбета2 (КР4, п150/95)

СЛИКА 13-1 **Шематски приказ на општата структура на четирите фамилии на клеточните адхезивни молекули (а) и листа на поглавните молекулии од секоја од фамилиите (б).** Лектинскиот домен кај селектините првично стапува во заемно дејство со јаглехидратните (ЦХО) делови од муциновидните молекулите. Двате вериги од интегринските молекулите учествуваат во формирањето на врзното место, кое стапува во взаемно дејство со Иг доменот од КАМ кои припаѓаат во Иг суперфамилијата. ЛАдКАМ-1 содржи и муциновидни и имуноглобулиновидни домении и можат да се врзат и за селектините и за интегрините.

КАМ припаѓаат на четири фамилии на протеини: фамилијата на селектините, муциновидната фамилија, интегринската фамилија и суперфамилијата на имуноглобулините (Иг) (слика 13-1).

Селектините - **Селектинската** фамилијата на мембранските гликопротеини има вонклеточен лектиновиден домен кој им овозможува на овие молекули да се врзат за специфичните јаглехидратни групи. Селектините првично стапуваат во заемно дејство со сијалинизираниот јаглехидратен дел, наречен сијалил-Левис^x, која најчесто се поврзува со муциновидните молекули. Фамилијата на селектините фклучува три молекули, Л-, Е- и П-селектин, исто така, наречени и КД62Л, КД62Е и КД62П. Повеќето циркулирачки бели клетки прикажуваат вр себе Л-селектин, додека Е-селектинот и П-селектинот се прикажуваат врз ендотелните клетки од крвните садови при воспалителниот одговор. П-селектинот се чува во Вајбел-Паладиовите телца, еден тип на зрнца во ендотелната клетка. При активирањето на ендотелната клетка, зрнцето се спојува со плазматската мембрана, што резултира со прикажување на П-селектин врз клеточната површина. Прикажувањето на Е-селектинот бара синтеза на нови протеин и настанува кога ендотелот ќе се стимулира со про-воспалителни цитокини. Селектинските молекули се одоговорни за почетната лепливост на белите клетки за крвосадниот еднотел.

Муцини - **Муцините** се група на протеини богати со серин и треонин, протеини кои се изобилно гликозилирани. Нивната издолжена структура им овозможува да ги претстават сијалил-Левис^x и фругите сулфатни јаглехидратни делови како поврзувачки места за селектините. На пример, Л-селектинот (КД62Л) од белите клетки се врзува за КД34 и ГлиКАМ-1 од ендотелните клетки. Друга муциновидна молекула (ПСГЛ-1) која се среќава врз неутрофилите стапува во взаемно дејство со Е- и П- селектините, кои се прикажани врз воспалениот ендотел.

Интегрини - **Интегрините** се хетеродимерни протеини кои се состојат од алфа и бета вериги, кои се нековалентно поврзани врз површината на клетката. Повеќето интегрини ги врзуваат вонклеточните молекули на матриксот и овозможуваат клеточно матриксни заемни дејства низ целото тело. Одредени потфамилии (врз база на поединиците кои се користат) се врзуваат за адхезивните молекули од клеточната мембрана и се вклучени во заемните дејства меѓу клетките. Белите клетки прикажуваат специфична подфамилија на интегрини, познати како бета2-интегрини (или КД18-интегрини), исто како и одреден број на интегрини кои се прикажуваат и кај другите видови на клетки. Интегрините кои ја содржат бета2 поединицата (КД18) се врзуваат за членовите од Иг суперфамилијата, како и за протеините кои се асоцирани со воспалителниот одговор (табела 13-1). Комбинацијата на интегрините, кои се прикажани кај даден клеточен вид, им воозможува на овие клетките да се врзуваат за различни КАМ кои се прикажани врз површината од крвосадниот ендотел. Како што ќе биде опишано подоцна, одредени интегрини мораат да бидат активирани пред да можат да се врзат со висок афинитет за нивните лиганди. Групирањето на интегрините врз клеточната мембрана, исто така, ја зголемува веројатноста за ефективно врзување и игра улога во миграцијата на белите клетки. Значењето на интегринските молекули при екстравазацијата на белите клетки, е прикажано со едно автосомно рецесивно заболување наречено **недостатокот на адхезивни молекули**

ТАБЕЛА 13-1 Одредени заемни дејства меѓу клеточните адхезивни молекули кои се вклучени во екстравазацијата на белите клетки*

Рецептори на клетките	Прикажување на	Лиганди	Екстравазациски чекор†
ПСГЛ-1	Неутрофили	П селектин (КД62П), Сијалил-Луис*	Тркалање/поврзување
Л-селектин (КД62-Л)	Бели клетки	ГлиКам-1, КД34, ЛАдКам-1	Тркалање/поврзување
КД11а/КД18 (алфаЛбета2, ЛФП-1)	Бели клетки	ПКАМ-1, 2	Цврста адхезија
КД11б/КД18 (МАК-1)	Моноцити, неутрофили, макрофаги	ПКАМ-1, иК3б, фибриноген	Цврста адхезија
КД49д/КД29 (алфа4бета1, МДП-4)	Лимфоцити, моноцити	ККАМ-1, фибриноген	Цврста адхезија
α4β7	Лимфоцити	ККАМ-1, ЛАдКАМ-1, Фибронектин	Адхезија

*Најголем дел од КАМ врз ендотелот и белите клетки припаѓаат на четири групи на протеини, како што е прикажано на слика 13-1. Општо земено, молекулите од интегринската фамилија се врзуваат за КАМ од Иг суперфамилија, додека молекулите од селектинската фамилија се врзуваат за муциновидните КАМ.
†Види ги сликите 13-3а и 13-8 за илустрација на чекорите во процесот на екстравазација

(НАМ) (leukocyte adhesion deficiency = LAD) тип 1, кое е објаснето понатаму во ова поглавје (види Кличники фокус на страна 343). Ова заболување се карактеризира со повторувачки бактериски инфекции и потешкотии во заздравувањето на раните. Сличен недостсток се среќава кај лицата со намалено прикажување на селектинските лиганди и се нарекува НАМ тип 2.

Иг суперфамилија на КАМ (ПКАМ) - Одредени адхезивни молекули содржат променлив број имуноглобулиновидни домени и покрај тоа се класифицираат како членови на имуноглобулинската суперфамилија. Во оваа група спаѓаат ПКАМ-1 (КД54), ПКАМ-2 (КД102), ПКАМ-3 (КД50) и ККАМ (КД106), кои се прикажани врз крвосадните ендотелните клетки и кои се врзуваат со различни видови интегрински молекули. Една специфична клеточна адхезивна молекула, наречена ЛАдКАМ-1, ги поседува и имуноглобулиновидните домени и муциновидните домени. Оваа молекула е прикажана врз мукозниот ендотел и го насочува влезот на лимфоцитите во мукозата. Таа се врзува за интегринот алфа4бета7 (АМЛП) преку неговиот имуноглобулиновиден домен и за Л-селектинот (КД62Л) преку муциновидниот домен. Крвно плочкеста-ендотелната клеточно адхезивна молекула-1 (ПЕКАМ-1, КД31) се среќава врз површината од белите клетки (неутрофилите, моноцитите и врз некои од подгрупите на Т лимфоцитите) и во спојниот комплекс на ендотелните клетки. Таа извршува *исто̄родно (хомотӣпично) врзување*- врзување на ПЕКАМ-1 молекулата од една клетка со ПЕКАМ-1 молекулата од друга клетка. Спојната клеточно адхезивна молекула-1 (САМ-1, КД321), (junctional cell adhesion molecule = JAM), исто така е лоцирана во спојниот ендотелен комплекс. САМ-1 може да стапи во заемно дејство со САМ-1 молекулата и со КД11а/КД18, играјќи на тој начин важна улогата при миграција низ еднотелот. Исто̄родната адхезија меѓу членовите од Иг суперфамилијата на Иг може да се сретне и кај други видови на клетки, како на пример Л1 и НКАМ на нервните клетки.

Хемокини

Хемокините се суперфамилија од мали полипептиди, од кои повеќето содржат од 90 до 130 аминокиселински остатоци. Тие селективно ја контролираат адхезијата, хемотаксата и активирањето на многу видови на популации и подпопулации од белите клетки. Според тоа, тие се главните регулатори во сообраќајот на белите клетки. Одредени хемокини првично се вклучени во воспалителните процеси, додека други се нормално прикажани врз клетките и играат значајна улога во хомеостазата и процесите на развој. Хемокините „одржувачи“ се создаваат во лимфоидните органи и ткива или во нелимфоидните, каква што е на пример, кожата, каде што го насочуваат нормалниот собраќај на лимфоцитите, упатувајќи ги кон потребните места новосоздадените со хематопоезата бели клети кои пристигнуваат од коскената срцевина. Тимусните клетки нормално прикажуваат хемокини, а и нормалната Б-клеточна лимфопоеза е исто така зависна од соодветното прикажување на хемокините.

Ефектите кои се посредувани од хемокините не се ограничени само врз имуниот систем. Глувците кај кои недостасува или хемокинот ЦХЦЛ12 (исто така, наречен ФПС-1) или неговиот рецептор (табела 13-2), покажуваат големи дефекти во развојот на мозокот и срцето. Се покажло дека членовите од хемокинската фамилијата, исто така, играат регулаторни улоги во развојот на крвните садови (ангиогенеза) и лекувањето на раните.

Воспалителните хемокини обично се создаваат како одговор на инфекција. Контактот со патогените или делувањето на провоспалителните цитокини, каков што е ТНФ-алфа, го зголемуваат создавањето на воспалителните цитокини на местото каде се развива воспалението. Хемокините предизвикуваат движење на белите клетки во различни делови од ткивата, преку овозможување на нивно прилепување за клетки на крвосадниот ендотел. Откако ќе мигрираат во ткивата, белите клетки патуваат во правец на зголемените локални концентрации на хемокините, што доведува до целно регрутирање фагоцитите и популациите на ефекторните лимфоцити во областите на воспаление. Групирањето на белите клетки во областите на инфекција организирано од хемокините, е неопоходен дел за покренувањето на соодветно фокусирана рекација против инфекција.

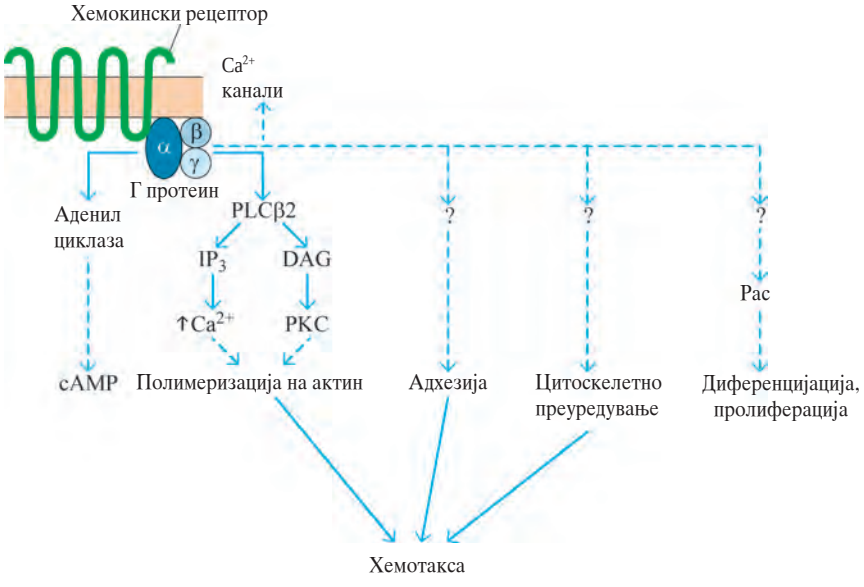
Фамилијата на хемокините се состои од најмалку 43 членови, со дополнителни варијации предизвикани од страна на алтернативните патеки за прекројување на РНК при препишувањето, постпреведувачката обработка и изоформите (види табела 13-2). Хемокините поседуваат четири конзервирани (зачувани во текот на генерациите) цистеински остатоци и врз основа на позицијата на два од четирите непроменливи

ТАБЕЛА 13-2 Хумани хемокини и нивните рецептори*

Хемокински рецептор	Хемокини кои се врзуваат за рецепторот
	ЦХЦ подгрупа
ЦХЦР1	ИЛ-8 (ЦХЦЛ8), ГХП-2 (ЦХЦЛ6)
ЦХЦР2	ИЛ-8 (ЦХЦЛ8), Рпо-алфа (ЦХЦЛ1), Рпо-бета (ЦХЦЛ2), Рпо-гама (ЦХЦЛ3), НАП-2 (ЦХЦЛ7), ЕНА-78 (ЦХЦЛ5)
ЦХЦР3	ПП-10 (ЦХЦЛ10), Миг (ЦХЦЛ9), И-ТАХ (ЦХЦЛ11)
ЦХЦР3б	ФКП4 (ЦХЦЛ4), ПП-10 (ЦХЦЛ10), Миг (ЦХЦЛ9), И-ТАХ (ЦХЦЛ11)
ЦХЦР4 (ЦХЦЛ11)	ФПС-1 (ЦХЦЛ12)
ЦХЦР5	ХПБ-1 (ЦХЦЛ13)
ЦХЦР6	ЦХЦЛ16-низмембрански цитокин
	ЦЦ подгрупа
ЦЦР1	МВП-1алфа (ЦЦЛ3), РАНТЕС (ЦЦЛ5), МХП-2 (ЦЦЛ8), МХП3 (ЦЦЛ7), МРП2 (мЦЦЛ9), МХП4 (хЦЦЛ13), ХЦЦЛ1 (ЦЦЛ14), ХЦЦ2 (хЦЦЛ15), ХЦЦ4 (ЦЦЛ16), МПИФ1 (хЦЦЛ23)
ЦЦР2	МХП-1 (ЦЦЛ2), МХП-2 (ЦЦЛ8), МХП-3 (ЦЦЛ7), МХП4 (хЦЦЛ13), МХП5 (мЦЦЛ12), ХЦЦ4 (ЦЦ16)
ЦЦР3	Еотаксин (ЦЦЛ11), РАНТЕС (ЦЦЛ5), МХП-2 (ЦЦЛ8), МХП-3 (ЦЦЛ7), МХП-4 (хЦЦЛ13), Еотаксин-2 (хЦЦЛ24), ХЦЦ2 (хЦЦЛ15), Еотаксин-3 (хЦЦЛ26), МЕК (ЦЦЛ28)
ЦЦР4	ТАРХ (ЦЦЛ17), ХПМ (ЦЦЛ22)
ЦЦР5	МВП-1алфа (ЦЦЛ3), РАНТЕС (ЦЦЛ5), МВП-1бета (ЦЦЛ4), МХП2 (ЦЦЛ8), Еотаксин (ЦЦЛ11), ХЦЦИ (ЦЦЛ14), ХЦЦ4 (ЦЦЛ16)
ЦЦР6	МВП3алфа (ЦАРХ, ЦЦЛ20)
ЦЦР7	ЕЛХ (МВП3бета, ЦЦЛ19), ХВЛ (ЦЦЛ21)
ЦЦР8	1-309 (ЦЦЛ1)
ЦЦР9	ТПХ (ЦЦЛ25)
ЦЦР10	ХПКТ (ЦЦЛ27), МЕК (ЦЦЛ28)
	И ЦЦ и ЦХЦ подгрупите
ДПЦК (Дафи противгенот од црвените крвни клетки)	Се врзува за одреден број на ЦЦ и ЦХЦ хемокини
	Ц подгрупа
ХЦР1	Лимфотактин (ХЦЛ1), ЕЦМ1б (хХЦЛ2)
	ЦХ3Ц подгрупа
ЦХ3ЦР1	Фракталкин-низмембрански хемокин (ЦХ3ЦЛ1)

* Оваа табела ги прикажува најпознатите хемокински рецептори, но не и сите хемокини. Целосните имиња за дел од хемокините кои во табелата се дадени со кратенка се следниве: ЕЛХ (Ебл1 лиганд за хемокините) (Ebl1 ligand chemokine=ELC), ЕНА-78 (протеин од епителната клетка- неутрофилен активатор) (epithelial-cell-derived neutrophil-activating protein=ENA), ГХП-2 (гранулоцитен хемотактичен протеин 2) (granulocyte chemotactic protein 2 = GCP-2), Рпо-алфа, -бета, -гама (со раст поврзан онкоген алфа, -бета, -гама) (growth-related oncogene alpha, beta, gamma = Gro-alpha, beta, gamma), МХП-1,-2, -3 или -4 (моноцитно хемоатрактантен протеин 1, 2, 3 или 4) (monocyte chemoattractant protein 1, 2, 3, or 4 = MCP-1, -2, -3 or -4), Миг (монокин поттикнат од интерферон гама) (monokine induced by interferon gamma = Mig), МВП- 1алфа, -1 бета или 5 (макрофаген воспалителен протеин 1алфа, -1бета или 5) (macrophage inflammatory protein 1alpha, 1beta, or 5 = MIP-1alpha, -1beta, or 5), НАП-2 (неутрофили активирачки протеин 2), РАНТЕС (регулирани со активацијата, прикажани врз Т лимфоцитите и излачени) (regulated on activation, T-cell expressed and secreted = RANTES), ТАРХ (тимусно-и со активација-регулиран хемокин) (thymus- and activationregulated chemokine = TARC).

ИЗВОР: Прилагодено од Nelson and Krensky, 1998, *Curr. Opin. Immunol.* ***10:***265, Baggiolini, 1998, *Nature* ***392:***565; and Cyster, 2005, *Annual Rview of Immunology* 23: 127.



СЛИКА 13-2 Хемокините сигнализираат преку рецепторите кои се споени со хетеротримеричните големи Г-протеини. Врзувањето на хемокинот за неговиот рецептор активира голем број патеки за пренесување на сигналот, што доведува до голем број на модификации во физиологијата на целната клетка. Ако патеката за пренесување сигналот не е позната или е недоволно проучена, со употреба на испрекинати линии или прашалници е прикажана можната патека. (*Прилагодено од Premack et al., 1996, Nature Medicine 2:1174, and Rot and von Adrian, 2004, Annual Review of Immunology 22:891).*

цистеински остатоци, речиси сите спаѓаат во една од двете различни подгрупи:

- Хемокини од **подгрупа ЦЦ**, каде зачуваните цистеини се соседни.
- Хемокини од **подгрупа ЦХЦ**, каде зачуваните цистеини се одделени со друга аминокиселина (X).

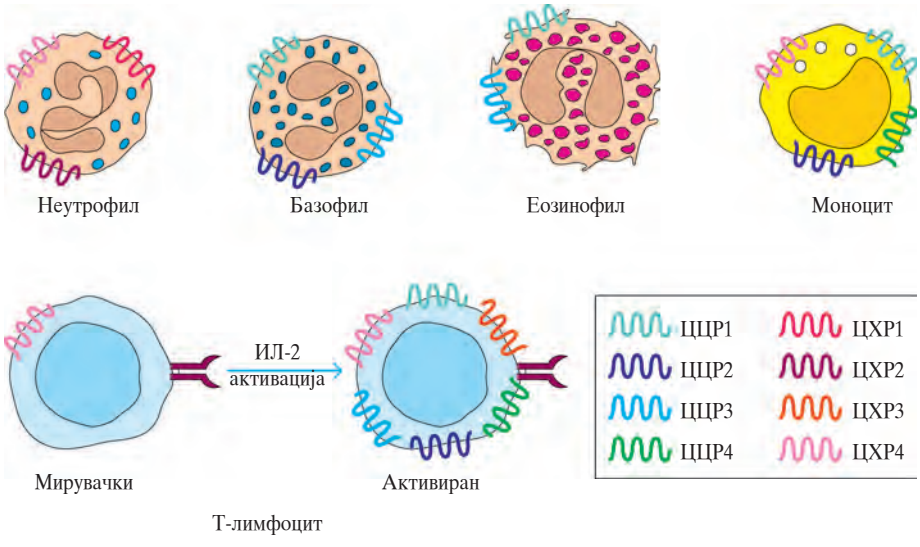
Исклучоци се ЦХ3ЦЛ1, кој им три амино киселини помеѓу зачуваните цистеини и ХЦЛ1 и 2, кај кој недостасуваат два од четирите зачувани цистеини.

Дејството на хемокините е посредувано од рецепторите чии полипептидни вериги минуваат низ мембраната седум пати. Овие рецептори се членови на Г-протеин-врзаната фамилијата на рецептори и се групирани според видот на хемокини за кои се врзуваат. Рецепторите ЦЦ (ЦЦР) препознаваат ЦЦ хемокини, а ЦХЦ рецепторите (ЦХЦР) препознаваат ЦХЦ хемокини. Како и кај цитокините, заемното дејство меѓу хемокините и нивните рецептори е силно ($K^{д}$>10^{-9}) и мошне специфично. Сепак, како што е покажано на табела 13-2, повеќето рецептори се врзуваат за повеќе од еден хемокин. На пример, ЦХЦР2 препознава најмалку шест различни хемокини, а голем број цитокини можат да се врзат за повеќе од еден рецептор.

Кога рецепторот ќе се врзе за соодветниот хемокин, тој го активира хетеротримерниот голем Г-протеин, поттикнувајќи процес на пренесување на сигналот, кој создава мошне моќни вторични пренесувачи на пораки, како што се цикличниот АМР (цАМП), ИП^3, Ca^{2+} и активираните мали Г-протеини (слика 13-2). Како последица од активирањето поттикнато од хемокинот во овие патеки за пренесување сигналот, се јавуваат големи промени. За неколку секунди, со додавањето на соодветниот хемокин на белите клетки, можат да се предизивикаат нагли и опсежни промени во обликот, предизвикување на зголемена адхезија за ендотелните ѕидови преку активирање интегрините врз белите клетки и создавањето на микробицидни кислородни радикали во фагоцитите, како и ослободување содржината на зрнцата, вклучувајќи го ослободувањето на протеазата од неутрофилите и макрофагите, хистаминот од базофилите и цитотоксичните протеини од езинофилите.

Профилите хемокин-рецептор ја посредуваат активноста на белите клетки

Меѓу големите популации на човечки бели клетки, неутрофилите прикажуваат ЦХЦР1, -2 и -4, додека еозинофилите има-



СЛИКА 13-3 Модели за прикажување одредени основни хемокински рецептори на различни класи од човечките белите клетки. Досега, најголема шареноликост на хмокински рецептори се забележува кај активираните Т-лимфоцити. *(Прилагодено од M. Baggiolini, 1998,* Nature ***392****:565.)*

ат ЦЦР1 и ЦЦР3 (слика 13-3). Иако неискусните Т-клетки во мирување прикажуваат ЦЦР7, тој не е присутен во активираните Т-клетки. Тие можат да прикажуваат ЦЦР1, -4, -5 и -8, ЦХЦР3 и одреден број други молекули. Јасно е дека клетката може да реагира со хемокинот само ако поседува рецептор кој го препознава. Според тоа, разликите во прикажувањето на хемокинските рецептори од страна на белите клетки во комбинација со создавањето различни профили на хемокини од целните ткива и места, овозможуваат големи можности за диференцијална регулација на активностите од различни популации на бели клетки. И навистина, во популацијата на белите клетки настануваат разлики во моделите за прикажување хемокински рецептор. Сетете се дека подгрупите на $T_{по}$ клетки, $T_{по}1$ и $T_{по}2$, можат да се разликуваат само по видот на цитокините кои ги излачуваат. Овие подгрупи, исто така, прикажуваат различни профили на хемокински рецептори. Клетките $T_{по}2$ прикажуваат ЦЦР4 и -8, како и одреден број други рецептори кои не се прикажуваат од страна на $T_{по}1$ клетките. Од друга страна, $T_{по}1$ прикажуваат ЦЦР1 и -5, како и ЦХЦР3, кои повеќето $T_{по}2$ не ги прикажуваат.

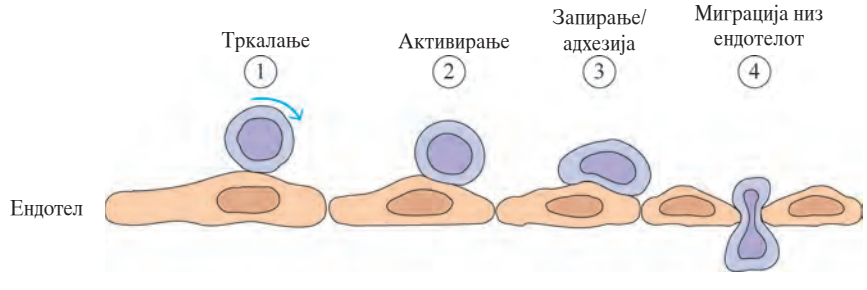
Екстравазација на бели клетки - повеќечекорна парадигма

Како што се развива воспалителниот одговор, различни цитокини и други посредници на воспалението дејствуваат врз локалните крвни садови, поттикнувајќи зголемено прикажување на ендотелни КАМ. За оваа состојба се вели дека ендотелот на крвните садови е активиран или **воспален**. Потоа белите клетки со екстравазација преминуваат во ткивото и мигрираат до местото на инфекција. За ова да се случи, белите клетки мора да го препознаат воспалениот ендотел и да се прилепат доволно цврсто, за да не се отстранат од крвната струја. Потоа, вака врзаните бели клетки мора да навлезат во ендотелниот слој и да мигрираат во околното ткиво.

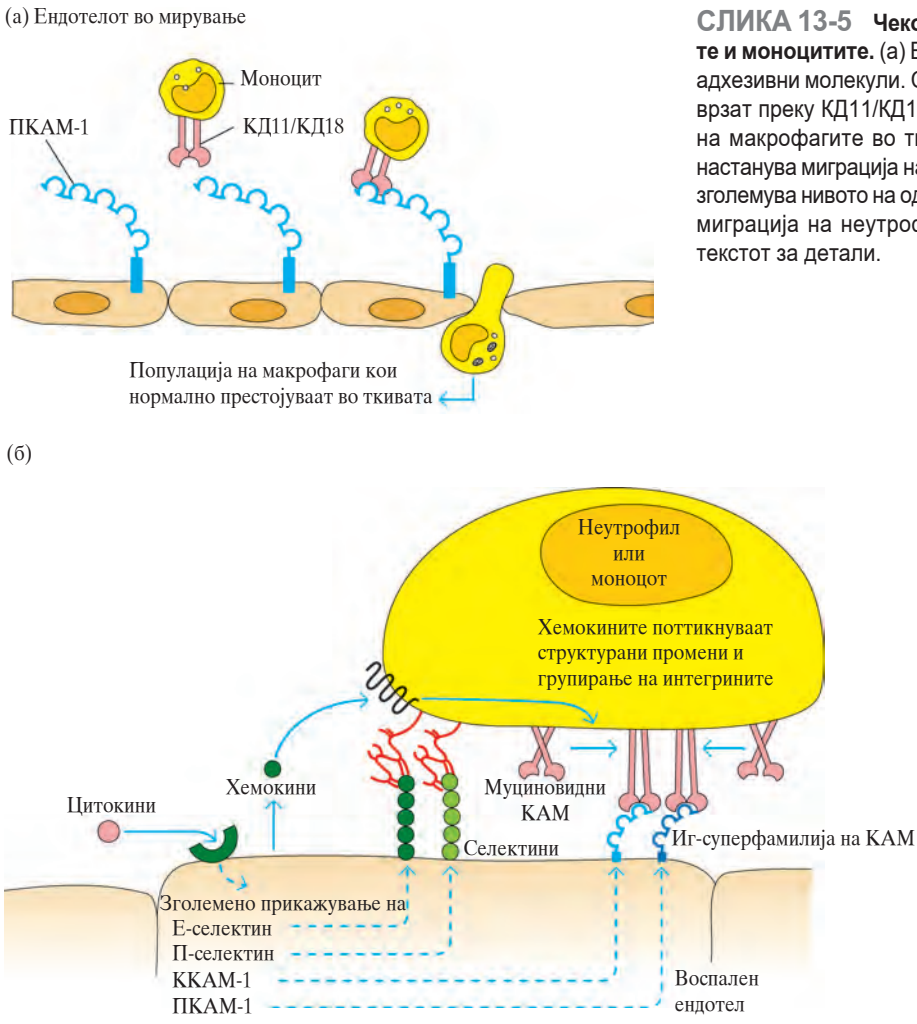
Процесот на екстравазацијата на белите клетки може се подели во четири чекора: (1) тркалање, посредувано од селектините; (2) активирање од страна на хемоатрактантен стимуланс; (3) запирање и врзување-адхезија, посредувано со врзувањето на интегрините за членовите од Иг фамилија и (4) миграција низ ендотелот (слика 13-4). Во првиот чекор, белите клетки лабаво се закачуваат за ендотелот благодарение на взаемното дејство со мал афинитет помеѓу селектинот-јаглехидратот. Во текот на воспалителниот одговор, цитокините и други посредници дејствуваат врз локалниот ендотел, поттикнувајќи прикажување на адхезивните молекули во фамилијата на селектините. Овие молекули на Е- и П-селектинот се врзуваат за муциновидните клеточни адхезивни молекули врз мембраната на белите клетки или со сијализираниот лактозаминогликан Луис^x. Ова заемно дејство краткотрајно ја врзува белата клетка за ендотелната клетка, но силата на струењето на крвта набрзо ја одлепува. Потоа селектинските молекули од друга ендотелна клетка повторно ја врзуваат оваа бела клетка. Овој процес што се повторува, така што клетката постојано се врзува и се отпушта од ендотелот намалувајќи ја својата брзина на движење, претставува тип на врзување наречен *тркалање*.

Процесот на тркалање ја запира клетката доволно долго да овозможи заемно дејство меѓу хемокините (види, табела 13-2) кои се прикажани врз површината од ендотелот и рецепторите на белите клетки. Различните хемокини кои се прикажани врз ендотелот и репертоарот на хемокински рецептори на белите клетки, обезбедува извесен степен на специфичност во регрутирањето на бели крвни клетки во областа на инфекција. Процесите на пренесување сигналот предизвикани со врзување на хемокинот за хемокинскиот рецептор на површината од белата клетка, резултираат со промена во структурата и групирање на интегрините врз површината од белата клетка.. Ова ѝ овозможува на клетката да се врзе поцврсто за ендотелот, намалувајќи ја веројатноста дека ќе биде отстранета со струењето на крвта. Потоа белата клетка се стиснува меѓу две соседни ендотелни клетки, без да го наруши интегритетот на ендотелната бариера. Ова се постигнува со хомотипично врзување на крвна плочка-ендотелната клеточна адхезивна молекула (ПЕКАМ-1, КД31) на белата клетка со ПЕКАМ-1 на ендотелот. ПЕКАМ-1 обично се среќава во ендотелниот спој при хомотипично заемно дејство. Според тоа, кога ПЕКАМ-1 од белите клетки се врзува за ендотелниот ПЕКАМ-1, се задржува интергритетот-целината на ендотелниот спој. КД11а/КД18 од белите клетки исто така се врзува за САМ-1, еден друг вид на адхезивна молекула која се наоѓа во ендотелниот тесен спој, за да посредува во излегувањето од крвотекот. Други видови на интегрини кои се врзуваат за матриксните протеини во базалната мембрана и во вонклеточниот матрикс, им овозможува на белите клетки да го следат градиентот на хемоатрактантите до местото на инфекција.

Екстравазација на неутрофили Неутрофилите во основа се првиот вид клетки кои се врзуваат за воспалениот ендотел и кои излегуваат во ткивата со екстравазација. Неутрофилите не се врзуваат за невоспалениот ендотел во мирување и не излегуваат од крвотекот кога нема присуство на



СЛИКА 13-4 Четирите последователни, но преклопувачки чекори при екстравазацијата на белите клетки. (1) Почетното тркалање е посредувано со врзувањето на селектинската молекула за сијалинизираниот јаглехидратен дел во муциновидните КАМ. (2) Потоа хемокините се врзуваат за со Г-протеин-поврзаните рецептори на белите клетки, започнувајќи го активирачкиот сигнал. Овој сигнал предизвикува структурна промена во молекулите на интегрините (3), овозможувајќи им цврсто да се прилепат за молекулите од Иг суперфамилијата на ендотелот. (4) Белите клетки патуваат до тесниот ендотелен спој и последователно мигрираат во околното ткиво.



СЛИКА 13-5 **Чекори при екстравизацијата на неутрофилите и моноцитите.** (а) Ендотелот во мирување прикажува мал број адхезивни молекули. Суппопулациите на моноцитите можат да се врзат преку КД11/КД18 за ПКАМ за да ја дополнат популацијата на макрофагите во ткивото. Се случува мала или воопшто не настанува миграција на неутрофилите. (б) Воспаленият ендотел го зголемува нивото на одредени адхезивни молекули, овозможувајќи миграција на неутрофилите и моноцитите низ ѕидот. Види во текстот за детали.

инфекција, поради недостатокот на Е- и П- селектините, кои не се прикажуваат врз површината од ендотелот во мирување (слика 13-5а). Кога ендотелните клетки ќе се воспалат, П-селектинот се ослободува од Вајбел-Паладиовите телца и станува достапен на површината од клетката за врзување со неутрофилите. Неутрофилите прикажуваат Л-селектин и муциновиден ПСГЛ-1 за да посредуваат во тркалањето по воспаленият ендотел. Како што неутрофилот се тркала, тој се активира од страна на разните хемоатрактанти, кои се или нормално постојано присутни врз површината на еднотелната клетка или се лачат локално од страна на клетките кои се вклучени во воспалителниот одговор. Иинтерлеукин 8 (ИЛ-8) и макрофагниот воспалителен протеин 1бета (МВП-1бета) (macrophage inflammatory protein 1beta =MIP-1beta) се два хемокина кои се вклучени во процесот на активација. Врзувањето на овие хемоатрактанти за рецепторите на неутрофилната мембрана го поттикнува активирачки сигнал посредуван од Г-протеините, кои се асоцирани со рецепторот. Овој сигнал предизвикува структурна промена во интегринските молекули на мембраната од неутрофилите, зголемувајќи го нивниот афинитет за Иг суперфамилија на адхезивни молекули (ПКАМ) на ендотелот. Неутрофилите прикажуваат КД11а/КД18 и КД11б/КД18 (ЛФП-1 и МАК-1) кои преминуваат во нивната поадхезивна активна форма, кога неутрофилот е стимулиран од хемокините. Ендотелот во мирување прикажува ниски нивоа на ПКАМ-1 (КД54), кој поддржува адхезија со активирани КД11а/КД18 и КД11b/КД18 без да има потреба од долготрајната синтеза на нови членови од Иг фамилија.

Како резултат на сето ова, неутрофилите мигрираат низ крвниот сад во ткивата. Потоа, градиентот на дополнителни хемоатрактанти ги води неутрофилите до областа на инфекцијата. К5а продуктот од цепење на комплементот, бактериски пептиди кои содржат *Н*-формилни пептиди и леукотриените кои се врзуваат за специфични рецептори од неутрофилот, допринесуваат во насочувањето на мигрирањето и активацијата на овие клетки.

Екстравазација на моноцитите Моноцитите од периферната крв ќе домуваат на местото на инфекцијата доста подоцна од неутрофилите. Ова се случува поради времето кое му треба на воспаленият ендотел да го зголеми прикажувањето на ККАМ-1 (КД106) и ПКАМ-1 (КД54) (слика 13-5б). На ендотелот во мирување кај луѓето е прикажан мал број или воопшто нема ККАМ-1, лиганд за интегринот алфа4бета1 (КД49д/КД29, МДП-4). Во невоспаленото ткиво мигрира многу мала суппопулацијата од моноцити со употреба на взаемното дејство посредувано од КД11/КД18-ПКАМ, за да ја надополни популацијата на макрофагите и стеблестите клетки кои престојуваат таму. Се верува дека хемокинот ЦХЦЛ14 ја олеснува ова вообичаено присутна миграција. Еднаш, штом прикажувањето на ПКАМ-1 и ККАМ-1 врз површината од клетката ќе се зголеми, моноцитите од периферната крв поефикасно ќе се прилепуваат и мигрираат во воспалените ткива. Тркалањето е посредувано од Л-селектинот (КД62Л), додека интегините се активираат со хемоатрактанти кои се специфични за моноцитите, првично моноцитно-хемоатрактантен протеин-

1 (МХП-1, ЦЦЛ2). Како и кај неутрофилите, миграција низ ендотелот е посредувана од заемното дејство на ПЕКАМ-1 со ПЕКАМ-1 и веројно од дополнителни заемни дејства кои ги вклучуваат САМ.

Моноцитите се привлекуваат во областа на инфекцијата од страна на хемоатрактантите, како што се бактериските пептидни фрагменти и фрагменти од комплементот. Рецепторите кои се прикажуваат врз моноцитите за фрагментите од комплементот, го вклучуваат КР3, кој се состои од интегрините КД11б/КД18 (алфаМбета2, МАК-1) и КР4 (КД11ц/КД18 (алфаХбета2, р150.95)). Според тоа, рецепторите од комплементот придонесуваат во насочувањето на моноцитите кон местото на инфекција. Во целното ткиво, моноцитите може да се диференцираат во макрофаги и да се активираат на начин кој е објаснет во поглавје 3.

Рециркулација на лимфоцити

За разлика од другите бели клетки, лимфоцитите постојано рециркулираат преку крвта и лимфата до различни лимфоидни органи (слика 13-6). По кратко време во траење од приближно 30 минути поминато во крвотекот, речиси 45% од сите лимфоцити преминуваат од крвта директно во слезината, каде остануваат приближно 5 часа. Речиси еднаков број (42%) од лимфоцити



СЛИКА 13-6 Патеки на рециркулација на лимофицитите. Прикажани се процентот од вкупните лимфоцити кои циркулираат до различните области и просечното време кое го поминуваат во нив. Лимфоцитите мигрираат од крвта во лимфните јазли низ специјализирани места во посткапиларните венули, наречени високоендотелни венули (ВЕВ). Иако повеќето лимфоцити циркулираат, одредени места содржат лимфоцити кои не циркулираат. (Адаптирано од A. Ager, 1994, Trends Cell Biol. 4:326.)

излегуваат од крвта и преминуваат во различните периферни лимфни јазли, каде остануваат околу 12 часа. Помал број лимфоцити (10%) мигрираат во третичните екстралимфоидни ткива преку поминување низ ендотелните клетки кои се наоѓаат долж капиларите. Овие ткива обично имаат мал број или воопшто немаат вакви клетки, сè додека воспалителниот одговор не го поттикне нивниот влез. Најимунолошки активни третични екстралимфоидни ткива се оние ткива кои се граничат со надворешната средина, како што е кожата и различниот лигавичен епител од гастроинтестиналниот, белодробниот и генитоуринарниот систем.

Процесот на непрекината рециркулација на лимфоцитите овозможува максимален број на противген специфични лимфоцити да се сретнат со противгенот. Еден лимфоцит може да направи целосен круг од крвта до ткивата и лимфата и назад 1 до 2 пати дневно. Бидејќи само еден од 10^5 лимфоцити го препознава соодветниот противген, се чини дека голем број на Т и Б-клетки мора да стапат во контакт со противгенот на дадена противген прикажувачка клетка во краток временски период, за да се создаде специфичен имун одговор. Шансите мал процент од лимфоцитите кои се специфични за даден противген, всушност, да дојдат во контакт со тој противген кога тој е присутен во зголемена концентрација, се зголемени со екстензивната рецикулација на лимфоцитите. Веројатноста на таквиот контакт е мошне зголемена со факторите кои ја регулираат, организираат и насочуваат циркулацијата на лимфоцитите и противген-прикажувачките клетки.

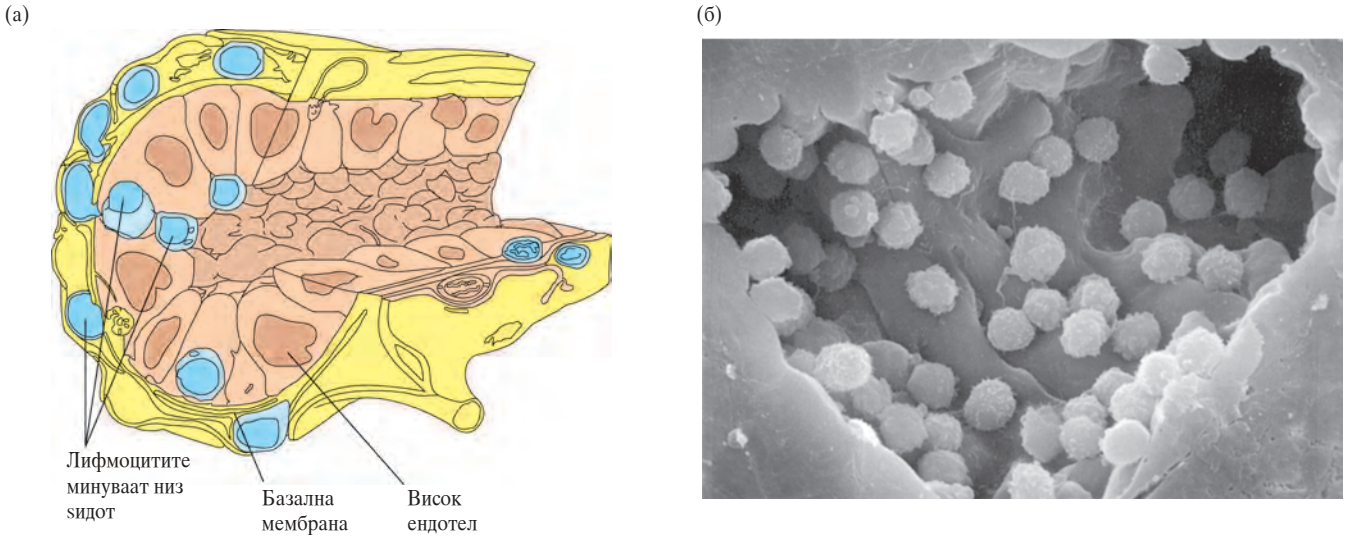
Екстравазација на лимфоцитите

Различни подгрупи на лимфоцити манифестираат насочена екстравазација на воспалителните места и во вторичните лимфоидни органи. Оттаму произлегува дека рециркулацијата на лимфоцитите внимателно се контролира за да се обезбеди соодветни популации од Б и Т-клетки да се регрутираат во различни ткива. Како и кај неутрофилите, екстравизацијата на лимфоцитите вклучува заемни дејства меѓу одреден број на клеточни адхезивни молекули (види табела 13-1). Целиот процес е сличен на екстравизацијата на неутрфилите и ги содржи истите четири фази на тркалање, активирање, сопирање и адхезија и на крајот, миграција низ ендотелот.

Високоендотелните венули се местата за екстравизација на лимфоцитите

Одредени подрачја на васкуларниот ендотел во посткапиларните венули од различни лимфоидни органи се составени од специјализирани клетки со дебел коцкаст („висок“) облик. Ваквите подрачја се наречени **високиендотелни венули** или **ВЕВ** (слика 13-7а, б). Нивните клетки во голем степен се разликуваат по форма од сплесканите ендотелни клетки кои го обложуваат остатокот од капиларот. Сите вторични лимфоидни органи, со исклучок на слезината, содржат ВЕВ. Кога замрзнати пресеци од лимфните јазли, Пајеровите плочи или крајниците се инкубирани со лимфоцити и потоа се измиени за да се отстранат неврзаните клетки, забележано е дека над 85% од врзаните клетки се врзани за ВЕВ, иако на ВЕВ отпаѓаат само 1% до 2% од целата област на замрзаниотот пресек (слика 13-7в).

Се проценува дека во еден лифмоиден јазол секоја секунда околу 1,4 x 10^4 лимфоцити поминуваат низ ВЕВ. Развојот и одржувањето на ВЕВ во лимфоидните органи е под влијание



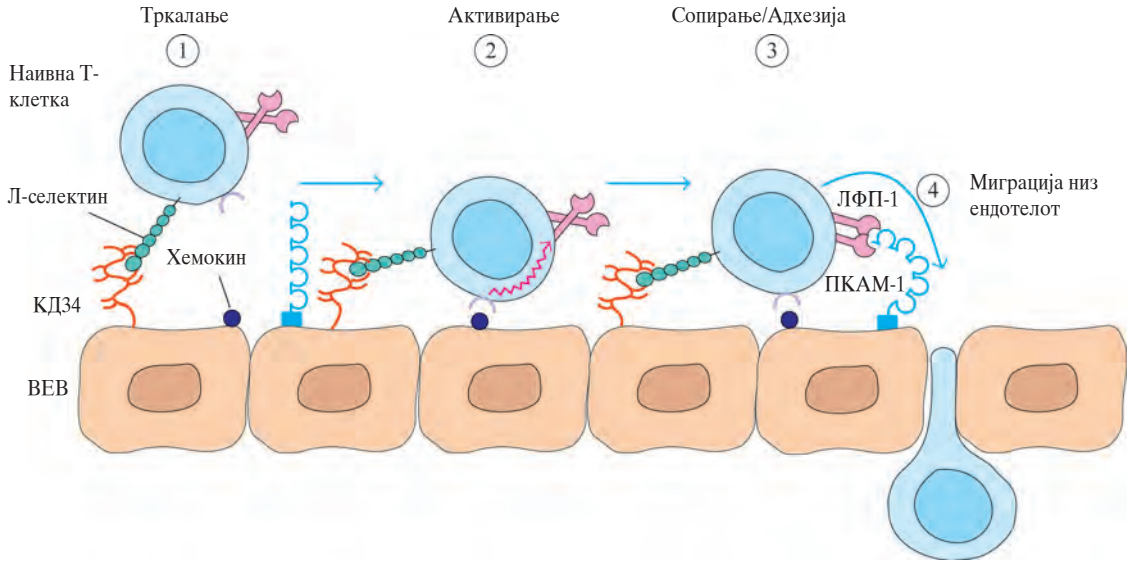
СЛИКА 13-7 (а) **Шематски напречен пресек на посткапиларната венула со висок ендотел во лимфниот јазол.** Лимфоцитите се прикажани при различни фази од прикачувањето за ВЕВ и миграцијата преку ѕидот во кората од јазолот. (б) Скенираната електронска микрографија покажува бројни лимфоцити кои се врзани за површината од високоендотелната венула. (в) Микрографија на замрзнатите пресеци од лимфоидното ткиво. Околу 85% од лимфоцитите (темно обоени) се врзани за ВЕВ (напречен пресек), кои сочинуваат само 1% до 2% од целата област на ткивниот дел. *[Делот (а) е прилагоден од A. O. Anderson* и *N. D. Anderson, 1981,* во Cellular Functions in Immunity and Inflammation, J. *J. Oppenheim et al. (eds.), Elsevier, North-Holland; делот (б) од S. D. Rosen* и *L. M. Stoolman, 1987,* Vertebrate Lectins, *Van Nostrand Reinhold; делот (в) од S. D. Rosen, 1989,* Curr. Opin. Cell Biol. *1:913.]*

на цитокините кои се создаваат како одговор на средбата со противгенот. На пример, ВЕВ не може да се развие кај животните кои живееат во стерилна средина. Улогата на противген активираните лимфоцити во одржувањето на ВЕВ е докажно со помош на хируршко блокирање доводните лимфни садови до лимфниот јазол, така што влезот на противгенот во јазолот е блокиран. За краток период, ВЕВ покажува нарушена функција и евентуално враќање кон посплескана морфологија.

Високоендотелните венули прикажуваат голема шареноликост во клеточните адхезивни молекули. Како и другите крвосадни ендотелни клетки, ВЕВ прикажуваат КАМ од селектинската фамилијата (Е- и П-слектин), муциновидната фамилија (ГлиКАМ-1 и КД34) и имуноглобулинската суперфамилијата (ПКАМ-1, ПКАМ-2, ПКАМ-3, ККАМ-1 и ЛАдКАМ-1). Одредени адхезивни молекули кои се распоредени на начин кој е специфичен за ткивата се наречени **крвосадни адресини** (**КА**), бидејќи служат за да ја насочат екстравизацијата на различни популации на рециркулирачките лимфоцити кон одредени лимфоидни органи.

Слика 13-8 ги прикажува типичните заемни дејства при екстравазацијата на наивните Т-клетки преку ВЕВ во лимфните јазли. Првиот чекор обично е заемното дејство меѓу селектин-јаглехидратот, кое е слично на она кое се среќава кај адхезијата на неутрофилите. Наивните лимфоцити на почетокот се врзуваат за ВЕВ преку Л-селектинот, кој служи како рецептор за домување кој ги насочува лимофицитите до одредени ткива кои прикажуваат соодветни муциновидни крвосадни адресини, како што се КД34 или ГлиКАМ-1. Тркалањето на лимфоцитот не е толку изразено, како кај неутрофилите. Иако почетното заемно дејство меѓу селектинот-јаглехидратот е мошне слабо, бавната стапка на крвен ток во посткапиларните венули, посебно во подрачјата на ВЕВ, ја намалува веројатноста дека силата на крвниот тек ќе го отстрани врзаниот лимфоцит.

Во вториот чекор, стимулансот кој го активира интегринот е посредуван од хемокини кои или се локализирани на ендотелната површина или се лачат локално. Дебелиот гликокаликс кој ги повкрива ВЕВ може да ги задржи растворливите хемоатрактантни фактори на ВЕВ. Врзувањето на хемокините за Г-протеин-соединетите рецептори на лимфоцитот, доведува до активирање на интегринските молекули на мембраната, како што се случува и при екстравазацијата на неутрофилот. Штом еднаш се активираат, молекулите на интегрините стапуваат во заемно дејство со адхезивните молекули од Иг суперфамилијата (на пример, ПКАМ-1), што им овозможува на лимфоцитите цврсто да се прилепат за ендотелот. Молекулските механизми кои се вклучени во крајниот чекор, миграцијата низ ендотелот, се верува дека ги вклучуваат адхезивните молекули од ендотелниот спој ПЕКАМ-1 (КД31) и САМ-1 (КД321).



СЛИКА 13-8 Чекори на екстравазација на наивна Т-клетка низ високатаеднотелна венула во лимфниот јазол. Екстравазацијата на лимфоцитите ги вклучува истите основи чекори како и екстравазацијата на неутрофилите, но дел од клеточните адхезивни молекули се разликуваат. Активирањето на интергринот ЛФП-1, поттикнато од врзувањето на хемокините за лимфоцититот, доведува до цврста адхезија по што следи миграција меѓу ендотелните клетки во ткивото.

Домувањето на лимфоцитите е насочувано од профилот на рецепторите и сигналите

Општиот процес на лимфоцитната екстравазација е сличен на екстравазацијата на неутрофилите. Значајна карактеристика која се разликува меѓу овие два процеса е тоа што различни подгрупи од лимфоцитите на различен начин мигрираат во различни ткива. Овој процес е наречен **патување** или **домување**. Различените модели на движење на лимфоцитните подгрупи се посредувани од единствени комбинации на адхезивни молекули и хемокини. Рецепторите кои ја насочуваат циркулацијата на разни популации на лимфоцити кон одредени лимфоидни и воспалени ткива, се наречени **рецептори за домување.**

Наивните лимфоцити рецикулираат кон вторичното лимфоидно ткиво

Наивниот лимфоцит не може да предизвика појава на имун одговор, сè додека не се активира за да стане ефекторна клетка. Активирањето на наивната клетка настанува во специјална микросредина во вторичното лимфоидно ткиво (на пример, периферните лимфни јазли, Пајеровите плочи, крајниците и слезината). Во оваа микросредина, стеблестите клетки го заробуваат противгенот и им го прикажуваат на наивните лимфоцити, што доведува до активирање на лимфоцитот. Наивните клетки не покажуваат афинитет кон одреден тип на вторично лимфоидно ткиво, наместо тоа слободно циркулираат низ севкупното вторично лимфоидно ткиво од телото.

Почетното прилепување на наивните лимфоцити за ВЕВ во основа е посредувано со врзувањето на Л-селектинот за адхезивните молекули како што се ГлиКАМ-1 и КД34 на ВЕВ (слика 13-8а). Од неодамна, откриено е дека КД11а/КД18 (ЛФП-1, алфаЛбета1), исто така, посредува во тркалањето со нивната нискоафинитетна структура (пред да настане активирањето). Хемокините ЦЦЛ21, ЦЦЛ19 и ЦХЦЛ12 поттикнуваат цврста адхезија на наивните Т-клетки за ВЕВ и со помош на превклучувањето кон високоафинитетна структура и со групирање КД11а/КД18 (ЛФП-1) и КД49д/КД18 (МДП-4). Покрај овие хемокини, ЦХЦЛ13 ги активира и интегрините на наивните Б клетки. Други хемокини ги привлекуваат супопулации на лимфоцити во нивните зони во лимфните јазли. Моделот на движење на наивните клетки е конструиран така, за да ги држи овие клетки во постојана рециркулација низ вторичните лимфоидни ткива, чија што првична функција е да ги заробат крвните и ткивните противгени.

Штом еднаш наивните лимфоцити се сретнат со противген кој е заробен во вторичното лимфоидно ткиво, тие се активираат и преминуваат во лимфобласти. Активирање трае околу 48 часа и за ова време бласт-клетките се задржуваат во паракортикалното подрачје од вторичното лимфоидно ткиво. Во ова фаза, наречена фаза на прекинување, во циркулацијата не може да се открие присуство на лимфоцити кои се специфични за противгенот (слика 13-9). Брзата пролиферација и диференцирање на наивните клетки настанува во фазата на прекинување. Ефекторните и памтечките клетки кои се создаваат во при овој процес (подетално објаснето во поглавје 11), го напуштаат лимфоидното ткиво и започнуваат да рециркулираат.

Ефекторните и памтечките лимфоцити прифаќаат различни модели на движење

Моделите на движење на ефекторните или памтечките лимфоции се разликуваат од тие кај наивните лимфоцити. Ефекторните клетки тежнеат да се вдомат во подрачјата на инфекција, преку препознавање воспалениот крвосаден

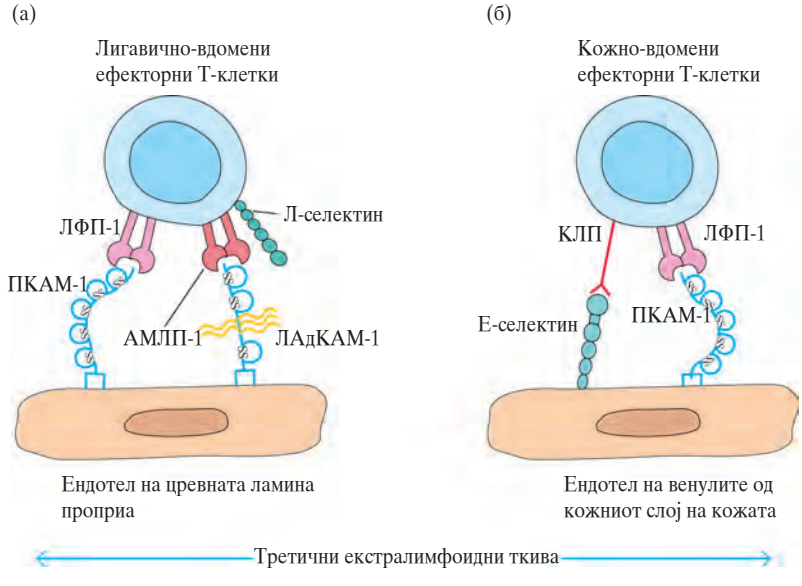


СЛИКА 13-9 Активирањето на Т-клетките во паракортикалниото подрачје од лимфниот јазол доведува до краткотрајно губење на лимфоцитната рециркулација. Во текот на оваа фаза на престанок, противген-специфичните Т-клетки не можат да се откријат дека го напуштаат јазолот во одводната лимфа.

ендотел и хемоатрактантните молекули кои се создаваат при воспалителниот одговор. Од друга страна, памтечките лимфоцити селективно домуваат во типот на ткивото каде за прв пат го сретнале противгенот. Може да се претпостави дека ова обезбедува одредена памтечка клетка да се врати во ткивото каде е најверојатно дека повторно ќе се сретне со подоцнежна закана од истиот противген кој претходно го препознала.

Ефекторните и памтечките клетки прикажуваат зголемени нивоа на одредени клеточни адхезивни молекули, каков што е на пример, ЛФП-1, кои стапуваат во заемно дејство со лигандите кои се присутни на третичните екстралимфоидни ткива (какви што се кожата и лигавичниот епител) и на местото на воспалението, што им овозможува на ефекторните и памтечките клетки да навлезат во овие области. Воспалениот ендотел прикажува одреден број адхезивни молекули, вклучувајќи Е и П-селектини и молекулите ККАМ-1 и ПКАМ-1 од Иг суперфамилијата, кои се врзуваат за рецепторите кои се прикажани во големи количини на памтечките и ефекторните клетки.

За разлика од наивните лимфоцити, подгрупите на памтечките и ефекторните популации покажуваат особини на ткивно-селективно домување. Ваквата специфичност за ткивата е овозможена од различниот репертоар на хемокински рецептори кои се прикажани врз површината од памтечките и ефекторните клетки и од хемокините кои се присутни врз ендотелот. Освен тоа, некои ткива прикажуваат уникатен комплет на адхезивни молекули, кои помагаат во селектирање на ефекторната подгрупа на клетки. На пример, комплетот на рецептори за домување во лигавицата, кој се наоѓа на памтечките/ефекторните клетки има високи нивоа на интегрини алфа4бета7 (АМЛП-1) и КД11а/КД18 (ЛФП-1, алфаЛбета2), кои се врзуваат за ЛАдКАМ и разни ПКАМ во венулите на цревната ламина проприа (слика 13-10а). Сепак, овие клетки избегнуваат насочување кон вторичните лимфоидни ткива, бидејќи имаат ниски нивоа на Л-селектин, кој би го олеснил нивниот влез во вторичното лимфоидно ткиво. Наместо тоа, овие клетки го прикажуваат хемокинскиот рецептор ЦЦР9, кој се врзува за КДЛ25 во тенките црева. Б-клетките кои лачат ИгА се регрутираат во цревното ткиво преку ЦЦЛ25 и ЦЦЛ28. Друга една подгрупа на памтечки/ефекторни клетки прикажува рецептори за домување во кожата. Оваа група на клетки, исто така, прикажува ниски нивоа на Л-селектин, и големи количини на кожен лимфоцитен противген (КЛП) (cutaneous lymphocyte antigen = CLA) и КД11а/КД18, кои се врзува за Е-селектинот и ПКАМ на венулите од кожениот слој на кожата (слика 13-10б). ЦЦЛ17, ЦЦЛ27 и ЦЦЛ1 помагаат при регрутирањето на овие Т клетки. Иако ефекторните и памтечките клетки кои прикажуваат намалени количини на Л-селектин не тежнеат кон домување преку ВЕВ во периферните лимфни јазли, тие можат да влезат во периферните лимфни јазли преку доводните лимфни садови.



СЛИКА 13-10 Примери за рецептори за домување и крвосадни адресини кои се вклучени во селективното движење на наивните и ефекторните Т-клетки. Разните подгрупи на ефекторните Т-клетки прикажуваат големи количини на одредени рецептори за домување, кои им овозможуваат да домуваат во ендотелот во одредени третичните екстралимдоифни ткива. Прикажани се почетните заемни дејства за домување на ефекторните Т-клетки до местата во (а) лигавицата и (б) кожата.

Други посредници на воспаление

Покрај хемокините, и голем број други посредници кои се ослободуваат од страна на клетките од вродениот и стекнатиот имун систем поттикнуваат или засилуваат одредени специфични аспекти од воспалителниот одговор. Тие се ослободуваат од страна на ткивните мастоцити, крвните плочки и мноштво бели клетки, вклучувајќи неутрофили, моноцити/макрофаги, езинофили, базофили и лимфоцити. Покрај овие извори, плазмата содржи четири меѓусебно-поврзани системи кои создаваат посредници: системот на кинини, системот за сосирување на крвта, фибринолитичниот систем и системот на комплементот. Првите три системи поседуваат заеднички елемент, т.е. Хагеманов фактор (фактор VII), како што е прикажано на слика 13-11. Кога ќе настане оштетување на ткивото, овие четири системи се активираат за да формираат мрежа од взаемни дејства, кои создаваат одреден број на посредници на воспалението.

Системот кинин се активира со повреда на ткивото

Системот на кинини претставува серија од ензимски реакции, која започнува со плазма факторот за сосирување, наречен Хагеманов фактор (фактор VII), кој се активира по повреда на ткивото. Потоа активираниот Хагеманов фактор го активира прекаликринот при што се создава каликреин, кој го цепи кининогенот и создава **брадикинин** (види слика 13-11). Овој потентен пептид ја зголемува пропустливоста (пермеабилноста) на крвните садови, предизвикува ширење на нивниот лумен (вазодилатација), поттикнува појава на болка и предизвикува згрчување (контракција) на мазните мускули.



СЛИКА 13-11 Оштетувањето на ткивото предизвикува создавање на плазматски ензимски посредници од страна на системот на кининот, системот за сосирување и фибринолитичниот систем. Овие посредници предизвикуваат крвосадни промени, кои спаѓаат меѓу раните знаци на воспаление и различни други ефекти. Плазминот не само што ги разложува грутките од фибрин, туку исто така, ја активира и класичната патека на комплементот.

Каликринот, исто така, дејствува директно врз комплементниот систем расцепувајќи го го K5 на K5a и K5б.

Системот за сосирување создава фибрин-создадени посредници во воспалението

Една друга ензимска серија на процеси, кои се исто така предизвикани од оштетувањето крвните садови, дава големи количини на тромбин. Започнувањето на воспалителниот одговор, исто така, го покренува системот за осирување преку заемното дејство меѓу П-селектинот и ПСГЛ-1, што е придружено со ослободување на ткивниот фактор од активираните моноцити. Тромбинот дејствува врз растворениот фибриноген во ткивната течност или плазмата, при што се создадаваат нерастворливи нишки од **фибрин** и **фибринопептиди**. Нерастворливите нишки на фибрин меѓусебно се вкрстуваат и создаваат **грутка**, која служи како бариера за ширењето на инфекцијата. Системот за сосирување е поттикнат многу брзо по повредата на ткивото, за да се спречи крвавењето и да се ограничи ширењето на туѓите патогени во крвотекот. Фибринопептидите дејствуваат како посредници на воспалителнието, предизвикувајќи зголемена пропустливост на крвните садови и хемотакса на неутрофилите. Активираните крвни плочки ослободуваат КД40Л, кој доведува до зголемено создавање на провоспалителните цитокини (ИЛ-6 и ИЛ-8) и до зголемено прикажување на адхезивните молекули. Интегринот КД11б/КД18 (МАК-1) се врзува за две компоненти од системот за сосирување, факторот X и фибриногенот. Врзувањето на факторот X за КД11б/КД18 ја зголемува активноста на фактор X, со што се поттикнува сосирувањето.

Системот за сосирување создава плазмин-создадени посредници во воспалението

Отстранувањето на грутката фибрин од повредениото ткиво се постигнува преку фибринолитичниот систем. Крајниот производ од ова патека е ензимот **плазмин**, активната форма на плазминогенот. Урокиназниот тип на плазминогенски активатор (уПА) и неговиот рецептор (у-ПАР), се чини дека, исто така, се вклучени во врзувањето на белите клетки за ендотелот и вонклеточниот матрикс. Плазминот, потентен протеолитичен ензим, ги разложува грутките на фибрниот во распадни продукти, кои се хемотаксични за неутрофилите. Плазминот, исто така, придонесува во воспалителниот одговор преку активирање на класичната патека на комплементот.

Комплементниот систем создава анафилатоксини

Актирувањето на комплементниот систем преку класичната и алтернативната патека доведува до создавање одреден број расцепени продукти на комплементот, кои служат како значајни посредници во воспалението (види поглавје 7). Врзувањето на **анафилатоксините** (K3a и K5a) за рецепторите од мембраната на ткивните масоцити предизвикува обеззрнување со ослободување хистамин и други фармаколошки активни посредници. Овие посредници поттикнуваат контракција на мазната мускулатура и зголемување пропустливоста на крвните сеадови. K3a, K5a и K5б67 дејствуваат заедно, за да ги поттикнат моноцитите и неутрофилите да се прилепат за крвосадните ендотелни клетки, да преминат низ ендотелниот



СЛИКА 13-12 **Распадот на мембаранските фосфолипиди создава значајни посредници на воспаление, вклучувајќи ги тромбоксанот, простогландините, леукотриените и факторот кој ативира крвни плочки (ФАП) (platelet-activating factor = PAF).**

слој на капиларот и да мигрираат кон местото на активирање на комплементот во ткивата. Според тоа, активирањето на комплементниот систем доведува до зголемен прилив на течност која со себе носи противтела и фагоцитни клетки до местото на навлегување на противгенот.

Некои липиди се однесуваат како посредници на воспалението

По пертурбацијата на мембраната, фосфолипидите во мембраната од неколку видови на клетки (на пример, макрофаги, моноцити, неутрофили и мастоцити) се деградираат до арахидонска киселина и лизо-фактор кој активира крвни плочки (лизо-ФАП) (слика 13-12). Овој фактор подоцна се претвора во фактор кој активира крвни плочки (ФАП). ФАП предизвикува активирање на крвните плочки и има голем број на воспалителни ефекти, вклучувајќи хемотакса на езионфилите и активирање и обеззрнувањето на неутрофилите и езинофилите.

Со метаболизамот на архидонската киселина преку циклооксигеназната патеката се создаваат **постагландини** и **тромбоксани**. Различните простагландини се создаваат од страна на различни клетки: моноцитите и макрофагите создаваат големи количини на ПГЕ2 и ПГФ2, неутрофилите создаваат просечна количина на ПГЕ2, додека мастоцитите создаваат ПГД2. Простогландините имаат различни физиолошки ефекти, вклучувајќи зголемена крвосадна пропустливост, зголемен лумен на крвните садови и поттикнување хемотакса на неутрофилите. Тромбоксаните предизвикуваат слепување на крвните плочки и стегање на крвните садови.

Арахидонската киселина, исто така, е метаболизирана од страна на липоксигеназната патеката, при што се создаваат четири **леукотриени**: ЛТБ4, ЛТЦ4, ЛТД4 и ЛТЕ4. Три од нив (ЛТЦ4, ЛТД4 и ЛТЕ4), заедно го формираат она што порано беше познато како **спорореагирачка супстанца на анафилакса** (**СРС-А**). Овие посредници поттикнуваат контракција на мазната мускулатура. ЛТБ4 е потентен хемоатрактант на неутрофили. Леукотриените се создаваат од страна на мноштво различни клетки, вклучувајќи тука моноцити, макрофаги и мастоцити.

Некои цитокини претставуваат значајни посредници на воспалението

Одреден број на цитокини играат значајна улога во развојот на акутниот или хроничниот воспалителен одговор. ИЛ-1, ИЛ-6, ТНФ-алфа, ИЛ-12 и многу други хемокини покажуваат редундантни и плеотропни ефекти кои заедно придонесуваат за воспалителниот одговор. Дел од ефектите кои се посредувани од ИЛ-1, ИЛ-6 и ТНФ-алфа се прикажани во табела 13-3. Покрај тоа, ИФН-гама придонесува за воспалителниот одговор дејствувајќи во подоцнежните фази од акутниот одговор, а има и значаен придонес за хроничното воспаление преку привлекување и активирање макрофагите. ИЛ-12 го поттикнува диференцирањето на провоспалителните $T_{по}1$ клетки.

ТАБЕЛА 13-3 **Редундантни и плеотропни ефекти на ИЛ-1, ТНФ-алфа и ИЛ-6**

Ефект	ИЛ-1	ТНФ-алфа	ИЛ-6
Пирогеност (поттикнува грозница)	+	+	+
Синтеза на протеините во акутна фаза во црниот дроб	+	+	+
Зголемена крвосадна пропустливост	+	+	+
Зголемен број на адхезивни молекули во крвосадниот ендотел	+	+	–
Пролиферација на фибробластите	+	+	–
Создавање крвни плочки	+	–	+
Поттикнување хемокини (на пример, ИЛ-8)	+	+	–
Поттикнување на ИЛ-6	+	+	–
Активирање Т-клетки	+	+	+
Активирање Б-клетките	+	+	+
Зголемена синтеза на имуноглобулини	–	–	+

Улогата на некои од овие воспалителни цитокини, во развојот на акутното и хроничното воспаление, подетално ќе биде објаснета во следниот дел.

Процесот на воспаление

Воспалението е физиолошки одговор на бројни стимуланси, како што се инфекции и оштетувања на ткивото. Во основа, акутниот воспалителен одговор започнува брзо и трае кратко. Акутното воспаление обично е придружувано од системска реакција, позната како акутнофазен одговор, која се карактеризира со нагла промена во нивоата на одредени плазма протеин. Кај некои заболувања, постојаното активирање на имунитетот може да доведе до хронично воспаление, кое често има патолошки последици.

Неутрофилите учествуваат во првичните фази и играат значајна улога при воспалението

Во раните фази од воспалителната рекација, доминантен вид на клетки кои навлегува во ткивото се неутрофилите. Навлегувањето на неутрофилот во ткивата достигнува максимум во првите 6 часа од воспалителниот одговор, додека создавањето на неутрофилите во коскената срцевина се зголемува за да ја задоволи оваа потреба. Обично, возрасната особа создава повеќе од 10^{10} неутрофили на ден, но во текот на акутно воспаление создавањето на неутрофилите може да се зголеми за 10 пати.

Неутрофилите ја напуштаат коскената срцевина и циркулираат во крвта. Како одговор на посредниците на акутното воспаление, крвосадните ендотелни клетки го зголемуваат нивното прикажување на Е и П-селектините. Тромбинот и хистаминот предизвикуваат зголемено прикажување на П-селектинот. Цитокините, како што се ИЛ-1 или ТНФ-алфа поттикнуваат зголемено прикажување на Е-селектинот. Неутрофилите кои циркулираат прикажуваат муцин, како на пример, ПСГЛ-1 или тетрасахаридниот сијалил Луис^X и сијалил Луис^X, кои се врзуваат за Е и П-селектинот.

Како што е опишано претходно, ова врзување го посредува прикачувањето или врзувањето на неутрофилите за крвосадниот ендотел, овозможувајќи им на клетките да се тркалаат во насока на крвотекот. За ова време хемокините, како што се ИЛ-8 или други хемоатрактанти, дејствуваат врз неутрофилите, поттикнувајќи го Г-протеинот-посредуваниот активирачки сигнал. Овој сигнал доведува до структурна промена на интегринската адхезивна молекула, што како резултат ќе даде адхезија на неутрофилите и нивна последователна миграција низ ендотелот (види поглавје 13-5).

Кога еднаш ќе навлезат во ткивата, активираните неутрофили, исто така, прикажуваат зголемени нивоа на рецептори за хемоатрактантите и последователно мигрираат кон градиентот на хемоатрактантот. Меѓу посредници на воспалението, кои се хемотаксични за неутрофилите, се наоѓаат одреден број на хемокини, продукти од расцепувањето на комплементот (К3а, К5а и К5б67), фибринопептиди, простагландини и леукотриени, исто како и некои молекули кои се ослободени од микроогранизмите, како на пример формил метионил пептиди. Активираните неутрофили прикажуваат зголемено ниво на Фк рецептори за противтелата и рецептори за комплементот, овозможувајќи им на овие клетки поефикасно да се врзат за патогените кои се обложени со противтело или комплемент, зголемувајќи ја на тој начин фагоцитозата.

Активирачкиот сигнал, исто така, ги стимулира метаболните патеки за дишниот прасок, која создава **реактивни кислородни меѓупродукти** и **реактивни азотни меѓупродукти** (види поглавје 3). Ослободувањето на некои од овие меѓупродукти и ослободувањето на посредниците од неутрофилините првични и вторични зрнца (протеази, фосфолипази, еластази и колагенази), игра значајна улога во убивањето на разни патогени. Овие супстанции исто така придонесуваат и за оштетувањето на ткивата, кое може да биде резултат од воспалителниот одговор. Акумулирањето на мртви клетки и микроогранизми, заедно со акумулирањето на течности и разни протеини, доведува до создавање на гној.

Воспалителните реакции можат да бидат локални или системски

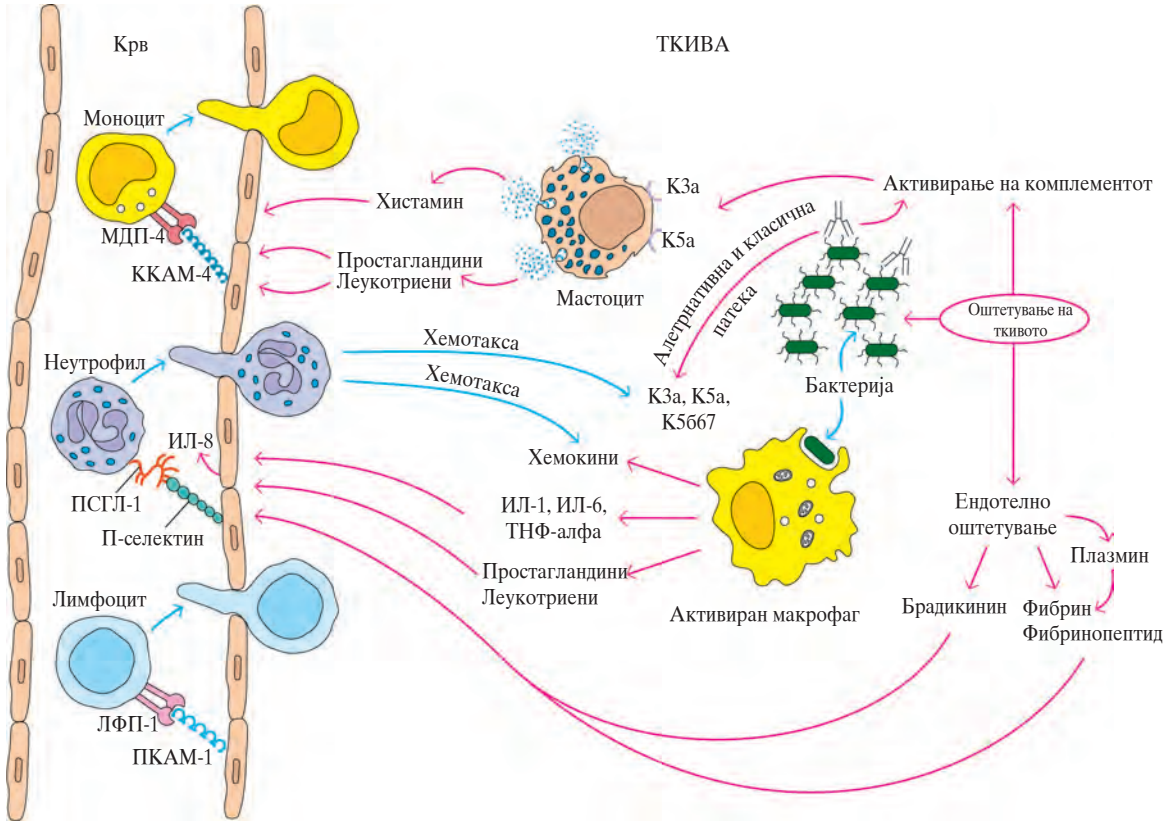
Воспалителната одговор овозможува рана заштита по инфекцијата или повредата на ткивото, преку ограничување на ткивното оштетување на засегнатото место. Акутниот воспалителен одговор кој ги вклучува и локалните и системските одговори, е објаснет во поглавје 3.

Локален воспалителен одговор

Карактеристиките на локалниот актуен воспалителен одговор, кои за првпат се опишани пред 2000 години, се отекување (*тумор*), црвенило (*рубор*), топлина (*калор*), болка (долор) и загуба на функцијата. За неколку минути по оштетувањето на ткивото, доаѓа до зголемување на дијаметарот на крвниот сад (вазодилатација), што доведува до зголемување на волуменот на крвта во областа и намалување на крвотекот. Зголемениот волумен на крвта ја зголемува температурата на ткивото и предизвикува појава на црвенило. Исто така, се зголемува пропустливоста на крвните садови, која доведува до истекување на течност од крвните садови, посебно од посткапиларните венули. Ова доведува до акумулација на течност (**едем**) во ткивото и во одредни случаи екстравизација на белите клетки, придонесувајќи за отокот и црвенилото во таа област. Кога течноста излегува од крвотекот се активираат кининскиот, сосируваčкиот и фибронолитичкиот систем (види слика 13-11). Голем број од овие крвосадни промен, кои настануваат рано во локалниот одговор, се јавуваат поради директните ефекти на плазматските ензимски посредници, како што се брадикининот и фибринопептидите, кои поттикнуваат ширење на луменот на крвните садови и зголемена крвосадна пропустливост. Некои од овие крвосадни промени се јавуваат како резултат на индиректен ефект на комплементните анафилатоксини (К3а и К5а), кои поттикнуваат обеззрнување на локалните мастоцити и ослободување на хистамин. Хистаминот е потентен посредник на воспалението, предизвикувајќи ширење на крвните садови и контракција на мазната мускулатура. Простагландините, исто така, можат да придонесат за ширење на крвните садови и зголемена крвосадна пропуслтивост поврзана со акутниот воспалителен одговор.

По неколку часа од почетокот на овие крвосадни промени, неутрофилите се прилепуваат за ендотелните клетки и од крвта мигрираат во ткивните простори (слика 13-13). Овие неутрофилиги ги фагоцитираат туѓите патогени и ослободуваат посредници кои придонесуваат во воспалителниот одговор. Меѓу посредниците се макрофагите воспалителни протеини (МВП-1алфа и МВП-1бета), хемокини кои ги привлекуваат макрофагите на местото на воспалението. Макрофагите пристигнуваат околу 5 до 6 часа по започнувањето на воспалителниот одговор. Овие макрофаги се активирани клетки кои покажуваат зголемена фагоцитоза и зголемено ос-

ДЕТАЛНА СЛИКА 13-13:
Клетки и посредници кои се вклучени во локалниот акутно воспалителен одговор



Повредата на ткивото доведува до создавање комплементни продукти кои дејствуваат како опсонини, анафилатоксини и хемотаксични агенси. Брадикининот и фибринопептидите чие создавање е предизвикано од ендотелното оштетување, посредуваат во крвосадните промени. Неутрофилите во основа се првите бели клетки кои мигрираат во ткивото, следени од моноцитите и лимфоцитите. Прикажани се само дел од заемните дејства кои се вклучени во екстравазацијата на белите клетки.

лободување на посредници и цитокини, кои придонесуваат за воспалителната рекација.

Активните ткивни макрофаги лачат три цитокини (ИЛ-1, ИЛ-6 и ТНФ-алфа), кои предизвикуваат голем дел од локалните и системските промени кои се среќаваат кај акутниот воспалителен одговор (види табела 13-3). Сите три цитокини дејствуваат локално, предизвикувајќи сосирување и зголемување на крвосадната пропустливост. И ТНФ-алфа и ИЛ-1 предизвикуваат зголемено прикажување на адхезивните молекули на крвосадните ендотелни клетки. На пример, ТНФ-алфа стимулира прикажување на Е-селектин, ендотелна адхезивна молекула која селективно се врзува за адхезивните молекули на неутрофилите. ИЛ-1 предизвикува зголемено прикажување на ПКАМ-1 и ККАМ-1 кои се врзуваат за интегрините на лимфоцитите и моноцитите. Циркулирачките неутрофили, моноцити и лимфоцити ги препознаваат овие адхезивни молекули на ѕидовите од крвните садови, се прилепуваат и поминуваат низ ѕидот од садот кон ткивото. ИЛ-1 и ТНФ-алфа, исто така, делуваат на макрофагите и ендотелните клетки за да предизвикаат создавање на хемокини, кои пак, придонесуваат за приливот на неутрофилите преку зголемување на нивната адхезија на крвосадните ендотелни клетки и преку дејствувањето како потентни хемотаксични фактори. Покрај тоа, ИФН-гама и ТНФ-алфа ги активираат макрофагите и неутрофилите, поттикнувајќи на тој начин зголемена фагоцитна активност и зголемено ослободување на литичките ензими во ткивните простори.

Локалниот акутен воспалителен одговор може да настане без да има очигледно вклучување на имуниот систем. Сепак, често цитокините кои се ослободуваат на местото на инфекција ја олеснуваат адхезијата на клетките од имуниот систем за крвосадните ендотелни клетки и нивната миграција низ ѕидот на садот кон ткивните простори. Резултатот на ова е прилив на лимфоцити, неутрофили, моноцити, езинофили, базофили и мастоцити до местото на оштетување ткивото, каде овие клетки учествуваат во отстранувањето на противгенот и возобновувањето на ткивото.

Траењето и интензитетот на локалниот воспалителен одговор мора внимателно да се регулираат за да се контролира оштетувањето на ткивото и да се олеснат механизмите за негово возобновување, кои се неопходни за закрепнување. Се покажало дека ТГФ-бета игра значајна улога во огра-

ничувањето на воспалителниот одговор. Тој, исто така, поттикнува акумулација и размножување на фибробластите и таложење на вонклеточниот матрикс кој е потребен за соодветно возобновување на ткивото.

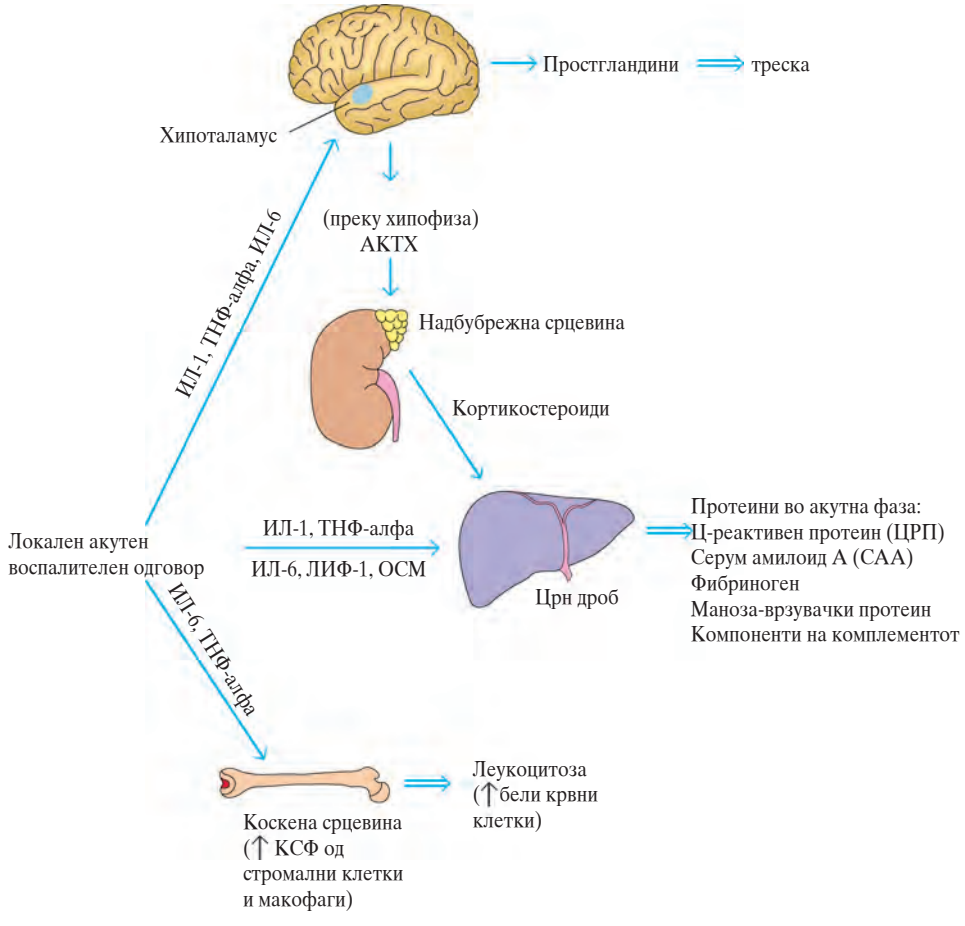
Јасно е дека, процесите на адхезија на белите клетки се од големо значење за воспалителниот одговор. Неуспешната адхезија на белите клетки може да доведе до развој на заболување, како што е прикажано кај адхезивниот недостаток на белите клетки (види Клинички фокус).

Системски акутнофазен одговор

Локалниот воспалителен одговор е придружуван од системскиот одговор, познат како **акутнофазен одговор** (слика 13-14). Овој одговор се карактеризира со поттикнувањето на грозница, зголемена синтеза на хормони, како на пример АКТХ и хидрокортизон, зголемено создавање бели крвни клетки (леукоцитоза) и создавање голем број **акутнофазни протеини во црниот дроб.**. Порастот на телесната температура го попречува растежот на одреден број патогени и изгледа го засилува имунот одговор на патогенот.

Ц-реактивниот протеин е карактеристичен претставник на протеините на акутната фаза, чија концентрација во серумот се зголемува за 1000 пати во текот на акутно-фазниот одговор. Тој е составен од пет идентични полипептиди кои меѓусебно се поврзани со нековалентни взаемни дејства. Ц-реактивниот протеин се врзува за голем број на различни микроорганизми и го активира комплементот, што доведува до таложење опсонинот К3б врз површината од микроогранизмите. Фагоцитните клетки, кои прикажуваат К3б рецептор, можат

ДЕТАЛНА СЛИКА 13-14:
Органи и посредници кои се вклучени во системскиот акутно-фазен одговор



ИЛ-1, ИЛ-6 и ТНФ-алфа, кои се создаваат од страна на активираните макрофаги во местото на воспалението, се посебно значајни во посредувањето на акутно-фазните ефекти. ЛИФ= леукемичен инхибиторен фактор, ОСМ=онкостатин М.

КЛИНИЧКИ ФОКУС

Недостаток на адхезија на белите клетки (НАБК) (leukocyte adhesion deficiency = LAD) кај луѓето и говедата

Имунот систем го користи воспалението за да ги собере на едно место компонентите од ефекторниот одговор и да ги фокусира овие извори на местото на инфекција. Воспалението е комплексно, вклучува ширење на луменот на крвните садови, зголемена крвосадна пропустливост, премин на плазма протеини од крвта во ткивните простори и собирање на клетките на воспалителнието. Хемоатрактантите се клучните елементи во привлекувањето на белите клетки кон местото на воспалението. Тие вклучуваат хемокини, како што се ИЛ-8, моноцитниот хемоатрактантен протеин 1 (МХП-1), макрофагниот воспалителен протеин 1 (МВП-1) и пептидни фрагменти, како што еК5а, кој се создадава при фиксацијата на комплементот.

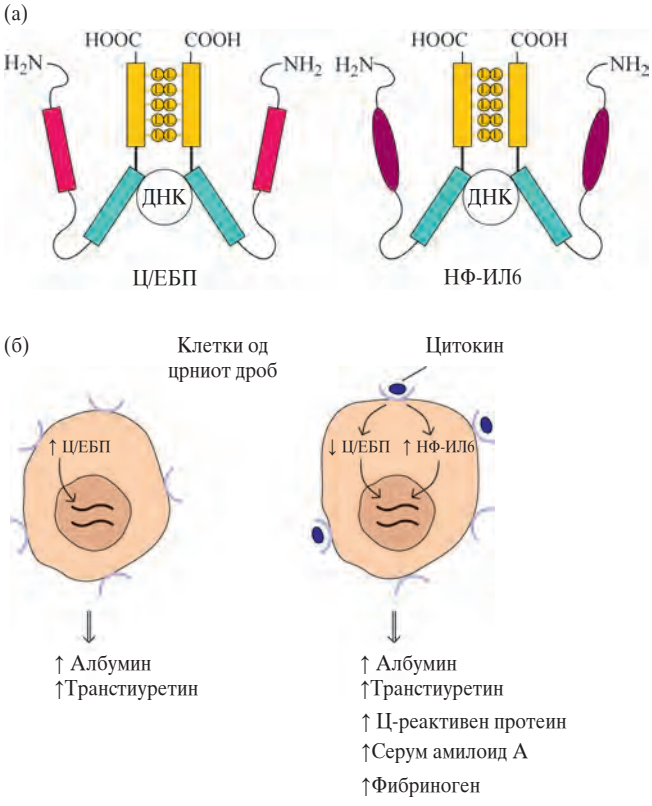
Хемоатрактантите им сигнализираат на белите клетки кои минуваат цврсто да се прилепат за површина на крвните садови, а со употреба на адхезивни заемни дејства за влечење, овие клетки се пробиваат помеѓу ендотелните клетки и навлегуваат во околното ткиво. Еднаш штом ќе навлезат, тие се насочувани од градиентот на хемоатрактантите до местото на воспалителниот одговор и стануваат учесници во процесот. Клучните играчи во адхезивните взаемни дејства, кои се важни за адхезијата и екстравизација, се хетеродимерните интегрински молекули од површината на мигрирачките бели клетки. Постојат мноштво интегрини, меѓу кои се ЛФП-1 (составен од КД11а и КД18), МАК-1 исто така наречен КР3 (компоненти: КД11б и КД18) и п150/95 или КР4 (делови: КД11в и КД18). Кога белите клетки ќе се сретнат со соодветниот хемокин или друг хемоатрактант, нивниот комплемент на мембранската интегринска молекулите претрпува структурна промена, која го трансформира од слабо адхезивна состојба во силно адхезивна состојба.

Во 1979 година, напис со наслов "Задоцнето одделување на папочната врвка, распространети инфекции и дефектно движење на неутрофилите", се појави во Ланцет, британски медицински весник. Ова беше првиот од серијата извештаи кои се појавија во текот на годините, кои ги опишуваа пациентите кои се засегнати со едно ретко автозомно рецесивно заболување каде првата индикација најчесто е воспалението на папокот, оток и црвенило околу стебленцето на папочната врвка. Иако не се поосетливи на вирусни инфекции од нормалните контроли, лица кои се засегнати со ова заболување страдаат од повторувачки и често хронични бактериски инфекции, без да има присутен гној на местата каде нормално би се очекувало тој да се сретне. Оваа забелешка е посебно впечатлива, бидејќи овие пациенти немаат недостаток од гранулоцити. Во суштина, карактеристично за нив е дека всушност имаат зголемено ниво на гранулоцити во циркулацијата. Детаљното имунолошко испитување покажало дека нивото на Иг кај овие пациенти е во нормален опсег и дека тие имаат речиси нормална функција на Б, Т и КПУ. Сепак, испитувањето на миграцијата на белите клетки како одговор на оштетувањето на ткивата ја открива главната причина за болестта кај овие пациенти.

Еден од методите за процена миграцијата на белите клетки вклучува нежно гребење на кожата од мала област на раката. Потоа се испитува клеточната популација која се преселува во гребнатата област, преку земањето на дел од клетките со покривно микроскопско стакло кое се става на повредената кожа. За време од неколку часа серија на стаклениња се поставуваат, инкубираат и се отстрануваат од повредената кожа. Обично секое стаклење за испитување се остава на раната 2 часа, а процедурата се повторува четири пати во период од 8 часа. Испитувањето на стаклениња под микроскоп ќе покаже дали белите клетки се прилепиле за стаклениња. Кај нормални здрави лица, одговорот на имуниолошкиот систем кон повредата на ткивото е да испрати бели клетки во оштетената област, кои клетки можат да се видат на стаклениња. Сепак, кај пациентите со НАБК, стаклениња во голем степен се негативни за присуство на бели клетки. Испитувањето на белите крвни клетки кај овие пациенти покажа отсуство на КД18, значајна компонента за одреден број на интегрини. Бидејќи клучниот елемент за миграцијата на белите клетки е со интегрин-посредуваната клеточната адхезија, овие пациенти страдаат од неспособност на нивните бели клетки да подлегнат на адхезивно-зависна миграција на местата на воспаление. Според тоа, овој синдром е недостаток на адхезија на белите клетки (НАБК)..

Иако бактериските инфекции кај овие пациенти можат да се лекуваат со антибиотици, тие често се повторуваат. Освен тоа, бидејќи има видови на патогени бактерии кои се отпорни на антибиотици, пациентите со НАБК мора да живеат во постојана незивесност, никогаш не знаеејќи кога антибиотикот кој го примаат ќе престане да делува. Сепак, ако може да се пронајде соодветен дарител на коскена срцевина (скоро секогаш близок роднина) постои стратегија за лекување. Крвотворниот систем на пациентите со НАБК најпрвин се уништува, најверојатно, со делување со цитотоксични хемикалии, а потоа се извршува пресадување на коскената срцевина. Ако е успешна, оваа постапка на пациентот му овозможува присуство на бели клетки со нормално ниво на функционален интегрин и со максимален капацитет за мигрирање.

Ова заболување не се јавува само кај луѓето. Мошне слично заболување, познато како недостаток на адхезија на белите клетки кај говедата (НАБКГ) (бовине леукоцste адхесион дефициенцs = БЛАД), настанува кај крупниот добиток. Причината за НАБКГ кај овие животни е идентична со причината за НАБК кај луѓето - недостаток на функционална поединица од интегрините. Она што е различно кај одредени млекодајни видови на стока е зачестеноста на болеста, иако ретка кај луѓето, нејзината зачестености кај говедата може да има економски значајни последици. Ова е последица од високиот степен на вкрстување во генетските чисти линии кое постои кај овие популации на млекодајна стока. Обично, млекодајните крави се размножуваат со вештачко оплодување од семето на мал број бикови. Како последица на ова пракса, до 80-тите години од дваесеттиот век, можело да се докаже дека речиси еден на 20 млечни бикови потекнува од бикот Холштајн, кој бил хетерозигот за НАБКГ. Ваквиот висок степен на зачестеност на оваа рецесивна карактеристика во популацијата на мажјаците за приплод, значително ја зголеми зачестеноста на ова болест кај млекодајната стока. Во раните 90-ти години од дваесеттиот век, во некои земји, зачестеноста на генот за НАБКГ беше во висина од 10% кај одреден рој на млекодајна стока. Клониран е генот за говедскиот КД18, со што се овозможи создавање на ПВР-заснована анализата за откривање на абнормалните форми на овој ген. Денес е можно рутинско испитување на биковите за расплод и на кравите кои треба да се оплодат за алелите на НАБКГ. Како резултат на тоа, денес е можно навреме да се откриваат биковите кои се носители на генот за НАБКГ и да се отстранат од процесот на расплодување. Ова доведе до драматично намалување на појавата на нови случаи со НАБКГ, исто како и намалување на целосната зачестеност на НАБКГ алелите кај популациите на млекодајната стока.



СЛИКА 13-15 Споредба на структурата и функцијата на Ц/ЕБП и НФ-ИЛ6. (а) Обата фактора за препишување се димерни протеини кои сдржат леуцин-патентовиден домен (портокалова боја) и основен ДНК-врзувачки домен (сина боја). (б) Ц/ЕБП нормално се создава во клетките од црниот дроб и поттикнува препишување на гените на албуминот и транстиуретинот. Во текот на воспалителниот одговор, врзувањето на ИЛ-1, ИЛ-6, ТНФ-алфа, ЛИФ или ОСМ за рецепторите на клетките од црниот дроб предизвикува создавање НФ-ИЛ6, што поттикнува препишување на гените кои кодираат различни протеини од акутната фаза. Истовремено доаѓа до намалување на нивото на Ц/ЕБП, со постепено намалување на концентрацијата на албуминот и транстиуретинот.

лесно да ги фагоцитираат микроогранизмите кои се обложени со К3б.

Голем број од системските акутнофазни ефекти се јавуваат поради комбинираното дејство на ИЛ-1, ТНФ-алфа и ИЛ-6 (види слика 13-14). Секој од овие цитокини дејствува врз хипотамалусот за да предизвика појава на треска. Во текот на првите 12 до 24 часа по почетокот на акутнофазниот воспалителен одговор, зголемените нивоа на ИЛ-1, ТНФ-алфа и ИЛ-6 (исто како и леукемичниот инхибиторен фактор - ЛИФ и онкостинот М - ОСМ) предизвикуваат создавање на протеини на акутнатафаза од страна на клетките на црниот дроб. ТНФ-алфа, исто така, делува и на крвосадните ендотелни клетки и макрофагите, за да предизвика лачење факторите кои стимулираат раст на колонии (М-КСФ, Г-КСФ и ГМ-КСФ). Овие КСФ стимулираат создавање на крвни клетки, што доведува до привремено зголемување на бројот на бели крвни клетки кои се потребни за справување со инфекцијата.

Редундантната способност на најмалку пет цитокини (ТНФ-алфа, ИЛ-1, ИЛ-6, ЛИФ и ОСМ), да предизвикаат создавање на протеини во акутна фаза од страна на црниот дроб, е резултат на создавањето на еден ист препишувачки фактор НФ-ИЛ6, по заемното дејство на сите овие цитокини со нивните рецептор. Со одредување на секвенцата на аминокиселините кај клонираниот НФ-ИЛ6, се покажало дека постои висок степен на идентичност на НФ-ИЛ6 со Ц/ЕБП, фактор за препишувње специфичен за црниот дроб (слика 13-15а). И НФ-ИЛ6 и Ц/ЕБП содржат леуцин-патентовиден домен и еден ДНК-врзувачки домен. И двата протеина се врзуваат за истата нуклеинска секвенца кај олеснувачот или засилувачот на гените кои кодираат различните протеини од црниот дроб. Ц/ЕБП, кој стимулира создавање на албумин и транстиуретин, постојано се создава од страна на клетките од црниот дроб. Како што се развива воспалителниот одговор и како што цитокините стапуваат во заемно дејство со нивните рецептори на клетките од црниот дроб, се зголемува создавањето на НФ-ИЛ6 и се намлува создавањето на Ц/ЕБП (слика 13-15б). На обратнопропрционалната зависност меѓу овие два фактора на препишување се должи забелешката дека при воспалителниот одговор серумските-нивоа на протеините, како што се албуминот и транстиуретинот, се намалуваат, додека нивоата на протеините на акутна фаза се зголемуваат.

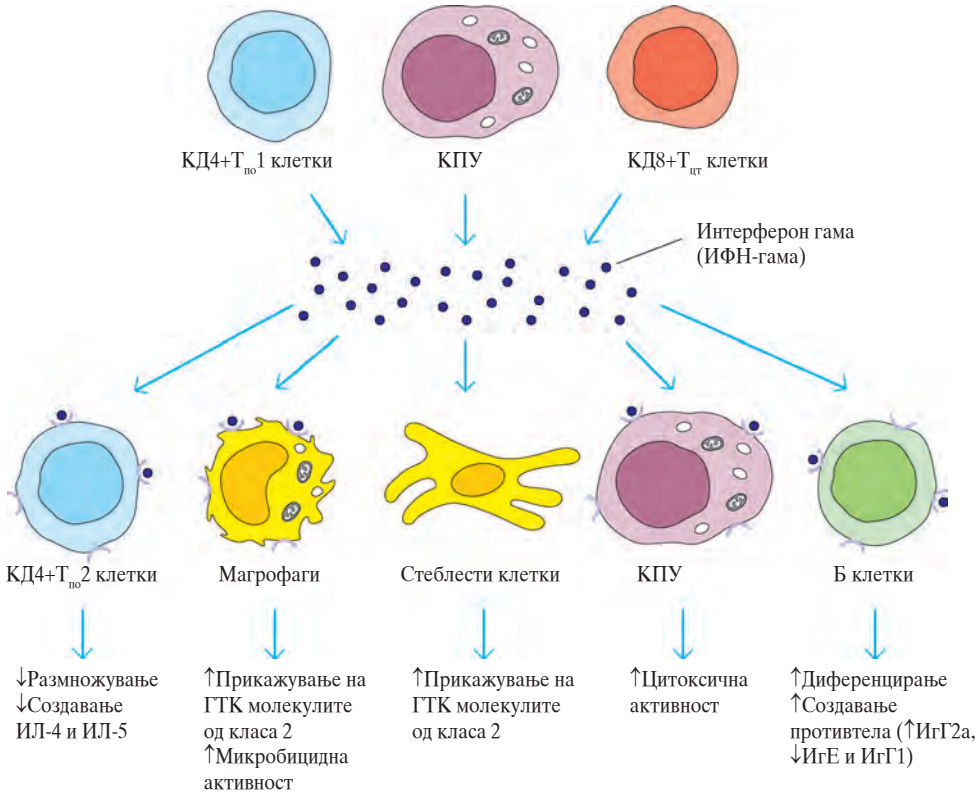
Хронично воспаление се развива кога противгенот опстојува

Одредени микроорганизми се способни да го избегнат нивното отстранување од страна на имуниот систем, на пример, со поседување на поедини компоненти од sидот на клетката, кои им овозможуваат да се спротистават на фагоцитозата. Ваквите микроорганизми честопати предизвикуваат појава на хроничен воспалителен одговор, што доведува до значително оштетување на ткивата. Хроничното воспаление, исто така, настанува и кај бројни автоимуни заболувања, кај кои сопствените противгени постојано ги активираат Т клетките. На крај, хроничното воспаление, исто така, придонесува за оштетувањето на ткивата и истоштувањето, кои се поврзани со многу типови на рак. Акумулирањето и активирањето на макрофагите е карактеристичен белег на хроничното воспаление. Цитокините кои се ослободуваат од хронично активираните макрофаги го стимулираат размножувањето на фибробластите и создавањето на колагенот. Во областите на хроничната инфекција се создава ткиво во вид на лузна, во текот на еден процес наречен **фиброза**, кој претставува процес за возобновување на раните кој може да се меша во фунцијата на здравото ткиво. Хроничната инфекција, исто така, може да доведе до создавање **гранулом, една** туморовидна маса која е составена од централна област исполнета со активирани макрофаги, опколени од активирани лимфоцити. Центарот на грануломата често содржи повеќејадрени гигантски клетки, кои се создаваат со фузија на активираните макрофаги. Овие гигантски клетки вообичаено се опколени од големи модифицирани макрофаги кои наликуваат на епителните клеки, поради што се наречени епителиоидни клетки.

Улогата на ИФН-гама и ТНФ-алфа во хроничната инфекција

Посебно два цитокини, ИФН-гама и ТНФ-алфа, играат главна улога при развојот на хроничното воспаление. $T_{по}1$ клетките, КПУ и $T_{цт}$ клетки ослободуваат ИФН-гама, додека активираните макрофаги лачат ТНФ-алфа.

Членовите од интерферонската фамилијата на гликопротеините (ИФН-алфа и ИФН-бета) се ослободуваат од вируснозаразените клетки и им обезбедуваат противвирусна заштита на соседните клетки. Кој интерферон точно ќе се создаде зависи од типот на инфицирната клетка. Белите



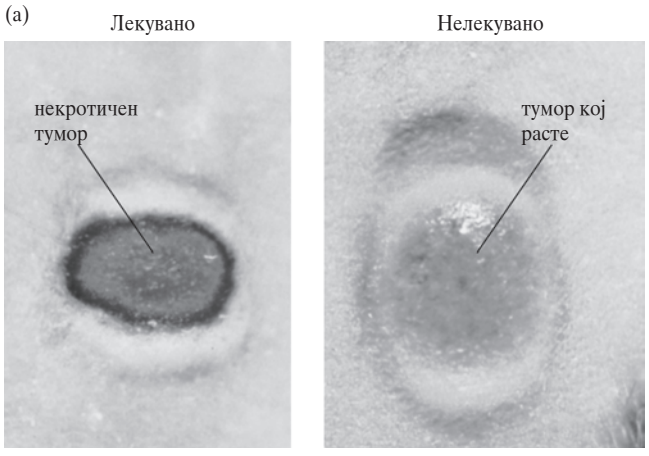
СЛИКА 13-16 Сумарен приказ на плеотропната активост на интерферонот гама (ИФН-гама). Активирањето на макрофагите кое е предизвикано од ИФН-гама игра главна улога во хроничното воспаление. Овој цитокин го лачат $Т_{по}1$ клетките, КПУ и $Т_{цт}$ клетки и делува врз бројни видови на клетки. *(Прилагодено од Research News, 1993, Science 259:1693).*

клетки го создаваат ИФН-алфа, додека ИФН-бета, често нарекуван и фибробластен интерферон, во најголемиот дел го создаваат фибробластите. ИФН-гама го создаваат исклучиво Т и КПУ. Сепак, ИФН-гама има одреден број плеотропни активности кои го прават различен од ИФН-алфа и ИФН-бета и придонесуваат за воспалителниот одговор (слика 13-16). Еден од најзначајните ефекти на ИФН-гама е неговата способност да ги активира макрофагите. Во нивната активна состојба, макрофагите вршат зголемено прикажување на ГТК молекулите од класа 2, зголемено создавање на цитокини и имаат зголемена микробицидна активност, што ги прави поефикасни во прикажувањето на противгенот и убивањето на внатреклеточните микробни патогени. Сепак, кај хроничниот воспалителен одговор големиот број на активирани макрофаги ослободуваат разни хидролитички ензими и реактивни кислородни и азотни меѓупродукти, кои се виновни за поголемиот дел од оштетувањето на околното ткиво.

Еден од главните цитокини кои ги лачат активираните макрофаги е ТНФ-алфа. Активноста на овој цитокин најпрвин беше забележана на почетокот од минатиот век од страна на хирургиот Вилијам Коли. Тој забележал дека кога пациентите болни од рак заболувале од одредени бактериски инфекции, туморот станувал некротичен. Со надеж дека нашол лек за ракот, Коли почнал на пациентите со рак да им инектира супернатанти добиени од различни бактериски култури. Овие супернатанти од култури, наречени „Колиеви токсини“, иако предизвикувале хеморагична некроза кај туморите, имале и бројни несакани ефекти, што ги правело несоодветни за лекување на ракот. Неколку децении подоцна, се покажа дека активната компонента на токсинот на Коли е липополисахаридна (ендотоксин) компонента од клеточниот ѕид на бактеријата. Овој еднотоксин самиот по себе не поттикнува некроза на туморот, туку ги поттикнува макрофагите да создаваат ТНФ-алфа. Овој цитокин има директен цитоксичен ефект врз некои туморни клетки, но не и врз здравите клетки (слика 13-17а). Сепак, имунотерапевтските приоди кои користат ТНФ-алфа за лекување на ракот се покажаа разочарувачки.

Постојат докази кои укажуваат дека ТНФ-алфа, исто така, придонесува во најголем дел и за истоштувањето на ткивото, што ја карактеризира хроничната инфекција. На пример, глувците кај кои е вметнат ген за ТНФ-алфа од друг организам (трансгени глувци), стануваат мошне исцрпени (слика 13-17б). Со проучувањата на А. Керами и соработниците, се открило дека зајаците губат речиси половина од нивната телесна маса, за 2 месеца од заразувањето со трипанозоми. Овие истражувачи подоцна откриле дека за ваквото големото исцрпување е одговорен еден фактор кој потекнува од макрофагите. Овој факторот го нарекле кахетин. Со клонирањето на гените за ТНФ-алфа и кахетинот се покажало дека се работи за еден ист протеин.

Активирањето на макрофагите од страна на ИФН-алфа поттикнува зголемено препишување на генот за ТНФ-алфа генот и ја зголемува стабилноста на иРНК за ТНФ-алфа. Овие два ефекта доведуваат до зголемено создавање на ТНФ-алфа. ТНФ-алфа делува синергистички со ИФН-гама за да го поттикне хроничниот воспалителен одговор. Двата цитокини заедно поттикнуваат поголемо зголемување на бројот на ПКАМ-1, Е-селектинот и ГТК молекулите од класа 1, отколку секој цитокин поединечно. Зголемување на бројот на помеѓуклеточните адхезивни молекули го олеснува регрутирањето на голем број клетки при хроничниот воспалителен одговор.



СЛИКА 13-17 **Биолошки активност на ТНФ-алфа.** (а) Канцерозниот тумор кај глушецот инектиран со ендотоксин (лево) покажува хеморагична некроза, за ралика од туморот кај глушецот кој не примил ништо (*десно*). Ендотоксинот предизвикува создавање на ТНФ-алфа, кој потоа дејствува за да го уништи туморот. (б) Трансгени глувци (*горниот глушец*) кај кои е вметнат ген за ТНФ-алфа од друг организам (трансген) стануваат анорексични и мошне исцрпени. Здравиот глушец е прикажан доле. *[Делот (а) од* L. J. Old, 1988, Sci. Am. 258:59; делот (б) од B. Beutler, 1993, Hosp. Prac. *(April 15):45.]*

При хроничното воспалителното заболување се појавуваат структури кои наликуваат на ВЕВ

Нодамнешните проучувања покажаа дека подрачјата на дебели ендотелни клетки, кои се слични на оние од ВЕВ, се појавуваат околу крвните садови во третичните екстралимфоидни органи во текот на хроничната инфекција. Овие ВЕВ-овидни подрачја, за кои се покажало дека се места каде постои екстравазацијата на лимфоцитите во воспаленото ткиво, прикажуваат одреден број на муцински молекули (на пример, Гли-КАМ-1, МАдЦАМ-1 и КД34), кои обично се прикажуваат и во нормалните ВЕВ. Неколку цитокини кои се поврзани со хроничното воспаление, посебно ИФН-гама и ТНФ-алфа, можат да играат улога во поттикнувањето на создавање на вакви ВЕВ-овидни подрачја долж крвните садови.

Овие подрачја во вид на ВЕВ се среќаваат кај бројни хронични воспалителни болести кај луѓето, вклучувајќи ги тука и ревматоидниот артрит, Кроновата болест, улцеративниот колитис, Гравесовата болест, Хашимотовиот тироидит и шеќерната болест (табела 13-14). Развојот на оваа формација која наликува на ВЕВ, најверојатно, го олеснува големиот прилив на бели клетки, што придонесува за развој на хронично воспаление. Овие факти укажуваат дека еден од можните ефикасен приоди за лекување хроничните воспалителни заболувања би можело да биде и обидот да се контролира создавањето на овие подрачја во вид на ВЕВ.

ТАБЕЛА 13-4 **Хронични воспалителни болести кои се асоцирани со ВЕВ-овидни крвни садови**

Заболување	Зафатен орган	Дебел ендотел	Муциновидни КАМ на ендотелот*
Кронова болест	Црева	+	+
Шеќерна болест	Панкреас	+	+
Гравесова болес	Тироидеа	+	+
Хашимотов тиреоидит	Тироидеа	+	+
Ревматоиден артрит	Зглобна капсула	+	+
Улцеративен колит	Црева	+	+

*Вклучува ГлиКАМ-1, ЛАдКАМ-1 и КД34
ИЗВОР: Прилагодено од J. P. Girard and T. A. Springer, 1995, *Immunology. Today 16:449.*

Противвоспалителни агенси

Иако развојот на ефикасен воспалителен одговор може да игра значајна улога при одбраната на организмот, понекогаш може да биде и штетен. Алергиите, автоимуните заболувања, микробните инфекции, пресадените органи и изгореницте можат да поттикнат појава на хроничен воспалителен одговор. Денес ни стојат на располагање различни терпавески методи за намалување на долготрајните воспалителни реакции, а со тоа и избегнување на компликациите кои се поврзани со нив.

Терапиите со противтелата ја намалуваат екстравазацијта на белите клетки

Бидејќи екстравазацијата на белите клетки е составен дел од воспалителната одговор, еден од методите за намалување на воспалението би бил да се спречи овој процес. Теоретски, екстравазацијата на белите клетки може да се намали со блокирање на активноста на разни адхезивни молекули со помош на противтела. На пример, кај животинските модели, противтелата за интегринот ЛФП-1 се користат за намалување порастот на неутрофилите во воспаленото ткиво. Исто така, со одреден успех се користат и противтела кон ПКАМ-1 во спречувањето на ткивната некроза асоцирана со изгореницте и за намалување на можноста за отфрлање на пресадениот бубрег кај животинските модели. Резултатите од употребата на противтела специфични за овие адхезивни молекули беа толку охрабрувачки, што комбинацијата на овие противтела (против-ПКАМ-1 и против-ЛФП-1) се користела при клиничките испитувања кај пациентите со пресаден бубрег. Требало да се користи комбинацијата на две против-адхезивни противтела, бидејќи неуспехот да се блокираат ЛФП-1 и ПКАМ-1 како

резултат давал отфрлање на калемот. Клиничките испитувања јасно покажаа дека постои подобрување кај пациенти со повраток (релапс) на мултиплата склероза, пациенти со Кронова болест и пациенти со ревматски артрит, кога се лекуваат со противтела кои ја блокираат интегринската алфа4 поединицата на МДП-4 (КД49д), а тешката форма на псоријаза може да се намали кога пациентите ќе се лекуваат со противтела кои ја блокираат интегринската алфаЛ поединицата на ЛФП-1 (КД11а). Сепак, улогата на овие интегрини во имуниот систем оди подалку од екстравазацијата на белите клетки и во последно време се повеќе се дискутира за ризикот наспроти добивката кога ќе се блокираат нивните активности. Врзувањето за МДП-4 (КД49д/КД29) на некои од овие противтела, доведува до создавње на одговор од $T_{по}1$ тип, што нема да претставува задоволувачки резултат кај болест кај која веќе предоминираат $T_{по}1$ клетките. Во една друга студија, три пациенти кои примале против-алфа4 противтела при лекувањето на мултипла склероза или Кронова болест, добиле вирусноасоцирана леукоенцефалопатија, најверојатно, бидејќи намалената миграција на имуните клетки во деловите од нервниот систем му дозволила на вирусот да се рашири. Затоа, пред да почне пошироко да се употребува блокадата на адхезивните молекули, мора да се дознаат повеќе детали за можните несакани ефекти кои би се јавиле, а кои се поврзани со пореметувањето на нормалната функцијата на адхезивните молекули.

Кортикостеоридите се моќни противвоспалителни лекови

Во кортикостеродидите, кои што се деривати на холестеролот, спаѓаат преднизонот, преднизолонот и метилпреднизолонот. Овие моќни противвоспалителни лекови предизивкуваат разни ефекти кои доведуваат до намалување на бројот и активноста на клетките од имуниот систем. Тие редовно се користат во противвоспалителната терапија.

Кортикостероидната терапија предизвикува намалување на бројот на циркулирачките лимфоцити како резултат или на со стероиди-предизвиканата лиза на лимфоцитите (лимфолиза) или на измените во циркулирачката шема на лимфоцитите. Некои од видовите (на пример, хрчак, глушец, стаорец и зајак), се посебно осетливи на лизата на лимфоцитите поттикната од кортикостероиди. Кај овие животни, третманот со ниски дози од кортикостероиди, до висина од 10^{-7} М, предизвикува обемна лиза на лимфоцитите, при што тежината на тимусот се намалува дури за 90%, а постои и видливо намалување на слезината и лимфните јазли. Незрелите тимоцити кај овие видови се посебно чувствителни на убивањето посредувано со кортикостероиди. Кај глодарите, кортикостеродите предизвикуваат програмирана клеточна смрт на незрелите тимоцити, за разлика од зрелите тимоцити кои се отпорни на оваа активност. Во првите 2 часа по ин витро инкубацијата со кортикостероиди, незрелите тимоци започнуваат да покажуваат морфологија карактеристична за апоптозата, додека 90% од хроматинот е деградиран во карактеристичната нуклеозомска скала во период од 24 часа по третманот. Сè уште не се познати фазите по кои се одвива апоптозата предизвикана од кортикостероидите. Кај луѓето, заморчињата и мајмуните, кортикостероидите не поттикнуваат апоптоза, но наместо тоа влијаат на процесот на циркулација на лимфоцитите, предизвикувајќи намалување на тежината на тимусот и значаен пад на бројот на лимфоцитите кои циркулираат.

Како и другите стероидни хормони, кортикостеродите се липофилни, поради што можат да ја преминат плазматската мембрана и да се врзат за рецепторите во цитозолот. Комплексите рецептор-хормон се пренесуваат до јадрото, каде се врзуваат за специфичните регулаторни секвенци на ДНК, при што доаѓа до зголемување или намалување на препишувањето. Се покажало дека кортикостероидите предизвикуваат зголемено препишување на инхибиторот на НФ-кБ (ИкБ). Врзувањето на овој инхибитор за НФ-кБ во цитозолот го спречува пренесувањето на НФ-кБ во јадрото, што подоцна го спречува активирање на бројни гени, вклучувајќи ги и гените кои се вклучени во активирањето на Т-клетките и создавањето на цитокините, од страна на НФ-кБ.

Кортикостероидите, исто така, ја намалуваат фагоцитозата и способноста за убивање на макрофагите и неутрофилите. Овој ефект може да придонесе за нивното против-воспалително дејство. Покрај тоа, тие ја намалуваат и хемотаксата, со што помал број на воспалителни клетки се привлечени во областа на активирање на $T_{по}$-клетки. Во присуство на кортикостеориди, прикажувањето на класа 2 молекулите од ГТК и создавањето на ИЛ-1 од страна на макрофагите е значително намалено. Се очекува дека ваквите намалувања ќе доведат до соодветно намалување на активирањето на $T_{по}$ клетки. Кортикостероидите исто така ги стабилизираат и лизозомалните мембрани на белите клетки кои учествуваат во инфекцијата, што како резултат ќе има намалување на нивото на ослободени лизозомалните ензими во областа на инфекција.

Употреба на НСПВЛ против болката и воспалението

Уште од времето на Хипократ, за намалување болката се користеле екстракти од кора од врба. Активната состојка, т.е. салицилатот, кој се наоѓа во аспиринот, е само еден од многуте нестероидните противвоспалителни лекови (НСПВЛ) (nonsteroidal anti-inflammatory drugs = NSAID). НСПВЛ се најчестото употребувано лекарство за лекување на болка и воспаление. Клинички се покажало дека НСПВЛ се ефикасни при лекувањето на многу акутни и хронични воспалителни реакции. Главниот механизам преку кој овие лекови ги извршуваат противвоспалителни ефекти е инхибиција на циклооксигеназната патеката, со која се создаваат простагландини и тромбоксани од арахидонската киселина. Намалувањето на создавањето на простагландинот го ограничува зголемувањето на крвосадната пропуслиост и хемотакса на неутрофилите при воспалителниот одговор. Како што е прикажано на слика 13-18, циклооксигеназната патека е посредувана од страна на два ензими, циклооксигеназа 1 и циклооксигеназа 2 (Цокс-1 и Цокс-2), (cyclooxygenase-1, -2 = Cox-1, -2).

Иако НСПВЛ како што се аспиринот, тиленолот, ибупрофенот, напроксенот и други рутински се препишуваат за лекување на болести како што се артритот, шинувањето, повредите на ткивата и болките во грбот, траењето на оваа терапија е ограничено со несаканите ефекти од системот за варење, кои вклучуваат вознемиреност и абдоминална болка, а во посериозни случаи и крварење и продупчување на стомакот или горниот дел од гастроинтестиналниот систем. Испитувањето на механизамот на делување на НСПВЛ ја обезбеди основата за благотворните и штетните ефекти ефекти на многу НСПВЛ. Проучувањата покажаа дека иако повеќето НСПВЛ ги инхибираат и Цокс-1 и Цокс-2, за нивните противвоспалителни ефекти одговорна е инхибицијата на Цокс-2. Од друга страна, инхибицијата на Цокс-1 од страна на овие агенси предизвикува оштетување на системот за варење и нема значајна против-воспалителна корист. Овие сознанија



СЛИКА 13-18 Попречување циклоксигензата 1 и 2 од страна на НСПВЛ. Мноштво агенси поттикнуваат ослободување архидонска киселина од клеточната мембрана преку дејство на фосфолипазата А2. Подоцнежното дејство на Цокс-1 и Цокс-2 иницира претворање на архидонската киселина во голем број на липидни посредници на вспалувањето и на многу други процеси. Голем број НСПВЛ ги инхибираат и двете ензимски патеки, но оние кои се со поголема специфичност за Цокс-2 патеката имаат поголеми противвоспалителни ефекти и помал број на несакани ефекти. (*Адаптирано од G. A. FitzGerald and C. N.Patrono, 2001,* New England Journal of Medicine *345:433.*)

доведоа до создавање и разој на нова генерација на НСПВЛ кои специфично ја инхибираат Цокс-2 и имаат многу мал ефект врз активноста на Цокс-1. Дејството на овие високо специфични лекови е прикажано на слика 13-18.

Иако овие нови лекови на почетокот биле наменети за пациентите кај кои постоел ризик за појава на несакани ефекти од страна на гастроинтестиналниот систем, нивната употребата со текот на времето се проширила. Подоцнежните клиничките испитувања кај пациентите кои ги користеле новите Цокс-2 специфични инхибитори покажаа неприфатлив пораст на несаканите ефекти од страна на срцевокрвосадниот систем, вклучувајќи тука и срцевите и мозочните удари. Цокс-2 инхибиторот Виокс, кој беше наменет за оние лица кои се склони кон несакани ефекти од страна на гастроинтестиналниот систем, доброволно беше повлечен од пазарот во 2004 година од страна на Мерк поради зголемените несакани ефекти од страна на срцевокрвосадниот систем. Во моментов Цокс-2 специфичните инхибитори се препорачуваат за употреба само како втора или трета линија на лекови.

Резиме

- Лимфоцитите постојано рециркулираат меѓу крвта, лимфата, лимфоидните органи и третичните екстралимофидни ткива, зголемувајќи ги шансите дека малиот број на лимфоцити кои се специфични за дадениот противген (околу 1 на 10^5 клетки) всушност ќе се сретнат со дадениот противген.
- Миграцијата на белите клетки во воспаленото ткиво или во лимфоидните органи бара взаемно дејство помеѓу клеточните адхезивни молекули (КАМ) врз крвосадниот ендотел и КАМ врз циркулирачките клетки.
- Повеќето КАМ спаѓаат во една од четирите фамилии на протеини: селектините, муциновидната фамилија, интегрините или Иг суперфамилија. Селектините и муциновидните КАМ стапуваат во взаемно дејство помеѓу себе, а членовите од секоја фамилија се прикажуваат и врз белите клетки и врз ендотелните клетки. Интегрините, кои се прикажуваат врз белите клетки, стапуваат во заемно дејство со Иг суперфамилијата на КАМ, кои се прикажани врз ендотелните клетки.
- Екстравизацијата и на неутрофилите и на лимфоцитите вклучува четири чекори: тркалање, активирање, сопирање/адхезија и миграција низ ендотелот. Во основа неутрофилите се првата група на клетки кои поминуваат од крвотекот во местото на воспалителнието.
- За разлика од неутрофилите, разни популации од лимфоцити покажуваат екстравизација во разни ткива. Рецепторите за домување на лимфоцитите стапуваат во заемно дејство со ткивноспецифичните адхезивни молекули, наречени васкуларни адресини, на високоендотелните венули (ВЕВ) во лимфоидните оргни и на еднотелот на третичните екстралимфоидни ткива.
- Наивните лимфоцити домуваат во вторичните лимфоидни органи, вршејќи екстравазација низ ВЕВ, додека ефекторните лимфоцити селективно домуваат на воспаленият крвосаден ендотел.
- Воспалението е физиолошка одговор на мноштво дразби, како што се повредата на ткивото и инфекцијата. Акутниот воспалителен одговор вклучува локални и системски ефекти. Локалниот одговор започнува кога ткивото и ендотелното оштетување предизвикуваат создавање на плазматски ензимски посредници кои доведуваат до ширење на крвните садови и зголемена крвосадна пропустливост.
- Неколку видови на посредници играат улога во воспалителниот одговор. Хемокините дејствуваат како хемоатрактанти и активирачки молекули во текот на екстравазацијата на белите клетки. Плазматските ензимски посредници вклучуваат брадикинин и фибрнопептиди, кои што ја зголемуваат крвосадната пропустливост. Плазминот е протеолитички ензим кој ги разложува грутките од фибринот на хемотаксични продукти и го активира комплементот. Различните продукти од комплементот делуваат како анафилатоксини, опсонини и хемотаксични молекули за неутрофилите и моноцитите. Во липидните посредници на воспалението спаѓаат тромбоксани, простагландини, леукотриени и факторот кој ги активира крвните плочки. Три цитокини, ИЛ-1, ИЛ-6 и ТНФ-алфа посредуваат при голем број локални и системски особини на акутниот воспалителен одговор.
- Активирањето на ткивните макрофаги и обезззрнувањето на мастоцитите доведуваат до ослободување на бројни посредници на воспалението, при што дел од нив поттикнуваат акутно-фазен одговор, која вклучува треска, зголемување на бројот на белите клетки и создавање на кортикостероиди и протеини на акутна фаза.
- Хроничниот воспалителен одговор може да ги придружува алергиите, автоимуните зболувања, микробните инфекции, пресадувањето на органи и изгрегниците. Терапиите кои се базираат на лекови користат кортикостероиди и мноштво нестероидни против-воспалителни лекови (НСПВЛ) се најчесто употребуваните лекарства за болка и воспаление.

Референции

Butcher, E., and L. J. Picker. 1996. Lymphocyte homing and homeostasis. *Science* **272**:60.

Cyster, J. G. 2005. Chemokines, sphingosine-1-phosphate, and cell migration in secondary lymphoid organs. *Annual Review of Immunology* **23**:127.

FitzGerald, G. A., and C. Patrono. 2002. The coxibs, selective inhibitors of cyclooxygenase-2. *New England Journal of Medicine* **345**:433.

Gabay, C., and I. Kushner. 1999. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *New England Journal of Medicine* **340**:448.

González-Amaro, R., M. Mittelbrunn, and F. Sánchez-Madrid. 2005. Therapeutic anti-integrin (a4 and aL) monoclonal antibodies: two-edged swords? *Immunology* **116**:289.

Imhof, B. A., and M. Aurrand-Lions. 2004. Adhesion mechanisms regulating the migration of monocytes. *Nature Reviews Immunology* **4**:432.

Kim, C. H. 2005. The greater chemotactic network for lymphocyte trafficking: chemokines and beyond. *Current Opinion in Hematology* **12**:298.

Kuijpers, T. W., et al. 1997. Leukocyte adhesion deficiency type 1 (LAD-1)/variant: a novel immunodeficiency syndrome characterized by dysfunctional beta2 integrins. *Journal of Clinical Investigation* **100**:1725.

Kunkel, E. J., and E. C. Butcher. 2002. Chemokines and the tissue-specific migration of lymphocytes. *Immunity* **16:**1.

Pribila, J. T., A. C. Quale, K. L. Mueller, and Y. Shimizu. 2004. Integrins and T cell-mediated immunity. *Annual Review of Immunology* **22**:157.

Rosen, S. D. 2004. Ligands for L-selectin: homing, inflammation, and beyond. *Annual Review of Immunology* **22**:129.

Shuster, D. E., et al. 1992. Identification and prevalence of a genetic defect that causes leukocyte adhesion deficiency in Holstein cattle. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.* **89**:9225.

Springer, T. A. 1994. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. *Cell* **76**:301.

Steel, D. M., and A. S. Whitehead. 1994. The major acute phase reactants: C-reactive protein, serum amyloid P component and serum amyloid A protein. *Immunology Today* **15**:81.

Stein, J. V., and C. Nombela-Arrieta. 2005. Chemokine control of lymphocyte trafficking: a general review. *Immunology* **116**:1.

Корисни веб-страни

http://cytokine.rndsystems.com

Страната на The Cutokine Mini-Reviwes Section of the R&D Systems содржи опширни, детални и добро илустрирани ревии за многу хемокини и хемокински рецептори.

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Omim/

Online Mendlian Inheritance in Man претставува каталог на човечките гени и генски пореметувања. Содржи слики и упатување на многу болести, вклучувајќи го НАБК.

Прашања за учење

ПРАШАЊЕ ОД КЛИНИЧКИОТ ФОКУС Зошто дефект во КД18 доведува до зголемена прифатливост кон бактериски инфекции? Објаснете ја, колку што можете попрецизно, клеточната биологија на миграцијата на клетките.

1. Наведете кој од следниве искази е точен или неточен. Доколку мислите дека одреден исказ не е точен, објаснете зошто.
   а. Хемокините се хемоатрактанти за лифмоцитите, но не и за останатите бели клетки.
   б. Интегрините кои содржат бета2-(КД18)-поединица се прикажуваат на белите клетки и ендотелните клетки.
   в. Екстравазацијата на белите клетки вклучува бројни заемни дејства меѓу клеточните адхезивни молекули.
   г. Повеќето вторични лимфоидни органи содржат високоендотелни венули (ВЕВ).
   д. Муциновидните КАМ стапуваат во заемно дејство со селектините.
   ѓ. Акутниот воспалителен одговор вклучува само локални ефекти во местото на оштетувањето на ткивото или инфекција.
   е. ЛАдКАМ-1 претставува ендотелна адхезивна молекула кој се врзува за Л-селектинот и за одреден број на интегрини.
   ж. Создавањето на гранулом е вообичаен симптом за локалното воспаление.
2. Разни посредници на воспалението предизвикуваат прикажување на ПКАМ на голем број на различни ткива. Каков ефект може ова да има врз локализацијата на имуните клетки?
3. Екстравазацијата на неутрофили и лимфоцитите обично настанува со слични механизами, иако одредени разлики ги одделуваат овие два процеса.
   а. Наведете ги по редослед четирите чекора во екстравазацијата на белите клетки.
   б. Во кои области, најверојатно, ќе настане екстравазација на неутрофилите? Зошто?
   в. Различни популации на лимфоцити мигрираат во разни ткива, процес наречен домување (или патување). Објаснете ја улога на трите видови молекули кои дозволуваат домување на лимфоцитите.
4. Кои три цитокини кои се лачат од страна на активираните макрофаги играат главна уога во посредувањето на локалните и системските ефекти, кои се асоцирани со акутниот воспалителен одговор?
5. Ефективниот воспалителен одговор бара диференцирање и размножување на разни нелимфоидни бели крвни клетки. Објаснете како повредата на ткивото или локалната инфекција предизвикуваат создавање на нови крвни клетки.
6. За секој пар молекули кои се наведени долу, наведете дали молекулите стапуваат во заемно дејство при првиот, вториот, третиот или четвртиот чекор од екстравазацијата на неутрофилите во местото на воспалението. Користете Н за да означите молекули кои не стапуваат во меѓудејство.
   а. _____ Хемокин и Л-селектин
   б. _____ Е-Селектин и муциновидни КАМ
   в. _____ ИЛ-8 и Е-селектин
   г. _____ Иг-суперфамилија на КАМ и интегрин
   д. _____ ПКАМ и хемокин
   ѓ. _____ Хемокин и Г-протеин-спарениот рецептор
   е. _____ ПКАМ и интегрин

7. Објаснете ги главните ефекти на ИФН-гама и ТНФ-алфа во текот на хрочничниот воспалителен одговор.
8. Пет цитокини (ИЛ-1, ИЛ-6, ТНФ-алфа, ЛИФ и ОСМ) предизвикуваат создавање Ц реактивен протеин и други протеини на акутна фаза од страна на клетките на црниот дроб. Накратко објаснете како овие различни цитокини можат да го имаат истиот ефект врз клетките од црниот дроб.
9. За секој израз кој е поврзан со воспаление (а-ж), изберете го најсоодветниот од описите дадени подолу (1-11). Секој опис може да се употреби еднаш, повеќе од еднаш или воопшто да не се употреби. За одредени изрази може да одговара повеќе од еден опис.

   Изрази

   а. _____ Третично екстралимфоидно ткиво
   б. _____ П- и Е-селектин
   в. _____ Простагландини
   г. _____ Нестероидни противвоспалителни лекови
   д. _____ ПКАМ -1, -2, -3
   ѓ. _____ ЛАдКАМ
   е. _____ Брадикинин
   ж. _____ Воспален ендотел

   Описи:

   1) Се врзува за сијалински јаглехидратни делови
   2) Инхибира циклооксигеназна патека
   3) Предизвикува прикажување на инхибиторот на НФ-кБ
   4) Ги има и Иг домен и муциновидниот домен
   5) Регион од крвосадниот ендотел кои се наоѓа во постпакипалрните венули
   6) Прикажан од воспаленият ендотел
   7) При хроничното воаспаление прикажува на ВЕВ-слични крвни садови
   8) Припаѓа на Иг суперфамилијата на КАМ
   9) Покажува зголемено прикажување на КАМ
   10) Зголемува крвосадната пропусливост и предизвикува грозница
   11) Предизвикува треска

10. Предвидете ги функционалните последици за имуниот систем кај глувците кај кои им е отстранет генот за една од следниве адхезивни молекули.

    а. ЛАдКАМ-1
    б. Л-селектин
    в. Бета2 интегринската поединица

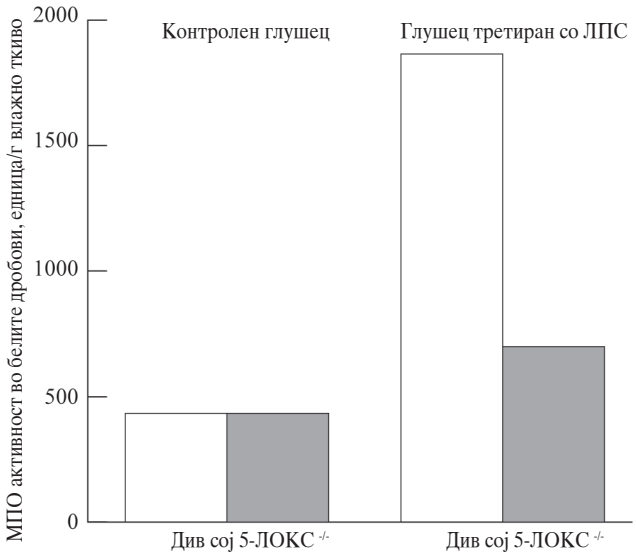
11. Хемотаксата е еден од начините на кои имуните клетки се насочуваат во специфични области. Што од следново правилно се совпаѓаат со хемоатрактантот/хемокинот и видот на клетка?

    а. ЦХЦ хемокините, како што е ИЛ-8, привлекуваат неутрофили.
    б. ЦЦ хемокините, како што е МВП-1алфа, привлекуваат моноцити.
    в. К7 компонентата од комплементот привлекува еозинофили.
    г. К5а компонентата од комплементот привлекува моноцити и неутрофили.

12. Недостатокот на адхезија на белите клетки од тип 1 се карактеризира со мутација на протеинот кој е потребен за неутрофилите да го напуштат крвотокот (екстравазација) и да се справат со инфекциите. Пациентите со ова болест обично не го преживуваат детството, бидејќи не можат да се справат со бактериските инфекции. Кој пристап може да се употреби за да се лекува ова болест?
13. Зошто неутрофилите пристигнуваат на местото на инфекција пред моноцитите, кога и неутрофилите и моноцитите циркулираат во крвотекот?
14. Механизмите за лекување на ткивното оштетување, како што се кининскиот систем и системот за сосирување, го зголемуваат воспалителниот одговор. Објаснете ја соработката на овие системи. Која е користа од ваквите заемни дејства?

АНАЛИЗИРАЈТЕ ГИ ПОДАТОЦИТЕ Колин и неговите колеги (2004, *J. Leukoc. Biol.* 76:961) ја испитувале улогата на 5'-липоксигеназата (5-ЛОКС) во поттикнувањето на откажување на органите, преку внесување на липополисахарид во глушец на кого му е отстранет генот за 5'-липоксигеназата (5-ЛОКС $^{-/-}$). Одговорете на следниве прашања кои се базираат на податоците од сликата долу и од она што се го научиле досега од оваа книга.

а. За кој вид на инфекција испитувачите користеле ЛПС како модел?



Активност на миелопероксидаза (МПО), во ткивото од белите дробови кај див сој на глувци и 5-ЛОКС-/-глувци третирани со липополисахарид (ЛПС).

б. Миелопероксидазата претставува ензим кој се создава од страна на неутрофилите и се користи за анализирање на присуството на неутрофилите во ткивата. Испитувачите ја мереле МПО за да ја одредат големината на регрутирањето на клетките на воспалението во белите дробови. Дали 5'-липоксиназата го зголемува или го намалува воспалението? Објаснете го вашиот одговор.
в. Кој хемотаксичен фактор, најверојатно е засегнат кај 5-ЛОКС $^{-/-}$глувците?
г. Дали податоците од сликата покажуваат дека во овој систем биле активни и други механизми за регрутирање?

Интерактивно учење

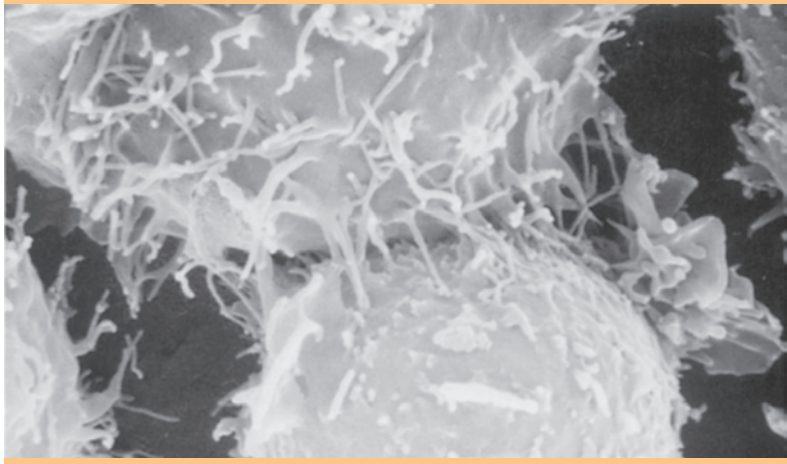
www.whfrenman.com/kuby

Самостоен тест
Преглед на клучни изрази

Анимација
Екскравизација на бели клетки

Поглавје 14

Клеточно посредувани цитотоксични реакции



ЦТЛ напаѓа мала туморска клетка. [Од *J. D. E. Young and Z. A.Cohn,* 1988. Scientific American 258(1):38.]

- Ефекторни реакции
- Општи својства на ефекторните Т-клетки
- Цитотоксични Т-клетки
- Клетки природни убијци
- КПУ Т-клетки
- Клеточно посредувана цитотоксичност зависна од противтело
- Експериментална проценка на клеточно посредуваната цитотоксичност

Клеточно посредуваните и хуморалните гранки од имуниот систем играат различни (иако донекаде преклопувачки) улоги во заштитувањето на домаќинот. Ефекторите од хуморалната гранка се противтелата, високо специфични молекули врз површината од клетките и во вонклеточните простори, кои можат да врзуваат и да неутрализираат противгени. Првичен домен на заштита на противтелата е просторот надвор од клетките. Ако противтелата беа единствените претставници на имунитетот, патогените кои успеале да ги избегнат и да се вселат во внатреклеточната средина ќе му избегаат на имуниот систем. Ова не се случува. Основната улога на клеточно посредуваниот имунитет е да ги открива и да ги отстранува клетките кои ги сокриваат внатреклеточните патогени. Клеточно посредуваниот имунитет, исто така, препознава и отстранува клетки, како што се туморските клетки, кои претрпеле генетски модификации, кои често водат до прикажување на противгени кои не се типични за нормалните клетки.

Клетките специфични за противген, како и клетките кои не се специфични за противген, можат да придонесат во клеточно посредуваниот имун одговор. Противген-специфичните клетки вклучуваат КД8$^+$ цитотоксични Т-лимфоцити (ТцТ клетки или ЦТЛ) и КД4$^+$ Тпо клетки што лачат цитокини, а посредуваат во преосетливост од задоцнет тип (ПЗТ). Објаснување за ПЗТ реакциите и улогата на КД4$^+$ Тпо клетки во нивниот развој е дадено во Поглавје 15. Неспецифичните клетки вклучуваат КПУ и нелимфоидни видови на клетки како што се макрофагите, неутрофилите и еозинофилите. Во последно време се обрнува внимание на претходно непрепознат вид на клетки кој има особини на противген-специфичните Т-клетки и неспецифичните КПУ; овој хибрид е наречен КПУ Т-клетка. Иако останува уште многу да се научи за КПУ Т-клетките, се знае дека тие се вклучени во противбактерискиот и противтуморниот имунитет.

Активностите на специфичните и неспецифичните цитотоксични компоненти од имунитетот зависат од локалните концетрации на разни цитокини. Т-клетките, КПУ, стеблестите клетки и макрофагите се најзначајните извори на цитокини кои организираат и поддржуваат клеточно посредувана цитотоксичност. Активирањето на клетките за да извршуваат убивачки функции бара соработка на различни видови на клетки. Сепак, иако хуморалниот и клеточно посредуваниот имунитет имаат многу различни особини, тие не се целосно независни еден од друг. Клетките како што се макрофагите, КПУ, неутрофилите и еозинофилите можат да користат противтела како рецептори за препознавање на целни клетки за убивање. Исто така, хемотактичните пептиди кои се создадени со активирањето на комплементот во одговор на формирањето на противтело-противген комплекси може да придонесат за собирање и групирање на клеточните видови кои се неопходни за клеточно посредуван одговор.

Во претходните поглавја, беа објаснети различни аспекти на хуморалните и клеточно посредуваните ефекторни реакции. Во ова поглавје се нагласени цитотоксичните ефекторни механизми кои се посредувани од страна на ТцТ-клетки, КПУ и КПУТ клетките, клеточно посредуваната цитотоксичност зависна од противтело (ПЗКЦ) и експерименталните анализи за цитотоксичност.

Ефекторни реакции

Значењето на клеточно посредуваниот имунитет станува очигледно кога овој систем е дефектен. Децата со синдромот

Диџорџио, кои се родени без тимус и според тоа немаат Т-клеточна компонента од клеточно посредуваниот имун систем, во основа можат да се справат со вонклеточните бактериски инфекции, но не можат ефикасно да ги отстранат внатреклеточните патогени. Нивниот недостаток на функционален клеточно посредуван имунитет доведува до повторувачки инфекции со вируси, внатреклеточни бактерии и габи. Тежината на клеточно посредуваниот имун недостаток кај овие деца е таква, што кај нив дури и ослабен вирус присутен во вакцините, способен само за ограничен раст кај здрави лица, може да предизвика инфекции кои се опасни за животот.

Клеточно посредуваните имуни реакции може да се поделат на две главни категории според различните ефекторни популации кои се мобилизираат. Едната група содржи ефекторни клетки кои имаат директна цитотоксична активност. Овие ефекторни клетки ги отстрануваат туѓите клетки и променетите сопствени клетки, вклучувајќи ги вирусно заразените и туморските клетки, преку поттикнување цитотоксична реакција за разградување на целта. Разните цитотоксични ефекторни клетки може да се групираат во две главни категории: едната содржи противген-специфични цитотоксични Т-лимфоцити (ЦТЛ) и неспецифични клетки, како клетките природни убијци (КПУ) и макрофаги. Целните клетки кон кои се насочени овие ефектори вклучуваат алогени клетки, малигни клетки, вирусно заразени клетки и клетки кои биле подложени на стрес предизвикан од топлина или траума. Другата група е суппопулацијата на ефекторни $CD4^+$ Тпо клетки кои посредуваат во реакции на преосетливост од одложен тип (види Поглавје 15). Следниот дел ги разгледува општите карактеристики на ефекторните Т-клетки и како тие се разликуваат од неискусните Т-клетки.

Општи својсва на ефекторните Т-клетки

Трите типа на ефекторните Т-клетки- $CD4^+$ Тпо1 и Тпо2 клетките и $CD8^+$ ЦТЛ покажуваат слични својства кои ги одделуваат од неискусните помагачки и цитотоксични Т-клетки (табела 14-1). Особено, ефекторните клетки се карактеризираат по нивните помали барања за активирање, зголемено прикажување на клеточните атхезивни молекули и создавање на мембранско-поврзани и растворливи ефекторни молекули.

ТАБЕЛА 14-1 Споредба на неискусни и ефекторни Т-клетки

Карактеристика	Неискусни Т-клетки	Ефекторни Т-клетки
Костимулаторен сигнал (интеракција КД28-Б7)	Неопходен за активирање	Не е потребен за активирање
Изоформа на КД45	КД45РА	КД45РО
Клеточни атхезивни молекули (КД2 и ЛФА-1)	Мал број	Висок број
Модели на патување	ВЕВ во вторичните лимфоидни ткива	Терциерни лимфоидни ткива, воспалителни региони

*ВЕВ = високи ендотелни венули, области во крвниот сад кои се користат од страна на лимфоцитите за екстравизација.

Барањата за активирање на Т-клетките се разликуваат

Т-клетките во различните фази од диференцирањето може да реагираат со различна ефикасност на сигналите кои се пренесени од Т-клеточниот рецептор и може дополнително да бараат различни нивоа на втор костимулаторен сигнал. Како што е објаснето во Поглавје 10, активирањето на неискусните Т-клетки и нивното последователно размножување и диференцирање во ефекторни Т-клетки бара првичен сигнал, пренесен кога комплексот ТКР и корецепторот КД4 или КД8 стапуваат во меѓудејство со комплексот туѓ пептид-ГТК молекула и костимулаторен сигнал, создаден со интеракција помеѓу одредени мембрански молекули на Т-клетката и противген-прикажувачката клетка. Наспроти тоа, ефекторните клетки кои претходно се сретнале со противген и памтечките клетки (за разлика од неискусните Т-клетки) можат да реагираат на ТКР-посредувани сигнали со малку костимулација или без воопшто костимулација.

Механизмите кои лежат во основата на различните барања за активирање на неискусните и активираните Т-клетки се област која постојано се истражува, но одредени одговори веќе се јасни. Едно сознание е дека многу популации на неискусни и ефекторни Т-клетки прикажуваат различни изоформи на КД45, наречени КД45РА и КД45РО, кои се создаваат со алтернативно прекројување на РНК преписот на КД45 генот. И двете мембрански молекули посредуваат во пренесување на ТКР сигналот преку катализирање на дефосфорилација на тирозинскиот остаток во протеинските тирозински кинази Лцк и Фин, активирајќи ги овие кинази и поттикнувајќи ги помнатамошните чекори во активирањето на Т-клетките (види слики 10-10 и 10-11). Ефекторните Т-клетки ја прикажуваат изоформата КД45РО, која подобро се поврзува со ТКР комплексот и неговите корецептори, КД4 и КД8, од изоформата КД45РА која се прикажува од страна на неискусните Т-клетки. Памтечките Т-клетки ги имаат и двете изоформи, но доминира КД45РО. Како резултат на тоа, ефекторните и памтечките Т-клетки се почувствителни за активирање од страна на комплексот пептид-ГТК, а посредувано преку ТКР. Тие, исто така, имаат помалку строги барања за костимулаторни сигнали и затоа можат да реагираат на комплекси пептид-ГТК кои се наоѓаат врз целните клетки или противген-прикажувачки клетки на кои им недостасуваат костимулаторни Б7 молекули.

Клеточните атхезивни молекули ги олеснуваат ТКР-посредуваните меѓудејства

КД2 и интегринот ЛФА-1 се клеточни атхезивни молекули на површината од Т-клетките кои се врзуваат со ЛФА-3 и ИКАМ (внатреклеточни атхезивни молекули) соодветно на противген-прикажувачките клетки и на разни целни клетки (види слика 9-13). Нивоата на КД2 и ЛФА-1 се два до четири пати повисоки кај ефекторните Т-клетки отколку кај неискусните Т-клетки, овозможувајќи им на ефекторните Т-клетки поефективно да се врзуваат за противген-прикажувачките клетки и за разни целни клетки кои прикажуваат ниски нивоа на ИКАМ или ЛФА-3.

Како што беше покажано во Поглавје 9, почетното меѓудејство на ефекторната Т-клетка со противген-прикажувачката клетка или целната клетка е релативно слаба, овозможувајќи му на ТКР да ја скенира мембраната за специфични пептиди претставени од страна на сопствените ГТК молекули. Ако

ТАБЕЛА 14-2 Ефекторни молекули создадени до ефекторните Т-клетки

Вид на клетка	Растворливи ефектори	Ефектори поврзани за мембраната
ЦТЛ	Цитотоксини (перфорини и гранзими), ИФН-гама, ТНФ-бета	ФАС лиганд (ФАСЛ)
$T_{по}1$	ИЛ-2, ИЛ-3, ТНФ-бета, ИФН-гама, ГМ-КСФ (високо)	Туморно некрозен фактор бета (ТНФ-бета)
$T_{по}2$	ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-13, ГМ-КСФ (ниско)	КД40 лиганд

ефекторната клетка не препознае ниеден комплекс пептид-ГТК таа ќе се оддели од ППК или целната клетка. Сепак, препознавањето на комплексот пептид-ГТК од страна на ТКР, создава сигнал кој го зголемува афинитетот на ЛФА-1 за ИКАМ на ППК или мембраната на целната клетка, продолжувајќи го меѓудејство помеѓу клетките. На пример, ефекторните клетки Тпо1 остануваат врзани за макрофагите кои прикажуваат комплекси пептид-ГТК од класа 2, ефекторните клетки Тпо2 остануваат врзани за Б-клетките кои ги прикажуваат комплексите пептид-ГТК од класа 2, а ефекторните клетки ЦТЛ цврсто се врзуваат за вирусно заразените целни клетки кои прикажуваат комплекси пептид-ГТК од класа 1.

Ефекторните Т-клетки прикажуваат мноштво ефекторни молекули

Ефекторните Т-клетки прикажуваат одредени ефекторни молекули, врзани за мембраната и растворливи, кои не се прикажуваат од неискусните Т-клетки (табела 14-2). Мембранските молекули припаѓаат на фамилијата на мембрански протеини на туморно некротизирачкиот фактор (ТНФ) и ги вклучуваат лигандот Фас (ФАСЛ) на $КД8^+$ ЦТЛ, ТНФ-бета на Тпо1 клетките и лигандот КД40 (КД40Л или КД154) на Тпо2 клетките. Секоја од популациите на ефекторни Т-клетки исто така лачат различни групи на растворливи ефекторни молекули. ЦТЛ лачат цитотоксини (перфорини и гранзими) како и два цитокини, ИФН-гама и ТНФ-бета. Како што е објаснето во Поглавје 12, подгрупите Тпо1 и Тпо2 лачат големи непреклопувачки групи на цитокини.

Секоја од овие мембрански и излачени молекули игра значајна улога во различните Т-клеточни ефекторни функции. На пример, лигандот Фас, перфорините и гранзимите посредуваат во уништувањето на целните клетки од страна на ЦТЛ; мембранскиот ТНФ-бета и растворливиот ИФН-гама и ГМ-КСФ поттикнуваат активирање на макрофагите од страна на Тпо1 клетките, а мембранскиот КД40Л и растворливите ИЛ4, ИЛ-5 и ИЛ-6 играат улога при активирањето на Б-клетките од страна на Тпо2 клетките.

Цитотоксични Т-клетки

Цитотоксичните Т лимфоцити, или ЦТЛ, се создаваат со имуно активирање на Т цитотоксичните (Тцт) клетки. Овие ефекторни клетки имаат разградувачка способност и се неопходни за препознавањето и отстранувањето на изменетите сопствени клетки (на пример, вирусно заразени клетки и туморски клетки) и генетски различни клетки при реакциите на отфрлање калем. Во основа, ЦТЛ се $КД8^+$ клетки и според тоа спрегнати со ГТК од класа 1. Бидејќи скоро сите јадрени клетки во телото прикажуваат ГТК молекули од класа 1, ЦТЛ можат го да препознаат и отстранат скоро секој вид на клетка во телото која прикажува специфичен противген препознат од тој ЦТЛ во конеткст на ГТК молекулот од класа 1.

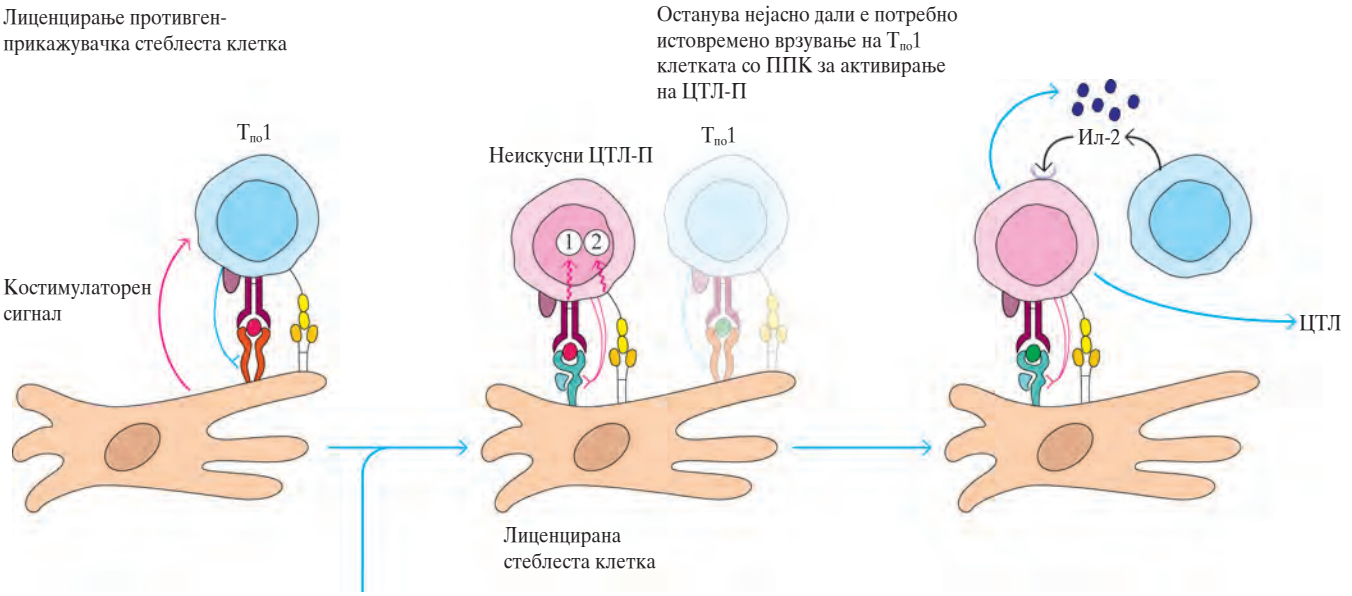
Имуниот одговор псоредуван од ЦТЛ може да се подели на две фази, кои ги прикажуваат различните апсекти на одговорот. Во првата фаза, неискусните ТцТ-клетки се активираат и диференцираат во функционални ефекторни ЦТЛ. Во втората фаза, ефекторните ЦТЛ препознаваат комплекси противген-ГТК од класа 1 во специфичните клетки, што води до уништување на целните клетки.

Ефекторните ЦТЛ се создаваат од претходници на ЦТЛ

Неискусните ТцТ-клетки не се способни за убивање на целни клетки и затоа се наречени претходници на ЦТЛ (ЦТЛ-П) за да се означи нивната функционално незрела состојба. Само по активирањето на ЦТЛ-П клетката ќе се диференцира во функционален ЦТЛ со цитотоксична активност. Прагот за активирање на ЦТЛ од страна на ЦТЛ-П е висок во споредба со прагот на другите ефекторни Т-клетки и бара најмалку три последователни сигнали (слика 14-1):

- Противген-специфичен сигнал кој се пренесува од комплексот ТКР по препознавање на комплексот пептид-ГТК од класа 1 во „лиценцирана“ ППК (*лиценцирањето е подоцна објаснето*)
- Костимуалторен сигнал кој е пренесен од меѓудејството КД28-Б7 во ЦТЛ-П и лиценцираната ППК
- Сигнал поттикнат од меѓудејството на ИЛ-2 со рецепторот за ИЛ-2 со висок афинитет, резултирајќи во размножување и диференцирање ЦТЛ-П активиран од противген во ефекторен ЦТЛ.

Јасно е дека активирањето на ЦТЛ-П е резултат од препознавањето на противген кој е преставен од ППК во контекст на ГТК молекул од класа 1, но не е познато кои други фактори придонесуваат за ова. Убедлив доказ навестува дека ППК мора прво да стекне способност за активирање на ЦТЛ-П преку претходни интеракции во процес наречен *лиценцирање* (слика 14-1). Лиценцирањето може да настане со меѓудејство помеѓу ППК (најверојатно стеблеста клетка) и Тпо1 клетка преку преработен и претставен противген во контекст на ГТК молекул од класа 2. Лиценцирањето исто така бара костимулаторна интеракција помеѓу КД40 на стеблестаста клетка и КД40Л на Тпо1 клетката. Ова е покажано преку фактот дека моноклонски противтел против-КД40 го имаат истиот ефект на Тпо1 клетка како и КД40Л во експреиментални ситуации каде било мерено активирањето на ЦТЛ-П од страна на стеблестите клетки. Лиценцирање исто така може да настане и во одредени случаи преку меѓудејство на Толовидни рецептори (ТВР) на ППК со продукт од микроорганизмите. Прецизната улога на Тпо1 клетките во создавањето на ЦТЛ од неискусни ЦТЛ-П не е целосно дефинирана, но не е веројатно дека Тпо1 клетката и ЦТЛ-П стапуваат во директно меѓудејство. Сепак, ИЛ-2 и костимулацијата се значајни во трансформирањето на неискусните ЦТЛ-П во ефекторни клетки, а најновите податоци покажуваат дека Тпо1 клетки се неопходни за обезбедување на овие барања.



СЛИКА 14-1 Создавање на ефекторни ЦТЛ. Активирањето или лиценцирањето на стеблеста клетка за да се оспособи да активира ЦТЛ-П може да бара претходно или истовремено меѓудејство со КД4+ Тпо1 клетка преку противген претставен од класа 2 и костимулација преку КД40-КД40Л. При меѓудејството со комплексот противген-ГТК од класа 1 и костимулаторните молекули во соодветно лиценцираната ППК, ЦТл-П започнува да прикажува рецептори за ИЛ-2 (ИЛ-2Р) и помали количества на ИЛ-2. Тогаш ЦТЛ-П станува ЦТЛ со способност да убива целни клетки.

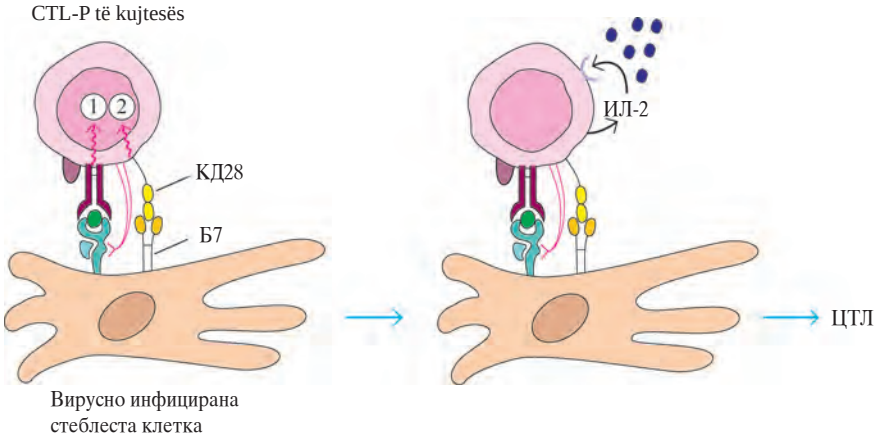
Откако се лиценцираат, стеблестите клетки стапуваат во меѓудејства со ЦТЛ-П преку противген претставен од класа 1 со што продолжува активирањето на ЦТЛ. Сè уште не е познато дали меѓудејствата помеѓу стеблестата клетка и двете различни Т-клетки мора да бидат истовремени, при што секоја ќе стапува во меѓудејство истовремено со претставените противгени на истата стеблеста клетка и дали стеблестата клетка лиценцирана по интеракцијата со Тпо1 клетка го задржува нејзиниот капацитет да активира ЦТЛ-П одреден период по одделувањето на Тпо1 клетката. Ако второво е точно, тогаш специфичните Тпо1 клетки може да продолжат да лиценцираат други стеблести клетки, засилувајќи го одговорот на активирање. Слика 14-1 го покажува меѓудејството на Тпо1 клетките со стеблеста клетка која е лиценцирана и која може да активира ЦТЛ-П за да станат ЦТЛ кога ќе стапат во меѓудејство со противген од класа 1 на стеблестата клетка.

Строгото барање Тпо1 и ТцТ-клетки да препознаат противген пред ТцТ-клетка да биде активирана за да стане ЦТЛ, овозможува заштита против несоодветна самореактивност од страна на цитотоксичните клетки. Сетете се дека феноменот на вкрстено прикажување на противген (види Поглавје 8), најверојатно возможно само кај стеблестите клетки, овозможува прикажување на надворешни противгени од ГТК молекулите од класа 1 и 2. Ова може да овозможи истовремено препознавање, од страна на клетките КД8+ и КД4+, на истиот противген преставен во контекст на класа 1 и класа 2 во стеблестата клетка. Понатамошна значајна забелешка е дека стеблестите клетки преземаат, а може да бидат и заразени од страна на многу вируси, вклучувајќи вируси за кои може да не прикажуваат специфични рецептори. Оваа карактеристика стеблестата клетка ја прави потенцијален резервоар на вирусни противени кон кои може да бидат насочени ЦТЛ и клетките Тпо1 и овозможува создавање на ЦТЛ против вируси со строга ткивна специфичност за инфекции заради што инаку може да не сретнат ЦТЛ се додека инефкцијата не земе замав.

Постојат јасно забележливи разлики кај КД8+ Т-клетките пред и по нивното претворање од ЦТЛ-П во ЦТЛ. Неактивираните ЦТЛ-П не прикажуваат ИЛ-2 или ИЛ-2 рецептори, не се размножуваат и немаат цитотоксична активност. Активирањето ги поттикнува ЦТЛ-П да започнат со прикажување на рецепторот за ИЛ-2 и во помала мерка ИЛ-2, главниот цитокин кој е потребен за размножување и диференцирање на активираните ЦТЛ-П во ефекторни ЦТЛ. Памтечките ЦТЛ-П, кои имаат помали барања за активирање од неискусните клетки (слика 14-2), бараат помалку ИЛ-2 од неискусните ЦТЛ-П за да бидат активирани.

Сепак, во основа повеќето активирани ЦТЛ-П барааат дополнителна количина на ИЛ-2 создаден од страна на Тпо1 клетките за да се размножуваат и диференцираат во ефекторни ЦТЛ. Кај глушецот со отстранет ген за ИЛ-2, е покажано дека отсуството на ИЛ-2 ја поништува ЦТЛ-посредуваната цитотоксичност. Фактот што рецепторот за ИЛ-2 не се прикажува сè до моментот по активирањето на ЦТЛ-П од страна на противген плус ГТК молекул од класа 1, е во полза на клоналната експанзија и стекнувањето на цитотоксичност само од ЦТЛ-П кои се специфични за противген.

По отстранување на противгенот, опаѓа нивото на ИЛ-2, што ги поттикнува Тпо1 клетките и ЦТЛ да претрпат програмирана клеточна смрт со апоптоза. На овој начин, имуниот одговор нагло се прекинува, намалувајќи ја веројатноста за неспецифично оштетување на ткивото од воспалителниот одговор.

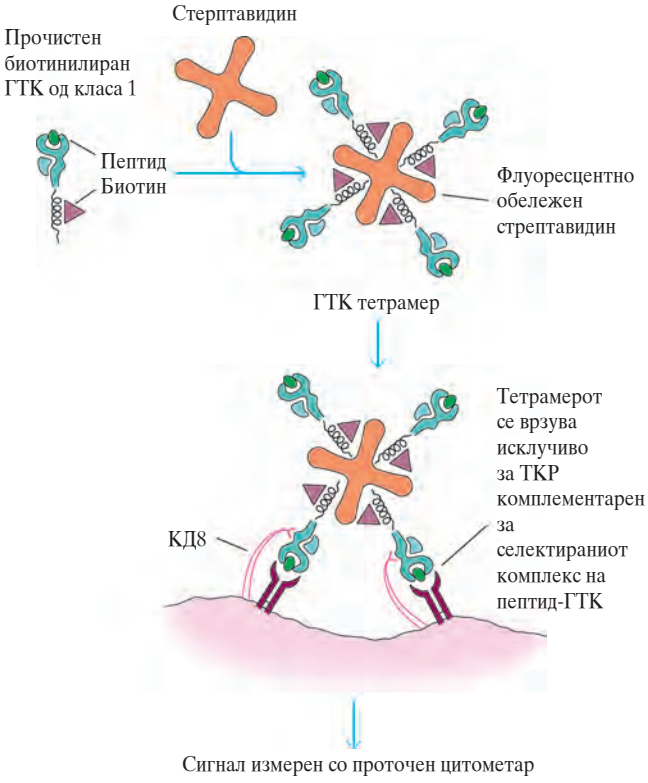


СЛИКА 14-2 **Размножувањето на памтечките ЦТЛ-П може да не бара помош од Тпо** клетки. Памтечките ЦТЛ-П активирани од противген лачат доволна количина на ИЛ-2 за да го стимулираат сопственото размножување и диференцирање во ефекторни ЦТЛ. Исто така, за нивно активирање не е неопходен КД28-Б7 костимулаторниот сигнал.

КД8⁺ ЦТЛ може да се следат со ГТК-тетрамерната технологија

ГТК тетрамерите се лабораториски создадени комплекси од четири ГТК молекули од класа 1 кои се врзани за специфичен пептид и поврзани за флуоресцентен молекул (слика 14-3). Даден комплекс ГТК-тетрамер-пептид се врзува само за КД8⁺ Т-клетки кои имаат ТКР специфични за одредениот комплекс пептид-ГТК од кој е составен тетрамерот. Според тоа, кога одреден тетрамер ќе биде додаден на клеточна популација која содржи Т-клетки (на пример, добиени од слезината или лимфните јазли), клетките кои имаат ТКР специфични за тетрамерот стануваат флуоресцентно обележени. Следно, со употреба на проточна цитометрија, можно е да се одреди бројот на клетки во популацијата кои имаат ТКР специфичен за одредениот противген со броење на флуоресцентно означените клетки во испитуваната популација. Овој мошне чувствителен метод може да ги открие противген-специфичните Т-клетки дури и кога нивната фреквенција во популацијата на КД8⁺ Т-клетки е 0,1%.

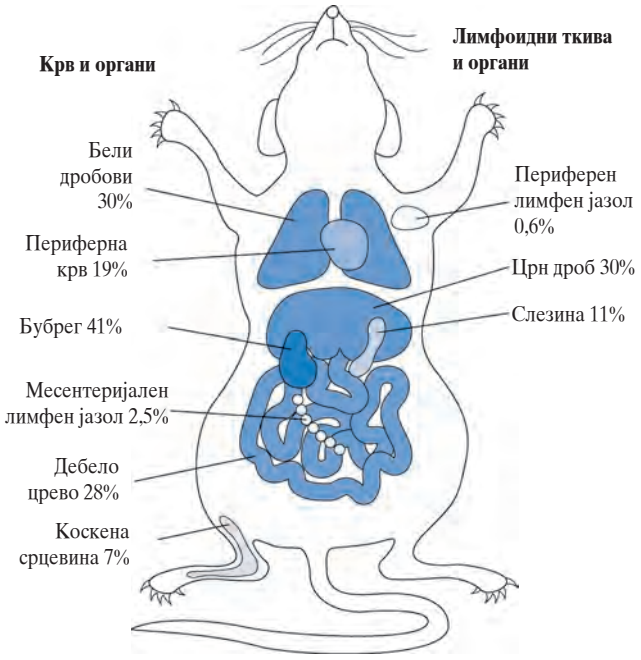
Понатаму, можно е директно да се измери порастот на противген-специфичните КД8⁺ Т-клетки во одговор на изложување патогени како што се вирусите или противгени поврзани со туморските клетки. Во еден сличен експеримент, истражувачи заразиле глувци со вирус на везикуларен стоматитис (ВСВ) и систематски ја испитувале распределбата на КД8⁺ Т-клетки специфични за комплексот ВСВ-пептид-ГТК низ целото тело. Оваа студија покажа дека за време акутната инфекција со ВСВ, распределбата на КД8⁺ клетките специфични за ВСВ е далеку од униформна (слика 14-4); Големи популации на противген-специфични клетки не се ограничени на лимфоидниот систем, туку исто така може да се сретнат во црниот дроб и бубрезите.



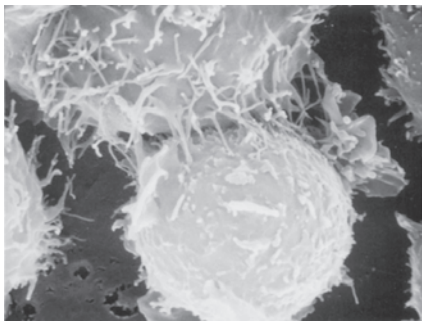
СЛИКА 14-3 **ГТК тетрамери**. Хомогена популација на ГТК молекули од класа 1 поврзани со пептид (на пример, ХЛА-А1 врзан за пептид кој потекнува од ХИВ) е конјугирана за биотин и измешана со флуоресцентно означен стрептавидин. Четири биотинилирани комплекси ГТК-пептид се врзуваат за поврзувачките области на стрептавидинот со висок афинитет за да формираат тетрамер. Додавањето на тетрамерот на популацијата на Т-клетки доведува до исклучиво врзување на флуоресцентниот тетрамер за оние КД8⁺ Т-клетки со ТКР кој е комплементарен за пептид-ГТК комплексите од тетрамери. Ова доведува до обележување на подпопулациите на Т-клетки кои се специфични за целниот противген, правејќи ги лесно забележливи со проточна цитометрија. [*Прилагодено ово делот од P. Klenerman, V. Cerundolo, and P. R. Dunbar, 2002*, Nature Reviews, Immunology **2**:264.]

ЦТЛ убиваат клетки на два начини

Ефекторната фаза на одговорот од ЦТЛ вклучува детално оркестрирана серија на процеси кои започнуваат со врзување на напаѓачката клетка за целната клетка (слика 14-5). Долготрајните клеточни култури на ЦТЛ клонови биле користени за да се утврдат голем број од настаните вклучени во овој процес кои се случуваат на мембраните. Како што е опишано подоцна, студии со соеви на глувци кои имаат мутации што влијаат врз способноста на ЦТЛ да убиваат доведоа до откривање на одговорните молекули.



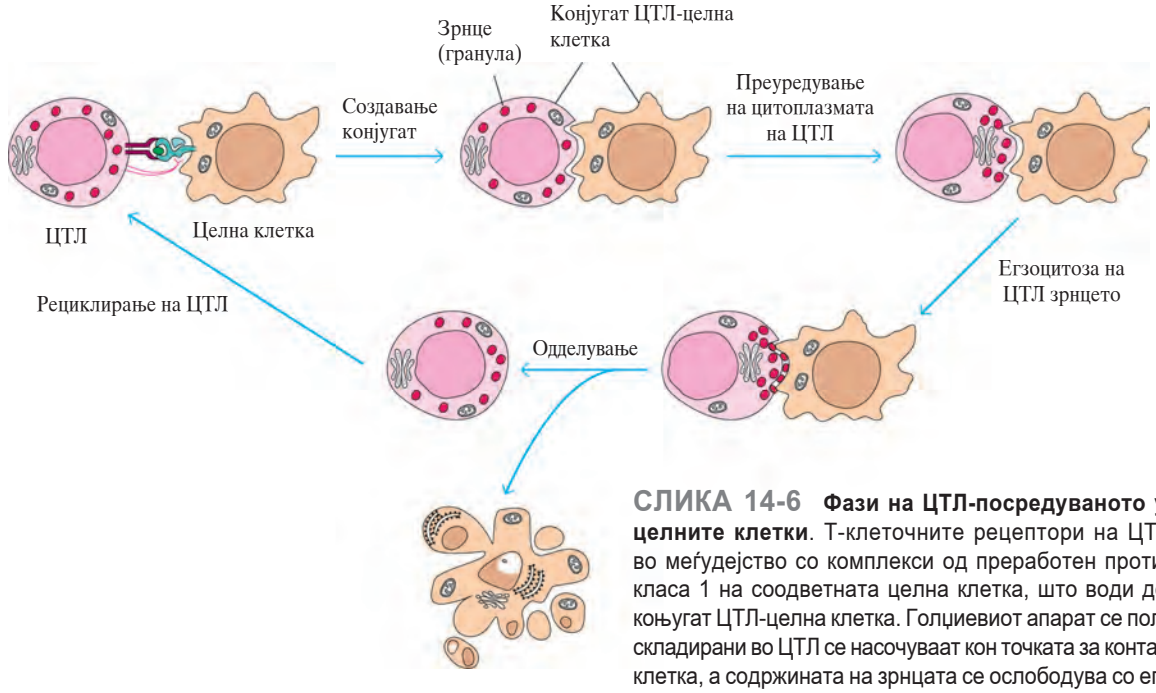
СЛИКА 14-4 Ин виво локализирање на противген-специфични КД8⁺ Т-клеточни популации. Глувци се заразени со вирус на везикуларен стоматитис (ВСВ) и во тек на акутната фаза од инфекцијата, клеточните популации беа изолирани од ткивата кои се прикажани на сликата и инкубирани со тетрамери кои содржат комплекси ВСВ-пептид-ГТК. Анализата со проточна цитометрија овозможи одредување на процентот на КД8⁺ Т-клетки специфични за ВСВ во секоја испитувана популација. *[Адаптирано од P. Klenerman, V. Cerundolo, and P. R.Dunbar, 2002*, Nature Reviews, Immunology **2:**269.]



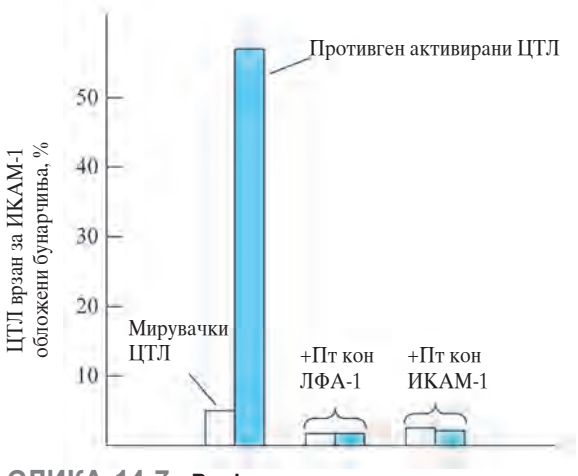
СЛИКА 14-5 Слика од напад на туморска клетка од страна на ЦТЛ добиена со електронска микроскопија. ЦТЛ (горе) остварува контакт со помалата туморска клетка. [Од *J. D. E. Young и Z. A. Cohn, 1988*, Scientific American **258** *(1):38.]*

Првичните настани во ЦТЛ-посредуваната смрт се создавање на конјугат, напад на мембраната, одделување на ЦТЛ и уништување на целната клетка (слика 14-6). Кога противген-специфични ЦТЛ се инкубирани со соодветни целни клетки, двата вида на клетки стапуваат во меѓудејство и создаваат конјугат. Неколку минути по создавањето на конјугатот ЦТЛ-целна клетка, следи чекор зависен од Ca^{2+} кој бара енергија, во кој ЦТЛ ги програмира целните клетки за смрт. Потоа ЦТЛ се одделува од целната клетка и продолжува со врзување за друга целна клетка. Во променлив временски период (до неколку часа) по одделувањето на ЦТЛ, целната клетка умира со апоптоза.

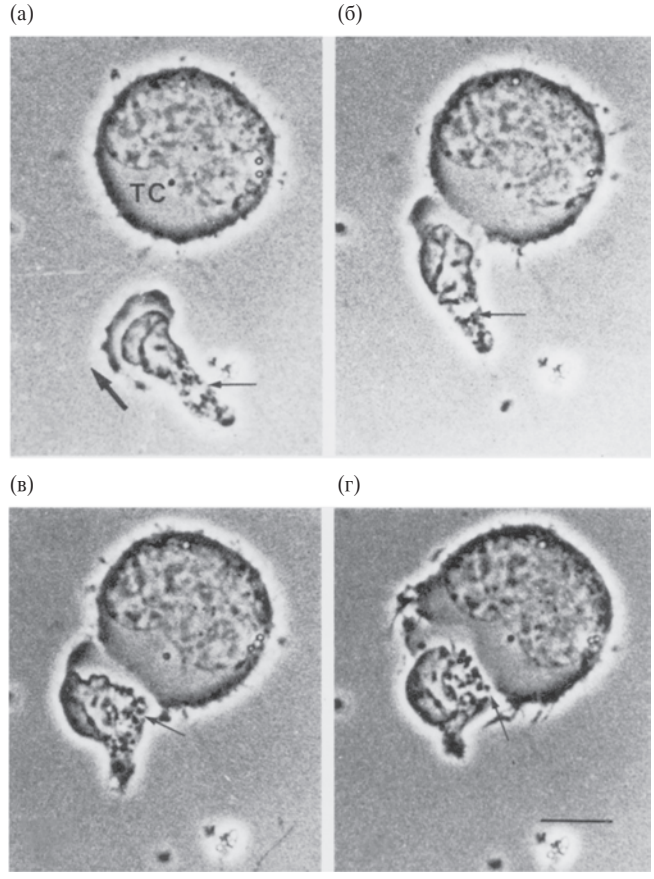
Овој процес започнува кога ТКР-КД3 мембранскиот комплекс на ЦТЛ препознава противген поврзан со ГТК молекул од класа 1 на целната клетка. По ова противген-специфично препознавање, интегринскиот рецептор ЛФА-1 од мембраната на ЦТЛ се врзува за ИКАМ на мембраната од целната клетка,



СЛИКА 14-6 Фази на ЦТЛ-посредуваното убивање на целните клетки. Т-клеточните рецептори на ЦТЛ стапуваат во меѓудејство со комплекси од преработен противген-ГТК од класа 1 на соодветната целна клетка, што води до создавање коњугат ЦТЛ-целна клетка. Голџиевиот апарат се полни и зрнцата складирани во ЦТЛ се насочуваат кон точката за контакт со целната клетка, а содржината на зрнцата се ослободува со егзоцитоза. По одделувањето на конјугатот, ЦТЛ се рециклира и целната клетка умира со апоптоза. *[Прилагодено од P. A. Henkart, 1985, Annual Review of Immunology* **3**:31.]



СЛИКА 14-7 Влијание на активирањето на противгенот врз способноста на ЦТЛ да се врзе за внатреклеточниот атхезивен молекул ИКАМ-1. Мирувачки ЦТЛ од глувци прво беа инкубирани со против-КД3 противтела. Вкрстеното поврзување на КД3 молекули за мембраната на ЦТЛ со против-КД3 противтело, го има истото активирачко влијание како и меѓудејството со комплексот противген-ГТК од класа 1 на целната клетка. Прилепувањето е проценувано со врзување на радио обележени ЦТЛ за микробунарчиња обложени со ИКАМ-1. Активирањето со противгенот го зголеми врзувањето на ЦТЛ за ИКАМ-1 повеќе од 10 пати. Присуството на вишок моноклонско противтело кон ЛФА-1 или ИКАМ-1 во микробунарчињата го намалува врзувањето, што покажува дека двете молекули се неопходни за прилепување. *[Базирано на M. L. Dustin и T. A. Springer, 1989, Nature **341**:619.]*



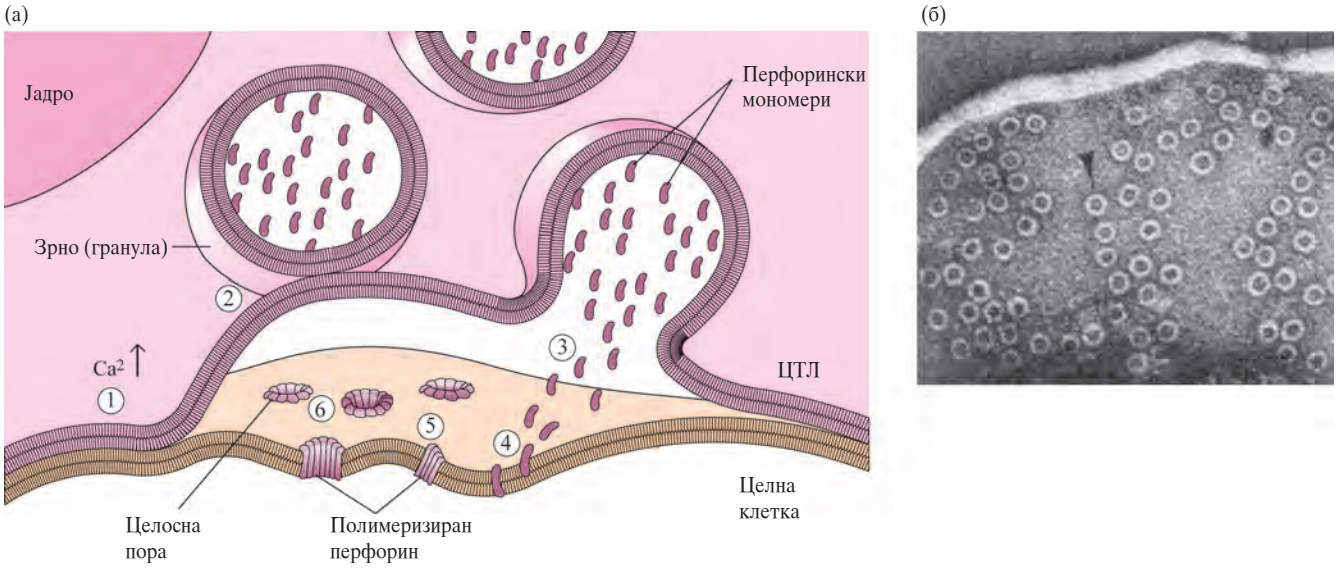
СЛИКА 14-8 Создавање конјугат помеѓу ЦТЛ и целна клетка и пренасочување на ЦТЛ цитоплазматските зрнца, снимено со фотографија со долготрајно изложување. (а) Подвижни ЦТЛ од глушец (тенката стрелка) ѝ пристапуваат на соодветна целна клетка (ТЦ). Дебелата стрелка ја покажува насоката на движење. (б) Појава на почетниот контакт на ЦТЛ со целната клетка. (в) Две минути по почетниот контакт, подрачјето на контакт во мембраната е проширен и во тек е преуредувањето на темните цитоплазматски зрнца во ЦТЛ (тенката стрелка). (г) Понатамошно движење на темните зрнца кон целната клетка е видливо 10 минути по почетниот контакт. [*Од J. Yanelli et al., 1986*, Journal of Immunology, ***136***:*377*.]

резултирајќи со создавање конјугат. Активирањето на ЦТЛ кое е посредувано од противген го менува ЛФА-1 од состојба на низок афинитет во состојба на висок афинитет (слика 14-7). Поради овој феномен, ЦТЛ се врзуваат и формираат конјугати само со соодветни целни клетки кои прикажуваат противгени пептиди поврзани со ГТК молекули од класа 1. ЛФА-1 опстојува во состојба на висок афинитет само од 5 до 10 минути по активирањето посредувано од противген, а потоа се враќа во состојба на низок афинитет. Ова намалување на афинитетот на ЛФА-1 може да го олесни одделувањето на ЦТЛ од целната клетка.

Електронската микроскопија на клонови на ЦТЛ открива присуство на електрон-густи внатреклеточни зрнца. Овие зрнца се изолирани со фракционирање и е покажано дека од своја страна посредуваат во оштетувањето на целната клетка. Анализа на нивната содржина откри мономери со тежина од 64-кДа од протеин кој создава пори наречен **перфорин** и неколку серин-протеази наречени **гранзими** (или **фрагментини**). ЦТЛ-П немаат цитоплазматски зрнца и перфорин; при активирање цитоплазматските зрнца се појавуваат и содржат ново создадени перфорински мономери.

Веднаш по создавањето на конјугатот ЦТЛ-целна клетка, Голџиевиот апарат се полни и зрнцата складирани во цитоплазмата на ЦТЛ се насочуваат кон точката на контакт со целната клетка (слика 14-8). Доказите укажуваат дека перфорински мономери и гранзимски протеази се ослободуваат од зрнцата со егзоцитоза и одат во просторот на спојот помеѓу двете клетки. Како што перфоринските мономери стапуваат во контакт со мембраната од целната клетка, тие претрпуваат структурна промена, изложувајќи го амфипатичниот домен кој навлегува во мембраната на целната клетка. Потоа мономерите полимеризираат (во присуство на Ca^{2+}) за да формираат цилиндрични пори со внатрешен дијаметар од 5 до 20 нм (слика 14-9а). Голем број перфорински пори се видливи врз мембраната од целната клетка во подрачјето на создавање на конјугатот (слика 14-9б). Интересно, перфоринот покажува извесна хомологија со секвенцата на терминалната компонента К9 од комплементниот систем, а мембранските пори кои се создадени од страна на перфоринот се слични со порите кои се сретнуваат кај разградувањето посредувано од комплемент. Значењето на перфоринот за ЦТЛ-посредуваното убивање е прикажано кај глувците на кои им е отстранет генот за перфорин, а кои не можат да го елиминираат вирусот на лимфоцитен хориоменингитис (ЛЦМВ), иако поттикнуваат создавање на значителен $КД8^+$ имун одговор против вирусот.

Создавањето на порите во клеточната мембрана на целта е еден начин на кој перфоринот овозможува влез за гранзимите;



СЛИКА 14-9 ЦТЛ-посредуваното создавање на пори во мембраната на целната клетка. (а) Во овој модел, порастот на внатреклеточниот Ца2+ поттикнат од меѓудејството ЦТЛ-целна клетка (1) овозможува егзоцитоза, при што зрнцата се соединуваат со клеточната мембрана на ЦТЛ (2) и ослободуваат мономерен перфорин во тесниот простор помеѓу двете клетки (3). Ослободените перфорински мономери претрпуваат структурна промена поттикната од Ca^{2+} која им овозможува да навлезат во мембраната на целната клетка (4). Во присуство на Ca^{2+}, мономерите полимеризираат во мембраната (5), создавајќи цилиндрични пори (6). Електронската микрографија на перфоринските пори на површината од целната клетка на еритроцит од зајакот. [*Делот адаптиран од D. E. Young dhe X. A. Cohn, 1988,* Scientific American ***258*** (1): 38; *делот б од E. R. Podack и G. Dennert, 1983*, Nature ***301***:442]

друг начин е патеката потпомогната од перфоринот. Голем број целни клетки имаат молекул познат како рецептор за маноза 6-фосфат врз нивната површина кој исто така се врзува за гранзимот Б. Комплексите гранзим Б/маноза 6-фосфатен рецептор се интернализираат и се појавуваат во внатрешноста на меурчињата. Перфорниот кој е интернализиран во исто време, создава пори кои го ослободуваат гранзимот Б од меурчето во цитоплазмата од целната клетка.

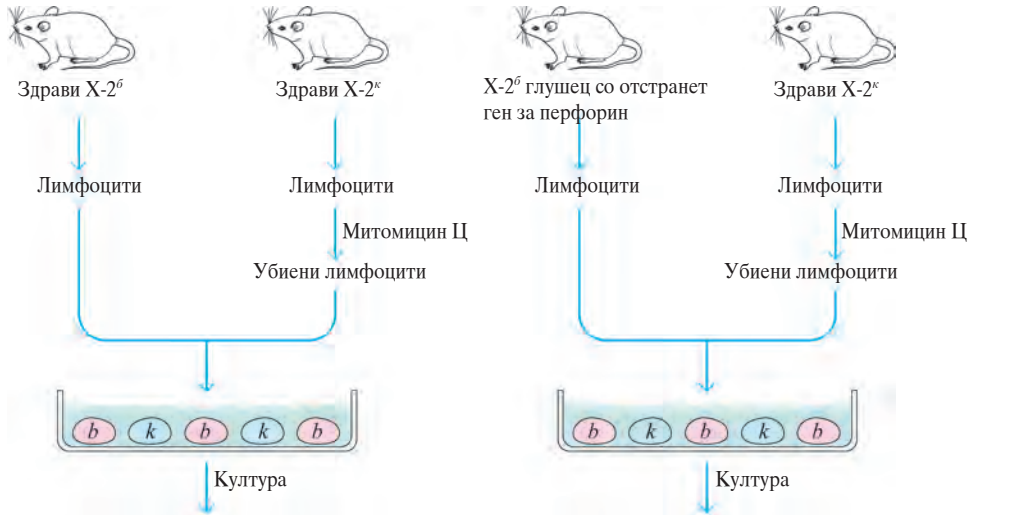
Штом навлезе во цитоплазмата на целната клетка, гранзимот Б започнува серија реакции кои резултираат со распарчување на ДНК од целната клетка во олигомери од околу 200 бп, овој вид на фрагментација на ДНК е типичен за апоптозата. Гранзимите, кои се протези, не учествуваат директно во фрагментацијата на ДНК. Поверојатно, тие активираат апоптотична патека во целната клетка. Овој апоптотичен процес не бара синтеза на мРНК или протеини ни во ЦТЛ ни во целната клетка. Во рок од 5 минути по контактот со ЦТЛ, целните клетки започнуваат да покажуваат фрагментација на ДНК. Интересно е што е покажано дека ДНК од вирусот во инфицираната целна клетка при овој процес исто така се фрагментира. Ова покажува дека убивањето посредувано од ЦТЛ не само што ги убива вирусно заразените клетки, туку исто така ја уништува вирусната ДНК во тие клетки. Се мисли дека брзиот почеток на фрагментација на ДНК по контактот со ЦТЛ може да го спречи последователното размножување и склопување на вирусот во периодот пред целните клетките да бидат уништени.

Покажано е дека одредени видови на моќни ЦТЛ имаат недостаток на перфорин и гранзими. При овие случаи, цитотоксичноста е посредувана од Фас. Како што објаснивме во Поглавје 10, овој трансмембрански протеин, кој е член на ТНФ фамилијата на рецептори, може да достави смртоносен сигнал кога вкрстено ќе се поврзе со природниот лиганд, член од фамилијата на туморно некрозниот фактор наречен лиганд Фас (види слика 10-19). Лигандот Фас (ФасЛ) се среќава врз мембраната од ЦТЛ, а меѓудејствата на ФасЛ со Фас во целната клетка поттикнува апоптоза.

Клучните детали за улогата на перфоринот и системот Фас-ФасЛ во цитолизата посредувана од ЦТЛ беа обезбедени од експериментите со мутантни глувци. Во овие експерименти биле користени два типа на мутантни глувци: претходно споменатите глувци со отстранет ген за перфорин и сој на глушец познат како *лпр* (14-10). Глувците кои се хомозиготи за мутацијата *лпр* прикажуваат малку или воопшто не прикажуваат Фас и според тоа, клетките од овие глувци не можат да бидат уништени со меѓудејство со Фас лигандот. Ако лимфоцити од нормалните Х-$2^б$ глувци се инкубирани со мртви клетки од глувците Х-$2^к$, ќе се создадат против- Х-$2^к$ ЦТЛ. Овие Х-$2^б$ ЦТЛ ќе ги убијат целните клетки од здрави Х-$2^к$ глувци или од Х-$2^к$ животни кои се хомозиготи за мутација во *лпр*. Инкубација на Х-$2^б$ клетки од глувци со отстранет ген за перфорин со убиени клетки од Х-$2^к$ глувци резултира со создавање ЦТЛ кои ги убиваат целните клетки од нормалниот вид, но не успееваат да поттикнат разградување на целните клетки од Х-$2^к$ глувците кои се хомозиготи за мутација во *лпр*.

Резултатите од овие експерименти, заедно со други студии, овозможиле да се стигне до следново толкување. ЦТЛ кои настанале кај здрави глувци можат да убијат целни клетки со перфорин-посредуван механизам, со механизам кој вклучува употреба на Фас од целната клетка со Фас-лигандот кој е прикажан на ЦТЛ мембраната, или можеби во одредени случаи, со комбинирање на двата механизми. Таквите ЦТЛ можат да ги убијат целните клетки кои немаат мембрански Фас само со употреба на перфорин. Од друга страна, ЦТЛ од глувци со отстранет ген за перфорин можат да убијат здрави целни клетки кои прикажуваат ФАС, но не и *лпр* клетките, кои немаат Фас. Овие научници исто така дојдоа до заклучок дека сите ЦТЛ-посредувани убиства забележени во нивните експерименти можат да се препишат на дејството на перфорин, убивање

(а) Создавање ЦТЛ



Здрави X-2б против- X-2к ЦТЛ

X-2б глушец со отстранет ген за перфорин против- X-2к ЦТЛ

(б) Меѓудејство помеѓу ЦТЛ Фас+ и Фас- цели

ЦТЛ	Целни клетки	
	Здрави X-2к	*лпр* мутиран X-2к (нема Фас)
Здрави X-2б против- X-2к	Убиен	Убиен
X-2б глушец со отстранет ген за перфорин	Убиен	Преживеан

СЛИКА 14-10 Експериментален приказ дека ЦТЛ користи Фас и перфорински патеки. (а) Создавање ЦТЛ. Лимфоцити се земени од ГТК хаплотпивите X-2б и X-2к од глушец. Клетки од хаплотипот X-2к се убиени со третман со митомицин Ц и кокултивирани со клетки од хаплотипот X-2б за да се стимулира создавањето на X-2к ЦТЛ. Ако лимфоцитите X-2б потекнуваат од здрави глувци, тие создаваат ЦТЛ кои ги имаат перфоринот и Фас-лигандот. Ако ЦТЛ потекнуваа од стумулација на лимфоцитите од глувци со отстранет ген за перфорин, тие прикажуваат Фас лиганд, но не и перфорин. (б) Меѓудејство на ЦТЛ со Фас+ и Фас- целни клетки. Здравите ЦТЛ од X-2б насочени против-X-2к прикажуваат и Фас лиганд и перфорин ги убиваат здравите X-2к целни клетки и X-2к *лпр* мутантните клетки, кои не прикажуваат Фас. За разлика, X-2б и X-2к ЦТЛ од глувците со отстранет ген за перфорин ги убиваат Фас+ здравите клетки со употреба на Фас и Фас-лигандот, но не можат да ги убиваат *лпр* клетките, кои немаат Фас.

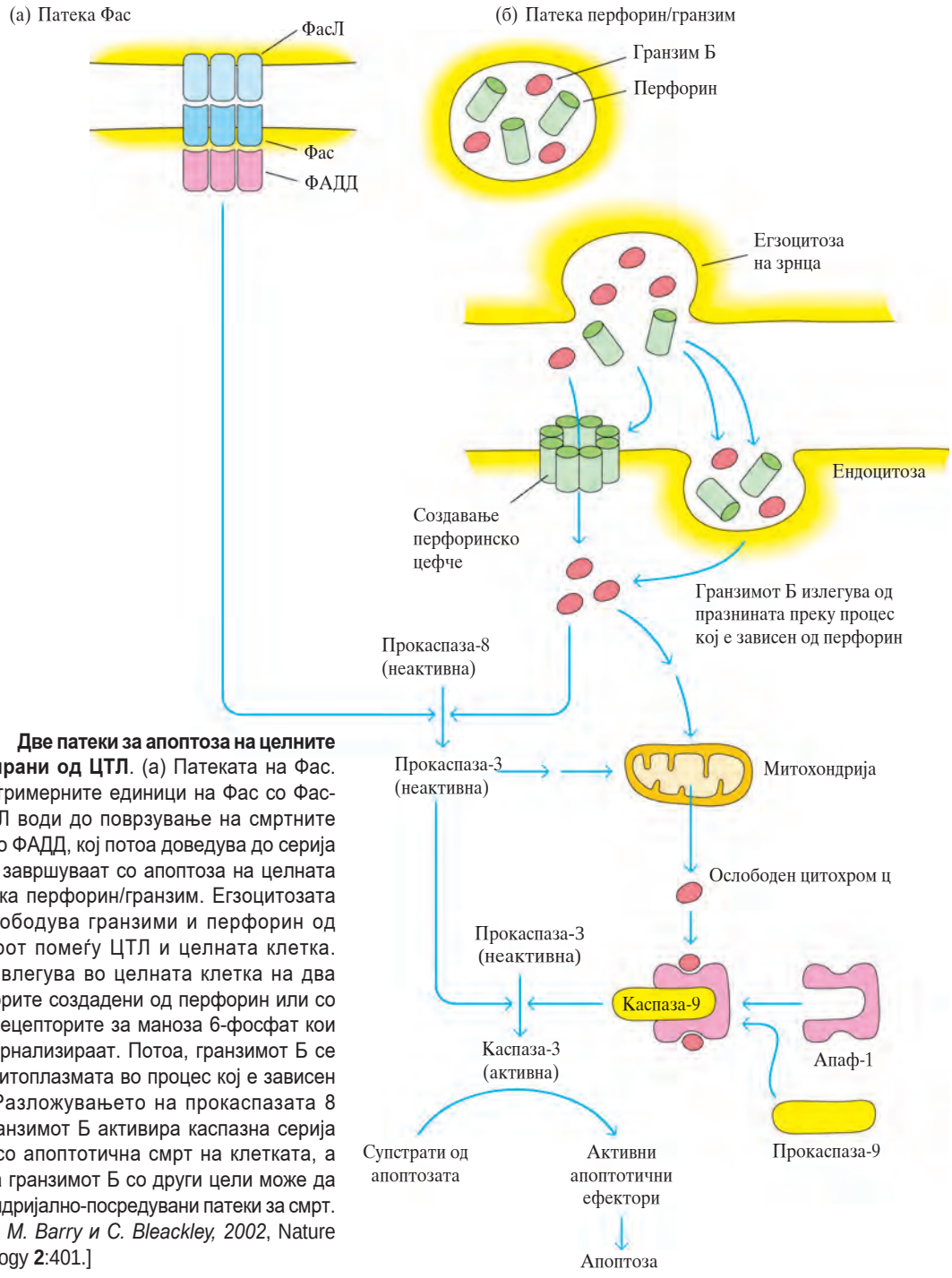
посредувано од Фас или комбинација од двете. Ниеден друг механизам не бил забележан.

Овој и други експерименти укажуваат дека два механизми се одговорни за поттикнување на сите ЦТЛ-посредувани апоптоточни убиства на целните клетки:

- Насоченото доставување на цитотоксичните протеини (перфорин и гранзими) кои се ослободени од ЦТЛ и навлегуваат во целните клетки.
- Меѓудејството на мембранско-врзаниот Фас-лиганд на ЦТЛ со рецепторот Фас на површината од целните клетки.

Секој од овие поттикнувачки процеси резултира со активирање на сигнална патека која завршува со смрт на целната клетка со апоптоза (14-11). Карактеристика на клеточната смрт со апоптоза е вклучувањето на фамилијата **каспази** од цистеинските протеини, кои разградуваат по остатокот аспартична киселина. Името *каспаза* ги вклучува сите овие елементи (цистеин, аспартат, протеаза). Обично, каспазите се присутни во клетките како неактивни проензими-прокаспази, кои бараат протеолитично разложување за претворање во активните форми. Пронајдени се повеќе од дестина различни каспази, секоја со своја специфичност. Разложувањето на прокаспазата создава активна поттикнувачка каспаза, која разложува други прокаспази, при тоа активирајќи ја нивната протеолитична активност. Крајниот резултат е систематско и организирано разложување на клетката што е белег за апоптозата.

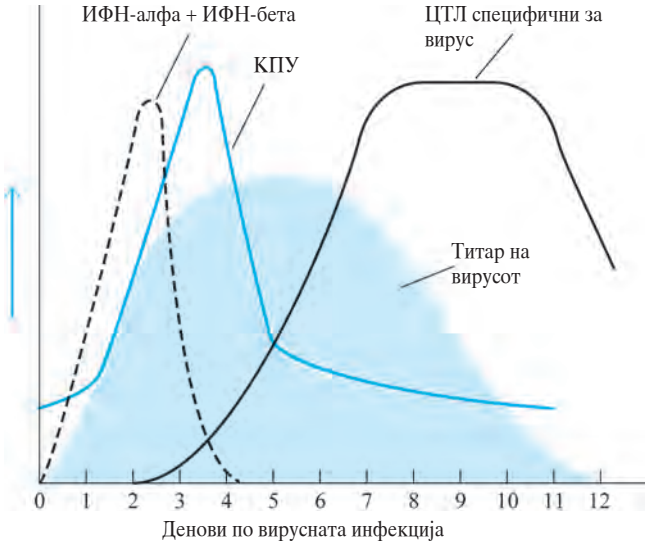
ЦТЛ употребуваат гранзими и Фас-лигнад за да ја поттикнат каспазната каскада во нивните цели. Гранзимите навлегуваат во целните клетки преку ЦТЛ и посредуваат на протеолитични процеси кои активираат поттикнувач на каспазите. Слично на тоа, поврзувањето на Фас од целната клетка со Фас-лигандот на ЦТЛ предзивкува активирање на поттикнувач на каспазите во целната клетка. Фас е поврзан со протеин познат како ФАДД (протеин со смртоносен домен - поврзан со Фас), кој потоа се поврзува со прокаспазната форма на каспаза 8. По вкрстеното поврзување, прокаспазата 8 се конвертира во каспаза 8 и поттикнува апоптотична каспазна серија. Крајниот резултат од двете патеки перфорин/гранзим и Фас-посредуваната патека е активирање на неактивните смртни патеки присутни во целната клетка. Како што вешто се изјасни еден имунолог, ЦТЛ не ги убива целните клетки до толку колку што ги убедува да извршат самоубиство.



СЛИКА 14-11 Две патеки за апоптоза на целните клетки стимулирани од ЦТЛ. (а) Патеката на Фас. Врзувањето на тримерните единици на Фас со Фас-лигандот од ЦТЛ води до поврзување на смртните домени на Фас со ФАДД, кој потоа доведува до серија реакции кои пак завршуваат со апоптоза на целната клетка. (б) Патека перфорин/гранзим. Егзоцитозата на зрнцата ослободува гранзими и перфорин од ЦТЛ во просторот помеѓу ЦТЛ и целната клетка. Гранзимот Б навлегува во целната клетка на два начина: преку порите создадени од перфорин или со поврзување за рецепторите за маноза 6-фосфат кои подоцна се интернализираат. Потоа, гранзимот Б се ослободува во цитоплазмата во процес кој е зависен од перфорин. Разложувањето на прокаспазата 8 од страна на гранзимот Б активира каспазна серија која резултира со апоптотична смрт на клетката, а меѓудејството на гранзимот Б со други цели може да поттикне митохондријално-посредувани патеки за смрт. [*Прилагодено од M. Barry и C. Bleackley, 2002*, Nature Reviews Immunology **2**:401.]

Клетки природни убијци

Клетките природни убијци се откриени сосема случајно кога имунолозите ја мереле ин витро активноста на тумор-специфичните клетки кои биле земени од глувци со тумори. Здравите неимунизирани глувци и глувците со другии тумори служеле како негативни контроли. За големо изненадување на испитувачите, контролните глувци покажале значително разградување на туморските клетки исто така. Испитување на ова неспецифично убивање на туморските клетки открило дека за него била одговорна популација од големи зрнести лимфоцити. Клетките, кои беа наречен клетки природни убијци (КПУ) поради нивната неспецифична цитотоксичност, сочинуваат 5% до 10% од популацијата на циркулирачките лимфоцити. Овие клетки се вклучени во имуната одбрана против вирусите, други внатреклеточни патогени и тумори. Бидејќи КПУ создаваат бројни имунолошки значајни цитокини, тие придонесуваат во имуното регулирање и влијаат врз вродениот и стекнатиот имунитет. Посебно, создавањето на ИФН-гама од страна на КПУ може да влијае врз учеството на макрофагите во вродениот имунитет преку активирање на нивните фагоцитни и микробицидни активности. ИФН-гама од КПУ може да влијае на односот Тпо1 наспроти Тпо2 на Т-



СЛИКА 14-12 Временски тек на вирусната инфекција. ИФН-алфа и ИФН-бета (испрекинатата крива) се ослободуваат од вирусно-заразените клетки набрзо по инфекцијата. Овие цитокини ги стимуираат КПУ, што брзо води во пораст на популацијата на КПУ (сината крива) од основното ниво. КПУ помагаат да се задржи инфекцијата во периодот потребен за создавање на ЦТЛ (црната крива). Штом популацијата на ЦТЛ ќе го достигне својот врв, титарот на вирусот (сината област) нагло опаѓа.

клеточните популации преку неговите попречувачки ефекти на експанзијата на Тпо2 и стимулирањето на развојот на Тпо1 преку поттикнување на создавањето на ИЛ-12 од макрофагите и стеблестите клетки.

КПУ се вклучени во раниот одговор на инфекција со одредени вируси и внатреклеточни бактерии. КПУ активноста е стимулирана од ИФН-алфа, ИФН-бета и ИЛ-12. Во текот на вирусната инфекција, нивото на овие цитокини нагло расте, по што набрзо следи бран на КПУ кој својот врв го достигнува за приближно 3 дена (слика 14-12). КПУ се првата линија на одбрана против вирусни инфекции, контролирајќи го размножувањето на вирусите во времето кое е потребно за активирање, размножување и диференцирање на ЦТЛ-П клетките во функционални ЦТЛ околу седмиот ден од инфекцијата. Значењето на КПУ во одбраната против вирусните инфекции е прикажано во случајот со младата жена која има целосен недостаток на овие клетки. Иако оваа пациентка имала нормален број на Т и Б-клетки, таа страдала од тешки инфекции со варичела вирусот и опасна по животот инфекција со цитомегаловирус.

КПУ и Т-клетките имаат одредени заеднички особини

КПУ се лимфоидни клетки кои потекнуваат од коскената срцевина кои имаат заеднички ран прогенитор со Т-клетките, но нивниот детален развој останува дополнително да се проучи. Тие прикажуваат некои мембрански обележувачи кои се наоѓаат врз моноцитите и гранулоцитите, како и некои кои се типични за Т-клетките. Различни КПУ прикажуваат различни групи на мембрански молекули. Не е јасно дали оваа хетерогеност укажува на постоење различни популации на КПУ или различни фази од нивното активирање или зреење. Меѓу мембранските молекули кои се прикажани од страна на КПУ се КД2, бета поединицата од рецепторот за ИЛ-2 тешка 75 кДа и скоро на сите КПУ, КД16 (или ФкГамаР3), рецептор за Фк подрачјето од ИгГ. Клеточното намалување со моноклонското противтело против-КД16 ја елиминира скоро цела КПУ-клеточна активност од периферната крв. Како што ќе видиме подоцна, бројот и видот на активирачките и инхибиторните рецептори варира кај КПУ.

Покрај сличностите на КПУ со Т-лимфоцитите, тие не се развиваат исклучиво во тимусот. „Голите" глувци, кои немаат тимус и имаат мал број или воопшто немаат Т-клетки, имаат функционални популации на КПУ. За разлика од Т и Б-клетките, КПУ не претрпуваат преуредување на рецепторните гени: КПУ се развиваат и кај глувци кај кои се отстранети рекомбинирачките гени *РАГ-1* и *РАГ-2*. Исто така, иако кај СКИД глувците не се пронајдени Т или Б-клетки, постојат функционални популации на КПУ. Моќта на КПУ и други заштитни механизми од вродениот имунитет за заштита животните кои воопшто немаат стекнат имунитет, јасно е прикажано преку фамилија на глувци со отстранети ген за *РАГ-1,* прикажани на слика 14-13.

Убивањето од страна на КПУ е слично на убивањето посредувано до ЦТЛ

Клетките природни убијци ги убиваат туморските клетки и вирусно заразените клетки преку процеси слични на процесите кои ги користат ЦТЛ. КПУ имаат ФасЛ на нивната површина и лесно поттикнуваат смрт кај целните клетки кои носат Фас. Цитоплзамата на КПУ има бројни зрнца кои содржат перфорин и гранзими. За разлика од ЦТЛ, кои мора да бидат активирани пред да се појават зрнцата, КПУ во основа се цитотоксични и секогаш имаат големи зрнца во нивната цитоплазма. По прилепувањето на КПУ за целната клетка, настанува



СЛИКА 14-13 Фамилија на глувци со отстранет ген за *РАГ-1.* Овие глувци немаат стекнат имунитет бидејќи немаат Т и Б-клетки. Сепак, КПУ и други механизми на вродениот имунитет овозможуваат доволна заштита против инфекции при што, ако условите останат чисти, овие глувци ќе можат да се размножуваат и да родат здрави потомци. Сепак, тие се поосетливи на инфекција од здравите глувци и имаат намален животен век. [*Од лабораторијата на R. A. Goldsby.*]

обеззрнување, со ослободување на перфорин и гранзими на спојот помеѓу клетките кои стапуваат во меѓудејство. Се верува дека перфоринот и гранзимите играат иста улога во КПУ-посредуваното убивање на целните клетки со апоптоза како при процесот на убивање кое е посредувано од ЦТЛ.

Покрај овие сличности, КПУ се разликуваат од ЦТЛ на неколку значајни начини. Прво, КПУ не прикажуваат противген-специфични Т-клеточни рецептори или КД3. Понатаму, препознавањето на целните клетки од страна на КПУ не е спрегнато со ГТК молекули; во многу случаи се забележува исто ниво на активност на КПУ со сингенични и алогенични туморски клетки. Исто така, иако претходната подготовка ја засилува активноста на ЦТЛ, активноста на КПУ не се зголемува по втората инјекција со истите туморски клетки. Со други зборови, одговорот на КПУ не создава имунолошко памтење.

КПУ имаат активирачки и инхибиторни рецептори

Бидејќи КПУ не прикажуваат противген-специфични рецептори, механизмот преку кој овие клетки препознаваат променети сопствени клетки и ги разликуваааат од здравите клетки во телото ги мачеше имунолозите со години. Се покажа дека КПУ употребуваат две различни категории на рецептори: една која пренесува инхибиторни сигнали до КПУ и друга која доставува активирачки сигнали. На почетокот, истражувачите мислеа дека се вклучени само два рецептори, еден кој ги активира и друг кој ги попречува КПУ - таканаречениот *дворецепторен модел*. Сегашната теорија, *моделот со спротивставени сигнали*, тврди дека има голем број различни површински рецептори за активирачките сигнали и одреден број различни попречувачки рецептори. КПУ прават разлика помеѓу здравите и заразените или канцерски клетки преку рамнотежата помеѓу активирачките сигнали и попречувачките сигнали. Растворливите фактори можат да достават дополнителни КПУ-активирачки сигнали, вклучувајќи ги цитокините како што се алфа и бета-интерфероните, ТНФ-алфа, ИЛ-12 и ИЛ-15.

Рецепторите на КПУ спаѓаат во две главни категории врз база на нивните структурни особини: рецептори во вид на лектин и рецептори во вид на имуноглобулин. Како што објаснивме во Поглавје 7, лектините се група на протеини кои се врзуваат за специфични јаглехидрати, КПУ клеточните рецептори во вид на лектин се таканаречени поради нивната структурна сличност со протеините од оваа група. Покрај оваа сличност, повеќето КПУ-клеточни рецептори во вид на лектин се врзуваат за протеини наместо со јаглехидрати. Втората група на рецептори, членови на суперфамилијата на имуноглобулините ги вклучуваат рецепторите на клетката-убиец во вид на имуноглобулини (КИР), кои се врзуваат за молекулите ХЛА-Б и ХЛА-Ц. Исто така, постојат и други инхибиторни рецептори во вид на имуноглобулини, како што се ИЛТ/ЛИР, кои се врзуваат за повеќето молекули од класа 1. Бидејќи првите откриени КИР молекули беа инхибиторни рецептори, КИР на почетокот беа наречени *инхибиторни* рецептори од клетката-убиец. Кога подоцнежните студии открија дека и КИР групата и групата на рецептори во вид на лектин вклучуваат инхибиторни и активирачки рецептори, името беше променето во убивачки рецептор *во вид на имуноглобулин*. Вонклеточната структура на КПУ-клеточниот рецептор (во вид на Иг или лектин) сама по себе не го дефинира веднаш како инхибиторен или активирачки бидејќи има активирачки и инхибиторни рецептори кои припаѓаат на двете структурни групи.

За дополнително да се искомплицира работата, некои рецептори може да бидат или активирачки или инхибиторни; цитоплазматските подрачја на одредени КПУ рецептори со идентични вонклеточни структури имаат различни внатреклеточни домени и според тоа различни сигнализирачки особини. На пример, рецепторот во вид на лектин КД94: НКГ2 има две форми, КД94:НКГ2А и КД94:НКГ2Ц. Иако и двете се врзуваат за слични лиганди, формата А користи фосфатази и пренесува инхибиторни сигнали, додека формата Ц се поврзува со адаптерен молекул и доставува активирачки сигнали. Внатреклеточните секвенци на КПУ рецепторите кои активираат се ИТАМи (имунорецепторски тирозин фосфат активирачки мотив), додека внатреклеточните секвенци на инхибиторните рецептори се ИТИМи (имунорецепторски тирозин фосфат инхибиторен мотив). Збрката предизвикана од оваа двојна улога на рекацијата на врзување со истиот лиганд до некаде е објаснета од фактот дека формите А и Ц на рецепторите КД49/НКГ2 никогаш не се сретнуваат во истата клетка. Сепак, инхибиторни рецептори и активирачки рецептори може да бидат присутни во иста клетка. Инхибиторните сигнали може да преовладаат над активирачките сигнали, овозможувајќи сигурна заштита за здравите клетки од домаќинот.

Конкретната природа на рецепторите врзани за мембраните во КПУ кои предизвикуваат активирање не е целосно јасна. Премостување на противтелото на голем број молекули кои се наоѓаат врз површината од КПУ може вештачки да ги активира овие клетки, но природните лиганди за дел од овие активирачки рецептори (АР) не се познати.

Дел од кандидатите АР се членови од класата на протеини кои се врзуваат за јаглехидрати, познати како **лектини од тип Ц**, наречени така бидејќи имаат домени за препознавање јаглехидрати кои се зависни од калциум. Особено, НКГ2Д се појави како значаен рецептор за активирање на КПУ функцијата. НКГ2Д дејствува преку сигнализирачка серија слична на серијата поттикната од КД28 во Т-клетките. Лигандите за НКГ2Д ги вклучуваат МИЦ-А, МИЦ-Б и УЛПБ фамилијата на протеини кај луѓето и фамилиите на протеини Х60, Мулт1 и Рае-1 кај глувците. Прикажувањето на лигандите НКГ2Д често е поттикнато во клетките кои претрпуваат стрес, како што е оштетување на ДНК или инфекција. НКГ2Д е приспособен да учествува во брз одговор на вродениот имунитет против бројни патолошки состојби. Сепак, исто така е опишан и придонес на НКГ2Д во развој на некои автоимуни реакции.

Покрај лектините и други молекули од КПУ може да бидат вклучени во активирањето, вклучувајќи ги КД2 (рецептор за атхезискиот молекул ЛФА-3), КД244 (исто така наречен 2Б4, рецепторот за КД48) и рецепторот ФкГама3, КД16. Иако КД16 е одговорен за противтело-посредуваното препознавање и убивањето целни клетки од страна на КПУ, веројатно не е вклучен во убивањето кое не е зависно од противтело. Покрај веќе споменатите молекули, три дополнителни протеини, НКп30, НКп44 и НКп46, изгледа играат значајна улога при активирањето на човечките КПУ.

Лигандите на целните клетки кои се препознати од активрачките рецептори од КПУ остануваат неутврдени, па дури и дел од оние кои беа дефинирани како активирачки се чини дека имаат двојна улога како активирачи и инхбитори. На пример, парот на рецептори КД94/НКГ2А и Ц кој го споменавме претходно може да спроведе активирачки или инхибиторни сигнали во одговор на врзување со ист лиганд. Најдобро карактеризирани активирачки лиганди се молекулите МИЦ-А и МИЦ-Б кодирани од ХЛА. Овие молекули се неполиморфни молекули слични на ГТК молекулите од класа 1 (иако тие не се поврзуваат со бета-2 микроглобулинот) кои се препознати од страна на рецепторот НКГ2Д во вид на лектин. Протеините МИЦ-А и -Б може да бидат поттикнати и се прикажуваат врз клетките кои биле под стрес предизвикан

од инфекција, топлина или траума. Кога рецепторот во вид на лектин НКГ2Д се врзува за овие протеини предизвикани од стрес, одговорот вклучува регрутирање цитотоксични зрнца и ослободување цитокини, кои водат до смрт на целните клетки. Други активирачки рецептори кои се присутни врз повеќето КПУ вклучуваат НКп30, НКп44 и НКп46. Овие структурно поврзани молекули во вид на Иг се вклучени во убивањето на туморските клетки, но лигандите на туморските клетки кои ги препознаваат не се познати.

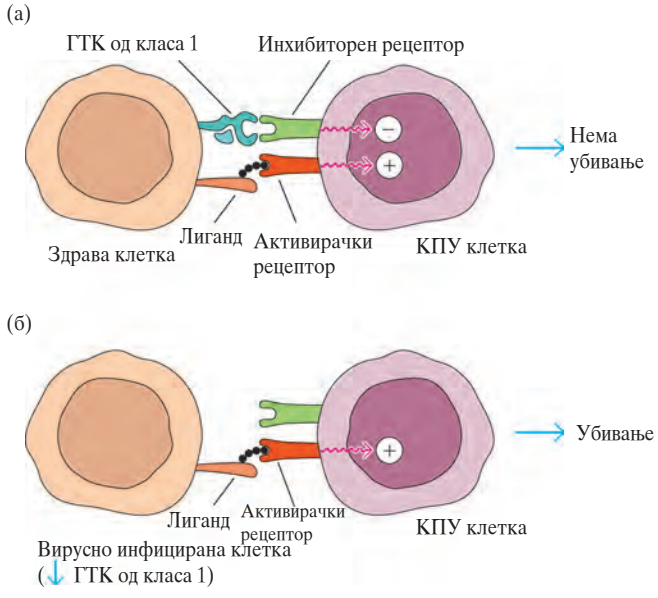
КПУ клеточните инхибиторни лиганди се подобро карактеризирани од активирачките лиганди. Важни откритија за изворот на инхибиторните сигнали доаѓаат од проучувањата на убивање на туморски и вирусно заразени клетки од страна на КПУ. Истражувачите утврдија дека полесно биле убивани туморски клетки од глушец во споредба со здравите клетки, а тоа се поврзува со недостатокот на прикажани ГТК молекули од страна на туморските клетки. Експерименти со човечки клетки покажаа дека КПУ лизираат Б-клетки кои имале недостаток на ГТК молекули како резултат на трансформацијата од инфекција со вирусот Епштајн-Бар. Откако овие клетки биле трансфектирани со човечки ХЛА гени, кои предизвикале прикажување на високо ниво на ГТК молекули, КПУ не успеале да ги разградат. Овие забелешки довеле до идејата дека КПУ целат кон убивање на оние клетки кои имаат абнормално прикажување на ГТК. Имјаќи предвид дека голем број вирусно заразени и туморски клетки имаат намалено прикажување на ГТК, овој модел, наречен „модел на исчезнување на сопственото“, се чини доста логичен. Поддршка за оваа идеја дојде од откритието на рецепторите на КПУ кои создаваат инхибиторни сигнали кога ќе ги препознаваат ГТК молекулите кај потенцијалните целни клетки. Овие инхибиторни рецептори на КПУ клетката потоа го спречуваат КПУ-клеточното убивање, размножување и ослободување на цитокини.

Кај луѓето, повеќето инхибиторни рецептори се молекули во вид на Иг. Исклучок е инхибиторниот рецептор КД94/НКГ2А, протеин во вид на лектин, дисулфидно-поврзан хетеродимер составен од два гликопротеини, КД94 и членот на фамилијата НКГ2. Рецепторите КД94/НКГ2А го препознаваат ХЛА-Е кај потенцијалните целни клетки. Бидејќи ХЛА-Е не се пренесенува врз површинатаод клетката освен доколку не се врзе за пептид кој потекнува од ХЛА-А, ХЛА-Б или ХЛА-Ц, количината на ХЛА-Е врз површината на клетката служи како покажувач за вкупното ниво на биосинтезата на ГТК од класа 1 во клетките. Овие инхибиторни рецептори КД94/НКГ2А го препознаваат ХЛА-Е врз површината и праќаат инхибиторни сигнали до КПУ клетката, со конечен резултат попречување на убивањето на потенцијалните целни клетки ако тие прикажуваат соодветни нивоа на ХЛА класа 1.

КИР инхибиторните рецептори, кои покажуваат значајна разновидност, во основа се специфични за еден полиморфен продукт на одредено ХЛА подрачје или за ограничен број поврзани ХЛА молекули. За разлика противтелата кај Б-клетките и ТКР кај Т-клетките кои ја имаат карактеристиката алелско исклучување, КПУ не се ограничени за прикажување на еден инхибиторен КИР, туку може да прикажуваат неколку, каде секој од нив е специфичен за различен ГТК молекул или за група на тесно поврзани ГТК молекули. На пример, пронајдени се поединечни клонови од човечки КПУ кои прикажуваат рецептор КД94/НКГ2А и најмалку шест различни КИР рецептори.

Бидејќи сигналите од инхбиторните рецептори можат спротивно да дејствуваат врз сигналите од активирачките рецептори, негативен сигнал од кој било инхибиторен рецептор, независно дали од типот КД94/НКГ2А или од КИР типот, може да го блокира разградувањето на целните клетки од страна на КПУ. Според тоа, клетките кои прикажуваат нормално ниво на непроменети ГТК молекули од класа 1 по правило ги избегнат сите форми на убивање посредувано од КПУ. Изненадувачки е тоа што, КИР фамилијата еволуирала мошне брзо. Функционалните КИР рецептори кои се наѓаат кај приматите не постојат кај глодарите. Глувците пак, користат различна фамилија на рецептори, фамилијата Ly49 слични на лектин, за да ја постигнат функијата на КИР, односно инхибицијата на КПУ преку врзување за ГТК молекулите од класа 1 кај здравите клетки. Функционалните Ly49 рецептори не постојат кај луѓето.

Во моделот на спортивставени сигнали за регулирање на КПУ, кој произлезе од проучувањата на КПУ (слика 14-14), активирачките рецептори употребуваат лиганди (повеќето од нив не се познати) врз површината од целните туморски, вирусно заразени или клетки кои преживеале стрес. Препознавање на овие одредници од активирачките рецептори ќе им сигнализира на КПУ да ги убијат целните клетки. Сигналите за убивање може да се потиснат од страна на сигнали од инхбиторните рецептори. Како што веќе видовме, инхибиторните рецептори овозможуваат сигнали кои решително ги постиснуваат активирачките сигнали, кога овие инхибиторни рецептори откриваат нормално ниво на прикажување на ГТК од класа 1 кај потенцијалните целни клетки. Ова ја спречува смртта на целната клетка и исто така размножувањето на КПУ клетките, како и поттикнувањето



СЛИКА 14-14 Модел на спротивставени сигнали за тоа како цитотоксичната активност на КПУ е ограничена на променетите сопствени клетки. Активрачкиот рецептор на КПУ стапува во меѓудејство со неговиот лиганд врз здравите и променетите сопствени клетки, поттикнувајќи создавање активирачки сигнал кој доведува до убивање. Сепак, поврзувањето на инхибиторните КПУ-клеточни рецептори, како што се инхибиторните КИР и КД94/НКГ2А со ГТК молекулите од класа 1 доставуваат инхибиторен сигнал кој се спротивставува на активирачкиот сигнал. Според тоа, прикажувањето на молекулите од класа 1 врз здравите клетки го спречува нивното уништување од страна на КПУ. Бидејќи прикажувањето на класа 1 често се намалува кај променетите сопствени клетки, доминираат убивачките сигнали, водејќи до нивно уништување.

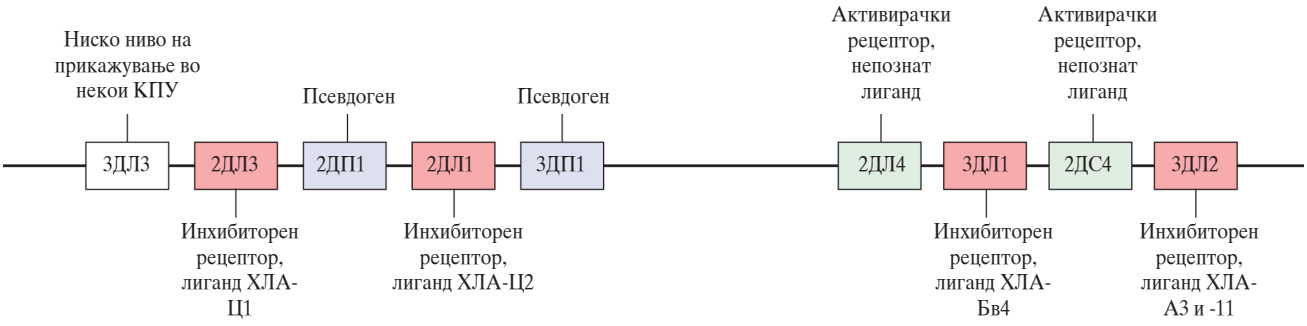
КЛИНИЧКИ ФОКУС

Комбинациите на гените ГТК-КИР влијаат врз здравјето

КПУ претставуваат значајна компонента од вродениот имунитет: овие клетки ги убиваат клетките од домаќинот кои се модифицирани од вирусна инфекција, стрес или пак туморски процес. Активираните КПУ лачат цитокини кои поттикнуваат одговор на стекнатиот имунитет. КПУ дејствуваат преку два вида на рецептори: активирачки рецептори кои поттикнуваат убивање на клетките кои се препознати како абнормални и инхибиторни рецептори кои ја прекинуваат убивачката активност кога ќе препознаат одредени обележувачи врз површината од клетката на домаќинот, како што се на пример ГТК молекулите од класа 1. Рамнотежата помеѓу овие спротивставени активности е многу значајна за добросостојбата на домаќинот. Недостаток на активирачки процеси може да доведе до рак, вирусна инфекција и акумулирање на оштетени, нефункционални клетки. Дефектите на инхибиторната активност пак, може да доведат до убивање на здрави клетки на домаќинот. КПУ-клеточните рецептори кои ги посредуваат овие активности спаѓаат во две структурни фамилии: рецептори во вид на лектин и клеточни имуноглобулиновидни рецептори, или скратено КИР. Двете структурни групи вклучуваат активирачки и инхибиторни рецептори.

Додека рецепторите во вид на лектин се високо конзервирани, покажувајќи мала варијација во рамките на видовите, КИР фамилијата од КПУ рецепторите претставува разновидна група на протеини. КИР се кодирани во подрачјето на човечкиот хромозом 19 наречен *левкоцитен рецепторски комплекс*. Бројот на КИР гените во даден хаплотип се движи од 9 до 14 членови, а поединечните КИР гени сами по себе се полиморфни. КИР хаплотипот А (најчестиот хаплотип кај белците) е прикажан на сликата, со деветте кодирани протеини кои се утврдени според функцијата. Забележете дека постојат два активирачки и четири инхибиторни рецептори кај овој КИР хаплотип.

Иако лигандите за повеќето активирачки рецептори сè уште не се откриени, лигандите за инхибиторните рецептори се познати. Повеќето се алелски форми на ГТК молекулите од класа 1. Земајќи предвид дека КИР молекулите сами по себе се варијабилни во популацијата и дека препознаваат протеини кои се кодирани во високополиморфниот ГТК комплекс (види Поглавје 8), се поставува интересно генетско прашање: Бидејќи ГТК гените и КИР гените се независни, дали



Човечки KIR А хаплотип *[Од P. Parham, 2005, Nature reviews Immunology **5**:201.]*

секреција на цитокините како што се ИФН-гама и ТНФ-алфа. Крајниот исход според овој модел на спортивставени сигнали е да се поштедат клетките кои прикажуваат суштински обележувачи за нормална функција на сопствените клетки, ГТК молекули од класа 1 и да бидат убиени клетките кои имаат недостаток на сопствени обележувачи: отсутни или намалени нивоа на ГТК од класа 1.

КПУТ клетки

Претходниот текст ги покрива ЦТЛ, значајна компонента од стекнатиот имунитет кои прикажуваат противген-специфични ТКР и КПУ клетките, компонента од вродениот имунитет која има КИР и рецептори во вид на лектин, кои се аналогни на рецепторите за препознавање модели. Од неодамна, утврден е трет вид клетки, со особини кои се заеднички и за ЦТЛ и КПУ клетките. Овој клеточен вид, наречен КПУТ клетка за да ги изрази неговите хибридни особини, има ТКР комплекс врз неговата површина, но и некои други особини кои се заеднички со Т лимфоцитите. КПУТ клетката се смета за дел од вродениот имун систем, заради неколку особини кои се заеднички за вродените имуни реакции:

- Т-клеточниот рецептор кај КПУТ клетката кај луѓето е непроменлив, при што веригите ТКРалфа и ТКРбета се кодирани од страна на специфични генски сегменти ($В^{а}24$-$Ј^{б}18$ и $В^{б}11$, соодветно) во зародишната ДНК; клетките кои ја прикажуваат оваа комбинација на ТКРалфа-бета

е можно одредени комбинации на ГТК и КИР гените да резултираат со отсуство на потребните инхиботорни ГТК лиганди во домаќинот и да доведат до дефекти при инхибицијата на активирањето?

Оваа можност била испитувана во голем број студии, во кои е пронајдено дека одредени комбинации на КИР-ГТК влијаат врз развојот на болестите, а исто така се поврзани со репродуктивни проблеми како што се чести спонтани абортуси или прееклампсија (или токсемија, се карактеризира со опасна хипертензија и акумулирање течност за време на бременоста). На табелава се прикажани дел од најчестите болести поврзани со разни генски комбинации. Забележете дека одредени комбинации КИР-ГТК го успоруваат развивањето на одредени инфкеции, додека истата инфекција може да се влоши од страна на други комбинации. Цервикалната неоплазија предизвикана од Хуман папилома вирусот (види клинички фокус, Поглавје 21) е пример за заболување каде неговата прогресија на болеста се зголемува заради некои комбинации од КИР и ГТК, а се намалува со други комбинации. Авотимуните болести дијабет од тип 1 и псоријатичниот артрит, покажуваат побрз тек кај лица со комбинации КИР-ГТК за кои се предвидува да дадат помала инхибиција на КПУ активноста.

Мехнизмите кои се во основата на поврзаноста помеѓу различни комбинации КИР-ГТК и побрза прогресија на некои болести, како и проблемите со плодноста остануваат тема за дискусија. На пример, тековни студии имаат за цел да одредат дали специфичните болести се предизивикани од премалку или премногу инхибиција на активноста на КПУ која произлегува од комбинациите КИР-ГТК. Табелата ги прикажува раните откритија за неколку болести.

Историски гледно, комбинациите КИР-ГТК веројатно играле улога во општата состојба, релативната размножувачка сила на разни генетски типови, дури и опстанок за време на епидемија. Како што дознаваме повеќе од специфичните механизми преку кои продуктите од овие фамилии на гени влијаат врз здравјето на луѓето, може да очекуваме да се дознае зошто природната селекција фаворизирала одредени комбинации.

Поврзување на болести со комбинациите на КИР и ХЛА гените

Болест	КИР	ХЛА	Развој на болеста	Предложен придонес од страна на КИР
СИДА	3ДС1 3ДС1 хомозигот	ХЛА-Бв4^{Ле80} Нема ХЛА-Бв4^{Ле80}	Намален Зголемен	Помала инхибиција Поголема инхибиција
Инфекција со ХЦВ	2ДЛ3 хомозигот	ХЛА-Ц1 хомозигот	Намален	Помала инхибиција
Цервикална неоплазија (поттикната од ХПВ)	3ДС1 Нема 3ДС1	ХЛА-Ц1 хомозигот и нема ХЛА-Бв4èХЛА-Ц2 и/или ХЛА-Бв4	Зголемен Намален	Помала инхибиција Поголема инхибиција
Малиген меланом	2ДЛ2 и/или 2ДЛ3	ХЛА-Ц1	Зголемен	Поголема инхибиција
Псоријатичен артрит	*2DS1* dhe/ose *2DS2*	ХЛА-Ц1 хомозигот или ХЛА-Ц2 хомозигот	Зголемен	Помала инхибиција
Дијабет од тип 1	2ДС2	ХЛА-Ц1 и нема ХЛА-Ц2 Нема ХЛА-Бв4	Зголемен	Помала инхибиција
Прееклампсија	2ДЛ1 со треска 2ДС2 (мајка)	ХЛА-Ц2 (фетус)	Зголемен	Поголема инхибиција

Извор: S. Rajagopalan and E. Long, 2005, Understanding how combinations of HLA and KIR genes influence disease. *Journal of Experimental Medicine* **201**:1025.

понекогаш се наречени нКПУТ или непроменливи КПУТ клетки.

- ТКР на КПУТ клетките не препознаваат пептиди поврзани со ГТК, туку гликолипиди кои се преставени од страна на неполиморфниот КД1д молекул (види слика 8-25).
- КПУТ клетките не создаваат памтечки клетки.
- КПУТ клетките не прикажуваат бројни обележувачи кои се карактеристични за Т-лимфоцитите, но ги прикажуваат обележувачите кои се карактристични за КПУ.

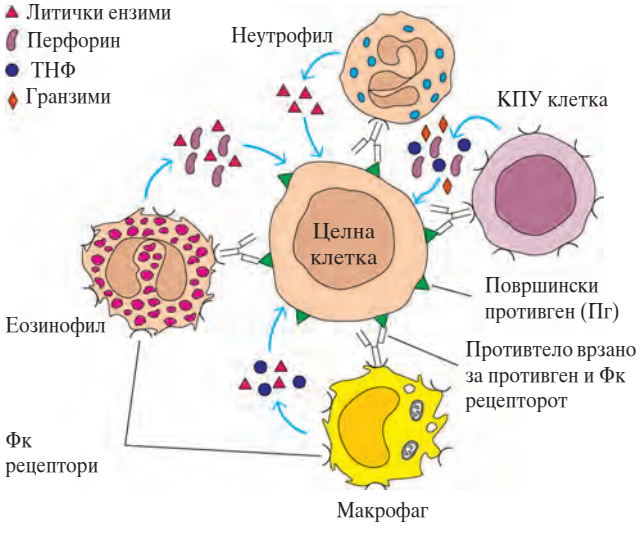
Прецизната улога на КПУТ клетките во имунитетот останува недефинирана. Една претпоставка е дека развојот на КПУТ клетките во тимусот бара лизозомален гликосфинголипид, иГб3 (изоглоботрихексосилцерамид): слични гликозилни церамиди се присутни кај голем број бактериски видови, а земајќи предвид дека тие го активираат одговорот на КПУТ клетката, КПУТ клетките може да се вклучени во против-бактерискиот имунитет. Експерименти покажуваат дека глувци кои имаат недостаток на КПУТ клетки имаааат дефицитен одговор кон одредени нискодозни бактериски инфекции со *Sphingomonas* или *Ehrlichia*. Високодозната инфекција со *Sphingomonas* води до сепса и смрт на нормалните глувци, но оние глувци кои имаат недостаток на КПУТ клетки го преживуваат овој напад, што укажува дека КПУТ клетките реагираат на бактериските противгени со експресија на цитокини. (Види Поглавје 12 за опис на улогата на провоспалителните цитокини при поттикнувањето на сепсата). Други податоци имплицираат улога на КПУТ клетките во имунитетот против тумори и сугерираат дека КПУТ клетките порепознаваат липидни противгени кои се специфични за туморските клетки.

Противтелно зависна клеточно посредувана цитотоксичност (ПЗКЦ)

Одреден број на клетки кои имаат цитотоксичен потенцијал прикажуваат мембрански рецептори за Фк подрачјето од противтелата. Кога противтелото специфично е врзано за целната клетка, клетките кои имаат Фк рецептори може да се врзат за Фк подрачјето од противтелото, а според тоа и со целната клетка, последователно предизвикувајќи лизирање на целната клетка. Иако овие цитотоксични клетки не се спецфични за противген, специфичноста на противтелото ги насочува кон специфични целни клетки. Овој вид на цитотоксичност е наречен **противтелно зависна клеточно посредувана цитотоксичност (ПЗКЦ).**

Меѓу клетките кои посредуваат во ПЗКЦ се КПУ, макрофагите, моноцитите, неутрофилите и еозинофилите. Противтелно зависна клеточно посредувана цитотоксичност на клетки заразени со вирусот на сипаници може ин витро да се забележи со додавање на противтело противсипаници заедно со макрофаги во култура на клетки кои се заразени со вирусот. Слично на тоа, противтелно зависна клеточно посредувана цитотоксичност на паразитските црви (хелминти), како што се шистозомати или крвните паразити, може да се забележи ин витро преку инкубирање на ларвите (шистозомули) со противтело за шистозомули заедно со еозинофилите.

Убивањето на целната клетка преку ПЗКЦ вклучува повеќе различни цитотоксични механизми, но не комплемент-посредувано разградување (слика 14-15). Кога макрофагите, неутрофилите или езинофилите се врзуваат за целната клетка преку Фк рецепторот, тие стануваат метаболно поактивни. Како резултат на тоа се зголемува нивото на литички ензими во нивните цитоплазматски лизозоми и зрнца. Ослободувањето на овие литички ензими во областа на Фк-посредуваниот контакт може да доведе до ошетување на целната клетка. Понатаму, покажано е дека активните моноцити, макрофаги и КПУ, лачат туморно некрозен фактор (ТНФ), што може да има цитотоксичен ефект врз поврзаната целна клетка. Бидејќи и КПУ и еозинофилите содржат перофрин во цитоплазматските зрнца, нивното убивање на целната клетка исто така може да вклучува оштетување на мембраната посредувано од перфорин, слично на механизмот кој е објаснет за ЦТЛ-посредуваната цитотоксичност.



СЛИКА 14-15 Противтелно зависна клеточно посредувана цитотоксичност (ПЗКЦ). Неспецифичните цитотоксични клетки се насочени кон специфични целни клетки преку врзување за Фк подрачјето од противтелото кое е врзано за површинските противгени врз целните клетки. Разни супстанции (на пример, литички ензими, ТНФ, перфорин, гранзими) кои се лачат од страна на неспецифичните цитотоксични клетки посредуваат во уништувањето на целната клетка.

Експериментално испитување на клеточно посредуваната цитотоксичност

Три експериментални системи се посебно корисни при мерење на активирањето и ефекторните фази на клеточно посредуваните цитотоксични реакции:

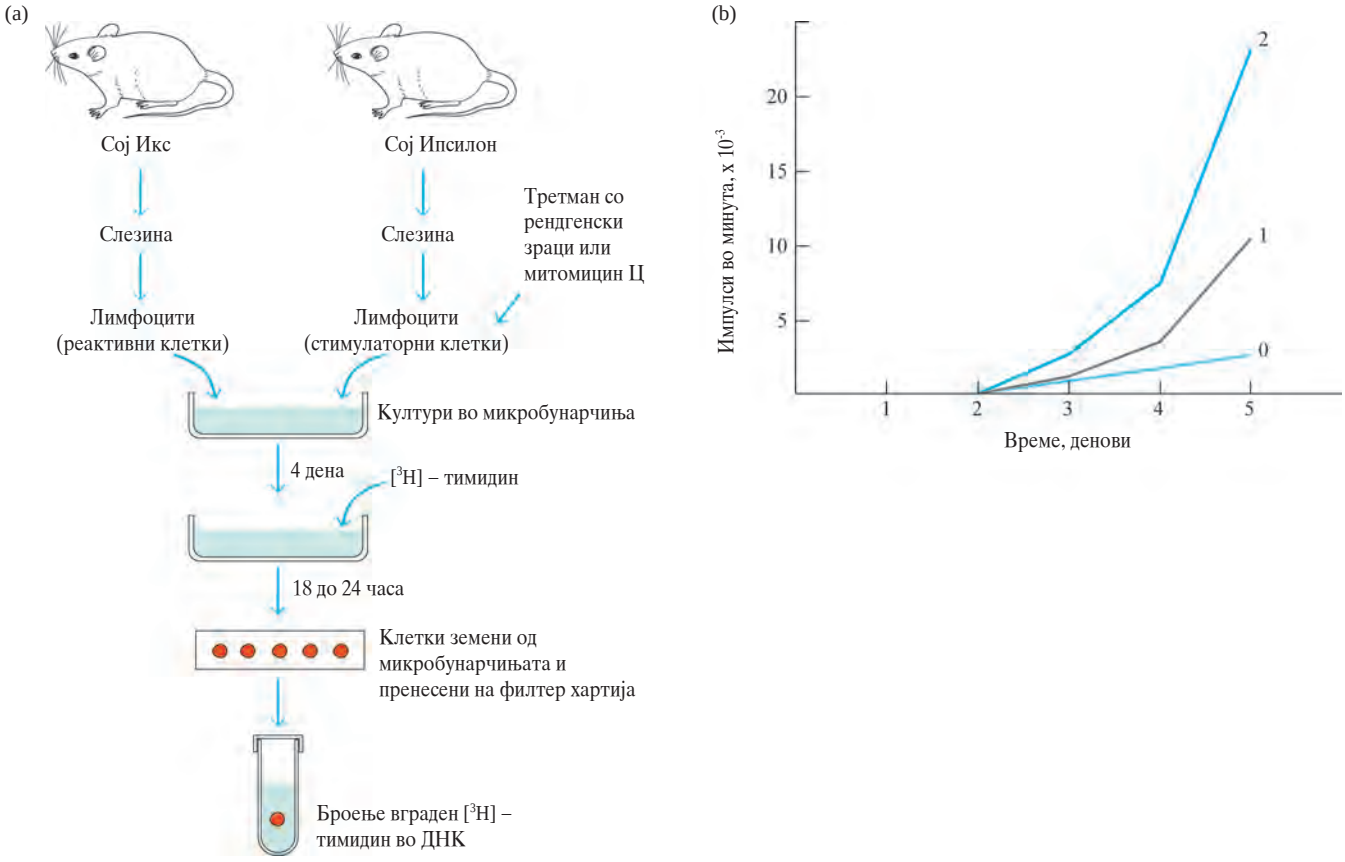
- *Мешана лимфоцитна реакција (МЛР)* претставува ин витро систем за проценка на размножувањето на Тпо клетките при клеточно посредуван одговор.
- *Клеточно посредувана лимфолиза (КПЛ)* претставува ин витро анализа на ефекторната цитотоксична функција.
- *Реакцијата пресадок-против-домаќин (ППД)* кај експерименталните животни овозможува ин виво систем за проучување на клеточно посредуваната цитотоксичност.

Кокултивурање на Т-клетки со туѓи клетки стимулира МЛР

Во 60-тите години од дваесеттиот век, на почетокот на модерната клеточна имунологија, имунолозите забележале дека кога лимфоцити од стаорец се развивале заедно со клетките фибрибласти од глушец, лимфоцитите од стаорецот се размножувале и ги уништувале фибробластите од глушецот. Во 1970 година, неколку истражувачки групи откриле дека функционални ЦТЛ исто така може да се создадат преку кокултивирање со алогени клетки од слезината во систем наречен **мешана лимфоцитна реакција (МЛР)**. Т-лимфоцитите во МЛР претрпуваат екстензивна бластна трансформација и размножување на клетките. Степенот на размножување може да се процени со додавање [^{3}H] - тимидин во медиумот од културата и со надгледување на вградувањето на обележувачот во ДНК во текот на потворувачките делби на клетките.

Двете популации на алогени Т-лимфоцити се размножуваат во МЛР освен доколку едната популација се направи нереактивна со третирање со митомицин Ц или со смртоносна доза рендгенско зрачење (слика 14-16). Во последниов систем, наречен еднонасочна МЛР, нереактивната популација обезбедува стимулаторни клетки што прикажуваат алопротивгени кои се туѓи за Т-клетките чиј одговор се испитува. Во период од 24 до 48 часа, реактивните Т-клетки започнуваат со делење во одговор на алопротивгените од стимулаторните клетки, а по 72 до 96 часа, се создава растечка популација на функционални ЦТЛ. Во овој експериментален систем, функционални ЦТЛ може да се создадат целосно ин витро, по што нивната активност може да се мери со разни ефекторни анализи.

Значајната улога на Тпо клетките во еднонасочниот МЛР може да се претстави со употребата на противтелата кон обележувачот КД4 од мембраната на Тпо клетки. Во еднонасочната МЛР, реактивните Тпо клетки препознаваат алогени ГТК молекули од класа 2 во стимулаторните клетките и се размножуваат во одговор на овие разлики. Остранувањето



СЛИКА 14-16 Еднонасочна мешана лимфоцитна реакција (МЛР). (а) Оваа анализа го мери размножувањето на лимфоцитите од еден сој (клетките кои реагираат) во одговор на алогени клетки кои се рендгенски озрачени или биле третирани со митомицин Ц за да се спречи нивното размножување (стимулаторни клетки). Количеството на [^{3}H] - тимидин кој се вградува во ДНК е директно пропорционално со степенот на размножување на реактивните клетки. (б) Количеството на вграден [$^+$H] – тимидин при еднонасочната МЛР зависи од степенот на разлики во ГТК молекулите од класа 2 помеѓу стимулаторните и реактивните клетки. Крива 0 = нема разлики кај ГТК молекулите од класа 2, крива 1 = една разлика кај ГТК молекулите од класа 2, крива 2 = две разлики кај ГТК молекулите од класа 2. Овие резултати покажуваат дека колку е поголем бројот на разликите кај ГТК молекулите од класа 2, толку е поголем степенот на размножување на реактивните клетки.

на КД4$^+$ Тпо клетки од реактивната популација со против-КД4 плус комплемент ја анулира МЛР и спречува создавање на ЦТЛ. Покрај Тпо клетки, помагачки клетки како што се стеблестите клетки, се неопходни за да продолжи МЛР. Кога прилепените клетки се отстранат од стимулаторната популација, размножувањето на реактивните клетки во МЛР исчезнува и повеќе не се создаваат функционални ЦТЛ. Функцијата на овие помагачки клетки е да ги активираат Тпо клетки спрегнати со ГТК од класа 2, чие размножување се мери со МЛР. Во отсуство на активирање на Тпо клетките, нема размножување.

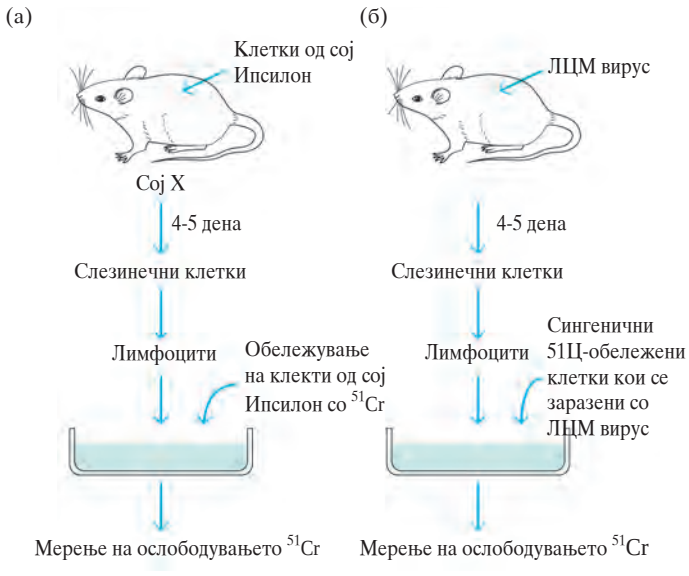
Активноста на ЦТЛ може да се покаже со КПЛ

Развојот на анализата **клеточно посредувана лимфолиза (КПЛ)** претставуваше голем експериментален напредок кој придонесе за разбирање на механизмот на убивање на целната клетка од ЦТЛ. Во оваа анализа, соодветни целни клетки внатреклеточно се означени со хром-51 (^{51}Cr) преку инкубирање на целните клетки со $Na_2{}^{51}CrO_4$. По дифундирањето на ^{51}Cr во клетката, тој се врзува за цитоплазматските протеини, намалувајќи ја пасивната дифузија на обележувачот надвор од клетката. Кога специфично активираните ЦТЛ се инкубираат во траење од 1 до 4 часа со такви означени целни клетки, клетките се разградуваат и се ослободува ^{51}Cr. Количеството на ослободениот ^{51}Cr се директно корелира со бројот на целни клетки кои се разградени од страна на ЦТЛ. Со помош на оваа анализа, е прикажана специфичноста на ЦТЛ за алогени клетки, туморски клетки, вирусно заразени клетки и хемиски модифицирани клетки (14-17).

Т-клетките кои се одоговорни за КПЛ се откриени со селективно отстранување на различни Т-клеточни суппопулации со помош на разградување предизвикано од противтело плус комплемент. Во основа, активноста на ЦТЛ прикажува спрегнатост со ГТК молекулите од класа 1; тоа значи дека тие можат да убиваат само целни клетки кои прикажуваат противген кој е поврзан со сингенични ГТК молекули од класа 1. Сепак, покажано е дека повремено, КД4$^+$ Тпо клетките можат да функционираат како ЦТЛ спрегнати со класа 2 молекули.

Реакцијата ППД (пресадок против домаќин) е показател за клеточно посредуваната цитотоксичност

Реакцијата пресадок-против-домаќин (ППД) се развива кога имунокомпетентни лимфоцити се внесат во алоген примател чиј имун систем е компромитиран. Бидејќи дарителот и примателот



СЛИКА 14-17 Ин витро анализа на клеточно посредуваната лимфолиза (КПЛ). Оваа анализа може да ја измери активноста на цитотоксичните Т-лимфоцити (ЦТЛ) против алогени клетки (а) или вирусно заразени клетки (б). Во двата случаја ослободувањето на ^{51}Cr во супернатанот укажува на присуство на ЦТЛ кои можат да ги разградат целните клетки.

генетски не се идентични, пресадените лимфоцити започнуваат да го напаѓаат домаќинот, а компромитираниот имун систем на домаќинот го спречува имуниот одговор кон пресадокот. Кај луѓе, рекцијата ППД често се развива по пресадување на косекната срцевина кај пациенти кои биле изложени на зрачење или кои имаат леукемија, болести на имунонедостаток или авотимуни анемии. Клиничките манифестации на ППД одговорот вклучуваат дијареја, кожни исипи, жолтица, зголемување на слезината и смрт. Епителните клетки од кожата и гастроинтестиналниот тракт често стануваат некротични, предизвикувајќи кожата и тенкоцревниот слој да се лупат.

Експериментално гледано, ППД реакциите се развиваат кога имунокомпетентните лимфоцити се пренесуваат во алогени неонатални или рендгенски озрачени животни. Примателите, особено неонаталните, често имаат губиток на телесната тежина. Пресадените лимфоцити во основа се пренесуваат во голем број на органи, вклучувајќи ја слезината, каде почнуваат да се размножуваат во одговор на алогените ГТК противгени од домаќинот. Ова размножување предизвикува прилив на клетки од домаќинот и доведува до видливо зголемување на слезината, или спленомегалија. Интензитетот на ППД одговорот може да се процени со пресметување *индексот на слезината*:

$$\text{Индекс на слезина} = \frac{\text{тежина на експерименталната слезина/целосната телесна тежина}}{\text{тежина на контролната слезина/целосната телесна тежина}}$$

Индексот на слезината со вредност од 1,3 или поголем се смета за показател на позитивен ППД одговор. Зголемувањето на слезината се јавува како резултат на размножување и на КД4$^+$ и на КД8$^+$Т клеточните популации. Исто така е покажано дека и КПУ клетките играат улога во ППД одговорот и овие клетки може да придонесат за некои од кожните лезии и оштетувањата на тенкоцревниот ѕид.

Резиме

- Клеточно посредуваната гранка од имуниот систем вклучува два вида на противген-специфични ефекторни клетки: цитотоксични Т-лимфоцити (ЦТЛ) и КД4$^+$ Т-клетки. Во споредба со неискусните Тпо и ТцТ-клетки, ефекторните клетки полесно се активираат, прикажуваат повисоки нивоа на клеточни лепливи (атхезивни) молекули, имаат различни модели на движење и создаваат растворливи и мембрански ефекторни молекули.
- Првата фаза од ЦТЛ-посредуваниот имун одговор вклучува активирање и размножување на ТцТ-клетки, наречени ЦТЛ претходници (ЦТЛ-П). Деталите за процесот на активирање, како што е вклучувањето на Тпо1, остануваат непознати.
- Противген-специфичните КД8$^+$популации може да се утврдат и да се следат преку означување со ГТК тетрамери.
- Втората фаза нод ЦТЛ-посредуваниот одговор вклучува неколку чекори: ТКР-ГТК посредувано препознавање на целните клетки, создавање конјугат ЦТЛ-целна клетка, преместување на ЦТЛ цитоплазматските зрнца кон целната клетка, ослободување на зрнцата, создавање пори во мембраната на целната клетка, одделување на ЦТЛ од целта и смрт на целната клетка.
- ЦТЛ поттикнува клеточна смрт преку два механизми: патеката перофорин/гранзим и патеката Фас/ФасЛ.
- Разни неспецифични (не спрегнати со ГТК) цитотоксични клетки (КПУ, неутрофили, еозинофили, макрофаги) исто така можат да убиваат целни клетки. Голем број од овие клетки се врзуваат за Фк подрачјето од противтелото во целните клетки и последователно ослободуваат литички ензими, перфорин или ТНФ, кои ја оштетуваат мембраната на целната клетка, процес наречен противтелно зависна клеточно посредувана цитотоксичност (ПЗКЦ).
- КПУ посредуваат во разградување туморските клетки и вирусно заразените клетки преку создавање пори со помош на перфорин, механизам кој е сличен на механизмот кој го користат ЦТЛ.
- КПУ-клеточните рецептори спаѓаат во две структурни групи: рецептори во вид на лектин и рецептори во вид на Иг. Активирачките или инхибиторните рецептори спаѓаат во двете групи. При поврзување со нивните лиганди, КПУ-клеточните рецептори пренесуваат сигнали преку ИТАМ (активирачки) и ИТИМ (инхибиторни).
- Прикажувањето на релативно високи нивоа на ГТК молекули од класа 1 во здравите клетки ги заштитува од убивањето посредувано од КПУ. КПУ-клеточното убивање се регулира преку рамнотежата помеѓу позитивните сигнали создадени со поврзување на активирачките рецептори и негативните сигнали од инхибиторните рецептори.
- КПУТ клетките имаат особини кои се заеднички со Т-лимфоцитите и КПУ клетките, повеќето од нив прикажуваат непроменлив ТКР и обележувачи кои се заеднички со КПУ.

Референции

Behrens, G., et al. 2004. Helper T cells, dendritic cells and CTL immunity. *Immunology and Cell Biology* **82**:84.

Bossi, G., and G. M. Griffiths. 2005. CTL secretory lysosomes: biosynthesis and secretion of a harmful organelle. *Seminars in*

Immunology **17**:87.

Haddad, E., et al. 1995. Treatment of Chediak-Higashi syndrome by allogeneic bone marrow transplantation: report of 10 cases. *Blood* **11**:3328.

Klenerman, P., et al. 2002. Tracking T cells with tetramers: new tales from new tools. *Nature Reviews Immunology* **2**:263.

Lekstrom-Himes, J. A., and J. I. Gallin. 2000. Advances in immunology: immunodeficiency diseases caused by defects in phagocytes. *New England Journal of Medicine* **343**:1703.

Parham, P. 2005. MHC class I molecules and KIRs in human history: health and survival. *Nature Reviews Immunology* **5**:201.

Rajagopolan, S., and E. Long. 2005. Understanding how combinations of HLA and KIR genes influence disease. *Journal of Experimental Medicine* **201**:1025.

Russell, J. H., and T. J. Ley. 2002. Lymphocyte-mediated cytotoxicity. *Annual Review of Immunology* **20**:370.

Van Kaer, L., and S. Joyce. 2005. Innate immunity: NKT cells in the spotlight. *Current Biology* 15:R430.

Waterhouse, N. J., et al. 2004. Cytotoxic lymphocytes: instigators of dramatic target cell death. *Biochemical Pharmacology* **68**:1033.

Корисни веб-страници

http://www.cellsalive.com/ctl.htm

Оваа потстраница на Cells Alive поседува видео на цитотоксични Т-лимфоцити (ЦТЛ) кои препознаваат, напаѓаат и убиваат многу поголеми целни клетки кои се заразени со инфлуенца.

Прашања за учење

Прашање од клинички фокус. Една наследена комбинација на КИР и ГТК гените води до зголемена осетливост на форма на артритис. Дали мислите дека ова е придизвикано од зголеменото активирање на активноста на КПУ или намаленото активирање? Дали зголемената осетливост кон дијабетес може да се објасни по истата логика? Објаснете.

1. Наведете кој од следниве искази е точен или неточен. Ако мислите дека одреден исказ не е точен, објаснете зошто.
   а. Цитокините може да регулираат која гранка од имуниот систем се активира.
   б. ЦТЛ и КПУ ослободуваат перофорин по стапување во меѓудејство со целните клетки.
   в. Активирањето на неискусните ЦТЛ-П од страна на противгенот бара костимулаторен сигнал кој се доставува по меѓудејство помеѓу КД28 и Б7.
   г. ЦТЛ користат само еден механизам за убивање на целните клетки.
   д. Секрецијата на одредени клучни цитокини е основата на улогата која ја играат Т-клетките во реакциите на преосетливост од одложен тип (ДТХ).
2. Имате моноклонско противтело кое е специфично за ЛФА-1. Извршувате КПЛ анализи на ЦТЛ клонот, со употреба на целни клетки за кои клонот е специфичен, во присуство или отсуство на ова противтело. Предвидете ги релативните количини на ^{51}Cr кој се ослободува при двете анализи. Објаснете го вашиот одговор.
3. Одлучувате да кокултивирате лимфоцити од соевите кои се наведени во следната табела со цел да ја набљудувате мешана лимфоцитна рекација (МЛР). Во секој од случаите, наведете која популација на лимфоцити очекувате дека ќе се размножува.

популација 1	популација 2	Размножување
C57BL/6 (H-2^b)	CBA (H-2^k)	
C57BL/6 (H-2^b)	CBA (H-2^k) Третирана со митомицин-Ц	
C57BL/6 (H-2^b)	(CBA X C57BL/6)F1 (H-2 $^{k/b}$)	
C57BL/6 (H-2^b)	C57L (H-2^b)	

4. Во мешана лимфоцитна реакција (МЛР), вградувањето на [^{3}H] – тимидинот често се користи за оценување на размножувањето на клетките.
   а. Кој вид на клетки се размножува во МЛР?
   б. Како може да го докажете идентитетот на клетката која се размножува?
   в. Објаснете зошто создавањето на ИЛ-2 може исто така да се употреби за проценка размножувањето на клетките во МЛР.
5. Наведете дали некоја од карактеристика која е наведена подолу е присутна кај Тпо клетките, ЦТЛ, или и двете Тпо клетки и ЦТЛ, или пак кај ниеден вид од овие клетки.

   а. _____ Може да создаде ИФН-гама.
   б. _____ Може да создаде ИЛ-2.
   в. _____ Е спрегната со ГТК од класа 1.
   г. _____ Прикажува КД8.
   д. _____ Е потребен за активирање на Б-клетките.
   ѓ. _____ Е цитотоксичен за целните клетки.
   е. _____ Претставува главната размножувачка клетка кај МЛР.
   ж. _____ Претставува ефекторна клетка при анализата на КПЛ.
   з. _____ Е спрегната со ГТК од класа 2.
   s. _____ Прикажува КД4.
   и. _____ Прикажува КД3.
   ј. _____ Се прилепува за целните клетки со ЛФА-1.
   к. _____ Може да го прикажува рецепторот за ИЛ-2.
   л. _____ Прикажува Т-клеточен рецептор алфа-бета.
   љ. _____ Претставува главна цел на ХИВ.
   м. _____ Реагира само на растворливи противгени
   н. _____ Создава перофирин
   њ. _____ Прикажува лиганд КД40 врз неговата површина.

Извор на подготвени клетки од слезината	Ослободување ^{51}Cr од целните клетки кои се заразени со ЛЦМ			
	B10.D2 (H-2^d)	B10 (H-2^b)	B10.BR (H-2^k)	(BALB/c X B10) F1 (H-2$^{b/d}$)
B10.D2 (H-2^d)				
B10 (H-2^b)				
BALB/c (H-2/b^d)				
BALB/c X B10 (H-2$^{b/d}$)				

6. Глувците од неколку различни генетски чисти соеви се заразени со ЛЦМ вирусот, а неколку дена подоцна клетките од нивната слезина се изолирани. Одредена е способноста на подготвените клетки од слезината да разградуваат ЛЦМ-заразени, ^{51}Cr-означени целни клетки од разните соеви. На табелата од долниот дел од страна 369, означете со (+) или (-) дали клетките од слезината кои се наведени во левата колона ќе предизвикуваат ослободување на ^{51}Cr од целните кклетки кои се наведени како наслови во горниот дел од табелата.
7. Глушец е инфициран со инфлуенца вирусот. Како ќе процените дали глушецот има Тпо и ТцТ-клетки кои се специфични за инфуленца?
8. Објаснете зошто КПУ од даден домаќин ќе убиваат многу видови на вирусно заразени клетки, но не ги убиваат здравите клетки од домаќинот.
9. Разгледајте ги следниве генетски модифицирани глувци и предвидете го резултатот од наведените постапки. Глувците Х-2$^{\partial}$ кај кои се отстранети гените за перфорин и Фас-лигандот се имунизирани со ЛЦМ вирусот. Една недела по имунизацијата, Т-клетките од овие глувци се земени и тестирани за цитотоксичност по следниов распоред:
   а. Целни клетки од здрави Н-2^{б} глувци кои се заразени со LCM.
   б. Целни клетки од здрави Х-2$^{\partial}$ глувци.
   в. Целни клетки од Х-2$^{\partial}$ глувци кај кои се отстранети перфоринот и Фас-лигандот.
   г. Целни клетки од здрави Х-2$^{\partial}$ глувци кои се заразени со ЛЦМ.
   д. Целни клетки од Х-2$^{\partial}$ глувци кај кои се отстранети перфоринот и ФасЛ.
10. Сакате да го одредите нивото на Т-клетки кои се спрегнати со ГТК класа 1 кај ХИВ-инфицирано лице, кои се специфични за пептидот создаден од гп120, компонента на вирусот. Претпоставете дека го знаете ХЛА типот на лицето. Кој метод ќе го користите и како ќе ги извршите анализите? Бидете колку што е можно поспецифични.
11. Наведете кој од следиве искази што се однесува на Фас-посредуваната програмирана клеточна смрт е точен или неточен. Ако мислите дека одреден исказ не е точен, објаснете зошто.

а. На крај доведува до смрт на клетката.
б. Меѓудејството на Фас лигандот и неговиот рецептор доведува до регрутирање на адаптерните протеини во целната клетка.
в. Каспазната скала доведува до разградување на протеините во целната клетка.
г. Врзувањето на Фас лигнадот со Фас рецепторот го стимулира специфичниот Г протеин.
д. Каспазата-8 може да се активира со ФАДД или гранзимите.
ѓ. ФасЛ (Фас лигнад) се прикажува врз целната клетка.

12. КПУ не прикажуваат ТКР молекули, а сепак се врзуваат за ГТК молекули од класа 1 во потенцијалните целни клетки.

а. Објаснете како КПУ кои имаат недостаток на ТКР можат да препознаат заразени клетки.
б. Кој механизам го користат КПУ за да ги убијат целните клетки.
в. Од кои претходници настануваат КПУ?

13. ПЗКЦ зависи од создавањето противтела коишто ги препознаваат целните клетки. Опишете ги последиците доколку се создадат противтела против противгените изразени во нормалните клетки како и во инфицираните клетки.

Анализирање податоци Е. Џегер и колегите изолирале противген од тумор кај пациент кој прикажувал ХЛА-А2. За да го карактеризираат клеточно посредуваниот имун одговор на пациентот против туморскиот противген, испитувачите создале серија од пептидни фрагменти од туморскиот противген и ги пулсирале Т2 клетките со овие пептиди. Потоа го измериле одговорот на ЦТЛ од пациентот против секоја од овие цели. Врз база на податоците и од она што сте го научиле од текстот одговорете на следниве прашања.

а. Кој/и епитоп(и) од туморскиот противген биле препознати од Т-клетките според овие истражувачи? Објаснете го вашиот одговор.
б. Имунолозите утврдиле прикачувачки остатоци на молекулите ХЛА-А2 кои се најзначајни за прикажување на противгенот. Кои аминокиселини најверојатно ќе се врзат за ХЛА-А2 прикачувачките остатоци ако аминокиселините мора да се конзервирани? Објаснете го вашиот одговор.
в. Некои од пептидите кои биле испитани од страна на испитувачите се слабо имуногени. Едно објаснување е дека помалку имуногените пептиди може неефективно да се врзат за прикачувачките остатоци. Предложете друга, но разумна хипотеза за да објасните зошто дел од пептидите се слабо имуногени.
г. Испитувачите ги пулсирале Т2 клетките со пептиди и користеле ЦТЛ од периферната крв на пациентот за да извршат ЦТЛ анализа. Каков ХЛА-А молекул ќе прикажуваат Т2 клетките? Објаснете го вашиот одговор.
д. На кој начин пептидот 2 е невообичаен епитоп?

Пептидни фрагменти кои потекнуваат од противгенот кој е изолиран од туморот

Број	Секвенца на пептид	Позиција	Специфично разградување
1	SLAQDAPPLPV	108-118	0
2	SLLMWITQCFL	157-167	55
3	QLSISSCLQQL	146-156	1
4	QLQLSISSCLQQL	144-153	1
5	LLMWITQCFL	158-167	15
6	RLTAADHRQL	136-145	5
7	FTVSGNILTI	126-135	1
8	ITQCFLPVFL	162-171	1
9	SLAQDAPPL	108-116	3
10	PLPVPGVLL	115-123	1
11	WITQCFLPV	161-169	5
12	SLLMWITQC	157-165	78
13	RLLEFYLAM	86-94	7
14	SISSCLQQL	148-156	6
15	LMWITQCFL	159-167	4
16	QLQSISSC	144-152	1
17	CLQQLSLLM	152-160	1
18	QLSLLMWIT	155-163	84
19	NILTIRLTA	131-139	2
20	GVLLKEFTV	120-128	3
21	ILTIRLTAA	132-140	12
22	TVSGNILTI	127-135	4
23	GTGGSTGDA	1-15	9
24	ATPMEAELA	97-105	1
25	FTVSGNILT	126-134	1
26	LTAADHRQL	137-145	9

[1]Специфичното разградување е релативна мерка за литичката активност.



Интерактивно учење

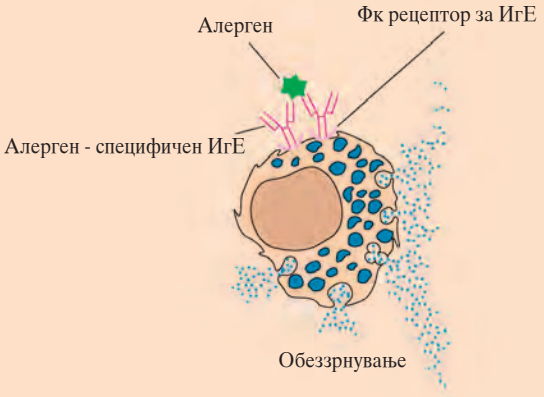
www.whfreeman.com/cuby



Самостоен тест
Преглед на клучни изрази

Поглавје 15

Реакции на преосетливост



Иг-Е-посредувана или тип 1 преосетливост .

- Класификацијата на Гел и Кумбс
- Иг-Е посредувана(тип 1) преосетливост
- Противтело-посредувана цитоксична (тип 2) преосетливост
- Преосетливост посредувана од имуни комплекси (тип 3)
- Тип 4 или преосетливост од одложен тип (ПОТ) (delayed-type hypersensitivity = DTH)

Имунот одговор мобилизира група на ефекторни молекули кои дејствуваат за го отстранат противгенот преку разните механизми кои се објаснети во претходните поглавја. Во основа, овие ефекторни молекули предизвикуваат локализиран воспалителен одговор кој го отстранува противгенот без значително да настане оштетување на ткивото од домаќинот. Сепак, под одредени околности, воспалителниот одговор може да има штетни ефекти, што како резултат ќе има сериозно оштетување на ткивото, сериозно заболување или дури и смрт. Ваквиот несоодветен и штетен имун одговор е наречен **преосетливост**. Иако зборот *преосетливост* подразбира зголемен одговор, имуниот одговор не мора секогаш да е засилен, туку наместо тоа може да биде несоодветен одговор на противген.

Дека имуниот систем може несоодветно да одговори на нападот од противгените беше за прв пат забележано во раните години од дваесеттиот век. Двајца француски научници, Пол Портиер и Чарлс Ричет, го истражувале проблемот на капачите во Медитеранот кои жестоко регирале на убодите од еден вид на португалската медуза. Портиер и Ричет заклучиле дека локализираниот одговор на капачите бил резултат на отрови. За да се спротистават на оваа рекација, научниците експериментирале со употребата на изолирани отрови од медузата во вид на вакцини. Првите обиди биле со катастрофални резултати. Портиер и Ричет ги вакцинирале кучиња со прочистени отрови, за да им дадат подоцна уште една ревакцина. Наместо на ревакцинацијата да реагираат со создавање противтело против отровот, кучињата веднаш реагирале со повраќање, проливи, асфиксија (состојба на намалена количина на кислород во крвта поради спречување на дишењето) и смрт. Јасно е дека ова било пример каде животните „прекумерно реагираат“ на противгенот. За да го објасни овој прекумерен одговор Ричет го создал изразот *анафилакса*, произволно преведен од грчкиот јазик кој требало да има спротивно значење од *профилакса*,. Ричет подоцна беше награден со Нобелова награда за физиологија или медицина во 1913 година за откритието на анафилаксата.

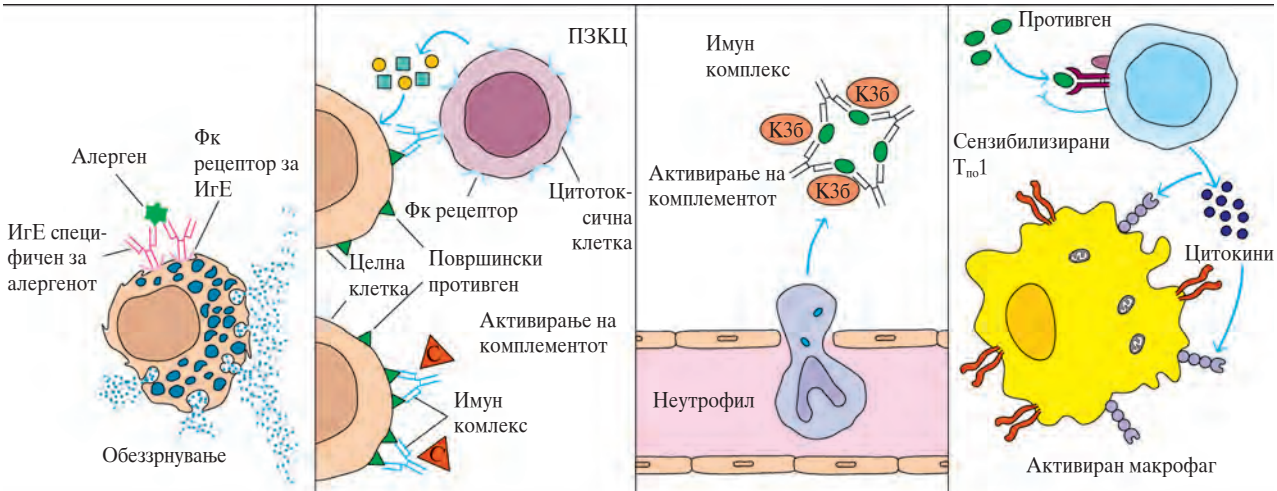
Реакциите на преосетливост може да се развијат и во текот на хуморалниот и во текот на клеточно посредуваниот имун одговор. Анафилактичките реакции поттикнати од противтелото или комплексите противген-противтело се наречени **непосредна преосетливост**, бидејќи симптомите се манифестираат за неколку минути или часови по контактот на сензибилизираниот организам со противгенот. **Преосетливоста од одложен тип (ПОТ)** е наречена така според откривањето на симптомите кои можат да се јават и по неколку дена по изложувањето. Ова поглавје ги разледува механизмите и последиците од четирите првичните типови на реакции на преосетливост.

Класификацијата на Гел и Кумбс

Реакциите на хиперсензитивност може да се разликуваат по типот на имуниот одговор и разликите во ефекторните молекули кои се создаваат во текот на одговорот. Кај непосредните реакции на преосетливост, различните изотипови на противтелата предизвикуваат создавање на специфични имуни ефекторни молекули. На пример, ИгЕ противтелата предизвикуваат обеззрнување на мастоцитите со ослободување на хистаминот и други биолошки активни молекули. Наспроти тоа, ИгГ и ИгМ противтелата предизвикуваат реакции на преосетливост преку активирање на комплементот. Ефекторните молекули кај реакциите на комплементот е мембрана-напаѓачкиот комплекс и анафилактичките продукти К3а и К5а, кои се добиваат со цепењето на комплементот. Кај реакции на преосетливост од одложен тип, ефекторните молекули се различните цитокини кои се излачуваат од страна на сами активирани $Т_{по}$ и $Т_{цТ\text{-клетки}}$.

Како што стана јасно дека различни имуни механизми учествуваат во создавањето реакциите на преосетливост, П. Г. Х. Гел и Р. Р. А. Кумбс предложија класификациска шема во која

ДЕТАЛНА СЛИКА 15-1:
Четирите типови на реакции на преосетливост

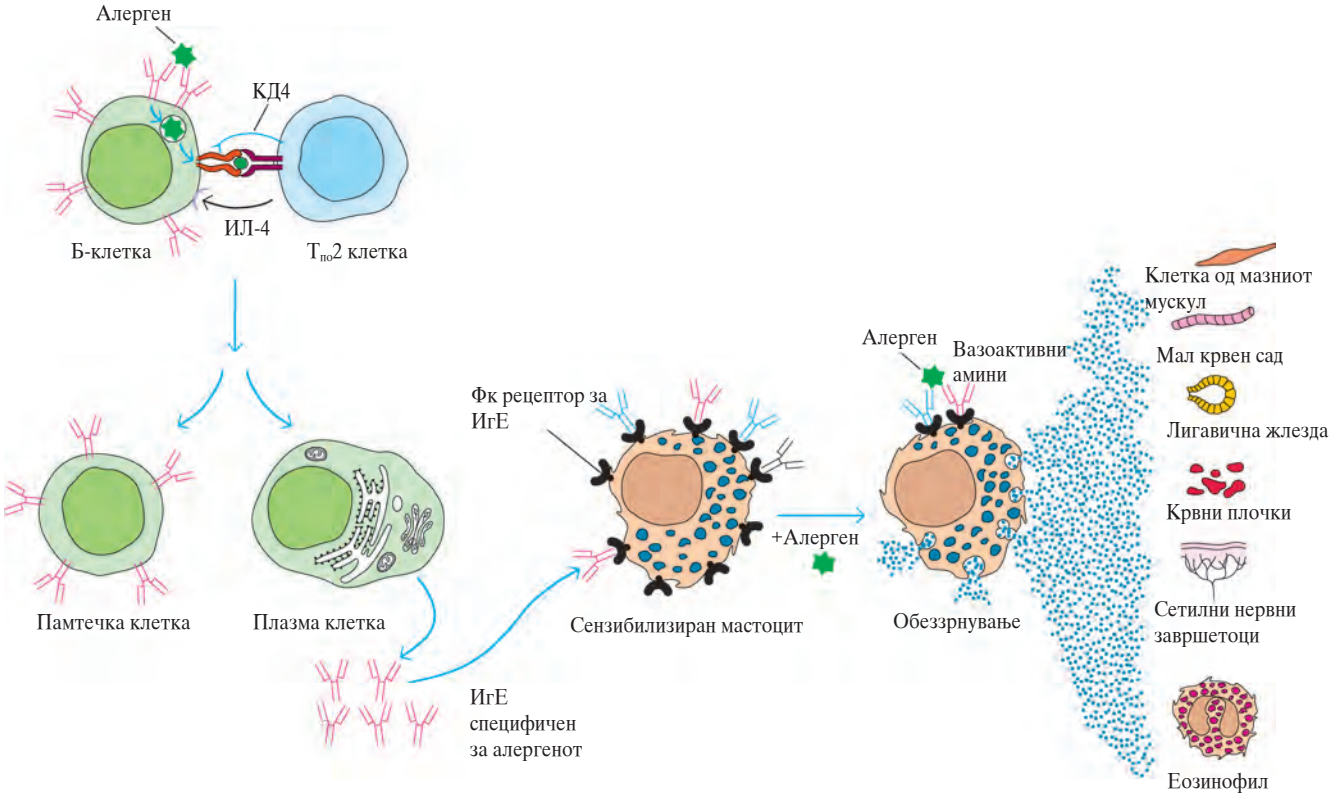


Тип 1	Тип 2	Тип 3	Тип 4
ИгЕ-посредувана преосетливост	ИгГ- или ИгМ-посредувана цитоксична преосетливост	Преосетливост посредувана со имуни комплекси	Клеточно посредувана преосетливост
Пг предизвикува премостување на ИгЕ кој е врзан за мастоцитите и базофилите, при што се ослободуваат вазоактивни посредници.	Пт насочено кон клеточните површински противгени посредува во уништувањето на клетката преку активирање на комплементот или ПЗКЦ.	Комплексите Пг-Пт кои се таложат во различни ткива предизвикуваат активирање на комплементот, што како резултат ќе има воспалителен одговор посредуван со масовно навлегување на неутрофилите.	Сензибилизираните $T_{по}1$ клетки, кои се прикажани претходно, ослободуваат цитокини кои ги активираат макрофагите или $T_{цТ\text{-клетки}}$ кои посредуваат директно клеточно оштетување. $T_{по}2$ клетките и ЦТЛ посредуваат слични одговори.
Типичните манифестации вклучуваат системска анафилакса и локална анафилакса, како што се алергијата на поленов прав, астамата, исипот, алергии на храна и егземот.	Типичните манифестации вклучуваат реакции при трансфузија на крв, хемолитична болест на новородено (erythroblastosis fetalis) и авотимуни хемолитички анемии.	Типичните манифестации вклучуваат локализирана Артусова реакција и генерализирани реакции, какви што се серумската болест, некротизирачкото воспаление на крвните садови, гломерулонефиритот, ревматоидниот артрит и системскиот лупус еритематозус.	Типичните манифестации вклучуваат контактно воспаление на кожата (дерматит), туберкулозни оштетувања и отфрлање на пресадокот.

реакциите на преосетливост се делат во четири групи. Три типа на преосетливост се јавуваат во хуморалниот дел од имунитетот и се посредувани од противтелата или од комплексите противген-противтело: ИгЕ-посредувани (тип 1), противтело-посредувани (тип 2) и посредувани од имуни комплекси (тип 3). Четвртиот тип на преосетливост е зависен од активирањето на Т-клетките од клеточниот дел од имунитетот и се нарекува преосетливост од одложен тип или ПОТ (тип 4). Секој од овие типови вклучува различни имуни механизми, клетки и посредувачки молекули (слики 15-1). Класификационата шема на Гел и Кумбс одигра значајна улога во утврдувањето на разликите во патолошките имуни механизми и во карактеристиките на оштетувањето на ткивата кај различните реакции на преосетливост. Сепак, важно е да се нагласи дека сложеното испреплетување на хуморалните и клеточно посредуваните имуни реакции и ефекторни механизми, кое е често присутно кај клиничките манифестации на реакциите на преосетливост, ги прави нејасни границите меѓу овие четири категории.

ИгЕ-посредувана преосетливост (тип 1)

Реакцијата на преосетливост од тип 1 е предизвикана од одредени типови на противгени наречени **алергени** и ги има сите белези на нормален хуморален одговор. Тоа значи дека алергенот го поттикнува хуморалниот противтелен одговор преку истите оние механизми кои се објаснети во Поглавје 11 за другите растворливи противгени, што резултира со создавање на памтечки клетки и плазма клетки кои лачат противтела. Она што ја разликува тип1 ракцијата на преосетливост од нормалниот хуморален одговор е тоа што плазма клетките лачат ИгЕ (види Поглавје 4) како одговор на активирањето на алерген-специфичните $T_{по}2$ клетки. Оваа класа на противтело се врзува со висок афинитет за **Фк рецепторите** врз површината на ткивните мастоцити и крвните базофили. За мастоцитите и базофилите кои се обвиткани со ИгЕ се вели дека се сензибилизирани. Подоцнежното изложување на истиот



СЛИКА 15-2 Општиот механизам кој лежи во основа на непосредните реакции од тип 1 на преосетливост. Изложувањето на алергенот ги активира $T_{по}2$ клетки кои ги стимулираат Б-клетките да создаваат плазма клетки кои лачат ИгЕ. Излачените ИгЕ молекули се врзуваат за ИгЕ-специфичните Фк рецептори (Фк епсилонР1) на мастоцитите и крвните базофили. (Голем број на ИгЕ молекули со разновидни специфичности можат да се врзат за Фк епсилонР1). Вторичното изложување на алергенот води до премостување на врзаниот ИгЕ, предизвикувајќи ослободување на фармаколошки активните посредници (вазоактивни амини) од мастоцитите и базофилите. Овие посредниците предизвикуваат грчење на мазните мускули, зголемена пропустливост на крвните садови и зголемување на нивниот лумен.

алерген доведува до премостување на мембрански врзаните ИгЕ на сензибилизираните мастоцити и базофили, предизвикувајќи нивно **обеззрнување** (слика 15-2). Фармаколошки активните посредници ослободени од зрнцата дејствуваат врз околните ткива. Главните ефекти - ширењето на луменот на крвните садови (вазодилатација) и грчењето на мазните мускули - може да бидат системски или локализирани, во зависност од количината на ослободените посредници. Денес, изразот **алергија** се користи како замена за тип 1 на преосетливост.

Постојат неколку заеднички компоненти на реакциите од тип 1

Сликата 15-2 ги прикажува општите компоненти кои се значајни за развојот на реакциите на преосетливост од тип 1. Во овој дел, најпрвин ќе ги разгледаме овие заеднички компоненти. Во понатамошните делови ќе го објасниме мехазнимот на обеззрнување, биолошки активните посредници, клиничките манифестации и терапевтските приоди кај тип 1 реакциите.

Алергени

Повеќето од луѓето создаваат значаен ИгЕ одговор само како одбрана против паразитарни инфекции. Откога едно лице ќе се изложи на паразит, нивото на серумскиот ИгЕ се зголемува и останува високо сè додека паразитот успешно не се отстрани од телото. Сепак, одредени лица можат да имаат абнормалност која се нарекува **атопија**. Атопијата претставува наследна предиспозиција кон развој на непосредните реакции на преосетливост кон вообичаените противгени кои се наоѓаат во околината. Овие дефекти во регулацијата на ИгЕ, од кои страдаат атопичните лица, им овозможува на непаразитските противгени да стимулираат несоодветно создавање ИгЕ, што доведува до појава на тип 1 на преосетливост која ги оштетува ткива. Поимот *алерген* се однесува специфично на оние непаразитските противгени кои се способни да стимулираат појава на реакциите на преосетливост од тип 1 кај алергичните лица на повтореното изложување на алергенот.

Абнормалниот ИгЕ одговор кај атопичните лица има силна генетска компонента, односно почесто се јавува во некои фамилии. Атопичните лица имаат абнормално високи нивоа на циркулирачки ИгЕ и зголемен број на циркулирачки еозинифили. Овие лица се поприфатливи за алергиите, како што се на пример поленската грозница, егземот и астмата. Со помош на анализата на генската поврзаност најдено е дека генетската склоност кон атопичниот одговор се должи на неколку кандидат локуси. Еден од локусите, сместен на 5 хромозом, е поврзан со подрачјето кое кодира голем број на цитокини, вклучувајќи ги тука и ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-9, ИЛ-13 и гранулоцитно-моноцитниот колонии стимулирачки фактор (ГМ-КСФ), кои го поттикнуваат создавањето на ИгЕ. Друго подрачје, сместено на хромозомот 11, е поврзано со подрачје кое ја кодира бета-веригата од високоафинитетниот рецепторот за ИгЕ. ИгЕ одговорот исто така е поврзан и со

ТАБЕЛА 15-1 Најчести алергени поврзани со преосетливост од тип 1

Протеини	**Храна**
Туѓ серум	Бадеми
Вакцини	Морска храна
	Јајца
Полени од растенија	Грашок, грав
Полен од борјан	Млеко
Полен од амброзија	
Полен од мачкина опашка	**Продукти од инсекти**
Полен од бреза	Отров од пчела
	Отров од оса
Лекови	Отров од мравка
Пеницилин	Каликсот од бубашвабата
Сулфонимиди	Микрокрлежи од прашина
Локални анестетици	
Салицилати	Спори од мувла
	Влакна и првут од животини
	Латекс

гените од ГТК, кои се смесетни на 6 хромозом. Познато е дека наследената атопија е повеќегенска и дека во нејзиното настанување исто така најверојатно се вклучени и други локуси. Навистина, со анализата на сè повеќе податоци од Човековиот геномски проект (Human Genome Project), може да се каже дека се откриваат и други кандидат гени.

Повеќето алергични ИгЕ одговори настануваат врз површината од лигавичните мембрани, како одговор на алергени кои навлегуваат во телото или со вдишување или преку исхраната. Од вообичаените алергени кои се наведени во табела 15, само мал дел од нив се прочистени и каракатеризирани. Тоа се оние кои ги вклучуваат алергените од полен од борјан, поленот од амброзија, храна од риба (codfish), полен од бреза, полен од мачкина опашка, отров од пчела и латекс. (Во последниве години, зачестеноста на преосетливоста на алергените од латексот од којшто се направени ракавиците е зголемена меѓу здравствените работници и претставува пример за професионална алергија). Се покажа дека секој од овие алергени претставува повеќепротивгенски систем кој содржи одреден број на алергенски компоненти. Поленот од амброзија, главен алерген во САД, е типичен пример. Утврдено е дека 2600 квадратни метри со амброзија даваат 16 тони полен во една сезона. Затоа, сите подрачја во САД се нападнати од овој полен исто како и од поленот од дрвата кои се карактеристични за тие предели. Откога честиците од поленот ќе се вдишат, ензимите од лигавичните излачувања го растворaат нивниот тврд надворешен sид, ослободувајќи ги алергенските супстанции. Хемиското фракционирање на поленот од амброзија откри присуство на мноштво супстанции, од кои повеќето се алергенски, но без способност да поттикнат ИгМ или ИгГ одговор. Од петте фракции кои се алергенски (кои можат да предизвикаат ИгЕ одговор), две предизвикуваат алергични реакции кај 95% од лицата кои се осетливи на полен од амброзија. Овие две фракции се наречени главни алергени и се означени како Е и К фракции. Другите три, наречени Ра3, Ра4 и Ра5, се помалку значајни алергени, кои предизвикуваа алергиски одговор кај само 20% од 30% кај чувствителните лица.

Зошто некои алергени (на пример, поленот од амброзија) поттикнуваат силна $T_{по}2$ реакции и алергични одговори, додека други алергени, кои се среќаваат во еднаква количина (на пример, полен од коприва), не поттикнуваат такви реакции? Се чини дека не постои ниедна физичко-хемиска карактеристика која ги разликува високо алергенските Е и К фракции од амброзијата од помалку алергенските Ра3, Ра4 и Ра5 и од неалергенските фракции. Поточно речено, алергените како група поседуваат разнообразни особини. Одредени алергени, вклучувајќи го тука туѓиот серум и јајцевиот албумин, претставуваат силни противгени. Иако повеќето од алергените се мали, растворливи, гликолизирани протеини или супстанции кои се врзани за протеините со молекулска тежина помеѓу 15000 и 40000, напорите да се утврди доминантната биолошка карактеристика која е заедничка за сите алергени не давале успех. Се чини дека алергеноста најверојатно е поврзана со способноста за предизвикување на $T_{по}2$-посредуван имун одговор. Сето ова е резултат на комплексните серии на заемни меѓудејства во кои се вклучени не само алергенот, туку и дозата, начинот на сензибилизирање и што е најважно, генетиката на самата индивидуа.

Реагинско противтело (ИгЕ)

Како што е опишано во Поглавје 4, факторот во човечкиот серум кој реагирал со алергените најпрвин бил откриен од К. Праусниц и Х. Куснер во 1921 година. Овие истражувачи кај неалергични тест-доброволци поткожно внесувале серум од алергично лице. Подоцнежната инјекција на алергенот во местото каде претходно бил внесен серумот, предизвикала појава на црвенило и оток во таа област. Иако специфичноста на овој одговор (наречен П-К одговор) за даден алерген довела до хипотезата дека реагинските или противтелата „кои се фиксирани за кожата“ го предизвикале одговорот, ваквото нешто не можеше да се докаже сè додека не се откри постоењето на класа на противтела која е одговорна за алергиските реакции. Експериментите извршени од страна на К. и Т. Ишизака во средината од 60-тите години од дваесеттиот век покажаа дека биолошката активност на реагинските противтела кај П-К тестот може да се неутрализира со зајачкиот противсерум кој е насочен кон целиот хуман серум од атопичните лица, но не и со зајачкиот противсерум кој е специфичен за четирите класи на имуноглобулини кај луѓето кои биле познати во тоа време (ИгА, ИгГ, ИгМ и ИгД) (табела 15-2). Освен тоа, кога зајаците биле имунизирани со серум од лица кои се чувствителни на полен од амброзија, зајачкиот противсерум можел да го инхибира (неутрализира) позитивниот тест П-К за амброзија дури и по исталожувањето на зајачките противтела специфични за човечките ИгГ, ИгА, ИгМ и ИгД изотипови. Ишизака овој нов изотип го нарекол ИгЕ, со оглед на Е противгенот од амброзијата кој го користеле за неговото карактеризирање.

Кај нормалните лица, нивото на ИгЕ во серумот е најниско од сите класи на противтела и се движи од 0,1 до 0,4 мкг/мл. Атопичните лица често имаат 10 пати повисока концентрација на ИгЕ во нивниот крвоток. Ниските нивоа на серум ИгЕ ги отежнија физичко-хемиските проучувања и сè до откривањето на ИгЕ миеломот од страна на С. Г. О. Јохансон и Х. Бенич во 1967 не можеше да се изврши детална хемиска анализа на ИгЕ. Се откри дека ИгЕ е составен од две тешки епсилон-вериги и две лесни вериги со комбинирана молекулска тежина од 190000. Повисоката молекулска тежина во споредба со ИгГ (150000) се јавува како резултат од присуството на дополнителен домен во постојаното подрачје (види слика 4-13). Овој дополниетелен домен ($К_{епсилон}2$), кој го заменува зглобното подрачје кај ИгГ, придонесува за изменетата структура на Фк делот од молекулот, која му овозможува да се врзе за гликопротеинските рецептори врз површината од базофилите и мастоцитите. ИгЕ од алергичните лица се разликува од другите изотипови на противтела во ограничената селекција на $В_Т$ гените кои придонесуваат за неговото варијабилно подрачје

ТАБЕЛА 15-2 Идентификување на ИгЕ врз основа на активноста на атопичниот серум во П-К тестот

Серум	Лекување	Додаден алерген	Додаден алерген
Атопичен	Нема	–	–
Атопичен	Нема	+	+
Неатопичен	Нема	+	–
Атопичен	Зајачки противсерум кон хуманиот атопичен серум*	+	–
Атопичен	Зајачки противсерум кон хуманите ИгМ, ИгГ, ИгА и ИгД†	+	+

*Серумот од атопичното лице е внесен во зајаци за да создаде противсерум против хуманиот атопичен серум. Кога овој противсерум реагирал со хуманиот атопичен серум, ја неутрализирал П-К реакцијата.

†Серумот од атопичното лице реагира со зајачкиот противсерум кон познатите хумани класи на противтела (ИгМ, ИгА, ИгГ и ИгД) за да се отстранат овие изотипови од атопочниот серум. Вака обработениот атопичен серум продолжува да дава позитивна П-К реакција, укажувајќи дека нов изотип на имуноглобулини е одговорен за оваа реакција.
ИЗВОР: Засновано на K. Ishizaka and T. Ishizaka, 1967, Journal of Immunology 99:1187.

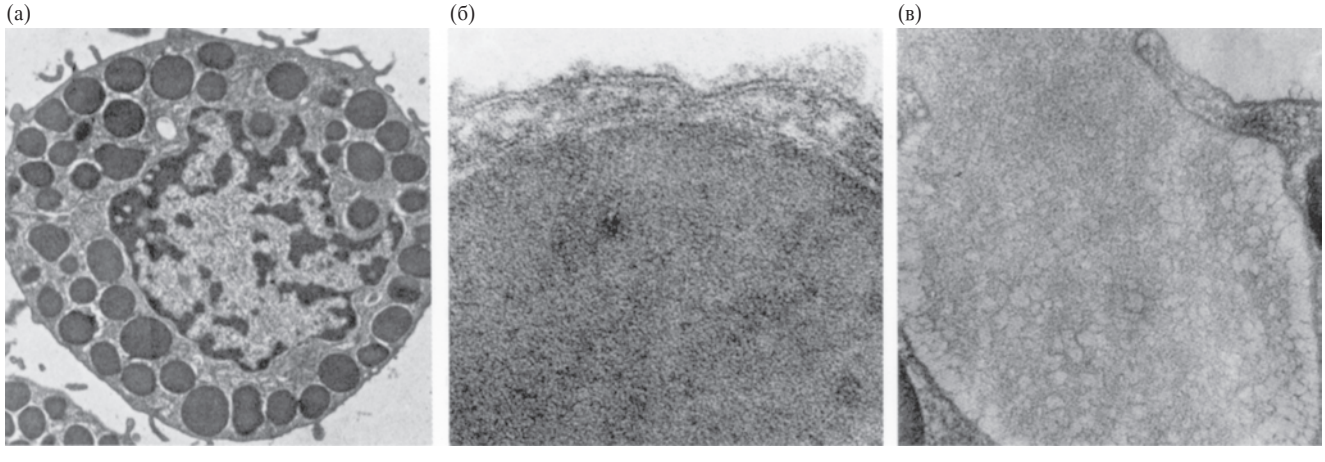
и во моделите на соматска хипермутација во неговите епсилон тешки вериги. Невообичниот B_T репертоар кај овие ИгЕ молекули е најверојатно избран од страна на комплексните карактеристики на алергенот. Иако периодот на полураспаѓање на ИгЕ во серумот е само 2 до 3 дена, ИгЕ кој е врзан за неговиот рецептор врз мастоцитите и базофилите, е стабилен во тој облик голем број недели. Опстојувањето на ИгЕ врз површината од мастоцитите може да се препише на локалното создавање на ИгЕ во лигавицата кај алергиското заболување и силното поврзување ИгЕ со неговиот рецептор.

Мастоцити и базофили

Клетките кои го врзуваат ИгЕ се идентификувани со инкубирање на човечките бели клетки и ткивните клетки или со ^{125}J-обележаниот ИгЕ миеломски протеин или со ^{125}J-обележаниот против-ИгЕ. И во двата случаја авторадиографијата откри дека обележаните сонди се врзуваат со висок афинитет за крвните базофили и мастоцити од ткивата. Базофилите се гранулоцити кои циркулираат во крвта на повеќето од ‘рбетниците. Кај луѓето тие сочинуваат од 0,5% до 1,0% од вкупниот број на белите крвни зрнца кои циркулираат во крвта. За разлика од ткивните мастоцити, циркулирачките базофилите мораат да бидат регрутирани во ткивата во областа на воспалението. Бидејќи гранулите во нивната цитоплазма се бојат со базни бои, наречени се базофили. Електронската микроскопија откри постоење на повеќесегментно јадро, неколку митохондрии, бројни гликогенски зрнца и бројни електрон-густи мембранско-врзани зрнца расштркани низ цитоплазмата, кои содржат фармаколошки активни посредници (види слика 2-9в).

Претходниците на мастоцитите се создаваат во коскената срцевина при хематопоезата и се пренесуваат во речиси сите прокрвени периферни ткива, каде се диференцираат во зрели клетки. Мастоцитите се среќаваат насекаде во сврзното ткиво, а особено близу крвните и лимфните садови и нерви. Одредени ткива, вклучувајќи ја и површината на кожата и слузницата на дишниот и гастроинтестиналниот систем, содржат високи концентрации на мастоцити. На пример, кожата содржи 10000 мастоцити на мм^3. Електронската микрографија на мастоцитите открива постоење на бројни зрнца врзани за мембраната, кои се распространети низ целата цитоплазма, која, како и цитоплазмата кај базофилите, содржи фармаколошки активни посредници (слика 15-3). По активирањето, овие посредници се ослободуваат од зрнцата, што ќе доведе до појава на клинички манифестации карактеристични за реакциите на тип 1 преосетливост.

Популациите на мастоцитите од различни анатомски области значително се разликуваат по типот и количината на



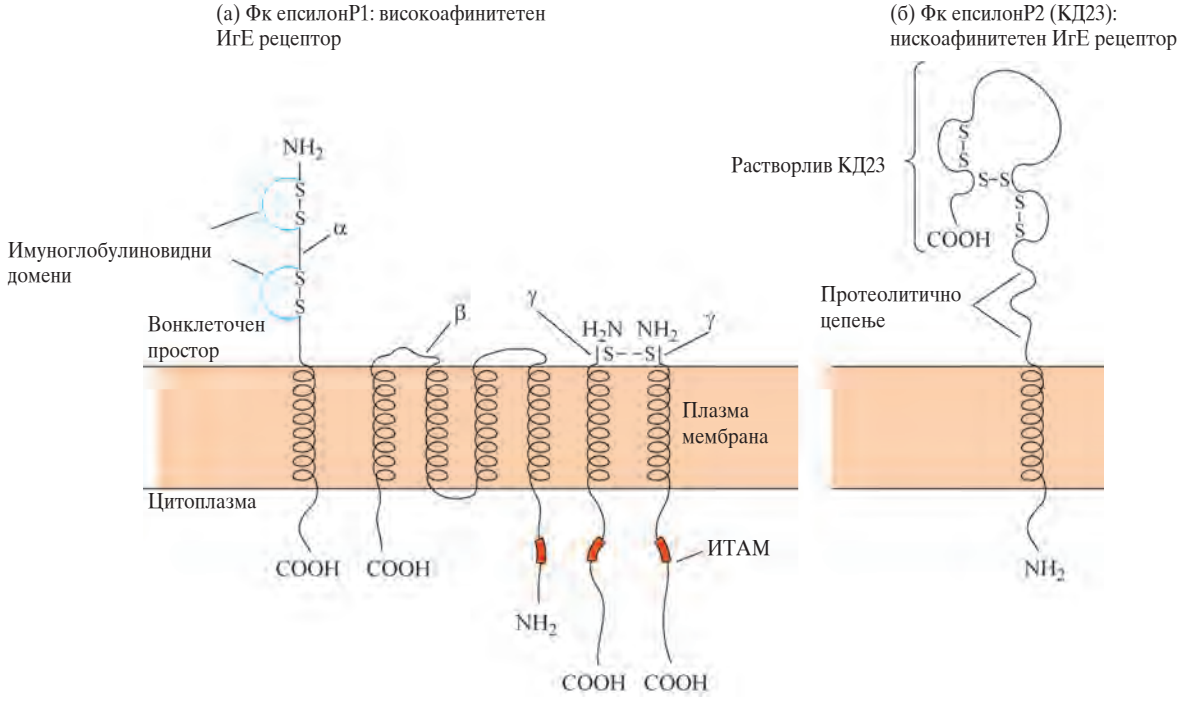
СЛИКА 15-3 Мастоцит. (а) Електронска микрографија на типичниот мастоцит открива бројни електрон-густи зрнца врзани за мембрана, кои се во состојба пред обеззрнување. (б) Зголемен приказ на неоштетено зрнце кое лежи под плазматската мембрана на мастоцитот. (в) Зрнцето ја ослободува својата содржина (насочено кон лево горе) во текот на обеззрнувањето. (*Од S. Burwen и B. Satir, 1977,* Journal of Cell Biology *73:662)*

алергенски посредници кои ги содржат и по нивната осетливост кон активирачките дразби и цитокините. Способноста на мастоцитите да се приспособат во различни фенотипови како одговор против нивната микросредина е наречена мастоцитна хетерогеност. Мастоцитите исто така лачат мноштво различни цитокини кои влијаат врз широк спектар на физиолошки, имунолошки и патолошки процеси (види табела 12-1).

ИгЕ-врзувачки Фк рецептори

Реагинската активност на ИгЕ зависи од неговата способност да се врзе за рецептор кој е специфичен за Фк подрачјето од епсилон тешката верига. Утврдено е дека постојат две класи на Фк епсилонР, високоафинитетниот Фк епсилонР1 и нискоафинитетниот Фк епсилонР2, кои се прикажуваат врз различни видови на клетки и се разликуваат до 1000 пати по нивниот афинитет за ИгЕ.

Високоафинитетен рецептор (Фк епсилонР1) Мастоцитите и базофилите нормално врз својата површина прикажуваат Фк епсилонР1, кој се врзува за ИгЕ со исклучително висок афинитет ($K_д$=1-2 X 10^{-9} М). Високиот афинитет на овој рецептор му овозможува да го врзе ИгЕ и покрај ниската серумска концентрација на ИгЕ (1 X 10^{-7} М). Бројот на Фк епсилонР1 молекулите кај човечките базофили е мошне висок, помеѓу 40000 и 90000. Се покажало дека и одреден број на други видови на клетки, иако во доста помали количини, прикажуваат Фк епсилонР1, вклучувајќи ги тука еозинофилите, Лангерхансовите клетки, моноцитите и крвните плочки. Фк епсилонР1 рецепторот на мастоцитите и базофилите е составен од четири полипептидни вериги: алфа и бета-верига и две идентични дисулфидно поврзани гама-вериги (слика 15-4а). Една друга форма на рецепторот, на кој му недостасува бета-веригата, се среќава на моноцитите и крвните плочки. Надворешното подрачје на алфа-веригата се состои од два домени од по 90 аминокиселини, кои се хомологни со здиплената имуноглобулинска структура, што го сместува овој молекул во имуноглобулинската суперфамилија (види слика 4-23). Еден Фк епсилонР1 стапува во заемно дејство со двата K_T3 домени од една ИгЕ молекул, преку имуноглобулиновидните домени од рецепторската алфа-верига. Ова заемно дејство е утврдено благодарение на разјаснетата кристална структура на алфа-веригата од Фк епсилонР1 врзана за Фк од ИгЕ. Дополнителните проучувања покажаа дека K_T2 домените од ИгЕ можат да помогнат во стабилизирањето на заемното дејство со Фк епсилонР1, или директно или индиректно. Бета-веригата четири пати ја обвиткува плазматската мембрана и се верува дека ја поврзува алфа-веригата со гама хомодимерот. Дисулфидно поврзаните гама-вериги се протегаат низ прилично голем простор во цитоплазмата и имаат главна улога во внатреклеточното пренесување на сигналот. Сите бета и гама-вериги имаат зачувана секвенца во нивниот цистозолски домен, позната како имунорецепторски тирозински заснован активирачки мотив (ИТАМ). Бета-веригата придонесува за создавањето на сигнализирачкиот комплекс. Гама-веригата е хомологна на кси-веригите од Т-клеточниот рецепторски комплекс (види слика 10-11) и на Иг-алфа/Иг-бета-вериги-



СЛИКА 15-4 Шематски дијаграми на високоафинитетните Фк епсилонР1 и нискоафинитетните Фк епсилонР2 кои се врзуваат за Фк подрачјето од ИгЕ. (а) Фк епсилонР1 се состои од алфа-верига која се врзува за ИгЕ, бета-верига која учествува во сигнализирањето и два дисулфидно поврзани гама-вериги кои се најзначајната компонента во пренесувањето на сигналот. Бета и гама-веригите содржат цитоплазматски ИТАМ, мотив којшто исто така е присутен и кај Иг-алфа/Иг-бета хетеродимерот од Б-клеточниот рецептор и кај Т-клеточниот рецепторски комплекс. (б) Фк епсилонР2 со една верига е невообичаен бидејќи е ориентиран кон мембраната со неговиот амино-краен дел насочен кон внатрешнината на клетката и со неговиот карбокси-краен дел насочен кон вонклеточниот простор.

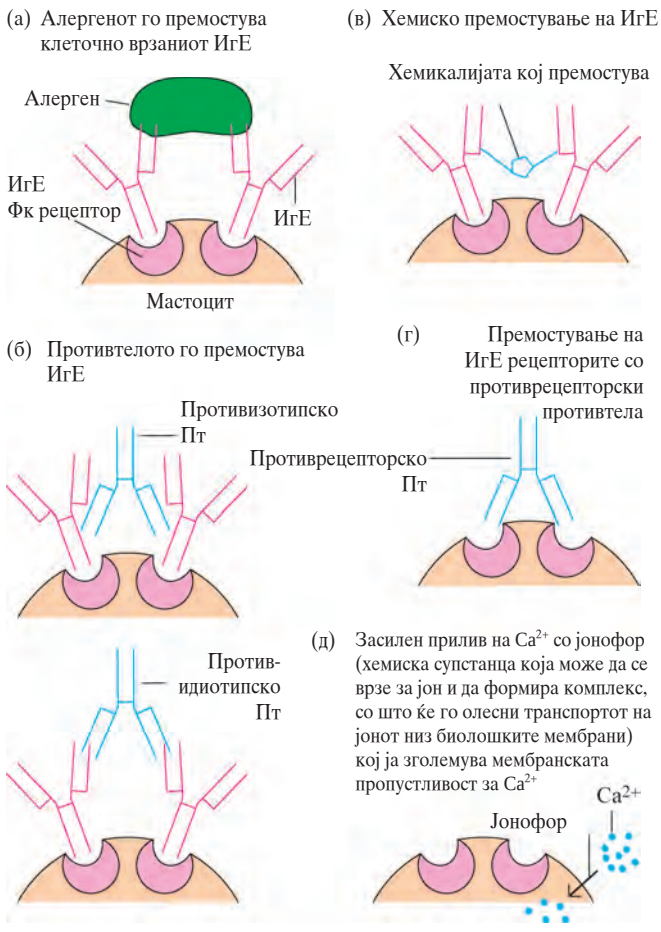
те кои се асоцирани со мембранскиот имуноглобулин на Б-клетките (види слика 11-7). ИТАМ мотивот од овие рецептори стапува во заемно дејство со протеинот тирозинска киназа, за да го пренесат активирачкиот сигнал внатре во клетката. Со алерген-посредуваното премостување на врзаниот ИгЕ доведува до насобирање (агрегација) на Фк епсилонР1 и брза фосфарилација на тирозинот, што предизвикува обеззрнување на мастоцитот. Улогата на Фк епсилонР1 во анафилаксата е потврдена со експериментите спроведени на глувците, на кои им недостасувала Фк епсилонР1 алфа веригата. Овие глувци имале нормален број на мастоцити, но биле отпорни на локализирана и системска анфилакса.

Нискоафинитетен рецептор (Фк епсилонР2). Другиот ИгЕ рецептор, наречен Фк епсилонР2 (или КД23), се врзува за K_T3 домените од ИгЕ и има доста помал афинитет за ИгЕ ($K_д$=1 X 10^{-6} М) од Фк епсилонР1 (слика 15-4б). Структурата на КД23 не е сродна со онаа на Фк епсилонР1 и се состои од едно подрачје кое поминува низ мембраната, на кое се надоврзува вонклеточен лектински домен од Ц-тип. Денес е утврдено дека постојат две изоформи на КД23, кои меѓусебно малку се разликуваат во амино-крајниот цитоплазматски домен: КД23а се среќава кај активираните Б-клетки, додека прикажувањето на КД23 е предизвикано кај различни видови на клетки од страна на ИЛ-4. Изгледа дека КД23 игра многу разнообразни улоги во регулирањето на интензитетот на ИгЕ одговорот. Се покажа дека премостувањето на ИгЕ врзан за КД23 од страна на алергенот, доведува до активирање на Б-клетки, алвеоларни макрофаги и еозинофили. Кога овој рецептор е блокиран со моноклонски противтела, излачувањето на ИгЕ од страна на Б-клетките е намалено. Се покажа дека растворливата форма на Фк епсилонР2 (или рКД23), која се создава со автопротеолизата на мембранскиот рецептор, го засилува создавањето на ИгЕ од страна на Б-клетките. Интересно е тоа што атопичните лица, за разлика од неатопичните, имаат повисоки нивоа на КД23 во нивните лимфоцити и макрофаги и повисоки нивоа на рКД23 во нивниот серум.

Премостувањето на ИгЕ предизвикува обеззрнување

Биохемиските настани кои посредуваат во обеззрнувањето на мастоцитите и крвните базофили имаат многу заеднички особини. За упростување, во овој дел даваме општ преглед на механизмите за обеззрнување на мастоцитите без да се специфицираат малите разлики кои постојат помеѓу мастоцитите и базофилите. Иако обеззрнувањето на мастоцитите во основа е предизвикано од премостувањето на врзаниот ИгЕ од страна на алергенот, бројни не-ИгЕ-посредувани дразби исто така може да го поттикнат процесот, вклучувајќи ги тука анафилатоксините (К3а и К5а), разните лекови, па дури и другите мастоцитни рецептори. Овде се фокусираме на биохемиските настани кои го следат премостувањето на врзаниот ИгЕ од страна на алергенот.

ИгЕ-посредуваното обеззрнување започнува кога алергенот ќе го премости ИгЕ којшто е врзан (фиксиран) за Фк рецепторот врз површината од мастоцитот или базофилот. Само по себе, врзувањето на ИгЕ за Фк епсилонР1 очигледно нема влијание врз целната клетка. Обеззрнувањето се случува само доколку алергенот го премости комплексот фиксиран ИгЕ-рецептор. Значењето на премостувањето е потврдено со наодот дека моновалентните алергени, оние кои не можат да го премостат врзаниот ИгЕ, не можат да предизвикаат ни обеззрнување.

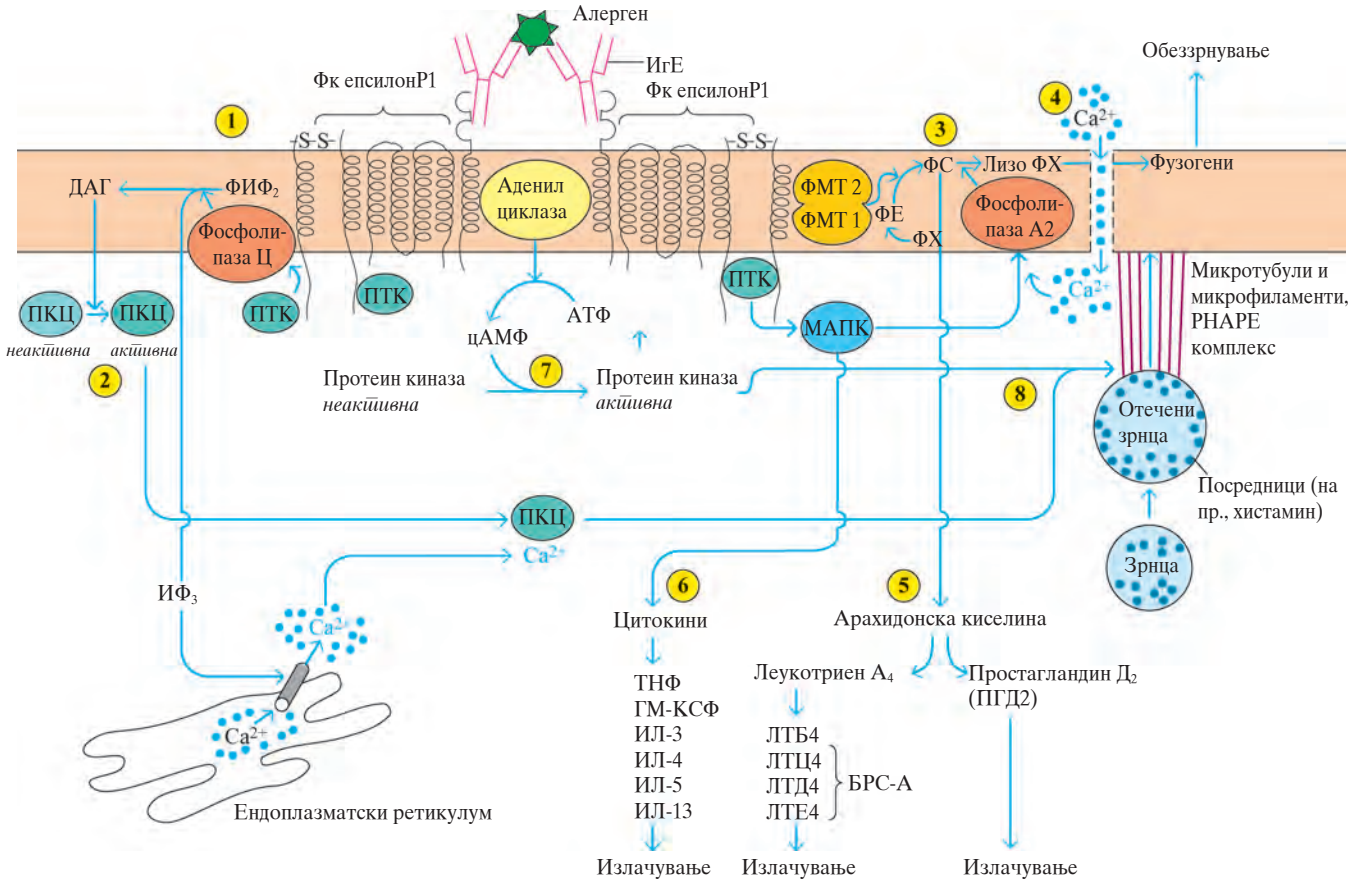


СЛИКА 15-5 Шематски приказ на механизмите кои можат да предизвикаат обеззрнување на мастоцитите. Забележете дека механизмите (б) и (в) немаат потреба од алерген, механизмите (г) и (д) немаат потреба ниту од алерген ниту од ИгЕ, а механизамот (д) нема потреба ниту од премостување на рецепторот.

Експериментите откриј дека неопходен чекор во обеззрнувањето е премостувањето на два или повеќе Фк епсилонР1 молекули - со или без врзаниот ИгЕ. Иако премостувањето нормално се остварува со заемното дејство на врзаниот ИгЕ со двовалентниот или повеќевалентниот алерген, тоа исто така може да биде остварено и од страна на мноштво експериментални средства кои ја заобиколуваат потребата за алергенот, а во одредни случаи дури и за ИгЕ (слика 15-5).

Внатреклеточни настани кои предизвикуваат обеззрнување на мастоцитот

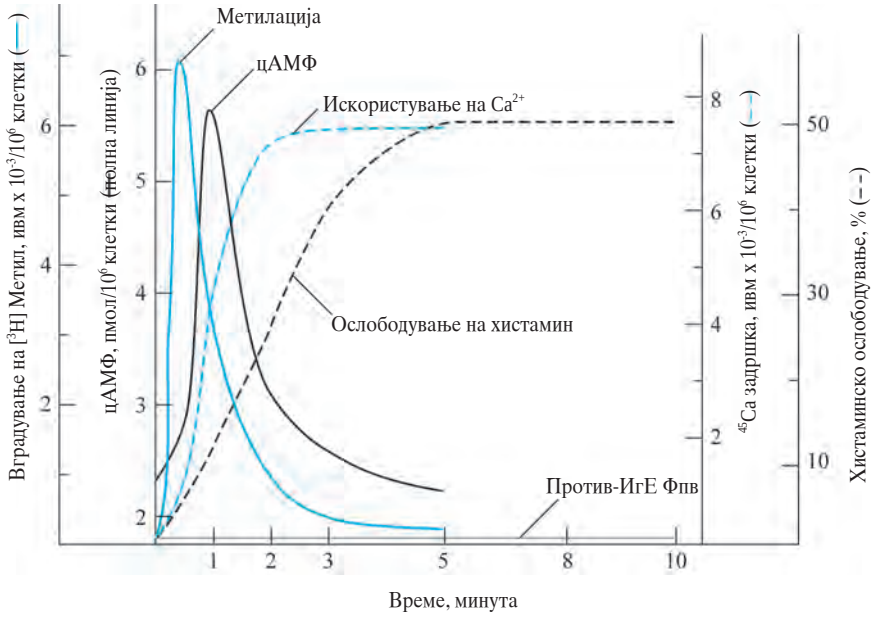
Внатреклеточните сигнални настани кои на крајот ќе доведат до обеззрнување на мастоцитите имаат повеќе аспекти, вклучувајќи ја тука соработка меѓу разни протеински и липидни кинази и фосфатази и преуредувања на цитоскелетонот. Срц (Src) фамилијата на протеинската тирозин киназа Лин (Lyn) е асоцирана со цитоплазматскиот домен на бета-веригата од Фк епсилонР1 во мастоцитите, без разлика на премостувањето на рецепторот. Премостувањето на Фк епсилонР1 рецепторот ја активира Лин, која ги фосфорилира тирозините во ИТАМ од бета и гама-веригите. Ова поттикнува комплексни серии на понатамошни фосфорилирачки реакции кои ги



СЛИКА 15-6 Шематски приказ на биохемиските настани при активирањето и обеззрнувањето на мастоцитите. Премостувањето на врзаниот ИгЕ од страна на алергенот доведува до насобирање на Фк епсилонР1 и активирање на протеин тирозин киназата (ПТК). (1) ПТК потоа ја фосфорилира фосфолипазата Ц, која го претвора фосфатидилинозитол-4,5 бифосфатот ($ФИФ_2$) во диаглицерол (ДАГ) и инозитол трифосфат ($ИФ_3$). (2) ДАГ ја активира протин киназата Ц (ПКЦ), која со Ca^{2+}е неопходен за микротубуларното групирање и фузијата на зрнцата со плазматската мембрана. ИФ3 претставува моќен мобилизатор внатреклеточните складишта на Ca^{2+}. (3) Премостувањето на Фк епсилонР1 исто така активира ензим кој фосфатидилсеринот (ФС) го претвора во фосфатидилетаноламин (ФЕ). Подоцна, ФЕ од страна на фосфолипидните метил трансферазни ензими 1 и 2 (ФМТ 1 и 2) се метилира и се формира фосфатидлхолин (ФХ). (4) Акумулирањето на ФХ на надворешната површина од плазматската мембрана предизвикува пораст во флуидноста на мембраната и го ослеснува создавањето на Ca^{2+} канали. Приливот на Ca^{2+} и ПТК-активираната митоген-активирана протеинска киназа (МАПК) кои се јавуваат како резултат на ова, ја активира фосфолипазата $А_2$, која го поттикнува распадот на ФХ на лизофосфатидилхолин (лизо ФХ) и арахидонска киселина. (5) Арахидонската киселина се претвора во моќни посредници: леукотриени (бавнореагирачка супстанција на анафилаксата = БРС-А) (slow-reactive substance of anaphylaxis = SRS-A) и простагландин Д2. (6) Активната МАПК исто така предизвикува лачење на цитокини благодарение на зголеменото препишување на цитокинските гени. (7) Премостувањето на Фк епсилонР1 исто така ја активира мембранската аденилат циклаза, што доведува до привремен пораст на цАМФ за време од 15 секунди. Подоцнежниот пад на нивото на цАМФ е посредуван од протеин киназата и е потребен за да дојде до обеззрнување. (8) Се мисли дека цАМФ-зависните протеин кинази ги фосфорилираат мембранските протеини од зрнцата, при што се менува пропусливоста на зрнцата за вода и Ca^{2+}. Последователното отекување на зрнцата и создавањето на растворливиот Н-етилмалеимид прилепениот рецепторски (РНАРЕ) (soluble N-ethylmaleimide attachment receptor = SNARE) протеински комплекс, ја ослеснува фузијата со плазматската мембрана и ослободувањето на посредниците.

вклучуваат Лун, Сик (Syk) и Фин (Fyn) тирозин киназите и кое ја вклучува фосфорилацијата на фосфолипазата Ц (ФЛЦ). Овие фосфорилациски настани предизвикуваат создавање бројни вторични гласници, вклучувајќи ги тука инозитолот 1,4,5-трифосфат ($ИФ_3$) и диаглицеролот (ДАГ), кои го посредуваат процесот на обеззрнување. $ИФ_3$ го зголемува нивото на внатреклеточниот Ca^{2+}, а ДАГ, заедно со Ca^{2+}, ја активира протеин киназата Ц (ПКЦ, слика 15-6). Порастот на концентрацијата на внатреклеточниот Ca^{2+} и активираната ПКЦ доведуваат до обеззрнување. (Слична сигнализирачка секвенца доведува до активирање и на Т-клетките, види слика 10-12).

15 секунди по премостувањето на Фк епсилонР1 се забележува метилација на разни мембрански фосфолипиди, што доведува до пораст на флуидноста на мембраната и создавање на Ca^{2+} канали. Порастот на Ca^{2+} својот врв го достигнува по 2 минути од премостувањето на Фк епсилонР1 (слика 15-7). Овој пораст се јавува како резултат и на консумирањето на надворклеточниот Ca^{2+}и на ослободувањето на Ca^{2+} од внатреклеточните магацини во ендоплазминиот ретикулум (види слика 15-6). Порастот на Ca^{2+} го поттикнува групирањето на микротубулите и концентрирањето на микрофиламените, два процеси кои се потребни за преместување на зрнцата до плазматската мембрана. РНАРЕ (растворливиот Н-етил-



СЛИКА 15-7 Кинетика на главните биохемиски случаи кои го следат премостувањето на врзаниот ИгЕ кај култура од човечки базофили со Ф(пв')$_2$ фрагментите од против-ИгЕ. Прикажани се кривите за фосфолипидната метилација (полна сина линија), создавањето на цАМФ (полна црна линија), приливот на Ca^{2+} (испрекината сина линија) и ослободувањето на хистаминот (испрекината црна линија). Кај контролните експерименти со против-ИгЕ Фпв фрагментите, не се забележани значајни промени. (*Приспособено од T. Ishizaka et al., 1985,* International Archives of Allergy and Applied Immunology 77:137.)

малеимид прилепениот рецепторски) протеините, кои се присутни и во зрнцата и во плазматската мембрана, играат улога и во фузијата на зрнцата со мембраната од клетката и во егзоцитозата на првичните посредници поврзани со обеззрнувањето на мастоцитите. Покрај тоа, порастот на Ca^{2+}, заедно со поттикнувањето на митоген-активираната протеинска киназа (МАПК), доведува и до создавање цитокини и до активирање ензимот фосфолипаза A_2 ($ФЛА_2$). $ФЛА_2$ ги хидролизира мембранските фосфолипиди, што доведува до создавање на арахидонска киселина, која се претвора во две класи на моќни липидни посредници: **простагландини и леукотриени** (види слика 15-6). Значењето на порастот на Ca^{2+}, при обеззрнувањето на мастоцитите е нагласено со употребата на лековите, каков што е натриум хромогликатот (кромолин натриум), кои го блокираат овој пораст како начин на терапија кај алергиите.

Истовремено со фосфолипидната метилација и порастот на нивото на Ca^{2+}, има и привремен пораст на активноста на мембрански-врзаната аденилат циклаза, којашто го достигнува врвот на создавањето на својот продукт цикличниот аденозин монофосфат (цАМФ), за околу 1 минута по премостувањето на Фк епсилонР1 (види слика 15-7). Ефектите од цАМФ се манифестираат преку активирањето на цАМФ-зависните протеин кинази кои ги фосфорилираат протеините од мембраната од зрнцата, при тоа зголемувајќи ја нивната пропустливост за вода и Ca^{2+} (види слика 15-6). Последователното отекување на зрнцата ја олеснува нивната фузија со плазматската мембрана, ослободувајќи ја нивната содржина. Порастот на цАМФ е привремен и е проследен со пад на нивото на цАМФ под нормални вредности (види слика 15-7). Овој пад на цАМФ е неопходен за да продолжи обеззрнувањето. Кога нивото на цАМФ се зголемува под влијание на одредени лекови, процесот на обеззрнување се блокира. Некои од овие лекови се користат за лекување на алергиските заболувања и ќе ги разгледаме подоцна во овој дел.

Одреден број фармаколошки агенси посредуваат реакции од тип 1

Клиничките манифестации на реакциите на преосетливост од тип 1 се поврзани со биолошките ефекти на посредениците кои се ослободуваат при обеззрнувањето на мастоцитите или базофилите. Овие посредници се фармаколошки активни агенси кои дејствуваат како на локалните ткива така и на популациите на вторичните ефекторни клетки, вклучувајќи ги тука и еозинофилите, неутрофилите, Т-лимфоцитите, моноцитите и крвните плочки. Според тоа, посредниците служат како засилувачки краен ефекторен механизам, како што комплементниот систем систем служи како засилувач и ефектор на противтело-противген заемното дејство. Кога се создаваат како одговор на паразитска инфекција, овие посредници предизвикуваат појава на полезни одбранбени процеси, вклучувајќи ширење на луменот на крвните садови (вазодилација) и зголемување на нивната пропусливост, што доведува до прилив на плазма и воспалителни клетки за да го нападнат патогенот. Од друга страна, ослободувањето на посредниците предизвикано од несоодветните противгени, како што се алергените, доведува до непотребен пораст на пропустливоста и го надминуваат кој било полезен ефект.

Посредниците може да се класифицираат како првични или вторични (табела 15-3). Првичните посредници се создаваат пред обеззрнувањето и се складираат во зрнцата. Најзначајни првични посредници се хистаминот, протеазите, езинофилниот хемотаксичен фактор, неутрофилниот хемотаксичен фактор и хепаринот. Вторичните посредници или се синтетизираат по активирањето на целната клетка или се ослободуваат со распадот на мембранските фосфолипиди при процесот на обеззрнување. Во вторичните посредници спаѓаат факторот кој ги активира крвните плочки, леукотриените, простагландините, брадикинините и разните видови на цитокини и хемокини. Различните манифестации на преосетливоста од тип 1 кај различни видови на организми или различни типови на ткива, делумно ги одразуваат варијациите кои постојат кај присутните првични и вторични посредници. Главните биолошки ефекти кај дел од овие посредници се објаснети на кратко во следните делови.

Хистамин

Хистаминот, кој се создава со декарбоксилација на аминокиселината хистидин, претставува главна компонента на мастоцитните зрнца, на која отпаѓа околу 10% од нивната тежина. Бидејќи се чува однапред формиран во зрнцата, неговите биолошки ефекти се гледаат за неколку минути по активирањето на мастоцитите. Штом се ослободи од мастоцитите,

ТАБЕЛА 15-3 Главни посредници вклучени во тип 1 преосетливост

Посредник	Ефект
	ПРВИЧНИ
Хистамин, хепарин	Зголемена крвосадна пропустливост, контракција на мазните мускули
Серотинин (глодари)	Зголемена крвосадна пропустливост, контракција на мазните мускули
Езинофилен хемоатаксичен фактор (ЕХФ-А)	Еозинофилна хемотакса
Неутрофилен хемоатаксичен фактор (НХФ-А)	Неутрофилна хемотакса
Протеази (триптаза, химаза)	Лачење на слуз во бронхиите, оштетување на базалната мембрана од крвните садови, создавање продукти од цепење на комплементот
	ВТОРИЧНИ
Фактор кој активира крвни плочки	Слепување на крвните плочки и обеззрнување, контракција на белодробните мазни мускули
Леукотриени (бавно-реагирачка супстанција на анфаликсата, БРС-А)	Зголемена крвосадна пропустливост, контракција на белодробните мазни мускули
Простагландини	Ширење на крвни садови, контракција на белодробните мазни мускули, слепување на крвните плочки
Брадикинин	Зголемена крвосадна пропустливост, контракција на мазниот мускул
Цитокини ИЛ-1 и ТНФ-алфа ИЛ-4 и ИЛ-1 ИЛ-3, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-10, ТГФ-бета и ГМ-КСФ	 Системска анафилакса, зголемено прикажување на КАМ на ендотелни клетки од венулите Зголемено создавање ИгЕ Различни ефекти (види табела 12-1)

хистаминот веднаш се врзува за специфичните рецептори на различните видови целни клетки. Досега е утврдено дека постојат четири типа на хистамински рецептори, наречени X_1, X_2, X_3 и X_4. Овие рецептори имаат различни ткивни распределби и посредуваат различни ефекти кога ќе се врзат за хистаминот. Серотининот е присутен во мастоцитите на глодарите и има ефекти слични на хистаминот.

Најголемиот број од биолошките ефекти на хистамнинот кај алергиските реакции се посредувани од врзувањето на хистаминот за X_1 рецепторите. Врзувањето предизвикува контракција на тенкоцревните и бронхијалните мазни мускули, зголемена пропусливост на венулите и зголемено излачување на слуз од страна на пехарестите клетки. Заемното дејство на хистаминот со X_2 рецепторите ја зголемува пропустливоста на крвните садови (поради контракција на ендотелните клетки), го зголемува луменот на крвните садови (вазодилатација) (преку опуштање на мазните мускули од крвните садови), ги стимулира егзокрините жлезди и го зголемува ослободувањето на желудочната киселина. Врзувањето на хистаминот за Х2 рецепторите на мастоцитите и базофилите го спречува обеззрнувањето. Според тоа, хистаминот обезбедува негативна повратна спрега на ослободувањето на посредниците.

Леукотриени и простагландини

Како вторични посредници, леукотриените и простагландините не се формираат сè додека мастоцитот не претрпи обеззрнување и ензимско распаѓање на фосфолипидите во плазматската мембрана. Ензимската серија на реакции коишто следат, доведува до создавање на простагландини и леукотриени (види слика 15-6). Според тоа, на биолошките ефекти од овие посредници им треба подолго време за да станат видливи. Сепак, нивните ефекти се понагласени и траат подолго од ефектите на хистаминот. Леукотриените посредуваат во контракцијата на бронхиите, во зголемената пропуслтивост на крвните садови и во создавањето на слузта. Простагландинот $Д_2$ предизвикува контракција на бронхиите.

Контракцијата на мазни мускули на бронхиите и трахејата кај човекот е посредувана од хистаминот, но по 30 до 60 секунди, понатамошна контракција е посредувана од леукотриените и простагландините. Активни во наномолни концентрации, леукотриените се 1000 пати помоќни од хистаминот како предизвикувачи на контракција на бронхиите, а исто така се и помоќни стимулатори на пропустливоста крвните садови и на лачењето на слузта. Кај луѓето, се смета дека леукотриените придонесуваат за продолеженият бронхоспазам на кој се надоврзува излачувањето на слуз, што може да се види кај астматичните болни.

Цитокини

За комплексноста на реакциите од тип 1 на преосетливост допринесуваат и разните цитокини кои се ослободуваат од мастоцитите и базофилите. Некои од нив можат да придонесат за клиничките манифестации на тип 1 преосетливоста. Човечките мастоцити, помеѓу другото излачуваат ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-13, ГМ-КСФ и ТНФ-алфа. Овие цитокини ја менуваат локалната микросредина, што ќе доведе до регрутирање на клетките на воспалението, како што се неутрофилите и еозинофилите. ИЛ-4 и ИЛ-13 го стимулираат Тпо2 одговор, како резултат на што доаѓа до зголемено создавање на ИгЕ од страна на Б-клетките. ИЛ-5 е особено значаен во регрутацијата и активацијата на езофинофилите. Високите концентрации на ТНФ-алфа кои се излачуваат од мастоцитите можат да придонесат во развојот на шоковата состојба кај системеската анафилакса. (Овој ефект е сличен на улогата на ТНФ-алфа кај бактерискиот септичен шок и токсичниот шок синдром опишани во Поглавје 12).

Реакциите од тип 1 можат да бидат системски или локални

Клиничките манифестации од тип 1 реакциите можат да се движат од животно-загрозувачки, како што се системската анафилакса и тешката астма, до локални реакции, како што се алергија на поленов прав и егземата, кои се умерено вознемирувачки.

Системска анфаликаса

Системската анфаликса е шоковидна и често фатална состојба, којашто се јавува неколку минути по почетокот на тип 1 на просетливоста и е обично предизвикана од алергенот кој навлегува директно во крвотокот или е абсорбиран преку цревата или кожата. Ваков бил и одговорот кој го набљудувале Портиер и Ричет кај кучињата, откога ќе ги изложиле на противгенски напад со отров од медуза. Системската анафликаса може да биде предизвикана кај разни експериментални животни, а повремено се среќава и кај луѓето. Секој од животинските видови прикажува карактеристични симптоми, што ги отсликуваат разликите при дистрибуцијата на мастоцитите и во биолошко активната содржина на нивните зрнца. Избраниот животински модел за проучување на системската анафилакса е заморчето. Кај заморчето анафилаксата може да се предизвика многу лесно, а нејзините симптоми мошне наликуваат на симптомите кои се среќаваат кај луѓето.

Активната сензибилизација кај заморчињата се предизвикува од една инјекција на туѓ протеин, каков што е, на пример, јајцевиот албумин. По инкубациски период од околу 2 недели, на животното обично му се дава во вена инјекција од истиот протеин. За 1 минута животното се вознемирува, дишење станува отежнато, а крвниот притисок опаѓа. Оваа состојба е позната како **анафилактичен шок**. Како што се грчат мазните мускули од гастроинтестиналниот тракт и мочниот меур, заморчето неконтролирано испушта измет и урина. На крајот, контракцијата на бронхиолите доведува до смрт од задушување за 2 до 4 минути по инјекцијата. Сите овие процеси потекнуваат од системското ширење на луменот на крвните садови и контракцијата на мазните мускули, предизвикани од посредниците кои се ослободуваат во текот на реакцијата. Посмртното испитување покажа дека масивното отекување, шокот и констрикцијата на бронхиолите се главните причини за смртта.

Системската анафилакса кај луѓето се карактеризира со слична серија на настани. Се покажа дека широка палета на противгени можат да ја предизвикаат ваквата реакција кај прифатливите (осетливи) лица, вклучувајќи ги тука убодот од пчела, оса, стршлен, убодите од мравки, лековите (како што се, на пример, пеницилинот, инсулинот, противотровите), морската храна и јаткастите плодови. Доколку не се реагира брзо, овие реакции може да бидат фатални. Адреналинот е лекот од избор за лекување реакциите на системската анафилакса. Адреналинот ги спречува ефектите на посредниците, како што се хистаминот и леукотриените, со олабавување на мазните мускули и со намалување на крвосадната пропустливост. Адреналинот исто така го подобрува срцевиот ударен волумен, кој е неопходен за спречување на колабирањето на крвните садови во текот на анафилактичката реакција. Освен тоа, адреналинот го зголемува нивото на цАМФ во мастоцитите, блокирајќи го понатамошното обеззрнување.

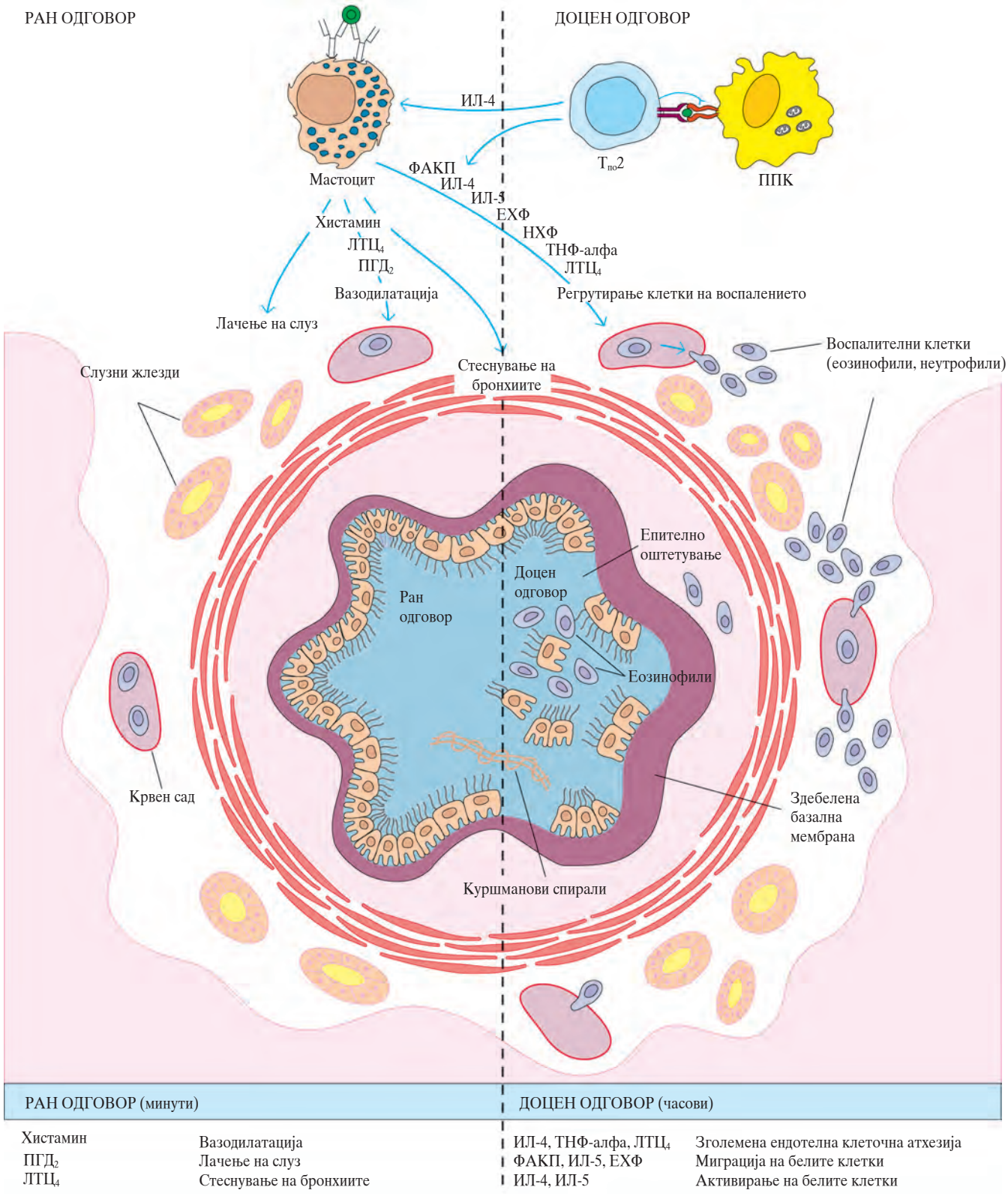
Локализирани реакции на преосетливост (атопија)

При локализираните реакции на преосетливост, одговорот е ограничен на специфично целно ткиво или орган, често вклучувајќи ги епителните површини на местото на влезот на алергенот. Склоноста да се манифестираат локализираните реакциите на преосетливост е наследена и се нарекува *атопија*. Атописките алергии, од кои боледува најмалку 20% од населението во развиените земји, вклучуваат широк опсег на ИгЕ-посредувани нарушувања, вклучувајќи го алергискиот ринит (алергијата на поленов прав), астмата, атопичниот дерматит (егземот) и алергиите на храна.

Алергиски ринит. Најчестото атопично нарушување, од кое боледува 10% од населението на САД, е алергискиот ринит, општо познат како алергија на поленов прав. Тој се јавува како резултат од вдишувањето на вообичените воздушни алергени и последователните реакции со сензибилизираните мастоцити во слузницата на очите и носот, вклучувајќи го тука и ослободувањето на фармаколошки активните посредници од мастоцитите. Овие посредници потоа предизвикуваат локално ширење на луменот на крвните садови и зголемена капиларна пропустливост. Во симптомите е вклучено и излачувањето на водест секрет од слузницата која го обвиткува очното јаболко и очните капаци (конјунктива), од слузницата на носот и горните дишни патишта, како и кивањето и кашлањето.

Астма. Друга честа манифестација на орган-специфичните реакции на преосетливост е астмата. Во одредени случаи, воздушните или крвните алергени, како на пример полените, прашината, смогот, продуктите од инсектите или вирусните противгени, можат да предизвикаат астматичен напад (алергична астма). Во други случаи, астматичниот напад може да биде предизвикан од физички напор или ладно, по се изгледа независно од стимулацијата на алергенот (внатрешна астма). Како и алергијата на поленов прав, астмата е предизвикана од обеззрнувањето на мастоцитите и ослободувањето на посредниците, но наместо да се појави во носната лигавица, реакцијата се јавува во долните дишни патишта. Контракцијата на бронхијалните мазни мускули, која се јавува како резултат на тоа, доведува до стеснување на дишните патишта. Отокот на дишните патишта, излачувањето од слузницата и воспалението придонесуваат за стеснувањето на бронхиите и опструкцијата на дишните патишта. Астамтичните пациени можат да имаат абнормални нивоа на рецепторите за невропептидите. На пример, утврдено е дека кај астматичните пациенти има зголемено прикажување на рецепторите за супстанцата П, пептид кој предизвикува грчење на мазните мускули и намалено прикажување на рецепторите за вазоактивниот тенкоцревен пептид, кој ги олабавува мазните мускули.

Повеќето клинички лекари астмата првично ја сметаа типично како воспалително заболување. Астматичниот одговор може да се подели на рани и доцни одговори (слика 15-8). Раните одговори се јавуваат неколку минути по изложувањето на алергенот и првично вклучуваат хистамин, леукотриени ($ЛТЦ_4$) и простагландин ($ПГД_2$). Ефектите од овие посредници доведуваат до стеснување на бронхиите, ширење на луменот на крвните садови и создавање на слуз. Во доцните одговори, кои настануваат неколку часа подоцна, се вклучени дополнителни посредници, вклучувајќи ги ИЛ-4, ИЛ-5 ИЛ-16, ТНФ-алфа, еозфинофилниот хемотаксичен фактор (ЕХФ) и факторот за активирање крвните плочки (ФАКП) (platelet-activating factor = PAF). Крајниот ефект од овие посредници е да предизвикаат прикажување на атхезивни молекули врз ендотелните клетки



СЛИКА 15-8 Раните и доцните воспалителни одговори кај астмата. Имуните клетки кои се вклучени во раните и доцните одговори се претставени на врвот од сликата. Ефектите од разните посредници на дишните патишта, претставени со напречен пресек, се прикажани во центарот.

и да ги регрутираа Т-клетките на воспалението, вклучувајќи ги еозинофилите и неутрофилите, во бронхијалното ткиво.

Неутрофилите и еозинофилите се способни да предизвикаат значително ткивно оштетување преку ослободување на отровните ензими, кислородните радикали и цитокините. Овие настани доведуваат до опструкција на бронхиите (со слуз, протеини и клеточни отпадоци), отфрлање на епителните клетки, здебелување на базалната мембрана, создавањето течност (оток) и хипертрофија на бронхијалните мазни мускули. Од создадената слуз често се создава чеп кој се прилепува за ѕидот на бронхиите. Чепот од слуз содржи групи на одлепените епително-клеточни фрагменти, еозинофили, мал број на неутрофили и спирали од бронхијалното ткиво познати како Куршманови спирали. Зачестеноста на астмата во САД се зголемува, особено кај децата од централните делови на градот (види Клинички фокус на страница 384).

Алергии на храна. Различни видови на храна можат да предизвикаат локални реакции на преосетливост кај алергичните лица. Премостувањето на ИгЕ на површината на мастоцитите, кои се сместени по должината на горниот или долниот дел од гастроинтестиналниот систем, може да предизвика локална контракција на мазните мускули и ширење на луменот на крвните садови, со појава на симптоми како што се повраќање или проливи. Обеззрнувањето на мастоцитите долж цревата може да ја зголеми пропустивоста на слузницата, што ќе овозможи навлегување на алергенот во крвотокот. Во зависност од тоа каде е навлезен алерегенот, може да се појават различни симптоми. На пример, одредени лица добиваат астматични напади по внесувањето на одредена храна. Други лица добиваат атопична уртикарија, општо позната како осип, каде алергенот од храната се пренесува до сензибилизираните мастоцити во кожата предивикувајќи отечени (едематозни) црвени (еритематозни) исипи, промени кои се карактеризираат со белузлав оток во средината опкружен со црвенило.

Атопичен дерматит. Атопичниот дерматит (алергиски егзем) е воспалително заболување на кожата, коешто често се поврзува со фамилната историја за постоење на атопија. Болеста најчесто се забележува кај малите деца, каде најчесто се развива во текот на детството. Серумското ниво на ИгЕ најчесто е зголемено. Алергичните лица добиваат кожни осипи кои се црвени по боја (еритематозни), а доколку постои и придружна бактериска инфекција, осипите ќе бидат полни со гној. За разлика од реакциите на преосетливост од одложен тип кои вклучуваат $T_{по}1$ клетки, кожните промени кај атопичниот дерматит содржат $T_{по}2$ клетки и зголемен број на еозинофили.

Реакциите на доцна фаза предизвикуваат локализирани воспалителни реакции

Како што се намалува реакцијата на преосетливост од тип 1, посредниците ослободени во текот на одговорот често предизвикуваат локализирано воспаление, наречено одговор на доцна фаза. Различна од доцниот одговор која се гледа при астмата, реакцијата на доцна фаза започнува да се развива од 4 до 6 часа по почетната тип 1 реакција и опстојува од 1 до 2 дена. Реакцијата се карактеризира со вовлекување на неутрофили, еозинофили, макрофаги, $T_{по}2$ клетки и базофили. Локализираниот доцнофазен одговор исто така може да биде делумно посредувана и од цитокините кои се ослободени од мастоцитите. ТНФ-алфа и ИЛ-1 го зголемуваат прикажувањето на клеточните атхезивни молекули врз ендотелните клетки од венулите, олеснувајќи го на тој начин насобирањето на неутрофилите, еозинофилите и $T_{по}2$ клетки, коишто го карактеризираат доцнофазниот одговор.

Еозинофилите играат главна улога во реакцијата на доцната фаза, сочинувајќи околу 30% од клетките кои се акумулираат. Еозинофилиниот хемотаксичен фактор, ослободен од мастоцитите во текот на првичната реакција, привлекува голем број на еозинофили во зафатеното место. Разни цитокини ослободени во зафатеното место, влучувајќи ги ИЛ-3, ИЛ-5 и ГМ-КСФ, придонесуваат за порастот и диференцирањето на еозинофилите. Еозинофилите прикажуваат Фк рецептори за ИгГ и ИгЕ изотиповите и се врзуваат директно за алергенот кој е обвиткан со противтело. Исто како и при обеззрнувањето на мастоцитите, врзувањето на противтелно обложениот противген ги активира еозфинофилите, што доведува до нивно обеззрнување и ослободување на посредниците на воспалението, вклучувајќи ги тука леукотриените, главниот базичен протеин, факторот кој активира крвни плочки, еозинофилниот катјонски протеин (ЕКП) и невротоксинот кој потекнува од еозинофилите. Ослободувањето на овие посредници од еозинофилите може да игра заштитна улога против паразитарните инфекции. Меѓутоа, при одговор на алергени, овие посредници придонесуваат за големо оштетување на ткивото при реакцијата на доцната фаза. Се покажа дека приливот на еозинофили при доцнофазниот одговор придонесува за појава на хронично воспаление на слузницата на бронхиите, којашто ја карактеризира постојаната астма.

Неутрофилите се уште едни од главните учесници во реакцијата на доцната фаза, на кои исто така отпаѓаат 30% од клетките на воспалението. Неутрофилите се привлечени на местото на тип 1 реакцијата од страна на неутрофилниот хемотаксичен фактор, ослободен од обеззрнетите мастоцити. Покрај тоа, мноштвото цитокини кои се ослободуваат на местото на реакцијата, вклучувајќи го тука и ИЛ-8, се покажа дека ги активираат неутрофилите, што доведува до ослободување на содржината од нивните зрнца, вклучувајќи ги литичките ензими, факторот кој активира крвни плочки и леукотриените.

Реакциите од тип 1 се регулираат од страна на голем број фактори

Како што е спомнато претходно, дозата на противгенот, начинот на неговото внесување и генетската структура на животното влијаат врз нивото на ИгЕ одговорот предизвикан од противгенот (т.е. неговата алергеност). Кај луѓето генетската компонента влијае врз прфатливоста кон реакциите на преосетливост од тип 1 и како што видовме од претходно, утврдено е постоењето на неколку кандидат гени. Доколку и двата родители се алергични, постојат 50% шанси дека детето исто така ќе биде алергично, а кога само едниот родител е алергичен, шансите дека детето ќе манифестира некој од видовте на реакциите од тип 1 изнесува 30%.

Влијанието на дозата на противгенот врз ИгЕ одговорот е прикажана со имунизација на глувците БДФ1. Повторуваните ниски дози на соодветниот противген кај овие глувци, предизвикуваат постојан ИгЕ одговор, но високите дози на противгенот ќе предизвикаат само привремено создавање ИгЕ и превклучување кон ИгГ. Начинот на прикажување на противгенот исто така влијае врз развојот на ИгЕ одговорот. На пример, имунизацијата на стаорците од видот Луис со школкин хемоцијанин (ШХЦ) плус алуминумот хидроксиден гел или *Bordetella pertusis* како помагач предизвикува силен ИгЕ одговор, додека инјекцијата на ШХЦ со комплетен Фројндов помагач предизвикува појава на претежно ИгГ одговор. Инфекцијата на глувците со црвот *Nippostrongylus brasiliensis* (Нб) од класата на нематоди, како и одредени помагачи, првенствено предизвикува ИгЕ одговор. На пример, глувците заразени со Нб, кога ќе бидат нападнати со некој несроден противген, создаваат многу повисоки нивоа на ИгЕ отколку контролните глувци кои не се заразени со Нб. Релативното ниво на $T_{по}1$ и $T_{по}2$ подгрупите

КЛИНИЧКИ ФОКУС

Генетика на астма

Астмата зафаќа околу 10% од популацијата во САД. Од сè уште непознати причини, во последно време зачестеноста на астмата значително се зголеми во развиените земји. Уште позагрижувачко е тоа што тежината на ова болест исто така се зголемува. Порастот на смртноста од астмата е највисок кај децата. Во САД смртноста е највисока кај децата од афро-американско потекло кои живеат во централните делови од градовите. Во 2003 година 9,1 милион деца боледувале од астма, а повеќе од 200 деца умреле од ова болест. Овие статистики се зголемуваат секоја година. Покрај човечките загуби, астмата наметнува високи финансиски трошоци и за општеството. Во текот на 2004 година, трошоците за лекување на астмата во САД изнесувале повеќе од 16 милијарди долари.

Астамата вообичаено се дефинира како воспалително заболување на дишните патишта и се карактеризира со преосетливост на бронхиите, што доведува до опструкција и свирежи во градите. Иако атопичните лица, оние кои имаат предиспозиција кон одговор на преосетливост од тип 1, се најприфатливи за развој на прекумерен одговор на бронхиите и астма, само 10% до 30% од нив всушност навистина ќе заболат од астма. Доказот дека астмата има и генетски компоненти оригинално потекнува од фамилните истражувања, од коишто е пресметано дека релативниот придонес на генетските фактори за атопијата и астмата изнесува од 40% до 60%. Иако генетските фактори се значајни, понатамошните проучувања покажаа дека и факторите од околината исто така играат голема улога. Покрај тоа, астмата е комплексно генетско заболување кое го контролираат неколку гени, така што прифатливоста кон него најверојатно ги вклучува заемните дејства меѓу повеќе генетски фактори и факторите на околината.

Како се одредува кои гени придонесуваат за едно вакво комплексно повеќегенско заболување? Еден од приодите е приодот на ген-кандидат, каде хипотезата тврди дека одреден ген или група гени може да имаат некаква поврзаност со болеста. Откога ќе се утврди постоење на ваков ген, се испитуваат семејствата со видлива предиспозиција кон заболувањето за присуството на полиморфни алели за генот за кој станува збор. Споредбата на членовите од семејствата кои го имаат или го немаат даденото заболување, овозможува да се направи корелација меѓу кандидат генот и присуството на заболувањето. Проблемот со овој приод е неговата пристрасност кон гените за кои веќе има сомнение дека играат улога во настанувањето на заболувањето, што не допушта да се идентифукува нов ген.

Добар пример за употребата на приодот ген-кандидат е идентификација на подрачјето во хромозомот 5, подрачјето 5ку31-33, кое е поврзано со развојот на астмата. Со употреба на приодот ген-кандидат, истражено е целото ова подрачје бидејќи содржи група на гени за цитокините, меѓу кои се гените кои ги кодираат ИЛ-3, -4, -5, -9 и -13, како и генот кој го кодира гранулоцитно-макрофагниот колонии стимулирачки фактор. Се верува дека *ИЛ-4* е добар ген-кандидат, бидејќи го предизвикува имуноглобулинското превклучување кон ИгЕ. Неколку групи на испитувачи го испитувале ова подрачје кај различни популации и заклучиле дека постои полиморфизам кој е асоциран со предиспозицијата за астма, а кој се наоѓа во подрачјето на започнувачот (промоторот) за *ИЛ-4*. Покрај тоа, откриени се и два алели на ИЛ-9 кои се асоцирани со атопијата. Неодамнешните експерименти со позиционо клонирање утврдија постоење на три гени кои се поврзани со астмата: *АДАМ33*, кој го

исто така претставуваат клуч за регулирање на одговорот од типот 1 на преосетливост. $T_{по}1$ клетките го намалуваат одговорот, додека $T_{по}2$ клетките го засилуваат. Цитокините кои се излачуваат од Тпо2 клетките од кои најзначајни се ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-9 и ИЛ-13, на неколку начини го стимулираат одговор од тип 1. ИЛ-4 и ИЛ-13 го засилуваат превклучувањето на класите кон ИгЕ и ја регулираат клонската експанзија на ИгЕ-создавачките Б-клетки. ИЛ-4 и ИЛ-9 го засилуваат создавањето на мастоцитите, а ИЛ-5 и ИЛ-9 го засилуваат зреењето, активирањето и акумулацијата на еозинофилите. Наспроти тоа, Тпо1 клетки создаваат ИФН-гама, кој го инхибира одговорот од тип 1.

Централната улога на ИЛ-4 во регулирањето на одговорот од тип 1 е докажана со експериментите од В. Е. Пол и неговите соработници. Кога овие истражувачи активирале нормални, несензибилизирни Б-клетки ин витро со бактерискиот ендотоксински липополисахарид (ЛПС), само 2% од клетките прикажувале мембрански ИгГ1 и само 0,05% лачеле ИгЕ. Сепак, кога несензибилизираните Б-клетки ги инкубирале со ЛПС и ИЛ-4 заедно, процентот на клетки кои прикажувале ИгГ1 се зголемил на 40% до 50%, додека процентот на клетките кои прикажувале ИгЕ се зголемил на 15% до 25%. Во обид да се одреди дали ИЛ-4 игра улога во регулирање на создавањето на ИгЕ ин виво, Пол ги сензибилизирал Нб-заразените глувци со безопасниот противген ТНФ-ШХЦ во присуство и отсуство на моноклонско противтело кон ИЛ-4. Противтелото кон ИЛ-4 го намалило создавањето на ИгЕ специфичен за ТНФ-ШХЦ кај овие Нб-заразени глувци на 1% од нивото кое било најдено кај контролните глувци.

Понатамошната поддршка за улога на ИЛ-4 при ИгЕ одговор дојде од експериментите на К. Рајевски и соработниците кои работеле со глувци на кои им бил отстранет генот за ИЛ-4. Овие глувци имале недостаток на ИЛ-4 и не можеле да создаваат ИгЕ како одговор кон паразитски противгени. Освен тоа, откриено е дека кај атопичните лица постои зголемно ниво на $КД4^+$ $T_{по}2$ клетки и зголемени нивоа на ИЛ-4. Кога алерген-специфичните $КД4^+$ Т-клетки од атопичните лица се клонирани и додадени во култура од автологни Б-клетки, Б-клетките создаваат ИгЕ, што не е случај доколку на културата ѝ се додадат алерген-специфични $КД4^+$ Т-клетки од неатопичните лица.

За разлика од ИЛ-4, ИФН-гама го намалува создавањето на ИгЕ, што укажува на фактот дека рамнотежата помеѓу ИЛ-4 и ИФН-гама може да ја одреди количината на ИгЕ која ќе се создаде (слика 15-9). Бидејќи ИФН-гама се излачува од $T_{по}1$ клетките, а ИЛ-4 од $T_{по}2$ подгрупата, релативната активност на овие две групи на клетки може да влијае врз индивидуалниот одговор на алергените. Според овој предлог, атопичните и неатопичните лица ќе манифестираат квалитативно различни тип 1 одовори на алергените: одговорот кај атопичните лица ќе ја вклучува $T_{по}2$ подгрупата и ќе доведе до создавање ИгЕ, додека одговорот кај неатопичните лица ќе ја вклучува $T_{по}1$ подгрупата и ќе доведе до создавање на ИгМ и ИгГ. За да се

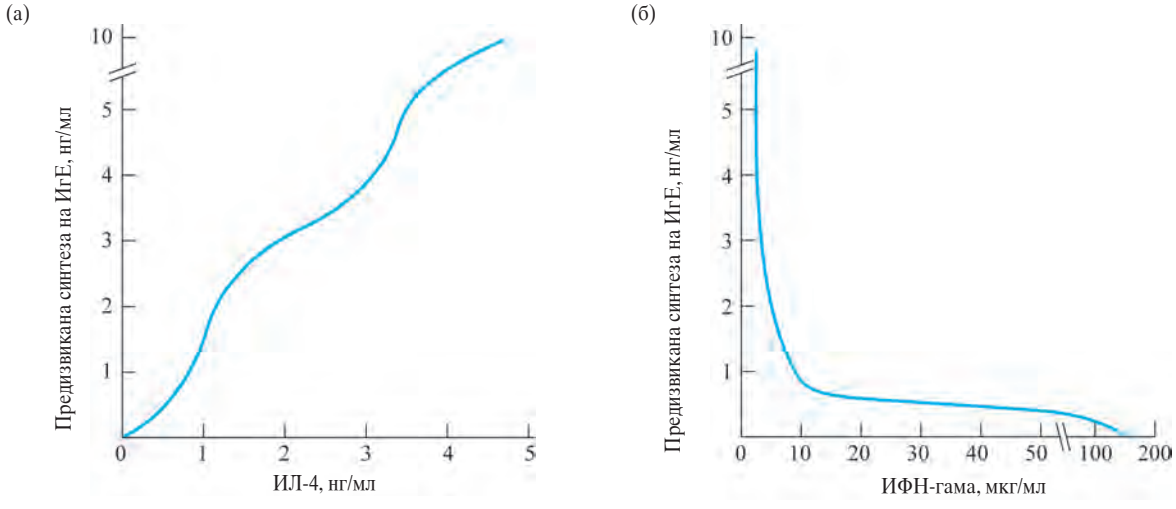
кодира ензимот прикажан во мазните мускули на бронхиите и *ПХФ11* и *ДППП10*, обата вклучени во предизвикувањето на $T_{по}2$ и ИгЕ воспление.

Друг приод за идентификување на гените кои се поврзани со одредено заболување е пребарувањето на геномот по случаен избор. Со овој метод, се скенира целиот геном за присуство на полиморфизми поврзани со заболувањето од интерес. Со употреба на методот за пребарување на геномот по случаен избор П. Лимпани и соработниците утврдиле постоење на поврзаност помеѓу полиморфизамот во хромозомот 11 (поточно во подрачјето 11ку13) и атопијата кај британските фамилии. Ова подрачје се наоѓа во близина на генот за бета поединицата од Фк епсилонР1бета. Оваа асоцијација е интересна бидејќи ИгЕ игра многу важна улога при посредувањето на реакциите од тип 1. Дополнителните детални проучувања на геномот (и на кандидат гените) ја потврдија поврзаноста на полиморфизмите на генот за бета поединицата од Фк епсилонР1бета со атопија и со развојот на астмата и атопичниот дерматит. Сепак, оваа поврзаност, како и другите, треба многу внимателно да се анализираат, бидејќи некои студии не ја потврдиле поврзаноста на 11ку со атопијата и астмата.

Неодамна, извршено е обемно проучување на геномот во потрага по локуси кои би можеле да бидат поврзани со зголемената прифатливост за астмата кај етнички различни популации. Во оваа студија било вклучено белото население, како и населнието со шпанско и афроамериканско потекло. Ова проучување беше објавено од страна на "U.S. Collaborative Study for genetics of asthma", голема група во која соработувале медицинските центри во САД, која утврдила постоење на голем број кандидат-локуси кои се поврзани со астмата. Еден локус од хромозомот 5 се совпаѓа со веќе идентификуваното подрачје на 5ку31-33. Сепак, овој локус е асоциран со астмата кај белците, но не и кај населението со шпанско или афроамериканско потекло. Слично на ова, одредени локуси имаат голема поврзаност со астмата само кај населението со шпанско потекло, додека други локуси се идентификувани како уникатни за афроамериканците.

Друг интересен заклучок бил дека асоцираноста помеѓу хромозомот 11ку и атопијата, не може да се донесе во врска со астмата. Ова може да укаже дека астмата и атопијата имаат различни молекулски основи. Што е уште поважно, ова укажува дека генетската поврзаност со атопијата не треба да се меша со генетската поврзаност со астмата. Доколку се земе превид сè, оваа студија утврди постоење на неколку гени поврзани со астмата и откри дека бројот и релативното значење на овие гени се разликува помеѓу различните етнички групи. Ова укажува дека генетските разлики, исто како и разликите во околината, најверојатно лежат во основата на разликите кои се забележуваат како кај зачестеноста, така и во тежината на заболувањето, помеѓу различните етнички групи во САД.

Добро е документирано дека поголем процент од просекот на афроамериканските деца од централните делови на градовите имаат сериозни компликации со астмата. Ова го поттикна прашањето дали афроамериканците имаат генетска предиспозиција за астма. Извештајот на Д.Л. Розенстрич и соработниците од 1997 година покажува значајна поврзаност на надворешната средина со астма во централните градски подрачја. Овие научници ја испитувале улогата на алергијата на бубашваби во развитокот на астамата. Во нивните испитувања покажаа дека комбинацијата од алергија на бубашваби и изложување на високи нивоа на алерген од бубашваба, може да помогне да се објасни високата зачестеност на здравствените проблеми поврзани со астма кај децата во централните градски подрачја. Овие податоци исто така ги нагласуваат недостатоците во системите за здравствена заштита во големите градови. Јасно е дека коцентрираниот напор на јавните агенции за искоренување на инсектите ќе биде од корист за здравјето на оние лица кои живеаат во централните градски заедници.



СЛИКА 15-9 Ефектите на ИЛ-4 и ИФН-гама на ин витро создавањето на ИгЕ. Овие графици ја покажуваат количината на ИгЕ создаден од страна на културите на плазма клетки во присуство на разни концентрации од ИЛ-4 (а) или ИФН-гама (б). *(Приспособено од G. Del Prete, 1988,* Journal of Immunology *140:4193)*

тестира оваа хипотеза, клонирани се алерген-специфични Т-клетки од атопични и од неатопични лица. Поголемиот број од клонираните Т-клетки од атопичните лица биле од фенотипот $T_{по}2$ (кои лачат ИЛ-4), додека поголемиот број од клонираните Т-клетки од неатопичните лица биле од $T_{по}1$ фенотипот (кои лачат ИФН-гама). Нема потреба да се спомене дека постои големо интересирање за намалување на создавањето на ИЛ-4, како можен начин на лекување кај алергичните лица.

Неколку клинички методи се користат за откривање на реакциите на преосетливост тип 1

Типот 1 на преосетливост вообичаено се утврдува и се проценува со кожните тестови. Мали количини од потенцијалните алергени се внесуваат на одредни места на кожата, или со помош на поткожна инјекција или преку загребување на површинскиот слој на кожата. Бројни алергени може истовремено да се нанесат на одредени места на подлактицата или грбот на поединецот. Ако личноста е алергична на алергенот, локалните мастоцити се обеззрнуваат и ослободуваат хистамин и други посредници, што доведува до создавање на оток и црвенило во период од 30 минути (слика 15-10). Предноста на кожните тестови е тоа што се релативно евтини и овозможуваат испитување на голем број на алергени истовремено. Недостатокот на кожните тестирања е тоа што во ретки случаи алергичните лица ги сензибилизира на нови алергени, а уште поретко може да предизвика и појава на системски анафилактичен шок. Мал број на лица исто така можат да манифестираат одговор на доцната фаза, кој јавува 4 до 6 часа по тестирањето и понекогаш трае до 24 часа. Како што видовме претходно, еозинофилите се акумулираат во текот на одговорот на доцната фаза, а ослободувањето на содржината



СЛИКА 15-10 Кожно тестирање со поткожно внесување на алергенот во подлактицата. Кај ова лице, се јави одговор со оток и црвенило по неколку минути во текот на неколку минути на местото каде поткожно се внесе инјекција со трева, што укажува на фактот дека лицето е алергично на трева. (Од *L. M. Lichtenstein, 1993,* Сциентифиц Американ *269(2):117. Употребено со дозвола)*

на нивните зрнца придонесува за оштетувањето на ткивото на местото на доцнофазниот одговор.

Друг метод за проценување преосетливоста од тип 1 е да се одреди серумското ниво на вкупните ИгЕ противтела со радиоимуносорбентниот тест (РИСТ). Оваа високо осетлива техника, која се базира на радиоимунотестовите, може да открие наномоларни количини на вкупниот ИгЕ. Серумот од пациентот реагира со агарозните топчиња или хартиените дискови обвиткани со зајачки против-ИгЕ. По плакнењето на топчињата или дисковите се додава ^{125}J-обележан зајачки против-ИгЕ. Радиоактивноста на топчињата или дисковите, која се мери со гамабројачи, е пропорционална на нивото на ИгЕ во серумот на пациентот (слика 15-11а).

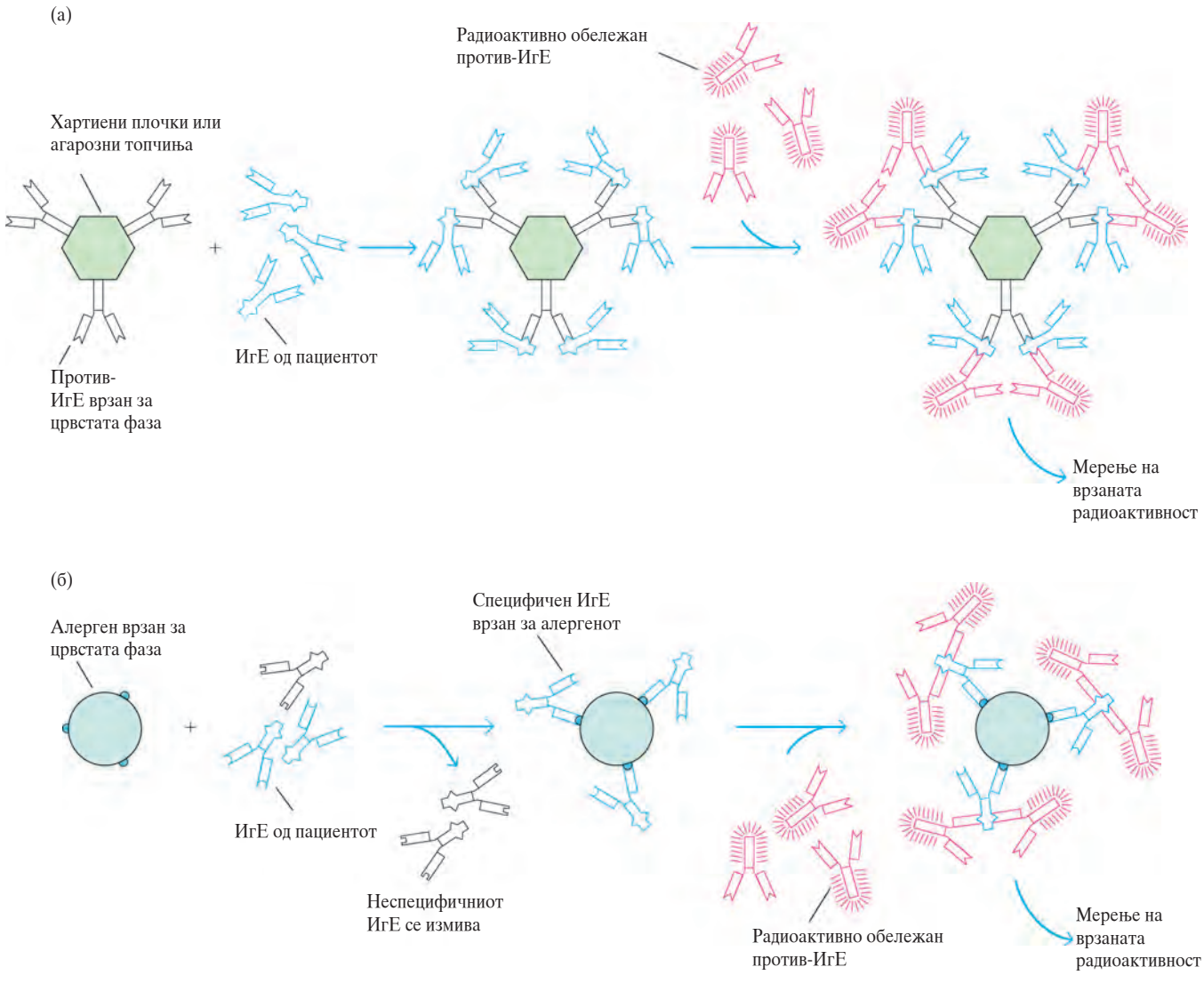
Сличен е радиоалергосорбентен тест (РАСТ) кој се употребува за откривање на серумското ниво на ИгЕ, специфичен за даден алерген. Алергенот се врзува за топчињата или дисковите, се додава серумот на пациентот, а неврзаното противтело се измива. Потоа се мери количината на специфичното ИгЕ врзано за алергенот на црвстата фаза, преку додавање на ^{125}J-обележано зајачко против-ИгЕ противтело, измивање на топчињата и броењето на врзаната радиоактивност (слика 15-11б). Поновите адаптации на РИСТ и РАСТ тестовите за откривање ИгЕ ја заобиколуваат употребата на радиоактивноста преку употреба на алтернативни обележувања, како што се на пример флуоресцентните обележувачи.

Преосетливоста тип 1 може да се контролира со лекови

Јасно е дека првиот чекор во контролата на типот 1 на преосетливост е да се избегне контактот со познатите алергени. Често отстранувањето на домашните миленичиња, хигиенските мерки за контрола на прашината или избегнувањето на алергичната храна може да ја спречи појавата на одговорот од тип 1. Сепак, бидејќи отстранувањето на вдишените алергени (како што се полените) физички е невозможно, треба да се бараат други средства за интервенција.

Веќе извесно време е познато дека имунотерапијата со повторувано давање на зголемени дози на алергените (**хипосензибилизација**) може да ја намали тежината на типот 1 на реакциите, па дури и целосно да ја отстрани кај значаен број на лица кои страдаат од алергичен ринит. Ваквото повторувано давање на алергенот, во вид на подкожни инекции, предизвикува превклучување кон создавањето на ИгГ или предизвикува Т-клеточно посредувано смалување (супересија) (најверојатно преку превклучување кон $T_{по}1$ подгрупата и создавањето на ИФН-гама) кое го прекинува ИгЕ одговорот (слика 15-12). Во оваа ситуација, ИгГ противтелото е наречено *блокирачко противтело* бидејќи се натпреварува за алергенот, се врзува за него и формира комплекс кој може да биде отстранет со фагоцитоза. Како резултат на ова, алергенот не може да изврши премостување на врзаниот ИгЕ за мембраните на мастоцитите, со што се намалуваат симптомите на алергијата. Се испитува и улогата на $T_{рег}$ клетки во преосетливоста, бидејќи овие клетки можат да играат улога при блокирањето на алергиските реакции. Исто така се проценуваат и новите протоколи за хипосензибилизација кои вклучуваат пептиди произлезени од алергените, ДНК вакцините и помагачите (адјуванси).

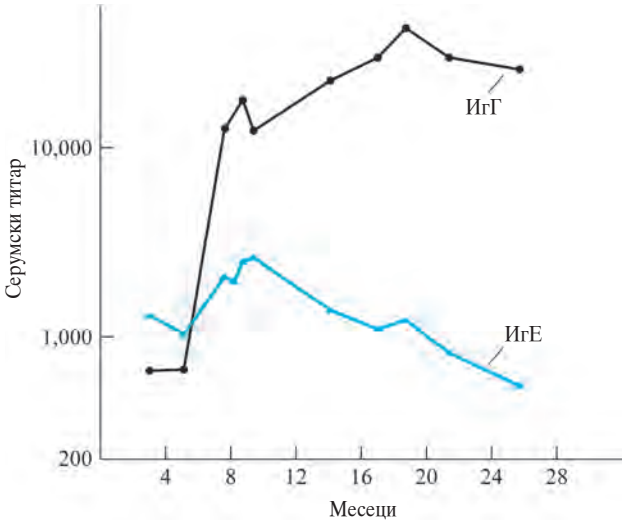
Друга форма на имунотерапијата е употребата на хуманизиран моноклонски против-ИгЕ. Овие противтела се врзуваат за ИгЕ, но само доколку ИгЕ веќе не е врзан за Фк епсилонР1, бидејќи врзувањето за ИгЕ кој е веќе врзан за Фк епсилонР1



СЛИКА 15-11 Постапки за проценување преосетливоста од тип 1. (а) Радиоимуносорбентниот тест (РИСТ) може да ги открие и да ги измери наногрaмските количини на вкупниот ИгЕ во серумот. (б) Радиоалергосорбентниот тест (РАСТ) може да ги открие и да ги измери наногрaмските количини на серумскиот ИгЕ кој е специфичен за одреден алерген.

ќе доведе до ослободување на хистамин. Овие противтела селективно стапуваат во заемно дејство само со ИгЕ кој не е врзан за Фк епсилонР1, со врзување за она место на ИгЕ кое го остварува контактот со Фк епсилонР1. Овие противтела се хуманизирани со генетско модифицирање на гените кои ги кодираат Т и Л-веригите од имуноглобулините. Одредни структурни подрачја од глувчешкото противтело се заменуваат со човечки структурни подрачја, при што се добива едно глувчешко-човечко химерично моноклонско противтело кое најверојатно нема да биде препознаено како туѓо од страна на имунолошкиот систем на човекот. Кога ваквите противтела ќе се внесат кај лица кои страдаат од алергија, тие можат да се врзат за слободниот ИгЕ, да го намалат создавањето на нов ИгЕ од страна на Б-клетките и да го намалат прикажувањето на Фк епсилонР1 врз мастоцитите и базофилите. Ова доведува до пониска концентрација на серумскиот ИгЕ, што води кон намалување на чуствителноста на мастоцитите и базофилите. Оваа форма на имунотерапија е полезна за лекување на голем број на алергии, посебно на оние алергии на храна кои можат потполно да го онеспособат. Омализумабот беше првото против-ИгЕ противтело чија употреба е одобрена во САД (во 2003 година) за лекувањето на алергичната астма. Иако терапијата со омализумабот значително го намалуваше нивото на ИгЕ кај пациентите со астма и ринит, неговата улога во подигањето на квалитетот на животот беше многу скромна, што исто така мора да се вкалкулира во трошоците на овој вид терапија.

Друг приод во лекувањето на алергиите произлегува од наодот дека растворливите противгени тежнееат да предизвикаат состојба на нераективност (анергија) преку активирање на Т-клетките во отсуство на потребниот костимулаторен сигнал (види слика 10-15). Се смета дека растворливиот противген се внесува со ендоцитоза, се обработува и се прикажува со ГТК молекулите од класа 2, но не може да го зголеми прикажувањето на неопходниот костимулаторен лиганд (Б7) на противген-прикажувачките клетки. Исто така се испитуваат и други методи за лекување на алергиите, кои се насочени кон блокирање на дејството на цитокините (како што се против-ИЛ-4 и против-ИЛ-5) и цитокинските рецептори, како и употребата на против-сенс олигонуклеитиди.



СЛИКА 15-12 Лекување со хипосензибилизација на тип 1 алергијата. Внесувањето на противгенот од амброзија, периодично во тек на 2 години кај лице кое е алергично на амброзија, предизвикува постепено намалуавње нивото на ИгЕ и значителен пораст на нивото на ИгГ. Двете противтела се измерени со радиомунитестови. *(Адаптирано од K. Ishizaka and T. Ishizaka, 1973, in Asthma Physiology, Immunopharmacology and Treatment, K. F. Austen and L. M. Lichtenstein, eds., Academic Press.)*

Разбирањето на механизамот за обеззрнување на мастоцитите и посредниците кои се вклучени во реакциите од тип 1 го расчистија патот за лекување на алергиите со користење на лекови. Противхистаминиците претставуваат најполезни лекови за лекување на симптомите на алергичниот ринит. Овие лекови дејствуваат преку врзување за хистаминските рецептори на целните клетки, блокирајќи го на тој начин врзувањето на хистаминот. X_1 рецепторите се блокираат со класичните противхистаминици. Втората генерација на X1 противхистаминици не реагира со холинергичните рецептори и според тоа нема седативни несакани ефекти. Поновите лекови за алергиите ги блокираат активностите на леукотриените и простагландините наместо на хистаминот.

ТАБЕЛА 15-4 Механизми на дејство на некои лекови кои се користат за лекување на преосетливоста од тип 1

Лек	Дејство
Противхистаминици	Ги блокира X_1 и X_2 рецепторите на целните клетки
Кромолин натриум	Го блокира приливот на Ca^{2+} во мастоцитите
Теофилин	Го продолжува присуството на високите нивоа на цАМФ во мастоцитите преку инхибиција на фосфодиестеразата, која го цепи цАМФ во 5'-АМФ*
Адреналин (епинефрин)	Стимулира создавање на цАМФ преку врзување за бета-адренергичните рецептори на мастоцитите*
Кортизон	Ги намалува нивото на хистаминот преку блокирање на претворањето на хистидинот во хистамин и го стимулира создавањето на цАМФ* во мастоцитите

*Иако нивото на цАМФ привремено се качува во текот на активирањето на мастоцитите, обеззрнувањето е оневозможено доколку нивоата на цАМФ останат високи.

Одредени лекови го блокираат ослободувањето на алергиските посредници преку попречување на различните биохемиски чекори во активацијата и обеззрнувањето на мастоцитите (табела 15-4). Динатриум хромогликатот (кромолин натриум) го спречува приливот на Ca^{2+} во мастоцитите. Теофилинот, кој обично им се дава на астматичните лица орално или преку инхалатор, ја блокира фосфодиестеразата, која го катализира распадот на цАМФ во 5'-АМФ. Како резултат на ова доаѓа до продолжено золемување на нивото на цАМФ, што го блокира обеззрнувањето. Бројни лекови го стимулираат бета-адренергичниот систем преку стимулирање бета-адренергичните рецептори. Како што е споменато претходно, адреналинот (исто така познат и како епинефрин) често се дава при анафилактичниот шок. Тој дејствува така што се врзува за бета-адренергичните рецептори на мазните мускули од бронхиите и на маст клетките, зголемувајќи го нивото на цАМФ во овие клетки. Зголемените нивоа на цАМФ предизвикуваат олабавување на бронхијалните мускули и намалено обеззрнување на мастоцитите. Денес се развиени бројни аналози на адреналинот, кои се врзуваат селективно за одредени бета-адренергични рецептори, предизвикувајќи пораст на цАМФ со помалку несакани ефекти отколку што тоа го прави адреналинот. Кортизонот и разни други противвоспалителни лекови исто така се користат за намалување на воспалението кое се среќава кај одредени видови реакции од тип 1.

Противтелнопосредувана цитоксична (тип 2) преосетливост

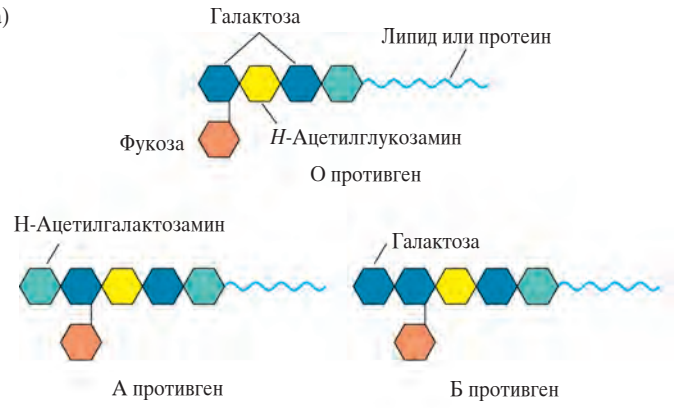
Тип 2 реакциите на преосетливост вклучуваат противтело-посредувано уништување на клетките. Противтелото кое е врзано за противгенот од површината на клетката може да го активира комплементниот систем, создавајќи пори во мембраната на туѓата клетка (види слика 7-8) или може да посредува во уништувањето на клетките преку противтелно зависната клеточно посредувана цитоксичност (ПЗКЦ) (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity = ADCC). При овој процес, цитотоксичните клетки кои имаат Фк рецептори се врзуваат за Фк подрачјето од противтелата на целните клетки и го поттикнуваат нивното убивање (види слика 14-12). Противтелото кое е врзано за туѓата клетка исто така може да послужи и како опсонин, овозможувајќи им на фагоцитните клетки со Фк или К3б рецептори да се врзат и да ја фагоцитираат клетката обвиткана од противтела (види слика 7-13).

Во овој дел ќе разгледаме три примери од реакциите на преосетливост од тип 2. Одредени автоимуни заболувања вклучуваат со авто-противтело-посредувано уништување на клетките преку механизми од тип 2. Овие болести се објаснети во Поглавје 16.

Трансфузиските реакции се реакции од тип 2

Голем број протеини и гликопротеини врз мембраната од црвените крвни клетки се кодирани од различни гени, каде секој од нив има бројни алтернативни алели. Лицето кое поседува одредена алелна форма на крвногрупниот противген може да ги препознае како туѓи останатите алелни форми присутни во трансфундираната крв и да предизвика создавање на противтелен одговор. Во некои од случаите веќе однапред има создадено противтела, преку природното изложување на слични противгенски одредници присутни на мноштвото микроорганизми, кои се дел од нормалната флора во цревата.

(а)



СЛИКА 15-13 АБО крвногрупен систем. (а) Структура на крајните шеќери, кои ги сочинуваат различните епитопи кај А, Б и О крвните противгени. (б) АБО генотиповите и соодветните фенотипови, аглутинини и изохемаглутинини.

(б)

Генотип	Крвногрупни фенотипови	Противгени на црвените крвни клетки (*аглутинини*)	Серум противтела (*изохемаглутинини*)
АА или АО	А	А	Против-Б
ББ или БО	Б	Б	Против-А
АБ	АБ	А и Б	Нема
ОО	О	Нема	Против-А и против-Б

Ова е случај со АБО крвнорупните противгени (слика 15-13а).

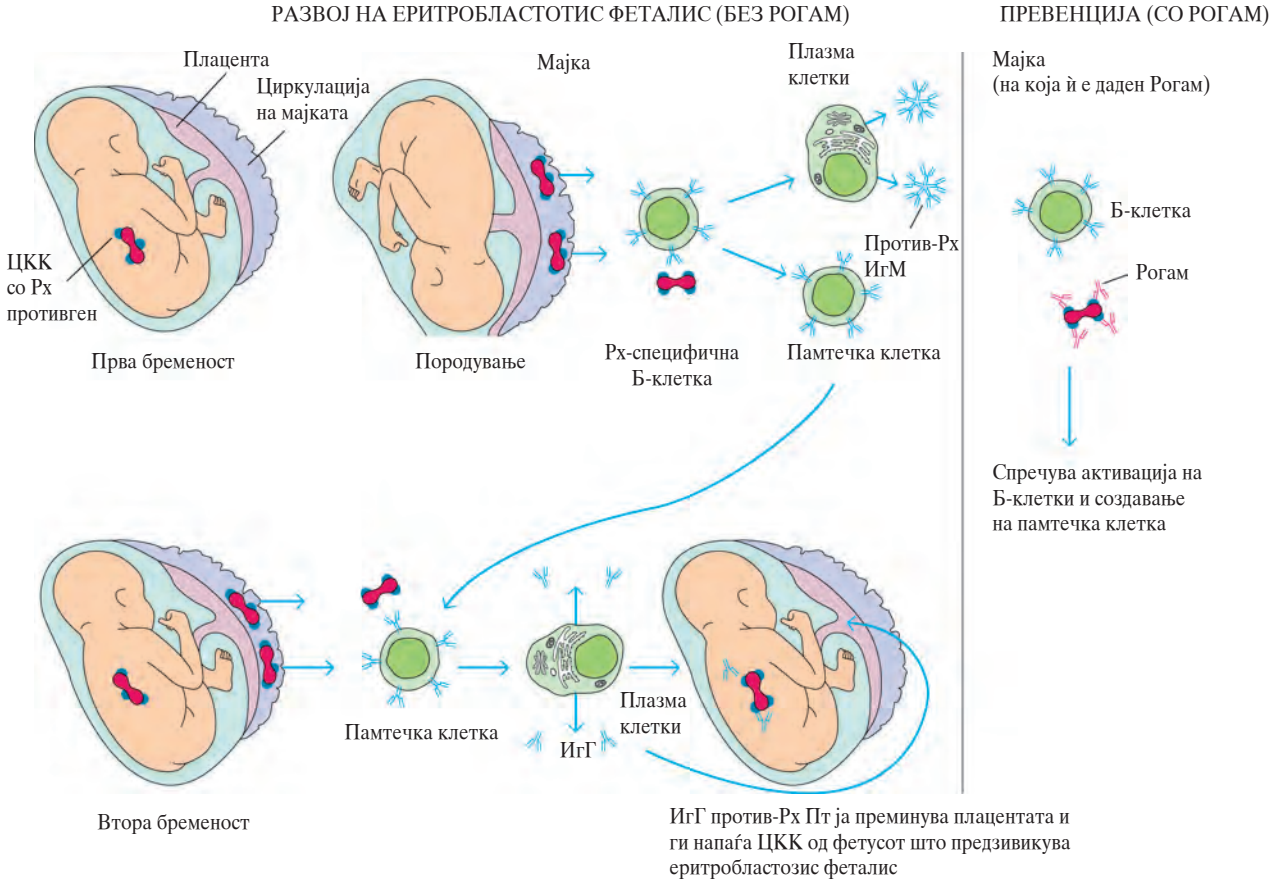
Противтелата за А, Б и О противгените, наречени изохемаглутинини, обично се од ИгМ класата. На пример, лицето со крвна група А, препознава епитопи кои наликуваат на Б противгенот и кои се наоѓаат на тенкоцревните микроорганизми и создава изохемаглутинини кон нив. Истото лице не рагира на епитопите кои наликуваат на А противгенот кои се наоѓаат на истите тенкоцревни микроорганизми, бидејќи епитопите кои наликуваат на А се премногу слични на сопствените и организмот развил состојба на толеранција кон овие епитопи (слика 15-13б). Доколку на лице со крвна група А му се даде трансфузија на крв од крвна група Б, настанува **трансфузиска реакција** во која против-Б изохемаглутинините се врзуваат за Б крвните клетки и посредуваат во нивно уништување преку комплемент-посредуваната лиза. Противтелата кон останатите крвногрупни противгени можат да се јават како последица од повторувачките трансфузии на крв, бидејќи малите разлики во алелите кај овие противгени можат да стимулираат создавање на противтела. Овие противтела обично се од ИгГ класата.

Клиничките манифестации на трансфузиските реакции се јавуваат како резултат на масивната хемолиза на трансфундираните црвени клетки внатре во крвните садови од страна на противтелото и комплементот. Овие манифестации можат да настапат веднаш или да се јават одложено. Реакциите кои се јавуваат веднаш најчесто се асоцирани со АБО-крвногрупните несовпаѓања (инкомпатибилност), кои доведуваат до комплемент-посредувана лиза поттикната од ИгМ изохемаглутининте. Во тек на неколку часа, во плазмата може да се докаже присуство на слободен хемоглобин. Тој се филтрира низ бубрезите, што доведува до хемоглобинурија. Дел од хемоглобинот се претвора во билирубин, кој во големи концентрации е отровен. Типичните симтоми вклучуваат треска, настинки, гадење, сосирување на крвта во крвните садови, болка во долниот дел од грбот и појава на хемоглобин во урината. Лекувањето вклучува итно прекинување трансфузијата на крв и одржување на нормалното создавање и исфрлање на урина со помош на диуретици, бидејќи акумулацијата на хемоглобинот во бубрезите може да предизвика акутна тубуларна некроза.

Одложените хемолтички трансфузиски реакции во основа настануваат кај лица кои примиле повторувачки трансфузии на крв која е АБО совпадлива, но која не се совпаѓа во противгените од останатите крвни групи. Реакциите се појауваат помеѓу 2 до 6 ден по трансфузијата, отсликувајќи ја вторичната природа на овие реакции. Трансфундираната крв предизвикува клонска селекција и создавање ИгГ против голем број на мембрански крвногрупни противгени, најчесто на Рх, Кел, Кид и Дафи. Предоминантниот изотип кој е вклучен во овие реакции е ИгГ, кој е помалку ефикасен од ИгМ во активирањето на комплементот. Поради оваа причина, комплемент-посредуваната лиза на трансфундираните црвени крвни клетки не е целосна и голем број од трансфундираните клетки се уништуваат надвор од крвните садови со аглутинација, опсонизација и последователна фагоцитоза од страна на макрофагите. Симптомите вклучуваат грозница, низок хемоглобин, зголемено ниво на билирубин, блага жолтица и анемија. При овие реакции во плазмата или урината обично не се забележува слободен хемоглобин, бидејќи уништувањето на црвените крвни клетки се случува надвор од крвните садови.

Хемолитичката болест на новороденчето е предизвикано од реакции од тип 2

Хемолитичката болест на новороденчето се јавува кога мајчините ИгГ противтела, кои се специфични за крвногрупните противгени на фетусот, ќе ја преминат плацентата и ќе предизвикаат уништување на фетусните црвени крвни клетки. Последиците од ваквиот трансфер можат да бидат мали, сериозни или смротоносни. Тешката хемолитичка болест на новороденчето, наречена **еритробластозис феталис**, најчесто се развива кога $Рх^+$ фетус на неговите црвени крвни клетки прикажува **Рх противген,** којшто неговата $Рх^-$ мајка не ги прикажува. Во текот на бременоста, фетусните црвени крвни клетки се одделени од циркулацијата на мајката преку слој на клетки во плацентата наречен трофобласт. За време на нејзината прва бременост со $Рх^+$ фетус, $Рх^-$ жена обично не е изложена на доволно фетусни црвени крвни клетки за да ги активира нејзините Рх-специфични Б-клетки. Меѓутоа, во



СЛИКА 15-14 Развој на еритробластозис феталис (хемолитичка болест на новороденче) предизвикан кога $Рх^-$ мајка која носи $Рх^+$ фетус (*лево*) и ефектот од лекувањето со против-Рх противтелото или Рогам (*десно*).

текот на породувањето, доаѓа до одделување на плацентата од ѕидот на матката, што овозможува поголеми количина на крв од фетусот преку папочната врвка да навлезат во циркулацијата на мајката. Овие фетусни црвени крвни клетки ги активираат Рх-специфичните Б-клетки, при што кај мајката доаѓа до создавање на Рх-специфични плазма клетки и памтечки Б-клетки. Излаченото ИгМ противтело ги отстранува фетусните $Рх^+$ црвени крвни клетки од циркулацијата на мајката, но памтечките клетки остануваат закана за каква било понатамошна бременост со $Рх^+$ ембрион. Активирањето на овие памтечки клетки кај следната бременост доведува до создавање ИгГ против-Рх противтела, кои ја преминуваат плацентата и ги оштетуваат црвените крвни клетки на фетусот (слика 15-14). Кај фетусот може да се јави блага до тешка анемија, понекогаш со фатални последици. Освен тоа, претворањето на хемоглобинот во билирубин може да претставува дополнителна закана за новороденчето, бидејќи липидно растворливиот билирубин може да се акумулира во мозокот и да предизвика негово оштетување.

Хемолитичката болест на новороденото предизикана од Рх несовпаѓањето, во следната бременост може скоро целосно да се спречи доколку на мајката ѝ се дадат противтела против Рх противгенот околу 28 недела од бременоста и во период од 24 до 48 часа по првото раѓање. Против-Рх противтелата исто така им се даваат и на бремените жени по извршената амниоцентеза. Овие противтела, означени како **Рогам**, се врзуваат за сите фетални црвени крвни клетки кои можеби навлегле во крвотокот на мајката и го олеснуваат нивното отстранување пред да се случи активирање на Б-клетките и пред да настане создавање на памтечки клетки. Во следните бремености со $Рх^+$ фетус, мала е веројатноста дека мајката која примила Рогам ќе создаде ИгГ против-Рх противтела. Од ова произлегува дека фетусот е заштитен од оштетувањета кои ќе се јават кога овие противтела ќе ја преминат плацентата.

Развојот на хемолитичката болест нај новороденото предизивикана од Рх несовпаѓањето (некомпитабилноста) може да се открие со тестирање на мајчиниот серум за присуство на противтела кон Рх противгенот повремено во текот на бременоста. Порастот на титарот на овие противтела со напредување на бременоста, покажува дека мајката е изложена на Рх противгени и создава зголемени количества на противтела. Присуството на мајчиниот ИгГ врз површината од црвени крвни клетки на фетусот може да се открие со Кумбсовиот тест. Изолирани фетални црвени крвни клетки се инкубираат со Кумбсов серум, козјо противтело насочно кон човечко ИгГ противтело. Доколку мајчиниот ИгГ е врзан за црвените крвни клетки од фетусот, клетките ќе аглутинираат (ќе се слепат) со помош на Кумбсовиот серум.

Ако во текот на бременоста се открие постоење на хемолитичка болест предизвикана од Рх несовпаѓањето, лекувањето ќе зависи од тежината на реакцијата. При тешка реакција, на фетусот може да му се направи внатреутерина транс-

фузија за да се заменат фетусните Px^+ црвените крвни клетки со Px^- клетки. Овие трансфузии се прават на секои 10 до 21 ден сè до породувањето. При полесните случаи, трансфузијата за размена на крвта не се прави сè до породувањето, превенствено да се отстрани билирубинот. Новороденото исто така се изложува и на мали дози на УВ светлина за се предизвика распаѓање на билирубинот и да се спречи оштетувањето на мозокот. Мајката во текот на бременоста исто така може да се лекува и со **плазмафереза**. При оваа постапка, се користи машина за клеточно одделување за да се подели крвта на мајката на два дела, клетки и плазма. Плазмата која го содржи против-Px противтелото се отфрла, а клетките повторно ѝ се враќаат на мајката во албуминский или раствор од свежа плазма.

Повеќето од случаите (65%) со хемолитичка болест на новороденче имаат мали последици и се предизвикани од АБО-крвногрупното несовпаѓање меѓу мајката и фетусот. Фетусите со А и Б крвна група кои се носени од мајка со крвна група О, вообичаено ја развиваат оваа реакција. Мајката со крвна група О најверојатно ќе развие ИгГ противтело против противгените од крвните група А или Б или преку природно изложување или преку изложување на фетусните А и Б крвногрупни противгени во текот на наредните бремености. Обично фетусната анемија која е резултат на ова несовпаѓање е блага. Главната клиничка манифестација е благото покачување на нивото на билирубинот, со појава на жолтица. Во зависност од тежината на анемијата и жолтицата, кај овие новороденчиња може да биде потребна трансфузија за измена на крвта. Во основа, реакцијата е блага, а изложувањето на новороденчето на ниски нивоа на УВ светлина е доволно за да се разложи билирубинот и да се избегне оштетувањето на мозокот.

Хемолитичната анемија предизвикана од лекови е одговор од тип 2

Одредени антибиотици (на пример, пеницилинот, цефалоспоринот и стрептомицинот) можат да се адсорбираат неспецифично за протеини од мембраните на црвените крвни клетки, создавајќи комплекс кој е сличен на комплексот хаптен-носач. Кај одредени пациенти, ваквите комплекси лек-протеин предизвикуваат создавање на противтела, кои потоа се врзуваат за апсорбираниот лек на црвените крвни клетки, предизвикувајќи со комплемент-посредувана лиза и постепен развој на анемија. Кога лекот ќе престане да се користи, хемолитичната анемија исчезнува. Пеницилинот е познат по тоа што може да ги предизвика сите четири вида на преосетливост со разни клинички манифестации (табла 15-5).

ТАБЕЛА 15-5 Реакции на преосетливост предизвикани од пеницилин

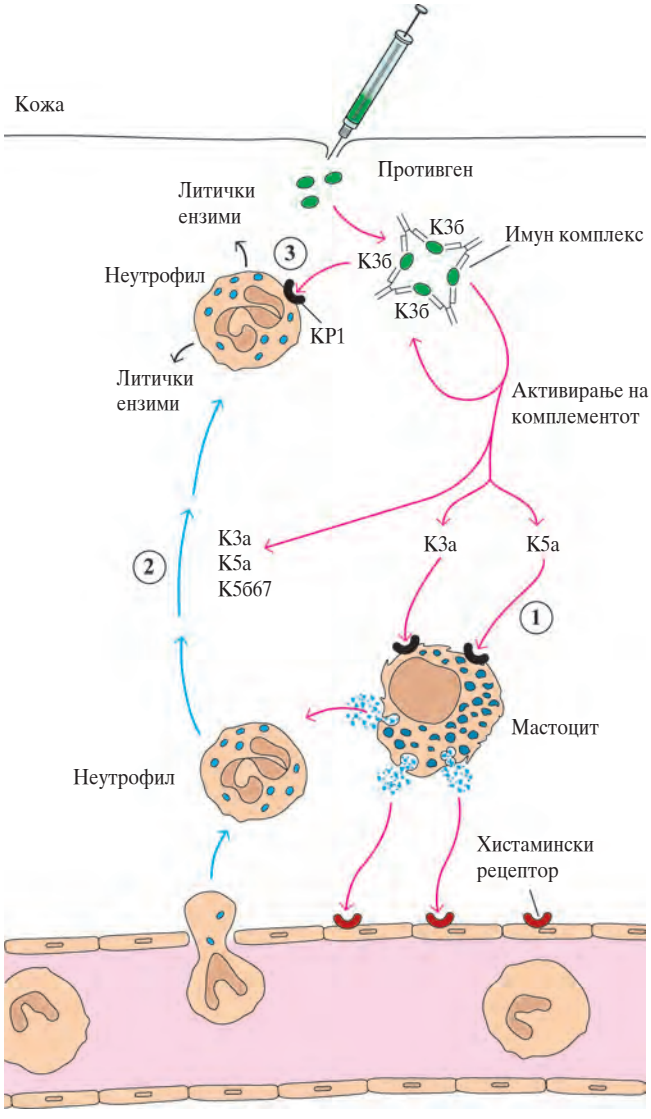
Тип на реакција	Противтело или лимфоцити од кои е предизвикана	Клиничка манифестација
I	ИгЕ	Уртикарија, системска анафилакса
II	ИгМ, ИгГ	Хемолитичка анемија
III	ИгГ	Серумска болест, гломерулонефрит
IV	$T_{по}1$ клетки	Контактен дерматит

Преосетливост посредувана со имуни комплекси (тип 3)

Реакцијата на противтелото со противгенот создава имуни комплекси. Во основа, ваквото поврзување на противгенот со противтелото го олеснува отстранувањето на противгенот со помош на фагоцитните клетки и црвените крвни клетки (види слика 7-15). Сепак, во одредени случаи големата количина на создадените имуни комплекси може да доведе до појава на реакции на преосетливост од тип 3, кои го оштетуваат ткивото. Големина на оваа реакција зависи како од количината на создадените имуни комплекси, така и од нивната дистрибуција во организмот. Кога комплексите се таложат во ткивото мошне близу до местото на навлегување на противгенот, се јавува локализирана реакција. Доколку комплексите се формираат во крвта, во тој случај реакција може да се јави секаде каде што тие се таложат. Многу често таложењето на имуните комплекси може да се забележи во sидовите на крвните садови, во синовијалната мембрана на зглобовите, во бубрежната гломеруларна базална мембрана и во хориоидниот плексус во мозокот. Таложењето на овие комплекси предизвикува реакција, која доведува до регрутирање на неутрофили во местото на таложењето. Ткивото на ова место се оштетува како последица од ослободувањето на зрнцата од неутрофилот.

Реакциите на преосетливост од тип 3 се развиваат кога имуните комплекси ќе доведат до активирање на ефекторните молекули од системот на комплементот (види слика 7-2). Како што објаснивме во поглавје 7, К3а и К5а продуктите од цепењето на комплементот се анафилатоксини кои предизвикуваат локализирано обеззрнување на мастоцитите и последователно зголемување на локалната пропустливост на крвните садови. К3а, К5а и К5б6 се и така хемотаксични фактори за неутрофилите, кои можат да се насоберат во голем број во местото на таложењето на имуните комплески. Поголемите имуни комплекси се таложат во базалната мембрана од sидовите на крвните садови или бубржните гломерули, додека помалите комплекси можат да поминат низ базалната мембрана и да се исталожат под епителот. Типот на повредата која се јавува зависи од местото на таложењето на комплексите.

Врзувањето на имунте комплекси за Фк и комплементните рецептори на белите крвни клетки доведува до активирање на воспалителниот одговор. Поголемиот дел од оштетувањето на ткивото при тип 3 реакциите, се јавува поради ослободувањето на литичните ензими на неутрофилите при нивниот обид да ги фагоцитираат имуните соединенија. К3б компонентата од комплементот делува како опсонин, обвиткувајќи ги имуните комплекси. Неутрофилот се врзува за К3б-обложените имуни комплекси преку тип 1 комплементниот рецептор, кој е специфичен за К3б. Бидејќи комплексите се таложат на површината од базалната мембрана фагоцитозата е попречена, поради што доаѓа до ослободување на литичките ензими при неуспешните обиди на неутрофилот да го консумира прилепениот имун комплекс. Активирањето на мамбрана-напаѓачкиот комплекс од комплементниот систем, исто така може да придонесе за оштетување на ткивото. Освен тоа, активирањето на комплементот може да предизвика насобирање (арегација) на крвните плочки, а ослободувањето на сосирувачките фактори, кое се јавува како резултат на тоа, може да доведе до создавање на микротромби.



СЛИКА 15-15 Развој на локализирана Артусова реакција (тип 3 реакција на преосетливост). Активирањето на комплементот предизвикано од имуните комплекси (класична патека) предизвикува создавање на комплементни меѓупродукти кои (1) посредуваат во обеззрнувањето на мастоцитите, (2) хемотаксичното привлекување на неутрофилите и (3) во стимулирањето на ослободување на литички ензими од неутрофилите кои се обидуваат да ги фагоцитираат К3б-обвитканите имуни комплекси.

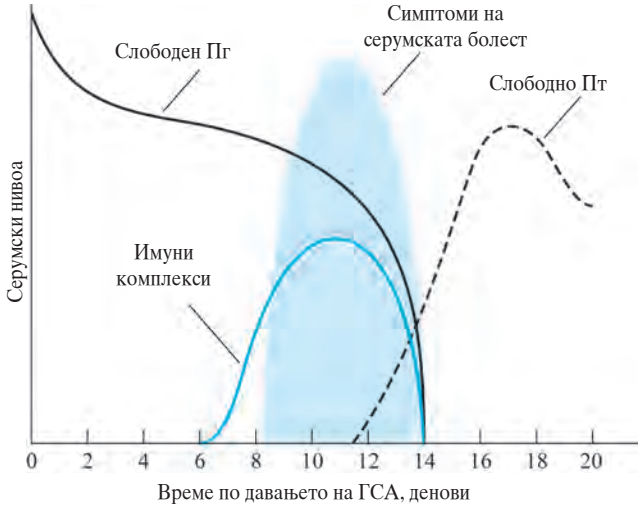
Реакциите од тип 3 може да бидат локални

Внесување на противген во кожата или подкожно во експериментално животно кое има високи нивоа на циркулирачко противтело специфично за тој противген доведува до локално создавање на имуни комплекси, кои посредуваат во акутната Артусова реакција во период од 4 до 8 часа (слика 15-15). Микроскопското испитување на ткивата октрива присуство на неутрофили кои се прилепуваат за крвосадниот ендотел и потоа мигрираат во ткивата на местото каде се таложат имуните комплекси. Како што се развива реакцијата, локализираното ткивно и крвосадно оштетување доведува до насобирање на течност (едем) и црвени крвни клетки (еритема) на местото на оштетувањето. Тежината на реакцијата може да варира од благо отекување и црвенило до ткивна некроза.

По убод од инсект, сензибилизираното лице на местото на убодот може да развие брза локална тип 1 реакција. Често, 4 до 8 часа подоцна, на местото на убодот се јавува и типична Артусова реакција, со изразено црвенило и оток. Артусовиот тип на реакциии во белите дробови, кои се предизвикани од бактериски спори, габи или исушени фекални протеини, можат да предизвикаат воспаление на белите дробови или алвеолите. Овие реакции се познати под разни имиња кои го отсликуваат изворот на противгенот. На пример, заболувањето наречено „фармерски бели дробови“ се добива со вдишување на термофилни актиномицети од мувлосаното сено, додека „заболувањето на љубителите на гулаби“ е резултат од вдишувањето на прашина полна со серумскиот протеин, кој потекнува од исушениот измет од гулабите.

Реакциите од тип 3 исто така може да бидат и генерализирани

Кога големи количини од противгенот ќе навлезат во крвотокот и ќе се врзат за противтелото, може да се создадат циркулирачки имуни комплекси. Доколку противгенот е значително во вишок во споредба со противтелата, комплексите кои се создаваат се помали. Бидејќи овие комплекси не можат лесно да се отстранат од страна на фагоцитните клетки, може да дојде до оштетување на ткивата на различни места со тип 3 на реакција. Историски гледано, генерализираните реакции од тип 3 често се гледале по внесувањето на противотровите кои содржеле туѓ серум, какви што се на пример коњскиот противтетанусен или против-дифтеричен серум. Во овие случаи, примателот на туѓиот противсерум создавал противтела кои се специфични кон протеините од туѓиот серум, кои противтела



СЛИКА 15-16 Корелација помеѓу создавањето на имуни комплекси и развитокот на симптомите на серумската болест. Голема доза на противген (ГСА - говедски серумски албумин) е внесена во зајак во денот 0. Како што се создава противтелото, создава комплекс со противгенот и се таложи во бубрезите, зглобовите и капиларите. Симптомите на серумската болест (светло сината површина) одговараат на врвот на создавањето на имуни комплекси. Како што се отстрануваат имуните комплекси, се забележува присуство на слободно циркулирачко противтело (испрекината црна линија) и повлекување на симптомите на серумската болест. *(Базирано на F. G. Germuth, Jr.,* 1953, Journal of Experimental Medicine 97:257.)

потоа создавале циркулирачки имуни комплекси со туѓите серумски противгени. Обично, во текот на неколку денови или недели по изложувањето на туѓите серумски противгени, лицето започнува да манифестира комбинација од симптоми кои се наречени **болест на серумот** (слика 15-16).

Овие симптоми вклучуваат грозница, слабост, генерализирано воспаление на крвните садови (исипи) со оток и црвенило, воспалување на лимфните јазли (лимфаденопатија), артрит и понекогаш гломерунолефрит. Точните манифестации на серумската болест зависат од количината на создадените имуни комплекси и од нивната големината, што ја одредува областа на нивното таложење. Како што споменавме претходно, местата на таложење на овие комплекси варираат, но во принцип, комплексите се акумулираат во ткивата каде настанува филтрирање на плазмата. Ова ја објаснува високата зачестеност на гломерунолефритот (таложење на комплексите во бубрезите), воспалувањето на крвните садови (таложење во артериите) и артритот (таложење во синовијата на злобовите) предизвикани од серумската болест. Денес серумската болест најчесто се гледа по лекувањето со антибиотици (да не се помеша со алергијата на лекови) и по давањето на одредени вакцини. Симптомите се појавуваат од 7 до 21 ден по првичното изложување и можат да се развијат за 1 до 3 дена при секое последователно изложување кон истиот противген.

Во текот на 80-тите години од дваесеттиот век, употребата на моноклонските противтела како „магични куршуми“ за лекување ракот и мноштво други болести создаде доста возбуда. Сепак, пациентите кои во терапевтски цели примиле моноклонски противтела од глувци, почнале да создаваат сопствени противтела против туѓите противтела, наречен човечки против-глувчешки противтелен (ЧПГП) (human anti-mouse antibody = HAMA) одговор и развиле симтоми кои наликуваат на серумската болест. Сега е веќе познато дека инјекцијата со глувчешки противтела предизвикала генерализирана тип 3 реакција. Терапевтските противтела биле елеминирани пред воопшто да стигнат до нивната патогена цел. За да се избегне ЧПГП одговор, терапевтските противтела кои сега се употребуваат се хуманизирани или генетски модифицирани за да не бидат препознаени како туѓи, како што е објаснето претходно за против-ИгЕ терапијата кај алергиите.

Создавањето на циркулирачки имуни комплекси, покрај серумската болест, доприносува и во патогенезата на голем број на други состојби, вклучувајќи ги:

- *Автоимуни заболувања*
  - Системски лупус еритематозус
  - Ревматски артрит
  - Синдромот на Гудпастер
- *Реакциите од лекови*
  - Алергии на пеницилин и сулфонамиди
- *Инфективни заболувања*
  - Послестрептококен гломерулонефритис
  - Менингитис
  - Хепатит
  - Мононуклеоза
  - Маларија
  - Трипанозомијаза

Се покажа дека комплексите од противтелата со разни бактериски, вирусни и паразитски противгени можат да предизвикаат појава на мноштво реакции од тип 3 на преосетливост, вклучувајќи ги тука кожните исипи, артритичните симптоми и гломерулонефритот. На пример, послестрептококниот гломерулонефрит се добива кога циркулирачките комплекси од противтелото и стрептококните противгени се таложат во бубрезите и ги оштетуваат гломерулите. Голем број на автоимуни заболувања потекнуваат од циркулирачките комплекси на противтело со сопствените протеини, со гликопротеини или дури со ДНК. Кај системскиот лупус еритематозус, комплексите на ДНК и против-ДНК противтелата се акумулираат во синовијалните мембрани предизвикувајќи артритични симптоми или се акумулираат на базалната мембрана во бубрегот, предизвикувајќи прогресивно оштетување на бубрезите.

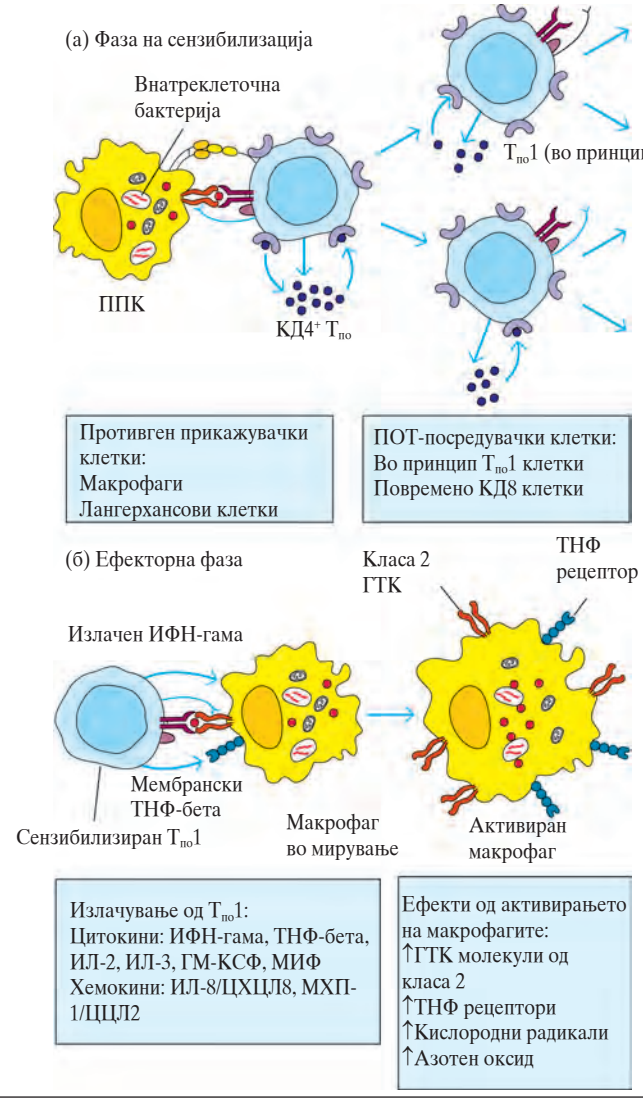
Преосетливост од одложен тип (ПОТ) или тип 4

Кога одредени подпопулации на активираните $T_{по}$ клетки ќе се сретнат со одредени типови на противгени, тие излачуваат цитокини кои поттикнуваат локална воспалителна реакција наречена **преосетливост од одложен тип (ПОТ)**. Оваа реакција се карактеризира со голем прилив на неспецифични клетки на воспалението, особено на макрофаги. Овој вид на одговор најпрвин е опишан во 1890 година од страна на Роберт Кох, кој забележал дека лицата заразени со *Mycobacterium tuberculosis* развивале локализиран воспалителен одговор, кога преку кожата ќе им се внесел филтрат добиен од култура на микобактеријата. Тој оваа локализирана кожна реакција ја нарекол „туберкулинска реакција“. Подоцна, кога станало јасно дека и многу други противгени можат да предизвикаат ваков одговор (табела 15-6), нејзиното име е променето во одложен тип или тип 4 на преосетливост, алудирајќи на одложениот почеток на реакцијата и на оштетувањето на ткивото (преосетливоста) кое често е поврзано со оваа реакција. Изразот *преосетливост* може многу лесно да наведе на погрешно мислење, бидејќи сугерира дека ПОТ е секогаш штетна. Иако во одредени случаи ПОТ одговорот предизвикува обемно оштетување на ткивото и сам по себе е патолошки, во голем број случаи оштетувањето на ткивото е ограничено, а одговорот игра значајна улога во одбраната против внатреклеточните патогени и контактни противгени. Обележјата на тип 4 реакцијата се одложеноста која е неопходна за да може да се развие одговорот и регрутирањето на макрофагите, за разлика од неутрофилите кои се регрутираат кај реакциите од тип 3. Макрофагите се главната компонента на инфилтратот кој го опкружува местото на воспалението.

ТАБЕЛА 15-6 Внатреклеточни патогени и контактни противгени кои предизвикуваат одложен тип (тип 4) на преосетливост

Внатреклеточни бактерии	Внатреклеточни вируси
Mycobacterium tuberculosis	Херпер симплекс вирус
Mycobacterium leprae	Вариола (големи сипаници)
Listeria monocytogenes	Вирус на сипаници
Brucella abortus	
Внатреклеточни габи	Контактни противгени
Pneumocystis carinii	Пикрилхлорид
Candida albicans	Бои за коса
Histoplasma capsulatum	Соли на никел
Cryptococcus neoformans	Отровен бршлен
Внатреклеточни паразити	Отровен даб
Leishmania sp.	

ДЕТАЛЕН ПРИКАЗ 15-17: ПОТ одговор



(а) Во фазата на сензибилизација по почетниот контакт со противгенот (на пример, пептидите кои потекнуваат од внатреклеточната бактерија), $T_{по}$ клетки се размножуваат и се диференцираат во $T_{по}1$ клетки. Цитокините кои се излачуваат од страна на овие Т-клетки се означени со црни топчиња. (б) Во ефекторната фаза при следното изложување на сензибилизираните $T_{по}1$ клетки на противгенот, $T_{по}1$ клетките почнуваат да излачуваат мноштво различни цитокини и хемокини. Овие фактори ги привлекуваат и ги активираат макрофагите и други неспецифични клетки на воспалителнието. Активираните макрофаги се поефикасни при прикажувањето на противгенот, продолжувајќи го на тој начин времето на ПОТ одговорот и функционираат како првични ефекторни клетки при оваа реакција.

Постојат неколку фази на ПОТ одговорот

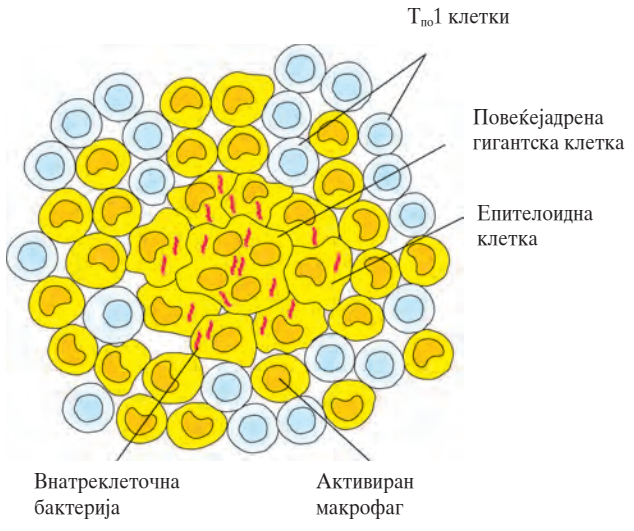
Развојот на ПОТ одговорот започнува со почетната фаза на сензибилизација од 1 до 2 недели по првичниот контакт со противгенот. Во текот на овој период, $T_{по}$ клетки се активираат и клонски се размножуваат благодарение на противгенот кој е прикажан врз соодветната противген прикажувачка клетка, заедно со потребната ГТК молекула од класа 2 (слика 15-17а). Се покажа дека различни противген прикажувачки клетки се вклучени во активирањето на ПОТ одговорот, вклучувајќи ги тука и Лангерхансовите клетки и макрофагите. Лангерхансовите клетки се стеблести клетки кои се наоѓаат во горниот дел од кожата (епидермата). Се верува дека овие клетки го превземаат противгенот кој навлегува низ кожата и го пренесуваат до регионалните лимфни јазли, каде што Т-клетките се активираат од страна на противгенот. Кај одредени видови, вклучувајќи ги и луѓето, крвосадните ендотелни клетки прикажуваат ГТК молекули од класа 2 и функционираат како противген прикажувачки клетки при развојот на ПОТ. Во основа, Т-клетките кои се активираат во текот на фазата на

сензибилизација се КД4$^+$, првенствено од подтипот $T_{по}1$, но во неколку случаи се покажало дека и КД8$^+$ клетките можат да предизвикаат ПОТ одговор. Активираните Т-клетки порано се нарекувале $T_{ПОТ}$ клетки, за да се укаже на нивната функција при ПОТ одговорот, иако во реалноста тие се просто подгрупа на активираните $T_{по}1$ клетки (или, во одредени случаи $T_{цт}$ клетки).

Последователното изложување противгенот ја предизвикува ефекторната фаза на ПОТ одговорот (види слика 15-17б). Во ефекторната фаза, $T_{по}1$ клетки излачуваат различни цитокини кои ги регрутираат и ги активираат макрофагите и останатите неспецифични клетки на воспалителнието. ПОТ одговорот обично не станува видлив, во просек, пред да изминат 24 часа по вторичниот контакт со противгенот. Одговорот обично својот врв го достигнува во периодот од 48 до 72 часа по вториот контакт. Одложениот почетот на овој одговор се должи на времето кое им е потребно на цитокините да предизвикаат локален прилив од макрофаги и нивно активирање. Штом еднаш започне ПОТ одговорот, започнува комплексното заемно дејство на неспецифичните клетки и посредници, кое што може да доведе до значително засилување. Додека ПОТ одговорот целосно да се развие, само 5% од клетките кои учествуваат се противген-специфични $T_{по}1$ клетки, додека остатокот се макрофаги и други неспецифични клетки.

Макрофагите се основните ефекторни клетки во ПОТ одговорот. Цитокините создадени од Тпо1 клетките ги поттикнуваат крвните моноцити да се прилепат за крвосадните ендотелни клетки и да мигрираат од крвта во околните ткива. Во текот на овој процес моноцитите се диференцираат во активирани макрофаги. Како што е објаснето во поглавје 2, активираните макрофаги прикажуваат зголемена способност за фагоцитоза и зголемена способност за убивање на микроорганизмите со помош на различни цитотоксични посредници. Покрај тоа, активните макрофаги прикажуваат зголемени нивоа на ГТК молекули од класа 2 и клеточни атхезивни молекули поради што поефикасно функционираат како противген прикажувачки клетки.

Приливот и активирањето на макрофагите при ПОТ одговорот се значајни за одбраната на домаќинот од паразитите и од бактериите кои живеат во клетките, каде циркулирачките противтела не можат да допрат. Зголемената фагоцитна активност и излачувањето на литичките ензими од макрофагите во областа на инфекција доведуваат до неспецифично уништување клетките, а со тоа и на внатреклеточниот патоген. Обично, патогенот брзо се елеминира, со мало оштетување на ткивото. Сепак, во одредни случаи, посебно доколку противгенот не може да се отстрани лесно, продолжениот ПОТ одговор сам по себе станува погубен за домаќинот како што интензивниот воспалителен одговор преминува во видлива грануломатозна реакција. Грануломот се развива кога продолженото активирање на макрофагите предизвикува нивно блиско меѓусебно слепување во епителоидна форма. Понекогаш може да дојде до соединување на фагоцитите и создавање на повеќејадрени гигантски клетки (слика 15-18). Овие гигантски клетки ги потиснуваат нормалните ткивни клетки создавајќи опипливи чворчиња, а ослободуваат и високи концентрации на литички енизми кои го уништуваат околното ткиво. Во овие случаи, одговорот може да ги оштети крвните садови и да доведе до голема некроза на ткивото. Одговорот на *Mycobacterium tuberculosis* ја покажува двојната природа на ПОТ одговорот. Имунитетот кон оваа внатреклеточна бактерија вклучува ПОТ одговор каде активираните макрофаги го одвојуваат микроорганизамот во белите дробови и го задржуваат внатре



СЛИКА 15-18 Продолженият ПОТ одговор може да доведе до создавање гранулом, чворовидна маса. Литичните ензими кои се ослободени од активираните макрофаги во грануломот, може да предизвикаат значително оштетување на ткивото.

во грануломатовидната промена наречена туберкул. Сепак, многу често, концентрираното ослободување литични ензими од активираните макрофаги во туберкулите, го оштетува белодробното ткиво. Некои примери за вистински болести на преосетливост каде оштетувањето на ткивата ги засенува било кои од полезните фекти, се објаснети во Поглавје 16.

Во ПОТ реакцијата учествуваат бројни цитокини

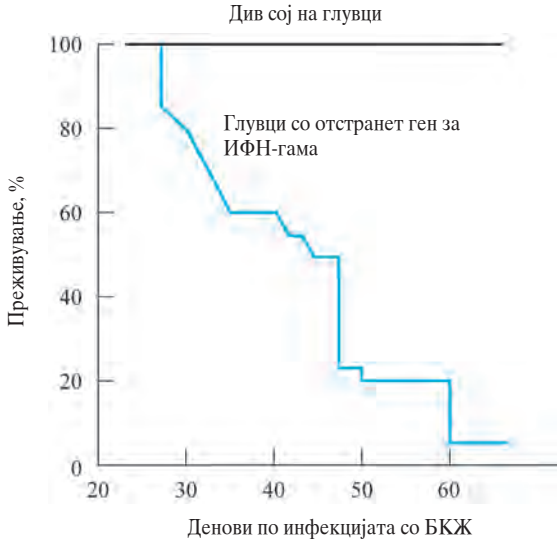
Меѓу цитокините кои се создаваат од страна $T_{по}1$ клетки постојат и такви кои ги привлекуваат и активираат макрофагите во местото на инфекцијата. ИЛ-3 и ГМ-КСФ предизвикуваат локално создавање на крвни клетки (хематопоеза) од грануломоцитно-моноцитната лоза. ИФН-гама и ТНФ-бета (заедно со макрофагно излачените ТНФ-алфа и ИЛ-1) дејствуваат врз околните ендотелни клетки, предизвикувајќи бројни промени кои ја олеснуваат екстравазацијата на моноцитите и другите неспецифични клетки на воспалението. Циркулирачките неутрофили и моноцити се прилепуваат за атхезивните молекули прикажани врз крвосадните ендотелни клетки, од каде со екстравазација поминуваат во ткивните простори. Неутрофилите се појавуваат рано во текот на одговорот, го достигнуваат својот врв по околу 6 часа од неговиот почеток, по што нивниот број опаѓа. Инфилтрацијата на моноцитите настанува помеѓу 24 до 48 часа по изложувањето на противгенот.

Кога моноцитите навлегуваат во ткивата за да станат макрофаги, со помош на хемотакса се привлекуваат на местото на ПОТ одговорот од страна на хемокините, каков што е на пример моноцитниот хемотактичен протеин (МХП-1/ЦЦЛ2). Цитокинот наречен миграциски инхибиторен фактор (МИФ) ги спречува макрофагите да мигрираат надвор од местото на ПОТ реакцијата. Како што се акумулираат макрофагите на местото на ПОТ одговорот, тие се актвираат од страна на цитокините,

особено од ИФН-гама и мембрански врзаниот ТНФ-бета создадени од $T_{по}1$ клетките. Како што видовме претходно, макрофагите по акивирањето стануваат многу поефикасни како противген прикажувачки клетки. Според тоа, активираните макрофаги можат ефикасно да посредуваат во активирањето на повеќе $T_{по}1$ клетки, првенствено преку секреција на ИЛ-12. ИЛ-12 предизвикува $T_{по}1$ клеточен одговор и силно го поттикнува излачувањето на ИФН-гама, со истовремено спречување на развојот на $T_{по}2$ клетките. ИЛ-12 заедно со еден друг цитокин кој се создава од страна на макрофагите, ИЛ-18, предизвикуваат излачување на поголема количина на ИФН-гама од страна на $T_{по}1$ клетки. Благодарение на ова, активираните Тпо1 клетки регрутираат и активираат уште повеќе макрофаги. Сепак, овој само-обновувачки одговор претставува „нож со две острици“, каде помеѓу полезниот заштитен одговор и штетниот одговор кој се карактеризира со обемно оштетување на ткивата постои многу тесна граница.

Резултатите од експериментите со глувци на кои им е отстранет генот за ИФН-гама, укажува на значењето на овој цитокин во ПОТ одговорот. Кога ваквите глувци биле заразени со атенуиран вид на *Mycobacterium bovis*, познат како БКЖ (Бацилус Калмет-Жерин), скоро сите умреле во период од 60 дена, додека глувците од див сој преживеале (слика 15-19). Се покажало дека макрофагите од глувците кај кои недостасува генот за ИФН-гама имаат намалени нивоа на ГТК молекули од класа 2 и намалено ниво на бактерицидни метаболити, како што се азотниот оксид и супероксидниот анјон.

ИЛ-17 е уште еден цитокин, кој слично како и ИФН-гама, делува како потентен посредник во реакциите од одложен тип преку зголемување на создавањето на хемокини во различните ткива, кои хемокини ги регрутираат моноцитите и неутрофилите на местото на воспалението. ИЛ-17 се создава од страна на $T_{по}$ клетки, иако е сèуште спорно дали се создава од $T_{по}1$ подгрупата на клетките или од една целосно нова одделна лоза на $T_{по}$ клетки, кои се создаваат директно од наивните КД4$^+$ Т-клетки, нречени „$T_{по}$-17 клетки“ од застапниците на вторава теорија. Она што е познато е дека клетките кои се привремено идентификувани како $T_{по}$-17 клетки се поттиканти од ИЛ-23 (за разлика од $T_{по}1$ кои се потикнати од страна на ИЛ-12) и создаваат различен профил на цитокини, вклучувајќи го и ИЛ-17 (наспроти ИФН-гама кој се лачи од $T_{по}1$), кој е одговорен за погубното оштетување на ткивото при ПОТ реакцијата.



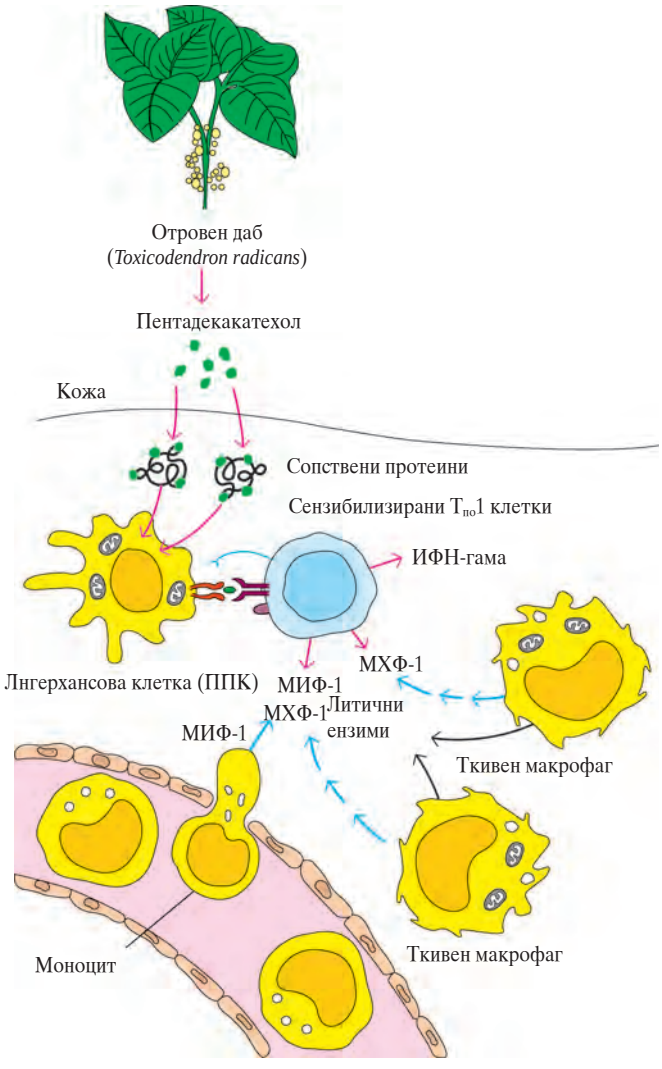
СЛИКА 15-19 Експериментален приказ на улогата на ИФН-гама во одбраната на домаќинот од внатреклеточните патогени. Создаден е сој на глувци на кои со помош на целна мутација им е уништен генот за ИФН-гама. Потоа глувците се инфицирани со 10^7 колониии формирачки единици од атенуиран Mscобацтериум бовис (БКЖ) и се следело нивното прежививање. (Адаптирано од D. K. Dalton et al., 1993, Science 259:1739.)

ПОТ реакцијата се открива со кожен тест

Присуството на ПОТ реакцијата може да се измери експериментално преку внесување на противген со инјекција меѓу слоевите на кожата на животното и набљудување дали на местото на внесување на противгенот ќе се појават карактеристичните кожни промени. Позитивниот одговор на кожниот тест укажува дека лицето има популација од сензибилизирани $T_{по}1$ клетки кои се специфични за противгенот кој се тестира. На пример, за да се одреди дали лицето било изложено на *M. tubercolosis*, ППД, протеин кој потекнува од клеточниот зид од овој микобактериум, се внесува меѓу слоевите на кожата (интердермално). Појавата на црвена, лесно отечена, тврда промена на местото на внесување на противенот во период од 48 до 72 часа од венсувањето, укажува на на претходно изложување. Кожните промени се резултат од интензивното насобирање на клетките во местото на внесувањето на противгенот во текот на ПОТ реакцијата. 80% до 90% од овие клетки се макрофаги. Треба да се нагласи дека позитивниот тест не кажува дали лицето било изложено на патогена форма *M. tubercolosis* или на формата која се користи во вакцините за имунизација, кои се користат во одредени делови од светот.

Контактниот дерматит е вид на ПОТ одговор

Голем број реакции на контактниот дерматит, вклучувајќи го одговорот на формалдехидот, на тринитрофенолот, на никелот, на терпентинот и на активните агенси кои се користат во различните козметички средства и бои за коса, на отровниот даб и отровниот бршлен, се посредувани од $T_{по}1$ клетките. Повеќето од овие супстанции се мали молекули кои можат да создадат комплекс со протеините од кожата. Овој комплекс се внесува во противген-претставувачките клетки во кожата (на пример, Лангерхансовите клетки), се обработува и се прикажува заедно со класа 2 молекулите од ГТК, предизвикувајќи активирање на сензибилизираните $T_{по}1$ клетки. На пример, при реакцијата на отровниот даб, пентадекакатехолната компонента од лисијата на растението создава комплекс со протеините од кожата. Кога $T_{по}$ клетки реагираат со овој комплекс, кој е соодветно прикажан врз локалните противген прикажувачки клетки, тие преминуваат во сензибилизирани $T_{по}1$ клетки. Подоцнежното изложување на пентадекакатехолот ќе предизвика активирање на $T_{по}1$ клетките и ќе предизвика создавање на цитокини (слика 15-20). Приближно 48 до 72 часа по второто изложување, излачените цитокини предизивкуваат акумулација на макрофагите на тоа место. Активирањето на овие макрофаги и ослободувањето на литичките ензими доведува до појава на црвенило и чирчиња, кои ја карактеризираат реакцијата на отровниот даб.



СЛИКА 15-20 Развој на реакцијата на одложен тип на преосетливост по второто изложување на отровниот даб. Цитокините какви што се ИФН-гама, моноцитниот хемотактичен протеин (МХП-1) и миграцискиот инхибиторен фактор (МИФ) ослободени од сензибилизираните $T_{по}1$ клетки ја посредуваат оваа реакција. Оштетувањето на ткивото е резултат од дејството на литичките ензими ослободени од активираните макрофаги.

Резиме

- Реакциите на преосетливост се воспалителни реакции во хуморалниот или во клеточно-посредуваниот дел од имуниот систем кои доведуваат до обемно оштетување на ткивото или дури и до смрт. Во четирите видови на реакции на преосетливост се содаваат карактеристични ефекторни молекули и клинички манифестации.
- Реакцијата на преосетливост од тип 1 е посредувана од ИгЕ противтелата, чие Фк подрачје се врзува за рецепторите на мастоцитите или крвните базофили. Премостувањето на фиксираниот ИгЕ од страна на алергенот, доведува до обеззрнување на мастоцитите или базофилите со ослободување на фармаколошки активни посредници. Основните ефекти на овие посредници се контракција на мазната мускулатура и ширење луменот на крвните садови. Во клиничките манифестации на тип 1 реакциите е вклучена потенцијалната животно-загрозувачка системска анафилакса и локалните одовори , како што се астмата и алергијата на поленов прав.
- Реакцијата на преосетливост од тип 2 настанува кога противтелото реагира со противгените одредници присутни врз површината на клетките, што доведува до оштетување на клетките или нивна смрт, преку комплемент-посредуваната лиза или противтелно зависната клеточно посредувана цитоксичност (ПЗКЦ). Трансфузиските реакции и хемолитичката болест на новороденото се реакции од тип 2.
- Тип 3 реакцијата на преосетливост е посредувана од создавањето на имуни комплекси и последователното активирање комплементот. Продуктите од цепењето на комплементот служат како имуни ефекторни молекули кои предизвикуваат локално ширење на луменот на крвните садови и хемотаксички ги привлекуваат неутрофилите. Таложењето на имуните комплекси блиску до местото на навлегувањето на противгенот може да предизвикаат појава на Артусова реакција, во која литичките ензими кои се ослободуваат од страна на насобраните неутрофили и комплементниот мембрански напаѓачки комплекс предизвикуваат локализирано оштетување на ткивото.
- Реакцијата на преосетливост од тип 4 го вклучува клеточно-посредуваниот дел од имуниот систем. Активирањето на сензибилизираните $T_{по}1$ клетки од страна на противгенот предизвикува ослободување на разни цитокини кои доведуваат до акумулирање и активација на макрофагите. Нето ефектот од активирањето на макрофагите е ослободувањето на литички ензими, кои предизвикуваат локално оштетување на ткивото.

Референции

American Lung Association, Epidemiology & Statistics Unit, Research and Program Services. May 2005. Trends in asthma morbidity and mortality. http://www.lungusa.org/.

Aubry, J. P., et al. 1992. CD21 is a ligand for CD23 and regulates IgE production. *Nature* **358**:505.

Barnes, K. C., and D. G. Marsh. 1998. The genetics and complexity of allergy and asthma. *Immunology Today* **19**:325.

Borish, L. 1999. Genetics of allergy and asthma. *Annals of Allergy, Asthma, and Immunology* **82**:413.

Breiteneder, H., and O. Scheiner. 1998. Molecular and immunological characteristics of latex allergens. *International Archives of Allergy and Immunology* **116**:83.

Busse, W., and W. Neaville. 2001. Anti-immunoglobulin E for the treatment of allergic disease. *Current Opinion in Allergy and Immunology* **1**:105.

Chang, T. W. 2000. The pharmacological basis of anti-IgE therapy. *Nature Biotechnology* **18**:157.

Cohn, L., J. A. Elias, and G. L. Chupp. 2004. Asthma: mechanisms of disease persistence and progression. *Annual Review of Immunology* **22**:789.

Galli, S. J., et al. 2005. Mast cells as “tunable” effector and immunoregulatory cells: recent advances. *Annual Review of Immunology* **23**:749.

Gould, H. J., et al. 2003. The biology of IgE and the basis of al-

lergic disease. *Annual Review of Immunology* **21**:579.

Jonkers, R. E., and J. S. van der Zee. 2005. Anti-IgE and other new immunomodulation-based therapies for allergic asthma. *Netherlands Journal of Medicine* **63**:121.

Kuhn, R., K. Rajewsky, and W. Muller. 1991. Generation and analysis of interleukin-4 deficient mice. *Science* **254**:707.

Marsh, D. G., et al. The Collaborative Study on the Genetics of Asthma (CSGA). 1997. A genome-wide search for asthma susceptibility loci in ethnically diverse populations. *Nature Genetics* **15**:389.

Nakae, S., et al. 2002. Antigen-specific T cell sensitization is impaired in IL-17-deficient mice, causing suppression of allergic cellular and humoral responses. *Immunity* **17**:375.

Novak, N., S. Kraft, and T. Bieber. 2001. IgE receptors. *Current Opinion in Immunology* **13**:721.

Oda, T., et al. 2000. Molecular cloning and characterization of a novel type of histamine receptor preferentially expressed in leukocytes. *Journal of Biological Chemistry* **275**:36781.

Ono, S. J. 2000. Molecular genetics of allergic diseases. *Annual Review of Immunology* **18**:347.

Park, H., et al. 2005. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nature Immunology* **6**:1133.

Romagnani, S. 2001. T-cell responses in allergy and asthma. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology* **1**:73.

Rosenstreich, D. L., et al. 1997. The role of cockroach allergy and exposure to cockroach allergen in causing morbidity among inner-city children with asthma. *New England Journal of Medicine* **336**:1356.

Szabo, S. J., et al. 2003. Molecular mechanisms regulating TH1 immune responses. *Annual Review of Immunology* **21**:713.

Ulrich, B., and J. Rivera. 2004. The ins and outs of IgE-dependent mast-cell exocytosis. *Trends in Immunology* **25**:266.

Van Eerdewegh, P., et al. 2002. Association of the ADAM33 gene with asthma and bronchial hyper-responsiveness. *Nature* **418**:426.

Young, R. P., et al. 1992. House dust mite sensitivity: interaction of genetics and allergen dosage. *Clinical and Experimental Allergy* **22**:205.

Корисни веб-страници

http://www.niaid.nih.gov/

Веб-страница на Националниот институт за алергиски и инфективни заболувања. НИАИЗ е НИЗ институт кој ги спонзорира истражувањата во областа на инфективните заболувња. Веб-страницата на НИАИЗ овозможува бројни врски за други важни страни.

http://www.acaai.org/

Страница одржувана од страна на Американскиот колеџ за алергија, астма и имунологија. Одличен извор за информации за пациентите за голем број на алергии. Страницата содржи голем број корисни линкови.

http://www.aaaa1.org/

Веб-страница на Американската академија за алергија, астма и имунологија. Одлична страница за истражување на голем број аспекти на астмата.

Прашања за учење

ПРАШАЊЕ ОД КЛИНИЧКИ ФОКУС Објаснете зошто ИЛ-4 и Фк епсилонР1б се одлични кандидат гени, кои се вклучени во генетската прифатливост за астмата.

1. Наведете кој од следниве искази е точен или неточен. Доколку мислите дека одреден исказ не е точен, објаснете зошто.
   а. Глувците кои се заразени со *Nippostrongylus brasilienis* покажуваат намалено создавање на ИгЕ.
   б. ИЛ-4 го намалува создавањето на ИгЕ од страна на Б-клетките.
   в. Почетниот чекор во процесот на обеззрнувањето на мастоцитите е премостувањето на Фк рецепторите.
   г. Противхистамините се ефикасни за лекување преосетливоста од тип 3.
   д. Најолем дел од поленските алергени содржат само по една алергенска компонента.
   ѓ. Бебињата може да се здобијат со ИгЕ-посредувани алергии благодарение на пасивниот трансфер на мајчините противтела.
   е. Трансфузиските реакции се манифестација на тип 2 преосетливост.
   ж. ИгЕ се среќава врзан за мастоцитите дури и ако противгенот не е присутен.
   з. И еозинофилите и мастоцитите се значајни посреденици во алергискиот одговор.
   s. $T_{по}1$ клетки ослободуваат цитокини кои доведуваат до зголемено создавање на езинофили и мастоцити во коскената срцевина.
   и. Езинофилите играат улога во одговорот од доцна фаза кај астмата.
   j. Одговорот со појава на оток и црвенило е карактеристичен за раната фаза на преосетливоста од тип 1.
   к. Пушењето предизикува воспаление на белодробното ткиво.
   л. Се верува дека вакцините за алергија дејствуваат на тој начин што предизвикуваат зголемување Тпо2 одговор кај алергичните лица.
2. При имунолошка лабораториска вежба, го проучувате одговорот кај глувците кај кои помеѓу слоевите на кожата е внесено комплетно противтело кон ИгЕ Фк рецепторот (Фк епсилонР1) или Фпв фрагменти од таквите противтела.
   а. Предвидете го одговорот кој ќе се јави кај секој тип од противтело.
   б. Дали реакциите кои се ќе се добијат зависат од тоа дали глувците се алергични? Објаснете.
3. Серумската болест може да се појави кога на едно лице му се даде голема доза на противсерум, каков што е на пример глувчешкиот противотров за змискиот отров. Како ќе ги употребите најновите технолошки напредоци за да создадете противотров кој нема да доведе до појава на серумска болест кај пациентите кои го примаат?

4. Кои имунолошки механизми најверојатно се одговорни за лицето да ги добие следниве реакции по убод од инсект?
   а. За 1 до 2 минути по убодот, на местото се појавуваат оток и црвенило, кои по 1 час исчезнуваат.
   б. 6 до 8 часа подоцна, отокот и црвенилото повторно се јавуваат и опстојуваат 24 часа.
   в. 72 часа подоцна, ткивото се воспалува и се јавува ткивна некроза.

5. Наведете кој тип (типови) на реакција на преосетливост (1-4) ги има следните особини. Секоја карактеристика се однесува на еден или повеќе од еден тип.
   а. Претставува значајна одбрана против внатреклеточните патогени.
   б. Може да биде предизвикана од пеницилин.
   в. Вклучува хистамин како значаен посредник.
   г. Може да биде предизвикана од отровен даб кај сензибилизирани лица.
   д. Може да доведе до симптоми на астма.
   ѓ. Се јавува како резултат од трансфузија на несоодветна крв.
   е. Системската форма на реакцијата се лекува со адреналин.

	Преосетливост			
Имунолошки настан	**Тип 1**	**Тип 2**	**Тип 3**	**Тип 4**
ИгЕ-посредувано обеззрнување на мастоцитите				
Лиза на противтело-обвитканите крвни клетки од страна на комплементот				
Уништување ткивото при одговорот на отровниот даб				
К3а- и К5а-посредувано обеззрнување на мастоцитите				
Хемотакса на неутрофили				
Хемотакса на еозинофили				
Активирање на макрофаги од страна на ИФН-гама				
Таложење на комплекси противген-противтело на базалната мембрани на капиларите				
Ненадејна смрт поради крвосаден колапс (шок) набрзо по инјекцијата или консумирањето на противгенот				

   ж. Кај сензибилизираните лица може да биде предизвикана од полени и одредени видови на храна.
   з. Може да вклучува уништување на клетките преку противтелно-зависната клеточно посредувана цитоксичност.
   s. Една од формите на клиничките манифестации се спречува со Рогам.
   и. Локализирана форма се карактеризира со оток и црвенило одговор.

6. Во табелата долу, означете дали секој од имунолошките настани се јавува (+) или не се јавува (-) при секој од типовите на одговор на преосетливост.

	Создавање или активирање	*Клеточни последици*
а.	Зголемување на внатреклеточниот калциум	1. Отекување на зрнцата и фузија со плазматската мембрана
б.	Аденилат цилаза	2. Создавање на фосфатидил холин
в.	Фосфолипид метил трансферазни ензими 1 и 2	3. Создавање на диацил глицерол и инозитол трифосфат
г.	Фосфолипаза Ц	4. Активирање на протеин киназа Ц
д.	Протеин тирозин киназа	5. Создавање на цикличен АМФ
ѓ.	Фосфатидилхолин	6. Пораст на флуидноста на мембраната
е.	Диациглцирол	7. Активирање фосфолипазата Ц

7. Објаснете ја тип 2 реакцијата на преосетливост која може да се јави кај Рх позитивно доенче од Рх негативна мајка.

8. Тип 3 преосетливостите се карактеризираат со таложење на имуни комплекси. Објаснете ги клиничките последици од таложењето на имуните комплекси.

9. Кога алергенот се врзува за врзаниот ИгЕ за Фк епсилонР1 на мастоцитите, рецепторите се премостуваат, што доведува до серија на пренесување на сигнали, кои ќе предизвикаат обеззрнување. За секоја од следниве компоненти од серијата на пренесување на сигнали, поврзете го секој од настаните за создавање/активирање од лево со нивните клеточни последици од десно.

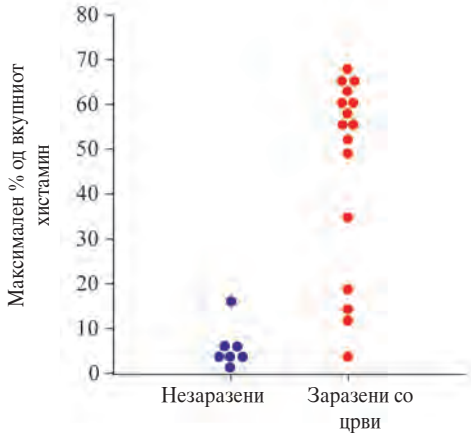
10. Објасните ја разликата помеѓу раните и доцните фази на астма.

11. Пополнете ги празните полиња со соодветните поими: На мајка која е Рх неативна ѝ е дадено _____ додека носела $Рх^{+}$ дете. Ако создала титар за Рх негативниот противген, бебето може да се роди со ____.

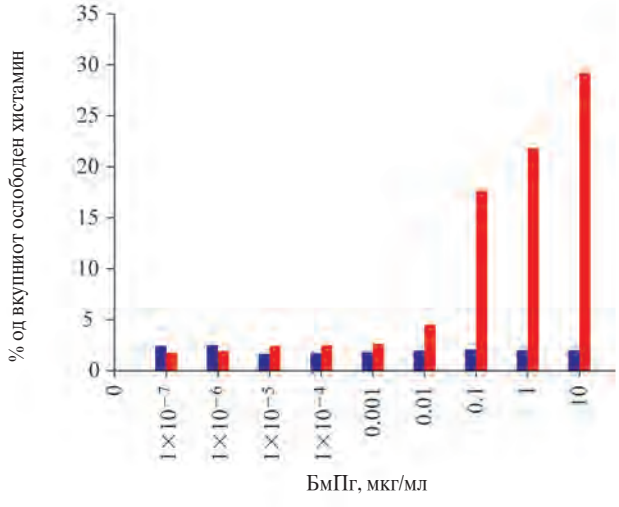
АНАЛЗИРАЈТЕ ГИ ПОДАТОЦИТЕ. Едвард Митре и соработниците (*2004, J. Immunol.* 172:2439) ја испитувале улогата на базофилите во ифекциите предизвикани од еден вид на тенки и долги црви и реакциите на преосетливост кај домаќинот. Инфекциите со црвите многу често предизвикуваат тешкотии кај одбраната на домаќинот. Тие ја испитувале количина на ослободениот хистамин од базофилите во целата крв на здравите и заразените лица (дел *а* од сликата на страна 400). Исто така ја испитувале и дозата на противгенот потребна за да се предизвика ослободување на хистаминот (дел *б* од сликата).

а. Кој тип на реакција на преосетливост се манифестирал кај лицата кои биле заразени?
б. Зошто се користел хистаминот за да се испита овој одговор? Доколку не можеш лесно да го измериш нивото на хистаминот, како можеш да го измериш одговорот на домаќинот по давањето на БмПг?
в. Опиши кој имуноглобулински изотип можеш да го изолираш од површината на базофилите, доколку ги анализираш клетките.
г. Податоците од делот *б* покажуваат дека базофилите одговараат на противенот на начин кој е зависен од дозата. Што се случува врз површината на базофилите, што би го предизвикало овој одговор? Што се случува внатре во клетката како одговор на овој процес?
д. Објасни зошто би очекувал или зошто не би очекувал да се најдат еозинофили кај лицата заразени со овиј вид црви.
ѓ. Дали инфекцијата со овие црви предизвикува појава на хуморален одговор? Објасни го твојот одговор.
е. Митре и соработниците нашле корелација помеѓу концентрацијата на излачениот ИЛ-4 и количината на ИгЕ во серумот кај инфицираните лица. Кој тип на помошнички Т-клетки се вклучени во овој одговор? Зошто овој одговор го намалува/спречува излачувањето на ИФН-гама?

(а) Максимална количина на хистамин ослободен од базофилните клетки како процент од вкупниот ослободен хистамин



(б) Просечно ослободување на хистамин во однос на дозата на Brugia malayi противгенот (БмПг)



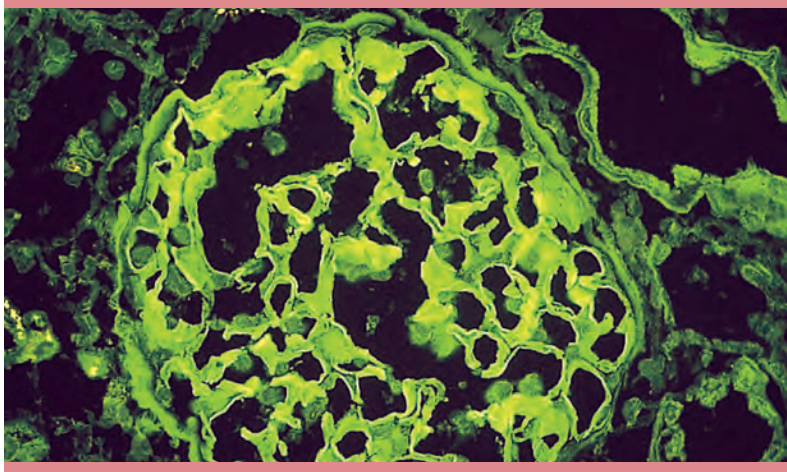
Интерактивно учење

www.wfreeman.com/kuby

Самостоен тест
Преглед на клучни изрази

Поглавје 16

Толеранција и автоимунитет



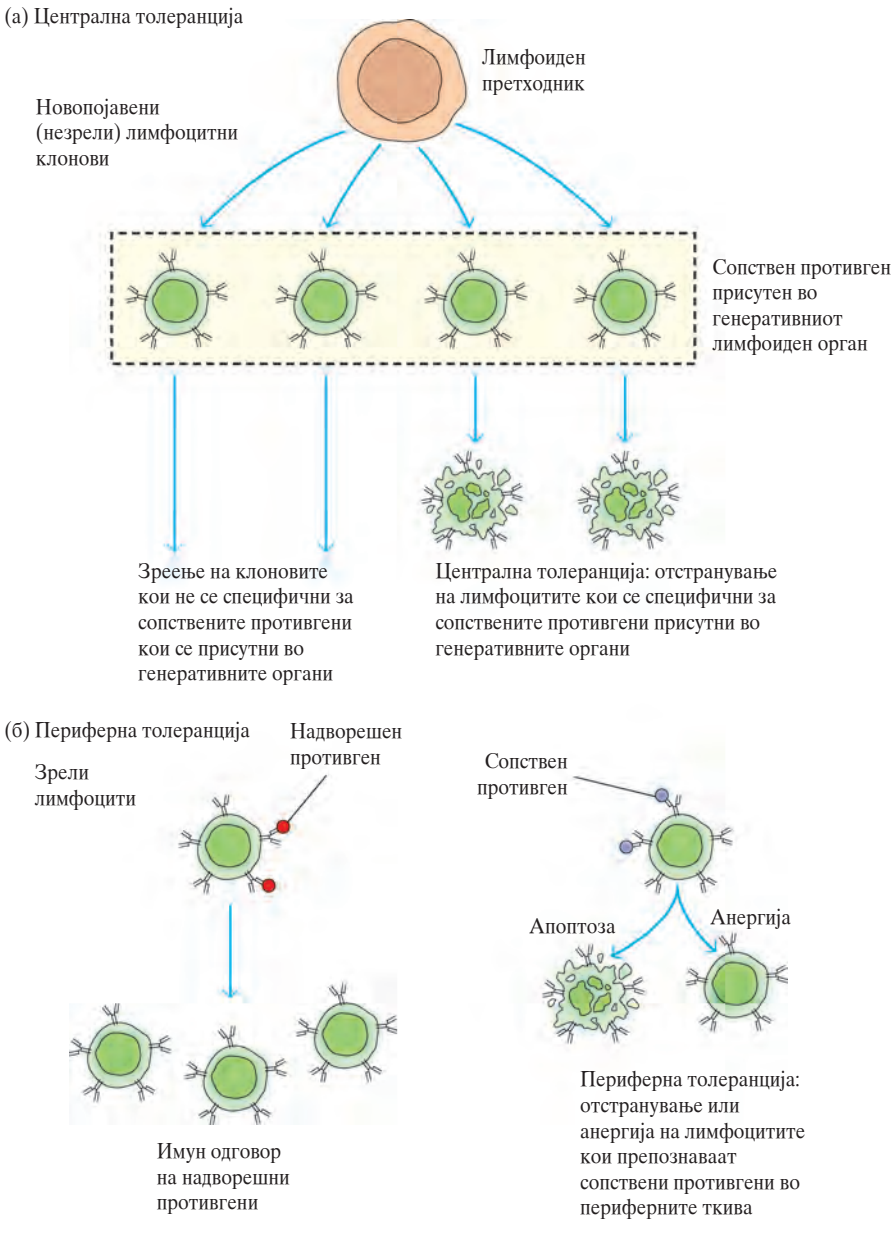
Биопсија на бубрег при Гудпастеровиот синдром. [Од Web Path, сопственост на E. C. Klatt, University of Utah.]

- Утврдување и одржување на толеранцијата
- Орган-специфични автоимуни болести
- Системски автоимуни болести
- Животински модели на автоимуни болести
- Докази за вклученоста на КД4+Т-клетките, ГТК и ТКР во автоимунитетот
- Предложени механизми за поттикнување на автоимунитетот
- Лекување на автоимуните болести

На почетокот од минатиот век, Paul Ehrlich утврдил дека имуниот систем може да тргне наопаку, и наместо да реагира само против надворешни противгени, својот напад може да го фокусира и кон сопствени противгени. Оваа состојба, која тој ја нарекол „хорор автотоксикус“, може да доведе до бројни хронични и акутни болести, вклучувајќи ги ревматоидниот артрит, мултипла склероза, лупус еритематозус и одредени типови на дијабет. Едноставно кажано, овие болести се јавуваат како резултат од неможноста на хуморалниот и клеточниот имун систем на домаќинот да го разликуваат сопственото од несопственото, што доведува до напад на сопствените клетки и органи од страна на автопротивтелата и самореактивните Т-клетки. Постојат бројни механизми кои ја штитат индивидуата од потенцијалните самореактивни лимфоцити, кои се наречени со едно име **толеранција**. Првичниот механизам наречен **централна толеранција** ги отстранува Т и Б-клеточните клонови пред да им биде дозволено на клетките да созреат ако имаат рецептори кои ги препознаваат сопствените противгени со поголема граница на афинитет од ниската граница. Централната толеранција се случува во првичните лимфоидни органи, коскената срцевина и тумусот (слика 16-1а). Бидејќи централната толеранција не е совршена и некои самореактивни лимфоцити навлегуваат во вторичните лимфоидни ткива, постојат дополнителни сигурносни мерки кои ја ограничуваат нивната активност. Овие дополнителни сигурносни мерки ја вклучуваат **периферната толеранција**, која лимфоцитите во вторичните лимфоидни органи ги прави неактивни или анергични (16-1б). Можноста за оштетување од сопствените лимфоцити понатаму е ограничена со животниот век на активираните лимфоцити, што се регулира преку програми кои поттикнуваат клеточна смрт (апоптоза) при приемот на сигналите. Покрај овој повеќеслоен систем на регулација, самореактивните клонови на Т или Б-клетки повремено се активираат, при тоа создавајќи хуморални или клеточно посредувани реакции против сопствените противгени. Ваквите несоодветни реакции на имуниот систем против сопствените компоненти се нарекува **автоимунитет**. Автоимуните реакции можат да предизвикаат сериозно оштетување на клетките и органите, понекогаш со фатални последици.

Во некои случаи оштетувањето на сопствените клетки или органи е предизвикано од противтелата, а во други случаи, виновници се Т-клетките. На пример, честа форма на автоимунитет е ткивното оштетување со механизми кои се слични на тип 2 реакциите на преосетливост. Како што видовме во Поглавје 15, тип 2 реакциите на преосетливост вклучуваат противтелно посредувано уништување на клетките. Автоимуната хемолитичка анемија е одличен пример за такво автоимуно заболување. Кај оваа болест, противгените на црвените крвни клетки се препознаени од автопротивтелата, што доведува до уништување на крвните клетки и последователно доведува до анемија. Автопротивтелата се исто така главен напаѓач при Хашимотовиот тироидит, каде што противтелата кои се реактивни кон ткивно-специфичните противгени како што се тироидната пероксидаза и тироглобулинот предизвикуваат тешко ткивно нарушување. Други автоимуни болести кои вклучуваат автопротивтела се наведени во табелата 16-1.

Многу автоимуни болести се одликуваат со ткивно уништување посредувано директно од Т-клетките. Добро познат



СЛИКА 16-1 Централна и периферна толеранција. (а) Централната толеранција е утврдена со отстранување на лимфоцитите кои имаат рецептори кои реагираат со противгените во првичните лимфоидни органи: тимусот за Т-клетките и коскената срцевина за Б-клетките. (б) Периферната толеранција вклучува отстранување или создавање на анергични лимфоцити кои поседуваат рецептори кои реагираат со сопствените противгени. Овој процес настанува во вторичните лимфоидни органи.

пример е ревматоидниот артрит, каде самореактивните Т-клетки го напаѓаат ткивото на зглобовите, притоа предизвикувајќи воспалителен одговор кој доведува до оток и ткивно уништување. Други примери се инсулин-зависниот дијебет и мултипла склерозата (види табела 16-1).

Во ова поглавје прво ќе ги објасниме општите механизами за ограничување на автоимуната реактивност со одржување на толеранцијата на сопствените противгени. Објаснети се честите човечки автоимуни болести кои настануваат поради нефункционирање на овие механизми. Тие можат да се поделат во две главни категории: орган-специфични и системски автоимуни болести (види табела 16-1). Овие болести зафаќаат 5% до 7% од човечката популација и често предизвикуваат хронични исцрпувачки болести. Исто така, објаснети се и неколку експериментални животински модели кои се користеле за проучување на автоимунитетот и разните механизми кои можат да придонесат за поттикнување на автоимуните реакции, како и моменталните и експерименталните терапии за лекување на автоимуните болести.

Утврдување и одржување на толеранцијата

Неколкуте слоја на заштита наметнати од имуниот систем за спречување на реакцијата на неговите клетки и противтела со делови од домаќинот и почетокот на автоимуни болести се познати под општиот назив **толеранција**, дефинирано како состојба на нереактивност на противген. Механизмите кои ја посредуваат оваа нереактивност можат да бидат различни. Во нормални околности, контактот на имуниот систем со противгенот води до имун одговор, но прикажувањето

ТАБЕЛА 16-1 Некои автоимуни болести кај луѓето

Болест	Сопствен противген	Имун одговор
ОРГАН-СПЕЦИФИЧНИ АВТОИМУНИ БОЛЕСТИ		
Адисонова болест	Клетки од надбубрежна жлезда	Автопротивтела
Автоимуна хемолитичка анемија	Мембрански протеини од црвените крвни клетки (ЦКК)	Автопротивтела
Гудпастеров синдром	Бубрежени и белодробни базални мембрани	Автопротивтела
Гравесова болест	Тироид-стимулирачки хормонски рецептор	Автопротивтело (стимулирачко)
Хашимотов тироидитис	Тироидни протеини и клетки	$T_{по}1$ клетки, автопротивтела
Идиопатска тромбоцитопенична пурпура	Мембрански протеини на крвните плочки	Автопротивтела
Инсулин-зависен дијабет	Панкреатични бета-клетки	$T_{по}1$ клетки, автопротивтела
Мијастенија гравис	Ацетилхолински рецептори	Автопротивтело (блокирачко)
Миокарден инфаркт	Срце	Автопротивтела
Пернициозна анемија	Гастрични париетали клетки, внатрешен фактор	Автопротивтело
Постстрептококен гломерулонефрит	Бубрег	Противген-противтело комплекси
Спонтана неплодност	Сперма	Автопротивтела
СИСТЕМСКИ АВТОИМУНИ БОЛЕСТИ		
Анкилозирачки спондилит	‘Рбет	Имуни комплекси
Мултипла склероза	Мозок или бела маса	$T_{по}1$ клетки и Тцт клетки, автопротивтела
Ревматоиден артрит	Сврзно ткиво, ИгГ	Автопротивтела, имуни комплекси
Склеродерма	Јадра, срце, бели дробови, гастроинтестинален тракт, бубрези	Автопротивтела
Сјогренов синдром	Плунковна жлезда, црн дроб, бубрези, тироидна жлезда	Автопротивтела
Системски лупус еритематозус (СЛЕ)	ДНК, јадрен протеин, мембрани на црвените крвни клетки и крвните плочки	Автопротивтела, имуни комплекси

на противгенот во некоја друга форма може да доведе до толеранција или нереактивност на имуниот систем (слика 16-2). Противгените кои поттикнуваат толеранција се наречени **толерогени** наместо *имуногени*. Истото хемиско соединение може да биде и имуноген и толероген, во зависност од тоа како е преставен пред имуниот систем. На пример, противгенот претставен врз Т-клетките без соодветна костимулација резултира со форма на толеранција позната како анергија, додека токму истиот противген прикажан со присутни костимулаторни молекули може да стане моќен имуноген. Факторите кои ја поттикнуваат толеранцијата наместо стимулацијата на имуниот систем од даден противген го вклучуваат следново:

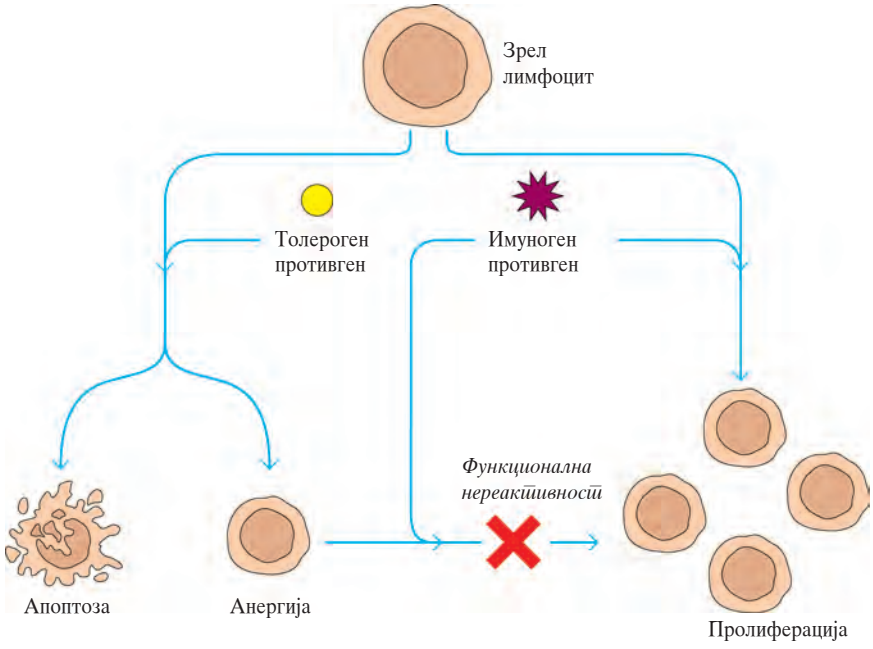
- Високи дози на противген
- Упорност на противгенот во домаќинот
- Интравенозно или орално внесување
- Отсуство на помагачи (адјуванси)
- Ниски нивоа на костимулатори

Добро е познато дека противгените кои се орално внесени можат да резултираат со толеранција, додека истиот противген даден со интрадермална или поткожна инјекција може да биде имуноген. Се знае дека толеранцијата е противген специфична: инактивацијата на имуниот одговор поради толеранција не доведува до општа имуна супресија, туку е специфична за толерогениот противген.

Во 60-тите години од дваесеттиот век, истражувачите верувале дека сите самореактивни лимфоцити се отстрануваат за време на нивниот развој во коскената срцевина и тимусот и дека неуспехот да се отстранат овие лимфоцити доведува до автоимуни последици. Најновите експериментални докази се спротивни на тоа верување. Се покажало дека нормалните, здрави индивидуи поседуваат зрели, рециркулирачки, самореактивни лимфоцити. Бидејќи присуството на овие самореактивни лимфоцити во периферијата не мора по секоја цена да доведе до автоимуни реакции, нивната активност кај здравите лица мора да се регулира со други механизми. Средствата за одржување на толеранцијата вклучуваат поттикнување на клеточна смрт или клеточна анергија и ограничување на активноста на Т-клетките со помош на Трег клетките.

Централната толеранција го ограничува развојот на автореактивните Т и Б-клетки

Доминантен механизам за одржување на толеранцијата е отстранувањето за време на раното зреење на лимфоцитните клонови кои би можеле да реагираат со сопствените делови. Разгледајте ги механизмите кои создаваат разновидност кај Т и Б-клеточните рецептори. Како што е објаснето во поглавјата 5 и 9, генските преуредувања кои создаваат функционални ТКР и Иг се појавуваат во процес во кој секој В генски сегмент може да се поврзе со секој Д или Ј генски сегмент. Ова значи дека теоретски е можно создавање на В подрачја кои реагираат со сопствен противген. Ако се дозволи ова да се случува често, таквите ТКР или Иг рецептори можат да создадат зрели



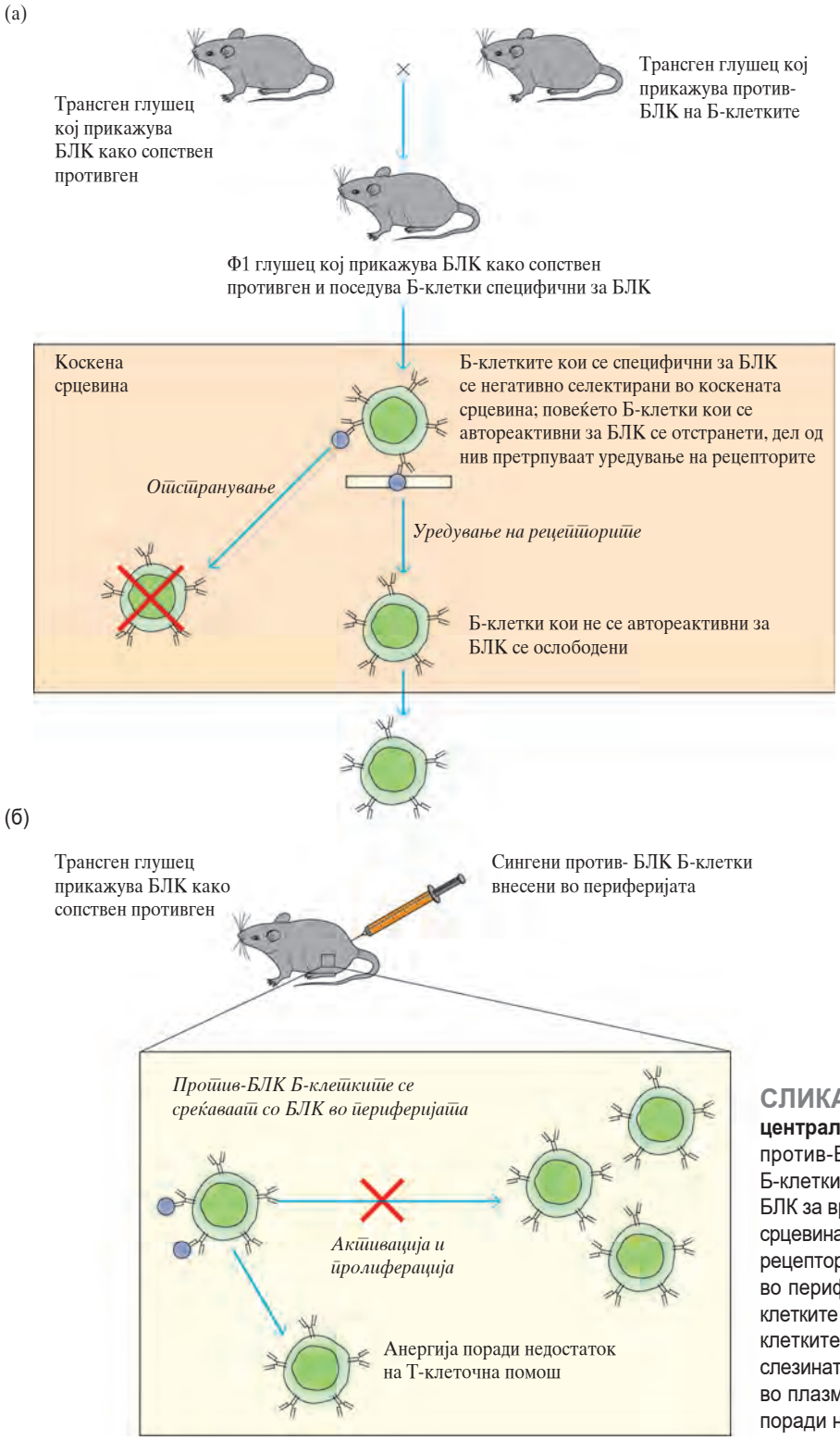
СЛИКА 16-2 Противгенот може да биде имуноген или толероген, во зависност од голем број фактори кои вклучуваат доза и начин на изложување. Толерогеното стапување во контакт со противгените резултира или со отстранување на реактивните лимфоцити, обично со апоптоза, или со поттикнување на состојба на анергија. Имуногеното изложување резултира со активација и пролиферација на реактивниот лимфоцит.

функционални Т или Б-клетки кои препознаваат сопствени противгени и ќе следи автоимуна болест. Како алтернатива, рецепторите на тие клонови кои реагираат со сопственото можат да бидат променети или *уредени*, при што ќе се намали нивниот афинитет за сопствени противгени под критичната граница која води до болест. Како што е спомнато во поглавјата 10 и 11, овој т.н. процес на централна толеранција работи за да ги отстрани автореактивните Б-клетки од коскената срцевина и автореактивните Т-клетки во тимусот. Иако нашите разбирања за прецизните молекулски механизми кои посредуваат при централната толеранција на Т и Б-клетките не се целосни, познато е дека Б и Т-клетките претрпуваат развојно регулиран процес познат како негативна селекција, што резултира со смрт на клетките кои носат потенцијално автореактивни ТКР или Иг рецептори.

Штом била разбрана природата на В(Д)Ј преуредувањата, логично е да се помисли дека процесот како што е толеранцијата постои да ги отстрани развојните самореактивни Т и Б-клетки. Еден од класичните експерименти кој покажува дека самореактивните лимфоцити се отстранети или инактивирани по контактот со сопствен противген е одличната работа на С. С. Goodnow и неговите колеги од 1991 година. Глувците кои прикажувале трансген имуноглобулин специфичен за белкиниот лизозим од кокошкиното јајце (БЛК) се спарени со трансгени глувци кои прикажувале БЛК (слика 16-3а). Кога против-БЛК$^+$ глувците се спарени со БЛК$^+$животни, Б-клетките кои се развиваат во потомокот се сретнале со БЛК во коскената срцевина. Goodnow и колегите забележале дека Ф1 глувците имаат недостаток на зрели Б-клетки кои прикажуваат против-БЛК. Последователните експерименти од неколку лаборатории покажале дека, во поголемиот дел, автореактивните развојни Б-клетки се отстрануваат во коскената срцевина преку поттикнување на апоптозата. David Nemazee и колегите ги проширили овие забелешки и покажале дека одредени развојни Б-клетки можат да претрпат процес кој тие го нарекле **уредување на рецепторите**. Кај клетките кои претрпуваат уредување на рецепторите, противген-специфичното В-подрачје е „уредено“, со различен В генски сегмент кој е заменет за автореактивниот В генски сегмент со В(Д)Ј преуредувањето (уредувањето најчесто настанува во Вл наместо во Вт подрачјето.) Уредувањето на рецепторот, како и клоналното отстранување или апоптозата, е препознаено како еден од механизмите кои водат до централна толеранција кај развојните Б-клетки. Преку сличен механизам, Т-клетките што се развиваат во тимусот и имаат превисок афинитет за сопствениот противген се отстрануваат, првенствено со поттикнување на апоптозата.

Периферната толеранција ги регулира автореактивните клетки во циркулацијата

Друга значајна забелешка од експериментите со против-БЛК трансгените глувци е тоа дека ако БЛК е прикажана врз мембраната на клетките, ќе поттикне клонска елиминација на сите незрели Б-клетки со против-БЛК Иг. Меѓутоа, ако БЛК се лачи и се откри како растворлив протеин, Б-клетките созреале, ја напуштиле коскената срцевина и биле најдени на периферијата. Сепак, овие клетки биле нереактивни на БЛК противгенот и постоеле во состојба позната како анергија. **Анергијата** може да се дефинира како нереактивност на противгена стимулација. Како што е прикажано во БЛК проучувањата и во бројни други примери, централната толеранција не е совршен процес и не ги отстранува целосно сите можни самореактивни лимфоцити бидејќи (1) не сите сопствени противгени се прикажани во централните лимфоидни органи каде што се случува негативната селекција и (2) постои потребна граница за афинитет кон сопствените противгени пред да се поттикне клонското отстранување, што им овозможува



СЛИКА 16-3 Експерименти кои ја покажуваат централната и периферната толеранција. (а) Кога против-БЛК$^+$ глувци се спаруваат со БЛК$^+$ глувци, Б-клетките на Ф1 глувците стапуваат во контакт со БЛК за време на негативната селекција во коскената срцевина, следено со отстранување или уредување на рецепторите. БЛК-реактивните Б-клетки не се наоѓаат во периферијата на овие глувци. (б) Против-БЛК Б-клетките се внесуваат во глушец кој прикажува БЛК. Б-клетките не мигрираат во лимфоидните фоликули на слезината или лимфните јазли и не се диференцираат во плазма клетки, наместо тоа стануваат анергични поради недостаток на Т-клеточна помош.

на слабо самореактивните клонови да го преживеат процесот на отстранување.

Во некои случаи, самореактивните Т и Б-клетки можат да го избегнат отстранувањето во тимусот или коскената срцевина и се појавуваат во периферијата. Формата на толеранција наречена **периферна толеранција** ги инактивира овие клетки. Периферната толеранција може да се дефинира како инактивација на самореактивните Т-клетки или Б-клетки во периферијата, правејќи ги неспособни да реагираат на сопственото. Исто како и со централната толеранција, постоењето на периферната толеранција било предвидено пред неопходните експериментални докази. Повторно, кога се користат против-БЛК Иг трансгени глувци и БЛК-прикажувачките глувчешки модели кои се опишани претходно, БЛК

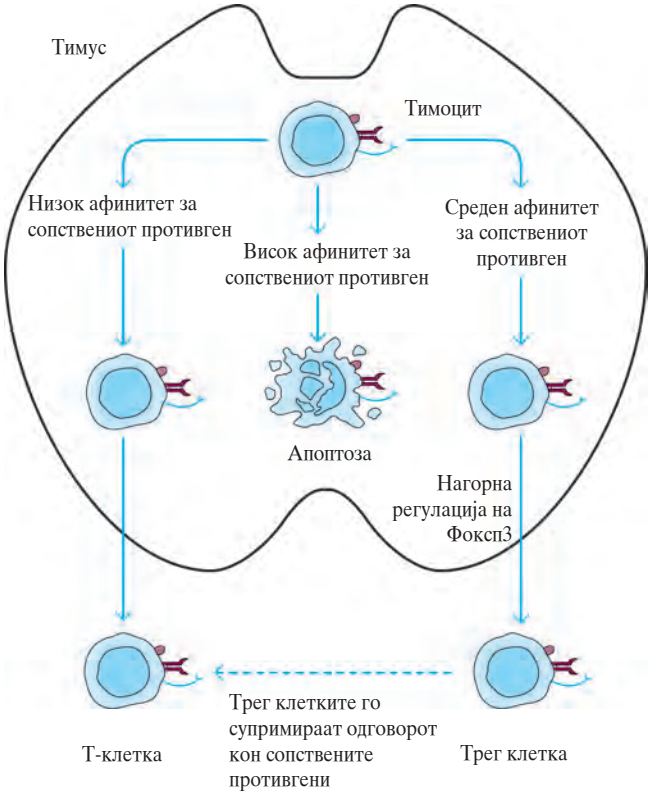
претставен на зрелите против-БЛК Б-клетки во периферните ткива ги инактивира овие Б-клетки и тие никогаш не мигрираат во лимфоидните фоликули на слезината или лимфниот јазол (слика 16-3б). Сетете се дека Б-клетките стануваат противтела-секретирачки плазма клетки по зреењето и селекцијата во лимфоидните фоликули/зародишните центри. Значајна карактеристика при овие експерименти е тоа што Т-клетките кои препознаваат БЛК кај БЛК-прикажувачкиот глушец се отстрануваат пред создавањето и ослободувањето поради централната толеранција. Б-клетките можат да го препознаат противгенот, но нема дополнителна помош од Т-клетките. Експериментите покажуваат дека зрелите Б-клетки кои се среќаваат со растворлив противген во отсуство на Т-клеточна помош, стануваат нереактивни или анергични и никогаш не мигрираат во зародишните центри.

Периферната Т-клеточна толеранција е прикажана со голем број експериментални стратегии, овозможувајќи доказ за механизмите кои посредуваат при периферната толеранција. Како што видовме во Поглавје 10, Т-клетките за да се активираат, не бараат само ТКР да го препознае противгенот претставен на сопствените-ГТК молекули туку исто така и присуство на костимулаторни сигнали. Раните експерименти од страна на M. K. Jenkins, D. Mueller и R. H. Schwartz покажаа дека ин витро, КД4+ Т-клеточните клонови, кога се стимулирани само од ТКР, стануваат нереактивни; тие го користат изразот клонска анергија за да ја објаснат оваа состојба на нереактивност. Последователните податоци од неколку лаборатории покажаа дека меѓудејството помеѓу КД28 на Т клетката и Б7 на противген-прикажувачките клетки ги овозможува неопходните костимулаторни сигнали потребни за активација на Т-клетките.

Информациите дека КД28/Б7 сигналите ги овозможуваат неопходните костимулаторни сигнали за активација на Т-клетките довеле до детално испитување на костимулацијата, откривајќи го постоењето на инхибиторните рецептори како што е ЦТЛА-4. ЦТЛА-4, како и КД28, се врзува за Б7, но наместо да овозможи активирачки сигнали, ЦТЛА-4 ја инхибира Т-клеточната активација. Всушност, прикажувањето на ЦТЛА-4 е поттикнато по активацијата на Т-клетките, обезбедувајќи контрола и регулирање на Т-клеточната активација. Улогата на ЦТЛА-4 при толеранцијата почнала да се цени кога е откриен генот кој го кодира овој молекул. Глувците на кои им недостасува ЦТЛА-4 прикажуваат масивна пролиферација на лимфоцитите и автоимуна болест, што укажува на значајната улога на овој молекул во одржувањето на периферната толеранција.

Регулаторните Т-клетки се дел од периферната толеранција

Периферната толеранција исто така може да биде поттикната од регулаторните Т-клетки (Трег клетки). Дејствувајќи во вторичните лимфоидни ткива и на местата на воспаление, Трег клетките надолно ги регулираат автоимуните процеси. Сетете се дека Трег клетките се уникатна подгрупа на КД4+ Т-клетки кои прикажуваат високи нивоа на ИЛ-2Р алфа верига (КД25). Се покажало дека Трег клетките потекнуваат од подгрупа на Т-клетки кои прикажуваат рецептори со среден афинитет за сопствените противгени во тимусот (слика 16-4). Дел од овие клетки нагорно го регулираат препишувачкиот фактор Фоксп3 и потоа се развиваат во Трег клетки кои се способни за супримирање на одговорот кон сопствените противгени.



СЛИКА 16-4 Т-регулаторните (Трег) клетки се создаваат од тимоцитите при негативната селекција во тимусот. Тимоцитите со висок афинитет за сопствени противгени се отстрануваат во оваа фаза; тимоцитите со низок афинитет се позитивно селектирани и ослободени. Тимоцитите со среден афинитет за противгените со кои се среќаваат во тимусот нагорно го регулираат препишувачкиот фактор Фоксп3 и стануваат Трег клетки, кои служат за контрола на самореактивните Т-клеточни реакции. *[Прилагодено од M. Kronenberg, и A. Y. Rundensky* 2005, Nature **435**:595.]

Способноста на Трег клетките да го супримираат имуниот одговор била прикажана со раните експерименти на негојни дијабетични (НГД) глувци и ББ стаорци (BioBreeding (биолошки расни) стаорци, прв животински модел на спонтан автоимун тип 1 дијабет), два соја кои се склони кон развој на автоимунитет-базиран дијабет. Почетокот на дијабетот кај НГД глувците и ББ стаорците е успорен кога на овие животни им се инјектирани здрави КД4+ Т-клетки од хистокомпатибилни дарители. Понатамошното карактеризирање на КД4+ Т-клетките откри дека подгрупа која е позната по прикажувањето на високи нивоа на КД25 е одговорна за супресија на дијабетот кај овие животински модели. Механизмите преку кои Трег клетки ги супримираат имуните реакции е подрачје кое постојано се истражува, но очигледно е дека супресијата се регулира, барем делумно, преку создавањето на цитокините, вклучувајќи ги ИЛ-10 и ТГФ-бета.

Клеточната смрт игра значајна улога при одржувањето на централната и периферната толеранција. Ова е потврдено од развојот на системските автоимуни болести кај природните мутации или на смртоносниот рецептор, Фас или Фас лигандот (ФасЛ) кај глувците. Како што објаснивме во Поглавје 10, активираните Т-клетки прикажуваат зголемени нивоа на Фас

и ФасЛ. И кај Б и кај Т-клетките, поврзувањето на Фас со ФасЛ поттикнува брза апоптотична смрт позната како поттикната, со активација, клеточна смрт (АПКС). Глувците кои носат неактивирачки мутации за Фас (*лпр/лпр*) или ФасЛ (*глд/глд*) не можат да ја користат АПКС патеката и развиваат автоимуна болест во раниот период од животот.

Изолацијата на противгенот е заштитно средство за сопствените противгени

Покрај различните механизми на централна и периферна толеранција кои се претходно објаснети, ефективно средство за избегнување на сопствената реактивност е изолацијата (криењето) или одделувањето на противгените за да не се сретнат со реактивните лимфоцити во нормални околности. Ако противгенот никогаш не бил изложен на имуните клетки, нема можност за реактивност. Сепак, последица од изолацијата е тоа што противгенот никогаш не стапува во контакт со развојните лимфоцити, така што нема толаранција кон изолираниот противген. Ако бариерите меѓу имуните клетки и изолираните противгени се пробијат со вакцинирање со противген, траума или со употреба на одредени хемикалии кои водат до пристап и последователна реактивност, противгенот ќе биде препознаен како надворешен бидејќи претходно не бил сретнат. На пример, пробивањето на бариерата крв-мозок може да предизвика реакција против компонентите на централниот нервен систем.

Неуспех на толеранцијата води до автоимунитет

Просто кажано, автоимуната болест е предизвикана од неуспехот на толерантните процеси да го заштитат домаќинот од дејството на самореактивни лимфоцити. Јасно е дека толеранцијата треба да дејствува да ги спречи автоимуните болести. Убедувачки доказ дека тоа е точно доаѓа од природните мутации кои ја блокираат толеранција, по што следи автоимунитет. Врската помеѓу Фас, ФасЛ и автоимунитетот се засилила кога се открило дека пациентите со ретка наследна форма на автоимуна болест позната како автоимун лимфопролиферативен синдром, или АЛПС, носат мутации на Фас. Слично како кај *лпр/лпр* глувците, овие пациенти имаат тешка автоимуна болест која зафаќа повеќе органи.

Хуманата автоимуна болест позната како автоимуна полиендокринопатија-кандидијаза-ектодермална дистрофија (АПЕКЕД) била проучувана неколку години бидејќи е познато дека е предизвикана од еден автозомен локус и се наследува рецесивно. Бидејќи претставува единствена хумана автоимуна болест која се наследува на Менделеев начин, на генетичарите им овозможила одличен модел за дешифрирање на генетските делови од автоимунитетот. АПЕКЕД се одликува со повеќе автоимуни ендокринопатии, хронична слузокожно-кожна кандидијаза и ектодермални дистрофии. Причинската генска лезија за АПЕКЕД била неодамна изолирана од две независни групи кои користеле традиционална позициона клонска стратегија (каде е утврдена локацијата на генот, а потоа е одредена и неговата функција). АПЕКЕД генот кодира нов протеин познат како АИРЕ. АИРЕ примарно е прикажан во тимусот, панкреасот и надбубрежната кора, каде најверојатно го регулира прикажувањето на периферно-ткивните сопствени противгени на тимусните медуларни епителни клетки и на тој начин се поврзува со развојот на централната толеранција. Од неодамна, станаа достапни АИРЕ -/- глувците. Како и луѓето со АПЕКЕД, глувците со недостаток на АИРЕ се многу подложни за развој на повеќеоргански автоимуни болести. Како АИРЕ го регулира прикажувањето на сопствените противгени во тимусот не е точно познато и е подрачје кое интензивно се испитува.

Друго хумано автоимуно нарушување, имуна дисрегулација, полиендокринопатија, ентеропатија, Х врзан синдром (ИПЕХ), придонесло за нашето разбирање на толеранцијата. ИПЕХ е фатално нарушување кое е познато дека дели одредени особини со природните мутации кај глувците познати како *првутести (scurfy)*. Генетската анализа на ИПЕХ пациентите и *првутестите* глувци довела до откритието дека и двете болести се поврзани со мутации во Фоксп3 генот. Фоксп3 генот е препишувачки фактор, за кој сега е познато дека е потребен за создавањето на КД4$^+$/ КД25$^+$ регулаторните Т-клетки; мутациите во Фоксп3 водат до рана и повеќефокусна автоимуна болест. Според тоа, ИПЕХ и *првутестите* глувци најверојатно се предизвикани од неможноста на Трег клетките да ги регулираат имуните реакции.

Генетската основа на човечките автоимуни болести интензивно се испитува, и во повеќето случаи биле вклучени повеќе гени, отежнувајќи го определувањето на точниот дефект. Во следниот дел ќе ги објасниме почестите автоимуни болести, класифицирани според патогените механизми.

Орган-специфични автоимуни болести

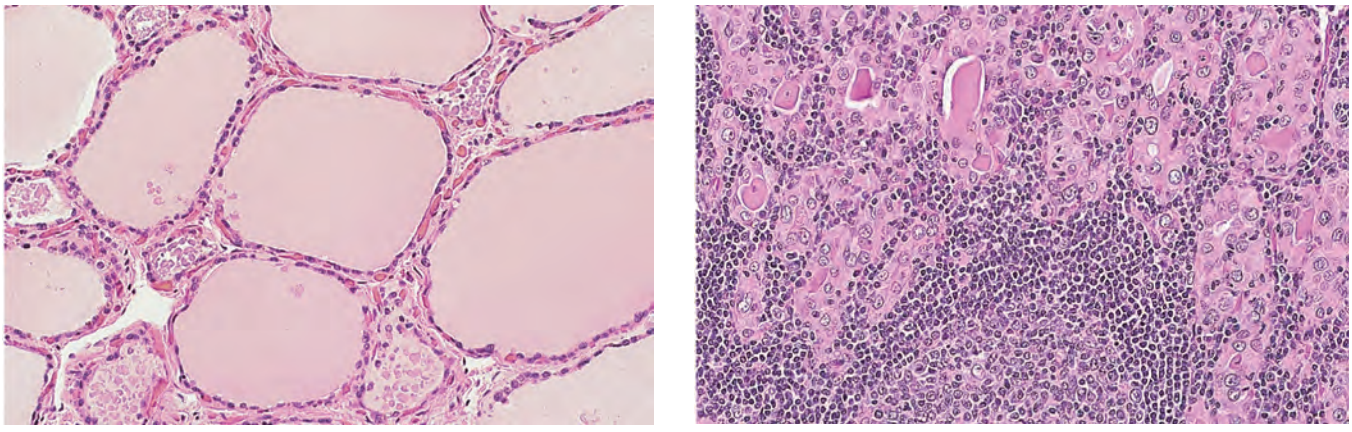
Кај орган-специфичните автоимуни болести, имуниот одговор е насочен кон целниот противген кој е уникатен за еден орган или жлезда, така што манифестациите во голем степен се ограничени на тој орган. Клетките на целните органи можат да бидат оштетени директно од хуморалните или клеточно посредуваните ефекторни механизми. Алтернативно, противтелата можат прекумерно да ја стимулираат или да ја блокираат нормалната функција на целниот орган.

Одредени автоимуни болести се посредувани преку директно клеточно оштетување

Автоимуните болести кои вклучуваат директно клеточно оштетување настануваат кога лимфоцитите или противтелата се врзуваат за противгените на клеточната мембрана, при што предизвикуваат клеточна лиза и/или воспалителен одговор во засегнатиот орган. Постепено, оштетената клеточна структура е заменета со сврзно ткиво (фиброза) и функцијата на органот опаѓа. Во овој дел накратко ќе објасниме неколку примери за овој тип на автоимуни болести.

Хашимотов тироидит

Кај Хашимотовиот тироидит, кој најчесто се гледа кај средновечните жени, лицето создава автопротивтела и сензибилизирани Тпо1 клетки специфични за тироидните противгени. Присутната преосетливост од одложен тип (ПОТ) се одликува со силна инфилтрација на тироидната жлезда со лимфоцити, макрофаги и плазма клетки, кои формираат лимфоцитни фоликули и зародишни центри (слика 16-5).



СЛИКА 16-5 Фотомикрографија на (а) здрава тироидна жлезда на која се гледа фоликул обложен со кубоидни фоликуларни епителни клетки и (б) на жлезда при Хашимотов тироидит кој покажува интензивна лимфоцитна инфилтрација. [Од Web Path, сопственост на E. C, Klott, University of Utah.]

Резултирачкиот воспалителен одговор предизвикува гушавост, или забележливо зголемување на тироидната жлезда, физиолошки одговор на хипотироидизмот (намалено создавање на тироидни хормони). Хипотироидизмот се појавува кога се создадени противтела кон бројни тироидни протеини, вклучувајќи ги тироглобулинот и тироидната пероксидаза, и двата вклучени во навлегувањето на јодот во клетката. Врзувањето на авто-противтелата за овие протеини му пречи на навлегувањето на јодот, што води до хипотироидизам.

Автоимуни анемии

Автоимуните анемии вклучуваат пернициозна анемија, автоимуна хемолитичка анемија и од лекови предизвикана хемолитичка анемија . Пернициозната анемија е предизвикана од автопротивтела за внатрешниот фактор, мембрански поврзан тенкоцревен протеин во гастричните париетални клетки. Внатрешниот фактор ја олеснува ресорпцијата на витаминот $Б^{12}$ во тенкото црево. Врзувањето на автопротивтелата за внатрешниот фактор ја блокира внатрешен фактор-посредуваната апсорбција на витаминот $Б^{12}$. Во отсуство на доволно количество на витаминот $Б^{12}$, кое е потребно за соодветна хематопоеза, бројот на функционални зрели црвени крвни клетки се намалува под нормалата. Пернициозната анемија се лекува со инекции од витамин $Б^{12}$, и на тој начин се заобиколува дефектот на неговата апсорбција.

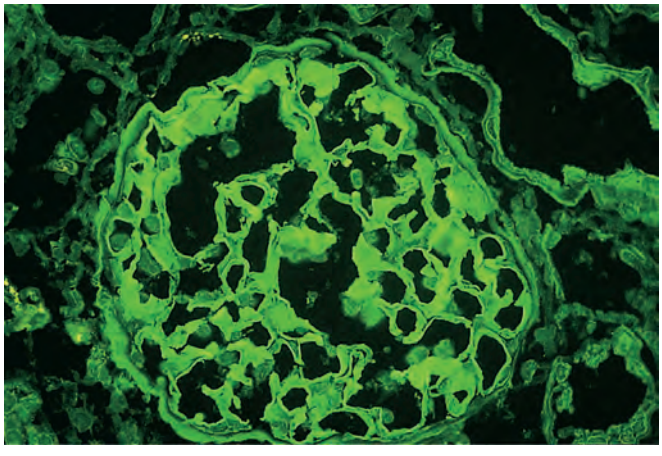
Лицето со автоимуна хемолитичка анемија создава автопротивтела кон противгени од црвените крвни клетки, поттикнувајќи комплемент-посредувана лиза или противтелно посредувана опсонизација и фагоцитоза на црвените крвни клетки. Една форма на автоимуна анемија е поттиканата од лек: кога одредени лекови како што се пеницилинот или противхипертензивниот агенс метилдопа стапуваат во меѓудејство со црвените крвни клетки и клетките стануваат противгенични. Имунодијагностичкиот тест за автоимуните хемолитички анемии главно го вклучува Кумбсовиот тест, каде црвените крвни клетки се инкубираат со противчовечки ИгГ противсерум. Ако ИгГ автопротивтела се присутни врз црвените крвни клетки, клетките ќе аглутинираат со противсерумот.

Гудпастеров синдром

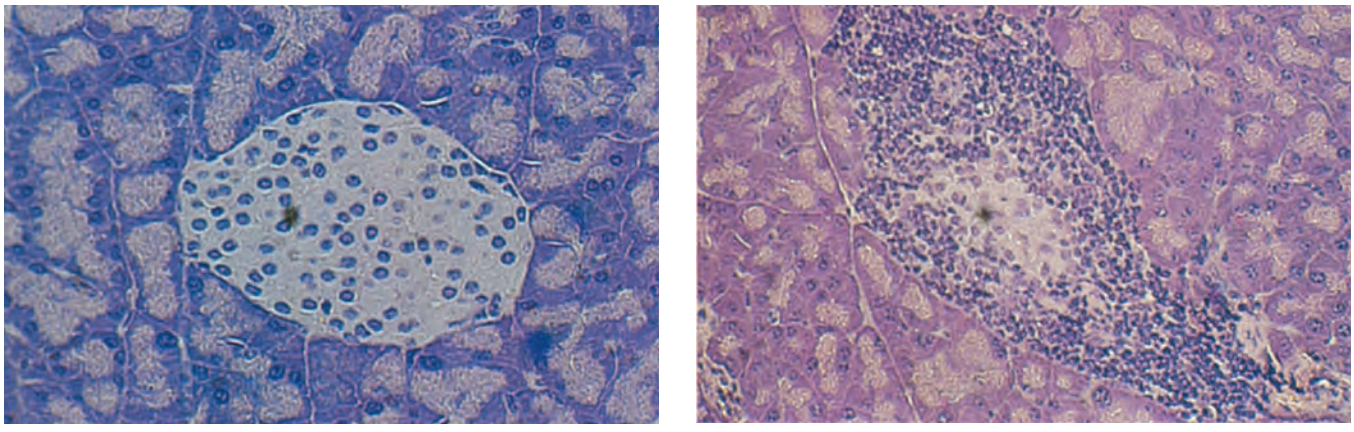
Кај Гудпастеровиот синдром, автопротивтелата кои се специфични за одредени базално мембрански противгени се врзуваат за базалните мембрани на бубрежните гломерули и алвеолите на белите дробови. Последователната активација на комплементот води до директно клеточно оштетување и понатамошен воспалителен одговор посредуван од создавањето на распадни продукти на комплементот. Оштетувањето на гломеруларните и алвеоларните базални мембрани води до прогресивно оштетување на бубрезите и белодробно крварење. Смртта може да следи неколку месеци по појавата на симптомите. Биопсиите на пациентите со Гудпастеров синдром обоени со флуоресцентно-обележан против-ИгГ и против-К3б откриле линеарни депозити на ИгГ и К3б долж базалните мембрани (слика 16-6).

Инсулин-зависен дијабет

Болеста која зафаќа 0,2% од популацијата, **инсулин-зависен дијабет (ИЗД)** е предизвикан од автоимун напад врз панкреасот. Нападот е упатен против специјализираните инсулин-создавачки клетки (бета клетки) кои се лоцирани во сферични-



СЛИКА 16-6 Флуоресцентно против-ИгГ обојување на бубрежната биопсија од пациент со Гудпастеров синдром открива линеарни депозити на автопротивтела долж базалната мембрана. *[Од Web Path, сопственост на E. C. Klatt, University of Utah].*



СЛИКА 16-7 Фотомикрографија од Лангерхансови островчињата кај (а) панкреас од здрав глушец и (б) панкреас од глушец со болест слична на инсулин-зависниот дијабет. Забележете ја лимфоцитната инфилтрација на островчињата (инсулит) на слика б. *[Од M. A. Atkinson и N. K. Maclaren, 1990, Scientific American* **263** (1):62.]

те групи, наречени Лангерхансови островчиња, распространети низ панкреасот. Автоимуниот напад ги уништува бета клетките, што доведува до намалено создавање на инсулинот и последователно зголемени нивоа на крвна глукоза. Неколку фактори се значајни при уништувањето на бета-клетките. Прво, активираните ЦТЛ мигрираат во островчињата и почнуваат да ги напаѓаат инсулин-создавачките клетки. Локалното создавање цитокини за време на овој одговор вклучува ИФН-гама, ТНФ-алфа и ИЛ-1. Создавањето на автопротивтела може исто така да биде придонесувачки фактор за ИЗД. Првата ЦТЛ инфилтрација и активација на макрофагите, често нарекувана инсулит (слика 16-7), е следена со цитокинско ослободување и со присуство на автопротивтела, што води до клеточно посредуван ПОТ одговор. Се верува дека понатамошното бета клеточно уништување е посредувано од ослободените цитокини при ПОТ одговорот и од литичките ензими ослободени од активираните макрофаги. Автопротивтелата кон бета клетките можат да придонесат за клеточно уништување преку олеснување или на противтело-посредуваната комплементна лиза или на противтелно зависната клеточно-посредувана цитоксичност (ПЗКЦ).

Абнормалностите во метаболизмот на глукозата кои се предизвикани од уништувањето на островските бета клетки резултираат со сериозни метаболни проблеми кои вклучуваат кетоацидоза и зголемено создавање урина. Доцните фази од оваа болест често се карактеризираат со атеросклеротични васкуларни лезии - кои подоцна предизвикуваат гангрена на екстремитетите поради отежнат васкуларен проток - откажување на бубрезите и слепило. Ако не се лекува, следува смрт. Најчестата терапија за дијабетот е дневно примање на инсулин. Ова е многу полезно при управувањето со болеста, но бидејќи спорадичните дози не се исто како и метаболно регулираното непрекинато и контролирано ослободување на хормонот, периодично внесуваните дози на инсулин целосно не ги отстрануваат проблемите предизвикани од оваа болест. Друга комплицирана особина на дијабетот е тоа што нарушувањето може да биде неоткриено неколку години, со што овозможува неповратна загуба на панкреасното ткиво пред да започне лекувањето. Подобрените техники за пресадување на прочистени клетки од островчињата покажуваат надеж во лекувањето на ИЗД (види слика 17-12).

Одредени автоимуни болести се посредувани од стимулирачки или блокирачки автопротивтела

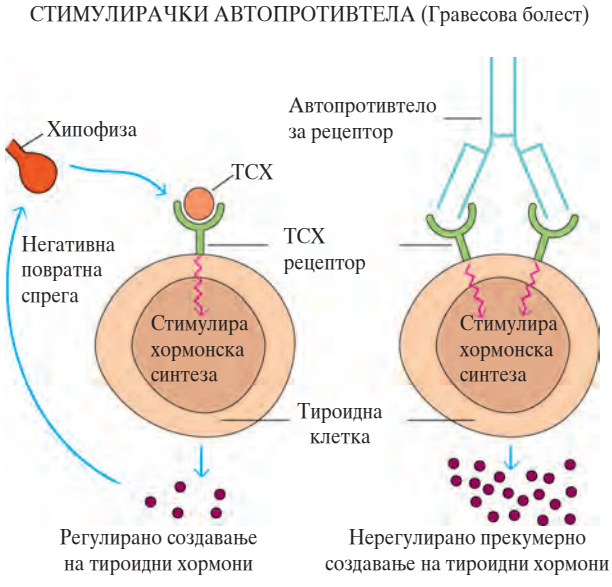
При одредени автоимуни болести, противтелата дејствуваат како агонисти, кои се врзуваат за хормонските рецептори на местото на здравиот лиганд и стимулираат несоодветна активност. Ова обично води до прекумерно создавање на медијатори или зголемување на клеточниот раст. Наспроти тоа, автопротивтелата може да дејствуваат како антагонисти, се врзуваат за хормонските рецептори и при тоа ја блокираат работата на рецепторот. Ова во основа предизвикува намалена секреција на медијаторите и постепена атрофија на засегнатиот орган.

Гравесова болест

Создавањето на тироидните хормони е внимателно регулирано од тироидниот- стимулирачки хормон (ТСХ), кој се создава во хипофизата. Врзувањето на ТСХ за рецепторот на тироидните клетки ја активира аденилната циклаза и ја стимулира синтезата на два тироидни хормони, тироксин и тријодтиронин. Пациентот со **Гравесова болест** создава автопротивтела кои се врзуваат за рецепторот за ТСХ и ја имитираат нормалната работа на ТСХ, ја активираат аденилната циклаза и резултираат со создавање на тироидните хормони. Сепак, за разлика од ТСХ, автопротивтелата не се регулирани и последователно прекумерно ја стимулираат тироидеата. Поради ова овие автопротивтела се наречени долгодејствувачки тироиден стимулатор (LATS) (ДДТС) противтела (слика 16-8).

Мијастенија гравис

Мијастенија гравис е прототип на автоимуна болест посредувана од блокирачки противтела. Пациент со оваа болест создава автопротивтела кои се врзуваат за ацетилхолинските рецептори за моторните плочи од мускулите, при што го блокираат нормалното врзување на ацетилхолинот и исто така поттикнуваат комплемент-посредувана лиза на клетките . Резултатот е постепено слабеење на скелетните мускули (слика 16-9). На крајот, противтелата предизвикуваат уништување на клетките кои ги имаат овие рецептори. Раните знаци на оваа



СЛИКА 16-8 При Гравесовата болест, врзувањето на автопротивтелата за рецепторот на тироидниот стимулирачки хормон (ТСХ) поттикнува нерегулирана активација на тироидејата, што води до прекумерно создавање на тироидните хормони (виолетовите точки).

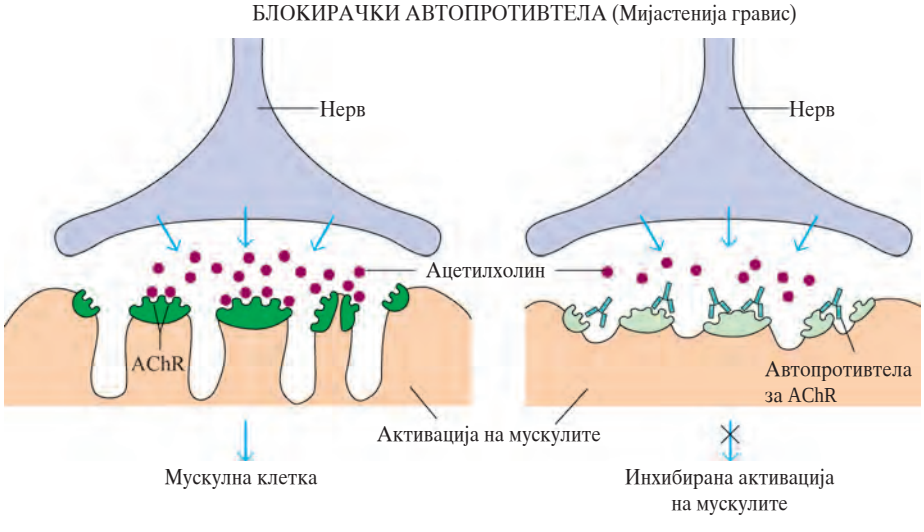
болест вклучуваат паѓање на очните капаци и неспособност за повлекување на усните агли, при што лицето има специфична хоризонтална насмевка (snarling). Без лекување, прогресивното слабеење на мускулите може да доведе до тешко нарушување на исхраната како и проблеми со движењето. Сепак, со соодветно лекување, оваа болест може добро да се управува и засегнатите лица можат да живеат нормален живот.

Системски автоимуни болести

Кај системските автоимуни болести, одговорот е насочен кон широк спектар на целни противгени и вклучува бројни органи и ткива. Овие болести покажуваат општ дефект во имуната регулација кој резултира со хиперактивни Т и Б-клетки. Оштетувањето на ткивото е широко распространето, и од клеточно посредуваните имуни реакции и од директното клеточно оштетување предизвикано од автопротивтелата или преку акумулацијата на имуни комплекси.

Системскиот лупус еритематозус напаѓа голем број ткива

Еден од најдобрите примери за системска автоимуна болест е **системскиот лупус еритематозус (СЛЕ)**, која обично се јавува кај жени на возраст од 20 до 40 години, односот жени наспроти мажи изнесува 10:1. СЛЕ се карактеризира со грозница, слабост, артрит, кожни исипи, плеврит и неправилна функција на бубрезите (слика 16-10). Лупусот е почест кај афроамериканските и шпанските жени отколку кај белите жени, иако не е познато зошто е тоа така. Засегнатите лица можат да создадат автопротивтела за многу ткивни противгени, како што се ДНК, хистоните, ЦКК, крвните плочки, леукоцитите и факторите на коагулација. Меѓудејството на овие автопротивтела со нивните специфични противгени создаваат различни симптоми. На пример, автопротивтелото кое е специфично за ЦКК и крвните плочки може да доведе до комплемент-посредувана лиза и да резултира со хемоличка анемија и тромбоцитопенија, соодветно. Кога имуни комплекси од автопротивтелата со различни јадрени противгени се исталожени по должината на ѕидовите од малите крвни садови, се случува тип 3 реакција на преосетливост. Комплексите го активираат комплементниот систем и создаваат мембрански атак комплекси и комплемент-



СЛИКА 16-9 При мијастенија гравис, врзувањето на автопротивтелата за ацетилхолинскиот рецептор (AchR, *десно*) го блокира нормалното врзување на ацетилхолинот (виолетови точки) и последователното активирање на мускулот (*лево*). Покрај тоа, против-AChR автопротивтелото го активира комплементот, кој ја оштетува мускулната плоча. Како што напредува болеста бројот на ацетилхолински рецептори се намалува.



СЛИКА 16-10 Карактеристичен ïпеперуткастû осип на образите кај девојче со системски лупус еритематозус. [Од L. Steinman, 1993, Scientific American 269 (3):80]

ни распадни продукти кои го оштетуваат ѕидот од крвниот сад и водат до васкулит и гломерулонефрит.

Прекумерната активација на комплементот кај пациенти со тежок СЛЕ создава зголемени серумски нивоа на комплементните распадни продукти К3а и К5а, кои можат да бидат три до четири пати повисоки од нормалните. К5а поттикнува зголемено прикажување на комплементниот рецептор тип 3 (КР3) на неутрофилите, ја олеснува агрегацијата на неутрофилите и припојувањето за васкуларниот ендотел. Како што неутрофилите се припојуваат за малите крвни садови, бројот на крвосадни неутрофили се намалува (неутропенија) и се развиваат разни оклузии на малите крвни садови (васкулит). Овие оклузии можат да доведат до широко распространети ткивни оштетувања.

Лабораториската дијагноза на СЛЕ се фокусира врз карактеристичните противјадредни противтела, кои се насочени против едноверижната и двојноверижната ДНК, нуклеопротеинот, хистоните и јадрената РНК. Индиректното имунофлуоресцентно обојување со серум од пациенти со СЛЕ создава различни карактеристични модели на боење на јадрото.

Мултипла склерозата го напаѓа централниот нервен систем

Мултипла склерозата (**МС**) е најчестата причина за невролошки инвалидитет поврзан со болест во западните земји. Симптомите можат да бидат благи, како вкочанетост на екстремитетите, или тешки, како парализа или губење на видот. Повеќето луѓе со МС се дијагностицирани на возраст од 20 до 40 години. Лицата со оваа болест создаваат автореактивни Т-клетки кои учествуваат во создавањето на воспалителни лезии по должината на миелинската обвивка на нервните влакна. Цереброспиналната течност на пациентите со МС содржи активирани Т-лимфоцити, кои го инфилтрираат мозочното ткиво и создаваат карактеристични воспалителни лезии, уништувајќи го миелинот. Бидејќи миелинот служи за да ги заштити нервните влакна, прекинот на миелинската обвивка води до бројни невролошки дисфункции.

Епидемиолошките студии покажале дека МС е најчеста во Северната хемисфера и, интересно, во САД. Населението кое живее северно од 37-та паралела имаат преваленца од 110 до 140 случаи на 100000 лица, додека она население кое живее јужно од 37-та паралела има преваленца од 57 до 78 случаи на 100000. Лицата кои живееле јужно од 37-та паралела, а се преселиле на север се соочуваат со нов ризик доколку тоа се случи пред 15-тата година. Овие провокативни податоци покажуваат дека постои околински фактор кој влијае врз ризикот за добивање МС. Сепак, ова не е сè бидејќи генетското влијание исто така е важно. Додека просечното лице во САД има шанса за добивање МС 1 на 1000, блиските роднини на лицата со МС, како што се децата или браќа и сестри, имаат шанса 1 на 50 до 100 за добивање МС. Идентичниот близнак на лицето со МС има една на три шанси за добивање на оваа болест. Овие податоци цврсто укажуваат на генетскиот дел на болеста. И МС ги зафаќа жените два до три пати почесто од мажите (види клинички фокус).

Причината за МС, како и повеќето автоимуни болести, не е целосно објаснета. Сепак, постојат индикации дека инфекцијата со одредени вируси може да го предиспонира лицето за МС. Некои вируси можат да предизвикаат демиелинизирачки болести, што е примамливо за да шпекулираме дека вирусните инфекции играат значајна улога во МС, но во моментов нема точни податоци кои вклучуваат одреден вирус.

Ревматоидниот артрит ги напаѓа зглобовите

Ревматоидниот артрит е често автоимуно нарушување кое најчесто ги зафаќа жените на возраст од 40 до 60 години. Главниот симптом е хронично воспаление на зглобовите, иако исто така често се зафатени и хематолошкиот, кардиоваскуларниот и респираторниот систем. Голем број лица со ревматоиден артрит создаваат група на автопротивтела наречени **ревматоидни фактори** кои се реактивни со детерминанти на Фк подрачјето на ИгГ. Класичниот ревматоиден фактор е ИгМ противтело со таква реактивност. Таквите автопротивтела се врзуваат за нормалниот циркулирачки ИгГ, при што се создаваат ИгМ-ИгГ комплекси кои се таложат во зглобовите. Овие имуни комплекси можат да ја активираат комплементната каскада, што резултира со тип 3 реакција на преосетливост и води до хронично воспаление на зглобовите.

Животински модели на автоимуни болести

Животинските модели за автоимуни болести овозможија детално проучување на механизмот на автоимунитетот, нови податоци за автоимунитетот кај луѓето и на потенцијалните лекарства. Автоимунитетот спонтано се развива кај одредни вкрстени видови на животни и исто така може да биде поттикнат од одредени експериментални манипулации (табела 16-20).

ТАБЕЛА 16-2 Експериментални животински модели на автоимуни болести

Животински модел	Можна соодветна човечка болест	Поттикнувачки противген	Болест пренесена од Т-клетките
СПОНТАНИ АВТОИМУНИ ЗАБОЛУВАЊА			
Негоен дијабетичен (НГД) глушец	Инсулин-зависен дијабет (ИЗД)	Непознат	Да
(НЗЦ Х НЗБ) $Ф_1$ глушец	Системски лупус еритематозус (СЛЕ)	Непознат	Да
Гоен сој на пиле	Хашимотов тироидит	Тироглобулин	Да
ЕСПЕРИМЕНТАЛНО ПОТТИКНАТИ АВТОИМУНИ ЗАБОЛУВАЊА*			
Експериментална автоимуна мијастенија гравис (ЕАМГ)	Мијастенија гравис	Ацетилхолински рецептор	Да
Експериментален автоимун енцефаломиелит (ЕАЕ)	Мултипла склероза (МС)	Миелински базичен протеин (МБП) Протеолипиден протеин (ПЛП)	Да
Автоимун артрит (АА)	Ревматоиден артрит	*M. tuberculosis* (протеогликани)	Да
Експериментален автоимун тироидит (ЕАТ)	Хашимотов тироидит	Тироглобулин	Да

*Овие болести можат да бидат поттикнати со инјектирање на соодветните животни со наведениот противген во целосен Freund-ов адјуванс. Освен за автоимуниот артрит, употребените противгени одговараат на сопствените противгени поврзани со соодветното човечко заболување. Ревматоидниот артрит вклучува реакција на протеогликани, кои се сопствени противгени поврзани со сврзното ткиво.

Автоимунитетот може спонтано да се развие кај животните

Бројни автоимуни болести кои се развиваат спонтано кај животните покажуваат значајни клинички и патолошки сличности со одредени автоимуни болести кај луѓето. Одредени вкрстени соеви на глувци се особено важни модели за појаснување на имуните дефекти вклучени во развојот на автоимунитетот.

Новозеландските црни (НЗЦ) глувци и $Ф_1$ хибридите на НЗЦ и новозеландските бели (НЗБ) глувци спонтано развиваат автоимуни заболувања кои се слични на системскиот лупус еритематозус. НЗЦ глувци спонтано добиваат автоимуна хемолитичка анемија на возраст помеѓу 2 и 4 месеци, време кога можат да се откријат разни автопротивтела, вклучувајќи ги противтелата кон еритроцитите, јадрените протеини, ДНК и Т-лимфоцитите. $Ф_1$ хибридните животни добиваат гломерулонефрит од складираните имуни комплекси во бубрезите и умираат предвремено на возраст од 18 месеци. Како и кај човечкиот СЛЕ, инциденцата на автоимунитетот кај (НЗЦ х НЗБ) $Ф_1$ хибридите е поголема кај женките.

Забрзана и тешка форма на системско автоимуно заболување кое е слично на СЛЕ се развива кај глувчешкиот сој наречен МРЛ/*лпр/лпр*. Овие глувци се хомозиготи за генот *лпр*, претходно спомнат, кој е откриен како дефектен за *фас* генот. *Фас* генскиот продукт е протеин врз клеточната површина кој припаѓа на ТНФ фамилијата цистеински богати мембрански рецептори (види слика 12-6д). Кога нормалниот Фас протеин стапува во меѓудејство со неговиот лиганд, се пренесува сигнал кој води до апоптотична смрт на Фас-носечките клетки. Овој механизам може да работи за уништување на целните клетки од ЦТЛ. Исто така е познато дека Фас е неопходен за смртта на хиперактивните периферни $КД4^+$ клетки. Обично, кога се активираат зрелите периферни Т-клетки, тие се поттикнати да го прикажуваат и Фас противгенот и неговиот лиганд. Кога Фас-носечките клетки стапуваат во контакт со соседната активирана клетка која го носи Фас лигандот, Фас-носечката клетка е поттикната да умре (види слика 10-19). Исто така е можно Фас лигандот да се поврзе со Фас од истата клетка, поттикнувајќи клеточно самоубиство. Во отсуство на Фас, зрелите периферни Т-клетки не умираат и овие активирани клетки продолжуваат да пролиферираат и да создаваат цитокини што резултира со многу зголемени лимфни јазли и слезина. Дефекти во прикажувањето на *фас* слични на оние најдени кај *лпр* глушецот се забележани кај луѓето, а таквите дефекти можат да имаат тешки последици. Сепак, нема поврзаност меѓу *фас* прикажувањето и СЛЕ кај луѓето, што покажува дека *лпр* глушецот можеби не е вистински модел за СЛЕ.

Друг значаен животински модел е негојниот дијабетичен (НГД) глушец, кој спонтано добива форма на дијабет слична на хуманиот инсулин-зависен дијабет (ИЗД). Како и кај луѓето, болеста кај НГД глушецот започнува со лимфоцитна инфилтрација во островчињата од панкреасот. Исто така, како кај ИЗД, постои тесна поврзаност помеѓу одредени ГТК алели и развојот на дијабетот кај овие глувци. Експериментите покажаа дека Т-клетките од дијабетичниот глушец можат да го пренесат дијабетот на недијабетични приматели. На пример, кога имуниот систем на здравите глувци е уништен од смртоносни дози на рендгенски зраци а потоа обновен со инјекција на коскено срцевински клетки на НГД глувци, обновениот глушец развива дијабет. Наспроти тоа, кога имуниот систем на сè уште здравите НГД глувци ќе се уништи со рендгенско зрачење а потоа ќе се обнови со здрави коскено срцевински клетки, НГД глувците не развиваат дијабет. Разни студии ја покажаа главната улога на $КД4^+$Т клетките кај НГД глушецот, а неодамнешните докази го вклучуваат Тпо1 подтип во развојот на болеста.

Неколку други спонтани автоимуни болести се откриени кај животните и тие служеле како модели за сличните човечки болести. Меѓу нив се гојниот сој на пилиња, кои развиваат хуморална и клеточно посредувана реактивност на тироглобулинот слична на онаа при Хашимотовиот тироидит.

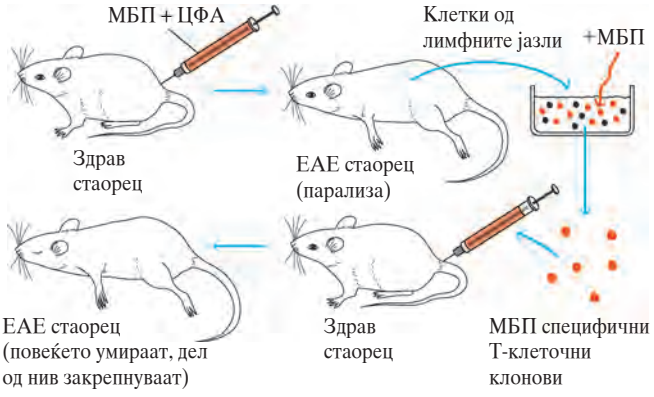
Автоимунитетот може да биде поттикнат експериментално кај животните

Автоимуните дисфункции слични на одредени човечки автоимуни заболувања можат да бидат експериментално поттикнати кај одредени животни (види табела 16-2). Еден од првите такви животински модели беше случајно откриен во 1973 година кога зајаците биле имунизирани со ацетилхолински рецептори прочистени од електрични јагули. Набрзо животните добиле мускулна слабост слична на онаа видена кај мијастенија гравис. Се покажа дека оваа експериментална автоимуна мијастенија гравис (ЕАМГ) се јавува кога противтелата создадени против надворешниот (и со вкрстена реакција, од домаќинот) ацетилхолински рецептор ја блокирале мускулната стимулација со ацетилхолин во синапсата. За една година, овој животински модел ја докажал својата вредност со откритието дека автопротивтелата за ацетилхолинскиот рецептор се причина за мијастенија гравис.

Експерименталниот автоимун енцефаломиелитис (ЕАЕ) е еден од најдобро проучуваните животински модели на автоимуно заболување. ЕАЕ е посредуван само од Т-клетки и може да биде поттикнат кај голем број видови преку имунизација со миелинскиот базичен протеин (МБП) или протеолипидниот протеин (ПЛП) во целосен Фројндов адјуванс (слика 16-11). За време од 2 до 3 недели животното развива клеточна инфилтрација во миелинските обвивки на централниот нервен систем, што резултира со демиелинизација и парализа. Повеќето животни умираат, но некои имаат поблаги симптоми, а други развиваат хронична форма на болест слична на хроничната влошувачка и повторувачка МС кај луѓето. Оние кои закрепнале се отпорни на развој на болеста од повторна инјекција со МБП и адјувант.

Глувчешкиот ЕАЕ модел овозможува систем за тестирање на третманите за хуманата МС. На пример, бидејќи во периферијата се пронајдени МБП или ПЛП специфични Т-клеточни клонови, се претпоставува дека овие клонови ја избегнале негативната селекција во тумусот. Неодамнешните глувчешки експериметни покажале дека орално применот МБП може да ги направи самотолерантни овие противген-специфични периферни Т-клеточни клонови. Овие студии го пробија патот за клиничките испитувања кај МС пациентите.

Експерименталниот автоимун тироидитис (ЕАТ) може да биде поттикнат кај бројни животни преку имунизирање со тироглобулин во целосен Фројндов адјуванс. Се развиваат и хуморални противтела и Тпо1 клетки насочени против тироглобулинот, што резултира со тироидно воспаление. Изгледа дека ЕАТ најдобро го имитира Хашимотовиот тироидит. Наспроти ЕАЕ и ЕАТ, кои се поттикнати со имунизирање со сопствен противген, автоимуниот артрит (АА) е поттикнат со имунизирање на староците со *Mycobacterium tuberculosis* во целосен Фројндов адјуванс. Овие животни добиваат артрит чии што особини се слични на оние на ревматоидниот артрит кај луѓето.



СЛИКА 16-11 Експериментлниот автоимун енцефаломиелит (ЕАЕ) може да биде поттикнат кај стаорци преку инјектирање на миелински базичен протеин (МБП) во целосен Фројндов адјуванс (ЦФА). МБП специфичните Т-клеточни клонови можат да бидат создадени преку култивирање на клетки од лимфните јазли на ЕАЕ стаорци со МБП. Кога овие Т-клетки се внесуваат во здрави животни, повеќето развиваат ЕАЕ и умираат, иако дел од нив закрепнуваат.

Доказ кој ги вклучува КД4⁺Т клетките, ГТК и ТКР во автоимунитетот

Несоодветниот одговор кон сопствените противгени кои ги карактеризира сите автоимуни болести може да ги вклучи хуморалните или клеточно посредуваните гранки од имуниот систем. Откривањето на дефектите кои лежат во основата на човечките автоимуни болести било тешко; поголем успех е постигнат со карактеризирање на имунолошките дефекти кај разни животински модели. Секој од овие животински модели ги вклучува КД4⁺Т клетките како прв посредник во автоимуните болести. На пример, многу цврст е доказот дека, кај глувците, ЕАЕ е предизикан од КД4⁺ Тпо1 клетки специфични за имунизирачкиот противген. Болеста може да се пренесе од едно на друго животно преку Т-клетките од животните имунизирани со МБП или ПЛП или со клонирани Т-клеточни линии од такви животни. Исто така било покажано дека оваа болест може да се спречи преку лекување на животните со против-КД4 противтела. Овие податоци претставуваат цврст доказ за вклученоста на КД4 во воспоставувањето на ЕАЕ.

Т-клеточното препознавање на противгенот, се разбира, вклучува тримолекуларен комплекс од Т-клеточен рецептор, ГТК молекул и противген пептид (види слика 9-14). Според тоа, лицето кое е осетливо на автоимунитет мора да поседува ГТК молекули и Т-клеточни рецептори способни за врзување на сопствените противгени.

КД4⁺Т-клетките и Тпо1/Тпо2 рамнотежата играат значајна улога во автоимунитетот кај одредени животински модели

Автоимуни Т-клеточни клонови се добиени од сите животински модели наведени во табелата 16-2 преку култивирање на лимфоцитите од автоимуните животни во присуство на разни Т-клеточни фактори за раст и преку поттикнување на пролиферацијата на специфични автоимуни клонови со различните автопротивгени. На пример, кога клетките од лимфниот јазол на ЕАЕ стаорците се култивираат ин витро со миелинскиот базичен протеин (МБП), се појавуваат клонови од активираните Т-клетки. Кога доволен број од овие МБП специфични Т-клеточни клонови ќе се внесе внатревенозно во здрави сингенични животни, клетките ја поминуваат крвномозочната бариера и поттикнуваат демиелинизација. ЕАЕ се развива многу брзо, обично за 5 дена (види слика 16-11).

Сличен експериментален протокол се користел за изолирање на Т-клеточни клонови специфични за тироглобулинот и за *M. tuberculosis* од ЕАТ и АА животни, соодветно. Во секој случај, Т-клеточниот клон поттикнува експериментална автоимуна болест кај здравите животни. Испитувањата на овие Т-клетки откриле дека тие носат КД4 мембрански обележувач. Кај одреден број на животински модели за автоимуни болести, можно е пренасочување на автоимунитетот преку намалување на Т-клеточната популација со противтело насочено кон КД4. На пример, неделни инекции со против-КД4 моноклонско противтело ги поништува автоимуните симптоми кај (НЗЦ х НЗБ) $Ф_1$ глувците и кај глувците со ЕАЕ.

Повеќето случаи на орган-специфична автоимуна болест се развиваат како последица од самореактивните КД4⁺ Т-клетки. Анализата на овие клетки открила дека Тпо1/ Тпо2 рамнотежата може да влијае врз тоа дали ќе се развие автоимунитетот. Тпо1 клетки се вкучени во развојот на автоимунитетот, додека пак во одредени случаи, Тпо2 клетките не само што штитат против поттикнување на болеста, туку исто така и против напредување на присутната болест. На пример, кај ЕАЕ имунохистолошките студии открија присуство на Тпо1 цитокини (ИЛ-2, ТНФ-алфа и ИФН-гама) во ткивото од централниот нервен систем во висина на болеста. Покрај тоа, МБП специфичните КД4⁺ Т-клеточни клонови создадени од животни со ЕАЕ, како што е прикажано на слика 16-11, можат да се поделат на Тпо1 и Тпо2 клонови. Експериментите покажале дека само Тпо1 клоновите пренесуваат ЕАЕ на здрави глувци, додека Тпо2 клоновите не само што не пренесуваат ЕАЕ на здравите глувци, туку исто така го штитат глушецот од поттикнување на ЕАЕ преку последователна имунизација со МБП плус адјуванс.

Експериментите кои ја проценуваа улогата на разни цитокини или цитокински инхибитори во развојот на ЕАЕ овозможија дополнителен доказ за различните улоги на Тпо1 и Тпо2 клетките во автоимунитетот. Кога глувците се инектирани со ИЛ-4 за време на имунизацијата со МБП плус адјуванс, развојот на ЕАЕ е инхибиран, додека примањето на ИЛ-12 има спротивен ефект, го поттикнува развојот на ЕАЕ. Како што видовме во поглавје 12, ИЛ-4 го поттикнува развојот на Тпо2 клетки, а ИФН-гама, заедно со другите цитокини како што е ИЛ-12, поттикнува развој на Тпо1 клетки (види слика 12-12). Според тоа, забележаните ефекти на ИЛ-4 и ИЛ-12 во развојот на ЕАЕ се во согласност со улогата на Тпо1 клетките во генезата на автоимунитетот.

Автоимунитетот може да биде поврзан со ГТК или со посебни Т-клеточни рецептори

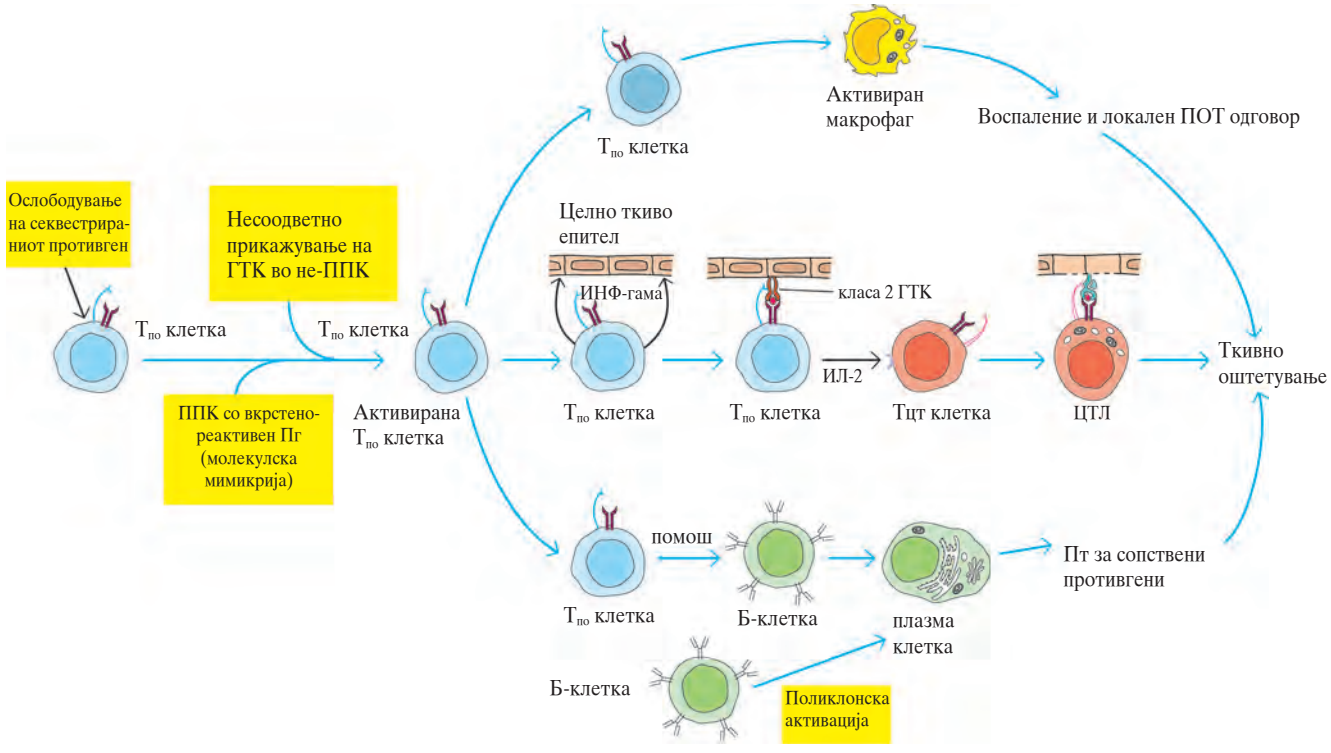
Неколку видови на студии ја поддржале поврзаноста помеѓу прикажувањето на одреден ГТК алел и подложноста на автоимунитет, што е детално објаснето во поглавје 8. Најсилната врска помеѓу ХЛА алелите и автоимуната болест се гледа при анкилозирачкиот спондилит, воспалителна болест на ‘рбетните зглобови. Лицата кои имаат ХЛА-Б27 имаат 90 пати поголема веројатност за добивање анкилозирачки спондилит од лицата со различен ХЛА-Б алел. Сепак, постоењето на таква поврзаност не треба да се толкува на начин кој ќе покаже дека прикажувањето на одреден ГТК молекул ја предизвикало болеста, бидејќи врската меѓу ГТК алелите и развојот на автоимуната болест е сложена. Интересно е да се забележи дека, за разлика од многу други автоимуни болести, 90% од случаите со анкилозирачки спондилит се мажи.

Присуството на Т-клеточен рецептор кој содржи посебни Валфа и Вбета домени исто така е поврзано со бројни автоимуни болести, вклучувајќи ги експерименталните ЕАЕ и неговата човечка копија, мултипла склерозата. При еден метод, Т-клетки специфични за разни енцефалитогени пептиди од МБП биле клонирани и нивните Т-клеточни рецептори биле анализирани. На пример, добиени се Т-клеточни клонови од ПЛ/Ј глувци со култивирање на нивните Т-клетки со ацетилираните аминотерминални нонапептиди на МБП прикажан во комбинација со класа 2 ИА^{u} ГТК молекул. Анализата на Т-клеточните рецептори на овие клонови откри ограничена разноликост на Валфа и Вбета домените: 100% од Т-клеточните клонови прикажуваа Валфа 4,3 а 80% од Т-клеточните клонови прикажувале Вбета 8,2. Кај човечките автоимуни болести, доказ за спрегнатото ТКР прикажување бил добиен од мултипла склерозата и мијастенија гравис. Најпогодното прикажување на ТКР гените од варијабилното подрачје кај овие автоимуни Т-клеточни клонови покажало дека еден епитоп може да поттикне клонска експанзија на мал број на патогени Т-клетки.

Предложени механизми за поттикнување на автоимунитетот

Биле предложени бројни механизми за значењето на Т-клеточно посредуваното создавање на автоимуните болести (слика 16-12). Постојат докази за секој од овие механизми и најверојатно автоимунитетот не се развива од еден процес туку од голем број различни процеси.

Покрај тоа, осетливоста на голем број автоимуни болести се разликува помеѓу двата пола. Како што видовме претходно, Хашимотовиот тироидит, системскиот лупус еритематозус, мултипла склерозата, ревматоидниот артрит и склеродермата првенствено ги зафаќаат жените. Факторите кои се предложени како одговорни за оваа осетливост, како што се хормонските разлики помеѓу половите и потенцијалните фактори на ембрионските клетки во циркулацијата на мајката при бременоста, се објаснети во клиничкиот фокус на страница 416.



СЛИКА 16-12 Предложени механизми за поттикнување на автоимуни реакции. Вообичаената тимусна селекција најверојатно создава одредени самореактивни Тпо1 клетки. Абнормалностите при овој процес можат да создадат дури и повеќе самореактивни Тпо1 клетки. Се верува дека активацијата на овие самореактивни Т-клетки на различни начини, како и поликлонската активација на Б-клетките, поттикнува автоимун одговор, при што во овој случај доведува до ткивно оштетување. Многу е веројатно дека неколку механизми се вклучени во секоја автоимуна болест. [*Прилагодено од V. Kumar et al., 1989,* Annual of Immunology **7**: 657.]

Ослободувањето на скриените противгени може да поттикне автоимуна болест

Како што објаснивме во Поглавје 10, поттикнувањето на самотолеранцијата кај Т-клетките се јавува како резултат од изложувањето на незрелите тимоцити на сопствени противгени и последователно клонско отстранување на оние кои се самореактивни. Како што спомнавме претходно, сите ткивни противгени кои се скриени од циркулацијата не се видени од страна на развојните Т-клетки во тимусот и нема да поттикнат самотолеранција. Подоцнежното изложување на зрелите Т-клетки на таквите нормално скриени противгени може да резултира со нивна активација.

Миелинскиот базичен протеин (МБП) е пример за противген кој е нормално скриен од имуниот систем, во овој пример со крвно-мозочната бариера. Во ЕАЕ моделот, животните директно се инјектирани со МБП, заедно со адјуванс, под услови кои максимално го зголемуваат имуното изложување. Кај овој тип на животински модел, имуниот систем е изложен на скриениот сопствен противген под нефизиолошки услови. Сепак, траума на ткивата која се јавува по несреќа или вирусна или бактериска инфекција може исто така да ги ослободи скриените противгени во циркулацијата. Познато е дека неколку ткивни противгени спаѓаат во оваа категорија. На пример, спермата се јавува доцна во развојот и е скриена од циркулацијата. Сепак, по вазектомија, одредени спермални противгени се ослободени во циркулацијата и можат да поттикнат создавање на автопротивтела кај некои мажи. Слично на тоа, ослободувањето на леќиниот протеин по повреда на окото или на противгенот на срцевиот мускул по миокарден инфаркт се покажало дека во некои случаи води до создавање на автопротивтела.

Податоците покажуваат дека инјекцијата на нормално скриените противгени директно во тимусот може да го пренасочи развојот на ткивно специфичната автоимуна болест кај животинските модели. На пример, внатретимусна инјекција на бета клетки од панкреасните островчиња ја спречила појавата на автоимунитет кај НГД глувците. Исто така, ЕАЕ бил спречен кај осетливи стаорци со предходна инјекција на МБП директно во тимусот. Во овие експерименти, изложувањето на незрелите Т-клетки на сопствени противгени кои обично не се присутни во тимусот најверојатно води до толеранција на овие противгени.

КЛИНИЧКИ ФОКУС

Зошто жените се поосетливи на автоимунитет од мажите? Полови разлики кај автоимуните болести

Од скоро 9 милиони лица со автоимуна болест во САД, приближно 6,7 милиони се жени. Оваа предиспозиција за автоимунитет е поочигледна кај одредени болести. На пример, односот на жени наспрема мажи кај лицата кои страдаат од болести како што се мултипла склерозата (МС) или ревматоидниот артрит (РА) е приближно 2 или 3 жени наспрема еден маж и 9 жени наспрема 1 маж кај лицата кои имаат системски лупус еритематозус (СЛЕ). Сепак, оваа статистика не дава целосна слика бидејќи при одредени болести, како на пример МС, болеста може да биде потешка кај мажите отколку кај жените. Долго време е познато дека жените се поосетливи кон автоимуни болести, но причините за овој зголемен ризик не се целосно познати. Следат некои можни објаснувања.

Иако се чини неверојатно, голем број докази укажуваат на фактот дека постојат значајни полови разлики при имуните реакции кај луѓето и глувците. Имунизирачките студии кај двата вида покажуваат дека жените создаваат повисок титар на противтела од мажите. Всушност, во основа жените тежнеат да поттикнат посилни имуни реакции. Кај луѓето, ова особено е видливо кај младите жени. Жените тежнеат да имаат повисоки нивоа на КД4$^+$ Т-клетки и значително повисоки нивоа на серумски ИгМ.

Кај глувците, каде половите разлики полесно се проучуваат, голем број научни дела ги објаснуваат половите разлики при имуните реакции. Поверојатно е дека женските глувци ќе развијат Тпо1 реакции наместо машките глувци и при инфекции каде провоспалителните Тпо1 реакции се полезни, поверојатно е дека ќе бидат поотпорни кон инфекција. Одличен пример е инфекција со вируси како што е вазикуларниот стоматитен вирус (ВСВ), херпес симплекс вирусот (ХСВ) и Тајлеровиот глувчешки енцефаломиелитен вирус (ТГЕВ). Отстранувањето на овие вируси е олеснето со Тпо1 реакциите. Сепак, во одредени случаи провоспалителниот одговор може да биде штетен. На пример, Тпо1 одговорот на лимфоцитниот хориоменингитисен вирус (ЛХМВ) се поврзува со многу потешка болест и значајна патологија. Според тоа, женските глувци веројатно повеќе подлежат на инфекција со ЛХМВ. Фактот дека полот е значаен при инфекција со ЛХМВ е нагласен преку експерименти кои покажуваат дека кастрираните мажјаци се однесуваат имунолошки како женките и се поосетливи на инфекција од нивните некастрирани машки врсници.

Друга болест при која полот игра улога е инфекцијата со коксаки вирусот тип Б-3 (КВБ-3), етиолошки агенс за имуниот миокардит. Глувците мажјаци се поосетливи кон оваа болест од женките. КВБ-3 поттикнува доминантно Тпо1 одговор кај мажјаците, додека женките, спротивно на ситуацијата која е објаснета претходно, реагираат преку поттикнување на Тпо2 одговор. Реакцијата на женките може да се промени преку инектирање на тестостерон, што ги прави поосетливи кон болеста. Покрај тоа, одговорот на мажјаците може да се промени преку инектирање на естрадиол, правејќи ги отпорни кон вирусот. Веројатно, врз база на овие податоци за глувците, постојат основни разлики помеѓу мажите и жените при нивните реакции кон патогени. Сепак, половите разлики кои се гледаат кај глувците можат да не се однесуваат на човечката популација.

Како настануваат овие полови разлики? Дека естрадиолот или тестостеронот можат да го променат исходот од инфекцијата со КВБ-3 укажува на значајната улога на половите хормони. Кај луѓето, само естрогенот изгледа дека не игра значајна улога во етиологијата на РА или МС, но може да биде значаен при СЛЕ. Ова доаѓа од податоците кои покажуваат дека естрогенот можеби стимулира создавање на автопротивтела кај СЛЕ-склоните глувци и овие ефекти можат да се променат со помош на противестрогена состојка. Ваквите податоци покажуваат дека, барем кај глувците, естрогенот е способен за поттикнување на СЛЕ-сличен автоимунитет. Покрај тоа, јасно е дека андрогените, како што е тестостеронот, играат значајна улога при одредени автоимуни болести. Женките НГД глувци се многу поосетливи на спонтан дијабет, а кастрацијата значително ја зголемува осетливоста кај машките НГД глувци. Женките СЈЛ глувци се поосетливи на ЕАЕ, глувчешка МС-слична болест. Ова покажува дека тестостеронот може да биде ефикасен во подобрувањето на одредени автоимуни реакции и така може да биде одбрамбен против одредени автоимуни болести, вклучувајќи ги МС, дијабетот, СЛЕ и Сјогреновиот синдром.

Зошто половите стероиди влијаат врз имуните реакции? Ова не е целосно јасно, но веројатно овие хормони, кои циркулираат низ телото, ги модифицираат имуните реакции преку менување на обрасците на генско прикажување. Половите стероиди, високо липофилна група

Молекулската мимикрија може да придонесе за автоимуна болест

Забелешката дека микробните или вирусните противгени можат да играат улога кај автоимунитетот е привлечна од неколку причини. Добро се знае дека мигрирачките човечки популации се здобиваат со болести од подрачјето каде што се селат и дека инциденцата на автоимунитетот значително се зголемила како што популациите станале помобилни. Ова, во комбинација со фактот дека било покажано дека бројни вируси и бактерии поседуваат противгени детерминанти кои се идентични или слични на нормалните клеточни делови на домаќинот, го навело Michael Oldstone да тврди дека патогенот може да прикажува протеински епитоп сличен на одредена сопствена компонента во конформацијата или во првичната секвенца. Таква молекулска мимикрија се забележува кај голем број на организми (табела 16-3). Во една студија, 600 различни моноклонски противтела специфични за 11 различни вируси биле тестирани за да се процени нивната реактивност со нормалните ткивни противгени. Повеќе од 3% од вирусно специфичните противтела кои биле

на соединенија, функционираат преку минување низ клеточната мембрана и врзување со цитоплазматски рецептор. Секој хормон има сроден рецептор и врзувањето на хормонот за рецепторот води до активација или, во одредени случаи, репресија на генското прикажување. Ова е посредено преку врзување на рецептор-хромон комплексот за специфична ДНК секвенца. Според тоа, естрогенот навлегува во клетката, се врзува за естрогенскиот рецептор и поттикнува врзување на естрогенскиот рецептор за специфична ДНК секвенца, која по редослед доведува до приспособување на препишувањето. Така што во клетките кои содржат хормонски рецептори, половите хормони можат да го регулираат генското прикажување и најверојатно половите стероиди играат значајна улога во имуниот систем со помош на нивните рецептори. Не е познато дали разните клетки од имуниот систем содржат хормонски рецептори. За да се објасни како половите хормони посредуваат во имуните реакции, мора да одредиме кои клетки ги прикажуваат кои хормонски рецептори.

Хормоналните ефекти на имуните реакции можат да не бидат ограничени само на стероидните полови хормони. Пролактинот, хормон кој кај жените е прикажан во повисоко ниво од мажите, не е член на фамилијата липофилни полови стероиди кој ги вклучува естрогенот, прогестеронот и тестостеронот. Сепак, секрецијата на пролактинот (преку предната хипофиза) е стимулирана од естрогенот, со што се објаснуваат повисоките нивоа на пролактин кај жените и многу високите нивоа кои се забележани во бременоста. Пролактинот може да има големо влијание врз имуните реакции, како што е покажано кај глувците со отстранување на предната хипофиза: ова доведува до тешка имуносупресија, која може целосно да биде промената преку лекување со егзоген пролактин. Присуството на пролактински рецептори на периферните Т и Б-клетки кај луѓето е друг доказ дека овој хормон може да игра улога при регулирањето на имуните реакции. Всушност, одредени докази покажуваат дека пролактинот тежнее да ги сврти клетките кон Тпо1-доминирачките имуни реакции.

Бременоста може да ни даде доказ за тоа како полот игра улога при регулирање на имуните реакции. Иако жените обично поттикнуваат нормален одговор кон туѓи противгени, при бременоста, многу е важно мајката да го толерира фетусот, кој, всушност претставува туѓ пресадок. Ова ни кажува дека веројатно имуниот систем на жените во бременоста претрпува значајни модификации. Сетете се дека жените обично тежнеат да поттикнат повеќе Тпо1 реакции од Тпо2 реакции. Сепак, при бременоста жените поттикнуваат повеќе Тпо2 реакции. Се верува дека поврзаните, со бременост, нивоа на полови стероиди можат да поттикнат противвоспалителна околина. Во врска со ова, видливо е дека болестите олеснети од Тпо2 реакциите, како што е СЛЕ, која има силна противтело-посредувана компонента, можат да бидат поттикнати при бременоста, додека болестите кои вклучуваат воспалителни реакции, како што се РА и МС, понекогаш се подобрени кај бремените жени.

Друго влијание на бременоста е присуството на фетални клетки во циркулацијата на мајката. Феталните клетки можат да опстојуваат во циркулацијата на мајката со децении, така што овие долготрајни фетални клетки можат да играат значајна улога во развојот на автоимуните болести. Освен тоа, размената на клетките при бременоста е двонасочна (клетки од мајката исто така можат да се појават во феталниот крвосаден систем), така што присуството на мајчините клетки во циркулацијата на мажот може да биде придонесувачки фактор за автоимуна болест.

Како резиме, жените и мажите значително се разликуваат по нивната способност да поттикнат имун одговор. Жените поттикнуваат поинтезивни имуни реакции, а овие реакции тежнеат да бидат повеќе Тпо1. Се покажало дека естерогенот е имуностимулаторен, ова можеби делумно е поради способноста на хормонот да го регулира специфичното генско прикажување преку естрогениот рецептор. Покрај тоа, инциденцата на автоимуните болести е повисока кај жените отколку кај мажите. Овие забелешки ја создадоа цврстата хипотеза дека тенденцијата на жените да поттикнуваат повеќе Тпо1 одговор може да ги објасни некои од разликите во осетливоста кон автоимунитетот. Бидејќи овој тип на одговор е про-воспалителен, може да ја олесни појавата на автоимунитет. Дали склоноста кон Тпо1 одговорот се јавува поради разликата во половите стероиди помеѓу мажите и жените не е толку сигурно, но во текот на следните неколку години, веројатно енергично ќе следат експериментите кои ја истражуваат оваа идеја.

Извор: Податоците разгледани во овој Клинички фокус се од едно писмо до Science (C.C. Whitacre, S. C. Reingold and P.A. O'Looney, 1999, Science 283:1277) од Task Force on Gender, MS и од Autoimmunity, група формирана од Националното друштво за мултипла склероза за да започне дијалог за теми поврзани со родот и со автоимуните заболувања.

тестирани се врзуваат со нормалното ткиво, што покажува дека молекулската мимикрија е многу чест феномен.

Молекулската мимикрија е предложена како еден механизам кој води до автоимунитет. Еден од најдобрите примери за овој тип на автоимуна реакција е постбеснилниот енцефалит, кој се развивал кај лицата кои примиле вакцина против беснило. Во минатото, вирусот на беснило бил одгледуван во зајачки мозочно-клеточни култури, а подготовките на вакцината вклучувале противгени добиени од зајачките мозочни клетки. Кај вакцинираното лице, овие зајачки мозочно-клеточни противгени можеле да поттикнат создавање на противтела и активирани Т-клетки, кои можеле вкрстено да реагираат со сопствените мозочни клетки на примателот, што води до енцефалит. Се верува дека вкрстено реактивните противтела се причина за срцевото оштетување кај ревматската треска, која некогаш може да се развие по инфекција со *Streptococcus*. Во овој случај, противтелата се кон стрептококните противгени, но тие вкрстено реагираат со срцевиот мускул.

ТАБЕЛА 16-3 Молекулска мимикрија меѓу протеините од инфективните организми и човечките домаќински протеини

Протеин[1]	Секвенца[2]
Хуман цитомегаловирус ИЕ2	79 P D P L G R P D E D
ХЛА-ДР молекул	60 V T E L G R P D A E
Полиовирус ВП2	70 S T T K E R G T T
Ацетилхолински рецептор	176 T V I K E R G T K
Папилома вирус Е2	76 S L H L E S L K D S
Инсулински рецептор	66 V Y G L E S L K D L
Гликопротеин од вирусот на беснило	147 T K E S L V I I S
Инсулински рецептор	764 N K E S L V I S E
Клебсиелла пнеумониае нитрогеназа	186 S R Q T D R E D E
ХЛА-Б27 молекул	70 K A Q T D R E D L
Аденовирус 12 Е1Б	384 L R R G M F R P S Q C N
Алфа-глијадин	206 L G Q G S F R P S Q Q N
Вирус на човечки имунонедостаток п24	160 G V E T T T P S
Човечко ИгГ константно подрачје	466 G V E T T T P S
Вирус на мали сипаници П3	13 L E C I R A L K
Кортикотропин	18 L E C I R A C K
Миелински базичен протеин	31 E I S D N L G Q E
Proteina bazë mielimike	61 E I S F K L G Q E

[1]Во секој пар, човечкиот протеин е наведен втор. Се покажало дека протеините од секој пар покажуваат имунолошка вкрстена реактивност.
[2]Аминокиселините се означени со една буква. Идентичните остатоци се прикажани во сина боја. Броевите ја покажуваат аминокиселинската позиција во интактниот протеин.
Извор: Прилагодено од M. B. A. Oldstone, 1987, cell 50:819

Постои доказ за мимикријата помеѓу МБП и вирусните пептиди

Откако се познати енцефалитните МБП пептиди, се проценува степенот до кој тие се мимикрирани од страна на протеините од други организми. На пример, еден МБП пептид (аминокиселински остатоци 61-69) е високо хомологен со пептид на П3 протеинот од вирусот на мали сипаници (види табела 16-3). Во една студија, секвенцата на друг енцефалоген МБП пептид (66-75) бил спореден со познати секвенци од голем број вирусни протеини. Оваа компјутерска анализа открила хомологни секвенци помеѓу овој МБП пептид и одреден број на пептиди од животински вируси, вклучувајќи ги инфлуенца, полиома, аденовирус, Русов сарком, Абелсонова леукемија, полиомиелит, Епштајн-Бар и хепатит Б вирусите.

Еден пептид од полимерниот ензим на хепатитис Б-вирусот е значително важен, покажувајќи 60% хомологија со секвенца на енцефалогениот МБП пептид. За тестирање на хипотезата дека молекулската мимикрија може да создаде автоимунитет, зајаците биле имунизирани со овој хепатит Б вирусен пептид. Се покажало дека пептидот поттикнува и создавање на противтела и пролиферација на Т-клетки кои се вкрстено реактивни со МБП. Покрај тоа, ткивото од централниот нервен систем на имунизираните зајаци покажало клеточна инфилтрација која е карактеристична за ЕАЕ.

Овие наоди покажуваат дека инфекцијата со одредени вируси кои прикажуваат епитопи кои мимикрираат изолирани сопствени компоненти, како што е миелинскиот базичен протеин, можат да поттикнат автоимунитет кон тие компоненти. Осетливоста на овој тип на автоимунитет може исто така да биде засегната од ГТК хаплотипот на лицето, бидејќи одредени класа 1 и класа 2 ГТК молекули се поефикасни од други во прикажување на хомологниот пептид за Т клеточна активација.

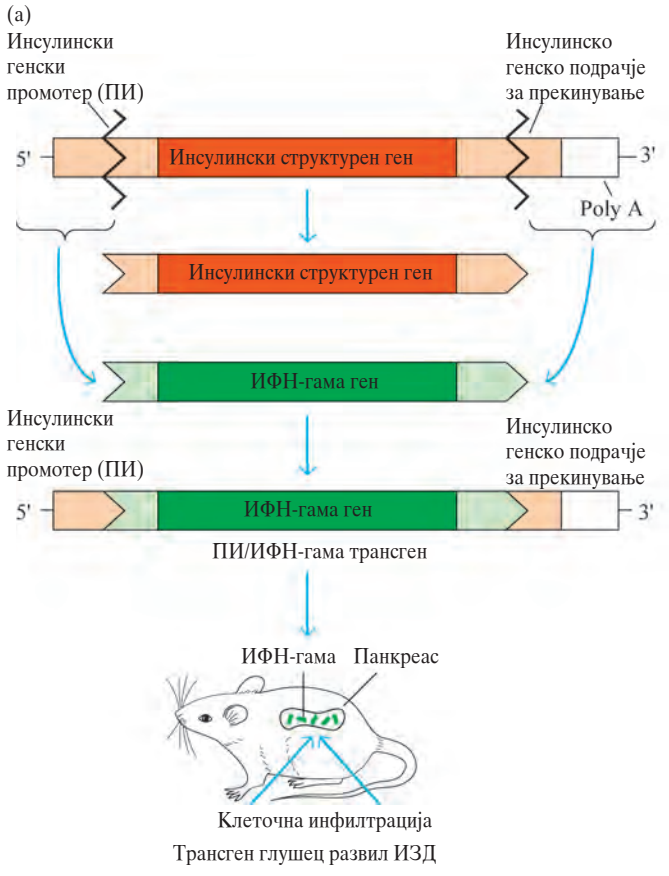
Друг особено цврст пример за молекулска мимикрија доаѓа од проучувањата на херпесен стромален кератинит (ХСК). Во овие студии, истражувачите покажале дека претходната инфекција на глувците со херпес симплекс вирусот тип 1 води до ХСК, автоимуна-слична болест каде Т-клетките специфични за одреден вирусен пептид го напаѓаат ткивото на рожницата, предизвикувајќи слепило. Овие податоци многу јасно покажале дека одреден епитоп од ХСВ-1 е одговорен за болеста и дека мутираните соеви на ХСВ-1 кои го немаат овој епитоп не предизвикуваат ХСК. Овие податоци обезбедуваат цврст доказ за молекулската мимикрија во развојот на одредена автоимуна болест.

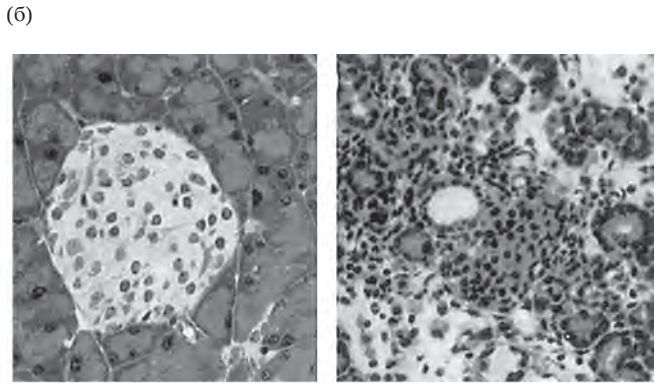
Неесодветното прикажување на класа 2 ГТК молекулите може да ги сензибилизира автореактивните Т-клетки

Панкреасните бета клетки на лицата со инсулин-зависен дијабет (ИЗД) прикажуваат високи нивоа на класа 1 и класа 2 ГТК молекули, додека здравите бета-клетки прикажуваат пониски нивоа на класа 1 и воопшто не прикажуваат класа 2. Слично на тоа, се покажало дека тироидните ацинарни клетки кај лицата со Гравесова болест прикажуваат класа 2 ГТК молекули врз нивните мембрани. Ова несоодветно прикажување на класа 2 ГТК молекулите, кои нормално се прикажуваат само врз противген-прикажувачките клетки, може да служи за сензибилизирање на Тпо клетки со пептиди кои потекнуваат од бета клетките или тироидните клетки, овозможувајќи активација на Б-клетките или Тцт клетки или сензибилизација на Тпо1 клетките против сопствени противгени.

Други докази укажуваат на фактот дека одредени агенси можат да поттикнат одредени клетки кои не прикажуваат класа 2 ГТК молекули да започнат со нивно прикажување. На пример, се покажало дека Т-клеточниот митоген фитхемаглутинин (ФХА) ги поттикнува тироидните клетки да прикажуваат класа 2 молекули. Ин витро студиите откриваат дека ИФН-гама исто така поттикнува пораст во класа 2 ГТК молекулите кај широк вид на клетки, вклучувајќи ги панкреасните бета-клетки, тенкоцревните епителни клетки, меланомските клетки и тироидните ацинарни клетки. Се тврдело дека повреда или вирусна инфекција на органот може да поттикне локализирана воспалителна реакција и на тој начин да ја зголеми концентрацијата на ИФН-гама во засегнатиот орган. Ако ИФН-гама поттикнува прикажување на класа 2 ГТК молекули на непротивген-прикажувачки клетки, може да следи несоодветна активација на Тпо клетки, со автоимуни последици. Треба да се спомене дека СЛЕ пациентите со активна болест имаат повисоки серумски титри на ИФН-гама од пациентите со неактивна болест. Овие податоци покажуваат дека порастот на ИФН-гама кај овие пациенти може да доведе до несоодветно прикажување на класа 2 ГТК молекулите и според тоа до Т-клеточна активација против голем број автопротивгени.

Интересен трансген глувчешки систем вклучува ИФН-гама и несоодветно прикажување на класа 2 ГТК молекули





СЛИКА 16-13 Инсулин-зависен дијабет (ИЗД) кај трансгени глувци. (а) Создавање на трансгени глувци кои содржат ИФН-гама трансген поврзан со инслулинскиот промотер (ПИ). Трансгените глувци, кои го прикажувале ПИ/ИФН-гама трансгенот само во панкреасот, добиле симптоми карактеристични за ИЗД. (б) Панкреасни Лангерхансови островчиња од здрав БАЛБ/ц глушец (*лево*) и од ПИ/ИФН-гама трансгени глувци на возраст од 3 недели (*десно*) кое покажува инфилтрација со воспалителни клетки.

во автоимунитетот. Во овој систем, ИФН-гама трансгенот бил направен со генски инженеринг со инсулински промотер, така што трансгениот глушец лачел ИФН-гама од неговите панкреасни бета клетки (слика 16-13а). Бидејќи ИФН-гама нагорно го регулира прикажувањето на класа 2 ГТК молекулите, овие трансгени глувци исто така прикажуваат класа 2 ГТК молекули врз нивните панкреасни бета клетки. Глувците добиле дијабет, кој бил поврзан со клеточна инфилтрација на лимфоцити и воспалителни клетки како што се гледа кај инфилтрација на НГД глувците и кај пациентите со инсулин-зависен дијабет (слика 16-13б).

Иако несоодветното прикажување на класа 2 ГТК молекулите во панкреасните бета клетки може да биде вклучено во автоимуниот одговор на овие трансгени глувци, други фактори можат исто така да играат улога. На пример, познато е дека ИФН-гама поттикнува создавање на неколку други цитокини, вклучувајќи ги ИЛ-1 и ТНФ. Според тоа, развојот на автоимунитетот кај овој трансген систем може да вклучува противгено прикажување од класа 2 ГТК молекулите во панкреасните бета клетки заедно со костимулаторен сигнал, како што е ИЛ-1, кој може да ги активира самореактивните Т-клетки. Одредени докази исто така покажуваат дека ИЛ-1, ИФН-гама и ТНФ можат директно да ја намалат секреторната функција на човечките бета-клетки.

Поликлонска Б-клеточна активација може да доведе до автоимуна болест

Бројни вируси и бактерии можат да поттикнат неспецифична поликлонска Б-клеточна активација. Грам-негативните бактерии, цитомегаловирусот и Епштајн-Баровиот вирус (ЕБВ) се познати како такви поликлонски активатори, поттикнувајќи ја пролиферацијата на бројни клонови на Б-клетки кои прикажуваат ИгМ во отсуство на Тпо клетки. Ако Б-клетките кои се реактивни кон сопствените противгени се активираат преку овој механизам, можат да се појават автопротивтела. На пример, при инфективна мононуклеоза, која е предизикана од ЕБВ, се создаваат голем број авто-противтела, вклучувајќи и авто-противтела реактивни кон Т и Б-клетките, ревматоидните фактори и противјадрените противтела. Слично на тоа, лимфоцитите од пациенти со СЛЕ создаваат големи количини на ИгМ во култура, покажувајќи дека тие биле поликлонски активирани. Голем број пациенти со СИДА исто така покажуваат високи нивоа на неспецифични противтела и автопротивтела кон ЦКК и крвните плочки. Овие пациенти често се козаразени со други вируси како што се ЕБВ и цитомегаловирусот, кои можат да поттикнат поликлонска Б-клеточна активација што резултира со создавање на автопротивтела.

Лекување на автоимуните болести

Идеално, лекувањето на автоимуните болести треба да биде насочено кон намалување само на автоимуниот одговор при тоа оставајќи го останатиот дел од имуниот систем недопрен. До денес, овој идеал сè уште не е достигнат.

Моменталните терапии за автоимуните болести не се куративни, туку делуваат само палијативно, и служат за намалување на симптомите за да му овозможат на пациентот прифатлив квалитет на живот. Имуносупресивните лекови (на пример, кортикостероиди, азатиоприн и циклофосфамид) често се даваат со намера да се успори пролиферацијата на лимфоцитите. Преку општото намалување на имуниот одговор, таквите лекови

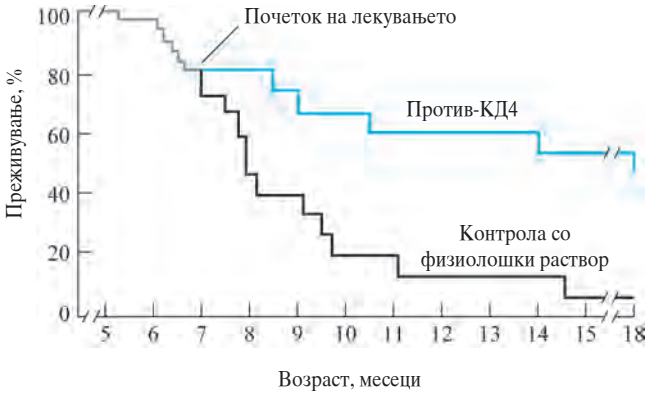
можат да ја намалат тежината на автоимуните симптоми. Сепак, општото намалување на имунолошката реактивност го става пациентот на зголемен ризик за инфекција или за добивање на рак. Делумно поселективниот метод користи **циклоспорин А** или ФК506 за лекување на автоимунитетот. Овие агенси го блокираат пренесувањето на сигналите посредувано од Т-клеточниот рецептор. Според тоа, тие ги инхибираат само противген-активираните Т-клетки додека неактивираните ги поштедуваат. Во поголем дел, овие третмани овозможуваат неспецифична супресија на имуниот систем и на тој начин не прават разлика помеѓу патолошки автоимун одговор и заштитен имун одговор.

Друг терапевтски пристап кој дал позитивни резултати во одредени случаи на мијастенија гравис е отстранувањето на тимусот. Бидејќи пациентите со ова заболување често имаат тимусни абнормалности (на пример, тимусна хиперплазија или тимоми), тимектомијата кај возрасните често ја зголемува веројатноста за ремисија на симптомите. Пациентите со Гравесова болест, мијастенија гравис, ревматоиден артрит или системски лупус еритематозус можат да имаат краткотрајна корист од плазмаферезата. При овој процес, плазмата е отстранета од пациентовата крв преку континуирано течно центрифугирање. Потоа крвните клетки се ресуспендираат во соодветен медиум и се враќаат во пациентот. Плазмаферезата е корисна за пациенти со автоимуни заболувања кои имаат противген-противтело комплекси, кои се отстранети со плазмата. Отстранувањето на комплексите, иако само привремено, може да доведе до краткотрајно намалување на симптомите.

Лекувањето на човечките автоимуни болести наметнува посебни предизвици

Студиите со експерименталните автоимуни животински модели обезбедиле доказ дека е можно да се запре развојот на автоимунитетот. Моноклонските противтела успешно се користеле за лекување на автоимуните болести кај неколку животински модели. На пример, голем процент на (НЗЦ х НЗБ) $Ф_1$ глувци кои примале неделни инекции на високи дози на моноклонски противтела специфични за КД4 мембранскиот молекул закрепнале од нивните автоимуни лупусни симптоми (слика 16-14). Слични позитивни резултати биле забележани кај НГД глувците, каде лекувањето со против-КД4 моноклонското противтело довело до исчезнување на лимфоцитната инфилтрација и дијабетните симптоми.

Бидејќи против-КД4 моноклонските противтела ги блокираат или намалуваат сите Тпо клетки, без разлика на нивната специфичност, тие можат да ја доведат во опасност целата имунолошка реактивност на примателот. Поради оваа и други причини, дел од лекувањата кои се примениле кај моделските системи биле успешни во лекувањето на човечката болест. Големо ограничување е идентификувањето на болеста во фаза која е осетлива за лекувањето. Животинските модели на поттикнат автоимунитет каде е претставен поттикнувачкиот противген или моделите каде генските дефекти првенствено водат до болест во дефинирана развојна фаза овозможуваат фаќање на раните настани од развојот на болеста. Инхибиторните мерки применети во почетните фази спречуваат понатамошен развој на болеста и даваат увид во процесите на болеста. Наспроти тоа, човечките автоимуни болести обично се откриваат со појавата на знаци за напреднато оштетување; болеста се развила над границата на ефикасност



СЛИКА 16-14 Неделни инекции на против-КД4 моноклонско противтело во (НЗЦ х НЗБ) $Ф_1$ глувци кои покажуваат автоимуни лупусни симптоми значително ја зголемија нивната стапка на преживување. [*Прилагодено од D. Wofsy,* 1988, Progress in Allergy ***45****: 106.*]

за инхибиторните мерки. На пример, дијабетот обично не е дијагностициран кај луѓето додека проблемите не станат забележливи, како што се високите нивоа на глукоза во крвта и доказите за инсулински недостаток. Раните појави во заболувањето се асимптоматични и поминуваат незабележани, така што можностите за интервенција се загубени.

Дополнителен проблем е тоа што животинските модели не се совршени предвидувачи на човечкиот одговор. Иако против-КД4 противтелата успешно ја пренасочиле МС и артритот кај животинските модели, човечките студии со ова лекување до денес не покажале ефикасност. Покрај претходно наведените проблеми, можна причина за ова откажување е тоа што против-КД4 може да интерферира со активноста на $КД4^+$/$КД25^+$регулаторните Т-клетки, при што се спречува нивната контрола на автоимуната активност.

Воспалението е цел при лекувањето на автоимунитетот

Хроничното воспаление е белег на исцрпениот автоимунитет, што провоспалителните процеси ги прави цел за интервенција. Сетете се дека воспалението има неколку фази, вклучувајќи ги ослободувањето на цитокините и регрутирањето на леукоцитите. Регрутирањето на клетките во областа на воспаление вклучува екстравазација (види Поглавје 3) која е овозможена со врзување на белите клетки за ѕидовите на крвните садови, посредувано од протеините на интегринската фамилија. Блокирач на алфа4бета1 инегринот покажа почетна надеж во лекувањето на МС, но појавата на нелекувачка инфекцијата кај одредени тестирни лица доведе до повлекување на лекот. По прифатлив ризик-корист е виден кај блокирачите на ТНФ-алфа. Лековите Енбрел, Ремицаде и Хумира се продукти кои целат на ТНФ-алфа и широко се користат за ревматоиден артрит, псоријаза, Кронова болест и анкилозирачки спондилит. Се проучуваат бројни други стратегии за намалување или спречување на воспалението. ИЛ-1 рецепторниот антагонист е одобрен за лекување на ревматоидниот артрит, како и противтелата насочени против ИЛ-6 рецепторот и ИЛ-15.

Класата на лекови наречени *статини*, кои милиони лица ги користат за намалување на нивоата на холестерол, неодмна се покажало дека ги намалуваат серумските нивоа на Ц-

реактивниот протеин, протеин на акутна фаза и индикатор за воспалението (види клинички фокус во Поглавје 3). Раните испитувањата на статините за лекување на ревматоидниот артрит и МС покажале охрабрувачки резултати. Употребата на лекови кои веќе се одобрени за употреба кај луѓето и за кои се достапни детални безбедносни информации претставува огромен напредок, ако се земе предвид фактот дека 95% од агенсите кои биле подложни на испитувања кај луѓето потфрлиле во одредена фаза од процесот на одобрување.

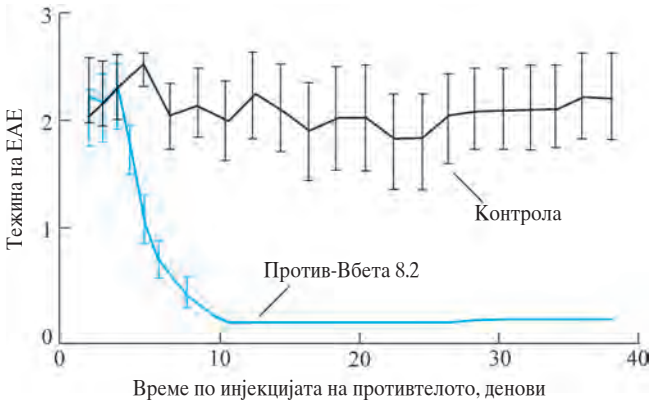
Друг агенс кој се земал предвид за лекување на автоимунитетот е моноклонското противтело Ритуксан, кое ги убива Б-клетките преку целење на површинскиот обележувач КД20. Ритуксанот во моментов е одборен за лекување на Б-клеточниот не-Хочкинов лимфом. Бидејќи противтелата играат главна улога во одредени автоимуни болести како што се МС, ревматоидниот артрит и СЛЕ, отстранувањето на Б-клетките може да биде корисно. Тестирана е ефикасноста на Ритуксанот кај овие болести и прелиминарните резултати покажуваат успех во контролата на ревматоидниот артрит.

Активираните Т-клетки се можна терапевтска цел

Голем недостаток на имуносупресивните терапии за автоимунитетот е тоа што тие го прават домаќинот осетлив кон инфекција преку општото намалување на имунитетот. Еден начин за отстранување на овој недостаток е да се блокираат само противген-активираните Тпо клетки, бидејќи овие клетки се значајни посредници во автоимунитетот. Истражувачите експериментирале со употребата на моноклонско противтело насочено против алфа поединицата на високо-афинитетниот ИЛ-2 рецептор, кој е прикажан само на противген-активираните Тпо клетки. Бидејќи ИЛ-2Р алфа поединицата (КД25) е прикажана во повисоко ниво на автоимуните Т-клетки, моноклонското противтело за алфа поединицата (против-КД25) првенствено може да ги блокира автореактивните Т-клетки. Овој метод бил тестиран на возрасни стаорци инектирани со активирани МБП-специфични Т-клетки во присуство или отсуство на против-КД25. Сите контролни глувци умреле од ЕАЕ, додека шест од деветте лекувани со против-КД25 немале симптоми, а симптомите кај другите три глувци биле благи. Можен недостаток од употребата на оваа терапија е потенцијалниот негативен ефект на Трег клетките кои прикажуваат високи нивоа на ИЛ-2Р алфа.

Поврзаноста на автоимуното заболување со специфичните делови од ТКР веригата кај бројни животински модели ги натерало истражувачите да проверат дали блокирањето на саканите рецептори со моноклонско противтело може да биде терапетски. Инјектирањето на ПЛ/Ј глувците со моноклонско противтело специфично за Вбета 8,2 Т-клеточниот рецептор спречило поттикнување на ЕАЕ со МБП во адјуванс. Уште поветувачки бил наодот дека Вбета 8,2 моноклонското противтело исто така можело да ги пренасочи симптомите на автоимунитет кај глувците кои манифестираат поттикнат ЕАЕ (слика 16-15) и дека овие глувци манифестирале долготрајна ремисија. Јасно е дека употребата на против-ТКР противтелата како третман за човечките автоимуни болести претставува привлечна можност.

Слично на тоа, поврзаноста на разни ГТК алели со автоимунитетот, како и доказот за зголемено или несоодветно прикажување на ГТК кај некои автоимуни болести, ја нудат можноста дека моноклонските противтела против соодветните



СЛИКА 16-15 Инјекција на моноклонско противтело за Вбета 8,2 Т-клеточниот рецептор во ПЛ/Ј глувците кои покажуваат ЕАЕ симптоми создале скоро целосна ремисија на симптомите. ЕАЕ е поттикната со инјектирање на глувците со МБП-специфични Т-клеточни клонови. Скала за тежина на ЕАЕ: 3 = целосна парализа на долните екстремитети, 2 = делумна парализа на долните екстремитети, 1 = краевите од екстремитетите, 0 = нормално (нема симптоми). *[Прилагодено од H. Acha-Orbea et al., 1989,* Annual Review of Immunology **7**:371.]

ГТК молекули можат да ја забават појавата на автоимунитетот. Покрај тоа, бидејќи противген-прикажувачките клетки прикажуваат многу различни класа 2 ГТК молекули, треба теоретски да биде можно селективно да се блокира ГТК молекулот кој е поврзан со автоимунитетот додека другите да се поштедат. Во една студија, инјектирањето на глувците со моноклонски противтела за класа 2 ГТК молекулите пред инјектирање на МБП ја блокирала појавата на ЕАЕ. Ако, наместо тоа, противтелото се дадело по инјекцијата со МБП, појавата на ЕАЕ ќе била одложена, но не и спречена. Кај нечовечките цицачи, се покажало дека моноклонските противтела за ХЛА-ДР и ХЛА-ДКу го пренасочуваат ЕАЕ.

Оралните противгени можат да поттикнат толеранција

Кога противгените се дадени орално, тие тежнеат да поттикнат состојба на имунолошка нереактивност или толеранција. На пример, како што споменавме претходно, глувците кои примиле орално МБП не развиваат ЕАЕ по последователната инјекција со МБП. Овој наод довел до двојно-слепо експериментално испитување каде 30 лица со мултипна склероза дневно примале плацебо или 300 мг бовин миелин секој ден во период од една година. Резултатите од ова студија откриле дека Т-клетките специфични за МБП биле намалени кај групата која примила миелин. МС симптомите биле намалени кај мажите-приматели (иако намалувањето не било статистички значајно), но не и кај жените. Резултатите од поттикнувањето на оралната толеранција се поветувачки кај глувците отколку кај луѓето. Сепак, човечките клинички испитувања се во рана фаза, а пептидите кои до сега се користеле и дозите може да не се најефикасни. Бидејќи животинските модели покажуваат ветување во овој приод, во текот на следните неколку години ќе бидат спроведени повеќе клинички испитувања.

Собирок

- Главна задача на имуниот систем е да разликува сопствено од несопствено. Неуспехот доведува до имуни напади против клетките и органите на домаќинот со можен почеток на автоимуна болест.
- Механизмите за спречување на самореактивноста, наречени толеранција, работат на неколку нивоа. Централната толеранција служи за отстранување на самореактивните Т или Б-лимфоцити, а периферната толеранција ги инактивира самореактивните лимфоцити кои го преживуваат првиот скрининг процес.
- Човечките автоимуни болести можат да се поделат на орган-специфични и системски болести. Орган-специфичните болести вклучуваат автоимун одговор насочен првенствено против еден орган или жлезда. Системските болести се насочени кон широк појас на ткива.
- Постојат и спонтани и експериментални животински модели на автоимуните болести. Спонтаните автоимуни болести произлегуваат од генските дефекти, додека експерименталните животински модели се развиваат со имунизирање на животните со сопствени противгени во присуство на адјуванс.
- Студиите со експерименталните автоимуни животински модели ја откриле главната улога на КД4$^+$ Тпо клетки во развојот на автоимунитетот. Биле изолирани Т-клеточните клонови кои можат да поттикнат автоимуна болест кај здравите животни. ГТК хаплотипот на експерименталните животни ја одредува способноста за прикажување на различни автопротивгени на Тпо клетки.
- Релативниот број на Тпо1 и Тпо2 клетки веројатно игра главна улога во одредувањето дали ќе се развие автоимунитетот: Тпо1 клетки го поттикнуваат развојот на автоимунитет, додека Тпо2 клетките го блокираат развојот и прогресијата на автоимуната болест.
- Биле предложени голем број механизми за поттикнување на автоимунитетот, вклучувајќи ослободување на изолираните противгени, молекулска мимикрија и несоодветно прикажување на класа 2 ГТК врз клетките. Постојат докази за секој од овие механизми, прикажувајќи ги многуте различни патеки кои водат до автоимуни реакции.
- Моменталните терапии за автоимуните болести вклучуваат лекување со имуносупресивни лекови, тимектомија и плазмафереза за болестите со имуни комплекси. Блокирачите на ТНФ-алфа покажуваат успех во контролирањето на ревматоидниот артрит, Кроновата болест и псоријазата.

Референции

Anderson, M. S., et al. 2005. The cellular mechanism of Aire control of T cell tolerance. *Immunity* **23**:227.

Benoist, C., and D. Matis. 2001. Autoimmunity provoked by infection: how good is the case for T cell epitope mimicry? *Nature Immunology* **2**:797.

Feldman, M., and L. Steinman. 2005. Design of effective immunotherapy for human autoimmunity. *Nature* **435**:612.

Goodnow, C. C., et al. 2005. Cellular and genetic mechanisms of self tolerance and autoimmunity. *Nature* **435**:590.

Hafler, D. A., et al. 2005. Multiple sclerosis. *Immunological Reviews* **204**:208.

Hausmann, S., and K. W. Wucherpfennig. 1997. Activation of autoreactive T cells by peptides from human pathogens. *Current Opinion in Immunology* **9**:831.

Hogquist, K. A., T. A. Baldwin, and S. C. Jameson. 2005. Central tolerance: learning self-control in the thymus. *Nature Reviews Immunology* **5**:772.

Horwitz, M. S., et al. 1998. Diabetes induced by Coxsackie virus: initiation by bystander damage and not molecular mimicry. *Nature Medicine* **4**:781.

Jacobi, A. M., and B. Diamond. 2005. Balancing diversity and tolerance: lessons from patients with systemic lupus erythematosus. *Journal of Experimental Medicine* **202**:341.

Levin, M. C., et al. 2002. Autoimmunity due to molecular mimicry as a cause of neurological disease. *Nature Medicine* **8**:509.

Liblau, R. S., S. M. Singer, and H. O. McDevitt. 1995. TH1 and TH2 CD41 T cells in the pathogenesis of organ-specific autoimmune diseases. *Immunology Today* **16**:34.

Lockshin, M. D. 1998. Why women? *Journal of the American Medical Women's Association* **53**:4.

Mathis, D. 2005. *Lymphocyte Tolerance: Central Is Central*. Harvey Lectures, Series 99. Wiley-Liss, Hoboken, NJ, p. 95.

O'Garra, A., L. Steinman, and K. Gijbels. 1997. CD41 T-cell subsets in autoimmunity. *Current Opinion in Immunology* **9**:872.

Paust, S., and H. Cantor. 2005. Regulatory T cells and autoimmune disease. *Immunological Reviews* **204**:195.

Rioux, J. D., and A. K. Abbas. 2005. Paths to understanding the genetic basis of autoimmune disease. *Nature* **435**:584.

Sakaguchi, S. 2004. Naturally arising CD41 regulatory T cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses. *Annual Review of Immunology* **22**:531.

Silverstein, A. M., and N. R. Rose. 1997. On the mystique of the immunological self. *Immunological Reviews* **159**:197.

Streilein, J. W., M. R. Dana, and B. R. Ksander. 1997. Immunity causing blindness: five different paths to herpes stromal keratitis. *Immunology Today* **18**:443.

Vyse, T. J., and B. L. Kotzin. 1998. Genetic susceptibility to systemic lupus erythematosus. *Annual Review of Immunology* **16:**261.

Weiner, H. L., et al. 1993. Double-blind pilot trial of oral tolerization with myelin antigens in multiple sclerosis. *Science* **25**9:1321.

Wucherpfennig, K. W. 2001. Mechanisms for the induction of autoimmunity by infectious agents. *Journal of Clinical Investigation* **108**:1097.

Zhao, Z-S, et al. 1998. Molecular mimicry by herpes simplex

virus type-1: autoimmune disease after viral infection. *Science* **279**:1344.

Корисни веб-страници

http://www.lupus.org/index.html

Веб-страницата на Lupus Foundation of America содржи вредни информации за пациентите и фамилијарните членови како и тековни информации за истражувањата во оваа област.

http://www.nih.gov/niams/

Веб-страница на "Националниот институт за артрит и мускулоскелетни и кожни болести". Оваа страница содржи линкови до други страни за артрит.

http://www.niddk.nih.gov/

Страница на "Националниот институт за дијабет и дигестивни и бубрежни болести". Страницата содржи широка листа на линкови за други страни поврзани со дијабетот и здравјето.

Прашања за учење

ПРАШАЊЕ ОД КЛИНИЧКИОТ ФОКУС. Кои се дел од можните причини поради кои жените се поосетливи на автоимуни болести од мажите?

1. Објаснете зошто сите самореактивни лимфоцити не се отстранети во тимусот или коскената срцевина. Како преживеаните самореактивни клетки се спречени да не му наштетат на домаќинот?
2. Зошто толеранцијата е значајна за нормално функционирање на имуниот систем?
3. Кое е значењето на уредувањето на рецепторот за Б-клеточната толеранција?
4. За секое од следниве автоимуни болести (а-л), изберете ја најсоодветната особина која е наведена долу (1-12).

Болест

а. _____ Експериментален автоимун енцефалтит (ЕАЕ)
б. _____ Гудпастеров синдром
в. _____ Гравесова болест
г. _____ Системски лупус еритематозус (СЛЕ)
д. _____ Инсулин-зависен дијабет (ИЗД)
ѓ. _____ Ревматоиден артрит
е. _____ Хашимотов тироидит
ж. _____ Експериментална автоимуна мијастенија гравис (ЕАМГ)
з. _____ Мијастенија гравис
ѕ. _____ Пернициозна анемија
и. _____ Мултипла склероза
ј. _____ Автоимуна хемолитичка анемија

Особина

1) Автопротивтелата за внатрешниот фактор ја блокираат апсорбцијата на витаминот B_{12}
2) Автопротивтела за ацетилхолинскиот рецептор
3) Тпо1 клеточна реакција на тироидните противгени
4) Автопротивтела кон ЦКК противгени
5) Т-клеточен одговор на миелин
6) Поттикнато со инјекција на миелински базичен протеин плус целосен Фројндов адјуванс
7) Автопротивтела за ИгГ
8) Автопротивтела за базалната мембрана
9) Автопротивтела за ДНК и ДНК-поврзаниот протеин
10) Автопротивтела за рецепторот на тироидниот-стимулирачки хормон
11) Поттикнато со инјекција на ацетилхолински рецептори
12) Тпо1 клеточен одговор на панкреасните бета-клетки.

5. Експерименталниот автоимун енцефалитис (ЕАЕ) се покажал како корисен животински модел за автоимуните нарушувања.

а. Објаснете како е создаден овој животински модел.
б. Што е необично за животните кои закрепнуваат од ЕАЕ?
ц. Како овој животински модел ја покажал улогата на Т-клетките во развојот на автоимунитетот?

6. Молекулската мимикрија е еден од предложените механизми кои се вклучени во развојот на автоимунитетот. Како поттикнувањето на ЕАЕ со миелинскиот базичен протеин придонело за разбирањето на молекулската мимикрија кај автоимуните болести?

7. Објаснете најмалку три различни механизми преку кои локализираната вирусна инфекција може да придонесе за развој на орган-специфична автоимуна болест.

8. Трансгените глувци кои прикажуваат ИФН-гама трансген поврзан со инсулинскиот промотер развиле дијабет.

а. Зошто се користи инсулинскиот промотер?
б. Што е доказот дека дијабетот кај овие глувци се јавува поради автоимуно оштетување?
в. Што е необично за ГТК прикажувањето кај овој систем?
г. Како може овој систем да мимикрира процеси кои можат да бидат предизвикани од локализирана вирусна инфекција во панкреасот?

9. За терапија кај разни автоимуни животински модели се внесувани моноклонски противтела. Кои моноклонски противтела биле користени и кој е принципот на овие методи?

10. Наведете кој од следниве искази е точен или неточен. Ако мислите дека одреден исказ не е точен, објаснете зошто.

а. Тпо1 клетките се поврзани со развојот на автоимунитет.
б. Имунизацијата на глувците со ИЛ-12 го спречува поттикнувањето на ЕАЕ преку инјекција на миелински базичен протеин плус адјуванс.
в. Присуството на *ХЛА Б27* алелот е дијагностичко за анкилозниот спондилт, автоимуна болест која го зафаќа 'рбетот.
г. Лицата со пернициозна анемија создаваат противтела за внатрешниот фактор.

д. Дефект во генското кодирање на Фас може да ја намали програмираната клеточна смрт со апоптоза.

11. За секое од следниве автоимуни нарушувања (а-д), наведете кој од следниве третмани (1-5) може да биде соодветен:

Болести

а. Хашимотов тироидит
б. Системски лупус еритематозус (СЛЕ)
в. Гравесова болест
г. Мијастенија гравис

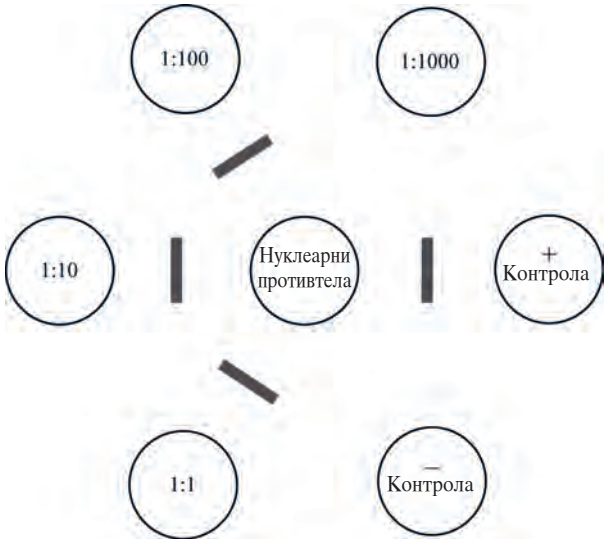
Третман

1) Циклоспорин А
2) Тимектомија
3) Плазмафереза
4) Пресадување на бубрег
5) Тироидни хормони

12. Како што објаснивме во Поглавје 7, недостатоците на комплементните фактори K1ку, K1р, K1с, K4 или K2 можат да придонесат за развој на системскиот лупус еритематозус. Сепак, пациентите со СЛЕ покажуваат прекумерна комплементна активација. Објаснете како овие два наоди можат да бидат вистинити.
13. Што од следново претставува пример за механизам за развој на автоимунитет? За секоја можност, дадете пример.

а. Поликлонска Б-клеточна активација
б. Ткивно оштетување
в. Вирусна инфекција
г. Зголемено прикажување на ТКР молекулите
д. Зголемено прикажување на класа 2 ГТК молекулите

14. Сликата долу претставува анализа на двојна имунодифузија (методот на Ouchterlony) по инкубација од неколку дена, каде пациентот се тестира за автоимуна болест. Централното бунарче било наполнето со раствор кој содржел мешавина од јадрени противгени (нуклеозоми и сплајсозоми). Серумот од пациентот бил разреден во неколку различни соодноси за разредување и поставен во надворешните бунарчиња (односите на разредување се означени во бунарчињата). Во едно бунарче е поставена позитивна контрола (глувчешки противчовечки хистони), а во друго бунарче негативна контрола (серум од здрав човек).



а. Врз база на оваа анализа, кој од следниве искази, што се однесуваат на пациентот, е точен?
1. Пациентот е здрав бидејќи нормално е да се лачат противтела против јадрените протеини во серумот.
2. Пациентот е најверојатно од машки пол и страда од Гудпастеров синдром.
3. Пациентот страда од тешки алергии.
4. Пациентот можеби страда од СЛЕ и има големи шанси дека пациентот е од женски пол.
б. Кој бил титарот на овој пациент?
в. Кој од следниве експерименти ќе го извршите за да ги потврдите наодите прикажани на горната слика?
1. Директна ЕЛИСА со плочки обложени со јадрени противгени.
2. Имунофлуоресцентна анализа со секција на ткива или пропустливи човечки клетки.
3. Вестерн блот со употреба на јадрени протеини пуштени на гел, серумот се користи како првично Пт.

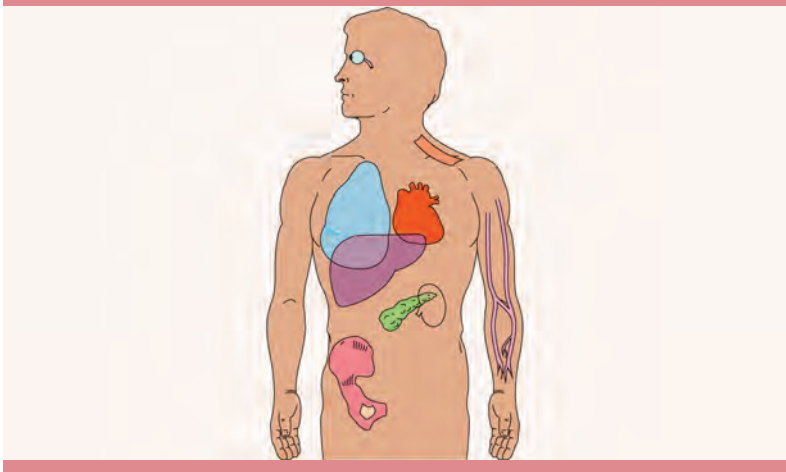
Интерактивно учење

www.wfreeman.com/kuby

Самостоен тест
Преглед на клучни изрази

Поглавје 17

Пресадување во имунологијата



Пресадувања кои рутински се извршуваат во клиничката практика.

- Имунолошки основи на пресадочното отфрлање
- Клинички манифестации при пресадочното отфрлање
- Општа имуносупресивна терапија
- Специфична имуносупресивна терапија
- Имунолошка толеранција на алопресадоците
- Клиничко пресадување

Пресадување (трансплантација), како израз кој се користи во имунологијата, се однесува на процесот на пренесување на клетки, ткива или органи од една област во друга. Голем број болести можат да се излечат со всадување здрав орган, ткиво или клетки (пресадок-калем) од една индивидуа (дарител) во друга каде е потребен пресадокот (примател или домаќин). Развојот на хируршките техники кои овозможуваат лесно повторно всадување на органите ја отстранија бариерата за успешно пресадување, но другите бариери останаа. Една од нив е недостатокот на органи за пресадување. Иако доставувањето на органи е овозможено од жртви на несреќни случаи и, во одредени случаи, живи дарители, сè повеќе пациенти имаат потреба од пресадување, многу повеќе отколку што има достапни органи. Сериозноста на недостатокот дарителски органи е прикажана со фактот дека од април 2006 година 91700 пациенти во САД се на листата за чекање за пресадување на орган. Повеќето пациенти на листата (~70%) бараат бубрег. Во моментов, периодот на чекање за овој орган се движи во просек над 800 дена. Иако недостатокот на органи за пресадување е сериозен проблем, најопасната бариера за пресадувањето да стане рутински медицински третман е имуниот систем. Имуниот систем развил совршени и ефикасни механизми за да го заштити организмот од нападите на туѓите агенси, и овие исти механизми предизвикуваат отфрлање на пресадоците од секој кој не е генетски идентичен со примателот.

Лексис Карел го извршил првото системско проучување за пресадувањето во 1908 година. Тој ги заменил и двата бубрега во серија на девет мачки. Дел од оние кои примиле бубрези од други мачки одржале уринарна функција во период од 25 дена. Иако на крајот сите мачки умреле, експериментот утврдил дека пресадениот орган може успешно да ја извршува функцијата кај примателот. Првиот обид за пресадување човечки бубрег, извршен од страна на руски хирург во 1935 година, не успеал бидејќи имало неспарување на крвните групи помеѓу дарителот и примателот. Оваа несовпадливост предизвикала скоро нагло отфрлање на бубрегот и пациентот умрел без да воспостави бубрежна функција. Наглиот имун одговор доживеан овде, наречен хиперакутно отфрлање, е посредувано од противтелата и ќе биде објаснето во ова поглавје. Во 1954 година, тим предводен од Џозеф Муреј од болницата Петер Бент Брингам во Бостон го извршил првото успешно пресадување на човечки бубрег помеѓу идентични близнаци. Денес пресадувањата на бубрезите, панкреасот, срцето, белите дробови, црниот дроб, коскната срцевина и рожницата се извршуваат меѓу неидентични лица со зголемена зачестеност и со сè повисоки стапки на успех барем за краткотрајното преживување.

Голем број имуносупресивни агенси можат да го забават или спречат отфрлањето на пресадениот орган, вклучувајќи лекови и специфични противтела кои се создадени за намалување на имуниот напад врз пресадоците, но повеќето од овие агенси имаат вкупен имуносупресивен ефект, а нивната долготрајна употреба има штетни несакани ефекти кај примателот. Развиени се нови методи за поттикнување специфична толеранција на пресадокот без супресирање на другите имуни реакции кои ветуваат подолго преживување на пресадоците без да го загрозат имунитетот на домаќинот. Ова поглавје ги објаснува механизмите истакнувајќи ги пресадочното отфрлање, разните постапки кои во моментов се користат за продолжување на пресадочното преживување, некои понови експериментални техники кои можат да најдат примена во иднина и преглед

на моменталната состојба на пресадувањето како клиничка алатка. Клиничкиот фокус ја испитува употребата на органите од нечовечки видови (ксенопресадоци) за заобиколување на недостатокот на достапни органи кај пациентите кои имаат потреба од нив.

Имунолошката основа на пресадочното отфрлање

Степенот на имунолошкиот одговор на пресадокот варира со видот на пресадокот. Следниве изрази се користат за означување различните типови пресадоци:

- **Автопресадок** е сопствено ткиво пренесено од една област на телото во друга кај истото лице. Пренесувањето на здрава кожа во изгорената област кај изгорените пациенти и употребата на здрави крвни садови за замена на блокираните коронарни артерии се примери за често користените автопресадоци.

- **Изопресадок** е ткиво пренесено помеѓу генетски идентични лица. Кај вкрстените соеви на глувци, изопресадокот може да се изврши од еден глушец кај друг сингеничен глушец. Кај луѓето, изопресадокот може да се изврши кај генетски идентични (монозиготни) близнаци.

- **Алопресадокот** е ткиво пренесено помеѓу генски различни членови од истиот вид. Кај глувците, алопресадок се добива со пренесување ткиво или орган од еден сој на друг. Кај луѓето, органските пресадоци од едно лице кај друго се алопресадоци, освен ако дарителот и примателот се идентични близнаци.

- **Ксенопресадок** е ткиво пренесено помеѓу различни видови (на пример, пресадување на срце од бабун кај човек). Бидејќи постои значителен недостаток на дарувани органи, сериозно се размислува за одгледување на животните со специфична цел да служат како органски дарители за луѓето.

Автопресадоците и изопресадоците обично се прифатени, што се должи на генетската идентичност помеѓу дарителот и примателот (слика 17-1а). Бидејќи алопресадокот генски не е сличен со домаќинот, често се препознава како туѓ од страна на имуниот систем и е отфрлен. Очигледно, ксенопресадоците покажуваат најголема генска несовпадливост и затоа создаваат разни пресадочни отфрлања.

Пресадочното отфрлање покажува специфичност и паметење

Стапката на пресадочното отфрлање варира според ткивото кое е вклучено. Во основа, кожните пресадоци се отфрлаат побрзо од другите ткива, како што се бубрезите и срцето. Покрај овие временски разлики, имуниот одговор, кулминирајќи со пресадочно отфрлање, секогаш покажува својства на специфичност и паметење. Ако на вкрстен глушец од сојот А му се пресади кожа од сојот Б, настанува првично пресадочно отфрлање, познато како отфрлање на прв пресадок (слика 17-1б). Кожата прво станува реваскуларизираната во период од 3 до 7 дена, како што се развива одговорот, васкуларизираниот пресадок станува инфилтриран со лимфоцитите, моноцитите, неутрофилите и другите воспалителни клетки. Од 7 до 10 дена доаѓа до намалување на васкуларизацијата на пресаденото ткиво, забележлива некроза до 10 дена и целосно отфрлање од 12 до 14 дена.

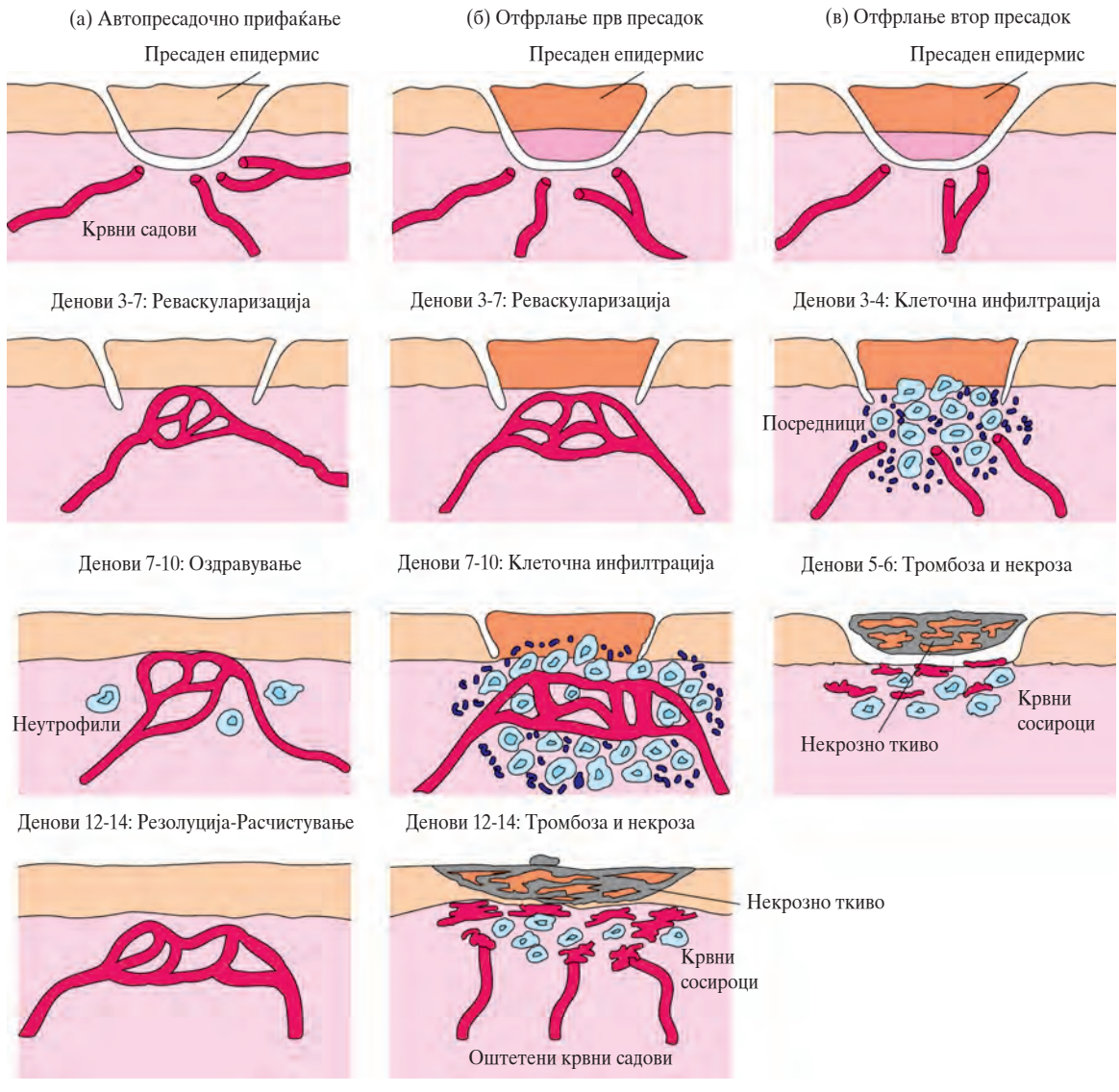
Имунолошкото паметење се јавува кога пресадок од вториот сој Б се пренесува во претходно пресадуваниот глушец од сој А. Во овој случај, пресадочното отфрлање се јавува многу побрзо, а комплетното отфрлање настанува во период од 5 до 6 дена и овој вторичен одговор е наречен отфрлање на втор пресадок (слика 17-1в). Специфичноста на отфрлањето на втор пресадок може да се покаже со пресадување на пресадокот од несроден сој Ц во исто време со вториот пресадок од сојот Б. Отфрлањето на пресадокот од сојот Ц се случува по кинетиката на отфрлање на прв пресадок, додека пресадокот од сојот Б се отфрла на забрзан начин како втор пресадок.

Т-клетките играат клучна улога во алопресадочното отфрлање

Во раните 50. години од дваесеттиот век, Аврион Митчисон при експерименти со стекнат (адоптивен) трансфер (каде лимфоцитите на домаќинот се убиваат со рендгенски зраци и се внесуваат имуни клетки од дарителот) покажале дека лимфоцитите, но не и серумските противтела, можат да го пренесат имунитетот од алопресадокот. Подоцнежните проучувања ги посочиле Т-клетките во алопресадочното отфрлање. На пример, голите глувци, кои немаат тимус и според тоа имаат недостаток на функционални Т-клетки, се открило дека се неспособни за алопресадочно отфрлање. Всушност, овие глувци дури ги прифаќаат и ксенопресадоците. При други проучувања, се покажало дека Т-клетките добиени од алопресадочно изложениот глушец го пренесуваат отфрлањето на втор алопресадок на неизложениот сингеничен прима тел доколку кај примателот било пресадено исто алогенично ткиво (слика 17-2).

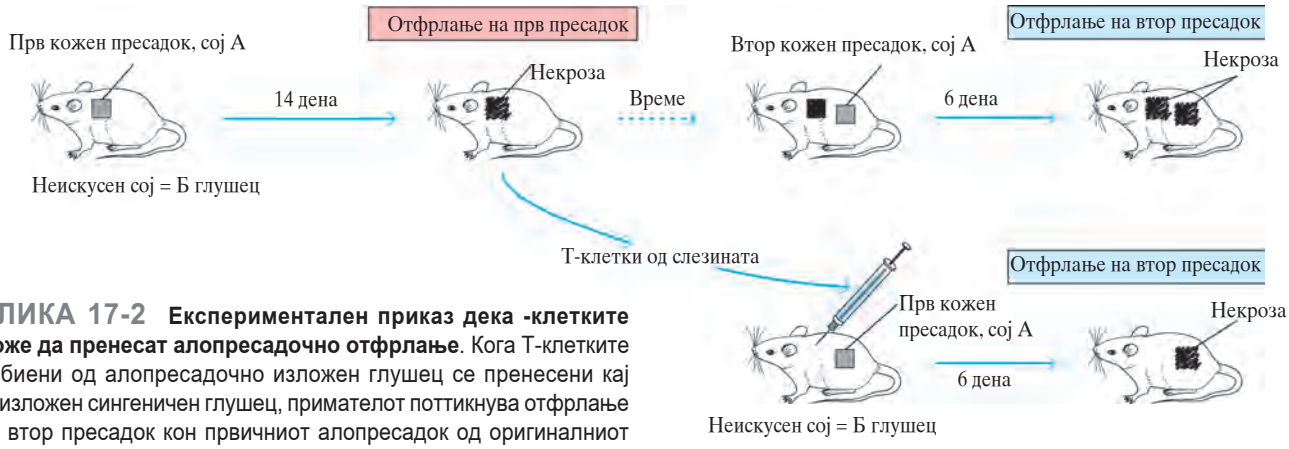
Анализата на Т-клеточните суппопулации кои се вклучени во алопресадочното отфрлање ги вклучува и двете КД4$^+$ и КД8$^+$ популации. При едно проучување, глувци примиле моноклонско противтело за да ги отстранат едниот или двата вида Т-клетки и потоа се мерени стапките на пресадочното отфрлање. Како што е прикажано на слика 17-3, отстранувањето само на КД8$^+$ популацијата немало влијание врз пресадочното преживување, а пресадокот бил отфрлен со истата стапка како и кај контролните глувци (15 дена). Отстранувањето само на КД4$^+$ Т-клеточната популација го продолжило пресадочното преживување од 15 до 30 дена. Сепак, отстранувањето на двете КД4$^+$ и КД8$^+$ Т-клетки резултирало со долготрајно преживување на алопресадоците (до 60 дена). Ова проучување покажало дека двата типа КД4$^+$ и КД8$^+$ Т-клетки учествуваат во отфрлањето и дека соработката на двете суппопулации довела до нагласено пресадочно отфрлање. Овие податоци се поддржани од неодамнешното проучување на генското прикажување на КД4 и КД8 на Т-клетките кои навлегуваат во човечките бубрежни алопресадоци. Проучувањето на РНК прикажувањето покажува дека КД4 и КД8 биле прекумерно прикажани во Т-клетките кои се присутни во акутното и хроничното отфрлање. Зголемените нивоа на ИФН-гама, но не и на ИЛ-4 во инфилтрирачките Т-клетки ги става во потгрупата Тпо1.

ДЕТАЛНА СЛИКА 17-1:
Шематски приказ на процесите на пресадочно прифаќање и отфрлање



(а) Прифаќањето на автопресадокот завршува во рок од 12 до 14 дена. (б) Отфрлање на прв пресадок на алопресадокот започнува од 7 до 10 дена по пресадувањето, при што целосно отфрлање настанува од 10 до 14 дена. (в) отфрлање на втор пресадок на алопресадокот започнува во рок од 3 до 4 дена, при што целосно отфрлање настанува од 5 до 6 дена. Клеточната инфилтрација која го напаѓа алопресадокот (б, в) содржи лимфоцити, фагоцити и други воспалителни клетки.

Улогата на стеблестите клетки во отфрлањето или толеранцијата на алопресадокот е тема од зголемен интерес поради нивниот имуностимулаторен капацитет и нивната улога во поттикнувањето на толеранција. Како што објаснивме во поглавје 8, стеблестите клетки можат да претстават надворешни противгени во контекст со класа 2 ГТК-молекулите низ процес на вкрстено прикажување, давајќи им можност на КД8+Т-клетките алопротивгените да ги препознаат како дел од процесот на отфрлање. Проучувањата со глувците покажале дека инхибицијата на стеблестите клетки може да помогне за пресадочното прифаќање, веројатно преку вклучување во противгенското прикажување. Од друга страна, претходен третман со дарителски стеблести клетки може да поттикне толеранција и се покажало дека го продолжува прифаќањето

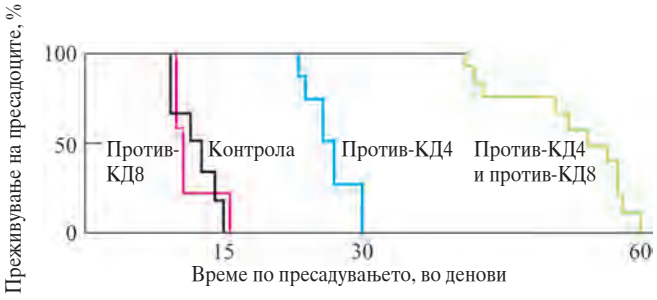


СЛИКА 17-2 Експериментален приказ дека -клетките може да пренесат алопресадочно отфрлање. Кога Т-клетките добиени од алопресадочно изложен глушец се пренесени кај неизложен сингеничен глушец, примателот поттикнува отфрлање на втор пресадок кон првичниот алопресадок од оригиналниот алогеничен сој.

на срцевите и панкреасните пресадоци при експериментите со глувци.

Слични противгени профили поттикнуваат алопресадочно прифаќање

За ткивата кои се противгени слични се вели дека се **ткивносовпадливи**, таквите ткива не поттикнуваат имун одговор кој води до ткивно отфрлање. Ткивата кои покажуваат значителни противгени разлики се *ткивнонесовпадливи* и поттикнуваат имун одговор кој води до ткивно отфрлање. Разновидните противгени кои ја одредуваат ткивносовпадливоста се кодирани со повеќе од 40 различни локуси, но локусите кои се одговорни за повеќето моќни реакции при алопресадочното отфрлање се лоцирани во **главниот ткивносовпадлив комплекс (ГТК)**. Организацијата на ГТК, која кај глувците се нарекува Х-2 комплекс и ХЛА комплекс кај луѓето, беше објаснет во поглавје 8 (види слика 8-1). Бидејќи ГТК локусите се тесно поврзани, тие обично се наследуваат како цела група, наречени **хаплотип**, од секој родител.



СЛИКА 17-3 Улогата на КД4⁺ и КД8⁺ Т-клетките при алопресадочното отфрлање е прикажано со кривите кои покажуваат време на преживување на кожните пресадоци помеѓу глувците кои се неспарени за ГТК. Животните во кои КД8+ Т-клетките се отстранети при третман со против-КД8 моноклонско противтело (црвена боја) покажале мала разлика од нетретираните контролни глувци (црна боја). Третманот со против-КД4 моноклонското противтело (сина боја) значително го подобрил пресадочното преживување, а третманот со двете против-КД4 и против-КД8 противтелата го продолжил пресадочното преживување многу драматично. *[Прилагодено од S. P. Cobbold et al., 1986, Nature **323**:165.]*

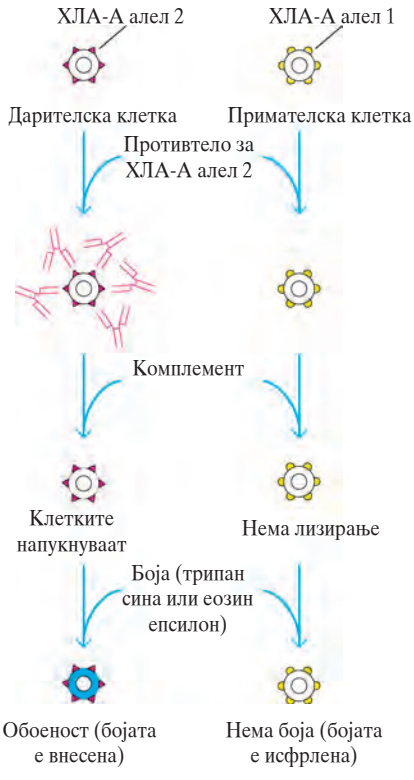
Кај вкрстените соеви на глувци, сите животни се хомозиготни за секој ГТК локус. На пример, кога глувци од два различни вкрстени соеви, со хаплотипови *б* и *к* се спарени, $Ф_1$ потомството наследува еден хаплотип од мајката и еден од таткото (види слика 8-2). Овие $Ф_1$ потомци го имаат ГТК типот *б/к* и можат да прифатат пресадоци од секој родител. Сепак, никој од родителите не може да прифати пресадоци од $Ф_1$ потомок бидејќи и двајцата родители имаат недостаток на еден од хаплотиповите од $Ф_1$. Наследувањето на ГТК кај невкрстените популации е посложено поради високиот степен на полиморфизам кој е присутен кај секој ГТК локус и овозможува голема веројатност за хетерозиготност при повеќето локуси. При спарувањето на членови од невкрстени видови, постои само 25% шанса дека кои било два потомци ќе наследат идентични ГТК хаплотипови доколку родителите не делат еден или повеќе хаплотипови. Според тоа, за цел на пресадување на орган или косена срцевина, може да се претпостави дека постојат 25% шанса за ГТК идентичност помеѓу браќата или сестрите. Кај пресадувањата родител-на-дете, дарителот и примателот секогаш ќе имаат еден заеднички хаплотип, но скоро секогаш се неспарени за хаплотипот кој е наследен од другиот родител.

Пресадочните дарители и примателите се типизираат за ЦКК и ГТК противгените

Бидејќи разликите кај противгените од крвната група и главниот ткивно совпадлив комплекс се одговорни за најинтензивните реакции на пресадочното отфрлање, разни ткивнотипизирачки постапки за идентификување на тие противгени се развиени за испитување на потенцијалните дарителски и примателски клетки. Најпрво, дарителот и примателот се испитуваат за АБО крвногрупната совпадливост. Крвногрупните противгени се прикажани на ЦКК, епителните клетки и ендотелните клетки. Противтелата кои се создадени кај примателот против кои било од овие противгени присутни во пресаденото ткиво ќе поттикнат противтелно-посредувано комплементно лизирање на несовпадливите дарителски клетки.

ХЛА типизирањето на потенцијалните дарители и примателот може да се постигне со микролимфоцитотоксичен

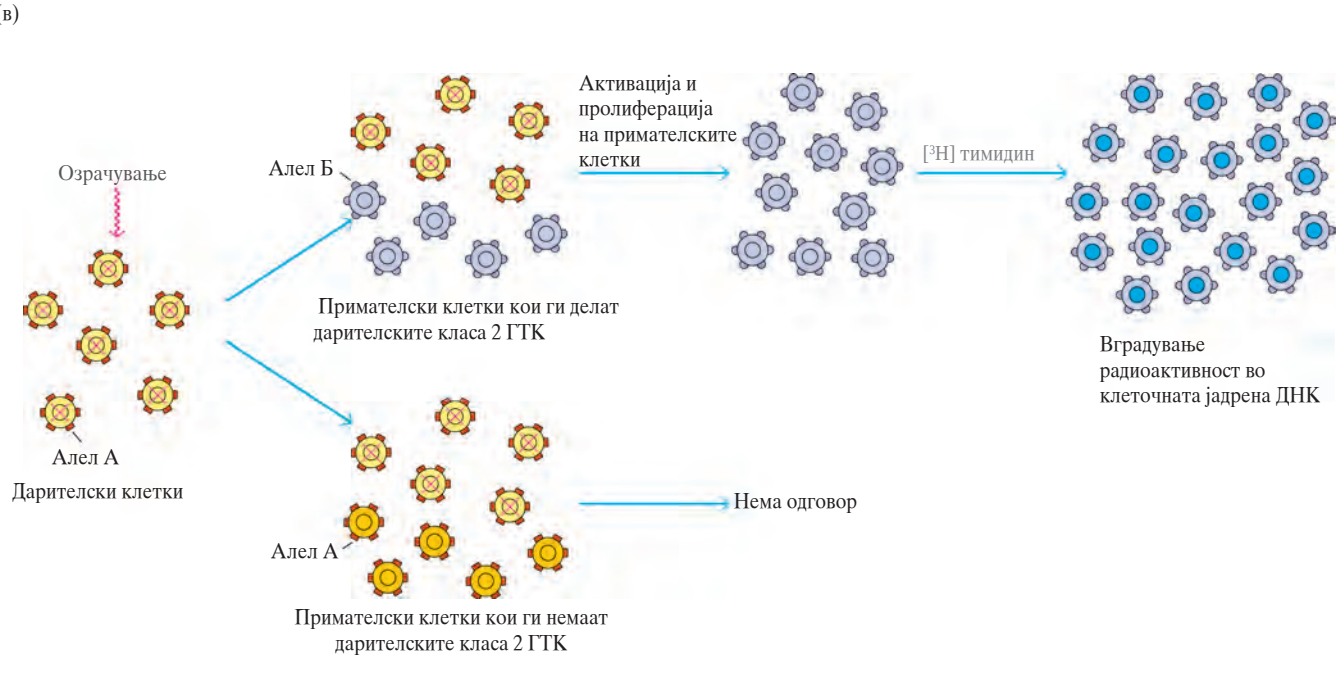
(а)



(б)



(в)



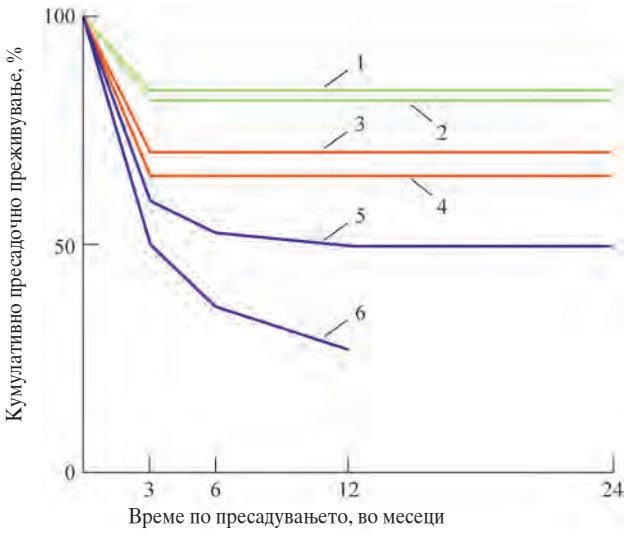
СЛИКА 17-4 Постапки за типизирање на ХЛА противгените. (а, б) ХЛА типизација со микролимфоцитотоксичност. (а) Белите крвни зрнца од потенцијалниот дарител и примател се додадени во различни бунарчиња од микротитарска плочка. Примерот го покажува одговорот на клетките од дарителот и примателот со единично противтело насочено против ХЛА-А противгенот. Низата од реакцијата покажува дека ако противгенот е присутен врз лимфоцитите, додавањето на комплементот ќе предизвика тие да станат порозни и неспособни да ја исфрлат додадената боја. (б) Бидејќи клетките прикажуваат бројни ХЛА противгени, тие се тестираат одделно со група противтела кои се специфични за разни ХЛА-А противгени. Овде дарителот 1 ги дели ХЛА-А противгените препознаени од противсерумот во бунарчињата 1 и 7 со примателот, додека дарителот 2 нема заеднички ХЛА-А противгени со примателот. (в) Мешана лимфоцитна реакција за утврдување на идентитетот на класа 2 ХЛА противгените помеѓу потенцијалниот дарител и примателот. Лимфоцитите од дарителот се озрачени или третирани со митомицин Ц за да се спречи делењето на клетките и потоа се додадени клетките од примателот. Ако класа 2 противгените на двете клеточни популации се различни, клетките од примателот нагло ќе се поделат и ќе консумираат големи количини на радиоактивните нуклеотиди во новосинтетизираната јадрена ДНК. Количината на консумираните радиоактивни нуклеотиди е грубо пропорционална со разликите на ГТК од класа 2 помеѓу лимфоцитите од дарителот и примателот.

тест (слика 17-4а, б). При овој тест, каде белите крвни клетки од потенцијалните дарители и примателот се распределени во серија бунарчиња на микротитарна плочка, а потоа противтела специфични за различни класа 1 и класа 2 ГТК-алели се додаваат во различни бунарчиња. По инкубацијата, во бунарчињата се додава комплементот и преку консумирањето или исфрлувањето на разни бои се проценува цитотоксичноста (на пример, трипан сина боја или еозин ипсилон) од страна на клетките. Ако белите крвни клетки прикажуваат ГТК-алел за кој постои посебно специфично моноклонско противтело, тогаш при додавањето на комплементот клетките ќе се лизираат и овие мртви клетки ќе се обојат во трипан сина боја. Според тоа одредувањето на ХЛА врз база на противтелно посредуваната микролимфоцитотоксичност може да покаже присуство или отсуство на разни ГТК-алели.

Дури и кога нема достапен целосно ХЛА-совпадлив дарител, пресадувањето може да биде успешно. Во таа ситуација, еднонасочна мешана лимфоцитна реакција (МЛР) може да се употреби за одредување на степенот на класа 2 ГТК-совпадливоста помеѓу потенцијалните дарители и примателот (слика 17-4в). Лимфоцитите од потенцијалниот дарител кои се претходно рендгенски озрачени или третирани со митомицинот Ц служат како стимулаторни клетки, а лимфоцитите од примателот служат како реагирачки клетки. Пролиферацијата на Т-клетките од примателот, што укажува на Т-клеточна активација, се мери со вградувањето на тимидинот [^{3}H] во клеточната ДНК. Колку се поголеми разликите кај класа 2 ГТК-молекулите помеѓу клетките од примателот и дарителот, толку поголемо вградување на тимидинот [^{3}H] ќе се забележи при МЛР-анализата. Интензивната пролиферација на лимфоцитите од примателот укажува на слаба прогноза за пресадочно преживување. Предноста на МЛР над микролимфоцитотоксичното типизирање е тоа што подобро го покажува степенот на Тпоклеточното активирање кое се создава при одговор на класа 2 ГТК противгените од потенцијалниот пресадок. Недостатокот на МЛР е тоа што се потребни неколку дена за спроведување на анализата. На пример, ако потенцијалниот дарител е кадавер (мртовец), не е можно да се чекаат резултатите од МЛР бидејќи органите мора брзо да се употребат по отстранувањето од кадаверот. Во ваков случај, микролимфоцитотоксичниот тест, кој може да се спроведе за неколку часа, е индициран како протокол за ткивното типизирање.

Важноста од ГТК-спарувањето за прифаќање на алопресадокот е потврдено од податоците добиени од примателите на бубрежни пресадоци. Податоците од слика 17-5 откриваат дека преживувањето на бубрежните пресадоци првенствено зависи од спарувањето на класа 2 ГТК-противгените помеѓу дарителот и примателот. Спарувањето или неспарувањето на класа 1 противгените има помало влијание врз пресадочното преживување, освен ако не постои истовремено неспарување на класа 2 противгените. Стапка од 90% на двегодишно преживување е забележана за бубрежните пресадоци каде еден или два класа 1 ХЛА локуси се неспарени, додека пресадените бубрези со разлики во класа 2 ГТК имаат само 70% шанса за двегодишно преживување. Лицата со поглем број неспарувања имаат многу мала стапка на преживување од една година по пресадувањето. Како што објаснивме претходно, ХЛА-спарувањата се многу значајни за бубрежните и коскеносрцевинските пресадоци, црндробните и срцевите пресадоци можат да преживеат и со поголемо неспарување.

Податоците за влијанието на ХЛА-спарувањата се потврдени од страна на неодамнешно проучување на пациентите со



Број на крива	ХЛА неспареност (бр.) Класа 1	Класа 2
1	0	0
2	1 или 2	0
3	3 или 4	0
4	0	1 или 2
5	1 или 2	1 или 2
6	3 или 4	1 или 2

СЛИКА 17-5 Ефектите од класа 1 и класа 2 ХЛА противгенските спарувања врз преживувањето на бубрежните пресадоци. Неспарувањата на еден или два класа 1 (ХЛА-А или ХЛА-Б) противгена има мало влијание врз пресадочното преживување. Една разлика во класа 2 (линија 4) го има истиот ефект како и три или четири разлики кај противгените од класа 1 (линија 3). Кога противгените од класа 1 и класа 2 се неспарени, отфрлањето е забрзано. [*Прилагодено од* T. Moen et al., 1980, New England journal of Medicine 303:850.]

бубрежни пресадоци во Европа. Новите податоци покажуваат дека 36-месечната стапка на преживување е зголемена на скоро 90% кај групата пресадувања помеѓу 1996 и 2000 година во споредба со 50% успех кај пресадувањата извршени помеѓу 1966 и 1970 година. Порастот се должи главно на подобрените имуносупресивни процедури. Во неодамнешните групи на пресадени пациенти, останаа нагласени предностите за оние пресадувања со орган од дарител со поблизок пар на ХЛА-типови. Во однос на 5% до 10% пораст на стапката на преживување кај ХЛА-спарените приматели, имало понатамошни напредоци во намалената инциденција за ракот на кожата и другите неповолни ефекти. Значајно е тоа што ако не успее пресадувањето од која било причина и ако е потребен втор пресадок, примателите со тесно спарувачки пресадоци се преферираат бидејќи тие нема да имаат веќе постојни противтела за бројните ХЛА-типови, кои можат да го отежнат прифаќањето на подоцнежниот пресадок.

Моменталните сфаќања за убиствените имуноглобулиновидни рецептори (killer-cel immunoglobulin-like receptor) (КИР) врз КПУ (види поглавје 14) покажуваат дека отсуството на противгенот од класа 1 препознаен од одредени КИР молекули може да доведе до убивање на туѓата клетка. Отфрлањето се забележа кај експерименталните пресадувања на коскена

срцевина каде класа 1 молекулот кој е препознаен од НК-ПУ-инхибиторниот рецептор на примателот е отсутен во дарителските клетки. Ефектите од таквото класа 1 неспарувања кај цврстите органски пресадоци можат да бидат помалку нагласени.

ГТК-идентитетот на дарителот и домаќинот не е единствениот фактор кој го одредува ткивното прифаќање. Кога ткивото е пресадено помеѓу генски различни индивидуи, дури и ако нивните ГТК-противгени се идентични, пресаденото ткиво може да биде отфрлено поради разликите при разни **минорни ткивносовпадливи локуси**. Како што е објаснето во поглавје 9, главните ткивносовпадливи противгени се препознаени директно од Тпо и Тцт клетки, феномен наречен *алореактивности*. Наспроти тоа, минорните ткивносовпадливи противгени се препознаени само кога тие се претставени во контекст на сопствените ГТК-молекули. Ткивното отфрлањето кое е поттикнато од минорните ткивносовпадливи разлики е обично послабо од понагласените ткивносовпадливи разлики. Сепак, реакцијата на овие минорни ткивни разлики често доведува до пресадочно отфрлање. Поради оваа причина, успешното пресадување дури и помеѓу ХЛА-идентични индивидуи бара одреден степен на имунолошка супресија.

Клеточно посредуваното пресадочно отфрлање настанува во две фази

Пресадочното отфрлање првенствено е предивикано од клеточнопосредуваниот имун одговор на алопротивгени (првично, ГТК-молекулите) кои се прикажуваат врз клетките од пресадокот. Двата типа одговори, одложениот тип преосетливост и клеточнопосредуваната цитоксичност биле вмешани. Процесот на пресадочното отфрлање може да се подели во две фази: (1) фаза на сензибилизација, во кој противгенреактивните лимфоцити од примателот пролиферираат при одговор на алопротивгените од пресадокот и (2) ефекторна фаза, во кој настанува имунолошко уништување на пресадокот.

Фаза на сензибилизација

При фазата на сензибилизација, КД4+ и КД8+Т-клетките ги препознаваат алопротивгените прикажани врз клетките од туѓиот пресадок и како одговор пролиферираат. И големите и минорните ткивносовпадливи алопротивгени можат да бидат препознаени. Во основа, одговорот на минорните ткивносовпадливи противгени е слаб, иако комбиниран одговор на неколку минорни разлики понекогаш може да биде силен. Одговорот на главните ткивносовпадливи противгени вклучува препознавање на дарителскиот ГТК-молекул и поврзаниот пептиден лиганд во вдлабнатината на ГТК-молекулот. Пептидите прикажани во жлебот на алогеничните класа 1 ГТК-молекули се добиени од протеините кои се синтетизирани во алогеничната клетка. Пептидите прикажани во жлебот од алогеничните класа 2 ГТК-молекули во основа се протеини внесени и преработени во ендоцитната патека на алогеничната противген прикажувачка клетка.

Тпо клетка на домаќинот е активирана кога стапува во меѓудејство со противген-прикажувачка клетка (ППК) при што и двете прикажуваат соодветен противгенски лиганд-ГТК-молекул комплекс и го овозможува потребниот костимулаторен сигнал. Во зависност од ткивото, различни популации на клетките во пресадокот можат да функционираат како ППК. Бидејќи стеблестите клетки се среќаваат во повеќето ткива и бидејќи во основа прикажуваат високи нива на класа 2 ГТК-молекули, стеблестите клетки главно служат како главни ППК во пресадоците. ППК кои потекнуваат од домаќинот исто така можат да мигрираат во пресадокот и да ги ендоцитозираат туѓите алопротивгени (големи и минорни ткивносовпадливи молекули) и да ги прикажат како преработени пептиди заедно со сопствените ГТК-молекули. Како што споменавме претходно, својството на стеблестите клетки за вкрстеното прикажување им овозможува да ги прикажат ендоцитираните противгени во контекст на класа 1 ГТК-молекулите на КД8+ клетките, кои потоа може да реагираат со алопресадокот.

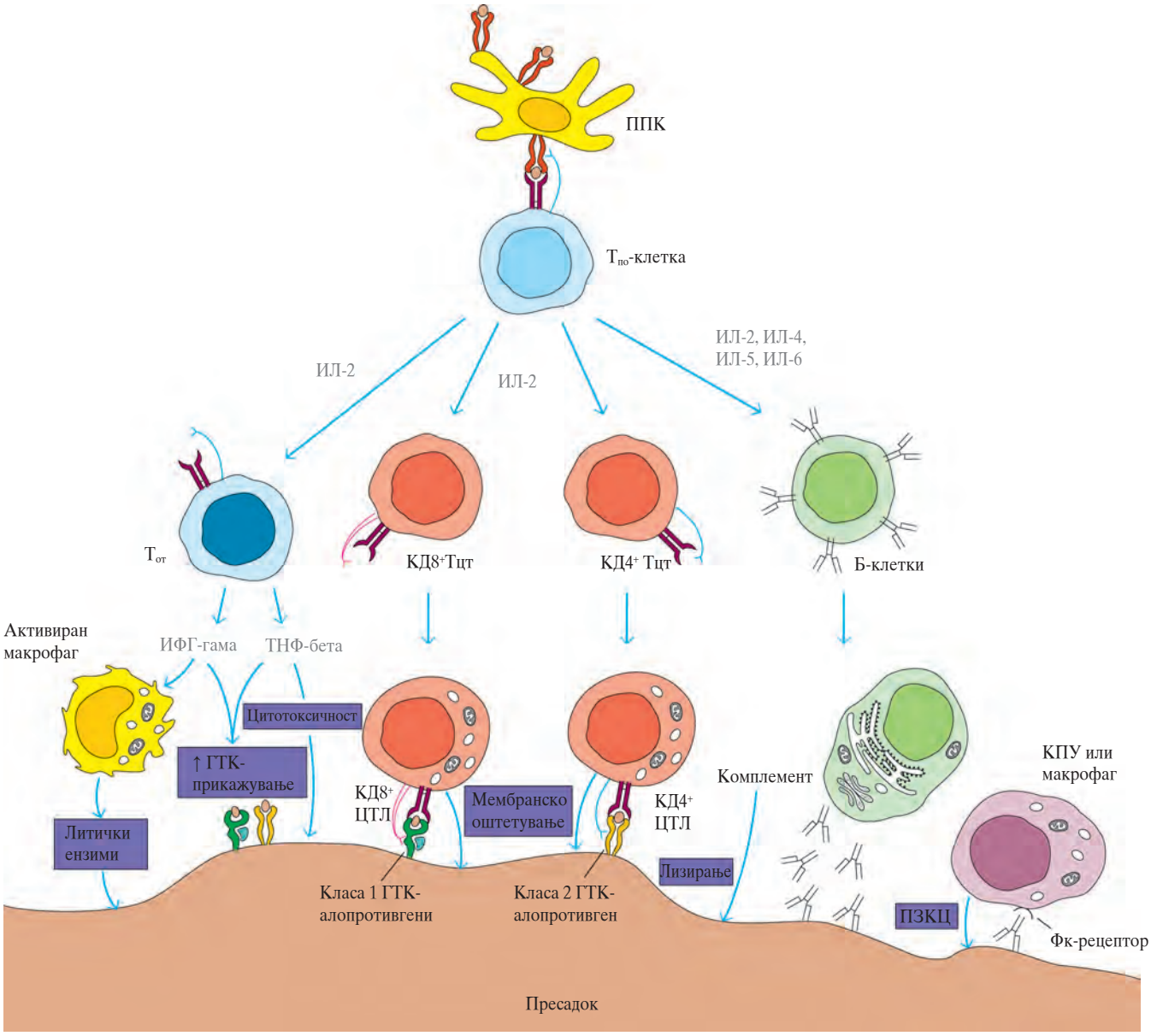
Кај некои органски и ткивни пресадоци (на пример, бубрежни пресадоци, тимусни и панкреасни островчиња), се покажало дека популацијата на ППК од дарителот мигрира од пресадокот во регионалните лимфни јазли. Овие ППК се стеблести клетки, кои прикажуваат високи нивоа на класа 2 ГТК-молекули (заедно со нормалните нивоа на класа 1 ГТК молекулите) и се широко распространети во ткивата на цицачите, со главен исклучок на мозокот. Бидејќи овие ППК ги прикажуваат алогеничните ГТК-противгени од дарителскиот пресадок, тие се препознаени како туѓи и според тоа можат да стимулираат имуна активација на Т-лимфоцитите во лимфниот јазол. Во одредени експериментални состојби, се покажало дека овие дарителски ППК поттикнуваат толеранција на нивните површински противгени преку отстранување на тимусните Т-клеточни популации со рецепторите кои се специфични за нив. Во чекор со идејата дека изложувањето пред дарителските клетки може да поттикне толеранција се податоците кои покажуваат дека трансфузиите на крв од дарителот пред пресадувањето може да го помогнат пресадочното прифаќање. Концептот дека толеранцијата може да биде поттикната со употреба на дарителски клетки за создавање химеричен домаќин се проучувал кај различни животински модели, но поради бројни причини сè уште не нашол примена кај човечкото пресадување.

Дарителските стеблести клетки кои функционираат како ППК не се единствените клетки вклучени во имунолошката стимулација. Всушност, најверојатно тие не играат никаква улога во отфрлањето на кожниот пресадок. Другите клеточни типови кои се вклучени во алопротивгенското прикажување во имуниот систем ги вклучуваат Лангерхансовите клетки и ендотелните клетки кои ги обложуваат крвните садови. Двата вида клетки прикажуваат класа 1 и класа 2 ГТК-противгени.

Препознавањето на алопротивгените прикажани врз клетките од пресадокот поттикнува силна Т-клеточна пролиферација во домаќинот. Оваа пролиферација може да се покаже ин витро кај мешаната лимфоцитна реакција (види слика 17-4в). Стеблестите клетки и крвосадните ендотелни клетки од алогениот пресадок поттикнуваат Т клеточна пролиферација кај домаќинот. Главната пролиферирачка клетка е КД4+Т-клетката, која препознава класа 2 алопротивгени или директно или како алопротивгенски пептиди претставени врз противген прикажувачките клетки од домаќинот. Оваа засилена популација на активирани Тпо клетки се верува дека игра главна улога во поттикнувањето на разни ефекторни механизми при отфрлањето на алопресадокот. Како што е објаснето во поглавје 9, релативно висок процент од Т-клетки реагира на алопротивгените.

Ефекторна фаза

Различни ефекторни механизми учествуваат во алопресадочното отфрлање (слика 17-6). Најчести се клеточно-посредуваните реакции кои вклучуваат одложен тип преосетливост и ЦТЛ-посредуваната цитоксичност, поретки се противтело-



СЛИКА 17-6 **Ефекторните механизми (виолетовите блокови) кои се вклучени во алопресадочното отфрлање**. Создавањето или активностите на разни ефекторни клетки директно или индиректно зависи од цитокините (сина боја) излачени од активираните Тпо клетки. ПЗКЦ = противтелно зависна клеточно посредувана цитотоксичност.

плус-комплемент лизирање и уништувањето од противтелно зависна клеточно-посредувана цитотоксичност (ПЗКЦ). Белегот на пресадочното отфрлање кој вклучува клеточно-посредувани реакции е прилив на Т-клетки и макрофаги во пресадокот. Хистолошки, инфилтрацијата во голем број случаи личи на онаа која се забележува при одговорот на оддложениот тип преосетливост, каде цитокините создадени од страна на Т-клетките поттикнуваат макрофагна инфилтрација (види слика 14-15). Препознавањето од страна на КД8+клетките од домаќинот на туѓите класа 1 алопротивгени од пресадокот или противгените пептиди вкрстено претставени во контекст со класа 1 ГТК од стеблестите клетки може да доведе до ЦТЛ-посредувано убивање (види слика 9-16).

Кај секој од овие механизми, цитокините излачени од Тпо-клетки играат главна улога (види слика 17-6). На пример, се покажало дека ИЛ-2, ИФН-гама и ТНФ-бета претставуваат значајни посредници при пресадочното отфрлање. ИЛ-2 поттикнува Т-клеточна пролиферација и во основа е неопходен за создавањето на ефекторните ЦТЛ (види слика 14-1). ИФН-гама е важен за развојот на одложениот-тип преосетливост, при што ги поттикнува приливот на макрофагите во пресадокот и нивната последователна активација во поуништувачки клетки. Се покажа дека ТНФ-бета има директен цитотоксичен ефект врз клетките од пресадокот. Одреден број цитокини поттикнуваат отфрлање на пресадокот преку поттикнување на прикажувањето на класа 1 и класа 2 ГТК-молекули во клетките од пресадокот. Интерфероните (алфа, бета и гама) ТНФ-алфа и ТНФ-бета го зголемуваат класа 1 ГТК-прикажувањето, а исто така ИФН-гама го зголемува прикажувањето на класа 2 ГТК-молекулите. Во текот на процесот на отфрлање, нивоата на

овие цитокини се зголемуваат, предизвикувајќи разни видови клетки во пресадокот да прикажуваат класа 1 или класа 2 ГТК-молекули. На пример, кај срцевите алопресадоци од стаорец стеблестите клетки на почетокот се единствените клетки кои прикажуваат класа 2 ГТК-молекули. Сепак, како што одговорот на алопресадокот започнува, локализираното создавање на ИФН-гама во пресадокот поттикнува васкуларните ендотелни клетки и миоцитите да прикажуваат класа 2 ГТК-молекули, правејќи ги овие клетки цели за напад на ЦТЛ.

Целосниот опис на ефектот на цитокините врз алопресадокот мора да вклучи и некои од споменатите кои поттикнуваат толеранција на туѓото ткиво. Додека ИЛ-12 и ИЛ-15 се исклучиво провоспалителни, поддржувајќи ги патеките кои водат до алопресадочно отфрлање, ИЛ-12 може да има плеотропен ефект. Тој поттикнува пресадочно отфрлање со тоа што ја поддржува експанзијата на ефекторните Т-клетки, но исто така и првични ефекторни клетки за отстранување со апоптоза и ја поддржува пролиферацијата на Т-регулаторните клетки. ИЛ-10 и ТРФ-бета поттикнуваат толеранција преку посредување T^{reg} функција.

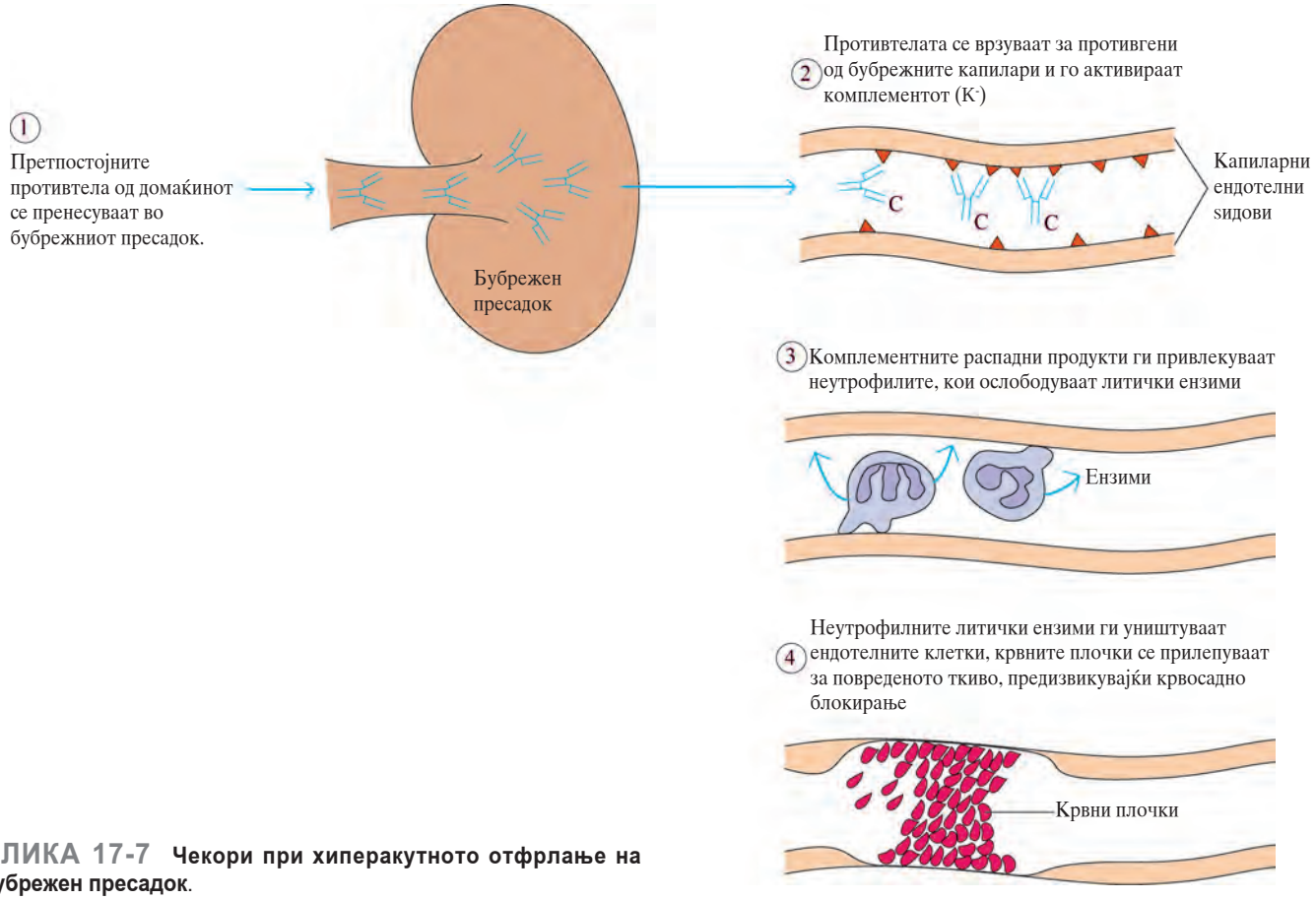
Клинички манифестации на пресадочно отфрлање

Реакциите на пресадочно отфрлање имаат различно време на појавување, во зависност од видот на ткивото или органот кои се пресадени и имуниот одговор кој е вклучен. Реакции на хиперакутното отфрлање настануваат во првите 24 часа по пресадувањето, реакциите на акутното отфрлање обично започнуваат во првите неколку недели по пресадувањето, а реакциите на хроничното отфрлање можат да се појават од неколку месеци до неколку години по пресадувањето.

Веќе постојните противтела кај примателот го посредуваат хиперакутното отфрлање

Во ретки случаи, пресадокот е отфрлен толку брзо што пресаденото ткиво никогаш не се васкуларизира. Овие хиперакутни реакции се предизвикани од веќе постојните серумски противтела во домаќинот кои се специфични за противгените од пресадокот. Комплексите противген-противтело кои се создаваат го активираат комплементниот систем, што доведува до интензивно навлегување на неутрофилите во пресаденото ткиво. Произлезениот воспалителен одговор предизвикува опструктивни крвни сосироци во капиларите, спречувајќи ја васкуларизацијата на пресадокот (слика 17-7).

Присуството на веќе постојните противтела кои се специфични за алогеничните ГТК-противгени се препишува на неколку механизми. Примателите на повторувачки крвни трансфузии понекогаш развиваат значителни нивоа на противтела за ГТК-противгените кои се прикажани врз белите



СЛИКА 17-7 Чекори при хиперакутното отфрлање на бубрежен пресадок.

крвни клетки присутни во трансфузираната крв. Ако дел од овие ГТК-противгени се исти со противгените во последователниот пресадок, тогаш противтелата може да реагираат со пресадокот, поттикнувајќи реакција на хиперакутно отфрлање. Со повторните бремености, жените се изложени на татковите алопротивгени кои се наоѓаат во фетусот и можат да развијат противтела за овие противгени. На крајот, лицата кои претходно имале пресадок имаат високи нивоа на противтела за алогеничните ГТК-противгени на тој пресадок.

Во одредени случаи, веќе постојните противтела кои учествуваат во хиперакутното отфрлање на пресадокот можат да бидат специфични за противгените од крвната група во пресадокот. Ако типизирањето на ткивото и АБО-крвната група се направи пред пресадувањето, овие претпостојни противтела можат да се откријат и со тоа пресадоците кои би довеле до хиперакутно отфрлање можат да се избегнат. Ксенопресадоците често се отфрлаат на хиперакутен начин поради противтелата за клеточните противгени од дарителскиот вид кои не се присутни во видот на примателот. Таков противген е објаснет во клиничкиот фокус на следната страна.

Во однос на хиперакутното отфрлање посредено од веќе постојните противтела, постои поретка форма на отфрлање наречена *забрзано отфрлање*, предизвикано од противтелата кои се создадени веднаш по пресадувањето.

Акутното отфрлање е посредувано од Т-клеточните одговори

Клеточно посредуваното отфрлање на алопресадокот се манифестира како акутно отфрлање на пресадокот кое започнува 10 дена по пресадување (види слика 17-1б). Хистопатолошкото испитување открива масивна инфилтрација на макрофаги и лимфоцити во областа со ткивно уништување, што укажува на Тпо клеточна активација и пролиферација. Акутното пресадочно отфрлање е резултат на механизмите кои ги објаснивме претходно (види слика 17-6).

Хроничното отфрлање настанува месеци или години по пресадувањето

Реакциите на хронично отфрлање се појавуваат неколку месеци или години по стивнувањето на реакциите од акутното отфрлање. Механизмите на хронично отфрлање вклучуваат и хуморални и клеточно посредувани одговори од страна на примателот. Иако употребата на имуносупресивните лекови и примената на методите за ткивно типизирање за добивање максимално спарување на дарителот и примателот значително го зголеми преживувањето на алопресадоците во текот на првите години по всадувањето, за долготрајното преживување направен е мошне мал напредок. Употребата на имуносупресивни лекови, кои се подолу објаснети, во голем степен го зголемува краткотрајното преживување на пресадокот, но хроничното отфрлање не е спречено во повеќето случаи. Податоците за отфрлање на бубрежните пресадоци од 1973 година покажуваат пораст од 40% на скоро 90% за едногодишното преживување на пресадоците. Сепак, во истиот период, мошне малку се зголемило долготрајното преживување. Како и во 1975 година, само 50% од пресадените бубрези сè уште функционираат 10 години по пресадувањето. Реакциите на хроничното отфрлање тешко се намалуваат со имуносупресивни лекови и можат да наложат потреба за друго пресадување.

Општа имуносупресивна терапија

Алогеното пресадување бара одреден степен на имуносупресија за пресадокот да преживее. Повеќето од имуносупресивните третмани кои се развиени го имаат недостатокот од неспецифичност. Односно, тие доведуваат до општа имуносупресија на одговорите за сите противгени, не само за тие од алопресадокот, што примателот го става на зголемен ризик од инфекција и лимфоидни канцери. Понатаму, многу имуносупресивни мерки се насочени кон забавување на пролиферацијата на активираните лимфоцити. Овој третман ги зафаќа сите брзо деливи неимуни клетки (на пример, епителните клетки на цревото или хематопоетските матични клетки од коскената срцевина), што води до сериозни дури и живото-загрозувачки компликации. Пациентите на долготрајна имуносупресивна терапија се под зголемен ризик од рак, хипертензија и метаболна болест на коските.

Митотичните инхибитори ја попречуваат клеточната пролиферација

Во 1959 година Роберт Шварц и Вилијам Демешек објавиле дека лекувањето со 6-меркаптопурин ги супримираат имуните реакции кај животинските модели. Јосеф Муреј и неговите колеги испитале одреден број хемиски аналози на 6-меркаптопуринот за употреба при хуманото пресадување и откриле дека, азатиопринот, кога се користи во комбинација со кортикостероидите го зголемува преживувањето на алопресадоците на драматичен начин. Во 1991 година Муреј за неговиот клинички напредок добил Нобелова награда, а создавачите на овој лек, Гертуд Елион и Џорџ Хитчкингс, добиле Нобелова награда во 1987 година.

Азатиопринот (Имуран), моќен миотитичен инхибитор, е често даван непосредно пред и по пресадувањето за да ја намали Т-клеточната пролиферација при одговор на алопротивгените од пресадокот. Азатиопринот дејствува врз клетките во С-фазата од клеточниот циклус за да ја блокира синтезата на инозинската киселина, која претставува претходник на пуринската, аденилната и гванилната киселина. И Б-клеточната и Т-клеточната пролиферација се намалени во присуство на азатиопринот. Функционалната имунолошка анализа, како што е МЛР, ЦМЛ и кожниот тест, покажува значително намалување по третманот со азатиопринот, што укажува на вкупно намалување на Т-клеточниот број.

Други митотични инхибитори кои понекогаш се користат во комбинација со имуносупресивните агенси се циклофосфамидот, микофенолат мофетил и метотрексатот. Циклофосфамидот е алкилирачки агенс кој навлегува во спиралата од ДНК и вкрстено се поврзува, што води до прекин на ДНК-веригата. Тој е особено ефективен против клетките кои нагло се делат и затоа понекогаш се дава при пресадувањето за да ја блокира Т-клеточната пролиферација. Микофенолат мофетилот е создаден од пеницилинската мувла и ја блокира пуринската синтеза. Метотрексатната киселина е антагонист на фолната киселина и ја блокира пуринската биосинтеза. Фактот дека митотичните инхибитори дејствуваат врз сите клетки кои нагло се делат, а не специфично врз тие кои се вклучени во имуниот одговор против алопресадокот може да доведе до штетни несакани реакции преку попречување на делбата на другите функционални клетки во телото. Поновите форми на циклоспоринот и поврзаните инхибитори на клеточно ме-

КЛИНИЧКИ ФОКУС

Дали постои клиничка иднина за ксенопресадувањето?

Доколку дарувањата на органи значително не се зголеми, повеќето од 91700 пациенти во САД кои се наоѓаат на листата за чекање за пресадување во април 2006 година нема да примат пресадок. Мнозинството имаат потреба од бубрег, но во 2005 година само 16477 бубрези биле пресадени. Решение за овој недостаток е да се користат животински органи. Некои дискутираат дека ксенопресадоците го носат ризикот за навлегување на патогени ретровируси во човечката популација, а други дискутираат врз база на етничката основа поврзана со правата на животните. Сепак, сериозно се разгледува употребата на свињите за користење органи за луѓето. Свињите брзо растат, имаат големи семејства, може да се одгледуваат во средини без патогени и делат значителна анатомска и физиолошка сличност со луѓето. Всушност, свињите служат како дарители на срцеви залистоци за луѓето со години. Приматите се потесно поврзани со луѓето отколку свињите, но достапноста на голем број примати како дарители на пресадоци е и ќе биде значително ограничена.

Урамнотежувањето на предностите на свинските дарители претставува сериозна тешкотија. На пример, ако свински бубрег е всаден во човек со стандардни техники за човечко пресадување, веројатно ќе откаже на брз и драматичен начин преку хиперакутен одговор. Оваа противтелно посредувано отфрлање се должи на присуство на свинските клетки (и клетките од повеќето цицачи кои не се човечки и на највисоките нечовечки примати) на дисахаридниот противген (галактозил-1,3-алфа-галактоза) кој не е присутен врз човечките клетки. Присуството на овој противген на повеќе микроорганизми значи дека скоро секој бил изложен на него и создал противтела против него. Веќе постојните противтела реагираат со свинските клетки, кои потоа брзо се лизирани од страна на комплементот. Отуството на човечките регулатори на комплементната активност во свинските клетки, вклучувајќи ги човечкиот фактор кој забрзува распад (ДАФ) и човечкиот мембрански кофакторен протеин (МКП), го засилуваат комплементниот лизирачки циклус (види поглавје 7 за објаснувања на ДАФ и МКП).

Како може да се надмине оваа голема пречка? Се тестираат стратегии за апсорбирање на противтелата од циркулацијата на цврсти подлоги и со употреба на солубилни гал-гал дисахариди за блокирање на противтелните реакции. Поелегантното решение вклучува генски модифицирани свињи во кои генот за ензимот кој го синтетизира алфа-1,3-галактосил-трансфераза бил генетски отстранет. Овие ГалТ-ГО свињи биле користени како дарители за срце или бубрези за бабуни во експерименталните системи. К. Куваки и неговите колеги пресадиле ГалТ-ГО свински срца во бабуни кои биле имуносупресирани со противтимоцитен глобулин и противКД154 моноклонско противтело, а потоа ги одржувале со често употребуваните лекови. Тие добиле просечно време на преживување од 92 дена, а еден ГалТ-ГО свински срцев пресадок преживеал во бабунот 179 дена. К. Јамада и неговите соработници демонстрирале бубрежна функција кај примати на ГалТ-ГО свински бубрези во период од 83 дена. При ова проучување бил користен режим кој вклучил истовремен тимусен пресадок во обид да се создаде толеранција кај бабунските примати. Иако овие резултати не се убедливи, достапноста на органи и охрабрувачките резултати од експериментите кои целат кон утврдување оптимален режим пред употребата кај луѓето се мошне охрабрувачки за употребата на ксенопресадувањето во клиничкото опкружување.

Решавањето на реакцијата на непосредното отфрлање преку отстранување на специфичните противгени може да не ги спречи сите противтелно посредувани отфрлања. Нормално други противгени разлики за кои човечкиот примател има противтела ке бидат присутни во некои, ако не кај сите, парови дарител-примател. Сепак, секој противтелен напад врз свинските клетки може да биде ублажен ако човечки ДАФ (КД55) е присутен во целната клетка за да го потисне комплементниот одговор. Недостатокот на човечкиот ДАФ во свинските клетки се надоместува со создавањето на трансгени свињи кои го прикажуваат овој протеин. Додавањето на човечките комплементни регулатори кај свињата претставува поуниверзално решение преку давање издржливост на дарителските клетки кои може да станат цел за лизирање од страна на човечкиот комплемент.

Дури и ако се решат сите проблеми кои се однесуваат на противгените разлики, остануваат дополнителните грижи. Свинските ендогени ретровируси внесени во луѓето како резултат од ксенопресадувањето можат да предизвикаат болест. Противниците на ксенопресадувањето укажаа на зголемување на спектарот за ХИВ епидемија од друг вид како резултат од човечката инфекција со нов животински ретровирус. Неодамна, компанија од Бостон објави создавање свињи без ендогени свински ретровируси, при што се намалува можноста за овој мрачен исход.

Дали во блиска иднина ќе ја видиме употребата на свински бубрези кај луѓето? Нараснувачката побарувачка за органи го води комерцијалниот развој на колонии свињи погодни да станат органски дарители. Иако бубрезите се најбаран орган во моментов, други органи и клетки од специјално одгледани и генски модифицирани животни ќе најдат употреба ако се докажат како безбедни и ефикасни. Една изјава дадена во 2000 година од страна на Американското здружение за пресадување и Американското здружение на хирурзи за пресадување ја одобрува употребата на ксенопресадоците ако се исполнат одредени услови, како прикажување на изводливоста кај нечовечки приматен модел, да се докаже корисноста кај пациентот и недостатокот на ризик од инфективни болести. Иако за клиничката употреба на ксенопресадоците остануваат одредени бариери, во тек се сериозни напори за нивно надминување.

таболните процеси ги заменија азатиоприност како прв лек за пресадувањето.

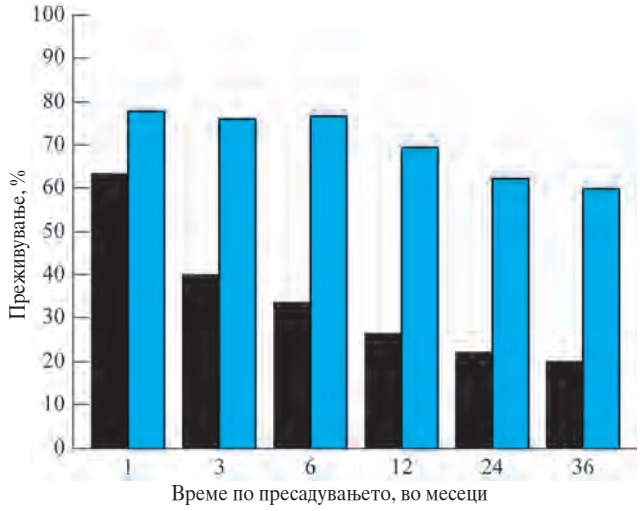
Кортикостероидите супресираат воспаление

Како што е објаснето во поглавје 16, кортикостероидите, како што се преднизонот и дексаметазонот, се моќни противвоспалителни агенси кои своите ефекти ги покажуваат на многу нивоа од имуниот одговор. Овие лекови често се даваат кај примателите на пресадокот заедно со други имуносупресиви за да спречат акутни напади на отфрлање на пресадокот.

Одредени габични метаболити се имуносупресиви

Поспецифична имуносупресија е овозможена со употребата на циклоспоринот А (ЦсА), ФК506 (такролимус) и рапимицинот (сиролимус), кои претставуваат габични метаболити со имуносупресивни особини. Иако се хемиски неповрзани, ЦсА и ФК506 имаат слични дејства. И двата лека ја блокираат активацијата на Т-клетки во мирување преку инхибирање на препишувањето на гените кои го кодираат ИЛ-2 и ИЛ-2 рецепторот со висок афинитет (ИЛ-2Ралфа), кои се неопходни за активацијата. ЦсА и ФК506 овој ефект го извршуваат преку врзување за цитоплазматски протеини наречени имунофилини, создавајќи комплекс кој ја блокира фосфатазната активност на калциневринот. Ова го спречува создавањето и јадреното пренесување на цитоплазматската поединица НФАТц и нејзиното последователно групирање во НФАТ, ДНА-врзувачки протеин потребен за препишувањето на гените кои кодираат одреден број молекули значајни за Т-клеточната активација (види слика 10-12). Рапамицинот е структурно сличен со ФК506 и исто така се врзува за имунофилинот. Сепак, комплексот рапамицин-имунофилин не ја инхибира калциневринската активност, туку ја блокира пролиферацијата и диференцијацијата на активираните Тпо клетки во Γ_1фазата од клеточниот циклус. Сите три лека, преку попречување на Тпо-клеточна пролиферација и оттука и на прикажувањето на Тпо-клеточни цитокини, ја намалуваат последователната активација на различни ефекторни популации кои се вклучени во отфрлањето на пресадокот, вклучувајќи ги Тпо-клетките, Тцт-клетки, КПУ, макрофагите и Б-клетките.

Длабоките имуносупресивни својства на овие три агенси ги направија главна потпора за срцевото, црнодробното, бубрежното и коскеносрцевинското пресадување. Се покажало дека циклоспоринот А го продолжува пресадочното преживување при пресадувањето на бурбези, црн дроб, срце и срце-бели дробови. При едно проучување на 209 бубрежни пресадоци од кадаверични дарители, едногодишната стапка на преживување била 64% помеѓу примателите кои примиле други имуносупресивни третмани и 80% помеѓу примателите кои примиле циклоспорин А. Слични резултати се добиени кај црнодробното пресадување (слика 17-8). Но и покрај овие импресивни резултати, ЦсА има некои негативни несакани ефекти, од кои најважна е бубрежната токсичност. Акутната нефротоксичност е мошне честа, во одредени случаи напредува до хронична нефротоксичност и лек-поттикнато бубрежно откажување. ФК506 и рапамицинот се 10 до 100 пати помоќни имун супресиви од ЦсА и затоа може да се внесуваат во помали дози и со помалку несакани ефекти од ЦсА.



СЛИКА 17-8 Споредба на стапката на преживување на црнодробниот пресадок кај 84 пациени кои биле имуносупресирани со азатиоприн и кортикостероиди (црна боја) со стапката на преживување кај 55 пациенти кои биле имуносупресирани со циклоспорин А и кортикостероиди (сина боја). *[Прилагодено од S. M. Sabesin and J. W. Williams, 1987, Hospital Practice (July):75.*

Целосното лимфоидно зрачење ги отстрани лимфоцитите

Бидејќи лимфоцитите се значително чувствителни на рендгенски зраци, рендгенското зрачење може да се користи за нивно отстранување кај примателот на пресадокот непосредно пред пресадувањето. При целосното рендгенско зрачење, примателот прима повеќе рендгенски изложувања на тимусот, слезината и лимфните јазли пред пресадувањето. Обичниот протокол е дневни рендгенски третмани од околу 200 ради на ден во текот на неколку недели до постигнување вкупна доза од 3400 ради. Во оваа имуносупресивна состојба примателот го прима пресадокот. Бидејќи коскената срцевина не е рендгенски озрачена, лимфоидните матични клетки пролиферираат и се обновува популацијата на рециркулирачките лимфоцити. Овие новофомирани лимфоцити се потолерантни за противгените во пресадокот.

Специфична имуносупресивна терапија

Во однос на штетните несакани ефекти, својствени за разните имуносупресивни третмани објаснети претходно, главно ограничување за сите е тоа што тие имаат недостаток од специфичност, при што создаваат повеќе или помалку општа имуносупресија и го зголемуваат ризикот за инфекција кај примателот. Она што идеално е потребно е противгенспецифична имуносупресија која го смалува имунолошкиот одговор на алопротивгените од пресадокот додека се зачувува способноста на примателот да реагира на другите надворешни противгени. Иако оваа цел кај човечките пресадоци сè уште

не е постигната, неодмнешните успеси при животинските експерименти покажуваат дека тоа е можно. Специфичната имуносупресија на алопресадоците се постигнува кај животинските модели кои употребуваат противтела или растворливи лиганди кои се реактивни со клеточните површински молекули.

Противтелата можат да ги супресираат реакциите на пресадочно отфрлање

Употребата на противтелата кои се насочени против разни клеточно површински молекули од имуниот систем во основа можат успешно да ја супресираат Т-клеточната активност, или противтелата може да целат на активноста на потпопулациите на специфичните клетки. Резултатите од проучувањата со животински модели покажуваат одредени моноклонски противтела кои можат да бидат користени за супресија само на Т-клетките кои се активирани. Успесите со животинските модели и испитувањата со луѓето даваат причина да веруваме дека два вида стратегии кои вклучуваат противтела за супресија на отфрлањето се погодни за клиничка употреба. Противтелата може да се користат за отстранување на примателот од одредена широка или специфични клеточни популации, како алтернативна, тие може да се употребат за блокирање на костимулаторните сигнали. Во вториот случај, состојбата на анергија е поттикната кај оние Т-клетки кои реагираат на противгените кои се присутни во алопресадокот.

Противтимоцитен глобулин подготвен во животни е користен за отстранување на Т-клетките кај примателите на пресадокот пред пресадувањето. Дополнителна стратегија за намалување на имуните клетки вклучува употреба на моноклонско противтело за КД3-молекулот од ТКР-комплексот. Внесувањето на такво моноклонско противтело доведува до нагло исцрпување на зрелите Т-клетки од циркулацијата. Ова отстранување е предизвикано од врзувањето на противтелно обвитканите Т-клетки со Фк-рецепторите на фагоцитните клетки, кои потоа ги фагоцитираат и отстрануваат Т-клетките од циркулацијата. При понатамошното прочистување на оваа стратегија, цитотоксичен агенс, како што е дифтериското токсин, се спарува со противтелото. Клетката со која противтелото реагира го внесува токсинот, предизвикувајќи нејзина смрт. Друга стратегија за отстранување која се користи за зголемување на пресадочното преживување користи моноклонски противтела кои се специфични за високоафинитетниот ИЛ-2 рецептор (КД25, моноклонското противтело е против-КД25). Бидејќи високоафинитетниот ИЛ-2 рецептор е прикажан само врз активираните Т-клетки, изложувањето на против-КД25 по пресадувањето специфично ја блокира пролиферацијата на Т-клетките кои се активирани при одговор на алопротивгените од пресадокот. Поновите проучувања користеле моноклонско противтело директно против КД20 за отстранување на зрелите Б-клетки, при што се супресираат реакциите на противтелно посредуваното отфрлање.

Терапијата со моноклонско противтело, која била на почетокот користена за отстранување на Т-клетките кај примателите на пресадокот, исто така се користи за третирање на дарителската коскена срцевина пред пресадувањето. Таквиот третман е создаден за отстранување на имунокомпетентните Т-клетки во коскеносрцевинскиот пресадок. Тие се клетките кои реагираат со ткивата на примателот, предизвикувајќи болест пресадок-против домаќин (објаснета понатаму). Моноклонските противтела со изотипови кои го активираат комплементниот систем се најефикасни при сите клеточноотстранувачки стратегии.

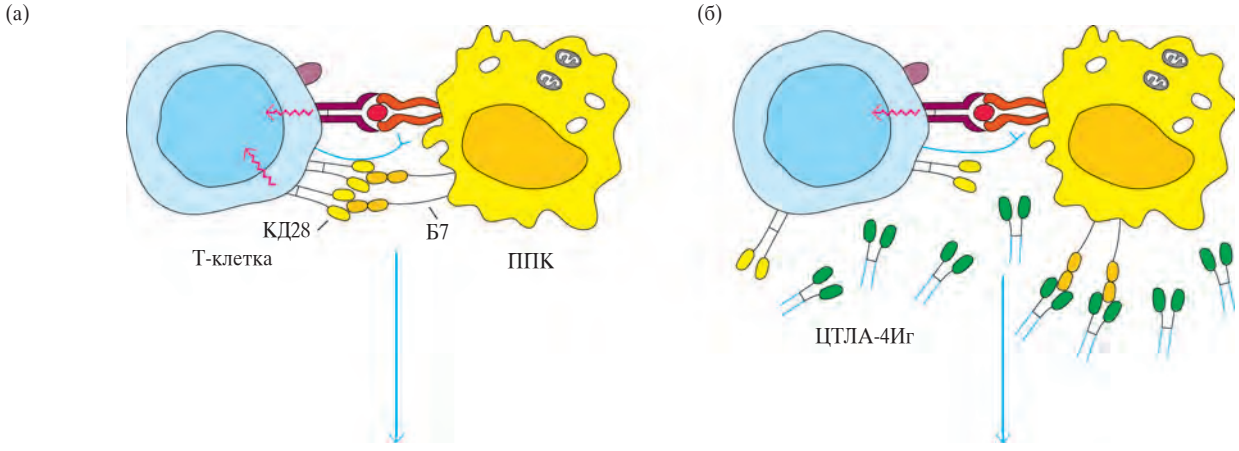
КД3-рецепторот и високоафинитетниот ИЛ-2 рецептор се цели кои се присутни врз сите активирани Т-клетки; молекулите кои се присутни во одредени Т-клеточни потпопулации може исто така да бидат цел за имуносупресивна терапија. На пример, се покажало дека моноклонското противтело за КД4 го продолжува пресадочното преживување. При едно проучување, мајмуните примиле една голема доза против-КД4 непосредно пред примањето на бубрежниот пресадок. Пресадочното преживување кај третираните животни било значително зголемено отколку кај нетретираните контролни животни. Интересно, против-КД4 не го намалил $CD4^+$Т-клеточниот број, туку поттикнал Т-клетките да навлезат во имуносупресивна состојба. Ова е пример за неотстранувачко противтело.

Други цели на терапијата со моноклонското противтело се атхезивните молекули. Истовремен третман со моноклонски противтела за атхезивните молекули МКАМ-1 и ЛФА-1 во период од 6 дена по пресадувањето овозможува неограничено преживување на срцевите пресадоци помеѓу алогените глувци. Сепак, кога секое моноклонско противтело се внесувало само, кардиолошкиот пресадок бил отфрлен. Барањето двете моноклонски противтела да се внесат во исто време веројатно го прикажува изобилството на атхезивни молекули: ЛФА-1 е познато дека се врзува за МКАМ-2 како додаток на МКАМ-1, а МКАМ-1 е познат дека се врзува за Мак-1 (КД11б/КД18) и КД43 како додаток за ЛФА-1. Само кога сите можни парови меѓу овие атхезии се блокирани во исто време, блокирани се атхезијата и сигналното пренесување преку овие атхезини.

Практичната тешкотија со употреба на противтелата за продолжување на пресадочното преживување кај луѓето е тоа што тие во основа се од нечовечко потекло. Првите примателите на глувчешки моноклонски противтела често развиваат противтелен одговор против глувчешкото противтело, при што со голема брзина го отстрануваат од телото. Ова ограничување е надминато со создавање човечки моноклонски противтела и глувчешко-човечки химерни противтела (види слика 5-24 и клинички фокус во поглавје 5).

Бидејќи цитокините играат значајна улога при алопресадочното отфрлање, друга стратегија за продолжување на пресадочното преживување е внесување во животните моноклонски противтела кои се специфични за вклучените цитокини, особено ТНФ-алфа, ИФН-бета и ИЛ-2. Се покажало дека моноклонските противтела за ТНФ-алфа ги продолжуваат коскеносрцевинските пресадоци кај глувците и ја намалуваат зачестеноста на болеста пресадок-против-домаќин. Во одредени случаи се покажало дека моноклонските противтела за ИФН-бета и ИЛ-2 ги продолжуваат кардиолошките пресадоци кај стаорците.

Се размислува за бројни нови приоди за спречување на реакциите при отфрлање. Неодамнешен извештај од Здружението на истражувачи при Пфајзер, Стандфорд и националните институти за здравство покажа дека инхибиторот на Јануш киназа 3 (JAK3) поттикнува прифаќање на бубрежните пресадоци кај мајмуните. Овој JAK3 инхибитор, наречен ЦП-690550, може да се внесе орално и до сега нема покажано штетни несакани ефекти поврзани со употребата на вообичаените имуносупресивни лекови. Ин витро експериментите покажаа дека инхибиторот спречува ИЛ-2 фосфорилација на JAK3 и Спап5. Бидејќи составот има мал ефект врз други поврзани кинази, не е предвидено да ги попречува општите хематопоетски процеси и не треба да предизвика нарушувања како што се анемија, тромбоцитопенија или лимфопенија.



СЛИКА 17-9 Блокирањето на костимулаторните сигнали при пресадувањето може да предизвика анергија наместо активирање на Т-клетките кои се реактивни против пресадокот. Т-клеточната активација бара меѓудејство на ТКР со неговиот лиганд и одговорот на костимулаторните рецептори со нивните лиганди. (а). При (б), контактот помеѓу еден од костимулаторните рецептори, КД28 на Т-клетката и нејзиниот лиганд, Б7 на ППК, е блокиран од одговор на Б7 со растворлив лиганд ЦТЛА-4Иг. ЦТЛА-4 е сврзан со Т-веригата од Иг, што го забавува неговото отстранување од циркулацијата. Овој процес специфично го супресира пресадочното отфрлање без попречување на имуниот одговор кон другите противгени.

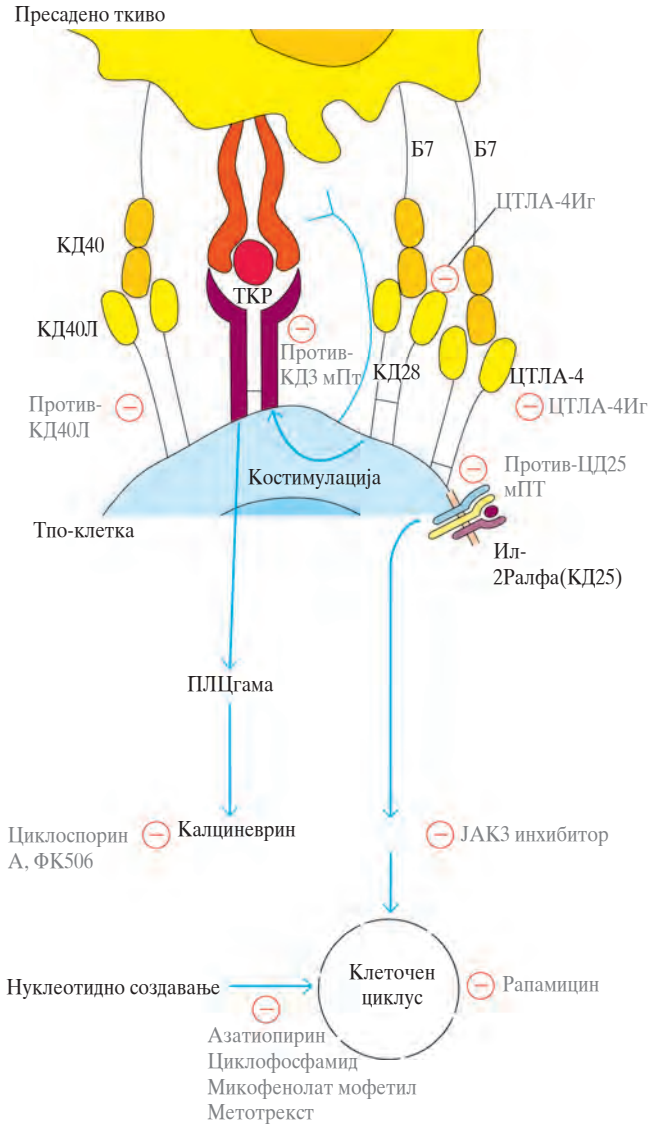
Блокирањето на костимулаторните сигнали може да предизвика анергија

Како што објаснивме во поглавје 10, Тпо-клеточно активирање бара костимулаторен сигнал покрај сигналот посредуван од Т-клеточниот рецептор. Меѓудејството помеѓу Б7 молекулот врз мембраната од противген-прикажувачките клетки и КД28 или ЦТЛА-4 молекулот на Т-клетките овозможува таков сигнал (види слика 10-14). При недостаток на костимулаторен сигнал, противген-активираните Т-клетки стануваат анергични (види слика 10-15). КД28 е прикажан кај оние кои се во мирување и кај активираните Т-клетки со среден афинитет се врзува за Б7. ЦТЛА-4 е прикажан при доста помали нивоа и само на активираните Т-клетки, но со Б7 се врзува со 20 пати поголем афинитет. Втор пар костимулаторни молекули кој е потребен за Т-клеточна активација е КД40, кој е присутен врз ППК и КД40 лигандот (КД154), кој е присутен врз Т-клетките.

Д. Ј. Ленсчол, Ј. А. Блустоун и неговите колеги покажале дека блокирањето на Б7-посредуваниот костимулаторен сигнал со растворлива форма на ЦТЛА-4 по пресадувањето ќе предизвика Т-клетките од домаќинот кои се насочени против пресаденото ткиво да станат анергични, овозможувајќи му на ткивото да преживее. Во нивниот експеримент, човечките панкреасни островчиња биле пресадени во глувците кои примиле ЦТЛА-4Иг, растворлив фузиски протеин составен од вонклеточни домени на ЦТЛА-4 и непроменливото подрачје од ИгГ1 тешката верига. Вклучувањето на ИгГ1 со тешка верига во постојаното подрачје го зголемува периодот на полураспаѓање на растворливиот фузиски протеин. Ксеногеничниот пресадок покажал долготрајно преживување кај третираните глувци, но бил брзо отфрлен кај нетретираните контроли. Фактот што растворливата форма на ЦТЛА-4 рецепторот може да го блокира отфрлањето на човечкиот ткивен пресадок кај глувците-приматели е доказ дека блокирањето на костмулаторните сигнали ин виво е изводлива стратегија (слика 17-9).

Овие извонредни резултати биле проширени до пресадувањето на бубрези со неспарување за класа 1 и класа 2 противгените кај мајмуните од страна на Ален Кирк, Дејвид Харлан и нивните колеги. Примателите биле третирани 4 недели по пресадувањето или со ЦТЛА-4Иг, моноклонско противтело насочено против КД40Л или комбинацијата од двете. Нетретираните контролни животни ги отфрлиле неспарените бубрези во период од 5 до 8 дена, оние третирани со единичен агенс своите пресадоци ги задржале од 20 до 98 дена. Сепак, животните кои ги примиле и двата реагенси не покажале доказ на отфрлање до 150 дена по пресадувањето. Оваа супресија на алопресадочно отфрлање не довела до состојба на општа имуносупресија. Бројот на периферните Т-клетки останал нормален, а присутни биле и другите имунолошки функции, вклучувајќи ја и мешаната лимфоцитна реактивност помеѓу дарителот и примателите. Ако постапките кои се развиени за мајмуните можат успешно да се применат кај луѓето, тие процедури би можеле да го преобразат клиничкото пресадување. Способноста за блокирање на пресадочното отфрлање без општа имуносупресија и без штетните несакани ефекти од супресивните лекови би овозможила примателите да живеат нормален живот.

Агенсите употребувани во клиничкото пресадување се објаснети на слика 17-10, заедно со областите на дејство на тие лекови.



СЛИКА 17-10 **Области за дејство на разни агенски кои се користат при клиничкото пресадување**

Имунолошка толеранција на алопресадоците

Во одредени случаи пресадокот може да биде прифатен без употреба на имуносупресивни мерки. Очигледно, кај ткивата кои немаат алопротивгени, како што се ‘рскавицата или срцевите залистоци, не постои имунолошка бариера за пресадувањето. Сепак, понекогаш силно предвидениот одговор на алопресадокот не се појавува. Алопресадокот може да биде прифатен на еден од двата начина: кога клетките или ткивото се пресадени во т.н. привилигирано место кое е изолирано од надгледувањето на имуниот систем или кога биолошки била поттикната состојба на толеранција, обично преку претходно изложување на противгените од дарителот на начин кој предизвикува имунолошка толеранција наместо сензибилизација кај примателот. Секој од тие исклучоци е разгледан подоцна.

Привилигираните области прифаќаат неспарени противгени

Во имунопривилигирани области алопресадокот може да се постави без да предизвика одговор на отфрлање. Овие области ги вклучуваат предната комора на окото, рожницата, матката, тестисите и мозокот. Торбичката на образот од сирискиот мрзливец е привилигираната област за експерименти. Секоја од овие области се карактеризира со отсуство на лимфни садови и во некои случаи со отсуство и на крвни садови. Според тоа, алопротивгените од пресадокот не можат да ги сензибилизираат примателските лимфоцити, а пресадокот има зголемена веројатност за прифаќање дури и кога ХЛА-противгените не се спарени.

Привилигираниот статус на рожницата овозможил рожничките пресадувања да бидат мошне успешни. Мозокот е имунопривилигирана област бидејќи крвномозочната бариера го спречува навлегувањето или излегувањето на голем број молекули, вклучувајќи ги и противтелата. Успешното пресадување на алогеничните панкреасно-островните клетки во тимусот кај моделот на дијабетичен стаорец сугерира дека тимусот може исто така да биде имунопривилигирана област.

Имунопривилигираните области не успеваат да поттикнат имун одговор бидејќи тие ефективно се одделени од клетките на имуниот систем. Ова ја покажува можноста за физичко одделување на пресадените клетки. При едно проучување, панкреасните островни клетки биле капсулирани со полупропустливите мембрани (направени од акриличниот кополимер) и потоа пресадени во дијабетични глувци. Островните клетки преживеале и создавале инсулин. Пресадените клетки не биле отфрлени, бидејќи примателските имуни клетки не можеле да навлезат низ мембраната. Овој нов пресадувачки метод на дијабетичните глувци им овозможил да создаваат нормални нивоа на инсулин и може да најде примена кај луѓето за лекување на дијабетот.

Рано изложување на алопротивгените може да поттикне специфична толеранција

Во 1945 година, Реј Овен објавил дека неидентичните близнаци кај говедата ја задржуваат способноста да ги прифатат клетките или ткивото од генски различните браќа и сестри во текот на нивниот живот, за разлика од неидентичните близнаци кај другите видови цицачи. Споделената плацента кај говедата овозможува слободна циркулација на клетките од еден близнак на друг во текот на ембрионалниот период. Иако близнаците можеби наследиле различни противгени од мајката и таткото, тие не ги препознаваат противгените од нивниот плацентален партнер како туѓи и може да прифатат пресадоци од нив.

Експерименталната поддршка за забелешката дека толеранцијата доаѓа од изложувањето на алопротивгени на организмот кој се развива дојде од глувчешки експерименти. Ако новороденчињата на глувците од сојот А примаат клетки од сојот Ц, тие ќе прифатат пресадоци од сојот Ц како возрасни. Имунокомпетентноста на инјектираните глувци од сојот А и специфичноста на толеранцијата се прикажани со фактот дека тие отфрлаат пресадоци од други соеви со бризина, како и нетретираните глувци од леглото. Иако не постојат човечки

експериментални податоци кои покажуваат таква специфична толеранција, анегдотичните податоци посочуваат дека тоа може да се изврши и кај луѓето.

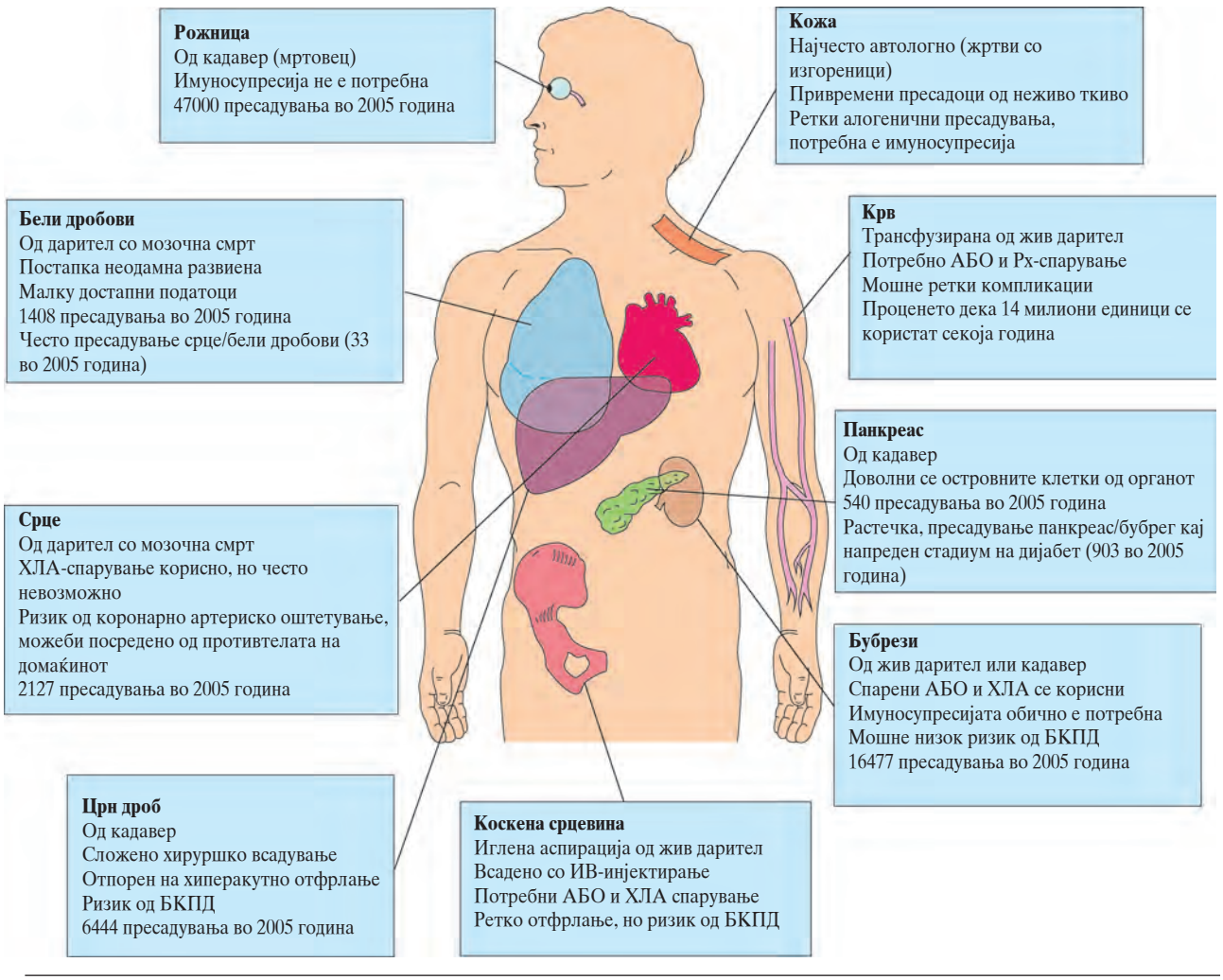
Постојат примери во кои алопресадоците неспарени за еден ХЛА локус се прифатени со мала или без имуносупресија. При случаите каде неспарен противген е прикажан од мајката, но не е наследен кај потомокот, постои можност перинаталното изложување да поттикнало последователна толеранција за тој противген. Бидејќи човечките мајчини клетки нормално не ја преминуваат плаценталната бариера, таквата специфична толеранција на ненаследни мајчини противгени би била повеќе исклучок отколку вообичаен процес.

Методи за искористување на толеранциските процеси за да овозможат прифаќање на алопресадоците, се проучени во животински модели, но имале мала примена во пресадувањето кај луѓето. Дали поттикнувањето на дарителската коскена срцевина може да поттикне состојба на измешан химеризам или манипулација на Трег-клетки за да поттикнат специфична толеранција ќе биде изводливо во пресадувањето кај луѓето тешко е да се предвиди, но и понатаму постојано се истражува.

Клиничко пресадување

За бројни болести, пресадокот е единственото средство за лекување. Слика 17-11 ги прикажува главните органски и клеточни пресадоци кои се пресадуваат денес. Според тоа, одредени комбинации на органи, како што се срце и бели дробови или бубрег и панкреас, се пресадуваат истовремено со растечка зачестеност. Од првото бубрежно пресадување извршено во 1950-та година, приближно 470 000 бубрези се пресадени ширум низ светот. Следниот најчесто пресадуван цврст орган е црниот дроб (78 000), по што следат срцето (55

ДЕТАЛНА СЛИКА 17-11:
Пресадувања кои рутински се користат во клиничката практика



За цврстите органи, наведен е бројот на пресадувања во САД за 2005 година. Вклучени се проценувањата и за другите органи доколку се достапни.

000) и најмалку белите дробови (10 000) и панкреасот (3500). Се проценило дека до крајот на 2005 година над 150 000 луѓе во САД живееле со пресаден цврст орган. Иако клиничките резултати од пресадувањето на разни клетки, ткива и органи кај луѓето значително се подобрени во последниве неколку години, сепак големите пречки за употребата на ова лекување постојат. Како што објаснивме претходно, употребата на имуносупресивните лекови значително го зголеми краткотрајното преживување на пресадокот, но медицинските проблеми се создаваат од употребата на овие лекови, а во повеќе случаи превладува хроничното отфрлање. Потребата за дополнителни пресадувања по отфрлањето го зголемува недостатокот на органите што претставува главна пречка за широката употреба на пресадувањето. Дел од органските системи за кои пресадувањето е често лекување се разгледани понатаму. Зачестеноста со која даден орган или ткиво се пресадени зависи од бројни фактори:

- Клинички состојби каде пресадувањето е индицирано
- Достапноста на ткива или органи
- Тешкотијата во изведување на пресадувањето и грижа за пациентите по пресадувањето
- Специфични фактори кои го помагаат или спречуваат прифаќањето на одреден пресадок

Итноста од пресадувањето може да зависи од засегнатиот орган. Во случаите со срцето, белите дробови и црниот дроб, мал број алтернативни постапки можат пациентот да го држат во живот кога овие органи престануваат со функција. Иако дијализата рутински се користи за одржување на пациентот кој чека бубрежен пресадок, пресадувањето вклучува сложен и прецизен режим, така што бројни пациенти самоволно се повлекуваат од третманот. Барањето вештачки органи продолжува, но нема објавени универзални долготрајни успеси.

Најчесто пресадуваниот орган е бубрегот

Како што споменавме претходно, најчесто пресадуваниот орган е бубрегот. Во 2005 година, во САД се извршиле 16 477 бубрежни пресадувања. Главни фактори кои придонесуваат за овој број се бројните клинички индикации за бубрежно пресадување. Голем број чести болести, како што се дијабетот и разните видови нефрит, резултираат со бубрежно откажување што може да се олесни со пресадување. Во однос на достапноста, бубрезите можат да се добијат не само од кадавери, туку и од живи роднини или волонтери, бидејќи можно е да се донира бубрег и да се живее нормален живот со другиот бурбег. Во 2005 година, 6562 од 16 477 пресадени бубрези во САД потекнуваат од живи дарители. Хируршките процедури за пресадување се директни. Технички, бубрегот е полесен за повторно вградување отколку црниот дроб или срцето. Бидејќи се извршени голем број бубрежни пресадувања, процедурите за грижа за пациентите и имуносупресивните мерки се детално разработени. Спарувањето на крвната и ткивносовпадливите групи при бубрежното пресадување е корисно бидејќи органот е во голем степен васкуларизиран, но бубрезите не претставуваат посебни проблеми кои поттикнуваат отфрлање или болест пресадок-против-домаќин (БППД), како што е случај со коскената срцевина или црниот дроб (објаснети се подоцна).

Двата проблеми со кои се соочуваат пациентите кои чекаат бубрег се недостатокот на достапни органи и растечкиот број сензибилизирани примателе. Вториот проблем произлегува од отфрлањето на првиот пресадок, кој потоа го сензибилизира лицето и води до создавање противтела и активација на клеточните механизми насочени против бубрежните противгени. Секој понатамошен пресадок кој содржи противгени кои се заеднички со првиот пресадок ќе биде брзо отфрлен. Според тоа, деталните процедури за ткивно типизирање мораат да се користат за да се утврди дека пациентот нема противтела или активни клеточни механизми кои се насочени против потенцијалниот дарителски бубрег. Во многу случаи, пациентите никогаш повеќе не можат да најдат спарувачки бубрег по една или две епизоди на отфрлања. Речиси секогаш е потребно за да се одржи бубрежниот пресадок пациентите да се во одредена форма на имуносупресија, обично до крајот на нивниот живот. За жал, ова ги зголемува компликациите, вклучувајќи го ризикот од рак и инфекција, како и другите несакани ефекти, како што се хипертензија и коскената метаболна болест.

Коскеносрцевинските пресадоци се користат против леукемија, анемија и имунонедостаток

По бубрегот, коскената срцевина е најчестиот пресадок. Уште од раните 80. години од дваесеттиот век, пресадувањето на коскена срцевина сè повеќе се прифаќа како терапија за бројни малигни и немалигни хематолошки болести, вклучувајќи ги леукемијата, лимфомот, апластичната анемија, големата таласемија и болестите со имунонедостатоци, посебно тешкиот комбиниран имунонедостаток или ТКИН-SCID (види поглавје 20). Коскената срцевина, која се добива од жив дарител преку повеќекратна иглена аспирација, се состои од еритроидни, миелоидни, моноцитоидни, магакариотскии и лимфоцитни лози. Пресадокот, обично околу 10^9 клетки по килограм телесна тежина на домаќинот, се внесува внатревенозно во примателот. Првото коскено срцевинско пресадување било извршено помеѓу идентични близнаци. Сепак, развојот на постапките за ткивно типизирање кои се објаснети претходно сега овозможуваат да се најдат алогенични дарители кои имаат ХЛА-противгени идентични или скоро идентични со тие на примателот. Иако доставувањето на коскена срцевина за пресадување не е проблем, пронаоѓањето на спарувачки дарител може да претставува пречка.

При вообичаена постапка, примателот на коскеносрцевинскиот пресадок е имуно супресиран пред пресадувањето. На пример, пациентите со леукемија често примаат циклофосфамид и зрачење на целото тело за да ги убијат сите канцерозни клетки. Имуносупресираната состојба на примателот го прави пресадочното отфрлање реткост. Сепак, бидејќи коскената срцевина на дарителот содржи имунокомпетентни клетки, пресадокот може да го отфрли домаќинот, предизвикувајќи **болест пресадок-против-домаќин (БППД).** БППД засега 50% до 70% од пациентите со коскеносрцевински пресадок, таа се развива кога дарителските Т-клетки препознаваат алопротивгени на клетките од домаќинот. Активацијата и пролиферацијата на овие Т-клетки и последователното создавање цитокини создаваат воспалителни реакции во кожата, гастроинтестиналниот тракт и црниот дроб. Во потешките случаи, БППД може да доведе до генерализирана еритродерма на кожата, гастроинтестинално крвавење и откажување на црниот дроб.

Разни третмани се користат за спречување на БППД при коскеносрцевинското пресадување. Пресадочниот примател обично е ставен на режим со имуносупресивни лекови, често вклучувајќи ги циклоспорин А и метотрексат, со цел да ги

попречат имуните одговори на дарителските клетки. При друг метод, дарителската коскена срцевина е третирана со против-Т-клеточен противсерум или моноклонски противтела специфични за Т-клетките пред пресадувањето, при тоа отстранувајќи ги напаѓачките Т-клетки. Сепак, целосното Т-клеточно отстранување од дарителската коскена срцевина ја зголемува веројатноста дека срцевината ќе биде отфрлена, и затоа сега вообичаена постапка е делумно Т-клеточно отстранување. Изгледа дека ниското ниво на дарителска Т-клеточна активност, што доведува до ниско ниво на БППД, всушност, е корисно бидејќи дарителските клетки ги убиваат сите Т-клетки од домаќинот кои го преживеале третманот на имуносупресија. Ова спречува и остаточните клетки од примателот да се сензибилизираат и да предизвикаат пресадочно отфрлање. Кај пациентите со леукемија, ниското ниво на БППД се чини доведува до уништување на леукемичните клетки на домаќинот, на тој начин овозможувајќи помала шанса леукемијата да се поврати.

Срцевото пресадување е предизвикувачка операција

Можеби најдраматично од сите пресадувања е срцевото, штом ќе се отстрани оштетеното срце, пациентот мора да се одржува жив преку целосно вештачки средства додека не се постави пресаденото срце и не започне со работа. По отстранувањето на срцето достапни се срцево-белодробни машини со кои крвта на пациентот циркулира и се снабдува со воздух. Дарителското срце мора да се одржи на таков начин за да почне со работа откога ќе се постави во примателот. Откриено е дека човечкото срце може да се одржи во живот ограничен период во мраз-ладни пуферни раствори (ice-cold buffer solutions) кои ефективно го скратуваат циркулирањето на електричните импулси кои го контролираат ритимичното биење, кое може да го оштети изолираниот орган. Хируршките методи за всадување на срце достапни се долги години. Првото срцево пресадување било извршено во Јужна Африка од страна на д-р Кристијан Барнанд, во 1964 година. Оттогаш, едногодишната стапка на преживување на срцевиот пресадок стана поголем од 80%. Во 2005 година, во САД се извршени 2127 срцеви пресадувања, а околу 3000 лица се на листата за чекање. Посебен проблем при срцевото пресадување е новиот вид атеросклеротска болест во коронарните артерии на вградениот орган. Постои веројатност дека противтелата од домаќинот посредуваат при оштетувањето на крвните садови кај донираното срце.

Иако срцевиот пресадок може да биде од голема корист кај пациентите со различни видови срцеви заболувања или оштетувања, очигледно е дека бројот на достапни срца е мошне ограничен. Жртвите од несреќните случаи кај кои е установена мозочна смрт, но имаат неоштетен циркулаторен систем и функционално срце се вообичаен извор за овие органи. ХЛА-спарувањето е посакувано, но не е често можно, поради ограничената достава на срца и итноста на процедурата.

Расте бројот на белодробните пресадувања

Во последниве години, белодробното пресадување, само по себе или во комбинација со срцево пресадување, се користи за лекување на болести како што се цистичната фиброза и емфиземот или акутното оштетување на белите дробови, како што е болеста предизвикана од пушењето. Во 2005 година, биле извршени 1408 белодробни и 33 срцево-белодробни пресадувања. Едногодишната стапка на преживувања за белодробните пресадоци е пријавено дека изнесува 60%.

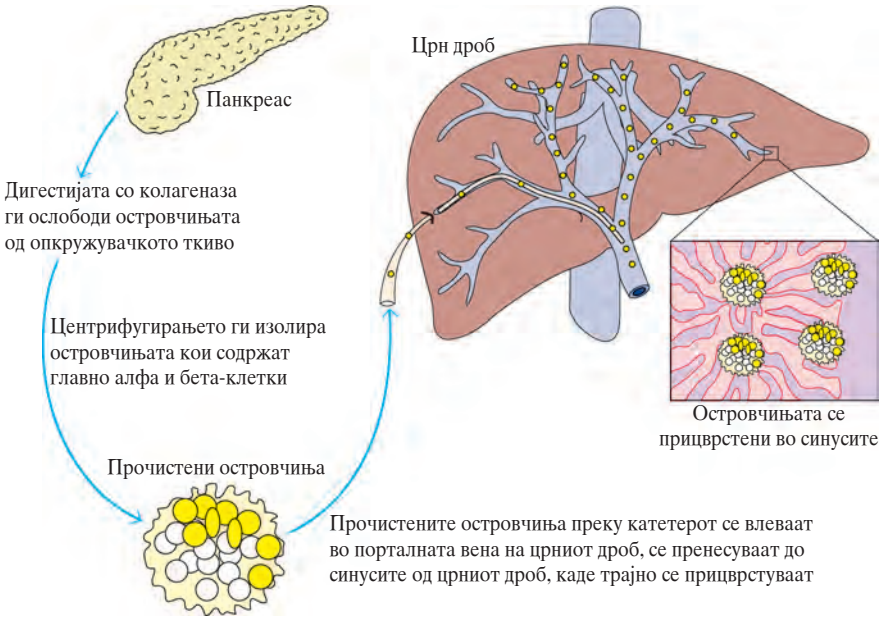
Црнодробните пресадувања лекуваат вродени дефекти и оштетувања од вирусни или хемиски агенси

Црниот дроб е голем орган кој извршува бројни функции кои се поврзани со отстранување и детоксикација на хемиските и биолошките супстанции. Откажување на работата на црниот дроб може да биде предизвикана од оштетуавње на органот од вирусни болести, како што е хепатитот или преку изложување на опасни хемикалии, како што е хроничниот алкохолизам. Оштетувањето на црниот дроб може само од себе да се поправи кога оштетеното ткиво се регенерира по отстранувањето на предизвикувачкиот агенс. Ако ткивото на црниот дроб не се регенерира, оштетувањето може да биде фатално. Повеќето пресадувања на црн дроб се употребени како лекување на вродени абнормалности на црниот дроб. Бидејќи црниот дроб е голем и има комплицирана циркулација, повторното всадување на црниот дроб на почетокот претставувало технички проблем. Развиени се техники за надминување на овој голем хируршки проблем, а едногодишната стапка на преживување порасна на 65%. Во 2005 година, 6444 црни дробови биле пресадени во САД. Сè повеќе црниот дроб од еден дарител може да се подели и да се даде на два примателе, обично децата го примаат помалиот дел, а возрасните поголемиот. Со почеток од 1998 година, бројот на живи дарители кои даваа дел од својот црн дроб на пациенти кои имаа потреба (обично блиски роднини) се зголемил од помалку од стотина на неколку стотици годишно.

Имунологијата на црнодробното пресадување е интересна бидејќи органот е отпорен на хиперакутно отфрлање преку противтело-посредуваните механизми. Се покажало дека дури и пресадувањето покрај крвногрупните бариери, кои се очекува да поттикнат хиперакутно отфрлање, може да биде успешно за краток период. Сепак, белите клетки во дарителскиот орган заедно со противтелата од противкрвната група можат да посредуваат противтело-зависна хемолиза на примателските црвени крвни клетки доколку постои неспарување на крвните групи. Покрај тоа, манифестациите на БППД се појавуваат и кај црнодробните пресадувања дури и кога дарителот и примателот се совпадливи во крвната група. Овие реакции очигледно се предизвикани од дарителските лимфоцити кои се пренесени со пресадениот црн дроб.

Пресадувањето на панкреасните клетки нуди лек за шеќерната болест

Една од најчестите болести во САД е шеќерната болест (дијабетес мелитус). Ова заболување е предизвикано од откажување на функцијата на инсулин-создавачките островски клетки во панкреасот. Пресадувањето на панкреасот може да овозможи погодни регулирани нивоа на инсулинот кој е потребен дијабетичните лица да оздраваат. Од неодамна, се пријавени стапки за едногодишен успех на панкреасниот пресадок од 55%. За да се поврати функцијата која е потребна за контролирано создавање на инсулинот, не е потребно целосно пресадување на панкреасот, туку пресадување само на островските клетки може да ја поврати функцијата.



СЛИКА 17-12 Процедури кои се користат за собирање и всадување на панкреасни островски клетки. Панкреасот се дигестира со колагеназа за да се ослободат островчињата од опкружувачкото ткиво. Потоа островчињата се прочистуваат преку градиентно центрифугирање и преку катетер се влеваат во порталната вена на црниот дроб, каде се вдомуваат во црнодробните синуси.

Од неодамна е започнато повеќецентрично проучување кое има за цел да создаде постапки за изолација и пресадување на островските клетки со цел да се лекува инсулин зависната шеќерна болест . Општата постапка, која е прикажана на слика 17-12, вклучува земање островски клетки и внесување во црниот дроб, каде трајно се фиксираат за синусоидите од црниот дроб. Почетните резултати покажуваат дека 53% од примателите по пресадувањето се инсулин-независни, дел од нив до период од 2 години. Околу 17% од примателите се повлекуваат или се повлечени од проучувањето, а останатите учесници сè уште бараат одреден надворешен инсулин, овие лица се кандидати за дополнителни пресадувања. Неколку фактори го фаворизираат преживувањето на функционалните панкреасни клетки, но најзначајна е состојбата на островските клетки кои се користени за всадување.

Бубрежното откажување е честа компликација на напреднатиот дијабет, кое се јавува кај околу 30% од дијабетичарите, што покажува дека може да е потребно истовремено бубрежно и панкреасно пресадување. Во 2005 година, имало 504 панкреасни пресадувања и 903 истовремени пресадувања на бубрези и панкреас. Дали е подобро да се извршува истовремено пресадување на бубрези и панкреас или тоа да се прави посебно, останува проблем кој треба да се реши врз база на испитувањата кај различни случаи. Сепак, вредноста на бубрежниот пресадок кај дијабетичарите е прикажана со фактот дека просечното време на преживување за дијабет тип 1 при дијализа изнесува 3,5 години во споредба со стапката на преживување од 72% во период од 8 години кај приматели на жив бубрежен пресадок.

Кожните пресадоци се користат за лекување на лицата со изгореници

Повеќето кожни пресадувања кај луѓето се извршуваат со автологно ткиво. Сепак, при случаите со тешки изгореници, може да се користат пресадоци од туѓа кожа одмрзнати од резервоарите со замрзнато ткиво. Овие пресадоци во основа дејствуваат како биолошка облека, бидејќи клеточните елементи повеќе не се употребливи, а пресадокот не заживува во новиот домаќин, пресадоците опстојуваат неколку дена, но подоцна се заменуваат соодветно. Во одредени случаи, се изавршува вистинско пресадување на кожата преку употреба на алогена кожа од жив дарител, но отфрлањето мора да се спречи со употреба на имуносупресивна терапија. Ова не е пожелно бидејќи главниот проблем кај лицата со изгореници е високиот ризик од инфекција, а имуносупресијата го нагласува ваквиот ризик.

Наведената листа на честите пресадувања ни оддалеку не ги влучува сите пресадувања и се очекува да се прошири во текот на следниве неколку години. На пример, внатрецеребралните неврални клеточни пресадоци успешно ја поврaќаат функционалноста кај лицата со Паркинсонова болест. При проучувањата кои досега се извршени, изворот на неврални клетки е човечкиот ембрион, а се тестира можноста за употреба на такви пресадоци од други животински видови. Се поддржува употребата на крвни клетки од папочната врвца кај пациентите со леукемија, така што се зголемуваат резервоарите за чување крв од папочната врвца. Предностите вклучуваат критериуми кои не треба да се исполнат до голем степен како за коскеносрцевинското пресадување заедно со олеснувањето за земање од резервоарите. Недостатокот за постарите приматели е релативно нискиот број на хематопоетските родителски клетки во крвта од папочната врвца.

Ксенопресадувањето може да биде одговор за недостатокот на дарителски органи

Иако имуниот систем претставува цврста бариера за употребата на пресадувањето, направен е значаен напредок за надминување на оваа пречка. Сепак, немаше голем напредок при решавањето на сложениот проблем со пронаоѓањето на органи за лицата кои имаат потреба од нив. Недоволната достава на достапни органи значи дека значителен процент од пациентите

умираат додека чекаат пресадок. За лицата кои чекаат бубрег има стапка на смртност од 6%, а 14% за пациентите на кои им треба срце. Потребата од алтернативни извори за дарителски органи се фокусираше врз ксенопресадувањето. Поголемите нечовечки примати (шимпанзата и бабуните) служеле како главни дарители за органи и, како што е објаснето во клиничкиот фокус, како извор на органи за употреба кај луѓето можат да се одгледаат генски модифицираните свињи.

Најраните пресадувања на бубрези од шимпанза кај луѓето датираат од 1964 година. Уште оттогаш, се прават повремени обиди за пресадување на бубрези, срце, црн дроб и коскена срцевина од примати кај луѓето. Ниеден обид немал голем успех, но некои од нив привлекле внимание. Во 1993 година, Т.Е. Штрацл извршил две пресадувања на црн дроб од бабуни кај пациенти кои страдаат од црнодробно откажување. Двајцата пациенти умреле, едниот по 26 дена, а другиот по 70 дена. Во 1994 година, на 26-годишно лице кое страда од акутно црнодробно откажување му бил пресаден црн дроб од свиња. Црниот дроб функционирал само 30 часа пред да биде отфрлен со хиперакутна реакција на отфрлање. Во 1995 година коскена срцевина од бабун била внесена кај ХИВ заразен маж за да се засили ослабениот имун систем со имуни клетки од бабунот, кои не се инфицирани со вирусот. Иако немало компликации од пресадокот, бабунската коскена срцевина не се втемелила во примателот.

Голем проблем со ксенопресадувањето е тоа што имуното отфрлање често е мошне енергично, дури и кога примателите се третирани со моќни имуносупресивни лекови како што се ФК506 или рапамицин. Главниот одговор вклучува дејство на хуморално противтело и комплемент, што води до развој на хиперакутен одговор на отфрлање. Во однос на проблемот со отфрлањето, постои општа загриженост дека ксенопресадувањето го има потенцијалот за ширење патогени од дарителот кај примателот. Овие патогени можат да предизвикаат болести, наречени ксенозоонози, кои се фатални за луѓето. На пример, одредени вируси, каде спаѓаат и вирусите кои се тесно поврзани со ХИВ-1, кои се среќаваат кај шимпанзата и ХИВ-2 и херпесвирусот Б, кои се појавуваат кај одредени видови примати, предизвикуваат орграничена патогенеза кај приматите, но кај луѓето можат да доведат до смртоносна инфекција. Според тоа, постои страв дека ретровирусите кај приматите (види поглавје 20), како СИВ, може да се рекомбинира со човечките варијанти и да предизвика создавање нови агенси на болеста. Можноста за појава на нови вируси кај луѓето можеби е поголема за пресадувањето од тесно сродните видови, како што се приматите, а помала во случајот со подалечно сродните видови, како што се свињите, бидејќи помала е веројатноста дека вирусите ќе се размножат кај клетки од несродни видови.

Собирок

- Пресадочното отфрлање претставува имун одговор кој ги прикажува особините на специфичност, меморија и сопствено-несопствено препознавање. Постојат три главни типови реакции за отфрлање:
- Хиперакутно отфрлање, посредувано од веќе постојните противтела од дарителот за пресадочните противгени.
- Акутно пресадочно отфрлање, каде Тпо клетките и/или ЦТЛ посредуваат во ткивното оштетување.
- Хронично отфрлање, кое ги вклучува и двата дела и клеточниот и хуморалниот имунитет.
- Имуниот одговор на ткивните противгени кои се кодирани со главниот ткивносовпадлив комплекс е најмоќната сила при отфрлањето.
- Спарувањето помеѓу примателот и потенцијалните дарители на пресадокот се проценува преку типизирање на противгените од крвната група и ГТК класа 1 и класа 2 ткивните противгени.
- Процесот на пресадочно отфрлање може да се подели на стадиум на сензибилизација, каде Т-клетките се стимулираат, и ефекторен стадиум, каде тие го напаѓаат пресадокот.
- При повеќето клинички ситуации, пресадочното отфрлање е супресирано преку неспецифични имуносупресивни агенси или преку целосно лимфоидно рендгенско зрачење.
- Експерименталните методи кои употребуваат моноклонски противтела ја нудат можноста за специфична имуносупресија. Овие противтела може да дејствуваат преку:
- популациско отстранување на реактивните клетки
- попречување на костимулаторните сигнали кои водат до анергија кај специфично реактивните клетки
- Одредени области од телото, вклучувајќи ги рожницата од окото, мозокот, тестисите и матката, не отфрлаат пресадоци и покрај генетското неспарување помеѓу дарителот и примателот.
- Специфичната толеранција на алопротивгените е поттикната преку нивно изложување ин утеро или преку инјектирање во новороденчињата.
- Главна компликација при коскеносрцевинското пресадување е одговорот пресадок-против -домаќин, посредуван од лимфоцитите кои се содржат во дарителската коскена срцевина.
- Значителниот недостаток на достапни органи за пресадување во иднина може да се реши преку употреба на органи од нечовечки видови (ксенопресадување).

Референции

Adams, D. H. 2000. Cardiac xenotransplantation: clinical experience and future direction. Annals of Thoracic Surgery 70:320.

Auchincloss, H., M. Sykes, and D. H. Sachs. 1999. Transplantation immunology. In Fundamental Immunology, 4th ed. W. E. Paul, ed. Lippincott-Raven, Philadelphia, p. 1175.

Claas, F. H. J., et al. 2004. A critical appraisal of HLA matching in today's renal transplantation. Transplantation Reviews 18:96.

Fox, A., and L. C. Harrison. 2000. Innate immunity and graft rejection. Immunological Reviews 173:141.

Halloran, P. F. 2004. Immunosuppressive drugs for kidney transplantation. New England Journal of Medicine 351:26.

Harlan, D. M., and A. D. Kirk. 1999. The future of organ and tissue

transplantation: can T-cell co-stimulatory pathway modifiers revolutionize the prevention of graft rejection? *Journal of the American Medical Association* 282:1076.

Kuwaki, K., et al. 2005. Heart transplantation in baboons using alpha 1,3 galactosyltransferase gene-knockout pigs as donors: initial experience. *Nature Medicine* 11:29.

Lenschow, D. J., et al. 1992. Long-term survival of xenogeneic pancreatic islets induced by CTLA4-Ig. *Science* 257:789.

Obata, F., et al. 2005. Contribution of CD41 and CD81 T cells and interferon-gamma to the progress of chronic rejection of kidney allografts: the Th1 response mediates both acute and chronic rejection. *Transplant Immunology* 14:21.

Ricordi, C., and T. B. Strom. 2004. Clinical islet transplantation: advances and immunological challenges. *Nature Reviews Immunology* 4:259.

Sayegh, M. H., and C. B. Carpenter. 2004. Transplantation 50 years later—progress, challenges, and promises. *New England Journal of Medicine* 351:26.

Waldmann, H., and S. Cobbold. 2004. Exploiting tolerance processes in transplantation. *Science* 305:209.

Walsh, P. T., T. B. Strom, and L. A. Turka. 2004. Routes to transplant tolerance versus rejection: the role of cytokines. *Immunity* 20:121.

Корисни веб-страни

http://www.transweb.org

Линкови до стотици страни кои даваат информации за сите аспекти на органското пресадување.

http//www.unos.org

Страната на United Network for Organ Sharing содржи информации кои се однесуваат на пресадувањето на солидните-цврстите органи за пациенти, семејства, доктори и учители.

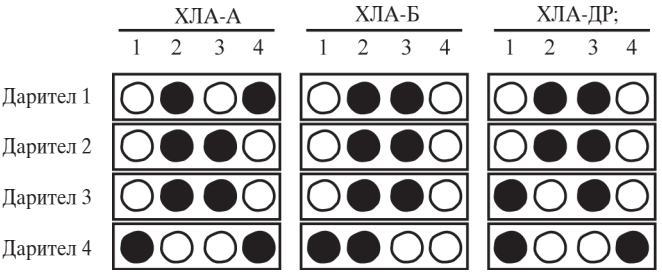
htpp/:www.narrow.org

Страната на National Marrow Donor Program Web содржи информации за сите аспекти на коскеносрцевинското пресадување.

Прашања за учење

ПРАШАЊА ОД КЛИНИШКИ ФОКУС Кои особини ќе бидат посакувани кај идеален животински дарител за ксенопресадување? Како ќе го тестирате вашиот модел пред да направите клинички испитувања кај луѓето?

1. Наведете кој од следниве искази е точен или неточен. Доколку мислите дека одреден исказ не е точен, објаснете зошто?
   а. Акутното отфрлање е посредувано од веќе постојни противтела во домаќинот кои се специфични за противгените од пресаденото ткиво.
   б. Отфрлање на втор пресадок е манифестација на имуното паметење.
   в. Стеблестите клетки од домаќинот може да се преселат во пресаденото ткиво и да дејствуваат како противген-прикажувачки клетки.
   г. Сите алопресадоци помеѓу индивидуи со идентични ХЛА хаплотипови ќе бидат прифатени.
   д. Цитокините создадени од страна на Тпо-клетки од домаќинот активирани при одговор на алопротивгените играат главна улога при пресадочното отфрлање.
2. Вие сте хирург во голема установа за пресадување. Еден од вашите пациенти чека бубрежен пресадок. Поради тешка



несреќа неколку кадаверични органи стануваат достапни. Вашиот техничар извршува микролимфоцитотоксичен тест на потенцијалните дарители и ги добива следните резултати. Вашиот пациент е претходно тестиран и е позитивен за противтелата кои се употребени во бунарчињата 2 и 3, и негативен за противтелата кои се употребени во бунарчињата 1 и 4 за секоја од ХЛА одредниците.
   а. Кој дарител ќе биде вашиот прв избор.
   б. Доколку тој орган не може да се употреби, кој од останатите органи би го употребиле?
   в. Која е научната основа за вашата одлука?
   г. Кој тест ќе го изврши вашиот техничар за да потврди дека потенцијалниот дарител е совпадлив со примателот?

Дарител	Прима тел
БАЛБ/ц	Ц3Х
БАЛБ/ц	Стаорец
БАЛБ/ц	Гол глушец
БАЛБ/ц	Ц3Х, примиле претходен БАЛБ/ц пресадок
БАЛБ/ц	Ц3Х, примиле претходен Ц57БЛ/6 пресадок
БАЛБ/ц	БАЛБ/ц
БАЛБ/ц	(БАЛБ/ц х Ц3Х)$Ф_1$
БАЛБ/ц	(Ц3Х х Ц57БЛ/6)$Ф_1$
(БАЛБ/ц Ц Ц3Х)$Ф_1$	БАЛБ/ц
(БАЛБ/ц Ц Ц3Х)$Ф_1$	БАЛБ/ц, примиле претходен Ф1 пресадок

3. Наведете дали кожните пресадоци од секој дарител за секој прима тел кои се наведени во табелата долу ќе доведуваат до отфрлање (О) или прифаќање (П). Ако мислите дека ќе настане реакција на отфрлање, наведете дали ќе биде одговор на прво отфрлање (ОПО), кој се јавува по 12 до 14 дена, или одговор на второ отфрлање (ОВО), кој се јавува по 5 до 6 дена. Сите наведени глувчешки соеви имаат различни Х-2 хаплотипови.
4. Болеста пресадок-против-домаќин (БППД) често се развива по одредени видови пресадување.

а. Накратко, наведете ги механизмите кои се вклучени во БППД.
б. Под кои услови БППД веројатно ќе настане?
в. Одредени истражувачи откриле дека БППД може да се отстрани преку претходно третирање на пресадокот со моноклонско противтело плус комплемент или со моноклонско противтело конјугирано со токсини. Наведете најмалку два клеточноповршински противгени за кои моноклонските противтела можат да се подготват и искористат за оваа цел и дадете ја причината за вашите избори.

5. На дете кое има потреба од бубрежен пресадок понуден му е бубрег од двајцата родители и од петте браќа и сестри.

а. Клетките од потенцијалните дарители се испитувани со моноклонски противтела за ХЛА-А, -Б и -Ц противгени преку микролимфоцитотоксичен тест. Според тоа, извршено е и типизирање на АБО-крвните групи. Врз база на овие резултати во табелата долу, бубрегот од кој дарител(и) има најголема шанса за преживување?
б. Сега е извршена еднонасочна МЛР со употреба на различни комбинации од митомицин-третирани лимфоцити. Резултатите, кои се прикажуваат како број на вградување на [^{3}H]тимидин во минута, се прикажани во табелата долу. Индексот на стимулација (односот на експерименталната вредност на контролата во која се измешани идентичните лимфоцити) е означен во загради. Врз база на овие податоци, од кој дарител(и) пресадокот има најголема веројатност да биде прифатен?

6. Која е биолошката основа при обид за употреба на растворлив ЦТЛА-4 или против-КД40Л за блокирање на алопресадочното отфрлање? Зошто ова може да биде подобро отколку третирањето на примателот на пресадокот со ЦсА или ФК506?

7. Веднаш по пресадувањето, пациентот прима мошне силни дози на лекови за противотфрлање, а потоа се намалуваат како што минува времето. Објаснете ги ефектите на често употребуваните лековите за противотфрлање азатиоприн, циклоспорин А, ФК506 и рапамицин. Зошто е можно да се намали употребата на дел од овие лекови при една фаза по пресадувањето.

	АБО тип	ХЛА-А тип	ХЛА-Б тип	ХЛА-Ц тип
Прима тел	0	*A1/A2*	*B8/B12*	*Cw3*
Мајка	A	*A1/A2*	*B8/B12*	*Cw1/Cw3*
Татко	0	*A2*	*B12/B15*	*Cw3*
Дете А	0	*A1/A2*	*B12*	*Cw3*
Дете Б	0	*A2*	*B8/B12*	*Cw1/Cw3*
Дете В	0	*A1/A2*	*B8/B12*	*Cw3*
Дете Г	A	*A1/A2*	*B8/B12*	*Cw3*
Дете Д	0	*A1/A2*	*B8/B15*	*Cw3*

Интерактивно учење

www.whfreeman.com/kuby

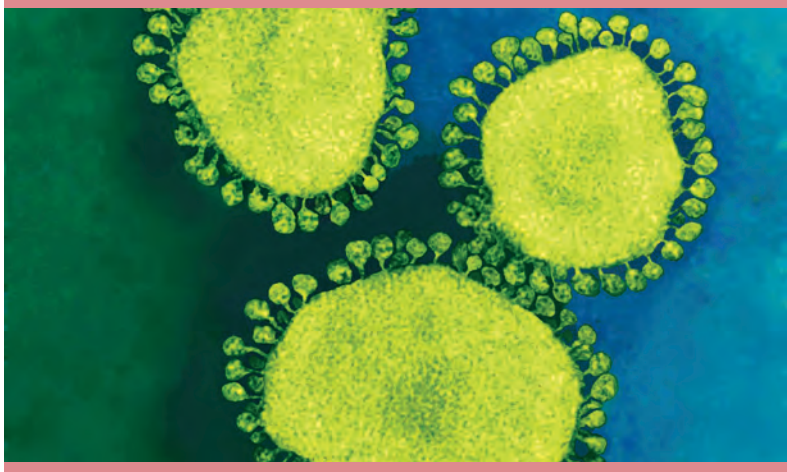
Самотестирање
Преглед на клучни изрази

За употреба со прашање 5б

Одговарачки клетки	Митомицин Ц третирани клетки					
	Пациент	Дете А	Дете Б	Дете В	Дете Г	Дете Д
Пациент	1,672 (1.0)	1,800 (1.1)	13,479 (8.1)	5,210 (3.1)	13,927 (8.3)	13,808 (8.3)
Дете А	1,495 (1.6)	933 (1.0)	11,606 (12.4)	8,443 (9.1)	11,708 (12.6)	13,430 (14.4)
Дете Б	25,418 (9.9)	26,209 (10.2)	2,570 (1.0)	13,170 (5.1)	19,722 (7.7)	4,510 (1.8)
Дете В	10,722 (6.2)	10,714 (5.9)	13,032 (7.5)	1,731 (1.0)	1,740 (1.0)	14,365 (8.3)
Дете Г	15,988 (5.1)	13,492 (4.2)	18,519 (5.9)	3,300 (1.1)	3,151 (1.0)	18,334 (5.9)
Дете Д	5,777 (6.5)	8,053 (9.1)	2,024 (2.3)	6,895 (7.8)	10,720 (12.1)	888 (1.0)

Поглавје 18

Имун одговор на инфективни болести



SARS коронавирус. [Dr. Linda Stanard, UCT/Photo Researchers.]

- Вирусни инфекции
- Бактериски инфекции
- Паразитарни болести
- Габични болести
- Инфективни болести кои се појавуваат

Ако одреден патоген сака да воспостави инфекција во осетлив домаќин, мора со серија на координирани процеси да ги заобиколи вродениот и стекнатиот имунитет. Една од првите и најзначајни карактеристики на вродениот имунитет на домаќинот е бариерата овозможена од епителните површини на кожата и цревото. Тешкотијата да се навлезе преку овие епителни бариери резултира со фактот дека повеќето патогени никогаш не стекнуваат продуктивен влез во домаќинот. Покрај обезбедувањето на физичка бариера против инфекцијата, епителот создава хемикалии кои се корисни за спречување на инфекцијата. Секрецијата на гастричните ензими од специјализираните епителни клетки го намалува pH-то на желудникот и горниот гастроинтестинален тракт, а други специјализирани клетки на цревата создаваат противбактериски пептиди.

Главна карактеристика на вродениот имунитет е присуството на нормалната флора во гастроинтестиналниот, генитоуринарниот и респираторниот тракт. Овие така-наречени комензални организми компетитивно го инхибираат врзувањето на патогените за клетката домаќин. На пример, клеточните ѕидови на некои грам-позитивни бактерии содржат пептидогликан кој ја активира алтернативната комплементна патека, што води до опсонизација и фагоцитоза или можеби лиза (види поглавје 7). Некои бактерии создаваат ендотоксини како што е ЛПС, кој го стимулира создавањето на цитокини како што се ТНФ-алфа, ИЛ-1 и ИЛ-6 од макрофагите или ендотелните клетки. Овие цитокини можат да ги активираат макрофагите. Фагоцитозата на бактериите од неутрофилите и другите фагоцитни клетки е друга високо ефективна линија на вродената одбрана. Сепак, одредени видови на бактерии кои вообичаено растат внатреклеточно развиле механизми кои им овозможуваат да бидат отпорни на разградување во фагоцитот.

Вирусите вообичаено ги стимулираат вродените реакции. Особено, голем број вируси го поттикнуваат создавањето на интерфероните, кои можат да ја инхибираат вирусната репликација преку поттикнување на противвирусен одговор. Вирусите исто така се контролирани од КПУ, кои често ја сочинуваат првата линија на одбрана против вирусните инфекции (види поглавје 14).

Обично, патогените користат голем број стратегии за да избегнат уништување од страна на стекнатиот имун систем. Голем број патогени ја намалуваат нивната противгеност или преку растење во клетките на домаќинот, каде се скриени од имун напад, или преку отфрлање на нивните мембрански противгени. Други патогени се камуфлираат преку имитирање на површината на клетката домаќин, или преку прикажување на молекулите со аминокиселински секвенци слични на мембранските молекули на клетката домаќин или преку добивање на заштита од мембранските молекули на домаќинот. Одредени патогени можат селективно да го супримираат имуниот одговор или го регулираат при што ќе се активира гранка од имуниот систем која не е ефективна против патогенот. Постојаната варијација на површинските противгени е друга стратегија која на противгенот му овозможува да го избегне имуниот систем. Оваа противгена варијација може да се должи на постепената акумулација на мутации или може да вклучува ненадејна промена во површинските противгени.

Иако и вродените и стекнатите имуни одговори на патогените овозможуваат значителна одбрана, инфективните болести сè уште предивикуваат смрт на милиони лица секоја година. Широката употреба на вакцините и терапијата со лекови значително ја намалиле смртноста од инфективни болести во развиените земји, но таквите болести и понатаму се водечка причина за смрт во Третиот Свет. Во светски рамки, 15 милиони смртни случаи секоја година се директна последица од инфективните болести (слика 18-1). За споредба, има околу 7,1 милиони со канцер-поврзани смртни случаи и околу



Инфективни болести	Годишни смртни случаи
Респираторни инфекции	3,96
ХИВ/СИДА	2,77
Дијареални болести	1,80
Туберкулоза	1,56
Детски болести кои се спречуваат со вакцина	1,12
Маларија	1,27
ППБ (кои не се ХИВ)	0,18
Менингитис	0,17
Хепатитис Б и Ц	0,16
Тропски паразитски болести	0,13
Денга	0,12
Други инфективни болести	1,76

СЛИКА 18-1 Инфективните болести се меѓу водечките причини за смрт во светски рамки. 14,9 милиони смртни случаи кои директно се припишуваат на инфекциите се категоризирани во тебелата.

16,7 милиони смртни случаи предизвикани од откажувањето на кардиоваскуларните функции. Како додаток на теретот на инфективните болести кој најтешко е носен од замјите во развој, одредени болести почнуваат да се појавуваат или повторно се појавуваат во развиените земји. Новите болести како што е тешкиот акутен респираторен синдром предизикан од коронавирусот САРС можат нагло да се прошират како резултат од меѓународната подвижност. Видовите инфлуенца кои преовладуваат кај птиците се адаптираат да предизвикаат хумана инфекција со висока стапка на смртност бидејќи луѓето против овие видови имаат развиено мал имунитет. Претходно ретките инфекции од одредени бактерии или габи зачестуваат поради порастот на бројот на луѓе со намален имунитет предизвикан од ХИВ инфекцијата и употребата на имуносупресивните лекови дадени за различни цели. Повторното појавување на болестите како што се оние предизвикани од резистентните типови на *Staphylococcus aureus* и *Mycobacterium tubercolosis* се шират со алармантна стапка во земјите во развој и во индустријализираните земји. Во одредени случаи, обична бактерија може да се поврзе со нова болест, како што е некротизирачкиот фасциитис предизвикан од таканареченият тип кој јаде месо на *Streptococcus aureus*, организам кој најчесто е поврзан со сега ретката болест шарлах.

Ние се потпираме на нашите имуни системи дека ќе нè заштитат од честите и сèприсутните патогени како и од оние кои ќе се појават во иднина. Опстанокот на човечката раса до денес говори дека ова е реално очекување, но на големиот број на патогени со брзо развивачка генетика може да им биде овозможено да изградат цврста подлога во нашиот вид. Неодамнешната историја на ХИВ/СИДА (види поглавје 20) ни ја прикажа заканата која инфективните болести ја претставуваат за јавното здравје. Патогените кои успешно и брзо го соборуваат имуниот систем можат да предизвикаат големи болки. Иако имуниот систем нè заштитува, патогенезата на бројни болести не резултира од директниот напад на клетките или ткивата од патогените и нивните токсини, туку од оштетувањето предизикано од имуниот одговор на домаќинот. Таквото оштетување може да се појави за време на инфекцијата или неколку месеци по поминувањето на болеста. Постинфективниот артритис и гломерулонефритис се примери за такви пост-ефекти или секвели од болеста. При справувањето со инфекција, имунитетот е моќна сила која треба да воспостави деликатна рамнотежа помеѓу отстранувањето на патогенот и заканата од повреда на домаќинот.

Во ова поглавје, концептите на имунитетот кои се објаснети во текстот се однесуваат на избрани инфективни болести предизвикани од вирусите, бактериите, паразитите и габите - четирите главни видови на патогени. Не е возможно во едно поглавје да се покријат сите познати болести, така што за објаснување ги избравме честите болести кои засегаат голем број лица и/или кои покажуваат општи концепти, како и одредени болести кои неодамна се појавија на насловните страни.

Вирусни инфекции

Вирусите се мали сегменти од нуклеинска киселина со протеинска или липопротеинска обвивка. За репликација потребни им се ресурсите на домаќинот. Обично, вирусот навлегува во клетката преку клеточен површински рецептор за кого има афинитет и ја узурпира клеточната биосинтетска машинерија за да реплицира само сопствени делови, вклучувајќи го и геномот. Во голем број случаи, процесот на геномска репликација е склон кон грешки, создавајќи бројни мутации. Бидејќи во репликативниот циклус се создаваат бројни нови вируси, овие мутанти може да се селектираат поради способноста сами да се размножуваат.

Од гледна точка на опстанокот, вирусот поверојатно ќе напредува ако не го убие домаќинот: одржливата коегзистенција е во прилог на продолжен опстанок на вирусот. Сепак, променливоста на вирусниот геном понекогаш создава смртоносни мутанти кои не се задоволуваат со оваа состојба на рамнотежа со домаќинот. Ако таквите мутанти предизвикаат смрт кај нивниот домаќин, опстанокот на вирусот бара тој да се шири кај нови домаќини пред да престане репликацијата во оригиналниот домаќин. Меѓу стратегиите за опстанок кои им се достапни на вирусите се долгиот латентен период пред

ТАБЕЛА 18-1 Механизми на хуморалните и клеточно-посредуваните имуни одговори на вирусите

Вид на одговор	Ефекторна молекула или клетка	Активност
Хуморален	Противтело (особено секреторно ИгА)	Го блокираат врзувањето на вирусите за клетката домаќин и на тој начин спречуваат инфекција или реинфекција
	ИгГ, ИгМ и ИгА противтела	Ја блокираат фузијата на вирусната обвивка со плазма мембраната на клетката домаќин
	ИгГ и ИгМ противтела	Ја засилуваат фагоцитозата на вирусните честици (опсонизација)
	ИгМ противтело	Ги аглутинира вирусните честици
	Комплемент активиран со ИгГ или ИгМ противтела	Ја посредува опсонизацијата од К3б и лизата на обвитканите вирусни честици од мембранскиот атак комлекс
Клеточно посредуван	ИФН-гама секретиран од Тпо или Т цт клетки	Има директна противвирусна активност
	Цитотоксични Т лимфоцити (ЦТЛ)	Ги убива вирусно-заразените сопствени клетки
	КПУ и макрофаги	Ги убива вирусно-заразените клетки преку противтелно зависна клеточно-посредувана цитоксичност (ПЗКЦ)

да се појави тешка болест или смрт, време за кое домаќинот може да го пренесе вирусот на други лица. ХИВ користи таква стратегија. Друга стратегија е лесно пренесување, каде инфекцијата успешно се пренесува дури и при кратка акутна болест. Ваква стратегија користат вирусите на инфлуенца и големи сипаници. Животниот циклус на вирусите кои се патогени за луѓето може исто така да вклучува и нечовечки домаќини. На пример, Западен Нил вирусот (ЗНВ) многу добро се реплицира кај одредени видови на птици и се пренесува преку комарци од заразените птици до т.н. непренесувачки домаќини како што се луѓето и коњите. Пренесувањето на ЗНВ помеѓу луѓето преку комарците е недоволно бидејќи титарот на вирусот во човечката крв е низок, а количеството на крв кое е пренесено со убодот на инсектот е мало и не содржи доволно вирус за да предизвика инфекција. Сепак, ЗНВ помеѓу луѓето може да се пренесе преку крвни трансфузии и може да биде пренесен од заразени бремени мајки на нивните новороденчиња.

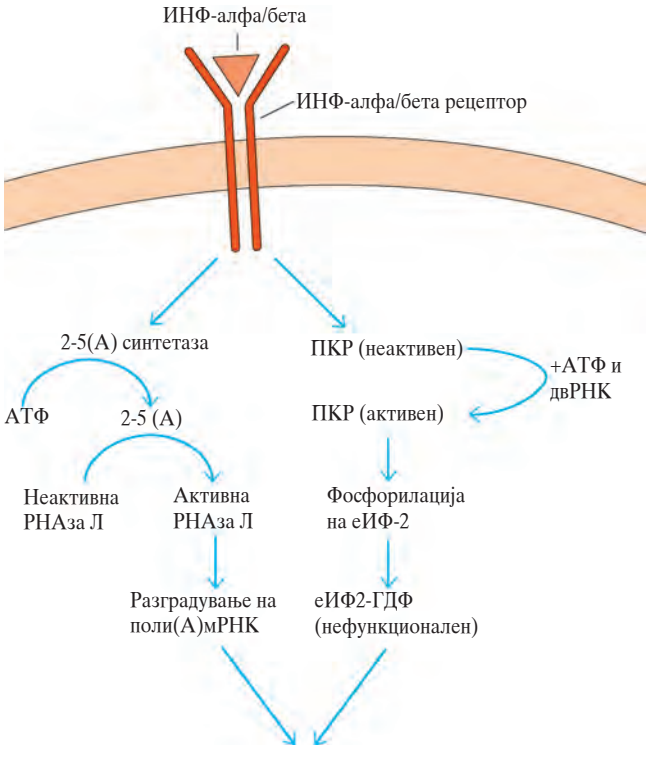
Бројни специфични имуни ефекторни механизми, заедно со неспецифичните одбранбени механизми, се вклучени во игра за спречување или отстранување на вирусната инфекција (табела 18-1). Преминот преку мукозата на респираторниот, генитоуринарниот и гастроинтестиналниот тракт се однесува на повеќето вирусни трансмисии. Навлегување на вирусот исто така може да се случи и кај оштетена кожа, обично како резултат од убод на инсект или убодна рана. Штом навлезе во домаќинот, вирусот е подложен на напад од вродените и стекнатите имуни механизми насочени кон негово уништување. Исходот на инфекцијата зависи од тоа колку успешно одбранбените механизми на домаќинот даваат отпор кон напаѓачката тактика на вирусот.

Вродениот имун одговор на вирусна инфекција првенствено се состои од поттикнување на тип 1 интерфероните (ИФН-алфа и ИФН-бета) и активацијата на КПУ. Молекулите на двојно-верижната РНК (двРНК) кои се создаваат во животниот циклус на вирусот се откриваат од Толовидните рецептори (ТВР), кои поттикнуваат прикажување на ИФН-алфа и ИФН-бета на инфицираната клетка. Овие цитокини исто така можат да се создаваат од макрофагите, моноцитите и фибробласти, но механизмите кои поттикнуваат создавање на тип 1 интерфероните во овие клетки не се целосно јасни. ИФН-алфа и ИФН-бета можат да поттикнат противвирусен одговор или отпор на вирусната репликација преку врзување со ИФН-алфа/бета рецепторот, и при тоа ја активираат JAK-СПАП патеката (види поглавје 12-10), која последователно поттикнува препишување на неколку гени. Еден од овие гени го кодира ензимот познат како 2'-5'-олиго-аденилат синтетаза, која активира рибонуклеаза, (РНКза Л), која ја разложува вирусната РНК. Други гени кои се активираат со врзувањето на ИФН-алфа/бета за неговиот рецептор исто така придонесуваат за попречувањето на вирусната репликација. На пример, врзувањето на ИФН-алфа/бета поттикнува специфична протеинска киназа наречена двРНК-зависна протеинска киназа (скратено ПКР, поради предходниот назив, протеинска киназа, РНК зависна), што води до инактивација на протеинската синтеза и на тој начин се блокира вирусната репликација во заразените клетки (слика 18-2).

Врзувањето на ИФН-алфа и ИФН-бета за КПУ поттикнува литична активност, правејќи ги поефикасни во убивањето на вирусно-заразените клетки. Активноста на КПУ е исто така засилена со ИЛ-12, цитокин кој се создава многу рано при одговор на вирусна инфекција.

Голем број вируси се неутрализирани со противтела

Противтелата специфични за противгените од вирусната површина често се значајни за спречување на ширењето на вирусот при акутна инфекција и во заштитата против реинфекција. Противтелата се особено ефикасни во заштитата против инфекција ако се локализирани во областа каде вирусот навлегол во телото. Повеќето вируси прикажуваат површински рецепторни молекули кои им овозможуваат да поттикнат инфекција преку врзување за специфични мембрански молекули на клетката домаќин. На пример, инфлуенца вирусот се врзува за остатоците од сијаличната киселина на мембранските гликопротеини и гликолипиди, риновирусот се врзува за меѓуклеточните адхезивни молекули (МКАМ), а Епштајн-



СЛИКА 18-2 Поттикнување на противвирусната активност од ИФН-алфа и -бета. Овие интерферони се врзуваат за ИФН рецепторот, кој последователно поттикнува синтеза на 2'5'-олиго-аденилатната синтетаза (2-5(А) синтетаза) и двРНК-зависна протеинска киназа (ПКР). Дејството на 2-5(А) синтетазата доведува до активација на РНКза Л, кој може да ја разложат мРНК. ПКР го инактивира преведувачкиот започнувачки фактор еИФ-2 преку негова фосфорилација. Двете патеки резултираат со инхибиција на протеинската синтеза и со тоа успешно се блокира размножувањето на вирусите.

Бар вирусот се врзува за тип 2 комплементниот рецептор на Б клетките. Ако е создадено противтело против вирусниот рецептор, може да се блокира инфекцијата преку спречување на врзувањето на вирусните честици за клетката домаќин. Секреторниот ИгА во мукозните секрети игра значајна улога во одбраната на домаќинот против вирусите преку блокирање на вирусното врзување за мукозните епителни клетки. Предноста на ослабената орална полио вакцина, која е објаснета во поглавје 19, е тоа што поттикнува создавање на секреторен ИгА, кој успешно го блокира врзувањето на полиовирусот долж гастроинтестиналниот тракт.

Вирусната неутрализација од противтелата понекогаш вклучува механизми кои работат по вирусното врзување за клетката домаќин. На пример, противтелата можат да го блокираат вирусното навлегување преку врзување за епитопите кои се неопходни да ја посредуваат фузијата на вирусната обвивка со плазма мембраната. Ако поттикнатото противтело е од комплемент-активирачки изотипот, може да следи лиза на обвитканите виріони. Противтелото или комплементот исто така можат да ги аглутинираат вирусните честици и да функционираат како опсонизирачки агенс за да ја олеснат Фк- или К3б- рецептор-посредуваната фагоцитоза на вирусните честици.

Клеточно-посредуваниот имунитет е важен за вирусната контрола и отстранување

Иако противтелата имаат значајна улога во задржувањето на ширењето на вирусот во акутните фази на инфекцијата, тие не можат да го отстранат вирусот ако тој е способен за влез во латентна фаза каде што неговата ДНК е вградена во хромозомската ДНК од домаќинот. Штом се утврди таква инфекција, клеточно-посредуваните имуни механизми се најважни во одбраната на домаќинот. Во основа, КД8$^+$Тцт клетки и КД4$^+$Тпо1 клетки се главните делови од клеточно-посредуваната противвирусна одбрана. Активираните Тпо1 клетки создаваат одреден број на цитокини, вклучувајќи ги ИЛ-2, ИФН-гама и ТНФ, кои овозможуваат директна или индиректна одбрана против вирусите. ИФН-гама дејствува директно преку поттикнување на противвирусна состојба на клетките. ИЛ-2 дејствува индиректно преку помагање на развојот на ЦТЛ претходниците во ефекторна популација. ИЛ-2 и ИФН-гама ги активираат КПУ, кои играат значајна улога во одбраната на домаќинот во првите денови од многу вирусни инфекции додека не се развие специфичен ЦТЛ одговор.

При повеќето вирусни инфекции, 3 до 4 дена по инфекцијата се јавува специфична ЦТЛ активност, врвот го достигнува од 7 до 10 дена, а потоа се намалува. 7 до 10 дена по првичната инфекција, повеќето виріони се отстранети, што оди паралелно со развојот на ЦТЛ. ЦТЛ кои се специфични за вирусот ги отстрануваат вирусно-заразените сопствени клетки и со тоа ги отстрануваат можните извори на нов вирус. Улогата на ЦТЛ во одбраната против вирусите е прикажана со способноста на вирусно-специфичните ЦТЛ да пренесат заштита против тој вирус кај неимунизираните приматели преку стекнат пренос. Вирусната специфичност на ЦТЛ исто така може да се прикаже со стекнатото пренесување: стекнато пренесување на ЦТЛ клонот специфичен за инфлуенца вирусот тип Х ги заштитува глувците од инфлуенца тип Х вирусот, но не и од инфлуенца тип У вирусот.

Вирусите можат да ги избегнат одбранбените механизми на домаќинот

Покрај ограничената големина на нивниот геном, откриено е дека бројни вируси кодираат протеини кои на различни нивоа стапуваат во меѓудејство со специфичната или неспецифичната одбрана на домаќинот. Веројатно, предноста на таквите протеини е тоа што тие им овозможуваат на вирусите да се реплицираат поефективно помеѓу различните противвирусни одбрани на домаќинот. Како што објаснивме претходно, поттикнувањето на ИФН-алфа и ИФН-бета е главната вродена одбрана против вирусната инфекција, но одредени вируси развиле стратегии за избегнување на дејството на ИФН-алфа/бета. Тука спаѓаат хепатитис Ц вирусот, кој се покажа дека го надминува противвирусниот ефект на интерфероните преку блокирање или инхибиција на дејството на ПКР (види слика 18-2).

Друг механизам за избегнување на реакциите на домаќинот, кој особено се употребува од страна на херпес симплекс (ХСВ) вирусите, е инхибиција на противгеното прикажување

на заразената клетка домаќин. ХСВ-1 и ХСВ-2 прикажуваат итен-ран протеин (протеин синтетизиран кратко по вирусната репликација) наречен ИЦП47, кој доста успешно ја инхибира хуманата транспортна молекула потребна за противгена обработка (ТАП, види слика 8-19). Инхибицијата на ТАП го блокира доставувањето на противгенот на класа 1 ГТК рецепторите на ХСВ-заразените клетки и на тој начин го спречува прикажувањето на вирусниот противген врз КД8+Т клетките. Ова доведува до заробување на празните класа 1 ГТК молекули во ендоплазматскиот ретикулум и успешно го запира КД8+ Т клеточниот одговор во ХСВ-заразените клетки.

Целењето на ГТК молекулите не е единствено за ХСВ. Било покажано дека други вируси надолно го регулираат класа 1 ГТК прикажувањето кратко време по инфекцијата. Два од најдобро-објаснетите примери, аденовирусите и цитомегаловирусот (ЦМВ), користат различни молекулски механизми за намалување на површинското прикажување на класа 1 ГТК молекулите, при што повторно се попречува противгеното прикажување на КД8+Т клетките. Било покажано дека дел од вирусите - ЦМВ, сипаници и ХИВ - ги намалуваат нивоата на класа 2 ГТК молекулите врз клеточната површина, при што ја блокираат работата на противген-специфичните противвирусни помагачки Т клетки.

Противтелно посредуваното уништување на вирусите бара активација на комплементот, што доведува или до директна лиза на вирусната честица или со опсонизација и отстранување на вирусот од фагоцитните клетки. Бројни вируси имаат стратегии за избегнување на комплементно посредуваното уништување. На пример, вирусот на вакцинија лачи протеин кој се врзува за К4б комплементната компонента и ја попречува класичната комплементна патека, а херпес симплекс вирусите имаат глукопротеинска компонента која се врзува за К3б комплементната компонента, и на тој начин ја инхибира и класичната и алтернативната патека.

Некои вируси го избегнуваат имуниот напад со постојано менување на нивните противгени. Во инфлуенца вирусот, постојаното противгено менување доведува до честа појава на нови инфективни видови. Отсуството на заштитен имунитет за ново појавените видови води до повторна епидемија на инфлуенца. Варијацијата на противгените кај риновирусите, предизвикувач на обичната настинка, е одговорна за нашата неспособност да создадеме ефективна вакцина против настинките. Варијацијата на противгените никаде не е поголема отколку кај хуманиот имунонедостаточен вирус (ХИВ), предизвикувач на СИДА-та. Проценитe говорат дека ХИВ мутира со стапка 65 пати побрза од инфлуенца вирусот. Поради значењето на СИДА-та, дел од поглавје 20 детално ја објаснува оваа болест.

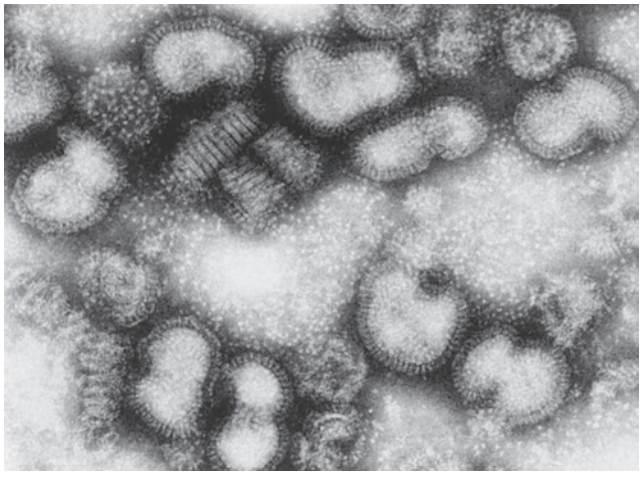
Голем број вируси го избегнуваат имуниот одговор со предизвикување на општа имуносупресија. Тука спаѓаат парамиксовирусите кои предизвикуваат заушки, вирусот за сипаници, Епштајн-Баровиот вирус (ЕБВ), цитомегаловирусот и ХИВ. Во одредени случаи, имуносупресијата е предизвикана од директна вирусна инфекција на лимфоцитите или макрофагите. Потоа, вирусот може или директно да ги уништи имуните клетки преку цитолитични механизми или да ја промени нивната функција. Во други случаи, имуносупресијата е резултат од цитокинската нерамнотежа. На пример, ЕБВ создава протеин наречен БЦРФ1 кој е хомологен за ИЛ-10. Исто како ИЛ-10, БЦРФ1 го супримира цитокинското создавање од Тпо1 подгрупата, што доведува до намалени нивоа на ИЛ-2, ТНФ и ИФН-гама.

Инфлуенцата била одговорна за дел од најопасните пандемии во историјата

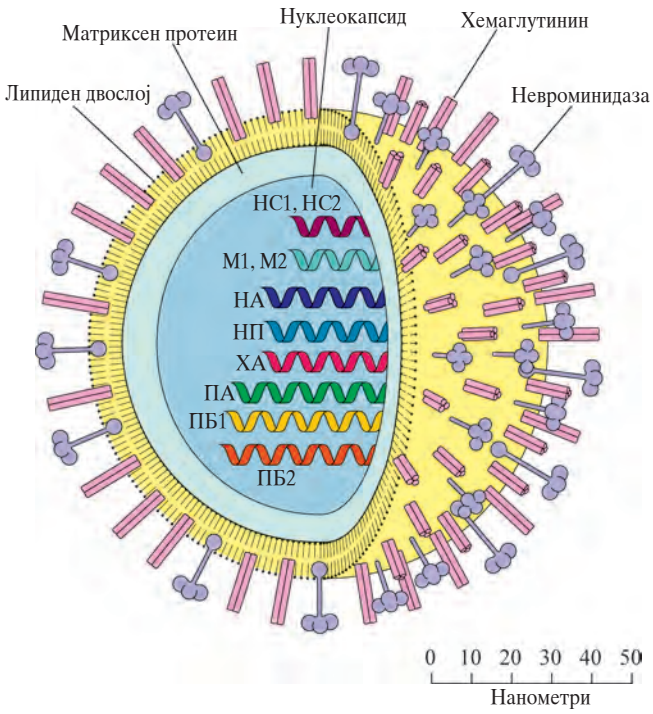
Инфлуенца вирусот го инфицира горниот респираторен тракт и главните централни дишни патишта кај луѓето, коњите, птиците, свињите дури и фоките. Во 1918-19 година, пандемијата на инфлуенца (епидемија низ целиот свет) убила помеѓу 20 и 50 милиони луѓе од целиот свет и околу 675000 луѓе во САД. Одредени области, како што се Аљаска и Пацифичките Острови, изгубиле повеќе од половина од нивното население за време на оваа пандемија. Оттогаш, се појавиле уште две пандемии, една од 1957 до 1958 година, која резултирала со смрт на 70000 лица во САД, а друга од 1968 до 1969 година, одговорна за 34000 смртни случаи во САД. Пандемиите се предизвикани од нови инфлуенца видови или видови кои долго време се немаат појавено, така што повеќето луѓе имаат мал имунитет за нив. Овие инфлуенца видови се разликуваат од поттиповите кои веќе циркулираат, што може да предизвика сезонско појавување на инфлуенца или епидемија.

Особини на инфлуенца вирусот

Инфлуенца вирусните честици, или вирионите, се груби сферични или со јајцевидна форма, со просечен дијаметар од 90 до 100 нм. Вирионите се опкружени со надворешна обвивка - липиден дво-слој стекнат од плазма мембраната на заразените клетки на домаќинот при процесот на пупење. Во обвивката се наоѓаат два гликопротеини, **хемаглуинин (ХА)** и **невраминидаза (НА)**, кои формираат радијални шилци видливи со електронска микрографија (слика 18-3). Хемаглутининските шилци, во форма на тримери, се одговорни за врзувањето на вирусот за клетката домаќин. Постојат приближно 1000 хемаглутинински шилци врз еден инфлуенца вирион. Хемаглутининските тримери се врзуваат за сијалинската киселина на гликопротеините и гликолипидите на клетката домаќин на начин како зачуваната



СЛИКА 18-3 **Електронска микрографија на инфлуенца вирусот открива груби сферични вирусни честици обвиткани со липиден двослој со испакнати хемаглутинин и невраминидазни гликопротеински шилци.** *[Сопственост на G. Murti, Department of Virology, St. Jude Children's Research Hospital, Memphis, Tenn.]*



СЛИКА 18-4 Шематски приказ на струкутрата на инфлуенца. Обвивката е покриена со хемаглитинински и невраминидазни шилци. Внатре се наоѓа внатрешен слој од матриксен протеин кој го опкружува нуклеокапсидот, кој се состои од осум молекули на евРНК поврзани со нуклеопротеинот. Осумте РНК вериги кодираат 10 протеини: ПБ1, ПБ2, ПА, ХА (хемаглутинин), НП (нуклеопротеин), НА (невраминидаза), М1, М2, НС1 и НС2.

амино киселинска секвенца која формира мала вдлабнатина во хемаглутининската молекула. Невраминидазата, како што покажува нејзиното име, ја разложува *H*-ацетилневраминичната (сијалинска) киселина од почетните вирусни гликопротеини и мембранските гликопротеини на клетката домаќин, активност која веројатно го олеснува вирусното пупење од инфицираната клетка домаќин. Во обвивката, внатрешен слој на матриксен протеин го опкружува нуклеокапсидот, кој се состои од осум различни вериги на едно-верижна РНК (евРНК) поврзан со протеин и РНК полимеразата (слика 18-4). Секоја РНК верига кодира еден или повеќе различни инфлуенца протеини .

Трите основни типа на инфлуенца (А, Б и Ц) можат да се разликуваат по нивните нуклеопротеини и матриксни протеини. Типот А, кој претставува најчест тип, е одговорен за главните пандемии кај луѓето. Типот Б предизвикува човечки, но не и животински болести и има предизвикано епидемија. Типот Ц предизвикува само благи човечки болести. Противгените варијации на хемаглутининот и невроминидазата ги разликуваат поттиповите на типот А инфлуенца вирус. Според номенклатурата на Светската Здравствена Организација, секој вид на вирус се дефинира по неговиот животински домаќин или потеклото (наведено ако не се однесува на луѓето), географското потекло, бројот на видот, годината на изолација и противгениот опис на ХА и НА (табела 18-2). На пример, A/Sw/Iowa/15/30 (Х1Н1) означува вид А изолат 15 кој се појавил кај свињите во Ајова во 1930 година и ги има противгените поттипови 1 за ХА и НА. Забележете дека Х и Н протеините се противгенски различни кај овие два вида. Постојат 13 различни хемаглутинини и девет невраминидази кај тип А инфлуенца вирусите. (Ниту Б ниту Ц типовите се класифицираат преку Х и Н поттиповите).

Разликувачка карактеристика на инфлуенца вирусот е неговата променливост. Вирусот може да ги промени неговите површински противгени до тој степен што имуниот одговор на инфекција со вирусот кој претходно предизвикал епидемија дава малку или воопшто не дава заштита против вирусот кој ја предизвикал последователната епидемија. Промената на противгените резултира првично од промените во хемаглутининските и невраминидазните шилци кои ја пробиваат вирусната обвивка (слика 18-5). Кај ХА и НА два различни механизми создаваат противгена промена: противгена замена (дрифт) и противгено поместување (шифт). **Противгената замена** вклучува серија на спонтани точкести мутации кои се појавуваат постепено, што доведува до мали промени на ХА и НА. **Противгеното поместување** доведува до ненадејна појава на нови поттипови на инфлуенца чии ХА а можно и НА значително се разликуваат од ХА и НА на вирусот присутен во претходната епидемија.

Варијации на епидемичните видови инфлуенца

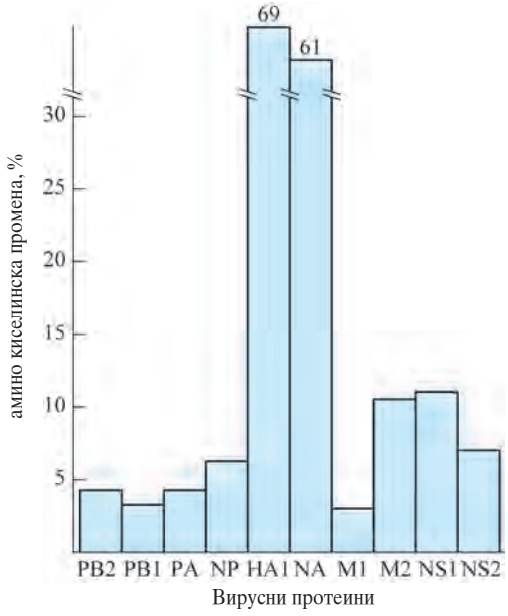
Првиот хуман инфлуенца вирус бил изолиран во 1934 година. Овој вирус бил означен како Х0Н1. Поттипот Х0Н1 постоел до 1947 година, кога големо противгено поместување создало нов поттип, Х1Н1, кој го истиснал претходниот поттип и станал широко распространет во светот до 1957 година, кога се појавил Х2Н2. Поттипот Х2Н2 преовладувал во текот на следната декада и бил заменет во 1968 со Х3Н2. Противгеното

ТАБЕЛА 18-2 Некои инфлуенца А типови и нивните хемаглутинин (Х) и невроминидаза (Н) поттипови

Вид	Име на видот на вирусот	Противген поттип
Човек	A/Puerto Rico/8/34	H0N1
	A/Fort Monmouth/1/47	H1N1
	A/Singapore/1/57	H2N2
	A/Hong Kong/1/68	H3N2
	A/USSR/80/77	H1N1
	A/Brazil/11/78	H1N1
	A/Bangkok/1/79	H3N2
	A/Taiwan/1/86	H1N1
	A/Shanghai/16/89	H3N2
	A/Johannesburg/33/95	H3N2
	A/Wuhan/359/95	H3N2
	A/Teksas/36/95	H1N1
	A/Hong Kong/156/97	H5N1
Свиња	A/Sw/Iowa/15/30	H1N1
	A/Sw/Taiwan/70	H3N2
Коњ (коњски)	A/Eq/Prague/1/56	H7N7
	A/Eq/Miami/1/63	H3N8*
Птица	A/Flow/Dutch/27	H7N7
	A/Tern/South America/61	H5N3
	A/Turkey/Ontario/68	H8N4
	A/Chicken/Hong Kong/258/97	H5N1†

* Од неодамна се покажа дека Х3Н8 кај кучињата предизвикува болест слична на грип, промената на видовите настанала без разместување на гените.

† Од 2006 година, опасен нов вид на птичји грип Х5Н1 инфицирал околу 175 лица со 50% смртност.

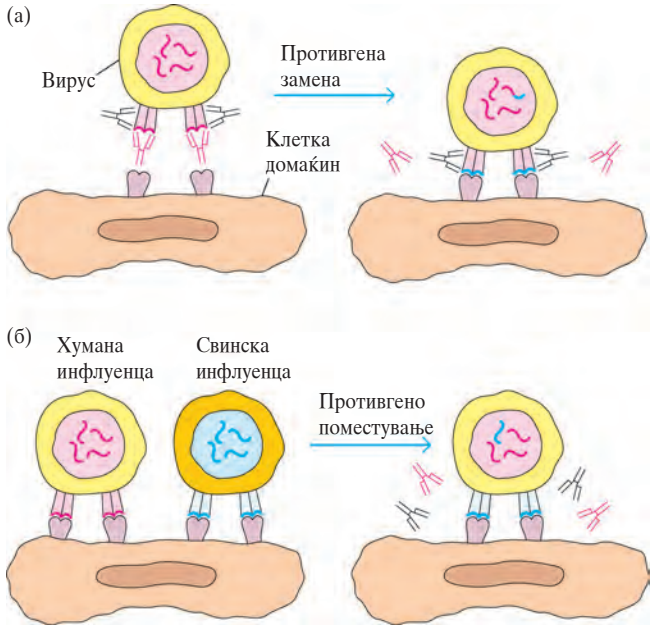


СЛИКА 18-5 Промена на амино киселинската секвенца на 10 инфлуенца вирусни протеини од два вида на X3H2 и еден вид на X1H1. Површинските гликопротеини хемаглутинин (HA1) и невраминидаза (NA) покажуваат значителна секвенцна промена. Наспроти тоа, секвенците на внатрешните вирусни протеини, како што се матриксните протеини (M1 и M2) и нуклеопротеинот (НП), се зачувани во голем степен. *[Прилагодено од G. G. Browniee, 1986, in Options for Control of Influenza, Alan R. Liss, Nju-Jork.]*

поместување во 1977 година ја најавило повторната појава на X1H1. Најновото противгено поместување, во 1989 година, ја донесе повторната појава на X3H2, кој останал доминантен во текот на следните неколку години. Сепак, во 1995 година видот X1H1 повторно се појавил во Тексас, а моменталната вакцина против инфлуенца ги содржи и X3H2 и X1H1 видовите. Со секое противгено поместување, хемаглутининот и невраминидазата претрпуваат големи секвенцни промени, што доведува до големи противгени варијации за кои имуниот систем нема памтење. Според тоа, секое противгено поместување наидува на имунолошки неподготвено население, што доведува до големо избувнување на инфлуенца, што понекогаш достигнува пандемични пропорции.

Помеѓу пандемиски предизвикувачките противгени поместувања, инфлуенца вирусот претрпува противгена замена, која создава мали противгени промени, кои се одговорни за разликите меѓу видовите во поттипот. Имуниот одговор придонесува за појавата на овие различни видови на инфлуенца. Кога лицата заразени со даден вид на инфлуенца одговараат со ефективен имун одговор, видот е отстранет. Сепак, акумулирањето на точкестите мутации ја менува противгеноста на одредени варијанти до тој степен за да можат да го избегнат имуното отстранување (слика 18-6а). Овие варијанти стануваат нов вид на инфлуенца, што предизвикува друг локален епидемичен циклус. Улогата на противтелото во таквата имунолошка селекција може да се покаже во лабораторија преку мешање на инфлуенца вид со моноклонско противтело специфично за тој вид, а потоа со култивирање на вирусот во клетките. Противтелото ги неутрализира сите непроменети вирусни честици и само оние вирусни честици со мутации кои резултираат со променета противгеност ја избегнуваат неутрализацијата и можат да ја продолжат инфекцијата. По краток период во култура, се појавува нов вид на инфлуенца.

Се верува дека противгеното поместување се случува во текот на рекомбинацијата на инфлуенца вирионите од луѓето и од разни животни, каде спаѓаат коњите, свињите и патките (слика 18-6б). Фактот дека инфлуенца содржи осум различни вериги на евРНК ја овозможува рекомбинацијата на РНК веригите од човечките и животинските вириони во една клетка која е инфицирана со двата вируси. Доказ за ин виво генетската рекомбинација помеѓу инфлуенца А вирусите од луѓето и домашните свињи е добиен во 1971 година. По истовременото инфицирање на свињите со хуманата Хонг Конг инфлуенца (X3H2) и со свинската инфлуенца (X1H1), истражувачите можеле да добијат вириони кои прикажуваат X3H1. Во одредени случаи, видливото противгено поместување може да ја претставува повторната појава на претходниот вид кој останал скриен неколку децении. Во мај 1977 година, се појавил видот на инфлуенца, A/USSR/77 (X1H1), кој се покажал дека е идентичен со видот кој предизвикал епидемија пред 27 години. Вирусот можел да опстојува во текот на годините во замрзната состојба или во животински резервоар. Кога ќе настане ваква повторна појава, прикажаните HA и NA противгени не се всушност нови. Сепак, имуниот систем ќе ги смета за нови кај секој кој претходно не бил изложен на тој вид (на пример, луѓето на возраст под 27 години во епидемијата од 1977 година) бидејќи кај осетливото население



СЛИКА 18-6 Два механизми создаваат варијации во инфлуенца површинските противгени. (а) При противгената замена, акумулацијата на точкести мутации последователно дава варијанта на протеин која повеќе не може да се препознае од противтелото кон првичниот противген,. (б) Противгеното поместување може да настане со реструктурирање на целата евРНК помеѓу човечките и животинските вириони кои ја инфицираат истата клетка. Прикажани се само четири од осумте РНК вериги.

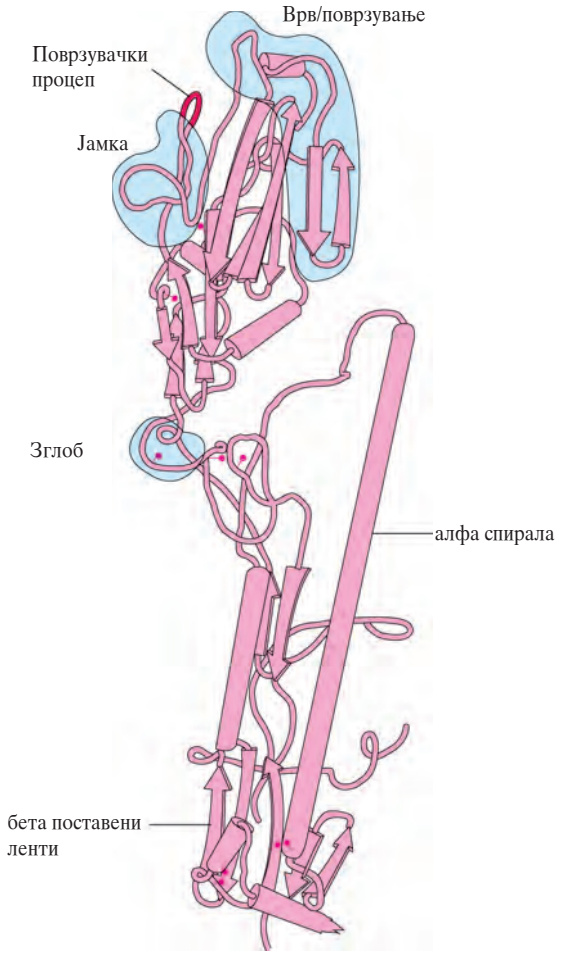
нема да постојат памтечки клетки кои се специфични за тие противгени поттипови. Според тоа, од имунолошка гледна точка, повторната појава на стар инфлуенца А вид може да го има истиот ефект како и противгеното поместување кое создава нов поттип. Во некои случаи, вирусот може да скокне од еден во друг вид со мала генска промена. Од неодамна, коњскиот вид X3H8 предизвикал епидемија на инфлуенца кај тркачките кучиња. Кучешкиот вирус бил 96% идентичен со вирусот за кој се знаело дека е присутен кај коњите околу 30 години. Досега, не се откриени инфекции кај луѓето со X3H8, но се препорачува повнимателен преглед на оние лица кои биле во близок контакт со заразени кучиња.

Хуморалниот одговор кон инфлуенца е видово специфичен

За време на инфекцијата со инфлуенца се создава хуморално противтело кое е специфично за XA молекулата. Ова противтело дава заштита против инфлуенца, но неговото дејство е видово специфично и лесно може да се заобиколи со противгена замена . Противгената замена кај XA молекулата доведува до амино киселинска замена во неколку противгени домени на дисталниот крај од молекулата (слика 18-7). Два од овие домени се наоѓаат на обете страни од зачуваниот сијалинско киселински врзувачки процеп, што е потребен за поврзувањето на вирионите со целните клетки. Серумските противтела специфични за овие две подрачја се важни за блокирањето на почетната вирусна инфективност. Овие серумски противтела го достигнуваат врвот на титарот по неколку дена од инфекцијата, а потоа се намалуваат во текот на следните шест месеци. Потоа титарот достигнува плато и останува прилично стабилен во текот на следните неколку години. Ова противтело најверојатно не е потребно за закрпенување од инфлуенца, бидејќи и пациентите со агамаглобулинемија закрепнуваат од ова заболување. Наместо тоа, веројатно серумските противтела играат важна улога при отпорот против реинфекција од истиот вид. Кога нивоата на серумските противтела се високи за одредена XA молекула, и глувците и луѓето се отпорни кон инфекцијата со вириони кои ја прикажуваат таа XA молекула. Ако глувците се заразени со вирусот инфлуенца а создавањето на противтела е експериментално супримирано, глувците закрепнуваат од инфекцијата, но можат да се реинфицираат со истиот вирусен вид. Покрај хуморалните реакции, ЦТЛ можат да играат улога во имуните реакции на инфлуенца.

Птичјиот X5H1 претставува закана за пандемија

Уште од 1997 година, забележано е избивање на инфлуенца кај живината со повремено пренесување кај луѓето, најчесто во Југоисточна Азија. Од март 2006 година, потврдени се 175 човечки случаи на инфекција со птичја инфлуенца вид X5H1, со околу 50% смртност (93 смртни случаи). Скоро во секој случај, контактот со домашните или дивите птици е наведен како извор на инфекцијата, а во моментов, нема доказ за лесно пренесување меѓу луѓето. Сепак, генско преуредување помеѓу епидемичниот хуман вид и смртоносниот птичји вид може да предизвика голема пандемија. Заканата во овој случај е зголемена со фактот што птичјите видови се отпорни на дел од лековите кои често се користат за намалување на симптомите и тежината на заболувањето.



СЛИКА 18-7 Хемаглутинин. Сијалинската киселина од клетката домаќин стапува во меѓудејство со поврзувачкиот процеп, кој е ограничен со подрачја - наречени јамка и врв/поврзување - каде преовладува противгената замена (областите со сина боја). Противтелата за овие подрачја се значајни во блокирањето на вирусните инфекции. Постојани промени во амино киселинските остатоци од овие подрачја му овозможуваат на инфлуенца вирусот да го избегне противтелниот одговор. Малите црвени точки претставуваат остатоци кои покажуваат висок степен на варијација меѓу вирусните видови. [*Прилагодено од D. C. Wiley et al.,* 1981, Nature **289**:373.]

Неодмна се изврши реконструкција на вирусот кој во 1918 година предизвикал пандемија со употреба на секвенцни податоци добиени од вирусот во ткивата на жртвите од таа пандемија, во најголем дел добиени од телата зачувани во замрзнувач во Аљаска. Геномските анализи покажуваат дека вирусот од 1918 година е изведен од птичјите видови и реконструираниот вирус сега интензивно се проучува, со фокусирање на факторите кои придонеле за неговата голема смртност. Овие испитувања можат да се покажат како значајни за моменталната закана од X5H1.

Бактериски инфекции

Имунитетот против бактериски инфекции се постигнува со противтела освен доколку бактериите не се способни да растат внатреклеточно, каде значајна улога игра доцниот тип на преосетливост. Бактериите навлегуваат во телото или преку голем број природни патишта (на пример, респираторниот, гастроинтестиналниот или респираторниот тракт) или преку обично непроодни патишта отворени со пробивот на мукозните мембрани или кожата. Во зависност од бројот на организмите кои навлегуваат и нивната вируленција, се вклучуваат различни нивоа на одбрана. Ако бројот и вируленцијата се ниски, тогаш локализираните ткивни фагоцити би можеле да ги уништат бактериите со вродената, неспецифична одбрана. Поголем број или организми со поголема вируленција тежнеат да поттикнат стекнат, специфичен имун одговор.

Се разликуваат имуните реакции на надворклеточните и внатреклеточните бактерии

Инфекцијата со надворклеточни бактерии поттикнува создавање на хуморални противтела, кои обично се лачат од плазма клетките во регионалните лимфни јазли и од субмукозата на респираторниот и гастроинтестиналниот тракт. Хуморалниот имун одговор е главниот заштитен одговор против надворклеточните бактерии. За да го заштитат домаќинот од напаѓачките организми противтелата дејствуваат на неколку начини, вклучувајќи отстранување на бактериите и инактивација на бактериските токсини (слика 18-8). Надворклеточните бактерии можат да бидат патогени бидејќи поттикнуваат локализиран воспалителен одговор или бидејќи создаваат токсини. Токсините, ендотоксин или егзотоксин, можат да бидат цитотоксични, но исто така можат да предизвикаат патогенеза на други начини. Одличен пример за ова е токсинот кој го создава дифтеријата, кој врши токсичен ефект врз клетката преку блокирање на протеинската синтеза. Ендотоксините, како што се липополисахаридите (ЛПС), во основа се делови на бактериските клеточни ѕидови, додека егзотоксините, како што е дифтерија токсинот, се лачат од бактеријата.

Противтелото кое се врзува за пристапните противгени врз површината од бактеријата, заедно со К3б комплементната компонента, може да дејствува како опсонин кој ја зголемува фагоцитозата и ја отстранува бактеријата (види слика 18-8). Во случајот на одредени бактерии -особено грам-негативните организми- комплементната активација може да доведе до директна лиза на организмот. Противтелно посредуваната активација на комплементниот систем исто така може да поттикне локализирано создавање на имуни ефекторни молекули кои помагаат за развој на посилен и поефикасен имун одговор. На пример, комплементните распадни продукти К3а и К5а дејствуваат како анафилотоксини, поттикнуваат локално мастоцитно обеззрнување и на тој начин вазодилатација и екстравазација на лимфоцити и неутрофили од крвта во ткивата (види слика 18-8). Други комплементни распадни продукти служат како хемотактични фактори за неутрофилите и макрофагите и на тој начин придонесуваат за надоаѓањето на фагоцитни клетки на местото на инфекцијата. Противтелото против бактерискиот токсин може да се врзе за токсинот и да го неутрализира, а потоа противтело-токсин комплексите се отстранети од фагоцитните клетки на истиот начин како и секој друг противген-противтело комплекс.

Иако вродениот имунитет не е многу ефикасен против внатреклеточните бактериски патогени, внатреклеточните бактерии можат да ги активираат КПУ клетките, кои овозможуваат рана одбрана против овие бактерии. Внатреклеточните бактериски инфекции тежнеат да поттикнат клеточно-посредуван имун одговор, особено, доцен тип на преосетливост. При овој одговор, важни се цитокините кои се лачат од КД4+Т клетките, - особено ИФН-гама, кој ги активира макрофагите поефикасно да ги убиваат голтните патогени (види слика 14-15).

Бактериите можат ефикасно да ги избегнат одбранбените механизми на домаќинот

Постојат четири првични чекори при бактериска инфекција:

- Прикачување за клетката домаќин
- Пролиферација
- Напад на ткивата на домаќинот
- Токсин-поттикнато оштетување на ткивата на домаќинот

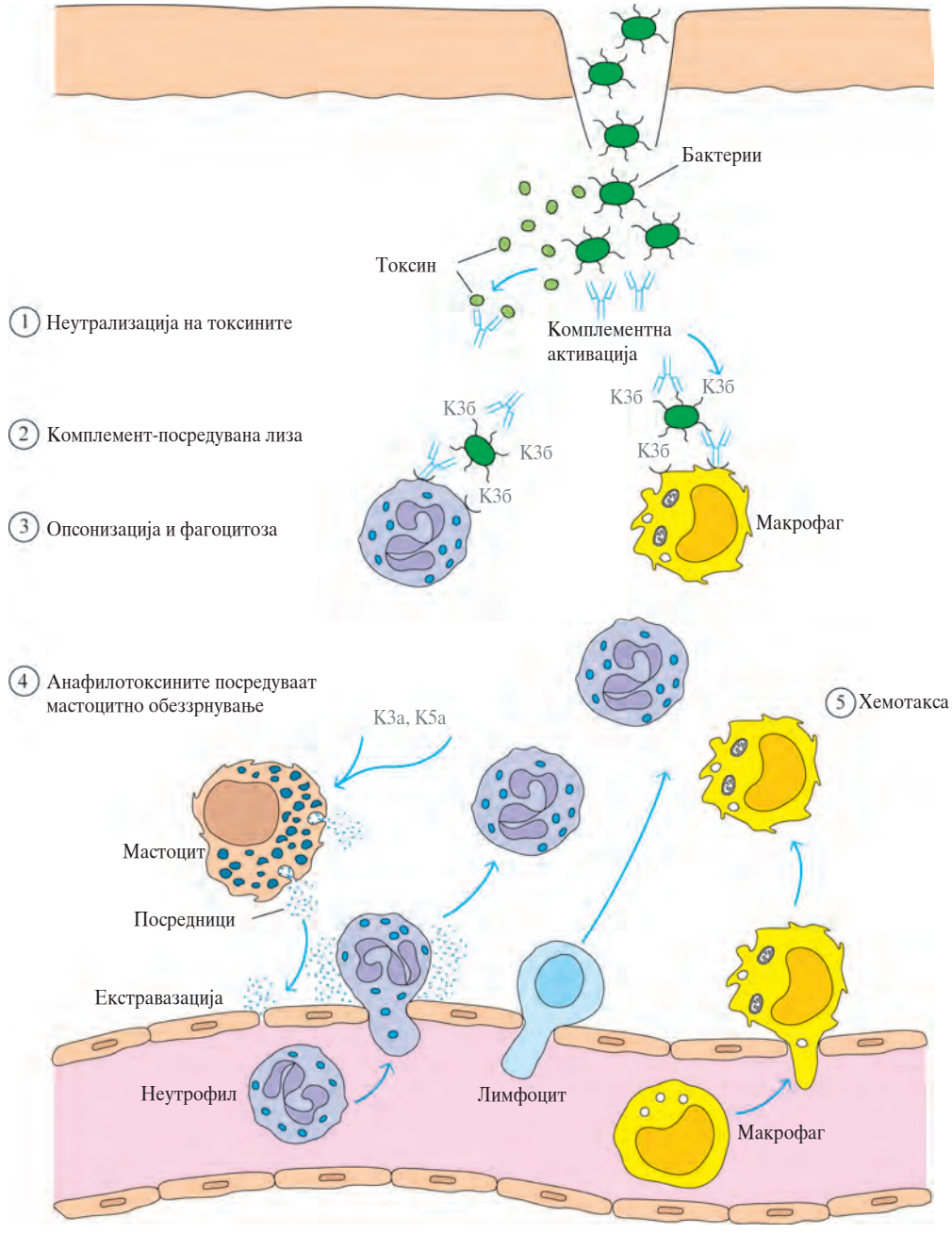
Одбранбените механизми на домаќинот дејствуваат при сите овие чекори, а многу бактерии пронашле начини за нивно заобиколување (табела 18-3).

Некои бактерии имаат површински структури или молекули кои ја олеснуваат нивната способност за прикачување за клетката домаќин. На пример, одреден број грам-негативни бактерии имаат пили (долги израстоци во вид на коса), кои им овозможуваат да се прикачат за мембрната на интестиналниот или генитоуринарниот тракт (слика 18-9). Други бактерии, како што е *Bordetella pertrussis*, лачат адхезивни молекули кои се прикачуваат и за бактеријата и за цилијарните епителни клетки на горниот респираторен тракт.

Секреторните ИгА противтела специфични за таквите бактериски структури можат да го блокираат бактериското прикачување за мукозните епителни клетки и претставуваат главна одбрана против бактериското прикачување. Сепак, одредени бактерии (на пример, *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae* и *Neisseria meninigitidis*) го избегнуваат ИгА одговорот со лачење на протеази кои го разложуваат секреторниот ИгА во врзувачкото подрачје. Резултантните Фпв и Фк фрагменти имаат скратен полу-живот во мукозните секрети и не можат да ги аглутинираат микроорганизмите.

Одредени бактерии го избегнуваат ИгА одговорот на домаќинот преку промена на нивните површински противгени. На пример, кај *N. gonorrhoeae*, пилинот, протеинската компонента на пилите, има многу променлива структура. Варијацијата во пилин амино киселинската секвенца се создава преку генско преуредување на неговата кодирачка секвенца. Локусот на пилинот се состои од еден или два прикажани гени и 10 до 20 тивки гени. Секој ген е организиран во шест подрачја наречени *миникасети*. Варијацијата на пилинот се создава во процес на генска конверзија, каде една или повеќе миникасети од тивките гени заменуваат миникасета на прикажаниот ген. Овој процес создава голема противгена варијација, која може да придонесе за патогеничноста на *N. gonorrhoeae* со зголемување на можноста прикажаните пили да се врзат цврсто за епителните клетки. Покрај тоа, постојаните промени во пилинската секвенца му

ДЕТАЛНА СЛИКА 18-8



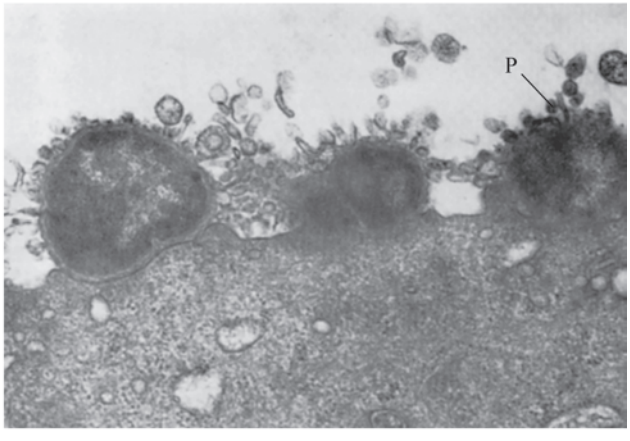
СЛИКА 18-8 Противтело-посредувани механизми за борба против инфекција со надворклеточни бактерии. (1) Противтелото ги неутрализира бактериските токсини. (2) Комплементната активација на бактериската површина води до комплемент-посредувана лиза на бактериите. (3) Противтелото и комплементниот распаден продукт К3б се врзуваат за бактериите, при што служат како опсонини за зголемување на фагоцитозата. (4) К3а и К5а, кои се создаваат со противтело-поттикната комплементна активација, поттикнуваат локално мастоцитно обеззрнување, при што се ослободуваат супстанции кои посредуваат во вазодилатацијата и екстравазацијата на лимфоцитите и неутрофилите. (5) Другите комплементни продукти се хемотактични за неутрофилите и макрофагите.

ТАБЕЛА 18-3 Имуни реакции на домаќинот против бактериска инфекција и бактериски одбегнувачки механизми

Процес на инфекција	Одбрана на домаќинот	Бактериски одбегнувачки механизми
Прикачување за клетката домаќин	Блокирање на прикачувањето преку секреторните ИгА противтела	Лачење на протеази кои ги разложуваат секреторните ИгА димери (*Neisseria gonorrhoeae, Haemophilus influenzae i Neisseria meninigitidis*) Противгена варијација на прикачувачките структури (пили на *N. gonorrhoeae*)
Пролиферација	Фагоцитоза (Пт и К3б-посредувана опсонизација)	Создавање на површински структури (полисахаридна капсула, М протеин, фибринска обвивка) кои ги попречуваат фагоцитните клетки Механизми за преживување во фагоцитните клетки Поттикнување на апоптоза кај макрофагите (*Shigella flexneri*)
	Комплемент-посредувана лиза и локализиран воспалителен одговор	Општ отпор на грам-негативните бактерии кон комплементно посредуваната лиза Вметнувањето на мембрана-атак комплексот е спречено од долгата странична верига во ЛПС на клеточниот sид (одредени грам-негативни бактерии)
Напад на ткивата на домаќинот	Аглутинација посредувана од Пт	Лачење на еластаза која ги инактивира К3а и К5а (*Pseudomonas*)
Токсин-поттикнато оштетување на клетката домаќин	Неутрализација на токсинот со противтело	Лачење на хијалуронидаза, што го олеснува бактерискиот напад

овозможуваат на организмот да ја избегне неутрализацијата од ИгА.

Одредени бактерии поседуваат површински структури кои ја попречуваат фагоцитозата. Класичен пример е *Streptococcus pneumoniae*, чија полисахаридна капсула многу ефикасно ја спречува фагоцитозата. 84-те серотипови на *S. pneumoniae* меѓусебно се разликуваат по капсуларните полисахариди, а при инфекција домаќинот создава противтела против инфицирачкиот серотип. Ова противтело штити од реинфекција со истиот серотип, но нема да штити од инфекција со различен серотип. На овој начин, *S. pneumoniae* може многу пати да предизвика болест кај истото лице. На други бактерии, како што е *Streptococcus pyogenes*, површинскиот протеински продолжеток наречен М протеин ја попречува фагоцитозата. Некои патогени стафилококи можат да акумилираат заштитна обвивка од крвните протеини на домаќинот. Овие бактерии лачат коагулазен ензим кој преципитира фибринска обвивка околу нив, со што ги заштитува од фагоцитните клетки.



СЛИКА 18-9 Електронската микрографија на *N. gonorrheeae* прикачен за уретралните епителни клетки. Пилите (П) се протегаат од гонококната површина и го посредуваат прикачувањето. *[Од M.E. Ward and P. J. Watt, 1972, Journal of Infectious Disease **126:**601.]*

Механизмите кои се мешаат со комплементниот систем им помагаат на други бактерии да преживеат. На пример, кај одредени грам-негативни бактерии, долгите странични вериги на липид А половината од полисахаридното јадро на клеточниот sид им помагаат при отпорот на комплементно посредуваната лиза. *Pseudomonas* лачи ензим, еластаза, кој ги инактивира анафилотоксините К3а и К5а и при тоа го намалуваат локализираниот воспалителен одговор.

Одреден број на бактерии ги избегнуваат одбранбените механизми на домаќинот со нивната способност да опстанат во фагоцитните клетки. Дел од овие бактерии, како што е *Listeria monocytogenes*, преживуваат во фагоцитните клетки со бегање од фаголизозомот во цитоплазмата, благонаклонета средина за нивен развој. Други бактерии, како што е *Mycobacterium avium*, ја блокираат лизозомалната фузија со фаголизозомот, а одредени микобактерии се отпорни на кислородниот напад кој се случува во фаголизозомот.

Имуните реакции можат да придонесат за бактериската патогенеза

Кај одредени бактериски инфекции, симптомите на болеста не се предизвикани од самиот патоген, туку од имуниот одговор на патогенот. Како што објаснивме во поглавје 12, патоген- стимулираното прекумерно создавање на цитокини води до симптоми на бактериски септичен шок, труење со храна и токсичен шок синдром. На пример, ендотоксините од клеточниот sид на некои грам-негативни бактерии ги активираат макрофагите, што доведува до ослободување на високи нивоа на ИЛ-1 и ТНФ-алфа, што може да предизвика септичен шок. При стафилококното труење со храна и токсичниот шок синдром, егзотоксините создадени од патогените функционираат како суперпротивгени, кои можат да ги активираат сите Т клетки кои прикажуваат Т-клеточни рецептори со одреден Вбета домен (види табела 10-3). Резултирачкото прекумерно создавање на цитокини од активираните Тпо клетки ги предизвикува повеќето симптоми на овие болести.

Способноста на одредени бактерии да опстанат внатреклеточно во заразените клетки може да доведе до хронична противгена активација на КД4$^+$Т клетките, што води до ткивно уништување преку клеточно-посредуван одговор со особини

на одговор од доцен тип на преосетливост (види поглавје 15). Цитокините кои се лачат од овие активирани КД4+Т клетки можат да доведат до голема акумулација и активација на макрофагите, што резултира со создавање на **гранулом**. Локализираната концентрација на лизозомалните ензими во овие грануломи може да предизвика пространа ткивна некроза. Поголемиот дел од ткивното оштетување кое се гледа кај *M. tubercolosis* се должи на клеточно-посредуваниот имун одговор.

Дифтеријата (*Corynebacterium diphtheriae*) може да се контролира преку имунизација со инактивиран токсоид

Дифтеријата е класичен пример на бактериска болест предизвикана од излачен егзотоксин против кој имунитетот може да се поттикне преку имунизација со инактивиран **токсоид**. Предизвикувачкиот агенс, грам-позитивен, прачкест организам наречен *Corynebacterium diphtheriae*, прво бил објаснет од Theodor Klebs во 1883 година, а една година подоцна Friedrich Loeffler покажал дека предизвикува дифтерија кај заморчињата и кај зајаците. Аутопсијата на заразените животни открила дека, додека растот на бактериите бил ограничен на местото на инокулација, имало широко распространето оштетување на повеќе органи, вклучувајќи ги срцето, црниот дроб и бубрезите. Овој наод го навел Loeffler да тврди дека невролошките и кардиолошките манифестации на заболувањето биле предизвикани од токсична супстанција ослободена од организмот.

Loeffler-овата хипотеза била потврдена во 1888 година, кога Pierre Roux и Alexandre Yersin ја создале болеста кај животни преку инектирање со стерилен филтрат од култура на *C. diptheriae*. Две години подоцна, Emil von Behring покажал дека противсерумот против токсинот спречил смрт кај заразените животни. Тој го подготвил токсоидот преку третирање на токсинот со јод трихлорид и покажал дека може да поттикне заштитни противтела кај животните. Сепак, токсоидот подготвен на овој на начин сè уште бил токсичен и заради тоа несоодветен за употреба кај луѓето. Овој проблем го решил Gaston Ramon во 1923 година, кој открил дека изложувањето на токсинот на топлина и формалин го прави нетоксичен, но не ја уништува неговата противгеност. Клиничките испитувања покажале дека формалдехид-третираниот токсоидот дава високо ниво на заштита против дифтерија.

Како што се зголемувал бројот на имунизирани лица со токсоиди, бројот на случаи на дифтерија значително се намалил. Во 20-те години од дваесеттиот век, имало приближно 200 случаи на дифтерија на 100000 жители во САД. Во 2004 година, Центарот за контрола на болестите објавил дека во САД нема дифтерија. Спорадично избивање на дифтерија било забележано во областите каде има пропуст во вакцинирањето.

Природната инфекција со *C. diptheriae* се јавува само кај луѓето. Заболувањето се шири од едно лице на друго преку воздушните респираторни капки. Организмот го колонизира назофарингеалниот тракт, останувајќи во суперфицијалните слоеви на респираторната мукоза. Самиот развој на организмот предизвикува мало ткивно оштетување, така што се развива само благ воспалителен одговор. Вируленцијата на организмот се должи целосно на неговиот моќен егзотоксин. Токсинот предизвикува уништување на ткивото под него, што доведува до создавање на тврда фибринска мембрана („псевдомембрана“) која е составена од фибрин, бели крвни клетки и мртви респираторни епителни клетки. Самата мембрана може да предизвика задушување. Исто така, егзотоксинот е одговорен за широко распространетите системски манифестации. Нагласеното миокардно оштетување (често води до конгестивно срцево откажување) и невролошкото оштетување (кое се движи од блага мускулна слабост до целосна парализа) се чести.

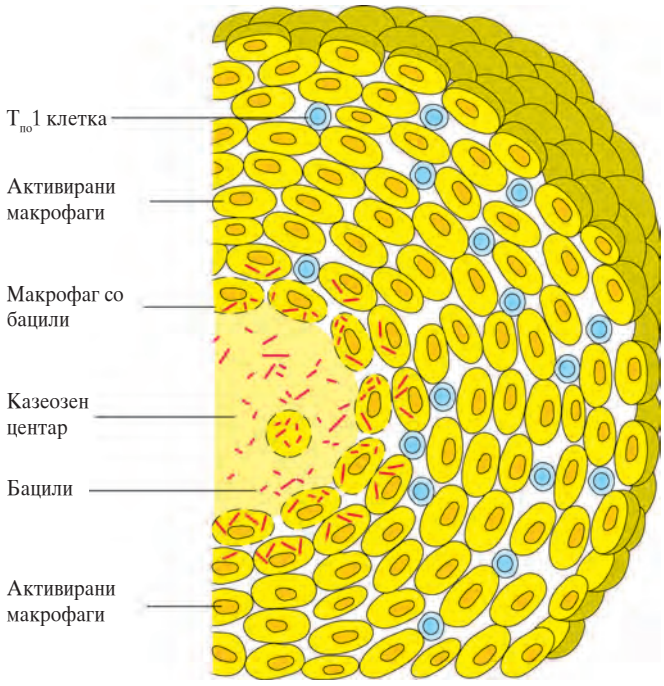
Егзотоксинот кој предизвикува симптоми на дифтерија е кодиран од *tox* генот носен од фагот бета. Во одредени видови на *C. diptheriae*, фагот бета може да постои во состојба на **лизогенија**, каде ДНК од профагот бета опстојува во бактериската клетка. Само видовите кои го носат лизогеничниот фаг бета можат да создадат егзотоксин. Дифтеричниот егзотоксин содржи две дисулфидно-поврзани вериги, поврзувачка верига и токсична верига. Поврзувачката верига стапува во меѓудејство со ганглиозидните рецептори на чувствителните клетки, што го олеснува восприемањето на егзотоксинот. Токсичноста произлегува од инхибиторниот ефект на токсичната верига на протеинската синтеза. Дифтеричниот егзотоксин е многу моќен: се покажало дека една молекула може да убие клетка. Отстранувањето на поврзувачката верига го спречува навлегувањето на егзотоксинот во клетката и на тој начин го прави егзотоксинот нетоксичен.

Денес, дифтеричниот токсоид се подготвува преку третирање на дифтеричниот токсин со формалдехид. Реакцијата со формалдехидот вкрстено го поврзува токсинот, што доведува до неповратна загуба на неговата токсичност и зголемување на неговата противгеност. Токсоидот се внесува заедно со тетанусниот токсоид и аклеточна *Bordetella pertussis*, во комбинирана вакцина која се дава на децата почнувајќи од 6-та до 8-та недела на животот (види табела 19-3). Имунизацијата со токсоидот поттикнува создавање на противтела (противтоксин), кои можат да се врзат за токсинот и да ја неутрализираат неговата активност. Бидејќи нивоата на противтоксинот бавно опаѓаат со текот на времето, за одржување на нивоата на противтоксинот во заштитни граници се препорачува ревакцинација на интервал од 10 години.

Туберколозата (*Mycobacterium tuberculosis*) првенствено се контролира од КД4+Т клетките

Туберколозата е водечка причина за смрт во светот која потекнува од еден инфективен агенс, што убива околу 1,5 милиони лица секоја година. Околу една третина од светското население е инфицирано со предизвикувачкиот агенс *M. tuberculosis* и има ризик за развој на оваа болест. Иако се верувало дека туберкулозата е отстранета како здравствен проблем во САД, болеста повторно се појави во раните 90-ти години од дваесеттиот век, особено во областите каде нивоата на ХИВ инфекцијата се високи. Во 2005 година, биле дијагностицирани приближно 15000 лица со туберколоза во САД.

Иако неколку видови на *Mycobacterium* можат да предизвикаат туберколоза, *M. tuberculosis* е главниот предизвикувачки агенс. Овој организам се шири лесно, а белодробната инфекција обично се јавува како резултат на вдишувањето на мали капки од респираторните секрети кои содржат бацили. Вдишаните бацили се ингестирани од алвеоларните макрофаги и можат да преживеат и внатреклеточно да се размножуваат преку попречување на создавањето на фаголизозомите. Кога се лизираат заразените макрофаги, како што обично се случува, се ослободуваат голем број на бацили. Клеточно-посредуван



СЛИКА 18-10 Туберкулум создаден при белодробна туберколоза. *[Приспособено од A. M. Dannenberg, 1993, Hospital Practice (jan. 15):51].*

одговор кој вклучува КД4⁺Т клетки, кој е потребен за имунитетот на туберкулоза, може да биде одговорен за поголемиот дел од ткивното оштетување при заболувањето. КД4⁺ Т клеточната активност претставува основа за туберкулинскиот кожен тест со прочистен протеиски дериват (ППД) од *M. tuberculosis* (види поглавје 14).

При инфекција со *M. tuberculosis*, најчестиот клинички облик наречен белодробна туберкулоза, се појавува кај 90% од заразените лица. Во овој облик, КД4⁺Т клетките се активираат 2 до 6 недели по инфекцијата, поттикнувајќи инфилтрација на голем број активирани макрофаги. Овие клетки го заградуваат организмот во грануломатозна лезија наречена туберкулум (слика 18-10). Туберкулумот се состои од неколку мали лимфоцити и компактна групација на активирани макрофаги, кои понекогаш се диференцираат во епителоидни клетки или повеќејадрени гигантски клетки. Масивната активација на макрофагите која се случува во туберкулумот често доведува до концентрирано ослободување на литични ензими. Овие ензими ги уништуваат околните здрави клетки, што доведува до појава на кружни подрачја на некротично ткиво, кои со текот на времето создаваат лезија со казеозна (како сирење) конзистенција (види слика 18-10). Како што зараснуваат овие казеозни лезии, тие калцифицираат и лесно се видливи на рендгенска слика, каде се нарекуваат Гонови комплекси.

Бидејќи активираните макрофаги го супримираат размножувањето на фагоцитираните бацили, инфекција е задржана. Цитокините кои се создадени од КД4⁺Т клетките (Тпо1 подгрупата) играат значајна улога во одговорот со активација на макрофагите за да можат да ги убијат бацилите или да го инхибираат нивниот развој. Улогата на ИФН-гама во имуниот одговор на микобактерии била прикажана кај глувците на кои им е отстранет ИФН-гама. Овие глувци умреле кога биле инфицирани со атенуиран вид на микобактерија (БКЖ), додека ИФН-гама⁺ нормалните глувци преживеале.

Неодамнешните студии откриле високи нивоа на ИЛ-12 во плевралните ефузии на туберкулозните пациенти. Високите нивоа на ИЛ-12, создадени од активираните макрофаги, не се изненадувачки, имајќи ја предвид решителната улога на овој цитокин во стимулирањето на Тпо1-посредуваните реакции (види слика 12-12). Кај глувчешките модели на туберколоза, се покажало дека ИЛ-12 го зголемува отпорот на болеста, не само со стимулирање на развојот на Тпо1 клетки, туку исто така со поттикнување на создавањето на хемокини кои ги привлекуваат макрофагите на местото на инфекцијата. Кога ИЛ-12 е неутрализиран од противтелото против ИЛ-12, создавањето на гранулом кај туберкулозните глувци е блокирано.

КД4⁺Т клеточно-посредуваниот имун одговор се јавува кај многу лица кои биле изложени на *M. tuberculosis* и на тој начин ја контролира инфекцијата и подоцна заштитува од реинфекција. Сепак, околу 10% од лицата кои се заразени со *M. tuberculosis* следат различен клинички модел: болеста напредува до хронична белодробна туберкулоза или до вонбелодробна туберкулоза. Овој развој може да настане неколку години по првичната инфекција. При овој клинички модел, акумулацијата на големи концентрации на микобактериски противгени во туберкулумот води до опсежна и постојана КД4⁺Т клеточна активација, по што следи макрофагна активација. Резултирачките високи концентрации на литични ензими предизвикуваат некротичните казеозни лезии да станат течни, создавајќи богат медиум кој им овозможува на бацилите од туберкулумот да се размножуваат вонклеточно. На крајот лезиите руптурираат, а бацилите се распространуваат во белите дробови и/или низ крвта и лимфните садови се шират во плевралната празнина, коските, урогениталниот систем, менингите, перитонеумот или кожата.

Туберкулозата се лекува со неколку лекови кои се користат во комбинација, каде спаѓаат изониазид, рифампин, стрептомицин, пиразинамид и етамбутол. Комбинираната терапија со изониазид и рифампин е особено ефикасна. Сепак, внатреклеточниот развој на *M. tuberculosis* им отежнува на лековите да стигнат до бицилите. Поради оваа причина, терапијата со лекови мора да продолжи најмалку 9 месеци за отстранување на бактериите. Одредени пациенти со туберкулоза немаат клинички симптоми, а некои со симптоми почнуваат да се чувствуваат подобро 2 до 4 недели по почетокот на лекувањето. За да се избегнат несаканите ефекти поврзани со вообичаената антибиотска терапија, многу пациенти, штом се чувствуваат подобро, прекинуваат со земање на лекарствата долго време пред да заврши препорачаниот период на лекување. Бидејќи пократкото лекување може да не ги отстрани организмите кои до одреден степен се отпорни на антибиотиците, може да се појави вид отпорен на повеќе лекови. Непочитувањето на препорачаните режими на лекување, еден од најпроблематичните аспекти на моменталните туберкулозни случаи, видно ги загрозува напорите да се запре ширењето на болеста. Во средините каде е можно, директно надгледуваната терапија, или ДНТ, обезбедува почитување на долгиот тераписки режим.

Во моментов, единствената вакцина за *M. tuberculosis* е атенуираниот вид на *M. bovis* наречен БКЖ (Бацилот на Калмет-Жерин). Вакцината овозможува доволно ефикасна заштита против вонбелодробна туберкулоза, но не е дос-

ледна против белодробната туберкулоза. Во различни студии, БКЖ овозможила заштита кај околу 0% до 80% од вакцинираните лица. Во други случаи, БКЖ вакцинацијата дури и го зголемила ризикот од инфекција. Покрај тоа, по БКЖ вакцина, туберкулинскиот кожен тест не може да се користи како ефикасен тест за надгледување на изложувањето на *M. tuberculosis*. Поради променливата ефикасност на БКЖ вакцината и неможноста да се надгледува изложувањето со кожен тест по вакцинацијата, оваа вакцина не се користи во САД. Сепак, алармантниот пораст на видовите отпорни на повеќе лекови стимулираше повторни напори за развивање на поефикасна вакцина за туберкулоза.

Паразитарни болести

Изразот *паразит* опфаќа голем број протозоални и хелминтични организми кои се сметаат за одговорни за голем број болести, главно во развиените земји. Разновидноста на паразитскиот свет го отежнува воопштувањето, но главна разлика помеѓу видовите на паразити е тоа што протозоите се едноклеточни еукариоти кои обично живеаат и се множат во клетката домаќин, додека хелминтичните организми се повеќеклеточни организми (црви) кои ги инфестираат луѓето, но имаат способност да живеат и да се размножуваат сами. Повеќето паразитарни инфекции резултираат со хронична наместо со акутна болест, иако постојат одредени исклучоци, како што се акутните маларични напади. Постојат голем број докази за избегнувањето на имуниот систем од паразитите, што им овозможува хронично да го инфицираат нивниот домаќин и во некои, но не во сите случаи, познати се механизмите на избегнување. Експерименталните системи, обично глувчешките модели на инфекција, имаат дефинирано како се постигнува имунитет против одредени паразити, но сложеноста на паразитските инфекции спречува лесно воопштување.

Протозоалните болести засегаат милиони лица низ светот

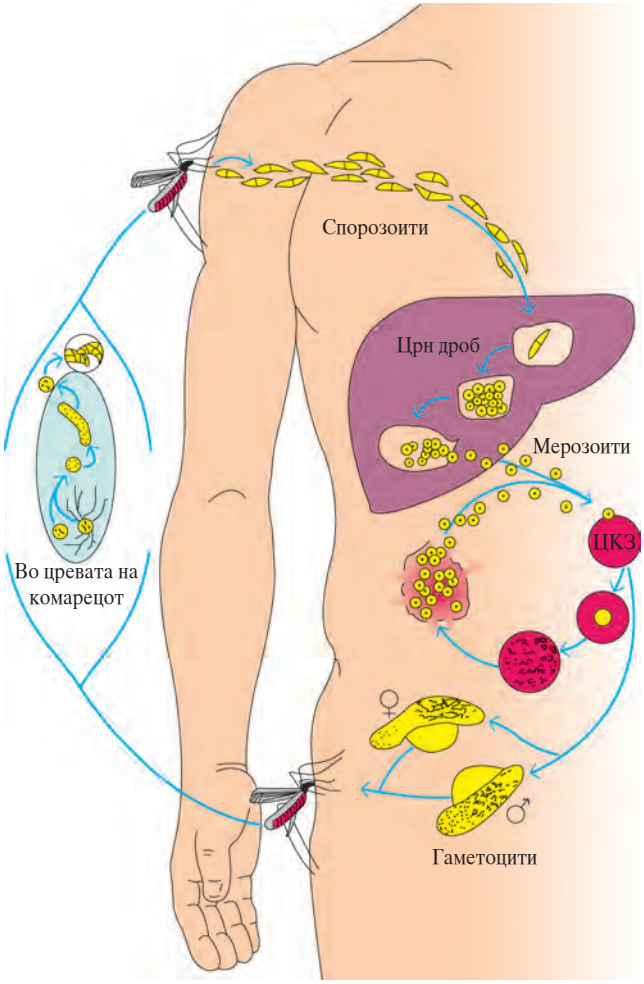
Протозоите се одговорни за сериозни болести кај луѓето, вклучувајќи ги амебијазата, Чагасовата болест, Африканската спиечка болест, маларијата, лајшманиозата и токсоплазмозата. Типот на имун одговор кој се развива при протозоална инфекција и ефикасноста на одговорот делумно зависат од локацијата на паразитот во домаќинот. Голем број протозои имаат фази во животниот циклус кога се слободни во крвотокот и при овие фази хуморалното противтело е најефикасно. Многу од овие исти патогени исто така се способни за внатреклеточен развој. Во текот на овие фази, клеточно-посредуваните имуни реакции се ефикасни во одбраната на домаќинот. При развојот на вакцини за протозоалните болести, внимателно треба да се разгледа гранката на имуниот систем која најверојатно ќе посредува при заштитата.

Маларија (вид *Plasmodium*) инфицира 600 милиони луѓе низ светот

Маларијата е една од најстрашните болести во светот денес, со која се инфицирани скоро 10% од светската популација и предизвикува 1 до 2 милиони смртни случаи секоја година. Маларијата е предизвикана од различни видови на родот *Plasmodium*, а од нив највирулентен и најраспространет е *P. falciparum*. Алармантниот развој на отпорност на повеќе лекови на *Plasmodium*-от и зголемениот отпор на пестициди на неговиот вектор, комарецот *Anopheles*, го нагласуваат значењето на развојот на нови стратегии за спречување на ширењето на маларијата.

Животен циклус на *плазмодиумот* и патогенеза на маларијата

Плазмодиумот, во текот на неговиот мошне сложен животен циклус минува низ значајна серија на развојни и фази на зреење. Женките комарци *Anopheles*, кои се хранат со крв,



СЛИКА 18-11 Животен циклус на *плазмодиумот*. Спорозоитите навлегуваат во крвотокот кога инфицираниот комарец цица крв. Спорозоитите мигрираат во црниот дроб, каде што се размножуваат, при што ги трансформираат хепатоцитите во гигантски повеќејадрени шизонти, кои ослободуваат во крвотокот илјадници мерозоити. Мерозоитите ги инфицираат црвените крвни клетки, кои подоцна руптурираат и ослободуваат повеќе мерозоити. Со текот на времето дел од мерозоитите се диференцираат во машки и женски гаметоцити, кои се ингестирани од комарецот и се диференцираат во гамети. Гаметите се спојуваат за да создадат зигот кој се диференцира во спорозоитна фаза во плунковната жлезда од комарецот.

служат како вектор за *плазмодиумот* и дел од животниот циклус на паразитот се случува во комарецот. (Бидејќи мажјаците комарци *Anopheles* се хранат со соковите на растенијата, тие не пренесуваат *плазмодиум*).

Човечката инфекција започнува кога спорозоитите, една од фазите на *плазмодиумот*, навлегуваат во крвотекот на лицето кога заразениот комарец цица крв (слика 18-11). За 30 минути, спорозоитите исчезнуваат од крвта и се преселуваат во црниот дроб, каде ги инфицираат хепатоцитите. Спорозоитите се долги, тенки клетки кои се покриени со 45 кДа протеин наречен циркумспорозоитен (ЦС) противген, кој посредува при адхезијата на хематоцитите. Поврзувачкото место на ЦС противгенот е конзервирано подрачје на карбоксилниот крај (наречен подрачје 2) кој има висок степен на секвенцна хомологија со познати клеточни адхезивни молекули.

Во црниот дроб, спорозоитите се размножуваат брзо и претрпуваат сложена серија на трансформации кои кулминираат со создавање и ослободување на мерозоитите за една недела. Проценето е дека црнодробниот хепатоцит заразен со еден спорозоит може да ослободи од 5000 до 10000 мерозоити. Ослободените мерозоити ги инфицираат црвените крвни клетки и ги поттикнуваат симптомите и патологијата на маларијата. Во црвените крвни клетки, мерозоитите се размножуваат и претрпуваат последователни диференцијации; со текот на времето клетката руптурира и ослободува нови мерозоити, кои инфицираат поголем број црвени крвни клетки. Подоцна, дел од мерозоитите се диференцираат на машки и женски гаметоцити, кои можат да бидат проголтани од женката *Anopheles* за време на цицањето крв. Во цревата на комарецот, машките и женските гаметоцити се диференцираат во гамети кои се спојуваат и создаваат зигот, кој во плунковната жлезда се размножува и диференцира во спорозоит. Сега заразениот комарец е подготвен за повторно да го започне циклусот.

Симптомите на маларија се повторувачки настинки, грозница и потење. Симптомите достигнуваат врв скоро на секои 48 часа, кога идните генерации на мерозоити се ослободуваат од заразените црвени крвни клетки. Инфицираното лице подоцна станува слабо и анемично и покажува спленомегалија (зголемување на слезината). Големиот број на мерозоити кои се формирани можат да ги блокираат капиларите, при што предизвикуваат интензивни главоболки, откажување на бубрезите, инфаркт на срцето или церебрално оштетување-често со фатални последици. Постојат сомневања дека дел од симптомите на маларијата може да не се предизвикани од самиот *плазмодиум*, туку од прекумерното создавање на цитокини. Оваа хипотеза произлегува од забелешката дека пациентите со рак кои при клиничките испитувања биле лекувани со рекомбинантен тумор некротичен фактор (ТНФ) добиле симптоми кои личеле на маларија. Односот помеѓу ТНФ и маларичните симптоми бил проучен со инфицирање на глувците со глувци-специфичен вид на *плазмодиум*, кој предизвикал нагла смрт од церебрална маларија. Се покажало дека инектирањето на овие глувци со противтела против ТНФ ја спречила наглата смрт.

Реакција на домаќинот на инфекција со *плазмодиум*

Во подрачјата каде маларијата е ендемична, имуниот одговор на *плазмодиум* инфекцијата е слаб. Децата помлади од 14 години создаваат најслаб имун одговор и според тоа најверојатно ќе добијат маларија. Во некои подрачја, во детството стапката на смртност од маларија достигнува 50%, а низ светот, болеста убива околу еден милион деца годишно. Нискиот имун одговор против *плазмодиумот* кај децата може да се покаже преку мерење на серумските нивоа на противтела на спорозоитна фаза. Само 22% од децата кои живеат во ендемичните области имаат забележливи противтела на спорозоитната фаза, додека 84% од возрасните имаат такви противтела. Сепак, дури и кај возрасните, степенот на имунитет е далеку од целосен, а повеќето луѓе кои живеат во ендемичните подрачја имаат доживотно ниско ниво на *плазмодиумски* инфекции.

Голем број на фактори можат да придонесат за ниските нивоа на имуна реактивност кон *плазмодиумот*. Промените при зреење од спорозоит до мерозоит и гаметоцит му овозможуваат на организмот постојано да ги менува површинските молекули, што доведува до постојани промени на противгените видени од имуниот систем. Внатреклеточните фази од животниот циклус во црнодробните клетки и црвените крвни клетки исто така го намалуваат степенот на имуна активација која ја создава патогенот и му овозможуваат на организмот да се размножува додека е заштитен од напад. Покрај тоа, најпристапната фаза, спорозоитот, циркулира во крвта само околу 30 минути пред да ги инфицира хепатоцитите; не е веројатно дека во толку краток период ќе настане толку ефикасна имуна активација. Дури и кога се развива противтелен одговор на спорозоитите, *плазмодиумот* развил начин за надминување на одговорот преку отфрлање на површинската ЦС-противгена обвивка и на тој начин противтелата ги прави неефикасни.

Создавање на вакцина против маларија

Ефикасната вакцина против маларија треба најефикасните имуни одбранбени механизми да ги доведе до максимум. Нажалост, малку е познато за улогата која хуморалните и клеточно-посредуваните реакции ја играат во развојот на заштитниот имунитет против оваа болест. Денешните методи за создавање вакцина против маларија користат голем број на методи. Очигледна цел е спорозоитната фаза, со блокирање на првиот напаѓачки чекор може да се спречи инфекцијата. На пример, една експериментална вакцина се состои од *плазмодиум* спорозоити атенуирани со рендгенско зрачење. Во една студија, девет волонтери биле последователно имунизирани со убод од *P. falciparum* заразени, озрачени комарци. Овие резултати се охрабрувачки, но нивното пренесување во масивна имунизација остана проблематично. Спорозоитите не растат добро во култура на клетки, така што, ќе биде потребен огромен инсектариум за одгледување на комарците во кои ќе се внесат доволно озрачени спорозоити за вакцинирање на само едно мало село.

Другите стратегии за вакцини целат кон создавање на синтетска поединица на вакцината која ќе се состои од епитопи на крвно-фазниот паразит кој ќе може да го препознаат Т и Б клетките. Покреативен и глобален метод вклучува вакцини, наречени вакцини кои спречуваат пренесување, кои целат на протеините кои се прикажани на паразитот во фазата во комарецот, при што ја спречува таа фаза од репликативниот циклус. Женката-комарец ќе ги внесе противтелата од вакцинираниот домаќин заедно со крвта, противтелата ќе спречат развивање на следната фаза од животниот циклус на паразитот, а комарецот нема да ја пренесе болеста при следниот убод, со што ефикасно се блокира циклусот на пренесување. Кога во одредена област се вакцинирани доволен број на лица, ќе се прекине циклусот на пренесување.

До денес, не е развиена ефикасна вакцина против маларија, но ова е поле што активно се испитува и се тестираат голем

број на методи. Веројатно е дека успешната вакцина ќе користи комбинирана стратегија, која цели кон различни противгени во различни животни фази на маларичниот паразит.

Два вида на *трипанозома* предизвикуваат Африканска спиечка болест

Два вида на Африканска трипанозома, кои претставуваат флагеларни протозои, можат да предизвикаат спиечка болест, хронична, исцрпувачка болест која кај луѓето и стоката се пренесува преку убод од мувата цеце. Во крвотокот, трипанозомата се диференцира во долга, тенка форма која продолжува да се дели на секои 4 до 6 часа. Болеста се развува низ неколку фази, започнува со рана (системска) фаза каде трипанозомите се множат во крвта и напредуваат до невролошка фаза каде паразитите го инфицираат централниот нервен систем, предизвикувајќи менингоенцефалитис, а подоцна и губење на свеста.

Како што се зголемува бројот на паразити по инфекцијата, се јавува ефикасен хуморален одговор против гликопротеинската обвивка, наречена променлив површински гликопротеин (ППГ), кој ја покрива трипанозомската површина (слика 18-12). Овие противтела ги отстрануваат поголемиот број на паразити од крвотокот, и преку комплемент-посредувана лиза и со опсонизација и последователна фагоцитоза. Сепак, околу 1% од организмите, кои имаат противгено различен ППГ, го избегнуваат почетниот противтелен одговор. Овие преживеани организми започнуваат да се размножуваат во крвотокот и се забележува нов бран на паразитемија. Следните бранови на паразитемија претставуваат уникатен механизам на противгено поместување преку кој трипанозомите можат да го избегнат имуниот одговор против нивните гликопротеински противгени. Овој процес е толку ефикасен што секоја нова варијанта која настанува во текот на една инфекција може да ги избегне хуморалните противтела кои се создаваат како одговор на претходната варијанта и на тој начин се повторуваат брановите на паразитемија (слика 18-12а).

Неколку необични генски процеси ја создаваат големата варијација на трипанозомниот ППГ кој му овозможува на организмот да го избегне имуното отстранување. Една трипанозома носи голем степен на ППГ гени, при што сите кодираат различна ППГ првична секвенца. На пример, *Trypanosoma brucei*, содржи повеќе од 1000 ППГ гени во неговиот геном, групирани во повеќе хромозомаски области. Трипанозомот прикажува само еден ППГ ген. Активацијата на ППГ генот доведува до удвојување на генот и негово пренесување до препишувачки активна прикажувачка област (ПО) на теломерниот крај од одредени хромозоми (слика 18-12б). Активацијата на нов ППГ ген го отстранува претходниот ген од теломеричната прикажувачка област. Одреден број на хромозоми во трипанозомот имаат препишувачко активни прикажувачки области на теломерните краеви, за да може потенцијално да се прикаже одреден број на ППГ гени, но непознати котролни механизми го ограничуваат прикажувањето на една ППГ прикажувачка област во едно време.

Изгледа постои некаков редослед на ППГ варијациите во текот на инфекцијата. Секоја нова варијанта не настанува како клонален производ на една варијантна клетка, туку од растењето на многу клетки кои го активирале истиот ППГ ген во моменталниот бран на паразитен развој. Не е познато како овој процес е контролиран од поедините трипанозоми. Постојаните промени на епитопите претставени од ППГ значително го отежнале создавањето на вакцина против Африканската спиечка болест.

Лајшманијазата е корисен модел за прикажување на разликите во реакциите на домаќинот

Протозоалниот паразит *Leishmania major* овозможува силен и појаснувачки пример за тоа како реакциите на домаќинот можат да се разликуваат помеѓу различни лица. Овие разлики можат да доведат до отстранување на паразитот или смрт од инфекција. *Leishmania*-та живее во фагозомите на макрофагите. Отпорот против инфекцијата се поврзува со создавањето на ИФН-гама и развојот на Тпо1 одговор. Елегантните проучувања кај глувците покажале дека одредени соеви кои се отпорни на *Leishmania* развиваат Тпо1 одговор и при инфекцијата создаваат ИФН-гама. Ако овие соеви на глувци го загубат или ИФН-гама или ИФН-гама рецепторот, стануваат високо чувствителни на *Leishmania*-поттикната фаталност, што го нагласува значењето на ИФН-гама во спречувањето на инфекцијата. Неколку соеви на глувци, како што е БАЛБ/ц, се многу чувствителни на *Leishmania* и често подлегнуваат на инфекција. Овие глувци поттикнуваат Тпо2 тип на одговор на инфекција со *Leishmania*, создаваат високи нивоа на ИЛ-4, но не и ИФН-гама. Според тоа, една разлика помеѓу ефикасната и неефикасната одбрана против паразитот е развојот на Тпо1 или Тпо2 одговор. Неодамнешните проучувања покажале дека разликата помеѓу отпорните соеви на глувци и БАЛБ/ц е тоа што мала ограничена подгрупа на БАЛБ/ц КД4$^+$Т клетки се способни за препознавање на одреден епитоп на *L. major*, и оваа подгрупа создава високо ниво на ИЛ-4 рано при одговорот против паразитот, пренасочувајќи го одговорот кон предоминантно Тпо2 тип. Разбирањето како овие различни Т-помагачки реакции влијаат врз исходот на инфекциите општо може да придонесе за логичкиот развој на ефикасни третмани и вакцини против други патогени.

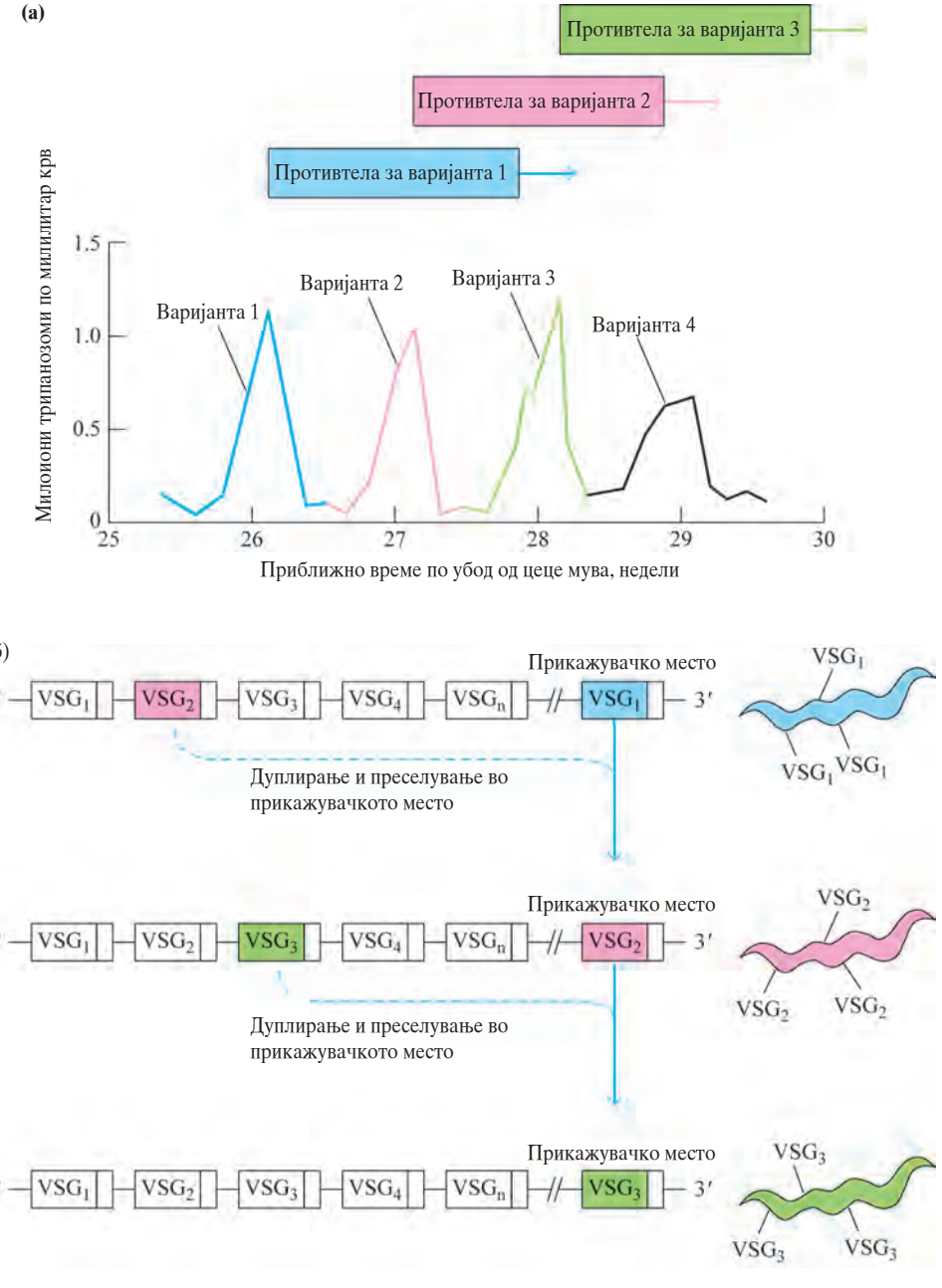
Голем број на болести се предизвикани од паразитски црви (хелминти)

Паразитските црви, или хелминтите, се одговорни за голем број болести кај луѓето и животните. Иако хелминитите се подостапни на имуниот систем од протозоите, повеќето заразени лица носат мал број од овие паразити. Поради оваа причина, имуниот систем не реагира силно и нивото на имунитет создаден против овие хелминити често е многу ниско. Повеќе од милијарда лица се заразени со *Ascaris*, паразитски валчест црв кој го инфицира тенкото црево, а повеќе од 300 милиони лица се заразени со *Schistosoma*, трематоден црв кој предизвикува хронична исцрпувачка инфекција. Неколку хелминти се значајни патогени на домашните животни и ги напаѓаат луѓето кога внесуваат контаминирана храна. Овие хелминити ги вклучуваат *Taenia*, плочест црв кај стоката и свињите и *Trichinella*, валчест црв кај свињите кој предизвикува трихиноза.

Неколку видови на *Schistosoma* се одговорни за хроничното, исцрпувачко, а понекогаш и фатално заболување **шистосомијаза** (порано познато како *билхарзија*). Три видови, *S. mansoni, S. japonicum* и *S. haematobium*, се главните патогени кај луѓето, кои инфицираат лица во Африка, Средниот Исток, Јужна Америка, Карибите, Кина, Југоисточна Азија и Филипините. Порастот

ДЕТАЛНА СЛИКА 18-12

Последователни бранови на паразитемија по инфекција со *Trypanosoma* кои се јавуваат како резултат од противгеното поместување на променливиот површински гликопротеин (ППГ) на паразитот.



(а) Секоја варијанта која настанува не е засегната од хуморалните противтела кои се поттикнати од претходната варијанта. (б) Противгените поместувања кај трипанозомите настануваат со дуплирање на генските сегменти кои кодираат различни ППГ молекули и со нивното преселување во прикажувачко место лоцирано блиску до теломерот. *[Дел а прилагодено од J. Donelson, 1988, The Biology of Parasitism, Alan R. Liss, New York.]*

на инциденцата на шистосомијата во последниве години одела паралелно со зголемената употреба на иригацијата низ светот, со што се зголемило живеалиштето на водните полжави кои служат како преоден домаќин на шистосомијазата.

Инфекцијата се појавува преку контакт со инфективните ларви кои слободно пливаат, наречени церкарии, кои се ослободени од заразените полжави со стапка од 300 до 3000 на ден. Кога церкариите доаѓаат во контакт со човечката кожа, тие лачат дигестивни ензими кои им помагаат да навлезат во кожата, каде ги испуштаат нивните опашки и се транформираат во шистосомули. Шистосомулите навлегуваат во капиларите и мигрираат во белите дробови, потоа во црниот дроб и на крајот во првичното место на инфекцијата, која варира кај различни видови на патогени. *Schistosoma mansoni* и *S. japonicum* ги инфицираат тенкоцревните мезентерични вени, *S. haematobium* ги инфицира вените на мочното меурче. Штом се утврдат во нивната последна ткивна област, шистосомулите созреваат во машки и женски возрасни црви. Црвите се парат, а женките создаваат најмалку 300 боцкави јајца на ден. За разлика од протозоалните паразити, шистосомите и другите хелминти не се размножуваат во нивните домаќини. Јајцата кои ги создава женскиот црв не созреваат во возрасни црви во луѓето. Наместо тоа, дел од нив преминуваат во фецесот или урината и се исфрлаат за да се инфицираат повеќе полжави. Бројот на црви кај инфицираното лице се зголемува само преку повторно изложување на церкарии кои слободно пливаат, така што повеќето заразени лица носат мал број на црви.

Повеќето симптоми на шистосомијазата се поттикнати од јајцата. Половина од создадените јајца остануваат во домаќинот, каде го напаѓаат тенкоцревниот sид, црниот дроб, мочниот меур и предизвикуваат крварење. Потоа може да се развие хронична состојба во која опстојуваат возрасните црви и неисфрлените јајца поттикнуваат клеточно-посредувани доцен тип реакции на преосетливост, што резултира со големи грануломи кои постепено се одвојуваат со фиброзно ткиво. Иако јајцата се блокирани со создавањето на грануломот, често самиот гранулом го попречува текот на венската крв во црниот дроб или мочниот меур.

Против шистосомите се јавува имун одговор, но кај повеќето лица, не е доволен за да ги елиминира возрасните црви, иако внатреваскуларните места на инфестација со шистосомот треба да го направат црвот лесна цел за имуниот напад. Наместо тоа, црвите опстојуваат до 20 години. Шистосомулите се форми кои се најчувствителни на напад, но бидејќи се подвижни, можат да го избегнат локализираното клеточно надоаѓање на имуни и воспалителни клетки. Возрасните шистосомни црви исто така имаат неколку единствени механизми кои ги штитат од имуните реакции. Се покажало дека возрасните црви го намалуваат прикажувањето на противгени на надворешната мембрана и исто така се опкружуваат со гликолипидна и гликопротеинска обвивка која ја земаат од домаќинот, со што го прикриваат присуството на сопствените противгени. Меѓу противгените кои се забележани кај возрасниот црв се противгените од АБО крвната група и ткивносовпадливите противгени од домаќинот. Се разбира, со ова прикривање со противгените на домаќинот се намалува имуниот одговор, што мора да придонесува за доживотното опстојување на овие организми.

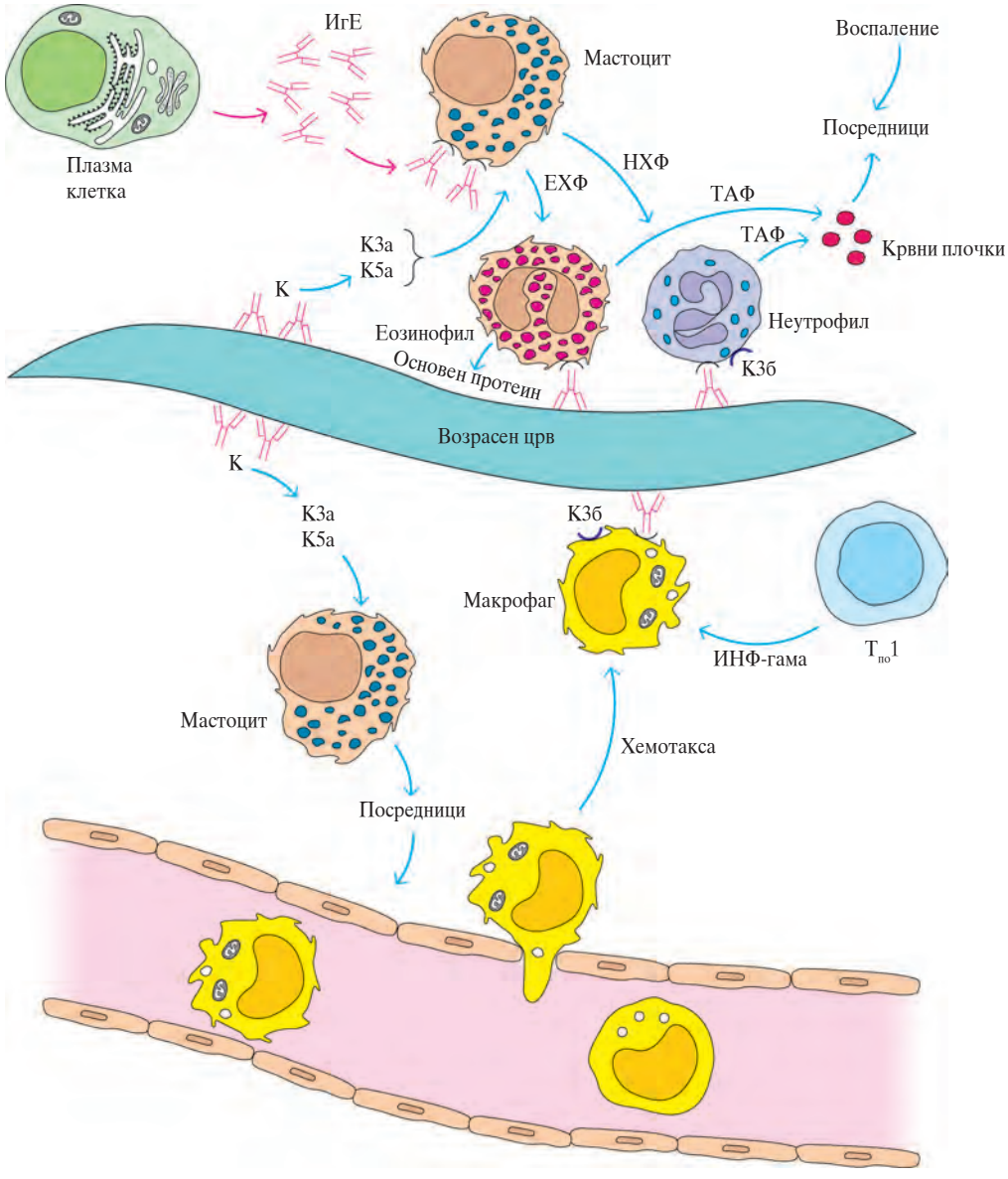
Релативното значење на хуморалните и клеточно-посредуваните реакции во заштитниот имунитет против шистосомијазата е спорно. Хуморалниот одговор на инфекција со *S. mansoni* се карактеризира со високи титри на протившистосомните ИгЕ противтела, локализиран пораст на мастоцитите и нивното последователно обеззрнување и зголемен број на еозинофили (слика 18-30, *горе*). Овие манифестации покажуваат дека цитокините кои ги создава Тпо2 потгрупата се значајни за имуниот одговор: ИЛ-4, кој поттикнува Б клетките да ја сменат класата и да создаваат ИгЕ, ИЛ-5, кој ги поттикнува коскено срцевинските претходници да се диференцираат во еозинофили и ИЛ-3, кој (заедно со ИЛ-4) го стимулира растот на мастоцитите. Обеззрнувањето на мастоцитите ослободува посредници кои ја зголемуваат инфилтрацијата со такви воспалителни клетки како што се макрофагите и еозинофилите. Еозинофилите прикажуваат Фк рецептори за ИгЕ и ИгГ и се врзуваат за противтела-покриениот паразит. Штом се врзе за паразитот, еозинофилиот може да учествува во противтело-зависната клеточно-посредувана цитотоксичност (ПЗКЦ), при што ослободува посредници од неговите зрнца кои го оштетуваат паразитот (види слика 14-12). Еден еозинофилен посредник, наречен основен протеин, е особено токсичен за хелминтите.

Сепак, студиите на имунизација кај глувците покажуваат дека хуморалниот ИгЕ одговор можеби не обезбедува заштитен имунитет. Кога глувците се имунизираат со *S. mansoni* вакцина, заштитниот имун одговор кој се развива не е ИгЕ одговор, туку Тпо1 одговор кој се карактеризира со создавање на ИФН-гама и акумулација на макрофаги (слика 18-13, *долу*). Покрај тоа, вкрстените соеви на глувци со дефицит на мастоцити или ИгЕ со вакцината добиваат заштитен имунитет, додека вкрстените соеви со дефицит на КД4$^+$ Т-клеточните реакции не можат да развијат заштитен имунитет со вакцината. Овие студии покажуваат дека КД4$^+$ Т-клеточниот одговор можеби е најважниот имунитет против шистосомијазата. Предложено е дека способноста да се поттикне неефикасен Тпо2 одговор можеби еволуирал кај шистосомите како паметен одбранбен механизам за да се осигура дека Тпо2 клетките создале доволни нивоа на ИЛ-10 за да го попречат заштитниот имунитет посредуван од Тпо1 подгрупата при КД4$^+$ Т-клеточниот одговор.

Противгените кои се присутни врз мембраната од церкариите и младите шистосомули се надежни вакцински делови бидејќи изгледа дека овие фази се најчувствителни за имун напад. Инектирањето на глувците и староците со моноклонски противтела против церкариите и младите шистосомули пасивно го пренесува отпорот на инфекција со живи церкарии. Кога овие заштитни противтела се употребуваат во хроматографски колони за прочистување на шистосомните мембрански противгени од необработените мембрански екстракти, се открило дека глувците кои се имунизирани и ревакцинирани со овие прочистени противгени имаат зголемен отпор кон подоцнежен напад со живи церкарии. Потоа биле утврдени шистосомни кДНК библиотеки и биле скринирани со заштитни моноклонски противтела за да се утврдат оние кДНК кои кодираат површински противгени. Експериментите кои употребуваат клонирани церкарии или шистосомулни противгени во моментов се проценуваат за да се одреди нивната способност за поттикнување на заштитен имунитет кај животинските модели. Сепак, при развивањето на ефикасна вакцина против шистосомијазата, тенка линија го одделува полезниот имун одговор, кој во најдобар случај го ограничува бројот на паразити, од штетниот одговор, кој самиот може да стане патолошки.

ДЕТАЛНА СЛИКА 18-13:

Преглед на имуниот одговор кој се создава против *Schistosoma mansoni.*



Одговорот вклучува хуморален дел (*горе*) и клеточно-посредуван дел кој ги вклучува КД4⁺ Т-клетките (*долу*). К = комплемент, ЕХФ = еозинофилен хемотактички фактор, НХФ = неутрофилен хемотактички фактор, ТАФ = тромбоцитен-активирачки фактор.

Габични болести

Миколозите проценили дека постојат околу милион видови на габи. Околу 400 од нив се агенси на човечка болест. Оваа разновидна група на организми зазема голем број места и извршува одредени услуги за луѓето како што се ферментација на леб, сирење, вино и пиво и создавање на пеницилин, прототип на антибиотик. Инфекцијата може да настане со внесување на егзогени организми преку повреда или вдишување или од ендогени организми како резултат на пробив на имунитетот. Габичните продукти можат да бидат токсични, карциногени,

ТАБЕЛА 18-4 Класификација на габичните болести

Место на инфекција	Површна	Епидермис, нема воспаление
	Кожна	Кожа, коса, нокти
	Поткожна	Рани, обично воспалителни
	Длабока или системска	Бели дробови, утроба, коски, ЦНС
Начин на навлегување	Егзоген	Околински, воздушно, кожно или преку кожата
	Ендоген	Латентна реактивација, комензални организми
Вируленција	Првична	Наследно вирулентна, инфицира здрав домаќин
	Опортунистичка	Ниска вирулентност, инфицира имунозагрозен домаќин

или дури, во случајот на одредени продукти од печурки, халуциногени. Првата човечка болест која се покажало дека има габично потекло била лишаи на кожата. David Grub во 1843 година изолирал габа од пациент со лишаи на кожата и потоа покажал дека тој ја предизвикал болеста кога ќе се инокулира во здрава кожа.

Габичните болести, или микози, се класифицираат по:

- местото на инфекција - суперфицијална, кожна, поткожна или длабока и системска;
- начинот на навлегување - егзоген или ендоген;
- вируленција - првична или опортунистичка.

Овие категории (објаснети во табела 18-4) меѓусебно се поврзани. На пример, инфекцијата како што е кокцидиомикозата може да се развие од кожна лезија до системска длабока инфекција на белите дробови. Кожните инфекции вклучуваат напад на кожата, косата и ноктите. Примери за тоа се лишаите на кожата, предизвикани од *Trichophyton tonsurans* или *Microsporum audouinii*, атлетско стапало (тениа педис) и џокејски јадеж (тинеа крусис), најчесто предизвикан од *Trichophyton mentagrophytes*. Поткожните инфекции обично настануваат преку траума и ги придружува воспаление. Ако воспалението е хронично, може да следи големо ткивно оштетување. Длабоките микози ги вклучуваат белите дробови, централниот нервен систем, коските и утробата. Инфекцијата настанува преку внесување храна, вдишување или инокулација во крвотокот.

Вируленцијата се дели на првична, која се однесува на агенси со висока патогеничност и опортунистичка, која се однесува на слабо вирулентни агенси кои првенствено ги инфицираат лица со загрозен имунитет. Повеќето габични инфекции кај здравите лица брзо зараснуваат, со малку клинички знаци. Најчести и најдобро проучени габични патогени се *Cryptococcus neoformans, Aspergillus fumigatus, Coccidioides immitis, Histoplasma capsulatum* и *Blastomyces dermatitidis*. Болестите предизвикани од овие габи се именувани по агенсот. На пример, *C. neoformans* предзвикува криптококоза, а *B. dermatitidis* предизвикува бластомикоза. При секој случај, инфекцијата со овие околински агенси е подпомогната од предизипозициски болести во кои спаѓаат СИДА-та, имуносупресивното лекување и неисхранетост.

Вродениот имунитет ги контролира повеќето габични инфекции

Бариерите на вродениот имунитет ги контролираат повеќето габи. Комензалните организми исто така го контролираат растењето на одредени потенцијални патогени, како што е покажано со долготрајното лекување со широко-спектрални антибиотици, кои ја уништуваат нормалната мукозна бактериска флора и често водат до орална или вулвовагинална инфекција со *Candida albicans*, опортунистички агенс. Фагоцитозата од неутрофилите е силна одбрана против повеќето габи, така што луѓето со неутропенија (низок број на неутрофили) се чувствителни на габични болести.

Алтернативната и лектинската патека на комплементна активација се поттикнати од делови присутни во повеќето габични клеточни ѕидови и опоравувањето од инфекцијата кај нормалните, здрави лица е брзо. Маноза-врзувачкиот протеин препознава одредени главни габични патогени, вклучувајќи ги *C. albicans* и одредени видови на *C. neoformans* и *A. fumigatus*. Активацијата на комплементот преку алтернативната или лектинската патека овозможува врзување на деловите за организмот и последователна фагоцитоза и внатреклеточно уништување со кислород-зависни или кислород-независни убивачки механизми. Во случајот на белодробни инфекции, сурфактантските протеини кои се присутни во белите дробови се врзуваат за патогените и ја олеснуваат нивната фагоцитоза. Клеточните рецептори, вклучувајќи ги комплементните рецептори КР1, КР3 и КР4 (види поглавје 7), како и одредени РПО, се врзуваат за габичните протеини и ја посредуваат фагоцитозата или поттикнуваат цитокинско прикажување кое ги вклучува имуните клетки. Улогата на КР3 се потврдува со фактот дека смртноста на експерименталните инфекции кај глувците со *Cryptococcus* се зголемила по внесувањето на противтело кон КР3. Неодамнешните проучувања за улогата на ТВР при справувањето со габичната инфекција покажале дека ТВР2 и ТВР4 сигнализираат реакции против *C. neoformans, A. fumigatus* и *C. albicans* преку MyD88 (види поглавје 3), иако сè уште не е познат точниот механизам на овој одговор.

Имунитетот против габичните патогени може да се стекне

Убедувачки доказ за стекнат имунитет против габична инфекција е заштитата против последователните напади кои следат по инфекцијата. Оваа заштита лесно се покажува за голем број бактерии и вируси, но е помалку видлива за габичните болести бидејќи првичната инфекција често поминува незабележана. Позитивната кожна реактивност на габичните противгени е добар индикатор за предходната инфекција и присуството на клеточен имунитет. За ткивните инфекции, грануломатозното воспаление го контролира ширењето на *C. neoformans* и *H. capsulatum*, што го покажува присуството на стекнат клеточно-посредуван имунитет. Организмот може да остане во грануломот во латентна состојба и се реактивира само доколку домаќинот стане имуносупримиран.

Присуството на противтела обично сигнализира дека инфекцијата е отстранета и дека има траен имунитет. На пример, противтелата против *C. neoformans* обично можат да се сретнат кај здравите лица, што покажува дека имало инфекција. Како што објаснивме во поглавје 19, вакцината која се базира на вообичаен клеточно површински полисахарид може да

даде заштита против неколку вообичаени габи. Други студии покажале дека пренесувањето на противтелата има сличен ефект.

Можеби најкрут тест за типот на имунитет кој е најефикасен против габичните патогени доаѓа од набљудувањето на обично ретките болести кај пациенти со загрозен имунитет. Иако пациентите со СИДА имаат зголемена инциденца на мукозна кандидијаза, хистоплазмоза, кокцидиомикоза и криптококоза, постојат граници на опсегот и степенот на забележаните болести. Орофарингеалната кандидијаза е честа кај жени со СИДА, но вулвовагинална и системска инфекција со *C. albicans* се ретки. Овие забелешки кај Т-клеточно загрозените пациенти со СИДА и податоците дека Б-клеточно дефициентните глувци немаат зголемена чувствителност на габична болест покажуваат дека други механизми на имунитетот ги контролираат габичните патогени.

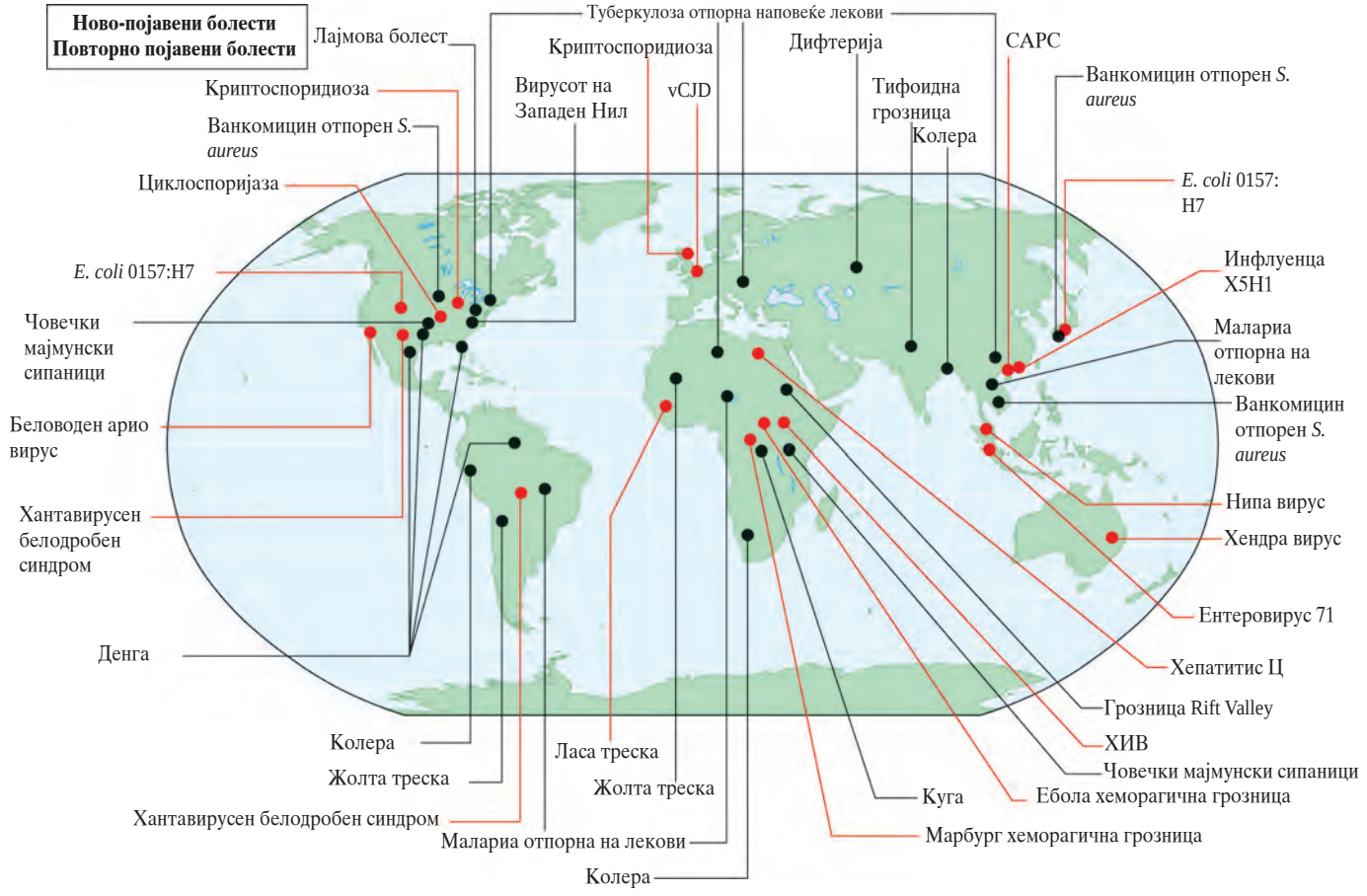
Проучувањето на имунитетот против габичните патогени е релативно неразвиено во споредба со другите области од имунологијата. Сепак, поради ширењето на сидата и употребата на имуносупресивните лекови за други болести, се зголемува бројот на лица со степен на имунонедостаток, што покажува дека ќе се зголеми истражувањето во оваа област. Механизмите преку кои се контролираат овие распространети патогени еволуирале заедно со нивниот домаќин-цицач, а нивното откривање треба да отвори нови патишта за разбирање на имунологијата.

Инфективни болести кои се појавуваат

Се чини дека неколку пати годишно слушаме за ново-настанат вирус или бактерија, често на далечни места придружени со тешка болест или смрт. Ново-објаснетите патогени се нарекуваат *појавувачки патогени*. Одредени појавувачки патогени кои се објаснети уште од раните 70-ти години од дваесеттиот век се прикажани на слика 18-14. ХИВ е пример за ново-појавен патоген.

Болестите можат повторно да се појават од разни причини

Периодично, опасните патогени кои отпаднале од вид ненадејно започнуваат да напаѓаат голем број лица. Овие избувнувања се наречени *повторно појавувачки* инфективни болести . Повторната појава на овие болести не е изненадувачка ако земеме предвид дека бактериите можат да се прилагодат на скоро секоја средина. Ако можат да се адаптираат на острите температури на термалните отвори длабоко во океанот, не е тешко да се прифати дека можат да еволуираат за да ги избегнат противмикробните лекови. Примерите за болести кои повторно се појавуваат исто така се наведени на слика 18-



СЛИКА 18-14 Примери за појавувањето и повторното појавување на болестите со местата на потекло. Црвените точки претставуваат ново-појавени болести, а црните точки претставуваат болести кои повторно се појавуваат. [Прилагодено од A. S. Fauci, Infectious diseases; considerations for the 21th Century. Clinical Infectious Diseases 32: 65.]

14. Дополнителниот ризик од намерното ширење на болестите е објаснето во клиничкиот фокус долу.

Туберкулозата е болест која повторно се појавува и во моментов прима големо внимание. Пред петнаесет години, службениците за јавно здравје беа убедени дека туберкулозата набрзо ќе исчезне како голем здравствен проблем во САД. Неколку настани го прекинаа тоа, вклучувајќи ја епидемијата на СИДА и порастот на имуносупримирани лица поради други болести, што им овозможи на ТБ видовите да се зацврстат и да развијат отпор кон обичните антибиотици. Потоа, овие лица ги пренесле ново-појавените, отпорни на антибиотици видови на *M. tuberculosis* на други лица.

Создадена е вакцина против антракс, но нејзината употреба е ограничена на војската. Моменталниот препарат е филтрат од култури на вид кој не формира спори на *B. anthracis*. Новите предложени вакцини се базираат на механизмот кој организмот го користи да ги инфицира целните клетки и структурата и функцијата на протеините од антраксот. Главниот протеин

КЛИНИЧКИ ФОКУС

Закана од инфекција со потенцијални агенси на биотероризам

Употребата на човечки патогени како оружје има долга историја. Лорд Jeffry Amherst користел големи сипаници против домашното американско население пред Револуционерната војна, а исто така постојат и извештаи за обиди да се шири чума и антракс во подалечното и поблиското минато. Пред неколку години, членови на отпаднички култ во Орегон ставиле салмонела во салатните барови на неколку ресторани за да предизвикаат болест и смрт. Во 2001 година, спори од антракс им биле пратени на конгресмени и новинските агенции.

Патогените и токсините со потенцијал да се искористат како оружје се наречени "селектирани агенси" и вклучуваат бактерии, бактериски токсини и одредени вируси (види табела долу). Заканата од таквите агенси зависи од тежината на болеста која ја предизвикуваат и од леснотијата со која може да се шират. На пример, Ебола вирусот предизвикува фулминантна хеморагична болест, но за ширење на вирусот потребен е директен контакт со заразените телесни течности. Позагрижувачки се патогените кои се шират преку аеросоли, како што е антраксот и токсините кои можат да се додадат во храната или водата, како што е ботулинскиот токсин.

Иронично е тоа што еден од најопасните биотеристички агенси се големите сипаници, цел на првата вакцина. Големите сипаници се предизвикани од вирусот *Variola major*. 30% или повеќе од лицата заразени со овој вирус умираат по еден месец од изложувањето, а на преживеаните може да остави ужасни лузни. Големата сипаница може брзо да се прошири, дури и пред симптомите да станат видливи. Како што објаснивме по поглавје 1, вакцината за големите сипаници е вирус (*Vaccinia*) кој е поврзан со вариолата, која при повеќето случаи предизвикува локализирана пустула која се повлекува за 3 недели. Големите сипаници исчезнаа како последица на распространетата вакцинација - последниот пријавен случај на природна инфекција бил во 1977 година. Како што оваа болест била ерадицирана, било прекинато и со вакцинирањето. Во САД вакцинирањето завршило во 1972 година. Исто така запрено е и создавањето на вакцината, а останатите дози биле складирани.

Причините поради кои дошло до прекинување на вакцинацијата за големите сипаници ги вклучуваат несаканите ефекти кои зафаќаат приближно 40 лица на милион вакцинирани. Тие можат да бидат опасни по живот и се јавуваат во форма на енцефалитис или распространета кожна инфекција. Покрај тоа, скоро вакцинираните лица можат да го шират вирусот на други, особено на оние со загрозен имунитет. Повремените негативни реакции на вакцината можат да бидат лекувани со примање на имуноглобулин изолиран од серумот на лица кои се претходно вакцинирани, но овие т.н. вакциниски ИГ, или ВИГ, повеќе не се произведуваат и се достапни во мали количини. Заканата од големите сипаници како биотеристички агенс значи дека вакцината треба да се преиспита. Мала е веројатноста дека вакцината која ќе се создаде денес ќе биде иста со вакцината од порано. Старата вакцина била создавана со инфицирање на изгребана кожа на теле и потоа се гребела инфицираната област за да се земе вирусот. Новата вакцина-кандидат веројатно ќе се создава под контролирани услови во ткивна култура на клеточна линија која е потврдено дека не е загадена со вируси, а новиот вирус може да биде повисоко атенуирана форма на вакцинија. Залихите на ВИГ мора да се дополнат пред да започне масовната вакцинација.

Повеќето од вирусите од листата на селектирани агенси не се шират лесно. Агенсите на биотероризам кои се подготвени во форма која им овозможува лесно распрснување се нарекуваат *оружја*. Иако кошмарните сценарија вклучуваат вирусни агенси кои се создадени во лабораторија, најверојатно како оружје ќе се користат бактериите. Случајното ослободување на антракс (*Bacillus anthracis*) во Свердловск во поранешниот Советски сојуз инфицираше 78 луѓе, од кои 68 умреа, нагласувајќи го смртоносниот потенцијал на овој организам. При крајот на 2001 година, писма кои содржат антракс (на сликата долу) инфицирале одреден број луѓе во повеќе поштенски центри како што се разделувала поштата, што овозможило краток поглед во тоа колку широко и брзо

Категорија А агенси за биотероризам
Антракс (*Bacillus anthracis*)
Ботулизам (*Clostridium botulinum toxin*)
Чума (*Yersina pestis*)
Големи сипаници (*Variola major*)
Туларемија (*Francisella tularensis*)
Вирусни хеморагични грозници (филовируси [на пример, Ебола, Марбург] и арена вируси [на пример, Ласа, Мачупо])

кој е вклучен во инфекцијата е т.н. заштитен противген или ЗП, кој се комбинира или со едема факторот (ЕФ) или со смртоносниот фактор (СФ) за да предизвика продуктивна инфекција. Противтелата кои целат кон површувачкото место на ЗП за СФ или ЕФ се развиваат како следна генерација на вакцини против антракс.

Заканата од селективните агенси на биотероризмот, како и заканата од болестите кои се појавуваат, со големо внимание се препишува на необичните инфективни процеси и на зголеменото проучување на агенсите кои стануваат оружја. Истражувањето за одредување на делотворноста на разни третмани против селективните агенси и прозорите на имунитет кои се јавуваат како резултат на внесувањето на противтоксини, се развија како највисок приоритет во САД по нападите на 11 Септември 2001 година.

Иако стапката на инфекција со *M. tuberculosis* во САД значително се зголеми во раните 90-ти години од дваесеттиот век, до 1995 година, инциденцата повторно почна да се намалува.

може да се прошири био-оружјето низ модерната инфраструктура.

Bacillus anthracis е чест ветеринарен патоген и, како и големите сипаници, бил цел на раните обиди за вакцина, во овој случај од Луј Пастер. Инфекција кај луѓето била пронајдена главно кај оние лица кои работат со влакна или кожа од животни, особено кози. Инфекцијата настанува на три различни начина:

- **Вдишувањето** предизвикува тешка слична на грип болест со голема смртност, освен доколку брзо не се дијагностицира и лекува со антибиотици како што се пеницилинот, доксициклинот или ципрофлоксацинот.
- **Кожното** изложување доведува до кожни лезии со карактеристична црна рана-есхара. Кожниот антракс има 20% смртност доколку не се лекува, но обично реагира на антибиотици.
- **Гастроинтестиналното** изложување доведува до улцери во илеумот или цекумот, крвава дијареа и сепса и скоро секогаш е фатално поради тешкотијата за дијагностицирање.

Bacillus anthracis е особено смртен бидејќи бацилусот формира спори кои се стабилни на топлина, сувост, сончева светлина и други фактори кои обично ја ограничуваат способноста за живот на патогенот. Релативно е лесно да се поттикне формирање на спори, а спорите се тие што се користат како био-оружје. Студиите на цицачи покажуваат дека вдишувањето на 2500 до 55000 спори ќе предизвика фатална болест, иако бројот е спорен. Жртвите може да имаат симптоми слични на грип. Рендгенското испитување на градите ќе открие карактеристично проширување на медијастинумот, а крвните дамки покажуваат грам-позитивни бацили. Бидејќи за преживување потребни се итна дијагноза и лекување, неопходно е медицинскиот персонал да биде обучен за да ја препознае болеста.



Писмата до конгресмените и новинските агенции кои содржеле антраксни спори.
[Сопственост на Федералното биро за истраги.]

Сепак, инциденца на болеста низ светот сè уште расте, а Светската здравствена организација предвидува дека помеѓу 1998 и 2020 година, уште 1 милијарда лица ќе се инфицираат, а преку 70 милиони лица ќе умрат од оваа болест доколку не се преземат превентивни мерки.

Друга болест која повторно се појавува е дифтеријата. Во последниве години, дифтеријата со вакцинирањето речиси исчезна од Европа. Сепак, во 1994 година, беа пријавени раштркани случаи во дел од поранешните советските земји. Во 1995 година, над 50000 случаи беа пријавени во истиот регион, а илјадници умреа од инфекција со дифтерија. Социјалниот пресвт и нестабилноста кои настанаа со распадот на Советскиот сојуз веројатно беа главен фактор за повторното појавување на оваа болест, поради пропусти во здравствените мерки. Можеби најзначаен беше прекинот на програмите за имунизација. Од 1995 година, имунизацијата повторно се воспостави, а трендот се намали, при тоа беа пријавени само 13687 случаи на дифтерија во Руските републики во 1996 година, 6932 во 1998 година и 1573 во 2000 година.

Од неодамна се појавија одредени фатални болести

Навидум од никаде се појавија други болести и, колку што ни е нам познато, се предизвикани од нови патогени. Овие патогени ги вклучуваат доста популарниот Ебола вирус и *Legionella pneumophilia*, бактериски предизвикувачки агенс на Легионерската болест. Еболата за прв пат била откриена по епидемијата во Африка во 1976 година и прими големо внимание поради тежината на болеста и наглото развивање до смрт по почетокот на симптомите. До 1977 година, вирусот кој ја предизвикува оваа болест е изолиран и класифициран како филовирус, вид на РНК вирус кој го вклучува сличниот смртоносен Марбургов вирус, тесно поврзан со Еболата. Еболата предизвикува особено тешка грозница со крварење која убива повеќе од 50% од заразените. Сепак, иако ризикот од смрт е многу висок по инфекцијата, многу е лесно да се контролира ширењето на вирусот со изолирање на заразените лица, протокол кој се покажа како ефикасен во задржувањето на вирусот при последните две појавувања.

Легионерската болест е вирулентна пневмонија која за прв пат е пријавена кај 221 лице кои присуствувале на Американската Легионерска конвенција во Филаделфија во 1976 година. Од 221 заразено лице, 34 умреле од инфекцијата. Организмот кој ја предизвикува оваа болест бил мистерија сè до идентификувањето на бактеријата која била наречена *Legionella pneumophilia*. Оваа бактерија се размножува во ладни, влажни области, каде спаѓаат и кондензирачките елементи од големите комерцијални системи за климатизација. Инфекцијата може да се шири кога клима-уредите емитуваат аеросоли кои содржат бактерии, како што се случило во 1976 година на конвенцијата во Филаделфија. Бидејќи опасноста од таквите аеросоли веќе е позната, подобрениот дизајн на водоводните и системите за климатизација значително ја намалиле опасноста од оваа болест.

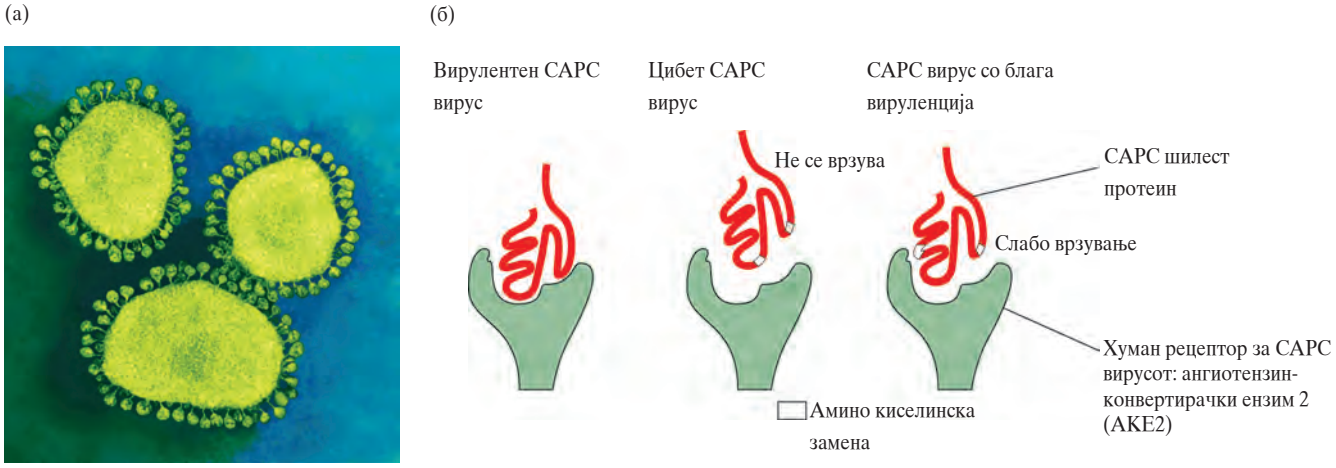
Во 1999 година, во Западната хемисфера се појави нов вирус. Вирусот Западен Нил прво бил изолиран во Уганда во 1937 година и не бил откриен надвор од Африка и западна Азија до 1999 година, кога бил откриен во областа на градот Њу Јорк. До 2006 година, во сите освен во шест држави на континенталниот САД, биле пријавени лица заразени со вирусот Западен Нил, брзо ширење за толку краток период. Вурсот Западен Нил е флавивирус, група на вируси кои обично се шират од инсекти, најчесто комарци. Најчестиот резервоар на вирусот се птиците, особено чувствителни се враните. Комарците боцнуваат инфицирана птица и, најчесто, со вирус-заразените комарци се пренесува вирусот на друга птица. Повремено, комарците ги боцнуваат луѓето, со што ги инфицираат со вирусот. Бидејќи вирусот Западен Нил не е заразен меѓу луѓето, не се шири меѓу населението и скоро кај сите, освен кај мал број на лица, инфекцијата со Западен Нил не предизвикува болест. Само кај лицата со нарушена имуна функција вирусот претставува опасност. Бидејќи овој вирус кај загрозените лица може да ја премине крвно-мозочната бариера, може да предизвика опасен по живот енцефалитис или менингитис, вообичаената причина за смрт од овој патоген. Помеѓу 1999 и 2001 година, Западен Нил разболел 131 лице и предизвикал 18 смртни случаи во САД. Во 2004 година, во центарот за контрола на болестите биле пријавени 2539 случаи на Западен Нил, со 100 смртни случаи. Овие статистики покажуваат дека Западен Нил се шири и претставува вирус кој треба внимателно да се надгледува. Моменталните здравствени контролни механизми вклучуваат едукација на јавноста за контролата на комарците.

Избувнувањето на САРС поттикна брз меѓународен одговор

Во ноември 2002 година, во провинцијата Гвандонг во Кина била забележана необјаслива атипична пневмонија. Во следните неколку месеци, болеста се јавила во седум други провинции и во исто време се покажа како отпорна на постоечките лекарства. Во февруари 2003 година, доктор кој лекувал пациенти болни со оваа болест отпатувал во Хонг Конг, ја добил болестта и инфицирал 16 други гости во хотелот каде што престојувал. Потоа овие гости станале носители на меѓународно избувнување кое траело до крајот на мај 2003 година. Избувнувањето на непознатата, која не се лекува и потенцијално фатална болест ги подготви патните советници, да ги скринираат меѓународните патници и да се стават во строг карантин сите кои биле во контакт со заразени лица. Додека да се спречи болеста со овие ефикасни јавно-здравствени мерки, биле пријавени 8096 случаи, со 774 смртни случаи. Заедно со хуманата трагедија и немирот предизвикан од оваа болест, наречена тежок акутен респираторен синдром (САРС), се проценува дека поради прекинот на патувањето и бизнисот со Азија економските загуби изнесуваат десетици милијарди долари.

Брзиот одговор на биомедицинско истражувачката заедница набрзо го утврди етиолошкиот агенс на САРС како коронавирус, именуван така бидејќи протеините како шилци излегуваат од овие вируси и им даваат изглед како круна (слика 18-15а). Човечките коронавируси се познати многу години, но основната хумана болест која им се препишува е блага форма на обичната настинка. Сепак, ново-појавената варијанта претходно не е забележана кај луѓето. По откритието дека најраните случаи на САРС се откриени кај животни, набрзо тоа им се припиша на цибетките. Најновите податоци покажуваат дека лилјакот може да претставува првичен резервоар на САРС короновирусот. Животинските модели развиени за САРС вирусни инфекции покажале дека противтелата против надоврешниот шилест протеин можат да го спречат размножувањето на вирусот. Биле предложени неколку вакцини-кандидати и започнало тестирањето. За среќа, стравуваната епидемија не се појави следната зима и немаше потреба од повторен масовен јавно-здравствен одговор.

Загражувачките прашања од избувнувањето на САРС се: Како вирусот се пренел од животните кај луѓето и како можел да се шири толку брзо во хуманата популација? Одговорите



СЛИКА 18-15 Коронавирусот кој го предизвикал избувнувањето на тешкиот акутен респираторен синдром, или САРС. (а) Вирусот е опкружен со шилци кои при попречен пресек даваат изглед на круна, оттаму и името коронавирус. (б) Човечкиот рецептор за САРС вирусот е ангиотензин-конвертирачкиот ензим 2 или АКЕ 2. Шилестиот протеин од високо вирулентната форма на вирусот со висок афинитет се врзува за овој рецептор; вирусите кои се среќаваат кај цибетите и во верзија која предизвикува блага хумана болест имаат две различни амино киселински замени во шилестиот протеин. САРС вирусот од цибетите не се врзува за хуманиот рецептор, а верзијата која предизвикува блага болест кај луѓето се врзува 1000 пати послабо од повирулентната форма. [Дел *а* од Dr. Linda Stanard, UCT/Photo Researchers; дел *б* адаптиран од K. V. Holmes, 2005, Science 309:1822.]

се добиени со рендгенските кристалографски структури на шилестиот протеин на САРС вирусот при контакт со неговиот рецептор, човечкиот ангиотензин-конвертирачки ензим тип 2 или АКЕ 2. Мутации на две амино киселини на вирусниот шилест протеин кој стапува во контакт со АКЕ го преобразиле цибетниот вирус во вирус кој се врзува 1000 пати посилно за човечкиот протеин. Значењето на врзувачкиот афинитет помеѓу шилестиот протеин и АКЕ2 било потврдено со секвенцна анализа на САРС вирусот од лесен случај на болеста. Шилестиот протеин на оваа атенуирана форма на вирусот има мутации на клучните врзувачки остатоци и се врзува слабо со АКЕ2 (слика 18-15б). Епидемијата на САРС од 2003 година овозможува страшен пример за брзината со која мутацијата кај патогенот може да го пренесе кај човечкото население и потенцијаниот пустош кој може да настане.

Зошто се појавуваат овие нови болести, а други повторно се појавуваат? Една причина која ја предлагаат јавно здравствените институции е групирањето на сиромашните луѓе во светот во мали области на големите градови. Друг фактор е зголемувањето на меѓународните патувања: едно лице може да се зарази на еден континент, а потоа да ја пренесе болеста на друг континент уште истиот ден. Масивната дистрибуција и увозот на храна може да изложи големи популации на потенцијално затруена храна. Неселективната употреба на антибиотици кај луѓето и во ветеринатата поттикнува отпор кај патогените на лековите кои обично се употребуваат против нив. Промените во климатските и временските модели заедно со протегањето на човечкото население во претходно неупотребувани домени на животните внесуваат нов патоген во хуманата популација. Невнимателноста при спроведувањето на програмите за вакцинирање води до повторна појава на болестите кои скоро биле отстранети. Светската здравствена организација и Центарот за контрола на болестите активно ги надгледуваат новите инфекции и заедно работат за да ги откријат и идентификуваат новите инфективни агенси и да овозможат најнови информации за патниците во делови од светот каде таквите појавувачки и повторно појавувачки инфективни агенси можат да претставуваат ризик.

Собирок

- Реакциите на вродениот имунитет ја создаваат почетната одбрана против патогените. Овие реакции ги вклучуваат физичките бариери, како што е кожата и неспецифично создавање на делови од комплементот, фагоцитни клетки и одредени цитокини при одговор на инфекција од разни патогени.
- Имуниот одговор против вирусните инфекции вклучува делови и од хуморалниот и од клеточно-посредуваниот имунитет. Вирусот мутира брзо и на тој начин го избегнува хуморалниот противтелен одговор.
- Имуниот одговор против надворклеточните бактериски инфекции во основа е посредуван од противтела. Противтелото може да активира комплемент-посредувана лиза на бактеријата, неутрализира токсини и да служи како опсонин за зголемување на фагоцитозата. Одбраната на домаќинот против внатреклеточните бактерии во голем степен зависи од КД4$^+$ Т-клеточно посредуваните реакции.
- И хуморалните и клеточно-посредуваните имуни реакции се вклучени во имунитетот против протозоалните инфекции. Во основа, хуморалното противтело е ефикасно против протозоите кога се наоѓаат во крвната фаза на нивниот животен циклус, но штом протозоите ги инфицираат клетките на домаќинот, неопходен е клеточно-посредуваниот имунитет. Протозоите ги избегнуваат имуните реакции преку неколку механизми.
- Хелминтите се големи паразити кои обично не се размножуваат во клетките. Бидејќи само неколку од овие организми ги носи инфицираното лице, изложувањето на имуниот систем на хелминтите е ограничено. Според тоа, поттикнато е ниско ниво на имунитет. Хелминтите обично се напаѓани со противтелно посредувани одбрани.
- Габичните болести, или микозите, ретко се тешки кај нормалните, здрави лица, но претставуваат поголем проблем за оние лица со имунонедостаток. И вродениот и стекнатиот

имунитет ја контролираат инфекција со секаде присутните габи.

- Појавувачките и повторно појавувачките патогени вклучуваат некои ново-објаснети патогени и други за кои претходно се верувало дека се контролираат од јавно здравствените установи. Факторите кои водат до појава на таквите патогени ги вклучуваат зголеменото патување и претрупување на одредени популации.

Референции

Alcami, A., and U. H. Koszinowski. 2000 Viral mechanisms of immune evasion. *Trends in Microbiology* 8:410.

Bloom, B. R., ed. 1994. *Tuberculosis: Pathogenesis, Protection and Control*. ASM Press, Washington, DC.

Borst, P., et al. 1998. Control of VSG gene expression sites in Trypanosoma brucei. *Molecular and Biochemical Parasitology* 91:67.

Casadevall, A. 2002. Passive antibody administration (immediate immunity) as a specific defense against biological weapons. *Emerging Infectious Diseases* 8:833.

Doherty, P. C. 1997. Effector CD41 and CD81 T-cell mechanisms in the control of respiratory virus infections. *Immunological Reviews* 159:105.

Kaufmann, S. H., A. Sher, and R. Ahmed, eds. 2002. *Immunology of Infectious Diseases*. ASM Press, Washington, DC.

Knodler, L. A., J. Celli, and B. B. Finlay. 2001. Pathogenic trickery: deception of host cell processes. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2:578–88.

Lamm, M. E. 1997. Interaction of antigens and antibodies at mucosal surfaces. *Annual Review of Microbiology* 51:311.

Lane, H. C., et al. 2001. Bioterrorism: a clear and present danger. *Nature Medicine* 7:1271.

Levitz, S. M. 2004. Interactions of Toll-like receptors with fungi. *Microbes and Infection* 6:1351.

Li, F., et al. 2005. Structure of SARS coronavirus spike receptor-binding domain complexed with receptor. *Science* 309:1864.

Lorenzo, M. E., H. L. Ploegh, and R. S. Tirabassi. 2001. Viral immune evasion strategies and the underlying cell biology. *Seminars in Immunology* 13:1–9.

Merrell, D. S., and S. Falkow. 2004. Frontal and stealth attack strategies in microbial pathogenesis. *Nature* 430:250.

Morens, D. M., G. K. Folkers, and A. S. Fauci. 2004. The challenge of emerging and re-emerging infectious diseases. *Nature* 430:242.

Pestka, S., C. D. Krause, and M. R. Walter. 2004. Interferons, interferon-like cytokines and their receptors. *Immunological Reviews* 202:8.

Rosenthal, S. R., et al. 2001. Developing new smallpox vaccines. *Emerging Infectious Diseases* 7:920.

Schofield, L., and G. E. Grau. 2005. Immunological processes in malaria pathogenesis. *Nature Reviews Immunology* 5:722.

Skowronski, D. M., et al. 2005. Severe acute respiratory syndrome. *Annual Review of Medicine* 56:357.

Tumpey, T. M., et al. 2005. Characterization of the reconstructed 1918 Spanish influenza pandemic virus. *Science* 310:77.

WHO Global Influenza Program Surveillance Network. 2005. Evolution of H5N1 avian influenza viruses in Asia. *Emerging Infectious Diseases* 11:1515.

Корисни веб страни

http://www.cdc.gov/ncidod/

Страна на Националниот центар за инфективни болести е одлична страна за надгледување на болестите кои се појавуваат и поделбата на центрите за контрола на болестите (CDC). На оваа веб страна може да се најдат линкови до CDC.

http://www.niaid.nih.gov/

Националниот институт за алергија и инфективни болести е NIH институтот кој го спонзорира истражувањето на инфективните болести, а неговата страна обезбедува одреден број на линкови до други важни страни.

http://www.who.int/

Ова е страната на Светската здравствена организација, меѓународната организација која ги надгледува инфективните болести низ целиот свет.

http://www.upmc-biosecurity.org

Веб страна на универзитетот во Питсбург центарот за биолошка безбедност овозможува информации за селективните агенси и болестите кои можат да претставуваат безбедносна закана.

Прашања за учење

ПРАШАЊЕ ОД КЛИНИЧКИ ФОКУС ВИГ се користи за лекување на пациенти кои имаат компликации по внесувањето на вакцината против големите сипаници. Каде се добива ВИГ и зошто е често ефикасно лекување?

1. Ефектот на ГТК врз имуниот одговор на пептидите на инфлуенца вирусниот нуклеопротеин бил проучуван кај H-2^{б} глувците кои претходно се имунизирани со живи инфлуенца вириони. ЦТЛ активноста на подготвените лимфоцити била одредени со ин витро ЦМЛ анализа со употреба на X-2^{к} фибробласти како целни клетки. Целните клетки се трансфектирани со различни X-2^{б} класа 1 ГТК гени и биле заразени или со жива инфлуенца или инкубирани со

Целна клетка (Х-2^{к} фибробласт)	Тест противген	ЦТЛ активност на инфлуенца-подготвени Х-2^{б} лимфоцити (% на лиза)
(А) Нетрансфектирана	Жива инфлуенца	0
(Б) Трансфектирана со класа 1 Д^{б}	Жива инфлуенца	60
(В) Трансфектирана со класа 1 Д^{б}	Нуклеопротеински пептид 365-380	50
(Г) Трансфектирана со класа 1 Д^{б}	Нуклеопротеински пептид 50-63	2
(Д) Трансфектирана со класа 1 К^{б}	Нуклеопротеински пептид 365-380	0,5
(Ѓ) Трансфектирана со класа 1 К^{б}	Нуклеопротеински пептид 50-63	1

Сој	Х-2 алели					Противтелен одговор на ЦС пептидот
	K	IA	IE	S	D	
B10.BR	k	k	k	k	k	<1
B10.A (4R)	k	k	b	b	b	<1
B110.HTT	s	s	k	k	d	<1
B10.A (5R)	b	b	k	d	d	67
B10	b	b	b	b	b	73
B10.MBR	b	k	k	k	q	<1

Извор: Адаптирано од M. F. Good et al., 1988, *Annual Review of Immunology.* 6:633.

нуклеопротеински синтетични протеини. Резултатите од овие анализи се прикажани во табелата долу.

а. Зошто во системот А нема убивање на целните клетки и покрај тоа што целните клетки се заразени со жива инфлуенца?
б. Зошто во системот В се создаде ЦТЛ одговор против нуклеопротеинот и покрај тоа што е внатрешен вирусен протеин?
в. Зошто има добар ЦТЛ одговор во системот В против пептидите 365-380, додека во системот Г нема одговор против пептидите од 50-63?
г. Ако создавате синтетичка пептидна вакцина за инфлуенца кај луѓето, како ќе влијаат овие резултати добиени од глувци со инфлуенца врз создавањето на вакцината?

2. Објаснете ги неспецифичните одбрани кои работат кога микроорганизмите кои создаваат болест прв пат ќе навлезат во телото.
3. Објаснете ги разните специфични одбранбени механизми кои ги користи имуниот систем за борба против разните патогени.
4. Која е улогата на хуморалниот одговор при имунитетот против инфлуенца?
5. Објаснете ги уникатните механизми кои ги има секој од следниве патогени за избегнување на имуниот одговор: (а) Африканските трипанозоми, (б) видовите *плазмодиум* и (в) инфлуенца вирусот.
6. M. F. Good и неговите соработници го анализирале ефектот на ГТК хаплотипот врз противтелниот одговор против маларичниот циркумспорозоитен (ЦС) пептиден противген кај неколку рекомбинантни сродни соеви на глувци. Нивните резултати се прикажани на табелата горе десно:
   а. Врз база на резултатите од проучувањето, која/и ГТК молекула(и) ќе служи/ат како спрегнати елемент(и) за овој пептиден противген?
   б. Бидејќи препознавањето на противгенот од Б клетките не е ГТК спрегнато, зошто хуморалниот противтелен одговор зависи од ГТК хаплотипот?
7. Пополнете ги празните места во следните искази.
   а. Моменталната вакцина против туберкулоза се состои од ослабен вид на *M. bovis* наречен _____.
   б. Варијацијата на површинските протеини на инфлуенца се создава од _____ и _____.
   в. Варијацијата на пилинот, кој го прикажуваат голем број на грам-негативни бактерии, се создава при процес на _____.
   г. Микобактериите кои предизвикуваат туберкулоза се одделуваат со грануломатозни лезии наречени _____, кои содржат мал број _____ и голем број _____.
   д. Дифтеричната вакцина е формалдехид-третиран препарат на егзотоксинот, наречен _____.
   ѓ. Главниот придонес за неспецифичната одбрана на домаќинот од вируси доаѓа од _____ и _____.
   е. Првичната одбрана на домаќинот против вирусното и бактериското прикачување за епителната површина е _____.
   ж. Два цитокини кои се особено значајни при одговор против инфекцијата со *M. tuberculosis* се _____, кој го стимулира развојот на Тпо1 клетките и _____, кој поттикнува активација на макрофагите.
8. Покрај фактот што нема лиценцирани вакцини против нив, опасните по живот габични инфекции не претставуваат проблем за општото население. Зошто? Кој може да е на ризик од нив?
9. Објаснете ги факторите кои придонесуваат за појава на нови патогени или за повторното појавување на патогените за кои претходно се верувало дека се контролирани во хуманата популација.
10. Кои фактори кои одат во прилог на појавата на нова болест придонесоа за избувнувањето на САРС во 2003 година?
11. Што од следново претставува стратегија која патогените ја користат за да го избегнат имуниот систем? За секој правилен избор, дадете специфичен пример.
    а. Ги менуваат противгените кои се прикажуваат врз нивната површина.
    б. Стануваат неактивни во клетката домаќин.
    в. Лачат протеази за да ги инактивираат противтелата.
    г. Имаат ниска вируленција.
    д. Развиваат отпор на комплемент-посредуваната лиза.
    ѓ. Овозможуваат точкести мутации на површинските епитопи, што доведува до противгена замена.

e. Ја зголемуваат фагоцитната активност на макрофагите.

12. Неколку дијагностички тестови ја употребуваат ЕЛИСА технологијата за тестирање на серумот на пациентите за специфични инфекции. За жал, понекогаш тестот за Лајмската болест може да даде позитивен резултат кога пациентот е заразен со *Treponema palladium* (предизвикувачкиот агенс на сифилис), а не со *Borrelia burgdorferi*. Дадете ги можните објаснувања за таквиот резултат од тестот.
13. Што од следново е карактеристично за воспалителниот одговор против надворклеточните бактериски инфекции?
    а. Зголемени нивоа на ИгЕ
    б. Активација на само-реактивните КД8$^+$ Т клетки
    в. Активација на комплементот
    г. Оток предизвикан од ослободувањето на вазодилатори
    д. Обеззрнување на ткивните мастоцити
    ѓ. Фагоцитоза од макрофагите
14. Можеби вашата мајка ве карала доколку сте трчале надвор без обувки. Ова е паметен совет поради начинот на пренесување на валчестиот црв *Necator americanus*, предизвикувач на hookworm.
    а. Ако не ја слушавте вашата мајка и се заразивте со паразитот, кои клетки од вашиот имун систем ќе се борат со инфекцијата?
    б. Ако вашиот доктор ви внесе цитокин за да управува со имуниот одговор, што би било добар избор, како овој додаток ќе го промени зреењето на плазма клетките за да создадат попомагачка класа на противтела?

Интерактивно учење

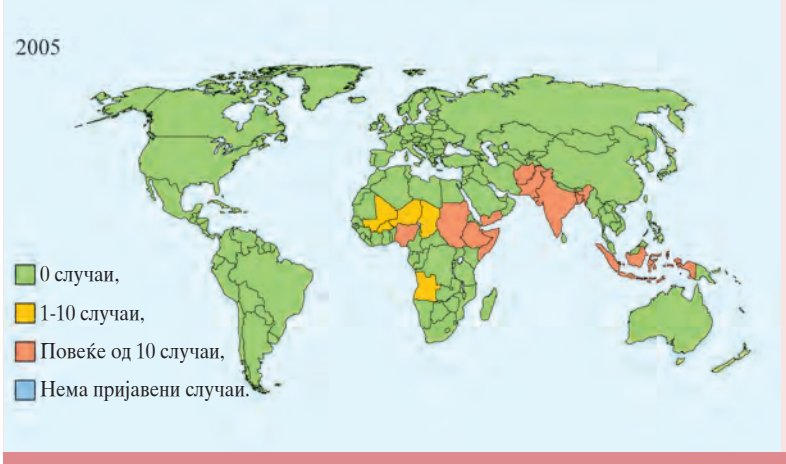
www.wreshman.com/kuby

Само - тест
Преглед на клучни изрази

Молекулско прикажување
Вирусни противгени

Поглавје 19

Вакцини



Пријавени случаи на полио, 2005 година.

- Активна и пасивна имунизација
- Дизајнирање вакцини за активна имунизација
- Живи, атенуирани (ослабени) вакцини
- Неактивирани или вакцини со „мртви бактерии“
- Конјугирани вакцини – конјугати
- Подединични вакцини
- ДНК-вакцини
- Вакцини со рекомбинантен вектор

Дисциплината имунологија своите корени ги влече од раните експерименти со вакцини на Едвард Џенер и Луј Пастер. Од тие пионерски испитувања, развиени се вакцини за голем број болести кои некогаш биле главни проблеми на човештвото. Зачестеноста на болестите како што се дифтерија, сипаници, заушки, пертусис (црна кашлица), рубела (Германски сипаници), полиомеиелитис и тетанус значително се намали како што зачести примената на вакцините. Стана јасно дека вакцината е рентабилно оружје за спречување на болестите. Можеби во ниту еден друг случај придобивките од вакцинирањето не се толку видливи како при искоренувањето на големите сипаници, еден од најдолготрајните и најопасните проблеми на човештвото. Од октомври 1977 година никаде во светот се нема пријавено ниту еден природно добиен случај на големи сипаници. Поедначво охрабрувачки е и предвиденото отстранување на полиото, преку голем број програми за вакцинирање. Оваа програма имаше сериозен проблем создаден од прекратувањето на вакцинирањето во Нигерија и во одредени области на Индија и Пакистан. Во овие земји, како и други каде што има ширење на ова заболување, особено Јемен и Индонезија, по овој прекин на имунизацијата има појава на епидемии на паралитични форми од полио. За среќа, оваа програма повторно се воспоставува, а вклучувањето на нова моновалентна вакцина која создава имунитет против еден сој на полио, покажа ефикасност во подрачјата каде циркулира само тој сој на полио. Нова голема помош во борбата против оваа детско заболување е вакцината против бактериското воспаление на белите дробови (пневмонија), која претставува главна причина за смрт кај новороденчиња.

Останува големата потреба за вакцини против другите болести. Секоја година, милиони лица низ светот умираат од маларија, туберкулоза и СИДА, заболувања против кои не постојат ефикасни вакцини. Светската здравствена организација (СЗО) проценила дека 14 000 лица на ден се разболуваат со ХИВ-1, вирусот кој предизвикува СИДА. Ефикасната вакцина може да има огромно влијание врз контролата на ова трагично ширење на смрт и катастрофа. Во однос на нападите од болестите за кои не постои вакцина, останува потребата да се подобрат безбедноста и ефикасноста на веќе постојните вакцини и да се пронајдат начини за намалување на нивните цена на чинење и ефикасно доставување до сите оние лица кои имаат потреба од нив, особено до земјите во развој. СЗО проценува дека милиони смртни случаи на новороденчиња во целиот свет се резултат на болестите кои може да се спречат со веќе постојните вакцини (види Клинички фокус на страна 476).

Патот за успешно создавање безбедна и ефикасна вакцина која може да се одобри за примена кај луѓето, со прифатлива цена и која може ефикасно да се достави до населението со ризик за даденото заболување е долг, скап и напорен. Постапките за создавање материјали кои може да им се применат на луѓето внимателно се регулираат, исто како и протоколите за тестирање на овие материјали во клиничките испитувања. Дури и тие вакцини-кандидати кои ќе ги поминат првичните фази на испитувањата и кои ќе се одобрат за употреба во клиничките испитувања кај луѓето немаат гаранција дека ќе влезат во општа употреба. Искуството покажало дека не секоја вакцина-кандидат која успешно ги поминала лабораториските испитувања и испитувањата на животини, може да го спречи и настанувањето на заболувањето кај луѓето. Одредени потенцијални вакцини предизвикуваат неприфатливи несакани ефекти, а дел од нив дури и го влошуваат заболувањето за кое се дизајнирани да го спречат. Вирусните вакцини со живи бактерии претставуваат посебна закана за оние лица со првичен или стекнат имунонедостаток (види поглавје 20). Строгото тестирање е апсолутна потреба, бидејќи одобрените вакцини ќе се применат кај голем број здрави луѓе. Опасните несакани ефекти, дури и тие кои се појавуваат со ниска зачестеност,

КЛИНИЧКИ ФОКУС

Вакцинирање: Предизвиците во САД и земјите во развој

Голем број порано вообичаени детски болести денес ретко се гледаат во САД, што претставува потврда за ефикасноста на вакцинирањето. Главна бариера за сличен успех во остатокот од светот е тешкотијата за доставување на вакцините до сите деца на кои им се потребни. Сепак, дури и дома, САД стануваат жртва на сопствениот успех. Некои родители кои никогаш не се сретнале со болестите кои се скоро исчезнати од САД не гледаат причина зошто би ги вакцинирале своите новороденчиња или може да се немарни во придржувањето за препорачаниот режим за имунизирање. Други може го застапуваат неукото и неосновано мислење дека ризиците поврзани со вакцините го надминуваат ризикот од инфекција. Ова погрешно мислење е поддржано од повремените тврдења за поврзаноста на вакцинирањето и различните нарушувања, како што е неодамнешниот извештај за случајната врска помеѓу вакцинирањето и аутизмот, болест со непозната етиологија. Повеќето вакви извештаи се базираат единствено на коинцидентното временско поклопување на вакцинирањето и појавата на заболувањето или на органичените испитувања и слабите статистички анализи. Досега, никои од наводните поврзаности на вакцинирањето и болестите не се одржале по внимателните критички разгледувања и испитувања извршени на голем примерок од населението, со примена на соодветни статистички методи.

Иако децата во САД се заштитени од голем број некогаш смртоносни болести, оваа заштита зависи од продолжувањето на програмите за имунизација. Зависноста од групниот имунитет е опасна и за поединецот и за општеството и може понекогаш да откаже. Кога се работи за полио вакцината, се проценува дека за прекинување на синџирот на пренесување на вирусот на полиото потребно е да се покрие 95% од населението. Се разбира, несаканите опасни реакции од вакцините треба темелно да се испитаат, а ако вакцината предизвикува неприфатливи несакани ефекти, програмата за вакцинирање треба да се преиспита. Во исто време, на приказните дека вакцините предизвикуваат заболувања и на неоснованите верувања без поддршка, како што е на пример верувањето дека вакцините го ослабуваат имуниот систем, мора да им се спортивставиме со точни информации од сигурни извори. Со отстапување од нашиот напредок во имунизацијата преку непридржување кон програмите за вакцинација, ќе се вратиме во времето кога сипаниците, заушките, црната кашлица и полиото беа дел од ризикот кој ги следеше децата при растењето.

Децата од земјите во развој страдаат од проблеми кои се поразлични од проблемите на децата во САД. Испитувањето на причините за смртните случаи кај новороденчињата од целиот свет покажа дека постојните вакцини може да ги спасат животите на милиони деца. Денес постојат безбедни, ефикасни вакцини за пет од водечките 10 убијци на деца (Клинички фокус, табела 1). Иако овие 10 болести вклучуваат ХИВ, ТБ и маларија, за кои нема достапни вакцини, спроведувањето на вакцинацијата која се препорачува за новороденчињата во САД може да ја намали смртноста кај децата во светот за околу половина.

Кои бариери постојат за да се овозможи вакцинирање широм низ целиот свет и да се постигне целосно искоренување на голем број болести? Неможноста да се постигнат повисоки нивоа на вакцинирање дури и во САД е показател за тежината на задачата. Дури и ако се развие соодветна вакцина и ако се постигне целосна соработка, способноста да се произведат и да се достават вакцините насекаде претставува голем предизвик. Светската здравствена организација (СЗО) изјави дека идеалната вакцина ќе ги поседува следниве особини:

- Достапна/прифатлива цена на чинење насекаде во светот
- Стабилна на топлина
- Ефикасна по само една примена доза
- Применлива за повеќе болести
- Која ќе се применува преку лигавицата
- Соодветна за внесување во раниот период од животот

Многу мал број вакцини, доколку воопшто и ги има, кои секојдневно се употребуваат ги исполнуваат сите овие услови. Сепак, целите на СЗО можат да нè насочуваат во потрагата по вакцини кои ќе можат да се применуваат насекаде во светот и кои дополнително ќе ни помогнат во поставувањето на приоритетите, особено за развојот на вакцините кои најмногу се потребни во земјите во развој. На пример, доколку вакцината за ХИВ/СИДА која ги исполнува критериумите на СЗО може да дојде до населението кое е со најголем ризик, ќе има непосреден ефект врз светската епидемија на СИДА.

Имунизацијата спасува милиони животи и сè повеќе ни се достапни ефикасни вакцини. Предизвикот на биомедицинската истражувачка заедница е да развие подобри, побезбедни, поевтини форми од овие вакцини, полесни за примена, за да може да се постигне светска имунизација.

Процена за бројот на смртни случаи во светот кај деца под 5-годишна возраст за време од една година, според видот на патогенот

Патоген	Број на смртни случаи (илјади)
Pneumococcus*	841
Сипаници	530
Хемопхилус (соеви а-ф)†	945
Ротавируси†	800
Маларија	700
ХИВ	500
PCB	500
Пертусис (магарешка/голема кашлица)	285
Тетанус	201
Туберкулоза	100

*Масните букви ги означуваат патогените за кои постои ефикасна вакцина
†Лиценцирани вакцини кои се тестираат за можни несакани ефекти
ИЗВОР: Податоците се добиени од официјални извештаи на СЗО

мора да се урамнотежат наспроти потенцијалната добивка од заштита од вакцината.

Создавањето на вакцина започнува со основно истражување. Најновите достигнувања во имунологијата и молекулската биологија доведоа до создавање на нови ефикасни вакцини и до создавање на ветувачки стратегии за изнаоѓање нови вакцини-кандидати. Познавањето на разликите во епитопите кои се препознаваат од страна на Т и Б-клетките им овозможиле на

имунолозите да започнат со создавање на вакцини-кандидати, со кои ќе може да се постигне максимално активирање на клеточниот и хуморалниот имунолошки одговор. Како што разликите во патеките за обработка на противгенот стануваат појасни, научниците започнуваат со создавање вакцини и со употреба на адјуванси (додатоци) кои ги активираат вродените имуни процеси и го максимизираат прикажувањето на противгенот со ГТК-молекулите од класа 1 и 2. Денес техниките за генетско инженерство се употребуваат за развивање на вакцини кои ќе го максимизираат имуниот одговор против точно определени (селектирани) епитопи и за поедноставување на примената на вакцините. Во ова поглавје ќе ги објасниме вакцините кои денес се употребуваат и ќе ги објасниме стратегиите за вакцините, вклучувајќи ги и резултатите од експериментите, кои може да доведат до создавање на вакцини во иднината.

Активна и пасивна имунизација

Имунитет против инфективните микроорганизми може да се постигне со активна или пасивна **имунизација**. Во секој од случаите имунитетот може да се стекне или преку природни процеси (обично преку пренесување од мајката на фетусот или преку претходна инфекција со тој организам) или на вештачки начин, како што е давањето готови противтела или со вакцина (табела 19-1). Агенсите кои се користат за предизвикување пасивен имунитет вклучуваат противтела од луѓе или животни, додека активната имунизација се постигнува преку вакцинирање со патогени кои поттикнуваат имунитет, но не предизвикуваат болест или со противгените компоненти од патогените. Во овој дел ќе ги објасниме техниките кои во моментов се употребуваат за пасивна и активна имунизација.

ТАБЕЛА 19-1 Стекнување на пасивен и активен имунитет

Вид	Стекнат преку
Пасивен имунитет	Природните противтела од мајката Имуни глобулини* Хуманизирано моноклонско противтело Противотров†
Активен имунитет	Природна инфекција Вакцини± Атенуирани организми Инактивирани организми Пречистени макромолекули од микробите Прикажани како рекомбинантни протеини Како клонирана ДНК сама или во вирусни вектори Повеќевалентни комплекси Токсоид§

* Раствор кој содржи антитела кои потекнуваат од човечка крв, добиен со ладно етанолско фракционирање на големи количини плазма, достапни за мускулна и венска употреба.
† Противтело добиено од серум на животни, кои претходно се стимулирани со специфични противгени.
± Суспензија од атенуирани живи или мртви организми или нивни противгенски делови, прикажани во потенцијалниот домаќин за предизвикување имунитет и спречување на заболување.
§ Бактериски отров кој е модифициран да биде неотровен, но кој го задржува капацитетот да стимулира создавање на противотров.

Пасивната имунизација вклучува пренесување на претформирани противтела

Иако Едвард Џенер и Луј Пастер се признаени како пионери на вакцинирањето или предизвикувањето на активен имунитет, слични признанија одат и кај Емил фон Беринг и Хидесабуро Китасато за нивните придонеси за пасивниот имунитет. Овие научници беа првите кои покажаа дека имунитетот кој е предизвикан кај едно животно може да се пренесе кај друго, со помош на внесување на серумот од првото животно (види Клинички фокус во поглавје 4).

Пасивната имунизација, каде однапред формираните противтела се пренесуваат кај примателот, настанува природно преку пренесување низ плацентата на противтелата од мајката во фетусот кој се развива. Мајчините противтела против дифтеријата, тетанусот, стрептококите, рубеолата (црвенката), рубелата, заушките и полиовирусот овозможуваат пасивна стекната заштита за фетусот кој се развива. Мајчините противтела кои се присутни во колострумот и млекото исто така му овозможуваат пасивен имунитет на новороденчето.

Пасивна имунизација може да се постигне и преку внесување во примателот на веќе формирани противтела. Во минатото, пред да се појават вакцините и антибиотиците, пасивната имунизација претставувала главна одбрана против разни инфективни заболувања. И покрај ризиците (види поглавје 16) кои се јавувале поради давањето на животински серум, обично од серум од коњ, ова претставувало единствена ефикасна терапија за обично смртоносните болести. Во моментов, во неколкуте состојби кои ја оправдуваат употребата на пасивната имунизација спаѓаат:

- Недостатокот во синтезата на противтела како резултат од вродените или стекнатите дефекти во Б-клетките, сами или заедно со други имуни недостатоци.
- Изложувањето или веројатното изложување на болест кое ќе предизвика компликации (на пример, дете со леукемија изложено на варичела или сипаници) или кога времето не дозволува соодветна заштита преку активна имунизација.
- Инфекција со патогени чии ефекти може да се подобрат со противтело. На пример, доколку лицата кои не примиле најнова активна имунизација против тетанус се повредат од убодна рана, им се дава инјекција од коњски противсерум против тетанусниот отров. Веќе создаденото коњско противтело го неутрализира секој тетанусен отров во раната создаден од *Clostridium tetani*.

Пасивната имунизација вообичаено се применува кај лица кои се изложени на ботулизам, тетанус, дифтерија, хепатит, сипаници и беснило (табела 19-2), а може да обезбеди и моментална заштита за патниците или лекарите кои набрзо ќе бидат изложени на инфективни организми и кои немаат време да создадат активен имунитет против нив. Пасивно дадениот противсерум исто така се користи за да овозможи заштита од отровот на змија и од уboди од инсекти. Бидејќи пасивната имунизација не го активира имуниот систем, таа не создава памтечки клетки, поради што остварената заштита е привремена.

За одредени заболувања, какво што е на пример акутното откажување на дишењето кај децата предизвикано од дишниот синцицијален вирус (DSV) (respiratory syncytial virus = RSV), пасивната имунизација е најдобрата превентива која е достапна во моментов. На деца кај кои постои ризик за болеста ДСВ

ТАБЕЛА 19-2 Вообичаени агенси кои се користат за пасивна имунизација

Заболување	Агенс
Каснување од пајакот црна вдовица	Коњски противотров
Ботулизам	Коњски противотров
Цитомегаловирус	Хумано поликлонско Пт
Дифтерија	Коњски противотров
Хепатит А и Б	Хумани имуноглобулини од смеша на плазми
Сипаници	Хумани имуноглобулини од смеша на плазми
Беснило	Хумани или коњски поликлонски Пт
Дишни заболувања	Моноклонски против-ДСВ*
Каснување од змија	Коњски противотров
Тетанус	Хумани имуноглобулини од смеша на плазми или коњски противотров
Варичела зостер вирус	Хумани поликлонски Пт

*Дишен синцицијален вирус
ИЗВОР: *Приспособено од A. Casadevall, 1999, Clinical Immunology 93:5.

може да им се даде едно или комбинацијата од две различни моноклонски противтела. Овие моноклонски противтела се добиваат од глувци, но се „хуманизираат“ преку спојување на константните подрачја од човечкиот ИгГ со променливите подрачја од глувчешкиот ИгГ (види поглавје 5). Оваа модификација спречува голем број компликации кои би можеле да настанат по вторичната инјекција на комплетното глувчешко противтело, што претставува високоимуноген туѓ протеин.

Иако пасивната имунизација може да претставува ефикасен начин за лекување, треба да се употребува со претпазливост поради одредени ризици кои се поврзани со внесување на веќе создадено противтело. Ако противтелото се создаде во друг вид, како на пример коњ, примателот може да развие силен имунолошки одговор кон изотипските одредници од туѓото противтело. Овој противизотипски одговор може да предизвика сериозни компликации. На пример, одредени лица создаваат ИгЕ противтела кои се специфични за одредниците од применото противтело. Имуните комплекси на овие ИгЕ, кои се врзани за пасивно дадените противтела, може да посредуваат во системското обеззрнување на мастоцитите, што доведува до системска анфилакса. Други, пак, лица создаваат ИгГ или ИгМ противтела специфични за туѓото противтело, кои формираат имуни комплекси кои можат да го активираат комплементот. Таложењето на овие комплекси во ткивата може да доведе до реакции на преосетливост од тип 3. Дури и кога човечкиот гамаглобулин се внесува пасивно, примателот може да создаде противалотипски одговор кон хуманиот имуноглобулин, иако нејзиниот интензитет обично е доста послаб од интензитетот на противизотипскиот одговор.

Активната имунизација предизвикува создавање долготрајна заштита

Додека целта на пасивната имунизација е привремена заштита или ублажување на постојната болест, целта на активната имунизација е да поттикне создавање заштитен имунитет и имунолошко паметење. Кога активната имунизација е успешна, повторното изложување на патогениот агенс предизвикува засилен имун одговор кој успешно го отстранува патогенот или спречува појава на заболување посредувано од неговите продукти. Активната имунизација може да се постигне преку природна инфекција со микроорганизам или може да се стекне вештачки, преку давање **вакцина** (види табела 19-1). При активната имунизација, како што кажува името, имуниот систем игра активна улога. Размножувањето на Т и Б-клетките кои реагираат со противген доведува до создавање памтечки клетки. Активната имунизација со разни видови вакцини одигра значајна улога во намалувањето на бројот на смртни случаи од инфективни заболувања, особено кај децата.

Вакцинирањето кај децата започнува на возраст од 2 месеца. Препорачаната програма за имунизација кај децата во САД, според препораките на Американската академија за педијатрија од 2006 година, е прикажана во табела 19-3. Програмата ги вклучува следниве вакцини:

- Вакцина за хепатит Б
- Комбинирана вакцина дифтерија-пертусис (бесклеточен)-тетанус (ДПбТ)
- Вакцина за *Haemophilus influenzae* (Хиб)
- Инактивирана (Салкова) вакцина за детска парализа (ИВП), оралната (Сабиновата) вакцина повеќе не се препорачува за употреба во САД
- Комбинирана вакцина сипаници-заушки-рубела (СЗР)
- Варичела зостер вакцината (Вар) против мали сипаници
- Менингококна вакцина (се препорачува на 24-месечна возраст за групите со висок ризик, додека за сите останати деца на возраст од 11 до 12 години)
- Пневмококната конјугирана вакцина (ПКВ)
- Вакцина за инфлуенца (грипот) (се препорачува кај деца на возраст од 6 до 23 месеци)
- Вакцина за хепатит А

Вакцината за хепатитот А која сега се препорачува за сите деца на возраст помеѓу 12 и 23 месеца, претходно им се даваше само на новороденчиња од популациите кои имаа висок ризик за заболување. Слично на тоа, вакцините за инфлуенца претходно се препорачуваа само кај деца со одредени фактори за ризик, како што се астмата или имуните недостатоци, но сега, врз база на податоците за зголемениот ризик кај децата од оваа возрасна група за болничко лекување поврзано со инфуленца, се препорачува годишно вакцинирање и за здравите деца. Новата листа на препораки исто така вклучува процена на имунитетот против главните детски болести на возраст помеѓу 11 и 12 години и вршење на имунизација кај оние лица кои имаат потреба од нив.

Воведувањето и раширената употребата на разните вакцини за детска имунизација доведе до значително намалување на зачестеноста на вообичаените детски болести за кои во моментов во САД има препорачана вакцина (слика 19-1). Споредбата на зачестеноста на болестите во 2004 година со зачестеноста во најопасните години покажува значителен пад, а во два случаја и целосно искоренување на болеста во САД.

ТАБЕЛА 19-3 Препорачан распоред за имунизација на децата во САД, 2006 година

Вакцина*	Раѓање	1 месец	2 месеца	4 месеца	6 месеца	12 месеца	15 месеца	18 месеца	24 месеца	4-6 години
	Возраст									
Хепатит Б	•	←—	•—→		←—	—	•	—	—	
Дифтерија, тетанус, пертрусис			•	•	•		←—	•—→		•
Haemophilus influenzae тип Б			•	•	•	←—	•—→			
Инактивен полиовирус			•	•	←—	—	•	—	—	•
Сипаници, заушки, рубела						←—	•—→			
Варичела						←—	—	•—→		
Пневмококен конјугат			•	•	•	←—	•—→			
Инфлуенца				(годишно)	•	•	•	•	•	•
Хепатит А			(Две дози на најмалку 6 месеца растојание)			←—	•	—	—	
							←—	—	•	—→

←— • —→ Стрелките го означуваат временскиот период во кој се препорачува имунизација

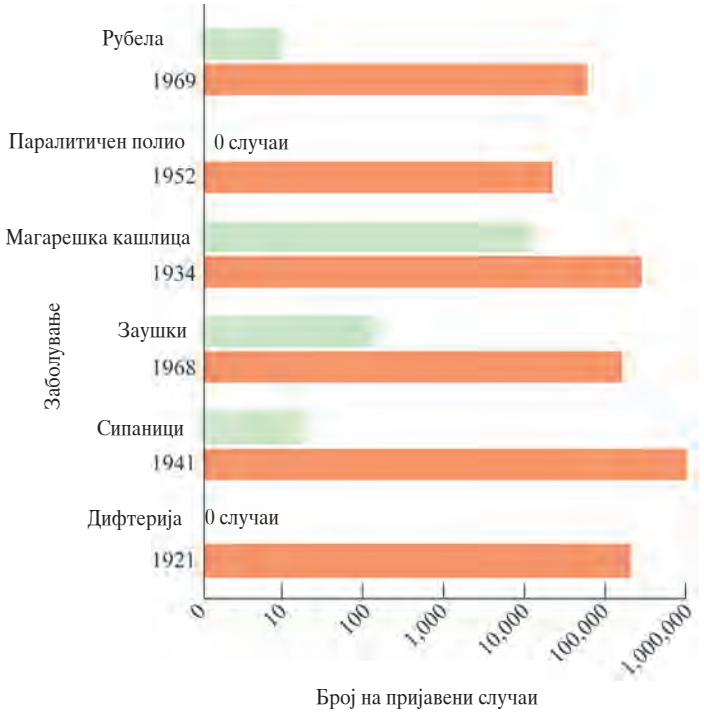
*Овој распоред ја покажува препорачаната возраст во која се врши рутинско давање на лиценцираните детски вакцини. Секоја доза која нема да се даде во препорачаната возраст треба да се даде како „вонредна“ имунизација на која било наредна посета на лекарот. ИЗВОР: Адаптирано од CDC Web сите; одобрено од American Academy of Pediatrics.

Сè додека е широко распространето спроведувањето на овие ефикасни имунизациски програми, зачестеноста за овие детски болести останува ниска. Сепак, појавата на несакани ефекти кај вакцините може да ја прекине нивната употреба, што може да доведе до повторна појава на даденото заболување. На пример, несаканите ефекти од бактериската вакцина со атенуиран пертрусис вклучуваше напади, воспалување на мозокот (енцефалитис), мозочно оштетување, па дури и смрт. Намалената употреба на вакцината доведе до зголемување на зачестеноста на магарешката кашлица, со 18 975 нови случаи во 2004 година. Неодамнешниот развој на бесклеточната вакцина за пертрусис, која е исто толку ефикасна колку и постарата вакцина, но е без ниеден од наведените несакани ефекти, се очекува да го продолжи трендот за вакцинирањето.

Како што е прикажано на табела 19-3, за да се постигне ефикасен имунитет, децата имаат потреба од повеќекратни дози од вакцините (ревакцини) на точно определени временски интервали. Во првите месеци од животот, причината за ова може да е опстојувањето на циркулирачките мајчини противтела во детето. На пример, пасивно стекнатите мајчини противтела се врзуваат за епитопите од ДПТ-вакцината и го блокираат соодветното активирање на имуниот систем. Поради ова, за да се постигне соодветен имунитет, вакцината треба да се дава неколку пати по отстранувањето на мајчините противтела од циркулацијата на новороденчето, Пасивно стекнатото мајчино противтело исто така влијае и врз ефикасноста на вакцината против сипаници. Поради оваа причина, СЗР-вакцината не се дава пред 12 до 15-месечна возраст. Сепак, во земјите од третиот свет вакцината за сипаници се дава на возраст од 9 месеца, иако противтелата од мајката сè уште се присутни, бидејќи од 30% до 50% од малите деца во овие земји стапуваат во контакт со заболувањето пред возраст од 15 месеца. Исто така, потребни се повеќе имунизации со вакцина против детската парализа, за да се создаде соодветен ефикасен имун одговор кон секој од трите вида полиовирус кој ја сочинува вакцината.

Препораките за вакцинирање кај возрасните лица зависат од ризичната група. Вакцините за воспалението на мозочните обвивки (менигититис), воспалението на белите дробови и инфуленца често се даваат на групи кои живеат во заеднички простории (на пример, воените регрути и новодојдените ученици кои треба да започнат со студирање) или на лица со намален имунитет (на пример, на постари). Во зависност од нивното крајно одредиште, меѓународните патници често рутински се имунизираат против таквите ендемични болести како што се колера, жолтица, чума, тифоид (стомачниот тифус), хепатит, менингитисот, тифусот и детската парализа. Имунизацијата против смртоносното заболување антракс е наменета за работниците кои доаѓаат во близок контакт со заразените животни или нивните продукти. Сепак, сомнителната употреба на спори од антракс во последно време од страна на терористите или при биолошката војна ја прошири употребата на оваа вакцината кај воениот персонал и цивилите во областите на ризик од напад со овој смртоносен агенс.

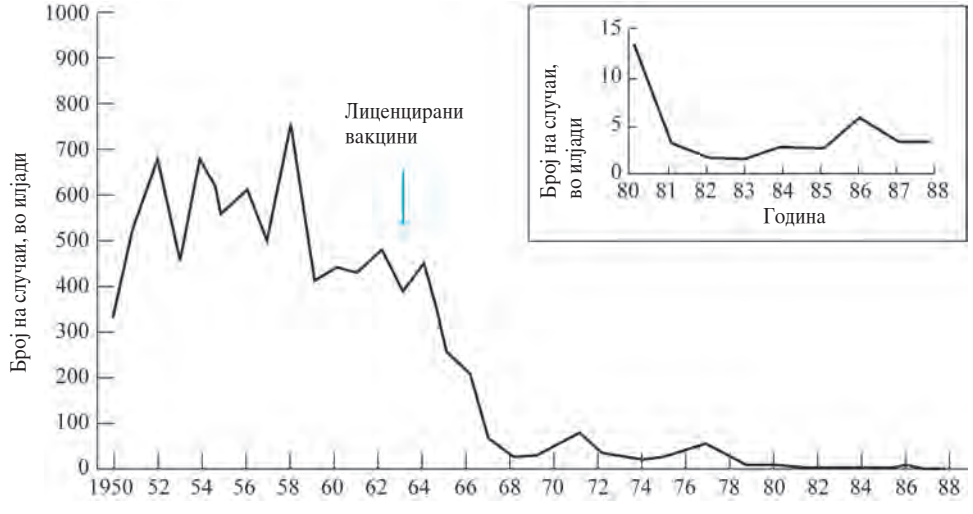
Вакцинирањето не е 100% ефикасно. На секоја од вакцините, мал процент од примателите слабо ќе реагираат и поради тоа нема да бидат соодветно заштитени. Ова не претставува сериозен проблем доколку поголемиот дел од населението е имуно на инфективниот агенс. Во овој случај, шансата за чувствителните лица да стапат во контакт со некое заразено лица е толку мала што најверојатно никогаш нема да се заразат. Овој феномен е познат како *имунитет на групата*. Појавата на епидемијата на сипаници меѓу студентите на колеџ и невакцинираните деца од предучилишна возараст во САД, во средината и крајот на 80-те години од дваесеттиот век, делумно била резултат на намалувањето на севкупната програма за вакцинирањата, што довело до намалување на групниот



СЛИКА 19-1 Годишен број на пријавени случаи со рубела (германски сипаници), детска парализа, пертрусис (магарешка кашлица), заушки, сипаници и дифтерија во САД во годината со најголем број пријавени случаи за кои има достапни податоци (портокалова боја), во споредба со бројот на случаи за секое заболување во 2004 година (зелена боја). Во моментов, за сите овие болести има достапни вакцини, а вакцините се препорачани за сите деца во САД. (*Податоците се од Центарот за контрола на болестите*)

имунитет на населението (види слика 19-2). Меѓу децата на предучилишна возраст, 88% од оние деца кои заболеле од сипаници биле невакцинирани. Поголемиот дел од студентите на колеџ кои се заразиле од сипаници биле вакцинирани како деца, но само еднаш. Неуспехот на ова едно вакцинирање да развие целосна заштита може да е резултат од присуството на пасивно стекнатите мајчини противтела, кои го намалиле севкупниот одговор на вакцината. Зголемувањето на зачестеноста на сипаниците ја предизвика појавата на препораката децата да примат две дози на комбинирана вакцина сипаници-заушки-рубела, едната на возраст од 12 до 15 месеци, а втората на возраст од 4 до 6 години.

Центарот за контрола на болестите (ЦКБ) (Centers for Disease Control = CDC) обрна внимание на падот на стапката на вакцинирање и имунитетот на групата помеѓу децата во САД. На пример, во извештајот од 1995 година се вели дека во Калифорнија скоро една третина од сите новороденчиња биле невакцинирани, а околу половина од сите деца на возраст под 2 години заостанувале со режимот на вакцинирање. Таквото намалување на имунитетот на групата навестува сериозни последици, како што и се покажа од страна на неодамнешните настани во новосоздадените независни држави по распаѓањето на поранешниот Советски Сојуз. До средина на 90-те години од дваесеттиот век, епидемија на дифтерија беснееше во голем број подрачја од овие новосоздадени земји. Оваа епидемија беше поврзана со намалувањето на имунитетот на групата, која се јави поради намалената стапка на вакцинирање по распадот на Советскиот Сојуз. Оваа епидемија, која доведе до над 157 000 нови случаи на дифтерија и 5000 смртни случаи, сега се контролира со програми за масовна имунизација.



СЛИКА 19-2 Воведувањето на вакцината против сипаници во 1962 година доведе до значително намалување на годишната зачестеност на оваа болест во САД. Повремените епидемии на сипаници во 80-те години од дваесеттиот век (прикажано на малата слика) се јавија најмногу кај невакцинираните мали деца и меѓу студентите на колеџ. Поголемиот дел од овие студенти биле вакцинирани само еднаш, кога биле мали. (*Податоците се од Центарот за контрола на болестите*)

Создавање вакцини за активна имунизација

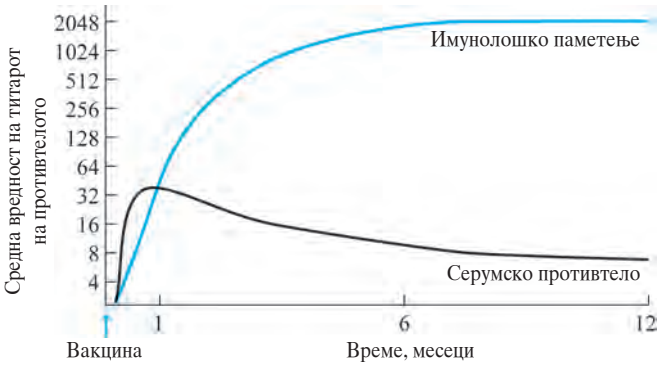
Со најголемиот дел од инфекциите организмот се справува со механизми од неспецифичниот или вроден имунитет, каде спаѓаат комплемент, интерфероните, КПУ, активираните фагоцити, противмикропски соединенија и други видови механизми. Стекнатиот имун одговор овозможува пофлексибилна отпорност против патогените. Вакцинирањето го подучува стекнатиот имун систем, подготвувајќи го брзо и ефикасно да се справи со патогените кои не се отстранети од вродениот имунитет.

При создавањето на успешна вакцина, треба да се имаат предвид неколку фактори. Прво, развитокот на мерлив имун одговор сам по себе не значи дека е постигната состојба на заштитен имунитет. Често од критично значење е кој дел од имуниот систем се активирал, поради што дизајнерите на вакцина треба да ги знаат значајните разлики помеѓу активирањето на хуморалниот и клеточниот имунитет. Втор фактор е развојот на имунолошкото паметење. На пример, вакцината која поттикнува создавање заштитен првичен одговор, може да не успее да поттикне создавање памтечки клетки, поради што го остава домаќинот незаштитен по намалувањето на првичниот одговор од вакцината.

Улогата на памтечките клетки во имунитетот зависи делумно и од инкубацискиот период на патогенот. Во случајот со вирусот на инфлуенцата, кој има краток инкубациски период (1 до 2 дена), додека да се активираат памтечките клетки, симтомите на болеста веќе се појавени. Поради ова, ефикасната заштита против инфлуенца зависи од одржувањето на високи нивоа неутрализирачки противтела со помош на повторувачки вакцинации. Оние лица кај кои постои зголемен ризик за инфекции со инфлуенца, треба да се имунизираат секоја година. За патогените со подолг инкубациски период, одржувањето на некое ниво на неутрализирачки противтела во времето на инфекцијата не е потребно. На пример, на вирусот на детската парализа му требаат повеќе од 3 дена да започне со инфицирање на централниот нервен систем. Вака долгиот инкубациски период им дава време на Б-клетките да реагираат со создавање на високи нивоа серумски противтела. Според тоа, вакцината за детската парализа е дизајнирана да поттикне создавање високи нивоа на имунолошко паметење. По имунизацијата со Салковата вакцина, нивото на серумските противтела го достигнува својот максимум за период од 2 недели, а потоа опаѓа. За разлика од ова, памтечкиот одговор продолжува да расте, достигнува максимално ниво за период од 6 месеци и опстојува во текот на годините (слика 19-3). Доколку ваквото имунизирано лице подоцна се изложи на вирусот на детска парализа, овие памтечки клетки ќе реагираат со преминување во плазма-клетки кои создаваат високи нивоа на серумски противтела, кои го штитат лицето од ефектите на вирусот.

Во остатокот од ова поглавје, опишани се различните приоди во дизајнирањето вакцини, било да се работи за вакцини кои се во употреба во моментов или за експериментални вакцини, со испитување на нивната способност за поттикнување на клеточно и хуморално посредуван имунитет и создавањето памтечки клетки.

Како што е покажано на табела 19-4, вообичаените вакцини кои се користат во моментов се состојат од живи, но атенуирани организми, инактивирани (умртвени) бактериски клетки или вирусни честички, протеински или јаглехидратни фрагменти (поединици) на целниот организам. Во моментов многу внимателно се испитуваат неколку нови видови кандидати за вакцини кои поседуваат извесни предности во заштитата, создавањето и доставувањето до лицата кои имаат потреба од нив. Во ова набројување вклучени се првичните карактеристики и некои од предностите и недостатоците на разните видови вакцини. Во следните делови се опишани секој од типовите вакцини, со напомени како се користат во моментов или како можат најдобро да се употребат против заболувањата кај луѓето.



СЛИКА 19-3 Имунизацијата со една доза на Салковата вакцина против детската парализа поттикнува нагло зголемување на нивото на серумските противтела, кои својот максимум го достигнуваат за време од 2 недели и потоа опаѓаат. Поттикнувањето на имунолошкото паметење се развива за подолг временски интервал, достигнувајќи максимално ниво по 6 месеци од вакцинирањето. Опстојувањето на памтечкиот одговор со години по првичното вакцинирање е одговорно за имунитетот против полиомиелитисот (детска парализа). (*Од M. Zanetti et all., 1987, Immunology Today 8:18.*)

Живи, атенуирани вакцини

Во одредени случаи, микроорганизмите може да бидат атенуирани така што ќе ја изгубат способноста да предизвикаат значително заболување (патогеноста), но го задржуваат капацитетот за повремено растење во вакцинираното лице. Постојат примери за агенси кои се природно атенуирани поради нивната неспособност да предизвикаат болест кај даден домаќин, иако можат да го имунизираат. Првата вакцина која ја користел Џенер е од овој вид. Вакцинирањето на луѓето со вирусот на вакцинијата (кравји сипаници) поттикнува имунитет против големите сипаници, но не предизвикува заболување. Атенуирањето често може да се постигне со култивирање на патогената бактерија или вирус во подолг временски период, под абнормални услови за култивирање. Со оваа постапка се одбираат мутантите кои се поприспособени за култивирање под абнормални услови и според тоа се помалку способни за растење и развивање во здрав домаќин. На пример, ослабениот вид на *Mycobacterium bovis* наречен Бацилус Калмет-Жерин (БКЖ) (**Bacillus Calmette-Guerin = BCG**) се доби со развивање на *M. bovis* во средство кое содржеше зголемена концентрација на жолчка. По 13 години овој вид толку се адаптирал да се развива во голема концентрација на жолчка, што станал доволно атенуиран за да биде соодветен да се употребува како вакцина за туберкулоза. Поради одредени причини кои се поврзани со променливата ефикасност и тешкотиите при последователниот надзор, БКЖ не се користи во САД. И Сабиновата вакцина

ТАБЕЛА 19-4 Класификација на вообичаените вакцини кај луѓето

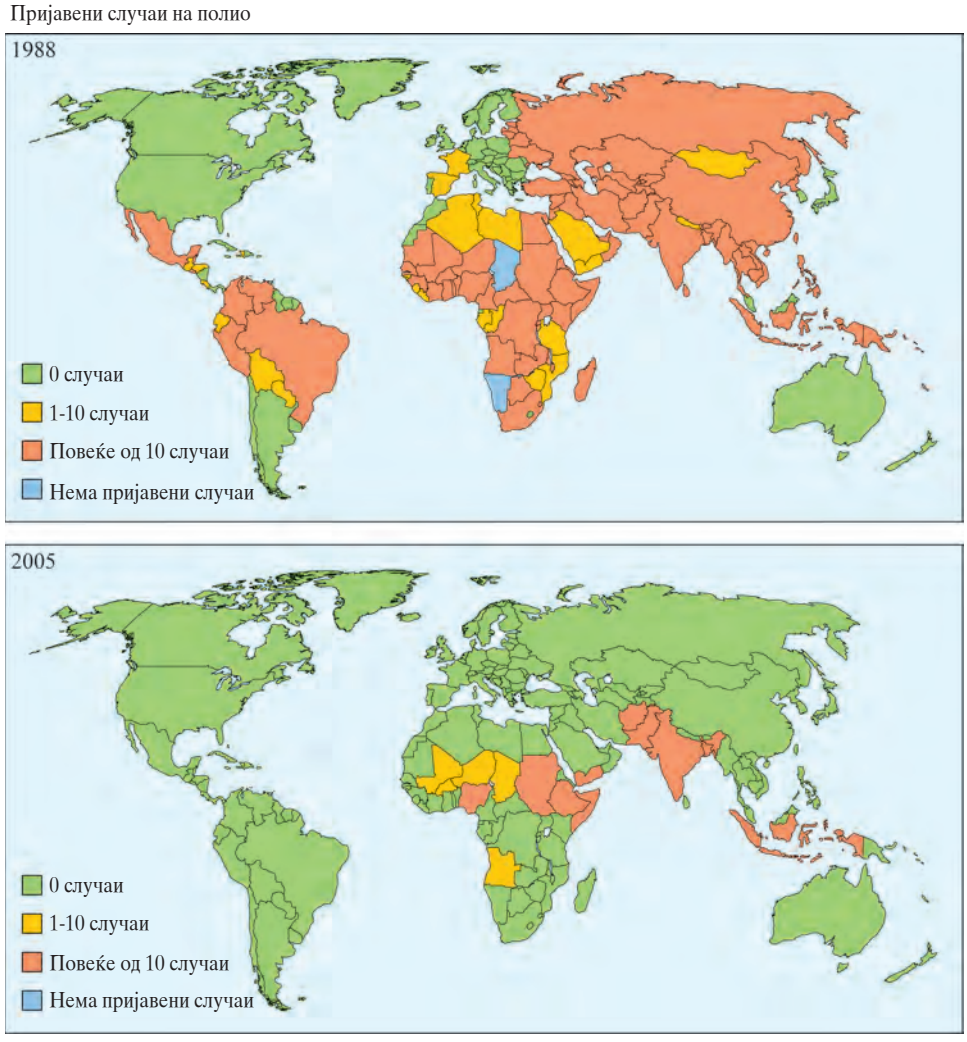
Вид на вакцина	Болести	Предности	Недостатоци
		ЦЕЛИ ОРГАНИЗМИ	
Жива атенуирана	Сипаници Заушки Детска парализа (Сабинова вакцина) Ротавирус Рубела Туберкулоза Варичела Жолта треска	Силен имун одговор; Најчесто се постигнува доживотен имунитет со само неколку дози	Има потреба од чување во фрижидер, може да мутира во вирулентна форма
Инактивирани или умртвени	Колера Хепатит Б Инфлуенца Чума Детска парализа (Салкова вакцина) Беснило	Стабилни, побезбедни отколку живите вакцини, нема потреба од чување во фрижидер	Послаб имун одговор отколку кај живите вакцини, обично е потребно ревакцинирање
		ПРОЧИСТЕНИ МАКРОМОЛЕКУЛИ	
Токсоид (инактивиран егзотоксин)	Дифтерија Тетанус	Имуниот систем се подучува како да препознава бактериски отрови	
Подединица	Хепатит Б Магарешка кашлица Стрептококно воспаление на белите дробови	Специфичните противгени ја намалуваат шансата за несакани реакции	Тешко да се развие
Конјугат	*Haemophilus influenzae тип Б* Стрептококно воспаление на белите дробови	Го модифицира имуниот систем на новороденчињата за да препознава одредени бактерии	
		ДРУГИ	
ДНК	Клинички се тестира	Силен хуморален и клеточен имун одговор, релативно евтин за производство	Сè уште не е достапна
Рекомбинантен вектор	Клинички се тестира	Имитира природна инфекција, доведува до силен имун одговор	Сè уште не е достапна

против дечјата парализа и вакцината против сипаници се состојат од атенуирани вирусни соеви. Полиовирусот кој се користи во Сабиновата вакцина е атенуиран преку развивање во епителни клетки од бубрегот на мајмун, додека вакцината против сипаници содржи вид на вирусот рубела кој најпрвин е култивиран во клетките од ембрионот на патка, а потоа во хумани клеточни линии.

Атенуираните вакцини имаат предности и недостатоци. Поради нивниот капацитет за повремен развој, ваквите вакцини овозможуваат продолжено изложување на имуниот систем на епитопите од атенуираните организми, што доведува до зголемена имуногеност и создавање на памтечки клетки. Како последица на тоа, овие вакцини често бараат само една имунизација, со што се отстранува потребата од ревакцина. Оваа карактеристика е голема предност за земјите од третиот свет, каде епидемиолошките проучувања покажаа дека значителен број лица не се враќаат за последователни ревакцини. Способноста на голем број атенуирани вакцини да се размножуваат во клетките на домаќинот ги прави особено погодни за поттикнување на клеточно посредуваниот имун одговор.

Сабиновата вакцина за детска парализа, која се состои од три атенуирани видови полиовирус, на децата им се дава орално со коцка шеќер или блага течност. Атенуираните вируси се населуваат во цревата и предизвикуваат појава на заштитен имунитет против сите три вида вирулентни полиовируси. Во цревата Сабиновата вакцина предизвикува создавање лачебен ИгА, кој служи како значајна одбрана против полиовирусот со кој детето може да се зарази по природен пат. Вакцината исто така предизвикува создавање и на ИгМ и ИгГ класите од противтела. За разлика од повеќе атенуирани вакцини, кој кои е потребна само една доза вакцина, кај Сабиновата вакцина против детска парализа има потреба и од ревакцинирање, бидејќи сите три вида атенуиран полиовирус во вакцината влијаат меѓусебно врз нивното размножување во цревата. Со првата имунизација, еден вид ќе доминира во развојот, предизвикувајќи имунитет кон тој вид. Со втората имунизација, имунитетот кој е создаден од претходната имунизација ќе го ограничи растењето на првиот доминантен вид во вакцината, што ќе овозможи еден од двата останати видови да доминира и да предизвика имунитет. На крајот, со третата имунизација, се постигнува комплетен имунитет кон сите три вида.

Голем недостаток на атенуираните вакцини е можноста тие да се вратат во својата првобитна вирулентна форма. Стапката на ваквото враќање во првобитната состојба на Сабиновата вакцина против детската парализа (орална полио вакцина = ОПВ) која доведува до последователно паралитично заболување е еден случај на 2,4 милиони дози од вакцина. Ова враќање во првобитната состојба укажува дека патогените форми на вирусот, откако ќе се пренесат низ неколку имунизирани лица, можат да преминат во резервоарите за вода, особено во областите каде санитарните стандарди не се ригорозни или каде потрошената вода треба да се рециклира. Ваквата можност налага во ваквите земји да се употребува само инактивираната



СЛИКА 19-4 Прогрес кон искоренувањето на детската парализа во светот. Споредбата на бројот на инфекции во 1988 година со бројот од 2005 година покажува значаен напредок во повеќето делови од светот, иако одредени области во Африка и Азија неодамна покажаа зголемување на бројот на заболени. Одредени експерти се сомневаат дали оралната употреба на живата атенуирана вакцина против детска парализа може да предизвика враќање во првобитната патогена форма со стапка која е доволно висока да го спречи целосно искоренувањето на оваа некогаш многу честа болест (Податоци од СЗО).

вакцина за детска парализа (види табела 19-3). Предвиденото искоренување на паралитичното полио (слика 19-4) може да биде невозможно додека во светот се употребува ОПВ. Алтернативната инактивирана Салкова вакцина најверојатно ќе биде заменета како што се намалува бројот на заболени, иако постојат проблеми при доставувањето на оваа вакцина во земјите во развој. Очигледно, крајната цел на искоренувањето на заболувањето е да се постигне свет без детска парализа, каде ќе нема потреба од вакцина.

Атенуираните вакцини исто така може да се поврзани со компликации кои се слични на оние кои се забележуваат при природното заболување. На пример, мал процент примателите на вакцината против сипаници добиваат поствакцинално воспаление на мозокот или друг вид компликации. Сепак, како што е прикажано во табела 19-5, ризикот од компликации поврзани со вакцината е доста понизок од ризикот од инфекција. Едно независно проучување покажало дека од 1970 до 1993 година на дадени 75 милиони дози вакцина против сипаници, се јавиле само 48 случаи на воспаление на мозокот поврзани со вакцината. Ниската зачестеност на овој несакан ефект, во споредба со стапката на воспалението на мозокот поврзано со инфекцијата говори во прилог на ефикасноста на вакцината. Поубедлив аргумент за вакцинирање е високиот број смртни случаи поврзани со инфекцијата од сипаници, дури и во развиените земји.

Техниките за генетско инженерство овозможија начин неповратно да се атенуира вирусот преку селективно отстранување на гените кои се одговорни за вирулентноста или за растење во вакцинираниот домаќин. Ова се направи со вакцината за херпесвирусот кај свињите, каде е отстранет генот за тимидин киназата. Бидејќи тимидин киназа е потребна за растење на вирусот во одредени типови клетки (на пример, неврони), отстранувањето на овој ген ќе го прави вирусот неспособен да предизвика болест.

Од неодамна е создадена атенуирана жива вакцина против инфлуенца и се лиценцираше под името ФлуМист. Процесот на атенуирање вклучува растење на вирусот при температури пониски од нормалните, сè додека не се добие вид кој е приспособен да расте и да се развива во студени услови. Овој вирус на грипот добро се развива при температури пониски од 37°Ц, но не може да се развие на температурата од човечкото тело која изнесува 37°Ц. Овој жив атенуиран вирус се внесува внатре во носот и предизвикува привремена инфекција во горните дишни патишта, која е доволна за да предизвика

ТАБЕЛА 19-5 **Ризик од компликации од природна инфекција со сипаници во споредба со познати ризици од вакцинирање со жив атенуиран вирус кај имунокомпетентни лица**

Компликација	Ризик по природно заболување*	Ризик по вакцинирање†
Воспаление на средното уво	7%-9%	0
Воспаление на бели дробови	1%-6%	0
Проливи	66%	0
Постинфективно воспаление на мозокот и 'рбетниот мозок	0,5-1 на 1000	1 на 1 000 000
ССПЕ	1 на 100 000	0
Намалување на бројот на крвните плочки	-‡	1 на 30 000§
Смрт	0,1-1 на 1000 (до 5%-15% во земјите во развој)	0

*Ризикот по природните сипаници се пресметува во однос на настани по број на случаи.
†Ризикот по вакцинирање се пресметува во однос на настани по број на дози.
‡Иако има неколку пријавени случаи на намалување на бројот на крвните плочки кое се појавува по сипаниците, вклучувајќи и крвавење, сè уште не е целосно проценета големината на ризикот.
§Овој ризик е објавен по вакцинирањето со СЗР и не може да ѝ се припише само на компонентата на сипаниците.
СЗР = сипаници, заушки и рубела.
ССПЕ = субакутен склеротичен паненцефалитис.

силен имунолошки одговор. Поради неговата неспособност да се развива на зголемената температура која владее во внатрешниот дел од телото, вирусот не може да се шири надвор од горните дишни патишта, поради што е ограничен само во тој појас. Поради лесниот начин на примена и предизвикувањето на добар имун одговор на лигавицата, вакцините за инфлуенца кои се адаптирани на студ и кои се даваат преку нос, набрзо ќе доминираат во оваа област.

Инактивирани или „мртви“ вакцини

Друго вообичаено средство за постигнување атенуираност на вакцината е инактивирањето на патогенот со топлина или хемиски средства, така што патогенот ќе може да предизвика имун одговор, но не е способен за размножување во домаќинот. Од голема важност е да се одржи нормалната структура на епитопите на површинските противгени при инактивирањето. Инактивирањето со топлина често не е задоволително, бидејќи предизвикува обемна денатурација на протеините. Поради ова, сите епитопи кои зависат од повисоките степени на струкурата на протеините најверојатно ќе се изменат во голем степен. За разлика од ова хемиското деактивирање со формалдехид или разни алкилантни агенси е успешно. Салковата вакцина против детската парализа се создава со инактивирање на полио вирусот со формалдехид.

Живите атенуирани вакцини во основа бараат само една доза за да предизвикаат долготраен имунитет. Од друга страна, умртвените вакцини често имаат потреба од ревакцини за да се одржи имуниот статус на домаќинот. Според тоа, вакцините со умртвени организми поттикнуваат доминантен хуморален противтелен одговор. Тие се помалку ефикасни од атенуираните вакцини во поттикнувањето на клеточно посредуваниот имунитет и во поттикнувањето на одговор со лачебен ИгА.

Иако патогените кои ги содржат се мртви, инактивираните вакцини кои содржат цел организам сè уште носат со себе одредени ризици. Со првите Салкови вакцини сериозни компликации настанале кога формалдехидот не успеал да ги убие сите вируси во две серии од вакцините, што предизвикало паралатично полио кај голем процент од вакцинираните единки. Ризик исто така има и при производството на инактивирани вакцини. Пред да се направи инактивацијата, треба да се ракува со големи количества на инфективниот агенс, па затоа оние кои се во процесот на производството се изложени на ризик од инфекција. Постојат извештаи за лица кои подлегнале на инфекција при производството на Салковата вакцина.

Во основа, безбедноста кај инактивираните вакцини е поголема од безбедноста кај живите атенуирани вакцини, кои ја задржале способноста да се размножуваат и можноста да се вратат во првобитната активна форма. Инактивираните вакцини кои се најчесто во употреба, ги вклучуваат вакцините и против вирусните и против бактериските заболувања. Од овој тип е класичната вакцина против грипот, како и вакцините за хепатитот А и колерата. Во однос на нивната релативна безбедност, во предностите на инактивираните вакцини спаѓаат и нивната стабилност и едноставните услови за чување и транспорт. Недостаток за употребата на најголемиот дел од инактивираните вакцини во кампањите за масовна имунизација е потребата тие да се даваат во вид на инјекција.

Поединични вакцини

Голем број ризици поврзани со атенуираните вакцини или со умртвени цели организми можат да се избегнат со вакцини кои содржат специфични, прочистени макромолекули добиени од патогените. Трите најчести форми на вакцините кои претставуваат делови или поединици на целниот патоген, кој е во моментална употреба, се инактивирани егзотоксини или токсоиди, полијаглехидрати од капсулата и рекомбинирани протеински противгени (види табела 19-4).

Токсоидите се користат како вакцини

Некои бактериски патогени, во кои спаѓаат патогените кои предизвикуваат дифтерија и тетанус, создаваат егзотоксини кои се одговорни за голем број симптоми на заболувањето, кое е резултат од инфекцијата. Вакцините против дифтерија и тетанус се добиени најпрвин со прочистување на бактериските егзотоксин, а потоа со негова инактивација со формалдехид за да формира **токсоид**. Вакцинирањето со токсоидот предизвикува

создавање противтоксоидни противтела, кои се способни да се врзат за отровот и да ги неутрализираат неговите ефекти. Условите за создавање токсоидни вакцини мора внимателно да се контролираат, за да се избегне прекумерно модифицирање на структурата на епитопот додека да се постигне целосна детоксификација (отстранување отрови). Добивањето на доволна количина прочистени отрови за да можат да се подготвуваат вакцините се постигнува со клонирање на гените за егзотоксините и нивно прикажување во клетки од домаќинот кои брзо се размножуваат.

Пасивниот имунитет против отровите може да се постигне преку пренесување на серум кој содржи противтоксоидни противтела. Како што е објаснето во поглавјето 1, лекувањето на дифтеријата пред да почнат да се употребуваат антибиотиците (или пред развојот на ефикасна вакцина) се вршело со внесување на противотрови кои обично се добивале од коњите. Слично на ова, болеста кај оние лица кои се изложени на тетанус може да се спречи преку давање тетанусен противотров. Ако лице кое одамна не примило вакцина против тетанус се изложи на тетанус, тогаш треба да прими противотров. Ботулизмот се лекува со коњски противотров и до денес нема развиено токсоидна вакцина која би се употребувала кај луѓето.

Како вакцини се употребуваат бактериски полисахаридни капсули

Вирулентноста на одредени патогени бактерии зависи првично од противфагоцитните својства на нивните хидрофилни полисахаридни капсули. Обвиткувањето на капсулата со противтела и/или комплемент значително ја зголемува способноста на макрофагите и неутрофилите да ги фагоцитираат таквите патогени. Овие наоди ја даваат основата за вакцините кои содржат прочистени полисахариди од капсулата.

Моменталната вакцина за *Streptococcus pneumoniae*, кој предизвикува пневмококно воспаление на белите дробови, се состои од 23 различни противгени од капсуларни полисахариди. Вакцината предизвикува создавање на опсонизирачки противтела и сега се наоѓа на листата на препорачани вакцини за сите деца. Вакцината за *Neisseria meningitidis*, најчест причинител на бактериското воспаление на мозочните обвивки, исто така се состои од прочистени капсуларни полисахариди.

Вирусните гликопротеини се вакцински кандидати

Иако одредени вирусни поединици – гликопротеини, како што е протеинот од обвивка од ХИВ-1, при тестирањето како можни вакцини покажале мал успех, сепак, останува надежта дека овие гликопротеини можат да заштитат против одредени заболувања. Неодамнешните клинички испитувања на гликопротеинот-Д од херпес симплекс вирусот тип 2 покажале дека може да спречи појава на генитален херпес кај одредени вакцини. Гликопротеинската вакцина заедно со помагач (адјуванс) е давана кај машки и женски доброволци кои најпрвин се тестирани за присуство на серумски противтела против ХСВ од типовите 1 и 2. Избраните учесници биле негативни за противтела од ХСВ-2 и имале редовни сексуални партнери со историја за генитален херпес. Вакцината била ефикасна при спречување генитален херперс кај жените кои биле серонегативни за ХСВ од тип 1 и 2 при почетокот на проучувањето, но овозможила мала заштита за оние жени кои биле позитивни за ХСВ од тип 1 (што предизвикува орални, но не и генитални промени). Кај мажите не била забележана никаква заштита, без разлика дали биле присутни серумски ХСВ противтела.

Патогените протеини се изработуваат со техники на рекомбинација

Теоретски, гените кои кодираат кој било имуноген протеин можат да се клонираат и да се прикажат во бактериски, квасни или клетки од цицачи со употреба на рекомбинантна ДНК-технологија. Одреден број гени кои кодираат површински противгени од вирусни, бактериски и патогени од протозои успешно се клонирани во клеточни системи кои дозволуваат нивно прикажување, а прикажаните противгени се употребуваат за развој на вакцини. Првата ваква вакцина со рекомбинантен противген одобрена за употреба кај луѓето е вакцината против хепатит Б. Оваа вакцина е добиена со клонирање на генот за главниот површински противген од вирусот за хепатит Б (ХБсПг) и негово прикажување во квасните клетки. Рекомбинираните квасни клетки се култивираат во големи ферментери (апарати кои овозможуваат оптимални услови за развој на микроорганизми), што му овозможува на ХБсПг да се акумулира во клетките. Квасните клетки се жнеат и оштетуваат, при што се ослободува рекомбинираниот ХБсПг, кој потоа се прочистува со стандардните биохемиски техники. Се покажало дека рекомбинираната вакцина за хепатитот Б предизвикува создавање заштитни противтела и дава доста надеж за 250 милиони носители на хроничниот хепатит Б низ целиот свет.

Голем број вакцини кои се предложени за најчестите заболувања, како што е маларијата, се состојат од еден или повеќе протеини од патогенот. Овие протеини се биосинтетизираат во големи количества со употреба на соодветни клеточни линии, а потоа се прочистуваат со употреба на постапки кои не дозволуваат загадување на производот. Универзалниот проблем е како да се предизвика појава на имуни реакции против овие протеини. Одредени додатоци, како што е стипсата, се одобрени за употреба кај луѓето, но поефикасните, каков што е целосниот или нецелосниот Фројндов помагач, предизвикуваат појава на неприфатливи несакани ефекти. Неодамнешна област за истражување ја вклучува потрагата по соединенија кои покажуваат силен ефект како помагач, без да ѝ наштетат на вакцината. Меѓу соединенијата-кандидати се оние соединенија кои ги активираат стеблести клетки и макрофаги преку Толовидните рецептори (види поглавје 3). Ова активирање на клетките од вродениот имун систем ќе го мобилизира одговорот на деловите од стекнатиот имун систем. Меѓу супстанциите кои се тестираат за ефектите како помагач се олигонуклеидите со секвенцијата $[ЦпГ]_н$ (вообичаен мотив кај бактериите) и деловите од клеточниот sид на грам-негативните бактерии, каков што е, на пример, ЛПС.

Употребата на синтетичките пептиди како вакцини напредува бавно

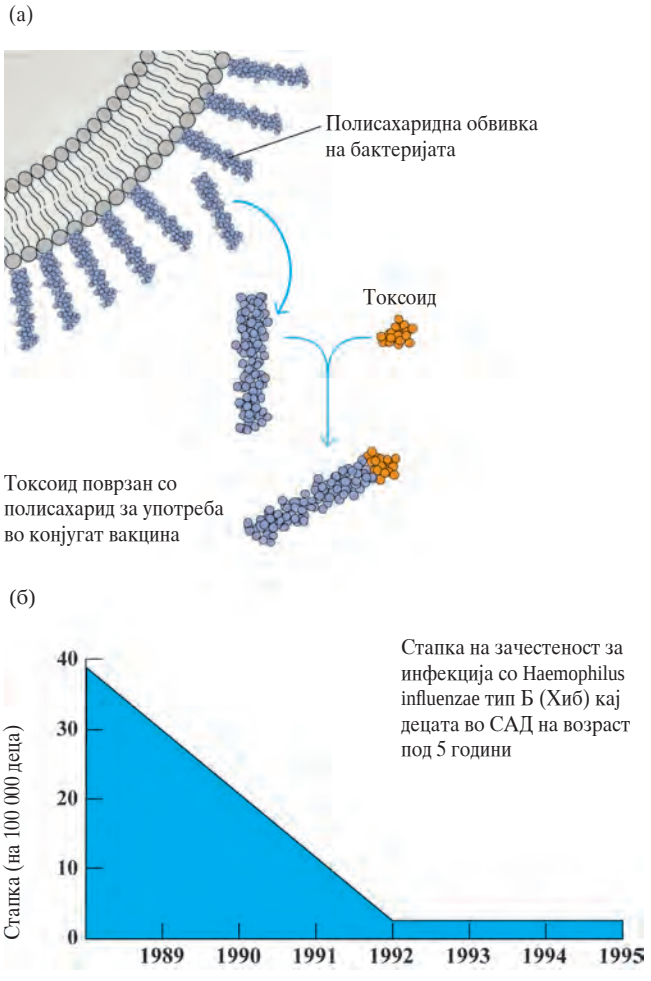
Ако поединечните протеини можат да служат како успешни вакцини, произлегува дека треба да можат да се утврдат кои се нивните најактивни епитопи, за да се создадат синтетички пептиди кои би ги имитирале тие епитопи и би можеле да се употребуваат како вакцини. Предностите на ова би биле лесна синтеза во строго контролирани услови и скоро целосна безбедност. И покрај овие особини кои многу ветуваат, употребата на синтетички пептиди како вакцини не се развива онака како што се посакувало на почетокот. Пептидите не се

толку многу имуногени како што се протеините, поради што тешко е да се поттикне истовремено и хуморален и клеточен имунитет против нив. Употребата на конјугати или додатоци може да помогне во поттикнувањето на заштитен имунитет против пептидите, но остануваат бариерите против широката употреба на пептидните вакцини. Урамнотежувањето на разочарувањето од пептидните вакцини е постојаниот напредок во техниките за создавање рекомбинирачки протеини кај трансфицираните клеточни култури. И покрај сè, останува значителна теоретска заинтересираност во сите аспекти на имунитетот против пептидите, што може да укаже на нови детали кои би довеле до развој на нови вакцини.

Конјугирани вакцини

Едно од ограничувањата на полисахаридните вакцини е нивната неспособност да активираат $T_{по}$-клетки. Тие ги активираат Б-клетките во тимус-независен тип 2 (ТН-2) одговор, што доведува до создавање на ИгМ со мало класно превклучување, без афинитетно зреење и со мало, доколку воопшто и има, создавање на памтечки клетки. Неколку истражувачи објавија дека кај луѓето на кои им е дадена поткожна имунизација со пневмококна полисахаридна вакцина, доаѓа до создавање плазма-клетки кои лачат ИгА. Во овој случај, бидејќи $T_{по}$-клетки не се вклучени во одговорот, вакцината може да ги активира ИгА-специфичните памтечки Б-клетки кои се веќе создадени благодарение на природниот контакт со бактериски противгени преку лигавичната површина. Бидејќи овие бактерии имаат и полисахаридни и протеински епитопи, тие ќе активираат $T_{по}$-клетки, кои потоа можат да посредуваат во класното превклучување и создавањето на памтечки клетки.

Еден од начините за директно вклучување на $T_{по}$-клетки во одговорот против полисахаридниот противген, е противгенот да се конјугира со одреден вид протеински носач. На пример, вакцината за *Haemophilis influenzae* тип б (Хиб), главната причина за бактериското воспаление на мозочните обвивки кај децата помали од 5 години, се состои од капсуларен полисахарид од типот б кој е ковалентно поврзан со протеинскиот носач, тетанус токсоид (слика 19-5а). Конјугатот полисахарид-протеин е во голема мера поимуноген од самиот полисахарид, а бидејќи ги активира $T_{по}$-клетките, овозможува класно превклучување од ИгМ во ИгГ. Иако овој вид вакцина може да предизвика создавање на памтечки Б-клетки, не може да предизвика создавање памтечки Т-клетки кои се специфични за патогенот. Во случајот со Хиб-вакцината, памтечките Б-клетки, иако има отсуство на популација на памтечки $T_{по}$-клетки може да се активираат до одреден степен, што ги прави заслужни за ефикасноста на вакцината. Бидејќи Хиб-инфекциите можат да доведат до оглувување и невролошки дефекти, вредноста на оваа вакцина се согледува во земјите со голема покриеност со конјугирани вакцини. Наглото опаѓање на бројот на случаите со Хиб во САД е прикажано на слика 19-5б.



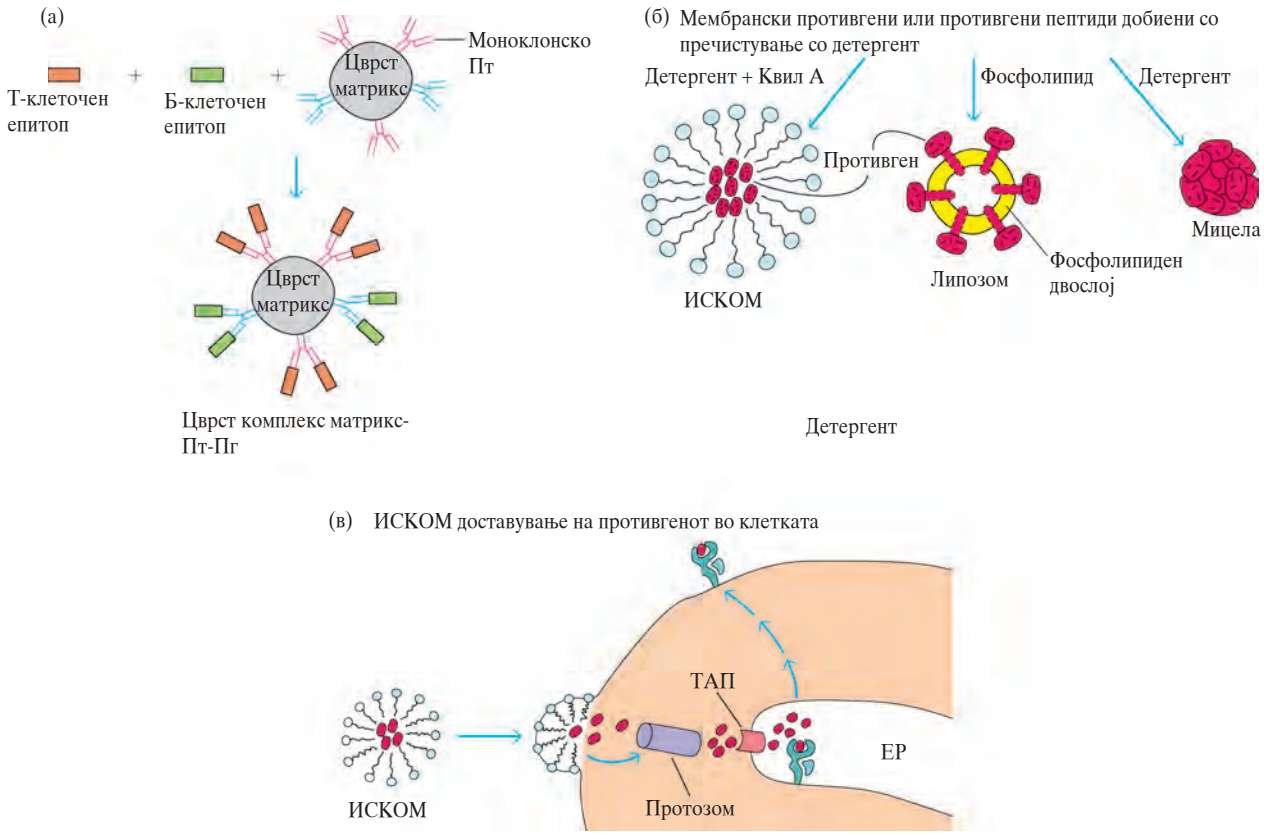
СЛИКА 19-5 **Конјугат вакцината штити од** *Haemophilus influenzae* тип Б (Хиб). (а) Вакцината се подготвува со конјугирање на површинскиот полисахарид Хиб со протеински молекул. (б) Со воведувањето на вакцината во САД, стапката на Хиб-заболувањето значително се намалила. (*Делот б, Summary of notifiable diseases,* 1995, CDC Morbidity and Mortality Weekly Report)

Еден полисахарид предизвикува заштита против повеќе видови габи

Неодамнешно проучување на полисахаридната компонента од габите, даде ветувачки резултати како конјугат-вакцина во животинските студии. Имунизацијата со бета-глукан, изолиран од кафена алга и конјугиран со дифтеричен токсоид, предизвикува создавање противтела кај глувците и стаорците кои штитат од инфекција со *Aspregillus fumigatus* и *Candida albicans*. Заштитата може да се пренесе со серум или вагинална течност од имунизираните животни, што покажува дека имунитетот се базира на противтело. Ова сознание е поткрепено со фактот дека моноклонското противтело против бета-глуканот исто така може да предизвика заштита. Инфекциите со габичните патогени се сериозен проблем за имунокомпромитираните лица, така што достапноста на имунизацијата или третманот со противтела може да ги избегне проблемите со токсичноста на противгабичните лекови. Тие помагаат и во решавањето на проблемот со појавувањето на отпорните видови, проблем кој е особено значаен во болничките услови.

Повеќевалентните подединични вакцини поттикнуваат појава клеточен и хуморален имунитет

Едно ограничување на синтетичките пептидни вакцини и подединичниот полисахарид или протеинските вакцини е тоа што тие се стремат да бидат слабо имуногени. Тие исто така се стремат да предизвикаат хуморален противтелен одговор,



СЛИКА 19-6 Повеќевалентни поединечни вакцини. (а) Цврстите комплекси противтело-противген-матрикс може да се направат така за да содржат синтетички пептиди кои ги претставуваат Т-клеточните и Б-клеточните епитопи. (б) Протеинските мицели, липозоми и имуностимулаторните комплекси (ИСКОМ) може да се подготват со пречистени противгени или противгени пептиди. Кај мицелите и липозомите, хидрофилните остатоци од противгените молекули се ориентирани нанадвор. Кај ИСКОМ, долгите опашки на масните киселини од надворешниот слој на детергентот се граничат со хидрофобните остатоци од централно поставените противгени молекули. (в) ИСКОМ и липозомите можат да го достават противгенот внатре во клетките, имитирајќи ги на тој начин внатрешните противгени. Последователното обработување на противгенот во цитозолната патека и неговото прикажување со ГТК-молекулите од класа 1 предизвикува појава на клеточно посредуван имунитет.

но многу е мала веројатноста дека ќе можат да предизвикаат клеточно посредуван одговор. Она што е потребно е метод за создавање синтетички пептидни вакцини кои содржат имунодоминантни Б-клеточни и Т-клеточни епитопи. Освен тоа, доколку се посакува појава на ЦТЛ-одговор, вакцина треба да се внесе внатреклеточно за да може пептидите да се преработат и прикажат заедно со ГТК-молекулите од класа 1. За добивање повеќевалентни вакцини кои можат да прикажат повеќе копии на даден пептид или смеша од пептиди на имуниот систем, се применуваат одреден број нови техники (слика 19-6).

Еден приод е да се приготват цврсти матрикс-противтело-противген (ЦМПП) (solid matrix-antibody-antigen = SMAA) комплекси преку прикачување на моноклонските противтела за одредени цврсти матрикси, со подоцнежно заситување на противтелото со саканиот противген. Вака подготвените комплекси се користат како вакцини. Со прикачување на повеќе моноклонски противтела за цврстиот матрикс, можно е да се врзе смеша од пептиди или протеини, која ја сочинуваат имунодоминантните епитопи за Т-клетките и Б-клетките, за цврстиот матрикс (види слика 19-6а). Се покажа дека овие повеќевалентни комплекси предизвикуваат силен хуморален и клеточно посредуван одговор. Нивната специфична природа придонесува за нивната зголемена имуногеност преку олеснување на фагоцитозата на фагоцитните клетки.

Друг начин за создавање на повеќевалентна вакцина е со употреба на детергент да се вградат протеинските противгени во протеинските мицели, липидните меурчиња (наречени липосоми), или имуностимулаторни комплекси (види слика 19-6б). Мешањето на протеините во детергентот и отстранувањето на детергентот создава мицели. Одделните протеини се ориентираат себеси со нивните хидрофилни остатоци кон водената околина, а хидрофобните остатоци кон центарот за да можат да исклучат нивно какво било заемно дејство со водената околина. Липосомите кои содржат протеински противгени се подготвуваат со мешање на протеините со суспензија на фосфолипидите под услови кои овозможуваат формирање липидни двослојни меурчиња (везикули). Протеините се внесуваат во липидниот двослој, со изложување на хидрофилните остатоци. Имуностимулаторните комплекси (ИСКОМ) (immunostimulating complexes = ISCOM) се липидни носачи добиени со мешање на протеините со детергент и гликосид наречен Квил А.

Мембрански протеини од разни патогени, вклучувајќи ги тука и вирусот на инфлуенца, вирусот на сипаници, вирусот на хепатитис Б и ХИВ се вградени во мицелите, липозомите и ИСКОМ и во моментов се проценуваат како потенцијални вакцини. Освен нивната зголемена имуногеност, липозомите и ИСКОМ се фузираат со плазматската мембрана за да го достават противгенот внатре во клетката, каде потоа се

обработува преку цитозолната патека. Вака обработениот противген може да предизвика клеточно посредуван имун одговор (види слика 19-6в).

Вакцини со ДНК

Во фаза на испитување за бројни болести е стратегијата за вакцинирање која користи ДНК од плазмиди. Оваа ДНК е одговорна за кодирање на различни противгени протеини и се внесува директно во мускулот на примателот. Мускулните клетки го земаат ДНК-молекулот и го прикажуваат противгенот кој тој го кодира, што доведува како до појава на хуморален противтелен одговор, така и до појава на клеточно посредуван имун одговор. Најчудно за оваа техника е тоа што внесената ДНК се зема и се прикажува од мускулните клетки на домаќинот со многу поголема ефикасност отколку што тоа го прават ткивните клеточни култури. Изгледа дека ДНК или се вклучува во хромозомската ДНК или подолг период се одржува во епизомална форма. Вирусниот противген во областа на внесување се прикажува не само од мускулните клетки туку исто така и од страна на стеблестите клетки. Мускулните клетки прикажуваат ниски нивоа на ГТК-молекули од класа 1 и не прикажуваат костимулаторни молекули, што укажува на фактот дека локалните стеблести клетки може да имаат пресудна улога во развојот на противгениот одговор кон ДНК-вакцините (слика 19-7).

ДНК-вакцините имаат предности пред многу други од постојните вакцини. На пример, кодираниот протеин се прикажува во домаќинот во неговата природна форма, односно нема денатурација или модификација. Според тоа, имуниот одговор е насочен кон формата на противгенот каква што е присутна и во оригиналниот патоген. ДНК-вакцините го стимулираат и хуморалниот и клеточно посредуваниот имунитет. За да се стимулираат и двата дела од стекнатиот имун одговор со вакцините кои не содржат ДНК, обично е потребно лицето да се имунизира со живи атенуирани организми, што вклучува дополнителни елементи на ризик. И на крај, ДНК-вакцините предизвикуваат продолжено прикажување на противгенот, што доведува до создавање на значително имунолошко паметење.

Практичните аспекти на ДНК-вакцините се исто така доста ветувачки (види табела 19-4). Во текот на ракувањето и чувањето плазмидната ДНК нема потреба да се чува на ниска температурата, карактеристика која значително ги намалува трошоците и сложеноста на испорачувањето. За да се создадат голем број различни протеини, истиот плазмиден фактор може да се модифицира по желба, што овозможува со една производствена техника да се создадат разни ДНК-вакцини, при што секоја од нив ќе кодира противген од различен патоген. Подобриот метод за примена на овие вакцини бара обвиткување на микроскопски златни зрнца со плазмидна ДНК, по што вака обвитканите зрна со воздушна пушка (наречена *ѓенска пушка)* се сместуваат во мускулот кој лежи под кожениот слој. Ова ќе овозможи брза примена на оваа вакцина до голем број лица, без да има потреба од големи набавки на игли и шприцови.

Тестовите на ДНК-вакцините кај животинските модели покажаа дека овие вакцини можат да предизвикаат заштитен имунитет против одреден број патогени, во кои спаѓаат и вирусите за инфлуенца и беснило. Понатаму се покажа дека внесувањето на одредени ДНК-секвенции во векторот доведува до засилен имун одговор. Ваква секвенција е ЦпГ секвенцијата која се среќава кај патогените (сетете се дека оваа секвенција е лигандот за TBP9). Во моментов, неколку различни ДНК-вакцини клинички се испитуваат за употреба кај луѓето. Тука спаѓаат и вакцините за маларија, СИДА, инфлуенца, Ебола и херперсвирусот. Неодамнешниот експериментален успех на ДНК-вакцината во која се се употребуваше ДНК-вектор кој го кодира клиновидниот протеин од ТАДС (тежок акутен дишен синдром) (severe acute respiratory syndrome = SARS) вирусот, опфаќаше заштита на глувци од инфекција со ТАДС коронавирусот. (Појавата на ТАДС ја објаснивме во поглавје 18). Вака стекнатиот имунитет може да се пренесе со серумот од вакцинираното животно, што покажува дека со вакцинирањето се создале неутрализирачки противтела кои обезбедувале заштитен имунитет кај гувчешкиот модел на инфекција со ТАДС.

Во експериментални проучувања на ДНК-вакцините во иднина ќе се мешаат гени за противгени протеини со гени за цитокини или хемокини, со што ќе се овозможи насочување на имуниот одговор кон најефикасниот начин на остварување. На пример, генот ИЛ-12 може да се вметне во ДНК-вакцината. Прикажувањето на генот за ИЛ-12 на местото на имунизацијата ќе стимулира појава на $T_{по}1$ посредуван имунитет.

ДНК-вакцините се во фаза на клиничко тестирање и најверојатно ќе се користат за имунизација на луѓето во следниве неколку години. Сепак, тие не се универзално решение за проблемите со вакцинирањето. На пример, само протеинските противгени може да се кодираат, а одредени вакцини, како што се, на пример, вакцините за пневмококните и менингококните инфекции, користат полисахаридни противгени и не се кандидати за примена преку ДНК.

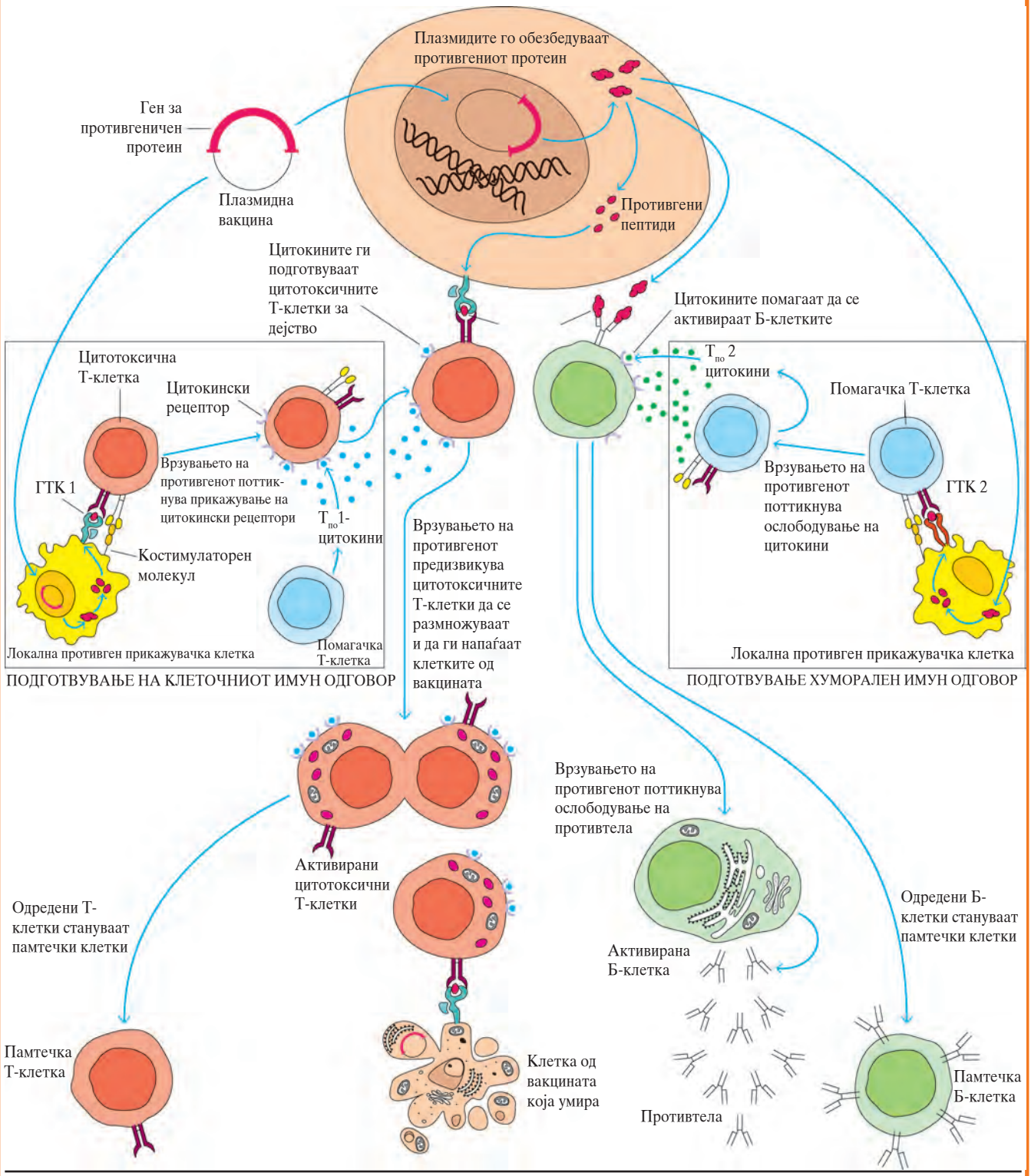
Рекомбинантни векторни вакцини

Гените кои ги кодираат главните противгени на особено вирулентните патогени може да се вметнат во атенуираните вируси или бактерии. Атенуираниот организам служи како вектор, кој се размножува во домаќинот и го прикажува продуктот од генот на патогенот. Живите атенуирани вирусни вакцини се подготвуваат од постојните лиценцирани вакцини во кои се вметнати гени кои кодираат противгени присутни во новопојавените патогени. Ваквите химерични вирусни вакцини можат многу побрзо да се тестираат и одобрат отколку што е тоа случај со целосно нов производ, заштедувајќи на тој начин драгоцено време. Неодамнешен пример за овој вид химера е вакцината за жолтата треска, која е модифицирана да ги прикажува противгените од вирусот Западен Нил. За векторските вакцини се користат голем број организми, во кои спаѓаат вирусот за вакцинија, вирусот за канаринските сипаници (canarypox), атенуираниот полиовирус, аденовирусите, атенуираните видови на *Salmonella,* видот БКГ на *Mycobacterium bovis* и одредени видови стрептококи кои нормално се присутни во усната празнина.

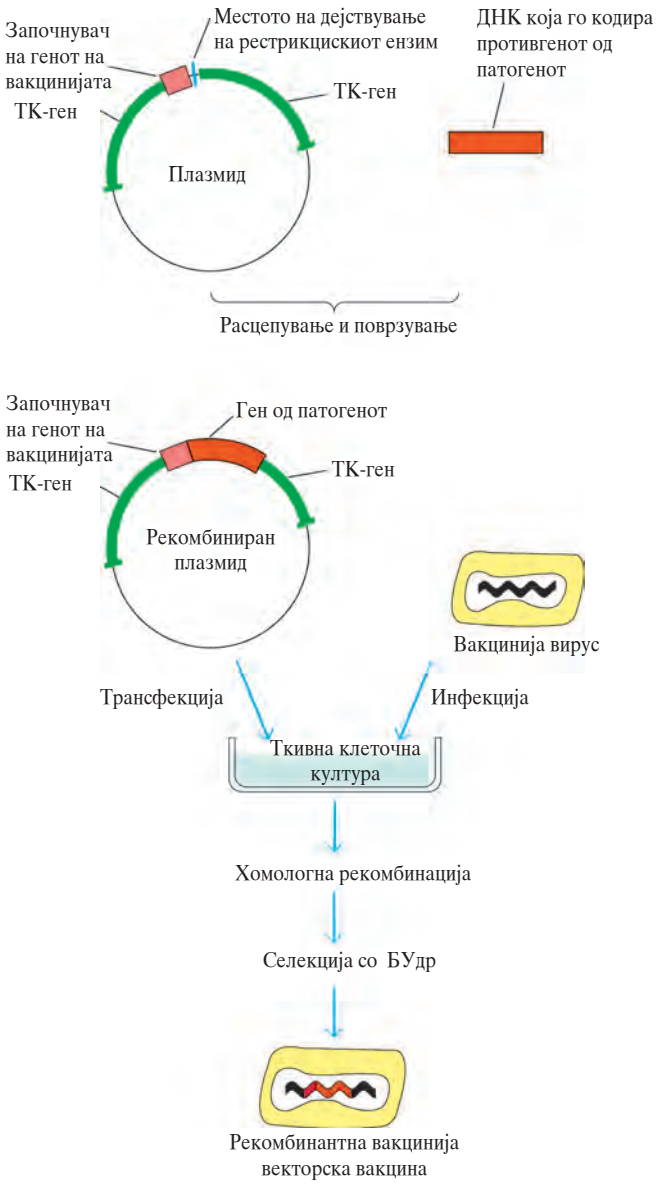
Вирусот на вакцинијата, атенуираната вакцина која се користи за искоренување на отстранување на големите сипаници, во голем степен се користи како векторска вакцина. Овој голем комплексен вирус, со геном од околу 200 гени, може да се модифицира за да носи десетици туѓи гени без да се наруши неговиот капацитет да ги инфицира клетките од домаќинот и да се размножува во нив. Постапката за создавање вакцинија вектор кој носи туѓ ген од патоген е објаснета на слика 19-8. Вакцинијата која е генетски модифицирана создава големи количини продукт од вметнатиот ген, кој потоа, кај вакцинираното лице, може да служи како моќен имуноген. Како и вакцината за големи сипаници, генетски модифицираниот вакцинија вектор може да се даде со едноставно загребување на кожата, што предизвикува локализирана инфекција кај клетките од домаќинот. Доколку туѓиот генски продукт кој го создава вацинијата е протеин од капсулата на вирусот, тој навлегува во мембраната на заразените клетки од домаќинот,

ДЕТАЛНА СЛИКА 19-7

Употребата на ДНК-вакцини предизвикува појава и на хуморалниот и на клеточниот имунитет.



Внесениот ген се прикажува на мускулните клетки и во околните ППК. Пептидите од протеинот кодиран од ДНК-генот се прикажуваат врз површината од двата вида клетки, по преработувањето како ендоген противген во патеката на ГТК од класа 1. Клетките кои го прикажуваат противгенот во контекст со ГТК-молекулите од класа 1 стимулираат развој на цитотоксични Т-клетки. Протеинот кодиран од вметнатата ДНК исто така се прикажува како растворлив, излачен протеин, кој се зема, преработува и прикажува во контекст на ГТК-молекулите од класа 2. Оваа патеката стимулира Б-клеточен имунитет и создава противтела и Б-клеточно паметење кон протеинот. (Приспособено од *D.B. Weiner and R.C. Kennedy, 1999, Scientific American 281:50.*)



СЛИКА 19-8 **Создавање на вакцинија вектор вакцината.** Генот кој го кодира саканиот противген (портокалова боја) се вметнува во плазмидниот вектор во близината на започнувачот на генот на вакцинијата (розова боја). И од двете негови страни е прилепен генот од вакцинијата одговорен за создавање на тимидин киназата (ТК) (зелена боја). Кога клетките од ткивната клеточна култура се инкубираат истовремено со вирусот на вакцинијата и рекомбинираниот плазмид, генот за противгенот и започнувачот се вметнуваат во геномот од вирусот на вакцинијата преку хомологна рекомбинација во областа на не толку битниот ТК-ген, што доведува до создавање на рекомбиниран ТК-вирус. Клетките кои го содржат рекомбинираниот вирус на вакцинија се селектираат со додавање бромодеоксиуридин (БУдр), кој ги убива $ТК^+$ клетките. (Адаптирано од B. Moss, 1985, Immunology Today 6:243)

предизвикувајќи создавање како на клеточно посредуван така и на противтело-посредуван имунитет.

Други атенуирани векторни вакцини може да се докажат како побезбедни за употреба од вакцинија вакцината. Вирусот канарински сипаници од неодамна е испробан како векторна вакцина. Како и неговиот роднина вакцинијата, вирусот на канарински сипаници е голем и лесно се модифицира за да носи повеќе гени. За разлика од вакцинија, вирусот на канарински сипаници не е вирулентен дури ниту кај лицата со многу намален имун систем. Друг можен вектор е атенуираниот сој *Salmonella typhimurium*, кој е модифициран со гени од бактеријата која предизвикува колера. Предноста на оваа векторска вакцина е тоа што *Salmonella*-та ги инфицира клетките од лигавичниот слој на цревата, при што предизвикува создавање на лачебен ИгА. Ефикасниот имунитет против голем број болести, вклучувајќи ги тука и колерата и гонорејата, зависи од зголеменото создавање на лачебен ИгА врз површината од лигавичната мембрана. Се развиваат слични стратегии во коишто се користат бактерии кои се нормален дел од флората во усната празнина. Овие стратегии ќе овозможат внесување на гени кои кодираат противгени од патогени организми во бактериски видови кои ја населуваат усната празнина или дишните патишта. Поттикнувањето на имунитетот на лигавичната мукозата може да овозможи одлична заштита на местото каде што навлегува патогенот.

Собирок

- Состојба на имунитет може да се предизвика со пасивна или активна имунизација. Краткотрајната пасивна имунизација се предизвикува со пренесување на однапред формирани противтела. Инфекцијата или вакцинирањето предизвикува создавање долготрајна активна имунизација.
- Во моментов кај луѓето се користат три вида вакцини: со живи атенуирани (авируленти) микроорганизми, со инактивирани (умртвени) микроорганизми или со прочистени макромолекули.
- Протеинските делови од патогените прикажани во клеточните култури можат да бидат ефикасни вакцини. Полисахаридните вакцини може да се конјугираат за протеините за да постигнат максимална имуногеност.
- Рекомбинантните вектори, вклучувајќи ги тука и вирусите и бактериите, модифицирани да носат гени од инфективни микроорганизми, го максимизираат клеточно посредуваниот имунитет кон кодираните противгени.
- Плазмидската ДНК одговорна за кодирање на протеинските противгени од патогенот предизвикува појава и на хумурален и на клеточно посредуван имунитет. ДНК-вакцините за неколку заболувања кај луѓето се во фаза на клинички испитувања.
- За да се постигне оптималната добивка од вакцините, потребно е да се поевтини процесот на производство и да се подобрат методите за достава на постојните вакцини.

Референции

Afzal, M.F., et al. 2000. Clinical safety issues of measles, mumps, and rubella vaccines. *Bulletin of the World Health Organization* 78: 199.

Dittmann, S., 2000 Successful control of epidemic diphtheria in the states of the former Union of Soviet Socialist Republics: lessons learned. *Journal of Infectious Disease* 181 (suppl. 1): s10.

Grandi, G. 2001. Antibacterial design using genomics and proteomics. *Trends in biotechnology* 19:181

Henderson, D. A. 1976. The eradication of smallpox. *Scientific American* 235:25

Jilek, S., et al.2005. DNA- loaded biodegradable microparticles of vaccine delivery systems and their interaction with dendritic cells. *Advanced Drug Delivery Reviews 57:377.*

Kew,O.M., et al. 2004. Circulating vaccine – derived polioviruses ;

current state of knowledge. *Bulletin of the World Health Organization* 82: 16.
Shann,F., and M.C. Steinhoff.1999 Vaccines for children in rich and poor countries.*Lancet* 354 (suppl.II): 7.
Smeeth, L., et al.2004.MMR vaccination and pervasive developmental disorders: a case – control study. *Lancet* 364:963
Stanberry, L. R., et al. 2002. Glycoprotein – D - adjuvant vaccine to prevent genital herpes. *New England Journal of Medicine* 347: 1652.
Torosantucci,A.,et al. 2005. A novel glyco – conjugate vaccine against fungal pathogens. *Journal of Experimental Medicine* 202: 597
Wroe,A.L., et al.2005. Feeling bad about immunizing our children. *Vaccine* 23: 1428.
Yang, Y-Z, et al. 2004. A DNA vaccine induces SARS coronavirus neutralization and protective immunity in mice. *Nature* 248:561
Zinkernagel, R.M.2003. On natural and artificial vaccinations. *Annual Review of Immunology* 21:515.

Корисни веб страни

http://www.VaccineAlliance.org/

Веб-страна на глобалната алијанса за вакцини и имунизација (GAVI), извор на информации за вакцините за земјите во развој и напорите низ светот за искоренување на болестите. Линкови до најголемите меѓународни страни кои содржат информации за вакцините.

http://www.ecbt.org/

„За секое дете две понуди" нуди корисни информации за детските вакцини, вклучувајќи ги тука и препорачаните програми за имунизација.

Прашања за учење

ПРАШАЊЕ ОД КЛИНИЧКИОТ ФОКУС Објавена е врска помеѓу новата пневмококна вакцина и една релативно ретка форма на артрит. Кои податоци ќе ви требаат за да го потврдите извештајот. Што ќе преземете за да ја процените можната врска?

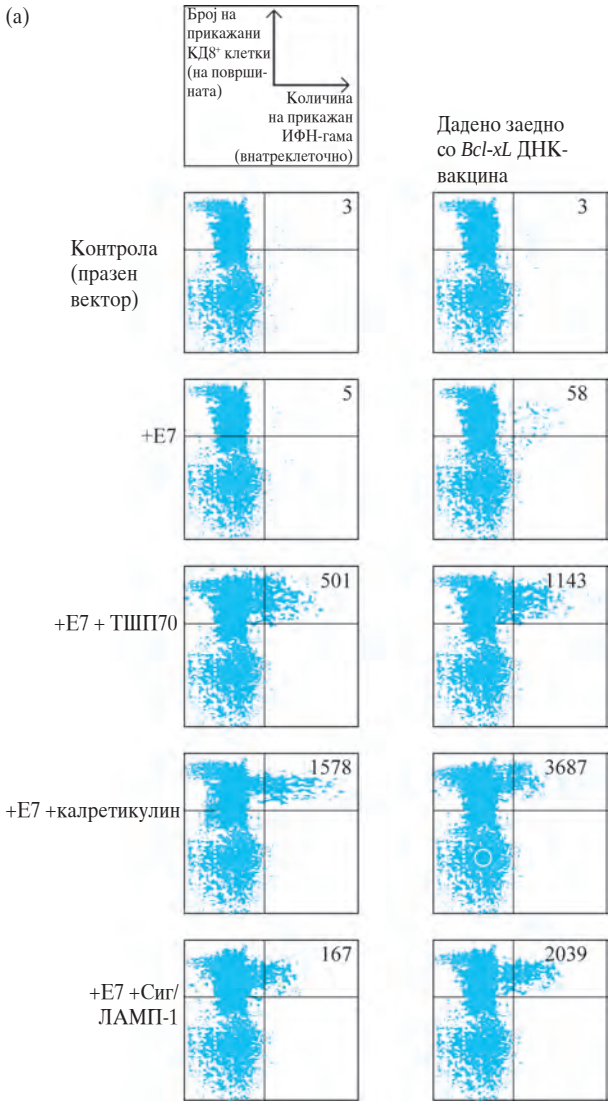
1. Наведете кој од следниве искази е точен или неточен. Доколку мислите дека одреден исказ не е точен, објаснете зошто?
   а. Пренесувањето преку плацентата на мајчините ИгГ противтела против сипаниците, предизвикува појава на краткотраен имунитет кај фетусот.
   б. Поверојатно е дека атенуираните вакцини ќе предизвикаат појава на клеточно посредуван имунитет, отколку што тоа можат да го направат вакцините со умртвени организми.
   в. За разлика од синтетичните пептидни вакцини, повеќевалентните поединечни вакцини обично предизвикуваат поголем одговор.
   г. Еден од недостатоците на ДНК-вакцините е тоа што не создаваат значително имунолошко паметење.
   д. Макромолекулите обично содржат голем број потенцијални епитопи.
   ѓ. ДНК-вакцината предизвикува одговор само против еден епитоп.
2. Кои се предностите и недостатоците при употребата на живите атенуирани организми како вакцини?
3. Мало девојче кое никогаш не било имунизирано против тетанус стапнало на 'рѓосана шајка и се здобило со длабока убодна рана. Докторот ја исчистил раната и на детето му дал инјекција со тетанусен противотров.
   а. Зошто таа примила противотров наместо ревакцина со тетанусен токсид?
   б. Ако девојчето не добие повеќе никаков медицински третман и по 3 години повторно стапне на 'рѓосана шајка, дали ќе биде имуна на тетанус.
4. Кои се предностите на Сабиновата вакцина против детска парализа во споредба со Салковата вакцина? Зошто Сабиновата вакцина повеќе не се препорачува за употреба во САД?
5. Зошто вакцината со ослабена инфлуенца (ФлуМист) не предизвикува инфекција на дишниот систем?
6. При обид да се добие синтетички пептидна вакцина, ја анализиравте аминокиселинската секвенција од протеинскиот противген за (а) хидрофобните пептиди и (б) силните хидрофилни пептиди. Како може пептидите од секој од овие два типа да се искористат како вакцина за предизвикување на различен вид имунолошки одговори?
7. Објаснете го феноменот на имунитет на групата. Како е тој поврзан со појавата на одредени видови епидемии?
8. Утврдивте постоење на бактериски протеински противген кој поттикнува заштитен имунитет против патогеничната бактерија и го клониравте генот кој го кодира тој протеин. Изборот е или да се прикаже протеинот во габа и така рекомбинираниот протеин да се употребува како вакцина или да се користи генот за овој протеин за подготовка на ДНК-вакцина. За кој метод ќе се одлучите и зошто?
9. Објаснете го односот помеѓу инкубацискиот период на патогенот и приодот кој е потребен за постигнување ефикасна активна имунизација.
10. Наведете три вида прочистени макромолекули кои во моментов се употребуваат како вакцини.
11. Пример за пасивна имунизација е кога на Px^--мајки кои носат Px^+бебиња им се дава РоГАМ, човечкизирани противтела против противгенот Px^+. Зошто оваа вакцина кај новороденчето не предизвикува хемаглутинација?
12. Некои родители одлучуваат да не ги вакцинираат своите бебиња. Причините вклучуваат релегија, алергични реакции, страв дека бебето ќе го добие заболувањето против кое се дава вакцината, а од неодамна и страв, кој не е поддржан со научни истражувања, дека вакцината ќе предивика аутизам. Која ќе биде последицата ако значителен дел од населението не се вакцинира против детските болести, какви што се, на пример, сипаниците или магарешката кашлица?
13. За секоја од следниве болести или состојби, наведете кој вид вакцинирање се користи:
    а. Детска парализа
    б. Сипаници (Варичела)
    в. Тетанус
    г. Хепатитис Б
    д. Колера
    ѓ. Сипаници
    е. Заушки
    1. Инактивирани вакцини
    2. Атенуирана вакцина
    3. Инактивиран егзотоксин
    4. Прочистен макромолекул

АНАЛИЗИРАЈТЕ ГИ ПОДАТОЦИТЕ Т. В. Ким и неговите соработници (*J. Immunol.* 171:2970, 2003) испитуваа методи за засилување на имуниот одговор против противгенот на човечкиот папиломавирус (ХПВ) 16 Е7-противгенот. Одреден број групи на глувци биле вакцинирани со ДНК-вакцини во кои биле вметнати следниве противгени:

- противген +ХПВ Е7
- + Е7 + топлотен-шок протеин 70 (ТШП70)
- + Е7 + калретикулин
- + Е7 + сортирачкиот сигнал на лизозим-асоцираниот мембрански протеин 1 (Сиг/ЛАМП-1)

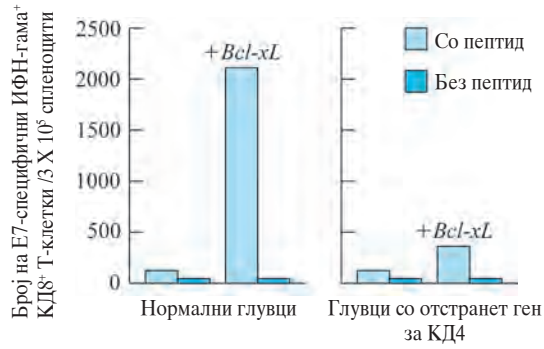
На други групи глувци покрај тоа што ги примиле истите ДНК-вакцини, им била дадена и дополнителна ДНК вакцина

(а)



Внатреклеточно боење за цитокините, по што следи анализа со проточна цитометрија за да се одреди Е7-специфичниот КД8+ Т-клеточен одговор кај глувците кои се вакцинирани со ДНК-вакцини со употреба на стратегии за внатреклеточно целење. ДНК-вакцината во која е вметнат противапоптозниот ген *Bcl-xL* беше дадена во групата прикажана од десно. Бројот горе десно во секоја графа е бројот на клетки кои се прикажани во горниот десен квадрат. (*©2003 The American Association of Immunologists, Inc.)*

(б)



Е7-специфичниот КД8⁺ Т-лимфоцитен одговор кај глувците со отстранет ген за КД4 кои се вакцинирани со +Е7 +Сиг/ЛАМП-1 ДНК вакцина, со или без +*Bcl-xL* ДНК-вакцина.

во која бил вметнат противапоптотичниот ген *Bcl-xL*. За да се тестира способноста на овие ДНК-вакцини да предизвикаат појава на одговор кај домаќинот, 7 дена по вакцинирањето се земени клетки од слезината на глувците и преку ноќ се инкубирани ин витро со ГТК класа 1-ограничен Е7 пептид (аа 49-57). По инкубацијата клетките се боени за КД8 и ИФН-гама (слика а во левата колона). Во друг експеримент Ким и соработниците одредиле колку биле ефикасни нивните вакцини кај глувци кај кои имало недостаток на КД4⁺ Т-клетки (слика б, горе).

а. Која ДНК вакцина(и) е (се) најефикасна(и) во предизвикувањето на имун одговор против Е7 противгенот од папиломавирусот? Објаснете го вашиот одговор.
б. Предложи хипотезата која би објаснила зошто прикажаниот калретикулин во создадената вакцина бил ефикасен во предизвикувањето на КД8⁺ Т-клетките.
в. Предложете механизам кој би ги објаснил податоците на сликата а.
г. Ако ви беше кажано дека + Е7 + Сиг/ЛАМП-1 е единствената вакцина која цели кон противген од ГТК класа 2 патеката за обработка, предложете хипотеза за да објасните зошто противгенот кој цели на ГТК-молекулите од класа 2 го засилува КД8⁺ Т-клеточниот одговор. Зошто мислите дека е потребен специјален сигнал за насочување на противгенот кон ГТК класа 2?
д. Кои четири променливи придонесуваат за ин витро одговорот на Е-7 специфичните КД8⁺ Т-клеточните лимфоцити, како што покажуваат податоците на слика б.

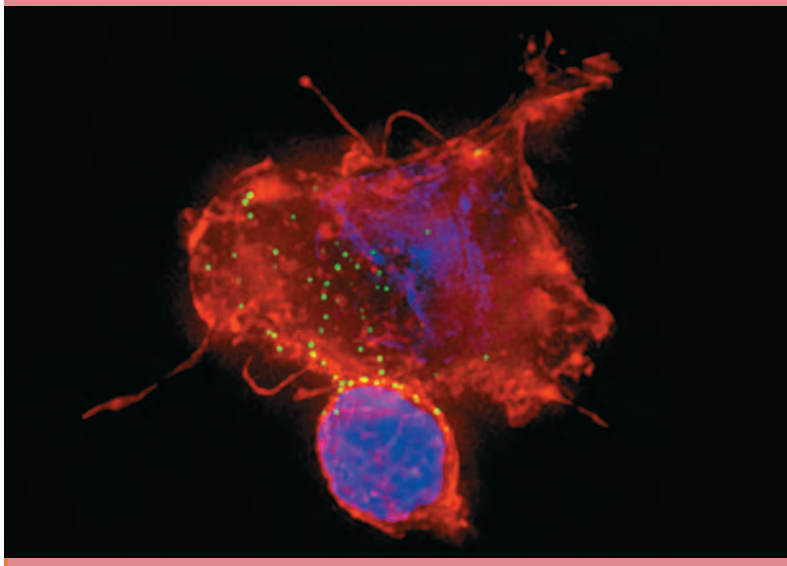
Интерактивно учење
www.whfreeman.com\kuby

Самотест
Преглед на клучни изрази

Анимација
Стратегии за вакцини

Поглавје 20

СИДА и други имунонедостатоци



ХИВ-1 (зелените точки) се движи помеѓу ѕвездестата клетка (горе) и Т-клетките.

- Првични имунонедостатоци
- СИДА и други стекнати или вторични имунонедостатоци

Како и секој сложен систем составен од повеќе компоненти, имуниот систем е подложен на недостатоци на еден или на сите негови делови. Овие недостатоци може да имаат опасни последици. Кога системот го губи чувството за сопственост и почнува да ги напаѓа клетките и ткивата на домаќинот, резултатот е **автоимунитет**, објаснет во Поглавје 16. Кога системот не успева да го заштити домаќинот од агенсите кои предизвикуваат болест или од малигните клетки, резултатот е **имунонедостаток**, темата на ова поглавје.

Состојба која произлегува од генетски или развоен дефект на имуниот систем е наречена *првичен имунонедостаток*. Во таквата состојба, дефектот е присутен од раѓање, иако може да не се манифестира до подоцна во животот. Вторичниот, или стекнат имунонедостаток е губиток на имунолошката функција, а се јавува како резултат од изложувањето на разни агенси. Досега најчест вторичен имунонедостаток е **синдромот на стекнат имунонедостаток**, или **СИДА**, која се јавува како резултат на инфекција со хуморалниот вирус на имунонедостаток 1 (ХИВ-1). Во 2005 година, СИДА-та уби приближно 3,1 милиони лица, вклучувајќи и околу 500000 деца под 5-годишна возраст. ХИВ инфекцијата продолжува да се шири со приближна стапка од околу 14000 новоинфицирани лица на ден. Кај пациентите со СИДА, како и сите други лица со тежок имунонедостаток, постои ризик од инфекција со т.н. опортунистички агенси. Тоа се микроорганизми, кои кај здравите лица не предизвикуваат опасни последици, но кај лицата со ослабена имунолошка функција предизвикуваат болест.

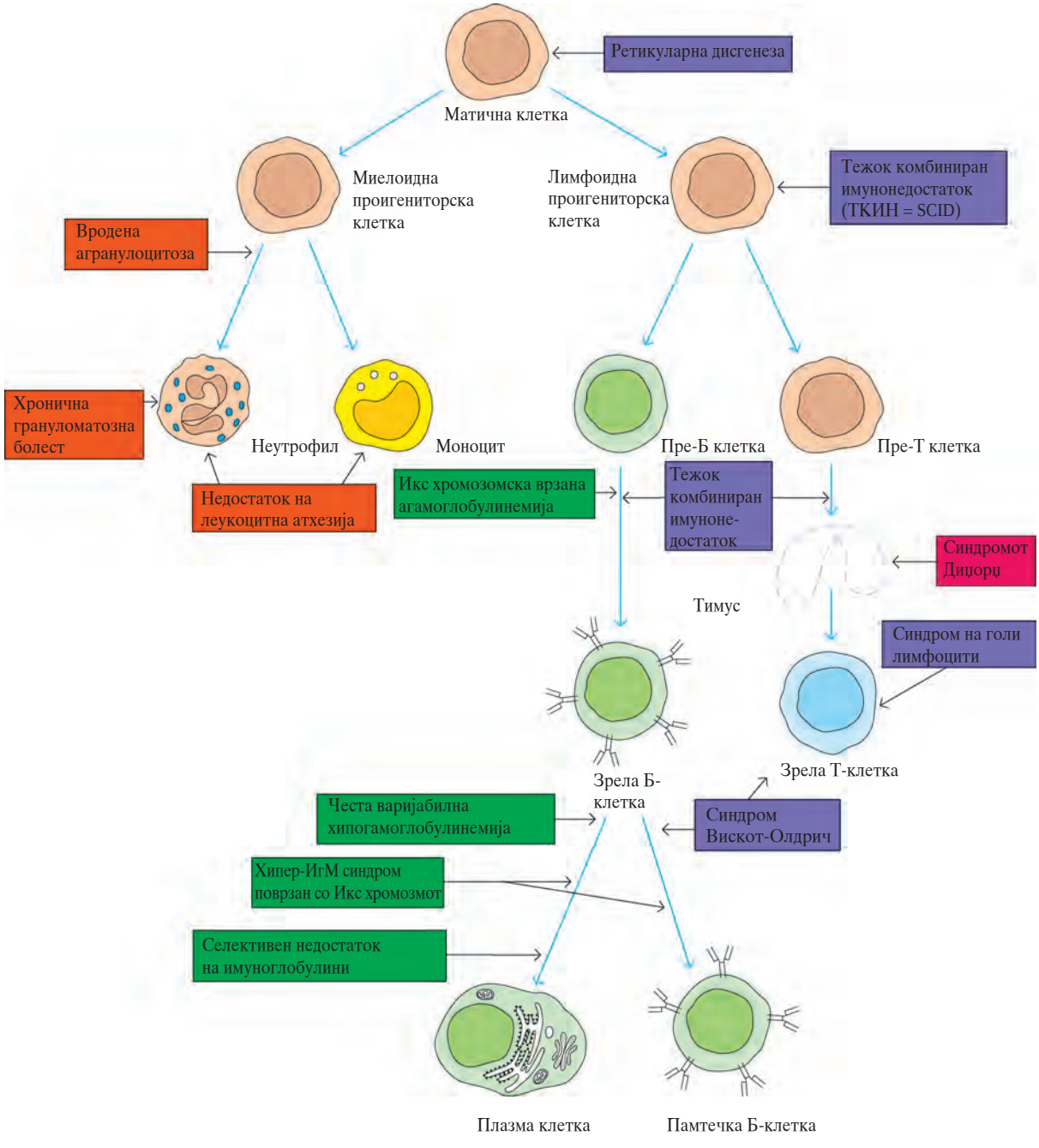
Првиот дел од ова поглавје ги објаснува честите првични имунонедостатоци, го испитува напредокот во утврдувањето на генските дефекти одговорни за овие нарушувања и разгледува методи за нивно лекување, вклучително и иновативна употреба на генска терапија. Исто така, објаснети се и животински модели на првични имунонедостатоци. Останатиот дел од ова поглавје ги објаснува стекнатите имунонедостатоци, со фокус на ХИВ инфекцијата и нејзиното влијание врз имуниот систем, СИДА-та и сегашната состојба со терапевтските и превентивните стратегии за борба со овој фатален имунонедостаток.

Првични имунонедостатоци

Првичните имунонедостатоци може да го засегнат стекнатиот или вродениот имунитет. Недостатоците кои вклучуваат делови од стекнатиот имунитет, како што се Т или Б-клетките, на тој начин се разликуваат од имунонедостатоците каде се засегнати неспецифичните медијатори на вродениот имунитет, како што се фагоцитите или комплементот. Имунонедостатоците, во основа, се категоризираат според видот или развојната фаза на клетките кои се афектирани. Слика 20-1 прегледно го прикажува целосниот клеточен развој на имуниот систем и го покажува местото на дефектите кои предизвикуваат првични имунонедостатоци. Како што објаснивме во Поглавје 2, двата главни вида на клетки кои се значајни за имуната функција се лимфоидната и миелоидната клеточна линија. Повеќето дефекти кои водат до имунонедостаток влијаат или на едната или на другата клеточна линија. Нарушувањата во лимфоидните клетки може да влијаат врз Т-клетките, Б-клетките или, при комбинирани имунонедостатоци, и на Б и на Т-клетките. Нарушувањата на миелоидната клеточна линија влијаат врз фагоцитната функција. Повеќето од првичните

ДЕТАЛНА СЛИКА 20-1:

Вродени дефекти кои ја прекинуваат хематопоезата или ја нарушуваат функцијата на клетките од имуниот систем резултираат со разни имунонедостаточни болести



Портокалови полиња = фагоцитни недостатоци, зелени = хуморални недостатоци, црвени = клеточни недостатоци, виолетови = комбинирани имунонедостатоци, дефекти кои влијаат врз повеќе од една клеточна линија.

ТАБЕЛА 20-1 Некои првични имунонедостаточни болести и гените на кои се должат

Имунонедостаточна болест	Специфичен дефект	Нарушена функција	Начин на наследување[1]	Хромозомски дефект
Тежок комбиниран имунонедостаток (ТКИН = SCID)	Недостаток на *РАГ-1/РАГ-2*	Нема преуредување на ТКР или Иг гени	AR	11p13
	Недостаток на АДА	Токсични метаболити во Т и Б-клетките	AR	20q13
	Недостаток на ПНФ		AR	14q13
	Недостаток на ЈАК-3	Дефектни сигнали од IL-2, -4, -7, -9, -15	AR	19p13
	Недостаток на рецептор за ИЛ-2 гама		XL	Xq13
	Недостаток на ЗАП-70	Дефектни сигнали од ТКР	AR	2q12
Синдром на голи лимфоцити	Дефекти во генскиот поттикнувач за класа 2 од ГТК	Нема ГТК молекули од класа 2	AR	16p13
Вискот-Олдричов синдром (ВОС = WAS)	Цитоскелетен протеин (КД43)	Дефектни Т-клетки и крвни плочки	XL	Xp1
Интерферон гама рецептор	Дефект со рецепторот за ИФН-гама	Нарушен имунитет против микобактерии	AR	6q23
Синдром Диџорџ	Тимична аплазија	Развој на Т и Б-клетки	AD	22q11
Атаксија телеангиектазија	Дефектна киназа од клеточниот циклус	Ниски ИгА, ИгЕ	AR	11q22
Хронична грануломатозна болест	Агамаглобулинемија поврзана соИкс хромозмот	Брутонова тирозинска киназа (Btk), нема зрели Б-клетки	XL	Xq21
	хипер-ИгМ синдром поврзан со Икс хромозмот	Дефектен КД40 лиганд	XL	Xq26
	Чест варијабилен имунонедостаток	Ниски ИгГ, ИгА, променлив ИгМ	Комплексно	Комплексно
	Селективен недостаток на ИгА	Ниски, или отсутни ИгА	Комплексно	Комплексно
Чедијак-Хигашиев синдром	Цит п91^{phox}	Нема оксидативен прасок за бактериско убивање	XL	Xp21
	Цит п67^{phox}		AR	1q25
	Цит п22^{phox}		AR	16q24
Дефект во прилепувањето бели клетки	Дефектен внатреклеточен транспортен протеин (LYST)	Неспособност да се разградат бактерии	AR	1q42
Дефект во прилепувањето лимфоцити	Дефектен интегрин бета2 (КД18)	Екстравазација на белите крвни клетки	AR	21q22

АР = автозомно рецесивен, АД = автозомно доминантен, ИксЛ = поврзан со Икс хромозомот, „Комплексно“ означува заболувања за кои нема прецизни генетски податоци и кои може да вклучуваат неколку локуси кои стапуваат во меѓудејство.

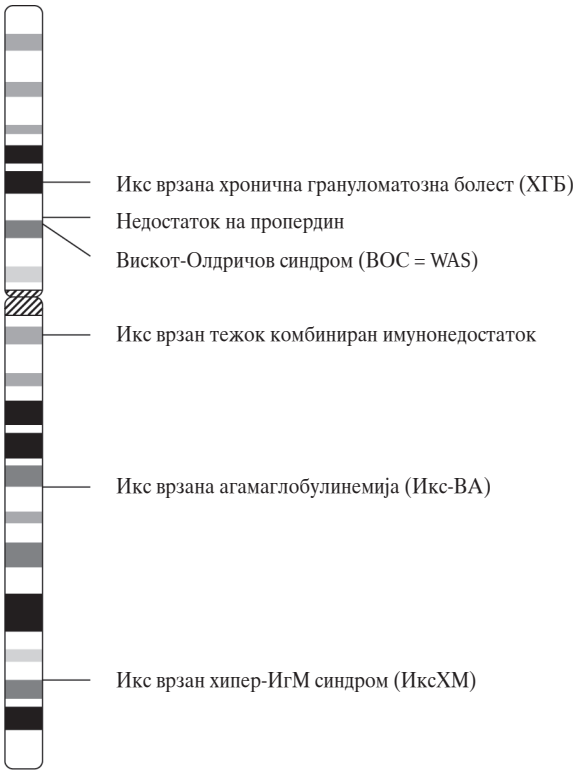
имунонедостатоци се наследуваат, а одредени се и прецизните молекулски варијации и генски дефекти кои водат до голем број на овие нарушувања (табела 20-1 и слика 20-2). Понатаму, постојат имунонедостатоци кои произлегуваат од развојните дефекти кои ја нарушуваат правилната функција на некој орган од имуниот систем.

Последиците од првичните имунонедостатоци зависат од бројот и видот на компонентите од имуниот систем кои се вклучени. Дефектите на компоненти рано во хематопоетскиот развој влијаат врз целиот имун систем. Во оваа категорија спаѓа ретикуларната дисгенеза, дефект на зародишните клетки кој влијае врз зреењето на сите бели клетки. Општото откажување на имунитетот води до чувствителност на инфекција од голем број на микроорганизми. Без агресивен третман, засегнатите лица обично умираат млади од тешка инфекција. Во поограничени случаи со дефектна функција на фагоцитите, главната последица е чувствителноста кон бактериски инфекции. Дефектите во подифренецираните делови од имуниот систем имаат последици кои се поспецифични и вообичаено, помалку тешки. На пример, лице со селективен недостаток на ИгА, може да има нормален животен век, со малку поголема чувствителност на инфекции на респираторниот и генитално-уринарниот тракт.

Лимфоидните имунонедостатоци може да вклучуваат Б-клетки, Т-клетки или и двете

Комбинираните форми на лимфоидни имунонедостатоци ги засегаат и двата вида клетки и во основа се смртоносни во првите неколку години од животот; тие потекнуваат од дефекти кои предизвикуваат нарушувања на функциите на неколку видови на клетки или на клеточните меѓудејства кои се потребни за развивање имуни реакции. Тие се поретки, и обично потешки, отколку болестите што се предизвикани од дефекти на повисоко диференцираните лимфоидни клетки.

Нарушувањата со Б-клеточен имунонедостаток ги сочинуваат голем број различни болести кои се движат од целосно отсуство на зрели циркулирачки Б-клетки, плазматски клетки и имуноглобулини до селективно отсуство само на одредени класи имуноглобулини. Пациентите со овие нарушувања обично се подложни на повторувачки бактериски инфекции, но имаат нормален имунитет против повеќето вирусни и габични инфекции, бидејќи Т-клеточната гранка од имуниот систем, во најголем степен не е засегната. Најчести кај пациентите со хуморални имунонедостатоци се инфекции од инкапсулирани бактерии како што се стафилококите, стрептококите и



СЛИКА 20-2 Неколку имунонедостаточни болести поврзани со Икс хромозомот резултираат од дефекти во локуси на Икс хромозомот. *(Податоци од National Center for Biotechnology Information Web site.)*

пневмококите, бидејќи противтелата се мошне значајни за опсонизацијата и отстранувањето на овие организми.

Поради главната улога на Т-клетките во имуниот систем, недостатокот на Т-клетки може да влијае и врз реакциите од хуморалниот и врз оние од клеточниот имунитет. Влијанието врз клеточно посредуваниот систем може да биде големо, со намалување на реакции на преосетливост од задоцнет вид и клеточно посредуваната цитотоксичност. Недостатоците на имуноглобулини првично се поврзани со повторувачки инфекции со вонклеточни бактерии, но овие пациенти имаат нормален одговор кон внатреклеточни бактерии, како и кон вирусни и габични инфекции. Наспроти тоа, дефектите во клеточно посредуваниот систем се поврзани со зголемена чувствителност кон вирусни, протозоични и габични инфекции. Често се вклучени внатреклеточните патогени како што се *Candida albicans, Pneumocystis carinii* и *Mycobacteria*, што го покажува значењето на Т-клетките во отстранувањето на внатреклеточните патогени. Инфекции со вируси кои се ретко патогени за здравите лица (како што се цитомегаловирусот или ослабената вакцина против сипаници) може да бидат опасни по живот за овие лица со ослабен клеточно посредуван имунитет. Дефектите кои предизвикуваат намален број на Т-клетки, во основа, исто така, влијаат врз хуморалниот систем поради неопходноста од Тпо клетки за активирање на Б-клетките. Во основа, се забележува одредено намалување на нивото на противтелата, особено при создавањето на специфични противтела по имунизација.

Како што може да се очекува, комбинираните недостатоци на хуморалната и клеточната гранка се најсериозните имунонедостаточни нарушувања. Инфекциите започнуваат рано во детството, а прогнозата за тие деца е смрт во рана возраст, доколку со терапевтска интервенција не се реконструира нивниот дефектен имун систем. Како што е понатаму објаснето, постојат се повеќе опции за лекување на имунонедостатоците.

Заедничко за имунонедостатоците кои влијаат врз лимфоидната функција е неспособноста да се поттикне или да се одржи целосен имун одговор против специфични агенси. Голем број различни недостатоци може да доведат до таква состојба. Дефектна меѓуклеточна комуникација може да произлегува од мутации на гените кои кодираат рецептори врз површината на клетките или молекули кои пренесуваат сигнали; дефекти во механизмите за преуредување на гените и други функции може да спречат нормален одговор на Б и Т-клетките. Слика 20-3 претставува преглед на молекулите кои се вклучени во подобро објаснетите меѓудејства меѓу Т и Б-клетките од кои произлегуваат специфични реакции, со фокус на протеините чија улога во дефектите кои водат до имунонедостаток е комплетно разјаснета.

Тежок комбиниран имунонедостаток (ТКИН = SCID)

Фамилијата на нарушувања наречени *ТКИН* произлегува од дефекти во лимфоидниот развој кои влијаат или само врз Т-клетките, или врз Т-клетките во комбинација со Б-клетките и КПУ. Во зависност од генскиот проблем во основата на болеста, пациентот со ТКИН може да има еден од неколкуте лимофидни клеточни фенотипови. Сите се карактеризираат со дефекттна функција на Т-клетките, а нарушувањето исто така може да ги вклучува Б-клетките или КПУ, или и двата вида на клетки. Бидејќи Т-клеточните дефекти се чест елемент за ТКИН, неодамна опишан тест за скрининг испитување за ТКИН кај новороденчиња вклучува одредување на исечени кружни делови од ДНК кои потекнуваат од ТКР локусот на крвните клетки, а служат како доказ за преуредувањето на ТКР гените. Абнормални резултати од оваа анализа овозможуваат рана дијагноза пред почетокот на инфекциите кои може да се опасни по живот.

Сите форми на ТКИН имаат заеднички особини покрај разликите во генските дефекти. Клинички, ТКИН се карактеризира со многу низок број на циркулирачки лимфоцити. Не може да се поттикнат имуни реакции посредувани од Т-клетките. Тимусот не се развива, а малиот број на циркулирачки Т-клетки кај пациентот со ТКИН не реагира на стимулација со митогени, што покажува дека тие не можат да се размножуваат во одговор на противгени. Миелоидните и еритроидните (претходниците на црвените крвни зрнца) клетки се со нормален број и функција, што укажува дека кај ТКИН, намален е само бројот на лимфоидните клетки.

ТКИН доведува до тешки повторувачки инфекции и обично завршува фатално во првите годините од животот. Иако и Т и Б-клетките може да се засегнати, почетната манифестација на ТКИН кај бебињата скоро секогаш потекнува од инфекција со агенси како што се габи или вируси со кои обично се справува Т-клеточниот имунитет. Дефектите во Б-клеточната линија не се видливи во првите неколку месеци од животот на болното бебе, бидејќи тоа пасивно добива противтела од транспланценталната циркулација или од мајчиното млеко. Новороденчињата со ТКИН страдаат од хронична дијареја, пневмонија и кожни, усни и инфекции на грлото, како и од други опортунистички инфекции. Имуниот систем е толку загрозен што дури и вакцините со живи ослабени организми (како што

(а)



(б)

Лимфоцитен фенотип			
Т	**В**	**NK**	**Вид на ТКИН**
-	+	-	Икс-врзан недостаток на веригата ИЛ-2Ргама Недостаток на Јак-3 Недостаток на КД45
-	-	+	Недостаток на алфа-верига од ИЛ-7Р Недостаток на делта-веригата од КД3
-	-	-	Недостаток на аденозин деаминаза (АДА)
-	-	+	Недостаток на Артемис

СЛИКА 20-3 **Причини за ТКИН**. (а) Распределба на генските дефекти кај 170 случаи со ТКИН следени во тек на 35 години. (б) Клеточните фенотипови поврзани со различните генски дефекти кои се сретнуваат кај ТКИН. *(Дел адаптиран од R. H. Buckley, 2004, Annual Review of Immunology* ***22:*** *625.)*

е вакцината Сабин полио) може да предизвикаат инфекција и болест. Животниот век на пациентот со ТКИН може да се продолжи со спречување контакт со сите потенцијално опасни микроорганизми, на пример, со затворање во стерилна атмосфера. Сепак, за спречување директен контакт со други луѓе и со нефилтриран воздух, потребен е огромен напор. Секој предмет, вклучувајќи ја храната, што доаѓа во контакт со изолираниот пациент со ТКИН мора прво да се стерилизира. Таквото изолирање е можно само како привремена мерка, во исчекување на претстоен третман.

Потрагата по дефектите кои се одговорни за ТКИН откри неколку различни причини за ова општо откажување на имунитетот. Неодамнешно истражување на 170 пациенти од Ребека Букли при универзитетот Џјук покажа дека најчестата причина (кај 78 случаи, види слика 20-3) е недостатокот на заедничката гама верига од рецепторот за ИЛ-2 (ИЛ-2Ргама, види слика 12-7). Дефектите во оваа верига спречуваат сигнализирање, не само преку ИЛ-2Р, туку исто така, преку рецепторите ИЛ-4, -7, -9 и -15, бидејќи веригата е присутна кај рецепторите за сите овие цитокини. Недостатокот на киназата ЈАК-3, која има сличен фенотип, бидејќи интерлеукинските рецептори сигнализираат преку овој молекул, бил одговорен за 11 од овие случаи (види слика 12-7в). Неодманешен наод на дополнителен дефект кај цитокински рецептор кај 17 пациенти го вклучувал само ИЛ-7 рецепторот, овие пациенти имаат нарушена функција на Т-клетки, но нормални Б-клетки и КПУ.

Друг чест дефект е недостатокот на аденозин деаминаза, или АДА недостаток, кој бил присутен кај 28 испитувани пациенти. Аденозин деаминазата го катализира претворањето на аденозинот во инозин, а неговиот недостаток доведува до акумулација на аденозин, кој го попречува метаболизмот на пурините и синтезата на ДНК. Недостатокот на АДА доведува до дефекти во Т, Б-клетките и КПУ. Дефекти во гените активатори на рекомбиназата (*РАГ-1* и *РАГ-2*), кои се сретнуваат кај пет пациенти, ги нарушуваат преуредувањата на ТКР и имуноглобулинските гени и водат до отсуство на функционални Т и Б-клетки, но не влијаат врз КПУ. Како што е објаснето во поглавјата 5 и 9, имуноглобулинските гени и гените од Т-клеточниот рецептор мора да поминат низ процес на генско преуредување за да прикажат активни форми од нивните продукти. Останатите случаи вклучуваа поединечни примери за ретикуларна дисгенеза и хипоплазија 'рскавица-коса (cartilage-hair dysplasia) или беа класифицирани како автозомно рецесивни дефекти кои не се поврзани со познатите мутации ИЛ-7Ргама и ЈАК-3. Два пациенти имаа дефекти во генот наречен *Артемис*, кој кодира ензим вклучен во поправање и рекомбинации на ДНК. Во еден случај, бил пронајден дефект во генот за површинската фосфатаза КД45. Интересно е тоа што, овој дефект бил причина за недостаток на алфа-бета Т-клетки, но гама-делта Т-клетките биле поштедени, што резултирало со зголемен број на Б-клетки. Единаесет од 170-те испитани случаи биле со непознато потекло, без видлив генски дефект или семејна историја на имунонедостатоци.

Други познати дефекти може да ја нарушуваат функцијата на Т-клетките и да предизвикаат недостатоци слични на ТКИН. Еден дефект е карактеризиран со намалување на бројот на КД8$^+$Т-клетките и ја вклучува ЗАП-70 тирозинската киназа, значаен елемент во пренесувањето на сигналот кај Т-клетките (види слика 10-11). Новороденчињата со дефекти во ЗАП-70 може да имаат нормални нивоа на имуноглобулини и КД4$^+$лимфоцити, но нивните КД4$^+$Т-клетки не се функционални. Недостаток на ензимот пурин нуклеозид фосфорилаза (ПНФ) предизвикува имунонедостаток преку механизам кој е сличен на дефектот АДА. Дефект кој води до општо откажување на имуниот систем, слично на ТКИН, е нарушување на препишувањето на гените кои ги кодираат ГТК молекулите од класа 2. Без овие молекули, лимфоцитите на пациентот не можат да остварат клеточни меѓудејства со помагачките Т-клетки. Овој вид на имунонедостаток исто така се нарекува *синдром на голи лимфоцити* (*bare-lymphocyte syndrome*) (види клинички фокус во Поглавје 8). Молекулските проучувања на недостатокот на ГТК од класа 2 откриваат дефектно меѓудејство помеѓу 5' поттикнувачката секвенца на генот за ГТК молекулата од класа 2 и протеин кој се врзува за ДНК, неопходен за препишувањето на гените. Други пациенти со симптоми слични на ТКИН имаат недостаток на ГТК молекулите од класа 1. Оваа ретка варијанта на имунонедостаток се припишува на мутација во ТАП гените, кои се витални за преработувањето на противгените од ГТК молекулите од класа 1. Овој дефект предизвикува дефицит на КД8$^+$ посредуваниот имунитет, кој се карактеризира со чувствителност кон вирусни инфекции.

Вискот-Олдричов синдром (ВОС = WAS)

Тежината на ова нарушување поврзано со Икс хромозомот се зголемува со стареење и обично доведува до фатална инфекција или лимфоиден малигнитет. На почетокот, Т и Б-лимфоцитите се присутни во нормален број. ВОС прво се манифестира со нарушена реакција против бактериски полисахариди и со потпросечно ниво на ИгМ. Другите функции и ефекторни одговори се нормални во раните фази на синдромот. Како што старее пациентот со ВОС, се јавуваат повторувачки бактериски инфекции и постепено губење на хуморалните и клеточните одговори. Синдромот вклучува тромбоцитопенија (намален број на крвни плочки; постоечкиот број на крвни плочки е помал од нормалниот и тие имаат пократок период на полураспаѓање), што може да доведе до фатално крвавење. Исто така, може да се јави егзем (исипи на кожата) со различен степен на тежина, кои обично почнуваат околу возраст од 1 година. Дефектот одговорен за ВОС е лоциран на краткиот крак од Икс хромозомот (види табела 20-1 и слика 20-2) и вклучува цитоскелетен гликопротеин, кој е присутен во лимфоидните клетки, наречен сијалофорин (КД43). ВОС протеинот е потребен за склопување на актинските филаменти кои се неопходни за создавање на микровезикулите.

Дефект во рецепторот за гама интерферон

Имунонедостаток кој спаѓа во категоријата на мешани клеточни недостатоци, вклучува дефект во рецепторот за интерферонот гама (ИФН-гама, види Поглавје 12). Овој недостаток се сретнува кај пациенти кои имаат инфекција со атипични микобактерии (внатреклеточни организми блиски со бактериите кои предизвикуваат туберколоза и лепра). Повеќето од луѓето кои ја носат оваа автозомна рецесивна особина доаѓаат од фамилии со историја на роднинско вкрстување (потомство од бракови во крвно сродство). Чувствителноста на инфекции со микобактерии е селективна по тоа што оние пациенти кои ги преживуваат овие инфекции не се необично чувствителни на други агенси, вклучувајќи и други внатреклеточни бактерии. Оваа имуногеност укажува на специфичната улога на ИФН-гама и неговиот рецептор во заштитата од инфекции со микробактерии. Детална анализа на пациентите со зачестени микобактериски инфекции открила дефекти во рецепторот за ИЛ-12 како и во рецепторот за ИФН-гама. Слична предиспозиција за микобактериски инфекции произлегува од дефекти во НФкБ патеката кои спречуваат препишувачко активирање на гените за ИФН-гама. Посложен дефект кој понекогаш вклучува абронормален пигмент во забите и кожата покрај микобактериските инфекции се сретнува кај пациенти со дефекти во поединица на ИКК протеинот, наречена НЕМО. Сетете се дека ИКК посредува во ослободувањето на НФкБ од неговиот инхибитор, што му овозможува да мигрира во јадрото, каде активира гени важни за имуниот одговор (види слика 10-12).

Додека ТКИН и поврзаните комбинирани имунонедостатоци ги засегаат Т-клетките или сите лимфоидни клетки, други првични имунонедостатоци влијаат врз функцијата на Б-клетките и резултираат со намалување или отсуство на одредени или сите класи на имуноглобулини. Иако за дел од овие имунонедостатоци, се утврдени одговорните дефекти, дел од големиот број на недостатоци, како што се општиот варијабилен имунонедостаток и селективниот недостаток на ИгА, вклучуваат повеќе гени и голем број на фенотипови.

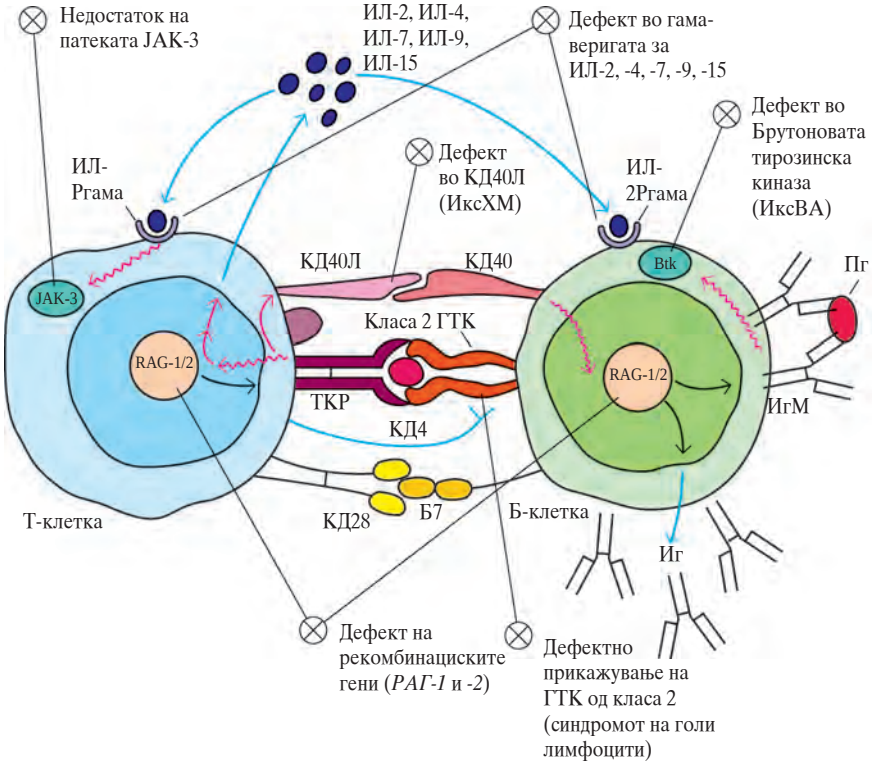
Икс врзана агамоглобулинемија

Дефект на Б-клетките кој е наречен Икс врзана агамаглобулинемија (Икс-ВА) или хипогамаглобулинемија на Брутон се карактеризира со мошне ниско ниво на ИгГ и со отсуство на други класи на имуноглобулини. Лицата со Икс-ВА немаат периферни Б-клетки и имаат повторувачки бактериски инфекции, кои почнуваат на возраст од околу 9 месеци. Палијативното лекување за оваа болест е периодично внатревенско внесување на имуноглобулини, но пациентите ретко преживуваат по тинејџерските години. Во ова нарушување постои дефект во Б-клеточното пренесување на сигналите, поради дефект во молекулот за пренесување кој е наречен Брутонова тирозинска киназа (Бтк), по истражувачот кој прв го објаснил синдромот. Б-клетките кај пациенти со Икс-ВА остануваат во пре-Б стадиум со преуредени тешки вериги, но лесните веригите остануваат во стадиумот од зародишната конфигурација. (Клиничкиот фокус во Поглавје 11 детално го објаснува откривањето на овој имунонедостаток и дефектот одговорен за неговото настанување).

Икс врзан хипер-ИгМ синдром

Посебен недостаток на имуноглобулините за кој прво се веруваше дека настанува поради дефект на Б-клетките, а од неодмана е покажано дека настанува заради дефект на молекул од површината на Т-клетките. Хипер-ИгМ синдромот поврзан со хромозомот Икс (ИксХМ) се карактеризира со недостаток на ИгГ, ИгА и ИгЕ и зголемени нивоа на ИгМ, понекогаш со висина од 10 мг/мл (нормалната концентрација на ИгМ е 1,5 мг/мл). Иако лицата со ИксХМ имаат нормален број на Б-клетки кои прикажуваат ИгМ и ИгД врзани на мембраната, кај нив недостасуваат Б-клетки кои прикажуваат мембрански ИгГ, ИгА и ИгЕ имуноглобулини. Синдромот ИксХМ во основа се наследува како рецесивно заболување поврзано со хромозомот Икс (види слика 20-2), но одредени форми се стекнати и се сретнуваат и кај мажите и кај жените. Засегнатите лица, во нивната периферна крв и лимфоидните ткива, имаат висок број на плазма клетки кои лачат ИгМ. Покрај тоа, пациентите со ИксХМ често имаат високи нивоа на автопротивтела против неутрофилите, крвните плочки и црвените крвни зрнца. Децата со ИксХМ имаат повторувачки инфекции, особено респираторни инфекции; овие инфекции се потешки отколку што се очекува за недостаток кој се карактеризира со ниско ниво на имуноглобулини.

Дефектот кај ИксХМ се наоѓа во генот кој го кодира КД40 лигандот (КД40Л или КД154), а кој се наоаѓа на Икс хромозомот. Тпо клетки од пациентите со ИксХМ не можат да прикажуваат функционален КД40Л на нивната површина. Бидејќи меѓудејството меѓу КД40 од Б-клетката и КД40Л од Тпо клетка е неопходно за активирањето на Б-клетките, отсуството на овој костимулаторен сигнал го попречува Б-клеточниот одговор против Т-зависните противгени (види слика 11-12). Сепак, Б-клеточниот одговор против противгените кои не се зависни од Т-клетките не е засегнат од овој дефект, кој се однесува на создавањето на противтелата ИгМ. Како што е објаснето во Поглавје 11, менувањето на имуноглобулинските класи и создавањето на памтечките Б-клетки бараат контакт со Тпо клетки и меѓудејство помеѓу КД40-КД40Л. Отсуството на меѓудејство кај ИксХМ доведува до неможност за менување на имуноглобулинските класи во изотиповите ИгГ, ИгА или ИгГ и неможност за создавање на памтечки Б-клетки. Дополнително,



СЛИКА 20-4 Дефекти во меѓудејството и сигнализирањето на клетките може да доведе до тежок имунонедостаток. Меѓудејството на Т и Б-клетките овде е прикажано со извесен број на компоненти кои се значајни за внатре- и вонклеточните сигнални патеки. Одреден број на првични имунонедостатоци произлегуваат од дефектите во овие меѓудејства. ТКИН може да настане заради дефекти во (1) гените кои активираат рекомбинација (*РАГ-1* и *-2*) кои се потребни за синтеза на функционални имуноглобулини и Т-клеточни рецептори кои ги карактеризираат зрелите Б и Т-клетки, (2) гама-веригата од рецепторите за ИЛ-2, -4, -7, -9 и -15 (ИЛ-Ргама), (3) JAK-3, кој пренесува сигнали од гама-веригата на цитокинскиот рецептор и (4) прикажувањето на ГТК молекулот од класа 2 (синдромот на голи лимфоцити). ИксВА настанува заради дефектното пренесување на активирачки сигнали од површинскиот ИгМ молекул преку Брутоновата тирозинска киназа (Бтк). ИксХМ настанува од дефекти во КД40Л кои спречуваат нормално зреење на Б-клетките. *[Адаптирано од B. A. Smart и H. D. Ochs, 1997, Current Opinion in Pediatrics **9**:570.]*

лицата со ИксХМ не можат да создаваат зародишни центри за време на хуморалниот одговор, што ја отсликува улогата на меѓудејството помеѓу КД40-КД40Л во создавањето на зародишните центри. Дефектите во клеточните меѓудејства се вообичаени за лимфоидните имунонедостатоци, како што е прикажано на слика 20-4.

ЧВИ се карактеризира со значително намалување на бројот на плазма-клетките кои лачат противтела, ниски нивоа на најголем дел од имуноглобулинските изотипови (хипогамаглобулинемија) и повторувачки инфекции. Болеста обично се манифестира подоцна од другите недостатоци, па понекогаш се нарекува хипогамаглобулинемија со доцен почеток или, неправилно, стекната хипогамаглобулинемија. Сепак, **ЧВИ** има генска компонента и се смета за првичен имунонедостаток, иако точниот образец за наследување не е познат. Бидејќи манифестациите се доста слични со манифестациите кај стекнатата хипогамаглобулинемија, постои одредена забуна помеѓу двете форми (види долу). Инфекциите кај пациентите со **ЧВИ** најчесто се бактериски и може да се контролираат со внесување на имуноглобулини. Кај пациентите со **ЧВИ**, Б-клетките не можат да созреат во плазма клетки. Сепак, ин витро проучувања покажуваат дела **ЧВИ** Б-клетките се способни да созреат во одговор на соодветни сигнали за диференцирање. Одговорниот дефект кај **ЧВИ** не е познат, но мора да вклучува или ин виво блокирање на зреењето на Б-клетките во плазма клетки или нивна неспособност да создаваат имуноглобулини во излачена форма.

Хипер-ИгМ синдром (професионален синдром)

Првичниот имунонедостаток се карактеризира со кожни апсцеси, повторувачка пневмонија, егзем и зголемени нивоа на ИгЕ придружувани од лицеви абнормалности и кревкост на коските. Ова повеќесистемско заболување е автозомно доминантно и има променлива експресивност. Генот за синдромот хипер-ИгЕ, или ХИЕС, се наоѓа на хромозмот 4. ХИЕС имуните знаци вклучуваат повторувачки инфекции и еозинофилија (прекумерно количество на еозинофили), покрај зголеменото ниво на ИгЕ.

Селективни недостатоци на имуноглобулинските класи

Бројни имунонедостаточни состојби се карактеризираат со значително намалени количества на специфични имуноглобулински изотипови. Од нив, далеку најчест е недостатокот на ИгА. Постојат податоци за фамилијарна поврзаност кои покажуваат дека ИгА недостатоците понекогаш се појавуваат во исти семејства како **ЧВИ**, што укажува на можна поврзаност помеѓу овие две болести. Спектарот на клиничките симптоми на ИгА недостатокот е доста широк; голем дел од засегнатите лица се асимптоматични, додека други имаат голем број на сериозни проблеми. Чести се повторувачки инфекции на респираторниот и генитално-уринарниот тракт, а се јавуваат како резултат од недостаток на ИгА кој се лачи на мукозните површини. Понатаму, проблеми како што се тенкоцревната малапсорпција (дефектна или несоодветна апсорпција на хранливи материи од тенкоцревниот тракт), алергиските болести и автоимуните нарушувања може да се поврзани со ниското ниво на ИгА. Не се јасни причините за оваа варијабилност во клиничкиот профил на недостатокот на ИгА, но може да се поврзани со способноста на дел од пациентите, но не сите, ИгА да го заменат со ИгМ како мукозно противтело. Дефектот кај недостатокот на ИгА се поврзува со неспообноста

на ИгА Б-клетките да претрпат нормално диференцирање до фазата на плазма клетки. Поткласите на ИгГ, ИгГ2 и ИгГ4 (види слика 4-18) може исто така да недостасуваат кај пациентите со недостаток на ИгА, иако површинските ИгА молекули врз Б-клетките од овие пациенти може да се прикажуваат нормално. Се верува дека ген или повеќе гени кои се наоѓаат надвор од имуноглобулинскиот генски комплекс се одговорни за овој прилично чест синдром.

Објавени се и други имуноглобулински имунонедостатоци, но тие се ретки. Недостаток на ИгМ е идентификуван како автозомно рецесивна болест. Лицата со ова болест се подложни на тешки инфекции со агенси како што е менингококот, кој може да предизвика фатална болест. Недостатокот на ИгМ може да биде придружен од различни малигни или автоимуни болести. Овие болести често не се забележуваат до понапредната возраст, а може ефикасно да се лекуваат со внесување на имуноглобулини.

Атаксија телеангиектазија

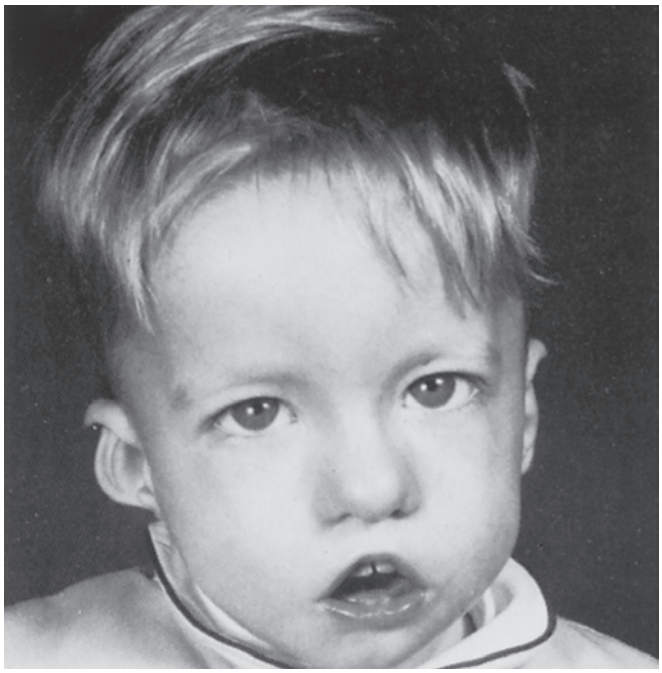
Иако првично не е класифицирана како имунонедостаток, атаксија телангиекстазија претставува синдром кој вклучува недостаток од ИгА, а понекогаш и ИгЕ. Синдромот се карактеризира со тешко одржување рамнотежа (атаксија) и со појава на пукнати капилари (телеангиектазија) во очите. Основниот дефект се чини дека е во киназа која е вклучена во регулирањето на клеточниот циклус. Поврзаноста меѓу имуниот недостаток и другите дефекти кај атаксија телеангиектазија останува нејасен.

Имуни нарушувања кои го вклучуваат тимусот

Неколку синдроми на имунонедостаток се должат на неможност на тимусот да помине низ нормален развој. Откажувањето на функцијата на тимусот има длабок ефект врз функцијата на Т-клетките: засегнати се сите популации од Т-клетките, каде спаѓаат помагачките, цитотоксичните и регулаторните. Имунитетот против вирусите и габите е особено засегнат кај оние лица кои страдаат од овие болести.

Синдромот Ди Џорџ, или вродената тимична апласија, во неговата најтешка форма претставува целосно отсуство на тимусот. Овој дефект во развојот, кој е поврзан со отстранување на регион од хромозомот 22 во ембрионот, предизивукува имунонедостаток заедно со карактеристичните фацијални абнормалности, хипопаратиродизам и вродена срцева болест (слика 20-5). Одредена е фазата во која настанува овој развоен дефект, а синдромот понекогаш се нарекува *синдром на третата или четвртата фарингеална бразда*, за да се прецизира неговото ембрионално потекло. Имуниот дефект вклучува значително намалување на бројот на Т-клетките и отуство на Т-клеточни реакции. Иако Б-клетките се присутни во нормален број, засегнатите лица не создаваат противтела во одговор на имунизација со специфични противгени. Трансплантација на тимусот е корисна во извесна мерка за корегирање на дефектите со Т-клетките, но голем број на пациенти со синдромот Ди Џорџ имаат толку тешка срцева болест што шансите за долготраен опстанок им се мали, и покрај корекцијата на имуните дефекти.

Додека синдромот Ди Џорџ се јавува како резултат од внатреутерина или развојна аномалија, тимичната хипоплазија



СЛИКА 20-5 Дете со синдромот Ди Џорџ покажува карактеристична дисплазија на ушите и устата и абнормално големо растојание помеѓу очите. *[R. Kretschmer et al, 1968, New England Journal of Medicine 279: 1295; фотографијата е сопственост на F. S. Rozen].*

или Незелофовиот синдром, претставува наследно нарушување. Начинот на наследување за ова ретко заболување не е познат, а неговото прикажување варира, што до некаде ја отежнува неговата дијагноза. Како што кажува името, тимичната хипоплазија е дефект каде рудиментираниот тимус не може да функционира во развојот на Т-клетките. Кај одредени пациенти, Б-клетките се нормални, додека кај други, недостаток на Б-клетки се јавува секундарно, како последица од дефектот во Т-клетките. Засегнатите лица страдаат од хронична дијареја, вирусни и габични инфекции и општа неспособност за напредување.

Имунонедостатоците на миелоидните клетки го засегаат вродениот имунитет

Имунонедостатоците на лимфоидната линија влијаат врз стекнатиот имунитет. Наспроти тоа, дефектите на миелоидните клетки влијаат врз функциите на вродениот имунитет (види слика 20-1). Поголемиот дел од овие дефекти резултираат со намалени фагоцитни процеси кои се манифестират со повторувачки микробни инфекции со поголема или помала тежина. Фагоцитните процеси може да бидат дефектни во повеќе фази, меѓу кои спаѓаат подвижноста на клетките, прилепувањето и фагоцитозата на организмите и убивањето од страна на макрофагите.

Намалување на бројот на неутрофилите

Како што е објаснето во Поглавје 2, неутрофилите претставуваат циркулирачки гранулоцити со фагоцитна функција. Квантитативните недостатоци на гранулоцитите може да се движат од скоро целосно отсуство на клетки, наречено агранулоцитоза, до намалување на бројот на неутрофилите во периферната крв под 1500/мм^3, наречено гранулоцитопенија или неутропенија. Овие квантитативни недостатоци може да се јават како резултат од вродени дефекти или може да бидат стекнати заради надворешни фактори. Стекнатите неутропении се доста почести отколку вродените.

Вродената неутропенија често се јавува поради генски дефект кој влијае врз миелоидните зародишни клетки-прогенитори; тоа доведува до намалено создавање на неутрофили при хематопоезата. Кај вродената агранулоцитоза, миелоидните зародшни клетки се присутни во коскената срцевина, но ретко се диференцираат подалеку од промиелоцитната фаза. Како резултат на тоа, децата кои се раѓаат со оваа болест покажуваат тешка неутропенија, со број кој е помал од 200 неутрофили/мм^3. Овие деца страдаат од чести бактериски инфекции уште во првите неколку месеци од раѓањето. Здравите деца се зашетитени во оваа возраст преку мајчините противтела, како и од механизмите на вроденият имунитет, каде спаѓаат и неутрофилите. Експериментални докази покажуваат дека овој генски дефект доведува до намалено создавање на фактор кој стимулира создавање гранулоцитни колонии (Г-КСФ) и заради тоа миелоидната зародишна клетка не успева да се диференцира низ сите стадиуми од гранулоцитната линија (види слика 2-1).

Неутрофилите имаат краток животен век, па нивните претходници мора брзо да се делат во коскената срцевина за да одржат соодветни нивоа на овие клетки во циркулацијата. Поради оваа причина, агенсите како што се радијациско зрачење и одредени лекови (на пр., хемотерапевтски лекови), кои особено ги оштетуваат Т-клетките кои брзо се делат, многу веројатно ќе предизвикаат неутропенија. Повремено, неутропенија се развива во тек на автоимуна болест како што е синдромот на Сјогрен или системски лупус еритематозус; кај овие болести, автопротивтелата ги уништуваат неутрофилите. Минлива неутропенија често се развива по одредени бактериски или вирусни инфекции, но по отстранувањето на инфекцијата, бројот на неутрофиилите се враќа на нормала.

Хронична грануломатозна болест (ХГБ = CGD)

ХГБ претставува генетска болест која има најмалку две различни форми: форма поврзана со Икс хромозомот која се јавува кај околу 70% од пациентите и автозомно рецесивна форма кај останатите пациенти. Оваа болест потекнува од дефект во оксидативната патека преку која фагоцитите создаваат водороден пероксид и реактивни продукти, како што е хипохлорната киселина (HOCL), која убива фагоцитирани бактерии. Пациентите со **ХГБ** претрпуваат прекумерни воспалителни реакции кои резултираат со гингивитис, отечени лимфни јазли и немалигна грануломатоза (лимфни поткожни клеточни маси); тие се исто така, чувствителни на бактериски и габични инфекции. Пациентите со **ХГБ** не се особено подложни на инфекции од бактерии, како што се пневмококите, кои создаваат сопствена водородна пероксидаза. Во овој случај, миелопероксидазата од клетките на домаќинот може да ја користат водородната пероксидаза на бактериите за создавање доволно хипохлорна киселина за да се спречи инфекцијата. Неколку поврзани дефекти може да доведат до **ХГБ**, каде спаѓаат недостаток или дефект на цитохром (цит $б^{558}$) кој има функција во оксидативната петека и дефектите во протеинот кој го стабилизра цитохромот (фагозомна оксидаза, или фокс). Покрај општиот дефект на убивачката функција на фагоцитите, исто така доаѓа до намалување на способноста на еднојадрените клетки да служат како АПК. Нарушени се и преработувањето и прикажувањето на противгените. Кога еднојадрените клетки од пациентите со **ХГБ** се користат како АПК, потребен е зголемен број на противгени за поттикнување помош од Т-клетките,.

Се покажа дека додавањето на ИФН-гама ја враќа функцијата на гранулоцитите и моноцитите од болни со **ХГБ** во ин витро услови. Ова откритие доведе до клинички испитувања на ИФН-гама кај пациенти со **ХГБ**. Беше забележано охрабрувачко зголемување на оксидативната функција и поправање на цитоплазматскиот цитохром кај овие пациенти. Познавањето на прецизните генски дефекти кои доведуваат до **ХГБ** ја прави оваа болест кандидат за генска терапија, а замената на дефектниот цитохром дава надежни резултати (види долу).

Чедијак-Хигашиев синдром

Ова автозомно рецесивно заболување се карактеризира со повторувачки бактериски инфекции, делумен очно-кожен албинизам (недостаток на пигмент во кожата и очите) и агресивна, но немалигна инфилтрација на органите со лимфоидни клетки. Фагоцитите од пациенти со овој имун дефект содржат гигантски гранули, но не се способни да убиваат бактерии. Молекулската основа за овој дефект е мутација на протеин (LYST) вклучен во регулирањето на внатреклеточниот сообраќај. Мутацијата го ослабува целењето на протеините во секреторните лизозоми, што ги оневозможува да разградуваат бактерии.

Недостаток на прилепување на белите клетки (Левкоцитен атхезивен недостаток - ЛАН)

Како што беше објаснето во Поглавје 13, молекулите од површината на клетките кои припаѓаат во интегринската фамилија од протеини функционираат како атхезиски молекули кои се потребни за олеснувањето на клеточната интеракција. Три од нив, ЛФА-1, Мац-1 и гп150-95 (КД11а, б и ц соодветно), имаат заеднички бета-верига (КД18) и променливо се присутни врз различни моноцитни клетки; КД11а, исто така, се прикажува врз Б-клетките (табела 20-2). Имунонедостатокот кој е поврзан со откажувањето на функциите на атхезиските молекули произлегува од дефект кој е локализиран во заедничката бета-верига и влијае врз прикажувањето на сите три вида молекули кои ја користат оваа верига. Овој дефект, наречен недостаток на атхезија на белите клетки (ЛАН), доведува до чувствителност кон грам-позитивни и грам-негативни бактерии како и различни габи. Нарушувањето на атхезијата на белите клетки за васкуларниот ендотел го ограничува регрутирањето на клетки во областите на воспаление. Вирусниот имунитет е делумно ослабен, како што може да се предвиди од дефектната соработка на Т-Б-клетките која пак настанува заради дефект во атхезијата. ЛАН варира по неговата тежина, некои засегнати лица умираат за неколку години, додека други преживуваат до нивните четириесетти години. Причината за променливиот фенотип на болеста кај ова нарушување не е позната. ЛАН е тема на клиничкиот фокус во Поглавје 13.

ТАБЕЛА 20-2 Својства на интегринските молекули кои се отсутни кај недостатокот на атхезија на белите клетки

	Интегрински молекули[1]		
Својство	**ЛФА-1**	**КР3**	**КР4**
КД назив	КД11а/КД18	КД11м/КД18	КД11ц/КД18
Состав на поединицата	алфаЛбета2	алфаМбета2	алфаИкс/бета2
Молекулска маса на поединицата Алфа-верига Бета-верига	 175 000 95 000	 165 000 95 000	 150 000 95 000
Клеточно прикажување	Лимфоцити Моноцити Макфораги Гранулоцити Клетки природни убијци	Моноцити Макфораги Гранулоцити Клетки природни убијци	Моноцити Макфораги Гранулоцити
Лиганд	ИКАМ-1 (КД54) ИКАМ-2 (КД 102)	К3би	К3би
Функции кои се попречени со моноклонско противтело	Екстравазација Убивање со ЦТЛ Создавање на коњугат Т-Б ПЗКЦ	Опсонизација Прилепување за гранулоцитите, агрегација и хемотакса ПЗКЦ	Прилепување за гранулоцитите и агрегација

[1]ЦР3 = комплементарен рецептор од тип 3, исто познат како Мац-1. ЦР4 = комплементарен рецептор од тип 4, исто познат како гп150/95. ЛФА-1, ЦР3 и ЦР4 се хетеродимери кои содржат заедничка верига β, но различни алфа вериги, наречени Л, М и Ц, соодветно.

Дефекти на комплементот резултираат со имунонедостаток или болест на имуни комплекси

Имунонедостаточните болести кои настануваат од дефектите во комплементниот систем се објаснети во Поглавје 7. Голем број недостатоци на комплементот се поврзани со зголемена чувствителност кон бактериски инфекции и/или болести на имуни комплекси. Едно од овие нарушувања на комплементот, недостаток на пропердин, кој ја стабилизира К3 конвертазата од алтернативната патека на комплементот, е предизвикано од дефект во генот кој се наоѓа на Икс хромозомот (види слика 20-2). Дефектите на маноза врзувачкиот лектин (МВЛ) резултираат со зголемена чувствителност на голем број инфекции со бактериски и габични агенси. Сетете се, од Поглавје 7, дека МВЛ е клучниот поттикнувач на комплементниот напад врз многу патогени и претставува значајна компонента на вродениот имун одговор против голем број на организми.

Имунонедостаточните болести се лекуваат со замена на дефектниот елемент

Иако не постои излекување за имунонедостаточните болести, сепак има неколку можности за лекување. Покрај драстичната опција за целосно излолирање од изложување на кој било микроорганизам, опциите за третман на имунонедостатоците го вклучуваат следново:

- Замена на протеинот кој недостасува
- Замена на видот на клетки или клеточна линија која недостасува
- Замена на на генот кој е дефектен или недостасува

За нарушувањата кои го пореметуваат создавањето на противтела, класичното лекување е внесување на протеините кои недостасуваат, имуноглобулини. Човечки гамаглобулини дадени или интравенозно или поткожно штитат од повторувачки инфекции кај многу типови на имунонедостаток. Одржувањето на високи нивоа на серумските имуноглобулини (5 мг/мл серум) ќе ги спречи повеќето вообичаени инфекции кај агамаглобулинемичен пациент. Ова во основа се постигнува со внесување на имуноглобулини кои се избрани и содржат противтела кои се насочени против одреден организам. Неодманешниот напредок во подготвувањето на човечките моноклонски противтела и способноста за генско модифицирање и производство на химерни противтела со В подрачја од глушец и човечки К подрачја, овозможува подготвување на противтела кои се специфични за значајни патогени (види поглавје 5).

Напредокот во молекулската биологија овозможува клонирање на гените кои кодираат други имунолошки важни протеини, како што се цитокините, и ин витро прикажување на овие гени, со употреба на бактериски и еукариотски системи за прикажување. Достапноста на таквите протеини овозможува нови начини на терапија во која имунолошки значајните протеини може да се заменат или пак нивните концентарции да се зголемат кај пациентот. На пример, внесувањето на рекомбинантниот ИФН-гама се покажа како ефикасна терапија за пациенти со ХГБ, а употребата на рекомбинантниот ИЛ-2 може да помогне за подобрување на имунолошката функција кај пациентите со СИДА. Рекомбинантната аденозин деминаза успешно е давана на пациенти со ТКИН и недостаток на АДА.

Клеточната заменска терапија за имунонедостатоците е овозможена со неодмнешниот напредок во пресадувањето на коскената срцевина (види поглавје 17). Заменатa на зародишните клетки со клетки од имунокомпетентен дарител овозможува развој на функционален имун систем (види клинички фокус во поглавје 2). Кај лицата кои се доволно среќни да имаат дарител со идентичен ХЛА систем, објавени се високи стапки на успех. Со внимателното избирање и совпаѓање на пациентите со дарителите и можноста за збогатување на зародишните клетки преку селектирање КД34$^+$ клетки продолжува да се намалува

ризикот од оваа постапка, дури и кога не постои комплетно идентичен дарител. Овие постапки се мошне успешни и кај новороденчиња со ТКИН кога се користи хаплоидентичен (целосно совпаѓање на една ХЛА генска група или хаплотип) дарител на коскена срцевина. Т-клетките се намалени, а зародишните клетки КД34$^+$ се збогатени пред внесувањето на коскената срцевина во новороденчето со ТКИН. Бидејќи оваа терапија е воведена и се користи само последниве неколку години, не се знае дали пресадувањето трајно го лекува имунонедостатокот. Варијација на пресадувањето на коскената срцевина е инјекција со КД34$^+$ клетки од таткото ин утеро кога се очекува раѓање на новороденче со ТКИН.

Ако се утврди дека причина за недостатокот е само еден генски дефект, како при недостатокот на аденозин деминаза или хроничната грануломатозна болест, замената на дефектниот ген може да биде тераписка опција. Клиничките испитувања на таквата терапија се во тек за ТКИН кој е предизвикан од недостаток на ADA и за хроничната грануломатозна болест со дефектен п67^{phox}, а првичните резултати се надежни. Кај пациентите со ТКИН забележано е повлекување на болеста во траење од 18 месеци, а кај пациентите со ХГБ од 6 месеци. Слична постапка била користена и во двата случаи. Таа започнува со земање клетки (за овие процедури обично се избираат КД34$^+$ клетки) од пациентот и тие се трансфектираат со нормална копија на дефектниот ген. Потоа, трансфектираните клетки се враќаат во пациентот. Како што се подобрува оваа тераписка опција, ќе стане достапна и за бројни инмунонедостатоци кај кои е добро дефиниран генскиот дефект. Како што споменавме претходно, овде спаѓаат дефекти во гените кои ја кодираат бета веригата од ИЛ-2 рецепторот, ЈАК-3 и ЗАП-70, сите одговорни за предизвикување ТКИН. Како и кај сите третмани, постои елемент на ризик при употребата на генската терапија за лекување на имунонедостаток. Два инциденти во кои внесените клеточни популации се размножувале неконтролирано, создавајќи леукемија кај лекуваните пациенти за ТКИН, наложуваат внимание при употребата на генската терапија. Се разбира, потенцијалниот ризик од генската терапија мора да се урамнотежи со користа за пациентите кои без лекување ќе подлегнат на фаталните инфекции.

Експериментални модели на имунонедостаток вклучуваат генски модифицирани животни

Имунолозите користат два добро-проучени животински модели за првични имунонедостатоци за голем број експериментални цели. Едниот од нив е атимичниот, или гол глушец, другиот е глушец со тежок комбиниран имунонедостаток (ТКИН). Неодманешни студии со генетски мофицирани глувци каде е отстранет еден ген даваат презицни информации за улогата на специфичните гени во борбата против инфекциите.

Голи (атимични) глувци

Кај одредени глувци, откриена е генетска особина наречена *ну*, која е контролирана од рецесивен ген од хромозомот 11. Глувците кои се хомозиготни за овој ген (*ну/ну*) се без влакна и имаат рудиментарен тимус (слика 20-6). За споредба, хетерозиготните, *ну*/+ врсници имаат влакна и нормален тимус. Не е познато дали немањето влакна и дефектот со тимусот се предизикани од дефект во истиот ген. Можно е два тесно поврзани гени да ги контролираат овие дефекти, кои, иако не се поврзани, кај глушецот мутант се појавуваат заедно. Може да се работи за развоен ген, бидејќи патеката која води до диференцијален развој на тимусот е поврзана со еден ген кој ги контролира епителните клетки од кожата. Глушецот *ну*/*ну* не може лесно да преживее. Во нормални услови, смртноста е 100% до 25 недела, а 50% умираат во првите две недели по раѓањето. Според тоа, кога овие животни се користат за експериментални цели, мора да се одржуваат во животни услови кои ќе ги штитат од инфекции. Превентивните мерки вклучуваат употреба на стерилизирана храна, вода, кафези и легло. Кафезите се заштитени од прашина со ставање во простори со ламинарен проток на воздух или со употреба на воздушни филтри кои се прикачени на секој кафез.

На голите глувци им недостасуваат клеточно-посредувани имуни реакции и тие не можат да создаваат противтела против поголемиот број противгени. Имунонедостатокот кај голите глувци може да се поправат со трансплантација на тимус. Бидејќи овие глувци може трајно да поднесуваат алотрансланти и ксенотрансланти, тие имаат бројни практични експериментални примени. На пример, кај голите глувци хибридомите или цврстите тумори од било кое потекло може да растат како асцит или имплантирани тумори. Познато е дека голиот глушец нема целосен недостаток на Т-клетки, туку има ограничена клатечна популација која се зголемува со текот на времето. Изворот на овие клетки не е познат; инетересна претпоставка е дека постои вонтимичен извор на зрели Т-клетки. Сепак, поверојатно е дека Т-клетки настануваат од рудиментираниот тимус. Поголемиот број на клетки во циркулацијата на голиот глушец носат Т-клеточни рецептори од типот гама-делта наместо од типот алфа-бета кој е доминантен во циркулацијата на здравите глувци.



СЛИКА 20-6 **Гол глушец (ну/ну)**. Овој дефект води до отсуство на тимус или рудиментарен тимус и клеточно-посредуван имунонедостаток. *[Сопственост на Jackson Laboratory. Bar Harbor, Maine.]*

Глушец со ТКИН

Во 1983 година, Мелвин и Гајл Бозма и нивните колеги објасниле автозомна рецесивна мутација кај глувци која доведува до тежок недостаток на зрелите лимфоцити. Овој наследен дефект го нарекле ТКИН поради неговата сличност со хуманиот тежок комбиниран имунонедостаток. Се покажало дека глувците со ТКИН имаат рани клетки од Т- и Б-,клеточните линии, но скоро комплетно отсуство на лимфоидни клетки во тимусот, слезината, лимфните јазли и цревата, вообичените локации за функционални Т и Б-клетки. Претходниците на Т и Б-клетките кај глушецот со ТКИН не можат да се диференцираат во зрели функционални Б и Т лимфоцити. Генетски чисти соеви глувци кои го имаат дефектот ТКИН биле детално проучувани и откриено е дека тие не можат ниту да создаваат противтела ниту да извршуваат одговор на одложена преосетливост (Тот) или да отфрлаат пресадок. Ако животните не се одгледуваат во целосно чисти средини, тие ќе подлегнат на инфекција рано во животот. Останатите клетки, освен лимфоцитите, се развиваат нормално кај глувците со ТКИН; црвените крвни зрнца, моноцитите и гранулоцитите се присутни и функционираат нормално. Глувците со ТКИН можат да станат имуно компетентни со пресадување на зародишни клетки од здрави глувци.

Мутација во ДНК протеинска киназа која предизвикува ТКИН кај глувците е т.н. пропусна мутација, бидејќи одреден број на глувци со ТКИН создаваат имуноглобулини. Околу половина од овие глувци со пропусен ТКИН исто така може да обијат алотрансплантати. Овој наод укажува дека дефектниот ензим делумно функционира во развојот на Т и Б-клетките, што овозможува нормално диференцирање на мал процент од клетките-претходници. Неодамна, со отстранување на ензимите кои активираат рекомбинации (РАГ-1 и РАГ-2), одговорни за преуредувањето на имуноглобулинските гени или гените за Т-клеточниот рецептор кај претходниците на Т и Б-клетките, развиени се нови соеви на глувци слични на имунодефициентите глувци со ТКИН. Глувците кај кои бил отстранет РАГ покажуваат дефекти во Т и Б-клетките, бидејќи ниту еден вид на овие клетки не може да ги преуреди гените за нивниот рецептор па, според тоа, никој не продолжува по нормалната развојна патека. Бидејќи клетките со абнормални преуредувања се отстрануваат ин виво, и Б и Т-клетките се отсутни од лимфоидните органи кај глувците на кои им е отстранет РАГ. Покрај обезбедувањето детали за можните причини на комбинираниот имунонедостаток на Т и Б-клетките, ТКИН глувците се покажале исклучително корисни при проучувањата на клеточната имунологија. Бидејќи механизмите за отфрлање на пресадокот не функционираат, глушецот со ТКИН може да се користи за проучувања на клетки или органи од различни извори. На пример, претходници на имуните клетки- од човечки извори може да се користат за повторно да се воспостави имуниот систем на глушец со ТКИН. Овие човечки клетки може да се развијат на нормален начин и како резултат на тоа, во циркулацијата на глушецот со ТКИН ќе има имуноглобулини од човечко потекло. Во една значајна студија, овие глувци со ТКИН биле заразени со ХИВ-1. Иако здравите глувци не се чувствителни на инфекција со ХИВ-1, глувците со ТКИН модифицирани со човечки лимфоидни ткива (глушец ТКИН-Ху) обезбедуваат животински модел каде може да се тестираат терапевтските или профилактичките стратегии против инфекцијата со ХИВ на лимфоидното ткиво кое е пресадено до човек.

СИДА и други стекнати вторични имунонедостатоци

Како што беше објаснето претходно, голем број дефекти во имуниот систем можат да доведат до имунонедостаток. Покрај првичните имунонедостатоци, исто така постојат и стекнати, или вторични, имунонедостатоци. Еден од нив, кој е познат подолго време се нарекува стекната хипогамаглобулинемија. (Како што споменавме претходно, оваа состојба понекогаш се меша со честиот варијабилен имунонедостаток, болест за која постои генетска предиспозиција). Не е позната причината за појавување на стекната хипогамаглобулинемија, а неговиот главен симптом, повторувачки инфекции, се манифестира кај млади луѓе. Пациентите, во основа, имаат многу ниско, но мерливо ниво на вкупни имуноглобулини. Бројот и функцијата на Т-клетките може да бидат нормални, но постојат одредени случаи со дефекти на Т-клетките, кои со развивањето на болеста може да станат и потешки. Болеста превенствено се лекува со терапија со имуноглобулин, што им овозможува на пациентите да доживеат до 70-ти и 80-ти години од животот. За разлика од сличните недостатоци кои ги објаснивме претходно, нема доказ за генетско пренесување на оваа болест. Мајките со стекната хипоагамаглобулинемија раѓаат здрави деца. Сепак, при раѓањето децата имаат недостаток на циркулирачки имуноглобулини, бидејќи недостатокот во циркулацијата на мајката ќе се прикаже кај децата.

Друга форма на стекнат имунонедостаток, познат како имунонедостаток предизвикан од агенс, се јавува како резултат на изложување на некој од бројните хемиски и биолошки агенси кои поттикнуваат имунонедостаточна состојба. Дел од нив се лекови кои се користат за борба против автоимуните болести, како што се ревматскиот артрит и лупус еритематозус. Кортикостероидите, кои често се користат за лекување на автоимуните нарушувања, влијаат врз имунот одговор со цел да ги намалат симтомите на болеста. Слично на тоа, кај пациентите со извршена трансплантација на некој орган, намерно се потиткнува состојба на имунонедостаток, со примање на имуносупресивни лекови, како што е циклоспорин А, а со цел да се ублажи нападот на имуниот систем на домаќинот против пресадените органи. Како што објаснивме во поглавје 17, во последно време се прават напори за употреба на поспецифични средства за поттикнување толеранција против алотрансплантати за да се избегнат несаканите ефекти на општата имуносупресија. Механизмот на дејство на имуносупресивните агенси варира, иако Т-клетките се почеста, вообичаена цел. Понатаму, цитотоксичните лекови или третманите со зрачење кои се даваат за лекување на различни форми на рак, често ги оштетуваат Т-клетките кои се делат во телото, каде спаѓаат и клетките од имуниот систем и како несакана последица, поттикнуваат имунонедостаток. Пациентите кои примаат таква терапија мора внимателно да бидат надгледувани и доколку се појави инфекција, треба да се лекуваат со антибиотици или имуноглобулин.

ХИВ/СИДА е одговорна за милиони животи низ светот

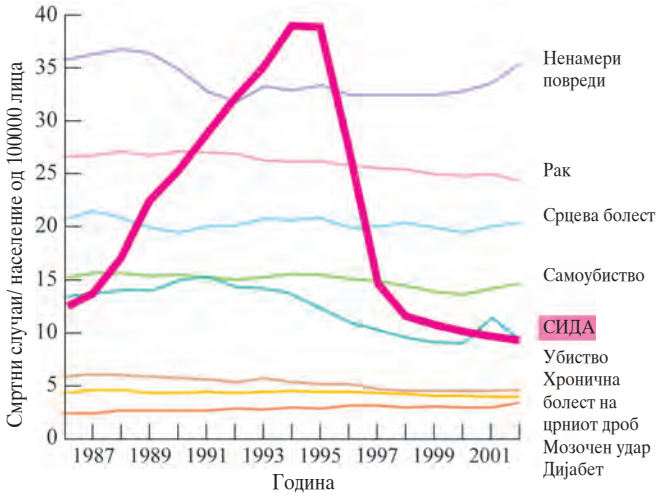
Во последниве неколку години, сите други форми на имунонедостатоци се засенети од епидемијата на тежок имунонедостаток предизвикан од инфективен агенс кој е наречен вирус на хуман имунонедостаток -1, или ХИВ-1. Болеста која

ја предизвикува ХИВ-1, синдром на стекнат имунонедостаток (СИДА), за прв пат беше пријавена во САД во 1981 година, во Лос Анџелес, Њујорк и Сан Франциско. Група на пациенти покажувале необични инфекции, меѓу кои инфекции предизвкани од опортунистичката патогена габичка *Pneumocystis cariinii*, која кај луѓе со имунонедостаток предизвикува пневмонија наречена пневмонија *P. cariinii* (ПЦП). Покрај ПЦП, одредени пациенти имале Капошиев сарком, мошне редок кожен тумор, како и други, ретки опртунистички инфекции. Поцелосни испитувања на овие пациенти покажале дека заедничка карактеристика им била нагласен недостаток на клеточните имуни реакции и значително намалување на потпопулација на Т-клетките кои го носат маркерот КД4 (Т-помагачки клетки). Кога епидемилозите ја испитале позадината на првите пациенти со новиот синдром, заклучиле дека повеќето од нив се мажи хомосексуалци. Како што се зголемувал бројот на пациенти со СИДА, а болеста се раширила и се препознавала насекаде во светот, станало јасно дека постои висок ризик за разболување од СИДА помеѓу хомосексуалците, неприбирливите хетеросекуалци од двата пола и нивните партнери, интравенозните корисници на дрога, луѓето кои примале крв и крвни продукти пред 1985 година и новороденчињата родени од мајки кои се заразени со ХИВ.

Уште од откривањето во 1981 година, СИДАта низ светот доби епидемиски размери. Заклучно со декември 2004 година, вкупниот број на лица во САД кои умреле од СИДА изнесувал 524000, а во 2005 година, приближно милион лица живееле со инфекција од ХИВ. Иако пријавувањето на случаите со СИДА е задолжително, голем број на држави не бараат пријавување на случаите со инфекција со ХИВ кај кои сè уште не се развила СИДА, поради што бројот на лица заразени со ХИВ само се претпоставува. Иако стапката на смртност од СИДА, поради подобрените третмани, во последните години е намалена, СИДАта останува меѓу водечките убијци на луѓе на возраст од 25 до 44 години во оваа земја (САД) (20-7). Фактот што бројот на годишни смртни случаи од СИДА е намален е охрабрувачки, но не означува крај на епидемијата во оваа земја. Опасен тренд е тоа што епидемијата особено се концентрира кај жени и кај Афроамериканци, кои претставуваат половина од најновите смртни случаи од СИДА.

Размерите на епидемијата на СИДА во САД се засенати од бројот на случаи во другите делови од светот. Глобалната распределба на лицата кои се заразени со СИДА е прикажана на слика 20-8. Во делот на суб-Сахарска Африка, во 2005 година, 25,8 милиони лица живееја со СИДА, а во Јужна и Југоисточна Азија имало дополнителни 7,4 милиони лица. Се претпоставува дека 40,3 милиони лица низ целиот свет имаат СИДА, каде спаѓаат и 2,3 милиони деца под 15 години. Покрај тоа, милиони деца станале сираци со смртта на нивните родители од СИДА. Најновите проценки од Светската здравствена организација покажуваат дека во 2005 година, имало 4,9 милиони нови лица со инфекцијата ХИВ, или во просек скоро 13500 лица се заразувале дневно во текот на таа година. Бројот вклучува и дневни инфекции на 1400 деца на возраст под 15 години.

Почетната група на пациенти во САД и Западна Европа првенствено биле белци и од машки пол. Иако оваа група останува да биде првенствено засегната во овие области, од неодамна распределбата во САД вклучува и поголем дел од жени и сè повеќе припадници на малцинствата. Ширум-светот, бројот на пациенти со СИДА е подеднакво распределен меѓу мажите и жените, а во суб-Сахарска Африка, каде има најголема зачестеност на СИДАта, повеќе од половина (приближно 57%) од засегнатите лица се жени.

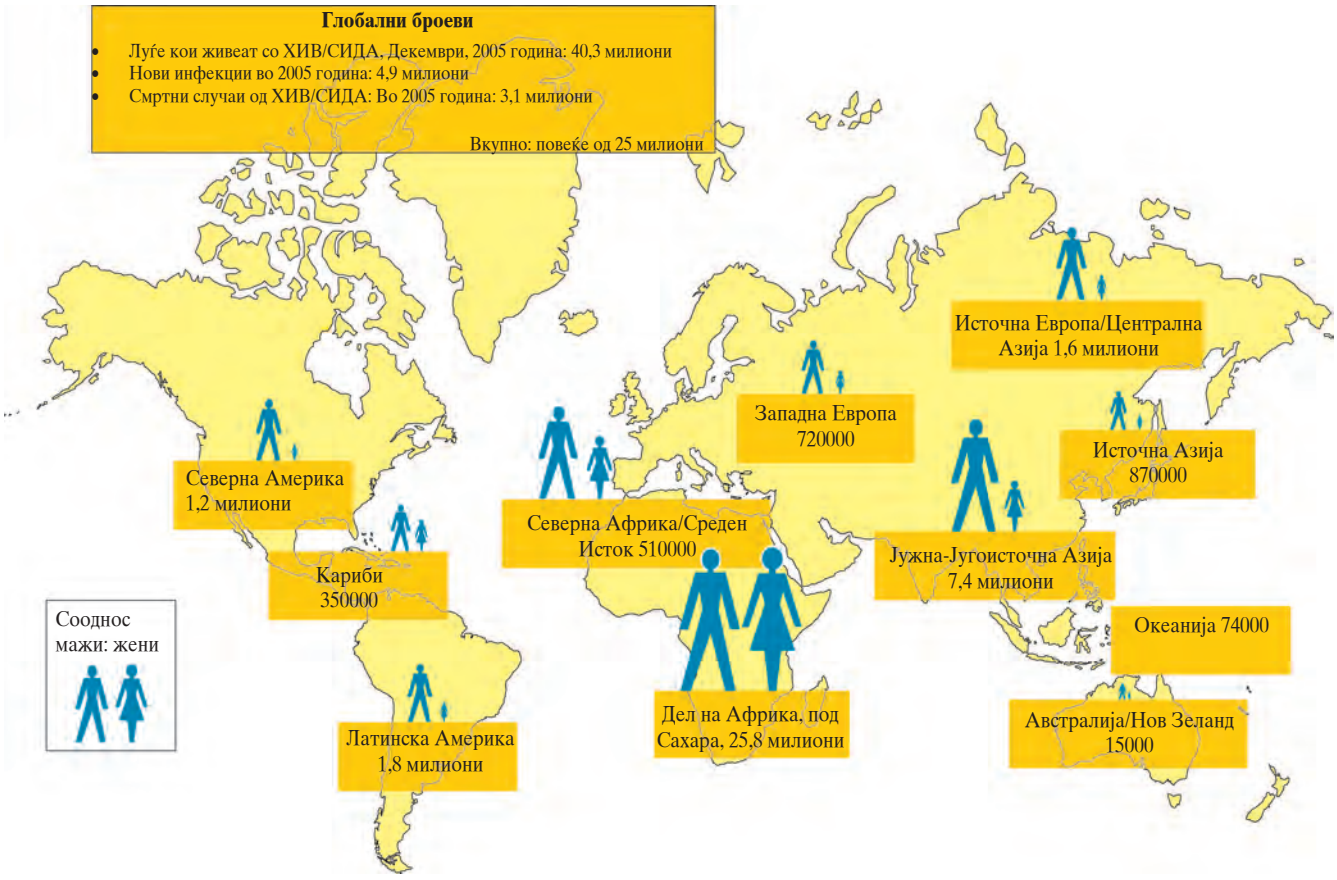


СЛИКА 20-7 Стапки на смртност за деветте водечки причини за смрт кај луѓе на возраст од 25 до 44 години во САД од 1987 до 2002 година. Црвената линија покажува дека стапката на смртност на 100000 лица предизвикана од СИДА, ја надминала секоја друга поединечна причина за смрт во оваа возраст во периодот од 1993 до 1955 година. Неодманешното намалување на смртноста од СИДА во САД се припишува на подобрувањата во терапијата со лековите против-ХИВ, кои го продолжуваа животот на пациентите. *[Податоци од Centers for Disease Control web site, www.cdc.gov/.]*

ХИВ-1 се шири преку сексуален контакт, преку инфицирана крв и од мајка на дете

Иако не е познат точниот механизам преку кој ХИВ-1 го инфицира лицето, епидемиолошките податоци покажуваат дека честите начини за пренесување вклучуваат хомосексуален и хетеросексуален однос, примање на инфицирана крв и крвни продукти и пренесување од мајки на деца. Пред тестовите за ХИВ да почнат рутински да се користат во обезбедувањето со крв, пациентите кои примале трансфузија на крв и хемофиличарите биле изложени на ризик од инфекција со ХИВ-1. Изложувањето на инфицирана крв е најчестиот начин за заразување со СИДА кај интравенозните корисници на дрога, кои често делат поткожни игли. Новороденчињата кои се родени од мајки заразени со ХИВ-1 се со висок ризик од инфекција. Доколку заразените мајки не се лекуваат со противвирусни агенси пред породувањето, приближно 30% од бебињата родени од нив ќе се инфицираат со вирусот (види клинички фокус). Можните начини за пренесување на вирусот кај бебињата вклучуваат крв која се пренесува за време на раѓањето и млеко во периодот на доење. Пренесувањето од инфицирано на неинфицирано лице најверојатно се случува преку пренесување на клетки кои се заразени со ХИВ, особено макрофаги, стеблести клетки и лимфоцити.

Во светската епидемија, се проценува дека 75% од случаите на пренесување на ХИВ се случуваат преку хетеросексуален контакт. Иако можноста за пренесување преку вагинален однос е пониска од другите начини, како што е интравенската употреба на дрога или анален однос, веројатноста за инфекција доста се зголемува со присуството на други сексуално-преносливи болести (СПБ). Во популациите каде владее



СЛИКА 20-8 **Глобална епидемија на СИДА**. Светска распределба на случаи со СИДА до декември, 2005 година. До декември 2005 година, приближно 40,3 милиони лица живееле со СИДА, поголемиот дел од нив биле од Субсахарска Африка и Југоисточна Азија. Во Северна Америка и Западна Европа, околу 75% од засегнатите лица биле мажи, додека во делот на Субсахарска Африка, околку 57% од лицата со СИДА биле жени. [Податоци од UNAIDS/WHO: AIDS Epidemic Update, December 2005, *http://www.unaids.org/epi/2005/doc/EPIup2005/_pdf_en/epi-update2005_en.pdf.*]

проституцијата, цветаат СПБ и овозможуваат моќен кофактор за хетеросексуално пренесување на ХИВ-1. Причините за оваа зголемена стапка на инфекција вклучуваат рани и отворени лезии и рани кои се присутни во голем број кај СПБ, кои, при сексуалниот однос, го поттикнуваат пренесувањето на крв која е инфицирана со ХИВ. Податоци од студии во Индија и Уганда покажуваат дека циркумцизијата (*сунет*) кај мажите, значително го намалува ризикот од инфекција со ХИВ-1 на мажите и го намалува ризикот за пренесување од заразени циркумцизирани мажи на нивните сексуални партнери. Во овие студии не бил забележан друг сличен заштитен ефект од циркумцизијата за други сексуално-преносливи болести, како што се херпес симплекс тип 2, сифилис или гонореа,.

Пренесувањето на инфекцијата со ХИВ-1 бара контакт со крв, млеко, сперма или вагинална течност од инфицирано лице. Истражувачите и медицинските лица кои преземаат разумни превентивни мерки имаат мошне ниска инциденција на СИДА и покрај повторувачките контакти со заразени материјали. Ризикот од пренесување на инфекцијата со ХИВ може да се намали со прости превентивни мерки, во кои спаѓа и избегнување на процедури кои може да доведат до изложување на испукана или повредена кожа или било која мукозна мембрана на крв од потенцијално инфицирано лице. Строго се препорачува користење на кондом за време на секс со лица со непознат инфективен статус. Еден фактор кој придонесува за ширење на ХИВ е долгиот период по инфекцијата во кој може да не се појават клинички знаци, но инфицираното лице може да зарази други лица. Според тоа, универзалната употреба на превентивни мерки е значајна секогаш и секаде кога не се знае инфективниот статус.

Од ова испитување, произлегува дека една доза на невирапин е најефикасниот начин досега откриен, за спречување на пренесувањето на инфекцијата со ХИВ-1 од мајката на детето, - дури и подобар од подолгите и поскапи режими кои во моментов се користат во развиените земји. Овие резултати мора да се потврдат и мора да се истражи можноста за постоење неочекувани несакани ефекти. Сепак, овој резултат дава надеж за намалување на инфиекциите на новороденчиња во деловите од светот каде е ограничен пристапот до медицинската нега.

Како што е споменато претходно, истражувањето било направено да се прилагоди на реалноста за здравствената грижа на мајките во Кампала, па совршено се вклопува во овој систем. Употребата на невирапинот има и други значајни предности, каде спаѓаат стабилноста на лекот на собна температура и разумната цена. Дозата на невирапинот која се внесува кај мајката и новороденчето чини околу 200 пати помалку од

КЛИНИЧКИ ФОКУС

Превенција од инфекција со ХИВ на новороденче со против-ретровирусен третман

Пресметано е дека, во 2005 година, скоро 700000 бебиња биле заразени со ХИВ преку пренесување од мајка на бебе. Поголемиот број од овие инфекции се јавуваат како резултат од пренесувањето на вирусот од мајките кои се заразени со ХИВ за време на раѓањето на детето или со пренесување на вирусот од млекото за време на доењето. Инциденцата на инфекцијата стекната од мајката може да се намали со лекување на инфицираната мајка со третман со зидовудин (АЗТ) неколку месеци пред раѓањето и лекување на новороденчето 6 недели по раѓањето. Овој режим на третман широко се користи во САД. Сепак, поголемиот дел од новороденчињата со инфекции со ХИВ низ светот се наоѓаат во делот на Субсахарска Африка и во други помалку развиени области, каде цената и тајмингот за третманот со зидовудин го прават непрактично решение за проблемот со пренесувањето на ХИВ од мајка на бебе.

Клиничко испитување од 1999 година, на против-ретровирусниот лек невирапин (Вирамун) влеа надеж за попрактичен начин на борба против инфицирањето на новороденчиња со ХИВ во услови за клиничката нега кои не се идеални. Испитувањето се случувало во болницата Мулаго во градот Кампала, Уганда и биле опфатени 645 мајки со позитивен тест за инфекција со ХИВ. Скоро половина од мајките примиле една доза на невирапин на почетокот од испитувањето, а нивните бебиња примиле една доза 24 до 30 часа по раѓањето. Дозата и времето биле диктирани од вообичаеното брзо отпуштање од болница. Контролната група во испитувањето вклучувала подолг третман со зидовудин, но лошите услови не дозволиле вистинско пресликување на целиот третман кој се спроведувал на заразените мајки во САД. Лицата од ова испитување биле следени најмалку 18 месеци, вклучувајќи и 302 новороденчиња кои се лекувале со зидовудин и 308 кои се лекувале со невирапин. Во ова испитување, деведесет и девет проценти од новороденчињата биле доени со млеко од заразени мајки, така што тестот опфатил значителен интервал во кој новороденчињата биле изложени на ризик од инфекција.

Новороденчињата биле тестирани за инфекција со ХИВ-1 неколку пати по раѓањето, па сè до возраст на 18 месеци, со употреба на тестот РНК ПВР, , а подоцна и за постоење на противтела кон ХИВ-1 (кога противтелата од мајката веќе нема да се мешаат во овој тест). Конечната стапка на инфекција за новороденчињата кои се родени од нелекувани мајки се проценува дека е околу 37%. Кога се користи целосниот третман со зидовудин, стапката паѓа на 20%. Мошне надежните резултати од испитувањето во Уганда, откриле инфекција кај само 13,5% од бебињата во групата на невирапинот, кога биле тестирани на возраст од 16 недели. Од оние лица кои примиле краток третман на зидовудин, 22,1% биле заразени на оваа возраст, во споредба со 40,2% кај малата група кои добиле плацебо. По 18-месечна контрола на групата, биле заразени 15,7% од лицата кои примиле невирапин, додека 25,8% од оние лица кои примиле зидовудин биле позитивни за ХИВ-1.

Од ова испитување, произлегува дека една доза на невирапин е најефикасниот начин досега откриен, за спречување на пренесувањето на инфекцијата со ХИВ-1 од мајката на детето, дури и подобар од подолгите и поскапи режими кои во моментов се користат во развиените земји. Овие резултати мора да се потврдат и мора да се истражи можноста за постоење неочекувани несакани ефекти. Сепак, овој резултат дава надеж за намалување на инфекциите на новороденчиња во деловите од светот каде е ограничен пристапот до медицинската нега.

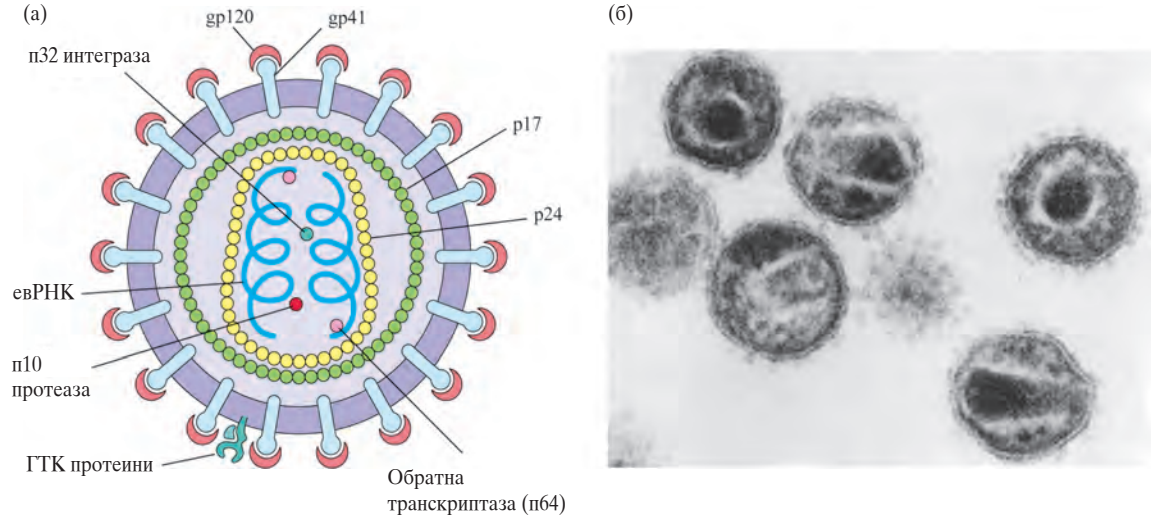
Како што е споменато претходно, истражувањето било направено да се прилагоди на реалноста за здравствената грижа на мајките во Кампала, па совршено се вклопува во овој систем. Употребата на невирапинот има и други значајни предности, каде спаѓаат стабилноста на лекот на собна температура и разумната цена. Дозата на невирапинот која се внесува кај мајката и новороденчето чини околу 200 пати помалку од режимот со зидовудин кој во моментов се употребува во САД. Всушност, третманот е доволно евтин за да покаже дека може да биде рентабилен за лекување на сите мајки за време на раѓањето во оние области во светот каде стапките на инфекција се високи, бидејќи третманот со невирапин чини помалку од тестовите за одредување на инфекција со ХИВ. Очигледно, таквата стратегија мора внимателно да се обмисли, имајќи ја предвид опасноста од долготрајните несакани ефекти и други неочекувани проблеми.



Мурал кој покажува мајка и дете, на надворешниот ѕид од комплексот на болницата Мулага во градот Кампала, Уганда, местото на клиничкото испитување кое покажува дека пренесувањето на ХИВ-1 од мајка на дете е значително намалено со употреба на навирапин. *[Сопственост на Thomas Quinn, Universiteti John Hopkins.]*

ДЕТАЛНА СЛИКА 20-9

Шематски приказ на напречен пресек на вирионот ХИВ.



Секој вирион прикажува 72 гликопротеиниски краци составени од гп120 и гп41. Молекулата гп41 претставува трансмембранска молекула која го поминува липидниот дво-слој на вирусната обвивка. Гп120 се поврзува со гп41 и служи како вирусен рецептор за КД4 во клетките на домаќинот. Вирусната обвивка потекнува од клетките на домаќинот и содржи одредени протеини од мембраната на клетките од домаќинот, вклучувајќи ги ГТК молекулите од класа 1 и 2. Во обвивката се наоѓа вирусното јадро, или нуклеокапсидот, кој вклучува слој од протеин наречен п17 и внатрешен слој од протеин наречен п24. Геномот на ХИВ се состои од две копии на едно-верижна РНК, кои се поврзани со две молекули на спротивна трнаскриптаза (п64) и нуклеоидни протеини п10, протеаза, и п32м интеграза. (б) Електронска микрографија на вирионот на ХИВ, зголемена 200000 пати. Гликопротеинските краци едвај се видливи како „јазли“ кои се протегаат од периферијата на секој вирион. [Дел а адаптиран од *B. M. Peterlin и P. A. Luciw,1988, AIDS* ***2:*** *529; дел б од micrograph by Hans Geldenblom of the Institutite Robert Koch (Berlin), in R. C. Gallo and L. Montagnier, 1988,* Scientific *American* ***259*** *(6):41.]*

режимот со зидовудин кој во моментов се употребува во САД. Всушност, тратманот е доволно евтин за да покаже дека може да биде рентабилен за лекување на сите мајки за време на раѓањето во оние области во светот каде стапките на инфекција се високи, бидејќи третманот со невирапин чини помалку од тестовите за одредување на инфекција со ХИВ. Очигледно, таквата стратегија мора внимателно да се обмисли, имајќи ја предвид опасноста од долготрајните несакани ефекти и други неочекувани проблеми.

Епидемијата на СИДА беше еден вид отрезнување бидејќи дојде во време кога голем број луѓе веруваа дека инфекциските болести повеќе не претставуваат сериозна закана за луѓето во САД и другите индустриски земји. Вакцините и антибиотиците ги контролираа повеќето сериозни инфективни агенси. Ерадикацијата на големите сипаници низ светот беше на големо прославувано, а полио попушташе пред широката употреба на вакцините, овие болести се сметаа за пречки на патот за отстранување на повеќето инфективни болести. Епидемијата на СИДА ја наруши оваа благосостојба и поттикна масивен напор за борба против ова болест. Покрај тоа, имунонедостатокот која ја карактеризира СИДАта овозможи повторна појава на други инфективни болести, како што е туберкулозата, која го има потенцијалот да се шири помеѓу население кое не е заразено со ХИВ.

Ретровирусот ХИВ-1 е предизвикувачкиот агенс на СИДА

Неколку години по потврдувањето на СИДАта како инфективна болест, беше откриен и карактеризиран предизвикувачкиот агенс со работа во лабораториите на Лук Монтањие во Париз и Роберт Гало во Бетесда (слика 20-9). Овој синдром на имунонедостаток во тоа време беше нов по тоа што типот на вирусот кој го предизикува е **ретровирус**. Ретровирусите, нивната генска информација ја носат во форма на РНК. Кога вирусот навлегува во клетката, РНК одново се препишува во ДНК преку ензим кој е кодиран од страна на вирусот, обратна транскриптаза (ОТ). Како што кажува името, ОТ го пренасочува нормалниот процес на препишување и прави

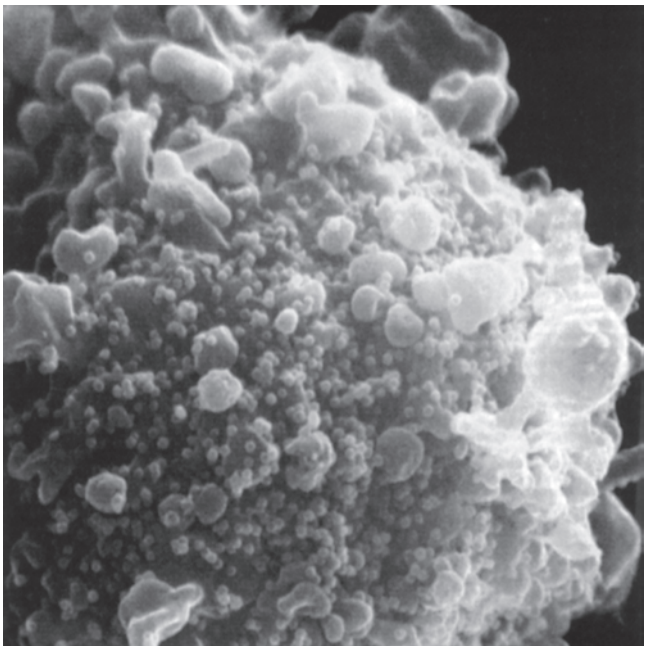
копија на ДНК од вирусниот геном со РНК. Оваа копија, која се нарекува **провирус**, се вклучува во клеточниот геном и се реплицира заедно со ДНК од клетката. Кога провирусот се прикажува за да формира нови виріони, клетката се разградува. Алтернативно, провирусот може да остане латентен во клетката додека некој регулаторен сигнал не го започне процесот на прикажување.

Само уште еден друг хуман ретровирус, човечкиот Т-клеточен лимфотропен вирус 1, или ХТЛВ-1, бил објаснет пред ХИВ-1. Овој ретровирус е ендемичен во јужниот дел од Јапонија и во Карибите. Иако повеќето лица кои се заразени со ХТЛВ-1 не прикажуваат клинички знаци на болест, мал процент од нив добиваат сериозни болести, или адолесцентна Т-клеточна леукемија, која е исцрпувачка и обично фатална, или инвалидитетно прогресивно невролошко нарушување наречено миелопатија поврзана со ХТЛВ-1 (или, во првите извештаи, тропска спастична парапареза). Иако споредбите на нивните геномски секвенци открија дека ХИВ-1 и не е тесно поврзан со ХТЛВ-1, сличностите во вкупните особини доведоа до тоа, во првите извештаи за СИДАта да се употребува името ХТЛВ-3. Исто така, постои и поврзан хуман вирус наречен ХИВ-2, кој е помалку патоген за луѓето од ХИВ-1. ХИВ-2 е сличен со вирусите кои се изолирани од мајмуни, тој инфицира одредени нечовечки цицачи кои не се инфицираат со ХИВ-1.

Кај нечовечки цицачи, пронајдени се вируси кои се поврзани со ХИВ-1. Овие вируси, варијанти на вирусот на имунонедостаток кај мајмуните, или СИВ, предизвикуваат имунонедостаточна болест кај одредени инфицирани мајмуни. Обично, СИВ соевите не предизвикуваат болест кај нивниот домаќин, но кога ќе влезат во друг вид предизвикуваат имунонедостаток кој е сличен на СИДА. На пример, вирусот од Африканските зелени мајмуни ($СИВ^{agm}$) е присутен во висок процент кај здравите Африкански зелени мајмуни во дивината. Сепак, кога $СИВ^{agm}$ ќе се внесе кај макаки, предизвикува тежок, често фатален имунонедостаток.

Пријавен е одреден број на други животински ретровируси кои повеќе или помалку се слични на ХИВ-1. Тука спаѓаат вирусите на имунонедостаток кај мачките и говедата и вирусот со леукемија кај глувците. Проучувањето на овие животински вируси даде информации за општата природа на функционирање на ретровирусите, но не можат да се добијат специфични информации за ХИВ-1 со инфицирање на животните, бидејќи ХИВ-1 не се размножува во нив. Само шимпанзото може да се инфицира со ХИВ-1 во степен кој е доволен за употреба во клиничките испитувања, но заразените шимпанза ретко добиваат СИДА, што ја ограничува вредноста на овој модел за проучување на вирусната патогенеза. Понатаму, бројот на достапни шимпанза за таквите проучувања е доста низок, а исто така, цената и етичките проблеми кои се вклучени во експериментите со шимпанзата спречуваат широка употреба на овој модел за инфекција. Глувци со ТКИН (види горе) кои се модифицирани со пресадување на хумано лимфоидно ткиво за инфекција со ХИВ-1 е корисен за одредени проучувања на инфекцијата со ХИВ-1, особено при создавањето на лекови за борба против размножувањето на вирусите.

Причините за ограниченият број на домаќини за ХИВ-1 не го вклучуваат само постоењето на рецептори на површината на клетките кои се потребни за влез на вирусот во клетката на домаќинот, туку и зависноста на вирусот од факторите на клетката од домаќинот за рани процеси во процесот на размножување, како што се препишувањето и прекројувањето на вирусните пораки. На пример, клетките од глушец кои се трансфектирани со гени кои посредуваат при прикажување



СЛИКА 20-10 Штом се активира ХИВ провирусот, на површината од инфицираната Т клетка може да се видат пупки кои претставуваат ново-создадени вирусни честици. Големото клеточно оштетување кое резултира од пупењето и ослободувањето на виріони води до смрт на заразените клетки. *[*Сопственост на *R. C. Gallo, 1988, Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes 1:521.]*

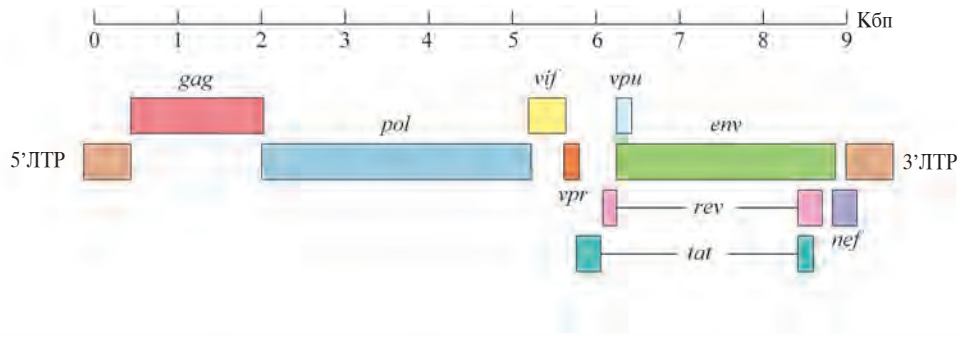
на човечките рецептори за ХИВ-1 нема да го поддржат размножувањето на ХИВ-1, бидејќи имаат недостаток на други фактори од домаќинот. Наспроти тоа, клетките од кртовите или зајаците кои се трансфектрани за да ги прикажуваат човечките рецептори го поддржуваат нивото на размножување на вирусот, слично како кај клетките од домаќинот. Покрај одредениот напредок во разбирањето на факторите кои се потребни за инфекција со ХИВ-1, не постои јасен кандидат за животински модел за инфекција со ХИВ-1. Недостатокот на соодветен модел со инфекцијата ги попречува напорите за создавање лекови и вакцини за борба против СИДАта.

Ин витро проучувањата го расветлија циклусот на размножување на ХИВ-1

Вирусот на СИДА може да инфицира човечки Т-клетки во култура, при што самиот се размножува и во голем број случаи предизвикува разградување на клетката на домаќинот (слика 20-10). Од ин витро проучувањата, доста се дозна за животниот циклус на ХИВ-1. Карактеризирани се различни протеини кои се кодирани од вирусниот геном и позната е функцијата на поглемиот дел од нив (слика 20-11).

Првиот чекор во инфекцијата со ХИВ е вирусното прикачување и влез во целната клетка. ХИВ-1 ги инфицира Т-клетките кои го имаат противгенот КД4 врз нивната површина; покрај тоа, одредени видови на ХИВ можат да инфицираат моноцити и други клетки кои го имаат КД4 врз

(а)



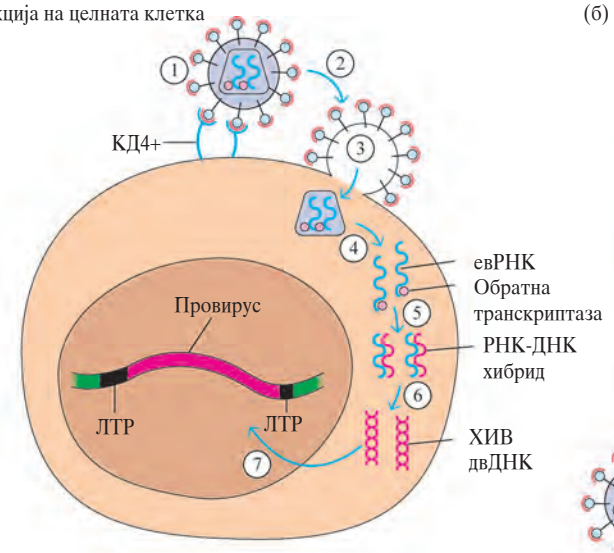
(б)

Ген	Протеински продукт	Функција на кодираните протеини
gag	53-кДа претходни	*Нуклеокапсидни протеини*
	p17	Формира надворешен слој на јадрениот протеин
	p24	Формира внатрешен слој на јадрениот протеин
	p9	Претставува дел на нуклеидното јадро
	p7	Се врзува директно за геномската ДНК
env	160 кДа претходник	*Гликопротеини од обвивката*
	gp41	Претставува трансмембрански протеин
		кој е поврзан со гп120, потребен за фузија
	gp120	Излегува од обвивката и се врзува за КД4
pol	Претходник	*Ензими*
	p64	Има спротивна препишувачка и рибонуклеазна активност
	p51	Има спротивна препишувачка активност
	p10	Претставува протеаза која ги разложува претходниците на *гаг*
	p32	Претставува интеграза
		Регулаторни протеини
tat	p14	Силно го активира препишувањето на провирусната ДНК
rev	p19	Овозможува изнесување на непрекроени и единечно прекроени мРНК од јадрото
		Помагачки протеини
nef	p27	Го намалува прикажувањето на ГТК од класа 1 и КД4 од клетката на домаќинот
vpu	p16	Потребен е за ефикасно вирусно склопување и пупење. Поттикнува вонклеточно ослободување на вирусни честици, го разложува КД4 во ЕР
vif	p23	Поттикнува зреење и инфективност на вирусната честица
vpr	p15	Поттикнува јадрена локализација на пред-интеграцискиот комплекс и попречува клеточно делење

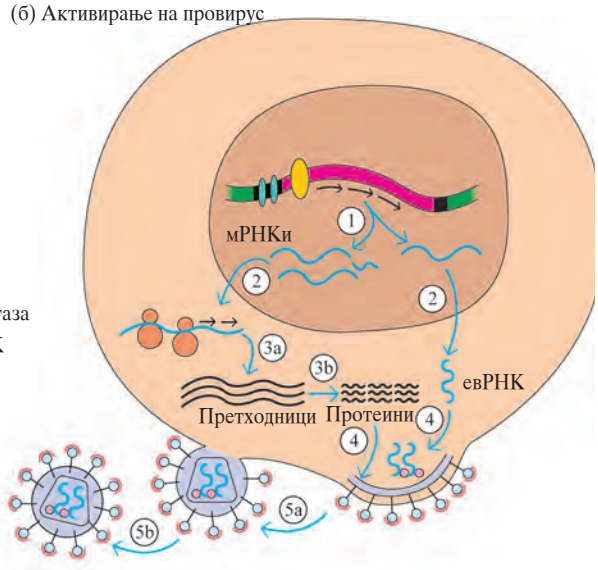
СЛИКА 20-11 Генетската организација на ХИВ-1 и (а) функциите на кодираните протеини (б). Трите главни гени, - *гаг, пол* и *енв,* - кодираат полипротеински претходници кои се разложуваат за да ги дадат нуклеокапсидните јадрени протеини, ензимите кои се потребни за размножување и јадредените протеини-од обвивката. Од останатите шест гени, три (*тат, рев* и *неф*) кодираат регулаторни протеини кои играат голема улога во контролирањето на прикажувањето, два (*виф* и *впу*) кодираат протеини кои се потребни за созревање на вирионите и еден (*впр*) кодира слаб активатор на препишувањето. 5' долгиот повторувачки регион (ЛТР) содржи секвенци за кои се врзуваат различни регулаторни протеини. Организацијата на геномите на ХИВ-2 и СИВ е доста слична, освен што, кај двата вируси, генот *впу* е заменет со *впц*.

ДЕТАЛНА СЛИКА 20-12:
Инфекција со ХИВ на целните клетки и активирање на провирусот.

(а) Инфекција на целната клетка



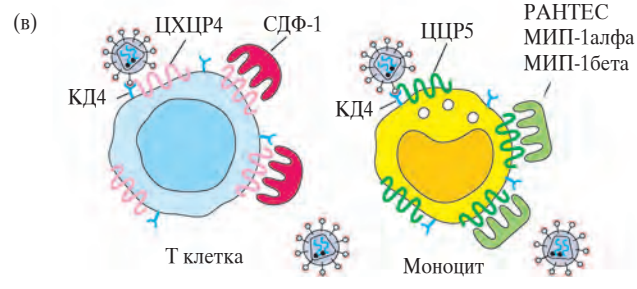
(б) Активирање на провирус



1. ХИВ гп120 се врзува за КД4 на целната клетка
2. Фузогениот домен на гп41 и ЦХЦР4, рецептор поврзан со протеинот Г на мембраната од целната клетка, посредуваат во фузијата.
3. Нуклеокапсидот кој содржи вирусен геном и ензими навлегува во клетките.
4. Вирусниот геном и ензимите се ослободуваат по отстранувањето на јадрените протеини.
5. Вирусните спротивни транскриптази катализираат спротивно препишување на евРНК, со што се создаваат РНК-ДНК хибриди.
6. Оригиналната РНК постепено се разложува од рибонуклеазата Х, по што следи синтеза на втората верига на ДНК за да се добие ХИВ двДНК.
7. Вирусната двДНК потоа се пренесува во јадрото и со помош на вирусниот интегразен ензим, се вклучува во хромозомската ДНК од домаќинот.

1. Препишувачките фактори стимулираат препишување на провирусната ДНК во геномска евРНК и по преработувањето, создавање на повеќе мРНК.
2. Вирусната РНК се пренесува во цитоплазмата.
3а. Рибозомите од клетката на домаќинот катализираат синтеза на претходниците на вирусните протеини.
3б. Вирусната протеаза ги разложува претходниците во вирусни протеини
4. евРНК и протеините од ХИВ се склопуваат под мембраната на клетката од домаќинот, каде се вклучуваат гп41 и гп120.
5а. Мембраната се пупи, со што се создава вирусната обвивка.
5б. Ослободените вирусни честици созреваат; вклучените протеини-претходници се разложуваат од вирусната протеаза која е присутна во вирусните честици.

(в)



(а) По влезот на ХИВ во клетките и создавањето на двДНК, интегрирањето на вирусната ДНК во геномот од клетката на домаќинот го создава провирусот. (б) Провирусот останува латентен додека некои процеси во инфицираната клетка не поттикнат негово активирање, што води до создавање и ослободување на вирусните честици. (в) Иако КД4 се врзува за гликопротеин од обвивката на ХИВ-1, за влез на вирусот и инфекција потребен е и втор рецептор. Т-клеточно-тропните видови на ХИВ-1 го користат корецепторот ЦХЦР4, додека макрофагно-тропните видови го користат ЦЦР5. Двата се рецептори за хемокините, а нивните вообичаени лиганди може да ја блокираат ХИВ инфекција на клетката.

нивната површина. Изборот на КД4⁺клетките произлегува заради меѓудејството со висок афинитет помеѓу протеин од обвивката (оклоп, или обв) на ХИВ-1 и КД4 од површината на клетката. Иако вирусот се врзува за КД4 на површината од клетката, самото меѓудејство не е доволно за влез и продуктивна инфекција. Прикажувањето на други молекули од површината на клетките, корецептори кои се присутни на Т-клетките и моноцитите, се потребни за инфекција со ХИВ-1. Инфекцијата на Т клетката, која е прикажана на слика 20-12а, е помогната од хемокинскиот рецептор ЦЦЦР4. Аналоген рецептор кој е наречен ЦЦР5 функционира кај моноцитит или макрофагите (види поглавје 13).

По навлегувањето на вирусот во клетката, РНК геномот од вирусот одново се препишува и кДНК копијата (провирусот) се вклучува во геномот на домаќинот. Интегрираниот провирус се препишува, а различните вирусни гласнички РНК молекули се прекројуваат и се преведуваат во протеини, кои заедно со целосна нова копија на РНК геномот се користат за формирање нови вирусни честици (слика 20-12б). Таг протеините од вирусот со вирусна протеаза се разложуваат на форми од кои се создава јадрениот капсид (види слика 20-10) во зрела инфективна вирус-на честица. Како што ќе биде објаснето подоцна, различните фази во овој процес на вирусно размножување, овозможуваат цели за против-ретровирусните лекови.

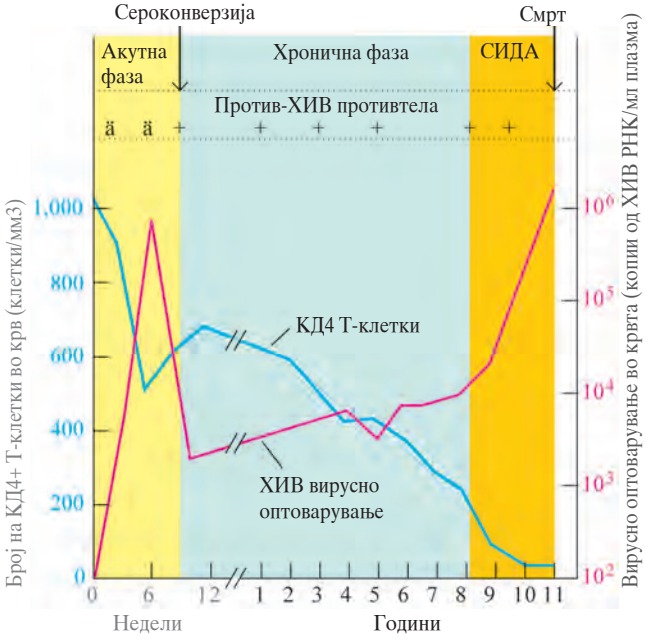
Откритието дека ЦХЦР4 и ЦЦР5 служат како корецептори за ХИВ-1 во Т-клетките и макрофагите соодветно, објаснува зошто одредени видови на ХИВ-1 имаат поголема тенденција за инфицирање на Т-клетките (Т тропни видови) додека други имаат тенденција за макрофаги (М-тропни видови). Т-тропните видови користат ЦХЦР4, додека М-тропните видови користат ЦЦР5. Употребата на различни корецептори исто така помогна да се објаснат различните улоги на цитокините и хемокините во размножувањето на вирусите. Од ин витро проучувањата беше познато дека одредени хемокини негативно влијаат врз размножувањето на вирусите, додека одредени провоспалителни цитокини имаат позитивно влијание. Двата корецептори на ХИВ, ЦЦР5 и ЦХЦР4, функционираат како рецептори за хемокини (види табела 13-2). Бидејќи рецепторите не можат истовремено да се врзат за ХИВ-1 и за нивниот хемокински лиганд, доаѓа до натпревар за рецепторот помеѓу вирусот и нормалниот лиганд (слика 20-12в), а хемокинот може да го блокира навлегувањето на вирусот во клетката на домаќинот. Додека хемокините се натпреваруваат со ХИВ за врзувањето на корецепторот, при што се попречува навлегувањето на вирусот, провоспалителните цитокини поттикнуваат поголемо лачење на хемокинските рецептори на површината на клетката, на тој начин клетките стануваат почувствителни кон вирусно навлегување.

Инфекцијата на Т-клетките со ХИВ-1 со одредени соеви на вирус води до создавање на гигантски клетки, или синцициуми. Тие се фомираат со фузија на група на клетки предизвикана од меѓудејството на вирусниот протеин гп120 од обвивката на површината од заразените клетки со КД4 и корецепторите врз површината од други клетки, независно дали се заразени или не. По почетното врзување, дејството на другите клеточно-атхезивни молекули ги поврзува клетките во голема повеќејадрена маса со карактеристична фузирана мембрана во вид на балон која со текот на времето ќе експлодира. Создавањето на синцициумите може да биде блокирано со противтела против одредени епитопи од КД4 молекулата, од растворливи форми на молекулата КД4 (добиени со ин витро прикажување на КД4 генот, кој е генски модифициран за да има недостаток на трансмембрански дел) и од противтела против клеточни атхезивни молекули. Поединиите изолирани форми на ХИВ-1 се разликуваат по нивната способност да поттикнуваат создавање на синцициуми.

Изолати на ХИВ-1 од различни извори порано се класифицираа како форми кои поттикнуваат создавање синцициуми (СИ) или форми кои не поттикнуваат создавање синцициуми (НСИ). Во повеќето случаи, овие разлики корелираат со способноста на вирусот да инфицира Т-клетки или макрофаги: Т-тропните видови се СИ, додека М-тропните видови се НСИ. Поновите класификации на ХИВ-1 се базираат врз тоа кој рецептор го користи вирусот; постои добра, но не апсолутна врска помеѓу употребата на ЦХЦР4, кој е присутен врз Т-клетките и способноста за поттикнување создавање на синцициуми. НСИ видовите користат ЦЦР5, кој е присутен врз моноцитите. Проучувања на вирусниот протеин од обвивката гп120, утврдиле постоење на подрачје кое се нарекува В3-петелка, кое игра улога во изборот на рецепторите кои ги користи вирусот. Студија на Марк Голдсмит и Брус Чесборо и нивните колеги укажа дека една разлика во само една аминокиселина во ова подрачје на гп120 може да биде доволна за да одреди кој рецептор се користи.

Инфекцијата со ХИВ-1 води до опортунистички инфекции

Изолирањето на ХИВ-1 и неговото култивирање ин витро, овозможи прочистување на вирусните протеини и развој на



СЛИКА 20-13 Серолошки профил на инфекцијата со ХИВ покажува три фази во процесот на инфекција. Набрзо по инфекцијата, во серумот е присутна вирусната РНК. Сепак, инфекцијата со ХИВ најчесто се забележува со присуството на противтела против-ХИВ по серо-конверзијата, која обично настанува неколку месеци по инфекцијата. Клиничките симптоми кои укажуваат на СИДА, во основа, не се појавуваат најмалку 8 години по инфекцијата, но овој интервал е променлив. Почетокот на клиничката СИДА обично е сигнализиран од намалувањето на бројот на Т-клетките и зголемувањето на вирусниот полнеж. [*Прилагодено од A. Fauci et al., 1996, Annals of Internal Medicine* ***124:****654.*]

ТАБЕЛА 20-3 Клиничка дијагноза на лица кои се заразени со ХИВ

	Клинички категории[1]		
Број на КД4+ Т-клетки	**А**	**Б**	**Ц**
≥ 500/µl	А1	Б1	**Ц1**
200–499/µl	А2	Б2	**Ц2**
< 200/µl	**А3**	**Б3**	**Ц3**

Класификикација на индикатори за СИДА

Категорија А

Асимптоматични: нема симптоми во времето на инфекцијата со ХИВ
Акутна првична инфекција: болест во вид на гландуларна болест слична на треска која трае неколку недели во времето на инфекцијата
Перзистентна генерализирана лимфаденопатија (ПГЛ): зголемување на лимфните јазли кое трае 3 или повеќе месеци без доказ за инфекција

Категорија Б

Бациларна ангиоматоза
Кандидијаза, орофарингиеална (дрозд)
Кандидијаза, вулвовагинална: персистентна, честа или со слаб одговор на терапијата
Цервикална дисплазија (средно тешка или тешка)/цервикален карцином ин ситу
Општи симптоми како грозница (> 38,5°Ц) или дијареја која трае > 1 месец
Леукоплакија, орална
Херпес зостер (херпес) кој вклучува најмалку две различни епизоди или повеќе од еден дерматом
Идиопатична тромбоцитопенична пурпура
Листериоза
Воспалителни болести на карлицата, посебно тубо-оваријални абсцеси
Периферна невропатија

Категорија Ц

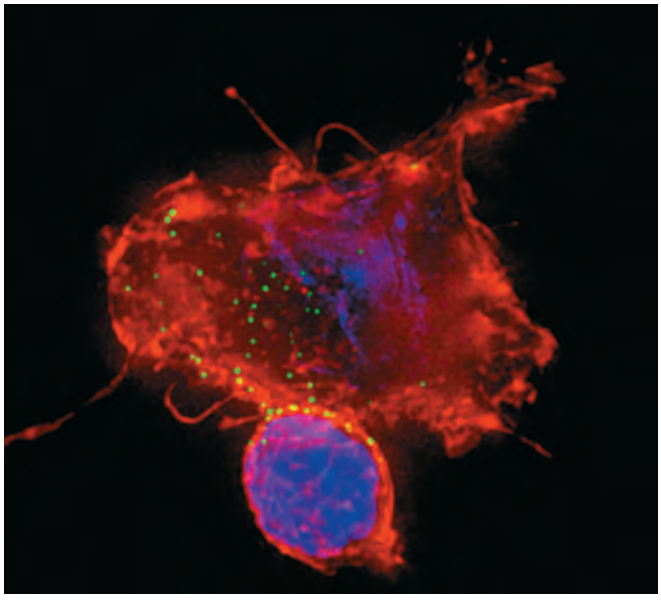
Кандидијаза на бронхите, трахеата или белите дробови
Кандидијаза, езофагеална
Цервикален рак (инвазивен)
Кокцидиоидомикоза, раширена или вон-белодробна
Криптококоза, вон-белодробна
Криптоспоридиоза, хронична тенкоцревна (траење > 1 месец)
Цитомегаловирусна болест (која не се однесува на црниот дроб, слезината или лимфните јазлите)
Цитомегаловирусен ретинитис (со ослепување)
Енцефалопатија, поврзана со ХИВ
Херпес симплекс: хроничен чир (траење > 1 месец), бронхитис, пневмонитис или езофагитис
Хистоплазмоза, раширена или вон-белодробна
Изоспоријаза, хронична тенкоцревна (траење > 1 месец)
Сарком на Капоши
Лимфо на Буркит
Лимфом, имунобластичен
Лимфом, првичен на мозокот
Комплекс *Mycobacterium avium* или *M. Kansasii*, раширени или вон-белодробни
Пневмонија предизвикана од pneumocystis carinii
Прогресивна повеќефокална леукоенцефалопатија
Салмонелна септикемија (повторувачка)
Токсоплазмоза на мозокот
Исцрпувачки синдром поради ХИВ

1Сите категории кои се прикажани со здебелени букви се сметаат за СИДА. За дијагнозата од категорија А, не може да има присуство на состојби од категориите Б и Ц. За категорија Б, не може да има присуство на состојби од категорија Ц.
ИЗВОР: CDC guidelines for AIDS diagnosis, 1993 revision.

тестови за инфекција со вирусот. Најчесто употребуван тест е тестот за присуство на противтела кои се насочени против протеините на ХИВ-1. Тие, во основа, се појавуваат во серумот на заразените лица три месеца по појавата на инфекцијата. Кога ќе се појават противтелата, се вели дека кај лицето се случила сероконверзија или дека е серопозитивно на ХИВ-1. Иако прецизното развивање на инфекцијата со ХИВ-1 и почетокот на болеста значително варираат кај различни лица, може да се направи општа шема за развитокот на СИДАта (слика 20-13). Инфекцијата со ХИВ-1 започнува без присуство на видливи противтела против-ХИВ-1 и се развива до целосен синдром на СИДА. Дијагнозата на СИДА вклучува доказ за инфекцијата со ХИВ-1 (присуството на противтелата или вирусната РНК во крвта), значително намалување на бројот на КД4$^+$ Т-клетките (<200 клетки/mm^3), ослабени или отсутни реакции на преосетливост од задоцнет тип и појава на опортунистички инфекции (табела 20-3). Пациентите со СИДА обично им подлегнуваат на туберколозата, пневмонијата, тешката исцрпувачка дијареја или разните малигани болести. Времето помеѓу добивањето на инфекцијата со вирусот и смртта од имунонедостаток во просек е од 9 до 12 години. Во периодот меѓу инфекцијата и тешката болест, може да се појават мал број на симптоми. Првичната инфекција кај мал број на пациенти може да биде симптоматична со треска, лимфаденопатија (отечени лимфни јазли) и исип, но овие симптоми, во основа, не траат повеќе од неколку недели. Најчесто, првичната инфекција поминува незабележано, а по неа следи долга хронична фаза, во која инфицираното лице покажува мал број или не покажува јасни знаци на инфекција со ХИВ-1.

Првата видлива индикација за СИДА може да биде опортунистичка инфекција со габата *Candida albicans*, која предизвикува појава на рани во устата (дрозд) и, кај жените, вулвовагинална габична инфекција која е отпорна на лекување. Постојана сува кашлица која е предизвикана од инфекција со *P. carinii* на белите дробови исто така може да претставува ран индикатор за болеста. Порастот на циркулирачкиот ХИВ-1 во плазмата и придружниот пад на бројот на КД4$^+$ Т-клетките обично го најавува првото појавување на симптомите. Утврдена е одредена врска помеѓу бројот на КД4$^+$ Т-клетките и типот на инфекцијата која постои кај пациентот (види табела 20-3). Имунолозите се многу заинтересирани за разјаснување на процесите кои се случуваат меѓу првото соочување со ХИВ-1 и падот на имуниот систем на домаќинот. Сознавањето како имуниот систем го контролира ХИВ-1 во хроничната фаза може да доведе до развивање на ефикасни терапевтски и превентивни стратегии.

Истражувањето на процесите кои се во основата на развојот на инфекцијата со ХИВ до СИДА открива динамична интеракција помеѓу вирусот и имуниот систем. Почетниот процес на инфекција предизвикува распространување на вирусот во лимфоидните органи и силен имун одговор. Еден од вообичаените начини на кои вирусот се раширува од првата точка на контакт со лимфоидните органи, каде може да стапи во контакт со активирани Т-клетки и да започне циклус на продуктивно размножување, веројатно ги вклучува стеблестите клетки. Стеблестите клетки може да го земат вирусот и да го однесат во областите богати со Т-клетки и да овозможат костимулација која е потребна за активирање на Т-клетките и нивно модифицирање во соодветен домаќин за инфекцијата со ХИВ-1. Директното набљудување на ХИВ-1 во областа на меѓудејството помеѓу Т-клетките и стеблестите клетки ја поддржува можноста дека овој механизам е одговорен за почетното ширење на ХИВ-1 по изложувањето (слика 20-14).

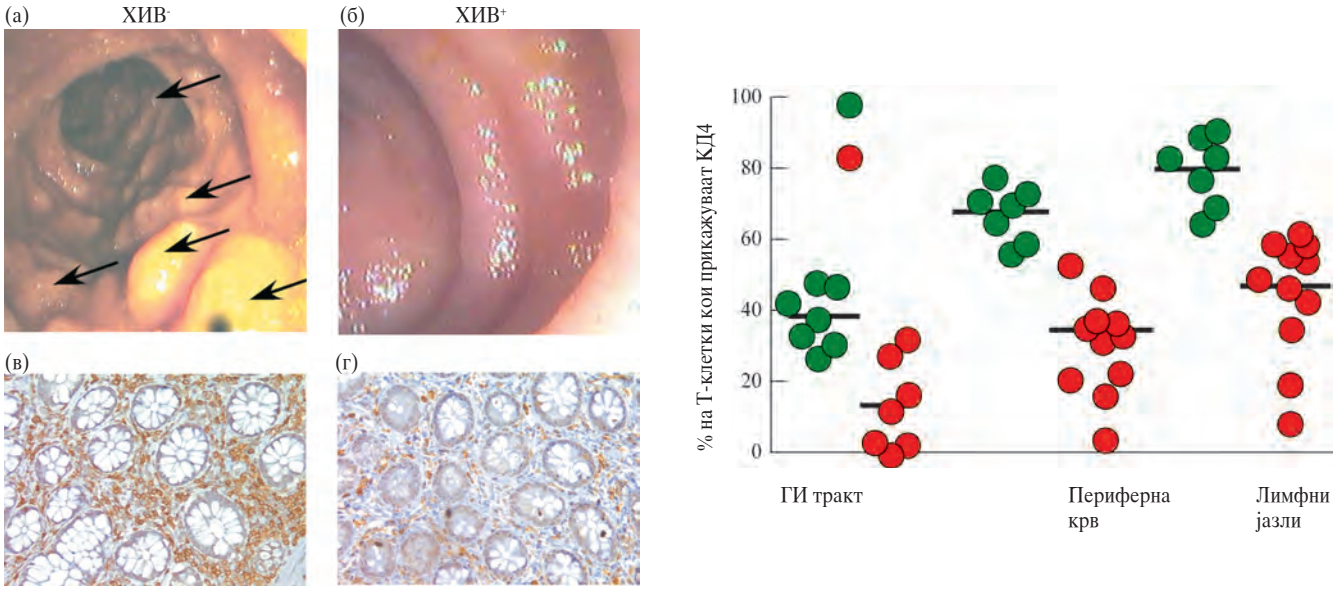


СЛИКА 20-14 Меѓудејство помеѓу стеблеста клетка и Т-клетка што го покажува преминот на ХИВ-1 (точките со зелена боја) помеѓу клетките. Забележете ги честиците кои се групираат на местото на контакт помеѓу големата стеблеста клетка и помалата Т-клетка. *[Сопственост на Thomas J. Hope, Northwestern University.]*

По изложувањето на лимфоидното ткиво на вирусот, имунот одговор кој ги вклучува противтелата и цитотоксичните КД8$^+$ Т лимфоцити го контролира размножувањето на вирусот. По почетниот замав со виремија (високи нивоа на вирус во циркулацијата), нивото на вирусот во циркулацијата постигнува стабилна состојба. Иако заразените лица во оваа фаза обично немаат клинички знаци за болеста, продолжува размножувањето на вирусот и тој може да се забележи во циркулацијата преку чувствителна ПВР анализа на вирусната РНК. Овие анализи кои се базираат на ПВР, а го мерат **вирусното оптоварување** (бројот на копии на вирусниот геном во плазмата), имаат големо значење во одредувањето на состојбата на пациентот како и неговата прогноза. Дури и кога нивото на вирусот во циркулацијата е стабилно, големо количество на вирус се создава во заразените КД4$^+$ Т-клетки; секој ден се ослободуваат околу 10^9 виріони и продолжуваат да инфицираат и уништуваат нови Т-клетки на домаќинот. Покрај оваа висока стапка на размножување, имуниот систем го контролира вирусот во оваа хронична фаза на инфекцијата, а нивото на вирусот во циркулацијата околу шест месеци по инфекцијата претставува добар предвидувач за текот на болеста. Ниски нивоа на вирусот во овој период се поврзуваат со подолгиот период во кој инфицираното лице нема да има опортунистичка инфекција. Но, во отсуство на третман, со текот на времето вирусот ги надминува имуните бариери на домаќинот, што резулира со пораст на вирусното оптоварување над стабилното ниво, намалување на бројот на КД4$^+$ Т-клетките, зачестени опорстунистички инфекции и последователна смрт на пациентот.

Иако вирусното оптоварување во плазмата останува прилично стабилно во периодот на хроничната инфекција со ХИВ, испитување на лимфните јазли и гастроинтестиналниот тракт откриваат различна слика. Фрагменти од јазлите добиени со биопсија од заразени лица покажуваат високи нивоа на заразени клетки во сите фази на инфекцијата; во голем број случаи, структурата на лимфниот јазол е целосно уништена од вирусот долго време пред вирусното оптоварување во плазмата да се зголеми над стабилното ниво. Најновите податоци од лабораторииите на Ешли Хас и Даниел Дуек покажуваат значително намалување на бројот на КД4$^+$ Т-клетките од гастроинтестиналниот тракт, лимфните јазли и периферната крв за време на хроничната фаза на инфекцијата (слика 20-15).

Намалувањето на бројот на КД4$^+$ Т-клетките е главниот белег на СИДА-та. За намалувањето на овие клетки кај пациентите, предложени се неколку објаснувања. Во раните испитувања, директната вирусна инфекција и уништувањето на Т-клетките КД4$^+$ беа отфрлени како главна причина, бидејќи не се сретнуваа голем број на циркулирачки Т-клетки кои се заразени со ХИВ, што се предвидуваше со овој модел. Најновите проучувања покажуваат дека причината за тешкото откривање на заразени клетки е тоа што ХИВ ги убива премногу брзо; периодот на полураспаѓање на активно инфицираната КД4$^+$ Т клетка е помалку од 1,5 дена. Помал број на КД4$^+$ Т-клетки се инфицирани, но не го размножуваат вирусот активно. Овие латентно заразени клетки опстојуваат подолго време, а интегрираната провирусна ДНК се реплицира при делбата на клетките заедно со клеточната ДНК. Проучувањата во кои вирусното оптоварување се намалува преку противретровирусна терапија покажуваат истовремен пораст на бројот на КД4$^+$ Т-клетките во периферната крв. Овие податоци



СЛИКА 20-15 Ендоскопски и хистолошки доказ за намалувањето на КД4⁺ Т-клетките во ГИ тракт кај пациенти со СИДА. Сликите (а) и (б) покажуваат тенкоцревен тракт на здраво лице и дел од биопсија на истата област (терминалнот илеум) со КД4⁺ Т-клетки, обоени со противтело (со боја на 'рѓа). Слична анализа на примероци од пациент со СИДА на сликите (в) и (г) покажува отсуство на здраво лимфоидно ткиво и разретчено боење на КД4⁺ Т-клетките. (е) Споредбата на бројот на КД4⁺ Т-клетките во примероците од ГИ тракт, периферната крв (ПК) и лимфните јазли на пациенти кои се позитивни или негативни за СИДА. *[Од J. M. Brenchley et al., 2004, Journal of Experimental Medicine **200:**749.]*

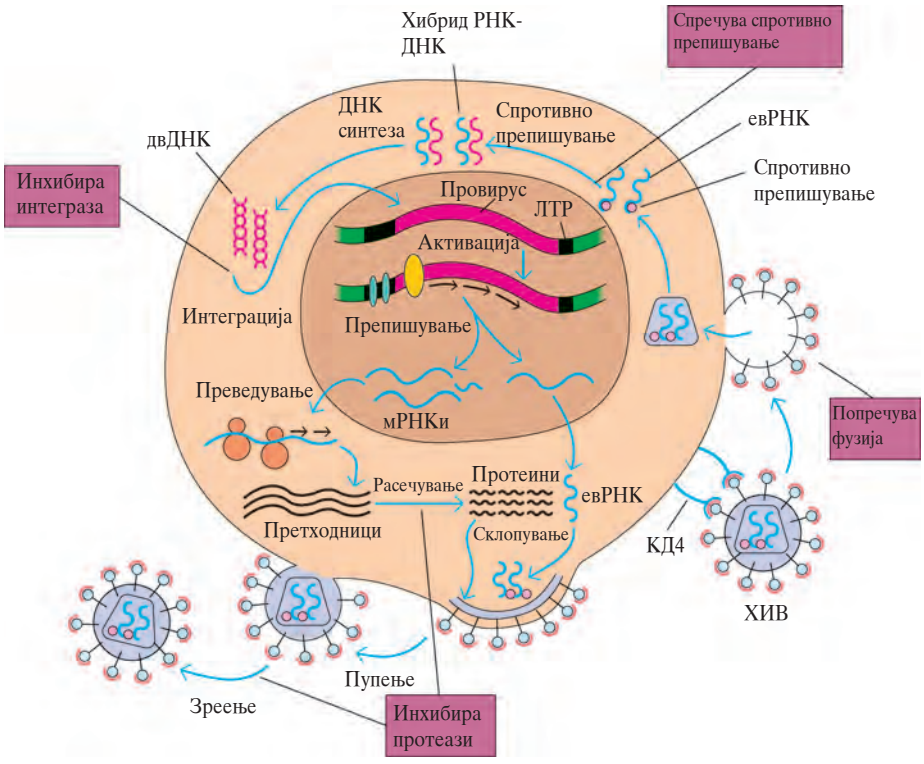
го поддржуваат моделот на динамично меѓудејство помеѓу вирусот и Т-клетките, со истовремено создавање високи нивоа на вируси и нагло намалување на заразените КД4⁺ Т-клетки. Иако другите механизми за намалување на бројот на КД4⁺ Т-клетките може да се разгледуваат, инфекцијата со ХИВ останува главен осомничен.

За време на развивањето до СИДА кај лицата кои се заразени со ХИВ, покрај намалувањето на бројот на КД4⁺ Т-клетките, може да се измерат и други имуни последици, меѓу кои спаѓа и намалувањето или отстуството на преосетливост од одложен тип против противгените на кои обично реагира лицето. Кај пациентите со СИДА, нивото на имуноглобулините во серумот, особено ИгГ и ИгА, покажува остар пораст. Овој пораст, кај лицата кои се заразени со ХИВ, може да се јави поради зголемените нивоа на суппопулација на Б-клетки со ниско прикажување на КД21 и засилено лачење на имуноглобулини. Оваа суппопулација слабо се размножува во одговор на Б-клеточни митогени. Клеточните параметри на имунот одговор, како што е одговорот со размножување против митогените, против противгените или против алопротивгените, покажуваат значително намалување. Во основа, лицата кои се заразени со ХИВ ја губат способноста да развијат Т-клеточни реакции во предвидлива секвенца: прво се губат реакциите против специфични противгени (на пример, вирусот на инфлуенца), потоа опаѓа одговорот против алопротивгените, а на крајот, повеќе не може да се забележи одговор против митогените како што се конканавалин А или фитохемаглутининот. На табела 20-4 се наведени одредени имуни абрномалности кај СИДА-та.

Лицата кои се заразени со ХИВ-1 често имаат откажување на функциите на централниот и периферниот нервен систем. Специфични вирусни ДНК и РНК секвенци се откриени со ХИВ-1 проби во мозокот кај деца и возрасни со СИДА, што укажува дека таму настанало размножување на вирусот. Квантитативна споредба на примероци од мозокот, лимфните јазли, слезината и белите дробови кај пациентите со СИДА и со прогресивна енцефалопатија, покажаа дека мозокот е тешко инфициран. Честа компликација во подоцните фази од инфекцијата со ХИВ е комплексот СИДА-деменција, невролошки синдром кој се карактеризира со абнормалности во препознавањето, моторната работа и однесувањето. Не се знае дали деменцијата кај СИДА-та и другите клинички и хистопатолошки ефекти, кои се гледаат кај централниот нервен систем на лицата заразени со ХИВ, претставуваат директно влијание на вирусните противгени на мозокот, последица на имуните реакции против вирусот, или пак резултат на инфекцијата со опортунистичките агенси.

Терапевтски агенси го спречуваат размножувањето на вирусот

Развој на вакцина за спречување на ширењето на СИДА-та е највисок приоритет на имунолозите, но исто така, многу важно е да се создадат лекови и терапии кои може да ги поправат



СЛИКА 20-16 Фази во циклусот на вирусно размножување кои овозможуваат цели за терапевтските противретровирусни лекови. Моментално, лиценцираните лекови со против-ХИВ активност, блокираат вирусно навлегување, при што го блокираат чекорот на спротивното препишување на вирусните РНК и кДНК, или ја попречуваат вирусната протеаза која е потребна за разградување на претходниците на вирусните протеини на протеини кои се потребни за склопување на нов вирион и довршување на неговото зреење во инфективен вирус.

ТАБЕЛА 20-4 Имуни ненормалности кои се поврзани со ХИВ инфекцијата

Фаза на инфекција	Типични абнормалности кои се забележуваат
	СТРУКТУРА НА ЛИМФЕН ЈАЗОЛ
Рана	Инфекција и уништување на стеблести клетки, одредено уништување на структурата
Доцна	Големо оштетување и некроза на ткивата, губење на фоликуларните стеблести клетки и зародишните центри, неспособност да се заробуваат противгени или да се поддржи активирањето на Т и Б-клетките
	Т ПОМОШНИЧКИ (Тпо) КЛЕТКИ
Рана	Нема ин витро одговор на размножување против специфичен противген
Доцна	Намалување на бројот на Тпо клетките и соодветните помагачки активности, нема одговор кон Т-клеточни митогени или алопротивгени.
	СОЗДАВАЊЕ ПРОТИВТЕЛА
Рана	Засилено создавање на неспецифични ИгГ и ИгА, но намалена синтеза на ИгМ
Доцна	Нема размножување на Б-клетките кои се специфични за ХИВ-1: нема забележливи противтела против-ХИВ кај одредени пациенти, зголемен број на Б-клетки со низок КД21 и зголемено лачење на Иг
	СОЗДАВАЊЕ ЦИТОКИНИ
Рана	Зголемени нивоа на одредени цитокини
Доцна	Промена во создавањето на цитокините од подгрупата $T_{по}1$ во $T_{по}2$
	ПРЕОСЕТЛИВОСТ ОД ОДЛОЖЕН ТИП
Рана	Доста значајно намалување на капацитетот за размножуавње на $T_{по}1$ клетките и намалување на кожната реактивност
Доцна	Отстранување на одговорот на преосетливост од одложен тип, целосно отсуство на кожна реактивност
	Т ЦИТОКСИЧНИ ($T_{цт}$) КЛЕТКИ
Рана	Нормална реактивност
Доцна	Намалување, но не и отстранување на активноста на ЦТЛ поради ослабена способност за создавање на ЦТЛ од ТцТ-клетки

ТАБЕЛА 20-5 Одредени лекови против-ХИВ во клиничка употреба

Генеричко име (други имиња)	Типична доза	Некои потенцијални нескани ефекти
ИНХИБИТОРИ НА СПРОТИВНА ТРАНСКРИПТАЗА: НУКЛЕОЗИДНИ АНАЛОЗИ		
Диданозин (Видекс, ддл)	2 таблети, 2 пати дневно на празен стомак	Гадење, дијареја, панкреасно воспаление, периферна невропатија
Емтрицитабин (Емтрива, ФТЦ)	1 таблета, 1 дневно	Главоболка, дијареа, гадење, исип
Ламивудин (Епивир, 3ТЦ)	1 таблета, 2 пати дневно	Обично нема
Ставудин (Зерит, ддЦ)	1 таблета, 2 пати дневно	Периферна невропатија
Залцитабин (ХИВИД, ддЦ)	1 таблета, 3 пати дневно	Периферна невропатија, воспаление на устата, панкреасно воспаление
Зидовудин (Ретровир, АЗТ, ЗДВ)	1 таблета, 2 пати дневно	Гадење, главоболка, анемија, неутропенија (намалени нивоа на неутрофилните бели крвни зрнца), изнемоштеност, несоница
Таблета која содржи ламивудин и зидовудин (Комбивир)	1 таблета, 2 пати дневно	Исто како за зидовудин
Абакавир (Зиаген)	2 таблети, 1 дневно	Гадење, повраќање, дијареа, лактична ацидоза (сериозна болест на црниот дроб)
Тенофвир (Виреад)	1 таблета, 1 дневно	Гадење, повраќање, зголемен ризик од кршење на коските
ИНХИБИТОРИ НА СПРОТИВНАТА ТРАНСКРИПТАЗА: НЕНУКЛЕОЗИДНИ АНАЛОЗИ		
Делавирдин (Рескриптор)	4 таблети, 3 пати дневно (измешано во вода), најмалку еден час по антацидите или диданозинот	исип, главоболка, хепатит
Невирапин (Вирамун)	1 таблета, 2 пати дневно	исип, хепатит
Ефавиренц (Сустива)	1 таблета, 1 дневно	Вртоглавица, несоница, исип
ПРОТЕАЗНИ ИНХИБИТОРИ		
Индинавир (Криксиван)	2 таблети, 3 пати дневно на празен стомак или со оброк со ниски масти и најмалку 2 часа по диданозинот	Камен во бубрезите, гадење, главоболка, поматување на видот, вртоглавица, исип, метален вкус во устата, нарушување на нивото на мастите, зголемени нивоа на триглицериди и холестерол, нетолеранција на глукоза
Нелфинавир (Вирацепт)	3 таблети, 3 пати дневно со храна	Дијареја, абнормална распределба на мастите, зголемени нивоа на триглицериди и холестерол, нетолеранција на глукоза
Ритонавир (Норвир)	6 таблети, 2 пати дневно (или 2 таблети, 2 пати дневно ако се земаат со секвинавир) со храна и најмалку 2 часа по диданозинот	Гадење, повраќање, дијареја, абдоминална болка, главоболка, чувство на бодежи на кожата, хепатит, изнемоштеност, абнормална распределба на мастите, зголемени нивоа на триглицериди и холестерол, нетолеранција на глукоза
Саквинавир (Инвираза, капсула од цврст гел, Фортоваза, капсула од мек гел)	6 таблети, 3 пати дневно (или 4 капсули, 2 пати дневно ако се земаат со ритонавир) со обилен оброк	Гадење, дијареја, главоболка, абнормална распределба на мастите, зголемени нивоа на триглицериди и холестерол, нетолеранција на глукоза
Атазанавир (Рејатаз)	2 таблети, 1 дневно	Мора да се користи заедно со најмалку други два лекови
Фосампренавир калциум? (Лексива)	2 таблети, 2 пати дневно	Губење на апетит, неспокој, дијареа, гадење, повраќање
ФУЗИСКИ ИНХИБИТОРИ		
Енфувиртид (Фузеон, Т-20)	Поткожна инјекција 2 пати дневно	Одредени потенцијални нескани ефекти гноење во областа на инјектирање, вртоглавица, несоница, оток на стапалата и нозете

ефектите од ХИВ-1 вирусот кај заразените лица. Се проценува дека бројот на луѓе кои се заразени со ХИВ е близу еден милион само во САД; ако сите овие лица добијат СИДА ќе биде голема трагедија. За создавањето на ефикасни противвирусни лекови постојат неколку стратегии. Животниот циклус на ХИВ покажува неколку чувствителни точки кои може да се блокираат со фармаколошки агенси (слика 20-16). Клучот за успех на ваквите терапии е тоа што тие мора да бидат специфични за ХИВ-1 и минимално да влијаат врз нормалните клеточни процеси. Досега, два вида на противвирусни агенси влегоа во рутинска употреба (табела 20-5). Првиот успех при лекувањето беше со лекови кои го попречуваа спротивното препишување

на вирусната РНК и кДНК; во овој момент неколку лекови се во општа употреба. Втората фаза од размножувањето на вирусот која се покажа како подложна на фармаколошка блокда е чекорот во кој претходниците на протеините - се разложуваат до деловите кои се потребни за создавање нов зрел вирион. Овој чекор бара активност на специфична вирусна протеаза, која може да се попречи со хемиски агенси, кои спречуваат создавање на инфективни вирусни честици. Третиот вид на лек кој од неодамна доби дозвола за употреба, енфувиртид (комерцијално име Фузеон), претставува фузиски инхибитор кој го спречува вирусот да навлезе во целните клетки.

Прототип на лек кој го попречува спротивното препишување е зидовидинот, или АЗТ (азидотимидин). Воведувањето на АЗТ, нуклеозиден аналог, во растечката кДНК верига од ретровирусот предизвикува прекин на веригата. АЗТ е ефикасен кај дел, но не кај сите пациенти, а неговата ефикаснот понатамошно се ограничува, бидејќи долготрајната употреба има одреден број опасни несакани ефекти и поради тоа што кај пациентите кои се лекуваат се јавуваат отпорни вирусни мутанти. Применот АЗТ не го користи само ХИВ-1 спротивната транскриптаза, туку исто така и хуманата ДНК полимераза. Вградувањето на АЗТ во ДНК од клетките на домаќинот предизвикува нивно убиство. Претходниците на црвените клетки се особено чувствителни на АЗТ, што доведува до анемија и други несакани ефекти. Друг пристап за блокирање на спротивното препишување вклучува лекови како што се невирапин и делавиридин, кои ја попречуваат работата на ензимот спротивна транскриптаза.

Друга класа на лекови која се нарекува протеазни инхибитори се докажа како ефикасна кога се користи заедно со АЗТ и/или други ннуклеозидни аналози. Моменталното лекување за СИДА е комбинирана терапија, која употребува режим наречен ХААРТ (високо активна противретровирусна терапија). Во повеќето случаи, се комбинира употребата на два нуклеозидни аналози и еден протеазен инхибитор. Стратегијата со комбинација ја надминува способноста на вирусот нагло да создаде мутанти кои се отпорни на лекови. Во повеќето случаи, ХААРТ го намалува вирусниот полнеж во плазмата на нивоа кои не се откриваат со моменталните методи и го подобрува здравјето на пациентите со СИДА до степен при кој тие повторно можат да функционираат нормално. Намалувањето на смртните случаи од СИДА во САД во последните години (види слика 20-7) се припишува на овој напредок во терапијата. Но, и покрај оптимизмот подгреан со успехот на ХААРТ, моментните недостатоци вклучуваат строг временски распоред на внесување на лековите и голем број на лекови кои треба да се земаат секој ден. Покрај тоа, може да има сериозни несакани ефекти (види табела 20-5) кои, кај одредени пациенти, може да бидат премногу тешки за да овозможат употреба на ХААРТ.

Успехот на ХААРТ во лекувањето на СИДА-та отвори дискусија за тоа дали е можно да се отстранат сите вируси од инфицираното лице и на тој начин да се излечи СИДА-та. Повеќето експерти за СИДА-та не веруваат дека ова е можно, најмногу поради опстојувањето на латентно заразените КД4$^+$ Т-клетки и макрофаги, кои може да служат како резервоар за инфективниот вирус ако треба да се активира провирусот. Дури и кога вирусното оптоварување е под нивото кое може да се открие со ПВР анализа, имуниот систем може да не закрепне доволно за да го отстрани вирусот кој би требало да започне со размножување во одговор на некој активирачки сигнал. Покрај тоа, вирусот може да опстои во области како што е мозокот, каде противретровирусните лекови не можат лесно да навлезат, иако вирусот во циркулацијата не се забележува. Употребата на имуни модулатори, како што е рекомбинантниот ИЛ-2, во комбинација со ХААРТ се испитува како стратегија за помош да закрепне имуниот систем и да се врати нормалната имуна функција.

Покрај новолиценцираниот фузиски инхибитор енфувиртид, кој дејствува во фазата на вирусното прикачување за клетките од домаќинот, другите лекови се во различни фази на развој. Една класа на лекови која ветува ја попречува интеграцијата на вирусната ДНК во геномот на домаќинот (види слика 20-14). Треба да се нагласи дека развојот на кој било лек до точка кога може да се користи кај пациенти е долг и макотрпен процес. Лековите кои ги поминуваат строгите тестови за безбедност и ефикасност претставуваат мал дел од оние лекови кои добиваат првично внимание.

Вакцината може да биде единствениот начин да се запре епидемијата со ХИВ/СИДА

Епидемијата на СИДА продолжува да се шири и покрај напредоците во терапевтските методи кои ги објаснивме претходно. Моменталната цена на ХААРТ (од 15000 американски долари на година), потребниот строг режим и можноста за несакани ефекти спречуваат негова универзална употреба. Дури и ако отстранувањето на вирусот кај лицата кои се лекуваат со комбинирана терапија стане можно, нема многу да влијае врз епидемијата во земјите во развој, каде спаѓаат поголемиот дел од пациентите. Веројатно е дека во иднина ќе се развијат ефикасни, евтини и добро толерирани лекови, но во моментов најдобра опција за сопирање на ширењето на СИДА-та е безбедна, ефикасна вакцина која спречува инфекција и напредување до болест. Зошто немаме вакцина против СИДА? Најдобриот одговор на ова прашање е да се испитаат специјалните услови кои мора да се земат предвид при создавањето на безбедна, ефикасна вакцина за оваа болест (табела 20-6).

Повеќето ефикасни вакцини ја имитираат природната состојба на инфекцијата. Лицата кои закрепнуваат од повеќето болести се имуни на последователни напади. Инфекцијата со ХИВ-1 и развивањето до синдром на имунонедостаток, напредуваат дури и во присуство на циркулирачки противтела кои се насочени против протеините од вирусот. Имунитетот може да го контролира вирусот одредено време, но како што споменавме претходно, ретко надминува 12 години кај лица заразени со ХИВ кои не се лекуваат. Во ретка подгрупа на заразени лица наречени долготрајни непрогресори, периодот на инфекција без болест е подолг, дури и бескраен. Друга група кај кои изгледа дека имунитетот функционира, се оние лица кои се постојано изложени, но остануваат серонегативни. Во оваа категорија спаѓаат низок процент на комерцијални секс-работници во областите со високо ендемична инфекција, како што е Најроби, каде и покрај многукратните дневни изложувања на заразени лица некои луѓе не се инфицираат. Бидејќи состојбата на имунитетот (т.е., кои противтела се присутни и кој вид на клеточен имунитет е активен) кај овие лица не е јасна или постојана, тешко е да се репродуцира за развој на вакцина. Дел од долготрајните непрогресори или изложени и незаразени лица имаат мутации и отстранувања на

ТАБЕЛА 20-6 Зошто СИДА-та не одговара на моделот за создавање на класична вакцина

Класичните вакцини имитираат природен имунитет против реинфекција која во основа се гледа кај пациентите кои се оправиле од инфекција, нема пациенти кои закрепнале од СИДА.
Повеќето вакцини штитат против болест, не против инфекција. Инфекцијата со ХИВ може да остане скриена подолг период пред да предизвика СИДА.
Повеќето вакцини, повеќе години штитат против вируси кои низ текот на времето се менуваат делумно. ХИВ-1 мутира со брза стапка и ефикасно селектира мутирани форми кои го избегнуваат имунитетот.
Повеќето ефикасни вакцини претставуваат умртвени или живи ослабени организми. Умртвениот ХИВ не ја задржува противгеноста, а употребата на вакцината со живиот ретровирус предизвикува прашања околу безбедната примена.
Повеќето вакцини штитат против инфекции кои не се јавуваат често. Лицата со висок ризик може на дневно ниво да стапуваат во контакт со ХИВ.
Повеќето вакцини штитат против инфекции преку мукозната површина на респираторниот и гастроинтестиналниот тракт. Поголемиот дел од инфекциите со ХИВ се случуваат преку гениталниот тракт
Повеќето вакцини се тестираат за безбедност и ефикасност на животни пред да се испитуваат кај човечки доброволци. Во моментов нема соодветен модел на животно за ХИВ/СИДА.

Извор: Адаптирано од A. S. Fauci, 1996, An HIV vaccine: breaking the paradigms. *Proceedings of the Association of American Physicians* **108**:6.

гените кои кодираат клеточни корецептори кои го забавуваат напредокот на вирусниот напад врз нивниот имун систем а не го засилуваат имуниот одговор кој го контролира размножувањето на ХИВ.

Повеќето вакцини спречуваат болест, не инфекција. Вакцините за полио и инфлуенца го контролираат вирусот кој го создаваат заразените клетки да не му наштети на домаќинот, а потоа го отстрануваат. ХИВ-1 не одговара на овој модел, бидејќи навлегува во геномот на домаќинот и може да остане скриен подолг период. Како што објаснивме претходно во контекст на стратегиите за лекување, отстранувањето на вирусот не е едноставна работа. Отстранувањето на ретровирусот е тешка цел за вакцинацијата: секоја копија на вирусот и секоја инфицирана клетка, каде спаѓаат и оние кои се латентно заразени, мора да се отстранат од домаќинот. Сепак, дури и без целосно отстранување, вакцината против ХИВ може да биде корисна кај инфицираното лице, а вакцината која предизвикува намалено вирусно оптоварување ќе помогне да се контролира ширењето на инфекцијата. Неодмнешно проучување во Уганда, на сексуалните партнери некомпатибилни за инфекцијата, покажа дека малото вирусно оптоварување кај заразениот партнер го спречува ширењто кај незаразениот партнер.

Повеќето вакцини спречуваат инфекција од вируси кои покажуваат мала варијација. Нестабилноста на неговиот геном, го разликува ХИВ-1 од повеќето вируси за кои се создадени успешни вакцини. Со исклучок на инфлуенца, за која вакцините се менуваат периоднично, повеќето вируси кои може да се контролираат со имунизација покажуваат само мала променливост во структурата. За споредба, имајте предвид дека риновирусите кои предизвикуваат обична настинка имаат повеќе од 100 поттипови, затоа не постои ефикасна вакцина. ХИВ-1 покажува променливост кај повеќето вирусни противгени, а стапката на размножување може да биде во висина од 10^9 вируси на ден. Оваа променливост, заедно со високата стапка на размножување, овозможува создавање на вируси со повеќе мутации, дел од нив овозможуваат избегнување на имунитетот. Фактот дека кај вирусните изолати земени од ист пациент во различно време, се забележуваат значителни разлики во секвенците на протеините од вирусната обвивка, покажува дека настанала варијација и дека дел од варијантите се размножуваат, најверојатно бидејќи научиле да ги избегнуваат имуните одбрани од домаќинот. Податоците кои покажуваат дека противтела од пациентите со напредната СИДА нема да го неутрализираат вирусот кој е изолиран од тој пациент, но ќе убијат други видови на ХИВ-1 укажуваат дека ХИВ-1 го избегнува имуниот систем преку мутации на протеините кои се цел на противтелата.

Повеќето успешни вакцини содржат живи ослабени или организми умртвени со топлина. Иако постојат исклучоци за ова, особено рекомбинантниот протеин кој се користи за вакцината за хепатит Б и конјугатот кој се користи за вакцината *Haemophilus influencae* Б (види Поглавје 18), повеќето од вакцините кои широко се употребуваат содржат ослабени организми. Можен начин за создавањето на вакцина е преку развивање на жив ослабен ретровирус од животински вируси кои се модифицирани за да вклучуваат ХИВ противгени. Сепак, употребата на живи вакцини се предвидува врз основа на претпоставката дека поттикнатиот имунитет ќе го отстрани вирусот од вакцината од домаќинот. Ова не се остварува лесно кај ретровирусот, кој навлегува во геномот на домаќинот. Потребени се масовни тестирања за да се докаже дека вакцината со живиот ретровирус е безбедна и дека не предизвикува хронична инфекција кај домаќинот. Од позитивната страна, клиничките испитувања кои користат други вируси како што се ослабената вакцинија или канарските сипаници како носители за гените кои ги кодираат ХИВ протеините, ја поминаа фазата 1 (безбедност) од испитувањата и напредуваат кон фазата 2 (ефикасност) од испитувањата.

За повеќето вируси, зачестеноста на изложувањето на инфекцијата е ретко или сезенско. Кај голем број лица со висок ризик, како што се комерцијалните сексуални работници, моногамните сексуални партнери на лицата кои се заразени со ХИВ, и корисниците на интравенозна дрога, вирусот се сретнува често и, веројатно, во големи дози. Заради ова, од вакцината против СИДА се бара да спречи инфекција против постојаниот напад од вирусот и/или масивни дози на вирусот, ова обично не е вообичаено со другите вируси за кои имунизацијата се докажа како корисна.

Повеќето вакцини штитат против инфекција на респираторниот или гастроинтестиналниот тракт. Покрај зачестеноста на изложувањето на ХИВ, која може да биде значително висока за одредени лица со висок ризик, исто така се испитува и начинот на влез. Повеќето успешни вакцини штитат против вирусите кои се сретнуваат во респираторниот и гастроинтестиналниот тракт, најчест начин за инфекција со ХИВ-1 е преку гениталниот тракт. Не се знае дали имунитетот

здобиен преку стандардни постапки со вакцина, ќе штити против инфекција добиена на споменатиот начин. Иако недостатокот на значаен животински модел спречува детален тест за заштитата, првичните проучувања на вакцините кои користат ректален или вагинален пат за внесување на вакцината кај имунизирани примати со химерни вируси СИВ-ХИВ (СХИВ) покажуваат заштита против овој начин на инфекција.

Развојот на повеќето вакцини преку клиничките испитувања се засновува на експерименти со животните. Тестирањето на вакцината за безбедност и ефикасност обично вклучува имунизирање на животно со вирусот под услови кои се слични на условите кои се сретнуваат кај луѓето. На овој начин, се утврдува поврзаноста со заштитниот имунитет. На пример, ако високиот титар на КД8$^+$ Т-клетките и неутрализирачкото противтело се потребни за заштита на животното, тогаш КД8$^+$ Т-клеточниот имунитет и противтелата треба да се мерат и во тек на испитувањата на вакцината кај луѓето. Досега, проучувањата кај животните за инфекцијата со ХИВ и болест дадоа мал број цврсти факти за имуните реакции кои заштитуваат против инфекција или кои го спречуваат напредувањето на болеста. Голем број резултати вклучуваат специфичен вирус кај одреден домаќин и од нив не може лесно да се изведува заклучок за универзални концепти, бидејќи тие зависат од факторите кај домаќинот исто како и од односот помеѓу имунизирачките и напаѓачките соеви на вирусот. Сепак, експериментално е покажано дека пасивната имунизација со противтела земени од шимпанза кои се заразени со ХИВ ги штитат макаките од напад со видовите СХИВ кои го носат гликопротеинот од ХИВ обвивката. Понатамошна индикација дека противтелата може да спречат инфекција доаѓа од проучувањата каде моноклонските противтела ги штитат макаките од вагиналниот напад со СХИВ. Во сите случаи, противтелата треба да бидат присутни во времето на нападот. Внесување на противтела по имунизирањето не е фикасно за спречување на инфекцијата.

Иако нема пријави за голем успех кај човечките испитувања на вакцината за ХИВ, истражувањата во оваа област и понатаму се активни. Покрај огромната работа, напредокот е бавен. Бројни продукти се тестираат во рани фази кај доброволци. Приближно 30 протеини, ДНК вакцини и рекомбинантни вируси се тестираат во фазата 1 за безбедност и имуногеност, а околу пет кандидати стигнуваат до испитувањата во фазата 2, која вклучува поголемо население и, во одредени случаи, доброволци со висок ризик. Скалата за одговорност да се донесе одредена вакцина-кандидат до фазата 3 е прикажана при оценувањето на неодманешен тест на фазата 3 кај две вакцини-поединици. Тестот се случил по 20 години испитување и развој и цена од 300 милиони долари. Тие вклучуваа 78 клиники во четири земји, со 135371 посети на пациентите. Се испитаа 12114 лица и се вклучија 7963 волонтери, проучувањето се зачува на 1286279 форми за испитување случаи. Иако кај вакцинираните лица не била забележана заштита, тестовите беа поздравени од јавноста, како доказ дека може да се преземе и кооридинира толку голем напор и дека лекцијата која се научи ќе овозможи создавање на успешни тестови на надежните продукти.

Покрај создавањето на вакцина на научна основа, врз развојот и тестирањето на вакцините-кандидати за СИДА влијаат социјалните и индивидуалните проблеми. Советувањето кое се однесува на безбеден секс мора да биде дел од негата која им се дава на лицата при испитувањата на вакцината. Дали ова ќе влијае врз резултатите? Дали намалувањето на стапката на инфекција кај сите групи кои учествуваат во испитувањето, спречува гледање значајна разлика кај стапката на инфекција помеѓу групите со вакцина и плацебо? Исто така, предвид се зема и фактот дека секој кој е успешно имунизиран против вирусот СИДА ќе стане серопозитивен и ќе биде позитивен при стандардните анализи за инфекција. Какви последици ќе има ова? Дали за потврдување дали имунизираното лице навистина е инфицирано ќе требаат анализи со вирусно оптоварување?

Јасно е дека создавањето на вакцината против СИДА-та не е едноставна работа во класичната вакцинологија. За да се разбере како може да се избегне овој вирусен напад против имуниот систем потребни се повеќе истражувања. Иако за оваа тема доста се пишува и се предлагаат иницијативи од високи размери, патот до ефикасна вакцина не е баш очигледен. Се знае само дека сите податоци треба внимателно да се анализираат и дека мора да се тестираат сите можни средства за создавање имунитет. Ова е еден од најголемите здравствени предизвици на денешницата. За создавање, тестирање и доставување безбедна и ефикасна вакцина против СИДА-та потребна е интензивна и кооперативна работа.

Собирок

- Имунонедостатоците се јавуваат како резултат од откажувањето на еден или повеќе делови од имуниот систем. Првичните имунонедостатоци се присутни при раѓање, вторичните или стекнатите имунонедостатоци настануваат од голем број причини.
- Имунонедостатоците може да се класифицираат според видот на клетките кои се вклучени и може да ги засегнат лимфоидните или миелоидните клетки или и двата вида,
- Генските дефекти кои се во основата на првичните имунонедостатоци овозможуваат прецизна класификација. Генетските дефекти во молекулите кои се вклучени во пренесувањето на сигналот или во клеточната комуникација се сретнуваат во голем број имунонедостатоци.
- Лимфоидните имунонедостатоци ги засегаат Т-клетките, Б-клетките, КПУ или сите 3 вида на клетки. Откажувањето во развојот на тимусот доведува до тежок имунонедостаток и може да го попречи нормалниот развој на Б-клетките поради недостаток на клеточна соработка.
- Миелоидниот имунонедостаток предизвикува ослабена работа на фагоцитите. Лицата кои се засегнати имаат зголемена чувствителност кон бактериски инфекции.
- Тешкиот комбиниран имунонедостаток, или ТКИН, секогаш вклучува откажување на функцијата на Т-клетките и се јавува како резултат од одреден број различни дефекти во лимфоидната клеточна линија; обично е фатален.
- Селективните имуноглобулински имунонедостатоци претставуваат полесна форма на имунонедостаток и се јавуваат како резултат на дефекти во повисоко диференцираните видови на клетки.
- Имунонедостатокот може да се лекува со замена на дефектниот ген, протеин или клетки кои недостасуваат. Внесувањето на човечки имуноглобулини е вообичаен третман.

- Животинските модели на имунонедостаток вклучуваат голи и ТКИН глувци. Глувците кај кои е отстранет ген овозможуваат проучување на улогата на специфичните гени во имуните функции.
- Вторичен имунонедостаток се јавува како резултат од повреда или инфекција. Најчестата форма е ХИВ/СИДА, која е предизвикана од ретровирус, вирусот на хуман имунонедостаток-1.
- Инфекцијата со ХИВ-1 во главно се шири преку сексуален контакт, преку примање на крв и од мајка инфицирана со ХИВ, на бебе.
- Инфекцијата со ХИВ-1 доведува до тешко нарушување на имунолошката функција со нагласено намалување на $КД4^+$ Т-клетките и смрт од опортунистичка инфекција.
- Лекувањето на ХИВ инфекцијата со противретровирусните лекови може да предизвика намалување на вирусното оптоварување и намалување на инфекцијата, но не е документирано излекување.
- Напорите за создавање на вакцина за ХИВ/СИДА уште не постигнале успех. Милионите нови инфекции во 2005 година ја нагласуваат потребата за ефикасна вакцина.

Референции

Brenchley, J. M., et al. 2004. CD41 T cell depletion during all stages of HIV disease occurs predominantly in the gastrointestinal tract. Journal of Experimental Medicine 200:749.

Buckley, R. H. 2004. Molecular defects in human severe combined immunodeficiency and approaches to immune reconstitution. Annual Review of Immunology 22:625.

Calvazzano-Calvo, M., et al. 2005. Gene therapy for severe combined immunodeficiency. Annual Review of Medicine 56:585.

Carpenter, C. J., et al. 2000. Antiretroviral therapy in adults: updated recommendations of the International AIDS Society—USA Panel. Journal of the American Medical Association 283:381.

Cohen, O. J., and A. S. Fauci. 2001. Current strategies in the treatment of HIV infection. Advances in Internal Medicine 46:207.

Fauci, A. S. 2003. HIV and AIDS: 20 years of science. Nature Medicine 9:839.

Francis, D. P. 2003. Candidate HIV/AIDS vaccines: lessons learned from the world's first phase III efficacy trials. AIDS 17:147.

Jackson, J. B., et al. 2003. Intrapartum and neonatal single-dose nevirapine compared to zidovudine for prevention of mother-to-child transmission of HIV-1 in Kampala, Uganda: 18-month follow-up of the HIVNET 012 randomized trial. Lancet 362:859.

Kinter, A., et al. 2000. Chemokines, cytokines, and HIV: a complex network of interactions that influence HIV pathogenesis. Immunological Reviews 177:88.

Kohn, D. B. 2001. Gene therapy for genetic haematological disorders and immunodeficiencies. Journal of Internal Medicine 249:379.

Letvin, N. L. 2005. Progress toward an HIV vaccine. Annual Review of Medicine 56:213.

Li, O., et al. 2004. Functional genomic analysis of the response of HIV-1-infected lymphatic tissue to antiretroviral therapy. Journal of Infectious Disease 189:572.

Moir, S., et al. 2001. HIV-1 induces phenotypic and functional perturbations of B cells in chronically infected individuals. Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A. 98:10362.

Moore, J. P., et al. 2004. The CCR5 and CXCR4 coreceptors—central to understanding the transmission and pathogenesis of human immunodeficiency virus type I infection. AIDS Research and Human Retroviruses 20:111.

Reynolds, S. J., et al. 2004. Male circumcision and risk of HIV-1 and sexually transmitted infections in India. Lancet 363:1039.

Rosenzweig, S. D., and S. M. Holland. 2005. Defects in the interferon-g and interleukin-12 pathways. Immunological Reviews 203:38.

Stebbing, J., B. Gazzard, and D. C. Douek. 2004. Where does HIV live? New England Journal of Medicine 350:1872.

Корисни веб-страници

http://www.scid.net/

Веб-страницата на ТКИН содржи линкови за списанија и информации за базите на податоци за ТКИН.

http://hivinsite.Ucsf.edu/

На оваа страница може да се добијат информации за глобалната епидемија со СИДА.

http://hiv-web.lanl.gov/

Оваа веб-страница, под покровителство на Националната лабораторија од Лос Аламос, ги содржи сите достапни податоци за секвенци на ХИВ и СХИВ заедно со најновите прегледи на темите поврзани со СИДА-та кои во момнетов се истражуваат.

ftp://nlmpubs.nlm.nih.gov/aids/adatabases/drug.txt

Оваа веб-страница, под покровителство на Националната лабораторија за медицина, дава детални информации за неколку стотици лекови кои се во развој против ХИВ инфекција и опорутнистичките инфекции кои се поврзани со СИДА-та.

http://www.niaid.nih.gov/daids/vaccine/abtvaccines.htm

Страницата на Националниот институт за алергија и инфективни болести (NIAID) дава информации за вакцините против СИДА и линкови до документи кои се однесуваат општо на вакцините.

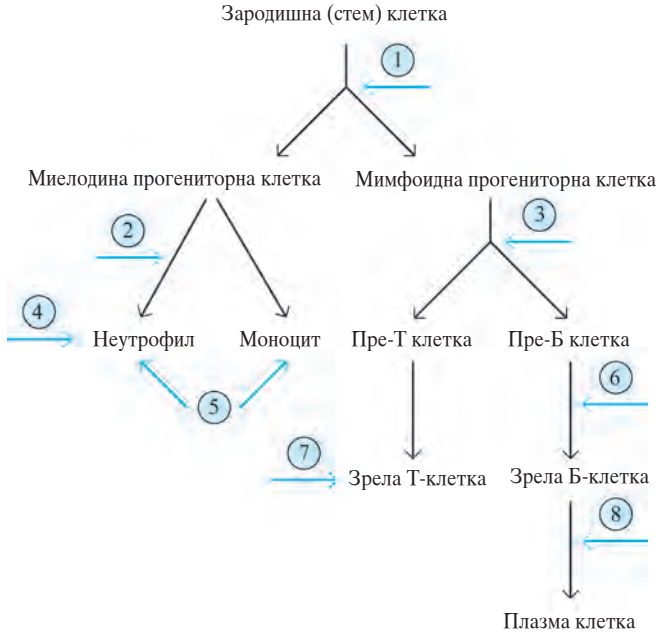
Прашања за учење

ПРАШАЊЕ ОД КЛИНИЧКИ ФОКУС Ширењето на ХИВ/СИДА од инфицирана мајка на бебиња може да се намали со режими од една доза на инхибиторот на спротивната транскиптаза невирапин. Што ќе сакате да знаете пред да го дадете леков кај сите мајки и новороденчиња (без да го проверувате инфекцискиот статус) при доставата во областите со висока ендемична инфекција?

1. Наведете кој од следните искази е точен или неточен. Доколку мислите дека одреден исказ не е точен, објаснете зошто.
   а. Синдромот Ди Џорџ е вроден дефект кој се јавува како резултат на отсуство на тимусот.
   б. Икс врзана агамаглобулинемијата (Икс-ВА) претставува болест со комбиниран имунонедостаток на Б и Т-клетките.
   в. Основниот белег на фагоцитниот недостаток е зголемена чувствителност кон вирусни инфекции.
   г. Кај хроничната грануломатозна болест, основниот дефект е во цитохромот или поврзан протеин.
   д. За лекување на лицата со Икс врзана агамаглобулинемија се даваат инјекции со имуноглобулини.
   ѓ. Кај хуманиот ТКИН се утврдени голем број дефекти.
   е. Глувците со ТКИН дефектот имаат недостаток на функционални Б и Т-лимфоцити.
   ж. Со отстранување на гените *РАГ* може да се создадат глувци со фенотипот сличен на ТКИН.
   з. Децата кои се раѓаат со ТКИН често покажуваат зголемени инфекции од енкапуслирани бактерии во првите месеци од животот.
   ѕ. Неуспехот за прикажување на ГТК молекули од класа 2 во синдромот на голи лимфоцити го засега само клеточно-посредуваниот имунитет.
2. За секое од следните нарушувања со имунонедостаток, наведете кој третман ќе биде најсоодветен.

   Имунонедостаток
   а. Хронична грануломатозна болест
   б. ТКИН со недостаток на ADA
   в. Икс врзана агамаглобулинемија
   г. Синдромот Ди Џорџ
   д. ТКИН со недостаток на IL-2R
   ѓ. Вообичаен варијабилен имунонедостаток

   Лекување
   а. Пресадување на цела коскена срцевина
   б. Хуман гамаглобулин
   в. Рекомбининантен ИФН-гама
   г. Рекомбинантна аденозин деаминаза
   д. Трансплантација на тимус кај новороденчето
3. Пациентите со Икс врзан хипер-ИгМ синдром, прикажуваат нормални гени за другите противтелни поттипови, но не можат да создаваат ИгГ, ИгА или ИгЕ. Објаснете како дефектите при овој синдром се одговорни за недостатокот на другите изотипови на противтела.
4. Пациентите со синдромот Ди Џорџ се раѓаат или без тимус или со мошне дефектен тимус. Како таков, пациентот не може да создаде зрели, цитотоксични или регулаторни Т-клетки. Ако возрасното лице го загуби тумусот поради несреќа или повреда, Т-клеточниот имунонедостаток е доста помал. Објаснете го овој феномен.
5. Гранулоцитите од пациенти со атхезивен недостаток на белите клетки (ЛАН) прикажуваат доста намалена количина на три интергрински молекули кои се имунувани со КР3, КР4 и ЛФА-1.
   а. Која е природата на дефектот што доведува до намално прикажување или отсуство на прикажување на овие рецептори кај пациентите со ЛАН?
   б. Која е вообичаената функција на интегринската молекула ЛФА-1? Дадете посебни примери.
6. Имунолозите го проучуваа дефектот кај глуците со ТКИН со цел да ја разберат молекулската основа за тешкиот комбиниран имунонедостаток кај луѓето. Кај глвуците со ТКИН и кај луѓето со оваа болест, не може да се развијат Б и Т-клетки.
   а. На кој начин преуредените Иг гени со тешка верига кај глувците со ТКИН се разликуваат од гените кај обичните глувци?
   б. Кај глувците со ТКИН, нема ДНК преуредување на лесната верига капа. Објаснете зошто.
   в. Ако во прогениторни Б-клетки на глушец со ТКИН вметнете ДНК со преуредена, функционална лесна верига ми, дали лесната верига капа од ДНК ќе претрпи вообичаено преуредување? Објаснете го вашиот одговор.
7. Придружната слика прикажува дел од чекорите во развојот на клетките од имуниот систем. Стрелките со броевите го покажуваат видот на клетката чија функција е дефектна или развојниот чекор кој не се појавува кај болеста со имунонедостаток. Утврдете го дефектниот клеточен вид или развојниот чекор кој е поврзан со секоја од следните болести. Секој број употребете го само еднаш.
   а. Хронична грануломатозна болест
   б. Болест со тежок комбиниран имунонедостаток (ТКИН)
   в. Вродена агранулоцитоза
   г. Ретикуларна дисгенеза
   д. Чест варијабилен имунонедостаток
   ѓ. Икс врзана агамаглобулинемијата
   е. Левкоцитен атхезивен недостаток (ЛАН)
   ж. Синдромот на голи лимфоцити



8. Наведете кој од следните искази е точен или неточен. Доколку мислите дека одреден исказ не е точен, објаснете зошто.
   а. ХИВ-1 и ХИВ-2 меѓусебно се поврзани потесно отколку со СИВ.
   б. ХИВ-1 предизвикува имунолошка супресија кај луѓето и шимпанзата.
   в. СИВ е ендемичен кај африканскиот зелен мајмун.
   г. Против-ХИВ лековите зидовудин и индинавир дејствуваат врз ист дел од циклусот на вирусната репликација.

д. Активирањето на Т-клетките го зголемува препишувањето на ХИВ провирусниот геном.
ѓ. Пациентите со напредна фаза од СИДА секогаш имаат забележливи противтела против ХИВ.
е. Полимеразната верижна реакција е чувствителен тест кој се користи за откривање на противтелата против ХИВ.
ж. Ако ХААРТ е успешен, вирусното оптоварување ќе се намали.

9. За објаснување на намалувањето на КД4+ Т-клетките кај лицата кои се заразени со ХИВ, се предложени разни механизми. Која е најверојатна причина за намалувањето на КД4+ Т-клетките?
10. Дали очекувате да варира вирусното оптоварување во крвта на лице кое е инфицирано со ХИВ во хроничната фаза од инфекцијата со ХИВ-1?
11. Ако вирусното оптоварување почне да се зголемува во крвта на лицето кое е инфцирано со ХИВ, а нивото на КД4+ Т-клетките да се намалува, што ќе значи ова за инфекцијата?
12. Зошто лекарите го надгледуваат нивото на реактивноста на кожата кај лицата кои се заразени со ХИВ? Каква промена очекувате да видите кај реактивноста од кожниот тест со напредувањето во СИДА?
13. Се покажа дека одредени хемокини ја супримираат инфекцијата на клетките со ХИВ, а провоспалителните хемокини ја олеснуваат инфекцијата на клетките. Што е објаснувањето за ова?
14. Третманите со комбинациите на лекови против-ХИВ (ХААРТ) значително го намалија нивото на вирусот кај одредени лекувани пациенти и ја забавија појавата на СИДА-та. Ако кај пациентот со СИДА исчезне опортунистичката инфекција и нема вирус во циркулацијата, дали може пациентот да се смета за излекуван?
15. Претпоставете дека сте лекар кој има два пациенти кои се заразени со ХИВ. Пациентот Б.В. има габична инфекција (кандидијаза) во устата, а пациентот Л.С. има инфекцијата со *Mycobacterium.* Бројот на КД4+ Т-клетките кај двата пациенти е околу 250 на мм^3. Дали ќе ги дијагностицирате пациентите дека имаат СИДА?

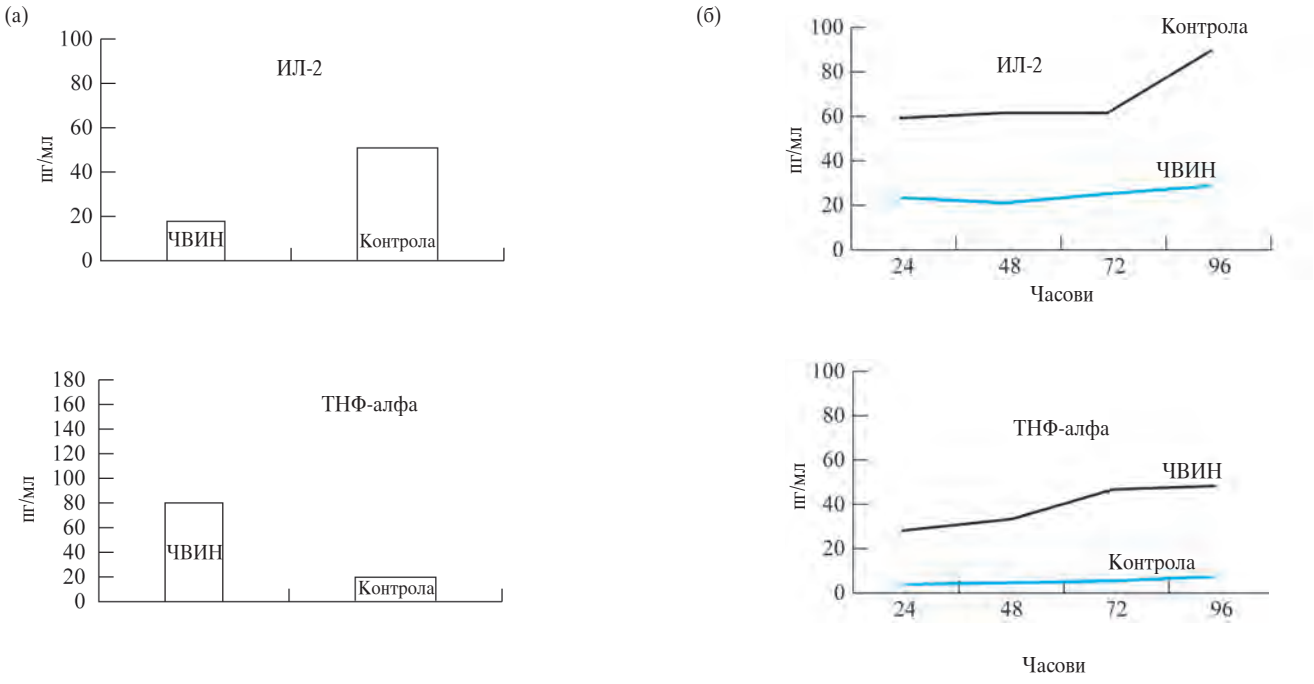
АНАЛИЗИРАЊЕ НА ПОДАТОЦИ Честиот варијабилен имунонедостаток (ЧВИН) предизвикува ниска концентрација на имуноглобулините во серумот и води до чести бактериски инфекции во респираторниот и гастроинтестиналниот тракт. Лицата со ЧВИН исто така имаат зголемена зачестеност на автоимуните нарушувања и рак. Изгро и неговите колеги (референца) ја испитувале коскената срцевина на неколку лица со ЧВИН. Тие ги разгледале Т-клеточните фенотипови на пациентите со ЧВИН (како што е прикажано на табелата долу) како и дел од цитокините кои ги создаваат овие лица (види слики (а) и (б) на страница 524).

а. Кое е влијанието на ЧВИН врз Т-помагачките клетки?
б. Неискусните ЦТЛ за да се активираат бараат создавање на ИЛ-2 од помагачките Т-клетки (види Поглавје 14). Како ЧВИН може да влијае врз создавањето на ЦТЛ?
в. Точно или неточно: ЧВИН го попречува создавањето на цитокините. објаснете го вашиот одговор. Објаснете го физиолошкото влијание на цитокинскиот одговор кај пацинетите со ЧВИН.
г. Дали мислите дека ЧВИН ќе влијае врз имунот одговор?

За користење со прашањата од делот „анализирање на податоци“

		Пациенти										
		1	**2**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**ЧВИН**	**Контрола (n=10)**
КД4+	%	47	36	28	28	27	19	19	32	57	34	47,5
	клетки/мкл	296	234	278	1652	257	361	289	248	982	351	1024
Неискусни КД4+	%	4	6,8	25,8	4	11,6	7,9	14	12	2	10	52
	клетки/мкл	12	16	72	66	30	29	40	30	20	31	519
Активирани КД4+	%	2	5	22	3	9	8	12	9	1,5	8	37
	клетки/мкл	6	12	61	50	23	29	35	22	15	25	385
КД8+	%	31	38	30	57	44	56	47	45	21	39	20
	клетки/мкл	195	247	298	3363	420	1065	714	348	362	414	404
Неискусни КД8+	%	25	30	43,9	7	16,9	12,9	20	13	15	22	58
	клетки/мкл	49	74	131	235	71	138	143	45	54	88	233

За користење со прашањата од делот "анализирање на податоци"



Создавање на цитокини од клетките на коскената срцевина кај пациенти со ЧВИН. (а) 1 × 10^6 клетки биле култивирани 24 часа и супернатантите биле анализирани за ИЛ-2 и ТНФ-алфа. (б) Супернатантите биле земени по 24, 48, 72 и 96 часа и испитани со ЕЛИСА.

Интерактивно учење

www.whfreeman.com/kuby

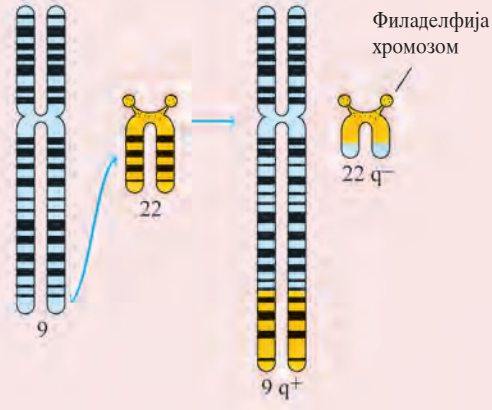
САМОСТОЕН ТЕСТ
Преглед на клучни изрази

АНИМАЦИИ
Ретровируси

МОЛЕКУЛАРНО ПРИКАЖУВАЊЕ
Вирусни противгени
ХИВ-1

Поглавје 21

Ракот и имуниот систем



Хромозомска транслокација кај хроничната миелогена леукемија. Синдромот Филаделфија.

Како што се намалува стапката на смртност од инфективните болести во западниот свет, ракот стана второрангирана причина за смртност, веднаш по срцевите заболувања. Моменталните процени предвидуваат дека едно на три лица во САД ќе добие рак и дека едно од пет лица ќе умре од тоа. Од имунолошка гледна точка, туморските клетки можат да се гледаат како изменети сопствени клетки, кои ги избегнале механизмите за контрола и регулирање на нивниот раст/размножување. Ова поглавје ги испитува уникатните особини на туморските клетки, при што, посебено внимание ќе им се даде на оние особини кои можат да бидат препознаени од страна на имуниот систем. Потоа ќе ги опишеме имуните одговори кои се јавуваат против туморските клетки, како и методите кои туморските клетки ги користат за да ги избегнат овие одговори. Крајниот дел ги разгледува денешните клинички и експериментални имунотераписки приоди за лекување на ракот.

- Рак: потекло и терминологија
- Малигна трансформација на клетките
- Онкогени и поттикнување на рак
- Тумори на имуниот систем
- Туморски противгени
- Туморско избегнување на имуниот систем
- Имунотерапија кај ракот

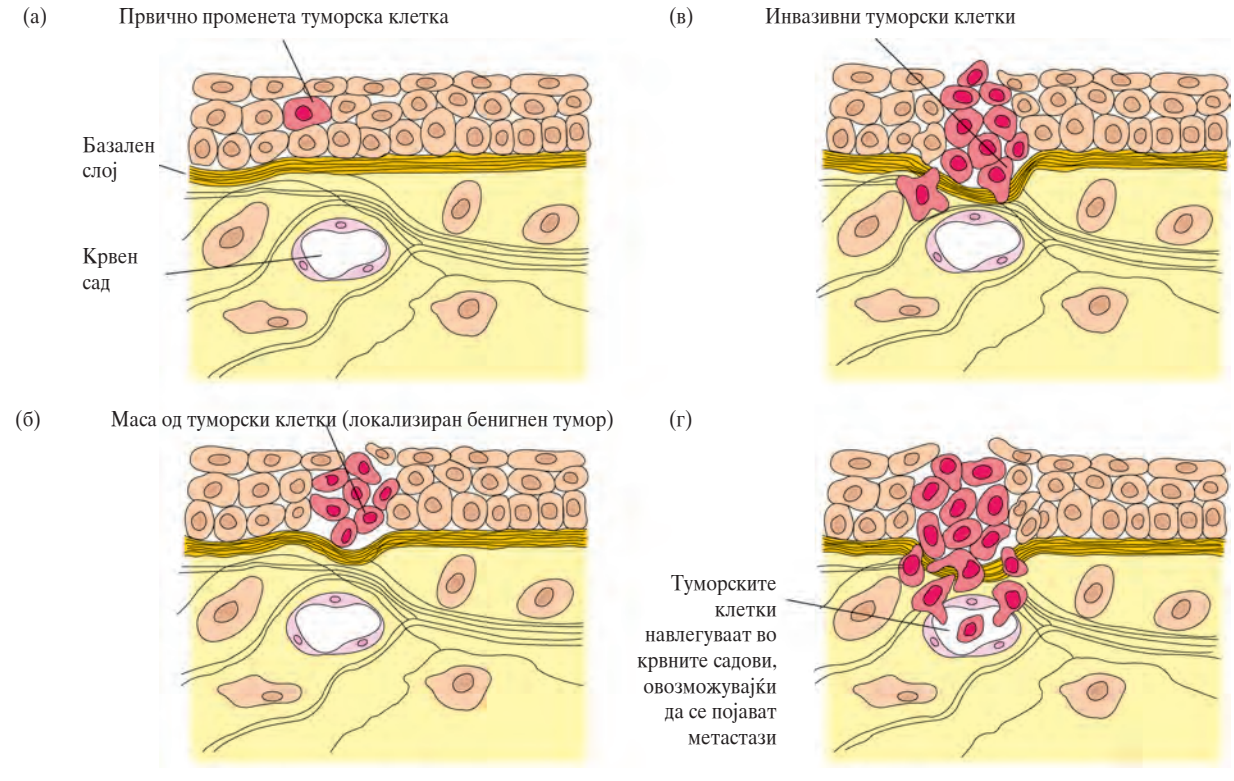
Рак: потекло и терминологија

Кај повеќето органи и ткива од возрасното животно, постои постојана рамнотежа меѓу обновувањето на клетките и нивната смрт. Различните видови зрели клетки од организмот имаат различен животен век. Кога овие клетки ќе умрат, нивното место го заземаат нови клетки, благодарение на размножувањето и диференцирањето на разни видови зародишни клетки. Во нормални услови, создавањето на новите клетки прецизно се регулира, за да може да остане константен бројот на кој било вид на клетки. Сепак, повремено, се создаваат клетки кои повеќе не регираат на механизмите за контрола на растењето. Овие клетки создаваат клонови на клетки кои можат да се размножат до значителен број создавајќи тумор или **неоплазма**.

Туморот кој не е способен неограничено да расте и кој значително не навлегува во околното здраво ткиво е **бенигнен**. Тумурот кој продолжува да расте и станува прогресивно инвазивен е **малигнен**. Поимот *рак* се однесува специфично на малигните тумори. Покрај неконтролираното растење, малигниот тумор може да манифестира и **метастази**. При овој процес, мали групи од туморските клетки се одделуваат од туморот, навлегуваат во крвта или лимфните садови и се пренесуваат во другите ткива, каде продолжуваат да се размножуваат. На овој начин, првичниот тумор создаден на едно место, може да предизвика создавање на вторичен тумор на друго место (слика 21-1).

Малигните тумори или канцери се класифицираат според ембрионалното потекло на ткивото од каде произлегуваат. Повеќето (>80%) се **карциноми**, тумори кои настануваат од ендодермалните или ектодермалните ткива, какви што се кожата или епителниот слој на клетки кој ги обвиткува внатрешните органи и жлезди. Најголемиот дел од туморите на дебелото црево, градите, простатата и белите дробови се карциноми**. Леукемијата и лимфомата** се малигни тумори на крвотворните клетки од коскената срцевина и се смета дека на нив отпаѓа околу 9% од инциденцата на туморите во САД. Леукемиите се размножуваат како поединечни клетки, додека лимфомите тежнеат да растат како туморски маси. **Саркомите**, кои поретко се јавуваат (околу 1% од инциденцата на туморите во САД), произлегуваат од мезодермалните сврзни ткива, какви што се коските, масното ткиво и ‘рскавицата.

ДЕТАЛНА СЛИКА 21-1:
Растење на туморот и метастази



(а) Една клетка, во областа на ткивата, се здобива со видоизменети карактеристики на растење. (б) Променетата клетка се размножува, со што се формира маса од локализирани туморски клетки или бенигнен тумор. (в) Туморските клетки сè повеќе и повеќе навлегуваат во околното ткиво, ширејќи се до базалниот слој на клетки кој лежи под ткивото. Сега туморот се класифицира како малигнен. (г) Малигниот тумор метастазира со создавање на мали групи од канцерозни клетки кои се одделуваат од туморот и со помош на крвта или лимфата се пренесуваат на други места во организмот. (Приспособено од J. Darnell et al., 1990, Molecular Cell Biology, 2nd ed., Scientific American Books.)

Малигна трансформација на клетките

Дејствувањето врз нормалните култури на клетки со хемиски карциногени, со зрачење и со одредени вируси можат да ја променат нивната морфологија и карактеристики на растење. Овој процес, кој се нарекува **трансформација**, во одредени случаи, им овозможува на клетките да создаваат тумори кога ќе се внесат во животните. За ваквите клетки, за кои се вели дека претрпеле малигна трансформација, често ин витро покажуваат особини кои се слични како оние на туморските клетки. На пример, тие имаат намалена потреба од факторите за раст и серумот, немаат потреба од цврста подлога за која би се прикрепиле и растат на начин кој не е зависен од густината на клетки. Од ова произлегува дека и канцерозните и трансформираните клетки можат непрекинато да се размножуваат. Тоа би значело дека за сите практични цели, тие се бесмртни. Поради сличните особини на канцерските клетки и трансформираните клетки, процесот на малигна трансформација интензивно се проучува како модел за предизвикување на рак.

Се покажа дека разни хемиски агенси (на пр., ДНК-анкилирачките реагенси) и физички агенеси (на пр., ултравиолетова светлина и јонизирачко зрачење) кои предизивкуваат мутации, можат да предизвикаат трансформација. Се покажа дека предизвикувањето на малигна трансформација со хемиски и физички карциногени се одвива во повеќе чекори и во најмалку две различни фази: иницирање и промовирање. Иницирањето вклучува промени во геномот, но само по себе, не доведува до малигна трансформација. По иницирањето, промоторите го стимулираат делењето на клетките, што доведува до малигна трансформација.

Значењето на мутагенезата (процес на формирање и развој на мутации) за предизвикувањето на ракот најдобро е илустрирано со болеста како што е ксеродерма пигментозум. Ова ретко заболување е предизвикано од дефект во генот кој го кодира

ензимот за поправка на ДНК молекулот, наречен УВ-специфична ендонуклеаза. Лицата кои го имаат ова заболување не се во состојба да ги поправат мутациите кои се предизвикани од УВ зрачење, поради што развиваат рак на кожата.

Одредени вируси се поврзани со ракот, како кај експерименталните животни така и кај луѓето. Полиома и СВ40 вирусите долго време се проучуваат кај животинските модели, благодарение на што досега има многу сознанија за улогата на вирусните протеини кои предизвикуваат трансформација. И во двата случаи, ДНК од вирусните геноми се интегрира по случаен избор во хромозомската ДНК од домаќинот, вклучувајќи ги тука и неколкуте гени кои се прикажуваат многу рано во процесот на вируснато удвојување (репликација). СВ40 кодира два рани протеини наречени голем Т и мал Т, а полиомата кодира три рани протеини наречени голем Т, среден Т и мал Т. Секој од овие протеини игра улога во малигната трансформација на вирусно заразените клетки.

Во човечките карциноми, за кои постои јасно утврдена врска со вирусната инфекција, спаѓаат:

- Т-клеточна леукемија/лимфома кај возрасните, која се јавува кај мал процент на лица кои се заразени со човечкиот вирус на Т-клеточна леукемија-1 (ХТЛВ-1).
- Саркомот на Капоши, кој е поврзана со човечкиот херпес вирус-8 (ХХВ-8), а обично се јавува и кај лицата кои се заразени со ХИВ-1.
- Карциномот на цервиксот, кој е поврзана со инфекцијата од страна на еден од неколкуте серотипови на човечкиот папилома вирус (ХПВ). Вакцината против ХПВ е објаснета во делот Клинички фокус на страница 534.
- Карциномот на црниот дроб, кој се јавува по инфекција со хепатит Б вирусот (ХБВ).
- Инфекцијата со Епштајн-Баровиот вирус (ЕБВ), која е поврзана со појава на Буркитовиот лимфом кај населението во Африка и карциномот на носот и фаринксот (назофарингиален карцином) главно кај населението од Азија.

Од сите овие вируси кои се поврзани со карциномите, ЕБВ, ХБВ и ХПВ претставуваат ДНК вируси, исто како што се СВ40 и полиомот, додека ХТЛВ-1 и ХХВ-8 се РНК вируси. Повеќето од РНК вируси се размножуваат во цитозолот на клетката и не можат да предизвикаат малигна трансформација. Исклучок од ова се ретровирусите, кои најпрвин својата РНК ја препишуваат во ДНК со помош на ензимот спротивна (реверзна) транскриптаза и потоа го вметнуваат овој ДНК препис во ДНК од домаќинот. Овој циклус на размножување е сличен на циклусите за размножување на цитопатичните (оние кои се карактеризираат со патолошки промени во клетките) ретровируси, како што се ХИВ-1 и ХИВ-2 и на циклусите на размножување на транформирачките ретровируси, како што се ХТЛВ-1, кои предизвикуваат промени во клетките на домаќинот, што доведува до малигна трансформација. Во одредени случаи, транформацијата која е поттикната од ретровирусите со присуство на **онкогени** во вирусниот геном или „канцерозни гени“.

Еден од најдобро проучените трансформирачки ретровируси е **вирусот на Русовиот сарком**. Овој вирус поседува онкоген наречен v-*src,* кој кодира протеин киназа од 60-кДа (v-Src) која ја катализира фосфорилацијата на тирозинските остатоци од протеините. Првиот доказ дека самите онкогени може да предизвикаат малигна трансформација дојде од проучувањето на v-src од вирусот на Русовиот сарком. Кога овој онкоген е клониран и е вметнат во култура од нормални клетки, клетките претрпувале малигна трансформација.

Онкогените и предизвикувањето рак

Во 1971 година, Хавард Темин сугерира дека онкогените може да не се карактеристични само за транформирачките вируси, туку дека може да се најдат и во нормалните здрави клетки. Всушност, тој тврдел дека вирусот може да ги земе онкогените од геномот на инфицираната клетка. Овие гени тој ги нарекол **протоонкогени** или **клеточни онкогени** (c-*onc*), за да направи разлика од нивните вирусни двојници (v-*onc*). Во средината на 70-тите години од дваесеттиот век, Џ.М. Бишоп и Х.Е. Вармус во нормалните здрави клетки од пиле утврдиле постоење на ДНК секвенца, која е хомологна на v-*src* од вирусот на Русовиот сарком. Овој клеточен онкоген е наречен c-*src*. Од овие почетни откритија до денес, утврдено е постоење на бројни клеточни онкогени.

Споредбата на секвенците помеѓу вирусните и клеточните онкогени покажала дека тие во текот на целата еволуцијата останале скоро исти . Иако повеќето од клеточните онкогени се состојат од серија на егзони и интрони, нивните вирусни двојници се состојат од непрекинати кодирачки секвенци, што укажува дека вирусот можеби го стекнал онкогенот во фазите на создавање на РНК преписот, од кого во текот на обработката на РНК се отстранети интроните. Кодирачки секвенци на вирусните онкогени и соодветните протоонкогени поседуваат висок степен на сличност (хомологност). Во одредени случаи, постоењето на една точкаста мутација е сето тоа што го разликува вирусниот онкоген од соодветниот прото-онкоген. Денес е јасно дека најголемиот дел, ако не и сите, онкогени (и вирусни и клеточни) потекнуваат од клеточните гени кои ги кодираат различните протеини за контрола на растењето. Освен тоа, протеините кои се кодирани од одреден онкоген и неговиот соодветен прото-онкоген, пројавуваат многу слични функции. Како што е опишано подолу, претворањето на прото-онкогенот во онкоген, во голем број случаи е проследено со промена во нивото на прикажување на нормалниот протеин за контрола на растот.

Гените кои се асоцирани со ракот имаат голем број функции

Хомеостазата кај нормалните ткива се одржува преку прецизно регулирани процеси за размножување на клетките кои се во рамнотежа со нивното умирање. Доколку оваа рамнотежа се наруши, било да е во корист на фазата на клеточното размножување или во корист на фазата на клеточното изумирање, ќе дојде до појава на развој на рак. Се покажа дека онкогените и туморските супресорни гени играат важна улога во овој процес, било да го регулираат размножувањето на клетките било да го регулираат нивното изумирање. Гените кои се асоцирани со ракот може да се поделат на три категории кои ги одразуваат нивните различни активности, концизно прикажани во табела 21-1.

Предизвикување на размножување на клетките

Една од категориите на протоонкогени и нивните онкогени двојници кодираат протеини кои предизвикуваат размножување на клетките. Некои од овие протеини функционираат како фактори за раст или како рецептори за факторите за растење. Овде спаѓаат *sis*, кој кодира форма на факторот за растење на крвните плочки и *fms*, *erbB* и *neu*, кои кодираат рецептори за факторите за растење. Обично една популација од клетки лачи фактор за растење кој дејствува врз другата популација на клетки кои го носат рецепторот за тој фактор и на тој начин стимулираат размножување на

ТАБЕЛА 21-1 Функционална класификација на гените кои се асоцирани со ракот

Тип/име	Природа на генскиот продукт
КАТЕГОРИЈА 1: ГЕНИ КОИ ПРЕДИЗВИКУВААТ РАЗМНОЖУВАЊЕ НА КЛЕТКИТЕ	
Фактори за раст sis	Форма на фактор за раст на крвни плочки (ФРКП)
Рецептори за факторите за растење	Рецептори за колонија-стимулирачки фактор 1 (КСФ-1)
fms	Рецептор за епидермичниот фактор за растење (ЕФР)
erbB	Протеин (ХЕР2) поврзан со ЕФР рецепторот
neu	Рецептор за тироидниот хормон
erbA	
Пренесувачи на сигнали	
src	Тирозин киназа
abl	Тирозин киназа
Ha-ras	ГТФ-врзувачки протеин со ГТФ-азна активност
N-ras	ГТФ-врзувачки протеин со ГТФ-азна активност
K-ras	ГТФ-врзувачки протеин со ГТФ-азна активност
Транскрипциски фактори	
jun	Комонента од факторот за транскрипција АП 1
fos	Комонента од факторот за транскрипција АП 1
myc	ДНК-врзувачки протеин
КАТЕГОРИЈА 2: ТУМОР-СУПРЕСОРНИ ГЕНИ, ИНХИБИТОРИ НА РАЗМНОЖУВАЊЕ НА КЛЕТКИТЕ*	
Rb	Супресор на ретинобластомот
P53	Јадрен фосфопротеин кој инхибира создавање на ситноклеточен карцином во белите дробови и карцином во дебелото црево
DCC	Супресор на карцином на дебелото црево
AC	Супресор на аденоматозна полипоза
NF1	Супресор на неврофиброматоза
WT1	Супресор на Вилмсов тумор
КАТЕГОРИЈА 3: ГЕНИ КОИ ЈА РЕГУЛИРААТ ПРОГРАМИРАНАТА КЛЕТОЧНА СМРТ	
bcl-2	Супресор на апоптоза

* Активноста на нормалните продукти на гените од категорија 2 го инхибира напредувањето на клеточниот циклус. Губењето на генот или негово деактивирање со мутација во даденият тумор-супресорниот ген е асоциран со појавата на даденият карцином.

вторичната популација. Несоодветното прикажување или на факторот за раст или на неговиот рецептор може да доведе до неконтролирано размножување.

Другите онкогени од оваа категорија кодираат продукти кои учествуваат во функционирањето на патеките за пренесување на сигналите или дејствуваат како транскрипциски фактори. Онкогените *src* и *abl* кодираат тирозин кинази, а онкогенот *ras* кодира протеин кој се врзува за ГТФ. Продуктите на овие гени дејствуваат како пренесувачи на сигналот. *Myc*, *jun* и *fos* онкогените кодираат фактори за транскрипција. Прекумерната активност на кој било од овие онкогени може да доведе до неконтролирано размножување.

Инхибиција на размножуавњето на клетките

Втората категорија на гени кои се поврзани со ракот, наречена **тумор-супресорни гени** или против-онкогени, кодираат протеини кои го инхибираат прекумерното клеточно размножување. Деактивирањето на овие гени ќе доведе до неконтролирано размножување на клетките. Прототипот на оваа категорија на онкогени е *Rb*, генот за ретинобластомот. Наследниот ретинобластом е редок вид на рак кој се јавува во детската возраст, каде туморот се развива од претходничките на невралните клетки во незрелата очна мрежница (ретина). Заболеното дете наследува мутиран *Rb* алел. Соматското деактивирање на преостанатиот *Rb* алел доведува до раст на туморот. Веројатно, единствената најчеста генетска абнормалност на ракот кај луѓето е мутацијата на *p53*, која кодира јадрен фосфопротеин. Се покажа дека над 90% од ситноклеточните карциноми на белите дробови и над 50% од карциномите на градата и дебелото црево се поврзани со мутациите во *p53*.

Регулирање на програмираната клеточна смрт

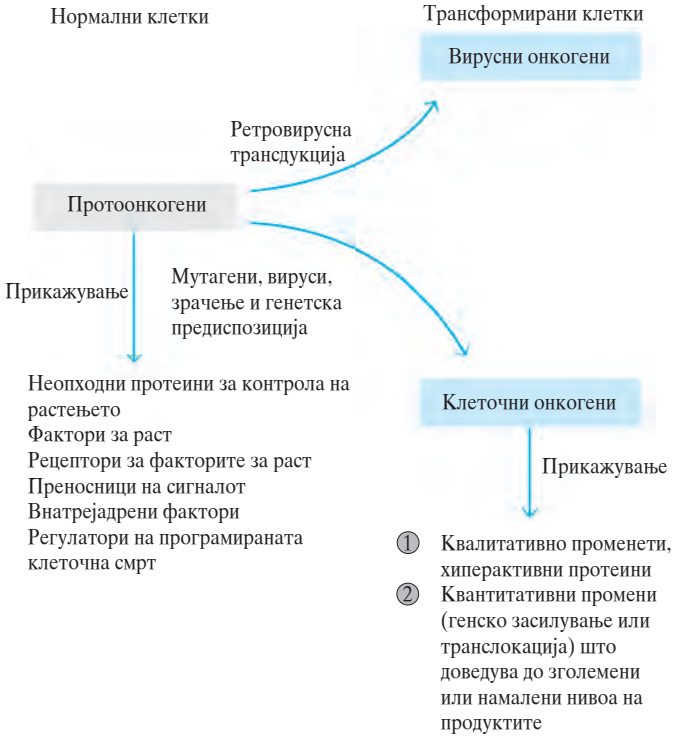
Третата категорија на гени поврзани со ракот ја регулира програмираната клеточна смрт. Овие гени кодираат протеини кои или блокираат или ја предизвикуваат апоптозата. Во оваа категорија спаѓа и противапоптозниот ген *bcl-2*. Овој онкоген првично беше откриен поради неговата врска со Б-клеточниот фоликуларен лимфом. Од неговото откривање, се покажа дека *bcl-2* игра важна улога при регулирање на клеточниот опстанок во текот на хематопоезата и при опстанокот на одбраните Б и

Т-клетки за време на зреењето. Интересно е тоа што Епштајн-Баровиот вирус содржи ген кој има секвенца слична на онаа кај *bcl-2* и може да дејствува на сличен начин во спречувањето на појавата на апоптозата.

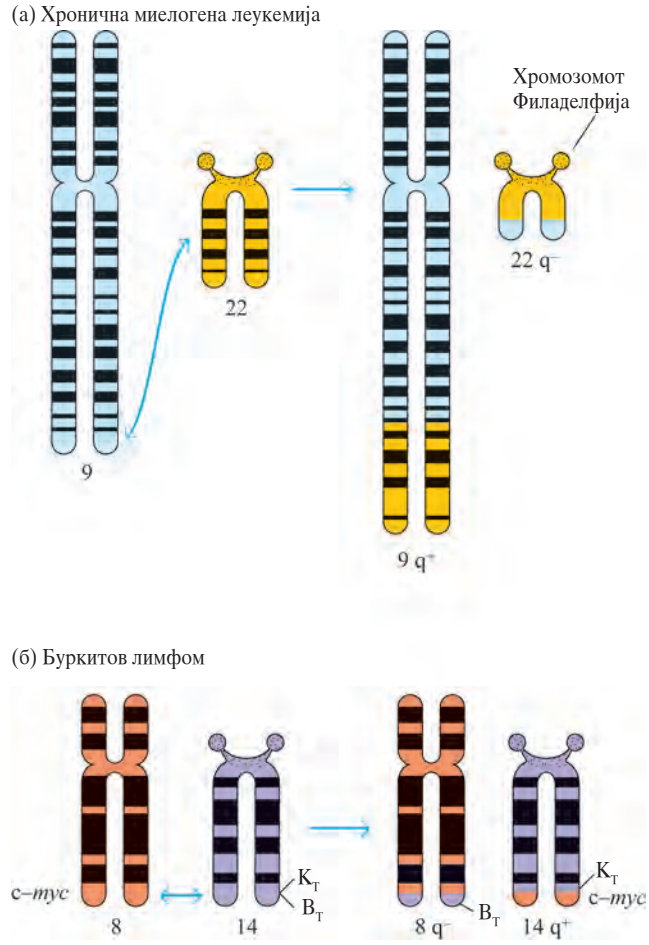
Протоонкогените може да се претворат во онкогени

Во 1972 година, Р.Џ. Хуебнер и Г.Џ. Тодаро сугерирале дека мутациите или генското преуредување на протоонкогените со карициногенеза или вирусите можат да ја изменат нормално регулираната работа на овие гени, претворајќи ги во потентни онкогени кои предизвикуваат рак (слика 21-2). Во годините кои следеа се собраа значајни докази кои ја поддржуваат оваа хипотеза. На пример, некои малигно променети клетки содржат повеќе копии од клеточните онкогени, што доведува до зголемено создавање на онкогенските продукти. Ваквото засилување на клеточните онкогени се забележува кај клетките од различни видови на човечките карциноми. Неколку групи утврдија постоење на c-*myc* онкогени во хомогено обоените региони (ХОР) (homogeneously staining regions = HSRs) на хромозомите од клетките на ракот. Овие ХОР претставуваат голема група на засилени гени.

Освен тоа, некои од клетките на ракот покажуваат хромозомска транслокација, обично преместување на прото-онкогенот од едно место на хромозомот на друго (слика 21-3). На пример, во голем број на случаи со Буркитов лимфом, c-*myc* се пренесува од неговата нормалната позиција на хромозомот 8 до позиција на хромозомот



СЛИКА 21-2 Во претворањето на протоонкогените во онкогени можат да бидат вклучени мутации, што доведува до создавање на квалитативно различни генски продукти, ДНК засилување или транслокација, што доведува до зголемено или намалено прикажување на генските продукти.



СЛИКА 21-3 Хромозомска транслокација кај (а) хроничната миелогена леукемија (ХМЛ) и (б) Буркитовиот лимфом. Леукемичните клетки од сите пациенти со ХМЛ го создржат т.н. Филаделфија хромозом, што се јавува како резултат на транслокацијата помеѓу хромозомите 9 и 22. Карциномските клетки од некои од пациентите со Буркитовиот лимфом покажуваат транслокација која доведува до преместување на дел од хрозмомот 8 во хромозомот 14. Сега се знае дека во оваа транслокација се вклучува ц-msц клеточен онкоген. Абнормалностите како оваа можат да се откријат со анализите на хромозомите додека тие се во метафаза, во кои тие се бојат во карактеристични светли и темни линии. Нормалните хромозоми се прикажани лево, а транслоцираните хромозоми десно.

14, која се наоѓа блиску до засилувачот на имуноглобулинската тешка верига. Како резултат од оваа транслокација, се зголемува синтезата на протеинот c-Мус, кој функционира како фактор на транскрипција.

Мутацијата во протоонкогените исто така е асоцирана со трансформацијата на клетките и може да биде главниот механизам со кој хемиските карциногени или рендгенското зрачење го претвораат прото-онкогенот во онкоген кој предизвикува рак. На пример, единечни точкасти мутации во c-*ras* се откриени во значаен дел од неколку човечки карциноми, вклучувајќи ги тука и карциномите на мочниот меур, дебелото црево и белите дробови. Некои од овие мутации се покажало дека ја намалуваат способноста на Ras да се поврзе со ГТФ-аза-стимулирачките протеин, со што се продолжува состојбата на Ras во која тој го стимулира растењето..



СЛИКА 21-4 Модел на последователни генски промени кои доведуваат до појава на рак на дебелото црево со метастази. Секоја од фазите кои се наведени на дното од сликата е морфолошки различна, што им овозможува на истражувачите да ја одредат секвенцата на генските промени. *(Приспособено од B. Vogelstein and K. W. Kinzler, 1993,* Trends in Genetics 9:138.*)*

Интегрирањето на вирусот во геномот од клетката на домаќинот, може само по себе да послужи за претворање на протоонкогенот во трансформирачки онкоген. На пример, вирусот на птичјата леукоза (ВПЛ) (avian leukosis virus = ALV) претставува ретровирус кој иако не поседува какви било вирусни онкогени, способен е да изврши трансформација на Б-клетките во лимфоми. Се покажа дека овој посебен ретровирус се интегрира во протоонкогенот с-*myc*, кој содржи три егзони. Функцијата на егзонот 1 од с-*myc* е сè уште непозната, додека егзоните 2 и 3 го кодираат протеинот Мус. Вметнувањето на ВПЛ помеѓу егзоните 1 и 2, се покажа дека во одредени случаи, му овозможува на провирусниот започнувач (промотор) да го зголеми препишувањето на егзоните 2 и 3, што доведува до зголемена синтеза на с-Мус.

Се покажа дека голем број на тумори лачат значително зголемени нивоа на факторите за раст или прикажуваат зголемени количини на рецепторите за факторите за растење. Прикажувањето на рецепторот за епидермалниот фактор за растење, кој е кодиран од с-*erbB*, се покажа дека е зголемено кај голем број на карциномски клетки. Кај ракот на дојката, зголемената синтеза на рецепторот за факторот за раст, кој е кодиран од с-*neu*, се поврзува со слабата прогноза.

Предизвикувањето на ракот е процес кој се одвива во повеќе чекори

Развојот од нормална клетка во карциномска клетка обично претставува повеќечекорен процес на клонална еволуција движена од серија на соматски мутации кои прогресивно ја доведуваат клетката од состојба на нормален раст во претканцерозна состојба и конечно во канцерозна состојба.

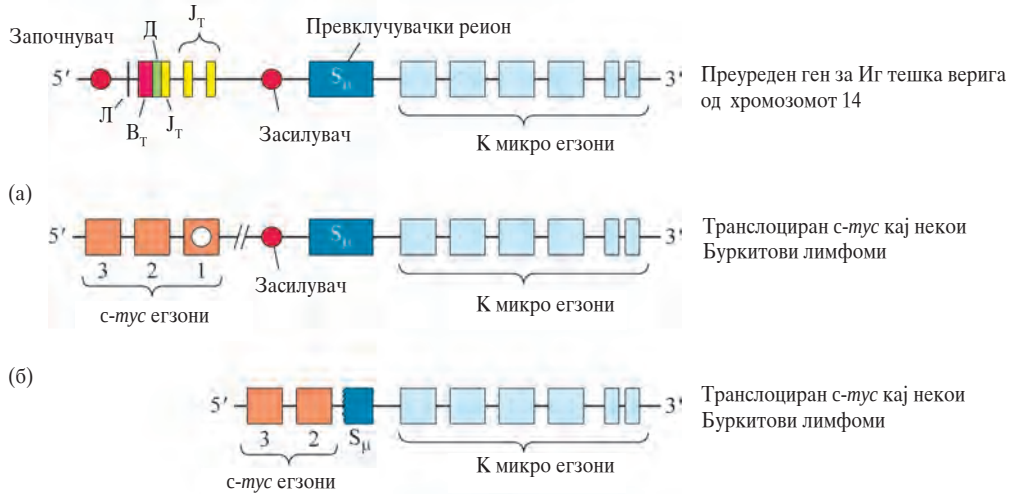
Присуството на илјадниците хромозомски абнормалности кај преткарциномските и карциномските клетки ја поддржува претпоставката за улогата на повеќекратните мутации во развојот на ракот. Ова е докажано кај ракот на дебелото црево кај луѓето, кој се развива во серија на добро дефинирани морфолошки фази (слика 21-4). Ракот на дебелото црево започнува во вид на мали бенигни тумори во колоректалниот епител, наречени аденоми. Овие претканцерозни тумори растат, постепено стануваат сè повеќе неорганизирани во нивната внатреклеточна организација додека не се здобијат со малигнен фенотип. Морфолошките фази на ракот на дебелото црево се доведуваат во заемна врска со секвенцата на генските промени, кои вклучуваат деактивирање или губење на три туморно-супресорни гени (*APC, DCC и p53*) и активирање на еден клеточен онкоген за размножување (К-*ras*).

Испитувањата вршени врз трансгени глувци исто така ја поддржуваат улогата на повеќе чекори во предизвикувањето на ракот. Трансгените глувци кои прикажуваат високи нивоа на Bcl-2 создаваат популација на мали мирувачки Б-клетки, кои потекнуваат од вторичните лимфоидни фоликули и имаат значително продолжен животен век. Постепено, овие трансгени глувци, добиваат лимфоми. Анализата на лимфомите од овие глувци покажа дека приближно половина од нив имаат транслокација на с-*myc* во локусот за тешката имуноглобулинска верига. Синергизамот на Мус и Bcl-2 е нагласен кај двојно-трансгените глувци кои се добиени со парење на трансгениот глушец *bcl-2*$^+$ со трансгениот глушец *myc*$^+$. Овие глувци многу брзо добиваат леукемија.

Тумори на имуниот систем

Туморите на имуниот систем се класифицираат како лимфоми или леукемии. Лимфомите се размножуваат како цврсти тумори во лимфоидните ткива, како што се коскената срцевина, лимфните јазли или тимусот. Тука спаѓаат Хочкиновиот и не-Хочкиновиот лимфом. Леукемиите тежнеат да се размножуваат како поединечни клетки и се откриваат благодарение на зголемениот број на клетки во крвта или лимфата. Леукемијата може да се развие и од лимфоидната и од миелоидната клеточна линија. Бидејќи Т-клеточниот карцином предизвикан од ХТЛВ-1 може да се развие и кај Т-клетките кои циркулираат во крвотекот и кај Т-клеточните популации кои ги населуваат ткивата, оваа состојба се нарекува Т-клеточна леукемија/лимфом кај возрасните или ВТЛЛ (adult T-cell leukemia/lymphoma = ATLL)

Историски гледано, според клиничкото напредување на болеста, леукемиите се класифицирале како акутни или хронични. Акутните леукемии се појавуваат ненадејно и напредуваат брзо, додека хроничните леукемии се многу помалку агресивни и се развиваат поспоро како благи заболувања, скоро без никакви симптоми. Овие клинички разлики се однесуваат само на нелекуваните леукемии. Со денешниот начин на лекување, акутните леукемии често имаат добра прогноза, а честопати може да се постигне и трајно повлекување на болеста. Сега, главната разлика помеѓу акутните и хроничните леукемии е зрелоста на клетките кои учествуваат во нив. Акутните леукемии обично произлегуваат од понезрели клетки, додека хроничните леукемии се јавуваат кај зрелите клетки. Акутните леукемии ги вклучуваат **акутната лимфоцитна леукемија (АЛЛ)** и **акутната миелогена леукемија** (**АМЛ**). Овие заболувања имаат брз почеток и се јавуваат на која било возраст. Во



СЛИКА 21-5 Кај голем број пациенти со Буркитов лимфом, ц-msц генот се транслоцира до рупата гени за имуноглобулинската верига на хромозомот 14. Во одредени случаи, целиот ген ц-msц се вметнува близу до засилувачот од тешката верига (а), но во други случаи, само кодирачките егзони (2 и 3) од с-myc се вметнуваат во С микро превклучувачкото место (б). Само егзоните 2 и 3 од с-myc се кодирачки егзони. Транслокацијата може да доведе до прекумерно прикажување на с-Мус.

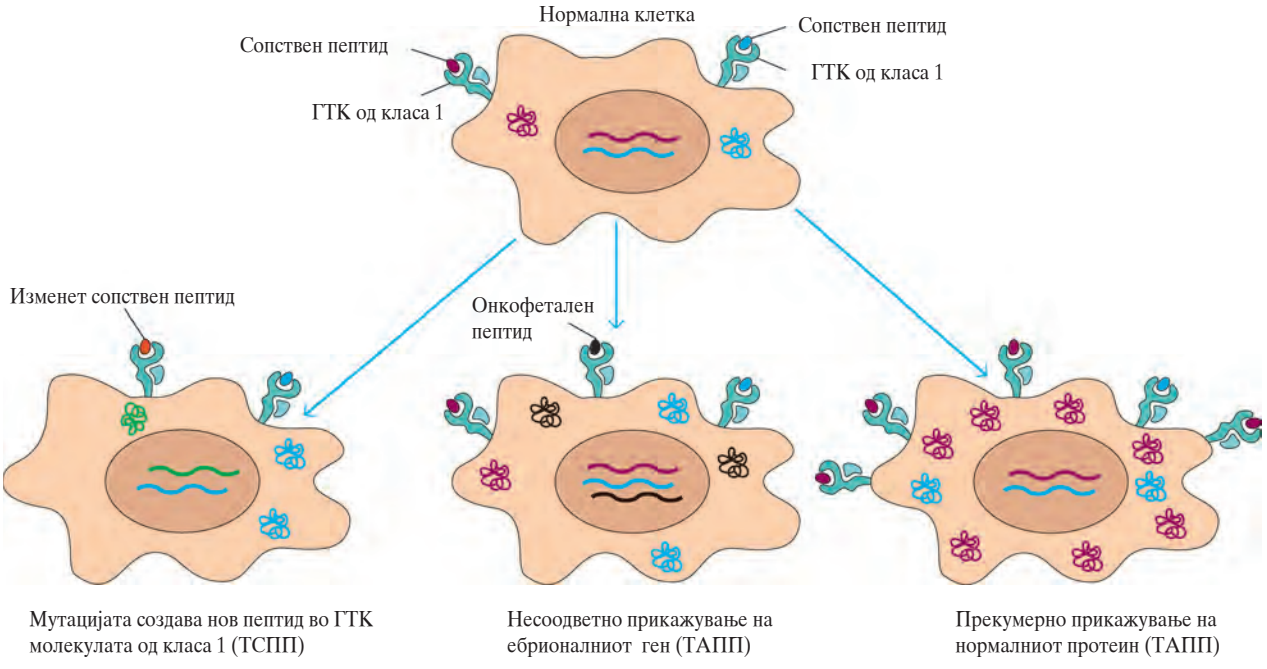
хроничните леукемии спаѓаат хроничната лимфоцитна леукемија (ХЛЛ) и хроничната миелогена леукемија (ХМЛ). Овие болести се развиваат бавно и се среќаваат кај возрасните.

Во настанувањето на одреден број на Б и Т-клеточни леукемии и лимфоми е вклучен еден прото-онкоген, кој е транслоциран во гените за имуноглобулините или за Т-клеточниот рецептор. Најдобро проучена досега е транслокацијата на с-*myc* кај Буркитовиот лимфом и кај глувчешкиот плазмацитом. Кај 75% од пациентите со Буркитовиот лимфом, с-*myc* е транслоциран од хромозомот 8 во групата на гени одговорни за тешката верига од имуноглобулините, сместени на хромозомот 14 (слика 21-3б). Кај преостанатите пациенти, с-*myc* останува во хромозомот 8, а гените за капа и ламбда лесните имуноглобулински вериги се транслоцирани во регионот 3' од с-*myc*. Транслокацијата на капа-генот од хромозомот 2 во хромозомот 8 настанува во 9% од случаите, а транслокацијата на гама-генот од хромозомот 22 во хромозомот 8 настанува во 16% од случаите.

Анализирана е транслокацијата на с-*myc* во групата на гени за Иг тешката верига сместена во хромозомот 14, а во одредени случаи извршена е транслокација на целиот с-*myc* ген во регион блиску до засилувачот на тешката верига. Во други случаи, егзоните 1, 2 и 3 или егзоните 2 и 3 од с-*myc* транслоцирани се до С микро или С алфа превклучувачкото место (слика 21-5). Во секој од случаите, транслокацијата ги отстранува *myc* кодирачките егзони од регулаторните механизми кои делуваат во хромозомот 8 и ги става во регионот на гените за имуноглобулините, доста активно подрачје кое кај овие клетки постојано се прикажува. Истражувани се последиците од засилувачки посредуваните високи нивоа на постојаното *myc* прикажување во лимфоидните клетки кај трансгени глувци. Во една студија создадени се глувци кои содржле трансген составен од сите три с-*myc* егзони и засилувач од имуноглобулинската тешка верига. Од 15 родени трансгени глувчиња, 13 добиле лимфоми од Б-клеточно потекло за неколку месеци по раѓањето.

Туморски противгени

Туморската имунологија, како потдисциплина од имунологијата, се занимава со проучувањето на противгените на туморските клетки и имунот одговор кон овие противгени. Утврдено е постоење на два вида туморски противгени присутни на туморските клетки: тумор специфични **пресадувачки противгени** (**ТСПП**) и со **тумор асоцирани пресадувачки противгени** (**ТАПП**). Тумор специфичните противгени се карактеристични за туморските клетки и не се јавуваат кај нормалните клетки во организмот. Тие можат да се јават како резултат од мутациите во туморските клетки кои почнуваат да создаваат изменети клеточни протеини. Обработувањето на овие протеини во цитозолот ќе доведе до создавање на нови пептиди, кои се прикажуваат со ГТК молекулите од класа 1. Ваквото нешто предизвикува создавање на клеточно посредуван одговор со тумор специфичните ЦТЛ (слика 21-6). Тумор асоцираните противгени, кои не се карактеристични за туморските клетки, можат да претставуваат протеини кои се прикажуваат врз нормалните клетки за време на феталниот развој кога имуниот систем е незрел и не е способен да реагира на нив, но кои обично не се прикажуваат кај возрасните. (Да се има во предвид дека називот „пресадување“ кај ТСПП произлегува од проучувањата во кои овие противени биле откриени, благодарение на нивното пресадување во животно примател со цел да се измери имунолошкиот одговор кон нив). Реактивирањето на ембрионските гени кои ги кодираат овие протеини во тумори кои имаат целосно нови морфолошки карактеристики. Тумор-асоцираните противгени може исто така да бидат протеини кои врз нормалните клетки обично се прикажуваат во екстремно мали количини, но врз туморските клетки се прикажуваат во доста поголема концентрација. Сега се знае дека туморските противгени, кои се препознаваат од страна на човечките Т-клетки, спаѓаат во една од четириве главни категории:



СЛИКА 21-6 **Различни механизми за создавање тумор специфични пресадувачки противгени (ТСПП) и тумор асоцирани пресадувачки противгени (ТАПП).** ТАППсе почеси.

- Противгени кодирани од гени кои исклучиво се прикажуваат од тумори
- Противгени кодирани од разни форми на нормалните гени, кои се изменети благодарение на мутациите
- Противгени кои нормално се прикажуваат само при одделни фази од развитокот или само од одредени клеточни линии
- Противгени кои се прекумерно прикажани кај одредени тумори

Голем број туморски противгени претставуваат клеточни протеини од кои се создаваат пептиди кои се прикажуваат со ГТК молекулите. Обично, овие противгени се идентификуваат по нивната способност да предизвикаат размножување на противген-специфични ЦТЛ или помагачки Т-клетки.

Одредени противгени се специфични за туморот

Тумор специфичните противгени се присутни на туморите кои се предизвикани со хемиски или физички карциногени, како и на некои вирусно предизвикани тумори. Докажувањето на присуството на тумор-специфичните противгени на туморите кои спонтано се развиваат е тешко, бидејќи имуниот одговор против ваквите тумори ги отстранува сите туморски клетки кои носат доволен број на овие противгени, селектирајќи ги на тој начин клетките кои носат мал број на противгени.

Хемиски или физички предизвикани туморни противгени

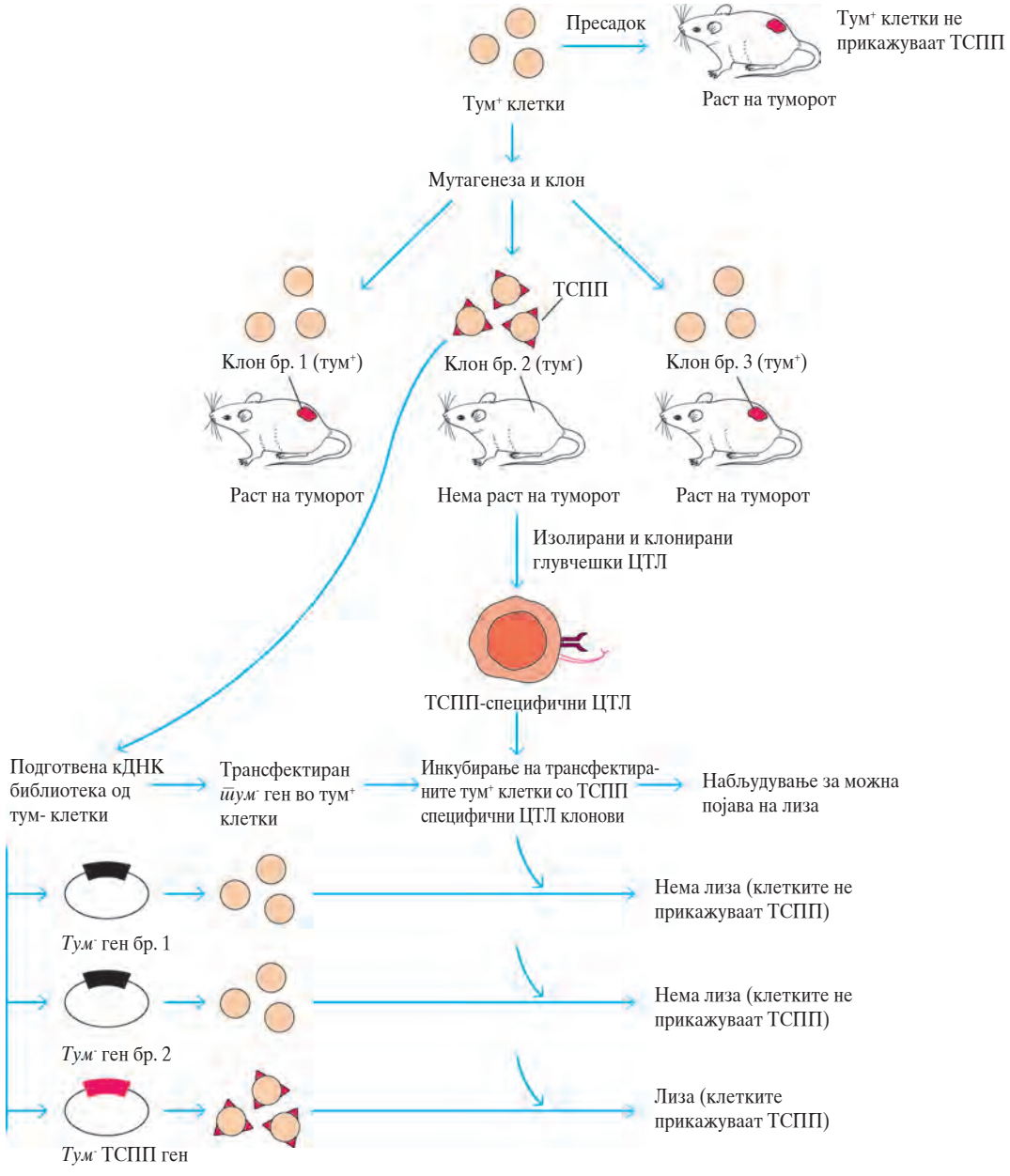
Метилхолантренот и ултравиолетната светлина се два карциногени кои во голема мера се употребуваат за создавање на туморни клеточни линии. Кога на синергични животни им се внесат умртвени клетки од карциногенски предизвикана туморска клеточна линија, животното развива специфичен имун одговор која може да шити од подоцнежен напад од живи клетки од истата линија, но не и од други туморски клеточни линии (табела 21-2). Дури и кога истиот хемиски карциноген предизвикува појава на два одделни тумори на различни места во истото животно, туморските противгени се различни и имунолошкиот одговор создаден против едниот тумор не овозможува заштита и против другиот тумор.

Тешко е да се окарактеризираат тумор-специфичните трансплантациски противгени од хемиски предизвиканите тумори,

ТАБЕЛА 21-2 **Имун одговор против метилхолантренот (МХА) или полиома вирусот (ПВ)***

Пресадени убиени туморски клетки	Живи туморски клетки како дразба	Туморски раст
ХЕМИСКИ ПРЕДИЗВИКАНИ		
Со МХА-предизвикан сарком А	Со МХА-предизвикан сарком А	–
Со МХА-предизвикан сарком А	Со МХА-предизвикан сарком Б	+
ВИРУСНО ПРЕДИЗВИКАН		
Со ПВ-предизвикан сарком А	Со ПВ-предизвикан сарком А	–
Со ПВ-предизвикан сарком А	Со ПВ-предизвикан сарком Б	–
Со ПВ-предизвикан сарком А	Со СВ40-предизвикан сарком Ц	+

* Туморите се предизвикани или од МХА или од ПВ, а убиените клетки од предизвиканите тумори се внесени во сингенични животни, на кои потоа им се внесени живи клетки од посочените туморски линии. Отсуството на раст на туморот, по внесувањето на живи клетки, укажува дека имунолошкиот одговор предизвикан од туморските противгени на убиените клетки овозможува појава на заштита против живите клетки.



СЛИКА 21-7 Една п**остапка за идентификација на гените кои ги кодираат тумор специфични пресадувачки противгени (ТСПП)**. Повеќето ТСПП може да се откријат само со клеточно посредуваното отфрлање кое тие го предизвикуваат. Во првиот дел од оваа постапка, се создава нетуморигенична (тум⁻) клеточна линија. Оваа клеточна линија прикажува ТСПП кои се препознаваат од страна на сингеничните глувци, кои создаваат клеточно посредуван одговор кон нив. За изолирање на генот кој ги кодира ТСПП, се создава една библиотека на космидни гени од тум⁻ клетки. Гените се пренесуваат во туморигеничните тум⁻ клетки, а вака транфектираните клетки се инкубираат со ТСПП - специфични ЦТЛ.

бидејќи не можат да се идентификуваат со нивни предизвикани противтела, туку само преку нивното клеточно посредувано отфрлање. На слика 21-7 е прикажан еден експериментален приод кој овозможува идентификување на гените кои кодираат некои од ТСПП. Кога на глувчешките туморигенични клеточни линии (тум⁺), од кои се создаваат прогресивно растечките тумори, ин витро се дејствува со хемиски мутаген, одредени клетки мутираат, така што повеќе немаат способност да прераснуваат во тумор во сингеничните глувци. Овие мутирани туморски клетки се означни како тум⁻ варијанти. Се покажа дека повеќето тум⁻ варијанти прикажуваат ТСПП кои не се прикажуваат врз оргиналните тум⁺ туморски клеточни линии. Кога клетките тум⁻ ќе се внесат во сингеничните глувци, единствените ТСПП кои ги прикажуваат тум⁻ клетки се препознават од страна на специфични ЦТЛ. ТСПП-специфичните ЦТЛ ги уништуваат тум⁻ туморски клетки, спречувајќи го на тој начин развојот на туморот. За да се утврди кои се гените кои ги кодираат ТСПП прикажани на тум⁻ негативните клеточни линии, се подготвува космидната ДНК библиотека (класа на плазмид-засновани вектори кои носат бактериофаг ламбда кос секвенца) од тум⁻ клетки. Гените од тум⁻ клетки потоа се трансфектирани во оригиналните тум⁺ клетки, кои потоа се тестираат за прикажување на тум⁻ ТСПП спрема

КЛИНИЧКИ ФОКУС

Вакцина која спречува појава на рак

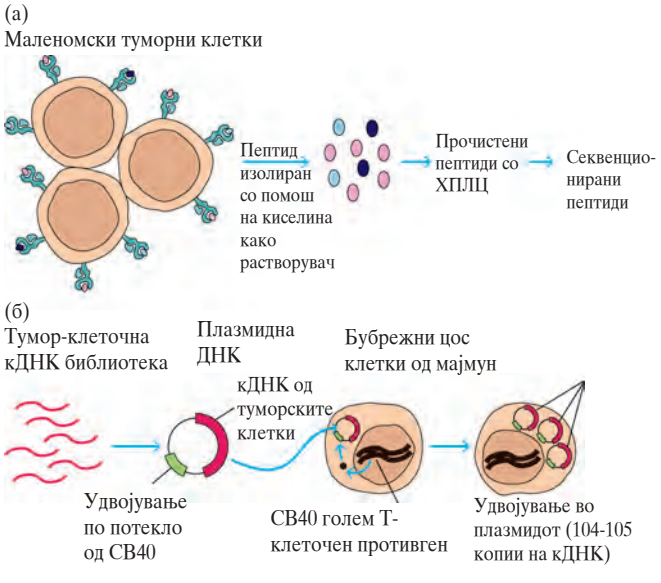
Со исклучок на моноклонските противтела кои целат кон специфични канцерозни клетки (види табела 21-4), повеќето предложени имунотерапии против ракот имаат зничително комплексни протоколи кои наметнуваат следење со софистицирани клинички техники. Според тоа, употребата на овие терапии кај населението со висок ризик од посиромашните заедници и во помалку развиените делови од светот, во најдобар случај останува далечна можност. Наспроти тоа, евтината, лесно достапна и ефикасната вакцина, која би спречила појава на ракот со висока зачестеност, би имала значителен потенцијал за спасување на животи низ целиот свет. Неодманешните проучувања на вакцината за спречување на човечкиот папиломавирис (ХПВ), причинителот на ракот на грлото на матката, покажуваат дека целта на напорите за превенцијата на ракот можеби е на повидок.

Приближно 500000 жени секоја година добаваат рак на грлото на матката, а 270000 умираат од ова болест. Во САД, ракот на грлото на матката е на седмо место на листата на смртоност предизвикана од рак, додека во помалку развениот свет се наоѓа на второ место по смртност кај жените, веднаш по ракот на дојката. Периодичниот преглед на грлото на матката (со употреба на тестот на Папаниколоу или Пап брис) за да откриe постоење на абнормални клеточни инфилтрати значително го намалува ризикот за појава на рак на грлото на матката кај жените, но здравствената програма во која е вклучена рутински изведба на Пап тестот обично е сè уште привилегија само за високо развиените земји.

ХПВ учествува во патогенезата кај над 99% случаите на рак на грлото на матката. Постојат повеќе серотипови на ХПВ, а инфекцијата со голем број од нив предизвикува појава на промени во вид на брадавици во пределот на гениталните органи и аналниот отвор и кај мажите и кај жените. Стапката на ХПВ инфекцијата варира кај различни популации и се движи од околу 7% до околу 60%. Неодамнешните проучувања извршени врз студентките од универзитетот во Вашингтон, покажале дека по 5 години се инфицирале повеќе од 60% од испитаните учесници (кои пред да влезат во испитуваната група биле негативни за ХПВ). Најолем дел од инфекциите се повлекле без да дојде до појава на болест. Се покажало дека со високиот ризик за појава на рак е асоцирана постојаната упорна инфекција, која доведува до појава на внатреепителна неоплазија во грлото на матката. Од дузината ХПВ серотипови кои се широко распространети, два од нив, типовите 16 и 18, се сметаат за одговорни за над 70% од случаите на карцином на грлото на матката, што ги прави идеална цел за вакцината против ракот.

ХПВ е ДНК вирус со геном од околу 8 кб. Вирусот кодира изненадувачка количина на информации за неговиот релативно мал геном, бидеќи препишува информации преку сите три рамки на читање. Помеѓу протеините кои се кодираат од гените на ХПВ се наоѓаат два структурни протеини, Л1 и Л2 и група на неструктурни протеини означени како Е1-Е7. Придонесот на овие протеини за развојот на ракот е добро документирана, каде главниот настан е оневозможувањето на нормалниот процес на апоптоза во инфицираните клетки од страна на вирусниот протеин Е6. Блокирањето на апоптозата е заштитен механизам за адаптација на вирусот. Во нормални услови клетката од домаќинот ќе подлегне на смрт преку апоптоза како одговор на вирусната инфекција. Друг вирусен протеин, Е7, ги активира гените кои го започнуваат клеточниот циклус, што ѝ овозможува на инфицираната клетка да започне да се размножува. Резултатот од сето ова е тоа што ХПВ-ифицираната клетка ја губи способноста да умре по пат на апоптоза и почнува да се размножува, со други зборови станува потенцијална карциномска клетка.

Превенцијата од ракот на грлото на матката е всушност спречување на инфекција со ХПВ. Вирусните протеини Л1 и Л2 од серотипот(вите) кои предизивикуваат рак се кандидати за создавање на профилактичка вакцина. Кога Л1 се прикажува врз транфектираните клеточни линии, завзема форма на честица



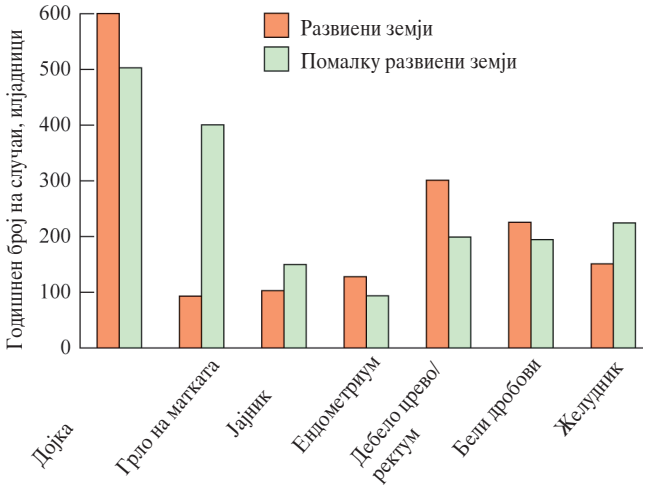
СЛИКА 21-8 Два методи кои се употребуваат за изолирање на туморски противгени кои предизвикуваат појава на тумор-специфични ЦТЛ. За повеќе делали види го текстот.

нивната способност да активираат клонирани ЦТЛ специфични за тум ТСПП. Со овој метод е утврдено постоењето на голем број на различни ТСПП.

Во последните неколку години, два методи го олеснија карактеризирањето на ТСПП (слика 21-8). Во едниот метод, пептидите кои се врзани за класа 1 молекулите од ГТК врз мембраната од туморските клетки се изолираат со киселина како растворувач и потоа се прочистуваат со течна хроматографија под висок притисок (ХПЛЦ). Во некои случаи, се изолира доволно пептид за да се овозможи одредување на неговата секвенца со помош на деградирањето по Едман. Во вториот приод, од туморските клетки се подготвуваат библиотеки на кДНК. Овие кДНК библиотеки привремено со трансфекција се внесуваат во COS клетки, кои претставуваат бубрежни клетки од мајмун, во кои е внесен генот кој го кодира големиот Т-противген на CB40. Кога во овие клетки подоцна со трансфекција ќе се внесат плазмидите кои содржат и кДНК од туморските клетки и гените за удвојување по потекло од CB40. Големиот Т-противген го стимулира удвојувањето на плазмидите, така што во клетка се создаваат од 10^4 до 10^5 копии на плазмидите. Ова доведува до зголемено прикажување на ДНК од туморските клетки.

која ја имитира формата на вирусот. Овие празни честици се наречени вирусовидни честици или ВВЧ (virus-like particles = VLS). Во моментов се тестира вакцина која е составена од ВВЧ придружени со помагач. Два кандидат-продукта се подложени на интензивно клиничко испитување. Едниот вклучува ВВЧ составен од Л1 на ХПВ од серотиповите 6, 11 ,16, 18, кој се дава заедно со стипса како помагач, додека другиот се состои од ВВЧ од Л1 од ХПВ 16 и 18 и се дава со помагчот АСО4 (кој содржи стипса и бактериски липид). Серотиповите 6 и 11 се вклучени во првата спомената вакцина со цел да се насочат против ХПВ типовите кои предивикуваат појава на брадавици во пределот на гениталиите и аналниот отвор и кај мажите и кај жените, како и кон ХПВ типовите кои се поврзани со ракот на грлото на матката кај жените. Вклучувањето на мажите во вакцинираното население ќе помогне да се прекине инфекцискиот циклус во населението. Иако мажите не добиваат ништо од вакцинирањето против ракот на грлото на матката, спречувањето на појавата на грдите израстоци и брадавици може да биде поттик за нив да се вакцинираат.

Во испитувањата извршени на над 2000 жени на возраст од 16 до 25 години, двете кандидат-вакцини покажале завидна ефикасност во спречувањето на појавата на генитални брадавици и постојана ХПВ инфекција. Испитувањата кои се во тек и кои се извршуваат на поголеми групи на испитаници низ целиот свет, ќе покажат дали вакцината е доволно ефикасна за да се лиценцира и да се понуди за примена кај целокупното население. Сè уште постојат важни прашања што треба да се одговорат, како на пример прашањето која популација треба да се опфати со вакцината, се разбира кога и доколку вакцината добие лиценца за употреба. Не е позната вредноста на ХПВ Л1-заснованата вакцина за оние лица кај кои веќе постои ХПВ инфекција. Од ова произлегува дека лицата кои претходно не биле изложени на ХПВ инфекција ќе имаат најголема корист од вакцината. Брзото ширење на ХПВ инфекцијата кај младата суксуално активна популација, дури и кај лицата кои користат кондоми, покажа дека младите жени се најочигледната популација која треба да се покрие со вакцината. Иако се очекува дека решението за примена на вакцина против сексуално преносливите болести ќе предизвика појава на многу полемики, одредена тежина во тие дискусии ќе носи и нејзината цел, односно можноста за големо намалување па дури и искоренување на смртоносниот рак на грлото на матката.



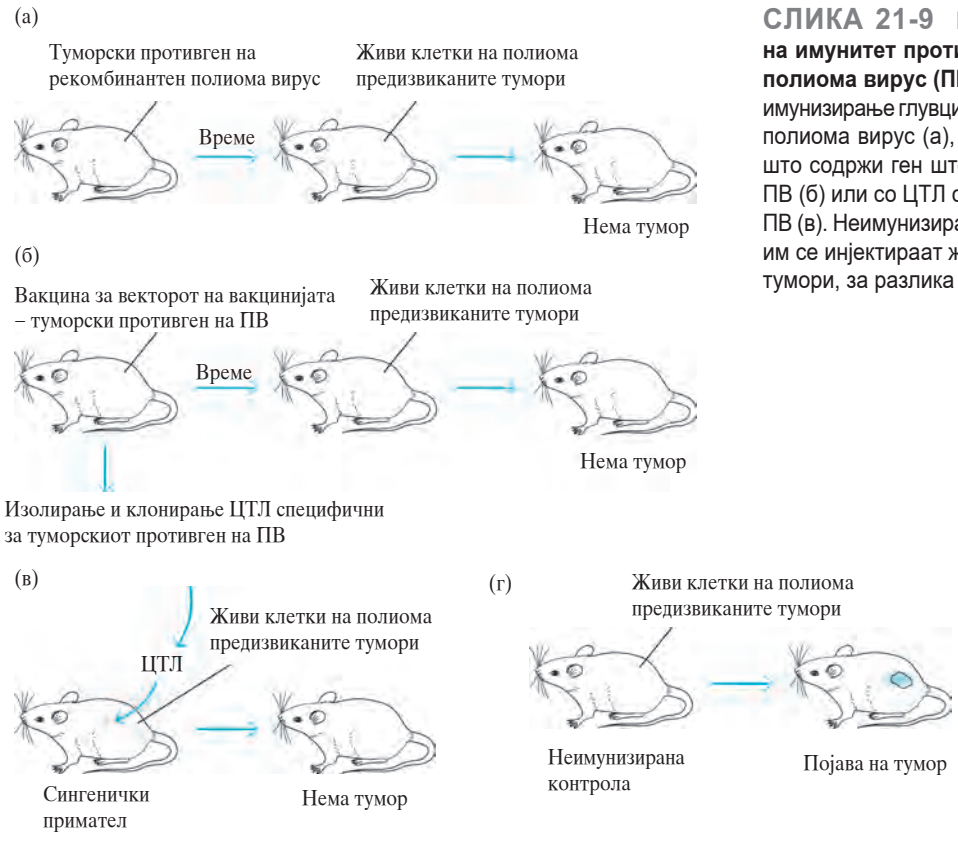
Зачестеноста на најчесто појавуваните карциноми кај жените во равиените и помалку развиените земји. (Извор: *J. Cohen, 2005, High hopes and dilemmas for a cervical cancer vaccine,* Science *308:618*)

Се покажа дека гените кои кодираат некои ТСПП се разликуваат од нормалните клеточни гени по тоа што поседуваат една точкаста мутација. Понатамошното карактеризирање на ТСПП покажа дека повеќето од нив не се протеини од мембрната на клетката, туку, како што видовме претходно, се кратки пептиди кои потекнуваат од цитозолните протеини, кои се обработени и прикажани заедно со ГТК молекулите од класа 1.

Туморните противгени можат да бидат предизвикани од вируси

Наспроти хемиски предизвиканите тумори, вирусно предизвиканите тумори прикажуваат туморски противгени кои се исти за сите тумори предизвикани од истиот вирус. На пример, кога кај сингеничните глувци ќе се внесат мртви клетки од определен полиома предизвикан тумор, примателите на овие клетки се заштитени од подоцнежните контакти со живи клетки од било кој од туморите кои се предизвикани од полиома (види табела 21-2). Исто така, кога ќе се пренесат лимфоцити од глувци со вирусно предизвикан тумор во здрави сингенични примтели, примателите ќе ги отфрлаат сите подоцнежни калеми по потекло од кој било сингеничен тумор предизвикан од истиот вирус. Во случајот и на СВ40- и на полиома предизвиканите тумори, присуството на туморските противгени се поврзува со неопластачната состојба на клетката. Кај луѓето, се покажа дека клетките од Буркитовиот лимфом прикажуваат јадрен противген од Епштајн-Баровиот вирус, кој навистина може да биде тумор-специфичен противген за овој тип на тумор. Протеините Е6 и Е7 од човечкиот папилома вирус (ХПВ) се среќаваат кај повеќе од 80% од инвазивните карциноми на грлото на матката, што претставува најјасен пример за вирусно кодиран туморски противген. Според тоа, постои голема заинтересираност за тестирање како кандидат-вакцини на ХПВ, за кои е докажно дека се тесно поврзани со ракот на грлото на матката (види Клинички фокус).

Потенцијалната вредност на овие вирусно предизвикани туморски противгени може да се види кај животинските модели. Во еден експеримент, се покажа дека глувците кои се имунизирани со препарат од туморски противген на полиома вирусот добиен со генетско инжињерство, се имуни на подоцнежно внесување на живи клетки од полиома предизвиканиот тумор. Во друг експеримент, глувците се имунизирани со вакцина за вирусот на вакцинијата, во која која е внесен ген кој го кодира туморскиот противген на полиомата. Овие глувци, исто така, развиле имунитет, отфрлајќи



СЛИКА 21-9 Експериментално предизвикување на имунитет против туморски клетки предизвикани од полиома вирус (ПВ). Туморски имунитет се постигнува со имунизирање глувци со туморски противген на рекомбинантен полиома вирус (а), со вакцина за векторот на вакцинијата што содржи ген што го енкодира туморскиот противген на ПВ (б) или со ЦТЛ специфични за туморскиот противген на ПВ (в). Неимунизираните глувци (г) развиваат тумори кога ќе им се инјектираат живи клетки на полиома предизвиканите тумори, за разлика од имунизираните глувци.

ги сите подоцна внесени живи клетки на полиома предизвиканите тумори. (слика 21-9).

Повеќето туморни противгени не се карактеристични само за туморските клетки

Повеќето туморски противгени не се карактеристични само за туморските клетки, туку се среќаваат и на здравите клетки. Овие тумор-асоцирани трансплантациски противгени може да претставуваат протеини кои обично се прикажуваат врз клетките од фетусот, но не и врз нормалните клетките кај возрасните или може да претставуваат протеини кои се прикажани врз нормалните клетки во мноу мали количини, за разлика од туморските клетки врз кои се прикажани во многу поголеми кличини. Во вторава категорија се вклучени фактори за раст и рецепторите за факторите за раст, како и протеини кои се кодирани од онкогени.

Неколку видови на рецептори за факторите за раст можат да бидат прикажани во значително поголеми количини врз туморските клетки, поради што можат да служат како тумор-асоцирани противгени. На пример, голем број на туморски клетки прикажуваат рецептор за епидермалниот фактор за раст (ЕФР), во количини кои се за 100 пати повисоки од оние кај нормалните клетки. Пример за прекумерно прикажан фактор за раст, кој може да служи како тумор-асоциран противген, е трансферинскиот фактор за раст, наречен п97, кој помага во пренесувањето на железото во клетките. Додека нормалните клетки прикажуваат помалку од 8000 молекули на п97 по клетка, клетките од меленомот прикажуваат од 50000 до 500000 молекули на п97 по клетка. Генот кој го кодира п97 е клониран и е направена рекомбинантна вакцинија вирусна вакцина во која бил вметнат клонираниот ген. Кога оваа инцекција е дадена на глувци, таа предизвикувала појава и на хуморален и на клеточно посредуван имунитет, кои ги штителе глувците од живите клетки на меланомот, на кои бил прикажан п97 противгенот. Ваквите резултати го нагласуваат значењето на иидентификацијата на туморските противгени, како можни цели за туморската имунотерапија.

Онкофетални туморски противгени

Онкофеталните туморски противгени, како што кажува името, се среќаваат не само кај туморските клетки, туку и кај нормалните клетки од фетусот. Овие противгени се јавуваат рано во развојот на ембрионот, уште пред имуниот систем да стекне имунокомпетентност. Ако овие противгени се појават подоцна врз туморските клетки, тие ќе бидат препознавани како туѓи и ќе предизвикаат појава на имун одговор. Два добро проучени онкофетални противгени се **алфа-фетопротеинот** (**АФП**) и **карцноембрионскиот противген** (**КЕП**) (carcinoembryonic antien = CEA).

Иако серумската концентрација на АФП паѓа од милиграмски количини во феталниот серум до нанограмско ниво во серумот на здраво возрасно лице, кај најолем број од пациентите со рак на црниот дроб се среќаваат зголемени нивоа на АПФ (табела 21-3). КЕП претставува мембрански гликопротеин кој се среќава во

ТАБЕЛА 21-3 Зголемување на алфа-фетопротеинот (АФП) и карциноембрионскиот противген (КЕП) во серумот од пациенти со разни заболувања

Заболување	Број на тестирани пациенти	% на пациенти со зголемено ниво на АФП и КЕП
АФП > 400 мкг/мл		
Алкохолна цироза	Н.П.	0
Хепатит	Н.П.	1
Хепатоцелуларен карцином	Н.П.	69
Останати карциноми	Н.П.	0
КЕП > 10 мг/мл		
Туморски		
Карцином на дојка	125	14
Карцином на дебело црево	544	35
и ректум	79	19
Карцином на желудник	228	2
Некарциномски малигнитет	55	35
Карцином на панкреас	181	26
Карцином на бели дробови		
Нетуморски		
Алкохолна цироза	120	2
Холециститис	39	1
Немалигни заболувања	115	0
Белодробен емфизем	49	4
Ректални полипи	90	1
Улцеративен колит	146	5

* Иако кај некои здрави возрасни лица може да се најдат АФП и КЕП во траги, никој нема да има толку високи вредности како оние кои се наведени во табелава.

гастроинтестиналните и црнодробните клетки кај од 2 до 6 месеци стар фетус. Приближно 90% од пациентите со напреднат рак на дебелото црево и ректумот (колоректален) и 50% од пациентите со ран тумор на дебелото црево и ректумот, имаат зголемено серумско ниво на КЕП. Некои од пациентите со други видови на карцином, исто така можат да имаат зголемено серумско ниво на КЕП. Сепак, бидејќи АФП и КЕП можат да се најдат во траги кај некои нормални возрасни лица, како и при одредени нетуморски заболувања, присуството на овие онкофетални противгени нема дијагностичко значење за туморите, туку служи за следење на нивниот развој. Така ако на пример пациентот имал операција за отстранување на карциномот на дебелото црево и ректумот, по операцијата треба да се следи серумското ниво на КЕП. Зголемувањето на нивото на КЕП е показател за повторна појава на туморот.

Онкогените протеини како туморски противгени

Се покажа дека одреден број на тумори прикажуваат тумор-асоцирани противгени, кои се кодирани од клеточните онкогени. Овие противгени се исто така присутни и на нормалните клетки и се кодирани од соодветните протоонкогени. Во голем број случаи нема квалитативна разлика помеѓу продуктите на онкогените и протоонкогените. Наместо тоа, зголемените нивоа на онкогенскиот продукт може да бидат препознаени од имуниот систем. На пример, како што беше спомнато претходно, клетките од ракот на дојката покажуваат зголемено прикажување на Неу протеинот кој е кодиран од онкоген и кој претставува, рецептор на факторот за раст. Нормалните клетки кај возрасните го прикажуваат Неу протеинот во траги. Поради оваа разлика во нивото на Неу, против-Неу моноклонските противтела може да ги препознаат и селективно да ги елиминират клетките од ракот на дојката, без да ги оштетат нормалните клетки.

ТАТП на човечките меланоми

Постоењето на неколку тумор-асоцирани трансплантациски противгени е идентификувано во човечките меланоми. Пет од нив, МАГЕ-1, МАГЕ-3, БАГЕ, ГАГЕ-1 и ГАГЕ-2, се противгени од онкофетален тип. Секој од овие противгени е прикажан во значителни количини врз човечките меланомски тумори, како и врз одреден број на други човечки тумори. Овие протеини не се прикажуваат на клетките од нормалните добро развиени ткива, освен во тестисите кај клетките од зародишната линија. Освен тоа, на клетките од меланомот се прикажува и прекумерно количество на одреден број диференцијациски противгени, кои се прикажуваат врз нормалните маланоцити, што им овозможува да функционираат како тумор-асоцирани трансплантациски противгени. Во овие противгени спаѓаат тирозинот, гп100, Мелан-А или МАРТ-1 и гп75..

Неколку од човечките меланомски туморски противгени се заеднички со одреден број на други тумори. Околу 40% од човечките меланоми се позитивни за МАГЕ-1, а околу 75% се позитивни за МАГЕ-2 или -3. Покрај меланомите, значителен процент од глиомските клеточни линии, туморите на дојката, неситно-клеточните белодробни тумори и карциномите на главата или вратот прикажуваат МАГЕ-1, -2 или -3. Овие заеднички туморски противгени можат да се искористат при клиничкото лекување. Може да се создаде туморска вакцина која ќе ги прикажува заедничките противгени за лекување на голем број од овие тумори, како што е објаснето на крајот од ова поглавје.

Туморите можат да предизвикаат силен имун одговор

Од експерименталните животински модели, може да се види дека туморските противгени можат да предизвикаат хуморални и клеточно посредувани одговори, кои ќе доведат до уништување на туморската клетка. Во основа, се покажа дека клеточно посредуваниот одговор игра поважна улоа. Голем број на тумори предизвикуваат појава и активирање на тумор-специфични ЦТЛ, кои ги препознаваат туморските противгени кои се прикажани од ГТК од класа 1 на туморските клетки. Сепак, како што ќе видиме подоцна, кај голем број на тумори има намалено прикажување на ГТК молекулите од класа 1, со што се ограничува улогата на специфичните ЦТЛ во уништувањето на туморите.

КПУ и макрофагите играат важна улога во препознавањето на туморот

Препознавањето на туморските клетки од страна на КПУ не е ограничено со ГТК. Според тоа, активноста на овие клетки не е загрозена од намаленото прикажување на ГТК, кое се јавува кај одредени туморски клетки. Во одредени случаи, Фк рецепторите на КПУ може да се врзат за туморските клетки кои се обвиткани со противтело, што доведува до ПЗКЦ. На значењето на КПУ во туморскиот имунитет е укажано благодарение на еден вид на

мутантни глувци и со помош на **Чедијак-Хигашиевиот синдром** кај луѓето. И во двата случаи, генскиот дефект предизвикува значително намалување на функцијата на КПУ, како резултат на што доаѓа до зголемена појава на одредени видови на тумори.

Голем број на набљудувања укажуваат дека активираните макрофаги исто така играат значајна улога во имунот одговор кон туморите. На пример, многу често се забележува дека макрофагите се групираат околу туморите, поради што нивното присуство се поврзува со повлекувањето на туморот. Како и КПУ и макрофагите не се ограничени со ГТК. Тие прикажуваат Фк рецептори, што им овозможува да се врзат за противтелото на туморските клетки и да посредуваат во ПЗКЦ. Противтуморската активност на активираните макрофаги најверојатно е посредувана со литичките ензими и реактивните кислородни и азотни меѓупродукти. Освен тоа, активираните макрофаги лачат цитокин наречен тумор-некротизирачки фактор (ТНФ-алфа), кој поседува моќна противтуморска активност. Се покажа дека кога ТНФ-алфа ќе се внесе кај животни кои имаат тумор, предизвикува крварење и некроза на туморот.

Туморското избегнување на имуниот систем

Иако е очигледно дека имуниот систем може да оговори на туморските клетки, фактот што толку многу лица умираат секоја година од рак, укажува дека имуниот одговор кон туморските клетки често не е ефикасен. Во овој дел се објаснети неколку механизми преку кои туморските клетки го избегнуваат имуниот систем.

Противтуморските противтела може да го засилат растот на туморот

По откривањето дека може да создадат противтела против тумор-специфичните противгени, се правеа обиди да се заштитат животните од развојот на туморот преку активна имунизација со туморски противгени или преку пасивна имунизација со противтуморски противтела. Изненадување за истражувачите беше дека овие имунизации не покажаа заштита од развојот на туморот, туку напротив, во голем број на случаи дури го засилуваа неговото напредување.

Способноста на имунолошкиот серум да го засили растот на туморите подоцна беше проучувано во ин витро реакциите на клеточно посредуваната лиза на лимфоцитите (КПЛ) (cell-mediated lympholysis = CML). Се покажа дека серумот земен од животни со напреднат развој на туморот ја блокира КПЛ реакцијата, додека серумот земен од животни кои имаат тумор во повлекување имал мала или воопшто немал блокирачка активност. К. Е. Хелстром и И. Хелстром ги проширија овие сознанија со наодот дека децата со напредната форма на невробластом во својот серум имаат високи нивоа на некои блокирачки фактори, додека децата кои имаат невробластом во повлекување ги немаат ваквите фактори. Почнувајќи од овие први наоди, се покажа дека блокирачките фактори се асоцирани со бројни човечки тумори.

Во одредени случаи, самото противтуморско противтело дејствува како блокирачки фактор. Најверојатно противтелото се врзува за тумор-специфичните противгени и ги маскира, оневозможувајќи им на цитотоксичните Т-клетки да ги препознаат. Во голем број на случаи, блокирачките фактори не се само противтела, туку комплекси од противтела со туморски противгени. Иако се покажа дека овие имуни комплекси го блокираат ЦТЛ одговорот, не е познат механизамот на ова попречување. Комплексите исто така може да ја попречат и ПЗКЦ, преку врзување за Фк рецепторите на КПУ или макрофагите, блокирајќи ја на тој начин нивната активност.

Противтелата можат да ги приспособуваат туморските противгени

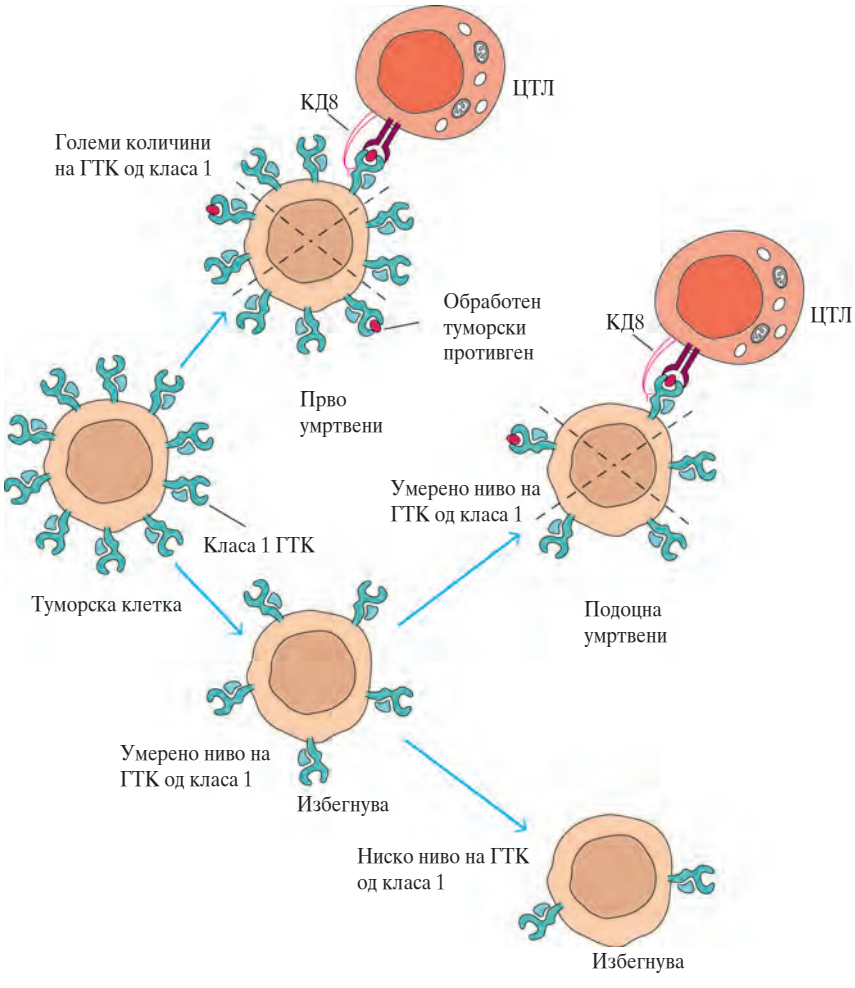
Се покажа дека одредени тумор-специфични противгени можат да исчезнат од површината на туморските клетки во присуство на противтело во серумот и повторно да се прикажат подоцна, кога противтелото повеќе нема да биде присутно. Овој феномен, наречен приспособување на противгените, венаш се забележува кога леукемичните Т-клетки ќе се внесат во глувци кои претходно се имунизирани со леукемичниот Т-клеточен противген (ТЛ противген). Овие глувци развиваат висок титар на против-ТЛ противтело, кое се врзува за ТЛ противгенот на леукемичните клетки и предизвикува негово покривање, ендоцитоза и/или отфрлање на комплексот противген-противтело. Се додека противтелото е присутно, овие леукемични Т-клетки не прикажуваат ТЛ противген и не можат да бидат отстранети.

Туморските клетки често прикажуваат ниски нивоа на ГТК молекули од класа 1

Бидејќи КД8$^+$ ЦТЛ препознаваат само противген кој е асоциран со ГТК молекулите од класа 1, секоја промена во прикажувањето на класа 1 молекулите од ГТК врз туморските клетки, може да предизвика голем ефект врз ЦТЛ-посредуваниот имун одговор. Малигната трансформација на клетките многу често е асоцирана со намалување (или со целосната загуба) на ГТК молекулите од класа 1, а се покажа и дека одреден број на тумори прикажуваат намалено ниво на ГТК молекули од класа 1. Како што е прикажано на слика 21-10, самиот имун одговор може да игра улога во избирањето за туморските клетки со намалено прикажување на ГТК од класа 1, откога со поголема готовност ќе се отстранат оние клетки кои имаат нормално прикажување на ГТК. Намалувањето на прикажувањето на ГТК од класа 1 често е поврзано со напреднат развој на туморот, така што отсуството на ГТК молекулите врз површината на туморските клетки во основа претставува показател за лош исход на болеста.

Туморските клетки можат да обезбедат слаби костимулаторни сигнали

Активирањето на Т-клетките има потреба од активирачки сигнал, кој настанува со препознавањето на комплексот пептид-ГТК молекул од страна на Т-клеточниот рецептор и костимулаторен сигнал, кој настанува од заемното дејство помеѓу Б7 молекулот на противген-прикажувачките клетки и КД28 молекулот на Т-клетките. И двата сигнали се потребни за да се предизвика создавање на ИЛ-2 и размножување на Т-клетки. Слабата имуногеност на голем број туморски клетки во најголем дел може да се јави како последица од недостатокот на костимулаторните молекули. Без доволен број на противген прикажувачки клетки во непосредна близина на туморот, Т-клетките ќе примат само делумен сигнал за активирање, што може да доведе до клонална анергија.



СЛИКА 21-10 Намалувањето на прикажувањето на ГТК од класа 1 врз туморските клетки може да му овозможи на туморот да го избегне ЦТЛ-посредуваното препознавање. Самиот имун одговор може да игра улога во селектирањето на туморските клетки кои прикажуваат ниски нивоа на ГТК молекулите преку повластеното отстранување на клетките кои прикажуваат високи нивоа на молекулите од класа 1. На тој начин, клетките од малигните тумори кој прикажуваат мал број на ГТК молекули можат да го избегнат ЦТЛ-посредуваното уништување.

Туморска имунотерапија

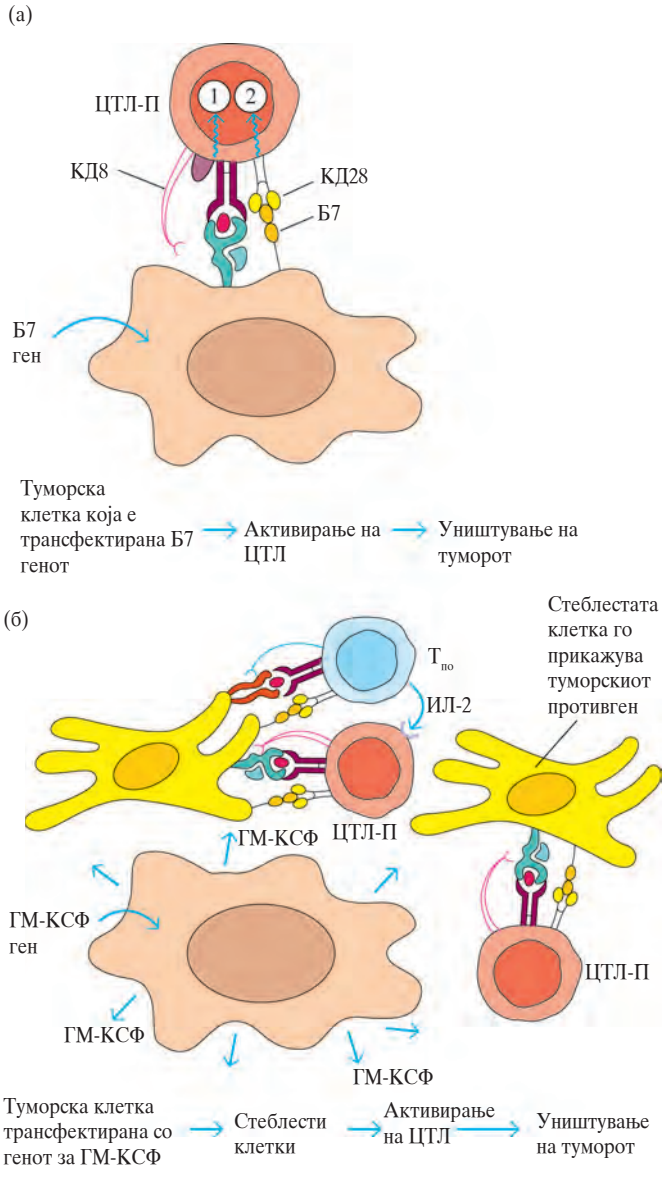
Имунотерапијата на туморите се изведува во неколку форми. Во лекувањето може да биде вклучено и засилувањето на активноста на имуниот систем преку употреба на помагач или цитокин или со употрба на уште поспецифичен приод, како на пример внесување на моноклонско противтело кое е насочено против противгенот на специфичниот вид тумор. Во следниов дел се опишани имунотерапевтските средства кои денес се употребуваат кај луѓето, како и приоди кои се сè уште во фаза на испитување, а кои можат да обезбедат корисни клинички продукти за борба против ракот во иднина.

Манипулацијата со костимулаторните сигнали може да го засили имунитетот

Неколку истражувачки групи покажаа дека туморскиот имунитет може да се засили со обезбедување на костимулаторен сигнал кој е неопходен за активирање на претходниците на ЦТЛ (ЦТЛ-П, види Поглавје 14). Кога глувчешките ЦТЛ-П ќе се инкубират ин витро со меланомските клетки, доаѓа до препознавање на противгенот, но доколку има отсуство на костимулаторен сигнал ЦТЛ-П не се размножуваат и не преминуваат во ефекторни ЦТЛ. Меѓутоа кога на меланомските клетки со трансфекција ќе им се вметне генот кој го кодира Б7 лигандот, ЦТЛ-П се менуваат и стануваат ефекторни ЦТЛ.

Овие наоди нудат возможност дека Б-7 трансфектираните туморски клетки можеби учествуваат во предизвикувањето на ЦТЛ ин виво. На пример, кога П. Линсли, Л. Чен и нивните соработници внесле $Б7^+$ меланом клетки во глувци кои имале меланом, меланомот целосно се повлекол кај повеќе од 40% од глувците. С. Таунсенд и Џ. Алисон користеле сличен приод во вакцинирање на глувците против малигнен меланом. Нормалните глувци најпрвин ги имунизирале со озрачени меланомски клетки трансфектирани со Б7, а потоа им внесувале неизменети малигни меланомски клетки. Се покажало дека оваа „вакцина“ заштитува голем процент од глувците (слика 21-11а). Се очекува дека слична вакцина може да спречи појава на метастази по хируршкото отстранување на првичниот меланом кај луѓето.

Бидејќи човечките мелономски противгени се наоѓаат и врз голем број други различни тумори кај луѓето, можно е да се создаде панел од Б7-трансфектирани миеломски клеточни линии, на кои им е одредено кои туморски противени и кои ХЛА молекули се прикажуваат. Во овој приод, најпрвин ќе се одреди туморскиот противген(и) кој се прикажува на туморот од пациентот, а потоа пациентот ќе се вакцинира со озрачени Б7-трансфектирани клеточни линии кои прикажуваат сличен туморен противген(и).



СЛИКА 21-11 Употреба на трансфектирани туморски клетки во имунотерапијата на туморите. (а) Туморските клетки се трансфектираат со генот за Б7, кој овозможува прикажување на Б7 костимулаторниот молекул, што ги оспособува да го обезбедат активирачки сигнал (1) и костимулаторен сигнал (2) за ЦТЛ-П. Како резултат на оваа комбинација од сигнали, ЦТЛ-П преминуваат во ефекторни ЦТЛ, кои што можат да посредуваат во уништувањето на туморот. Всушност, трансфектираната туморска клетка дејствува како противген прикажувачка клетка. (б) Трансфекцијата на туморските клетки со генот кој го кодира ГМ-КСФ им овозможува на туморските клетки да излачуваат големи количини на ГМ-КСФ. Овој цитокин ќе ги активира стеблести клетки во околината на туморот, овозможувајќи им да ги прикажат туморските противгени на $T_{по}$ клетки и ЦТЛ-П.

Засилувањето на активноста на ППК може да го приспособи туморскиот имунитет

Се покажа дека доколку глувчешките стеблести клетки најпрвин се размножуваат во присуство на ГМ-КСФ и се инкубираат заедно со туморските фрагменти, а потоа повторно се внесат во истиот глушец, можат да ги активираат и $T_{по}$ клетки и ЦТЛ специфични за туморските противгени. Кога подоцна во глувците се внесат живи туморски клетки, тие покажуваат туморски имунитет. Овие експерименти доведоа до создавање на бројни приоди кои имаат за цел да ја зголемат популацијата противген прикажувачките клетки, за овие подоцна да ги активираат $T_{по}$ клетки и ЦТЛ специфични за туморските противгени.

Еден од приодите кои се испитуваат е да се направи трансфекција на туморските клетки со генот кој го кодира ГМ-КСФ. Кога овие изменети туморски клетки повторно се внесат во пациентот, ќе лачат ГМ-КСФ, засилувајќи го на тој начин создавањето и активирањето на противен прикажувачките клетки, особено на стеблестите клетки. Како што овие стеблести клетки се насобираат околу туморските клетки, ГМ-КСФ кој се излачува од страна на туморските клетки ќе го засили прикажувањето на туморските противгени на $T_{по}$ клетки и ЦТЛ од страна на стеблестите клетки (слика 21-11б).

Друг начин да се зголеми популацијата на стеблестите клетки е да се направи култура од стеблести клетки, која би потекнувала од клетките зачетници на крвните клетки кои се наоѓаат во периферната крв, во присуство на ГМ-КСФ, ТНФ-алфа и ИЛ-4. Овие три цитокини предизвикуваат создавање на голем број стеблести клетки. Доколку овие стеблести клетки се надразнат со фрагменти од туморот и потоа повторно се внесат во пациентот, можат да ги активираат $T_{по}$ и $T_{цт}$ клетки кои се специфични за туморските противгени. Дали овие очекувања се оправдани, ќе покажат понатамошните испитувања.

За засилување на туморскиот имунитет се користат голем број на помагачи, каде спаѓаат ослабените видови на *Mycobacterium bovis* наречен бацилус Калмет-Жерин (БКЖ) и *Corynebacterium parvuum*. Овие помагачи ги активираат макрофагите, зголемувајќи го нивното прикажување на различни видови на цитокини, ГТК молекули од класа 2 и Б7 костимулаторниот молекул. Активираните макрофаги се подобри активирачи на $T_{по}$ клетки, што доведува до општо зголемување на хуморалниот и клеточно посредуваниот одговор. Досега, помагачите покажаа скромни терапевтски резултати.

Терапијата со цитокините го зголемува имуниот одговор кон туморите

Изолирањето и клонирањето на разни цитокински гени го олесни нивното создавање во големи количини. Развиени се голем број на експериментални и клинички приоди за употреба на рекомбинантните цитокини, сами или во комбинација, за да се зголеми имуниот одговор против туморите. Меѓу цитокините кои се разгледувале за можна имунотерапија против туморите се наоѓаат ИФН-алфа, -бета и -гама, ИЛ-2, -4, -6 и -12, ГМ-КСФ и ТНФ. Овие испитувања повремено даваат охрабрувачки резултати, а ИЛ-2 дури и се лиценцираше за употреба, сам или во комбинација со други агенси (како што е ИФН-алфа), за лекување на напреднатата форма на карцином на бубрег и за метастатската форма на меланомот.

Најважната пречка на цитокинската терапија претставува комплексноста на самата цитокинска мрежа, така што може да биде многу тешко прецизно да се предвиди како интервенцијата со даден рекомбинантен цитокин ќе влијае врз создавањето на другите

цитокини. Имајќи предвид дека одредени цитокини делуваат антагонистички, можно е дека давањето на одреден рекомбинантен цитокин кој е наменет да засили одреден дел од имунот одговор, всушност ќе доведе до задушување (супресија). Освен тоа, имунотерапијата со цитокините е отежената поради тешкотиите кои се јавуваат кога цитокинот треба да се даде локално. Во одредени случаи, се покажа дека системското внесување на големи количини даден цитокин доведува до сериозни, па дури и животнозагрозувачки последици.

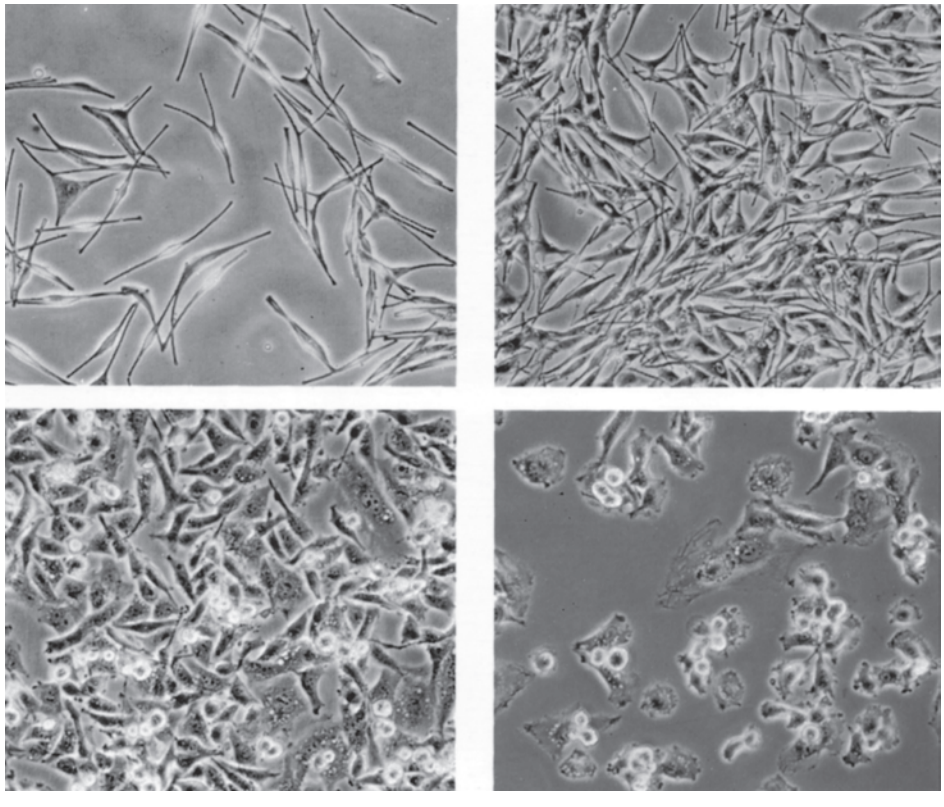
Интерферони

Сега се достапни големи количества на прочистени рекомбинантни препарати кои ги содржат интерфероните, ИФН-алфа, ИФН -бета и ИФН -гама. Од сите нив, само ИФН-алфа е лиценциран за употреба во лекувањето на човечките карциноми, вклучувајќи ги тука неколкуте типови на лимфоидниот карцином (леукемијата со влакнести клетки, хроничната миелогена леукемија, кожниот Т-клеточен лимфом и не-Хочкинов лимфом) и цврстите тумори, како што се меланомот, Капошиевиот сарком и карциномот на бубрезите.

Интерферон-посредуваната противтуморска активност може да вклучи неколку механизми. Се покажа дека сите три видови на интерферони го зголемуваат прикажувањето на ГТК од класа 1 врз туморските клетки. Исто така, се покажа дека ИФН-гама го зголемува прикажувањето на ГТК од класа 2 врз макрофагите. Имајќи го предвид фактот дека кај клетките од малигните тумори има намалување на нивото на прикажани ГТК молекули од класа 1, способноста на интерфероните повторно да го зголемат прикажувањето на ГТК молекулите може да доведе до зголемување на активноста на ЦТЛ кон туморите. Освен тоа, се покажа дека интерфероните ја спречуваат ин витро клеточната делба, како на нормалните така и на малигно променетите клетки. Можно е дел од противтуморските ефекти на интерфероните да се должат на нивната способност директно да предизвикаат спречување на размножувањето на туморските клетки. И на крајот, ИФН-гама директно или индиректно ја зголемува активноста на $T_{цт}$ клетки, макрофагите и КПУ, односно на сите оние клетки кои играат улога во имунот одговор против туморските клетки.

Тумор некротизирачки фактори

Во одредени случаи, се покажа дека тумор некротизирачките фактори ТНФ-алфа и ТНФ-бета пројавуваат директно противтуморско дејство, убивајќи одредени туморски клетки и намалувајќи ја стапката на размножување на другите, поштедувајќи ги во исто време здравите клетки (слика 21-12). Во присуство на ТНФ-алфа и ТНФ-бета во тумурот се јавуваат видливи крвавења, при што доаѓа до негово повлекување. Исто така, се покажа дека ТНФ-алфа го спречува со тумор-предизвиканото создавање на нови крвни садови (ангиогенеза) преку оштетувањето на ендотелните клетки од крвните садови во непосредната околина на туморот, поради што се намалува протокот на крв и дотокот на кислород во туморот, кои се неопходни за напредувањето на туморскиот раст.



СЛИКА 21-12 Фотомикрографиите на култура од нормални меланоцити (*горе*) и на култура од меланомски карциномски клетки (*долу*) во присуство (*лево*) и отсуство (*десно*) на тумор некротизирачкиот фактор (ТНФ-алфа). Забележете дека во присуство на ТНФ-алфа, карциномските клетки престануваат да се размножуваат, за разлика од нормалните клетки на кои ТНФ-алфа нема никаков ефект. [Од L.J. Old, 1988, Scientific American 258(5):59]

ТАБЕЛА 21-4 Моноклонски противтела кои се одобрени за лекување на човечки карциноми

Име	Трговско име	Се користи за лекување на	Одобрено година
Ритуксимаб	Ритуксан	Не-Хочкинов лимфом	1997
Трастузумаб	Херцептин	Карцином на дојка	1998
Гемтузумаб озогамицин*	Милотарг	Акутна миелогена лекемија (АМЛ)	2000
Алемтузумаб	Кампат	Хронична лимфоцитна лекемија (ХЛЛ)	2001
Ибритумомаб тиуксетан*	Зевалин	Не-Хочкинов лимфом	2002
Тоситумомаб *	Бексар	Не-Хочкинов лимфом	2003
Цетуксимаб	Ербитукс	Карцином на дебело црево и ректум, карцином на глава и врат	2004 2006
Бевацизумаб		Карцином на дебело црево и ректум	2004

*Конјугирано моноклонско противтело

Моноклонските противтела се ефикасни при лекување на одредени тумори

Моноклонските противтела (МПт) долго време се користат на најразлични начини како експериментални имунотерпаветски агенси за лекување на туморите. Во моментов околу осум различни видови на МПт се лиценцирани и се употребуваат во лекувањето на различни видови на карциноми. На табела 21-4 се дадени сите моноклонски противтела кои се одобрени за употреба од страна Американската агенција за безбедна храна и лекови, како и листа на карциномите за кои е одобрена нивната примена. МПт може да бидат „голи“, односно немодифицирани или може да бидат поврзани со материја која ја зголемува нивната ефикасност. Обично за нив се врзуваат отрови, хемиски материи и радиоактивните честици, кои така врзани се доставуваат до целната клетка.

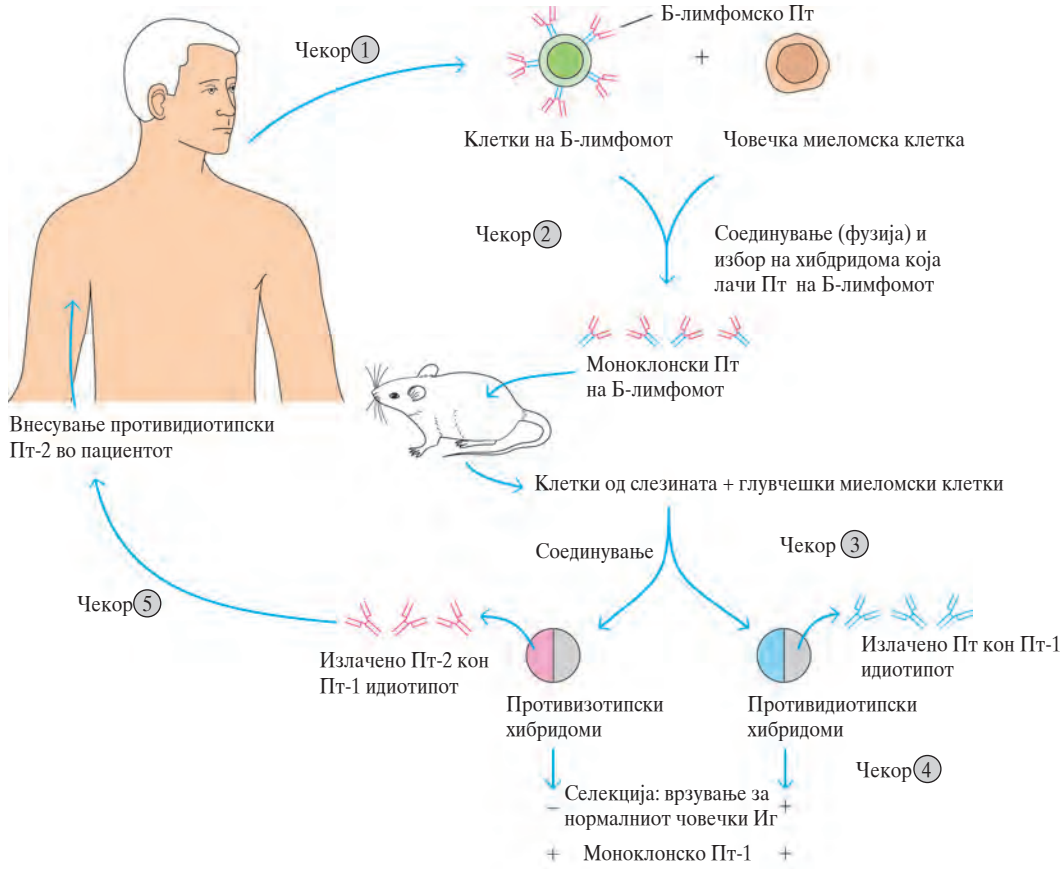
Во еден од раните успеси при лекувањето со моноклонско противтело, Р. Леви и неговите соработници успешно лекувале 64-годишен маж со терминална фаза на Б-клеточен лимфом. Во времето кога лекувањето започнало, лимфомот веќе метастазирал во црниот дроб, слезината, коскената срцевина и периферната крв. Бидејќи ова претставувало Б-клеточен карцином, противтелата кои биле врзани за клеточната мембрана на сите карциномски клетки го имале истиот идиотип. Со процедурата која е прикажана на слика 21-13, овие истражувачи создале глувчешко моноклонско противтело специфично за идиотипот на Б-лимфомот. Кога ова моноклонско противидиотипско противтело го внесле во пациентот, тоа специфично се врзало за клетките на Б-лимфомот, бидејќи само овие клетки го прикажувале тој одреден идиотип. Бидејќи клетките на Б-лимфомот се прифатливи за комплемент-посредувана лиза, моноклонското противтело го активирало комплементниот систем и ги лизирало лимфомските клетки, без да предизвика оштетување на нормалните клетки. По четири инјекции од ова противидиотипско моноклонско противтело, туморот почнал да се повлекува и овој пациент влегол во необично долг период од комплетно повлекување на туморот.

Неодамна, Леви и неговите колеги употребиле директна имунизација за да го регрутираат имуниот систем на пациентот за напад на нивниот Б-клеточен лимфом. Во клиничко испитување на 41 пациент со Б-клеточен лимфом, изолирани се преуредените имуноглобулински гени од лимфомот на секој пациент и се користени за кодирање на синтезата на рекомбинирантни имуноглобулини кои наликуваат на идиотипот кој е типичен за туморот на пациентот. Секој од овие Иг се комбинира со хемоцијанинот кој потекнува од еден вид на школка (ШХЦ), мал протеин кој често се користи како протеински носач поради неговото успешно обезбедување на Т-клеточната помош. Пациентите биле имунизирани со сопствените тумор-специфични противгени, односно со имунолобулините кои имале единствен (уникатен) идиотип карактеристичен за нивниот лимфом. Околу 50% од пациентите почнале да создаваат противидиотипски противтела против нивните тумори. Она што е значајно е дека кај 20 од пациентите со противидиотипски одговор, но не и кај другите, е забележан подобрен клинички исход. Всушност, кај 2 од 20 пациенти имало комплетно повлекување на туморот.

Вообичаениот приод насочен кон идиотипите бара специфичен реагенс за секој пациент со лимфом. Ова е доста скапо и не може да се користи како општ терапевтски приод за илјадниците пациенти кај кои секоја година се дијагностицира присуство на Б-клеточен лимфом. Повообичаената терапија со моноклонски противтела за Б-клеточниот лимфом се заснова врз фактот што повеќето Б-клетки, независно дали се нормални или карциномски, имаат различни линиски противгени. На пример, моноклонското противтело Ритуксимаб, кое е насочено кон КД20 Б-клеточниот обележувач, нашироко се користи за лекување на не-Хочкиновиот лимфом.

Голем број тумори прикажуваат значително зголемени нивоа на рецептори за факторите за раст, кои се ветувачки цели за противтуморските моноклонски противтела. На пример, кај 25% до 30% од жените со метастатска форма на карциномот на дојка, генската измена на туморските клетки доведува до зголемено прикажување на ХЕР2, рецептор кој наликува на рецепторот на епидермалниот фактор за раст. Денес постои хуманизирано против ХЕР2 моноклонско противтело кое се дава во големи количества (100 милиграми или повеќе) кај пациенти за лекување на карциномите на дојка кои поседуваат ХЕР2 рецептори врз површината на клетките.

Како што споменавме претходно, дел од моноклонските противтела кои се во клиничка употреба се комбинираат со радиоактивни изотопи, хемотерапевтски лекови или моќни отрови со биолошко потекло. Кај ваквите, таканаречени терапии со „наведуван проектил“, отровните материи се доставуваат специфично до туморските клетки. Ова ги насочува отровните ефекти врз туморот, поштедувајќи ги нормалните ткива. Реагенсите познати како **имунолошки отрови** се создаваат со комбинирање на инхибиторната верига од отровот (на пр., дифтеричниот отров) со противтелото насочено кон тумор специфичните или тумор асоцираните противгени. Ин витро проучувањата покажаа дека овие „магични куршуми“ можат да ги убијат туморските клетки без да им наштетат на нормалните клетки. Имунолошките отрови кои се специфични за туморските противгени кај голем број



СЛИКА 21-13 Лекување на Б-клеточниот лимфом со моноклонско противтело кое е специфично за идиотипските одредници на карциномските клетки. Бидејќи сите клетки на лимфомот потекнуваат од една видоизменета Б-клетка, сите тие прикажуваат мембрански врзано противтело (Пт-1) со ист идиотип (т.е., иста противгена специфичност). Во прикажаната постапка, се создава противидиотипско моноклонско противтело (Пт-2) насочено кон мембрански врзаното противтело врз површината од клетките на Б-лимфомот (чекори 1-4). Кога ова противидиотипско противтело се внесе во пациентот (чекор 5), се врзува селективно за клетките од Б-лимфомот, кои потоа стануваат прифатливи за лиза со комплементот плус противтелото.

различни карциноми (на пр., меланомот, карциномот на дебелото црево и ректумот, метстатскиот карцином на дојката и разни лимфоми и леукемии) се испитуваа во фазата 1 или фазата 2 од клиничките испитувања. Во бројни испитувања, кај значителен број од пациентите со леукемија и лимфом се јавило делумно или целосно повлекување на туморот. Дел од продуктите кои се користеле за лекување на леукемијата биле коњугираните противтела. Сепак, клиничкиот одовор кај пациентите кои имале поголема туморска маса е разочарувачки. Кај дел од овие пациенти, малата големина на туморот може да ги направи овие клетки непристапни за имунолошкиот отров.

Собирок

- Туморските клетки се разликуваат од нормалните клетки по промените кои ги претрпуваат во регулирањето на развојот, што им овозможува неограничено да се размножуваат и да навлегуваат во околното ткиво, а во одредени случаи и да метастазираат во други ткива.
- Нормалните клетки можат ин витро да се преобразат под влијание на хемиски и физички карциногени и под влијание на некои вируси. Преобразените клетки пројавуваат изменети карактеристики на растење и понекогаш се способни, доколку се внесат кај експериментални животни, да предизвикаат појава на карцином.
- Протоонкогените кодираат протеини кои учествуваат во контролата на нормалниот клеточен раст. Претворањето од протоонкогени во онкогени е клучниот чекор во предизвикувањето на повеќето видови на човечки тумори. Оваа преобразба може да се јави како резултат од мутацијата во онкогенот, негова транслокација или неговото засилување.
- Бројни Б и Т-клеточни леукемии и лимфоми се асоцирани со транслокацијата на протоонкогенот. На неговото ново место, транслоцираниот ген може да дојде под влијание на засилувачи или поттикнувачи, кои предизвикуваат зголемено ниво на препишување од вообичаеното.

- Туморските клетки прикажуваат тумор-специфични противгени и заеднички неспецифични тумор-асоцирани противгени. За разлика од туморските противгени кои се предизвикани од хемикалии или зрачење, вирусно кодираните туморски противгени се заеднички за сите тумори кои се предизвикани од истиот вирус.
- Туморските противгени кои се препознаваат од страна на Т-клетки спаѓаат во една од четирите главни категории: противгени кои се кодирани од гените со тумор-специфично прикажување, противгени кои се кодирани од различни форми на нормалните гени кои се изменети со мутација, одредени противгени кои нормално се прикажуваат само во одредени фази од развитокот на клетките или клеточните линии и на противгени кои се прикажуваат во прекумерни количини на одредени тумори.
- Во имунот одговор кон туморите се вклучени ЦТЛ-посредуваната лиза, активност на КПУ, макрофагно посредуваното уништување на туморот и уништување на туморот посредувано со ПЗКЦ. Неколку цитотоксични фактори, вклучувајќи ги тука и ТНФ-алфа и ТНФ-бета, помагаат во убивањето на туморските клетки. Туморите имаат неколку стратегии за избегнување на имунот одговор.
- Во експерименталната туморска имунотерапија се испитуваат голем број на различни приоди. Некои од нив се засилувањето на костимулаторниот сигнал кој е потребен за активирање на Т-клетките, генското изменување на туморските клетки да можат да лачат цитокини кои би го зголемиле интензитетот на имунот одговор кон нив, терапевтската употреба на цитокините и начини да се зголеми активноста на противген прикажувачките клетки.
- Моноклонските противтела се одобрени за употреба против неколку видови на карциноми. Противтелата се користат во неизменета форма или се комбинираат со отрови, хемотерапевтски материи или радиоактивни елементи.
- Клучните елементи во создавањето на стратегии за вакцинирање против туморите се идентификирање на значајните туморски противгени, развивање на стратегии за поефикасно прикажување на туморските противгени и создавањето на активирани популации од помагачки и цитотоксични Т-клетки.

Референции

Aisenberg, A. C. 1993. Utility of gene rearrangements in lymphoid malignancies. Annual Review of Medicine 44:75.

Allison, J. P., A. A. Hurwitz, and D. R. Leach. 1995. Manipulation of costimulatory signals to enhance antitumor T-cell responses. Current Opinion in Immunology 7:682.

Blattman, J. N., and P. D.Greenberg. 2004. Cancer immunotherapy: a treatment for the masses. Science 305:200.

Berzofsky, J. A., et al. 2004. Progress on new vaccine strategies for the immunotherapy and prevention of cancer. Journal of Clinical Investigation 113:1515.

Boon, T., P. G. Coulie, and B. Van den Eynde. 1997. Tumor antigens recognized by T cells. Immunology Today 18:267.

Cohen, J. 2005. High hopes and dilemmas for a cervical cancer vaccine. Science 308:618.

Coulie, P. G., et al. 1994. A new gene coding for a differentiation antigen recognized by autologous cytolytic T lymphocytes on HLA-A2 melanomas. Journal of Experimental Medicine 180:35.

Houghton, A. N., J. S. Gold, and N. E. Blachere. 2001. Immunity against cancer: lessons learned from melanoma. Current Opinion in Immunology 13:134.

Hsu, F. J., et al. 1997. Tumor-specific idiotype vaccines in the treatment of patients with B-cell lymphoma. Blood 89:3129.

Kufe, D. W. 2000. Smallpox, polio and now a cancer vaccine? Nature Medicine 6:252.

Paterson, Y., and G. Ikonomidis. 1996. Recombinant Listeria monocytogenes cancer vaccines. Current Opinion in Immunology 8:651.

Sahin, U., O. Tureci, and M. Pfreundschuh. 1997. Serological identification of human tumor antigens. Current Opinion in Immunology 9:709.

Schiffman, M., and P. E. Castle. 2005. The promise of global cervical-cancer prevention. New England Journal of Medicine 353:2101.

Srivastava, S. 2002. Roles of heat-shock proteins in innate and adaptive immunity. Nature Reviews Immunology 2:185.

Weinberg, R. A. 1996. How cancer arises. Scientific American 275(3):62.

Корисни веб-страници

http://www.oncolink.upenn.edu/

Онколинк нуди детални информации за голем број на типови на карциноми и претставува добар извор на информации за туморските истражувања, како и напредоците кои се постигнати во областа на нивното лекување. Страницата редовно се обновува и вклучува голем број други корисни електронски врски до други извори.

http://www.cancer.org/docroot/home/index.asp

Веб-страницата на Американското здружение за рак содржи голем број на информации за зачестеноста, лекувањето и превенцијата на ракот. На страницата, исто така, се дадени и најзначајните достигнувања од истражувањата на туморите .

http://www.cytopathnet.org/

Добар извор на информации за цитолошките испитувања на туморите и на работите кои се поврзани со типичниот начин на боење на клеточните популации кои се среќеваат кај голем број на тумори.

Прашања за учење

ПРАШАЊА ОД КЛИНИЧКИОТ ФОКУС. Зошто ракот на грлото на матката претставува потенцијална цел за вакцината која може да спречи појава на рак? Дали методот кој се испитува за ракот на грлото на матката може да се примени за сите видови на ракот?

1. Наведете кој од следниве искази е точен или неточен. Доколку мислите дека одреден исказ не е точен, објаснете зошто.
   а. Наследниот ретинобластом се јавува како резултат од прекумерното прикажување на клеточниот онкоген.
   б. Транслокацијата на генот с-*myc* се јавува кај голем број пациенти со Буркитов лимфом.
   в. Понекогаш, кај карциномските клетки можат да се забележат повеќе копии од клеточните онкогени.
   г. Вметнувањето на вирусот во клеточниот геном може да предизвика преобразување на протоонкогенот во онкоген.
   д. Сите онкогени ретровируси носат вирусни онкогени.
   ѓ. Имунот одговор против вирусно предизвиканите тумори штити и од други тумори кои се предизвикани од истиот вирус.
2. Вие сте клинички имунолог кој ја проучува акутната лимфобластна леукемија (АЛЛ). Леукемиските клетки од повеќето пациенти со АЛЛ ја имаат морфологијата на лимфоцитите, но не прикажуваат обележувачи врз површината на клетката кои се карактеристични за зрелите Б и Т-клетки. Сте изолирале клетки од пациент со АЛЛ кои не прикажуваат мембрански Иг, но реагираат со моноклонското противтело кон нормалниот пре-Б-клеточен обележувач (Б-200). Поради тоа се сомневате дека овие леукемиски клетки се пре-Б-клетки. Како ќе ја искористите генската анализа за да потврдите дека леукемиските клетки припаѓаат на Б-клеточната линија?
3. Во еден неодманешен експеримент, изолирани се меланомски клетки од пациенти со рани и од пациенти со напреднати фази на малигниот меланом. Во исто време, од секој пациент, изолирани се и клонирани Т-клетки кои се специфични за противгенот на тетнусен отров.
   а. Кога клетките од меланомот кој се наоѓал во рана фаза се култивирале заедно со противгенот од тетанусниот отров и со Т-клеточните клонови кои се специфични за тетанусниот отров, се забележало дека доаѓа до размножување на Т-клеточните клонови. Ова размножување може да се блокира со додавање на хлороквин или со додавањето на моноклонско противтелото против ХЛА-ДР. Размножувањето не може да се блокира со додавањето на моноклонски противтела кон ХЛА-А, -Б, -ДКу или -ДП. На што можат да укажат овие наоди за клетките на меланомот во раната фаза, во овој експериментален систем?
   б. Кога истиот експеримент е повторен со клетки од меланом во напредна фаза, Т-клеточните клонови за тетанусниот отров не можеле да се размножуваат како одговор на дразбата со противгенот од тетанусниот отров. На што може ова да укаже за клетките од маланомот во напредна фаза?
   в. Кога клетките од малигниот меланом и од раната и од напреднатата фаза се фиксираат со параформалдехид и се инкубираат со обработен тетанусен отров, само клетките од меланомот во рана фаза можеа да предизвикаат размножување на Т-клеточните клонови специфични за тетанусниот отров. На што може може ова да укаже за клетките на меланомот во рана фаза?
   г. Како можете експериментално да ја потврдите вашата хипотеза?
4. Кои се трите најверојатни извори за туморски противгени?
5. Испитувана е можноста за употреба на разни цитокини во имунотерапијата на туморите. Опишете ги четирите механизми преку кои цитокините посредуваат во противтуморските ефекти и цитокините кои го предизвикуваат секој тип на ефекти.
6. Внесувањето на трансфектирани меланомски клетки во пациентите со карцином претставува надежна имунотерапија.
   а. Кои два гени се трансфектирани во меланомските клетки за оваа цел? Кој е принципот кој стои зад употребата на секој од овие гени?
   б. Зошто употребата на овие транфектирани меланомски клетки, исто така, може да биде ефикасна и при лекувањето на други типови на карциноми?
7. За секој од следниве описи, изберете го најсоодветниот израз:

Описи	*Изрази*
а. Бенигнен или малигнен тумор	1. Сарком
б. Тумор кој потекнува од ендодермалното ткиво.	2. Карцином
в. Тумор кој потекнува од мезодермалното сврзно ткиво	3. Метастаза
г. Тумор кој е инвазивен и продолжува да расте	4. Неоплазма
д. Туморските клетки се одделуваат од матичниот тумор и продолжуваат да се развиваат во различни делови на телото	5. Малигнен
ѓ. Тумор кој не е инвазивен	6. Леукемија
е. Тумор кој потекнува од лимфоидните клетки	7. Преобразба (трансформација)
ж. Трајна промена во геномот на клетката која доведува до абнормален раст	8. Лимфом
з. Карциномски клетки кои потекнуваат од крвотворните клетки кои не растат како цврст тумор	9. Бенигнен

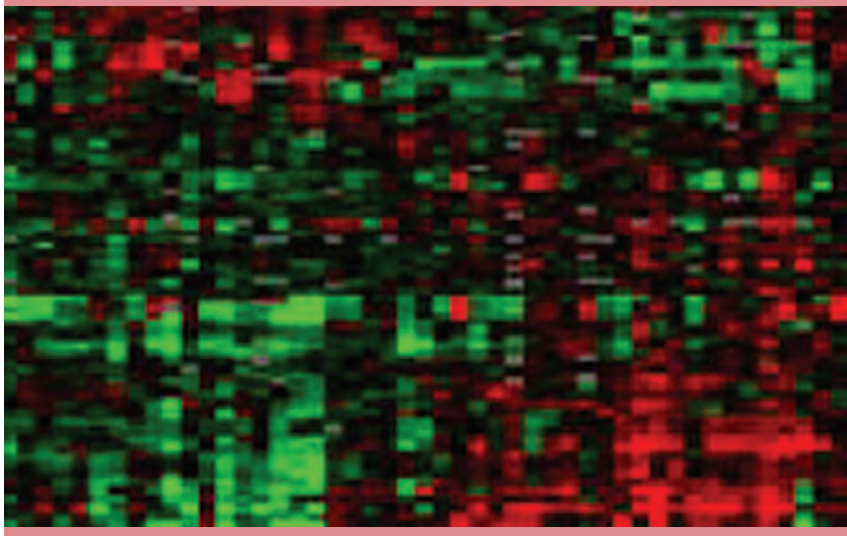
Интерактивно учење

www.whfreeman.com/kuby

САМОСТОЕН ТЕСТ
Преглед на клучни изрази

Поглавје 22

Експериментални системи



Профил на прикажување на дифузен лимфом од големи Б-клетки.
[*Од L. M. Staudt, 2002,* Annual Review of Medicine 53: 303-318.]

- Експериментални животински модели
- Системи за култивирање на клетките
- Протеинска биохемија
- Технологија за рекомбинирање на ДНК
- Анализа на регулаторните секвенци на ДНК
- Пренесување на гени во клетки на цицачи
- Микронизи, метод за анализирање на модели од генско прикажување
- Двофотонска микроскопија за ин виво приказ на имуниот систем
- Напредоци во флуоресцентната технологија

За откривање на сложените клеточни меѓудејства од имуниот одговор се користат различни експериментални системи. Ин виво системите, кои вклучуваат цело животно, обезбедуваат најприродни експериментални услови. Сепак, ин виво системите имаат безброј непознати и неконтролирани клеточни меѓудејства кои можат да доведат до нејаснотии при толкувањето на експерименталните податоци. На друга страна, се наоѓаат ин витро системите, во кои одредени популации од лимфоцити се проучуваат под контролирани услови кои постојано може да се повторуваат; ин витро системите може да се поедностават до тој степен што ефикасно може да се проучуваат поединечни клеточни меѓудејства. Сепак, тие имаат свои ограничувања, меѓу кои најзначајна е нивната неприродност. На пример, овозможување на контакт меѓу противген и прочистени Б-клетки ин витро не стимулира максимално создавање на противтела, доколку не се присутни Т-клетки. Затоа, проучување на создавањето на противтелата во вештачки ин витро систем во кој недостасуваат Т-клетки може да доведе до неправилен заклучок дека Б-клетките не синтетизираат високи нивоа на противтела. Мора да се запрашаме дали клеточниот одговор кој се забележува ин витро ја отсликува реалноста или тоа е продукт од единствените услови во самиот ин витро систем.

Ова поглавје објаснува некои од експерименталните системи кои рутински се користат за проучување на имуниот систем и покрива дел од рекомбинаторните ДНК техники кои го преобразија проучувањето на имунологијата во последните две децении. Во другите поглавја, исто така се покриени некои експериментални системи и техники. Табелата 22-1 ги наведува нив и го упатува читателот кон соодветната локација за објаснување.

Експериментални животински модели

За проучување на имуниот систем кај 'рбетниците потребни се соодветни животински модели. Изборот на животно зависи од неговата соодветност за постигнување одредена цел при истражувањето. Ако се бараат големи количини на противсерум, зајакот, козата, овцата или коњот може да бидат соодветно експериментално животно. Ако целта е развој на заштитна вакцина, избраното животно мора да биде чувствително на инфективниот агенс, за да може да се процени ефикасноста на вакцината. Ако глувците или зајаците се чувствителни на тој противген, можат да се користат за создавање на вакцината. Но, ако развојот на инфективниот агенс е ограничен на луѓето и примати, создавањето на вакцината може да наложи употреба на мајмуни, шимпанза или бабуни.

За повеќето основни истражувања во имунологијата, глувците се експериментални животни од избор. Со нив лесно се работи, генски се добро карактеризирани и имаат брз циклус на размножување. Имуниот систем на глушецот е најдобро карактеризиран, подобро отколку имуниот систем на кој било друг вид. Значењето на основните истражувања на глувците

ТАБЕЛА 22-1 Имуни методи кои се објаснети во други поглавја

Метод	Локација
Пресадување на зародшни клетки	Пог. 2 Клинички фокус
Подготвување на моноклонски противтела	Сл. 4-25
Генетско модифицирање на химерни противтела глушец-човек	Сл. 5-24 и Пог. 5 Клинички фокус
Одредување на афинитетот на противтелата преку рамнотежна дијализа (equilibrium dialysis)	Сл. 6-2
Имунодифузија и имуноелектрофореза	Сл. 6-6 и 6-7
Хемаглутинација	Сл. 6-8
Радиоимуноанализа (РИА)	Сл. 6-9
ЕЛИСА метод	Сл. 6-10
ЕЛИСПОТ метод	Сл. 6-11
Вестерново дамкосување	Сл. 6-12
Имунопреципитација	Сл. 6-13
Имунофлуоресценција	Сл. 6-14
Проточна цитометрија	Сл. 6-15
Мешана лимфоцитна реакција (МЛР)	Сл. 14016 и 17-4в
Клеточно посредувана лимфолиза (КПЛ)	Сл. 14-17
Создавање вакцина со вакцинија вектор	Сл. 19-8
Создавање на повеќевалентни вакцини со подединици	Сл. 19-6
ХЛА типизирање	Сл. 17-4

е нагласено со огромното влијание кое овие истражувања го имале врз клиничките интервенции на човечките болести.

Генетски чистите соеви може да ги намалат експерименталните варијации

За да ја контролираат експерименталната варијација која произлегува од разликите во генетската заднина на експерименталните животни, имунолозите често работат со генетски чисти соеви, - т.е. генетски идентични животни кои настануваат со роднинско вкрстување. Брзиот циклус на размножување кај глувците ги прави особено соодветни за создавање на генетски чисти соеви, кои настануваат со повторувано вкрстување помеѓу браќа и сестри. На овој начин, хетерозиготноста на алелите која обично се сретнува кај глувците кај кои нема роднинско парење, се заменува со хомозиготност во сите локуси. Повторувачко вкрстување во тек на 20 генерации обично создава генетски чисти сој чии поколенија се хомозиготни во повеќе од 98% од сите локуси. Постојат околу 500 различни генетски чисти соеви на глувци, а секој се означува со серија на бројките и/или броеви (табела 22-2). Повеќето соеви може да се купат од набавувачи како што е Џексон лабораторијата во Бар Харбор, Меин. Исто така, генетски чисти соеви се создаваат кај стаорците, заморчињата, хрчаците, зајаците и домашната живина. Бидејќи генетски чистите соеви на животни генетски се идентични (**сингенични**) во рамките на тој вид, нивните имуни реакции може да се проучуваат без присуство на промени кои настануваат како резултат од индивидуалните генски разлики, - што претставува непроцелива придобивка. Кај генетски чистите соеви, лимфоцитните суппопулаци кои се изолирани од едно животно може да се внесуваат во друго животно од истиот вид, без да поттикнуваат имун одговор. Овој вид на експериментален систем им овозможи на имунолозите први да покажат дека лимфоцитите од животно кое било во контакт со противген може да пренесат имунитет на сингеничен прима тел кој не бил во контакт со тој противген.

Системите за стекнат пренос овозможуваат ин виво испитување на изолирани клеточни популации

Во некои експерименти, важно е да се отстрани имунолошката нереактивност на сингеничниот домаќин, за изолирано да може да се проучува само реакцијата на пренесените лимфоцити. Ова може да се постигне со техника наречена стекнат преност (**здобиен трансфер)**: прво, сингеничниот домаќин се изложува на рендгенско зрачење кое ги убива неговите лимфоцити, потоа се внесуваат имуните клетки од дарителот. Подложувањето на глушецот на високи дози на рендгенско зрачење (650-750 ради) може да убие 99,99% од неговите лимфоцити, по што активноста на лимфоцитите кои се пресадени од слезина на сингеничен дарител може да се проучува без мешање на лимфоцитите на домаќинот. Ако хематопоетските клетки на домаќинот може да влијаат врз експериментот со здобиен трансфер, тогаш за отстранување на целиот хематопоетскин систем се користат повисоки нивоа на рендгенски зраци (900-1000 ради). Глувците кои се озрачени со такви дози ќе умрат доколку не примат коскена срцевина од сингеничен дарител.

Системот на здобиен трансфер им овозможи на имунолозите да го проучуваат развојот на инјектираните лимфоидни зародишни клетки во разни органи на примателот и го олесни проучувањето на разни популации на лимфоцити и клеточните меѓудејства кои се потребни за создавање на имун одговор. На пример, таквите експерименти за првпат им овозможија на имунолозите да покажат дека Т помагачка клетка е потребна за активирање на Б-клетки при хуморалниот одговор. Во овие експерименти, здобениот трансфер на прочистени Б-клетки или прочистени Т-клетки не доведе до создавање противтела кај озрачениот домаќин. Само кога двете популации биле пренесени се создале противтела во одговор против противген.

Системи за култивирање на клетки

Сложеноста на клеточните реакции кои создаваат имун одговор ги натера имунолозите многу често да се потпираат на разните видови ин витро системи за култивирање на клетките. Голем број различни клетки може да се култивираат, вклучувајќи ги првичните лимфоидни клетки, клонираните лимфоидни клетки и хибридните клетки.

Првичните лимфоидни клеточни култури потекуваат од крв или од лимфоидни органи

Клеточни култури од првични лимфоидни клетки може да се добијат со изолирање на лимфоцити директно од крвта или лимфата, или пак од разни лимфоидни органи со раскинување на ткивото. Потоа лимфоцитите може да се култивираат во хемиски дефиниран основен медиум (кој

ТАБЕЛА 22-2 Некои генетски чисти соеви глувци често користени во имунологијата

Сој	Чести подсоеви	Особини
A	A/He A/J A/WySn	Висока зачестеност на тумори на млечни жлезди кај одредени подсоеви
AKR	AKR/J AKR/N AKR/Cum	Висока зачестеност на леукемија Алелот Thy 1.2 во AKR/Cum и алелот Thy 1.1 кај други подсоеви (*Thy генот* кодира протеин од површината на Т-клетките)
BALB/c	BALB/c*j* BALB/cAnN BALB/cBy	Чувствителност на радијациско зрачење Се користи во технологијата за создавање хибридоми Кај овие глувци се создадени голем број миеломски клеточни лози
CBA	CBA/J CBA/H CBA/N	Генот (*рд*) предизивкува дегенерација на мрежницата кај CBA/J Генот (xid) предизвикува Х-врзан имунонедостаток кај CBA/N
C3H	C3H/He C3H/HeJ C3H/HeN	Генот (*рд*) предизивкува дегенерација на мрежницата Висока зачестеност на тумори на млечните жлезди кај голем број потсоеви (овие потсоеви носат вирус кој предизвикува тумор на млечните жлезди, кој се пренесува од мајката на новороденчето преку млекото)
C57BL/6	C57BL6J C57BL/6By C57BL/6N	Висока зачестеност на хепатоми по зрачење Висока активност на комплементот
C57BL/10	C57BL/10J C57BL/10ScSn C57BL/10N	Тесно поврзан со C57BL/6, но постојат разлики во најмалку два локуси Чест партнер при подготвувањето на конгенични глувци
C57BR	C57BR/cdj	Висока зачестеност на тумори на хипофизата и црниот дроб Многу отпорен на рендгенско зрачење
C57L	C57L/J C57L/N	Чувствителност на експериментален авотимун енцфаломиелитис (EAE) Висока зачестеност на тумори на хипофизата и ретикуларните клетки
C58	C58/J C58/LwN	Висока зачестеност на леукемија
DBA/1	DBA/1J DBA/1N	Висока зачестеност на тумори на млечните жлезди
DBA/2	DBA/2J DBA/2N	Слаб имун одговор кон одредени противгени Слаб одговор против пневмококниот полисахарид од тип 3
HRS	HRS/J	Бескосен (hairless) ген, обично во хетерозиготна состојба
NZB	NZB/BINJ NZB/N	Висока зачестеност на автоимуна хемолитичка анемија и нефритис сличен на лупус Автоимуна болест која е слична на системскиот лупус еритематозус (SLE) кај F_1 потомството кое произлегува од вкрстувањата со NZW
NZW	NZW/N	Автоимуна болест од типот на SLE кај F_1 потомството кое произлегува од вкрстувањата со NZB
P	P/J	Висока зачестеност на леукемија
SJL	SJL/J	Високо ниво на агресија и тешки борби до смрт, особено кај машките единки Тенденција за развој на одредени автоимуни болести, најчувствителни кон EAE
SWR	SWR/J	Тенденција за развој на неколку автоимуни болести, особено EAE
129	129/J 129/SvJ	Висока зачестеност на спонтани тератокарциноми

ИЗВОР: Адаптирано од Federation American of Societies for Experimental Biology, 1979, Biological Handbooks, Vëll. III: Inbred and Genetically Defined Strains of Laboratory Animals.

содржи раствори на соли, шеќери, аминокиселини, витамини, елементи во траги и други хранливи материи) на кој се додаваат различни додатоци од серум. За одредени експерименти, се употребуваат медиуми кои не вклучуваат серум. Бидејќи ин витро техниките за култивирање бараат од 10-100 пати помалку лимфоцити од типичните ин виво техники, тие им овозможија на имунолозите да проценуваат функционални својства на помали суппопулации на лимфоцити. На пример, имунолозите со помош на техниките за култивирање на клетки најпрво ги откриј функционалните разлики помеѓу КД4⁺Т помагачките клетки и КД8⁺Т цитотоксичните клетки.

Исто така, техники за култивирање на клетки беа користени за утврдување на бројни цитокини кои се вклучени со активирањето, растот и диференцирањето на разните клетки кои се вклучени во имуниот одговор. Раните експерименти покажаа дека медиуми кои се под влијание, или модифициран со раст на разни лимфоцити или противген прикажувачки клетки ќе го поддржат растењето на други лимфоидни клетки. Модифицираниот медиум содржи продукти кои се лачат од клетките кои активно растат. Голем дел од поединечните цитокини кои ги карактеризираат различните модифицирани медиуми, последователно се утврдени и прочистени, а во голем број случаи клонирани се гените кои ги кодираат овие цитокини. Цитокините кои играат централна улога во активирањето и регулирањето на имунот одговор, се објаснети во Поглавје 12 и низ целата книга.

Клонираните лимфоидни клеточни линии се значајни алатки во имунологијата

Клеточна култура од првични лимфоидни клетки претставува хетерогена група на клетки кои може да се одржуваат кратко време. Оваа хетерогеност може да го комплицира толкувањето на експерименталните резултати. За да се избегнат овие проблеми, имунолозите користат клонирани лимфоидни клеточни линии и хрибридни клетки.

Нормалните клетки на цицачите, во основа, при култивирање имаат ограничен животен век. Тоа значи дека по одреден број делби, карактеристични за видот и клеточниот тип, клетките запираат со делење. Наспроти нив, туморските клетки или здрави клетки кои претрпеле **трансформација**, поттикната од хемиски карциногени или вируси, можат неограничено да се размножуваат во клеточни култури, па затоа, се вели дека се бесмртни. Таквите клетки се нарекуваат **клеточни лози**.

Првата клеточна лоза, Л-клетката од фибробласт од глушец, била добиена во 1940 година, од култивирано поткожно сврзно ткиво од глушец, со изложување на клетките на хемиски карциноген, метилхолантрен, во период од 4 месеци. Во 50-тите години од дваесеттиот век, друга важна лоза на клетки, клетките ХеЛа, беше добиена со култивирање на клетки од човечки цервикален канцер. Од овие рани студии наваму, утврдени се стотици клеточни лози, при што секоја се состои од популација на генски идентични (сингенични) клетки кои, при култивирање, можат неограничено да се размножуваат.г

Во табела 22-3 се наведени дел од клеточните лози кои се користат во имуните истражувања и на кратко се опишани нивните својства. Некои од овие клеточни лози потекнуваат од тумори кои настануваат спонтано, на лимфоцити, макрофаги и други помагачки клетки кои се вклучени во имунот одговор. Во други случаи, создавањето на клеточната лоза е поттикнато со трансформација на здрави лимфоидни клетки со вируси како што се Абелсон вирусот на леукемија кај глувците (A-MLV),

ТАБЕЛА 22-3 Клеточни лози кои најчесто се користат во имуните истражувања

Клеточна лоза	Опис
L-929	Клеточна лоза на фибробласти од глушец, често се користи во проучувања со трансфекција на ДНК и анализирање на туморно некрозниот фактор (TNF)
SP2/0	Миелом од глушец кој не создава противтела, често се користи како фузиски партнер за лачење на хибридом
P3X63-Ag8.653	Миелом од глушец кој не создава противтела, често се користи како фузиски партнер за лачењето на хибридом
MPC 11	Миелом кој лачи ИгГ 2б од глушец
P3X63-Ag8	Миелом која лачи ИгГ1 од глушец
MOPC 315	Миелом која лачи ИгА од глушец
J558	Миелом која лачи ИгА од глушец
70Z/3	Пред-Б клеточен лимфом од глушец, се користи за проучување на раните процеси во диференцирањето на Б-клетките
BCL 1	Б-клеточен леукемичен лимфом на глушец кој прикажува мембрански ИгМ и ИгД и може да се активира со митоген за да лачи ИгМ
CTLL-2	Т-клеточна лоза од глушец чиј раст зависи од ИЛ-2, често се користи за испитување на создавањето на ИЛ-2
Jurkat	Хумана Т-клеточна леукемија со лачење на ИЛ-2
DO11.10	Т-клеточен хибридом од глушец со специфичност за овалбумин
PU 5-1.8	Лоза моноцити-макрофаги кај глувци
P338 D1	Лоза моноцити-макрофаги кај глувците кои лачат високи нивоа на ИЛ-1
WEHI 265.1	Моноцитна лоза кај глувци
P815	Мастоцитомски клетки од глушец, често се користи како цел за проценување на убивањето со цитокисчни Т-лимфоцити (ЦТЛ)
YAC-1	Лимфомски клетки од глушец, често се користат како цел за КПУ
HL-60	Човечка клеточна лоза за миелоидна леукемија
COS-1	Клетки од бубрег на африкански зелен мајмун, кои се трансформирани од SV40, често се користат во проучувања со трансфекција на ДНК

мајмунскиот вирус 40 (SV40), Епштајн-Бар вирусот (EBV) или вирусот на хумана Т-клеточна леукемија од тип 1 (HTLV-1).

Лимфоидните клеточни лози се разликуваат од клеточните култури од првични лимфоидни клетки по неколку значајни карактеристики: тие опстојуваат бесконечно во клеточните култури, покажуваат разни абнормални својства на раст и често имаат абнормален број на хромозоми. За клетките со помалку или повеќе од нормалниот дипплоиден број на хромозоми за одредениот вид се вели дека се анеуплоидни. Големата предност на клонираните лимфоидни лози е тоа што тие во клеточните култури можат да се култивираат во подолг временски период, што им овозможува на имунолозите да добијат голем број на хомогени клетки за испитување.

Се до доцните 70-ти години од дваесеттиот век, имунолозите не успеваа да одржат нормални Т-лимфоцити во култура на

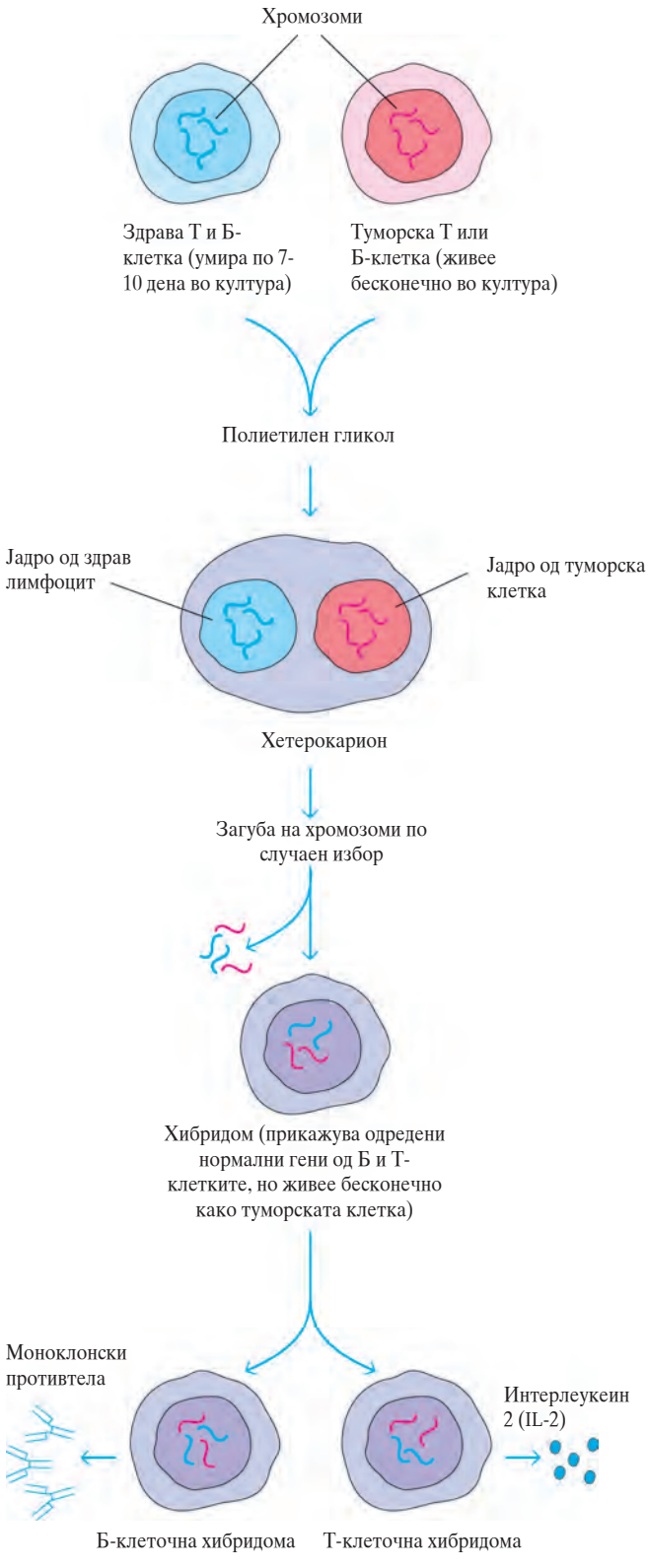
клетки за подолг временски период. Во 1978 година, случаен наод доведе до сознание дека е неопходен модифициран медиум кој содржи Т-клеточен фактор за раст. Се покажа дека неопходниот дел од модифицираниот медиум е интерлеукин 2 (IL-2). Со култивирање на нормални Т-лимфоцити со противген во присуство на IL-2, можат да се изолираат клонови на Т-лимфоцитите кои се специфични за тој противген. Овие поединечни клонови може да се одгледуваат и испитуваат во клеточни култури, па дури и да се замрзнат за чување. По одмрзнувањето, клоновите продолжуваат со растење и ги покажуваат своите оригинални функции кои се специфични за противгенот.

Развојот на клонираните лимфоидни клеточни лози на имунолозите им овозможи да проучуваат одреден број на процеси кои пред тоа не можеа да се испитуваат. На пример, истражувањето на молекулските процеси кои се вклучени во активирањето на неискусните лимфоцити од противген беше попречено од ниската фреквенција на неискусни Б и Т-клетки кои се специфични за одреден противген, во хетерогена популација од лимфоцити, молекулските промени кои настануваат кај соодветна клетка не може да се откријат кога се опкружени со 10^3 до 10^6 нереагирачки клетки. Клонирањето на Т и Б-клетки со позната противгена специфичност на имунолозите им овозможи големи хомогени клеточни популации во кои можат да се проучуваат процесите кои се вклучени во препознавањето на противгените. Исто така, различни генетски промени кои одговараат на различни фази од диференцирањето можат да се проучуваат кај клеточни лози кои се „замрзнати“ во одредени фази од развојот. Клеточните лози исто така се полезни за проучување на растворливите фактори кои ги создаваат лимфоидните клетки. Одредени клеточни лози лачат големо количество на разни цитокини, други видови прикажуваат мембрански рецептори за одредени цитокини. Имунолозите ги користат овие клеточни лози за прочистување на разните цитокини и нивните рецептори и подоцна за клонирање на гените кои ги кодираат.

Со напредоците во создавањето на лимфоидните клеточни лози доаѓаат и одредени ограничувања. Во текот на продолженото култивирање спонтано настануваат варијанти, при што често е потребно супклонирање за ограничување на клеточната хетерогеност која може да се развие. Ако со супклонирање се селектираат две варијанти, можно е двата супклона добиени од истиот родителски клон да претставуваат различни суппопулации. Покрај тоа, секоја клеточна лоза која потекнува од туморските клетки или трансформираните клетки може да има непознат генски придонес кој е карактеристичен за туморот или трансформираните клетки. Според тоа, истражувачите мора да бидат внимателни кога изведуваат резултати добиени од клеточни лози за нормална, ин виво ситуација. Меѓутоа, трансформираните клеточни лози овозможија голем придонес за проучувањето на имунот одговор, а се покажа дека голем број на молекулски процеси кои беа откриени при експериментите со трансформирани клеточни лози се случуваат во здравите лимфоцити.

Подготвување хибридни лимофоидни клеточни лози

Со хибридизацијата на соматски клетки, имунолозите фузираат здрави Б или Т-лимфоцити со туморски клетки, при што добиваат хибридни клетки, или хетерокариони, кои содржат јадра од двете родителски клетки. Загубата на дел од хромозомите по случаен избор и последователното клеточно размножување создава клон од клетки кои содржат едно јадро со хромозоми од двете фузирани клетки; таквиот клон е наречен **хибридом**.



СЛИКА 22-1 Создавање на Б и Т-клеточни хибридоми со хибридизација на соматски клетки. Хибридомите кои се создаваат прикажуваат дел од гените на оригиналните Б и Т-клетки, но исто така покажуваат својства на бесмртност од туморската клетка. Оваа постапка се користи за создавање на Б-клеточни хибридоми кои лачат моноклонски противтела и Т-клеточни хибридоми кои лачат разни фактори за раст.

Историски гледано, клеточното фузирање било поттикнато со вирусот Сендаи, но денес генерално се прави со полиетилен гликол. Нормални Б-клетки кои се третирани со противген може да се фузираат со туморски плазма клетки, наречени **миеломски клетки** (слика 22-1). Хибридомота која се формира на тој начин продолжува со прикажување на гени за противтелата од нормалниот Б-лимфоцит, но е способен за неограничен раст, карактеристика на миеломската клетка. Б-клеточните хибридоми кои лачат противтела со единствена противгена специфичност, наречени моноклонски противтела поради нивното потекло од еден клон, темелно ја преобразија имунологијата, но и биомедицинските истражувања и клиничката лабораториска рутина. Поглавјето 4 во детали ги опишува постапките за создавање и примените на моноклонските противтела (види слика 4-25).

Т-клеточните хибридоми, исто така може да се добијат со фузирање на Т-лимфоцити со туморски Т-клеточни лимфоми, како што е тимомот кај глувци, BW5147. Повторно, создадениот хибридом продолжува со прикажување на гените од нормалната Т-клетка, но ги стекнува својствата за бесмртен раст на туморската Т лимфомска клетка. Имунолозите имаат создадено одреден број на стабилни хибридомски клеточни линии кои ги претставуваат Т-помагачките и Т-цитотоксичните линии.

Биохемија на протеините

Структурата и функциите на голем број значајни молекули од имуниот систем се одредени со биохемиски протеински техники и голем број од овие техники постојано се употребуваат во експерименталната имунологија. На пример, флуоресцентното и радиоактивното обележување на имунолозите им овозможува да ги локализираат и визуелизираат молекулските активности, а можноста за одредување на такви биохемиски особини на протеините како што се неговата големина, форма и тридимензионална структура овозможија добивање значајни информации за разбирање на функциите на имунолошки значајните молекули.

Техниките со радиообележување овозможуваат чувствително откривање на противгени или противтела

Радиоактивните обележувачи на противгенот или противтелото се мошне чувствителни за откривање или квантификација. Постојат бројни начини за внесување на радиоактивни изотопи во протеините или пептидите. На пример, тирозинските остатоци може да се означат со радио-јод преку хемиски или ензимски постапки. Овие реакции го прикачуваат атомот на јод на фенолскиот прстен од тирозинскиот молекул. Една од ензимските техники за јодизација, која употребува лактопероксидаза, може да обележи протеини врз плазматската мембрана од жива клетка без да ги обележи протеините од цитоплазмата, што овозможува проучување на протеините од површината на клетките без нивна изолација од другите клеточни состојки.

Обично радиообележување на клеточните протеини може да се изврши со култивирање клетки во средина која содржи една или повеќе радиообележени аминокиселини. Аминокиселините кои се избрани за оваа употреба се аминокиселините кои се најмалку подложни на метаболна модификација за време на развојот на клетките, така што радиоактивниот обележувач ќе се појави во клеточниот протеин наместо во сите клеточни составни делови. Леуцин кој е обележен со ^{14}C или ^{3}H и цистеин или метионин означен со ^{35}S, се најчесто употребуваните аминокиселини за метаболно обележување на протеините. Во табела 22-4 се наведени дел од својствата на радиоизотопите кои се користат во имуните истражувања.

ТАБЕЛА 22-4 Радиоизотопи кои често се користат во имунолошките лаборатории

Изотоп	Период на полураспаѓање	Вид на радијација[1]	Авторадиоаграфија[2]
^{125}J	60 денови	γ	+
^{131}J	6,8 денови	γ	+
^{51}Cr	27,8 денови	γ	–
^{32}P	14,3 денови	β	+
^{35}S	87.4 денови	β	+
^{14}C	57,30 години	β	+
^{3}H	12,35 години	β	–

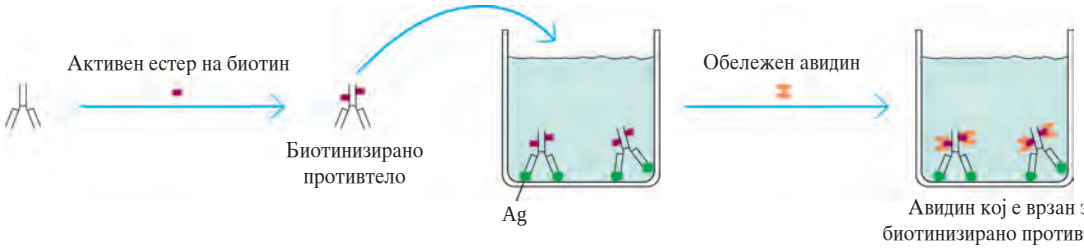
[1] γ (гама) радијацијата може да се открие со сцинтилациски бројач на цврсти материи. β (бета) зрачењето се открива со течен сцинтилациски бројач со способноста за претворање на енергијата во фотони од светлина во раствор кој содржи фосфоресцентни соединенија. [2] Радијацијата исто така може да се открие со изложување на рендгенски филм. ^{35}S и ^{14}C мора да дојдат во директен контакт со филмот за детекција. ^{3}H не може да се открие со обични авторадиографски техники.

Обележувањето со биотин го олеснува откривањето на мали количества на протеини

Во одредени случаи директното обележување на протиените, особено со ензими или други големи молекули, како што објаснивме во Поглавје 6, може да предизвика денатурација и губење на активноста. Затоа, беше создаден соодветен систем за обележување кој може да се користи во комбинација со техниките ЕЛИСА и ЕЛИСПОТ кои се објаснети во Поглавје 6. Оваа техника за обележување го користи високиот афинитет на реакцијата помеѓу витаминот биотин и авидинот, голем молекул кој може да се обележи со радиоактивни изотопи, со флуоресцентни молекули или со ензими. Биотинот е мал молекул (244 Да) кој може да се поврзе со противтело (или со кој било протеински молекул) со фина хемиска реакција која не предизвикува загуба на активноста на противтелото. По реагирањето на противтелото со врзан биотин во системот за анализа, се внесува обележениот авидин, а врзувањето се мери со откривање на обележувачот на молекулот на авидинот (слика 22-2). Реакцијата помеѓу биотинот и авидинот е многу специфична и со толку висок афинитет што врзувањето на двата молекула во најголем дел од експериментални услови е речиси неповратно.

Електрофорезата на гел ги одделува протеините по големина и полнеж

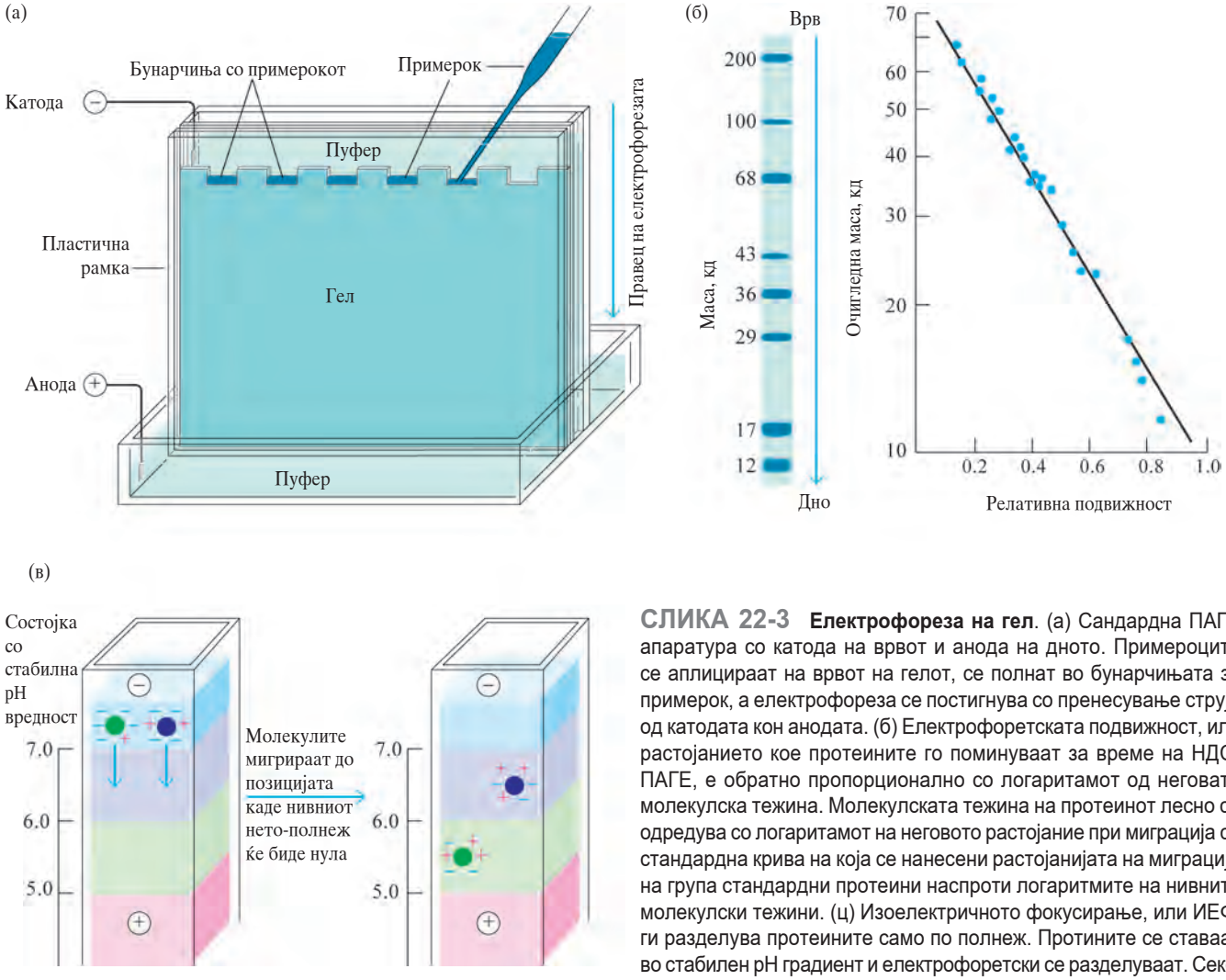
Кога еден наелектризиран молекул е подложен на електрично поле во комора за електрофореза, тој ќе се помести кон спротивно наелектризираната електрода. Брзината со



СЛИКА 22-2 Означување на противтело со биотин. Подготвеното противтело се меша со естер од биотин, кој реагира со противтелото. Противтелото кое на ваков начин е обележено со биотин може да се користи за откривање на противгени во цврст супстрат како што е бунарчето на микротитрирачката плочка. По отстранувањето на неврзаното противтело со измивање, врзаното противтело може да се открие со обележен авидин. Авидинот може да е радиоактивно обележен или пак да се поврзе со ензим кој катализира некоја обоена реакција, како при процедурата ЕЛИСА (види слика 6-10).

која наелектризираниот молекул се поместува во постојано електрично поле (неговата електрофоретска подвижност) зависи од два фактори кои се специфични за молекулот: првиот е знакот и големината на неговиот нето електричен полнеж, а другиот е неговата големина и форма. Ако сите други фактори се еднакви, од два молекула со еднаква големина, онаа со повисок нето-полнеж, поради молекулските својства за пресејување на цврстата средина, ќе се движи побрзо во постојното електрично поле. Исто така, следи дека малите молекули ќе се движат побрзо од големите со ист нето-полнеж. Иако постојат исклучоци, каде формата на молекулот може да го зголеми или да го намали триењето при движењето и да биде причина за атипична миграција, овие општи принципи важат за сите електрофоретски разделувања.

Повеќето електрофоретски разделувања не се спроведуваат во слободен раствор, туку во стабилна потпорна средина,



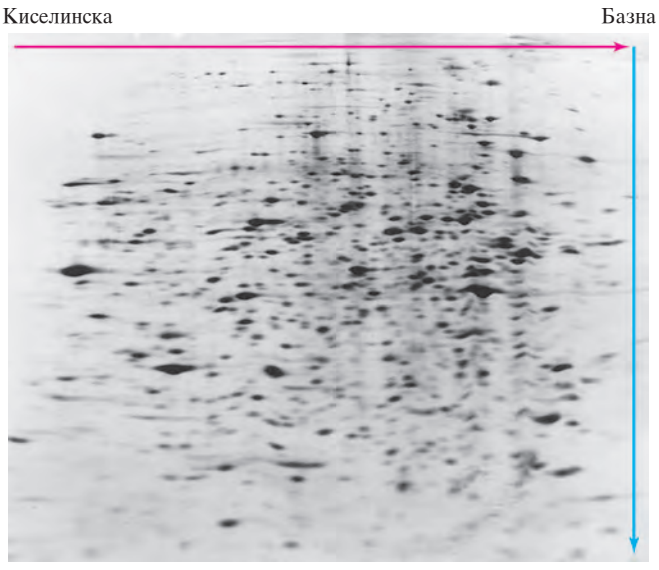
СЛИКА 22-3 Електрофореза на гел. (а) Сандардна ПАГЕ апаратура со катода на врвот и анода на дното. Примероците се аплицираат на врвот на гелот, се полнат во бунарчињата за примерок, а електрофореза се постигнува со пренесување струја од катодата кон анодата. (б) Електрофоретската подвижност, или растојанието кое протеините го поминуваат за време на НДС-ПАГЕ, е обратно пропорционално со логаритамот од неговата молекулска тежина. Молекулската тежина на протеинот лесно се одредува со логаритамот на неговото растојание при миграција со стандардна крива на која се нанесени растојанијата на миграција на група стандардни протеини наспроти логаритмите на нивните молекулски тежини. (ц) Изоелектричното фокусирање, или ИЕФ, ги разделува протеините само по полнеж. Протините се стават во стабилен pH градиент и електрофоретски се разделуваат. Секој протеин мигрира до неговата изоелектрична точка, точката каде неговиот нето-полнеж е нула.

како што е гелот. Најпопуларниот гел во лабораториите за истражување претставува полимеризирана и вкрстено поврзана форма на акриламид. Разделувањето на полиакримидните гелови, кое обично се нарекува полиакриламид гел електрофореза (ПАГЕ), може да се користи за анализа на протеини или нуклеински киселини (слика 22-3а).

При една вообичаена примена, електрофорезата на протеини врз полиакриламидниот гел се извршува во присуство на детергентот натриум деодецил сулфат (НДС). Овој метод, познат како НДС-ПАГЕ, е релативно прост, но високо ефикасен начин за разделување на мешавините на протини врз основа на големината. НДС претставува негативно наелектризиран детергент кој се врзува за протеинот во количества кои се пропорционални со должината на протеинот. Ова врзување ја уништува карактеристичната вторична и трета структура на протеинот, трансформирајќи го во негативно наелектризирана прачка. Протеинот се врзува за толку многу негативно наелектризирани НДС молекули, што неговиот внатрешен полнеж станува незначителен во споредба со нето-полнежот на молекулите НДС. Затоа, третман на мешавина од протеини со НДС ги трансформира во група од прачки чиј електричен полнеж е пропорционален со нивната молекулска тежина. Ова има две исклучително полезни последици. Прво, може да се разделат деловите од мешавината на протеините според нивната молекулска тежина. Второ, поради електрофоретската подвижност, растојанието кое го минуваат различните протеини за време на НДС-ПАГЕ, е обратно пропорционално со логаритамот на неговата молекулска тежина, тоа растојание претставува мерка за неговата молекулска тежина. За визуализирање на локациите на протините, гелот се бои со боја која реагира со протеинот. Потоа, растојанието кое го поминал протеинот се споредува со растојанијата кои ги поминала група на стандардни протеини (слика 22-3б).

Со друга електрофоретска техника, изоелектрично фокусирање (ИЕФ), протеините се одвојуваат само врз база на нивниот полнеж. Овој метод за заснова на фактот дека еден молекул ќе се движи во електричното поле сè додека има нето позитивен или негативен полнеж; молекулите со еднаков број негативни и позитивни полнежи, односно молекулите кои имаат нето полнеж еднаков на нула, нема да се движат. При повеќето pH вредности, протеините (кои карактеристично имаат определен број негативни и позитивни полнежи) имаат или нето позитивен или нето негативен полнеж. Меѓутоа, за секој протеин постои определена pH вредност, наречена негова изоелектрична точка (pI), при која тој протеин има еднаков број позитивни и негативни полнежи. Во изоелектричното фокусирање се користат супстанции што содржат гел, наречени транспортни амфолити, кои се распоредуваат во континуиран pH градиент кога ќе се најдат во електрично поле. Кога една мешавина од протеини ќе се стави во таков гел и ќе се изврши електрофореза, секој протеин се движи сè додека не ја достигне точката во градиентот кога pH на гелот ќе биде еднаква на неговата изоелектрична точка. Потоа протеинот престанува да се движи затоа што неговиот нето-полнеж е нула. Изоелектричното фокусирање е многу нежен и ефикасен начин за одвојување на различни протеини (слика 22-3в).

Во еден метод познат како дводимензионална гел електрофореза се комбинираат придобивките од НДС-ПАГЕ и од изоелектричното фокусирање во еден од најсензитивните и најдискриминаторни начини за анализирање на мешавина од протеини. Во овој метод, мешавината прво се подложува на изоелектрично фокусирање на ИЕФ гел, со што се одвојуваат молекулите врз база на нивните изоелектрични точки без оглед



СЛИКА 22-4 Дводимензионална гел електрофореза на вкупни клеточни протеини од тимоцити на глушец обележани со ^{35}S-метионин. На овие протеини прво им било извршено изоелектрично фокусирање (насоката на миграцијата е означена со црвена стрелка), а потоа фокусираните протеини биле раздвоени со НДС-ПАГЕ (насоката на миграцијата е означена со сина стрелка). Гелот бил изложен на рендгенски зраци за да се откријат обележаните протеини. *[Преземено од B. A. Ozborn (B. A. Osborne.]*

на молекулската маса. Ова е првата димензија. Следен чекор е да се постави ИЕФ гелот по должината на НДС-полиакриламид плочата (т.е. наместо бунарчињата со примероци од слика 22-3а) и да се изврши НДС-ПАГЕ. Во подготовката за овој чекор, сите протеини реагираат со НДС и затоа мигрираат надвор од гелот и низ НДС-ПАГЕ плочата во зависност од нивните молекулски маси. Ова е втората димензија. Позицијата на протеините во добиениот дводимензионален гел може да се визуелизира на различни начини. Во најмалку сензитивното тестирање, гелот се бои со боја што се врзува за протеини (како што е Кумаси (Coomassie) сино). Ако протеините се обележени со радиоактивен обележувач, може да се користи посензитивниот метод авторадиографија. Како алтернатива, боењето со сребро е метод со голема сензитивност во кој се користи способноста на протеините да ги редуцираат јоните на среброто до лесно видливи депозити од метално сребро. На крај, може да се примени имунодамкосување - дамкосување на протеините врз мембрана и нивна детекција со противтело (в. сл. 6-12) за да се лоцира позицијата на специфичните протеини во дводимензионални гелови доколку има достапно соодветно противтело. На слика 22-4 е дадена авторадиографија на дводимензионален гел на обележани протеини од тимоцити на глушец.

Рендгенската кристалографија обезбедува структурни информации

Со светлосна микроскопија се добиени голем број информации за структурата на клетките, делови од клетките, па дури и за молекулите. Микроскопот користи леќа за да се фокусира зрачењето и да се формира слика откако тоа ќе помине низ примерокот. Меѓутоа, практично ограничување

на светлосната микроскопија претставува ограничената резолуција. Со зрачење со одредена бранова должина не можат да се прикажат структурните карактеристики кои се за околу една половина помали од неговата бранова должина. Поради тоа што најкратката бранова должина на видливата светлина изнесува околу 400 nm, дури и најдобрите светлосни микроскопи имаат теоретско ограничување на резолуцијата на не помалку од 200 nm.

Поради многу пократката бранова должина (0,004 nm) на електронот при волтажи што обично се користат кај електронската микроскопија, теоретското ограничување на резолуцијата на електронскиот микроскоп изнесува околу 0,002 nm. Ако беше можно да се изгради инструмент што всушност би се приближил на оваа граница, електронскиот микроскоп ќе можеше лесно да се користи за да се утврди деталната атомска структура на биолошките молекули, затоа што составните атоми се одвоени со растојание од 0,1 nm до 0,2 nm. Во практиката, аберациите карактеристични за функционирањето на магнетните леќи што се користат за визуелизација на електронскиот сноп ја ограничуваат резолуцијата на околу 0,1 nm (1 Å). Оваа практична граница може да се достигне при испитување на одредени примероци, особено на метали. Меѓутоа, и други фактори, како што е подготовката на примерокот и контрастот, ја ограничуваат резолуцијата за биолошки материи на околу 2 nm (20 Å). Затоа, за да ја утврдиме структурата на молекулските атоми мора да се осврнеме на рендгенските зраци, форма на електромагнетна радијација што се генерира во бранови должини со големина на меѓуатомските растојанија. Иако не постојат микроскопи со леќи што може да ги фокусираат рендгенските зраци во слики, со рендгенската кристалографија може да се открие молекулската структура на исклучително детално ниво.

Рендгенската кристалографија се базира на анализа на дифракцијата што се создава со распрскувањето на сноп од рендгенски зраци кога тие поминуваат низ кристал. Степенот до кој одреден атом ги распрскува рендгенските зраци зависи од неговата големина. Атомите како јаглерод, кислород или азот ги распрскуваат рендгенските зраци повеќе отколку атомите на водород, а поголемите атоми, како железото, јодот или живата, даваат поголемо распрскување. Рендгенските зраци се форма на електромагнетни бранови; како што се преклопуваат распрсканите бранови, така наизменично интерферираат еден со друг и се засилуваат еден со друг. Со соодветно поставен детектор се регистрира образец на точки (образец на дифракција) чија распространетост и интензитет зависи од структурата на дифрактирачкиот кристал. Оваа врска помеѓу структурата на кристалот и образецот на дифракцијата е основа за рендгенската кристалографска анализа. Следува преглед на постапките што се користат:

Добивање на кристали на односниот протеин. За оние лица кои не ги искусиле фрустрациите на кристализацијата на протеини, ова може да изгледа како безначаен и спореден чекор на инаку високо софистициран процес. Но, не е така. Постои голема разлика од еден до друг протеин во однос на условите кои се потребни за да се создадат кристали со соодветна големина и геометриска форма погодни за рендгенска дифракциска анализа. На пример, миоглобинот формира кристали во период од неколку дена при pH = 7 во 3 M раствор на амониум сулфат, но за хуман ИгГ1 добро функционира 1,5 M амониум сулфат при pH = 4. Не може да се примени ниту една одредена формула, а лицата што се конзистентно успешни во оваа област се истрајни, одлучни и, како и познатите готвачи, умеат да го подготват вистинскиот „сос".

Избор и поставување. Најмалата димензија на кристалните примероци мора да изнесува барем 0,1 mm и ретко треба да се надминуваат неколку милиметри во која било димензија. Откако ќе се избере, кристалот се става во капиларна цевка заедно со растворот од кој е добиен кристалот („матична течност"). Со ова се спречува сушење на кристалот и се одржува содржината на растворувачот, а тоа е важно за одржување на внатрешната организираност на примерокот. Потоа капиларната цевка се става во уредот за дифракција.

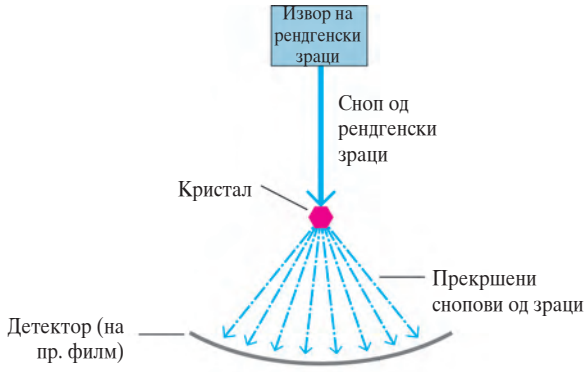
Генерирање и регистрирање на образец на дистракција. Прецизно поставениот кристал потоа се озрачува со рендгенски зраци со позната бранова должина создадени од забрзани електрони кон бакарна површина на рендгенска цевка. Кога снопот рендгенски зраци ќе се судри со кристалот, дел од зраците продолжуваат право низ него, а друг дел се распрскуваат; со сензитивни детектори се регистрира позицијата и интензитетот на распрсканиот сноп зраци како образец од точки (сл. 22-5а, б).

Толкување на образецот на дифракција. Централен дел на анализата на дифракцијата е математичката дедукција на деталната структура што би го предизвикала забележаниот образец на дифракција. Мора да се пресмета до кој степен распрсканите бранови од секој атом се комбинирани за да се засилат или поништат еден со друг и да го предизвикаат нето-интензитетот забележан за секоја точка во низата. Сложените обрасци на дифракција предизвикуваат тешкотии во толкувањето затоа што брановите се разликуваат во однос на фазата, времето меѓу максимумите и минимумите. Поради тоа што забележаниот образец е нето-резултат од интеракција на многу бранови, информациите за фазата се многу важни за да се пресмета распределеноста на електронските густини која одговара на овој резултат. Решението на овој „фазен проблем" се појавува како главна пречка во деривацијата на структура на секој сложен молекул со висока резолуција.

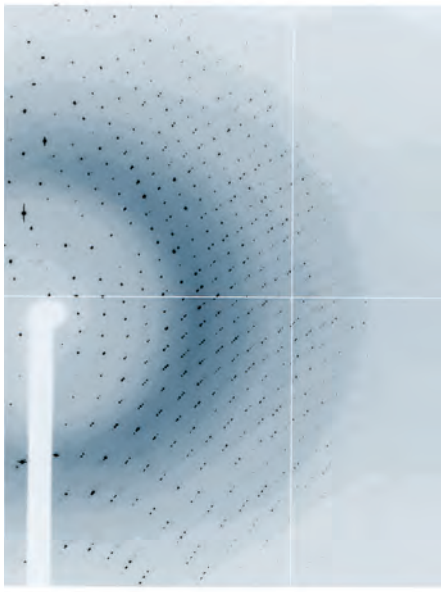
Проблемот се решава со дериватизација на протеинот - со негово модифицирање преку додавање на тешки атоми, како на пример жива, а потоа со добивање на кристали кои имаат еднаква геометрија (кои се изоморфни) со кристалите од недериватизираниот протеин. Се добива образецот на дифракција на изоморфниот кристал и се споредува со образецот на првобитниот протеин. Обично, ако еден истражувач има големо знаење за обрасците на дифракција на два или повеќе изоморфни деривати на тешки атоми, тој може да ги пресмета фазите на првобитниот протеин според карактеристичните обрасци на дифракција создадени од структурата на тешките атоми. Откако ќе се утврдат фазите, може да се премине на пресметување на распределбата на густината на електроните. Тоа се прави со Фуриерова (Fourier) синтеза, математичка постапка особено соодветна за анализа на периодични феномени, како феномените кои се однесуваат на бранови. Во нашиот случај се користи за да се пресмета распределеноста на електронската густина по *x, y* и *z* оската во елементарната клетка на кристалот. Изведената електронска густина потоа може да се визуелизира на компјутер. (сл. 22-5в).

Изведување на структурата. Резолуцијата на еден модел зависи од голем број фактори. Прво, крајната можна резолуција е одредена од квалитетот на кристалот и од внатрешната структура на кристалот. Дури и најквалитетните кристали имаат мал степен на внатрешно нарушување кое ја ограничува

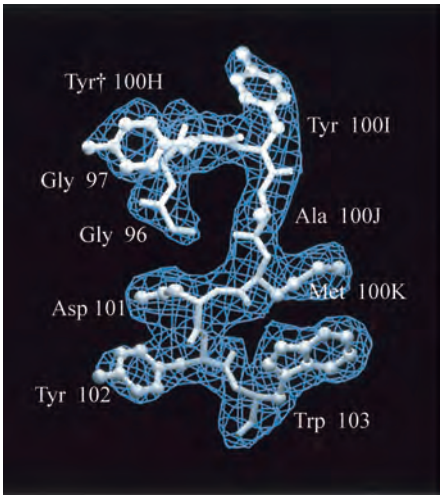
(а)



(б)



(в)



СЛИКА 22-5 Рендгенска кристалографија. (а) Шематски дијаграм на експеримент со рендгенска кристалографија во кој сноп од рендгенски зраци го бомбардира кристалот и се откриваат распрсканите зраци. (б) Дел од образец на дифракција на рендгенски зраци од кристал на IgG2a на глушец. (в) Дел од мапа на електронска густина на ИгГ2а од глушец. *[Дел а од L. Styer, 1995, Biochemistry, 4th ed.; дел б и дел ц преземени од A. McPherson.]*

резолуцијата за околу 2 Å. Второ, многу важен фактор е бројот на интензитетите во Фуриеровата синтеза. Релативно мал број точки може да создадат слика со ниска резолуција (6 Å) на која се гледа правецот на полипептидната верига, но која дава мал број дополнителни структурни информации. Од друга страна, со обработка на податоците добиени од десетици илјади точки се овозможува исцртување на многу детални мапи за електронската густина. Ако претпоставиме дека едно лице ја познава аминокиселинската секвенца на протеинот, овие мапи ќе го насочат да изгради тродимензионални модели со висока резолуција. Податоците за аминокиселинските секвенци се неопходни затоа што може да биде тешко, а во некои случаи и невозможно, јасно да се направи разлика меѓу некои странични синџири на аминокиселините дури и на најдеталните мапи за електронската густина.

Од 1960 г. наваму, кога беа добиени првите детални структури на протеините, откриени се структурите на илјадници протеини. Во нив спаѓаат од многу мали и (релативно) едноставни протеини, како што е лизозимот, со една полипептидна верига, до полиовирусот од 8 500 000 далтони, зачудувачки сложен нуклеопротеин составен од РНК обвиткана со бројни копии на четири различни полипептидни поединици. Од особено значење за имунолозите е големиот број на имунолошки значајни молекули за кои сега има достапни детални кристални структури. Во нив спаѓаат имуноглобулините, повеќето главни и споредни протеини во ГТК и Т-рецепторските комплекси и многу други значајни имунолошки макромолекули, а секој месец се појавуваат нови структури и структурни варијанти.

Технологија на рекомбинаторната ДНК

Различните техники наречени технологија на рекомбинаторна ДНК имаат влијаание врз сите сфери од имуните истражувања. Гените може да се клонираат, ДНК може да се секвенционира, а рекомбинантни протеини може да се создадат, со што на имунолозите им се овзможуваат дефинирани компоненти за испитување на структурата и функцијата на имуниот систем на молекулско ниво. Во овој дел накратко се опишуваат некои од рекомбинаторните ДНК техники што вообичаено се применуваат во имунолошките истражувања; низ книгата се дадени конкретни примери за нивната примена.

Рестрикциските ензими ја расцепуваат ДНК во специфични секвенци

Голем број бактерии создаваат ензими наречени *рестрикциски ендонуклеази* кои ја разградуваат туѓата ДНК (на пр., бактериофагна ДНК), но ја зачувуваат ДНК од бактериските клетки, која содржи метилирани остатоци. Откривањето на овие бактериски ензими во 1970-тите отворило пат за голем технолошки напредок на полето на молекулската биологија. Пред да се откријат рестрикциските ендонуклеази, двоверижната ДНК (dsDNA) можела да се расекува само со ДН-ази. Овие ензими не препознаваат дефинирани места и затоа произволно ја раскинуваат ДНК на различни серии од мали фрагменти, кои не може да се распоредат според големина или секвенца. Од друга страна, рестрикциските ендонуклеази ја препознаваат и ја расцепуваат ДНК на специфични места, наречени рестрикциски места, кои се кратки двоверижни

ТАБЕЛА 22-5 Некои рестрикциски ензими и нивни препознавачки секвенци

Извор од микроорганизам	Кратенка	Секвенца* 5'→3' 3'→5'
Bacillus amyloliquefaciens H	BamHI	G|G A T C C C C T A G|G
Escherichia coli RY 13	*Eco*RI	G|A A T T C C T T A A|G
Haemophilus aegyptius	*Hae*III	G G|C C C C|G G
Haemophilus influenzae Rd	*Hind*III	A|A G C T T T T C G A|A
Haemophilus parainfluenzae	*Hpa*I	G T T|A A C C A A|T T G
Nocardia otitidis-caviarum	*Not*I	G C|G G C C G C C G C C G|G C G
Providencia stuartii 164	*Pst*I	G T G C|A G C A C G T G
Staphylococcus aureus 3A	*Sau*3A	|G A T C C T A G|

*Сините линии ги означуваат локациите на пресеците на едната верига во рамките на рестрикциското место. Ензимите кои прават раздвоен пресек на двете вериги создаваат фрагменти со кратки едноверижни екстензии на нивните краеви.
ИЗВОР: New England Biolabs, http://www.neb.com.

сегменти со специфична секвенца која содржи четири до осум нуклеотиди (табела 22-5).

Рестрикцискатa ендонуклеаза ги сече двете ДНК нишки во специфична точка во рамките на рестрикцискoто место. Некои ензими, како што е *HpaI*, ја сечат централната оска и така создаваат фрагменти со тап крај. Други ензими, како што е *EcoRI*, ја сечат ДНК во раздвоени точки во местото на препознавање. Во овој случај, крајниот дел на секој пресечен фрагмент е краток сегмент на едноверижна ДНК, наречен *„лепливˮ крај*. Кога ќе се пресечат две различни ДНК молекули со истиот рестрикциски ензим кој прави раздвоено пресекување, лепливите краеви на фрагментите се комплементарни; во соодветни услови, фрагментите од двете молекули може да се поврзат со спарување на базите за да се создаде рекомбинантна ДНК молекула. Изолирани се неколку стотици различни рестрикциски ендонуклеази, а многу од нив се достапни на пазарот, со што им се овозможува на истражувачите да купуваат ензими што ја сечат ДНК на дефинирани рестрикциски места.

ДНК секвенците се клонираат во вектори

Развојот на технологијата за ДНК клонирање во 1970-тите овозможил амплификација на даден ДНК фрагмент до степен до кој може да се создадат неограничени количини на идентични ДНК фрагменти (клонирана ДНК).

Векторите за клонирање се корисни за репликација на дефинирани ДНК секвенци

При ДНК клонирање, даден ДНК фрагмент се вметнува во автономно реплицирачки ДНК молекул, наречен клонирачки вектор, така што вметнатата ДНК се реплицира со векторот. Како вектори се користат различни вируси, меѓу кои бактериски вируси, вируси од инсекти и ретровируси од цицачи. Бактериски вирус што често се користи како вектор е бактериофагот ламбда (λ). Доколку во бактериофагот ламбда се инсертира ген и добиениот рекомбинаторен ламбда бактериофаг се користи за инфицирање на *E. coli*, бактериите ќе го прикажуваат вметнатиот ген.

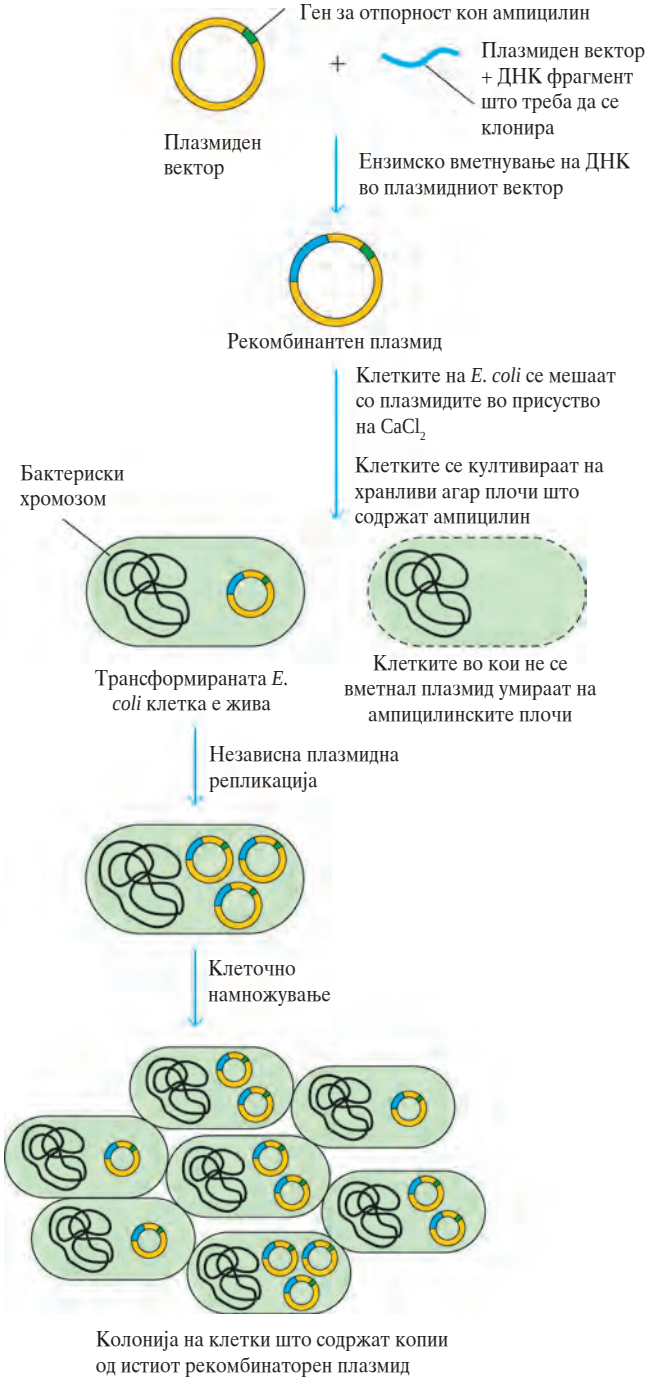
Друг чест вид на клонирачки вектори се плазмидите. Плазмид е мал, кружен, екстрахромозомски ДНК молекул што независно се реплицира во една клетка-домаќин; за ДНК клонирање, како домаќин најчесто се користи *E. coli*. Општо земено, ДНК што треба да се клонира, се вметнува во плазмид што содржи ген за антибиотска отпорност (резистентност). Откако рекомбинаторниот плазмид ќе се инкубира со бактериските клетки, клетките што го содржат рекомбинаторниот плазмид може да се селектираат според нивната способност да растат кога има присуство на антибиотик.

Друг вид на вектор што често се користи за клонирање е *космидниот вектор*. Овој вид вектор е плазмид на кој му е извршено генетско инженерство за да содржи КОС места на ламбда бактериофагната ДНК, ген за антибиотска резистентност и место за почеток на репликацијата. КОС местата се ДНК секвенци кои овозможуваат секоја ДНК со должина до 50 кб да се спакува во главата на ламбда бактериофагот.

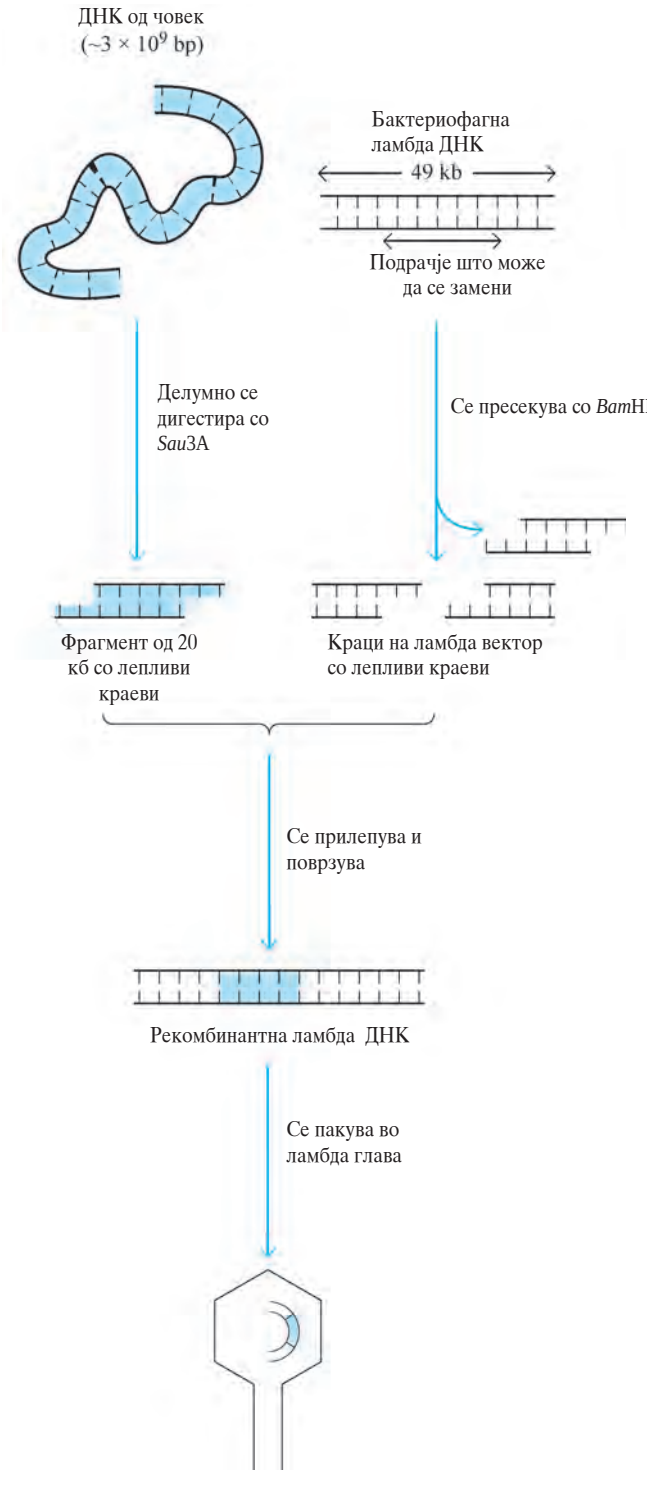
Со клонирање на кДНК и геномска ДНК се овозможува изолирање на дефинирани секвенци

Информациската РНК (мРНК) изолирана од клетки може да се препише во комплементарна ДНК (**кДНК**) со ензимот реверзна транскриптаза. **кДНК** може да се клонира ако се вметне во плазмиден вектор што носи ген кој пренесува отпорност кон антибиотици, како на пример, ампицилин. Добиената рекомбинаторна плазмидна ДНК потоа се пренесува во специјално третирани клетки на *E. coli* со една од неколкуте техники; процесот на пренесување се нарекува **трансфекција**. Доколку туѓата ДНК се вгради во клетката-домаќин и се прикаже, за клетката се вели дека е **трансформирана**. Кога клетките се култивираат на плочи со агар што содржат ампицилин, ќе преживеат и ќе пораснат само трансформираните клетки што содржат ген за резистентност кон ампицилин (сл. 22-6). Колекцијата на ДНК секвенци во плазмидните вектори што ги претставуваат сите мРНК секвенци добиени од клетка или ткиво се нарекуваат **кДНК** *библиотека*. **кДНК** библиотеката се разликува од геномската библиотека затоа што ги содржи само секвенците добиени од мРНК, секвенците што претставуваат прикажани гени.

За геномско клонирање, клонирање на целиот геном на едно животно, се потребни специјализирани вектори. Плазмидните вектори од *E. coli* не се практични за клонирање на сите геномски ДНК фрагменти што сочинуваат голем геном поради малата ефикасност на трансформирањето на *E. coli* и малиот број на трансформирани колонии што може да се откријат во типична петриева плоча. Наместо тоа, се користат клонирачки вектори од бактериофагот ламбда за клонирање на геномски ДНК фрагменти добиени со сечење на хромозомската ДНК со рестрикциски ензими (сл. 22-7). Бактериофагната ламбда ДНКе долга 48,5 кб и содржи централен дел од околу 15 кб што не е неоходен за репликација на ламбда кај *E. coli* и затоа може да се замени со туѓа геномска ДНК. Сè додека рекомбинаторната ДНК не ја надмине со многу должината на оригиналната ламбда бактериофагна ДНК, таа може да се спакува во главата



СЛИКА 22-6 Клонирање на cDNA со примена на плазмиден вектор. Плазмид што содржи место за почеток на репликација и ген за резистентност на ампицилин е пресечен со рестрикциска ендонуклеаза што создава тапи краеви. По додавање на поли-Ц опашка на 3′ краевите на кДНК и на комплементарна поли-Г опашка на 3′ краевите на пресечениот плазмид, двете ДНК се мешаат, се прилепуваат и се поврзуваат со ДНК лигаза со што се формира рекомбинаторниот плазмид. Апсорпцијата на рекомбинаторниот плазмид во клетките на *E. coli* се стимулира со високи концентрации на $CaCl_2$. Трансформацијата е со ниска стапка, но трансформираните клетки може да се селектираат во присуство на ампицилин. *[Прилагодено од H. Lodish et al., 1995, Molecular Cell Biology, 3rd ed. Scientific American Books.]*



СЛИКА 22-7 Клонирање на геномска ДНК со примена на бактериофаг ламбда како вектор. Геномската ДНК делумно се дигестира со *Sau*3A, со што се создаваат фрагменти со лепливи краеви. Централниот 15 кб регион на ламбда бактериофагната ДНК се отсекува со *Bam*HI и се исфрла. Овие два рестрикциски ензима создаваат комплементарни лепливи краеви, така што геномските и ДНК фрагментите може да се здружат и поврзат. Откако добиената рекомбинантна ДНК ќе се спакува во главата на ламбда бактериофагот, таа може да се размножи во *E. coli.*

на ламбда бактериофагот и да се размножи во *E. coli*. Тоа значи дека во една честица на ламбда бактериофаг може да се клонираат нешто повеќе од 2,0 x 10^4 базни парови. Група ламбда клонови со сите ДНК секвенци на даден вид се нарекува *геномска библиотека*. Потребни се околу 1 милион различни рекомбинаторни ламбда бактериофагни честици за да се формира геномска ДНК библиотека која го претставува целиот геном на цицачите, кој содржи 3 x 10^9 базни парови.

Често, делот од ДНК од 20 до 25 кб што може да се клонира во бактериофагот ламбда не е доволно долг за да ги опфати регулаторните секвенци што се протегаат надвор од 5′ и 3′ крајот на директните кодирачки секвенци на еден ген. Како што веќе беше кажано, поголемите геномски ДНК фрагменти (со должина од 30 до 50 кб) може да се клонираат во козмиден вектор. Рекомбинантниот козмиден вектор, иако не е целосно функционален бактериофаг, можа да ја инфицира *E. coli* и да се реплицира како плазмид, со што ќе се создаде козмидна библиотека. Од неодамна, за пакување на ДНК фрагменти долги до 100 кб се користи поголем вирус на *E. coli*, наречен бактериофаг P1. Може да се клонираат и поголеми ДНК фрагменти, подолги дури од 2000 кбп, во квасни вештачки хромозоми (YAC), кои се линеарни ДНК сегменти што може да се реплицираат во квасни клетки (табела 22-6). Друг корисен вектор е BAC или бактериски вештачки хромозом. BAC можат да прифатат делови од ДНК долги од 100 до 300 кб. Иако YAC прифаќаат поголеми делови на туѓа ДНК, BAC полесно се размножуваат и претставуваат вектор од прв избор во многу обиди за клонирање на големи фрагменти.

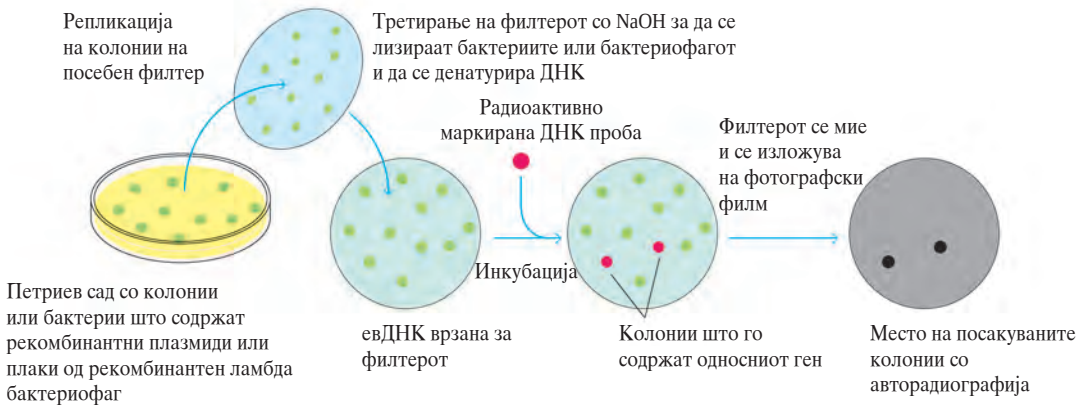
ТАБЕЛА 22-6 **Вектори и максимална должина на ДНК што можат да ја носат**

Тип на вектор	Максимална должина на клонирана ДНК (кб)
Плазмид	15
Бактериофаг ламбда	25
Козмид	45
Бактериофаг П1	100
Бактериски вештачки хромозом (BAC)	100-300
Квасен вештачки хромозом (YAC)	> 2000

ДНК клоновите се селектираат со хибридизација

Откако ќе се подготви кДНК или геномска ДНК библиотека, може да се направи скрининг за да се утврди одреден ДНК фрагмент со техника наречена *ин ситу хибридизација*. Клонираните бактериски колонии, квасни колонии или бактериофагните плаки што ја содржат рекомбинантната ДНК се пренесуваат на нитроцелулоза или на најлонски филтри со огледално засадување (replica plating) (сл. 22-8). Филтерот потоа се третира со NaOH, што ги лизира бактериите и ја денатурира ДНК, со што овозможува едноверижната ДНК (ssDNA) да се врзе за филтерот. Филтерот со врзаната ДНК потоа се инкубира со радиоактивна проба специфична за односниот ген. Пробата ќе хибридизира со ДНК во колониите или плаките на филтерот што го содржат бараниот ген и тие може да се идентификуваат со авторадиографија. Местото на позитивните колонии или плаки на филтерот покажува каде може да се откријат соодветните клонови на првичната агар плоча.

За скрининг на библиотеките може да се користат различни радиоактивни проби. Во некои случаи, како проба служи радиолошки маркирана мРНК или кДНК. Доколку протеинот кој е кодиран од односниот ген е прочистен и делумно секвенциран, може да се изврши обратна постапка почнувајќи од аминокиселинската секвенца за да се одреди веројатната нуклеотидна секвенца на соодветниот ген. Сè што е потребно за синтетизирање на радиолошки маркирани олигонуклеотидни проби со кои се прави скрининг на кДНК или на геномската библиотека на одреден ген е позната секвенца од пет до шест аминокиселински остатоци. За да се совлада дегенерираноста на генетскиот код, обично се избираат пептидни сегменти што содржат аминокиселини кодирани од ограничен број кодони. Потоа се синтетизираат олигонуклеотиди кои ги претставуваат



СЛИКА 22-8 **Избирање на специфични клонови од кДНК или од геномска ДНК библиотека со ин ситу хибридизација.** На плочката се поставува нитроцелулоза или најлонски филтер за да се соберат бактериските колонии или бактериофагните плаки што ги содржат клонираните гени. Откако филтерот се стави во раствор на NaOH и се загрее, денатурираната евДНК се фиксира за филтерот. Со филтерот се инкубира радиоактивна проба специфична за односниот ген. Местото на колониите или плаките што го содржат посакуваниот ген се открива со авторадиографија.

сите можни кодони за пептидот и тие се користат како проби за скрининг на ДНК библиотеката.

Со Садерново дамкосување „Southern blotting" се открива ДНК на дадена секвенца

ДНК фрагментите создадени со дигестија со рестрикциска ендонуклеаза може да се одвојат врз база на должината со електрофореза на агарозен гел. Колку е пократок фрагментот, тој толку побрзо се движи низ гелот. За да се утврди секој дел од ДНК што содржи фрагмент со дадена генска секвенца може да се примени елегантна техника развиена од Е. М. Садерн (E. M. Southern) (сл. 22-9). Во оваа техника, наречена **Садерново дамкосување** „**Southern blotting**", ДНК се расекува со рестрикциски ензими и фрагментите се одвојуваат според големината со електрофореза на агарозен гел. Потоа гелот се натопува во NaOH за да се денатурира двДНК, а добиените евДНК фрагменти се пренесуваат на нитроцелулоза или на најлонски филтер преку капиларно дејство. По пренесувањето, филтерот се инкубира со соодветна радиолошки маркирана проба специфична за односниот ген. Пробата се хибридизира со фрагмент од евДНК што го содржи односниот ген и потоа со авторадиографија се утврдува местото што ги содржи овие хибридизирани фрагменти. Анализата **Садерново дамкосување** играла значајна улога во откривање на механизмот преку кој се создаваат разновидни противтела и Т-клеточни рецептори (в. сл. 5-2 и сл. 9-2).

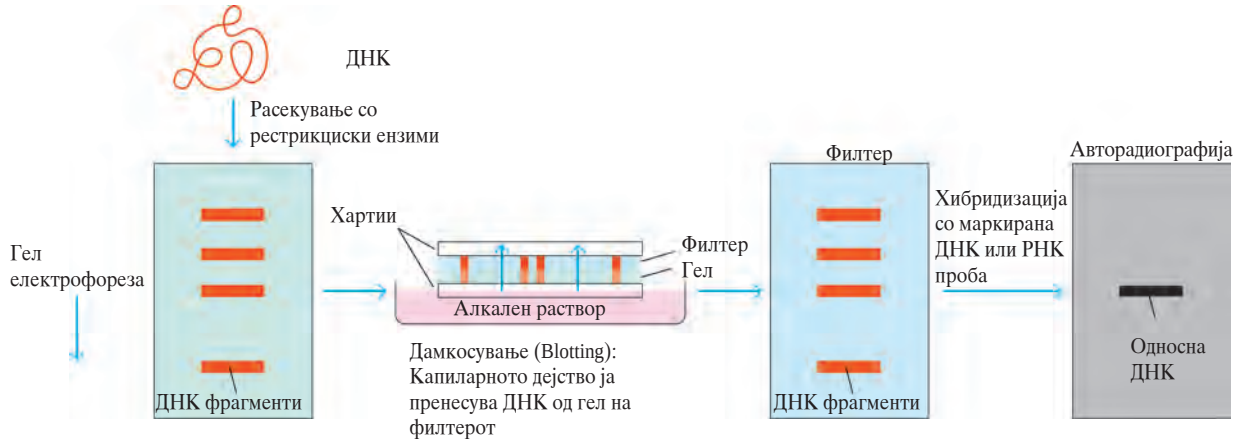
Со Нордерново дамкосување „Northern blotting" се детектира мРНК

Нордерново (северно) дамкосување „Nothern blotting" (именувано поради сличноста со Садерново дамкосување) се користи за да се детектираат специфични мРНК молекули. Во оваа постапка, мРНК молекулите прво се денатурираат за да се одвиткаат и да добијат линеарна форма. Потоа, мРНК молекулите се одвојуваат според големината со електрофореза и се пренесуваат на нитроцелулозен филтер за кој мРНК се прилепува. Филтерот потоа се инкубира со обележена ДНК проба и се прави авторадиографија. **Нордерновото дамкосување** често се користи за да се утврди колку специфична мРНК се прикажува во клетките во различни услови. Зголемени нивоа на мРНК ќе врзат пропорционално поголем дел од обележената ДНК проба.

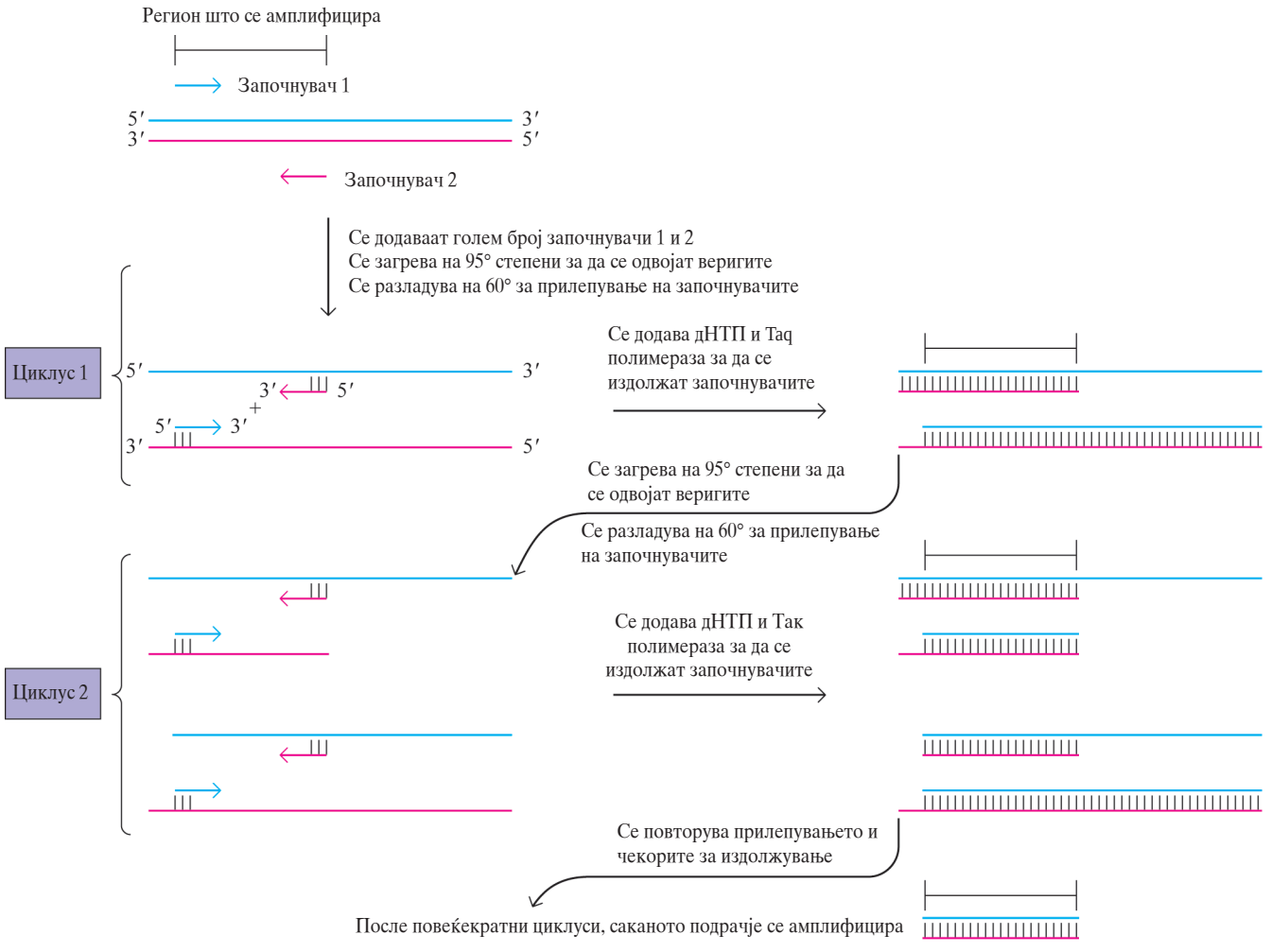
Полимеразно верижната реакција амплифицира мали количини на ДНК

Полимеразно верижната реакција (ПВР) е моќна техника за амплификација на специфични ДНК секвенци дури и кога тие се присутни во премногу мали количини или во комплексни мешавини (сл. 22-10). За постапката е потребно да се знаат ДНК секвенците кои се наоѓаат во близина на целната ДНК секвенца за да може да се синтетизираат кратки олигонуклеотидни започнувачи (прајмери). ДНК смесата потоа се денатурира во единечни вериги со кратко загревање. Потоа ДНК се разладува во присуство на олигонуклеотидни започнувачи во вишок, кои се хибридизираат со комплементарната евДНК. Се додава ДНК полимераза резистентна на топлина, заедно со четирите деоксирибонуклеотидни трифосфати и секоја верига се копира. Двете вериги од новосинтетизираниот ДНК дуплекс се раздвојуваат со загревање и циклусот се повторува. Во секој циклус доаѓа до удвојување на целната ДНК секвенца; во само 25 циклуси, посакуваната ДНК секвенца може да се амплифицира околу милион пати.

Амплифицираната ДНК со ПВР потоа може да се карактеризира со Садерново дамкосување, со мапирање со рестрикциски ензими и со директно ДНК секвенцирање. ПВР техниката им овозможи на имунолозите да амплифицираат гени кои кодираат протеини кои се важни за имуниот одговор, како што се ГТК молекулите, Т-клеточниот рецептор и имуноглобулините.



СЛИКА 22-9 Садерновото дамкосување е техника за откривање специфични секвенци во ДНК фрагменти. ДНК фрагментите создадени со сечење со рестрикциска ендонукелаза се одвојуваат според големината со електрофореза на агарозен гел. Агарозниот гел се покрива со нитроцелулоза или со најлонски филтер и со дебел пласт хартија. Гелот потоа се става во раствор од алкални соли кои ја денатурираат ДНК. Како што хартијата ја впива влагата, растворот оди низ гелот во филтерот и му го пренесува секој евДНК дел на филтерот. Овој процес се нарекува дамкосување (blotting). Откако ќе се загрее, филтерот се инкубира со радиолошки маркирана проба специфична за односната секвенца; ДНК фрагментите што хибридизираат со пробата се откриваат со авторадиографија. *[Прилагодено од J. Darnell et al., 1990,* Molecular Cell Biology, *2nd ed., Scientific American Books.]*



СЛИКА 22-10 Полимеразно верижна реакција (ПВР). ДНК се денатурира во единечни вериги со краток третман со топлина, а потоа се разладува во присуство на вишок од олигонуклеотидни започнувачи комплементарни на ДНК секвенците што се во близина на посакуваниот ДНК сегмент. За да се копира ДНК од 3' краевите на започнувчите се користи ДНК полимераза резистентна на топлина. Поради тоа што сите компоненти во реакцијата се стабилни на топлина, циклусот на загревање и разладување може да се повторува повеќе пати, а тоа ќе резултира со наизменично топење и синтеза на ДНК и брза амплификација на дадена секвенца. *[Прилагодено од H. Lodish et al., 1995,* Molecular Cell Biology, 3rd ed., *Scientific American Books.]*

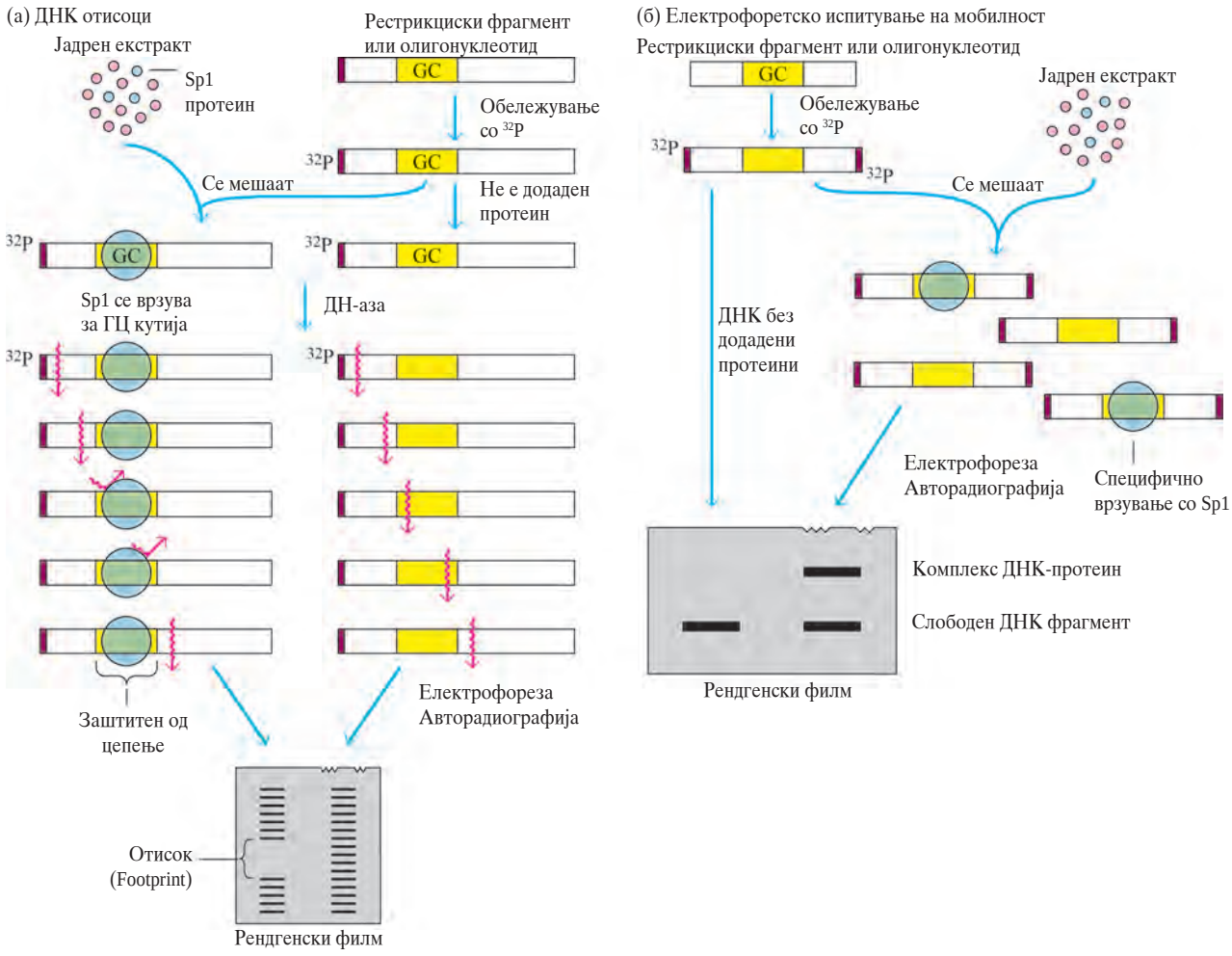
Анализа на ДНК регулаторни секвенци

Препишувачката активност на гените е регулирана од промоторните и засилувачките секвенци. Овие секвенци се *cis-дејствувачки*, а тоа значи дека ги регулираат само гените на ист ДНК молекул. Промоторната секвенца се наоѓа пред почетокот на генот што го регулира и содржи TATA кутија, каде се врзува препишувачката машинерија, која вклучува РНК полимераза 2 и започнува препишување. Засилувачката секвенца овозможува висока стапка на препишување со промоторот. За разлика од промоторот, кој секогаш се наоѓа пред генот што го контролира, засилувачкиот елемент може да се наоѓа каде било во однос на генот (во 5′ насока од промоторот, 3′ насока од генот, па дури и во интрон на генот).

Активноста на засилувачките и промоторните секвенци е контролирана од препишувачките фактори, кои се ДНК-врзувачки протеини. Овие протеини се врзуваат за специфични нуклеотидни секвенци во промоторите и засилувачите и делуваат или за да ја засилат или за да ја намалат нивната активност. Засилувачките и промоторните секвенци и нивните ДНК-врзувачки протеини се идентификуваат со различни техники, меѓу кои со ДНК отисоци (DNA footprinting), со електрофоретско испитување на мобилност и со CAT анализа.

Со ДНК отисоците се идентификуваат местата каде протеините се врзуваат за ДНК

Местата за врзување на ДНК врзувачките протеини за засилувачите и промоторите може да се утврдат со техника



СЛИКА 22-11 Идентификација на ДНК секвенци што се врзуваат за протеин со ДНК отисоци и електрофоретско испитување на мобилност. (а) Во отисочната техника, обележените ДНК фрагменти што содржат претпоставена промоторна или засилувачка секвенца се инкубирани со и без ДНК врзувачки протеин (на пр., Sp 1 протеин, кој се врзува за „ГЦ кутија", регион на ДНК богат со ГЦ). По третирањето на примероците со ДН-аза и по одвојувањето на веригите, на добиените фрагменти им се врши електрофореза; потоа, гелот се авторадиографира. Празно подрачје (стапалка) во образецот на гелот е знак дека протеинот се врзал за ДНК. (б) Во електрофоретското испитување на мобилноста, обележаниот ДНК фрагмент се инкубира со клеточен екстракт што содржи препишувачки фактори. Електрофоретската мобилност на комплексот ДНК-протеин е побавна од мобилноста на слободните ДНК фрагменти. *[Приспособено од J. D. Watson et al., 1992,* Recombinant DNA, *2nd ed.,W. H. Freeman and Company.]*

наречена ДНК отисоци. (сл 22-11а). Во оваа техника, најпрво со ^{32}P на 5′ крајот радиоактивно се обележува клониран ДНК фрагмент што содржи претпоставена засилувачка или промоторна секвенца. Обележаната ДНК потоа се дели на две фракции: едната фракција се инкубира со јадрен екстракт што содржи ДНК врзувачки протеин; другата ДНК фракција не се инкубира со екстрактот. Потоа, двата ДНК примерока се дигестираат со нуклеаза или со хемиско соединение што произволно ги раскинува фосфодиестерните врски на ДНК и веригите се одвојуваат. Добиените ДНК фрагменти се стават на гел за да се одвојат фрагментите со различна големина. Ако нема ДНК врзувачки протеини, на електрофорезниот гел се добива целосна скала на ленти. Кога има протеин што се врзува за некое место на ДНК фрагментот, тој покрива дел од нуклеотидите и го заштитува тој ДНК дел од дигестија. Електрофорезниот образец на оваа заштитена ДНК ќе содржи празни региони (или стапалки (отисоци = footprints). Секој отисок го претставува местото во рамките на еден засилувач или промотор каде се врзува одреден ДНК-врзувачки протеин.

Со електрофоретско испитување на мобилноста се идентификуваат комплекси ДНК-протеин

Кога протеинот ќе се врзе за ДНК фрагмент и формира комплекс ДНК-протеин, електрофоретската мобилност на ДНК фрагментот во гелот е намалена и предизвикува промена во позицијата на траката што го содржи тој фрагмент. Овој феномен е основа за испитувањето на електрофоретската мобилност. Во оваа техника, радиоактивно обележена клонирана ДНК што содржи засилувачка или промоторна секвенца се инкубира со јадрен екстракт што содржи ДНК врзувачки протеин (сл. 22-11б). Потоа се врши електрофореза на комплексот ДНК-протеин и неговата електрофоретска

мобилност се споредува со мобилноста на клонираната ДНК без врзан протеин. Промена на мобилноста е знак дека протеинот се врзал за ДНК, забавувајќи ја нејзината мобилност на електрофорезниот гел.

Со анализи на луциферазa се мери препишувачката активност

Еден начин да се процени активноста на промоторот е преку генетски инженеринг и клонирање на ДНК секвенца што содржи т.н. гласнички ген (*reporter gene)* прикачен за промоторот кој се анализира. Кога оваа секвенца, или конструкт, ќе се внесе во еукариотските клетки, препишувањето ќе почне од промоторот ако е тој активен, а гласничкиот ген ќе се препише и неговиот протеински производ ќе се синтетизира. Со мерење на количината на овој создаден протеин може да се одреди активноста на промоторот. Со предизвикување на мутации во секвенцата на промоторот, а потоа со испитување на активноста на промоторот со соодветниот гласнички ген, во промоторите се идентификувани зачуваните секвенцни мотиви.

Повеќето гласнички гени се избираат затоа што кодираат протеини што лесно може да се измерат, како што е светкавиот ензим луциферазa, ензим што катализира реакција во која се емитува светлина - реакција која ги поттикнува светулките да светкаат во темно. Колку е промоторот поактивен, толку повеќе луциферазa ќе се произведе во трансфектираната клетка. Активноста на луциферазата се мери со додавање на нејзинот субстрат, луциферин, и со мерење на емитираната светлина со луминометар. Друг познат гласнички ген кодира зелен флуоресцентен протеин (ГФП) а за него се говори на крајот од ова поглавје.

Трансфер на гени во клетки од цицачи

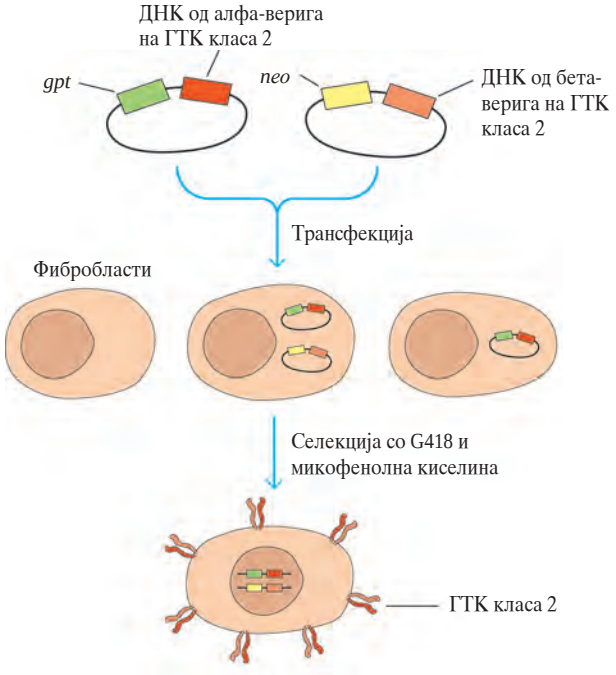
Различни гени што учествуваат во имуниот одговор се изолирани и клонирани со примена на рекомбинантни ДНК техники. Прикажувањето и регулацијата на овие гени е испитувано со нивно внесување во култивирани клетки од цицачи и, од неодамна, во **зародишни клетки** од животни.

Клонираните гени кои се пренесени во култивирани клетки овозможуваат ин витро анализа на функцијата на гените

Развиени се различни техники за трансфекција на гени во клетки. Една од вообичаените техники вклучува користење на ретровирус во кој вирусен структурен ген е заменет со клониран ген што треба да се трансфектира. Изменетиот ретровирус потоа се користи како вектор за внесување на клонираниот ген во култивираните клетки. Поради карактеристиките на ретровирусите, рекомбинантната ДНК се интегрира во клеточниот геном со висока ефикасност. Во друг алтернативен метод, се прави комплекс од односниот клониран ген и калциум фосфат. Комплексот од калциум фосфат и ДНК бавно се преципитира врз клетките и мал процент од нив ја апсорбираат ДНК. Со друг метод на трансфекција, наречен електропорација, електрична струја создава пори во клеточните мембрани низ кои се апсорбира клонираната ДНК. Во двата последни метода, трансфектираната ДНК се интегрира, во произволни места, во ДНК на мал процент третирани клетки.

Општо земено, клонираната ДНК што е трансфектирана генетски се модификува за таа да содржи ген-обележувач, како на пример генот што пренесува отпорност на неомицин. По трансфекцијата, клетките се култивираат со неомицин. Поради тоа што може да пораснат само трансфектираните клетки, малиот број на трансфектирани клетки во вкупната клеточна популација може да се утврди и селектира.

Трансфекцијата на клонираните гени во клетките се покажа како многу ефикасна во имунолошките истражувања. Со трансфекција на гени што учествуваат во имуниот одговор во клетките кои имаат недостиг на тие гени може да се испитува продуктот на еден специфичен ген одделно од протеините кои се во интеракција, а се кодирани од други гени. На пример, трансфекцијата на ГТК гени, контролирана од соодветни промотори, во фибробластна клеточна линија од глушец (L929, или едноставно L клетки) им овозможи на имунолозите да ја испитуваат улогата на ГТК молекулите во презентацијата на противгени на Т-клетките (сл. 22-12). Со трансфекција на генот што го кодира Т-клеточниот рецептор се обезбедуваат ин-



СЛИКА 22-12 Трансфекција на гени што ја кодираат алфа-веригата и бета-веригата од ГТК класа 2 во фибробластни Л-клетки на глушец што нормално не ги создаваат овие протеини. Создадени се два конструкти што содржат еден ГТК ген и избран ген: генот за алфа-веригата со генот за гванин фосфорибозил трансфераза (*gpt*), кој пренесува отпорност кон лекот G418, и генот за бета-веригата со генот за неомицин (*neo*), кој пренесува отпорност кон микофенолна киселина. По трансфекцијата, клетките се стават во медиум што содржи и *G418* и микофенолна киселина. Оваа селекција ќе ја преживеат само оние фибробласти што содржат и *neo* и *gpt* гени (а последователно и гените што ги кодираат алфа и бета веригите од ГТК класа 2). Врз нивните мембрани, овие фибробласти ќе ги прикажуваат двете вериги на ГТК на класа 2.

формации за противген-ГТК специфичноста на Т-клеточниот рецептор.

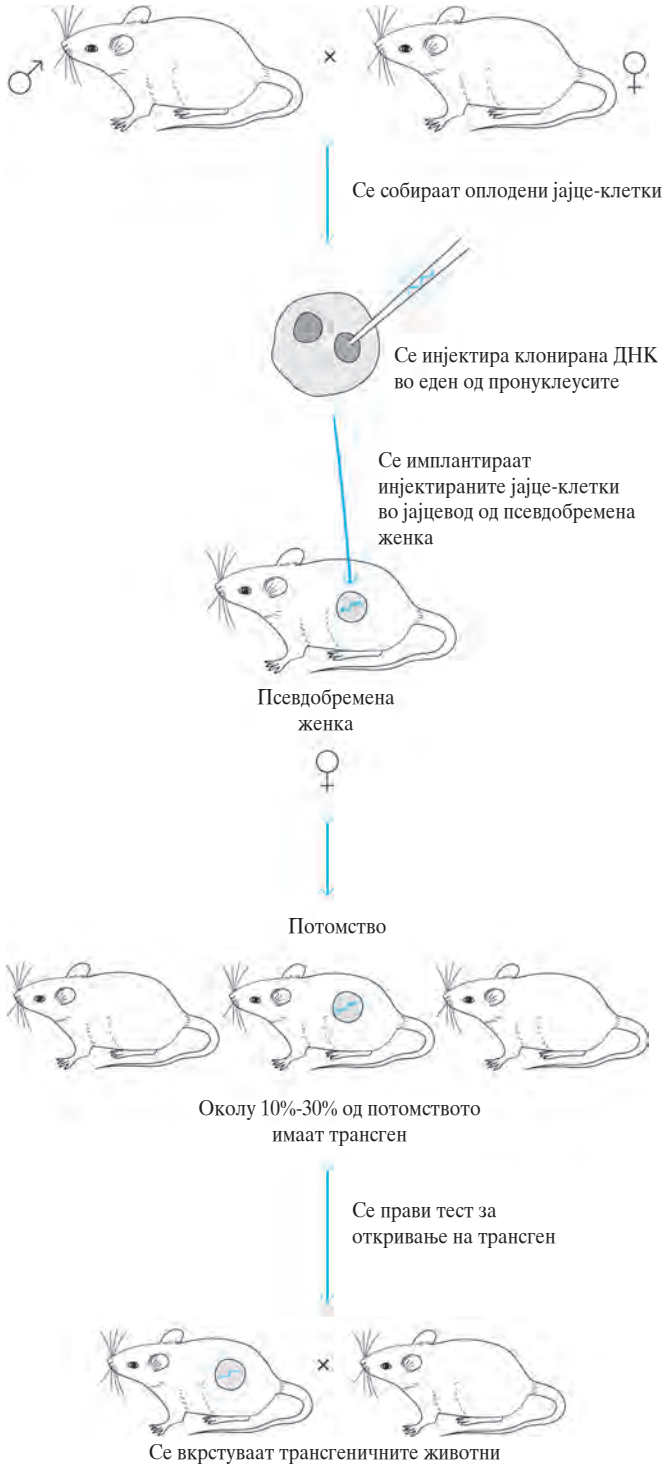
Ретровирусите, кои можат да го инфицираат речиси секој тип на клетка од цицач, се вообичаен вектор што се користи за да се внесе ДНК во клетка од цицач, особено во лимфоидни клетки**.** Ретровирусите се РНК вируси што содржат реверзна транскриптаза, ензим кој го катализира претворањето на вирусниот РНК геном во ДНК. Потоа вирусната ДНК се интегрира во хромозомската ДНК на домаќинот, каде се задржува како провирус и се реплицира со хромозомската ДНК од домаќинот при секоја клеточна делба. Кога еден ретровирус се користи како вектор во истражување, повеќето ретровирусни гени се отстрануваат за векторот да не создава вирусни честици; ретровирусните гени кои остануваат содржат силен промоторски регион, лоциран на 5′ крајот на вирусниот геном, во секвенца наречена *долго терминално повторување (LTR)*. Ако еден ген се инсертира во еден таков ретровирусен вектор и векторот потоа се искористи за да се инфицираат Т-клетки од цицач, прикажувањето на генот ќе го контролира ретровирусниот промоторен регион. Поради тоа што лимфоцитите се особено резистентни на многу методи за трансфекција, за имунолозите е од голема корист употребата на ретровирусни вектори за да се внесат гени во лимфоидните клетки.

Клонираните гени кои се пренесени во ембриони од глушец овозможуваат ин виво анализа на функцијата на гените

Развојот на техники за внесување клонирани туѓи гени (наречени **трансгени**) во ембриони на глушец им овозможи на имунолозите да ги проучуваат ефектите на гените врз имуниот систем ин виво. Ако внесениот ген стабилно се интегрира во зародишните клетки, тој ќе се пренесе во потомството.

Прв чекор за создавање на трансгенични глувци е инјекција на туѓа клонирана ДНК во оплодена јајце-клетка. Во овој технички сложен процес, оплодените глувчешки јајце-клетки се држат вшмукани во крајниот дел од пипета, а трансгенот се микроинјектира во еден од пронуклеусите со тенка игла. Трансгенот се интегрира во хромозомската ДНК на пронуклеусот и се пренесува на клетките-ќерки на јајце-клетките што ќе го преживеат процесот. Јајцеклетките потоа се имплантираат во јајцеводот на „псевдобремените" женки и по 19 или 20 гестациски денови се раѓаат трансгенични глувчиња (сл. 22-13). Општо земено, ефикасноста на оваа процедура е мала и се создаваат само еден или два трансгенични глувци на секои сто земени оплодени јајце-клетки.

Со трансгеничните глувци, имунолозите можат да го проучуваат прикажувањето на даден ген кај живо животно. Иако сите клетки кај едно трансгенично животно го содржат трансгенот, разликите во прикажувањето на трансгенот во различни ткива ги разјаснија механизмите за генското прикажување специфично за ткивата. Со конструирање на трансген со посебен промотор, истражувачите можат да го контролираат прикажувањето на даден трансген. На пример, металотионинскиот промотор се активира со цинк. Трансгеничните глувци кои носат трансген поврзан со металотионински промотор го прикажуваат трансгенот само ако во водата што ја пијат се додаде цинк. Други промотори се функционални само во одредени ткива; на пример, инсулинскиот промотор поттикнува прикажување само во клетките на панкреасот. Според тоа, трансгеничните глувци кои носат



СЛИКА 22-13 Општа процедура за создавање на трансгени глувци. Од бремена женка-глушец се собираат оплодените јајце клетки. Клонирана ДНК (означена како трансген) се микроинјектира во еден од пронуклеусите на оплодената јајце-клетка. Јајце клетките потоа се имплантираат во јајцеводот на псевдобремени сурогат-мајки (добиени со парење на нормални женки со стерилен мажјак). Трансгенот се инкубира во хромозомската ДНК кај околу 10% до 30% од потомството и се прикажува во сите нивни соматски клетки. Ако еден ткивно специфичен промотор е поврзан со трансген, ќе дојде до ткивно специфично прикажување на трансгенот.

трансген поврзан со инсулинскиот промотор ќе го прикажуваат трансгенот во панкреасот, но не и во други ткива.

Поради тоа што еден трансген се интегрира во хромозомската ДНК во едноклеточен ембрион од глушец, тој ќе се интегрира и во соматските клетки и во зародшните клетки. Затоа, добиените трансгенични глувци можат да го пренесат трансгенот кај нивниот потомок како Менделеева наследна особина. На овој начин може да се создадат линии од трансгенични глувци во кои секој член на една линија ќе го содржи истиот трансген. Тековно се достапни различни такви трансгени линии и тие широко се употребуваат во имунолошките истражувања. Меѓу нив се линиите што носат трансгени кои кодираат молекули на имуноглобулини, молекули на Т-клеточни рецептори и молекули од ГТК класа 1 и 2, различни туѓи противгени и некои цитокини. Создадени се и неколку линии што носат онкогени како трансгени.

Кај глувците со отстранет ген (нокаут), целните гени се прекинати

Едно од ограничувањата на трансгеничните глувци е тоа што трансгенот се интегрира во произволно место во геномот. Тоа значи дека некои трансгени се вметнуваат во региони од ДНК кои не се препишувачки активни и затоа генот не се препишува. За да го надминат ова ограничување, истражувачите развија техника во која посакуваниот ген се насочува кон специфични места во зародишна клеточна линија од глушецот. Главна цел на оваа техника е да го замени нормалниот ген со мутиран алел или со прекината форма на генот и на тој начин да ја онеспособи функцијата на генот. Трансгеничните глувци што носат таков отсечен ген, наречени *нокаут глувци*, им се од голема помош на имунолозите кои се обидуваат да сфатат како отстранувањето на одреден генски производ влијае врз имуниот систем. Во табела 22-7 е дадена споредба меѓу трансгени глувци и глувци со отстранет ген.

Создавањето на глувци со генски отстранети гени ги опфаќа следните чекори:

- Изолирање и култивирање на **ембрионски зародишни** (ЕЗ) **клетки** од внатрешната клеточната маса на бластоциста од глушец
- Внесување на мутиран или прекинат ген во култивираните ЕЗ клетки и селекција на хомологни рекомбинантни клетки во кои односниот ген е онеспособен (т.е. заменет со нефункционална форма од генот)
- Инјектирање на хомологни рекомбинантни ЕЗ клетки во бластоциста на глушецот-реципиент и хируршка имплантација на бластоцистата во псевдобремен глушец
- Спарување на химерни потомци хетерозиготи за прекинатиот ген, за да се создадат хомозиготни нокаут глувци

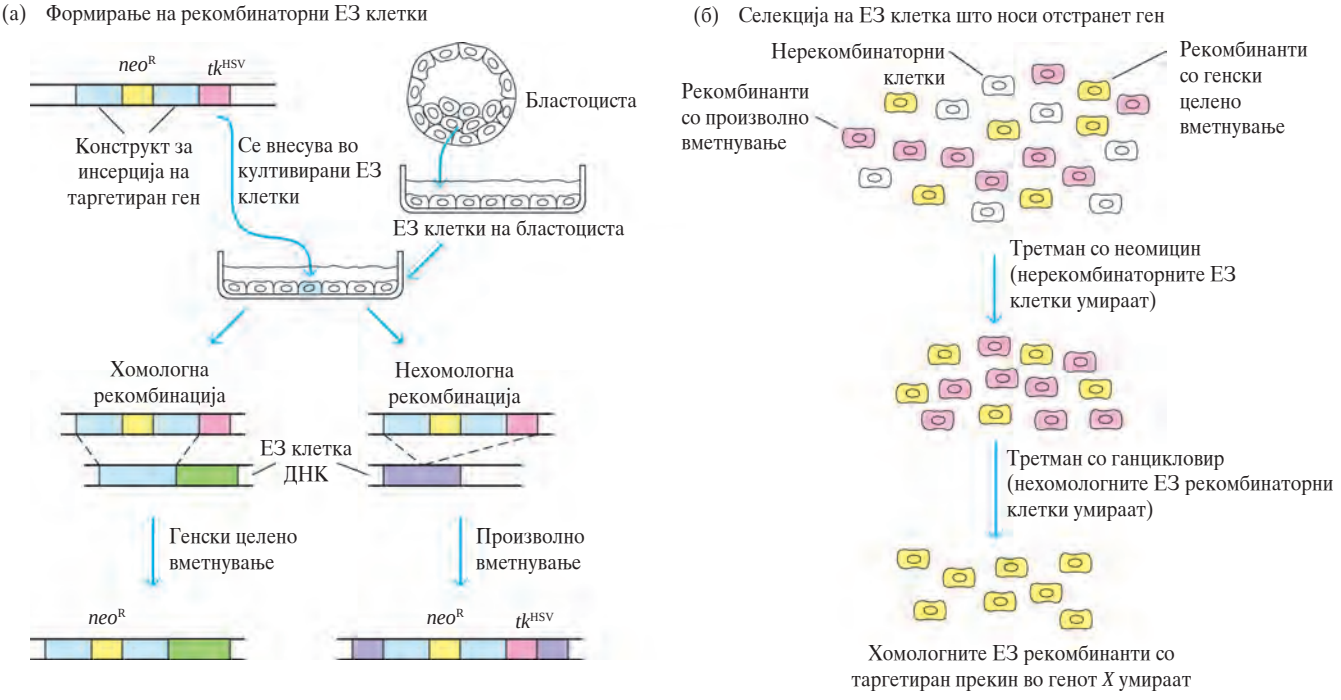
ЕЗ клетките што се користат во оваа процедура се добиваат со култивирање на внатрешната клеточна маса на бластоциста од глушец на хранлива подлога на фибробласти или со присуство на леукемија-инхибиторен фактор. Во вакви услови, зародишните клетки растат, но остануваат плурипотентни и способни потоа да се диференцираат во различни насоки, при што се создаваат различни клеточни линии (на пр., герминативни клетки, миокард, крвни садови, миобласти, нервни клетки). Една од предностите на ЕЗ клетките е тоа што со нив лесно се манипулира генетски. Клонираната ДНК што содржи посакуван ген може да се внесе во ЕЗ клетки кои се култивираат со различни техники на трансфекција. Внесената ДНК потоа преку рекомбинација се инсертира во хромозомската ДНК на мал број ЕЗ клетки.

Конструктите кои се инсертираат во ЕЗ клетките содржат три гени: односниот таргетиран ген и два гени за селекција, како што е neo^R, кој пренесува отпорност кон неомицин, и тимидин киназа генот од херпес симплекс вирус (tk^{HSV}), кој пренесува сензитивност на ганцикловир, цитотоксичен нуклеотиден аналог (сл. 22-14а). Конструктот често се модификува а целната генска секвенца е прекината од neo^R генот или tk^{HSV} генот на еден крај, под секвенцата на целниот ген. Повеќето конструкти произволно се инсертираат со нехомологна рекомбинација, а не со генска целено вметнување преку хомологна рекомбинација. Како што е покажано на слика 22-14б, се користи модел на селекција во два чекори за да се добијат оние ЕЗ клетки кои претрпеле хомологна рекомбинација, при што прекинатиот ген го заменува целниот ген.

ЕЗ клетките добиени со оваа процедура се хетерозиготни за мутацијата на отстранет во целниот ген. Овие клетки клонално се размножуваат во клеточна култура, а потоа се инјектираат во бластоциста од глушец, што се имплантира во псевдобремена женка. Трансгеничните потомци што се добиваат се химерични, составени од клетки добиени од генетски изменети ЕЗ клетки и клетки добиени од нормални клетки на бластоциста на домаќинот. Кога зародишните клетки потекнуваат од генетски изменети ЕЗ клетки, генетската промена може да се пренесе на потомците. Ако рекомбинаторните ЕЗ клетки се хомозиготни за црна боја на крзното (или друг видлив обележувач) и се инјектираат во бластоциста хомозиготна за бела боја на крзното, тогаш лесно ќе може да се идентификува химеричното потомство што ја носи хетерозиготната мутација во својата зародишна линија (сл. 22-15). Кога овие потомци ќе се спарат еден со друг, дел од нив ќе бидат хомозиготни за мутацијата со отстранет ген.

ТАБЕЛА 22-7 Споредба меѓу трансгеничен глушец и глушец со отстранет (нокаут) ген

Карактеристика	Трансгени глувци	Глувци со отсранет ген
Клетки што примаат ДНК	Зигот	Ембриони матични (ЕЗ) клетки
Начин на внесување	Микроинјектирање во зигот и имплантација во сурогат-мајка	Трансфер на ЕЗ клетки во бластоциста и имплантација во сурогат-мајка
Исход	Добивање на ген	Загуба на ген



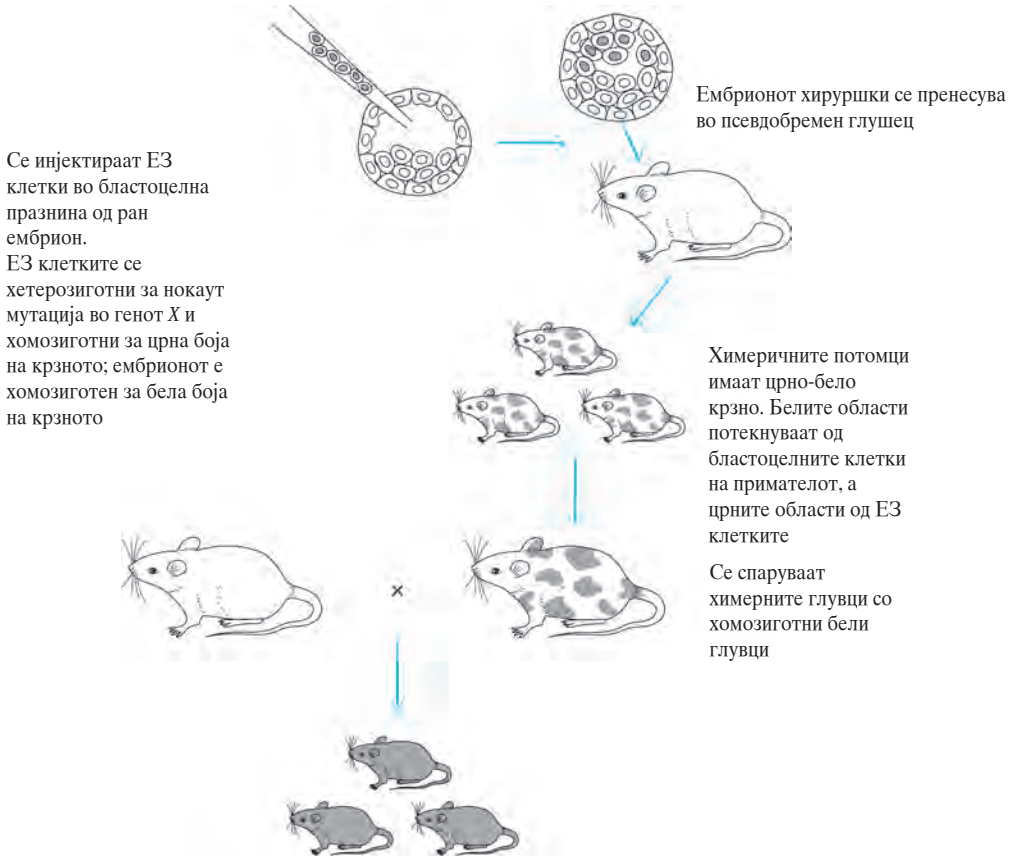
СЛИКА 22-14 Формирање и селекција на рекомбинаторни ЕЗ клетки од глушец кај кој е прекинат одреден целен ген. (а) Во конструктот за вметнување, целниот ген е прекинат од *neo*^{R} генот, а тимидин киназа *tk*^{HSV} генот се наоѓа надвор од целниот ген. Конструктот се трансфектира во култивирани ЕЗ клетки. Ако се јави хомологна рекомбинација, само целниот ген и *neo*^{R} ген ќе се вметнат во хромозомската ДНК од ЕЗ клетките. Ако се јави нехомологна рекомбинација, ќе се вметнат сите три гени. Рекомбинација се јавува кај околу 1% од клетките, а нехомологна рекомбинација се јавува многу почесто од хомологната рекомбинација. (б) Со селекција со G418, лек сличен на неомицин ќе ја убие секоја нерекомбинаторна ЕЗ клетка затоа што овие клетки имаат недостиг од генот *neo*^{R}. Со селекција со ганцикловир, ќе се убијат нехомологните рекомбинанти кои го носат *tk*^{HSV} генот кој пренесува сензитивност за ганциковир. Овој модел на селекција ќе го преживеат само хомологните ЕЗ рекомбинанти. *[Приспособено од H. Lodish et al., 1995,* Molecular Cell Biology, *3rd ed., Scientific American Books.]*

„Вметнувачка" ("Knock-In") технологијата овозможува замена на ендоген ген

Покрај отстранувањето на одреден ген, исто така е можно ендоген ген да се замени со мутирана форма од тој ген или целосно да се замени со друга избрана ДНК секвенца. На пример, во еден неодамнешна студија, КД4 генот бил заменет со генот за бета-галактозидаза. Во овие експерименти, КД4 промоторот бил оставен интактен, за да го управува прикажувањето на бета-галактозидазата, која ја катализира промената на бојата на одредени гласнички реагенси во сина боја. Поради тоа што КД4 промоторот го управувал прикажувањето на бета-галактозидазата, сини станале само оние тимусни клетки предодредени да прикажуваат КД4 во присуство на гласнички реагенси. Податоците од овие експерименти биле корисни за откривање на обврзувањето кон КД4/ КД8 на клеточните линии кај Т-клетките во развој.

Индуцибилното генско целење, Cre*lox* системот, цели генско бришење

Покрај отстранувањето на гени со генско целење, развиени се нови експериментални стратегии кои овозможуваат специфично отстранување на односниот ген во точно избрано ткиво. Овие технологии се потпираат врз употребата на рекомбинази од бактерии или квасни габи специфични за одредено место. Рекомбиназа што најчесто се користи е Cre, изолирана од бактериофагот P1. Cre препознава специфично место од 34-бп во ДНК познато како *loxP* и, кога ќе го препознае, катализира рекомбинација. Според тоа, Cre ги препознава ДНК секвенците кои се наоѓаат во непосредна близина на *loxP* и процесот на рекомбинација резултира со делеција на вклучените ДНК секвенци. Со други зборови, животните што насекаде прикажуваат Cre рекомбиназа ги бришат сите секвенци што се наоѓаат меѓу два *loxP*. Вистинската иновација

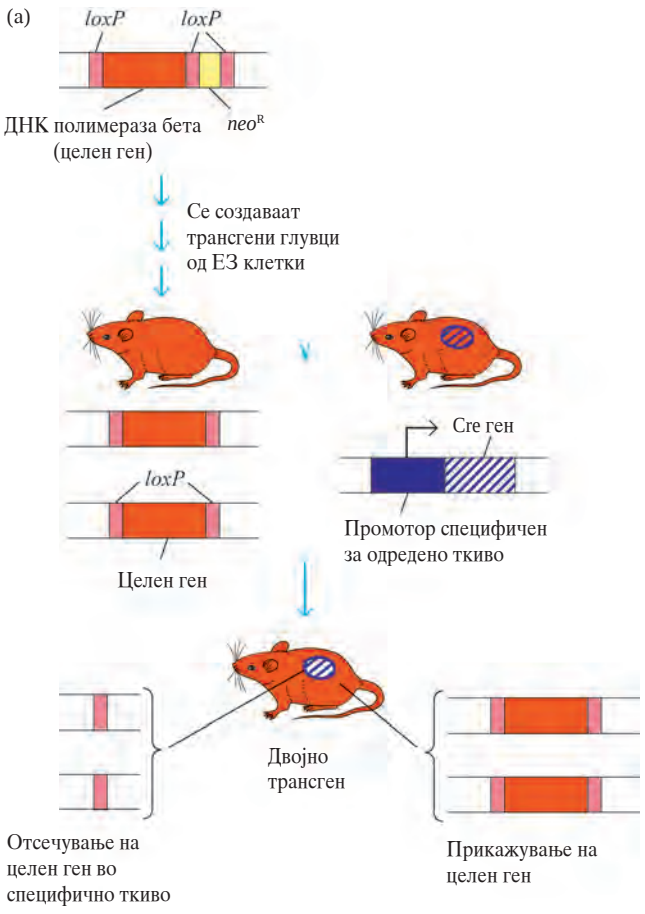


СЛИКА 22-15 Општа процедура за создавање хомозиготни глувци со отсечен ген. ЕЗ клетки хомозиготни за обележувачки ген (на пр., црна боја на крзно) и хетерозиготни за отсечен целен ген (в. сл. 22-16) се инјектираат во ран ембрион хомозиготен за алтернативен обележувачки ген (на пр., бела боја на крзно). Химерните трансгени потомци, кои имаат црно и бело крзно, потоа се спаруваат со хомозиготни бели глувци. Целосно црните потомци од ова спарување имаа Т-клетки добиени од ЕЗ во нивната зародишна клеточна линија, кои се хетерозиготни за отсеченият целен ген. Со спарување на овие глувци еден со друг се создаваат животни кои се хомозиготни за отсеченият целен ген, односно нокаут глувци. *[Приспособено од M.R. Capecchi, 1989,* Trends in Genetics *5:70.]*

во оваа техника е тоа што прикажувањето на генот на Cre рекомбиназата може да се контролира со употреба на промотор специфичен за одредено ткиво. Ова овозможува прикажување на рекомбиназа протеинот во специфично ткиво, па оттука и отстранувањето на ДНК помеѓу два *loxP* во специфичното ткиво. На пример, Cre може да се експресира во Б-клетките со употреба на имуноглобулински промотор и тоа ќе резултира со целено отстранување на ДНК секвенците меѓу два *loxP* само во Б-клетките.

Оваа технологија е особено корисна кога целното отстранување на одреден ген е смртоносна. На пример, ДНК полимераза бета генот е неопходен за ембрионален развој. Во експерименти наменети за испитување на системот Cre/*lox*, научници ставиле глувчешки ДНК полимераза бета-ген меѓу два *loxP* и ги спариле овие глувци со глувци кои носеле Cre трансген контролиран од Т-клеточен промотор (сл. 22-16а). Како резултат на спарувањето биле создадени потомци кои прикажуваат Cre рекомбиназа специфично во Т-клетките и тоа им овозможило на научниците да ги испитаат ефектите од бришење на ензимот ДНК полимераза бета специфично во Т-клетките. Ефектите од бришењето на овој ген не можат да се испитаат со конвенционален експеримент на генско целење затоа што отсечувањето на ДНК полимераза бета во животното би била смртоносна. Со системот Cre/*lox* може да се испитаат ефектите на генското бришење само во специфично ткиво.

Системот Cre/*lox* може да се искористи за да се поттикне генско прикажување во одредено ткиво. Исто како што недостигот на одреден ген може да биде смртоносен во ембриоланиот развој, така и прикажувањето на некој ген може да биде токсично. За да се испита прикажувањето на таков ген во специфично ткиво може да се вметне преведувачка стоп секвенца што се наоѓа меѓу два *loxP* во интрон на почетокот на генот (сл. 22-16б). Со примена на промотор специфичен за одредено ткиво кој го управува Cre прикажувањето, стоп секвенцата може да се избрише во избраното ткиво и да се испита прикажувањето на потенцијално токсичниот ген во ова ткиво. Овие модификации на технологијата на генско целење се многу корисни за утврдување на ефектите на одредени гени во клетките и ткивата од имуниот систем.



СЛИКА 22-16 **Таргетирање на гени со Cre/*loxP*.** (а) Условно отсечување со **Cre** рекомбиназа. Целениот ДНК полимераза бета-ген е модифициран со негово вметнување меѓу две *loxP* места (за поедноставување е даден само едниот алел). Од ЕЗ клетките се создаваат трансгени глувци со стандардни процедури. Со спарување на *loxP*-модифицираните глувци со Cre трансген глушец ќе се создадат двојно трансгени глувци кај кои ДНК полимераза бета-генот што се наоѓа меѓу два *loxP* ќе се отстрани во ткивото во кое се прикажува Cre. Во нашиот пример, Cre се прикажува во тимусното ткиво (пругасто) и затоа отсечувањето на генот што се наоѓа меѓу два *loxP* се јавува само во тимусот (со бело) на двојно трансгените глувци. Но, други ткива и органи сепак го прикажуваат генот што се наоѓа меѓу два *loxP* (со портокалово). (б) Активација на генско прикажување со примена на Cre/*lox*. Меѓу промоторот и потенцијално токсичниот ген се вметнува преведувачка СТОП касета што се наоѓа меѓу промоторот и потенцијално токсичниот ген и од ЕЗ клетките се создаваат глувци со примена на стандардни процедури. Овие глувци се спаруваат со трансгена линија што го носи Cre генот управуван од промотор специфичен за одредено ткиво. Во нашиот пример, Cre се прикажува во тимусот, така што спарувањето доведува до прикажување на токсичниот ген (со сино) само во тимусот. Со примена на оваа стратегија може да се утврдат ефектите од прикажувањето на потенцијално токсичниот ген на начин кој е специфичен за одредено ткиво. *[Приспособено од B. Sauer, 1998, Methods 14:381]*

Микронизи - пристап за анализирање на модели од генско прикажување

Во изминатите неколку години се појави нов пристап наменет за проценка на разликите во генското прикажување кај различни типови клетки или во исти клетки, но во различни услови. Со оваа технологија, наречена технологија на микронизи или *профилирање на генско прикажување*, може брзо и сигурно да се скенираат голем број различни мРНК. Принципот е едноставен и е изведен од она што веќе го знаеме за РНК и ДНК хибридизацијата: мРНК се изолира од даден примерок; потоа, кога ќе се почне синтеза на кДНК, првата кДНК нишка се обележува со обележувач за да се формираат целени секвенци.

Следен чекор е да се хибридизира обележаната кДНК со нуклеинска киселина фиксирана врз микрониза. На пазарот се достапни многу видови микронизи и тие главно може да се поделат на две класи: микронизи кои содржат кДНК и микронизи кои содржат олигонуклеотиди. Микронизите со кДНК, како што покажува и нивното име, се колекции од кДНК кои се поставени и изложени на цврст супстрат во дефинирани локации (сл. 22-17а). Супстратот варира, но обично е најлонска мембрана или предметно стакло. Точките на супстратот на кои е поставена кДНК може да бидат многу мали, од 5 до 10 мкм (микрометри), така што повеќе од милион точки може да се постават на чипови кои се големи само неколку сантиметри. Процесот на подредување на кДНК се изведува со примена на роботика. кДНК најчесто се добиваат од достапните библиотеки од кДНК и, во некои случаи, тие се ПВР производи амплифицирани од кДНК библиотека со започнувачи специфични за одредени познати гени.

Олигонуклеотидните микронизи обично претставуваат збир од олигонуклеотиди со големина од 20 до 30 нуклеотиди (сл. 22-17б) кои се синтетизираат директно врз површината на чипот со фотолитографска техника со која брзо и евтино на секое место може да се синтетизираат различни олигонуклеотиди специфични за одредена секвенца. Предноста на овој вид на микронизи е тоа што се потребни само секвенци за гените од интерес; не е потребна кДНК библиотека.

Иако изворот на целени делови кои се користат и за кДНК микронизи и за олигонуклеотидните микронизи е кДНК, подготвувањето на целениот дел се разликува во зависност од

КЛИНИЧКИ ФОКУС

Микронизна анализа како дијагностичка алатка за болестите кај човекот

Речиси е невозможно да се направи визуелна разлика меѓу Т-клетките и Б-клетките без молекулска анализа. Исто така, може да биде доста тешко да се направи разлика и меѓу еден тумор и друг тумор. Две од најпознатите акутни леукемии се АМЛ, која потекнува од миелоиден прекурсор (па оттука и името акутна *миелоидна леукемија*), и АЛЛ (акутна *лимфоидна леукемија*), која потекнува од лимфоидни прекурсори. Двете леукемии потекнуваат од хематопоетски матични клетки, но прогнозата и третманот за двете болести се доста различни. Сè до неодамна, двете болести можеа да се дијагностицираат со одреден степен на доверба со примена на комбинации од површинско фенотипизирање, кариотипска анализа и хистохемиска анализа, но со ниту еден тест не можеше да се дојде до убедлив и конечен доказ; дали дијагнозата е сигурна зависеше од стручноста на клиничарот.

Разликата меѓу АЛЛ дијагноза и АМЛ дијагноза може да значи разлика меѓу живот и смрт. АЛЛ најдобро реагира на кортикостероиди и хемотерапевтски агенси како винкристин и метотрексат. АМЛ обично се третира со даунорубицин и цитарабин. Стапките на излекување драстично се намалуваат доколку поради погрешно дијагностицирање се дава помалку соодветен третман.

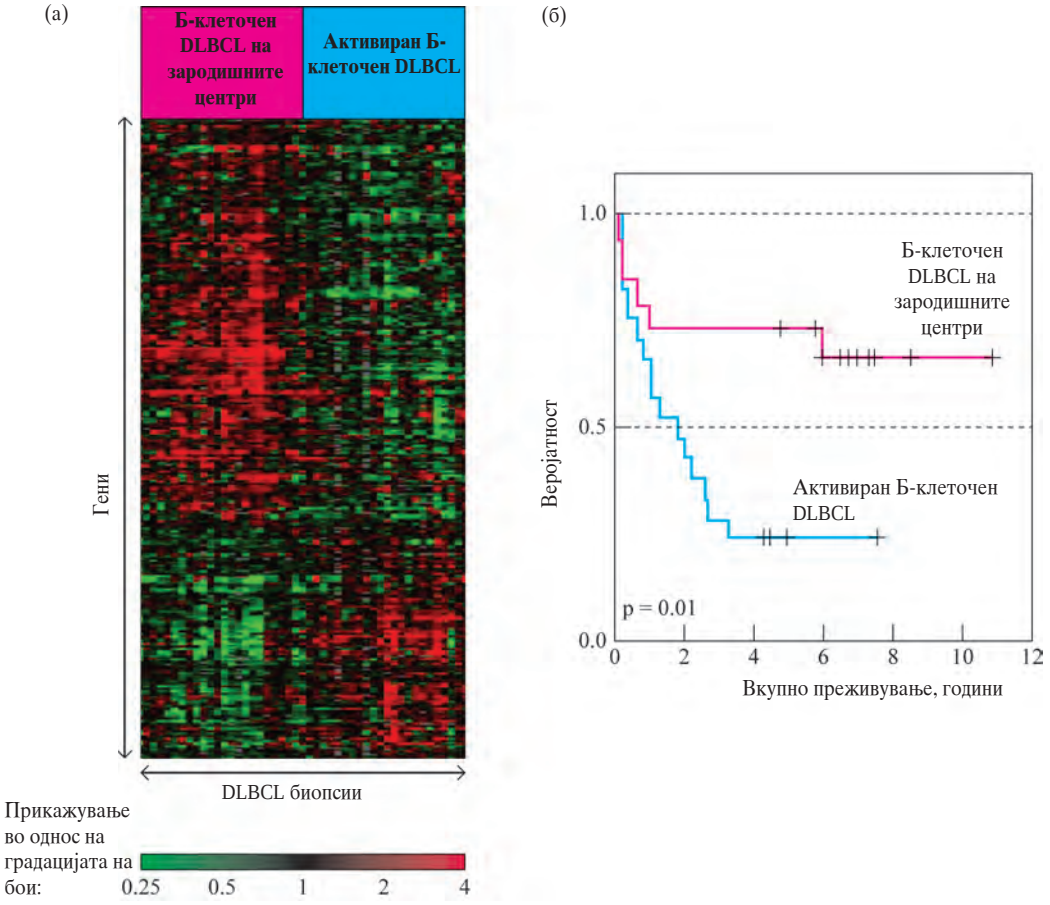
Во 1999 г. беше постигнат значаен чекор во дијагностицирањето на овие две леукемии со примена на технологијата на микронизи. Тод Голуб (Todd Golub), Ерик Лендер (Eric Lander) и нивните колеги изолирале РНК од 38 примероци на акутна леукемија, ја обележиле РНК со биотин и ја хибридизирале биотинската РНК со комерцијални микронизи со голема густина кои содржеле олигонуклеотиди кои одговараат на околу 6817 човечки гени. Хибридизација се случувала секогаш кога РНК обележана со биотин ќе препознаела хомологен олигонуклеотид. Со оваа анализа била откриена група од 50 гени кои во голема мерка биле поврзани со АМЛ или со АЛЛ кога биле споредени со контролните примероци. Овие 50 гени потоа биле употребени за да се селектира примерок од нуклеинска киселина од 34 независни леукемии како и примероци од 24 претпоставени нормални примероци од хумана коскена срцевина или крв. Резултат? Добиен е комплет од обележувачи што јасно го класифицираат туморот како АЛЛ или АМЛ:

Резултатите од анализите со микронизи понатаму укажале дека третманите за АМЛ и за АЛЛ може попрецизно да се целат. На пример, АМЛ што прикажува *x, y* и *z* гени може да реагира на еден модалитет за третман подобро од АМЛ што прикажува *a, b* и *c*. Неколку фармацевтски компании основале истражувачки групи за евалуација на различни третмани на тумори кои се базираат на профил на туморот добиен со микронизи. Се очекува со овој специфичен пристап кон онкологијата да се создадат многу поефикасни третмани за поединечните тумори и на крај да се подобри стапката на преживување.

Многу е веројатно дека анализата со микронизи ќе биде многу корисна за дијагностицирање на тумори на имуниот систем. Најевидентен е примерот со една лабораторија во Националните институти за здравство во САД (NIH) која развила специјализирана ДНК микрониза што содржи повеќе од 10 000 човечки кДНК, особено богати со гени што се прикажуваат во лимфоцитите. Некои од овие кДНК потекнуваат од гени со позната функција; други се непознати кДНК што потекнуваат од нормални или малигно трансформирани лимфоцитни кДНК библиотеки. Оваа специјализирана микрониза е наречена „Лимфочип" затоа што лимфоцитните кДНК се редат врз силиконска подлога. Групата во NIH се обидувала да го употреби Лимфочипот за да ја подели Б-клеточната леукемија позната како дифузен крупноклеточен лимфом на Б-клетки (DLBCL) во подгрупи, мошне важно прашање, затоа што овој вид на лимфом има високо варијабилен клинички тек и некои пациенти добро реагираат на третманот, додека други пак реагираат слабо. Претходните обиди за дефинирање на подгрупи во рамките на оваа група не биле успешни. Дефинирањето на подгрупи во рамките на DLBCL може да биде корисно за создавање на поефикасни третмани. Со користење на Лимфочипот, групата во NIH утврдила две генотипски различни подгрупи на DLBCL. Едната група се состоела од тумори што прикажуваат гени карактеристични за Б-клетките од зародишните центри и била наречена Б-клеточен DLBCL на зародишните центри (Клинички фокус сл. 1). Другата група повеќе наликувала на активирани Б-клетки и била наречена „активиран Б-клеточен DLBCL". Значајно е тоа што пациентите со Б-клеточен DLBCL на зародишните центри имале повисока стапка на преживување од пациентите со активиран Б-клеточен DLBCL. Во нормални услови сите пациенти со DLBCL примаат хемотерапија со повеќе агенси. Пациентите кои не реагираат добро на хемотерапијата се кандидати за трансплантација на коскена срцевина. Податоците добиени од спомнатата студија упатуваат на фактот дека пациентите со активиран Б-клеточен DLBCL нема да реагираат добро на хемотерапија и можеби е подобро да им се изврши трансплантација на коскена срцевина веднаш по дијагностицирањето. Како директен резултат од оваа студија, со тековни клинички испитувања се врши евалуација како најдобро да се третираат пациентите со активиран Б-клеточен DLBCL.

Профилирањето на генското прикажување не е ограничено на дијагностицирањето на туморски болести. Оваа микронизата. Подготвувањето на целните секвенци за кДНК микронизите опфаќа обележување на кДНК со различни флуоресцентни бои како што се Cy3 и Cy5 (в. сл. 22-17а). Овие бои кои се базирани на цијанин, лесно се конјугираат со нуклеинските киселини, многу се стабилни и емитираат помалку заднинска флуоресценција отколку конвенционалните флуоресцентни бои. Да претпоставиме дека сакате да направите споредба меѓу два различни клеточни типа или еден клеточен тип во две различни состојби на активација. кДНК од една популација се подготвува со примена на мРНК како образец. Прво, синтезата на нова нишка на иРНК се прави со користење на еден нуклеотид конјугиран со Cy3. Потоа, со примена на мРНК од втората клеточна популација, кДНК се подготвува со користење на нуклеотид конјугиран со Cy5. Овие две популации на кДНК, едната обележана со Cy3, а другата со Cy5, се хибридизираат на микронизата. Ако еден од целените производи се хибридизира со кДНК на микронизата, се открива зелена (Cy3) или црвена (Cy5) флуоресцентна емисија (боја).

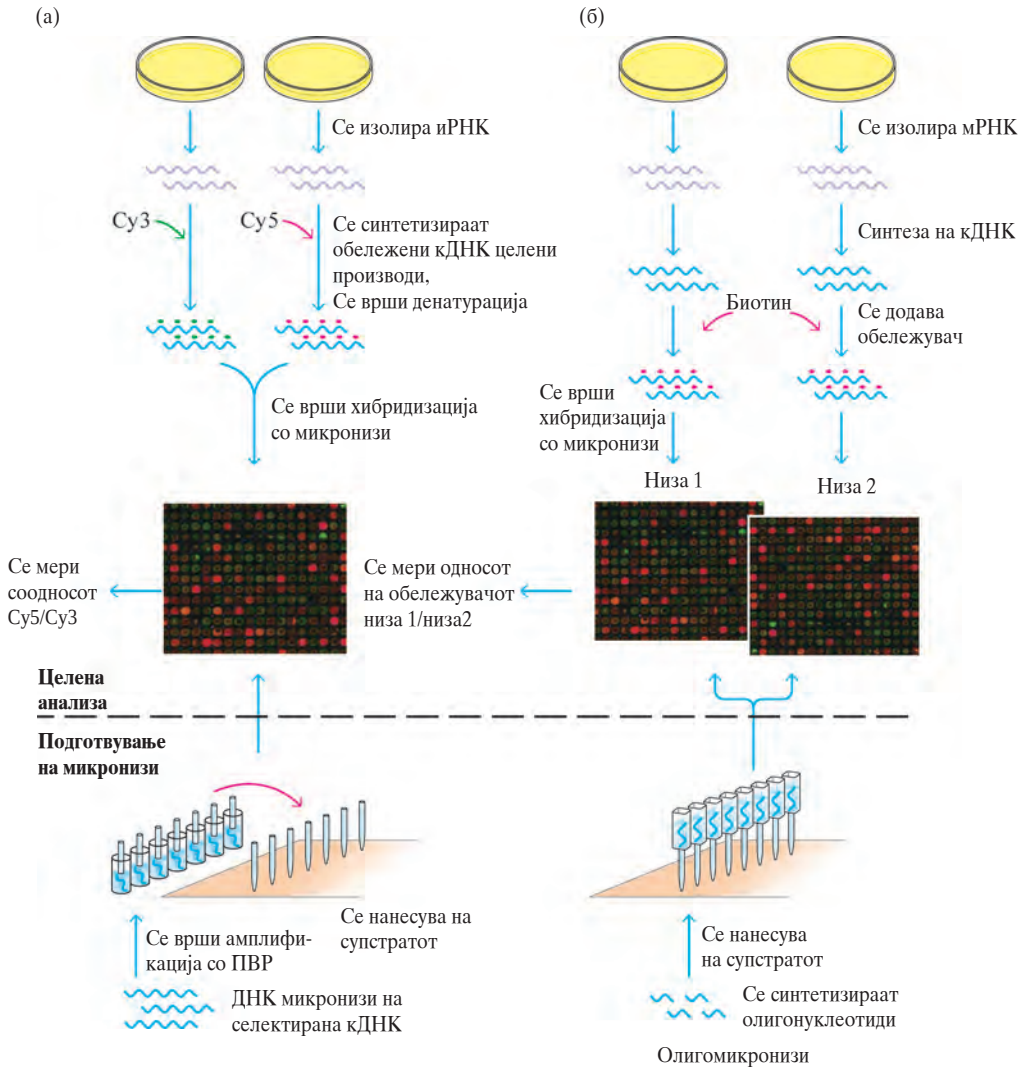
технологија ни овозможува единствена можност за испитување на разликите меѓу секоја посебна популација на клетки. Може да се направи споредба кои гени се прикажуваат заеднички или пак различно во една неискусна Т-клетка и памтечка Т-клетка. Која е разликата меѓу нормална Т-клетка и Т-клетка што умира од апоптоза? Ваквите споредби ќе бидат богат извор на разјаснување на разликите меѓу клеточните популации. Клучна работа за користење на овие вредни информации ќе биде развојот на алатки за анализирање на многуте податоци што може да се добијат од овој нов пристап.



Дифузниот крупноклеточен лимфом на Б-клетки (DLBCL) претставува барем две различни болести. (а) Дадени се разликите во генското прикажување во примероци земени од пациенти со Б-клеточен DLBCL на зародишните центри (*на лево*, со црвено) или со активиран Б-клеточен DLBCL (*на десно*, со сино). Релативното прикажување на 100 гени (*у* оска) преку кои најзначајно може да се направи разлика меѓу два DLBCL типа е претставено со опсег од 16 градации на бои со користење на скалата на градуирани бои во долниот дел. Обрнете внимание на големата разлика во профилите на генското прикажување на двете болести. (б) Графички приказ на вкупно преживување на пациенти со DLBCL по хемотерапија. Профилите на генска експресија на примероци од биопсија на тумор овозможуваат пациентите да се стават во соодветната прогностичка категорија и може да помогнат во третманот на оваа сложена болест. *[Прилагодено од L. M. Staudt, 2002, Gene expression profiling of lymphoid malignancies,* Annual Review of Medicine ***53:303-318.]***

Ако двата таргетирани производи се хибридизираат со кДНК, се открива жолта флуоресценција (комбинацијата од црвените и зелените емисии од двете бои). Микронизите се анализираат со скенирање на препаратот при две различни бранови должини за да се направи разлика помеѓу Cy3 и Cy5 сигналите. Интензитетот на сигналот за секоја боја се утврдува и се споредува, а потоа резултатите се прикажуваат како сооднос меѓу двата примерока.

Кога се работи за микронизи што се базираат на олигонуклеотиди, вообичаен пристап е да се обележи целената кДНК со нуклеотид обележен со биотин за време на синтезата на првата нишка на мРНК. кДНК која е обележана со биотин се хибридизира со олиго-микронизата и се открива со флуоресцентен стрептавидин (в. сл. 22-17б). Постапката потоа се повторува со кДНК од другиот клеточен тип и се користи друга микрониза. Добиените микронизи се анализираат или



СЛИКА 22-17 Анализа на ДНК со примена на кДНК микронизи (а) или на олигонуклеотидни микронизи со голема густина (б). Како што беше опишано во текстот, анализата со микронизи се потпира на изолацијата на РНК од ткивата или клетките што треба да се анализираат, претворање на РНК во кДНК и на обележувањето на ДНК при подготвувањето на целениот производ. Обележаните целени секвенци се хибридизираат или со кДНК микронизи(а) или со олигомикронизи (б).

со фосфоприкажување (фосфоимицинг) или со скенирање базирано на флуоресценција со примена на специјализирани сензори за скенирање на микронизи.

Практичната примена на технологијата на микронизи во имунологијата е очигледна. Некој може да се запраша: „Која е разликата во генското прикажување помеѓу Т-клетките и Б-клетките?" Или, која е разликата меѓу активирана Т-клетка и Т-клетка во мирување? Листата на можни споредби е огромна. За да почнат да се одговараат некои од интересните имунолошки прашања, Луис Стауд (Louis Staudt) и неговите колеги во NIH развиле микронизен препарат наречен „Лимфочип" кој се состои од над 10000 човечки гени, особено збогатен со гени кои се прикажуваат во лимфоидните клетки. Лимфочипот вклучува гени и од нормални и од трансформирани лимфоцити. Оваа посебна микрониза овозможи добивање на многу корисни информации, како на пример профилирање на Т-клетки споредени со Б-клетки, плазма клетки споредени со Б-клетки од зародишните центри и модели на генско прикажување поттикнато од различни сигнални патишта. Лимфочипот и други клинички примени на микронизите се опишани во Клиничкиот фокус на страница 568.

Двофотонска микроскопија за ин виво прикажување на имуниот систем

Сè до неодамна, за микроскопско испитување на клетките од имуниот систем беа користени техники во кои клетките се изолираа од околната средина и во многу случаи, клетките или ткивата се фиксираа. Податоците собрани од овие пристапи се екстремно корисни, но тие овозможуваат претстава во одредено

време, а не динамична слика за интеракциите клетка-клетка во телото за време на имуниот одговор. Едно неодамнешно откритие, двофотонска ласерска микроскопија, овозможува директна визуелизација во реално време на ин виво интеракции меѓу клетки од имуниот систем.

Развојот на двофотонската микроскопија потекнува од конфокалната микроскопија. Иако со стандардната флуоресцентна микроскопија може да се откријат обележени или означени клетки во моносло̀ј на предметно стакло или сад за култивирање, голема предност на конфокалната микроскопија е тоа што може да „погледне" длабоко во деловите од ткивото со што се елиминира потребата да се одвојуваат ткива или да се изолираат клетки на предметно стакло. Со конфокалната микроскопија може дури да се прикажуваат и живи клетки во ткиво, но резултат на употребената ласерска светлина е фотообелувањето и фототоксичните ефекти. Флуоресцентните молекули се ексцитирани од ласерската светлина која е фокусирана преку леќа во фокалната точка, целта за прикажување. Емисијата од флуорохромот се собира преку истата леќа и се рефокусира во точка во средината на мал отвор поставен пред детектор. Енергијата што се создава по патеката на ексцитацијата може да ги оштети и уништи клетките кои ќе се најдат на патот на снопот зраци. Покрај тоа, длабочината на детекција во едно ткиво е ограничена на само неколку десетинки мкм.

Исто како и конфокалната микроскопија, со двофотонската микроскопија може „оптички да се одвои" материјалот што се испитува без да настане фототоксично оштетување. Со двофотонска микроскопија може да се визуелизира ткиво на длабочина од неколку стотици микрони до повеќе од еден милиметар, а тоа во голема мера го надминува опсегот на конфокалната микроскопија.

Разликите во можностите на овие две техники може да се разберат преку споредување на технологиите врз кои се базираат. Во конфокалната микроскопија се користи еден фотон светлина за да се ексцитира флуорохромот. За разлика од неа, во двофотонската микроскопија, како што посочува и името, флуорохромот се ексцитира со два фотони светлина, при што секој од нив носи половина од енергијата на поединечниот фотон што се користи во стандардната флуоресцентна микроскопија. Флуорохромите се ексцитираат со високо фокусирано и екстремно брзо испраќање на два многу кратки импулса (околу 100 фемтосекунди) на ласерска светлина. При конфокалната микроскопија, флуорохром како што е флуоресцеинот се ексцитира со фотон од ласерска светлина на 400 нм; истиот флуорохром може да се ексцитира со два импулси на светлина од 800 нм бранова должина блиска до инфрацрвената (половина од енергијата на фотон од 400 нм) ако импулсите стигнат до флуорохромот речиси истовремено. Целиот интензитет се постигнува само во фокалната точка, а другите делови од ткивото не се засегнати од фотоните со поголема бранова должина. Накратко кажано, главна предност на овој систем е тоа што ексцитацијата е ограничена на фокалната рамнина, а остатокот од примерокот е изложен на релативно безбедни и екстремно кратки импулси на светлина блиска до инфрацрвената. Покрај тоа, поради тоа што подолгите бранови должини кои се користат за ексцитација не се апсорбираат ефикасно во ткивото, можно е подлабоко продирање во биолошкиот примерок. Всушност, како што видовме на слика 11-19, сега постои можност да се визуелизира лимфен јазол во неоштетено ткиво на живо животно по инјектирање на противген.

Напредок во флуоресцентната технологија

Покрај флуорохромите што рутински се користат во микроскопијата и проточната цитометрија, како што е флуоресцеин изотиоцијанат, „Тексас црвено", родамин изотиоцијанат и фикоеритерин, достапни се и неколку други флуоресцентни алатки. Особено корисен за анализа на живи и фиксирани клетки и ткива е зелениот флуоресцентен протеин (GFP) и неговите многубројни деривати. GFP е природен биолуминесцетен протеин што за прв пат бил изолиран од медуза. Експертите по клеточна биологија ги искористиле неговите природни флуоресцентни својства за да ги обележат генските производи. Кога генот за GFP или една од неговите спектрални варијанти, како што е жолтиот флуоресцентен протеин (YFP), ќе му се додаде на генот од интерес, генскиот производ ќе биде флуоресцентен ако се ексцитира со ласерска светлина. На пример, лесната имуноглобулинска капа-верига фузирана со GFP флуоресцентно ќе ги обележи сите клетки што прикажуваат лесни капа вериги. Емисијата од оваа ексцитација може да се визуелизира со флуоресцентна микроскопија или може да се открие со проточна цитометрија и служи како обележувач за клетки што го прикажуваат обележениот ген. Постои можност да се создадат и трансгени животни што прикажуваат GFP под контрола на промотор специфичен за одредено ткиво.

Друг корисен флуорохром, 5,6-карбоксифлуоресцеин-диацетат сукцинимидил естер, или CFSE, може да се внесе во клетките екс виво. На пример, може да се отстранат лимфоидни клетки од животни, во нив да се внесе CFSE и пак да се вратат во истото животно или во генетски идентичен член на истиот вид животни. Откако ќе се стационираат во различни места од имуниот систем, овие клетки може да се визуелизираат со флуоресценција. CFSE може да се искористи за да се процени дали една клетка се поделила. При клеточната делба, CFSE подеднакво се распределува кај клетките-ќерки, а секоја генерација станува прогресивно помалку флуоресцентна. Со примена на CFSE и проточна цитометрија лесно може да се утврди дали кај една популација клетки настанала клеточна делба, па дури може да се утврди и колку пати се поделила една клетка.

СОБИРОК

- Вкрстените генетски чисти соеви на глувци им овозможуваат на имунолозите рутински да работат со сингенеични, или генетски идентични, животни. Со овие видови животни може да се испитуваат аспектите на имуниот одговор без тие да бидат усложнети од непознати варијабли што потекнуваат од генетските разлики меѓу животните.
- Во експерименти со стекнат клеточен пренос, лимфоцити се пренесуваат од еден глушец на генетски идентичен примател кој е изложен на сублетална (или потенцијално смртоносна) доза од рендгенски зраци. Со ирадијација се деактивираат имуните клетки од примателот и може да се испитува одговорот само на пренесените клетки.
- Со ин витро системи на клеточни култури може да се испитуваат лимфоцитните популации во прецизно дефинирани услови. Овие системи опфаќаат примарни

култури од лимфоидни клетки, клонирани лимфоидни клеточни линии и хибридни лимфоидни клеточни линии. За разлика од примарните култури, клеточните линии се бесмртни и хомогени.

- Со биохемиски техники се овозможуваат средства за обележување на важните протеини од имуниот систем. Со обележување на противтелата со молекули како што се биотинот и авидинот се овозможува прецизно утврдување на степенот на одговор на противтелата. Гел електофорезата е соодветно средство за одвојување и утврдување на молекулската тежина на еден протеин.
- Можноста за идентификација, клонирање и секвенцирање на гените од имуниот систем со примена на техники на рекомбинантна ДНК, радикално го промени истражувањето на сите аспекти на имуниот одговор. Може да се клонира и кДНК, што се подготвува со препишување на мРНК со реверзна транскриптаза, како и геномска ДНК. Општо земено, кДНК се клонира со примена на плазмиден вектор; рекомбинаторната ДНК што го содржи генот кој треба да се клонира се внесува во клетки од *E. coli*. Геномската ДНК може да се клонира во бактериофаген вектор или во космиден вектор, а двата вектори се распространуваат во *E. coli*. Во бактериофагните P1 вектори, кои може да се реплицираат во *E. coli*, и во квасните вештачки хромозоми, кои може да се удвојат во квасните клетки, се клонираат и поголеми фрагменти од геномска ДНК. Полимеразно верижната реакција (ПВР) е соодветно средство за амплификација на мали количини ДНК.
- Препишувањето на гените го регулираат промоторни и засилувачки секвенци; активноста на овие секвенци ја контролираат ДНК врзувачки протеини. За да се идентификуваат ДНК врзувачките протеини и местата каде се врзуваат во промоторната или засилувачката секвенца може да се примени отисочно и електрофоретско испитување на подвижност. Активноста на промоторот може да се процени со сигнализирачки гени, како на пример, со анализа на луциферазата и со зелениот флуоресцентен протеин.
- Клонираните гени може да се трансфектираат (пренесат) во култивирани клетки со неколку методи. Обично, гените од имуниот систем се трансфектираат во клетки што нормално не го прикажуваат односниот ген. Клонираните гени може исто така да се вградат и во зародишни клетки на ембриони од глушец со што би се добиле трансгени глувци кои го пренесуваат вградениот трансген кај нивните потомци. Потоа, прикажувањето на избран ген може да се испитува кај живо животно. Нокаут глувците се трансгенични глувци кај кои одреден целен ген е заменет со нефункционална форма на генот, така што генскиот производ не е прикажан. Системот Cre/*lox* е механизам со кој се овозможува прикажување или отсечување на избран ген кои се специфични за одредено ткиво.
- Микронизите, можен пристап за испитување на генското прикажување специфично за одредени ткива и за споредување на генското прикажување во различни клетки, радикално го променија истражувањето на генската регулација и генското прикажување.
- Со двофотонска микроскопија се овозможува следење на клетките во нивната биолошка средина во одредено време со што се овозможува привремена слика за однесувањето на лимфоцитите по манипулација на имуниот систем.

Референции

Alizadeh A. A., et al. 2000. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature*, 2000, 403:503-11.

Bell, J. 1989. The polymerase chain reaction. *Immunology Today,*10:351

Betz, U. A. K., et al. 1996. Bypass of lethality with mosaic mice generated by Cre-loxP-mediated recombination. *Current Biology* 6: 1307.

Calahan, M. D., et al. 2002. Two-photon tissue imaging-seeing the immune system in a fresh light. *Nature Review Immunology 2:872.*

Camper S. A. 1987, Research applications of transgenic mice. *Biotechniques* 5: 638

Capecchi M. R. 1989. Altering the genome by homologous recombination. *Science* 244:1288.

Denis,K. A. and O. N. Witte. 1989. Long-term lymphoid cultures in the study of B cell differentiation. In Immunoglobulin *Genes.* F. W. Alt, T. Honjo, and T. H. Rabitts, eds. *Academic Press*, London, pp.45-59.

Dapamphilis, M. L., et al.1988. Microinjecting DNA into mouse ova to study DNA replication and gene expression and to produce transgenic animals. Biotechniques 6 (7):622.

Golub, T. R., et al. 1999, Molecular classification of cancer: class discovery and class prediction by gene expression monitoring. *Science* 286: 531

Koller, B. H., and O. Smithies. 1992. Altering genes in animals by gene targeting. *Annual Review of Immunology* 10: 705

Meinl, E., et al.1995. Immortalization of human T cells by *herpesvirus saimiri. Immunology Today* 16: 55.

Melton, D. W.,1994. Gene targeting in the mouse. *BioEssays* 16: 633

Miller, M. J., et al. 2002. Two-photon imaging of lymphocyte motility and antigen response in intact lymph node. *Science* 296: 1869.

Sauer, B. 1998. Inducible gene targeting in mice using the Cre/lox system. *Methods* 14: 381

Schlessinger, D. 1990. Yeast artificial chromosomes: tools for mapping and analysis of complex genomes. *Trends in Genetics* 6 (8): 254.

Sharpe, A. H. 1995. Analysis of lymphocyte costimulation in vivo using transgenic and knockout mice. *Current Opinion in Immunology* 7: 389.

Shaffer, A. L., et al. 2001. Signatures of the immune response. *Immunity* 15; 375-85.

Schulze, A., and Downward. 2001. Navigating gene expression using microarrays - a technology review. *Nature Cell Biology 3: E190-5.*

Корисни интернет страници

http://www.jax.org/

Официјална веб-страница на „Jackson Laboratory", главна лабораторија за вкрстени генетски чисти соеви глувци во светот.

http://www.neb.com/

Официјалната веб-страница на „New England Biolabs", компанија за молекулска биологија, овозможува корисни информации за рестрикциските ензими, во делот Техничко упатување (Tecnical Reference).

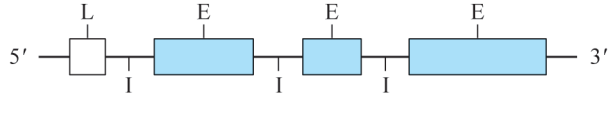
http://www.public.iastate.edu/-pedro/research_tools.hml

Оваа многу корисна веб-страница за молекулска биологија содржи линкови на голем број информативни веб-страници и редовно се ажурира.

Прашања за учење

ПРАШАЊЕ ОД „КЛИНИЧКИОТ ФОКУС" Како технологијата со микронизите го промени дијагностицирањето на болестите и како може таа да влијае врз третманот на болестите во иднина?

1. Објаснете зошто не се точни следните тврдења.
   а. Аминокиселинската секвенца на еден протеин може да се утврди од нуклеотидната секвенца на геномен клон што го кодира протеинот.
   б. Трансгени глувци може да се создадат со микроинјектирање на ДНК во јадро од соматска клетка.
   в. Примарните лимфоидни култури може бесконечно да се размножуваат и тие се корисни во испитувањата на специфични суппопулации на лимфоцити.
2. Пополнете ги празните места во следните тврдења со најсоодветни термини:
   а. Кај вкрстените видови глувци сите или речиси сите генски локуси се _____; овие видови се нарекуваат _____.
   б. Б-клеточни хибридоми се формираат со фузија на _____ со _____. Тие можат да _____ да растат и се користат за создавање на _____.
   в. Нормална лимфоидна клетка што претрпува _____ може да создаде клеточна линија, која има _____ животен век.
3. Генот кој е претставен подолу содржи еден водич (L), три егзони (E) и три интрони (I). Покажете го примарниот транскрипт, мРНК и протеинскиот производ што може да се создаде од ваков ген.



4. Терминот *трансфекција* се однесува на:
   а. Синтеза на мРНК од ДНК образец
   б. Синтеза на протеин што се базира на мРНК секвенца
   в. Внесување на туѓа ДНК во клетка
   г. Процес со кој една нормална клетка станува малигна
   д. Пренесување на сигнал од надворешниот во внатрешниот дел од клетка
5. Што е потребно од долунаведеното за да изврши ПВР?
   а. Кратки олигонуклеотидни започнувачи
   б. Термостабилна ДНК полимераза
   в. Противтела против кодираниот протеин
   г. Метод за периодично загревање и ладење на производот од реакцијата
   д. Сите горенаведени
6. Зошто е неопходно да се вклучи селектабилен обележувачки ген во експериментите со трансфекција?
7. Каков ќе биде резултатот ако трансген се инјектира во една клетка од четириклеточен зигот на глушец, а не во оплодена јајце-клетка на глушец пред таа да се подели?
8. Кружен плазмид бил расечен со *Eco*RI со што бил создаден фрагмент од 5,4 кб видлив на гел. Лентата од 5,4 кб била забележана и кога плазмидот бил расечен со *Hind*III. Расекувањето на плазмидот со двата ензима истовремено резултирало со единечна лента со големина од 2,7 кб. Нацртајте дијаграм на овој плазмид во кој ќе ја покажете релативната локација на неговите рестрикциски места.
9. ДНК отисоци е соодветна техника за утврдување на:
   а. Посебни мРНК во мешавина
   б. Посебни тРНК во мешавина
   в. Интрони во еден ген
   г. Протеин-врзувачки места во ДНК
   д. Специфични ДНК места во кои рестрикциските ендонуклеази ја расцепуваат нуклеотидната верига
10. Накратко објаснете како ќе клонирате ген за интерлеукин-2 (ИЛ-2). Претпоставете дека имате моноклонско противтело спецфично за ИЛ-2.
11. Имате примерок од ДНК врзувачки протеин од глушец и на мРНК што го кодира овој протеин. Ако претпоставиме дека имате достапна геномска библиотека на глушец, накратко опишете како ќе изберете клон што носи ДНК фрагмент што го содржи генот кој го кодира врзувачкиот протеин.
12. Кои се главните разлики помеѓу трансгени глувци и нокаут глувци и во постапките за нивно создавање?
13. Како еден глушец со вметнат ген (нокин) се разликува од нокаут глушец (со отсечен ген)?
14. Како технологијата Cre/*lox* ги подобрува стратегиите со отстранет и со вметнат ген (нокаут и нокин)?
15. За секој термин поврзан со технологијата на рекомбинаторната ДНК (а-з), изберете го најсоодветниот опис (1-10) наведен подолу. Секој опис може да се искористи само еднаш, повеќе од еднаш или воопшто да не се искористи.

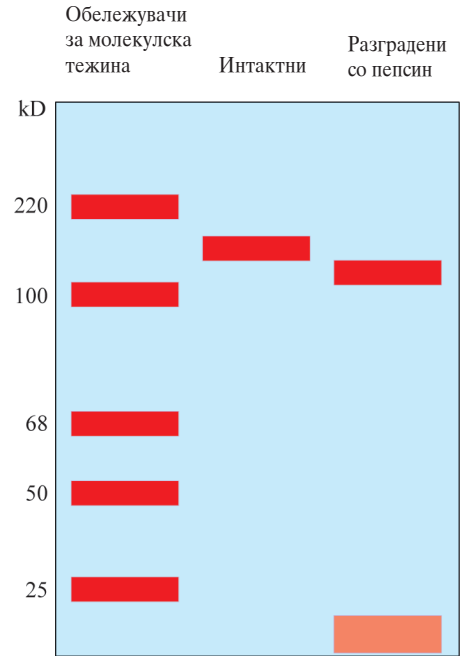
Термини

а. ____ Квасен вештачки хромозом
б. ____ Рестрикциска ендонуклеаза
в. ____ кДНК
г. ____ КОС места
д. ____ Ретровирус
ѓ. ____ Плазмид
е. ____ кДНК библиотека
ж. ____ Лепливи краеви
з. ____ Геномска библиотека

Опиши

1) Ја расекува мРНК на специфични места
2) Ја расекува двоверижната ДНК на специфични места
3) Кружен генетски елемент што може да се реплицира во клетки од *E. coli*
4) Се користи за внесување на ДНК во клетки од цицачи
5) Се формира преку дејството на реверзната транскриптаза
6) Збир на ДНК секвенци во плазмидни вектори кои ги претставуваат сите мРНК секвенци добиени од една клетка
7) Создаден/а/и преку дејството на одредени ензими што ја расцепуваат ДНК
8) Се користи/-ат за клонирање на многу големи ДНК секвенци
9) Се користи/-ат за внесување на ДНК фрагменти поголеми од нормалните во ламбда-бактериофагни вектори
10) Збир на ламбда клонови во кој влегуваат сите ДНК секвенци на даден вид

16. Додека ја истражувате тековната литература за имунологија може да забележите дека некои истражувачи изведуваат експерименти со РВМС (еднојадрени клетки од периферната крв) наместо со или како дополнување на експериментите со клеточни линии. Крвта од пациентите подлежи на неколку чекори за изолација со што се отстрануваат црвените крвни клетки, тромбоцитите и гранулоцитите и се остваат само еднојадрените клетки (лимфоцити и моноцити). Кои мислите дека се добрите и/или лошите страни на овие два клеточни система?
17. Пепсинот е неспецифична протеаза активна при кисел pH. Пепсинот ги расцепува пептидите на Ц-терминалниот крај од дисулфидните врски меѓу тешките вериги што доведува до екстензивно разградување на Фк фрагментот. На десната страна се дадени обоени НДС-ПАГЕ на интактни (неразградени) ИгГ од глушец и на ИгГ од глушец разграден со пепсин.
    а. Папаинот е уште една протеаза која врши расцепување на дисулфидната врска (в. сл. 4.7 за активностите на овие протеази). Како би изгледал гелот ако дигестијата се врши со папаин?
    б. Како би изгледал гелот ако во пуферот за апликација се додаде бета-меркаптоетанол, редуцирачки агенс што ги раскинува дисулфидните врски?



в. Ако гелот од (а) со електрофореза се пренесе на нитроцелулоза и се тестира со следните противтела, како ќе изгледа развиеното имунодамкосување (Вестерн блот)

(1) Против-идиотипско мПт
(2) Поликлонски зајачки противглувчешки ИгГ

Интерактивно учење

www.whfreeman.com/kuby

САМОТЕСТИРАЊЕ
Преглед на клучни термини

Додаток I: КД противгени

Следнава табела содржи информации за природата, распределбата и функцијата на КД противгените. Бидејќи многу од КД молекулите се познати по различни имиња, синонимите се наведени како додаток на официјалното КД именување. За КД противгените кои се протеини наведена е масата (ако е позната), но не и за оние кои се јагленохидрати или липиди. Во резимирањето на моделите на прикажување на КД молекулите се концентриравме на клетките од имуниот систем (бели клетки). Сепак, многу од овие противгени се прикажани и врз други клеточни типови и имаме наведено примери и за нив. Описот на функциите на секој КД противген, исто така, се фокусира на клетките од имуниот систем, со повремен пример за функцијата во други клеточни типови. Функцијата е означена како „непозната" ако нема позната имунолошки значајна функција за тој КД обележувач.

Детален преглед на КД противгените, вклучувајќи ги клеточните прикажувачки модели и функциите е достапен на следниве интернет извори, кои редовно се надополнуваат, со комплетна листа на референци:

http://www.vetmed.wsu.edu/tkp/Search.aspx

Оваа детална, лесна за пребарување база на податоци е одржувана од Колеџот за ветеринарна медицина на Државниот универзитет во Вашингтон.

http://lwww.hlda8.org/CD1toCD339.htm

Оваа веб-страница обезбедува информации за функциите на познатите и наводните КД молекули и дава линкови за повеќе информации за овие молекули. Оваа страница е продукт од соработката на бројни истражувачи од целиот свет и е надополнувана редовно преку серија од меѓународни работилници познати како Хумани леукоцитни диференцирачки противгени (ХЛДП) работилници.

http://ca.expasy.org/

Оваа лесно пребарлива база на податоци е спонзорирана и одржувана од Швајцарскиот институт за биоинформатика и обезбедува информации за структурата и секвенцата на протеините покрај функцијата и клеточната дистрибуција.

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PROW

Индексот на КД на оваа веб-страница овозможува сеопфатен список на модели на клеточна експресија и функции на тие противгени кај леукоцитите и кај други типови клетки. Овој редовно ажуриран извор е спонзориран од Националната медицинска библиотека.

http://www.rndsystems.com/mini_reviews:aspx

Оваа веб-станица на компанијата R&D Systems нуди ажурирани, детални прегледи на специфичните КД противгени и противгените фамилии.

Постојаните истражувања несомнено ќе откријат повеќе КД молекули и ќе го надоградат нашето разбирање за нивната функција и прикажување. За целосна, најнова информација за кој било КД противген, консултирајте се со изворите наведени претходно.

Дополнителен извор на информации е PubMed, веб-страница на Националната библиотека за медицина:

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/medline.html

Оваа веб-страница е библиографска база на податоци која содржи референци, многу со информативни апстракти, до повеќе од 16 милиони трудови од опсежната колекција на медицински и биолошки научни списанија. Индексирани се трудови од 1950-тите до сегашноста, а нови референци се додаваат секој ден. Алатката за пребарување на оваа веб-страница дозволува пребарување со клучни зборови како и со други променливи, како што се име на истражувачот или година на издавање. Клучен збор во пребарувањето со употреба на името на соодветниот КД противген ќе обезбеди листа на најновите трудови кои се однесуваат на него. За подетално пребарување за одреден противген, синонимите наведени во оваа табела може да се вклучат како алтернативни клучни зборови.

КД противген. ММ. Синоними и особини	**Прикажување во бели клетки**	**Функција**
КД1а, -б, -ц, -д, -е. 43-49 кДа. ГТК класа 1-слични структури.	Стеблести клетки, Б-клетки, Лангерхансови клетки, некои тимоцити, моноцити, активирани Т-клетки и епителни клетки	Прикажување на непептиди и гликолипидни противгени за Т-клеточни одговори
КД2. 45-58 кДа. ЛФА-2, Т11, Леу5, Тп50; КД58-врзувачки атхезивен молекул, овнешки црвени крвни клетки (ОЦКК) рецептор	Т-клетки, тимоцити, КПУ	Атхезивен молекул вклучен во Т-клеточната активација
КД3. Гама, 25-28 кДа: бета, 20 кДа; епсилон, 20 кДа. Т3; составен од 3 полипептидни вериги: гама, бета, епсилон.	Тимоцити, Т-клетки, КПУТ клетки	Важна улога во ТКР сигналното пренесување и во клеточното прикажување на ТКР

(продолжува)

КД противген. ММ. Синоними и особини	Прикажување во бели клетки	Функција
КД4. 55 кДа. Л3Т4, Т4, Леу3, Лу4, Окс38.	ГТК класа 2-спрегнати Т-клетки, некои тимоцити, моноцити/макрофаги, гранулоцити	Корецептор за ГТК класа 2-спрегната Т-клеточна активација; тимусен диференцирачки обележувач за Т-клетките; рецептор за ХИВ
КД5. 58 кДа. Леу1, Т1, Лу-1, Окс19.	Зрели Т-клетки, рани тимоцити; мала количина на подгрупа на зрели Б-клетки (Б1а Б-клетки)	Позитивно или негативно прилагодување на ТКР и БКР сигнализирањето, во зависност од типот и развојната фаза на клетката која го прикажува
КД6. 105 или 130 кДа. Т12, Окс52, Тп120; член на групата Б-рецептор-чистач цистеински богат (ПРЦБ) протеинска суперфамилија.	Повеќето периферни Т-клетки, тимоцити, подгрупа на Б-клетки	Атхезивен молекул која ги поврзува развојните тимоцити со тимусните епителни клетки, игра улога во меѓудејството од зрелите Т-клетки со непрофесионалните противген-прикажувачки клетки
КД7. 40 кДа. гп40, Леу9, Тп41; член на галектин-1 рецепторската фамилија.	Повеќепотентни хематопоетски клетки, Т-клетки, тимоцити, КПУ, пре-Б-клетки	Разликува примитивни лимфоидни родителски од мултипотентните матични клетки; игра улога во регулацијата на цитокинското создавање од периферните Т-клетки и КПУ и чувствителност на ЛПС-поттикнатиот шок; може да има костимулаторна активност за Т-клетките
КД8. Т8, Леу-2, Лту-2; мембрански поврзан димер со две вериги, алфа-бета хетеродимер или алфа-алфа хомодимер.	ГТК класа 1-спрегнати Т-клетки, некои тимоцити, подгрупа на стеблести клетки	Корецептор за ГТК класа 1-спрегнатите Т-клетки
КД9. 24 кДа. МРП-1, п24, ДРАП-27.	Тромбоцити, рани Б-клетки, активирани Б-клетки, активирани Т-клетки, еозинофили, базофили	Прилагодување на клеточното прилепување и миграција; започнувач на тромбоцитната активација
КД10. 100 кДа. Општ акутен лимфобластен леукемиски противген (ОАЛЛП), ЕЦ 3.4.24.11 (неприлизин), енкефалиназа, гп100, неутрална ендопептидаза (НЕП), металоендопептидаза.	Б-клеточни претходници, Т-клеточни претходници, коскено срцевински стромални клетки, неутрофили, моноцити, кератиноцити	Мембрански поврзана металопептидаза одговорна за разложување на голем број воспалителни и вазоактивни пептиди
КД11а. 180 кДа. алфа-Л интегринска верига, ЛФА-1 алфа (леукоцитна функција, поврзан молекул-1 алфа) верига, формира ЛФА-1 преку поврзување со КД18.	Моноцити, макрофаги, гранулоцити, лимфоцити	Подединица на ЛФА-1, мембрански гликопротеин кој овозможува меѓуклеточно поврзување преку меѓудејство со МКАМ-1 (меѓуклеточен атхезивен молекул -1)
КД11б. 165 кДа. К3биР, КР3, Лу40, иК3б рецептор, Окс42; алфа-верига на МАЦ-1 интегрин, формира МАЦ-1 преку поврзување со КД18	Гранулоцити, моноцити, КПУ, подгрупа на Т-клетки, подгрупи на Б-клетки, миелоидни стеблести клетки	Подединица на МАЦ-1, која го посредува меѓудејството на неутрофилите и моноцитите со стимулираниот ендотел, фагоцитоза на честици кои се обвиткни со иК3б или ИгГ, ширење или хемотакса на бели клетките; лигнад-поврзувачки молекул кој се врзува за К3б, МКАМ-1 (КД54), МКАМ-2 (КД102) и фибриноген.
КД11ц. 145 кДа. Алфа-Х интегринска верига, алфа х бета2, алфа-верига на интегрин КР4, леукоцитен површински противген, п150, 95; формира КР4 преку поврзување со КД18.	Моноцити, макрофаги, КПУ, гранулоцити, подгрупа на Т-клетки, подгрупа на Б-клетки, стеблести клетки	Подединица на комплексот со КД18 кој е сличен на КД11б/КД18 комплексот, со кој дејствува здружено, главната форма на КД11/КД18 на ткивните макрофаги.
КД11д. 150 кДа. Алфа-верига тип 1 гликопептид	Периферни крвни бели клетки, ткивно специфични макрофаги	Непозната, може да игра улога во атеросклеротичниот процес и макрофагната диференцијација
КД12в. 90-120 кДа.	Моноцити, гранулоцити, тромбоцити и КПУ	Непозната
КД13. 150 кДа. Аминопептидаза Н (АПН), ЕЦ 3.4.11.2, гп 150, Лап 1.	Рани родителски клетки на гранулоцититите и моноцитите (КФЕ-ГМ), зрели гранулоцити и моноцити, коскеносрцевински стромални клетки, остеокласти, мал број големи зрнести лимфоцити, Т-клетки	Мембрански поврзана металопротеаза која го катализира отстранувањето на Н-терминалните аминокиселини од пептидите
КД14. 53 кДа. ЛПС рецептор (ЛПС-Р); ГПИ-фиксиран гликолизиран протеин, исто така постои и како растворлив протеин.	Моноцити, макрофаги, гранулоцити (слабо прикажување), Б-клетки, стеблести клетки, хепатоцити	Рецептор за ендотоксинот (липолисахарид [ЛПС]), ги активира моноцитите или неутрофилите за да ослободуваат цитокини (ТНФ) и нагорно ги регулира атхезивните молекули кога ЛПС е врзан. Се врзува за пептидогликанот на грам-позитивните бактерии, Хсп60, церамиди, модифицирани липопротеини и анјонски фосфолипиди. Растворливата форма дејствува како протеин на акутната фаза и може да ја регулира Т-клеточната активација и може да дејствува на Б-клеточен митоген.

КД противген. ММ. Синоними и особини	Прикажување во бели клетки	Функција
КД15. 90 кДа. Lewis X, Лекс, ССЕА-1, 3-ФАЛ, 3-ФЛ, ЛНФП 3 (лакто-Н-нео-фукопентоза 3); поли-Н-ацетил лактозамин јагленохидрат полимер со недефинирана ММ.	Гранулоцити, моноцити, макрофаги, Лангерхансови клетки, зрели коскеносрцевински клетки од миеломоноцитната лоза, слабо на Т-клетките	Предложено е дека е лиганд за КД61 селектините, може да биде значаен за директните меѓудејства на јагленохидратите
КД15с. Недефиниран. Сијаличен Lewis X (сЛекс), сијалински Lewis X (СЛе-х); поли-Н-ацетил лактозамин, јагленохидратен полимер со недефинирана ММ.	Гранулоцити, моноцити, макрофаги, КПУ, подгрупи на Т-клетки	Најсилниот партнер за поврзување со Е селектинот, вклучен во различни јагленохидрати за јагленохидрат клеточни адхезии
КД15у. Недефиниран. Сулфатна форма на КД15.	Гранулоцити, моноцити, макрофаги	Атхезија јагленохидрат со јагленохидрат
КД16-а, -б. 50-80 кДа. Фк гамаР3А. ГПИ-фиксиран гликопротеин.	Трансмембранска форма кај луѓето на КПУ, макрофагите и мастоцитите. ГПИ-фиксираната форма е прикажана на неутрофилите. Кај глувците, не е утврдена ГПИ-фиксирана форма на КД16а и трансмембранската форма е прикажана на макрофагите, КПУ, неутрофилите, миелоидните претходници и поголемиот дел од раните КД4^{+}-КД8^{+}- ТКР фетални тимоцити	Поединица за ниско афинитетниот Фк рецептор, вклучен во фагоцитозата на противген-противтело комплексот и во противтело-посредуваната клеточно посредувана цитотоксичност (ПЗКЦ)
КДв17. 115-165 кДа. Лактозилцерамид (ЛакЦер); јагленохидратен противген.	Моноцити, гранулоцити, базофили, тромбоцити, подгрупа на периферни Б-клетки (КД19^{-}), тонзиларни стеблести клетки	Непозната; способност за врзување со бактериите за можна улога во фагоцитозата
КД18. 90 кДа. Бета2 интегринска верига; бета поединица која се врзува со КД11а, КД11б или КД11ц поединицата за да формира интегрини.	Сите бели клетки	Атхезија и сигнализирање во хематопоетскиот систем (разгледајте ги КД11а, КД11б и КД11ц)
КД19. >120 кДа. Б4.	Фоликуларни стеблести клетки, Б-клетки од најраните препознатливи клетки од Б-лозата, при развојот на Б-клеточните области, но се губи при зреењето во плазма клетки	Дел од Б-клеточниот корецептор со КД21 и КД81; важен молекул за сигналното пренесување кој го регулира Б-клеточниот развој, активацијата и диференцијација
КД20. 33-37 кДа. Б1, Бп35; 4-трансмембранска премостувачка протеинска суперфамилија; тип 3-, 4-премостувачки гликопротеин.	Б-клетки	Поврзувањето активира тирозин-киназни зависни патеки и може да игра улога во Б-клеточното размножување и диференцијација; ја регулира Б-лимфоцитната активација и пролиферација преку регулирање на трансмембранската Ca^{2+} канална поединица и напредувањето на клеточниот циклус
КД21. 145 кДа (мембранска форма), 130 кДа (растворлива форма). К3д рецептор, КР2, Епштајн-Баров вирусен рецептор (ЕБВ-Р); едноверижен тип 1 гликопротеин.	Б-клетки, фоликуларни стеблести клетки, подгрупа на незрели тимоцити	Рецептор за ЕБВ, Ц3д, Ц3дг и иК3б, со КД19 и КД81, дел од Б-клеточниот корецептор, голем сигнално пренесувачки комплекс
КД22. 140 кДа. BL-CAM, Lyb8 кај глувци; едноверижен тип 1 гликопротеин.	Површината на зрелите Б-клетки, цитоплазма на доцните про- и раните пред-Б-клетки	Атхезивен молекул; сигнален молекул
КД23. 45 кДа. Б6, БЛАСТ-2, Фк епсилонР2, Леу-20; ниско афинитетен ИгЕ рецептор: тип Ц лектин, хомотримеричен тип 2 гликопротеин.	Човечки Б-клетки, моноцити, слабо кај другите хематопоетски клетки	Регулација на ИгЕ синтезата, поттикнува ослободување на ТНФ, ИЛ-1, ИЛ-6 и ГМ-КСФ од човечките моноцити
КД24. 35-45 кДа. БА-1, Лу52, топлински стабилен противген (ТСП) кај глувците.	Б-клеточната лоза, но се губи при фазата на плазма-клетките, зрели гранулоцити, тимоцити, здрав епител, моноцити, Лангерхансови клетки, црвени клетки	Муцин сличен атхезивен молекул кој се покажал дека го засилува метастатскиот потенцијал на туморските клетки
КД25. 55 кДа. ИЛ-2 рецептор алфа-верига, ИЛ-2Р, Тас противген, п55.	Активирани Б-клетки, Т-клетки, моноцити и олигодендроцити, некои тимоцити, макрофаги, КПУ, миелоидни клетки и подгрупа на стеблести клетки	Ниско афинитетен ИЛ-2 рецептор (ИЛ-2Ралфа) и претставува активирачки обележувач; поттикнува активација и размножување на Т-клетките, тимоцитите, КПУ, Б-клетките и макрофагите, исто така игра улога во Т-клеточно посредуваниот имун одговор. Се поврзува за бета и гама-верижите за да создаде висок афинитет со ИЛ-2Р.

(продолжува)

КД противген. ММ. Синоними и особини	Прикажување во бели клетки	Функција
КД26. 110,120 кДа. ЕЦ 3.4.14.5, аденозин деаминаза-врзувачки протеин (АДА-врзувачки протеин), дипептдилпептдаза 4 (ДПП 4 ектоензим); хомодимеричен тип 2 гликопротеин; член на полиолиго пептидазна фамилија.	Зрели или активирани Т-клетки, Б-клетки, КПУ, макрофаги, бубрежни проксимални тубуларни епителни клетки, епител на тенкото црево, билијарни каналчиња, клетки кои го обложуваат слезинскиот синус и простатата; исто така, првенствено се прикажани врз зрелите тимоцити во медулата, нагорна регулација на памтечките Т-клетки по активацијата.	Предложено е дека функционира како мембрански врзана протеаза, Т-клеточен костимулаторен молекул и клеточен атхезивен молекул
КД27. 55 кДа. С152, Т14; член на тумор некротичен фактор рецепторската суперфамилија.	Зрели тимоцити, активирани Т-клетки и Б-клетки, КПУ, макрофаги, повеќето периферни Т-клетки, памтечките Б-клетки	Посредување при костимулаторниот сигнал за Т- и Б-клеточната активација; улога во глувчешкиот Т-клеточен развој
КД28. ~90 кДа (хомодимерична форма). Т44, Тп44.	Зрели КД3^{+} тимоцити, повеќето периферни Т-клетки, плазма клетки Бели клетки, слабо на гранулоцитите	Костимулација на Т-клеточното размножување и создавање на цитокини по врзувањето со КД80 или КД86
КД29. 130 кДа. Бета1 интегринска верига, ГП, тромбоцитен ГП2а, МДП бета-верига.	Леукоцити, слабо на гранулоцити	Бета поединица на ВЛА-1 интегринот, дејствува како фибронектински рецептор и е вклучен во клеточната атхезија и препознавањето во голем број процеси, вклучувајќи ги ембриогенезата, хемостазата, поправање на ткивата, имун одговор, метастатско ширење на туморските клетки, и развој; потребна за диференцирање на хематопоетските матични клетки со напредување на туморот и метастази/инвазија
КД30. 105-120 кДа. Бер-Х2 противген, Ки-1 противген; член на тумор некротичен фактор рецепторската суперфамилија.	Активирани Т-клетки, активирани Б-клетки, активирани КПУ, моноцити	Костимулира Т-клеточно размножување и нагорно го регулира прикажувањето на атхезивните молекули и ослободувањето на цитокините; може да го намали размножувањето на автореактивните Т-лимфоцити
КД31. 130-140 кДа. ГПиіа, ендокам, тромбоцитна ендотелна клеточна атхезивен молекул (ТЕКАМ-1); член на имуноглобулинската супергенска фамилија (ИгСФ)	Ендотелни клетки, тромбоцити, моноцити, неутрофили, КПУ, подгрупи на Т-клетките	Првенствено атхезивен молекул без позната ензимска активност; игра улога во трансендотелната клеточна миграција
КД32. 40 кДа. ФКР2, Фк гама Р2, Лу-17; повеќе изоформи.	Моноцити, макрофаги, Лангерхансовите клетки, неутрофили (А и Ц изоформи), Б-клетки (Б изоформа) и тромбоцити, како и на ендотелните клетки на плацентата. Сите изоформи се прикажани на моноцитите.	Рецептор за Фк делот од противген-противтело комплексните ИгГ молекулите. Ја регулира функцијата на Б-клетките и игра голема улога во имуно-комплексно поттикнатото ткивно оштетување; изгледа има главна инхибиторна улога за спречување на развојот на автоимуна болест; може да поттикне ИгГ-посредувана фагоцитоза и кислородна експлозија во неутрофилите и моноцитите
КД33. 67 кДа. Гп67, п67, сиглец-3; едноверижен тип 1 гликопротеин.	Миелодини родителски клетки (прогенитори), моноцити и макрофаги, гранулоцитни претходници со намалувачко прикажување по зреењето и диференцијацијата, што резултира со ниско ниво на прикажување на зрелите гранулоцити.	Служи како маркер за разликување на миелоидните од лимфоидните леукемии. Сијалична киселина - зависен цитоатхезивен молекул, сијалоадхезин; го попречува размножувањето на здравите и леукемиските миелоидни клетки и исто така може да посредува при атхезијата клетка-клетка; исто така игра улога во јагленохидратното врзување и лектинската активност
КД34. 40 кДа (врз база на аминокиселинската секвенца). Гп105-120, мукосијалин; тип 1 гликопротеин.	Рани лимфохематопоетски матични и родителски клетки, ендотелни клетки на мали крвни садови, ембрионски фибробласти, одредени клетки во феталните и возрасните нервни ткива	Клетка-клетка атхезивен молекул; исто така учествува во попречувањето на хематопоетската диференцијација
КД35. Многу форми: 160, 190, 220, 250, 165, 195, 225, 255 кДа. К3бР, К4бР, комплементен рецептор тип 1 (КР1), имун атхерентен рецептор; член на комплементните делови рецепторска суперфамилија (КДРСФ), едноверижен тип 1 гликопротеин.	Црвени клетки, неутрофили, моноцити, еозинофили, Б-лимфоцити и 10%-15% од Т-лимфоцитите	Рецептор за К4б/К3б обвитканите честици, го посредува нивното поврзување и фагоцитоза; помагач на К3б и К4б разложувањето и на тој начин ја ограничува комплементната активација

КД противген. ММ. Синоними и особини	Прикажување во бели клетки	Функција
КД36. 88-113 кДа (тромбоцитна форма). ГП3б, ГП4, ОКМ5-противген, PASIV; член на пребарувачката рецепторска суперфамилија, едноверижен тип 3-, 2-премостувачки гликопротеин.	Тромбоцити, зрели моноцити/макрофаги, ендотелни клетки; кај глувците прикажан на Б-клетките	Повеќефункционален гликопротеин кој дејствува како атхезивен молекул при тромбоцитната атхезија и агрегација и при меѓудејствата тромбоцит-моноцит или тромбоцит-туморска клетка. Молекул за препознавање на апоптотичните неутрофили и функционира во фагоцитното отстранување на апоптотичните клетки, рецептор-чистач за оксидираниот ЛДЛ.
КД37. 40-52 кДа. Гп 52-50. член на 4-трансмембранска премостувачка протеинска суперфамилија (ТМ4СФ); тип 3-, 4-премостувачки гликопротеин.	Б-клетки; ниски нивоа на Т-клетки, неутрофили, гранулоцити и моноцити.	Б-клеточно прикажаниот КД37 се поврзува нековалентно со класа 2 ГТК, КД19, КД21 и ТМ4СФ молекулите КД53, КД81 и КД82; вклучен во сигнално пренесувачката патеката(е) која го регулира клеточниот развој, активација, раст и подвижност и, исто така, може да биде вклучен во меѓудејствата Т-клетка-Б-клетка
КД38. 45 кДа (во белите клетки), 39 кДа (растворлива форма). Т10, АДП-рибозил циклаза, циклична-АДП-рибоза хидролаза; едноверижен тип 2 гликопротеин.	Променливи нивоа на поголемиот дел од хематопоетските клетки, посилно за време на раната диференцијација и активација и одредени нехемопоетични клетки; високо ниво на прикажување на Б-клетките, активираните Т-клетки и плазма клетки.	НАД гликохидролаза; функции при клеточната атхезија; позитивен и негативен регулатор на клеточната активација и пролиферација, во зависност од клеточното опкружување; сигнално пренесување и калциумско сигнализирање; исто така дејствува како ектоензим кој учествува во нуклеотидниот метаболизам
КД39. 78 кДа. Потенцијален тип 3-, 2-премостувачки гликопротеин.	Од граничната зона и паракортикалните активирани лимфоцити, макрофаги, стеблести клетки и Лангерхансови клетки; отсутни во зародишните центри.	Може да посредува при Б-клеточната хомотипска атхезија и може да ги заштити активираните лимфоцити преку хидролиза на вонклеточниот АТФ
КД40. 48 кДа (мономер), 85 кДа (димер). Бп50; член на ТНФ рецепторската суперфамилија (ТНФРСФ), едноверижен тип 1 гликопротеин.	Сите зрели Б-клетки освен плазма клетките, макрофагите, фоликуларните стеблести клетки, активираните моноцити, ендотелните клетки, фибробластите, поврзаните стеблести клетки, кератиноцитите, КД34^{+} хематопоетските родителски клетки	Се врзува за КД154. Улоги во Б-клеточниот раст, диференцијација и менување на изотипот; апоптотички спасувачки сигнал за Б-клетките од зародишниот центар; стимулација на цитокинското создавање од макрофагите и стеблестите клетки; нагорна регулација на атхезивните молекули на стеблестите клетки. Игра важна улога во регулацијата на клеточно посредуваниот имунитет како и противтелно посредуваниот имунитет
КД41. Алфа-бета димер: алфа 125 кДа; бета 122 кДа. Гликопротеин 2б (ГП 2б) алфа2б интегринска верига; формира тромбоцитен фибриногенски рецептор преку поврзување со ГП3а; едноверижен тип 1 гликопротеин.	Тромбоцити, мегакариоцити	Подединица на тромбоцитниот фибриногенски рецептор, кој посредува при тромбоцитната агрегација; игра главна улога во тромбоцитната активација, кохезија, згрутчување, агрегација и прикачување; исто така, можен рецептор за Фон Вилебрандовиот фактор, фибринектинот и тромбоспондинот,; исто така покажано е дека учествува во клеточно-површинското посредувано сигнализирање.
КД42а,-б,-ц,-д. -а 23 кДа; -б 145 кДа; -ц 24 кДа; -д 82 кДа. -а, ГП9; -б, ГП1б-алфа; -ц, ГП1б-бета; -д, ГП5. Едноверижен тип 1 гликопротеин.	Тромбоцити, мегакариоцити; КД42ц исто така е прикажан на ендотелното, мозочното и срцевото ткиво	КД42а-д комплексот служи како рецептор за Фон Вилебрандовиот фактор и тромбинот. Атхезија на тромбоцитите за еднотелот; засилување на тромбоцитниот одговор на тромбинот.
КД43. 95-115 кДа во неискусните Т-клетки; 115-135 кДа во активираните Т-клетки и неутрофили. гпЛ115, леукоцитен сијалогликопротеин, леукосијалин, сијалофорин, Лу-48.	Сите бели клетки освен повеќето мирувачки Б-клетки	Можен противатхезивен („бариерен“) молекул кој посредува при одбивањето меѓу белите клетки и другите клетки.
КД44. 85 кДа. ECMR 3, H-CAM, HUTCH-1, Хермес, Лу (Ин-поврзани), Пгп-1, гп85; повеќе изоформи	На површината на повеќето клеточни типови; КД44Х е главна изоформа која е прикажана на лимфоцитите, растворлива форма која може да се открие во телесните течности	Рециклирачки рецептор кој се врзува за хиаладхеринот (ХА) и други ткивни макромолекули; се покажало дека е вклучен во пренесувањето на активирачките сигнали до клетката и функционира како атхезивен молекул кој посредува при бело клеточното прикачување и наоѓањето на патот до периферните лимфоидни органи и местата на воспаление.

(продолжува)

КД противген. ММ. Синоними и особини	Прикажување во бели клетки	Функција
КД44Р. 85-200 кДа на епителните клетки; 85-250 кДа на лимфоцитите. КД44в, КД44в9; хетерогена група на КД44 различни изоформи именувани по различните егзони кои ги содржат (в2-в10 кај луѓето).	Епителни клетки и моноцити (конститутивно), активирани бели клетки	Активноста на голем број изоформи на КД44Р сè уште не е разјаснета; можна улога (особено за КД44в6) во прикачувањето и тркалањето на белите клетки за ендотелните клетки, кои одат до периферните лимфоидни органи и местата на воспаление
КД45. 210-220 кДа во неискусните/мирувачки Т-клетки и КПУ; 180-200 кДа во активираните/памтечки Т-клетки, моноцити, гранулоцити и стеблести клетки; 180 кДа кај Б-клетките. Леукоцитен општ противген (ЛОП), Т200, ЕЦ 3.1.3.4.; многу различни изоформи со различни молекулски маси, на пример Б220, КД45Р, КД45РА, КД45РБ, КД45РЦ, КД45РО. (Различни изоформи на КД45 кои се создаваат со алтернативно сечење на 3 егзони кои можат да бидат вметнати веднаш по Н-терминалната секвенца на 8 аа која може да се најде на сите изоформи.)	Сите хематопоетски клетки освен црвените клетки; особено високо кај лимфоцитите (10% од нивната површина се состои од КД45); различни изоформни особини на диференцираните подгрупи на разни хематопоетски клетки	Регулира голем број клеточни процеси, вклучувајќи ги клеточниот раст, диференцијација, митотичниот циклус и онкогената трансформација; неопходна улога во Т и Б-клеточната противген-рецептор посредувана активација; можна улога во рецептор-посредуваната активација кај другите бели клетки
КД46. 52-58, 35-40 кДа. Мембрански кофакторен протеин (МКП); член на регулатори на комплементната активација (РКА) фамилија на протеини.	Лимфоцити од периферната крв (ЛПК), нехематопоетски ткива како што се плунковните жлезди и бурбежните канали; во голем степен прикажани на фибробластите и белите клетки	Се врзува К3б и Кб4 компонентите од комплементот, овозможувајќи разложување преку факторот 1 и претставува рецептор за вирусот на сипаници и за *Streptococcus pyogenes*; заштитна бариера против несоодветната комплементна активација и сместување на плазма мембраната; не се припишуваат различни функции на ткивно специфичните изоформи и на променливите нивоа на прикажување; вкрстеното поврзување води до надолна регулација на создавањето на ИЛ-12 преку непознати механизми
КД47. 45-60 кДа на црвените клетки; 47-55 кДа на тромбоцитите. Рх-поврзан протеин, гп42, интегрин-поврзан протеин (ИПП), неурофилин, оваријален карциномен противген 3 (ОА3); член на имуно-глобулинската супергенска фамилија (ИгСФ)	Повеќето клетки; дел од Рх комплексот на црвените клетки, а не е прикажано на Рх нула црвените клетки	Нековалнетно се поврзува со КД61 бета3 интегрините; дејствува како атхезивен молекул и тромбоспондински рецептор; игра улога во хемотактичните и атхезивните меѓудејства на белите клетки со ендотелните клетки преку нејасен механизам на дејство
КД47Р. 120 кДа. Порано познат како КДв149. МЕМ-133, IAP, MER6, ОА3, Рх-поврзан протеин, гп42, неурофилин.	Лимфоцити од периферната крв, моноцити, слабо на неутрофилите, еозинофилите, тромбоцитите	Може да стапи во меѓудејство со интегрините и да игра улога во растечкиот внатреклеточен калциум за време на клеточната атхезија
КД48. 45 кДа. ВСМ-1 кај глувците, Blast-1, Hu Lym3, ОХ-45 кај стаорци, Сгп-60.	Во голем степен прикажан на хематопоетските клетки, со исклучок на гранулоцитите и некои еозинофили, тромбоцити и црвени клетки	Од неодамна утврден како лиганд на КПУ-попречувачкиот рецептор КД244 (2Б4); Атхезивен молекул преку неговиот рецептор, КД2, и може да учествува во алфа-бета Т-клеточното препознавање, атхезија и костимулацијата и служи како помошен молекул како што е предвидено за Т-клеточното противгенско препознавање
КД49а. 200 кДа. Алфа-1 интегринска верига, многу доцна противген 1 алфа-верига (МДП-1 алфа-верига).	Активирани Т-клетки, моноцити, невронски клетки, мазниот мускул, ИЛ-2 активирани КПУ	Интегрин кој се поврзува со КД29, се врзува за колагенот, ламинин-1
КД49б. 160 кДа. Алфа-2 интегринска верига, ГП1а МДП-2 алфа-верига.	Т-клетки, КПУ, Б-клетки, моноцити, тромбоцити, мегакариоцити; невронски, епителни и ендотелни клетки; остеокласти	Интегрин кој се поврзува со КД29, се врзува за колагенот, ламинин-1; вклучен во одржувањето на ендотелната еднослојна целина заедно со КД49е. Учествува во атхезијата и клеточно-површинското посредувано сигнализирање и има улога во згрутчувањето на крвта и ангиогенезата
КД49ц. 150 кДа. Алфа-3 интегринска верига, МДП-3 алфа-верига.	Ниско ниво на моноцитите, Б и Т-лимфоцитите	Интегрин кој се поврзува со КД29 и се врзува за голем број лиганди, меѓу кои спаѓаат колагенот, ламинин-5, фибронектин, ентактин, инвазин; врзувачкиот афинитет за секој лиганд зависи од клеточниот тип на кој е прикажан, концентрацијата на двовалентниот катјон и присуството на други интегрински хетеродимери на клетката. Може да има улога во клетка-клетка како и клетка-матрикс атхезијата.

КД противген. ММ. Синоними и особини	Прикажување во бели клетки	Функција
КД49д. 145 кДа. Алфа-4 интегринска верига, МДП-4 алфа-верига.	Повеќе типови на клетки, вклучувајќи ги Т-клетките, Б-клетките, моноцитите, еозинофилите, базофилите, мастоцитите, тимоцитите, КПУ, стеблестите клетки, ембрионските миелобласти и миеломоноцитните клетки, одредени меланомски клетки, Купферовите клетки, мускулните клетки, еритробластните клетки-претходнички и српестите ретикулоцити; но не на нормалните црвени крвни клетки, тромбоцитите или неутрофилите.	Клеточно-атхезивен молекул за прикачување за лигандите од клеточната површина ВЦАМ-1 (алфа4бета1 и алфа4бета7) и МадЦАМ-1 (алфа4бета7) и прикачување за вонклеточните матрикс протеини фибронектин (алфа4бета1 и алфа4бета7) и тромбоспондин (алфа4бета1) и за лимфоцитна миграција и удомување; костимулаторен молекул за Т-клеточна активација
КД49е. 155 кДа. Алфа-5 интегринска верига, FNR алфа-верига, МДП-5 алфа-верига.	Повеќе типови на клетки, вклучувајќи ги Т-клетките, многу раните и активирани Б-клетки, тимоцитите, моноцитите, тромбоцитите	Интегрин кој се поврзува со КД29 и посредува при врзувањето на фибронектинот овозможувајќи костимулаторен сигнал за Т-клетките; се верува дека е значаен за одржувањето на ендотелната еднослојна целина заедно со КД49б; вклучен е во атхезијата, регулацијата на клеточниот опстанок и апоптозата. Исто така, вклучен е во МДП-посредуваната миграција на моноцитите во вонклеточните ткива. Интегрин кој се поврзува со КД29 и КД104, учествува во клеточната атхезија и миграција, ембриогенеза, како и при клеточно-површинското посредувано сигнализирање; се врзува за ламининскиот рецептор на тромбоцитите, моноцитите и Т-клетките; овозможува костимулаторен сигнал за Т-клетките за активација и размножување
КД49ф. 125 кДа. Алфа-6 интегринска верига, тромбоцитен гп1, МДП-6 алфа-верига.	Т-клетки, моноцити, тромбоцити, мегакариоцити, трофобласти	Се покажало дека се врзува за КД209 (DC-SIGN) како рецептор на стеблестите клетки и, како КД54 и КД102, претставува лиганд за ЛФА-1 КД11а/КД18 и е вклучен во интегрин бета-зависната атхезија; дејствува како костимулаторна молекула во имуниот одговор и е важна при почетното меѓудејство помеѓу Т и стеблестите клетки, водејќи до активација на Т-клетките. Ја регулира морфологијата на белите клетки; подржува повторна распределба вклучена во клеточната хемотакса и регрутирањето.
КД50. 115-135 кДа (неутрофили). Меѓуклеточен атхезивен молекул-3, МКАМ-3.	Бели клетки од сите лози; епидермалните Лангерхансови клетки и ендотелните клетки, конститутивно се прикажани на мирувачките противген-прикажувачки клетки, вклучувајќи ги стеблестите клетки; ослободен од активираните лимфоцити и неутрофили и се забележува во крвта како растворлив протеин	Се покажало дека се врзува за КД209 (ДЦ-СИГН) како рецептор на стеблестите клетки и, како КД54 и КД102, претставува лиганд за ЛФА-1 КД11а/КД18 и е вклучен во интегрин бета-зависната атхезија; дејствува како костимулаторна молекула во имуниот одговор и е важна при почетното меѓудејство помеѓу Т и стеблестите клетки, водејќи до активација на Т-клетките. Ја регулира морфологијата на белите клетки; поддржува повторна распределба вклучена во клеточната хемотакса и регрутирањето.
КД51. 125 кДа. ВНР- алфа-верига, алфа-В-интегринска верига, витронектински рецептор; формира алфа-В интегрин преку поврзување со КД61; познато е дека формира хетеродимери со бета1 КД29, бета3 КД61, бета5, бета6 и бета8 интегринските поединици во различни ткива.	Тромбоцити, мегакариоцити, ендотелни клетки, одредени активирани бели клетки, КПУ, макрофаги и неутрофили, остеокласти и мазно мускулни клетки	Поединица на алфа-В интегринот, која се врзува за витронектинот, фон Вилебрандовиот фактор, фибронектинот, тромбоспондинот и веројатно апоптотичните клетки; се покажало дека посредува при врзувањето на тромбоцитите за прицврстениот витронектин без претходна активација, исто така стапува во меѓудејство со КД47; поттикнува апсорпција на коските со посредување при атхезијата на остеокластите за остеопонтинот и може да игра улога во ангиогенезата
КД52. 25-29 кДа. CAMPATH-1, HE5; едноверижен ГПИ-фиксиран гликопротеин.	Високо прикажани на тимоцитите, лимфоцитите, моноцитите, макрофагите, епителните клетки кои го опкружуваат машкиот репродуктивен тракт	Непозната
КД53. 32-42 кДа. MRC OX44; член на 4-трансмембранската-spanning протеинска суперфамилија (ТМ4СФ).	Т и Б-клетките, моноцитите, макрофагите, гранулоцитите, стеблестите клетки, остеобластите и остеокластите	Посредува при сигнално пренесувачките настани кои се вклучени во регулацијата на клеточниот развој, активација, раст и морталитет; придонесува за пренесување на К2-создадениот сигнал во Т-клетките и КПУ и може да игра улога во регулацијата на растот; вкрстеното-поврзување поттикнува активација на човечките Б-клетки и стаорските макрофаги

(продолжува)

КД противген. ММ. Синоними и особини	**Прикажување во бели клетки**	**Функција**
КД54. 90,75-115 кДа. Меѓуклеточна Атхезивен молекул-1 (МКАМ-1).	Активираните ендотелни клетки, активираните Т-клетки, активираните Б-клетки, моноцитите, ендотелните клетки; растворливата форма се забележува во крвта	Лиганд за КД11а/КД18 или КД11б/КД18, покажано е дека се врзува за фибриногенот и хиалуронот; рецептор за риновирури и за ЦКК заразени со маларични паразити; може да игра улога во развојот и поттикнувањето на атхезијата; придонесува за противген-специфична Т-клеточна активација од противген-прикажувачките клетки, највероајтно преку зголемување на меѓудејството помеѓу Т-клетките и противген-прикажувачките клетки; придонесува за екстарвазација на белите клетки од крвните садови, особено од областите на воспаление. Исто така, растворливата форма може да ја инхибира активацијата на ЦТЛ или КПУ од малигните клетки
КД55. 80 кДа (лимфоцити), 55 кДа (црвени клетки). Фактор кој забрзува распаѓање (ФЗР); едно-верижен ГПИ-фиксиран гликопротеин и излачена растворлива форма, член на регулатори на комплементната активација (РКА) фамилија на протеин.	Повеќето клетки, исто така растворлива форма во плазмата и телесните течности	Стапува во меѓудејство со деловите од комплементот, КД97 и 7-трансмембрански домени протеин кој исто така содржи три вонклеточни ЕГФ домени; заштитна бариера против несоодветната комплементна активација и сместување на плазма мембраната; го ограничува создавањето и полуживотот на К3 конвертазите; може да биде значаен за КПУ механизмите за убивање; исто така служи како рецептор за еховирусите и коксаки Б-вирусот
КД56. 175-220 кДа. Леу-19, НКХ1, неутрален клеточно-атхезивен молекул (НКАМ); Едноверижен тип 1 гликопротеин со повеќе изоформи; доминантната изоформа на КПУ и Т-клетките се наоѓа во трансмембрански фиксираниот 140 кДа гликопротеин.	Човечките КПУ, подгрупа на $КД4^{+}$ и $КД8^{+}$ Т-клетките, исто така мозокот во малиот мозокот и мозочната кора и на невромускулните споеви	Нема јасна имунолошка функција, иако може да биде вклучен во туморскиот раст и ширење; регулира меѓудејства помеѓу неврони и помеѓу неврони и мускул
КД57. 110 кДа. ХНК1, Леу-7; јагленохидратен противген (олигосахарид), дел од голем број гликопротеини.	КПУ, подгрупа на Т-клетки, Б-клетки	Дејствува при атхезијата клетка-клетка
КД58. 55-70 кДа. Лимфоцитна функција-поврзан противген 3 (ЛФП-3); едноверижен тип 1 гликопротеин, алтернативното делење дава две форми, трасмембрански-фиксирана форма и GPI-фиксирана форма.	Многу хематопоетски и нехематопоетски клеточни типови, особено високо на памтечките Т-клетки и стеблестите клетки	Атхезија помеѓу Т-клетките-убијци и целните клетки, противген-прикажувачките клетки и Т-клетките, или тимоцитите и тимусните епителни клетки; се прикажува на противген-прикажувачките клетки и го засилува Т-клеточното противгено препознавање преку врзување за КД2, единствениот познат лиганд за КД58
КД59. 18-25 кДа. ИГ-5Аг, Х19, ХРФ20, МАЦИФ, МИРЛ, П-18 протектин. Едноверижен гликопротеин, член на Лу-6 суперфамилијата.	Повеќето хематопоетски и нехематопоетски клеточни типови	Се врзува за деловите од комплементот К8 и К9; може да се врзе за КД2. Функционира како инхибитор на мембрана атак комплексот (МАК), на тој начин ги штити клетките од комплемент-посредуваната лиза, сигнализирачка улога (како ГПИ-фиксирана молекула) во Т-клеточната активација; можна улога во клеточната атхезија
КД60а. 115-125 кДа (РВМС). Модификација на јаглехидратите најдена на ганглиозидот ГД3; претходно познат како КДв60	Подгрупа на Т-клетки, тромбоцити, тимусен епител, активираните кератиноцити, синовијалните фибробласти, гломерулите, мазномускулните клетки, астроцитите	Вклучен во регулацијата на апоптозата и поттикнува промена на митохондријалната пропустливост при апоптозата; поттикнува Б-клеточна помош и лачење на високи нивоа на ИЛ-4 од Т-клетките
КД60б. 9-О-ацетил дисијалозил ганглиозид ГД3; јаглехидрат.	Подгрупи на Т-клетки, активирани Б-клетки, невроектодермални клетки во тимусниот епител и на кожата	Можен митоген за синовијалните Т-клетки
КД60ц. 7-О-ацетил-ГД3 (7-О-ацетилирани дисијалозилни групи); јаглехидрат.	Т-клетки	Се верува дека е активирачки рецептор за Т-клетките
КД61. 110 кДа. КД61А, ГП2б/3а, бета3 интегринска верига; бета-верига тип 1 гликопротеин.	Тромбоцити, мегакариоцити, макрофаги, моноцити, мастоцити, остеокласти, ендотелни клетки, фибробласти	Интегринска поединица, се поврзува со КД41 (Гп11б/11а) или КД51 (витронектин рецептор); учествува во клеточната атхезија, клеточно-површинското посредувано сигнализирање и тромбоцитната агрегација

КД противген. ММ. Синоними и особини	Прикажување во бели клетки	Функција
КД62Е. 97-115 кДа. Е-селектин, ЕЛАМ-1, ЛЕЦАМ-2; Ц-тип лектин, едноверижен тип 1 гликопротеин.	Акутно активиран ендотел, хронично воспалителни рани на кожата и синовиите	Атхезивен молекул кој посредува при бело клеточно движење по активираниот ендотел на местата на воспаление; исто така може да учествува во тумор-клетка атхезијата при хематогените метастази и може да игра улога во ангиогенезата
КД62Л. 74 кДа (лимфоцити), 95 кДа (неутрофили). Л-селектин, ЛАМ-1, ЛЕЦАМ-1, Леу-8, МЕЛ-14, ТЛЬ-1; Ц-тип лектин, едноверижен тип 1 гликопротеин	Повеќето Б-клетки од периферната крв, неискусните Т-клетки, моноцитите, грануло-цитите, подгрупите на КПУ и памтечките Т-клетки, коскеносрцевинските лимфоцити и миелоидните клетки, тимоцитите; растворливата форма се открива во крвта	Атхезивен молекул кој посредува при лимфоцитното удомување на високите ендотелни венули на периферното лимфоидно ткиво и при бело клеточното движење по активираниот ендотел на местата на воспаление
КД62П. 140 кДа. П-селектин, гранулиран мембрански протеин-140 (ГМП-140), тромбоцитна активација - зависен гранулиран надворешно мембрански протеин (ТАЗГНМ); Ц-тип лектин, едноверижен тип 1 гликопротеин.	Ендотелот, тромбоцитите, мегакариоцитите	Меѓудејство со ПСГЛ-1 за посредување на влечењето и движењето на белите клетки по површината од активираните ендотелни клетки, првиот чекор во бело клеточната екстравазација и миграција кон областите на воспаление; може да придонесат за воспаление - поврзано ткивно уништување, атерогенеза и тромбоза
КД63. 40-60 кДа. ЛИМП, МЛА1, ПТЛГП40, гп55, гранулофизин лизозомална мембрана - поврзан гликопротеин 3 (ЛАМП-3), меланома-поврзан противген (МЕ491), нев-рогландуларен противген (НГП); лизозом-поврзан мембрански гликопротеин, член на трансмембранската-4 суперфамилија потфамилија 1 (ТМ4СФ потфамилија 1).	Тромбоцитите, обеззрнетите неутрофили, моноцитите, макрофагите	Посредува при сигнално пренесувачките процеси кои играат улога во регулацијата на клеточниот развој, активација, раст и подвижност; може да функционира како трансмембрански прилагодувачки протеин, кој поврзува други трансмембрански и сигнализирачки протеини
КД64. 72 кДа. Фк гама Р1, ЕфЦеР1; едноверижен тип 1 гликопротеин.	Моноцитите, макрофагите, стеблестите клетки од крвта и зародишните центри, ПМН активирани од ИФН-гама или Г-КСФ, рани клетки од миелоидната лоза	Фагоцитоза: рецептор-посредувана ендоцитоза на ИгГ-противген комплекси; заробување на противген за прикажување на Т-клетките; противтелно-зависна клеточна цитоксичност; посредник при ослободувањето на цитокините и реактивните кислородни радикали
КД65. Церамид-додекасахарид, ВИМ-2; гликолипид.	Ограничено на миелоидните клетки; со прикажување на повеќето гранулоцити и на дел од моноцитните клетки	Непозната
КД65с. сијалиниран-КД65, ВИМ-2; јагленохидрат.	Гранулоцити, моноцити	Можна вклученост во фагоцитозата и приливот на Ca^{2+}
КД66а. 140-180 кДа. НЦА-160, билијарен гликопротеин (БГП); едноверижен тип 1 гликопротеин, член на карциноембрионски противген (КЕП) фамилијата, повеќе составени варијанти.	Гранулоцити, епителни клетки, можно на подгрупа на ткивни макрофаги, Т-клетки и подпопулација на активирани КПУ, голем број на епителни и некои ендотелни клетки	Посредува при меѓуклеточната атхезија преку хомотипични и/или хетеротипични меѓудејства со други КД66 молекули; атхезивен молекул; рецептор за *Neissria gonorrheae* и *N. meningitidis*; може да пот-тикне неутрофилна активација; исто така, може да придонесе за меѓудејствата на акти-вираните гранулоцити меѓусебе или со ендо-телот или епителот; исто така, се верува дека имаат тумор супресорна активност
КД66б. 95-100 кДа. КД67, ЦГМ6, НЦА-95; едноверижен ГПИ-фиксиран гликопротеин, член на карциноембрионски противгена (КЕП) фамилијата.	Гранулоцити, хематопоетски клетки од миелоиднат лоза; растворлива форма во плазмата	Сличен на КД66а, рецептор за *Neissria gonorrheae* и *N. meningitidis*; атхезивен моле-кул; поттикнува неутрофилна активација; ја засилува респираторната експлозија активноста на неутрофилите, исто така, може да ја регулира атхезивната активност на КД11/КД18 кај неутрофилите; функ-цијата на растворливата форма е нејасна
КД66ц. 90 кДа. НЦА, НЦА-50/90; едноверижен ГПИ-фиксиран гликопротеин, член на карциноембрионски противгена (КЕП) фамилија.	Гранулоцити, епителни клетки, можно на подгрупа на ткивни макрофаги, хематопоетските клетки од миелоидната лоза; растворлива форма во плазмата	Слична на КД66а и КД66б; рецептор за *Neissria gonorrheae* и *N. meningitidis;* атхезивен молекул, поттикнува неутрофилна активација, може да ја регулира атхезивната активност на КД11/КД18 кај неутрофилите, иако нема директен функционален доказ

(продолжува)

КД противген. ММ. Синоними и особини	**Прикажување во бели клетки**	**Функција**
КД66д. 35 кДа. ЦГМ1; едноверижен тип 1 гликопротеин, член на карциноембрионски противген (КЕП) фамилијата	Гранулоцити, хематопоетски клетки од миелоидната лоза, епителни клетки	Слично на КД66а-ц; рецептор за *Neissria gonorrheae* и *N. meningitidis*; ја регулира атхезивната активност на КД11/КД18 кај неутрофилите
КД66е. 180-200 кДа. Едноверижен ГПИ-фиксиран гликопротеин, член на карциноембрионски противген (КЕП) фамилијата.	Епителни клетки, се открива во серумот	Меѓудејството на КД66е со Купферовите клетки стимулира ослободување на разни цитокини кои можат го променат растењето на туморските клетки во црниот дроб; можен атхезивен молекул; исто така рецептор за *N. gonorrheae*; може да игра улога во процесот на метастазирање на канцерските клетки
КД66ф. 54-72 кДа. Бременост-специфичен б1 гликопротеин, СП-1, бременост-специфичен гликопротеин (БСГ).	Феталниот црн дроб; се создава во плацентата и се ослободува	Нејасна; можна вклученост во имуната регулација и заштита на фетусот од мајчиниот имун систем; неопходен за успешна бременост имајќи предвид дека ниските нивоа во мајчината крв предвидуваат спонтан абротус
КД68. 110 кДа. Гп110, макросијалин; едноверижен тип 1 гликопротеин, член на рецептори-чистачи суперфамилијата.	Моноцити, макрофаги, стеблести клетки, неутрофили, базофили, мастоцити, миелоидни родителски клетки, подгрупа на КД34+ хематопоетските родителски клетки, активирани Т-клетки, одредени Б-клетки од периферната крв; растворлива форма во крвта и урината	Непозната
КД69. 60 кДа. Активација - поттикнувачки молекул (АПМ), ЕА 1, МЛР3, гп34/28, многу рана активација (МРА); група 5 Ц-тип лектин, дисулфидно-поврзан хомодимеричен тип 2 гликопротеин.	Активирани бели клетки, вклучувајќи ги Т-клетките, тимоцитите, Б-клетките, КПУ; неутрофилите, еозинофилите и Лангерхансовите клетки; подгрупа на зрели тимоцити, зародишен центар гранична зона Б-клетки, некои КД4^{+}зародишен центар Т-клетки	Вклученост во раните настани од лимфоцитната, моноцитната и тромбоцитната активација: поттикнува прилив на Ca^{2+}, синтеза на цитокини и нивните рецептори, поттикнува прикажување на протоонкогените *c-myc* и *c-fos;* улога при поттикнувањето на лиза посредувана од активираните КПУ
КД70. 75,95 170 кДа. КД27-лиганд, Ки-24 противген; тримеричен тип 2 гликопротеин, член на ТНФ суперфамилијата.	Активираните Т и Б-клетки и стимулираните КПУ	Лиганд за КД27; можна улога во костимулацијата на Б и Т-клетките и може да го зголеми создавањето на цитотоксичните Т-клетки и создавањето на цитокини
КД71. 190 кДа. Т9, трансферински рецептор; дисулфидно поврзан хомодимеричен тип 2 гликопротеин.	Сите клетки кои се размножуваат	Ресорпција на железо: се врзува за феротрансферинот при неутрлна рН вредност и го восприема комплексот до киселинско-ендосомалниот дел, каде се ослободува железото
КД72. 39-43 кДа. Лу-19.2, Лу-32.2, Lyb-2; Ц-тип лектин, дисулфидно поврзан хомодимеричен тип 2 гликопротеин.	Б-клетки (освен плазма клетки), одредени стеблести клетки и може да се прикажат на ткивни макрофаги	Може да игра улога во регулирањето на сигналниот праг кај Б-клетките; содржи активирачки тирозински мотив и можно е да активира голем број на сигнални патеки преку Б-клеточниот рецептор и може да поттикне ГТК класа 2 прикажување и размножување на Б-клетките
КД73. 69,70,72 кДа. Екто-5', нуклеотидаза; едноверижен ГПИ-фиксиран гликопротеин.	Подпопулации на Т-клетките (прикажувањето е ограничено на КД28^{+}подгрупата) и Б-клетките (околу 75% од Б-клетките од периферната крв кај возрасните), со зголемување на прикажувањето при развојот; фоликуларни стеблести клетки, епителни клетки, ендотелни клетки	Можно е да ја регулира достапноста на аденозинот за меѓудејство со површинскиот аденозински рецептор преку претворање на АМП во аденозин; може да посредува при костимулаторните сигнали за Т-клеточна активација; може да игра улога во посредување на меѓудејството помеѓу Б-клетките и фоликуларните стеблести клетки
КД74. 33,35,41 кДа. Класа 2-специфичен придружник, Ли, непроменлива верига; хомотримери, едноверижен тип 2 гликопротеин.	Најчесто се среќава внатреклеточно кај ГТК класа 2-прикажувачките клетки, особено, Б-клетките, активираните Т-клетки, макрофагите, активираните ендотелни и епителни клетки	Внатреклеточно подредување на ГТК класа 2 молекулите; функцијата кај луѓето е непозната
КД75. Порано познат како КДв75. Јагленохидратен противген.	Б-клетките, подпопулации на Т-клетките од периферната крв, црвени клетки, широк опсег на епителни клетки	Клеточна атхезија; лиганд за КД22
КД75с. Порано познат како КДв76. Јагленохидратен противген.	Зрели сИг$^{+}$ Б-клетки, Б-клетките од граничната зона на лимфоидните вторични фоликули, подпопулација на Т-клетки, леукемии на зрели клетки од Б-лозата, подгрупи на ендотелните и епителните клетки, можно е слабо прикажување на црвените клетки	Се смета за поврзувачки партнер на Б-клетки-специфичниот активациски противген КД22; точната функција е нејасна

КД противген. ММ. Синоними и особини	Прикажување во бели клетки	Функција
КД77. Пк крвно-групен противген, Буркитов лимфом противген (БЛП), церамид трихексозид (ЦТХ), глоботриасилцерамид (Гб3); сфинголипиден противген, тип 2 мембрански протеин.	Б-клетките од зародишниот центар	Важен клеточно-површински молекул кој може да посредува при апоптотичниот сигнал; здружување со тип 1 интерферонскиот рецептор или со ХИВ корецепторот ЦХЦР4 (КД184) може да биде потребно за неговата функција; рецептор за лектините на пилите од одреден вид на *E. Coli*; може да биде вклучен во процесот на селекција во зародишните центри
КД79а. 33-45 кДа. Иг-алфа, МБ1; тип 1 гликопептид, дисулфидно поврзан хетеродимер со КД79б.	Б-клетки	Дел на Б-клеточниот противген рецептор кој е аналоген на КД3; потребен за прикажување на клеточната површина и сигналното пренесување
КД79б. 37 кДа. Б29, Иг-бета; тип 1 гликопептид, дисулфидно поврзан хетеродимер со КД79а.	Б-клетки	Иста како КД79а
КД80. 60 кДа. Б7, Б7.1, ББ1, Лу-53; едноверижен тип 1 гликопротеин.	Активирани Б и Т-клетки, макрофаги, ниски нивоа на мирувачките моноцити од периферната крв и стеблестите клетки	Се врзува за КД28 и КД152; костимулација на Т-клеточната активација со КД86 кога е врзан за КД28; ја инхибира Т-клеточната активација кога е врзан со КД152
КД81. 26 кДа. Цел на противразмножувачкиот противген-1 (ЦПРП-1). Едноверижен тип 3-, 4- премостувачки гликопротеин, член на 4-трансмембранската премостувачка протеин суперфамилија (ТМ4СФ).	Широко прикажани на хематопоетските клетки, прикажани на ендотелните и епителните клетки; отсутни на црвените клетки, тромбоцитите и неутрофилите	Член на КД19/КД21/Леу-13 сигналниот пренесувачки комплекс; посредува сигнално пренесувачки процеси кои се вклучени во регулирањето на клеточниот развој, раст и подвижност; учествува во раниот Т-клеточен развој; се врзува за Е2 гликопротеинот од хепатитис Ц вирусот
КД82. 45-90 кДа. 4Ф9, Ц33, ИА4, КАИ1, Р2; Едноверижен тип 3-, 4- премостувачки гликопротеин, член на 4-трансмембранската премостувачка протеин суперфамилија (ТМ4СФ).	Активираните/диференцирани хематопоетски клетки, Б и Т-клетките, КПУ, моноцитите, гранулоцитите, тромбоцитите, епителните клетки	Сигнално пренесување: може да поттикне Т-клеточно ширење и создавање на псевдоподии, го регулира Т-клеточното размножување и овозможува костимулаторни сигнали за создавање на цитокини; можна улога во активацијата на моноцитите
КД83. 43 кДа. ХБ15; едноверижен тип 1 гликопротеин.	Стеблестите клетки, Б-клетките, Лангрехансовите клетки	Може да игра улога во прикажувањето на противгенот и/или лимфоцитната активација и регулирањето на имуниот одговор
КД84. 72-86 кДа. ГР6.	На сите тимоцити, моноцити, тромбоцити, циркулирачки Б-клетки	Непозната
КД85а. 110 кДа. ГР4.	Моноцити, макрофаги, стеблести клетки, гранулоцити, подпопулација на Т-лимфоцити	Супресија на КПУ-клеточно посредуваната цитотоксичност
КД86. 80 кДа. Б7.2, Б70; едноверижен тип 1 гликопротеин.	Стеблести клетки, памтечки Б-клетки, Б-клетки од зародишниот центар, моноцити	Главна Т-клеточна костимулаторна молекула, стапува во меѓудејство со КД28 (костимулаторна) и КД152/ЦТЛА4 (инхибиторна)
КД87. 32-56 кДа (моноцити). Урокиназа плазминоген ацтиватор рецептор (уПАР); едноверижен ГПИ-фиксиран гликопротеин.	Т-клетки, КПУ, моноцити, неутрофили; нехематопоетски клетки како што се васкуларните ендотелни клетки, фибробластите, мазно мускулните клетки, кератиноцитите, плацеталните трофобласти, хепатоцитите	Рецептор за уПА, кој може плазминогенот да го претвори во плазмин; можна улога во б2 интегрин-зависната атхеренција и хемотакса; може да игра улога во процесот на неопластична и воспалителна клеточна инвазија
КД88. 43 кДа. К5а рецептор, К5аР; тип 3,7-премостувачки гликопротеин, член на 7-трансмембранскиот премостувачки протеин суперфамилија (ТМ7СФ).	Гранулоцити, моноцити, стеблести клетки, астроцити, микроглија, хепатоцити, алвеоларните макрофаги, васкуларни ендотелни клетки	К5а-посредувано воспаление, активација на гранулоцити, можна функција во мукозниот имунитет
КД89. 45-70, 55-75, 70-100, 50-65 кДа. Фк алфа-рецептор Р (Фк алфа-Р), ИгА Фк рецептор, ИгА рецептор; едноверижен тип 1 гликопротеин.	Клетките од миелоидно потекло од промиелоцитите до неутрофилите и од промоноцитите до моноцитите; активираните еозинофили, алвеоларните и слезинските макрофаги; подгрупи на Т и Б-клетки	Поттикнување на фагоцитоза, дегранулација, респираторна експлозија, убивање на микроорганизми
КД90. 25-32 кДа. Тхс-1; едноверижен ГПИ-фиксиран гликопротеин.	Хематопоетските матични клетки, невроните, сврзното ткиво, тимоцитите, периферните Т-клетки, човечкиот лимфен јазол ВЕВ ендотел	Можна вклученост во костимулацијата на лимфоцитите; можна инхибиција на размножувањето и диференцијацијата на хематопоетските матични клетки

(продолжува)

КД противген. ММ. Синоними и особини	**Прикажување во бели клетки**	**Функција**
КД91. 515,85 кДа. Алфа-2 макроглобулински рецептор (АЛФА2М-Р), ниска густина липопротеински рецептор-поврзан протеин (ЛРП); едноверижен тип 1 гликопротеин.	Фагоцитите, голем број не-хематопоетски клетки	Ендоцитоза-посредувачки рецептор прикажан на обвиените вдлабнатини кој игра улога во регулацијата на протеолитичната активност и липопротеинскиот метаболизам
КД92. 70 кДа. Порано познат како КДв92; ЦТЛ1, ГР9..	Моноцити, гранулоцити, лимфоцити од периферната крв (ЛПК), мастоцити	Непозната; најверојатно игра улога во сигналното пренесување
КД93. 110 кДа. Порано познат како КДв93; ГР 11.	Моноцити, гранулоцити, ендотелни клетки	Непозната
КД94. 70 кДа. Кп43; формира комплекс со НКГ2 рецепторите, Ц-тип лектин.	КПУ, подгрупа на КД8^{+} алфа-бета и гама-делта Т-клетки	Во зависнност од поврзаната НКГ2 молекула, може да ја активира или инхибира КПУ-клеточната цитотоксичност и ослободувањето на цитокините
КД95. 45 кДа. АПО-1, Фас противген (Фас); ТНФ рецепторска суперфамилија, едноверижен тип 1 гликопротеин.	Активирани Т и Б-клетки, моноцити, фибробласти, неутрофили	Посредување на апоптоза-поттикнувачките сигнали
КД96. 160 кДа. Т-клеточна активација зголемено доцно прикажување (ТАЦТИЛЕ); едноверижен тип 1 гликопротеин.	Активирани Т-клетки, КПУ	Атхезија на активираните Т и КПУ за време на доцната фаза од имуниот одговор; исто така се вклучени во прикажувањето на противгенот и/или лимфоцитната активација
КД97. 75-85 кДа (ПБМЦ, КД97а), 28 кДа (ПБМЦ, КД97б). БЛ-КДД/Ф12; ЕГФ-ТМ7 потфамилија член, тип 3-,7-премостувачки гликопротеин, три изоформи.	Активирани Т и Б-клетки, моноцити, гранулоцити	Се врзува за КД55, неутрофилна миграција
КД98. 80 и 45 кДа. 4Ф2, ФРП-1, РЛ-388 кај глувците; дисулфидно-поврзан хетеродимеричен тип 2 гликопротеин.	Не е хематопоетски специфичен; активирани и трансформирани клетки; ниско ниво на мирувачките клетки, високо ново на моноцитите	Улога во регулацијата на клеточната активација и агрегација
КД99. 32 кДа. КД99Р (епитоп спрегнат за поттип на КД99 молекули), Е2, *МИЦ2* генски продукт; едноверижен тип 1 гликопротеин.	Сите бели клетки, највисоко кај тимоцитите	Ја зголемува Т-клеточната атхезија, поттикнува апоптоза на двојнопозитивните тимоцити, учествува во леукоцитната миграција, вклучен во Т-клеточната активација и атхезија, се врзува за циклоспоринот А
КД100. 150 кДа (ПХА области), 120 кДа (растворлив). Дисулфидно поврзан хомодимеричен тип 1 гликопротеин.	Повеќето хематопоетски клетки освен незрелите коскеносрцевински клетки, ЦКК и тромбоцити; активирани Т-клетки, Б-клетки од зародишниот центар	Моноцитна миграција, Т и Б клеточна активација и Т-Б-клетки и Т-стеблести клетки меѓудејство; покажано е дека поттикнува Т-клеточно размножување
КД101. 120 кДа. П126, В7; дисулфидно поврзан хомодимеричен тип 1 гликопротеин.	Моноцити, гранулоцити, стеблести клетки, мукозни Т-клетки, активирани Т-клетки од периферната крв; слабо на мирувачките Т, Б и КПУ клетки	Можна костимулаторна улога во Т-клеточната активација
КД102. 55-65 кДа. Меѓуклеточен атхезивен молекул-2 (МКАМ-1); едноверижен тип 1 гликопротеин.	Васкуларни ендотелни клетки, моноцити, тромбоцити, одредени популации на мирувачки лимфоцити	Како сродните протеини КД54 и КД50, се врзува за КД11а/КД18 ЛФП-1. Исто така се врзува за КД11б/КД1118 Мац-1; може да игра улога во лимфоцитната рециркулација. Се покажало дека посредува при адхезивните меѓудејства кои се значајни за противген-специфичниот имун одговор, КПУ-посредувано отстранување, лимфоцитната рециркулација и другите клеточни меѓудејства кои се значајни за имуниот одговор и надгледување; може исто така да биде вклучен во Т-клеточната активација и атхезија
КД103. 150 кДа, 25 кДа. ХМЛ-1, интегринска алфаЕ верига; алфа-верига тип 1 гликопептид.	Внатреепителни лимфоцити (во ткивата како што се цревата, бронхиите, воспалителните кожни, градите и плунковните жлезди), голем број ламина проприа Т-клетки, одредени лимфоцити во периферната крв и периферните лимфоидни органи	Се врзува за Е-кадерин и интегрин-бета7; улога во ткивно специфичното задржување на лимфоцитите на базолатералната површина на тенкоцревните епителни клетки; можен помошен молекул за активација на внатреепителните лимфоцити

КД противген. ММ. Синоними и особини	Прикажување во бели клетки	Функција
КД104. 220 кДа. Бета4 интегринска верига, тумор специфичен протеин 180 противген (ТСП-1180) кај глувците; бета-верига тип 1 гликопептид.	КД4^{+}, КД8^{+} тимоцити; неврални, епителни и одредени ендотелни клетки; Шванови клетки, трофобласти	Интегрин кој се поврзува со КД49ф, се врзува за ламининот и плектинот, исто така, внатреклеточно стапува во меѓудејство со кератинските влакна; вклучен во клетка-клетка и клетка-матрикс меѓудејствата, атхезија и миграција; значајна улога во атхезијата на епителот за базалната мембрана
КД105. 90 кДа. Ендоглин; ТГФ бета тип 3 рецептор, дисулфидно поврзани хомодимеричен тип 1 гликопротеин.	Ендотелните клетки од малите и големите садови; активираните моноцити и ткивните макрофаги; стромалните клетки во одредени ткива, вклучувајќи ја и коскената срцевина; пред-Б-клетките од феталната срцевина; еритроидните претходноци во феталната и возрасната коксена срцевина; синициотрофобластот при бременоста и повремено цитотрофобластот во првото тримесечие	Модулатор на клеточни реакции со ТГФ-бета1
КД106. 100-110 кДа. ИНКАМ-110, васкуларно-клеточен атхезивен молекул-1 (ВКАМ-1); едноверижен тип 1 гликопротеин со повеќе изоформи.	Ендотелните клетки, фоликуларните и интер-фоликуларните стеблести клетки, одредени макрофаги, стромални клетки од коскената срцевина, неваскуларните клеточни популации во зглобовите, бубрезите, мускулот, срцето, плацентата и мозокот; може да се поттикне на ендотелот и на други клеточни типови како одговор на воспалителните цитокини	Атхезивен молекул која претставува лиганд за МДП-4; вклучен во леукоцитната атхезија, трансмиграција и костимулација на Т-клеточното размножување; придонесува за екстравазацијата на лимфоцитите, моноцитите, базофилите и еозинофилите, но не и неутрофилите од крвните садови
КД107а. 100-120 кДа. Лизозом-поврзан мембрански протеин 1 (ЛПМП-1); едноверижен тип 1 гликопротеин.	Активирани тромбоцити, ендотелни клетки, тонзиларен епител, гранулоцити, Т-клетки, макрофаги, стеблести клетки, лизозомална мембрана, дегранулирани тромбоцити, ФХА-активирани Т-клетки, ТНФ-алфа активиран ендотел, ФМЛП- активирани неутрофили	Поврзан со засилен метастатски потенцијал на туморските клетки
КД107б. 100-120 кДа. Лизозом-поврзан мембрански протеин 2 (ЛПМП-2); едноверижен тип 1 гликопротеин, ткивно специфични изоформи.	Гранулоцити, лизозомалната мембрана, активирани и дегранулирани тромбоцити, ТНФ-алфа- активиран ендотел, ФМЛП-активирани неутрофили, тонзиларниот епител	Заштита, одржување и атхезија на лизозомите; поврзан со засилен метастатски потенцијал на туморските клетки
КД108. 80 кДа. Порано познат како КДв108. John-Milton-Hagen (ЈМН) човечки крвно-групен противген; ГПИ-фиксиран гликопротеин.	Црвени клетки, циркулирачки лимфоцити, лимфобласти	Може да игра улога во моноцитната активација и во регулацијата на имуните клетки
КД109. 175 кДа. 8А3, Е123 (7Д1); ГПИ-фиксиран гликопротеин.	Активирани Т-клетки, активирани тромбоцити, човеч;ки ендотелни клетки од папочната вена	Непозната
КД110. 85-92 кДа. Миелопролиферативен леукемија вирусен онкоген (МПЛ), тромбопоетински рецептор (ТПО-Р), Х-МПЛ; цитокински рецептор суперфамилија, едноверижен тип 1 гликопротеин.	Хематопоетски матични и родителски клетки, мегакариоцитни родителски клетки, мегакариоцити, тромбоцити	Се врзува за тромбопоетинот; главен регулатор на мегакариоцитите и создавањето тромбоцити
КД111. 75 кДа. Херпесвирус Иг-овиден рецептор (ХИгР), полиовирус рецептор-поврзан 1 (ПРП1), полиовирус рецептор-поврзан 1 (ПВРЛ1), нектин 1, ХевЦ; тип 1 гликопротеин; член на нектинската фамилија.	Прикажана на повеќе клеточни типови внатреклеточно и на структурите во вид на меурче	Ca^{2+}-независна имуноглобуловидна (Иг) клетка - клеточен атхезивен молекул; значајна вклученост во создавањето на голем број клетка-клетка врски и клетка-клетка контакти
КД112. 72 кДа (долга изоформа), 64 кДа (кратка изоформа). Херпесвирус влезен протеин (ХВВП), полиовирус рецептор-поврзан 2 (ПРП2), полиовирус рецептор-поврзан 2 (ПВРЛ2), нектин 2; тип 1 гликопротеин, член на нектинската фамилија.	Повеќе ткива и клеточни лози	Нејасна хематопоетска функција; вклучен во влезната активност на херпесвирусот и може да функционира како корецептор за ХСВ-1, ХСВ-2 и псевдорабиес
КДв113. полиовирусен рецептор-поврзан 3 (ПРП3), полиовирусен рецептор-поврзан 3 (ПВРЛ3), нектин 3; трансмембрански протеин.	Епителни клетки, тестиси, црн дроб и плацента	Стапува во меѓудејство со КД111 (нектин-1) и КД112 (нектин-2); нејасна функција, веројатно вклучен во атхезијата
КД114. 150 кДа. КСФ3Р, ХГ-КСФР, гранулоцитен колони-стимулирачки фактор рецептор (Г-КСФР).	Сите фази на гранулоцитната диференцијација, моноцитите, зрелите тромбоцити, неколку нехематопоетски клеточни типови/ткива, каде спаѓаат ендотелните клетки, плацентата, трофобластните клетки	Специфичен регулатор на миелоидното размножување и диференцијација

(продолжува)

КД противген. ММ. Синоними и особини	Прикажување во бели клетки	Функција
КД115. 150 кДа. C-fms, колони-стимулирачки фактор 1Р (КСФ-1Р), макрофаген колони-стимулирачки фактор рецептор (М-КСФР).	Моноцити, макрофаги	Макрофаген колони-стимулирачки фактор (М-КСФ) рецептор
КД116. 80 кДа. ГМ-КСФ рецептор алфа-верига; член на цитокински рецептор суперфамилијата, алфа-верига тип 1 гликопротеин.	Разни миелоидни клетки, каде спаѓаат макрофагите, неутрофилите, еозинофи-лите; стеблестите клетки и нивните претход-ници; фибробластите, ендотелните клетки	Примарно врзувачка поединица на ГМ-КСФ рецепторот
КД117. 145 кДа. c-KIT, матични клетки фактор рецептор (МКФР); едноверижен тип 1 гликопротеин.	Хематопоетските матични клетки и родителските клетки, мастоцитите, коскеносрцевинските стромални клетки	Матични клетки фактор-рецептор, тирозин-киназна активност; ранодеј-ствувачки хематопоетски фактор на раст рецептор, потребно за развој на хемато-поетските родителски клетки; способен за поттикнување на размножување на масто-цитите и претставува преживувачки фактор за примордијалните зародишни клетки
КД118. 190 кДа. ЛИФ рецептор, гп190; трансмембрански протеин кој припаѓа на тип 1 цитокинска рецепторска суперфа-милијата, формира хетеродимер со гп130.	Епителните клетки кај возрасните и ембрионите, моноцитите, фибробластите, ембрионските матични клетки, црн дроб, плацента	Рецептор со висок афинитет (во комплекс со гп130) за леукемичниот инхибиторен фактор (ЛИФ); клеточна диференцијација, сигнално пренесување и размножување
КД119. 90-100 кДа. ИНФ-гамаР, ИНФ-гамаРа; класа 2 цитокински рецептор, тип 1 гликопептид.	Моноцити, макрофаги, Т и Б-клетки, КПУ, неутрофили, фибробласти, епителни клетки, ендотелот, широк опсег на туморски клетки	Интерферонски рецептор; улога во одбраната на домаќинот и започнувањето и ефекторните фази на имуните реакции, вклучувајќи ја макрофагната активација, Т и Б-клеточна диференцијација, активација на КПУ, нагорна регулација на прикажувањето на ГТК класа 1 и класа 2 противгените
КД120а. 50-60 кДа. ТНФР1, п55; член на ТНФ рецепторска суперфамилијата, едноверижен тип 1 гликопротеин.	Првенствено на хематопоетските и нехематопоетските клетки; највисоко на епителните клетки	ТНФ и лимфотоксин-алфа рецептор; посредува при сигнализирањето вклучено во провоспалителните клеточни реакции, програмираната клеточна смрт и противвирусната активност
КД120б. 75-85 кДа. ТНФР2, п75; член на ТНФ рецепторска суперфамилија, едноверижен тип 1 гликопротеин.	Првенствено на хематопоетските и нехематопоетските клетки; највисоко на епителните клетки	ТНФ и лимфотоксин-алфа рецептор; посредува при сигнализирањето вклучено во провоспалителните клеточни реакции, програмираната клеточна смрт и противвирусната активност
КД121а. 80 кДа. ИЛ-1Р, ИЛ-1Р тип 1, тип 1 ИЛ-1Р; тип 1 гликопротеин.	Т-клетки, тимоцити, хондроцити, синовијални клетки, хепатоцити, ендотелни клетки, кератиноцити; ниски нивоа на фибробластите, лимфоцитите, моноцитите, макрофагите, гранулоцитите, и стеблестите, епителните и нервните клетки	Тип 1 интерлеукин-1 рецептор; посредува тимоцитна и Т-клеточна активација, размножување на фибробластите, ги поттикнува протеините на акутна фаза и воспалителните реакции
КДв121б. 60-70 кДа. ИЛ-1Р тип 2, тип 2 ИЛ-1Р; едноверижен тип 1 гликопротеин.	Б-клетките, макрофагите, моноцитите, неутрофилите	Тип 1 интерлеукински рецептор, како рецептор-мамка без вистинска функција
КД122. 70-75 кДа. Интерлеукин-2 рецептор бета-верига (ИЛ-2Рбета); цитокинска рецепторска суперфамилија, тип 1 гликопептид.	Активираните Т-клетки, Б-клетките, КПУ, моноцитите, макрофагите, подгрупа на мирувачки Т-клетки	Важна компонента на ИЛ-2 и ИЛ-15 посредуваното сигнализирање, улога во Т-клеточно посредуваниот имун одговор; поттикнува размножување и активација на Т-клетките, тимоцитите, макрофагите, Б-клетките и КПУ
КД123. 70 кДа. ИЛ-3 рецептор алфа поединица (ИЛ-3Ралфа).	Коскено срцевински матични клетки, гранулоцити, моноцити, мегакариоцити	ИЛ-3 рецепторска верига
КД124. 140 кДа. ИЛ-4Р, ИЛ-13Р (алфа-верига); цитокински рецептор суперфамилија, алфа тип 1 гликопептид.	Зрелите Б и Т-клетки, хематопоетските претходници, фибробластите, епителните и ендотелните клетки, хематопоетските и нехематопоетските клетки	Рецепторска поединица за ИЛ-4 и ИЛ-13
КДв125. 60 кДа. ИЛ-5Ралфа; цитокинска рецепторска суперфамилија, алфа тип 1 гликопептид; исто така постои во растворлива форма	Еозинофилите, активираните Б-клетки, базофилите, мастоцитите	Ниско афинитетен рецептор за ИЛ-5; алфа-верига на ИЛ-5 рецепторот; излачената форма се противи на ИЛ-5-поттикнатата еозинофилна активација и размножување
КД126. 80 кДа. Интерлеукин-6 рецептор (ИЛ-6Р); се поврзува со КД130, цитокинска рецепторска суперфамилија, алфа тип 1 гликопептид, исто така постои во растворлива форма	Т-клетките, моноцитите, активираните Б-клетки, хепатоцитите, некои други нехематопоетски клетки	Рецептор за ИЛ-6; растворливата форма е способна за врзување со гп130 на клетките и поттикнување на ИЛ-6-поттикнати реакции

КД противген. ММ. Синоними и особини	Прикажување во бели клетки	Функција
КД127. 65-75 кДа. ИЛ-7 рецептор (ИЛ-7Р), ИЛ-7 рецептор алфа (ИЛ-7Ралфа) п90; цитокински рецептор суперфамилија, алфа тип 1 гликопептид.	Б-клеточни претходници, зрели мирувачки Т-клетки, тимоцити	Специфичен рецептор за интерлеукин-7; може да го регулира преуредувањето на имуноглобулинскиот ген
КДв128б. 58-67 кДа. ЦХЦР2, интерлеукин-8 рецептор Б (ИЛ-8РБ) КД181; Г-поврзани протеин рецептор 1 фамилија.	Видете КД181	Видете КД181
КД129. 60-65 кДа. КД129 (алфа-верига), ИЛ9Р; алфа-верига тип 1 гликопептид.	Активирани Т-клеточни линии, Т и Б-клетки, и еритроидните и миелоидните претходници	Рецептор за IL-9, го поддржува растот на активираните Т-клетки, создавањето на еритроидните и миелодните претходници
КД130. 130-140 кДа. ИЛ-6Рбета, ИЛ-11Р, гп130; цитокинска рецепторска суперфамилија, едноверижен тип 1 гликопротеин.	Т-клетките, моноцитите, ендотелните клетки; високи нивоа на активираните и ЕБВ-трансфомираните Б-клетки, плазма клетките и миеломите. Пониски нивоа во повеќето бели клетки, епителните клетки, фибробластите, хепатоцитите, невралните клетки	Врзувањето со КД126/ИЛ-6Р комплексот го стабилизира и резултира со создавање на високоафинитетен рецептор; потребен за сигнално пренесување со ИЛ-6, ИЛ-11, леукемија инхибиторниот фактор, цилијарниот невротропен фактор, онкостатин М, кардиотрофин-1
КД131. 120-140 кДа. ГМ-КСФР, ИЛ-3Р, ИЛ-5Р (бета верига); општа бета поединица, цитокинска рецепторска суперфамилија, бета-верига тип 1 гликопептид.	Фибробластите и ендотелните клетки; повеќето миелоидни клетки, каде спаѓаат раните родителски клетки и раните Б-клетки	Рецепторска поединица потребна за сигналното пренесување од ИЛ-3, ГМ-КСФ и ИЛ-5 рецепторите
КД132. 64,65-70 кДа. Општ цитокински рецептор гама-верига, општа гама-верига, член на цитокинска рецепторска суперфамилија, гама-верига тип 1 гликопептид.	Т-клетките, Б-клетките, КПУ, моноцитите/макрофагите, неутрофилите	Поединица на ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-7, ИЛ-9 и ИЛ-15 рецепторите
КД133. 115-125 кДа. АС133, хематопоетски матично-клеточен противген, проминин сличен 1 (ПРОМС1), проминин; пентапремостувачки 5-трансмембрански домен гликопротеин.	Хематопоетските матични клетки, ендотелните и епителните клетки	Маркер на матичните клетки со непозната функција
КД134. 47-51 кДа. ОХ40; ТНФ рецепторска суперфамилија, едноверижен тип 1 гликопротеин.	Активираните и регулаторните Т-клетки	Врзувањето за ОХ40-лигандот доведува до поттикнување на Б-клеточно размножување, активација, создавање на Иг; овозможува потребна костимулација за Т-клеточното размножување, активација, атхезија, диференцијација, апоптоза
КД135. 155-160 кДа. FMS-слична тирозин киназа 3 (фст3), Flk-2 кај глувци, STK-1; тирозин киназа рецептор, тип 3, едноверижен тип 1 гликопротеин.	Повеќепотентните, миеломоноцитни и примитивни Б-клеточни родителски клетки	Рецептор на факторот за раст на раните хематопоетски родителски клетки, тирозин киназа
КДв136. 150, 40 кДа. Макрофаген-стимулирачки протеински рецептор (мсп рецептор), ron (п158-ron); тирозин киназна рецепторскаа фамилија, едноверижен тип 1 хетеродимерен гликопротеин.	Макрофаги; епителните ткива, каде спаѓаат кожата, бубрезите, белите дробови, црниот дроб, тенкото црево, дебелото црево	Поттикнува миграција, морфолошка промена, поттикнување на цитокини, фагоцитоза, размножување и апоптоза на разни целни клетки. Може да игра улога во воспалението, заздравувањето на раните, механизмите за активација на инвазивен раст и движење на епителните тумори
КДв137. 39 кДа. 4-1ББ, поттикнат од лимфоцитната активација (ПЛА), ТНФ рецепторска суперфамилија, едноверижен тип 1 гликопротеин.	Т-клетки, Б-клетки, моноцити, епителни и хепатомни клетки	Костимулатор на Т-клеточното размножување преку поврзување со 4-1ББЛ
КД138. 92 кДа (незрели Б-клетки), 85 кДа (плазма клетки). Хепарин сулфат протеогликан, синдекан-1; тип 1 гликопротеин.	Пред-Б-клетки, незрели Б-клетки и плазма клетки но не и зрелите циркулирачки Б-лимфоцити; базолатерални површини на епителните клетки, ембрионските мезенхимални клетки, васкуларните мазно мускулни клетки, ендотелот, невралните клетки, клетките од ракот на дојката	Се врзува за голем број вонклеточни матриксни протеини и посредува при клеточната атхезија и раст
КД139. 205-230 кДа. Б-031.	Б-клетки, моноцити, гранулоцити, фоликуларни стеблести клетки, црвени клетки	Непозната

(продолжува)

КД противген. ММ. Синоними и особини	Прикажување во бели клетки	Функција
КД140а. 180 кДа. ТИФР рецептор (ТИФР-Р), ТИФРР, алфа тромбоцити-изведен фактор на раст рецептор (ТИФРРалфа); тирозин киназен рецептор, тип 3 фамилија.	Мезенхимални клетки	Рецептор за тромбоцити-изведен фактор на раст (ТИФР); вклучен во клеточното размножување, диференцијација и преживување и во сигналното пренесување поврзан со ТИФРР
КД140б. 180 кДа. бета-тромбоцити изведен фактор на раст рецептор (ТИФРРбета); тирозин киназа рецептор, тип 3 фамилија.	Ендотелни клетки, подгрупи на стромални клетки, на мезенхималните клетки	Рецептор за тромбоцити-изведен фактор на раст (ТИФР); вклучен во клеточното размножување, диференцијација и преживување и во сигналното пренесување поврзан со ТИФРР
КД141. 105 кДа. Фетомодулин, тромбомодулин (ТМ); Ц-тип лектин, едноверижен тип 1 гликопротеин.	Ендотелните клетки, мегакариоцитите, тромбоцитите, моноцитите, неутрофилите	Неопходна молекула за активација на протеинот Ц и поттикнување на протеин Ц противсосирувачката патека
КД142. 45-47 кДа. Сосирувачки фактор 3, тромбопластин, ткивен фактор (ТФ); серинска протеаза кофактор, едноверижен тип 1 гликопротеин.	Високи нивоа на епидермалните кератиноцити, гломеруларните епителни клетки и разни други епителни клетки. Се поттикнуваат на моноцитите и васкуларните ендотелни клетки преку разни други воспалителни посредници	Поттикнува групирање и ширење на сосирувачката протеазна каскада, функционира во нормалната хомеостаза и претставува дел на клеточниот имун одговор; може да игра улога во туморското метастазирање, ракот на дојката, хиперплазија и ангиогенеза
КД143. 170, 180, 90, 110 кДа. ЕЦ 3.4.15.1, ангиотензин-конвертирачки ензим (АКЕ), киназа 2, пептидил дипептидаза А; тип 1 гликопротеин.	Ендотелни клетки, активирани макрофаги, слабо на подгрупите на Т-клетки, одредени подгрупи на стеблести клетки	Ензим кој е значаен во регулацијата на крвниот притисок; дејствува првично како пептидил дипептид хидролаза и е вклучен во метаболизмот на два главни вазоактивни пептиди, ангиотензин 2 и брадикинин
КД144. 130 кДа. Кадхерин-5 ВЕ-кадхерин; тип 1 гликопротеин.	Ендотелот, подгрупи на матични клетки	Контрола на ендотелната меѓуклеточна атхезија, пропустливост и миграција
КДв145. 25 кДа, 90 кДа, 110 кДа.	Високо на ендотелните клетки	Непозната
КД146. 130 кДа.А32, МСАМ, MUC18, mel-CAM, S-endo; тип 1 гликопротеин.	Фоликуларни стеблести клетки, ендотел, меланома, мазен мускул, среден трофобласт, ендотел, подпопулација на активирани Т-клетки	Потенцијален атхезивен молекул
КД147. 55-65 кДа. 5А11, басигин, СЕ9, НТ7, М6, неуротелин, ОХ-47, надворешноклеточен матрикс металопротеиназа индусер (НММПРИН), гп42 кај глувците; тип 1 гликопротеин.	Сите бели клетки, црвени крвни клетки, тромбоцити, ендотелни клетки	Потенцијален клеточно-атхезивен молекул и е вклучен во регулацијата на Т-клеточната функција
КД148. 240-260, 200-250 кДа. HPTP-eta, висококлеточна густина - засилен РТР 1 (ГЗП-1), п260; едноверижен тип 1 гликопротеин кој припаѓа на протеин тирозин фосфатазната (ПТФ) фамилија.	Гранулоцити, моноцити, слабо на мирувачките Т-клетки и нагорно регулирана последователна активација, високи нивоа на памтечките Т-клетки, стеблести клетки, тромбоцити, фибробласти, нервни клетки, Купферови клетки	Ги регулира сигнализирачките патеки на голем број клеточни процеси, вклучувајќи ги клеточниот раст, диференцијација, митотичниот циклус и онкогената трансформација, контактна инхибиција на клеточниот раст
КД150. 75-95, 70 кДа. Порано познат како КДв150, IPO-3, сигнална лимфоцитна активирачка молекула (СЛАМ); едноверижен тип 1 гликопротеин.	Тимоцити, подпопулација на Т-клетки, Б-клетки, стеблести клетки, ендотелни клетки	Костимулација на Б-клетките и стеблестите клетки, Т-клеточна активација; придонесува за засилувањето на имуностимулаторните функции на стеблестите клетки
КД151. 27 кДа. PETA-3, SFA-1. Тетрапремостувачка фамилија, едноверижен тип 3-, 4- премостувачки гликопротеин.	Тромбоцити, мегакариоцити, незрели хематопоетски клетки, ендотелни клетки	Атхезивен молекул, може да го регулира интегринското движење и/или функција, ја засилува клеточната подвижност, инвазија и метастаза на канцерските клетки
КД152. ~33 кДа. Цитотоксичен Т лимфоцит-асоциран протеин-4 (ЦТЛА-4) дисулфидно поврзан хомодимеричен тип 1 гликопротеин.	Активираните Т-клетки, можеби дел од активираните Б-клетки	Негативен регулатор на Т-клеточната активација
КД153. 40 кДа. КД30 лиганд, КД30Л; ТНФ суперфамилија; едноверижен тип 2 гликопротеин.	Активираните Т-клетки, активираните макрофаги, неутрофилите, Б-клетките	Лиганд за КД30; ги костимулира Т-клетките
КД154. 33 кДа. КД40 лиганд (КД40Л), Т-БАМ, ТНФ-сроден активациски протеин (ТСАП), гп39; ТНФ суперфамилија, хомодимеричен тип 2 гликопротеин.	Активираните $КД4^{+}$Т-клетки, мала подгрупа на $КД8^{+}$ Т-клетки и гама-делта Т-клетки; исто така активирани базофили, тромбоцити, моноцити, мастоцити	Лиганд за КД40, поттикнувач на Б-клеточното размножување и активација, менувањето на класите на противтела и создавањето на зародишните центри. Костимулаторна молекула и регулатор на создавањето и функцијата на Тпо1; улога во негативната селекција и периферната толеранција

КД противген. ММ. Синоними и особини	Прикажување во бели клетки	Функција
КД155. 80-90 кДа. Полио вирус рецептор (ПВР)	Моноцитите, макрофагите, тимоците, ЦНС невроните	Вообичаената функција не е позната, рецептор за полиовирусот
КД156а. 69 кДа. АДАМ8, МС2 хуман; едноверижен тип 1 гликопротеин.	Неутрофили, моноцити	Вклучен во воспалението, клеточната атхезија; може да игра улога во мускулната диференцијација, пренесувањето на сигналот; можна вклученост во екстравазацијата на белите клетки
КД156б. 100-120 кДа, дисинтегрин и металопротеиназен домен 17 (АДАМ17), ТНФ-алфа конвертирачки ензим (ТАКЕ), змиски отров - слична протеаза (цЗОП); обработена и необработена форма, тип 1 гликопротеин.	Т-клетки, неутрофили, ендотелни клетки, моноцити, стеблести клетки, макрофаги, полиморфонуклеарните бели клетки, миоцити	Првична протеаза која ги разложува трансмембранските форми на ТНФ-алфа и ТГФ-алфа за да создаде растворливи форми
КД157. 42-45, 50 кДа. БП-3/ИФ-7, БСТ-1, Мо5; едноверижен ГПИ-фиксиран протеин.	Гранулоцити, моноцити, макрофаги, одредени Б-клеточни родителски клетки, одредени Т-клеточни родителски клетки	Поддршка за раст на лимфоцитните родителски клетки
КД158а. 58, 50 кДа. КИР2ДЛ1, ЕБ6, ГТК класа 1-специфични рецептори, п50.1, п58.1; член на клетки-убијци имуноглобулиновидната рецепторска (КИР) фамилија, тип 1 гликопротеин.	Повеќето КПУ, одредени Т-клеточни подгрупи	Супресија на КПУ и ЦТЛ-посредуваната цитолитична активност по меѓудејството со соодветниот ХЛА-Ц алел
КД158б. 58, 50 кДа. ГЛ183, ГТК класа 1-специфични рецептори, п50.2, п58.2; член на клетки-убијци имуноглобулиновидната рецепторска (КИР) фамилија, тип 1 гликопротеин.	Повеќето КПУ, одредени Т-клеточни подгрупи	Супресија на КПУ и ЦТЛ-посредуваната цитолитична активност по меѓудејството со соодветниот ХЛА-Ц алел
КД159а. 43 кДа. НКГ2, клетки-убијци лектин-слична рецепторска подфамилија Ц, член 1 (КЛРЦ1); тип 2 гликопротеин и член на НКГ2 фамилијата, дисулфидно-поврзани хетеродимери ковалентно врзани со КД94.	КПУ, КД8$^+$ гама-делта клетки, на одредени Т-клеточни подгрупи клонови и лози	Моќен негативен регулатор на КПУ и програмите за Т-лимфоцитна активација; вклучен во активацијата и инхибицијата на КПУ-клеточната цитотоксичност и ослободувањето цитокини
КД160. 27 кДа. BY55 противген, КПУ1, КПУ28; прикажан како дисулфидно-поврзан мултимер на клеточната површина, тип 2 ГПИ-фиксиран гликопротеин.	КПУ од периферната крв и КД8$^+$Т-клетки, ИЕЛс	Се врзува за ХЛА-Ц, обезбедува костимулаторни сигнали кај КД8$^+$ Т лимфоцитите
КД161. ч40 кДа. НКР-П1А, клетки-убијци лектин-слична рецепторска подфамилија Б, член 1 (КЛРБ1); Ц-тип лектин, дисулфидно-поврзан хомодимеричен тип 2 гликопротеин.	Повеќето КПУ, подгрупа на КД4$^+$ и КД8$^+$Т-клетки, тимоцитите	Може да игра улога во КПУ-посредуваната цитотоксичност, поттикнување на размножувањето на незрелите тимоцити
КД162. 100-120 кДа. ПСГЛ-1; дисулфидно-поврзан хомодимеричен муцин-сличен тип 1 гликопротеин.	Повеќето Т-клетки од периферната крв, моноцитите, гранулоцитите, Б-клетките	Главен КД62П лиганд на неутрофилите и Т лимфоцитите, посредува при атхезијата и бело клеточното тркалање и врзување за ендотелните клетки
КД162Р. 140 кДа. Пост-преведувачка мофикација на ПСГЛ-1 (ПЕН5), ПСГЛ-1, селектин П лиганд (СЕПЛГ); поли-Н-лактозам јагленохидрат.	КПУ	Создава уникатно поврзувачко место за Л-селектинот; може да биде уникатен развојно-специфичен КПУ-клеточен маркер
КД163. 130 кДа. ГХИ/61, М130; едноверижен тип 1 гликопротеин.	Моноцитите, макрофагите, миелоидните клетки; ниско ниво на лимфоцитите, стромалните клетки од коскената срцевина, подгрупа на еритроидните родителски клетки	Вклучен во хематопоетското меѓудејство родителска клетка-стромална клетка и ендоцитозата
КД164. 80-100 кДа. МУЦ-24, мултигликолизиран јадрен протеин 24 (МГЈ-24в); тип 1 гликопротеин.	Лимфоцитите, епителните клетки, моноцитите, гранулоцитите	Повеќето постојат внатреклеточно; ја олеснува атхезија на КД34$^+$ и игра улога во регулацијата на размножувањето на хематопоетските клетки
КД165. 42 кДа. АД2, гп37; мембрански гликопротеин.	Периферните лимфоцити, незрелите тимоцити, моноцитите, повеќето тромбоцити; ниско ниво на тимоцитите и тимусните епителни клетки	Атхезивни меѓудејства, каде спаѓа и атхезија помеѓу тимоцитите и тимусните епителни клетки; создавање на тромбоцити
КД166. 100-105 кДа. БЕН, ДМ-ГРАСП, КГ-ЦАМ, неуролин, СЦ-1, активирана леукоцитно-клеточно атхезивен молекул (АЛКАМ); едноверижен тип 1 гликопротеин.	Активираните Т-клетки, активираните моноцити, епителот, невроните, фибробластите, кортикалните и медуларните тимусни епителни клетки	Атхезивен молекул кој се врзува за КД6. Вклучен во протегањето на невритите од невроните со помош на хетерофилни и хомофилни меѓудејства; може да игра улога во Т-клеточниот развој

(продолжува)

КД противген. ММ. Синоними и особини	**Прикажување во бели клетки**	**Функција**
КД167а. 129 кДа. Алфа поединица 54 кДа, бета поединица 63 кДа. ДДР1 (дисковиден домен фамилијарен член 1), рецептор тирозин киназа.	Главно здравите и трансфомираните епителни клетки, стеблестите клетки	Атхезивен молекул и колагенски рецептор
КД168. 80, 84, 80 кДа. РХАПП (рецептор за хијалурон-посредувана подвижност); хијалурон (ХА)-врзувачка рецепторска фамилија.	Тимоцитите, миеломоноцитната лоза и стеблестите клетки; нагорно регулирана на актвираните лимфоцити	Прикажан на хијалурон-врзувачкиот рецептор кој учествува во хијалурон-зависната подвижност на тимоцитите, лимфоцитите, хематопоетски родителски клетки и малигните Б-клетки; атхезија на раните тимоцитни родителски клетки за матриксот
КД169. 220 кДа. СИГЛЕЦ-1 (сијалична киселина врзувачки Иг-сличен лектин-1); сијалоадхезин, едноверижен тип 1 гликопротеин, растворливата форма резултира од наизменичното сечење.	Макрофагите, стеблестите клетки	Посредува клетка-клетка меѓудејства преку врзување за сијализираните лиганди на неутрофилите, моноцитите, КПУ, Б-клетките, подгрупа на КД8$^+$Т-клетките; може да функционира како облик на сопствен-несопствен препознавачки рецептор и посредува негативни сигнали
КД170. 140 кДа. СИГЛЕЦ-1 (сијалична киселина врзувачки Иг-сличен лектин-1); сијалоадхезин, едноверижен тип 1 гликопротеин.	Стеблестите клетки, макрофагите, неутрофилите	Може да функционира како облик на сопствен-несопствен препознавачки рецептор и посредува негативни сигнали
КД171. 220-230 кДа. Л1 клеточно-атхезивен молекул; едноверижен тип 1 гликопротеин.	Ниско до средно прикажување на човечките лимфоидни и миеломоноцитни клетки, каде спаѓаат КД4$^+$Т-клетките, подгрупа на Б-клетки, моноцитите, моноцити-изведени стеблести клетки, голем број клетки од централниот и периферниот нервен систем	Клеточно-атхезивен молекул кој игра улога во одржувањето на архитектурата на лимфниот јазол при имуниот одговор; бубрежна морфогенеза
КД172а. 110 кДа. Сигнален регулаторен протеин (СИРП алфа-1); едноверижен тип 1 гликопротеин.	КД34$^+$ матични/родителски клетки, макрофагите, моноцитите, гранулоцитите, стеблестите клетки; исто така во ЦНС ткивото	Негативна регулација на рецепторот тирозин киназа-споени сигнални процеси; може да игра улога во одговорот на факторите на раст и клеточната атхезија
КД173. Н2, крвно-групен О противген	Меѓу хематопоетските клетки, присутен на црвените клетки и КД34$^+$ хематопоетските претходници	Гликопротеин-носечки олигосахарид; непозната функција
КД174. Lewis Y крвно-групен противген.	Меѓу хематопоетските клетки, присутен на црвените клетки и КД34$^+$ хематопоетските претходници	Нов хематопоетски-родителски клеточен маркер; гликопротеин-носечки олигосахарид; непозната функција, но се поврзува со апоптозата; може да се вклучи во удомувањето на хематопоетските матични клетки
КД175. Tn; јагленохидрат, тумор-специфичен противген.	Голем број леукемични клетки, епителни клетки, хематопоетски коскеносрцевински клетки, миелоидната лоза	Непозната
КД175с. Сијаличен-Tn; јагленохидрат, тумор-специфичен противген.	Ендотелни и епителни клетки и еритробласти	Се покажало дека се врзува за КД22, Siglec-3, -5 и -6; непозната функција
КД176. Thomson-Friedrenreich (ТФ) противген: ткивно-крвен групно поврзан јагленохидратен противген.	Ендотелни клетки и црвени клетки, разни видови на карциноми; КД34$^+$ хематопоетски родителски клетки од коскената срцевина и на разни хематопоетски клеточни линии	Може да е вклучен во туморските метастази како што се туморите на црниот дроб и позитивните леукемични клетки
КД177. 58-64 кДа. НБ1, хуман неутрофилен противген-2А (ХНП-2а); едноверижен ГПИ-фиксиран плазма мембрански гликопротеин.	Површините и вторичните гранули на неутрофилите; базофилите, КПУ, подгрупи на Т-клетките, моноцитите и ендотелните клетки	Улогата во неутрофилната функција не е позната
КД178. Мономер од клеточната површина од 40 кДа; растворливи форми 26-30 кДа. Фас лиганд, ФасЛ; ТНФ суперфамилија; хомотримеричен тип 2 гликопротеин.	Вродено или поттикнато прикажување на повеќе клеточни типови, каде спаѓаат Т-клетките, КПУ, микроглијалните клетки, неутрофилите, нехематопоетските клетки како што се паренхимните клетки од мрежницата и рожницата	Лиганд за апоптоза-поттикнувачки рецептор КД95 (Фас/АПО-1); клучен ефектор на цитотоксичноста и е вклучен во Фас/ФасЛ меѓудејството, апоптозата и регулацијата на имуните одговори; предложено е дека пренесува костимулаторен сигнал за КД8$^+$ и неискусни КД4$^+$Т клеточна активација
КД179а. 16-18 кДа. ВпреБ; полипептид.	Селективно се прикажуваат на про-Б и раните пре-Б-клетки	Се поврзува со КД179б за да формира сурогат лесна верига на пре-Б клеточниот рецептор; вклучен во раната Б-клеточна диференцијација

КД противген. ММ. Синоними и особини	Прикажување во бели клетки	Функција
КД179б. 22 кДа. Ламда5; полипептид.	Селективно прикажан на про-Б и раните пре-Б-клетки	Се поврзува со КД179а за да формира сурогат лесна верига на пре-Б клеточниот рецептор; вклучен во раната Б-клеточна диференцијација
КД180. 95-105 кДа. РП105, Лу64; леуцин-богата повторувачка фамилија (ЛБПФ), тип 1 гликопротеин.	Моноцитите, стеблестите клетки, Б-клетките од граничната зона	Поттикнува активација која води до нагорна регулација на костимулаторните молекули, КД80 и КД86 и зголемување на големината на клетките. Поттикнува Б-клеточна чувствителност на БКР-поттикната клеточна смрт, но не до КД95- поттикна апоптоза и може да игра улога во пренесувањето на сигналот кој поттикнува раст.
КД181. 58-67 кДа. Порано познат како КДв128а, ИЛ-8Р1, ИЛ-8РА (интерлеукин-8 рецептор А), ЦХЦР1 (хемокин Ц-Х-Ц мотив рецептор 1); Г-протеин-споен рецептор (ГПСР), тип 3-, 7- премостувачки гликопротеин.	Неутрофилите, базофилите, еозинофилите, подгрупа на Т-клетки, моноцитите, КПУ и ендотелните клетки, кератиноцитите, меланома клетките	Поединица на ИЛ-8 рецепторот; вклучен во неоангиогенезата
КД182. 58-67 кДа. Порано познат како КД128б, ЦХЦР2, интерлеукин-8 рецептор Б (ИЛ-8РБ); Г-протеин-споен рецептор (ГПСР), тип 3-, 7- премостувачки гликопротеин.	Гранулоцитите, неутрофилите, базофилите, еозинофилите, подгрупа на Т-клетки, моноцитите, КПУ и ендотелните клетки, кератиноцитите, меланома клетките	Поттикнува хемотакса на неутрофилите, базофилите и Т лимфоцитите; активира неутрофили и базофили и ја зголемува атхезијата на неутрофилите и моноцитите за ендотелните клетки
КД183. 40.6 кДа. ЦХЦР3, ИП10Р, Миг-Р; 7-трансмембранска-премостувачка протеин суперфамилија (ТМ7СФ), тип 3-, 7-премостувачки гликопротеин.	Соодветно поттикнати Т-клетки, мали подгрупи на Б-клетки и КПУ, еозинофилите и некои стеблести клетки	Сигнализирањето ја поттикнува и регулира хемотактичната миграција на КД183-носечките бели клетки во воспаление-поврзани ефекторни Т-клетки; исто така, може да игра улога во Тпо1 клеточната активација и создавањето на ИФН-гама. Се верува дека е неопходен за регрутирањето на Т-клетките во воспалителните области
КД184. ~40 кДа. ЦХЦР4, фузин, ЛЕСТЕР (бели клетки-изведени седум трансмембрански домен рецептор); трансмембранско-премостувачки протеин суперфамилија (ТМ7СФ), тип 3-, 7-премостувачки гликопротеин.	Голем број крвни и ткивни клетки, каде спаѓаат и Б и Т-клетките, моноцитите/макрофагите, стеблестите клетки, гранулоцитите, мегакариоцитите/тромбоцитите, лимфоидните и миелоидните родителски клетки, ендотелните и епителните клетки, астроцитите и невроните	Корецептор за ХИВ; посредува крвно-клеточна миграција како одговор на СДФ-1 и е вклучен во Б-лимфо- и миелопоезата, кардиогенезата, создавањето на крвните садови и церебеларниот развој; костимулација на пре-Б клеточното размножување; поттикнување на апоптоза
КД185. 45 кДа. ЦХЦР5, БЛР1; Г-протеин-споен рецептор.	Зрелите Б-клетки, клетките од Буркитовиот лимфом	Хемокински рецептор; можна регулаторна функција во лимфомагенезата, Б-клеточната диференцијација, активацијата на зрели Б-клетки
КДв186. 40 кДа. ЦХЦР6; Г-протеин-споен рецептор.	Подгрупи на Б, КПУ и Т-клетки (Тпо1)	Хемокински рецептор, корецептор за СИВ, видови на ХИВ-2 и м-тропичниот ХИВ-1
КД191. 39 кДа. ЦЦР1, МИП-1алфаР, РАНТЕС-Р; Г-протеин-споен рецептор.	Т-клетки, моноцити, подгрупи на матични клетки	Ц-Ц хемокински рецептори; вклучени во сигналното пренесување преку зголемување на внатреклеточното калциумско ниво
КД192. 40 кДа. ЦЦР2, МЦП-1Р; Г-протеин-споен рецептор.	Активираните КПУ и еднојадрените фагоцити, Т-клетките, Б-клетките и ендотелните клетки	Хемокински рецептор; се врзува за МЦП-1, -3, -4 и функционира како алтернативен рецептор за ХИВ-1 инфекцијата во комбинација со КД4
КД193. 45 кДа. ЦЦР3, ЦКР3; Г-протеин-споен рецептор.	Езинофилите; слабо на подгрупа на Т-клетки, неутрофилите и моноцитите	Хемокински рецептор; се врзува за повеќе хемокини и функционира како алтернативен рецептор за ХИВ-1 инфекциите во комбинација со КД4
КД195. 45 кДа. ЦЦР5; 7-трансмембрански домени Г-протеин-споен рецептор.	КД4$^+$ и КД8$^+$ тимоцитите, Лангерхансовите клетки, стеблестите клетки од периферната крв, хематопоетските родителски клетки и микроглијалните клетки, Т лимфоцитите и макрофагите во лимфоидните и нелимфоидните ткива	Корецептор за ХИВ; ги регулира вродените и стекнатите имуни одговори, активација на хемотаксата и трансендотелна миграција при воспалението и ја неутрализира ХИВ инфекцијата
КД197. 45 кДа. ЦЦР7.	Повеќето неискусни Т-клетки и подгрупа на памтечки Т-клетки; Б-клетки, зрели стеблести клетки, КПУ, КД4 или КД8 едно-позитивните зрели тимоцити, КД34$^+$макрофагните родителски клетки	Важна улога кај неискусните Т-клетки и противген-полните стеблести клетки кои се утврдуваат во секундарните органи; вклученост во Т-лимфоцитната атхезија и тимоцитната миграција

(продолжува)

КД противген. ММ. Синоними и особини	Прикажување во бели клетки	Функција
КДв198. 43 кДа. ЦЦР8; Г-протеин-споен рецептор.	Подгрупи на памтечки Т-клетки, тимоцити, ИЕЛ, меланома клетките, ламина проприја монојадрените клетки	Хемокински рецептор кој е вклучен во алергиското воспаление; алтернативен корецептор за ХИВ-1 во комбинација со КД4
КДв198. ЦЦР9; Г-протеин-споен рецептор.	Подгрупи на Т-клетки, развој специфични	Хемокински рецептор; алтернативен корецептор за ХИВ-1 во комбинација со КД4
КД200. 45-50 кДа. Оц2; едноверижен тип 1 гликопротеин.	Стеблести клетки, тимоцити, Б-клетки, васкуларен ендотел, трофобластите, невроните и некои мазни мускули во активираните Т-клетки	Може да игра имунорегулаторна улога
КД201. 50 кДа. ЕПЦ-Р.	Ендотелна подгрупа	Сигнализирање на активираниот протеин Ц
КД202б. 145 кДа. ТЕК, ТИЕ2.	Ендотелни и хематопоетски матични клетки	Важна улога во целината на садовите при зреењето, одржувањето и ре-моделирањето
КД203ц. 130, 150 кДа. Е-НППЗ Б10, ПДНПЗ, ЕНППЗ, говедски тенкоцревна фосфодиестераза; екто-нуклеотид пирофосфатаза/фосфодиестераза (Е-НПФ) ензимска фамилија; тип 2 гликопротеин.	Базофили, мастоцити, утерино ткиво	Може да биде вклучен во отстранувањето на вон-клеточните нуклеотиди
КД204. 220 кДа. макрофаги-чистач рецептор (МЧР); тримеричен интегрално мембрански гликопротеин.	Алвеоларни макрофаги, Купферови клетки на црниот дроб, макрофаги од црвенета пулпа на слезината, синусоидни макрофаги во лимфните јазли, меѓупросторни макрофаги	Улога во патолошкото таложење на холестерол при атерогенезата преку рецептор-посредуваното ресорбирање на со ниска густина ЛДЛ; препознавање и отстранување на патогените микроорганизми; ендоцитоза на макромолекули
КД205. 205 кДа. ДЕЦ-205.	Стеблестите клетки, тимусните епителни клетки	Непозната функција
КД206. 162 кДа. ММР (макрофаген маноза рецептор), МРЦ1 (манозен рецептор, Ц тип лектин); обрасци препознавачки рецептори, едноверижен тип 1 гликопротеин.	Подгрупа на еднојадрени фагоцити (но не циркулирачките моноцити), незрелите стеблести клетки, хепатичните и лимфните ендотелни клетки	Образец препознавачки рецептор вклучен во имуните реакции на макрофагите и незрелите стеблести клетки. Ги олеснува ендоцитозата и фагоцитозата; може да биде значаен за хомеостазата
КД207. 40 кДа. Лангерин; Ц-тип лектин, тип 2 гликопротеин.	Подгрупа на стеблести клетки, Лангерхансови клетки	Ендоцитен рецептор со функционален Ц-тип лектински домен со манозна специфичност која ги олеснува препознавањето и внесувањето на противгенот
КД208. 70-90 кДа, ДЦ-ЛПМП; лизозом-поврзан мембрански протеин (ЛПМП) фамилијарен член.	Стеблести клетки	Непозната функција, но може да учествува во пептидното полнење на ГТК класа 2 молекулите
КД209. 45.7 кДа. СКСМГН (стеблести клетки-специфичен МКАМ3-грабнувачки нонинтегрин), ХИВ ГП120-врзувачки протеин; Ц-тип на лектин.	Стеблести клетки	Се врзува за ХИВ; улога во стеблести клетки-посредуваната атхезија за ендотелните клетки и противген ендоцитоза и разградување
КДв210. 90-110 кДа. ИЛ-10Ралфа и бета; член на класа 2 цитокинската рецепторска фамилија; едноверижен тип 1 на гликопротеин.	Главно на хематопоетските клетки, каде спаѓаат Т и Б-клетките, КПУ, моноцитите и макрофагите	Клеточно сигнализирање и имуна регулација; ја попречува цитокинската синтеза преку активираните Т-клетки и КПУ, моноцитите и макрофагите. Ја блокира помошно-клеточната функција на макрофагите
КД212. 110, 85 кДа. ИЛ-12Рбета; хематопоетин рецепторска фамилија; едноверижен тип 1 на гликопротеин.	Активираните КД4^{+} и КД8^{+} Т-клетки, ИЛ-2-активираните КД56^{+} КПУ, гама-делта Т-клетки, бели клетки од периферна крва (БКПК), лимфоцитите од папочната врвца, подгрупа на моноцитите	Тирозин киназен мембрански рецептор за ангиопоетин; вклучен во клеточното сигнализирање и имуната регулација; плеотропен ефект на КПУ и Т-клетките и влијае врз создавањето на ИФН-гама
КД213а1. 65 кДа. ИЛ13РА1 (интерлеукин 13 рецептор алфа 1) НР4 (кај глувците); хематопоетин рецепторска фамилија; едноверижен тип 1 на гликопротеин.	Повеќето човечки ткива, хематопоетски и нехематопоетски	Неопходна компонента за ИЛ-13 и ИЛ-4-поттикнатото сигнално пренесување кај тип 2 ИЛ-4Р системот, но не и регулатор на Т клеточните функции
КД213а2. 60-70 кДа. ИЛ13РА2 (интерлеукин 13 рецептор алфа 2) НР4 (кај глувците); хематопоетин рецепторска фамилија; едноверижен тип 1 на гликопротеин.	Б клектите, моноцитите, БКПК од папочната врвца, фибробластите, незрели сетеблести клетки.	Го попречува врзувањето на ИЛ-13 за ИЛ-13 клеточно површинскиот рецептор

КД противген. ММ. Синоними и особини	Прикажување во бели клетки	Функција
КДв217. 120 кДа. ИЛ-17Р; хематопоетска рецепторска фамилија, едноверижен тип 1 гликопротеин.	Б, Т, КПУ, крвта од папочната врвца, БКПК, тимоцитите; фибробластите, епителните клетки, моноцитите, макрофагите, гранулоцитите	Непозната
КДв218а. 70 кДа.ИЛ-18Ралфа, ИЛ-1Ррп; ИЛ-1 рецепторска фамилија.	Т-клетките, КПУ, стеблестите клетки	Се врзува за ИЛ-18 и поттикнува активација на НФ-кБ
КДв218б. 70 кДа. ИЛ-18Ралфа; ИЛ-18РАП; ИЛ-1 рецепторска фамилија.	Т-клетките, КПУ, стеблестите клетки	Хетеродимеричен рецептор кој го засилува врзувањето на ИЛ-18
КД220. 140, 70 кДа. Инсулин-Р.	Прикажување кај голем број клетки	Инсулин сигнализирање
КД221. 140, 70 кДа. ИГФ-1Р.	Прикажување кај голем број клетки	Се врзува за ИГФ со висок афинитет; вклучен во сигнализирањето, клеточното размножување и диференцијација
КД222. 280-300 кДа. Ман-6ф рецептор (маноза-6 фосфат рецептор), ИФР2Р (инсулиновиден фактор на раст 2 рецептор).	Фибробластите, гранулоцитите, лимфоцитите, миоцитите	Ги подредува ново-синтетизираните лизозомални ензими кои носат М6П во лизозомите
КД223. 70 кДа. Лаг-3 (лимфоцити-активирачки ген 3); едноверижен тип 1 гликопротеин.	Сите подгрупи на активираните Т и КПУ	Може да поттикне надолна регулација на ТКР сигнализирањето, води во клеточна деактивација, улога во надолната регулација на противген-специфичниот одговор; може да помага при активацијата на КД4^{+} и КД8^{+} Т-клетките за целосно да ги активираат моноцитите и стеблестите клетки за оптимизирање на ГТК од класа 1 и класа 2-посредуваните Т-клеточни реакции
КД224. 100 кДа. ГГТ (гама глутамил транспептидаза).	Васкуларниот ендотел, макрофагите од периферната крв, подгрупа на Б-клетки; лимфоцити, моноцити, гранулоцити, ендотелните и матичните клетки	Клеточна детоксификација, биосинтеза на леукотриените, инхибиција на апоптозата
КД225. 17 кДа. Леу13, интерферон-поттикнат протеин 17 (ИНП17).	Бели клетки, ендотелни клетки, кај повеќето лози	Вклучен во лимфоцитната активација и развој; може да игра улога во контролирањето на меѓудејствата клетка-со-клетка
КД226. 65 кДа. ДНАМ-1, ТТА-1 (тромбоцитен и Т-клеточен активациски противген 1).	КПУ, тромбоцити, моноцити, подгрупа на Т-клетки	Непозната
КД227. МУЦ1 (муцин 1), еписијалин; многу голем гликолизиран протеин со мала 25 кДа поединица и поголеми поединици од 300-700 кДа, тип 1 трансмембрански протеин.	Епителни клетки, фоликуларни стеблести клетки, моноцити, подгрупа на лимфоцити, Б и матични клетки, некои миеломи; одредени хематопоетски клеточни линии	Непозната
КД228. 80-95 кДа. Меланотрансферин.	Матични клетки, меланома клетки	Клеточна атхезија
КД229. 100-120 кДа. Т-лимфоцитен површински противген, Ли-9 (лимфоцитен противген 9); КД2-подгрупа на имуноглобулинска суперфамилија, едноверижен тип 1 гликопротеин.	Првенствено во лимфните јазли, слезината, тимусот, белите клетки од периферната крв	Вклучен во активацијата на лимфоцитите
КД230. 30-40 кДа. Прион протеин, п27-30; ГПИ-фиксиран гликопротеин.	Широко прикажан на повеќето клеточни типови со највисоко ниво на невроните и фоликуларните стеблести клетки; хематопоетски и нехематопоетски клетки	Може да ја инхибира апоптозата
КД231. 28-45 кДа. Т-клеточна акутна лимфобластна леукемија-поврзан противген (ТАЛЛП-1), А15, МЦС1, ТМ4СФ2, ЦЦГ-Б7; тетрапремостувачки подфамилија 1 член, тип 3-, 4-премостувачки гликопротеин.	Во голем степен прикажан на Т-клеточните акутни лимфобластни леукемични клетки (Т-АЛЛ), невробластомните клетки, неврони на здрав мозок, ендотелни клетки	Може да игра улога во регулацијата на клеточниот развој, активацијата, растот и подвижноста
КД232. 200 кДа. Вирусно-кодиран семафоринski рецептор (ВКСФР), Плексин Ц1 (ПЛЦНЦ1); плексинска фамилија (плексин Ц1) на молекули.	Б-клетки и КПУ, моноцитите, гранулоцитите	Непозната функција, иако веројатно игра улога во имуната модулација; учествува во биолошката активност кај моноцитите, одредени класи на стеблести клетки, неутрофилите, Б лимфоцитите

(продолжува)

КД противген. ММ. Синоними и особини	**Прикажување во бели клетки**	**Функција**
КД233. 95-110 кДа. Група 3, diego крвна група; типично димер.	Црвени клетки и базолатералната мембрана на одредени клетки на дисталните и собирните тубули на бубрезите	Одржува морфологија на црвените крвни клетки
КД234. 35-45 кДа. FY-гликопротеин (DARC), Duffy крвна група; хемокин рецептор, тип 3-, 7- премостувачки киселински Fy гликопротеин.	Црвени клетки, епителните клетки на собирните дуктуси на бубрезите, белодробните алвеоли и тироидеата, на невроните (Пуркиниевите клетки) на малиот мозок	Хемокински рецептор-мамка; се врзува за одреден број хемокини, го модулира интензитетот на воспалителните реакции
КД235а, -б, -аб. 35 кДа (а), 20 кДа (б). Гликофорин А, гликофорин Б.	Црвени клетки	Непозната
КД236. 23 кДа, 32 кДа. Гликофорин Ц/Д.	Голем број на клетки и ткива од еритроидно и нееритроидно потекло	Непозната
КД236Р. 32 кДа. Гликофорин Ц/Д.	Голем број на клетки и ткива од еритроидно и нееритроидно потекло	Непозната
КД238. 93 кДа. Kell.	Црвени клетки и подгрупа на матични клетки	Непозната
КД239. 78-85 кДа. B-CAM.	Црвени клетки и подгрупа на матични клетки	Непозната
КД240ЦЕ. 30-32 кДа. Рх30ЦЕ.	Црвени клетки	Непозната
КД240Д. 30-32 кДа. Рх30Д; тип 1-,2-трансмембранска суперфамилија.	Црвени клетки	Непозната
КД241. 50 кДа. РхПг, Рх50; тип 1-,2-трансмембранска суперфамилија.	Црвени клетки	Формира комплекс со КД47, LW, гликофорин Б; непозната функција
КД242. 42 кДа. МКАМ-4; имуноглобулинска суперфамилија.	Црвени клетки	Клеточна атхезија
КД243. 170 кДа. Повеќе лекови - отпорен протеин 1 (ПЛО-1), П-гп П-гликопротеин (П-гп), АБЦ-Б1, П170; едноверижен тип 3-, 12- премостувачки гликопротеин.	Матични и родителски клетки	Влијае на ресорпцијата, ткивната распределба и отстранувањето на П-гп-транспортираните лекови и токсини; транспортер во крвно-мозочната бариера
КД243. 170 кДа. Повеќе лекови - отпорен протеин 1 (ПЛО-1), П-гп П-гликопротеин (П-гп), АБЦ-Б1, П170; едноверижен тип 3-, 12- премостувачки гликопротеин.	Матични и родителски клетки	Влијае на ресорпцијата, ткивната распределба и отстранувањето на П-гп-транспортираните лекови и токсини; транспортер во крвно-мозочната бариера
КД244. 63-70 кДа. 2Б4, КАПЛ (КПУ активација-поттикнувачки лиганд); тип 2 трансмембрански (тип 2 ТМ), едноверижен тип 1 гликопротеин.	КПУ, гама-делта Т-клетки, 50% од КД8$^+$Т-клетките, моноцити, базофили	Активирачки рецептор на КПУ и го регулира КПУ цитокинското создавање, цитолитичната функција и екстравазација; вклучен во меѓудејствата на КПУ и Т-клетките; може да биде значаен за развојот на функционалните КД4$^+$Т-клетки и можно е да служи за зголемување на клетка-клетка атхезијата
КД245. 220-240 кДа. П220/240.	Сите мирувачки лимфоцити од периферната крв	Сигнално пренесување и костимуалција на Т-клетките и КПУ
КД246. 80 кДа, 200 кДа. Анапластична лимфома киназа (АЛК); едноверижен тип 1 гликопротеин.	Подгрупа на Т-клеточни лимфоми	Рецептор тирозин киназа со непозната функција
КД247. 16 кДа. Зета-верига на КД3.	КПУ при тимопоезата и зрелите Т-клетки на периферијата	Т-клеточна активација
КД248. 175 кДа. ТЕМ1, ендосијалин; Ц-тип на лектин.	Ендотелните ткива, стромалните фибробласти	Туморска прогресија и ангиогенеза
КД249. 160 кДа. Аминопептидаза А; пептидаза М1 фамилија.	Епителните и ендотелните клетки	Систем ренин-ангиотензин; непозната имунолошка функција
КД252. 34 кДа. ОЦ-40Л, гп 34; ТНФ суперфамилија.	Активираните Б-клетки, срцевите миоцити	Т-клеточна костимулација
КД253. ММ непозната. ТРАИЛ, Апо-2Л, ТЛ2, ТНФСФ10; ТНФ суперфамилија.	Активираните Т-клетки; во голем степен прикажани на ткивата	Клеточна смрт

КД противген. ММ. Синоними и особини	Прикажување во бели клетки	Функција
КД254. 35 кДа. TRANCE, RANKL, OPGL; ТНФ суперфамилија.	Стромата на коскената срцевина, активираните Т-клетки, лимфниот јазол	Се врзува за ОПГ и РАНК, диференцијација на остеокласти, ги стимулираат стеблестите клетки да стимулираат размножување на неискусните Т-клетки
КД256. 16 кДа. APRIL, TALL-2; ТНФ суперфамилија.	Моноцитите и макрофагите	Се врзува за ТАЦИ и БЦМА. Вклучен е во размножувањето на Б-клетките
КД257. ММ непозната. BLys, BAFF, TALL-1; ТНФ суперфамилија.	Активирани моноцити; постои како растворлива форма	Б-клеточен фактор за раст; костимулација на Иг создавањето
КД258. 28 кДа. LIGHT, HVEM-L; ТНФ суперфамилија.	Активирани Т-клетки, незрели стеблести клетки	Се врзува за ЛТбетаР, вклучен во размножувањето на Т-клетките. Претставува рецептор за ХВЕМ
КД261. 57 кДа. TRAIL-R1, ДР4; ТНФ рецепторска суперфамилија.	Активираните Т-клетки, бели клетки од периферната крв	ФАДД и каспаза 8-посредувана апотпоза
КД262. 60 кДа. TRAIL-R2, ДР5; ТНФ рецепторска суперфамилија.	Се прикажуваат во голем степен; бели клетки од периферната крв	Исто како за КД261
КД263. 65 кДа. TRAIL-R3, DcR1, LIT; ТНФ рецепторска суперфамилија.	Бели клетки од периферната крв	Рецептор за ТРАИЛ, но со недостаток на смртен домен
КД264. 35 кДа. TRAIL-R4, TRUNDO, DcR2; ТНФ рецепторска суперфамилија.	Бели клетки од периферната крв	Рецептор за ТРАИЛ со осакатен смртен домен
КД265. 97 кДа. RANK, TRANCE-R, ODFR; ТНФ рецепторска суперфамилија.	Пространо прикажување	Се врзува за ТРАНЦЕ; вклучен во остеогенезата, меѓудејства на Т клетката со стеблестата клетка
КД266. 14 кДа. TWEAK-R, FGF-поттикнувачки 14; ТНФ рецепторска суперфамилија.	Подгрупа на ендотелни клетки, плацентата, бубрезите, срцето	Клетка матрикс меѓудејства, ендотелен раст и миграција; рецептор за TWEAK
КД267. ММ непозната. TACI, ТНФР, SF13B.	Б-клетките, активираните Т-клетки	Се врзува за BAFF и APRIL
КД268. 25 кДа. BAFFR, TR13C; ТНФ рецепторска суперфамилија.	Б-клетки	Се врзува за BLyS; вклучен во опстанокот на Б-клетките
КД269. 20 кДа. BCMA, ТНФРСФ13Б; ТНФ рецепторска суперфамилија.	Зрелите Б-клетки	Рецептор за APRIL и BAFF; вклучен во Б-клеточниот опстанок и размножување
КД271. 45 кДа. NGFR, п75 (NTR); ТНФ рецепторска суперфамилија.	Невроните, мезенхималните клетки од коскената срцевина	Рецептор за NGF, NT-3, NT-4; туморски супресор, клеточен опстанок и клеточна смрт
КД272. 33 кДа. BTLA; гликопротеин.	Тпо1 клетки и активираните Б и Т-клетки	Инхибиторен рецептор на Т-лимфоцитите сличен на ЦТЛА-4 (КД152) и PD-1 (КД279)
КД273. 25 кДа. B7DC, PDL2, програмирана клеточна смрт 1 лиганд 2; гликопротеин.	Стеблестите клетки, макрофагите, моноцитите, активираните Т-клетки	Вторичен лиганд за PD-1 (КД279); ова меѓудејство, како и меѓудејството PD-L1/PD-1, го инхибира ТКР-посредуваното размножување и создавање на цитокини
КД274. 40 кДа. B7H1, PDL1, програмирана клеточна смрт 1 лиганд 1.	Макрофагите, епителните и стеблестите клетки, КПУ, активираните Т-клетки и моноцитите	Наводен лиганд за PD-1 (КД279); се покажало дека го инхибира ТКР-посредуваното размножување и секрецијата на цитокини; вклучен во костимулацијата и инхибицијата на лимфоцитите
КД275. 40 кДа, 60 кДа. B7H2, ICOSL; поттикнувачки Т-клеточен костимулаторен лиганд (ICOSL).	Макрофагите, стеблестите клетки, слабите Т и Б-клетки, активираните моноцитити	Костимулација на Т-клетките; се тврди дека поттикнува размножување и создавање на цитокини
КД276. 40-45 кДа, 110 кДа. B7H3; Б7 хомолог 3.	Епителните клетки, активираните моноцити и Т-клетките, подгрупи на стеблести клетки	Стимулира Т-клеточна активација и размножување и создавање на ИФН-гама
КД277. 56 кДа. БТ3.1; Б7 фамилија; бутирофилин, подфамилија 3, член А1.	Б-клетките, Т-клетките, КПУ, стеблестите клетки, моноцитите, ендотелните клетки, подгрупи на матични клетки	Може да игра улога во регулирањето на имуниот одговор; дејствува како регулатор на Т-клеточната активација и функција
КД278. 47-57 кДа. ICOS; поттикнувачки Т-клеточен костимулатор.	Тпо2 клетки, подгрупи на тимоцити, активираните Т-клетки	Игра важна улога во костимулирањето на Т-клеточната активација, развој, размножување и создавање на цитокини

(продолжува)

КД противген. ММ. Синоними и особини	**Прикажување во бели клетки**	**Функција**
КД279. 55 кДа. Програмирана клеточна смрт 1 (PD1 или PDC1), hPD-1, SLEB2; едноверижен тип 1 гликопротеин.	Подгрупа на тимоцитите, активираните Т и Б-клетки	Инхибира ТКР-посредувано размножување и создавање на цитокини
КД280. 180 кДа. ENDO180, uPARAP, манозен рецептор, Ц тип 2, TEM22.	Стеблестите клетки, кератиноцитите, макрофагите, моноцитите, неутрофилите; ниско ниво на моноцитите	Непозната
КД281. 90 кДа. ТР1 (Толовиден рецептор 1).	Гранулоцитите, моноцитите, макрофагите, стеблестите клетки, кератиноцитите,	Препознава патогено-поврзан молекулски модел со специфичност за грам-позитивни бактерии; се поврзува со и го регулира ТР2 одговорот
КД282. 87 кДа. ТР2 (Толовиден рецептор 2).	Подгрупи на стеблестите клетки, ниски нивоа на фибробластите, епителните клетки	Стапува во меѓудејство со микробните липопротеини и пептидогликани, КД14-зависен и -независен одговор на ЛПС, патека НФ-кБ
КД283. 101 кДа. ТР3 (Толовиден рецептор 3).	Подпопулација на стеблести клетки, ниски нивоа на фибробласти, епителни клетки	Стапува во меѓудејство со двРНК; ја активира НФ-кБ патеката; поттикнува создавање на тип 1 интерфероните; MyD88-зависен и -независен одговор на поли (И:Ц)
КД284. 85, 110, 130 кДа. ТР4 (Толовиден рецептор 4).	Макрофагите и ендотелните клетки; слабо на моноцитите, незрелите дендритични клетки и неутрофилите	Стапува во меѓудејство со микробните липопротеини; КД14-зависен одговор на ЛПС, НФ-кБ патеката
КД285. ТР5 (Толовиден рецептор 5).	Бели клетки	Стапува во меѓудејство со микробните липопротеини, НФ-кБ и реакции на *Салмонела*
КД286. ТР6 (Толовиден рецептор 6).	Бели клетки	Стапува во меѓудејство со микробните липопротеини; го регулира ТР2 одговорот
КД287. ТР7 (Толовиден рецептор 7).	Макрофагите, подгрупа на стеблести клетки	Стапува во меѓудејство со микробните нуклеински киселини; го поттикнува ИЛ-12
КД288. ТР8 (Толовиден рецептор 8).	Макрофагите, подгрупа на стеблести клетки	Стапува во меѓудејство со микробните нуклеински киселини; го поттикнува ИЛ-12
КД289. 113 кДа. ТР9 (Толовиден рецептор 9).	Подгрупа на стеблести клетки, Б-клетки, моноцити	Рецептор за CpG бактериската ДНК; слабо сличен на ТР3, може да посредува при меѓудејството протеин-протеин
КД292. 57 кДа. BMPRR1A, ALK3; тип 1 гликопротеин.	Коскени родителски клетки	BMP2 и -4 рецептор, развој на коските; непозната имунолошка функција
КДв293. 57 кДа. BMPRR1B, ALK6; тип 1 гликопротеин.	Коскени родителски клетки	BMP рецептор, развој на коските; непозната имунолошка функција
КД294. 55-70 кДа. ЦРТХ2, ГПР44; Г-протеин-споен рецептор.	Тпо2 клетки, гранулоцити	Се врзува за PGD2; овозможува костимулаторни сигнали за Тпо2 клетките; вклучен во алергичното воспаление
КД295. 132 кДа. ЛептинР, ЛЕПР; тип 1 цитокински рецептор.	Пространо прикажување	Адипоцитен метаболизам
КД296. 37 кДа. ART1, RT6, ART2; АДФ-рибозилтрансфераза.	Периферни Т-клетки, подгрупа на КПУ, срце и скелетен мускул	Ги модифицира интегрините при диференцијацијата; АДП рибозилација на целните протеини
КД297. 38 кДа. ART4, dombrock крвна група; АДФ-рибозилтрансфераза.	Црвени клетки, активирани моноцити	АДП рибозилација на целните протеини
КД298. 52 кДа. Na^+/K^+ АТФ-аза бета-3 поединица.	Пространо прикажување	Транспорт на јоните
КД299. 45 кДа. DC-SIGN-сродни, LSIGN, DC-SIGN2.	Ендотелна подгрупа	Се врзува за МКАМ-3. ХИВ-1 gp120; корецептор со DC-SIGN за ХИВ-1
КД300а. 60 кДа. CMRF35H, IRC1, Irp60.	Моноцитите, неутрофилите, Т- и Б-клеточни подгрупи, миелома клетките	Непозната
КД300ц. MCMRF35A, LIR.	Моноцитите, неутрофилите, Т- и Б-клеточни подгрупи	Непозната

КД противген. ММ. Синоними и особини	Прикажување во бели клетки	Функција
КД300е. CMRG36L.	Непознато	Непозната
КД301. 38 кДа. MGL, HML; Ц-тип лектинска суперфамилија.	Незрели стеблести клетки	Се врзува за Тн противгенот; консумирање на гликолизирани противгени
КД302. 19-28 кДа. DCL1, BIMLEC; тип 1 трансмембрански Ц-тип лектински рецептор.	Одредени миелоидни и Хочкинови клеточни линии	Фузиски протеин кај Хоџкиновиот лимфом со ДЕЦ-205; непозната функција
КД303. 38 кДа. BDCA2, HECL; Ц-тип лектинска суперфамилија.	Плазмацитоидните стеблести клетки	Го инхибира создавањето на ИФН-алфа
КД304. 130 кДа. BDCA4, неурофилин 1; семафоринска фамилија.	Неврони, подгрупа на Т-клетки, стеблести клетки, ендотелни клетки, туморски клетки	Корецептор со плексин, стапува во меѓудејство со ВЕГФ165 и семафорините; аксонско водење, ангиогенеза, клеточен опстанок, миграција
КД305. 31 кДа, 40 кДа. Бели клетки поврзан Иг-овиден рецептор 1(ЛПИР), п40; тип 1 гликопротеин.	Прикажување на Б-клетките поврзано со фазата на зреење; КПУ и Т-клетки, стеблестите клетки кои потекнуваат од моноцитите, тимоцитите, тимусните претходници	Инхибиторен рецептор за клеточната функција на КПУ, Т и Б-клетките; инхибира клеточна активација и воспаление
КД306. ЛПИР2.	Непознато	Растворлива форма; вклучен во мукозната толеранција
КД307. 55-105 кДа. IRTA2; Фк рецепторска имуноглобулинска суперфамилија.	Подгрупа на Б-клетки, Б-клеточни лимфоми	Б-клеточен развој
КД309. 230 кДа. VEGFR2, KDR; тип 3 трансмембранска тирозин киназа.	Ендотелните клетки, ангиогенични претходници, хемангиобласт	Се врзува за ВЕГФ; ги регулира клеточната атхезија и сигнализирање
КД312. 90 кДа. EMR2.	Моноцити, макрофаги, миелоидни стеблести клетки, слабо на гранулоцитите	Клеточна атхезија и миграција; вклучен во фагоцитозата
КД314. NKG2D, клетка-убиец лектиновиден рецептор подфамилија К, член 1; тип 2 трансмембрански протеин со вонклеточен Ц-тип лектиновиден домен.	Првично на КПУ; исто така на активираните макрофаги и алфа-бета КД4^{+}Т-клетките	Поттикнува КПУ-клеточна активација и цитотоксичност
КД315. 135 кДа. CD9P1, SMAP6.	Б-клеточни подгрупи, активирани моноцити, ендотелни и епителни клетки, хепатоцити, мегакариоцити	Непозната
КД316. 63-78 кДа. ИгСФ8, KASP.	Б-клетките, КПУ, Т-клетките	Вклучен во клеточната миграција
КД317. 29-33 кДа. BST2 (коскено срцевински стромално клеточен противген 2), HMI1.24.	Б и Т-клетки, моноцитите, КПУ и стеблестите клетки, фибробластите, плазма и стромалните клетки	Непозната, се верува дека е вклучен во растот на пре-Б-клетките
КД318. 135 кДа. CDCP1, SIMA135.	Подгрупа на хематопоетски матични клетки, туморски клетки	Клеточна атхезија со вонклеточниот матрикс
КД319. 37.5 кДа. CRACC, SLAM фамилија член 7; повеќе изоформи со можни различни функции.	КПУ, активираните Б-клетките, КПУ-клеточната линија, но не на промиелоцитната, Б- или Т-клеточната линија	Посредува при КПУ-клеточната активација преку САП-независната вонклеточна сигнално-регулирана ЕРК-посредувана патека; може да игра улога во лимфоцитната атхезија
КД320. 30 кДа. 8Д6А, 8Д6. ЛДЛ рецептор.	Фоликуларните стеблести клетки, зародишните центри	Б-клеточно размножување, создавање на тумори
КД321. 35 кДа. САМ1, Ф11 рецептор; имуноглибулинска суперфамилија, тип 1.	Тромбоцитите, епителните и ендотелните клетки	Атхезија, цврсти споеви
КД322. 45 кДа. Спојувачки атхезивен молекул-2 (САМ-2), ВЕ-ЈАМ.	Ендотелните клетки, Б-клетките, моноцитите, подгрупи на Т-клетките	Меѓуклеточна атхезија; централна улога во регулацијата на трансендотелијална леукоцитна миграција до вторичните органи
КД324. 120 кДа. Е-кадерин; кадеринска суперфамилија.	Епителните и матичните клетки, еритробластите, кератиноцитите, трофобластите, тромбоцитите	Од неодмна се покажало дека се врзува за инхибиторните рецептори на КД8^{+} Т и КПУ; туморска супресија и клеточен раст и диференцијација, клеточна атхезија
КДв325 140 кДа. Н-кадерин, НЦАД, кадеринска суперфамилија	Мозокот; скелетниот и срцевиот мускул	Клеточна атхезија, невронско препознавање
КД326. 35-40 кДа. Ер-САМ, Ли74.	Повеќето епителни клеточни мембрани	Непозната

(продолжува)

КД противген. ММ. Синоними и особини	**Прикажување во бели клетки**	**Функција**
КДв327. 47 кДа (предвидено). КД33Л, КД33Л1, ОББП1, сијалична киселина-врзувачки Иг-овиден лектин 6 (Сиглец6); лептин-врзувачки протеин.	Бели клетки, Б-клетки	Посредува при меѓуклеточното препознавање, се врзува за лептинот, можен регулатор на нивоата на лептинот; можно попречувачки
КДв328. 49 кДа (предвидено). АИРМ1, ЉА79, п75, п75/АИРМ1, сијалична киселина- врзувачки Иг-овиден лектин 7 (Сиглец7).	Голем број на бели клетки како додаток на Т-клетките, вклучувајќи ги КПУ, моноцитите и гранулоцитите	Клеточно-атхезивен молекул; можна инхибиторна функција при КПУ и Т-клеточната активација
КДв329. 48 кДа (предвидено). ОББП-сличен, сијалична киселина- врзувачки Иг-овиден лектин 9 (Сиглец9).	Голем број на бели клетки како додаток на Т-клетките, вклучувајќи ги КПУ, моноцитите и гранулоцитите	Клеточно-атхезивен молекул; можна инхибиторна функција при КПУ и Т-клеточната активација
КД331. 30 кДа. FGFR1, KAL2, N-SAM, Fms-слична тирозин киназа-2; трансмембранска тирозин киназа.	Фибробластите, епителните клетки	Рецептор со висок афинитет за фибробластните фактори на раст
КД332. 115-132 кДа. FGFR3, BEK, KGFR; трансмембранска тирозин киназа.	Фибробластите, епителните клетки	Рецептор со висок афинитет за фибробластните фактори на раст
КД333. 115 кДа. FGFR3, ACH, CEK2; трансмембранска тирозин киназа.	Фибробластите, епителните клетки	Рецептор со висок афинитет за фибробластните фактори на раст
КД334. 110 кДа. FGF4, JTK2, TKF; трансмембранска тирозин киназа.	Фибробластите, епителните клетки	Рецептор со висок афинитет за фибробластните фактори на раст
КД335. 34.5 кДа (предвидено). NKp46, NCR1, Ли94, природна цитотоксичност предизвикувачки рецептор 1.	КПУ	Цитотоксичност-активирачки рецептор кој може да придонесе за зголемената ефикасност со која активираните КПУ посредуваат при лизата на туморските клетки
КД336. 30.6 кДа (предвидено). NKp44, NCR2, Ли94, природна цитотоксичност предизвикувачки рецептор 2.	КПУ	Цитотоксичност-активирачки рецептор кој може да придонесе за зголемената ефикасност со која активираните КПУ посредуваат при лизата на туморските клетки
КД337. 1.8 кДа (предвидено). NKp30, NCR3, Ли117.	КПУ	Цитотоксичност-активирачки рецептор кој може да придонесе за зголемената ефикасност со која активираните КПУ посредуваат при лизата на туморските клетки
КДв338. 73 кДа. ABCDG2, BCRP, Bcrp1, MXR; Г-протеин-споен рецептор, 7-трансмембрански.	Подгрупа на матични клетки	Транспортер кој е отпорен на повеќето лекови
КД339. 135 кДа. Jagged-1, JAG1, JAGL1, hJ1.	Стромални клетки, епителни клетки, миелома клетки	Се врзува за Notch; вклучен во хематопоезата

Додаток 2: Цитокини

Претставени се податоци за главните биолошки активности и извори на голем број цитокини. Во повеќето случаи, масата е дадена (обично за човечките цитокини). Во некои случаи, даден цитокин може да има додатни биолошки активности од оние кои се наведени овде или да се создава од други извори покрај оние кои се наведени овде. Листата на цитокини ги вклучува најголемиот број цитокини кои се од имун интерес. Сепак, цитокините кои не се тесно поврзани со имуниот систем, на пример, хормонот за раст, не се наведени. Исто така, со исклучок на ИЛ-8, хемокините не се вклучени во оваа колекција.

Цитокин. ММ. Синоними	**Извори**	**Активност**
Интерлеукин-1 (ИЛ-1). ИЛ-1алфа 17.5 кДа, ИЛ-1бета 17.3 кДа. Лимфоцитен-активирачки фактор (ЛАФ); мононуклеарен клеточен фактор (МКФ); ендоген пироген (ЕП).	Голем број видови на клетки, каде спаѓаат моноцитите, макрофагите, стеблестите клетки, Т и Б-клетките, КПУ и неимуните системски клетки како што е васкуларниот епител, фибробластите и некои мазно мускулни клетки	ИЛ-1 покажува голем број биолошки активности на голем број разни клеточни типови, каде спаѓаат Т-клетките, Б-клетките и моноцитите. Рецепторите за ИЛ-1 исто така се наоѓаат на другите бели клетки, вклучувајќи ги еозинофилите и стеблестите клетки, исто како и на не-имуните системски клетки како што се фибробластите, васкуларните ендотелни клетки и одредени клетки од нервниот систем. Ин виво ефектите на ИЛ-1 вклучуваат поттикнување на грозница, акутно фазен одговор и стимулација на неутрофилно создавање.
Интерлеукин-2 (ИЛ-2). 15-20 кДа. Т-клеточен фактор за раст (ТКФР).	Т-клетки	Стимулира раст и диференцијација на Т-клетките, Б-клетките и КПУ
Интерлеукин-3 (ИЛ-3). 15.1 кДа (мономер), 30 кДа (димер). Повеќе-колонии-стимулирачки фактор (П-КСФ); хематопоетски клеточен фактор за раст (ХКФР); мастоцитен фактор на раст(МФР).	Активирани Т-клетки, мастоцити и еозинофили	Фактор на раст за хематопоетските клетки и лимфоцитите; стимулира создавање на колонии на неутрофилите, еозинофилите, базофилите, мастоцитите, еритроидните, мегакариоцитните и моноцитните клеточни линии, но не и на лимфоцитите
Интерлеукин-4 (ИЛ-4). 15-19 кДа. Б-клеточен стимулирачки фактор 1 (БСФ-1).	Мастоцити, Т-клетки и стромални клетки од коскената срцевина	Поттикнува раст и развој на Б и Т-клетките и на клетките од моноцитната лоза; исто така влијае на клетки надвор од имуниот систем, вклучувајќи ги ендотелните клетки и фибробластите
Интерлеукин-5 (ИЛ-5). 45 кДа. Еозинофилен диференцирачки фактор (ЕДФ); еозинофилен колонии-стимулирачки фактор (Е-КСФ).	Мастоцити, Т-клетки, еозинофили	Поттикнува еозинофилно создавање и диференцијација
Интерлеукин-6 (ИЛ-6). 26 кДа. Б-клеточен стимулирачки фактор 2 (БСФ-2); хибридом/плазмоцитом фактор на раст (ХПФР); хепатоцити-стимулирачки фактор (ХСФ).	Т-клетки, Б-клетки, неколку нелимфоидни клетки, каде спаѓаат макрофагите, стромалните клетки од коскената срцевина, фибробластите, ендотелните клетки и астроцитите	Ги регулира функциите на Б и Т-клетките; ин виво влијае на хематопоезата; поттикнувач на акутно фазниот одговор
Интерлеукин-7 (ИЛ-7). 20-28 кДа. Пре-Б клеточен фактор на раст; лимфопоетин-1 (ЛП-1).	Стромалните клетки од коскената срцевина, тимусните стромални клетки и клетките од слезината	Фактор на раст на Т- и Б-клеточните родителски клетки
Интерлеукин-8 (ИЛ-8). 6-8 кДа. Неутрофили привлекувачки/активирачки протеин (НАП-1); неутрофили-активирачки фактор (НАФ); гранулоцитен-хемотактички протеин (ГХЕП).	Голем број видови на клетки, каде спаѓаат моноцитите, лимфоцитите, гранулоцитите и неимуните системски клетки како што се фибробластите, ендотелните клетки, хепатоцитите и други	Хемокин кој првично функционира како хемоатрактант и активатор на неутрофилите; исто така ги привлекува и базофилите и одредени потпопулации на лимфоцити; има ангиогенска активност
Интерлеукин-9 (ИЛ-9). 32-39 кДа. П40; Т-клеточен фактор на раст 3.	ИЛ-2-активирани Т-помагачки клеточни популации	Стимулира размножување на Т-клетките и еритроидните претходници

(продолжува)

Цитокин. ММ. Синоними	Извори	Активност
Интерлеукин-10 (ИЛ-10). 35-40 кДа. Цитокин синтетизирачки инхибиторен фактор (ЦСИФ).	Активирани подгрупи на КД4⁺ и КД8⁺Т-клетки	Стимулира или засилува размножување на Б-клетките, тимоцитите и мастоцитите. Во комбинација со ТГФ-бета стимулира синтеза и лачење на ИгА од човечките Б-клетки; го антагонизира создавањето на Тпо1 подгрупата на помагачки Т-клетки
Интерлеукин-11 (ИЛ-11). 23 кДа.	Стромални клетки од коскената срцевина и ИЛ-1 стимулираните фибробласти	Фактор на раст за плазмацитомите, мегакариоцитите и макрофагните родителски клетки
Интерлеукин-12 (ИЛ-12). Хетеродимер кој содржи п35 поединица од 30-33 кДа, п40 поединица од 35-44 кДа. КПУ стимулирачки фактор (ПУСФ); цитотоксични лимфоцити созревачки фактор (ЦЛСФ).	Макрофаги и стеблести клетки	Значаен фактор за поттикнување диференцијација на Тпо1 подгрупата на помагачки Т-клетки; исто така поттикнува создавање на интерферонот гама од Т-клетките и ја засилува КПУ активноста
Интерлеукин-13 (ИЛ-13). 10 кДа.	Активираните Т-клетки, мастоцити и КПУ	Улога во Тпо2 реакциите; нагорно ја регулира синтезата на ИгЕ и ги супримира воспалителните реакции; вклучен во патологијата на астамата и некои алергиски состојби
Интерлеукин-14 (ИЛ-14). 60 кДа. Висока-молекулска тежина Б-клеточен фактор на раст (ВМТ-БКФР).	Т-клетки	Го засилува размножувањето на Б-клетките; ја инхибира синтезата на противтела
Интерлеукин-15 (ИЛ-15). 14-15 кДа.	Голем број типови на клетки, но првично стеблестите клетки и клетките од моноцитната лоза	Стимулира КПУ- и Т-клеточно размножување и развој; помага во активацијата на КПУ
Интерлеукин-16 (ИЛ-16). Хомотетрамер 60 кДа; мономер≈17 кДа. Лимфоцитен хемотактичен фактор (ЛХФ).	Т-клетките	Стимулира миграција на КД4⁺Т-клетките, КД4⁺моноцитите и еозинофилите; врзувањето на ИЛ-16 со КД4 ја инхибира ХИВ инфекцијата на КД4⁺клетките
Интерлеукин-17 (ИЛ-17). 28-31 кДа. ЦТЛА-8 (цитотоксични лимфоцити-асоциран противген 8).	Првично КД4⁺ Т-клетките	Индеректно ја оддржува хематопоеза преку стимулација на цитокинско создавање од епителните, ендотелните и фибробластните стромални клетки; го засилува прикажувањето на МКАМ-1 и на тој начин ја прави клетката поадхезивна
Интерлеукин-18 (ИЛ-18). 18.2 кДа. Интерферон гама-поттикнувачки фактор (ИГПФ).	Клетките од моноцитната лоза и стеблестите клетки	Поттикнува диференцијација на Тпо1 подгрупата на помагачки Т-клетки; поттикнува создавање на интерферонот гама од Т-клетките и ја засилува КПУ цитотоксичноста
Интерлеукин-19 (ИЛ-19). Хомотетрамер 35-40 кДа.	ЛПС-стимулираните моноцити и Б-клетките	Член на ИЛ-10 фамилијата на цитокини, поттикнува реактивни кислородни радикали и провоспалителни цитокини, кој подоцна поттикнуваат апоптоза; се покажало дека ја менува Тпо1/ Тпо2 рамнотежата преку инхибиција на ИФН-гама и засилување на создавањето на ИЛ-4 и ИЛ-13
Интерлеукин-20 (ИЛ-20). 18 кДа.	Моноцитите и кератиноцитите	Член на ИЛ-10 фамилијата на цитокини; има влијание врз епителните ткива. Како ИЛ-19, се покажало дека ја менува Тпо1/ Тпо2 рамнотежата
Интерлеукин-21 (ИЛ-21). 15 кДа.	Активирани Т-клетки	Новооткриен; ја засилува цитотоксичната активност и создавањето на ИФН-гама од активираните КПУ; засилува размножување, создавање на ИФН-гама и цитотоксичност на КД8⁺Т-клетките
Интерлеукин-22 (ИЛ-22). Хомодимер. 25 кДа. Т-клеточно-изведен поттикнувачки фактор (ТПФ).	Првично КД4⁺ Т-клетките	Член на ИЛ-10 фамилијата кој ја инхибира епидермалната диференцијација; поттикнува акутно фазни одговори, нагорно го регулира панкреатитис-асоцираниот протеин 1 (ПАП1) и остеопонтинот. Како ИЛ-19 и ИЛ-20, покажано е дека ја менува Тпо1/ Тпо2 рамнотежата

Цитокин. ММ. Синоними	**Извори**	**Активност**
Интерлеукин 23 (ИЛ-23). Хетеродимер на п40 поединицата на ИЛ-12 (35-40 кДа) и п19 (18.7 кДа).	Активираните стеблести клетки	Повеќето од биолошките активности на ИЛ-12
Интерлеукин 24 (ИЛ-24). 35 кДа. ИЛ-10Б; МДА7 (меланома диференцирачки асоциран протеин 7).	Меланоцити, КПУ, Б-клетки, подгрупи на Т-клетки, фибробласти	Поттикнува ТНФ-алфа и ИФН-гама и ниско ниво на ИЛ-1бета, ИЛ-12 и ГМ-КСФ во хуманите РВМС; поттикнува селективни против-канцерски својства кај клетките од карциномот на дојката преку поттикнување п53- независна апоптоза; член на ИЛ-10 фамилијата
Интерлеукин 25 (ИЛ-25). 18-20 кДа. ИЛ-17Е; стромално-изведен фактор за раст (СФ20).	Стромални клетки од коскената срцевина, подгрупа на Т-клетки	Нов член на ИЛ-17 фамилијата; поттикнува создавање на ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-13 и еотаксин; ин виво внесување на ИЛ-25 во белите дробови може да доведе до заболување на дишните патишта, вклучувајќи создавање на цитокините, ткивно реорганизирање, мукозна секреција и хиперреактивност на дишните патишта
Интерлеукин 26 (ИЛ-26). 36 кДа хомодимер. АК155.	Подгрупа на Т и КПУ	Новоутврден член на ИЛ-10 фамилијата; може да има слични функции како ИЛ-20
Интерлеукин 27 (ИЛ-27). Хетеродимер составен од п40 поединицата на ИЛ-12 и п28 поединицата.	Го создаваат стеблестите клетки, макрофагите, ендотелните клетки и плазма клетките	Се покажало дека поттикнува клонична експанзија на неискусните КД4$^+$Т-клетки, во синергија со ИЛ-12 поттикнува создавање на ИФН-гама од КД4$^+$Т-клетките и да поттикнува КД8$^+$ Т-клеточно посредувана противтуморска активност
Интерлеукин 28 А/Б (ИЛ-28А/Б). 19.8 кДа. Интерферон ламбда2/3 (ИФН-ламбда2/3).	Стеблестите клетки кои потекнуваат од моноцитите	Новоутврден интерферон - сличен цитокин; заедно прикажан со ИФН-бета, учествува во противвирусниот имун одговор и се покажало дека поттикнува зголемени нивоа на ГТК класа 1 и класа 2
Интерлеукин 29 (ИЛ-29). Интерферон-ламда1 (ИНФ-ламда1).	Стеблестите клетки кои потекнуваат од моноцитите	Слични функции како и ИЛ-28А/Б
Интерлеукин 30 (ИЛ-30). п28.	Противген-прикажувачки клетки	Поединица на ИЛ-27 хетеродимерот; исти функции како ИЛ-27
Интерлеукин 31 (ИЛ-31).	Главно активираните Тпо2 Т-клетки; може да се поттикне кај активираните моноцити	Може да биде вклучен во регрутирањето на полиморфонуклеарните клетки, моноцитите и Т-клетките до местото на кожно воспаление
Интерлеукин 32 (ИЛ-32). НК4.	Активирани КПУ и РВМС	Новоутврден член на ИЛ-1 фамилијата; провоспалителен цитокин, митогени својства, поттикнува ТНФ-алфа
БАФФ (хуман Б-клеточен активирачки фактор). 18 кДа. АЛЛ-1 (ТНФ и апоптоза лиганд-поврзан бели клетки-прикажан лиганд 1), БЛиС (Б лимфоцитен стимулатор).	Т-клетки, клетките од моноцитната лоза и стеблестите клетки	Член на ТНФ фамилијата, се јавува како врзан за мембраната и во растворлива форма; поддржува размножување на противген-рецептор-стимулираните Б-клетки; диференцијација и преживувачки фактор за незрелите Б-клетки
Гранулоцити колонии-стимулирачки фактор (Г-КСФ).	Стромалните клетки од коскената срцевина и макрофагите	Неопходен за раст и диференцијација на неутрофилите
Гранулоцити-макрофаги колонии-стимулирачки фактор (ГМ-КСФ). 22 кДа.	Т-клетки, макрофаги, фибробласти и ендотелни клетки	Фактор за раст на хематопоетските родителски клетки и фактор за диференцијација за гранулоцитната и моноцитната лоза
Интерферон алфа (ИФН-алфа). 16-27 кДа. Тип 1 интерферон; леукоцитен интерферон; лимфобластен интерферон.	Лимфоцити, стеблести клетки и макрофаги	Поттикнува отпор на вируси и инхибира размножување на клетките; го регулира прикажувањето на класа 1 ГТК молекулите на јадрените клетки
Интерферон бета (ИФН-бета). 20 кДа. Тип 1 интерферон; фибробластен интерферон.	Фибробласти, стеблести клетки и одредени епителни клетки	Поттикнува отпор на вирусна инфекција кај целните клетки; инхибира клеточно размножување и го регулира прикажувањето на класа 1 ГТК молекулите

(продолжува)

Цитокин. ММ. Синоними	Извори	Активност
Интерферон гама(ИФН-гама). Мономер 17.1 кДа; димер 40 кДа. Тип 2 интерферон; имун интерферон; макрофаги-активирачки фактор (МАФ); Т-клеточен интерферон.	КД4^{+} и КД8^{+} Т-клетки; КПУ	Влијае на активацијата, растот и диференцијацијата на Т-клетките, Б-клетките, макрофагите како и КПУ. Нагорно го регулира ГТК прикажувањето на противген-прикажувачките клетки; белег цитокин на Тпо1 диференцијацијата; слаби противвирусни и противразмножувачки активности
Интерферон ламбда (ИФН-ламбда) и интерферон ламбда 1. Исто како и ИЛ-28 и ИЛ-29.		
Леукемија инхибиторен фактор (ЛИФ). 45 кДа. Диференцијација инхибирачки фактор (ДИФ), диференцијација забавувачки фактор (ДЗФ).	Повеќе типови на клетки, вклучувајќи ги Т-клетките, клетките од моноцитната лоза, фибробластите, црниот дроб и срцето	Член на ИЛ-6 фамилијата; голема експериментална примена: чува култури на ЕС клетки во недиференцирана состојба за да го одржи нивното размножување. Ин виво, во комбинација со други цитокини, поттикнува хематопоеза, стимулира акутно фазен одговор на црнодробните клетки, ја заголемува коскената ресорпција, го засилува глукозниот транспорт и отпорот на инсулин, ја менува контрактилноста на дишните патишта и предизвикува губење на телесните масти
Кардиотрофин-1 (КТ-1). 21.5 кДа.	Повеќе типови на клетки, вклучувајќи ги клетките од моноцитната лоза и срцето	Член на ИЛ-6 фамилијата кој се покажало дека стимулира хепатично прикажување на акутно фазните протеини
Цилијарен неуротрофичен фактор (ЦНТФ). 24 кДа. Мембрански поврзан невротрансмитер стимулирачки фактор (МПНС).	Шванови клетки и астроцити	Член на ИЛ-6 фамилијата кој поттикнува прикажување на акутно фазните протеини во црниот дроб и се покажало дека функционира како ендоген пироген; исто така се покажало дека функционира во онтогенезата и може да поттикнува опстанок и регенерација на нервите
Макрофаген колонии-стимулирачки фактор (М-КСФ). Дисулфидно поврзан хомодимер од 35-90 кДа. Колонии-стимулирачки фактор 1 (КСФ-1).	Повеќе типови на клетки, вклучувајќи ги лимфоцитите, моноцитите, фибробластите, епителните клетки и други	Фактор за раст, диференцијација и преживување за макрофагните родителски клетки и макрофагите
Макрофаген инхибиторен фактор (МИФ). 12 кДа мономер кој е биолошки активен во повеќемеричната форма.	Мала количина од повеќе типови на клетки; главните производители се активираните Т-клетки, хепатоцитите, моноцитите, макрофагите и епителните клетки	Активира макрофаги и ја попречува нивната миграција
Онкостатин М (ОСМ). 28-32 кДа. Онко М; ONC.	Активирани Т-клетки, моноцити и адхерентни макрофаги	Голем број функции, каде спаѓаат регулација на растот и диференцијацијата на клетките при хематопоезата, неврогенезата и остеогенезата; се покажало дека го засилува превземањето на ЛДЛ и исто така ја стимулира синтезата на акутно фазните протеини во црниот дроб
Матични клетки фактор (МКФ). 36 кДа. Кит лиганд (КитЛ) или челичен фактор (ЧФ).	Стромални клетки од коскената срцевина, клетки од други органи како што се мозокот, бубрезите, белите дробови и плацентата	Улога во развојот на хематопоетските гонадални и пигментални лози; активен и во мембрана-врзаната и во секретираната форма
Тромбопоетин (Тпо). 60 кДа. Мегакариоцитен клонии-стимулирачки фактор; тромбопоеза-стимулирачки фактор (ТСФ).	Црниот дроб, бубрезите и скелетните мускули	Мегакариоцитна лоза-специфичен фактор на раст и диференцијација кој го регулира создавањето на крвните плочки
Трансформирачки фактор на раст бета (ТГФ-бета). ~25 кДа. Диференцијациски инхибирачки фактор.	Голем број јадрени клеточни типови и може да се најде во крвните плочки	Инхибира раст на бројни типови на клетки. Влијае врз ткивното ремоделирање, заздравувањето на раните, развојот и хематопоезата. Покажува супресивни ефекти врз експанзијата на одредени имуно-клеточни популации; замена-фактор за ИгА

Цитокин. ММ. Синоними	Извори	Активност
Тумор-некротичен фактор алфа (ТНФ-алфа). 52 кДа. Кахетин, ТНФ лиганд суперфамилија член 2 (ТНФСФ2).	Моноцити, макрофаги и други типови на клетки, каде спаѓаат активираните Т-клетки, КПУ, неутрофилите и фибробластите	Силен посредник на воспалителните и имуните функции. Познато е дека го регулира растот и диференцијацијата на голем број типови на клетки. Цитотоксичен за повеќе типови на трансформирани клетки; поттикнува ангиогенеза, коскена ресорпција и тромботични процеси; го супримира липогениот метаболизам
Тумор-некротичен фактор бета (ТНФ-бета). 25 кДа. Лимфотоксин (ЛТ); цитотоксин (ЦТК); Диференцијација инхибирачки фактор (ДИФ); ТНФ лиганд суперфамилија член 1.	Активирани Т-клетки, Б-клетки, фибробласти, астроцити и ендотелни и епителни клетки	Попречува раст на остеокластите и кератиноцитите, против-ангиогеничен и поттикнува фибробластно размножување. Поттикнува терминална диференцијација на моноцитите; стимулира создавање на реактивни кислородни радикали во неутрофилите, ја зголемува фагоцитозата и ја засилува атхезијата.

Речник

Абризим – моноклонски противтело кое има каталична активност.

Авидитет – силата на врската противген-противтело кога повеќе епитопи од противгенот стапуваат во меѓудејство со повеќе врзни места од противтелото. Види исто **афинитет**.

Автоимунитет – ненормален имун одговор против внатрешните противгени.

Автокрин – состојба при која клетката врз која дејствувал цитокинот претставува извор за цитокини (цитокинско дејство врз сопствената клетка).

Автологно – означува пресадени клетки, ткива или органи кои потекнуваат од истото лице.

Автопресадок (автотрансплант) – ткиво кое е пресадено од еден дел на телото во друг дел кај истото лице.

Аглутинација – таложењето или групирањето на честиците (на пр., топченца од латекс) или клетките (на пр., црвените крвни зрнца).

Аглутинациско попречување – намалувањето на групирањето на честичките, со посредство на противтело, преку додавање на растворливи форми од епитопот кој е препознаен од противтелото кое аглутинира.

Аглутинин – супстанција која е способна од посредување при групирањето на клетките или честиците. Особено, хемаглутининот предизвикува групирање на црвените крвни зрнца.

Адоптивен пренос – пренесувањето на способноста да се создава или да се учествува во имуниот одговор преку пресадување на клетките од имуниот систем,

Активен имунитет – стекнат имунитет кој е поттикнат со природно изложување на патогенот или со **вакцинирање**.

Акутна лимфоцитна леукемија (АЛЛ) – форма на канцер каде доаѓа до неконтролирано размножување на клетката од лимфоидно потекло. Клетките кои се размножуваат обично се присутни во крвта.

Акутна миелогена леукемија (АМЛ) – форма на канцер каде доаѓа до неконтролирано размножување на клетката од миелоидно потекло. Клетките кои се рамзножуваат обично се присутни во крвта.

Акутно фазен одговор (АФО) – создавањето на одредени протеини и клетки кои се појавуваат во крвта набрзо по поголем број инфекции. Тоа претставува дел од раната одбрана на домаќинот против инфекцијата и ѝ претходи на стекнатата фаза од имунот одговор (види слика 13-12).

Акутно фазен протеин – протеин од групата на серумски протеини кој ја зголемува концентрацијата при одговор на воспаление. Одредени делови од **комплементот** и **интерфероните** се протеини во акутна фаза.

Алвеоларен макрофаг – макрофаг кој се наоѓа во алвеолите од белите дробови**.**

Алел – две од многуте алтернативни форми на генот при одреден **локус** кој овозможува алтернативни особини. Присуството на повеќето алели доведува до **полиморфизам**.

Алелско исклучување – процес кој овозможува прикажување само на една алелска форма од генот. На пример, Б-клетката прикажува само еден алел за противтелото со тешка верига и еден алел за лесната верига (види слика 5-11).

Алергија – реакција на **преосетливост** која може да вклучува алергија кон поленов прав, астма, **серумска болест**, системска **анафилакса** или контактен дерматит.

Алогеничност – означува членки од истиот вид кои се разликуваат генски.

Алопресадок (алотрансплант) – ткивен пресадок помеѓу **алогенични** лица.

Алотип – група на **алогенски одредници** кои се карактеристични за дел, но не и сите членови од видовите.

Алотипска одредница – противгена одредница која се разликува помеѓу членовите од видовите. Константните подрачја од противтелата поседуваат алотипски одредници.

Алтернативна патека од комплементот – активирање на **комплементот** кој е предизвикан од составните делови на површината од надворешна клетка, како што се микробските противгени. Таа не е зависна од противтело, вклучува К3-К9, факторите Б и Д и пропердин и создава **мембрански атак комплекс** (види слика 7-7).

Алфа фето протеин (АФП) – види **онкофетален туморски противген**.

Анафилакса – брз одговор на преосетливост од тип 1, кој е поттикнат од **обеззрнување** на мастоцитите со посредство на ИгЕ. Системската анафилакса води до шок кој често е фатален. Локализираната анафилакса вклучува разни видови на **аотписки** реакции.

Анафилатоксини – продуктите К3а и К5а од распадот на **комплементот**, кои посредуваат при **обеззрнување** на мастоцитите и базофилите, што доведува до ослободување на посредници кои предизвикуваат контракција на мазниот мускул и зголемена васкуларна пропустливост.

Апоптоза – морфолошки промени кои се поврзани со програмираната клеточна смрт, каде спаѓаат фрагментацијата на јадрото, бабрење и ослободување на апоптотични тела, кои се фагоцитирани (види слика 2-3). Наспроти **некрозата**, не доведува до уништување на соседните клетки.

Атопичност – се однесува на клиничките манифестации на (со посредство на ИгЕ) преосетливоста тип 1, каде спаѓаат алергискиот ринит (алергија на поленов прав), есцема, астма и разни видови на алергии на храна.

Афинитет – силата со која лигандот стапува во меѓудејство со врзното место. Тоа квантитативно се изразува со афинитетна константа K_a.

Афинитетна константа – константа за односот на стапката од напред k_1 кон назад k_{-1} во одговор на противген со противтело. Еквивалент на *асоцијациската константа* во биолошки рамки ($K_a = k_1 / k_{-1}$).

Афинитетно зреење – зголемувањето на просечниот афинитет на противтелото за противген кој се појавува во текот на имунот одговор или при последователни изложувања на противгенот.

Базофил – нефагоцитен гранулоцит кој прикажува Фк рецептори за ИгЕ (види слика 2-9). Вкрстено поврзување, со посредство на противген, на врзан ИгЕ поттикнува **обеззрнување** на базофилите.

Бактериемија – инфекција каде живата бактерија се наоѓа во крвта.

БАЛТ (лимфоидно ткиво кое е поврзано со бронхиите) – види **МАЛТ**.

Бацилот на Калмет Жерин – види **БКЖ**.

Безопасно (бенигно) – се однесува на немалигната форма на неоплазмата или благата форма на болеста.

Бела крвна клетка (леукоцит) – бела крвна клетка. Категорија која вклучува лимфоцити, гранулоцити, крвни плочки, моноцити и макрофаги.

Бела пулпа – дел од слезината која ги опкружува артериите, која формира периартериоларна лимфоидна обвивка (ПАЛО) која главно е населена од Т-клетки (види слика 2-17).

Бенс-Џонсонов протеин – протеин кој се наоѓа во високи концентрации во урината од пациентите со многукратен миелом, обично лесната верига од Иг или фрагментот од него.

Бета2 микроглобулин – непроменлива поединица која се поврзува со полиморфната алфа верига за да формира **ГТК молекули од класа 1**, не го кодираат ГТК гените.

Библиотека за прикажување фаги – колекција од бактериофаги кои се модифицирани за да прикажуваат домени кои се специфични за B_1и $B_Л$ на нивната површина (види слика 5-23).

БКЖ (Бацилус Calmette-Guerin) – Ослабена форма на *Mycobacterium bovis* кој се користи како специфична вакцина и дел од помагачот (адјувансот).

Б-клетка – види **Б-лимфоцит**.

Б-клеточен корецептор – соединение од три протеини (КР2, КД19 и ТАПА-1) кое е поврзано со Б-клеточниот рецептор. Се верува дека го засилува активирачкиот сигнал кој е поттикнат со вкрстеното поврзување на рецепторот.

Б-клеточен рецептор (БКР) – соединение кое се состои од молекул од имуноглобулин кој е поврзан за мембрана и два поврзани молекули ИгАлфа/ИгБета кои пренесуваат сигнал.

Б-клеточно специфичен активаторски протеин (БСАП) – фактор за препишување кој е кодиран од генот *Pax-5* кој игра значајна улога во раните и доцните фази од Б-клеточниот развој.

Б-лимфоцит – лимфоцит кој созрева во коскената срцевина и прикажува противтело кое се врзува за мембраната. По меѓудејството со противгенот, лимфоцитот се диференцира во плазма клетки кои лачат противтело и памтечки клетки.

Болест пресадок-против-домаќин (БППД) – реакција која се јавува кога пресадокот содржи имунокомпетентни Т-клетки кои ги препознаваат и напаѓаат примателските клетки.

Брадикинин – ендогено создаден пептид кој создава воспалителен одговор

Брза преосетливост – претеран имун одговор која се јавува со посредство на противтело (тип 1 и 2) или комплекси противген-противтело (тип 3) кој се манифестира од неколку минути до неколку часа по изложувањето на сензибилизираното лице на противгенот (види табела 15-1).

В(Д)J рекомбиназа – група ензимски активности кои групно придонесуваат за поврзувањето на генските сегменти во преуредената единица В(Д)J.

Вакцина – подготвока на имунолшки материјал кој се користи за да поттикне имунитет против патогени организми.

Вакцинирање – промислено внесување на нештетна или помалку штетна форма од патоген за да поттикнат специфичен имун одговор која лицето го штити против подоцнежното изложување кон истиот патоген.

Валентен, валентност – бројна мерка на капацитет за комбинирање, во основа еднаков на бројот на врзни места. Противтелните молекули се двовалентни или повеќевалентни, додека Т-клеточните ререцептори се едновалентни.

Варијабилно (променливо) (В) подрачје – амино крајни делови од имуноглобулинот и веригите од Т-клеточниот рецептор кои се доста променливи и одговорни за **противгената специфичност** во овие молекули.

Варијабилност (променливост) – променливоста (на противтелата) се одредува по бројот на преуредениот имуноглобулин и Т-клеточните рецепторни гени. Постојат повеќе В генски сегменти во ДНК од зародишната линија, но преуредувањето на гените остава само еден сегмент во секој функционален ген.

Васкуларни (крвосадни) адресини – атхезивни молекули кои се специфични за ткиво и кои ја насочуваат екстравазацијата на различни популации од циркулирачките лимфоцити во одредени лимфоидни органи.

Вестерново дамкосување – честа техника за откривање на протиен во мешавина. Протеините се одделуваат електрофоретски а потоа се пренесуваат врз полимерна хартија, која е потопена со радиоозначено противтело или противтело кое е конјугирано со ензим специфично за протеинот за кој се работи.

Вирусен товар – концентрација на вирусот во плазмата. Обично се прикажува како копии од вирусен геном по единица во простор-плазма.

Висока еднотелна венула (ВЕВ) – област од капиларната венула која е составена од специјализирани клетки со полна, коцкеста („висока“) форма низ која лимфоцитите мигрираат за да навлезат во разни лимфоидни органи (види слика 13-7).

Вкрстена реактивност – способност на одредено противтело или Т-клеточен рецептор да реагира со два или повеќе противгени кои го поседуваат вообичаениот **епитоп**.

Внатреепидермални лимфоцити – Т-клетки кои се среќаваат во епидермалните слоеви.

Внатреепителни лимфоцити – Т-клетки кои се наоѓаат во епителниот слој на органите и гастроинтестиналниот тракт.

Внатреклеточни атхезиски молекули (МКАМ) – клеточни атхезиски молекули кои се врзуваат за интегрини. МКАМ се членови од суперфамилијата на имуноглобулини.

Внатрешна толеранција – нереактивност на сопствените противгени.

Воспалено – манифестирање на црвинило, болка, топлина и оток.

Воспалителен одговор – локализиран ткивен одговор кон повредата или друга траума која ги вклучува локализираните и системските ефекти, кои се состојат од модифицирани модели на крвоток, прилив на фагоцитни и други имун клетки, отстранување на надворешни противгени и заздравување на оштетеното ткиво.

Впре-Б – полипептидна верига која заедно со **ламбда5** формираат **сурогат лесна верига** од **пред-Б-клеточниот рецептор**.

Врзна флексибилност – разновидноста на противтелото и гените од Т-клеточниот рецептор создадено од непрецизно поврзување на кодирачките секвенци при групирањето на преуредените гени.

Вроден имунитет – неспецифични одбрани на домаќинот кои постојат пред изложувањето на противген и вклучуваат анатомски, физиолошки, ендоцитни и фагоцитни и воспалителни механизми. Види исто **стекнат имунитет**.

Вторичен одговор – имун одговор по изложувањето на претходносретнатниот противген. Вторичен одговор кој настанува побрзо и со поголема големина и траење од **првичниот одговор**.

Вторичен фоликул – првичниот фоликул по противгената стимулација; таа се развива во престен со концентрично натрупани Б-клетки кои го опкружуваат зародишниот центар.

Вторични лимфоидни органи – органи и ткива каде зрелите, имунокомпетентни лимфоцити се среќаваат со заробените противгени и се активираат во **ефекторни клетки**. Кај цицачите, **лимфните јазли, слезината** и мукозно асоцираното лимфоидно ткиво (**МАЛТ**) ги сочинуваат вторичните лимфоидни органи.

ГАЛТ – гастроинтестинално асоцирано лимфоидно ткиво. Види **МАЛТ.**

Гама-глобулински дел – електрофоретски дел од серумот кој ги содржи повеќето имуноглобулински класи.

Ген *Pax-5* – овој ген го кодира Б-клеточниот специфичен активаторски протеин (БСАП), неопходен препишувачки фактор за Б-клеточниот развој.

Ген *GATA-2* – ген кој кодира препишувачки фактор потребен за развојот на неколку хематопоетски клеточни лози, каде спаѓаат лимфоидното, еротроидното и миелоидното потекло.

Генотип – комбиниран генски материјал кој се наследува од двата родители, исто така, **алелите** кои се присутни во еден или во повеќе специфични локуси.

Генска конверзија – процес при кој делови од еден ген (примателот) се менуваат со деловите од друиот ген (дарителот). Конверзија на хомологниот ген претставува механизам за разновидност кој се користи за имуноглобулинските В гени кај одредени видови.

Генска терапија – општ израз за секое мерење кое е насочено кон корекција на генскиот дефект преку внесување на здрав ген или гени.

Генски сегменти – генски секвенци од зародишната линија кои се комбинираат со другите секвенци за да создадат целосна кодирачка секвенца. Иг и ТКР гените се продукти на генските сегменти В, Д, Ј.

Гол глушец – хомозиготен генски дефект (*ну/ну*) кој го имаат вкрстените видови глувци што доведува до отсуство на тимус, а подоцна, и нагласен недостаток на Т-клетки и клеточен имунитет. Глувците немаат влакна (оттаму и името) и можат да прифатат пресадоци од други видови.

Гранзим – еден од групата на ензими кои се среќаваат во зрнцата на Тцт клетки кои можат да помогнат да се поттикне апоптоза кај целните клетки.

Гранулом – маса во вид на тумор или чепче кое се јавува поради хроничните епителоидни клетки (модифицирани макрофаги), Тпо клетки и повеќејадрени гигантски клетки кои се фомираат со фузија на макрофагите.

Гранулоцит – секоја **бела клетка** која содржи цитоплазматски зрнца, особено базофил, езинофил и неутрофил (види слика 2-9).

Грејвсова болест – автоимуна болест при која лицето создава автопротивтела против рецепторот за тирео стимулативниот хормон (ТСХ).

ГТК (главен ткивносовпадлив комплекс) – комплекс од гените кои ги кодираат молекулите врз површината на клетките кои се потребни за прикажувањето на противгенот за Т-клетките и за брзо отфрлање на пресадокот. Кај глувците тој се нарекува комплекс Х-2, а кај луѓето комплекс ХЛА.

ГТК молекули од класа 1 – хетеродимерни мембрански протеини кои се состојат од алфа-верига која е кодирана во ГТК и нековалетно е поврзана со **бета2 микроглобулинот** (види слика 8-3). Тие се прикажани врз скоро сите јадрени клетки и имаат функција да го претстават противгенот врз КД8$^+$ Т-клетките. Класични молекули од класа 1 се Х-2 К, Д и Л кај глувците и ХЛА-А, -Б и -Ц кај луѓето.

ГТК молекули од класа 2 – хетеродимерни мембрански протеини кои се состојат од нековалентно поврзани алфа и бета-вериги, и двете се кодираат во ГТК (види слика 8-3). Тие се прикажуваат врз **противген прикажувачките клетки** и имаат функција да го претстават противгенот врз КД4$^+$ Т-клетките. Класични молекули од класа 2 се Х-2 ИА и ИЕ кај глувците и ХЛА-ДП, -ДКу и -ДР кај луѓето.

ГТК молекули од класа 3 – разни протеини кои се кодират во ГТК, но се разликуваат од ГТК молекулите од класа 1 и 2. Тие вклучуваат одредени делови од комплементот, две стероидни 21 хидроксилази и тумор некрозни фактори алфа и бета.

ГТК рестрикција (ограничување) – карактеристика на Т-клетките која им овозможува да препознаат противген веднаш по неговото преработување, а резултантниот противген пептид се прикажува во комбинација со **ГТК молекулот** од **класа 1** или **класа 2**.

Гудпастеров синдром – автоимуна болест која се карактеризира со автопротивтела кои се специфични за одредени противгени од базалната мембрана на гломерулите од бубрезите и алвеолите од белите дробови.

Движење – диференцијално движење на лимфоидните клетки до и од разни ткива.

Двојна имунодифузија – вид на таложна анализа во гел каде противгенот и противтелото дифундираат брзо од резервоарите еден кон друг, при тоа создавајќи концентрациски градиент. Со постигнување на рамнотежа, се формира видлива линија од таложење, таложна линија.

Двојнонегативни (ДН) клетки – подгрупа од развојните Т-клетки (тимоцити) кои не прикажуваат ниту КД4 ниту КД8. ДП клетките се средна фаза во тимоцитниот развој и кои не прикажуваат ТКР.

Двојнопозитивни (ДП) клетки – подгрупа од развојните Т-клетки (тимоцити) кои прикажуваат и КД4 и КД8. ДП клетките се средна фаза во тимоцитниот развој и кои прикажуваа ТКР.

Двократни рекомбинациски сигнални секвенци – рекомбинацсики сигнални секвенци од имуноглобулинскиот ген кои се одделени со вметната секвенца од 23 базни парови.

Двоспецифично (биспецифено) противтело – хибридно противтело кое се создава или со хемиско вкрстено поврзување на две различни противтела или со фузирање на хибридомите кои создаваат разни моноклонски противтела.

Дермис – слој на кожата под епидермисот кој содржи крв и лимфни садови, влакнести фоликули, нерви и нервни завршетоци.

Ди Џорџиев синдром – вродена тимична аплазија предизвикина од отсечување (делеција) на хромозомот 22 при ембрионалниот живот. Последиците вклучуваат имунонедостаток, лицеви ненормалности и вродени срцеви болести.

Дијализна рамнотежа – експериментална техника која може да се користи за одредување афинитетот на противтелото за противгенот и неговата **валенција** (види слика 6-2).

Директно боење – варијација на боењето со флуоресцентно противтело каде првичното противтело директно се коњугира со флуоресцентниот обележувач.

Дисоцијациска константа $K_д$ **–** реципроцитетна на **афинитетната константа** ($1/K_а$).

Диференцирачки противген – обележувач врз површината на клетката кој се прикажува само при одредена развојна фаза или врз одредена клеточна лоза (линија).

Е2А – препишувачки фактор кој е потребен за прикажување на **рекомбинациски активирани гени (РАГ)** како и за прикажување на делта ламбда 5 од пред-Б клеточниот рецептор при Б-клеточниот развој. Тој е неопходен за развојот на Б-клетките.

Егзотоксини – токсичните протеини кои се лачат од грам-позитивните и грам-негативните бактерии, дел од нив функционираат како **суперпротивгени**. Тие предзивикуваат труење со храна, токсичен шок синдром и други болести. Види исто **имунотоксин**.

Егзоцитоза – процес при кој клетките ослободуваат молекули (на пр., цитокини, литични ензими, продукти од распадот) кои се содржат во мембрански врзаните меуричиња со помош на фузија на меурчето со плазматската мембрана (види слика 2-8).

Едем – ненормално насобирање течност во надворклеточниот простор, што често се јавува како резултат од откажување на лимфниот систем за празнење на нормалната течност од капиларите.

Еднократни рекомбинациски секвенци – имуноглобулински генски рекомбинациски сигнални секвенци одвоени со вметната секвенца од 12 базни парови.

Еднопозитивни КД4$^+$ – тимоцити кои прикажуваат корецептор КД4.

Еднопозитивни КД8$^+$ – тимоцити кои прикажуваат корецептор КД8.

Екстравазација – движење на крвни клетки низ нерасцепениот sид на садот во соседното ткиво, особено во областите на воспаление.

ЕЛИСА – види **Ензимски врзана имуноапсорбентна анализа ензим.**

Ембрионска зародишна клетка (ЕС клетка) – зародишна клетка која е изолирана од раниот ембрион и која расте во сад за култивирање. Клетките ЕС од глушецот создаваат разни клеточни видови и се користат за создавање на трансгенични или knockout (отсечени гени) видови на глувци.

Ендокрин – се однесува на регулаторните секреции како што се хормоните или цитокините кои преку крвотекот се движат од клетката-производител до целната клетка.

Ендотоксини – одредени липополисахаридни (ЛПС) делови од клеточниот sид на грам-негативните бактерии кои се одговорни за голем број патогени ефекти кои се поврзани со овгие организми. Дел од нив функционираат како **суперпротивгени**.

Ендоцитоза – процес преку кој клетките консумираат вонклеточни макромолекули со нивно заробување во мал дел од плазматската мембрана, која се вовлекува и се откинува за да фомира внатреклеточно меурче кое ја содржи консумирата материја.

Ензимски врзана имуноабсорбентна анализа (ЕЛИСА) – анализа за мерење на противтелото или противгенот со употреба на ензимски врзано противтело и супстрат кој формира обоен продукт од реакцијата.

Еоизонофил – подвижните, донекаде фагоцитни гранулоцити кои можат да **мигрираат** од крвта во ткивниот простор. Тие имаат голем број на ИгЕ рецептори и се високо зрнести. Се верува дека играат улога во одбраната против паразитските организми како што се тениите (види слика 2-9).

Епидермис – најнадворешниот слој на кожата.

Епитоп – дел од противгенот кој е препознаен од страна на и се врзува за противтелото или комбинацијата ТКР-ГТК, исто така се нарекува **противгена детерминанта (одредница)**.

Епитопско мапирање – локализција на местата (епитопите) од противгенската молекула кои реагираат со различни противтела или со Т-клеточни рецептори.

Еристобластотис феталис (фетална еритробластоза) – реакција на хисперсентизивност тип 2 каде мајчините противтела против

ембрионските Рх противгени предизвикуваат хемолиза на црвените клетки кај новороденчето, исто така се нарекува *хемоличӣна болес̄т на новороденоѓо*.

Ефекторен одговор – дејство кое настанува по препознавањето и врзувањето на противгенот со противтелото, разградувањето комплементните протеини претставува ефекторен одговор. Исто така се нарекува *ефек̄торна функција*.

Ефекторна клетка – секоја клетка која е способна за посредување при имунолошката функција (на пр., активираните Тпо клетки, ЦТЛ и плазма- клетките).

Задоцнет тип преосетливост (ЗТП) – хиперсензитивен одговор тип 4 со посредство на сензибилизиран Тпо клетки, кои ослободуваат разни **цитокини** и **хемокини** (види слика 15-17). Реакцијата обично настанува 2-3 дена по меѓудејството на Тпо клетки со противгенот. Тоа претставува значаен дел од одбраната на домаќинот против надворклеточните паразити и бактерии.

Зародишен центар – подрачје во лимфните јазли и слезината каде настанува Б-клеточно активирање, размножување и диференцирање (види слика 11-20). Зародишните центри се места за интензивна соматска мутација и селекција на Б-клетките.

Зародишна клетка – клетка од која потекнуваат клетките кои се диференцираат. Зародишните клетки се класифицираат како целоснопотентни, многупотентни, повеќепотентни или еднопотентни во зависност од нивниот опсег на клеточни видови кои ги создаваат. Види Клинички фокус во Поглавје 2.

Засирок (грутка) – засирена маса, обично се однесува на сосирена крв, каде претворањето на фибриногенот од плазмата во фибрин создава супстанција во вид на желе која содржи заробените крвни клетки.

Зглобно подрачје – сегментот од тешката верига на имуноглобулинот помеѓу подрачјата **Фк** и **Фпв**. Тој му дава флексибилност на молекулот и на страните кои се поврзуваат за противген им овозможува да функционираат независно.

Здомување – диференциската миграција на лимфоцитите или другите бели клетки до одредени ткива или органи.

Идиотип – група на противгени одредници (**идиотопи**) кои го карактеризираат уникатното противтело или Т-клеточен рецептор.

Идиотоп – една **противгена одредница** во варијабилните домени од противтелото или Т-клеточниот рецептор, исто така, се нарекува *идиотӣска одредница*. Идиотиповите се создаваат со уникатна аминокиселинска секвенца која е специфична за секој противген.

Изопресадок (изотрансплант, изокалем) – пресадок помеѓу генски индентични лица.

Изотип (1) – класа на противтело, која се одредува со секевнцата од константното подрачје на тешката верига. Петте човечки изотипови, наречени ИгА, ИгД, ИгЕ, ИгГ и ИгМ, покажуваат структурни и функционални разлики (види табела 4-4). Исто така се однесува на групата на **изотипски одредници** кои ја носат сите членови од видовите. (2) Еден од петте главни видови на тешки вериги кај молекулите од противтелата (алфа, бета, гама, епсилон и ми).

Изотипска одредница – противгена одредница во константните подрачја од имуноглобулинот која е карактеристична за видовите.

Изотипско превклучување (менување) – претворање на една класа од противтело (изотип) во друга кое настанува како резултат од генетско преуредување на гените со констнатни подрачје од тешките вериги кај Б-клетките, па затоа се нарекува *изотӣско пр̄евклучување (менување) на класи*.

Икарос – препишувачки фактор кој е потребен за развојот на сите лимфоидни клетки.

Имунизација – процес на создавање состојба на имунитет кај лицето. Види исто **активен имунитет** и **пасивен имунитет**.

Имуноген – супстанција која е способна за поттикнување имун одговор. Сите имуногени се **противгени**, но одредени противгени (на пр., хаптените) не се имуногени.

Имуногеност – способност на супстанцијата да поттикне имун одговор под одредени услови.

Имуноглобулин – фамилија на протеини со активност на противтела.

Имуноглобулинска дипла – карактеристична структура кај имуноглобулините која се состои од домен од 100 до 110 аминокиселини здиплени во две бета поставени плочи, при што секоја се состои од три или четири противпаралелни бета вериги и се стабилизира со меѓуверижна дисулфидна врска (види слика 4-8).

Имуноглобулинска суперфамилија – група на протеини кои содржат домени кои сосржат **имуноглобулински дипли**, или структурно поврзани домени. Тука спаѓаат имуноглобулините, Т-клеточните рецептори, ГТК молекулите и бројни други мембрански молекули.

Имунодоминантен – се однесува на епитопите кои создаваат понагласен имун одговор од другите епитопи под истите услови.

Имуноелектронска микроскопија – техника каде противтелата кои се користат за боење на клетка или ткиво се означуваат со електронски густ материјал и се прикажуваат со електронски миркоскоп.

Имуноелектрофореза – техника при која противгенската мешавина прво се дели на нејзините составни делови и потоа се тестира со **двојна имунодифузија**.

Имунокомпетентен (имуноспособен) – означува зрел лимфоцит кој е способен за препознавање на специфичен противген и посредува при имунот одговор.

Имунолошко памтење – својство на имуниот систем со посредство на **памтечките клетки**, при што вторичниот контакт со противгенот поттикнува повисока состојба на имунолошка реактивност.

Имунонедостаток – секој недостаток при имунот одговор. Тој може да резултира од дефект во фагоцитозата, хуморалниот одговор или од клеточниот одговор. Комбинираните имунонедостатоци ги засегаат хуморалните и клеточно-посредуваните имуни реакции (види слика 20-1).

Имунорецепторски тирозинбазиран активирачки мотиф (ИТАМ) – аминокиселинска секвенца во внатреклеточниот дел од сигнално пренесувачките мембрански сигнални молекули, кои стапуваат во меѓудејство со и ги активираат внатреклеточните кинази по врзувањето на лигандот со површинскиот молекул.

Имунотоксин – високо цитотоксични агенси кои се создаваат со конјугирање на противтелото со високо токсичен агенс, обично протеин како што е рицинот.

Имунофлуоресценција – техника за боење на клетки или ткива со **флуоресцентно противтело** и нивно прикажување под флуоресцентен микроскоп.

Индиректно боење – метод на имунофлуоресцентното боење каде првичното противтело не е означено и се открива со дополнителен реагенс кој е означен со флурохром.

Инсулин зависен дијабетес мелитус (ИЗДМ) – автоимуна болест која е предизвикана од автоимун напад на панкреасот насочен кон специлијализираните клетки кои создаваат инсулин, наречени Лангерхансови островчиња, разлеани низ панкреасот.

Интергрини – група од хетеродимерни клеточни атхезиски молекули (на пр., ЛФА-1, ВЛА-4 и Мац-1) присутни во разни бели клетки кои се врзуваат за КАМ од суперфамилијата на Иг (пр., МКАМ, ВКАМ-1) во еднотелот (види слика 15-2).

Интерлеукини (ИЛ) – група на **цитокини** кои се лачат од белите клетки кои првенствено влијаат врз растењето и диференцирањето на разни хематопоетски клетки и клетки од имуниот систем (види Додаток II).

Интерферони (ИФН) – неколку гликопротеински **цитокини** кои се создаваат и лачат од одредени клетки кои поттикнуваат противвирусна состојба кај други клетки и исто така помагаат да се регулира имунот одговор (види табела 12-1).

J (врзувачка) верига – полипептид кој ги поврзува тешките вериги од мономерните единици од полимерниот ИгМ и димерниот или тримерниот ИгА. Поврзувањето се остварува преку дисулфидни врски помеѓу веригата J и крабокислно-терминалните цистини од тешките вериги на ИгМ или ИгА.

J (врзувачки) генски сегмент – делот од преуредениот имуноглобулин или ген од Т-клеточниот рецептор кој ги поврзува варијабилното подрачје со константното подрачје и кодира дел од **хипервариjабилното подрачје**. Постојат повеќе генски J генски сегменти во ДНК од зародишната линија, но генското преуредување остава само еден J сегмент во секој функционален пруреден ген.

K (константен) генски сегмент 3' – кодирање на преуредениот имуноглобулински ген или генот од Т-клеточниот рецептор. Постојат повеќе генски сегменти К во ДНК од зародишната линија, но како резултат од преуредувањето на гените и, во одредени случаи, преработувањето на РНК, само еден сегмент се прикажува кај даден протеин.

Капа-верига – една од двете лесни вериги. Другиот тип е ламбда.

Карциноембрионски противген (КЕА) – онкофетален противген (не се среќава само кај канцерските клетки, туку и кај здравите клетки) кои може да бидат поврзани со противген.

Карцином – тумор кој настанува од ендодермалните или ектодермалните ткива (на пр., кожата или епителот). Повеќето канцери (>80%) се карициноми.

Каспаза – фамилија од цистеински протеази која се разложува по остотокот на аспартаот. Изразот *каспаза* ги вклучува овие елементи (цистеин, аспартат, протеаза), кои играат значајна улога во серијата на реакции кои водат до **апоптоза**.

КД3 – полипептидно соединение кое содржи три димери: хетеродимер гамаепсилон, хетеродимер епсилонделта и или хомодимер ξξ или хетеродимер ξη (види слика 9-9). Тој е поврзан со Т-клеточниот рецептор и функционира кај пренесувањето на сигналот.

КД4 – гликопротеин кој служи како корецептор за Т-клетките кои се ограничени на ГТК од класа 2. Повеќето помагачки Т-клетки се КД4$^+$.

КД8 – димеричен протеин кој служи како ко-рецептор за Т-клетките кои се ограничени на ГТК од класа 1. Повеќето цитотоксични Т клетки се КД8$^+$.

Класична патека на комплемент – активирање на **комплемент** кое е предизвикано од противген противтелните комплекси, вклучува К1-К9 и создава мембрански атак комплекс (види слика 7-5).

Кластер на диференцирање (КД) – колекција на моноклонски противтела кои препознаваат противген кој се наоѓа во одреден диференциран клеточен вид или видови. Секој од противгените препознаен од таквата колекција на противтела се нарекува КД обележувач и се означува со уникатен обележувач за идентификација.

Клетки природни убијци (КПУ) – класа на големи, зрнести, цитотоксични лимфоцити кои немаат Т и Б-клеточни рецептори. Тие претставуваат противелно независни убијци на туморски клетки, а исто така, може да учествуваат во **противтелно зависна клеточна цитотоксичност**.

Клеточен онкоген – види **протоонкоген.**

Клеточна лоза – популација од култивирани туморски клетки или здрави клетки кои се подложни на хемиска или вирусна **трансформација**. Клеточната лоза може неограничено да се размножува во садот за култивирање.

Клеточно посредуван имун одговор – одбрана на домаќинот со посредство на Т-клетки кои се специфични за противген и разни неспецифични клетки од имуниот систем. Заштитува против надворклеточни бактерии, вируси и канцер и е одговорен за отфрлање на пресадокот. Трансферот на модифицираните Т-клетки го поттикнува овој вид на имунитет кај примателот. Види исто **хуморален имун одговор**.

Клеточно посредуван имунитет – види **Клеточно посредуван имун одговор**.

Клеточно посредувана лимфолиза (КПЛ) – ин витро разградување на алогеничните клетки или вирусно заразените сингенични клетки од Т-клетките (види слика 14-17), може да се користи како анализа за КПЛ (CTL) активноста или активноста на ГТК од класа 1.

Клеточно-атхезиски молекули (КАМ) – група на молекули од површината на клетката кои посредуваат при внатреклеточната атхезија. Повеќето од нив припаѓаат на една од четирите протеински фамилии: **интегрини, селектини**, муциновидни и имуноглобулинска **суперфамилија** (види слика 13-1).

Клон – клетките кои потекнуваат од една родителска (прогениторска) клетка.

Клонска анергија – физиолошка состојба при која клетките не можат да се активираат од противген.

Клонска селекција – активирањето и размножувањето, со посредство на противген, на членовите од клонот на Б-клетките кој има рецептори за противгенот (или за комплексите на ГТК и пептидите кои потекнуваат од противгенот, во случајот со Т-клетките).

Клонско отстранување (елиминација) – поттикнатата смрт на членовите од клонот лимфоцити со несоодветни рецептори (на пр., членовите кои силно реагираат со сопственото при развојот).

Кодирачки спој – секвенца на точка од множеството кодирачки секвенци при преуредувањето В(Д)J за да формира преуредено противтело или гени за Т-клеточниот рецептор.

Колектини – молекули кои имаат сурфактантни квалитети и можат да ги разградат клеточните ѕидови од бектериите.

Комплемент – група серумски протеини и клеточни мембрански протеини кои стапуваат во меѓусебна интгеракција и во интеракција со други молекули од вродениот и стекнатиот имунитет за да ги извршат ефекторните функции.

Комплементарно определено подрачје (КОП) – делови од променливите подрачја на молекулите од противтелото кои испакнуваат од В домените и имаат потенцијал за контакт со противгените. Противген врзувачки места од противтелните молекули се составени од КОП.

Комплементен систем – види **комплемент**.

Комплетен Фројндов адјуванс (КФА) – емулзија вода-во-масло во која се додаваат микобактерии убиени со топлење. Противгените се внесуваат во КФА за да се засили нивната имуногеност.

Конгеничност – се однесува на лица кои генски се разликуваат при еден генски локус или регион, или се нарекуваат *коизоѓенични*.

Конјугат хаптен-носач – ковалентна комбинација на мал молекул (хаптен) со голем носачки молекул или структура.

Константа на поврзување – види **константа за афинитет**.

Константно (К) подрачје – скоро непроменлив дел од молекулот на имуноглобулинот кој не содржи противген врзувачки домени. Секевенцата на аминокиселините во константното подрачје го одредува изотипот (алфа, бета, гама, епсилон и ми) на тешките вериги и типот (капа и ламбда) на лесните вериги.

Кора – надворешниот или периферниот слој од органот.

Коскена срцевина – живото ткиво кое се наоѓа внатре од тврдиот надворешен дел од коската.

Костимулаторен сигнал – дополнителен сигнал кој е потребен за размножување на противген поттикнати Т-клетките и се создава со меѓудејство на КД28 врз Т-клетките со В7 во противген прикажувачките клетки или оштетени сопствени клетки (види слики 10-17 и 14-2). При активирањето на Б-клетките, аналогниот сигнал (способен сигнал 2) е овозможен од меѓудејствота на КД40 врз Б-клетките со КД40L врз активираните Тпо клетки.

КПУ1-Т клетка – лимфоцит со дел од особините на Т-клетките (поседува Т-клеточни рецептори) исто како и особините на клетките природни убијци.

Ксенопресадок (ксенотрансплант) – пресадок или ткиво кои се пресадуваат од еден кај друг вид.

Купферова клетка – тип на макрофаг фиксиран за ткиво во црниот дроб.

Ламбда5 – полипептид кој се поврзува со **Впре-Б** за да формира **сурогат (лажна) лесна верига** врз **пред-Б клеточниот рецептор**.

Ламбда-верига – еден од двата лесни вериги. Другиот тип е капа.

Лаукоцитен атхезивен недостаток (ЛАН) – вродена болест каде белите клетки не можат да остварат миграција зависна од атхезија во областите на воспаление. Особини на болеста се повторувачки бактериски инфекции и намалено закрепнување на раните.

ЛБП (леуцинско богати повторувања) – протеински структурен мотив кој ги содржи секвенците xLxxLxLxx.

Лектинска патека – патека за активирање на комплементот која е поттикната со врзување на серумскиот протеин МВЛ за маноза врзувачкиот дел од клеточните ѕидови на микробите.

Лесни (Л) вериги – имуноглобулински полипептиди од типот ламбда или капа кои се поврзуваат со полипептидите од тешката верига за да формираат противтело-хетеродимер.

Леукемија – канцер кој потекнува од која било класа на хематопоетски клетки кој тежнее да се размножува како поединечни клетки во лимфата или крвта.

Леукотриени – неколку липидни посредници на воспаление и хиперсензитивност од тип 1, исто така, се нарекува *бавно реактивна супстанција за анфилакса (SRS-A)*. Тие претставуваат метаболни продукти на архидонската киселина.

Леукоцитоза – ненормално голем број бели клетки, обично поврзани со акутната инфекција. Бројот поголем од 10,000/мм^3 може да се смета за леукоцитоза.

Лидерски (водечки) (Л) пептид – кратка хидрофобна секвенца од аминокиселините во Н-крајот од новосинтензираните имуноглобулини; таа се вметнува во липидниот двослој од везикулите (меурчињата) кои го пренесуваат Иг кон клеточната површина. Лидерот се отстранува од краевите на зрелите молекули од противтелата со протеолиза.

Лизогенија – состојба при која вирусниот геном (**провирусот)** се поврзува со геномот на домаќинот на начин на кој вирусните гени остануваат неприкажни.

Лизозим – ензим кој е присутен во солзите, плунката и мукозните секрети кои разградуваат мукопептиди и клеточни ѕидови од бактерија и според тоа функционира како неспецифично противбактериско соединение. Често се користи како целен противген на имуните проучувања.

Лизозом – мало цитоплазматско меурче кое се среќава кај голем број видови на клетки кои содржат хидролитични ензими, кој игра значајна улога во разложувањето на материјата која е внесена со **фагоцитоза** и **ендоцитоза**.

Лимфа – меѓуклеточна течност која потекнува од крвната плазма која содржи голем број мали и големи молекули, лимфоцити и други клетки. Циркулира низ лимфните садови.

Лимфен јазол – мал **вторичен лимфоиден орган** кој содржи лимфоцити, макрофаги и стеблести клетки и служи како област за филтрација на надворешниот противген и за активирање и размножување на лимфоцитите (види слики 2-5 и 2-16). Види исто **зародишен центар**.

Лимфен систем – мрежа од садови и јазли кои ја пренесуваат лимфата. Тој ги враќа меѓуклеточните течности од плазмата во крвотокот и игра значајна улога во вклучувањето на имуниот систем.

Лимфни садови – садови со тенки ѕидови низ кои се движи течноста и клетките од лимфниот систем и одат до лимфните јазли и на крајот во торакалниот канал, каде што се спојуваат со крвотокот.

Лимфобласт – лимфоцит кој се размножува.

Лимфоидна прогениторна клетка – клетка која е создадена од лимфоидното потекло од кое настануваат сите лимфоцити.

Лимфокин – израз кој првенствено се однесувал на цитокините кои се лачат од лимфоцитите, особено од Тпо клетки. Потоа се заменува со поопштиот израз **цитокин**.

Лимфом – канцер на лимфодни клетки кој тежнее да се размножува како цврст тумор.

Лимфоцит – еднојадрена бела клетка кој посредува при хуморалниот и клеточно посредуваниот имунитет. Види исто **Б** и **Т-клетка**.

Липополисахарид (ЛПС) – олигомер од липидот и јаглехидратот кој го сочинува ендотоксинот од грам-негативните бактерии. ЛПС дејствува како поликлонски активатор на Б-клетките од глушец, што поттикнува нивно делење и диференцирање во плазма клетки кои ги создаваат противтелата.

Локус – специфична хромосомална локација на генот.

Макрофаг – еднојадрена фагоцитна бела клетка која игра улога во стекнатиот и вродениот имунитет. Постојат голем број видови на макрофаги, дел од нив се миграторни, додека другите се фиксирани за ткивата.

Мали лимфоцитни стимулирачки одредници (Млс) **–** противгени одредници кои се кодирани од ендогените ретровируси од фамилијата на туморски вируси кај глувците кои се прикажани врз површината од одредени клетки.

Малигно – се однесува на канцерозните клетки кои се способни за неконтролирано растење.

МАЛТ (мукозно асоцирано лимфоидно ткиво) – лимфоидни клетки и ткива под епителниот слој на мукозните површини од телото. МАЛТ се среќава во гастроинтестиналниот тракт (ГАЛТ) и бронхијалните ткива (БАЛТ).

Маноза врзувачки лектин (МВЛ) – серумски протеин кој се врзува за манозата во микробските клеточни ѕидови и поттикнува разградување со посредство на комплемент.

Маргинална зона – дифузно подрачје од слезината, поставено во периферијата од **ПАЛС (периартиоларниот лимфоиден систем)** помеѓу **црвената пулпа** и **белата пулпа**, која е богата со Б-клетки и содржи лимфоидни фоликули, кои можат да се развијат во **зародишни центри** (види слика 2-17).

Мастоцит – клетка од коскената срцевина која е присутна во голем број ткива кои се слични на базофилите од периферната крв, ности **Фк рецептори** за ИгЕ и претрпува обеззрнување со посредство на ИгЕ.

Матрична соматска мутација – види **концерзија на гени**.

Медула – највнатрешното или централното подрачје од органот.

Меѓуклеточна течност – течност која се наоѓа во просторот помеѓу клетките на органот или ткивото.

Мезангијална клетка – вид на макрофаг која се среќава во бубрезите.

Мембрански атак комплекс (МАК) – комплекс од комплементните компоненти К5-К9, кое се формира во завршните чекори од класичната или алтернативната патека за активирање на комплементот и посредува при клеточното разградување преку создавање на мембранска пора во целната клетка.

Мембрански врзан имуноглобулин (мИг) – форма на противтело кое се врзува за клетка како трансмембрански протеин. Тој дејствува како противген специфичен рецептор врз Б-клетките.

Менување на класи (изотип) – променатата на класата на противтелото кое го создава Б-клетката.

Метастаза – колонизација на туморските клетки од областите кои се оддалечени од првичната област.

Мешана лимфоцитна реакција (МЛР) **–** ин витро Т-клеточно размножување како одговор на клетките кои прикажуваа алогени ГТК молекули, може да се користи како анализа за активноста на ГТК од класа 2.

Миелеоидна прогениторна клетка – клетка која создава клетки од миелидно потекло.

Миелмска клетка – канцерозна плазма клетка.

Мијастенија гравис – автоимуна болест со посредство на противтела кои ги блокираат ацетилхолинските рецептори на моторните завршни плочки од мускулите, што доведува до постепено ослабување на скелетните мускули.

Микроглијална клетка – вид на макрофаг кој се среќава во централниот нервен систем.

Митоген – секоја супстанца која неспецифично поттикнува синтеза на ДНК и делење на клетките, особено во лимфоцитите. Вообичаените митогени се конканвалин А, фитхемаглутинин, **липопосахарид (ЛПС)**, митоген од пиреј (poke-weed) и разни **суперпротивгени**.

М-клетки – специјализирани клетки од тенкоцревната мукоза и другите области, како што е урогениталниот тракт, кој доставува противген од апикалната страна на клетката до лимфоцитите кои се групирани во празнината на базолатералната површина.

Многукратен миелом – канцер од плазма клетката.

Молекули од главниот ткивносовпадлив комплекс (ГТК) – протеини кои се кодирани од главниот ткивносовпадлив комплекс и се класифицираат како ГТК молекули од класа 1, 2 и 3. Види исто **ГТК**.

Монокин – цитокин кој го создаваат макрофагите. Овој израз во голема мера е заменет со изразот **цитокин.**

Моноклонско противтело – хомогено подготвување на молекулите од противтелото, кој се создава од еден клон на Б-клетки,

често хрибридом, при што сите ја имаат истата специфичност за противгените.

Моноцит – еднојадрена фагоцитна клетка која кратко циркулира во крвотокот пред да мигрира во ткивата каде станува **макрофаг**.

Мукозно асоцирано лифиоидно ткиво (МАЛТ) – лифиоидно ткиво кое е поставено во микозните мембрани кои ги обложуваат дигестивниот, респираторниот и урогениталниот тракт.

Мултиплексна склероза (МС) – автоимуна болест која го зафаќа централниот нервен систем. Во западните земји, тоа претставува најчестата причина за невролошки инвалидитет кој е предизвикан од заболувањето.

Муцин – група од протеини богати со серин и треонин кои се силно гликосилирани. Тие се лиганди за селектините.

НАДПХ фагозомна оксидаза (фокс) – ензим кој создава противмикробски реактивни кислородни соединенија кои се користат од фагоцитните клетки за убивање на бактериите.

НДС полиакриламид гел електродфореза (НДС-ПАГЕ) – електрофоретски метод за одделување на протеините. Овој метод го користи НДС за денатурирање на протеините и им дава негативни полнежи, кога протеините кои се денатурирани со НДС се електрофорезираат низ полимеризиран акриламиден гело, тие се одделуваат според нивната молекулска тежина.

Негативна селекција – смрт кај лимфоцитите кои носат рецептори кои силно реагираат со сопствените противгени.

Неискусни (наивни) – означува неискусни Б и Т-клетки кои не се сретнале со противгенот, синоними за *немодифицирани* и *неискусни*.

Некомплетен Фрејндов адјуванс – адјувансот на Фројнд кој нема микобактерии кои убиени со топлење.

Некроза – морфолошки промени кои ја придружуваат смртта на клетките или групите на клетки од лицето при што се ослободува голема количина на внатреклеточни делови во околината, што води до нарушување и атрофија на ткивото. Види исто **апоптоза**.

Неонатален Фк рецептор (ФкР$_н$) – молекул во вид на ГТК од класа 1 кој го контролира периодот на полураспаѓање на ИгГ и го пренесува преку плацентата.

Неоплазма – секое ново и абнормално растење, безопасен или малинен тумор.

Непродуктивно преуредување – преуредување каде генските сегменти се исфрлаат од фазата така што рамката за преведување, која чита триплети не се зачувува.

Непроменлива (Ли) верига – дел на ГТК протеинот од класа 2 кој не покажува генски полиморфизам. Веригата Ли го стабилизира молекулот од класа 2 пред да стекне противгени пептид.

Несеквенцијални епитопи – епитопи кои се доста оддалечени во првичната секвенца на полипептидната верига, но се зближени во третата структура од молекулот.

Неураминидаза – ензим кој ја разложува Н-ацетилнеураминската киселина (сијалична киселина) од гликопротеините.

Неутрофил – циркулирачки, фагоцитен гранулоцит кој е вклучен во **воспалителниот одговор** (види слика 2-9). Тој прикажува **Фк рецептори** и може да учествува во **противтелно зависна клеточна цитотоксичност**. Неутерофилите се најбројните бели клетки во циркулацијата.

Нецелосно противтело – противтело кое се врзува за противген, но не поттикнува аглутинација.

Н-нуклеотиди – види **нуклеотиди од подрачјето Н.**

Нордернови дамки – вообичаена техника за откривање на специфичните мРНК, каде денатурираните мРНК се одделуваат електрофоретски и потоа се пренесуваат до полимерна плочка, која е инкубирана со радиоозначена ДНК сонда која е специфична за мРНК за која постои интерес.

Носач – имуногенски молекул која содржи противгени одредници кои Т-клетките ги препознаваат. Конјугацијата на носачот со неимуногениот **хаптен** го прави хаптенот имуноген.

Носачки ефект – вторичен имун одговор против хаптенот зависи од употребата на **хаптенот** и **носачот** кои се користат во почетната имунизација.

Нуклеотиди од П подрачје – види **додавање на нуклеотиди П**

Нуклеотиди од подрачјето Н – нуклеотиди кои се додаваат од страна на ензимот терминална деоксинуклеинска трансфераза (ТдТ) во 3' краевите од кодирачките сегменти В, Д и Ј при преуредувањето.

Обеззрнување (дегранулација) – празнење на содржината на цитоплазматските зрнца од **базофилите** и **мастоцитите** по вкрстеното поврзување (обично преку противген) на врзаниот ИгЕ. Тоа е карактеристично за **преосетливост тип 1**.

Обработување на противген – разградување на противгените низ една или две патеки кои даваат противгени пептиди кои се прикажани како врзани за ГТК молекулите врз површината на клетките кои преставуваат противген или модифицираните внатрешни клетки.

Онкоген – ген кој кодира протеин кој е способен за поттикнување клеточна **трансформација**, Онкогените кои потекнуваат од вирусите се пишуваат *v-onc*, нивните двојници (**протоонкогените**) кај здравите клетки се пишуваат *c-onc*.

Онкофетален туморски противген – противген кој е присутен при развојот на ембрионот, но во основа не се прикажува врз ткивата освен врз туморските клетки. Протеинот алфа-фето (АФП) и карциноембрионскиот противген (КЕА) се два примери кои се поврзани со разни канцери (види табела 21-3).

Опортунистички инфекции – инфекции кои се предизвикани од сеприсутните микроорганизми во случаи на имунонедостаток.

Опсонизација – ослободување на опсонини во противгенот, на тој начин се поттикнува стабилен адхезивен контакт со соодветната фагоцитна клетка.

Опсонин – супстанција (пр., противтело или К3б) која поттикнува фагоцитоза на противгените преку врзување за нив.

Ослабување (атенуација) – намалување на вируленцијата на патогенот што го прави неспособен да предизвика болест. Голем број вакцини содржат ослабени бактерии или вируси кои поттикнуваат заштитен имунитет без да предизвикаат штетна инфекција.

Остеокласт – макрофаг од коските.

П додавање – види **Додавање нуклеотии П**

П нуклеотидно додавање – додавање нуклеотиди од расечените јамки на шнола саздадени со спојување на генските сегменти В-Д или Д-Ј при преуредување на Иг или ТКР.

Паерови плочки – лимфоидни фоликули кои се поставени по sидот на тенкото црево кои ги заробуваат противгените од гастроинтестиналниот тракт и овозможуваат места каде Б и Т-клетките можат да стапат во меѓудејство со противгенот.

Памтечки Б-клетки – доследна Б-клетка која е посветена на противгенот. Б-клеточното диференцирање доведува до создавање плазма клетки, кои лачат противтело и памтечки клетки, кои се вклучени во **вторичните реакции**.

Памтечки клетки – лимфоцитите кои се создаваат по контактот со противгенот и кои имаат карактеристично долг живот, полесно се стимулираат од неискусните лимфоцити и посредуваат **вторичен одговор** во последователните контакти со противгенот.

Памтечки одговор – види **Имунолошко памтење**.

Паракора – област од лимфниот јазол под кората која најмногу е населена со Т-клетки и меѓупрстенести стеблести клетки.

Паракрин – регулаторни секрети, како што се цитокините, кои настануваат со дифузија од близок клеточен извор.

Пасивен имунитет – стекнат имунитет поттикнат од трансферот на имуните продукти, како што е противтелото или сентензираните Т-клетки, од имуно лице на неимуно. Види исто **активен имунитет**.

Пасивна имунизација – стекнување на имунитет преку примање на пред-формирани противтела, наместо со активно создавање противтела по изложување на противгенот.

Патоген – организам кој предизвикува болест.

Патоген асоцирани молекулски обрасци (ПАМО) – молекулски обрасци кои се вообичаени за патогените, но не настануваат кај цицачите. ПАМО се препознаваат од различни рецептори во вродениот имун систем.

Патогенеза – средствата преку кои организмите кои предизвикуваат болест го напаѓаат домаќинот.

Пентраксини – фамилија серумски протеини која се состои од пет идентични глобуларни поединици. ЦРП е пентраксин.

Периартериоларна лимфоидна обвивка (ПАЛО) – синџир од лимфоцити кој обвиткува мали артериоли од слезината.

Периферна толеранција – процес преку кој внатрешно реактивните лимфоцити во циркулацијата се отстрануваат или се прават анергични.

П-К реакција – реакција Прауснић-Кустнер, локална кожна реакција кон алерген од здраво лице на место каде е внесен ИгЕ од алергично лице. (Не се користи повеќе, поради ризикот од пренесување хепатит или СИДА).

Плазма – течен дел од крв, без клетки, кој ги содржи сите фактори за згрутчување.

Плазма-клетка – ефекторна клетка, од Б-клеточно потекло, која лачи противтела.

Плазмафереза – постапка која вклучува одделување на крвта на два делови, плазма и клетки. Плазмата се отстранува, а клетките му се враќаат на лицето. Оваа постапка се извршува при бременоста кога мајката создава противтела против-Рх кои реагираат со крвните клетки од ембрионот.

Плазмин – серинска протеаза која создадена со разложување на плазминоген. Неговата главна функција е хидролиза на фибринот.

Плазмоцитом – канцерозна плазма-клетка.

Површна плазмонска резонанца – инструментална техника за мерење молекулските меѓудејства врз база на промените на одразените својства на сензорот кој е обвиткан со интерактивната молекула.

Подгрупа Тпо1 – подгрупа од Т-помагачките клетки која е одговорна за одговорот на Тпо1 (види табела 12-4).

Подгрупа $T_{по}2$ – подгрупа на Т-помагачките клетки која е одговорна за Тпо2 одговорот (види табела 12-4).

Подрачје (рамка) за работа (ФР) – релативно зачувана секвенца од аминокиселини кои се лоцирани на секоја страна од хиперваријабилните подрачја од варијабилните домени на тешките и лесните вериги од имуноглобулините.

Позитивна селекција – процес кој дозволува опстанок само на тие Т-клетки чии Т-клеточни рецептори препознаваат сопствен ГТК.

Поли Иг рецептор – рецептор за полимерни Иг молекули (ИгА или ИгМ) кој се лачи на базолатерланата површина од повеќето мукозни епителни клетки. Тој пренесува полимерни Иг преку епителот.

Поликлонско противтело – мешавина на противтела кои се создаваат од голем број Б-клеточни клонови кои го препознале истиот противген. Иако сите противтела реагираат со имунизирачкиот противген, тие меѓусебно се разликуваат по секвенцата на аминокиселините.

Полиморфизам – присуство на повеќе **алели** во специфичен генски локус. Главниот ткивносовпадлив комплекс е доста полиморфен.

Последователни (секвенцијални) епитопи – два или повеќе противгени одредници кои се формираат од една секвенца на аминокиселините.

Поттикнувачка азотен оксидна синтетаза (НОС) – поттикнувачка форма на НОС која создава противмикробско соединение азотен оксид од аргинот.

Првичен одговор – имун одговор која следи по почетното изложување на противгенот. Ова изложување се карактеризира со кратко траење и мала големина во споредба со одговорот која настанува по поцнежните изложувања на истиот противген (**вторичен одговор**).

Првичен фоликул – лимфоиден фоликул, пред стимулација со противген, кој содржи мрежа од фоликуларни стеблести клетки и мали Б-клетки во мирување.

Првични лимфоидни органи – органи каде лимфоцитните претходници созреваат во противгено посветени, имуноспособни (имунокомпетентни) клетки. Кај цицачите, коскената срцевина и тимусот се првични лимфоидни органи каде настанува Б и Т-клеточно зреење.

Превклучувачки подрачја – при менувањето на класите, секвенци од ДНК коин се наоѓаат во интронот 5' од секој сегмент K_T (освен Кделта).

Пред Б-клеточен рецептор (Б клетка-претходник) – фаза на Б-клеточниот развој кој следи по пред-Б-клеточната фаза. Пред-Б-клетките создаваат цитоплазмини тешки вериги ми и повеќето од нив прикажуваат пред-Б-клеточен рецептор.

Пред-Б-клеточен рецептор – соединение на хетеродимерот ИгАлфа/ИгБета со Иг врзан за мембраната кој се состои од тешкате верига ми кој е врзан за **сурогат лесната верига** Впре-Б/ламбда5.

Пред-Т-клеточен рецептор (пред-ТКР) – соединение на групата КД3 со структура која се состои од бета верига од Т-клеточниот рецептор во комплекс со глукопротеинот од 33 кДа кој е наречен пред-Талфа-верига.

Преосетливост (хиперсензитивност) – претеран имун одговор кој предизвикува оштетување кај единката. Брзата преосетливност (типови 1, 2 и 3) се јавува со посредство на противтелото или имуните комплекси, а преосетливоста од задоцнет тип (тип 4) се јавува со посредство на Тпо клетки.

Препознавање обрасци – способноста на рецепторот или лигандот да стапи во меѓудејство со класата на слични молекули, како што се олигосахаридите кои содржат маноза.

Префорин – цитоличен продукт од ЦТЛ кој, во присуство на Ca^{2+}, полимеризира за да формира трансмембрански пори кај целните клетки (види слика 14-9).

Преципитин – противтело кое заробува разложлив противген, кое формира макромолекулско соединение со видлив талог.

Прикажување на противген – види **преработка на противген**.

Про-Б-клетка (прогениторна Б клетка) – најраната клетка која се разликува од Б-клетките.

Провирус – вирусна ДНК која е вметната во геномот од клетката на домаќинот во скриена состојба и мора да претрпи активирање пред да се препише, што води до создавање на вирусни честици.

Провоспалителност – афинитет за предизвикување воспаление. ТНФ-алфа и ИЛ-1 се провоспалителни цитокини.

Прогениторна клетка – клетка која го загубила капацитетот за само-обновување и се посветува на создавање одредени клеточни лози.

Програмирана клеточна смрт – поттикнат и организиран процес каде клетката активно учествува во предизвикувањето на спостената смрт.

Продуктивно преуредување – спојувањето на генските сегменти В(Д)Ј во фаза за создавање единица ВЈ или В(Д)Ј која може целосно да се преведе.

Прозонски ефект – видливо намалување на одговорот противген-противтело кое понекогаш се забележува при зголемување концентрацијата на противгенот или противтелото.

Простагландини – група на биолошки активни липидни деривати од архиодонската киселина. Тие посредуваат при воспалителниот одговор и хиперсензитивниота одговор тип 1 преку попречување на заробувањето на крвните плочки, зголемување васкуларната пропустливост и поттикнување контракцијата на мазниот мускул.

Протеазом – големо мултуфункционално протеазно соединение одговорно за разложување на вонклеточните протеини.

Протеин А – протеин кој се врзува за Фк присутен во мембраната на бактериите *Staphylococcus aureus*. Во имунологијата се користи за откривање на реакциите противген-противтело и за прочистување на противтелата.

Протеин А/Г – генски модифициран протеин кој се врзува за Фк кој претставува хибрид од протеин А и протеин Г. Во имунологијата се користи за откривање на реакциите противген-противтело и за прочистување на противтелата.

Протеин Г – Фк врзувачки протеин присутен во мембраната на бактериите *Staphylococcus*. Во имунологијата се користи за откривање на реакциите противген-противтело и за прочистување на противтелата.

Противген – секоја супстанција (обично надворешна) која специфично се врзува за противтелото или Т-клеточниот рецептор, често се користи како синоним за **имуноген**.

Противген од крвната група АБО – противгени одредници од системот на крвната група која се одредува со аглутинација на црвените крвни зрнца кои се изложени на противтелата против-А и против-Б.

Противген пептид – во основа, пептид кој е способен да поттикне имун одговор, на пример, кај пептид кој формира соединение со ГТК кое Т-клеточниот рецептор може да го препознае.

Противген прикажувачка клетка (ППК) – секоја клетка која може да преработи и претстави противгени пептиди во комбинација со **ГТК молекули од класа 2** и да достави **костимулаторен сигнал** кој е потребен за активирање на Т-клетките. Макрофагите, стеблестите клетки и Б-клетките ги сочинуваат професионалните ППК. Непрофесионалните АРС, кои при прикажувањето на противгените функционираат краток период, вклучуваат тимусни епителни клетки и васкуларни ендотелни клетки.

Противген Рх – секој голем број противгени кои се присутни врз површината од крвните клетки кои ја сочинуваат крвната група Рх. Види исто **еритробластозис феталис**.

Противгена насоченост – состојба на зрелите Б-клетките кои прикажуваат површинско противтело кое е специфично за еден имуноген.

Противгена одредница – состојба на противгенот кој е препознаен и врзан за одредено противтело, соединение ТКР-пептид-ГТК, или соединение ТКР-лиганд-КД1, види исто **епитоп**.

Противгена промена – ненадејна појава на нов поттип од патоген најверојатно поради генетско преуредување кое води до значајни противгени разлики.

Противгена специфичност – капацитет на противтелото и Т-клеточниот рецептор да препознаваат и да стапуваат во меѓудејство со поединечни, **противгени одредници** или **епитоп**.

Противгена специфичност – види **специфичност, противгена**.

Противгено поместување – серија од спонтани мутации кои создваат мали противгени варијации кај патогените и води во разлика кај видовите.

Противгеност – капацитетот за комбинирање специфично со противтелата или Т-клеточниот рецептор/ГТК.

Противтелен молекул – види **противтело**.

Противтелно зависна клеточна цитоксичност (ПЗКЦ) – реакција со посредство на клетка каде неспецифичните цитотоксични клетки кои прикажуваат **Фк рецептори** (на пр., КПУ, неутрофилите, макрофафагите) препознаваат врзано противтело врз целната клетка и последователно предизвикуваат разградување на целната клетка.

Противтело – протеин (имуноглобулин), кој се состои од две идентични тешки и две идентични лесни вериги, кој препознава одреден **епитоп** во противгенот и го олеснува отстранувањето на противгенот. Противтелото кое се врзува за мембраната се лачи во Б-клетките кои немаат стапено во контакт со противген. Противтелото кое се лачи се создава во **плазма клетките**. Одредени противтела се множества од основната структура со четири вериги.

Протоонкоген – ген поврзан со ракот кој кодира фактор кој ги регулира клеточното размножување, опстанок или смрт. Тој е потребен за функционирање на здравата клетка, но, ако мутира или се создаде во несоодветни количини, станува онкоген, кој може да предизвика трансформација на клетката (види слика 21-2).

Псевдоген – нуклеотидна секвенца која е стабилен дел на геномот, но не е способна за прикажување. Се верува дека псевдогените потекнуваат од мутацијата на претходните активни гени.

Псевдоподија – мембрански издатоци кои излегуваат од подвижните и фагоцитирачките клетки.

РАГ (рекомбинациски активациски гени) – два тесно поврзани гени, *РАГ-1* и *РАГ-2*, кои кодираат протеини потребни за преуредување на генските сегменти од имуноглобулините во склопување на функционалниот имуноглобулински ген.

Радијална имунодифузија – метод за одредување на релативната концентрација на противгенот. Примерокот од противгенот се поставува во бунарче и му се овозможува да дифундира во агарот кој содржи соодветен раствор од противсерум. Областа на таложниот прстен која се фомира околу бунарчето во подрачјето на еквиваленција е пропорционална со концентрацијата на противгенот.

Радиоимуноанализа (РИА) – високо чувствителна техника за мерење на противгенот или противтелото која вклучува компетентно врзување на радиоозначениот противген или противтело (види слика 6-9).

Ракетна електрофореза – електрофореза на примерок со негативно-наелектрилизран противген во гел кој го содржи противтелото. Талогот (преципитатот) кој се формира помеѓу противгенот и противтелото има форма на ракета, чија тежина е пропорционална со концентрацијатата на противгенот во примерокот.

Ран Б-клеточен фактор (РБФ) – препишувачки фактор кој е неопходен за раниот развој на Б-клетките. Тој е неопходен за прикажување на РАГ.

Реактивни азотни меѓусоединенија – високо цитотоксични противмикробски соединенија кои се создаваат со комбинација на ксилородот и азотот во фагоцитите како што се неутрофилите и макрофагите.

Реактивни кислородни меѓусоединенија (РОИ) – високо реактивни соединенија како што се хидроксилните радикали ($OH\cdot$)($\cdot O^-$) од супероксидниот анјон O^{g-}_2 и хидроксилна пероксидаза (H_2O_2) кои се формираат под голем број услови во клетките и во ткивата.

Реактивни протеини во акутна фаза – класа на протеини кои се синтензирани во црниот дроб при одговор на воспаление. При воспалението се зголемуваат серумските концентрации на овие протеини.

Ревакцина – вакцина која се дава за да стимулира одговор на имунолошко памтење.

Ревматски артрит – често авотимуно нарушување, кое првично зафаќа жени на возраст помеѓу 40 и 60 години, при што предизвикува хронична болест на зглобовите.

Ревматски фактор – противтело кое се среќава во серумот од лицата со ревматски артрит и други зболувања на сврзното ткиво.

Рекомбинациски активациски гени – види **РАГ**.

Рекомбинациски сигнални секвенци (РСС) – високо зачувани хептамерни и нонамерни нуклеински секвенци кои служат како сигнали за процесот на преуредување на гените и го уредуваат секој генски сегмент В, Д или Ј од зародишната линија (види слика 5-6).

Релативен ризик – веројатноста дека лицето со дадена особина (обично, но не и исклучително, генетска особина) ќе стекне болест во споредба со лицата од истата популација кои ја немаат таа особина.

Респираторен прасок (експлозија) – метаболен процес кај активираните фагоцити каде наглото внесување кислород се користи за создавање реактивни кислородни меѓусоединенија кои се токсични за голтнатите микроорганизми.

Ретровируси – вид на РНК вирус кој користи спротивна транскриптаза за создавање на ДНК копија од неговиот РНК геном. ХИВ, кој предизвикува СИДА и ХТЛВ, кој предизвикува Т-клеточна леукемија кај возрасните се ретровируси.

Рецептор за здомување – рецептор кој ги насочува различните популации од лимфоцити и ги насочува кон одредени лимфоидни или воспалителни ткива.

Рецептори за препознавње обрасци (РПО) – рецептори на вродениот имун систем кои препознаваат одредени обрасци или мотиви кои се присутни кај патогегените, но ги нема кај домаќинот.

Рецепторско уредување – процес при кој секвенцата на Т и Б-клеточните рецептори се модифицира за да се намали афинитетот за сопствените противгени.

Рогам – противтело против **противгенот Рх** кое се користи за спречување на **еритробластозис феталис**.

Русов саркомен вирус (РСВ) – ретровирус кој предзивкува тумори кај птиците.

Сарком – тумор на потпорното или сврзното ткиво.

Светла зона – подрачје од зародишниот центар кој содржи бројни фоликуларни стеблести клетки.

Секреторен дел – фрагмент од **рецепторот на поли Иг** кој останува врзан за Иг по трансцитозата низ епителот и расечувањето.

Секреторен ИгА – димери кои се поврзани со веригата J или повисоки полимери од ИгА кои го имаат преодиот епител и го задржуваат врзаниот остаток од **рецепторот на поли Иг**.

Секреторен имуноглобулин (сИг) – форма на противтелото која ја лачат клетките од Б-клеточно потекло, особено плазма-клетките. Оваа форма на Иг има недостаток на трансмембрански домен.

Селектин – еден од групата на мономерните **клеточно-атхезивни молекули** кои се присутни во белите клетки (селектинот Л) и ендотелот (селектинот Е и П) кој се врзува за КАМ во вид на муцин (на пр., ГлсКАМ, ПСГЛ-1) (види слика 13-1).

Серум – течниот дел од крвта, во кој нема клетки и фактори за згрутчување.

Серумска болест – реакција на преосетливост од тип 3 која се добива кога противгенот се внесува внатревенозно, што доведува до создавање на големи количества комплекси противген-противтело и нивно ослободување во ткивата. Често се добива кога лицата се имунизираат со противсерум добиен од други видови.

Сигнален пептид – мала секвенца од амино киселини, исто така се нарекува *лидерска секвенца*, која ги води тешката и лесната верига низ ендоплазминиот ретикулум и се одделува од соседните вериги пред да се групира со завршениот имуноглобулински молекул.

Сигнализирање – меѓуклеточна комуникација поттикната од меѓудејството рецептор-лиганд.

Сигнално спојување – при генското преуредување В(Д)J, секвенцата формирана со здружување на рекомбинациските сигнални секвенци.

Сингеничност – означува генски идентични лица.

Синдром на стекнат имунонедостаток (СИДА) – болест која е предизвикана од вирусот на хуманиот имунонедостаток (ХИВ) кој е означен со значително намалување на Т-клетките КД4$^+$ во мирување што резултираше со зголемена чувствителност кон голем број инфекции и канцери.

Системски лупус еритематозус (СЛЕ) – автоимуна болест која се карактеризира со авто-противтела за голема група на ткивни противгени како што се ДНК, хистоните, ЦКЗ, крвните плочки, белите клетки и факторите за засирување.

Скачардова равенка – равенката, $(r/c) = K_a n - K_a r$, каде r = односот на концентрација на врзаниот лиганд со целосната концентрација на противтелото, c = концентрацијата на слободниот лиганад, а n = бројот на врзувачки места по противтелен молекул, овозможува пресметување на константите за афинитет на противгенот со противтелото.

Слезина – вторичен лимфоиден орган каде старите црвени клетки се уништуваат, а противгените од крвта се заробуваат и прикажуваат на лимфоцитите во ПАЛО и во маргиналната зона (види слика 2-17).

Содерново дамкосување – вообичаена техника за откривање на специфични секвенци од ДНК каде ензимските рестрикциски фрагменти се одделуваат електрофоретски, потоа се денатурираат и пренесуваат во полимерна плочка, која се инкубира со радиоактивна сонда специфична за секвенцата за која се работи (види слика 22-9).

Соматска хипермутација – поттикнатото зголемување на мутацијата, од 10^3 до 10^6 пати над нормалната стапка, во подрачјата во и околу преуредените имуноглобулински гени. Кај цицачите како што се луѓето и глувците, соматската хипермутација настанува во геминалните центри.

Sox-4 – препишувачки фактор кој е потребен за раните фази на Б-клеточниот развој.

СПАП (сигнален **пренесувач и активатор на препишување**) **–** фамилија на препишувачки фактори кои се врзуваат за фосфорилирани тирозински остатоци од одредени протеини при нивните SH_2 домени. Овие молекули играат значајна улога при препишувањето на сигналите од широк појас на цитокини.

Споредни ткивносовпадливи локуси – гени надвор од ГТК кои ги кодираат противгените кои придонесуваат за отфрлањето на пресадокот.

Спорореагирачка супстанција на анафилакса (СРС-А) – општ израз кој се однесува на леукотриените кои посредуваат при воспалението.

Стеблести клетки (СК) **–** клетки кои потекнуваат од коскената срцевина, минуваат низ миелоидните и лимфоидните лози и се специјализирани за противгено прикажување врз помагачките Т-клетки.

Стекнат имунитет – види стекнат имунитет.

Стекнат имунитет – одбраните на домаќинот кои се со посредство на Б и Т-клетките по изложувањето на противгеген и кои прикажуваат специфичност, разновидност, памтење и препознавање свое-туѓо. Види исто **вроден имунитет**.

Стрептавидин – бактериски протеин кој се врзува за биотинот со доста висок афинитет. Се користи при имуните анализи за откривање противтела кои се означни со биотин.

Стромална клетка – нехематопоетска клетка која поттикнува раст и развој на хематопоетски клетки.

Структурни одредници – епитопите од протеинот кои се составени од амино киселините кои се тесно поврзани во тридимензионалната структура на протеинот, но може да не се близу една до друга во редоследот од аминокиселини.

Суперпротивген – сите соединенија кои се врзуваат за доменот Вбета од Т-клеточниот рецептор и остатоците во веригата на ГТК молекулите од класа 2. Таа поттикнува активирање на сите Т-клетки кои прикажуваат Т-клеточни рецептори со одреден домен В-бета. Функционира како моќен Т-клеточен **митоген** и може да предизвика труење со храна и други нарушувања.

Сурогат лесна верига – полипептидите **Впре-Б** и **ламбда5** кои се поврзуваат со тешките вериги ми во пред-Б-клеточната фаза од развојот на Б-клетките за да се формира пред-Б-клеточен рецептор.

ТАП (транспортер поврзан со противгена обработка) – хетеродимерен протеин присутен во мембраната од грубиот ендоплазмен ретикулум (ГЕР) кој ги транспортира пептидите во просторот на ГЕР, каде се врзуваат за ГТК молекулите од класа 1.

Тежок комбиниран имунонедостаток – види исто ТКИН (**SCID**).

Тежок комбиниран имунонедостаток поврзан со Икс хромозомот (ИксТКИН) – имунонедостаток кој се јавува како резултат од наследните мутации во заедничката гама верига од рецепторот ИЛ-2, -4, -7, -9 и -15 што ја ослабуваа неговата способност да пренесува сигнали од рецепторот до внатреклеточните протеини.

Темна зона – дел од зародишниот центар кој претставува област со нагло делење на Б-клетките кои се нарекуваат центробласти.

Теории за зародишни линиите – теории кои ја објаснуваат разновидноста на противтелото преку претпоставка дека сите противтела се кодираат во домаќинските хромозоми.

Тероии на соматска варијација – теории кои тврдат дека геномот содржи мал број имуноглобулински гени од кои се создаваат голем број специфични противтела во соматските клетки преку мутација или рекомбинација.

Тешка (Т) верига – поголемиот полипептид од молекулот на противтелото. Тој е составен од еден варијабилен домен $В_Т$ и четири константни домени ($К_Т1$, $К_Т2$, итн.) Кај луѓето постојат пет главни класи од тешки вериги (алфа, бета, гама, епсилон и ми), кои го одредеуваат **изотипот** на противтелото (види табела 4-3).

Тимоцит – Т-клетки во развој кои се присутни во тимусот.

Тимус – првичен лимдоиден орган, во градната празнина, каде настанува зреење на Т-клетките.

Тимусно зависен (ТЗ) противген – разложлив протеин кој може да поттикне создавање на противтела само со помош на Тпо клетки. Реакцијата на таквите противгени вклучува менување на изотипот, афинитетно зреење и создавање памтечки клетки.

Тимусно независен (ТН) противген – Б-клеточните реакции на ТН противгените не бараат помош од Т-клетките. Постојат два вида на ТН противгени: повеќето ТН-1 противгени претставуваат поликлонски Б-клеточни активирачи и дејствуваат без противгената специфичност на Б-клетката. ТН-2 противгените активираат Б-клетки преку вкрстено поврзување со мИГ

рецепторот и поттикнуваат реакции кои се специфични за противген.

Титар – мерка на релативната сила на противсерумот. Титарот е реципрочен на последното намалување на противсерумот кој е способен за остварување одреден мерлив ефект како што е прицицитацијата или аглутинацијата.

ТКИН (тежок комбиниран имунонедостаток) – генски дефект каде не се појавуваат реакциите од стекнатиот имунитет поради недостаток на Т-клетки и можеби Б и КПУ.

ТКИН-хуманизиран глушец – имунонедостаточен глушец каде елементите како што се коскената срцевина и тимусните фрагаменти се пресадени од имуниот систем на луѓето. Таквите глувци го поддржуваат диференцирањето на зрелите имуноцити и на тој начин се корисни за проучување на развојот на лимфоцитите.

Т-клетка – види **Т-лимфоцит**.

Т-клеточен рецептор (ТКР) – молекул кој се врзува за противген кој се прикажува врз површината од Т-клетките и се поврзува со **КД3**. Тој претставува хетеродимер кој се состои или од алфа и бета-вериги или од гама и делта-вериги (види слики 9-3 и 9-4).

Т-лимфоцит – лимфоцит кој созрева во тимусот и прикажува Т-клеточен рецептор, КД3 и КД4 или КД8. Препознаени се неколку различни Т-клеточни потпопулации.

Токсоид – токсин кој е модифициран за да се отстрани неговата токсичност, но кој сè уште може да функционира како **имуноген**.

Толеранција – состојба на имунолошка нереактивност кон одредени противгени или групи на противгени. Обично, организамот е нереактивен или толерантен на внатрешните противгени.

Половидни рецептори (ТВР) – фамилија на клеточно површински рецептори кои препознаваат молекули од разни вообичаени патогени. На пример, ТВР4 препознава бактериски липополисахариди.

Торакален канал – најголемиот лимфен сад. Ја враќа лимфата во циркулацијата со празнење во левата потклавијална вена која се наоѓа близу срцето.

Т-помагачки (Тпо) клетки – Т-клетки кои се стимулирани од противген за да овозможат сигнали кои поттикнуваат имуни реакции.

Трансген – клониран надворешен ген кој е присутен кај животните или растенијата.

Трансфекција – експериментално вметнување на надворешната ДНК во култивирани клетки, по што обично следи прикажување на гените во вметнатата ДНК (види слика 22-12).

Трансформација – промена која ја претрпуваат здравите клетки и стануваат малигни. Исто така, трајното, наследно модифицирање на клетката се јавува како резултат од земањето и вметнувањето на надворешната ДНК во геномот.

Трансфузиска реакција – хиперсензитивен одговор тип 2 на протеини или гликопротеини на мембраната од трнсфундираните црвени клетки.

Трансцитоза – движењето на противтелните молекули (полимерична ИгА или ИгМ преку епителните слоеви со посредство на поли Иг рецепторот.

Т-регулаторна (Трег) клетка – вид на Т-клетка која носи КД4 на неговата површина и се разликува од Тпо клетки по површинските обележувачи, како што е КД25, кој што е поврзан со неговата фаза на активирање.

Тромбоксан – липиден воспалителен посредник кој потекнува од архидонската киселина (види слика 13-13).

Тумор асоцирани трансплантациски противгени (ТАТП) – противгени кои се прикажуваат во одредени тумори или типови од тумори кои не се уникатни за туморските клетки. Тие се генски отустни од или се лачат при ниски нивоа во повеќето здрави возрасни клетки.

Тумор специфични трансплантациски противгени (ТСТП) – противгените кои се уникатни за туморските клетки.

Т-цитотоксични ($Т_{ц}$) клетки – Т-клетки кои убиваат целни клетки на противген специфичен начин.

Ф(пв')$_2$ фрагмент – две Фпв поединици кои се поврзани со дисулфидни мостови помеѓу фрагментите од тешката верига. Тој се добива со разградување на противтелото со пепсин.

Фаголизозом – внатреклеточна вакуола кој содржи голтната материја, која се формира со фузија на псевдоподија околу честичката која претрпува **фагоцитоза**.

Фагоцит – клетка со капацитет да голтнува и разложува микроби или одредени противгени, неутрофилите и моноцитите се главните фагоцити.

Фагоцитоза – клеточно голтнување на одредени материјали преку вшмукување.

Фибрин – кончест протеин кој се создава со дејството на тромбинот врз фиброгенот, фибринот е главниот елемент при сосирувањето на крвта. **Фибринопептид –** еден од двата мали пептиди од околу 20 амино киселини кој се ослободува од фибриногенот преку тромбинско разложување при претворањето во фибрин.

Фиброза – процес кој е одговорен за развојот на лузна во областа на хроничното воспаление.

Фк рецептор (ФкR) – површински клеточен рецептор се специфичен за Фк делот од одредени класи на имуноглобулин. Тој се претставува во лимфоцитите, мастоцитите, макрофагите и другите помагачки клетки.

Фк фрагмент (кристализирачки фрагмент) **–** кристализирачки фрагмент од имуноглобулинскиот молекул кој не се врзува за противген, а се состои од карбоксилно крајните делови од двете тешки вериги и поседува врзувачко место за Фк рецепторите и компонентата К1к од комплементот. Тој се добива со разградување на противтелото со пепсин.

Флуоресцентно противтело – противтело со **флурохром** кое е конјугирано со Фк регионот кое се користи за боење на клеточните површински молекулите или ткивата; техниката с енарекува **имунофлуоресценција**.

Флурохром – молекул кој свети кога се надрзнува со светлина со соодветна бранова должина. Види **имунофлуоресценција**

Фоликуларни стеблести клетки – клетка со големи стеблести израстоци која може да се најде во фоликулите од лимфните јазли. Иако тие не прикажуваат ГТК молекули од класа 2, тие со доста обложени со рецептори за комплементот и Фк рецептори за противтелото. Тие се од потекло кое е различно од стеблестите клетки кои носат ГТК од класа II.

Фпв фрагмент (фрагмент кој врзува противген) **–** моновалентен противген врзувачки фрагмент од имуноглобулинскиот молекул кој се состои од една лесна верига и дел од тешката верига, поврзан со меѓуверижна дисулфидна врска. Тој се добива со брзо разградување со папин.

Фрагментин – ензими кои се присутни во зрнцата од цитотоксичните лимфоцити кои поттикнуваат фрагментација на ДНК.

Х-2 комплекс – израз за ГТК кај глувците.

Хаплотип – група на **алели** од поврзани гени кои се присутни во родителскиот хромозом, обично се користат во врска со **ГТК** гените.

Хаптен – молекул со ниска молекулска тежина кој може да се направи имуногеничен со конјугација со соодветен носач.

Хемаглутинин – види **аглутинин**.

Хематопоеза – создавање и диференцирање на крвни клетки (види слика 2-2).

Хематопоетска зародишна клетка (ХЗК) – клетка од која настануваат сите крвни клетки.

Хематопоетски индуцирана микросредина (ХИМ) – анатомска област која ги содржи сите клетки и клеточни фактори кои се потребни за создавање и развој на крвните клетки.

Хемоатрактант – супстанција која привлекува бели клетки. Одредени хемоатрактанти, исто така, предизвикуваат значајни промени во физиологијата на клетките кои носат рецептори за нив.

Хемокин – секоја од многуте излачени полипептиди со мала молекулска тежина кои посредуваат при **хемотаксата** за разни бели клетки и го регулираат прикажувањето и/или атхезивноста на **интегрините** од белите клетки.

Хемолиза – оштетување или распаѓање на црвените клетки кои ослободуваат хемоглобин.

Хемотактичен фактор – агенс кој може да предизвика белите клетки да се движат кон концентрацискиот градиент.

Хетероконјугати – хибрид од два различни противтелни молекули.

Хибридом – клон на хибридните клетки кој се формира со фузија на здрави лимфоцити со **миеломски клетки**. Тој ги здржува својствата на здрава клетка да создава противтела или Т-клеточни рецептори, но ја поседува карактеристиката од миеломските клетки за бесмртно растење. Исто така, хибридомите се користат за создавање на **моноклонски противтела**.

Химер – животно или ткиво кое се состои од елементи кои потекнуваат од лица кои се генски различни. **Глушецот ТКИМ (SCID) – хуманизиран** е химер. Исто така, химерно противтело кое ја содржи секвенцата од аминокиселината на еден вид во едно подрачје и секвенцата од различни видови во друго подрачје (на пр., противтело со едно константно подрачје од човек и варијабилно подрачје од глушец).

Химерно противтело – види **химер**.

Хипер ИгМ синдром поврзан со Икс хромозомот – имуно недостаточно нарушување при кое Тпо клетки не можат да го лачат КД40Л. Пациентите со ова нарушување лачат ИгМ, но не и други изотипови, не развиваат зародишни центри, не прикажуваат соматска хипермутација и не можат да создаваат памтечки Б клетки.

Хиперваријабилно подрачје – едно од трите подрачја во варијабилниот домен од секоја верига од имуноглобулините и Т-клеточните рецептори кое ја покажува најголемата променливост на секвенцата и најмногу придонесува за противген врзувачкото место, исто така се наркува *комплементарно определувачко подрачје (КОП).*

Хистиоцит – неподвижен (понекогаш се нарекува „фиксиран за ткивото“) макрофаг кој се среќава кај лабавото сврзно ткиво.

Хистокомпатибилни противгени – фамилија протеини кои ја одредуваат способноста на едно лице да го прифати ткивото или клеточните пресадоци од друго лице. Главните хистокомпатибилни противгени кои се кодираат во ГТК, функционираат при прикажувањето на противгенот.

Хистокомпатибилност – означува лица чии главни хистокомпатибилни гени се идентични. Во основа, пресадоците помеѓу таквите лица се прифаќаат.

HLA (хуман леукоцитен антиген) комплекс – израз за ГТК кај луѓето.

Хромоген супстрат – безбојна супстанција која е трансформирана во обоен продукт преку ензимска реакција.

Хронична грануломатозна болест – имунонедостаток кој е предизвикан од дефект во ензимот NADPH фагосомна оксидаза која доведува до откажување да се создадат на реактивни кислородни соединенија во неутрофилите.

Хронична лифоцитна леукемија (ХЛЛ) – вид на леукемија каде непрекинато се создаваат канцерозни лимфоцити.

Хронична миелогена леукемија (ХМЛ) – вид на леукемија каде непрекинато се создаваат клетки од миелоидно потекло.

Хуманизирано противтело – противтелото кое ги содржи противген врзувачки аминокиселински секвенци од други видови во рамките на секвенцата од човечкиот имуноглобулин.

Хуморален имун одговор – одбрани на домаќинот со посредство на противтело присутно во плазмата, лимфата и ткивните течности. Тој штити против вонклеточните бактерии и надворешни макромолекули. Пренесувањето на противтелата го поттикнува овој вид на имунитет кај примателот. Види исто **клеточен имун одговор**.

Хуморално – се однесува на вонклеточната течност, каде спаѓаат плазмата, лимфата и ткивните течности.

Це реактивен протеин (ЦРП) – протеин во акутна фаза кој учествува во патеката на комплементот, зголеменото ниво на серумскиот ЦРП претставува показател за воспалението.

Централна толеранција – отстранување на внатрешно реактивните лимфоцити кај првичните генеративни органи.

Циклоспорин А – габичен продукт кој се користи како лек за супресија на отфрлањето пресадок. Соединението го блокира активирањето на Т-клетките преку меѓудејство со препишувачките фактори и спречува активирање на гените.

Цилија – влакнести издатоци на епителните клетки во респираторниот и гастроинтестиналниот тракт. Цилијата работи за да ги турка микробите надвор од трактот.

Цитокин – кој било од бројните протеини со мала молекулска тежина кои се лачат и кои го регулираат интензитетот и траењето на имунот одговор преку извршување голем број ефекти врз лимфоцитите и другите имуни клетки (види Додаток II).

Цитотоксичен Т лимфоцит (ЦТЛ) – ефекторна Т-клетка (обично $КД8^{+}$) која може да посредува при разградувањето на целните клетки кои ги носат противгените пептиди кои се наоѓаат во комплексот со ГТК молекулот. Тој обично потекнува од Тцт клетка која се активира од противген.

Црвена пулпа – дел од слезината кој се состои од мрежа на синусоиди кои се населени со макрофаги и црвени клетки (види слика 2-17). Тоа е областа каде старите и дефектни црвени клетки се уништуваат.

ЦХЦ подгрупа – фамилија од хемокини кои содржат дисулфиден мост меѓу цистеините одделени со различни аминокиселински остатоци (Х).

ЦЦ подгрупа – подгрупа од хемокините каде дислуфидната врска се поврзува со соседните цистеини.

Чедијак-Хигашиев синдром – автосомален рецесивен имунонедостаток кој е предизвикан од дефект кај лизосомалните зрнца кои го ослабуваат убивањето на КПУ.

Шистозомијаза – болест предизикана од паразитскиот црв *Шистозома*

Одговори на прашањата за учење

Поглавје 1

Прашања од клиничкиот фокус: Исхраната на алергичното лице мора да биде без јаткасти производи. Етикетите на сите производи кои се јадат директно или кои се користат за подготвување храна за лицата треба да се прегледаат за лешници или екстракти од лешници како состојки. Децата кои се доволно големи за да ги прочитаат и да ги разберат етикетите треба да се научат да го прават тоа; ако не, сите кои нудат храна мора да се свесни за оваа болест. Особено внимание треба да се обрати на печена храна од непознат извор како што се оброците на школските другари. Алергологот може да нè упати на лекување за акутна епизода; тоа може да вклучува инјекција со адреналин (епинефрин = епипен). Учителот и школската медицинска сестра мора да бидат информирани за болеста и треба да го знаат препорачаниот третман за итни случаи.

1. Џенеровиот метод за употреба на инфекција со кравји сипаници за да се добие имунитет на големи сипаници беше подобар од претходните методи бидејќи носеше значително намален ризик од сериозна болест. Претходниот метод со употреба на материјал од лезиите на лицата со големи сипаници пренесувал имунитет, но со ризик од стекнување на потенцијално смртоносната болест.

2. Пастеровиот метод за лекување на беснило се состои од серија на вакцинации со ослабен вирус на беснило. Овој процес активно го имунизира примателот кој тогаш има противбеснило за да го запре развојот на инфекцијата. Обичен тест за активниот имунитет ќе биде испитување за противбеснилни противтела во крвта од примателот во време по завршување на третманот кога сите противтела од пасивниот третман ќе се отстранат од циркулацијата. Како алтернатива, може да се нападне примателот со ослабен вирус на беснило за да се види дали ќе настане вторичен одговор (ова лекување може да е спречено поради етичките последици).

3. Имунизираните мајки ќе им пренесат имунитет на нивните деца бидејќи противстрептококните противтела ја поминуваат плацентната бариера и се присутни кај бебињата при раѓање. Покрај тоа, колострумот и млекото од мајката содржат противтела за да го заштитат новороденчето од инфекција.

4. (а) СМ. (б) Н и СМ. (в) Н и СМ. (г) Н и СМ. (д) СМ. (ѓ) СМ. (е) Н. (ж) СМ. (з) Н. (ѕ) Н. (и) СМ.

5. Четирите имуни својства се специфичност, разновидност (различие), памтење и препознавање свое од туѓо. Специфичноста се однесува на способноста на одредени мембрански врзани молекули на зрелиот лимфоцит да препознаат само еден противген (или мал број на тесно поврзани противгени). Прераспоредувањето на имуноглобулинските гени за време на лимфоцитното зреење доведува до противгена специфичност. Исто така, создава широк појас на разни специфичности, или различие меѓу зрелите лимфоцити. Способноста на имуниот систем да реагира на туѓите молекули, но (во основа) не на сопствените молекули, се јавува како резултат од отстранувањето при лимфоцитното зреење на незрелите клетки кои препознаваат сопствени противгени. По изложувањето на одреден противген, зрелите лимфоцити кои се реактивни со тој противген се размножуваат и диференцираат, при што создаваат поголема популација од памтечки клетки со истата специфичност. Оваа проширена популација може побрзо и поинтензивно да реагира на повторно изложување кон истиот противген, на тој начин прикажувајќи го имуното памтење.

6. Вторичниот имун одговор вклучува засилена популација од памтечки клетки. Реакцијата е побрза и постигнува повисоки нивоа од првичниот одговор.

7. (а) Двете противтела и Т-клеточните рецептори прикажуваат добра специфичност за противгенот. Многу мали модификации во противгенот можат да го попречат неговото врзување со соодветното противтело или Т-клеточен рецептор. ГТК молекулите не поседуваат толку добра специфичност и со истиот ГТК молекул можат да се врзат голем број неповрзани пептидни противгени. (б) Противтелата се прикажани само од клетките од Б-клеточната лоза, Т-клеточните рецептори се прикажуваат на клетките од Т-клеточната лоза; класа 1 ГТК молекулите се прикажани скоро на сите јадрени клетки; класа 2 ГТК молекулите се прикажани само на специјализирани клетки кои функционираат како противген прикажувачки клетки (на пр., Б-клетки, макрофаги и стеблести клетки). (в) Противтелата можат да се врзат за протеински или полисахаридни противгени; Т-клеточните рецептори препознаваат само пептиди кои се поврзани со ГТК молекулите; ГТК молекулите врзуваат само обработени пептиди.

8. (а) Макрофаги, Б-клетки, стеблести клетки. (б) Костимулаторни, $T_{по}$ клетки (в) 2, 1 (г) Леукоцит (д) Стекнат. (ѓ) КД8, КД4 (е) епитоп.

9. Тие препознаваат само противген кој е врзан за класа 1 ГТК молекулите.

10. Вродениот и стекнатиот имунитет соработуваат за да овозможат заштитен одговор против патогените. Пример е фагоцитната клетка, која го зема надворешниот материјал и го преработува за да формира пептидни противгени кои се прикажани од фагоцитот. Прикажаните противгени ги стимулираат Т-клетките кои или им помагаат на Б-клетките при создавањето на противтелото или ги стимулираат цитотоксичните Т-клетки да овозможат заштита против заразените или канцерските клетки. Покрај тоа, фагоцитните клетки учествуваат во воспалението, создаваат цитокини кои привлекуваат Т и Б-клетки на тоа место.

11. Последиците од благите форми на имуна дисфункција вклучуваат кивање, јадеж и кожни исипи кои се предизвикани од алергии. Астмата и анафилактичните реакции се потешки последици од алергија и можат да доведат до смрт. Последиците од тешка имуна дисфункција вклучуваат чувствителност кон инфекција со бројни микробни патогени ако дисфункцијата вклучува имунонедостаток, или хронични исцрпувачки болести, како што е ревматоидниот артритис, доколку дисфункцијата вклучува автоимунитет. Најчестата причина за имунонедостаток е инфекцијата со ретровирусот ХИВ-1, што води до СИДА.

12. (а) Неточно. (б) Неточно. (в) Неточно. (г) Точно.

13. (а) Точно. (б) Точно. (в) Точно. (г) Точно. (д) Неточно: Противгенот мора да биде претставен на Т-клетките во контекст на ГТК молекулите. (ѓ) Неточно: Пептидите се додаваат на врзувачкиот процеп на ГТК класа 1 во меурче. (е) Точно.

14. а) 2. (б) 3. (в) 4. (г) 1.

Поглавје 2

Прашања од клиничкиот фокус: (а) Овој исход не е можен. Имајќи предвид дека дарителските хематопоетски клетки се диференцираат во Т и Б-клетки во средина која содржи противгени карактеристики и на домаќинот и на дарителот, постои толеранција на клетки и ткива од двата. (б) Овој исход не е можен. Т-клетките кои потекнуваат од ХМК на дарителот се развиваат во присуство на клетките и ткивата од домаќинот и затоа се имуно толерантни на нив. (в) Овој исход не е можен поради причините кои се наведени во (а). (г) Овој исход е можен поради причините кои се наведени во (а).

1. (а) Во основа, КД4$^+$ Т-клетките кои препознаваат класа 2 ГТК молекули функционираат како $Т_{по}$ клетки, додека КД8$^+$ Т-клетките кои препознаваат класа 2 ГТК молекули функционираат како $Т_{цт}$ клетки. Сепак, одредени функционлни $Т_{по}$ клетки прикажуваат КД8 и се класа 1 спрегнати, а одредени функционални $Т_{цт}$ клетки прикажуваат КД4 и се класа 2 спрегнати. Но, овие се исклучоци од основниот модел. (б) Коскената срцевина содржи мал број многупотентни матични клетки, кои сочинуваат само околу 0,05% од сите коскеносрцевински клетки. (в) $Т_{по}$ клетки препознаваат противген поврзан со класа 2 ГТК молекулите. Активацијата на макрофагите го зголемува нивното прикажување на класа 2 ГТК молекулите. (г) Организираните лимфоидни фоликули, исто така, се присутни во крајниците, Пејеровите плочи и друго мукозно поврзано ткиво. (д) Како одговор на инфекција, $Т_{по}$ клетки и макрофагите се активираат и лачат разни цитокини кои поттикнуваат зголемена хематопоетска активност. Поттикнатата хематопоеза ја проширува популацијата на белите крвни клетки кои можат да се борат со инфекцијата. (ѓ) За разлика од другите типови на стеблести клетки, фоликуларните стеблести клетки не прикажуваат класа 2 ГТК молекули и според тоа не можат да функцинонираат како противген-прикажувачки клетки за Тпо клеточна активација. Овие клетки, кои се присутни само во лимфните фоликули, можат да ги заробат циркулирачките противген-противтело комплекси. Се верува дека оваа способност ја олеснува Б-клеточната активација и развојот на памтечките Б-клетки. (е) Б и Т-лимфоцитите имаат противген-врзувачки рецептори, но мала популација од лимфоидни клетки, кои се нарекуваат нула клетки, ги немаат овие рецептори. (ж) Иако голем број на животни, како што се луѓето и глувците, создаваат Б-клетки во коскената срцевина, другите, како што се одредени преживари, не создаваат. (з) Досега, не било возможно да се покаже присуството на Т или Б-клетките кај безвиличните риби како што е јагулата.

2. (а) Миелоидна родителска клетка. (б) Гранулоцитна-моноцитна родителска клетка. (в) Хематопоетска матична клетка. (г) Лимфоидна родителска клетка.

3. Првични лимфоидни органи се коскената срцевина (бурзата на Фабрициус кај птиците) и тимусот. Овие органи функционираат како места за Б и Т- клеточно зреење, соодветно.

4. Вторични лимфоидни органи се слезината, лимфните јазли и мукозно асоцираното лимфоидно ткиво (МАЛТ) на разни локации. МАЛТ ги вклучува крајниците, Пејеровите плочи и слепото црево, како и слободните колекции на лимфоидни клетки кои се поврзани со мукозните мембрани кои ги обложуваат респираторниот, дигестивниот и урогениталниот тракт. Сите овие органи можат да заробат противген и овозможуваат место каде лимфоцитите можат да стапат во меѓудејство со противгенот и последователно да претрпаат клонална експанзија.

5. Матичните клетки се способни за самообновување и можат да создадат повеќе клеточни типови, додека родителските клетки го загубиле капацитетот за самообновување и се посветени на една клеточна лоза. Обвразноста на родителските клетки зависи од нивното стекнување на реактивност за одредени фактори на раст.

6. Двете првични улоги на тимусот се создавањето и селекцијата на различие на Т-клетки кои ќе го штитат телото од инфекција.

7. Голите глувци и луѓето со Ди Џорџиев синдром имаат вроден дефект кој го спречува развојот на тимусот. И двата вида имаат недостаток на Т-клетки и не можат да поттикнат клеточно посредувани имуни реакции.

8. Кај луѓето, тимусот достигнува максимална големина за време на пубертетот. Кај возрасните, тимусот постепено атрофира.
9. Смртоносно озрачените глувци служат како систем за анализа на повеќепотентните ХМК, бидејќи само глувците на кои им се инјектираат овие матични клетки можат да го реконституираат нивниот хематопоетски систем и да преживеат. Како што ХМК успешно се збогатуваат при подготовката, се намалува вкупниот број на клетки кој мора да се инектира за да се врати хематопоезата и според тоа да се овозможи преживување.

10. Моноцитите се крвни претходници на макрофагите. Моноцитите имаат карактеристично јадро во вид на грав и органичен капацитет за фагоцитоза и убивање на микроби во споредба со макрофагите. Макрофагите се доста поголеми од моноцитите и претрпуваат промени во фенотипот за да ја зголемат фагоцитозата, противмикробните механизми (кислород-зависни и кислород-независни) и лачењето на цитокини и други имуни системски регулатори. Ткивно специфични функции исто така се среќаваат кај ткивните макрофаги.

11. Фабрициусовата бурза кај птиците претставува првично место каде што се развиваат Б-лимфоцитите. Бурзектомијата ќе доведе до недостаток на циркулирачки Б-клетки и хуморален имунитет и веројатно ќе биде фатална.

12. По фагоцитозата од макрофагите, повеќето бактерии и габи се уништуваат и се разложуваат. Резултантните противгени пептиди се прикажуваат заедно со класа 2 ГТК молекулите врз клеточната површина, каде поттикнуваат $Т_{по}$ клеточна активација и последователен противтелен (хуморален) одговор. Наспроти тоа, внатреклеточните бактерии и габи имаат разни механизми за преживување во макрофагите по фагоцитозата. Според тоа, овие бактерии не поттикнуваат противтелен одговор.

13. (а) Точно. (б) Неточно: Маргиналната зона е богата со Б-клетки, ПАЛО е богат со Т-клетки. (в) Точно. (г) Точно. (д) Неточно: Слезината нема аферентни лимфатици. (ѓ) Неточно: Покрај тоа што се неопходни за создавање на КПУ, Икарос, исто така, е потребен за создавање на Т и Б-клетките. Според

тоа, неговото отстранување ќе спречи лимфните јазли да служат како области за создавање на стекнати имуни реакции.

14. (а) 5. (б) 10 (в) 3 (г) 6 (д) Нема. (ѓ) 4 (е) 11 (ж) 14 (з) 7. (ѕ) 12 (и) 8. (ј) 16. (к) 15. (л) 2. (м) 6. (н) 5 (и сите други хематопоетски клетки).

Поглавје 3

Прашања од клиничкиот фокус: Атеросклерозата е таложење на порозна липидна материја во артериите која го блокира нормалниот крвоток и води до ризик од исхемија (недостаток на крв во специфичен орган) и инфаркт (срцев напад). Оваа состојба започнува со ослободување на макрофагите во ѕидот на артеријата и во интимата (просторот помеѓу ѕидот и внатрешниот дел). Регрутирањето на макрофагите е карактеристично за воспалителниот одговор и повеќе макрофаги и други фагоцитни клетки се вдомуваат во воспалената област, со што ја влошуваат блокадата на крвниот сад. Нивото на протеинот на акутна фаза ЦРП во крвта се зголемува при воспалителниот одговор. Хронично зголемениот ЦРП е индикативен за хронично воспаление како што е воспалението при атеросклерозата.

1. Клетките од вродениот имун систем прикажуваат одреден број на цитокини и хемокини кои регрутираат клетки од стекнатиот имунитет на местото на инфекцијата. Клучен клеточен мост помеѓу вродениот и стекнатиот имунитет е стеблестата клетка, која може да стекне противгени од надворешен агенс на местото на инфекцијата, да мигрира назад во лимфните ткива и да ги прикаже овие противгени на Т и Б-клетките, при што предизвикува специфични стекнати реакции против напаѓачкиот агенс.

   Комплементниот систем игра улога во двата вида на имунитет и може да го активираат бројни микробни продукти преку растворливи и мембрански врзани рецептори или преку специфични противтелни реакции. Меѓупродуктите од комплементната активација стимулираат клетки од стекнатиот и вродениот имун систем и ги регрутираат на местото на инфекција или повреда.

2. Воспалението се карактеризира со црвенило, топлина, оток, болка, а понекогаш и губење на локалната функција. Дејството на леукоцитите кои се регрутирани во засегната област ги создава видливите знаци на воспаление: цитокинското прикажување може да предизвика пораст на температурата и оток поради зголемена капиларна пропустливост, а отокот на засегната област предизвикува болка и црвенило. Зголемената пропустливост на капиларите го олеснува влезот на клетките во засегнатата област, привлечени од растворливите молекули ослободени за време на раните фази на одговорот. Вродениот имун одговор се состои од регрутирање на фагоцитни клетки кои ги голтнуваат патогените, специфични растворливи молекули кои ги напаѓаат и ги неутрализираат или ги убиваат напаѓачите и мобилизација на стекнатите реакциите ако напаѓачите ги преживеат реакциите на вродениот имунитет. Сите овие дејства се засноваат на собирање на одбраните во областа на инфекцијата или повредата, а групацијата на клетки и хемиски посредници се тие што ги предизвикуваат особините на воспалението.

3. (а) интерферон, КПУ. (б) iNOS, аргинин, NADPH, NO. (в) NADPH фагозомна оксидаза, O_2, РКС, NO, РАС. (г) стеблеста клетка, класа 1, класа 2 ГТК молекули, $T_{ПО}$, $T_{ЦТ}$, стеблеста клетка. (д) ЦРП, МВЛ. (ѓ) АФО, ЦРП, МВЛ. (е) ТВР7, ТВР8, ТВР9. (ж) РПО, Т клеточни рецептори, противтело. (з) РПО, класа 2 ГТК молекули, класа 1 ГТК молекули. (ѕ) ТВР2, РПО. (и) РПО, ПАМО. (ј) ТВР4, ТВР2. (к) комплемент.

4. Б. Ботлер покажал дека *лпр* глувците се отпорни на ендотоксин и дека генската разлика кај овие глувци претставува недостатокот на функционален ТВР4 поради една мутација во рецепторната секвенца. Р. Мецитов и Ц. Џенвеј покажале дека протеинот (ТВР4) со хомологија на Тол го активирал прикажувањето на гените од имуниот одговор кога се прикажани на хумани клеточни линии.

5. Недостатоците на стекнатиот имунитет ја вклучуваат можноста од автоимуни реакции, кои може да доведат до болест. Недостатоците се засенети од предностите на комбинираните системи. На пример, вродениот имунитет не може да реагира на нови патогени на кои им недостасуваат молекулски особини кои ги препознаваат РПО и не се создава памтење, така што вакцинацијата не претставува опција. Времето на одговор на стекнатиот имунитет е бавно. Имајќи ги предвид нивните комплементарни предности и недостатоци, двата система може да се чинат неопходни.

6. Со противгабични протеини како што е дрозомицинот. Луѓето исто така имаат бројни антимикробни протеини кои препознаваат молекулски особини на групи на патогени и се способни за уништување на овие патогени.

7. (а) Блокадата на меѓудејствата интегрин-МКАМ ќе го инхибира стекнатиот имунитет преку ослабување на екстравазацијата на Т-клетките и макрофагите и преку мешање во меѓудејствата на Т-клетките и стеблестите клетки. Блокирачките макрофаги од местото на воспалението ќе ја блокираат нивната активација и лачењето на цитокини и хемокини кои ги поддржуваат стекнатите реакции. Леукоцитната екстравазација е инхибирана бидејќи зависи од меѓудејствата интегрин-МКАМ. Нема влијание врз акутно фазниот одговор; нема влијание врз поттикнувањето на комплементно посредуваната лиза бидејќи деловите од комплементниот систем се хуморални, а не клеточни. Воспалението е загрозено бидејќи миграцијата на клетките во воспалителните области претставува значаен дел од воспалителниот одговор и на крајот, внатреклеточните патеки за создавање на РКС и РАС не се засегнати од меѓудејствата интегрин-МКАМ.
   (б) ТВР4 е одговорен за препознавањето на ЛПС од страна на вродениот имун систем. Во случајот на инфекции или имунизации кои не вклучуваат ЛПС, ниту еден од споменатите процеси не е засегнат. Сепак, во случајот на инфекции со грам-негативни бактерии или изложување на ЛПС на друг начин (на пример, контаминирани лекарства), поттикнувањето на стекнатиот имунитет, поттикнувањето на воспалението и поттикнувањето на РКС и РАС можат да бидат инхибирани.
   (в) При вродените имуни реакции, ТНФ-алфа и ИЛ-1, цитокини кои се создаваат од макрофагите и други видови на клетки, го посредуваат воспалението и влијаат врз стекнатите имуни реакции. Неможноста да се создадат овие воспалителни цитокини може да доведе до намален стекнат имунитет и воспаление. Овие цитокини не влијаат директно врз леукоцитната екстравазација, акутно фазниот одговор или комплементно посредуваната лиза.
   (г) Мутациите на фокс (phox) ензимскиот систем може да го инхибира создавањето на РКС и РАС.
   (д) Отстранувањето на класа 2 ГТК молекулите директно ќе го инхибира стекнатиот имунитет бидејќи тие се потребни за активација на помагачките Т-клетки од противген прикажувачките клетки. Ќе нема директни ефекти врз екстравазацијата, акутно фазниот одговор, комплементно посредуваната лиза или вродената стимулација на РКС и РАС.

Анализирање на податоци (а) Да. Делот (а) од сликата покажува дека поврзувањето на ТВР доведува до значителна инхибиција на апоптозата, со или без додавањето на НФ-кБ инхибиторот СН50. Инхибицијата на неутрофилната апоптоза може да му понуди предност на домаќинот со тоа што ќе им овозможи на неутрофилите да функционираат подолго за да можат да се борат со инфекцијата. Потенцијалниот недостаток е тоа што при хроничната инфекција, упорните неутрофили ќе создаваат и ќе лачат токсични супстанции што може да доведе до патологија на домаќинот.

(б) Податоците покажуваат дека животот на неутрофилите нема да биде продолжен. Делот (б) од сликата покажува дека ИКК фосфорилацијата (и активацијата, види слика 3-15) настанува при одговор на ТВР агонистите кои го зголемуваат неутрофилниот животен циклус. Делот (а) покажува дека СН50, инхибитор на НФ-кБ (продукт на реакцијата која ја катализира ИКК), го намалува влијанието на ТВР поврзувањето врз апоптозата на неутрофилите. ИКК го фосфорилира ИкБ, кој потоа се одделува од НФ-кБ. Потоа, НФ-кБ се врзува за ДНК, каде функционира како препишувачки активатор на НФ-кБ зависните гени. Помала НФ-кБ активност кореспондира во овој експеримент со помала инхибиција на апоптозата (дел а, црни пруги), што покажува дека дефектниот ИКК нема да доведе до зголемен неутрофилен полуживот.

(в) Од податоците во (б), ТВР5 и ТВР7 не поттикнуваат фосфорилација на ИКК. Овие податоци покажуваат дека ТВР5 и ТВР7 може да функционираат преку алтернативни сигнално пренесувачки патеки. Бидејќи ИКК е неопходен за НФ-кБ активацијата и инхибицијата на апоптозата, овие ТВР молекули можат да не го зголемат неутрофилното преживување.

Поглавје 4

Прашања од клиничкиот фокус: (а) Голема и географски разновидна популација на дарители ќе имаат поширок спектар на противтелни специфичности од оние изведени од еден регион. Ова е така бидејќи одредени патогени кои се вообичаени во една географска област се отсустни во друга. Според тоа, луѓето од различни области ќе се разликуваат по спектарот на противтела кои ги создале нивните имуни системи. Исто така, дури и во случајот со тие патогени кои се најдени во сите четири спомнати области, во голем број случаи ќе има значајни разлики во видовите на одредени патогени од континент на континент. (б) Продуктот од компанијата Б треба да се внесе кај населението чии лица постојано патуваат со цел да се овозможи заштита против патогените кои не се чести во САД. Сепак, ако тие се изложени на голем број посетители од странство, тие ќе имаат корист од поширокиот спектар на противтела во продуктот на компанијата Б.

1. (а)Точно. (б) Точно. (в) Неточно: Хаптенот не може да стимулира имун одговор доколку не е конјугиран со поголем протеински носач. Сепак, хаптенот може да се комбинира со предформираното противтело кое е специфично за хаптенот. (г) Точно. (д) Неточно: Т-клетката може да препознае само пептиди кои се преработени и претставени од ГТК молекулите. Овие епитопи тежнеат да бидат внатрешни пептиди. (ѓ) Точно. (е) Неточно: Имуногените се способни за стимулирање на специфичен имун одговор; противгените се способни за комбинирање специфично со противтелата или Т-клеточните рецептори кои се поттикнати при имуниот одговор. Иако сите имуногени поседуваат противгеност, одредени противгени не поседуваат имуногеност. (ж) Точно: Т-клеточните рецептори не се врзуваат за слободниот противген. Имајте предвид дека овој одговор е точен за алфа-бета Т-клеточните рецептори, одредени гама-делта Т-клеточни рецептори се врзуваат директно за противгенот. (з) Неточно: Б-клеточните епитопи на протеинот не потекнуваат само од првична структура, туку, исто така, од секундарната, терцијалната и дури и кватерната структура на протеинот.

2. (а) Млад ГСА: Денатурацијата со топлина може да ги уништи Б-клеточните епитопи во глобуларниот протеин, иако Т-клеточните епитопи во основа се стабилни на топлина. (б) ЛКБ: Имуногеноста на противгенот во основа се поврзува со неговата туѓост на изложените животни. Сепак, колагенот и некои други протеини кои се доста зачувани во текот на еволуцијата покажуваат мала туѓост кај различни видови и поради тоа често се слаби противгени. (в) 150000-ММ протеин: Ако другите работи се еднакви, поголемите протеини се поимуногени од помалите. (г) ГСА во целосен Freund-ов адјувант ќе биде поимуноген бидејќи микобактериите кои се вклучени во целосниот адјуванс имаат делови кои стимулираат широк појас на клеточни типови преку нивните РПО и на тој начин ќе ги вклучат овие клетки во одговорот против ГСА. На нецелосниот адјуванс му недостасуваат додадени микобактерии и нема да даде широк стимулус кој се гледа кај целосниот адјуванс.

3. б, г.

4. (а)Т. (б) Т. (в) Б. (г) Б. (д) Т. (ѓ) Т. (е) БТ. (ж) Б. (з) БТ.

5. (а)Точно. (б) Точно. (в) Неточно: На површината од една Б-клетка може да се појават повеќе изотипови. Зрелата Б-клетка прикажува и ИгМ и ИгД. (г) Точно. (д) Точно. (ѓ) Точно. (е) Неточно: Излачениот серумски ИгМ претставува пентамер. Поради неговиот поголем обем и валенција, ИгМ е поефикасен од ИгГ во вкрстеното поврзување на бактериските површински противгени, што води до аглутинација. (ж) Точно. (з) Точно. (s) Неточно: Променливите подрачја и од тешките и од лесните вериги содржат приближно 110 аминокиселини.

6. (а) Молекулот ќе мора да ги поседува следниве структурни особини: 2 идентични тешки вериги и 2 идентични лесни вериги ($Т_2Л_2$); меѓуверижни дисулфидни врски кои ги поврзуваат тешките вериги (Т-Т) и тешката и лесната верига (Т-Л); серија на внатреверижни домени кои содржат приближно 110 аминокиселини и се стабилизирани со внатрешен домен дисулфиден мост кој фомира јамка од околу 60 аминокиселини; еден константен домен во лесната верига и 3 или 4 константни домени во тешките вериги. Амино-терминалниот домен и на тешките и на лесните вериги треба да покаже секвентна варијација. (б) Противсерумот на двата и човечкиот ИгГ и човечката капа-верига треба вкрстено да реагира со новата имуноглобулинска класа, бидејќи и двата противсеруми имаат противтела специфични за лесната верига. Новиот изотип треба да содржи или капа или ламбда лесна верига. (в) Намалете ги меѓуверижните дисулфидни врски на новиот изотип со меркаптоетанол и алкализација. Одделете ги тешките и лесните вериги. Имунизирајте го зајакот со тешката верига. По апсорпцијата на сите познати човечки изотипови, противсерумот на зајакот треба да реагира со новиот изотип, но не и со други познати изотипови.

7. ИгМ и ИгД се разликуваат по нивните домени од константното подрачје, додека противгената специфичност се одредува по домените од варијабилното подрачје. Молекулите на ИгМ и ИгД кои имаат различни К домени, но идентични $В_Т$ и $В_Л$ домени се среќаваат кај дадена Б-клетка; на тој начин, клетката е униспецифична иако има два изотипа.

8. Предностите на ИгГ во споредба со ИгМ се (1) неговата способност да ја премине плацентата и да го штити фетусот

кој се развива, (2) неговата повисока серумска концентрација, што доведува до тоа да ИгГ противтелата се врзуваат и неутрализираат повеќе противгени молекули и со тоа се поефикасни при отстранувањето на противгенот, (3) неговиот помал обем, што му овозможува на ИгГ полесно да дифундира во меѓуклеточните течности. Недостатоците на ИгГ во споредба со ИгМ се неговиот помал капацитет да (1) аглутинира противгени и (2) да го активира комплементниот систем, двете се должат на помалата валенција на ИгГ.

9. (а) Види слики 4-6 и 4-7. Бројот на меѓуверижните дисулфидни врски кои ги поврзуваат тешките вериги варира кај ИгГ потклассите (види слика 4-18). (б) Нацртајте димер кој содржи тешки вериги. Додајте J-верига и секреторен дел (види слика 4-19а). (в) Нацртајте пентамер кој содржи ми тешки вериги. Ми тешката верига содржи пет домени и нема зглобно подрачје; дополнителниот $К_Т$ домен го заменува зглобното подрачје. Додајте J-верига. Пентамерниот ИгМ исто така има дополнителни меѓуверижни дисулфидни врски кои ги поврзуваат $К_Т$ домените во поединиците и J-веригата со две од поединиците (види слика 4-17е).

10.

Својство	Цел ИгГ	Т-верига	Л-верига	Фпв	$Ф(пв')_2$	Фк
Се врзува за противген	+	+/-	+/-	+	+	-
Двовалентно противгено поврзување	+	-	-	-	+	-
Се врзува за Фк рецепторите	+	-	-	-	-	+
Го фиксира комплементот во присуство на противген	+	-	-	-	-	-
Има В домени	+	+	+	+	+	-
Има К домени	+	+	+	+	+	+

11. (а) АЛ. (б) ИД. (в) ИС. (г) АЛ. (д) Нема формирани противтела.

12.

	Противсерум од зајак за дел од глувчешко противтело				
	Гама-верига	Капа-верига	ИгГ Фпв фрагмент	ИгГ Фк фрагмент	J-верига
Глувчешка гама-верига	Да	Не	Да	Да	Не
Глувчешка капа-верига	Не	Да	Да	Не	Не
Глувчешки ИгМ цел	Не	Да	Да	Не	Да
Глувчешки ИгМ/Фк фрагмент	Да	Не	Не	Да	Не

13. (а) Имуноглобулинските здиплени домени содржат приближно 110 аминокиселински остатоци, кои се распоредени во две противпаралелни бета поставени ленти, секоја составена од повеќе бета-вериги кои се одделени со кратки јамки со различни должини. Секој Иг-здиплен домен се стабилизира со внатредоменска дисулфидна врска меѓу два зачувани цистеински остатоци кои се оддалечени околу 60 остатоци. (б) Се верува дека структурата на Иг-здипленият домен ги олеснува меѓудејствата помеѓу домените; таквите меѓудејства помеѓу нехомологните домени може да овозможи разни членови од имуноглобулинската суперфамилија да се врзат меѓусебно.

14. Хиперваријабилните региони, исто така наречени комплементарно одредувачки подрачја (КОП), се поставени во јамките на имуноглоублинските обвивки кои ги сочинуваат $В_Т$ и $В_Л$ домените. Во секој $В_Т$ домен постојат три хиперваријабилни подрачја и три во секој $В_Л$ домен. Остатоците во хиперваријабилните подрачја ги сочинуваат повеќето аминокиселини вклучени во поврзувањето на противгенот.

15. Најниската вредност на променливоста се добива кога истата аминокиселина секогаш е присутна на дадена позиција и променливоста изнесува 1 (1/1=1). Највисока вредност на променливоста се добива кога секоја од 20-те можни аминокиселински мономери ќе се појави на одредена позиција со еднаква фреквенција (0,05). Променливост=20/0,05=400.

16. Противсерумот исто така ќе содржи противтела за капа и ламбда лесните вериги, кои се присутни во сите изотипови. За да се подготви ИгГ-специфичен противсерум, испитувачот треба ги намали меѓуверижните дисулфидни врски во глувчешкиот ИгГ со меркаптоетанол и да ја изолира тешката верига. Зајаците кои се имунизирани само со глувчешки тешки вериги ќе бидат специфични за ИгГ изотипот.

17. (а) Четири различни противген-врзувачки места (кои се означени со темна боја) и 10 различни противтелни молекули: $Т_СЛ_С/Т_СЛ_С$, $Т_МЛ_М/Т_СЛ_С$, $Т_СЛ_М/Т_СЛ_М$, $Т_МЛ_С/Т_МЛ_С$, $Т_СЛ_С/Т_СЛ_С$, $Т_СЛ_С/Т_СЛ_М$, $Т_СЛ_С/Т_МЛ_С$, $Т_СЛ_С/Т_СЛ_М$, $Т_СЛ_С/Т_МЛ_С$ и $Т_СЛ_М/Т_МЛ_С$. (б) Две различни противген-врзувачки места и три различни противтелни молекули: $Т_СЛ_С/Т_СЛ_С$, $Т_МЛ_С/Т_МЛ_С$, $Т_СЛ_С/Т_МЛ_С$. (в) Едно врзувачко место и еден противтелен молекул: $Т_СЛ_С/Т_СЛ_С$.

18. (а) 3, 6, 10, 11. (б) 4. (в) 2, 9, 12. (г) 5. (д) 1, 3, 4, 7, 8, 11.

19. Противтелото најверојатно вкрстено се поврзува со рецепторите на клеткината површина, што доведува до првиот чекор на рецепторска активација за овој вид на рецептор, на тој начин го имитира дејството на лигандот. Инкубацијата на растворот од моноклонското противтело со ензимот папин ќе го разложи противтелото на начин кој создава едновалентни Фпв фрагменти. Фпв фрагментите ја задржуваат способноста да се врзат за рецептори, но не можат вкрстено да се поврзат со нив. Со употреба на Фпв фрагментот во експериментот ќе се открие дали противтелото ќе го блокира врзувањето на лигандот со рецепторот.

20. Ако мајката го дои детето, многу имунолошки делови се пренесуваат на детето. Секреторниот ИгА е првичното противтело кое се пренесува преку млекото. Други состојки, исто така, му помагаат на детето кое расте да го инхибира микробниот раст, вклучувајќи ги цитокините, хормоните и ензимите.

Поглавје 5

Прашања од клиничкиот фокус: Како што објаснивме во табелата од клиничкиот фокус, зевалинот претставува глувчешко моноклонско противтело, а ритуксанот е хуманизирано моноклонско противтело. Ритуксанот има долг полуживот кај луѓето, а зевалинот има многу краток бидејќи глувчешките противтела брзо се отстрануваат кај луѓето. Бидејќи зевалинот се отстранува од телото за неколку часа по примањето на инјекцијата, тешко е да се одржат терапевтски ефикасни дози. Од друга страна, една доза ритуксан останува во телото во терапевтски ефикасни дози во траење од неколку недели. Сепак, ако ритуксанот се обележи со радиоактивен изотоп, зрачењето не исчезнува од телото, туку останува подолг период и дава висока доза која може да биде опасна за домаќинот. Наспроти тоа, глувчешкото моноклонско противтело зевалин може да се користи да го достави радиоизотопот до популацијата на целни клетки и дава зрачење во интервал кој е доволно долг за да убие голем број туморски клетки, но доволно краток за да се избегне сериозна радијациска повреда на домаќинот.

1. (а) Неточно: генските сегменти Вкапа и K_I се поставени на одделни хромозоми и не можат да се спојат при генското преуредување. (б) Точно. (в) Точно. (г) Точно. (д) Точно. (ѓ) Точно.

2. Генските сегменти $B_Т$ и $J_Л$ не можат да се спојат бидејќи се попречени од рекомбинациските сигнални секвенци (РСС) кои содржат 23-бп (со две поместувања) поместувач (види слика 5-6б). Според правилото за поврзување со едно/две поместувања, сигналните секвенци кои имаат поместувач за две поместувања можат да се спојат само со сигналните секвенци кои имаат поместувач за едно поместување (12-бп).

3. Лесни вериги: 500 x V_L 3 4 J_L = 2 3 10^3
Тешки вериги: 300 $V_Н$ x 3 15 $D_Н$ 3 4 $J_Н$ = 1.8 3 x 10^4
Противтелни молекули: (2 x 3 10^3 LC_S) x 3 (1.8 x 3 10^4 HC_S) = 3.6 x 3 10^7

4. (а) 1, 2, 3. (б) 3. (в) 3. (г) 5. (д) 2, 3, 4. (ѓ) 2. (е) 5.

5. Соматската мутација придонесува за променливоста на сите три комплементарно одредувачки подрачја. Дополнителна варијабилност се создава во КОП3 од тешките и од лесните вериги со зглобна флексибилност, која настанува при тешковерижните Д-Ј и В-ДЈ преуредувања и лесноверижните В-Ј преуредувања, со додавањето на нуклеотидот П во тешко и лесноверижните споеви во варијабилните подрачја и со додавањето на нуклеотидот Н во тешковерижните Д-Ј и В-ДЈ споеви. Види табела 5-3.

6. (а) Р: Мора да настане продуктивно преуредување на тешковерижниот алел 1 бидејќи клетката прикажува тешки вериги кои се кодирани од овој алел. (б) Г: Алелското исклучување го спречува тешковерижниот алел 2 да претрпи или продуктивно или непродуктивно преуредување. (в) НП: Капа-гените се преуредуваат пред ламбда-гените. Бидејќи клетката прикажува ламбда лесни вериги, двата капа-алели мора да претрпеле непродуктивно преуредување и на тој начин дозволуваат да се случи преуредување на ламбда-гените. (г) НП: Истите причини кои се дадени за (в), претходно. (д) Р: Мора да настанало продуктивно преуредување на ламбда-веригата алел 1 бидејќи клетката прикажува ламбда лесни вериги кодирани од овој алел. (ѓ) Г: Алелското исклучување ѝ забранува на ламбда-веригата алел 2 да претрпи продуктивно или непродуктивно преуредување (види слика 5-11).

7. ДНК од капа-веригата мора да го има составот на зародишната линија бидејќи мора да настане продуктивно преуредување на тешката верига пред ДНК од лесната верига (капа) да почне со преуредување.

8. (а) Не. (б) Да. (в) Не. (г) Не. (д) Да.

9. Случајното додавање на Н нуклеотидот на Д-Ј и В-ДЈ споевите придонесува за разновидноста на КОП3 на тешките вериги, но овој процес може да доведе до непродуктивно преуредување ако не се зачува рамката која чита триплети.

10. Врските помеѓу генските сегменти ($B_Л$-$J_Л$и $B_Т$-$Д_Т$-$J_Т$) од варијабилните подрачја се појавуваат кај КОП3. За време на создавањето на овие врски, спојувачката флексибилност, додавањето на нуклеотидите П и Н предизвикуваат разновидност. Бидејќи овие процеси не влијаат врз остатокот од варијабилното подрачје, КОП3 покажува најголема разновидност.

11. Четири шанси (види слика 5-11).

12. (а) 5. (б) 5, 6, 9. (в) 1. (г) 4. (д) 2, 8. (ѓ) 2, 11. (е) 3, 7. (ж) 3, 10.

13. Бидејќи глувчешките противтела брзо се отстрануваат од човечкиот систем, терапевтските противидиотипски противтела кои потекнуваат од глувците се најефикасни ако се хуманизираат, т.е., генскиот инженеринг се користи за замена на сите глувчешки секвенци освен на ЦЕР со човечки Иг секвенци. Доста неверојатно е дека Б-клеточните лимфоми од различни пациенти ќе го имаат истиот идиотип. Според тоа, ова е метод кој треба да се повторува кај секој пациент со Б-лимфом за кого и е наменет.

14. (а) РНК. (б) РНК. (в) ДНК. (г) ДНК. (д) ДНК.

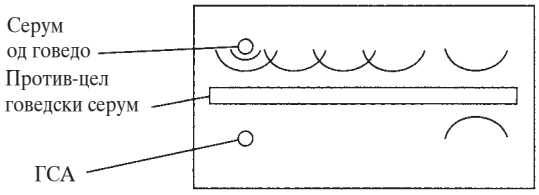
15. Противтелната специфичност не се наследува од родителите. Таа се одредува на ДНК ниво преку случајно уредување на геномот кој го кодира противген-врзувачкото подрачје од противтелото. Според тоа, склоноста да се создаде ИгЕ може да е наследена од родителите, но специфичноста на ИгЕ молекулите ќе биде одредена различно кај секое лице.

Поглавје 6

Прашања од клиничкиот фокус: Потпопулациите на леукоцити и леукемиите обично се карактеризираат со присуството на различна група на обележувачи врз клеточната површина, при што секој обележувач противгенично е различен од другите. Најразновидните и специфични реагенси за откривање и карактеризирање на овие обележувачи се противтелата. Технологијата на моноклонските противтела претставува единствениот основен метод за подготовка на противтела кои се специфични за секој од повеќе од 200 различни противгени кои се среќаваат врз површината од различни леукоцитни типови, популации и потпопулации.

1. (а) Точно. (б) Точно. (в) Неточно: Папаинската дигестија дава едновалентни Фпв фрагменти, кои не можат вкрстено да ги поврзат противгените. (г) Точно. (д) Точно. (ѓ) Точно (е) Точно. (ж) Неточно: Тестовите за аглутинација се почувствителни. (з) Неточно: тие обично се изведуваат како квалитативни тестови. (s) Неточно: Авидитетот на меѓудејството помеѓу двовалентното противтело Б и противгенот со повеќе епитопи Ц може да биде висок како $(Ка)^2$.

2. (а) Цел говедски серум. (б) Погледнете ја следнава слика.



3. Шише А: Х1-Ц1. Шише Б: Х2-Ц2. Шише В: Х2-Ц1. Шише Г: Х1-Ц1.

4. а, в и з (хромогена ЕЛИСА, РИА и хемилуминисцентната ЕЛИСА може да се користат за да се одреди концентрацијата на хаптенот).

5. (а) Изолирајте ги тешките вериги од миеломските протеини со познат изотип. Имунизирајте ги зајаците со изолираните тешки вериги за да се добие противсерум за секој тешковерижен изотип. Апсорбирајте ги сите овие тешковерижни противсеруми со сите други познати класи на тешки вериги за да го отстраните секој тешковерижен изотип кој е вкрстено реактивен со противтелата. Потоа одредете кој од овие против изотипски противсеруми реагира со миеломскиот протеин Х со употреба на ЕЛИСА. (б) Употребете го против миеломското протеинско противтело како основа за создавање на квантитативна ЕЛИСА која ќе овозможи мерење на нивото на миеломскиот протеин во серумот.

6. (а) ЕЛИСА. (б) ЕЛИСА или РИА. (в) ЕЛИСА. (г) Имунофлуоресценција. (д) Аглутинација. (ѓ) ЕЛИСА. (е) Аглутинација.

7. (б)

8. Афинитетот се однесува на силата на меѓудејство меѓу *поединчено* противген-врзувачко место на противтелото и соодветниот лиганд. Авидитетот се однесува на целата ефикасна сила од сите меѓудејства помеѓу *повеќе* противген-врзувачки места на противтелото и повеќе исти епитопи кај комплексен противген. Бидејќи бактериите често имаат повеќе копии од одреден епитоп на нивната површина, авидитетот на противтелото претставува подобра мерка од афинитетот за неговата способност да се бори со бактериите.

9. (а) Противсерум #1 $K_0 = 1.2 \times 10^5$; противсерум #2 $K_0 = 4.5 \times 10^6$; противсерум #3 $K_0 = 4.5 \times 10^6$. (б) Секое противтело има валенција 2. (в) Противсерум #2 (г) Моноклонскиот противсерум #2 ќе биде најдобар бидејќи препознава еден епитоп на хормонот и, затоа, ќе биде помалку можно од поликлонскиот противсерум вкрстено да реагира со другите серумски протеини.

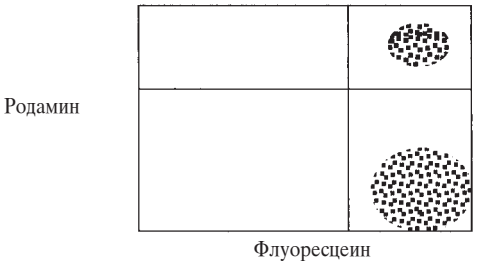
10. (а) Епруветката 1 содржела $Ф(пв9')_2$ фрагменти. Бидејќи овие фрагменти содржат две противген-врзувачки места, тие можат вкрстено да ги поврзат и подоцна да ги аглутинираат ОЦКЗ. Активацијата на комплементот од страна на ИгГ бара присуство на Фк фрагментот, кој недостасува од $Ф(пв9')_2$ фрагментите. (б) Епруветката 2 содржела Фпв фрагменти. Унивалентните Фпв фрагменти можат да се врзат за ОЦКЗ и да ја инхибираат понатамошната аглутинација од целиот против-ОЦКЗ. (в) Епруветката 3 содржела неоштетено противтело. (г) Епруветката 4 содржела Фк фрагменти. Овие фрагменти немаат противген-врзувачки места и според тоа не можат да ги посредуваат противтелните ефекторни функции.

11. Реакцијата С+Л=СЛ. Напишано според законот за дејство на масата, $[SL]/[S][S][L] = K_a$.
Нека В = [SL] и $[S]=([S_t]-[SL]$. Се заменува $B/[S_{t-}B]$ $F=K_a [S_{t-}B]$.

12. (а) 2, 3, 4, 6. (б) Пациент 1: 1000; пациент 2: нема титар; пациент 3: 10; можно е пациентите 1 и 3 да биле изложени, бидејќи развиле противтела за Хантавирусот. Пациентот 2 нема титар и според тоа не бил изложен.

13. Сите примероци од Вестернови дамки покажуваат одредена реактивност, што значи дека секое лице кое било тестирано имало противтела кои се врзуваат со најмалку еден од противгените на грипот. Ова ќе значи дека новиот вид е противгено сличен на постоечките видови и малку е веројатно дека ќе предизвика драстичен проблем ако општото население реагира слично на тестираните волонтери.

14. (а) Клетките треба да се инкубираат со двете првични противтела, да се измијат и потоа да се инкубираат со вторични обележани противтела. Примерокот потоа се нанесува во инструментот така што флурохромот ќе се екцитира од ласерот и ќе се одбие согласно со тоа.
(б) Горниот лев квадрат содржи клетки кои прикажуваат високи нивоа на рецепторот, а долниот десен квадрат ќе содржи нетрансфектирани клетки или клетки кои прикажуваат ниско ниво на рецептор.



15. ЕЛИСПОТ користи цели живи клетки и може да открие колку клетки во популацијата прикажуваат растворлив противген. Релативните големини на точките исто така претставуваат индикација за количеството на противген кој се произведува. Во сендвич ЕЛИСА, може да се одреди само количината на растворливиот противген, сепак, одредувањето е квантитативно, а не квалитативно. При двете анализи, плочката е обложена со имобилизирачко противтело. Во сендивич ЕЛИСА-та, противгениот раствор се додава без клетки (на пр., супернатант од култура). Во ЕЛИСПОТ, противген-секретирачките клетки се додаваат директно на плочката. Во двете анализи, неврзаниот противген се плакне и се додава вторично противтело кое е означено со ензим. Во сендвич ЕЛИСА-та, растворлив хромоген супстрат се користи за откривање во спектрохромометриски читач на плочки. Во ЕЛИСПОТ, обоениот продукт не смее да може да дифундира од местото, за да може визуелно да се одреди бројот на точки.

Анализирање на податоци (а) Неточно. НП-сродниот хаптен НИП бил инхибиторен при концентрација од 2×10^{-5} М. Според тоа, Б-клетките имале повисок афинитет за овој хаптен од НП, кој барал повисока концентрација, од 3×10^{-4} М, за да го инхибира врзувањето за обележаниот НП. Малите хемиски промени на

противгените можат да го подобрат или влошат афинитетот кој противтелото го има во зависност од тоа како модификациите ќе влијаат врз силите кои се вклучени во врзувањето (на пр., водородните врски, хидрофобните меѓудејства и ван дер Валсовите сили).

(б) Најверојатно настанало превклучување на класите. Идиотипот специфичен за пНП-ЦГГ најверојатно бил ИгМ веднаш по завршувањето на Б-клеточната диференцијација. Сепак, при одговор на соодветните Т-клеточни цитокини, Б-клетките веројатно ја промениле класата, хипотеза која е поддржана од податоците на слика 2а, што покажува дека концентрацијата на ИгГ се зголемила во меѓувреме.

(в) Соматска мутација настанала за време на имуниот одговор за да се овозможи фино приспособување на специфичноста на Б-клеточните рецептори за пНП. Како што се ограничувал противгенот, имало селекција на Б-клеточни клонови со повисок афинитет, што резултирало со афинитетно зреење/повисок афинитет.

(г) Генските преуредувања на капа лесната верига не биле успешни и резултирале со селекција на ламбда лесните вериги.

(д) Комбинаторното поврзување на истата тешка верига со различна лесна верига треба да резултира со прикажување на противтело со различен идиотип.

Поглавје 7

Прашања од клиничкиот фокус: Дефектите на единечни делови од комплементната патека може да доведат до нарушен имунитет на одредени групи на патогени или во одредни случаи до болест на имуни комплекси. Во повеќето случаи исходот не е опасен по живот и нема тежок имунонедостаток бидејќи има вишок механизми за борба со вообичените патогени. Дефектите на регулаторите на комплементот се сериозни бидејќи комплементниот систем има моќ да уништува клетки доколку не се прават проверки на неговата активност. Во случај на ПНХ (види клинички фокус), црвените крвни клетки на домаќинот се лизирани бидејќи тие кои се засегнати имаат недостаток на клеточно површински молекули (ДАФ и МИРЛ) кои ја ограничуваат активноста на комплементот на клетките од истиот вид.

1. (а) Точно. (б) Точно. (в) Точно. (г) Точно. (д) Неточно: Обвитканите вируси можат да бидат лизирани од комплементот бидејќи нивната надворешна обвивка потекнува од плазма мембраната на клетката домаќин. (ѓ) Точно.

2. Серумскиот ИгМ се наоѓа во планарна форма каде комплемент-врзувачките места на Фк регионот не се пристапни. Само по врзувањето со противгенот ИгМ зазема форма во која комплемент-врзувачките места се пристапни (види слика 7-4).

3. (а) Нема да биде засегната активацијата на класичната патека. Нема да настане активација на алтернативната патека. Алтернативната патека се потпира врз спонтаното отстранување на К3. (б) Отстранувањето на имуните комплекси ќе се намали бидејќи отстранувачкиот фрагмент К3б нема да биде достапен за да ги прикачи имуните комплекси за еритроцитите преку КР1 за отстранување во црниот дроб и слезината. (в) Фагоцитозата ќе биде намалена поради недостаток на опсонинот К3б кој се врзува за површината на бактериската клетка. (г) Прикажувањето на противгените ќе биде намалено индиректно поради неефикасната фагоцитоза на бактериите од страна на макрофагите и други фагоцитни противген прикажувачки клетки.

4. Лиза на бактериите, обвитканите вируси и клетките преку создавањето на мембрански атак на комплексот; опсонизација на напаѓачките клетки за засилување на фагоцитозата; целењето на обвиткатните клетки од клетките на имуниот систем кои носат комплементни рецептори, го зголемуваат воспалителниот одговор на местото на инфекцијата; целат на имуните комплекси за отстранување преку понудување на врзувачки места за комплементните рецептори на фагоцитите и црвените крвни клетки.

5. (а) Класичната патека е поттикната од имуните комплекси кои вклучуваат ИгГ или ИгМ. Алтернативната патека, во основа, е поттикната од деловите на клеточниот sид на бактеријата, а лектинската патека е поттикната преку врзување на маноза врзувачкиот лектин (МВЛ) за јаглехидратите од клеточниот sид на микробите. (б) Секвенците на почетните реакции кои создаваат К5 конвертаза се исти, по К1 чекорот, за класичната и лектинската патека, но се разликуваат помеѓу овие две патеки и алтернативната патека. Терминалната секвенца која води од врзаниот К5б до МАК е иста кај сите три патеки. Види слика 7-2. (в) Активацијата на комплементот преку која било од трите патеки ги има *истите* биолошки последици бидејќи деловите кои ги посредуваат сите биолошки ефекти на комплементот се создаваат кај сите три патеки.

6. (а) Невина набљудувачка лиза може да се појави кога К5б67 се врзува за соседните здрави клетки, вклучувајќи ги и црвените крвни клетки. Врзувањето на С-протеинот за слободниот К5б67 го спречува неговото вметнување во мембраната на црвените крвни клетки и другите здрави клетки. Покрај тоа, црвените крвни клетки содржат два мембрански протеини, хомологен рестрикциски фактор (ХРФ) и мембрански инхибитор на реактивната лиза (МИРЛ), кои ја блокираат терминалната секвенца која води до фомирање на МАК и при тоа ги заштитува овие клетки од неспецифичната комплементно посредувана лиза. (б) Дефектот на С-протеинот, на мембрански врзаните ХРФ и МИРЛ, или на фосфолипидните мембрански сидра кои ги врзуваат ХРФ и МИРЛ за клеточната површина теоретски може да доведе до зголемена комплементно посредувана лиза на црвените крвни клетки. Присуството на дефектни мембрански сидра било поврзано со хроничната хемолитична анемија кај одредени лица.

7. Види табела 7-2.

8. (а) 4. (б) 5. (в) 6. (г) 2. (д) 7. (ѓ) 11. (е) 3. (ж) 1. (з) 8. (s) 10. (и) 9. (j) 12.

9.

	Отстранети делови						
	К1к	К4	К3	К5	К6	К9	фактор Б
Комплементна активација							
Создавање на К3 конвертаза по класичната патека	А	А	NE	NE	NE	NE	NE
Создавање на К3 конвертаза по алтернативната патека	NE	NE	А	NE	NE	NE	А
Создавање на К5 конвертаза по класичната патека	А	А	А	NE	NE	NE	NE
Создавање на К5 конвертаза по алтернативната патека	NE	NE	А	NE	NE	NE	А
Ефекторни функции							
К3б-посредувана опсонизација	D	D	А	NE	NE	NE	D
Неутрофилна хемотакса	D	D	D	D	D	NE	NE
Клеточна лиза	D	D	А	А	А	А	D

Поглавје 8

Прашања од клиничкиот фокус: ТАП недостатокот доведува до недостаток на класа 1 молекулите врз клеточната површина или тип 1 синдром на голи лимфоцити. Ова води до делумен имунонедостаток ако тоа противгено прикажување е загрозено, но постојат КПУ и гама-делта Т-клетки за ограничување на вирусната инфекција. Автоимунитетот се јавува како резултат од недостатокот на класа 1 молекулите кои даваат негативни сигнали преку молекулите на инхибиторниот рецептор на клетката-убиец (КИР); меѓудејствата помеѓу КИР и класа 1 молекулите ги спречуваат КПУ да ги лизираат целните клетки. Во нивно отсуство, сопствените клетки претставуваат цели на автоимуниот напад на клетките од кожата, што доведува до лезии кои се среќаваат кај пациентите со недостаток на ТАП.

Употребата на генската терапија за лекување на лицата кои се засегнати со недостаток на ТАП се комплицира со фактот што класа 1 гените се прикажуваат речиси врз сите јадрени клетки. Бидејќи класа 1 продуктот е врзан за клетката, секоја дефицитна клетка мора да се поправи за да се изедначат ефектите од овој проблем. Според тоа, иако замената на дефектниот ген можеби е теоретски возможна, потврдувањето кои клетки можат да се поправат со трансфекција на функционалниот ген и повторно да се внесат во домаќинот останува пречка.

1. (а) Точно. (б) Точно. (в) Неточно: Класа 3 ГТК молекулите се растворливи протеини кои не функционираат при претставувањето на противгенот. Тие вклучуваат одреден број комплементни делови, ТНФ-алфа, ТНФ-бета, и два топлински шок протеини. (г) Неточно: Потомокот на хетерозиготните родители наследува по еден ГТК хаплотип од секој родител и според тоа ќе прикаже одредени молекули кои се разликуваат од оние кај секој родител. Поради оваа причина, родителите и потомокот се хистоинкомпатибилни. Наспроти тоа, браќата и сестрите имаат една од четири шанси да бидат хистокомпатибилни (види слика 8-2в). (д) Точно. (ѓ) Неточно: Повеќето јадрени клетки прикажуваат класа 1 ГТК молекули, но невроните, плацентални клетки и сперматозоидите во одредени фази од диференцијацијата имаат недостаток на класа 1 молекули. (е) Точно.

2. (а) Клетки од црниот дроб: класа 1 K^d, K^k, D^d, D^k, L^d и L^k.
(б) Макрофаги: класа 1 K^d, K^k, D^d, D^k, L^d и L^k. Класа 2 $IA\alpha^k\beta^k$, $IA\alpha^d\beta^d$, $IA\alpha^k\beta^d$, $IA\alpha^d\beta^k$, $IE\alpha^k\beta^k$, $IE\alpha^d\beta^d$, $IE\alpha^d\beta^k$

3.

	ГТК молекули прикажани врз мембраната од трансфектираните Л-клетки					
Трансфектиран ген	D^k	D^b	K^k	K^b	IA^k	IA^b
Нема	+	-	+	-	-	-
K^b	+	-	+	+	-	-
IAалфа^b	+	-	+	-	-	-
IAбета^b	+	-	+	-	-	-
IAалфа^b и IAбета^b	+	-	+	-	-	+

4. (а) SLJ макрофагите ги прикажуваат следниве ГТК молекули: K^s, D^s, L^s и IA^s. Поради делеција на IEалфа локусот, IE^s не се прикажува на овие клетки. (б) Трансфектираните клетки ќе прикажуваат еден хетерологен IE молекул, IEалфа^{k}бета^s, и еден хомологен IE молекул, IEалфа^{k}бета^k, како додаток на молекулите кои се наведени под (а).

5. Види слики 8-3, 4-6 и 4-25.

6. (а) Полиморфните остатоци се групираат во кратки вериги првенствено во мембранските дистални домени од класа 1 и класа 2 ГТК молекулите (види слика 8-10). Овие подрачја го формираат пептид-врзувачкиот процеп на ГТК молекулите. (б) Се верува дека ГТК полиморфизмот потекнува од генската конверзија на кратките, речиси хомологни ДНК секвенци во неприкажаните псевдогени во ГТК за функционалните класа 1 или класа 2 гени.

7. (а) Размножувањето на $T_{ПО}$ клетки и создавањето на ИЛ-2 од нив се открива во анализата 1, а убивањето на LCM-заразените целни клетки од цитотоксичните Т-лимфоцити (ЦТЛ) се открива во анализата 2. (б) Анализата 1 претставува функционална анализа за класа 2 ГТК молекулите, а анализата 2 претставува функционална анализа за класа 1 ГТК молекулите. (в) Класа 2 IA IAалфа^b и IAбета^b молекулите се потребни за анализата 1, а класа 2 D^d молекулите се потребни за анализата 2. (г) Можете да трансфектирате L-клетки со IA^k генот и да го одредите одговорот на трансфектираните клетки во анализата 1. Слично на тоа, може да трансфектирате одделен примерок на L-клетки со D^d генот и да го одредите одговорот на трансфектираните клетки во анализата 2. При секој случај, позитивниот одговор ќе го утврди идентитетот на ГТК молекулите кои се потребни за LCM-специфичната активност на клетките од слезината. Како контрола во секој случај, L-клетките треба да се трансфектираат со различен класа 1 или класа 2 ГТК ген и да се проценат со соодветната анализа. (д) Имунизираните клетки од слезината прикажуваат и IA^k и D^d молекули. Од наведените видови, само A.TL и (BALB/c x B10.A) Φ_1 ги прикажуваат овие две ГТК молекули, така што, тие се единствените видови од каде може да се изолираат клетките од слезината.

8. Невозможно е да се предвиди. Бидејќи пептид-врзувачкиот процеп е идентичен, двете ГТК молекули треба да се врзат за истиот пептид. Сепак, аминокиселинските разлики надвор од процепот можат да спречат препознавање на вториот ГТК молекул од страна на Т-клеточниот рецептор на $T_{цт}$ клетките.

9. Ако ЦКК прикажуваат ГТК молекули, тогаш пред крвната трансфузија ќе биде потребно детално ткивно типизирање, а само неколку лица ќе бидат прифатливи дарители за дадено лице.

10. (а) Не. Иако лицата со хаплотипот А99/Б276 имаат значително зголемен релативен ризик, не постои апсолутна врска помеѓу овие алели и болеста. (б) Скоро сите лица со болеста ќе го имаат хаплотипот А99/Б276, но во зависност од точниот ген или гени кои се одговорни, тоа може да не биде потребно за разојот на заболувањето. Ако генот кој е одговорен за оваа болест се наоѓа помеѓу локусите А и Б, тогаш можат да се забележат послаби врски помеѓу А99 и Б267. Ако генот се наоѓа надвор од А и Б подрачјата и е поврзан со хаплотипот само со врска во темелот, тогаш можат да настанат врски со другите ГТК молекули. (в) Невозможно е да се знае колку често комбинацијата ќе се појавува во релативен однос на зачестеноста на двата поединечни алели; неурамнотежениот дисеквилибриум тешко е да се предвиди. Сепак, врз база на дадените податоци, може да се шпекулира дека поврзаноста со тоа болест која е фатална за лицата кои не достигнале репродуктивна возраст ќе има негативно влијание врз фреквенцијата на основачкиот хаплотип. Умен погодок би бил дека комбинацијата А99/Б276 ќе биде поретка отколку што се предвидува врз основа на фреквенцијата на алелите А99 и Б276.

11. Спогодбено, противген-прикажувачките клетки се дефинираат како клетки кои можат да прикажат противгени пептиди поврзани со класа 2 ГТК молекули и можат да достават костимулаторен сигнал за КД4$^+$ $T_{ПО}$ клетки. Целните клетки прикажуваат пептиди поврзани со класа 1 ГТК молекули на КД8$^+$$T_{цт}$ клетки.

12. (а) Сопственото ГТК спрегнување претставува карактеристика на Т-клетките кое го ограничува нивниот одговор на противгенот кој е поврзан со сопствените ГТК молекули на мембраната на противген-прикажувачките клетки или целните клетки. Во основа, КД4$^+$ $Т_{ПО}$ клетки се класа 2 ГТК-спрегнати, а КД8$^+$$Т_{ЦТ}$ клетки се класа 1 ГТК-спрегнати, иако може да се појават неколку искучоци од овој модел. (б) Противгената обработка вклучува внатреклеточно разградување на протеинските противгени до пептиди кои се поврзуваат со класа 1 или класа 2 ГТК молекулите. (в) Ендогените противгени се синтетизираат во променетите сопствени клетки (на пр., вирусно заразените клетки или туморските клетки), се преработуваат во цитозолната патека и се претставени со класа 1 ГТК молекулите на КД8$^+$ $Т_{ЦТ}$ клетки. (г) Егзогените противгени се внесени од противген-прикажувачките клетки, ги преработуваат во ендоцитната патека, и ги претставуваат со класа 2 ГТК молекули на КД4$^+$ $Т_{ПО}$ клетки.

13. (а) EN: Класа 1 молекулите се поврзуваат со противгените пептиди и ги прикажуваат на површината на целните клетки за КД8$^+$ $Т_{ЦТ}$ клетки. (б) EX: Класа 2 молекулите се поврзуваат со противгените пептиди и ги прикажуваат на површината на ППК за КД4$^+$ $Т_{ПО}$ клетки. (в) EX: Непроменливата верига стапува во меѓудејство со пептид-врзувачкиот процеп на класа 2 ГТК молекулите во рапавиот ендоплазматски ретикулум, и при тоа го спречуваат врзувањето со пептиди од ендогените противгени. Исто така таа помага при завиткувањето на класа 2 алфа и бета-веригите и при движењето на класа 2 молекулите од РЕР до ендоцитните оддели. (г) EX: Лизозомалните хидролизи ги разложуваат ендогените противгени на пептиди; овие ензими исто така ја разложуваат непроменливата верига која е поврзана со класа 2 молекулите, за да можат да се поврзат пептидите и ГТК молекулите. (д) EN: ТАР, трансмембранскиот протеин кој е лоциран во РЕР мембраната, посредува при транспортот на противгените пептиди кои се создаваат во цитозолната патека во РЕР луменот каде можат да се поврзат со класа 1 ГТК молекулите. (ѓ) В: Во ендогената патека, везикулите кои содржат пептид-класа 1 ГТК комплекси мигрираат од РЕР во Голџиевиот комплекс и на крајот на клеточната површина. Во егзогената патека, везикулите кои ја содржат непроменливата верига поврзана со класа 2 ГТК молекулите мигрираат од РЕР во Голџи и во ендоцитните оддели. (е) EN: Протеазомите се големи протеински комплекси со многукратна пептидазна активност која ги разградува внатреклеточните протеини во цитоплазмата. Кога се поврзуваат со ЛМП2 и ЛМП7, кои се кодирани во ГТК регионот, и ЛМП10, кој не е кодиран од ГТК, протеазомите првенствено создаваат пептиди кои се поврзуваат со класа 1 ГТК молекулите. (ж) EX: Противген-прикажувачките клетки ги внесуваат егзогените (надворешните) противгени преку фагоцитоза или ендоцитоза. (з) EN: Калнексинот претставува протеин во РЕР мембраната кој се однесува како молекуларен придружник, кој помага при завиткувањето и поврзувањето на новоформираните класа 1 алфа-вериги и бета$_2$ микроглобулинот во хетеродимери. (s) EX: По разложувањето на непроменливата верига која е поврзана со класа 2 ГТК молекулот, мал фрагмент наречен КЛИП останува поврзан за пептид-врзувачкиот процеп кој што првенствено ги спречува несозреаните пептиди да се врзат за ГТК молекулот. На крајот, КЛИП се истиснува од противген пептид. (и) EN: Тапасин (ТАП- поврзан протеин) го носи транспостерот ТАП во близина на класа 1 ГТК молекулот и му овозможува на ГТК молекулот да стекне противген пептид (види слика 8-20).

14. (а) Хлороквинот ја инхибира ендоцитната обработувачка патека, така што ППК не можат да прикажат пептиди кои потекнуваат од природните лизозими. Синтетскиот лизозимен пептид ќе се размени со другите пептиди кои се поврзани со класа 2 молекулите на ППК мембраната, така што ќе бидат прикажани на $Т_{ПО}$ клетки и ќе поттикнат нивната активација. (г) Задоцнувањето на додавање хлороквин овозможува време за природниот лизозим да се разгради во ендоцитната патека.

15. (а) Стеблести клетки: конститутивно ги прикажуваат и класа 2 ГТК молекулите и костимулаторниот сигнал. Б-клетките: конститутивно прикажуваат класа 2 молекули, но мора да се активираат пред да го прикажат Б7 костимулаторниот сигнал. Макрофагите: мора да се активираат пред да ги прикажат било класа 2 молекулите или Б7 костимулаторниот сигнал. (б) Види табела 8-3. Голем број непрофесионални ППК функционираат само при одржливите воспалителни реакции.

16. (а) Р. (б) Р. (в) НР. (г) Р. (д) НР. (ѓ) Р.

17. Иако и ХЛА-ДМ и -ДО се кодираат во ГТК и двата се хетеродимери од алфа и бета-вериги, тие се разликуваат од класичните класа 2 ГТК молекули по тоа што ниту се полиморфни ниту се прикажуваат на површината на клетката. ХЛА-ДМ и ДО се разликуваат меѓусебно по тоа што ДМ се прикажува на истите клетки како класичните класа 2 молекули, додека ХЛА-ДО се прикажува само на Б-клетките и во тимусот. Прикажувањето на ДМ нагорно се регулира со интерферонот гама, кој не влијае врз прикажувањето на ДО. Функцијата на ДМ е да ја катализира внатреклеточната размена на КЛИП (класа 2 поврзан непроменлив верижен пептид) со противген пептид. Точната функција на ДО останува нејасна, но достапните докази покажуваат дека се врзува за ДМ и поради тоа игра улога во надолната регулација на ДМ активноста.

18. (а) Внатреклеточните бактерии, како што се членовите од фамилијата *Mycobacterium*, претставуваат главен извор на непептидни противгени; противгените кои се среќаваат при комбинацијата со КД1 се липидни и гликолипидни делови од клеточниот ѕид на бактеријата. (б) Членовите од КД1 фамилијата се поврзуваат со бета$_2$ микроглобулинот и имаат структурна сличност со класа 1 ГТК молекулите. Тие не се вистински ГТК молекули бидејќи не се кодираат во ГТК и се наоѓаат на различен хромозом. (в) Патеката за преработување на противгенот кој е презимен од КД1 молекулите се разликува од онаа која се презема од класа 1 ГТК молекулите. Главна разлика е тоа што КД1 противгеното преработување не е инхибирано во клетките на кои им недостасува ТАП, додека класа 1 ГТК молекулите не можат да претстават противген на ТАР-недостаточните клетки.

19. (б) ТАП1-ТАП2 комплексот е лоциран во ендоплазматскиот ретикулум.

20. Потомокот мора да ги наследил ХЛА-А 3, ХЛА-Б 59 и ХЛА-Ц 8 од мајката. Потенцијалниот татко 1 не може да биде биолошкиот татко бидејќи иако ги дели ХЛА одредниците со потомокот, одредниците се истиот генотип кој е наследен од мајката. Потенцијалниот татко 2 може да биде биолошкиот татко бидејќи тој ги прикажува ХЛА гените кои ги прикажува потомокот, а кои не се наследени од мајката (ХЛА-А 43, ХЛА-Б 54, ХЛА-Ц 5). Потенцијалниот татко 3 не може да биде биолошкиот татко бидејќи иако ги дели ХЛА одредниците со потомокот, одредниците се истите гени кои се наследени од мајката.

Анализирање на податоци: (а) Да. При споредбата на релативната количина на $Л^d$ и $Л^q$ молекулите без пептиди, постојат околу половина повеќе отворени $Л^q$ молекули од $Л^d$ молекули. Податоците покажуваат дека $Л^q$ молекулите формираат помалку стабилни пептидни комплекси од $Л^d$ молекулите.

(б) Делот (а) од сликата покажува дека 4% од $Л^d$ молекулите не се врзуваат за пептидот МЦМВ во споредба со 11% на $Л^d$ по W на R мутацијата. Според тоа, постои благо намалување во пептидното врзување за $Л^d$. Интересно е да се забележи дека неспецифичното пептидно врзување се зголемува неколку пати по мутагенезата, врз база на ниското количество на отворената форма $Л^d$ W97R (мутирана $Л^d$) наспроти природната $Л^d$.

(в) Делот (б) од сликата покажува дека 71% од $Л^d$ молекулите не се врзуваат за пептидот тум⁻ P91A14-22 по W на R мутацијата, во споредба со 2% за природните $Л^d$ молекули. Според тоа, по W на R мутацијата доаѓа до многу слабо врзување на пептидот тум⁻ P91A14-22.

(г) Ќе инјектирате глушец кој прикажува $Л^d$, бидејќи само 2% од $Л^d$ молекулите се отворени форми по додавањето на пептидот тум⁻ P91A14-22 во споредба со 77% слободни форми кога $Л^d$ молекулите се пулсираат со пептидот. Според тоа, $Л^d$ подобро ќе го претстави пептидот и веројатно подобро ќе ги активира Т-клетките од $Л^q$.

(д) Зачуваните сидрени остатоци од краевите на пептидот кој се врзува за ГТК, овозможува променливост на другите остатоци за да влијаат кој Т-клеточен рецептор ќе се поврзе со класа 1 ГТК -противген комплексот.

Поглавје 9

Прашања од клиничкиот фокус: Преуредувањата кои ги вклучуваат имуноглобулинските гени како и оние на гама-делта ТКР гените мора да се тестираат за да се отфрли лимфом кој вклучува размножување на Б-клетката или гама-делта Т-клетката. Клеточната популација треба микроскопски да се анализира за присуство на атипични клетки. Ако не се забележи генско преуредување на Иг или ТКР и бројот на атипичните клетки е нормален, можно е зголемувањето да е резултат од воспалителниот одговор наместо на размножувањето на канцерски клетки.

1. (а) Неточно: Растојанието помеѓу КД4 и ТКР е премногу големо за да се коисталожат. Сепак, КД3 и ТКР се доволно близу така што ќе се коисталожат при одговор на моноклонско против-КД3. (б) Точно. (в) Точно. (г) Неточно: ТКР гените од варијабилното подрачје се наоѓаат на различни хромозоми од Иг гените на варијабилното подрачје. (д) Неточно: Сите Т-клеточни рецептори имаат едно врзувачко место за пептид-ГТК комплексите. (ѓ) Неточно: Бидејќи алелското исклучување не е целосно за ТКР алфа-веригата, Т-клетката повремено прикажува две алфа-вериги што резултира од преуредувањето на девете алфа верижни алели. (е) Неточно: Механизмите се доста слични, но Т-клеточните рецептори не создаваат разновидност со соматска мутација како што прават имуноглобулините. (ж) Точно.
2. Функционалните алфа-бета ТКР гени од $Т_{ЦТ}$ клонот кои се специфични за еден хаптен на $Х\text{-}2^d$ целната клетка се трансфектирани во друг $Т_{ЦТ}$ клон кој е специфичен за втор хаптен на $Х\text{-}2^k$целната клетка. Анализите на цитолизата откриле дека трансфектираните $Т_{ЦТ}$ клетки убиле само целни клетки кои прикажувале противген поврзан со оригиналниот ГТК спрегнат елемент.
3. Види слика 9-3.
4. (а) КД3 е комплекс од три димери кои содржат пет различни полипептидни вериги. Тоа е потребно за прикажувањето на Т-клеточниот рецептор и игра улога при сигналното пренесување преку мембраната. КД3 и Т-клеточниот рецептор се поврзуваат за да формираат ТКР-КД3 мембрански комплекс (види слика 9-9). (б) КД4 и КД8 стапуваат во меѓудејство со мембранските- проксимални домени од класа 2 и класа 1 ГТК молекулите, соодветно, при што го зголемуваат авидитетот на меѓудејството помеѓу Т-клетките и пептид-ГТК комплексите. КД4 и КД8, исто така, играат улога во сигналното пренесување. (в) КД2 и другите помагачки молекули (ЛФА-1, КД28 и КД45Р) се врзуваат за нивните лиганди на противген-прикажувачките клетки и целните клетки. Почетниот контакт помеѓу Т-клетката и противген-прикажувачката клетка или целната клетка веројатно е посредуван од овие клеточни адхезивни молекули. Последователно, Т-клеточниот рецептор стапува во меѓудејство со пептид-ГТК комплексите. Овие молекули, исто така, може да функционираат при сигналното пренесување.
5. (а) ТКР. (б) ТКР. (в) Иг. (г) ТКР/Иг. (д) ТКР. (ѓ) ТКР/Иг. (е) Иг.
6. (а) Ова се трите претпоставки. (1) ТКР мРНК треба да се поврзе со мембрански врзаните полирибозоми, како мРНК кои кодираат други мембрански протеини. Според тоа, изолирањето на мембрански врзаната полирибозомална мРНК фракција значително ќе го збогати делот на ТКР мРНК во препаратите. (2) Б и Т-клетките ќе прикажуваат многу вообичаени гени, а уникатната Т-клеточна мРНК ќе ги вклучи само гените кои го кодираат Т-клеточниот рецептор. Според тоа, одземачката хибридизација која користи Б-клеточна мРНК ќе ги отстрани сите кДНК кои се заеднички за Б и Т-клетките, и ќе ја остави уникатната Т-клеточна кДНК нехибридизирана. (3) ТКР гените претрпуваат ДНК преуредување и поради тоа можат да се откријат со Садернови дамки со проби од кДНК. Види слика 9-2. (б) Ако тие сакале да го идентификуваат ИЛ-4 генот, требало да извршат одземачка хибридизација со употреба на $Т_{ПО}$ клонот како извор на ИЛ-4 и $Т_{ЦТ}$ клон како извор на мРНК на која ѝ недостасува информацијата за ИЛ-4. Покрај тоа, нема да се очекува преуредување на генот за ИЛ-4 и затоа не може да се утврди со анализата на Садерново дамкосување за генско преуредување.

7.

Генски продукт	Извор на кДНК	Извор на мРНК
ИЛ-2	A	B
КД8	C	A или B
J-верига	E	F
ИЛ-1	D	G
КД3	A, B или C	H

8.

	Ослободување на ^{51}Cr од ЛЦМ-заразенитецелни клетки			
Извор на клетки од слезината на ЛЦМ-заразените глувци	B.10.D2 ($Н\text{-}2^d$)	B10 ($Н\text{-}2^b$)	B10.BR ($Н\text{-}2^k$)	(BALB/C x B10)F_1 ($Н\text{-}2^{b/d}$)
B10.D2 ($Н\text{-}2^d$)	+	-	-	+
B10 ($Н\text{-}2^b$)	-	+	-	+
BALB/c ($Н\text{-}2^d$)	+	-	-	+
BALB/b ($Н\text{-}2^b$)	-	+	-	+

9. Иако алфа-бета и гама-делта Т-клеточните рецептори имаат одредени структурни разлики (слика 9-2) и функционални разлики во типот на противгенот кој е препознаен, заеднички им е фактот што и двата се молекули врз клеточната површина. Имуноглобулините можат да бидат површински рецептори на Б-клетките, но нивната главна функција е да служат како растворливи посредници во имунитетот. Не постои доказ за активноста на растворливите форми од алфа-бета или гама-делта Т-клеточните рецептори.
10. Два фактори придонесуваат за високата фреквенција на алореактивните Т клетки: (а) отсуството на негативна селекција за ТКР кој реагира со пептидите кои се наоѓаат на туѓи ГТК молекули и (2) реактивноста на ТКР со изложените делови од туѓите (за кои не се претходно селектирани) ГТК молекули.

11. Целосната големина на одредената структурата веднаш ќе покаже дали ТКР е сам со противгенот (при што ќе биде гама-делта ТКР) или има поврзан комплексен молекул, што укажува на присуство на класа 1 или 2 ГТК молекули. Доколку ТКР стапи во контакт со ГТК молекулот преку пептид-врзувачкото подрачје, тоа укажува на алфа-бета ТКР за разлика од гама-делта ТКР, кој прави контакт со некласичните ГТК молекули преку делта веригата. Значајна карактеристика која треба да се испита е аголот меѓу В (делот кој стапува во контакт со противгенот) и К домените на ТКР. Ова ќе одреди дали ТКР е алфа-бета (агол од околу 145 степени) или гама-делта (агол близок до 110 степени). Вклучувањето на КД4 со неговите четири глобуларни домени или КД8 со два ќе покаже дали поврзаниот ГТК молекул е од класа 2 или класа 1. Регионот на контакт помеѓу ТКР и противгенот може понатаму да разликува дали противгенот е прикажан во контекст на класа 1 или класа 2. Обично постојат повеќе контактни остатоци меѓу ТКР и класа 2 отколку со класа 1.

12. Глувците кај кои генот на алфа-веригата е отстранет ќе им недостасува одговорот кој го вклучува алфа-бета ТКР, но гама-делта одговорот ќе остане незасегнат. Загубата на КД3 веригата предизвикува целосно губење на сигнализирањето или од алфа-бета или гама-делта ТКР.

13. Двата рецептори користат повеќе генски сегменти, иако има повеќе В сегменти кои го кодираат БКР отколку за ТКР (особено за бета-веригата). Д сегментите се достапни за бета-веригата на ТКР и за тешката верига на БКР. Повеќе Д сегменти може да се вклучени во ТКР, но само еден е вклучен во БКР тешката верига. Двата рецептори користат Ј-верижни сегменти, но постојат повеќе Ј-вериги кои се достапни за ТКР. Двата рецептори користат флексибилност при поврзување и додавање на нуклеотидот П и нуклеотидот Н, иако додавањето на нуклеотидот Н може да се појави кај двете поединици на ТКР, но само во тешката верига на БКР. Штом се создаде ТКР, во периферијата не се прават дополнителни модификации. Наспроти тоа, БКР може да претрпи соматска хипермутација во периферијата, со што ќе го засили противген-врзувачкиот афинитет во текот на имуниот одговор.

Поглавје 10

Прашања од клиничкиот фокус: (а) Фас-посредуваното сигнализирање е значајно за смртно посредуваната регулација на лимфоцитните популации при лимфоцитната хомеостаза. Оваа регулација е неопходна бидејќи имуниот одговор создава ненадејно и често големо зголемување на популациите на реагирачки лимфоцити. Инхибицијата на Фас-посредуваната клеточна смрт може да доведе до прогресивно зголемување и на крајот до неодржливи лимфоцитни нивоа. Канал-Смит синдромот покажува дека без селектирање на лимфоцитите со апоптоза, може да се појави тешка и опасна по живот болест.

(б) Анализата на пациентовите Т-клетки открива голем број двојнонегативни (КД4$^-$, КД8$^-$) Т-клетки и скоро еднаков број на КД4$^+$ и КД8$^+$ клетки. Нормално лице има многу мал број (~5%) двојнонегативни клетки и повеќе КД4$^+$ од КД8$^+$ клетки. Видете ја сликата во клиничкиот фокус на страница 266.

1. (а) Незрелите тимоцити прикажуваат и КД4 и КД8, додека зрелите КД8$^+$ тимоцити не прикажуваат КД4. За да се разликуваат овие клетки, тимоцитите се двојнообоени со флуорохром-обележано против-КД4 и против-КД8 и анализирани со FACS. (б) Видете ја следнава табела:

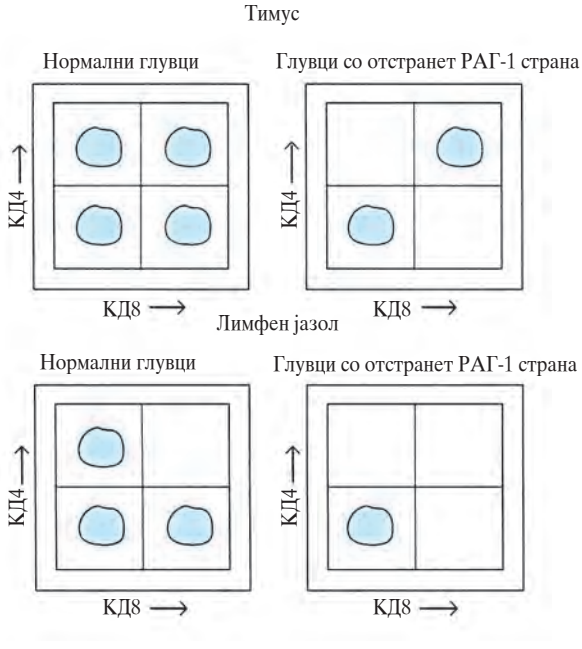
Трансгенични глувци	Незрели тимоцити	Зрели КД8$^+$ тимоцити
Женка Х-2^k	+	+
Мажјак Х-2^k	+	-
Женка Х-2^d	+	-
Мажјак Х-2^d	+	-

(в) Бидејќи генот кој го кодира Н-Y противгенот се наоѓа на Y хромозомот, овој противген не е присутен кај женките. Тимоцитите кои носат трансгеничен Т-клеточен рецептор, кој е Х-2^k спрегнат, ќе претрпат позитивна селекција и кај мажјаците и кај женките Х-2^k трансгенични глувци. Сепак, последователната негативна селекција ќе ги отстрани тимоцитите кои носат трансгеничен рецептор, кој е специфичен за Н-Y противгенот, кај машките Х-2^k трансгенични глувци (види слика 10-8). (д) Бидејќи Х-2^d трансгеничните глувци нема да прикажуваат соодветни ГТК молекули, Т-клетките кои го носат трансгеничниот Т-клеточен рецептор ќе претрпат позитивна селекција.

2. Циклоспоринот А го блокира создавањето на НФ-АТц, еден од препишувачките фактори кои се потребни за размножувањето на противген-активираните $T_{по}$ клетки.

3. (а) НФ-кБ и НФ-АТц. (б) ИЛ-2 засилувач.

4.



5. (а) Класа 1 К, Д и Л молекули и класа 2 ИА молекули. (б) Само класа 1 молекули. (в) Нормалните Х-2^b глувци треба да имаат и КД4$^+$ и КД8$^+$ Т-клетки бидејќи и двете, класа 1 и класа 2, ГТК молекули ќе бидат присутни на тимусните стромални клетки при позитивната селекција. Х-2^b глувците на кои им е отстранет *ИА* генот нема да прикажуваат класа 2 молекули. Според тоа, овие глувци ќе имаат само КД8$^+$ клетки.

6. (а) Тимусниот дарител во експериментот А беше Х-2^d (БАЛБ/ц), а во експриментот Б беше Х-2^b (Ц57БЛ/6). (б) Хаплотипот на тимусниот дарител го одредува ГТК спрегнувањето на Т-клетките во химеричните глувци. Според тоа, Х-2^b целните клетки беа лизирани во експериментот Б, каде тимусниот дарител бил Х-2^b. (в) Х-2^k целните клетки не биле лизирани во ниеден експеримент бидејќи ниеден дарителски тимус не прикажувал Х-2^k ГТК молекули. Според тоа, Х-2^k реактивните Т-клетки не биле позитивно селектирани кај химерните глувци.

7. (а) Протеин киназа. (б) КД45. (в) Б7. (г) ИЛ-2. (д) КД28, Б7. (ѓ) КД8. (е) класа 2 ГТК, Б7. (ж) КД4. (з) Фосфолипаза. (s) Протеин киназа. (и) КД28 стимулира и ЦТЛА4 инхибира.

8. (а) Бидејќи пред-Т клеточниот рецептор, кој не се врзува за противген, е поврзан со КД3, клетките кои го прикажуваат пред-ТКР исто како и противген-врзувачкиот Т-клеточен рецептор ќе се означат со против-КД3. Од овој резултат невозможно е да се одреди колку од КД3-означените клетки прикажуваат целосни Т-клеточни рецептори. Остаточните клетки се уште понезрели тимоцити кои не прикажуваат КД3. (б) Не. Бидејќи дел од КД3-означените клетки прикажуваат пред-ТКР или алфа-бета ТКР наместо целосниот гама-делта ТКР, не можете да го пресметате бројот на $Т_{ЦТ}$ клетки со едноставно одземање. За да се одреди бројот на $Т_{ЦТ}$ клетки, потребно ви е флуоресцентно против-КД8 противтело, кое ќе ги обои само КД8$^+$ $Т_{ЦТ}$ клетки.

9. Поврзувањето на Т-клеточниот рецептор ја активира фосфолипазата Ц, која го разложува $ФИФ_2$, при што се ослободува диацилглицерол (ДАГ) и $ИФ_3$. ДАГ и $ИФ_3$ се моќни вторични пренесувачи кои имаат широк појас на биолошки ефекти. ДАГ ги активира протеин киназата Ц, а $ИФ_3$ ослободува Ca^{2+} од внатреклеточните резервоари и на тој начин ја зголемува внатреклеточната концентрација на Ca^{2+}. Форболните естери ги имитираат ефектите на ДАГ, а Ca^{2+} јонофорите можат да ја зголемат внатреклеточната концентрација на Ca^{2+} со тоа што му дозволуваат на надворешноклеточниот Ca^{2+} да навлезе во клетката. Според тоа, третманот на клетките со Ca^{2+} јонофор и форбол естер може да имитира голем број на ефекти од Т-клеточен рецептор посредуваната Т-клеточна активација.

10. (1) Меѓудејство помеѓу сигналот и неговиот рецептор. Пример: Меѓудејство на Т-клеточниот рецептор со ГТК$^+$ пептидот. (2) Голем број сигнали се пренесуваат преку Г-протеините. Пример: Сигналите од ТКР можат да активираат сигнално пренесувачки патеки со посредство на мал Г-протеин Рас. (3) Создавањето на вторичните пренесувачи. Пример: Сигналите од ТКР можат да ја активираат протеин киназата Ц (ПКЦ), која го разложува мембранскиот фосфолипид за да ги создаде вторичните пренесувачи ДАГ и $ИФ_3$. (4) Активација или инхибиција на протеин киназите и фосфатазите. Пример: ДАГ и $ИФ_3$ кои се создаваат при одговор на сигнали од ТКР го активираат ПКЦ. (5) Поттикнато групирање на делови од патеката. Пример: Поврзувањето на ГТК$^+$ пептидот од ТКР ја поттикнува фосфорилацијата на ИТАМ во поединиците на ТКР комплексот, кое создава прикачувачки места за регрутирањето на ЗАП-70, клучна протеин тирозинска киназа на ТКР-сигналниот комплекс. (6) Засилување на сигналот со ензимската каскада. Пример: ТКР-посредувано поттикнување на МАП киназната каскада од Рас патеката. (7) Стандардното сетирање на сигнално пренесувачката патека е исклучено. Пример: Освен ако ТКР не е поврзан со ГТК$^+$пептидот, нема ТКР-посредувано сигнализирање.

11. *Пренесувањето на сигналот започнува со меѓудејството помеѓу сигналот и неговиот рецептор.* Меѓудејството помеѓу ТКР и Т-клеточниот противген како што е ГТК-пептид комплексот. *Голем број сигнално пренесувачки патеки го вклучуваат сигналното групирање на одредени делови од патеката; овие групи ги користат адапторните протеини.* ЗАП-70 функционира за да ги фосфорилира адапторните протеини ПАТ и СЛП-76 при ТКР-сигнализирањето. *Примањето на сигналот често води до создавање на „вторичен пренесувач“ во клетката,* молекул или јон кој може да се дифундира до други области во клетката и да предизвика метаболни промени. ДАГ и ИФ3 функционираат како вторични пренесувачи при ТКР сигнализирањето. *Протеинските кинази и протеинските фосфатази се активираат или се инхибираат.* ЗАП-70 и п56^{Lck} функционираат како протеински кинази во првите чекори од патеката. Калциневринот функционира како фосфатаза, при што го отстранува фосфатот од НФАТ и му овозможува да се пренесе во јадрото, каде со НФ-кБ ќе функционира како препишувачки активатор. *Сигналите се засилуваат со ензимските каскади.* Неколку ензимски каскади функционираат при ТКР сигнализирањето. Тие ги вклучуваат ПКЦ (протеин киназа Ц) и РАС/МАП киназните патеки.

12. Гама-делта Т-клетките не бараат противгенот да биде претставен од ГТК. Според тоа, тие не се ограничени на препознавање на протеински противгени. Процесот на препознавање е поблизок на образецот на препознавачките рецептори кои се среќаваат кај клетките од вродениот имун систем.

13. Стапувањето во контакт со противгенот може Т-клетките да ги направи анергични ако тие примат сигнал преку ТКР (сигнал 1), но не и сигнал од КД28 (сигнал 2). Наспроти тоа, ако Т-клетките се врзат со суперпротивгени, ТКР ќе биде поврзан без разлика на специфичноста на противгенот. Меѓудејството е доволно тесно за да овозможи појава на двата сигнали и се забележува поликлонска активација.

Поглавје 11

Прашања од клиничкиот фокус: ХуИг прочистен од секој дарител претставува примерок на противтелен одговор кој е поттикнат во дарителот на каков било имун стимулус кој се среќава во периодот пред дарувањето. Според тоа, колку е поголема групата на дарители, толку е поголема разновидноста на противтелата кои се присутни во ХуИг преработките кои се изведени од нив. Противтелните преработки со најширока разновидност даваат заштита против најширок опсег на патогени. Според тоа, изворот Ц, кој потекнува од највисок број на дарители, ќе претставува најдобар избор.

1. (а) Неточно: преуредувањето $В_Т$-$Д_Т$-$J_Т$ настанува во про-Б-клеточната фаза; успешното завршување на преуредувањето на тешката верига го обележува почетокот на пред-Б-клеточната фаза, во која се прикажани мембрански врзани ми вериги. (б) Неточно: Незрелите Б-клетки прикажуваат само ИгМ. (в) Неточно: ТдТ, кој го катализира додавањето на Н нуклеотидот, се прикажува само на про-Б-клетките. (г) Точно. (д) Точно. (ѓ) Неточно: Про-Б-клетките мора да стапат во меѓудејство со стромалните клетки за да се развијат во пред-Б-клетки. Развојот на пред-Б-клетките во незрели Б-клетки бара ИЛ-7 кој е ослободен од стромалните клетки, но не и директен контакт. (е) Точно. (Види слика 11-1).

2. (а) Родителска Б-клетка: нема цитоплазматско или мембранско боење со каков било реагенс. (б) Пред-Б-клетка: против-ми боење во цитоплазмата и на мембраната. (в) Незрела Б-клетка: против-ми боење во цитоплазмата и на мембраната. (г) Зрела Б-клетка: против-ми и против-

делта боење во цитоплазмата и на мембраната. (д) Плазма-клетка: против-ми боење во цитоплазмата, нема боење во мембраната, но се лачи пентамерен ИгМ.

3. Б-клеточниот корецептор се состои од три мембрански протеини: ТАПА-1, КР2 и КД19. КД19 припаѓа на Иг суперфамилијата. Делот КР2 може да се врзе за комплементно обвиткан противген кој е врзан за Б-клеточниот рецептор (БКР). Ова врзување доведува до фосфорилација на КД19. Тирозинските кинази од Src фамилијата (Lyn и Fyn) се врзуваат за фосфорилираниот КД19 и можат да поттикнат сигнално пренесувачки патеки кои започнуваат со фосфолипазата Ц.

4. (а) И едно и двојнотрансгеничните глувци го носеле против-ЛКБ трансгенот. Бидејќи трансгенот веќе е преуреден, преуредувањето на гените за ендогените имуноглобулински тешки и лесни вериги не се појавува кај про-Б и пред-Б-клетките. Според тоа, преуреденият имуноглобулин кој е кодиран од трансгенот првенствено го прикажуваат зрелите Б-клетки. (б) Додадете го радиолошки-означениот ЛКБ и користете авторадиографија за да видите дали се врзува за Б-клеточната мембрана. За одредување на изотипот на мембранското противтело (мИг) на овие Б-клетки, инкубирајте ги клетките со флурохром-обележани противтела специфични за секој изотип (на пр., против-ми против-делта) и видете кои флуоресцентни противтела ги обележуваат Б-клетките. (в) За да може ЛКБ трансгенот да се поттикне со додавање на Zn^{2+} во доводот на вода на глувците. (г) Прво, Б и Т-клетките од двојнотрансгеничните глувци и нормалните сингенични глувци мора да се одделат еден од друг. Ова може да се постигне со третирање на препарат од слезинечки клетки со флуорохром-обележано противтело специфично за КД3, кој е прикажан врз мембраната на Т-клетките, но не и врз Б-клетките, и третираниот препарат минува низ FACS (види слика 6-15). Ова ќе даде Т-клеточна фракција и остаточна фракција која содржи Б-клетки и други клетки од слезината. По третирањето на остаточната фракција со флуорохром-обележано против-ИгМ, пуштете ги низ FACS за да се добие Б-клеточната фракција. Сега, измешајте ги трансгеничните Б-клетки со нормалните сингенични Т-клетки (примерок А) и измешајте ги трансгеничните Т-клетки со нормални сингенични Б-клетки (примерок Б). Пренесете ја секоја клеточна мешавина во смртоносно рендгенски озрачените, сингенични приматели со стекнат трансфер, нападнете ги примателите со ЛКБ и одредете дали тие создаваат против-ЛКБ серумски противтела. Ако Б-клетките се анергични, тогаш нема да има противтелен одговор со примерокот А.

5. (а) Б-клеточната активација со растворливи протеински противгени бара вклучување на Тпо клетки. Вкрстеното поврзување на мИг на неискусните Б-клетки со тимус-зависните противгени овозможува компетитивен сигнал 1; последователното врзување на КД40 на Б-клетката со КД40Л на активираните $Т_{ПО}$ клетки овозможува компетитивен сигнал 2. Комбинираниот ефект на овие сигнали ја води Б-клетката од $Г_0$ во $Г_1$ фазата на клеточниот циклус и нагорно го регулира прикажувањето на цитокинските рецептори на Б-клетката. Потоа, врзувањето на цитокините кои потекнуваат од $Т_{ПО}$ клетки овозможува прогресивен сигнал кој го стимулира размножувањето на активираните Б-клетки (види слика 11-12). (б) Врзувањето на ЛПС, тип 1 тимус-независен противген ги овозможува двата компетитивни сигнали 1 и 2 (види слика 11-5). Ефикасното размножување бара цитокин-посредуван прогресивен сигнал.

6. (а) Светла зона. (б) Паракортекс. (в) Центробласти; темна зона. (г) Центроцити; фоликуларни стеблести клетки. (д) Светла зона, $Т_{ПО}$ клетки. (ѓ) Светла зона. (е) Медула. (ж) Центробласти.

7. (а) Види табела 11-2. (б) ТН противгени.

8. (а) Секој мИг-молекул е поврзана со еден молекул од хетеродимерот наречен Иг-алфа/Иг-бета, при што се формира Б-клеточен рецептор (БКР). И Иг-алфа и Иг-бета имаат долги цитоплазматски опашки, кои се способни за посредување на сигналното пренесување до внатрешноста на клетката (види слика 8-11). (б) Б-клеточните активирачки и диференцирачки сигнали - овозможени со врзувањето на противгенот, меѓудејството со $Т_{ПО}$ клетки или врзувањето на цитокините - ги поттикнува внатреклеточните сигнално пренесувачки патеки кои на крајот создаваат активни препишувачки фактори. Потоа тие се пренесуваат во јадрото, каде го стимулираат или инхибираат препишувањето на специфични гени (види слика 11-10).

9. (а) Глувците-приматели имале хаплотип кој не бил $Х\text{-}2^b$. Целта на овие експерименти била да се види влијанието на сопствениот противген, претставен од трансген- кодираниот $К^b$, кој е прикажан само на периферијата. Поврзувањето на $К^b$ трансгенот за црно дробно специфичниот промотер осигурува дека $К^b$ класа 1 молекулот ќе биде прикажан на периферијата, но не и во коскената срцевина, каде незрелите Б-клетки би можеле да стапат во меѓудејство со неа. (в) Овие резултати покажуваат дека изложувањето на сопствени противгени во периферијата во одредени случаи може да доведе до негативна селекција и апоптоза (клонална делеција) (види слика 11-15).

10. (а) Точно. (б) Точно. (в) Точно. (г) Неточно: Натпреварот на противтелата ќе го намали одговорот на ОЦКЗ.

11. (а) Во раните фази на одговорот ќе доминира ИгМ. Иако просечниот афинитет на создаденото противтело ќе биде понизок од очекуваниот при вторичниот одговор по нападот со истиот противген, тој ќе биде повисок од афинитетот на противтелото кој е добиен при првичниот одговор на висока доза на противген. (б) Противтелото ќе тежнее првично да биде ИгГ и со повисок афинитет од афинитетот при првичниот одговор кон ниска доза од противген. (в) Просечниот афинтиет на противтелото ќе биде понизок од афинитетот на противтелото кој се добива при првичниот одговор на ниска доза на противген. Поголемиот дел од противтелата кои се создадени при раните фази од одговорот ќе бидат ИгМ. (г) Просечниот афинитет на противтелото ќе биде повисок од афинитетот на противтелото при првичниот одговор на висока доза на противген, но не и неопходно понизок од афинитетот на противтелото кое се создало при првичниот одговор на ниска доза на противген. Тоа ќе биде со понизок просечен афинитет од противтелото создадено при вторичниот одговор на ниска доза на противген. Во најголем степен ќе биде ИгГ.

12. (а) Примерокот Б дава еден рестрикциски фрагмент со секоја дигестивна особина на непреуредената ДНК од зародишната линија. Според тоа, примерокот е од црнодробните клетки. (б) Двата фрагменти кои се добиени со дигестијата со *Bam*HI на примерокот В покажува дека и двата тешко верижни алели се преуредени, додека не настанало преуредување на капа веригата. Според тоа, примерокот е од пред-Б лимфомски клетки. (в) Испитувањата добиени од примерокот А покажуваат дека еден тешко верижен алел и еден лесно верижен алел се преуредени. Овој образец покажува дека овој примерок потекнува од ИгМ-секретирачки миеломски клетки.

13. (а) Точно. (б) Неточно: АП-1 претставува препишувачки фактор кој кога е активиран од сигнално пренесувачката каскада ќе се пренесе во јадрото од цитозолот. (в) Точно. (г) Неточно: Превклучувањето класи претставува карактеристика на одговорот на тимус-зависните противгени

(ТЗ), што произлегува од меѓудејството со $T_{по}$ клетки. Тимусно-независните противгени можат да ги активираат Б-клетките без помош од Т помагачките клетки, каде спаѓаат и меѓудејствата кои водат превклучување класи. (д) Неточно: Б-клетките созреваат во ефекторни клетки во лимфните јазли. (ѓ) Неточно: Како што Б-клетките се развиваат во плазма клетки, создавањето на мембранските имуноглобулини запира во прилог на секретирачките противтела, што плазма-клетките ги прави нереактивни на присуството на противгенот. (е). Точно.

14. (а) Менување на класи. (б) ИЛ-4. (в) ВпредБ; ламбда5. (г) Плазма-клетки.

Поглавје 12

Прашања од клинички фокус: Сите агенси кои се споменати во прашањето заедно со описот на нивната природа се наоѓаат во табелата која го заклучува делот со клинички фокус од ова поглавје. Отворете веб-пребарувач и барајте со употреба на името на агенсот за да ги најдете информации на производителот за лекот, каде спаѓаат и неговите несакани ефекти.

1. (а) Неточно: Високоафинитетниот ИЛ-2 рецептор се состои од три поединици -алфа, бета и гама-вериги - сите се трансмембрански протеини. (б) Неточно: Против-ТАЦ се врзува за 55 кДа алфа-веригата на ИЛ-2 рецепторот. (в) Неточно: Иако сите класа 1 и класа 2 цитокински рецептори содржат две или три поединици, рецепторите за ИЛ-1, ИЛ-8, ТНФ-алфа, ТНФ-бета и други цитокини имаат само една верига. (г) Неточно: Ниски нивоа на ИЛ-2Р бета-верига се прикажани на мирувачките Т-клетки, иако по активацијата прикажувањето е многу зголемено. Алфа-веригата е прикажана само на активираните Т-клетки. (д) Неточно: Цитозолните домени на класа 1 и класа 2 цитокинските рецептори изгледа дека се тесно поврзани со внатреклеточните тирозин кинази, но самите тие не поседуваат тирозин киназна активност. (ѓ) Точно.

2. Само противген-активираните Т-клетки ќе се размножат, бидејќи тие прикажуваат високо афинитетен ИЛ-2 рецептор, додека мирувачките Т-клетки не и затоа не можат да реагираат на ИЛ-2.

3. Цитокините, факторите за раст и хормоните се секреторни протеини кои се врзуваат за рецепторите на целните клетки, при што поттикнуваат разни биолошки ефекти. Цитокините тежнеат да бидат создадени од голем број клетки, иако нивното создавање е внимателно регулирано и ги извршуваат нивните ефекти на неколку типови клетки; повеќето цитокини, исто така, дејствуваат на автокрин и паракрин начин. Факторите на раст, за разлика од цитокините, често се создаваат конститутивно. Хормоните, за разлика од цитокините, во основа дејствуваат на големо растојание (ендокрин ефект) на еден или неколку видови на целни клетки.

4. (а) гама-верига и бета-верига(ниско ниво). (б) алфа, бета и гама-вериги. (в) гама и бета-верига (ниско ниво); циклоспоринот А ја спречува генската активација што води до зголемено прикажување на бета и алфа-веригите. (г) гама-верига и бета-верига (ниско ниво). (д) алфа, бета и гама-вериги. (ѓ) бета и гама-вериги.

5. Суперпротивгените се врзуваат за класа 2 ГТК молекулите надвор од вообичаениот пептидно врзувачки процеп; за разлика од вообичаените противгени, тие не се внесени и обработени од противген-прикажувачките клетки туку директно се врзуваат со класа 2 молекулите. Суперпротивгените исто така се врзуваат за подрачја на $B_{бета}$ доменот од Т-клеточниот рецептор кои не се вклучени во врзувањето на вообичаените противгени пептиди. Суперпротивгените покажуваат специфичност за еден или неколку $B_{бета}$ домени. Според тоа, даден суперпротивген може да ги активира сите Т-клетки кои го прикажуваат $B_{бета}$ доменот(и) за кој е тој специфичен независно од противгената специфичност на Т-клетките. (б) Даден суперпротивген може да активира од 5% до 25% од $T_{по}$ клетки, што води до прекумерно создавање на цитокини. Се верува дека високите нивоа на цитокини предизвикуваат симптоми кои се поврзани со труење со храна и токсичен шок синдром. (в) Да. За да го извршуваат својот ефект, суперпротивгените треба да формираат терциерен комплекс со класа 2 ГТК молекул и Т-клеточен рецептор.

6. Рецепторите за ИЛ-3, ИЛ-5 и ГМ-КСФ содржат заедничка сигнално пренесувачка бета-верига. Врзувањето на цитокинот за секој од овие рецептори веројатно ќе поттикне слична сигнално пренесувачка патека.

7. (а) $T_{по}1$ подгрупата е одговорна за класичните клеточно посредувани функции (на пр., доцен тип на преосетливост и активација на $T_{цт}$ клетки). Вирусните инфекции и внатреклеточните патогени веројатно поттикнуваат $T_{по}1$ одговор. (б) $T_{по}2$ подгрупата првично функционира како помошник за Б-клеточна активација. Оваа подгрупа можеби најдобро реагира на слободно живеачките бактерии и цревните паразити и може да посредува при алергиските реакции, бидејќи е познато дека ИЛ-4 и ИЛ-5 поттикнуваат создавање на ИгЕ и еозинофилна-активација, соодветно.

8. (а) Неточно: Додека ИЛ-6 го зголемува создавањето на акутно фазните протеини, овие протеини се провоспалителни и не го прекинуваат имуниот одговор. (б) Неточно: Цитокините може да дејствуваат на автокрин начин (на клетките кои ги лачат), а тие, исто така, дејствуваат на паракрин и ендокрин начин. (в) Точно. (г) Неточно: $T_{по}1$ клетки лачат ИФН-гама, ИЛ-2 и ТНФ-бета, што води до активација на макрофагите и зголемено создавање на ИгГ од Б-клетките. (д) Точно. (ѓ) Неточно: Активацијата на Т-клетките доведува до создавање на ИЛ-2 и неговиот рецептор, не ИЛ-1.

9. Горниот лев квадрат. Рецепторот со среден афинитет е прикажан на клетките во горниот лев квадрат, а рецепторот со низок афинитет е прикажан на клетките од долниот десен квадрат. Долниот лев квадрат содржи клетки кои не прикажуваат ИЛ-2 рецептор.

10. (а) 2, 7. (б) 4, 8. (в) 9. (г) 5. (д) 6. (ѓ) 1, 3. (е) 3.

11. (а) ИЛ-4. (б) Хемокини. (в) Г протеини. (г) ИЛ-7. (д) Не. (ѓ) ИФН-алфа.

12. (г).

13. (а), (б), (в), (г).

Поглавје 13

Прашања од клиничкиот фокус: Воспалителниот процес е потребен за да се овозможи ефикасна одбрана против патогените. Клучен елемент при овој процес претставува миграцијата на леукоцитите на местото на воспаление. Мобилизацијата на леукоцитните популации од циркулацијата зависи од интегрин-посредуваната клеточна атхезија. КД18 е

интегринска поединица, а дефектите на овој молекул доведуваат до откажување на интегринската функција. Види слика 13-5 за прикажување на клеточната биологија на леукоцитната миграција.

1. (а) Неточно: Разни хемокини се хемотактични за сите типови на леукоцити. (б) Неточно: Интегрините се прикажани на различни леукоцити, но не и на ендотелните клетки. (в) Точно. (г) Точно. (д) Точно. (ѓ) Неточно: Системските ефекти, наречени акутно фазен одговор, се поттикнати од цитокини создадени при локалниот акутен воспалителен одговор. (е) Точно. (ж) Неточно: Во областите на хронична инфекција можат да се создадат грануломи, но помалку веројатно е дека ќе се појават при акутен воспалителен одговор.

2. Зголеменото прикажување на МКАМ на васкуларните ендотелни клетки близу до воспалителното место го олеснува прилепувањето на леукоцитите за ѕидот на крвниот сад, што доведува до зголемена миграција на леукоцитите во таа област.

3. (а) Тркалање, активација, запирање/атхезија и трансендотелијална миграција (види слики 13-5а и 13-8). (б) Неутрофилите во основа екстравазираат на местото на воспаление бидејќи се врзуваат за клеточно-атхезивните молекули кои се поттикнати врз васкуларниот ендотел рано при воспалителниот одговор. (в) Различни лимфоцитни подгрупи прикажуваат домувачки рецептори кои се врзуваат за ткивно специфичните атхезивни молекули (васкуларни адресини) во ВЕВ на разни лимфоидни органи, на воспаленият ендотел или на венулите на терциерните места. Домувањето на одредени лимфоцити во одредени области е олеснато од хемокините кои првенствено привлекуваат разни лимфоцити. Според тоа, разликите во (а) васкуларните адресини, (2) домувачките рецептори и (3) хемокините и нивните рецептори го одредуваат образецот на рециркулација на одредени лимфоцитни подгрупи.

4. ИЛ-1, ИЛ-6 и ТНФ-алфа (види табела 13-3).

5. ТНФ-алфа ослободен од активираните ткивни макрофаги за време на локалниот акутен воспалителен одговор дејствува врз васкуларните ендотелни клетки и макрофагите, при што поттикнува секреција на колонии стимулирачките фактори (КСФ), кои стимулираат хематопоеза во коскената срцевина. Ова е дел од системскиот акутно фазен одговор.

6. (а) Н. (б) 1. (в). Н. (г) 3. (д) Н. (ѓ) 2. (е) 3 (види слика 13-5).

7. ИФН-гама стимулира активација на макрофагите, што доведува до зголемено прикажување на класа 2 ГТК молекулите, зголемена микробицидна активност и создавање на цитокини. Акумулирањето на голем број активирани макрофаги е одговорно за поголемиот дел ткивни оштетувања кои се поврзани со хронично воспаление. ТНФ-алфа излачен од активираните макрофаги, исто така, придонесува за ткивното оштетување што е вообичаено при хронично воспаление. Овие два цитокини дејствуваат синергично за да ја олеснат миграцијата на голем број клетки до местата на хронично воспаление.

8. Врзувањето на сите овие цитокини за нивните рецептори во хепатоцитите поттикнува создавање на истиот препишувачки фактор, НФ-16, кој стимулира препишување на акутно фазните протеини.

9. (а) 7. (б) 1, 6. (в) 10, 11. (г) 2. (д) 8. (ѓ) 4. (е) 10. (ж) 9.

10. (а) Дефект во лимфоцитното домување за мукозните ткива. (б) Дефект во тркалањето на леукоцитите. (в) Леукоцитен адхезивен недостаток, зголемени бактериски инфекции.

11. (а) и (г) се точни поврзувања.

12. Коскеносрцевински пресадок, со употреба на матични клетки изолирани од пациентот, каде дефектниот ген е заменет со функционална копија. Како алтернатива, коскеносрцевински пресадок од компатибилен дарител.

13. Неутрофилите можат да се врзат за брзо прикажаниот П-селектин и ниско ниво на МКАМ-1 кој првенствено се прикажува врз ендотелните клетки, додека моноцитите се врзуваат за Е-селектин, МКАМ-1 и ВКАМ при високи нивоа, кои на површината од ендотелната клетка пристигнуваат со одредено задоцнување поради времето кое е потребно за синтеза на нов протеин.

14. Кининскиот систем создава брадикинин, кој ја зголемува васкуларната пропустливост, болка и контракција на мазниот мускул. Брадикининот исто така поттикнува создавање на К5а и К5б деловите од комплементната каскада. Системот за сосирување, исто така, создава посредници кои ја зголемуваат васкуларната пропустливост и провоспалителните цитокини. Зголемената васкуларна пропусливост им овозможува на течностите и клетките да преминат полесно во ткивото, што води до карактеристични знаци на воспалителен одговор (болка, оток, црвенило, топлина). Предност е фагоцитните клетки да бидат викнати на местото на ткивно оштетување поради веројатноста за изложување на напаѓачки бактерии.

Анализирање на податоци: (а) Грам-негативна бактериска инфекција. ЛПС се наоѓа на надворешната мембрана на грам-негативните бактерии. (б) Врз база на зголемувањето на активноста на МПО кај глувците од див тип кој примиле ЛПС, видливо е дека ЛПС поттикнува регрутирање на неутрофили во белите дробови. Воспалителниот одговор е намален кога ЛПС се инектира во 5-*LOX*$^{-/-}$ глувците, што покажува вклученост на леукотриените (продукт на липоксигеназната патека, види слика 13-12) во регрутирањето на неутрофилите. (в) Леукотриен $Б_4$. (г) Глувците на кои им е отстранета 5'-липоксигеназата имале повисоко ниво на воспаление при одговор на ЛПС од нетретираните контроли и пониски нивоа од глувците од див тип кои биле третирани со ЛПС. Според тоа, неутрофилите се регрутираат од фактори како додаток на продуктите од липоксигеназната патека, која може да вклучи активација на комплементот од ЛПС и создавање на К5а, поттикнување на ИЛ-8 или поттикнување на други хемокини од страна на ЛПС.

Поглавје 14

Прашања од клиничкиот фокус: Артритисот се карактеризира со воспалелние на зглобовите кое води до оштетено ткиво, оток и болка. Псоријатичниот артритис е придружуван од кожни лезии кои се предизвикани од имуниот напад (псоријаза). Поврзувањето на КИР/ГТК комбинациите со чувствителност на артритична болест веројатно произлегува од недостатокот на воспалителните сигнали (на пр., отсуство на ГТК алелите кои создаваат воспалителни лиганди за специфични КИР молекули), што води до оштетување на клетките домаќини и ткивата. Дијабетот е уште една воспалителна болест; каде има уништување на панкреасните островски клетки на домаќинот кои создаваат инсулин, истите механизми кои се предвидени за артритисот можат да функционираат при дијабетот. Во двата случаи, отсуството на инхибиторните КИР сигнали може да

доведат до оштетување кое е нанесено од КПУ, директно или преку нивно регрутирање на другите ефекторни клетки.

1. (а) Точно. (б) Точно. (в) Точно. (г) Неточно: Постојат две патеки преку кои цитотоксичните Т-клетки убиваат целни клетки. Една патека е перфорин зависна, а другата користи ФАС лиганд кој е прикажан од ЦТЛ за да поттикне смрт кај ФАС-прикажувачките целни клетки.

2. Моноклонското противтело за ЛФА-1 треба да го блокира создавањето на ЦТЛ-целна клетка конјугатот. Ова треба да го инхибира убивањето на целните клетки и, според тоа, треба да доведе до намалено ослободување на ^{51}Cr во ЦМЛ анализата.

3.

Популација 1	Популација 2	Размножување
C57BL/6 (H-2^b)	CBA (H-2^k)	1 и 2
C57BL/6 (H-2^b)	CBA (H-2^k) Третирани со митомицин Ц	1
C57BL/6 (H-2^b)	(CBA x C57BL/6)F_1 (H-2$^{k/b}$)	1
C57BL/6 (H-2^b)	C57L (H-2^b)	Ниту една

4. (а) КД4$^+$ $T_{ПО}$ клетки. (б) За покажување на идентитетот на размножувачките клетки, треба да ги инкубирате со флуоресцеин-обележано против-КД4 моноклонско противтело и родамин-обележано против-КД8 моноклонско противтело. Размножувачките клетки ќе се обојат само со против-КД4 реагенсот. (в) Кога КД4$^+$ $T_{ПО}$ клетки ќе ги препознаат алогените класа 2 ГТК молекули на стимулаторните клетки, тие се активираат и започнуваат да лачат ИЛ-2, кој, потоа, го автостимулираат $T_{ПО}$-клеточното размножување. Според тоа, степенот на размножување е директно поврзан со степенот на создаден ИЛ-2.

5. (а) Ниту една. (б) Двете. (в) ЦТЛ. (г) ЦТЛ. (д) $T_{ПО}$ клетка. (ѓ) ЦТЛ. (е) $T_{ПО}$ клетка. (ж) ЦТЛ. (з) $T_{ПО}$ клетка. (ѕ) $T_{ПО}$ клетка. (и) Двете. (ј) двете (к) двете (л) двете (љ) $T_{ПО}$ клетка. (м) Ниту една (н) ЦТЛ. (њ) $T_{ПО}$ клетка.

6.

Извор на приготвени клетки од слезината	Ослободување на ^{51}Cr од ЛЦМ-заразените целни клетки			
	B10.D2 (H-2^d)	B10 (H-2^b)	B10.BR (H-2^k)	(BALB/cX B10)F1 (H-2$^{b/d}$)
B10.D2 (H-2^d)	+	-	-	+
B10 (H-2^b)	-	+	-	+
BALB/c (H-2^d)	+	-	-	+
(BALB/c X B10)				
(H-2$^{b/d}$)	+	+	-	+

7. За одредување на $T_{ЦТ}$ активноста која е специфична за инфлуенца, извршете ЦМЛ реакција преку инкубирање на слезинечни клетки од зараженият глушец со инфлуенца-заразени сингенични целни клетки. За одредување на $T_{ПО}$ активноста, инкубирајте ги слезинечните клетки од зараженият глушец со сингенични ППК кои прикажуваат инфлуенцни пептиди; измерете го создавањето на ИЛ-2.

8. КПУ посредуваат при лизата на туморските клетки и вирус-заразените клетки преку перфорин-поттикнато формирање на пори, како при механизамот кој го користат ЦТЛ. КПУ можат ги разликуваат нормалните клетки од заразените клетки, бидејќи нормалните клетки прикажуваат релативно високи нивоа на класа 1 ГТК молекули, што ги заштитува од КПУ. Рамнотежата помеѓу позитивните сигнали кои се создаваат со поврзувањето на активирачките рецептори (NKR-P1 и други) на КПУ и негативните сигнали кои се поттикнати со препознавање на сопствените ГТК молекули од инхибиторните рецептори, како што се КД94/NKG2 и КИР фамилијата на КПУ, го регулира КПУ-посредуваното убивање.

9. (а-д) Исходот во сите случаи е нема лиза посредувана од цитотоксичните Т-клетки. Постојат две патеки преку кои цитотоксичните Т-клетки ги убиваат целните клетки, една која е перфорин зависна и друга која го користи ФасЛ за да поттикне смрт кај Фас-прикажувачките целни клетки. Бидејќи овие патеки се нефункционални кај двојнонокаутираните глувци, нема да има Т-клеточно посредувана цитотоксичност.

10. Ако е познат ХЛА типот, ГТК тетрамерите врзани за пептидите кои се создадени од гп120 и означени со флуоресцента ознака можат да се користат за специфично означување на сите КД8$^+$ Т-клетки во примерокот кои имаат Т-клеточни рецептори способни за препознавање на овој комплекс од ХЛА$^+$ пептид.

11. (а) Точно. (б) Точно. (в) Точно. (г) Неточно: Сигналната каскада од Фас ги регрутира ФАСД адапторните протеини, не Г протеините. (д) Точно. (ѓ) Неточно: ФасЛ е прикажан на клетката која поттикнува апоптоза; целната клетка прикажува Фас.

12. (а) Се верува дека КПУ користат спротивен сигнален механизам за откривање на заразени клетки. Ако потенцијалната целна клетка прикажува нормално ниво на класа 1 ГТК молекули, рецепторите на КПУ (КИР, КД94, NKG2) поттикнуваат сигнално пренесувачка каскада што покажува дека целната клетка не треба да биде убиена. Ова ги преоптоварува проубивачките сигнали создадени преку лигандите кои се врзуваат за активирачките рецептори на КПУ клетката. Кај вирусно заразените клетки со намалено ниво на класа 1 ГТК, доминира активирачкиот рецепторен сигнал.
(б) Механизмот на КПУ убивањето е сличен на механизмот на убивање од ЦТЛ. КПУ прикажуваат ФасЛ и содржат зрнца (гранули) кои содржат перфорин и гранзим, што ги опремува да поттикнат апоптоза кај целната клетка. (в) Се верува дека КПУ потекнуваат од истата родителска клетка како и Т-клетките од коскената срцевина, но не се развиваат во тимусот. Не е познат точниот механизам на КПУ диференцијацијата.

13. При ПЗКЦ, клетките кои прикажуваат Фк рецептори препознаваат противтело кое е врзано за клеточната површина. Во идеални услови, Пт-целната клетка е туморска клетка или клетка заразена со вирус. Ако противгенот кој е врзан за противтелото е прикажан на нормалните клетки, тогаш цел ќе бидат и незаразените клетки. Неутрофилите, еозинофилите и макрофагите ќе се врзат за клетките кои го прикажуваат противгенот и ослободуваат литички ензими, КПУ и еозинофилите ќе ослободат перфорин, а макрофагите и КПУ ќе ослободат ТНФ. Резултатот е смрт на клетката и ткивно оштетување, што веројатно води до автоимуно нарушување или тип 2 преосетливост.

Анализирање на податоци: (а) Епитопите 2, 12 и 18 создале висока ЦТЛ активност, а епитопите 5 и 21 создале средна активност. (б) Можно е различни пептиди да користат различни закотвувачки остатоци, што го отежнува ова предвидување. Сепак, ако претпоставиме дека истите амино киселини ќе се врзат за ХЛА-А2, изгледа дека леуцинот (Л) на аминотерминалниот крај одделен со четири аминокиселини од треонинот (Т) е единствениот вообичаен мотиф за петте најимуногени пептиди (2, 12, 18, 5 и 21). Сите пептиди кои создаваат висока ЦТЛ активност имаат два последователни леуцини на аминотерминалниот крај. Проблемот со треонините кои служат како закотвувачи е тоа што пептидот 2 има четири аминокиселини на карбоксилниот крај на Т, што доведува до крај на пептидното ширење надвор од врзувачкиот џеб. Ова би било доста необична структура. Пептидот 12 може да има помалку драматичен, но сличен проблем. Затоа, леуцинот во џебот 2 на ХЛА-А2 ќе биде доследен на податоците добиени од Матсумура во 1992 (Science **257:**927). Според тоа, главниот закотвувач може да биде леуцински остаток на амино крајот на врзувачкиот џеб, со можен придонес на Т на карбоксилниот крај во одредени околности. (в) Можно е да нема Т-клетки специфични за овие пептиди, дури и ако се претставени. Поради тоа нема да видите ЦТЛ одговор. (г) ЦТЛ препознаваат противген само во контекст на сопствените-ГТК молекули. Затоа, со цел да се процени ЦТЛ активноста, Т2 клетките исто така мораат да прикажуваат ХЛА-А2. (д) Класа 1 ГТК молекулите обично се врзуваат за пептиди кои содржат од 8 до 10 остатоци (види слика 8-7). Пептидот 2 е долг 11 остатоци, што покажува дека кога е врзан се испакнува во средината. Бидејќи изгледа дека е главен епитоп за ЦТЛ убивањето, изгледа дека испакнувањето не го попречува меѓудејството со ЦТЛ туку може да биде делотворно.

Поглавје 15

Прашања од клиничкиот фокус: ФкЕпсилонР1бета е високо афинитетен ИгЕ рецептор. Се среќава на мастоцитите, каде се врзува за ИгЕ. Кога алергенот вкрстено се поврзува со ИгЕ на површината на мастоцитот, мастоцитот се активира и ослободува хистамин. Според тоа, мутациите кои го засилуваат меѓудејството на ФкЕпсилонР1бета со ИгЕ може да се очекува да доведат до почувствителни мастоцити кои полесно се обеззрнуваат. Како и да е, ИЛ-4 е делумно одговорен за Иг превклучувањето класи до ИгЕ, покажува дека мутациите на ИЛ-4, кои поефикасно управуваат со превклучувањето класи до ИгЕ, можат, исто така, да учествуваат во генетската предиспозиција за астма.

1. (а) Неточно: ИгЕ е зголемен. (б) Неточно: ИЛ-4 го зголемува создавањето на ИгЕ. (в) Точно. (г) Неточно: Антихистаминиците се полезни при тип 1 преосетливост, која вклучува ослободување на хистамин со мастоцитно обеззрнување. Бидејќи тип 3 преосетливоста првенствено вклучува таложење на имуни комплекси, антихистаминиците се неефикасни. (д) Неточно: Повеќето поленски алергени содржат повеќе алергиски делови. (ѓ) Неточно: За разлика од ИгГ, ИгЕ не може да помине низ плацентата. (е) Точно. (ж) Точно. (з) Точно. (ѕ) Неточно: $Т_{по}1$ клетките се активни при тип 4 преосетливоста и создаваат цитокини кои ги активираат макрофагите. (и) Точно. (ј) Точно. (к) Точно. (л) Неточно: Се верува дека повторените инекции со алергени (хипосензибилизација) предизвикуваат промена во $Т_{по}1$ одговор, така што наместо ИгЕ ќе се создава ИгГ.

2. (а) Целосните противтела вкрстено ќе ги поврзат ФкЕпсилонР1 молекулите на мембраната на мастоцитите и базофилите, што доведува до нивна активација и обеззрнување. Ослободените посредници ќе поттикнат вазодилатација, контракција на мазните мускули и локална одговор со оток и црвенило. Бидејќи Фпв фрагментот е едновалентен, не може вкрстено да ги поврзе ФкЕпсилонР1 молекулите и според тоа не може да поттикне обеззрнување. Сепак, овој вид на противрецепторно противтело може да се врзе со ФкЕпсилонР1 и при тоа може да го блокира врзувањето на ИгЕ за рецепторите. (б) Реакцијата поттикната од целосните против-ФкЕпсилонР1 противтела не зависи од алерген-специфичниот ИгЕ, така што ќе биде слична кај алергичните и неалергичните глувци. Инекцијата на Фпв фрагментите од против-ФкЕпсилонР1 може да ги спречи алергичните глувци да реагираат на алерген доколку овие фрагменти го блокираат врзувањето на ИгЕ за мастоцитите и базофилите.

3. Со инженеринг химерните моноклонски противтела на змиски отров кои содржат глувчешки варијабилни подрачја, но хумани тешко и лесно верижни константни подрачја (слика 5-23).

4. (а) Тип 1 преосетливост: локализиран атопичен одговор кој се јавува како резултат од вкрстеното поврзување на алергенот со фиксираниот ИгЕ врз мастоцитите од кожата, при што поттикнува обеззрнување и ослободување посредници. (б) тип 3 преосетливост: се формираат имуни комплекси од противтело и противгени од инсекти и се таложат локално, при што предизвикуваат Артусов тип реакција која настанува како резултат од комплементната активација и комплементните распадни продукти. (в) тип 4 преосетливост: сензибилизираните $Т_{по}$ клетки ги ослободуваат нивните посредници, при што поттикнуваат акумулација и активација на макрофагите. Ткивното оштетување се јавува како резултат на лизозомните ензими кои ги ослободуваат макрофагите.

5. (а) 4. (б) Сите четири видови. (в) 1 и 3. (г) 4. (д) 1. (ѓ) 2. (е) 1. (ж) 1. (з) 2. (ѕ). 2. (и) 1.

6. Одговорите се дадени долу во табелата.

Имунолошки процес	Преосетливост			
	Тип 1	Тип 2	Тип 3	Тип 4
ИгЕ-посредувано обеззрнување на мастоцитите	+			
Лиза на противтелно обложените крвни клетки со комплементот		+		
Ткивно уништување како одговор на отровен даб				+
К3а и К5а-посредувано мастоцитно обеззрнување		(малку)	+	
Хемотакса на неутрофили			+	
Хемотакса на еозинофили	+			
Активација на макрофагите од ИФН-гама				+
Таложење на противген-противтело комплекси на базалната мембрана на капиларите			+	
Ненадејна смрт поради васкуларен колапс (шок) набрзо по инекцијата или консумирањето на противгенот	+			

7. Памтечките Б-клетки кои се создале во текот на претходната бременост (сензибилизација) се активираат за да лачат против-Рх ИгГ, кој ја минува плацентата и се врзува за феталните црвени крвни клетки. Комплементот може да се активира на површината на црвените крвни клетки, што доведува до лиза на црвените крвни клетки.

8. Имуните комплекси тежнеат да се сместат во капиларите, при што предизвикуваат воспаление и последователно ткивно оштетување.

9. (а) 1. (б) 5. (в) 2. (г) 3. (д) 7. (ѓ) 6. (е) 4.

10. Раната фаза на астмата се карактеризира со обеззрнување на мастоцитите и ослободување на воспалителни посредници како што се хистаминот, леукотриенот Ц4 и простагландинот Д2. Последиците се локална тип 1 преосетливост во белите дробови, каде спаѓаат зголемена мукозна секреција, вазодилатација и бронхоконстрикција. Реакцијата на доцната фаза се карактеризира со инфилтрација со други леукоцити, што е карактеристика на хроничното воспаление. Тие вклучуваат присуство на еозинофили, лимфоцити и неутрофили во дишните простори и ослободување на посредници карактеристични за $T_{по}2$ тип на одговор, каде спаѓаат ПАФ, ИЛ-4, ИЛ-5, еозинофилниот хемотактичен фактор, неутрофилниот хемотактичен фактор, ТНФ-алфа и $ЛТЦ_4$. Последиците во белите дробови се локализирано воспаление, оштетување и губење на епителните клетки, фиброза на базалната мембрана и намалена функција на белите дробови.

11. РхоГам, еритробластозитис феталис.

Анализирање на податоци: (а) Ова е тип 1 реакција на преосетливост посредувана од ИгЕ. Хелминтните инфекции често се поврзуваат со тип 1 реакциите на преосетливост. (б) Хистаминот е главен дел на човечките мастоцитни и базофилни зрнца и се ослободува при базофилното обеззрнување. Во недостаток на анализа за хистаминот, можете да ги измерите другите првични посредници како што се хепаринот, серотонинот или разни протеази или вторични посредници како што се леукотриените, тромбоцитниот активирачки фактор или ТНФ. (в) ИгЕ. Овој изотип се врзува за површината на базофилите и мастоцитите, при што поттикнува обеззрнување и клеточна активација. (г) Базофилите и мастоцитите се врзуваат за ИгЕ. Кога се внесува противген, во случајов *Brugia malayi* противген, базофилите вкрстено се поврзуваат со ФкР1 и поттикнуваат обеззрнување. Вкрстеното поврзување предизвикува опаѓање на цАМФ, тек на калциумот од надвор- кон внатреклеточниот простор, активација на тирозинските кинази, фосфорилација на фосфолипазата Ц и серија од биохемиски реакции кои доведуваат до клеточна активација. (д) Еозинофилите се очекуваат во доцно-фазниот одговор, кои во регионот се регрутирани со секрецијата на тромбоцитниот активирачки фактор, леукотриените, еозинофилниот хемотактички фактор и други посредници. (ѓ) Поттикнува ИгЕ одговор. ИгЕ се врзува и за мастоцитите и за базофилите за да го направи лицето „чувствително“ на противгенот *Brugia malayi*. (е) Ова е $T_{по}2$ одговор. ИЛ-4 поттикнува Спап6, кој ги поттикнува Б-клетките за превклучување класи за да го препишат ИгЕ. Активацијата на Спап6 има негативна повратна спрега за активацијата на препишувањето на тип 1 цитокините како што е ИФН-гама. Според тоа, може да се предвиди дека ИФН-гама реакциите ќе се намалат.

Поглавје 16

Прашање од клинички фокус: Забелешките дека жените поттикнуваат посилни имуни реакции од мажите и дека овие реакции тежнеат да бидат повеќе $T_{по}1$ тип може, делумно, да ги објасни половите разлики во чувствителноста за автоимунитет. Бидејќи $T_{по}1$ типот на одговор е провоспалителен, развојот на автоимунитет може да биде засилен.

1. Процесот наречен централна толернација ги отстранува лимфоцитите со рецептори кои покажуваат афинитет за сопствените противгени во тимусот или во коскената срцевина. Самореактивниот лимфоцит може да избегне отстранување во овие првични лимфоидни органи доколку не се сретнат со сопствениот противген таму или доколку афинитетот за сопствениот противген не е доволен за да поттикне апоптотична смрт. Самореактивните лимфоцити кои избегнуваат отстранување преку централната толеранција се попречени да не му наштетат на домаќинот преку периферната толеранација, која вклучува три главни стратегии: поттикнување на клеточна смрт или апоптоза, поттикнување на анергија (состојба на нереактивност) или поттикнување на противген-специфична популација од регулаторни Т-клетки кои ги контролира само-реактивните клетки.

2. Толеранцијата е неопходна за отстранување на самореактивните Б и Т-лимфоцити. Без толеранција, која може да се дефинира како нереактивност на противген, ќе дојде до масивен автоимунитет или самореактивност.

3. Рецепторното уредување е процес со кој Б-клетките (но не и Т-клетките) го заменуваат потенцијалното автореактивно В подрачје од имуноглобулинот со друг В ген, и на тој начин ја менуваат противгената специфичност и ја избегнуваат самореактивноста.

4. (а) 6. (б) 8. (в) 10. (г) 9. (д) 12. (ѓ) 7. (е) 3. (ж) 11. (з) 2. (ѕ) 1. (и) 5. (ј) 4.

5. (а) ЕАЕ е поттикнат преку инектирање на глувците или стаорците со миелински базичен протеин во целосен Freund-ов адјуванс. (б) Животните кои закрепнале од ЕАЕ сега се отпорни на него. Ако примат втора инекција со миелински базичен протеин во целосен Freund-ов адјуванс, тие повеќе нема да развијат ЕАЕ. (в) Ако Т-клетките од глувци со ЕАЕ се пренесат во здрави сингенични глувци, глувците ќе развијат ЕАЕ. Види слика 16-11.

6. Се покажало дека одреден број на вируси поседуваат протеини кои делат секвенци со миелинскиот базичен протеин (МБП). Бидејќи енцефалитогените пептиди на МБП се познати, можно е да се тестираат овие пептиди за да се види дали носат секвенцна хомологија со секвенците од познатите вирусни протеини. Компјутерската анализа открила одреден број вирусни пептиди кои имаат секвенцна хомологија со енцефалитогените пептиди на МБП. Со имунизирањето на зајаците со овие вирусни секвенци, можно е да се поттикне ЕАЕ. Проучувањата на енцефалитогените пептиди на МБП, исто така, покажале дека различни пептиди поттикнале ЕАЕ кај различни видови. Според тоа, ГТК хаплотипот ќе одреди кои вкрстено реактивни вирусни пептиди ќе бидат претставени и, поради тоа, ќе влијаат врз развојот на ЕАЕ.

7. (1) Вирусот може да прикажува противгенска одредница која вкрстено реагира со сопствен дел. (2) Вирусната инфекција може да поттикне локализирани концентрации на ИФН-гама. Потоа ИФН-гама може да поттикне несоодветно прикажување на класа 2 ГТК молекулите на непротивген-

прикажувачки клетки, при што, овозможува сопствените пептиди прикажани заедно со класа 2 ГТК молекулите на овие клетки да ги активираат $Т_{ПО}$ клетки. (3) Вирусот може да оштети орган, што доведува до ослободување на противгени кои обично се изолирани од имуниот систем.

8. (а) За да ИФН-гама трансгенот биде прикажан само на панкреатичните бета клетки. (б) Дошло до клеточна инфилтрација со лимфоцити и макрофаги слично на таа при инсулин-зависниот дијабетес мелитус. (в) ИФН-гама трансгенот ги поттикнува панкреасните бета клетки да прикажуваат класа 2 ГТК молекули. (г) Локализирната вирусна инфекција во панкреасот може да доведе до локализирано создавање ИФН-гама од активираните Т-клетки. Потоа ИФН-гама може да поттикне несоодветно прикажување на класа 2 ГТК молекули од панкреасните бета клетки, како и создавање на други цитокини како што се ИЛ-1 или ТНФ. Ако сопствените пептиди се претставени од класа 2 ГТК молекулите, тогаш ИЛ-1 може да го обезбеди потребниот костимулаторен сигнал за активирање на Т-клетките против сопствените пептиди. Како алтернатива, ТНФ, исто така, може да предизвика локализирано клеточно оштетување. Види слика 16-3.

9. Против-КД4 моноклонските противтела се користеле за блокирање на $Т_{ПО}$ активност. Моноклонските противтела (против-ТАЦ) кои се специфични за високо афинитетниот ИЛ-2 рецептор биле испробани за блокирање на активирните $Т_{ПО}$ клетки. Поврзувањето на одредени автоимуни болести со спрегнатото прикажување на Т-клеточниот рецептор ги натерало истражувачите да употребат моноклонско противтело специфично за Т-клеточните рецептори кои носат одредени В домени. На крајот, противтелата против специфичните ГТК алели кои се поврзани со зголемен ризик за автоимунитет биле тестирани во ЕАЕ моделите.

10. (а) Точно. (б) Неточно: ИЛ-12, кој го поттикнува развојот на $Т_{ПО}1$ клетките, го зголемува автоимунот одговор на МБП плус адјуванс. (в) Неточно: Присуството на ХЛА-Б27 цврсто се поврзува со чувствителноста за анкилозирачки спондилитис, но тој не е единствениот фактор кој е потребен за развој на болеста. (г) Точно. (д) Точно.

11. (а) 5, 1. (б) 1, 3, 4. (в) 1, 3. (г) 1, 2, 3.

12. Активацијата на раните комплементни делови води до создавање на К3б, кој се врзува за КР1 на ЦКК за да ги отстранат имуните комплекси од крвотокот. Имуните комплекси се пренесуваат во црниот дроб и слезината, каде се одделуваат од ЦКК и се разложуваат. Комплементната активација кај пациенти на кои им недостасуваат К1, К4 или КР1 можат да бидат поттикнати преку алтернативната или МВЛ патеката.

13. (а) Поликлонската Б-клеточна активација може да настане како резултат од инфекција со грам-негативни бактерии, цитомегаловирус или ЕБВ, кои поттикнуваат неспецифично размножување на Б-клетките. При овој процес можат да бидат стимулирани одредени самореактивни Б-клетки. (б) Доколку се изложат нормално изолираните противгени, може да се стимулираат самореактивните Т-клетки. (в) Имуниот одговор против вирус може вкрстено да реагира со нормалните клеточни противгени, како во случајот на молекулската мимикрија. (г) Зголеменото прикажување на ТКР молекулите не треба да доведе до автоимунитет. Сепак, ако прикажувањето не е регулирано во тимусот, можат да се создадат самореактивни клетки. (д) Зголеменото прикажување на класа 2 ГТК молекулите се среќава кај ИЗДМ и Гравесовата болест, што покажува дека несоодветното прикажување на противгенот може да ги стимулира самореактивните Т-клетки.

14. (а) 1. Неточно. 2. Неточно. 3. Неточно. 4. Точно (б) 100. (в) Сите три можат да се користат за потврдување на овој експеримент.

Поглавје 17

Прашања од клиничкиот фокус: Идеалното животно за создавање органи за ксенопресадување ќе има големина на тело во голем степен како кај луѓето и може генски да се модифицира за да се отстрани секој противген кој предизвикува акутно отфрлање. Не треба да има било каква болест која може да се пренесе кај луѓето. Тестот на органите мора да вклучи пресадување во нечовечки цицачи и периоди на надгледување кои се доволно долги за да потврдат дека органите остануваат потполно функционални кај новиот домаќин и дека нема пренесено каква било болест.

1. (а) Неточно: Акутното отфрлање е клеточно посредувано и веројатно ги вклучува првиот сет на механизми на отфрлање (види слика 17-1б и 17-7). (б) Точно. (в) Неточно: Патувачките бели клетки се дарителски стеблести клетки кои прикажуваат класа1 ГТК молекули и високи нивоа на класа 2 ГТК молекули. Тие мигрираат од пресаденото ткиво во регионалните лимфни јазли на примателот, каде имуните клетки од домаќинот реагираат на алопротивгените од нив. (г) Неточно: Пресадокот кој е компатибилен за главните ткивносовпадливи противгени, кодирани во ХЛА, можат да бидат отфрлени поради разликите во малите ткивносовпадливи противгени кои се кодирани во други локуси. (д). Точно.

2. (а) Темните бунарчиња покажуваат дека клетките се обоиле и се позитивни за тој противген. Дарителот 2 совршено е спарувачки со примателот во сите тестирани противгени и поради тоа ќе биде првиот избор. (б) Дарителот 1 ќе биде прифатлив втор избор, имајќи предвид дека само еден противген е неспарувачки. (в) Дарителот 4 е неспарувачки за двата ХЛА-А и ХЛА-ДР протвгени кои биле тестирани, а е спарувачки само за еден противген од ХЛА-Б. Дарителите 1 и 3 се неспарувачки за еден противген. Сепак, дарителот 3 е неспарувачки за ХЛА-ДР противгенот, кој е класа 2 молекула. Поверојатно е дека неспарувањето во класа 2 ГТК молекулите ќе доведе до отфрлање отколку неспарувањето во класа 1 ГТК молекулите. Според тоа, помалку веројатно е дека ќе биде отфрлен дарителот 1. (г). Еднонасочна мешана лимфоцитна реакција треба да се направи за да се одреди компатибилноста.

3. Одговорот на 3-тото прашање следи.

Дарител	Примател	Одговор	Тип на отфрлање
BALB/c	С3Н	О	ОПО
BALB/c	Стаорец	О	ОПО
BALB/c	Гол глушец	П	
BALB/c	Ц3Х, претходно имал БАЛБ/ц пресадок	О	ОВО
BALB/c	Ц3Х, претходно имал Ц57БЛ/6 пресадок	О	ОПО
BALB/c	BALB/c	П	
BALB/c	(BALB/c X С3Н) F_1	П	
BALB/c	(С3Н X C57BL/6) F_1	О	ОПО
(BALB/c X С3Н) F_1	BALB/c	О	ОПО
(BALB/c X С3Н) F_1	BALB/c претходно имал Ф1 пресадок	О	ОВО

4. (а) Болеста преасдок-против-домаќин (БППД) се развива кога Т-клетките од дарителот ќе препознаат алопротивгени на клетките од имуно-супримираниот домаќин. Реакцијата се развива кога дарителските $Т_{ПО}$ клетки се активираат како одговор на пептид-ГТК комплексите од примателот кои се прикажани на противген-прикажувачките клетки. Цитокините кои се создадени од овие $Т_{ПО}$ клетки активираат голем број ефекторни клетки, вклучувајќи ги КПУ, ЦТЛ и макрофагите, кои го оштетуваат ткивото на домаќинот. Покрај тоа, цитокините како што е ТНФ може да посредуваат директно цитолитично оштетување на клетките домаќин. (б) БППД се развива кога даруваниот орган или ткиво содржи имунокомпетентни лимфоцити и кога домаќинот е имуно-супримиран. (в) Даруваниот орган или ткиво можат да се третираат со моноклонски противтела за КД3, КД4 или за високо афинитетниот ИЛ-2 рецептор за да се намалат дарителските $Т_{ПО}$ клетки. Причината зад овој метод е да се намали активацијата на $Т_{ПО}$ клетките при одговорот на алопротивгените од домаќинот. Употребата на против-КД3 ќе ги отстрани сите Т-клетки; употребата на против-КД4 ќе ги отстрани сите $Т_{ПО}$ клетки; употребата на против-ИЛ-2Р ќе ги отстрани само активираните $Т_{ПО}$ клетки.

5. (а) Братот или сестрата В претставува најдобриот потенијален дарител врз база на спарувањето на АБО крвната група и сите класа 1 ГТК противгени. (б) Братот или сестрата А претставува најдобриот дарител како што е прикажано со нискиот одговор на размножување при едно-насочната МВЛ со примателот. Резултатот покажува дека класа 2 противгените се спарувачки со оние на примателот. Со овие тестови, братот или сестрата А ќе биде избран да биде дарител, бидејќи класа 2 противгените се поважни при одредувањето на потенцијалното отфрлање.

6. Употребата на растворлив ЦТЛА4 или против-КД40 лиганд за поттикнување на прифаќање на ало-пресадокот се базира на барањето на Т-клетката за костимулаторен сигнал кога е врзан нејзиниот рецептор. Дури и ако Т-клетката од примателот пресадокот го препознае како надворешен, присуството на ЦТЛА4 или против-КД40Л ќе ја спречат Т-клетката да се активира бидејќи таа не прима вторичен сигнал преку КД40 или КД28 рецепторите (види слика 17-9). Наместо да се активираат, Т-клетките стимулирани во присуство на овие блокирачки молекули стануваат анергични. Предноста од употребата на растворливи ЦТЛА4 или против-КД40Л е тоа што овие молекули ги засегаат само оние Т-клетки кои се вклучени во одговорот против ало-пресадокот. Овие ало-пресадок специфични Т-клетки ќе станат анергични, но општата популација на Т-клетки ќе остане нормална. Поопштите имуносупресивни мерки, како што е употребата на ЦсА или ФК506, предизвикуваат имунонедостаток и последователна чувствителност на инфекција.

7. Азатиопринот претставува митотичен инхибитор кој се користи за блокирање на размножувањето на Т-клетките кои се специфични за ало-трансплант. Циклоспоринот А и ФК506 ја блокираат активацијата на мирувачките Т-клетки преку мешање во сигнално пренесувачката патека што води до групирање на препишувачкиот фактор НФАТ. Рапамицинот ја инхибира активацијата на $Т_{ПО}$ клетките преку сопирање на клеточниот циклус. Во идеални услови, ако раното отфрлање е инхибирано преку спречување на одговорот од специфичните Т-клетки, со текот на времето, овие клетки можат да станат толерантни на пресадокот. За долготрајно намалување на несаканите ефекти, пожелно е намалување на дозата на лековите.

Поглавје 18

Прашања од клиничкиот фокус: ВИГ, или вакцинија - специфичен имуноглобулин, се добива од лица кои се имунизирани со вакцинија, вакцина за големи сипаници. Порано, кога вакцинацијата за големи сипаници била честа, ВИГ се добивал со собирање на серумот од имунизираните лица. Поради прекинувањето на вакцинацијата против големите сипаници, во моментов залихите на ВИГ се при крај. ВИГ е доста ефикасен бидејќи вакцинијата е исчистена многу ефикасно со противтело.

1. (а) Бидејќи заразените целни клетки прикажуваат Х-2^k ГТК молекули, но подготвените Т-клетки биле Х-2^d спрегнати· (б) Бидејќи нуклеопротеинот на инфлуенцата се обработува во ендогената патека за обработка и резултантните пептиди се претставени од класа 1 ГТК молекулите. (в) Веројатно бидејќи трансфектираниот класа 1 $Д^b$ молекул може да го претстави пептидот 365-380, а не и пептидот 50-63. Како алтернатива, пептидот 50-63 може да не биде Т-клеточен епитоп. (г) Овие резултати покажуваат дека коктелот од неколку имуногени пептиди веројатно ќе биде претставен од различни ГТК хаплотипови кај луѓето и ќе ги овозможи најдобрите вакцини за луѓето.

2. Неспецифичната одбрана на домаќинот вклучува цилијарни епителни клетки, бактерицидни супстанции во мукозните секрети, комплементните распадни продукти кои се активирани со алтернативната патека и кои служат и како опсонини и како хемотактични фактори и фагоцитните клетки.

3. Специфичната одбрана на домаќинот вклучува секреторен ИгА во мукозните секрети, ИгГ и ИгМ во ткивните течности, класичната комплементна патека, комплементните распадни продукти, опсонините (ИгМ, ИгГ и К3б) и фагоцитните клетки. Цитокините создадени за време на специфичниот имун одговор, каде спаѓаат ИФН-гама, ТНФ, ИЛ-1 и ИЛ-6, придонесуваат за целокупниот интензитет на воспалителниот одговор.

4. Хуморалното противтело својот врв го достигнува неколку дена по инфекцијата и се врзува за инфлуенца ХА гликопротеинот, при што ја блокира вирусната инфекција на епителните клетки од домаќинот. Бидејќи противтелото е вид специфично, неговата главна улога е да заштитува против реинфекција со истиот вид на инфлуенца.

5. (а) Африканските трипанозоми се способни за противгено поместување на променливиот површински гликопротеин (ППГ). Противгените поместувања се извршуваат кога генските сегменти кои кодираат делови од ППГ се дуплираат и пренесуваат во препишувачките активни прикажувачки места. (б) *Плазмодиумот* го избегнува имуниот систем преку постојаното подлежување на промени при зреењето од спорозоит во мерозоит до гаметоцит, што му овозможува на организмот непрекинато да ги менува неговите површински молекули. Покрај тоа, внатреклеточните фази од неговиот животен циклус го намалуваат нивото на имуна активација. На крајот, организмот може да се ослободи од неговата циркумспорозоитна обвивка по врзувањето на противтелото. (в) Инфлуенцата може да го избегне имуниот одговор преку чести противгени промени во нејзините хемаглутинински и невраминидазни гликопротиени. Противгените промени се извршуваат преку акумулација на мали точкести мутации (противгенска замена) или преку генетско менување на РНК помеѓу инфлуенца вирионите од луѓето и животните (противгенско преместување).

6. (а) ИА[b]. (б) Бидејќи противген-специфичните, ГТК-спрегнатите $T_{по}$ клетки учествуваат во Б-клеточната активација.

7. (а) БКЖ (Бацил Калмет-Жерин). (б) Противгено поместување, противгено преместување. (в) Генска конверзија. (г) Туберкуломи; $T_{по}$ клетки; активирани макрофаги. (д) Токсоид. (ѓ) Интерферон алфа; интерферон гама. (е) Секреторен ИгА. (ж) ИЛ-12, ИФН-гама.

8. Повеќето габични инфекции кои преовладуваат кај општото население не водат до тешка болест и се отстрануваат со механизмите на вродениот имунитет. Проблематичните габични инфекции почесто се гледаат кај лицата со одредена форма на имунонедостаток, како што се пациенти со ХИВ/СИДА или лица со имуносупресија која е предизвикана од терапевтски мерки.

9. Една можна причина за појавата на нови патогени е претрупувањето на најсиромашните популации на светот на многу мали места во големите градови, бидејќи густината на населението го зголемува ширењето болеста. Друг фактор е зголемувањето на меѓународното патување. Други особини на модерниот живот кои може да придонесат вклучуваат масовна распределба на храна, што изложува големи популации на потенцијално затруена храна и нехигиенска подготовка на храна.

10. Главниот фактор кој придонел за наглото ширење на САРС вирусот претставува преваленцијата на меѓународното патување. Болеста била пренесена од лекар од копнена Кина во Хонг Конг, каде одреден број на посетители во хотелот каде престојувал ја добиле болеста и ја пренеле на наредната дестинација.

11. (а) Инфлуенца вирусот го менува површинското прикажување на невраминидазата и хемаглутининот. (б) Херпес вирусите остануваат скриени во нервните клетки. Подоцнежната појава може да предизвика појава на ладни рани или херпес (вирус на овчи сипаници). (в) *Neisseria* лачи протеази кои го разложуваат ИгА. (г) Неточно. (г) Неколку грам-позитивни бактерии се отпорни на комплемент-посредуваната лиза. (ѓ) Инфлуенца вирусот акумулира мутации секоја година. (е) Неточно.

12. Површинските епитопи на *Трепонемата* се структурно слични на епитопите од Борелија, што води до вкрстено реагирање на противтелата и лажно позитивни резултати. Направени се понови тестови со противтела кон епитопи кои се специфични за *Борелија*.

13. (а) Не, ИгЕ се зголемува против алергените, не против инфективните болести. (б) Не, автореактивните Т-клетки се активираат само од внатреклеточни инфекции. Исказите од (в) до (ѓ) се точни.

14. (а) Големи, грануларни клетки како што се мастоцитите и еозинофилите. Неутрофилите и макрофагите, исто така, ќе бидат вклучени. (б) Цитокините како што се ИЛ-4, ИЛ-5 и ИЛ-3 ќе помогнат при управувањето на $T_{по}1$ одговорот кој е веќе присутен. Сепак, терапевтските цитокини кои го управуваат одговорот кон $T_{по}2$ можат да бидат покорисни за долготрајниот имунитет.

Поглавје 19

Прашања од клиничкиот фокус: Која било поврзаност помеѓу вакцинацијата и подоцнежната несакана реакција мора да се проценат преку валидни клинички испитувања кои вклучуваат доволен број на лица во контролната група (лицата кои примаат плацебо) и експерименталната група (лицата кои примаат вакцина). Ова е потребно за да се даде статистички точна проценка за ефектите од вакцината наспроти другите можни причини за несакана реакција. Таквите клинички испитувања мора да се извршат со двојно слепа проба, односно, ниту субјектот ниту лекарот не треба да знаат кој ја примил вакцината, а кој примил плацебо до крајот на набљудувачкиот период.

Во дадениот пример, можно е несаканата реакција (зголемена зачестеност на артритис) да биде предизвикана од инфекција која се јавува во исто време кога е дадена новата вакцина. Одредувањето на точната причина за оваа несакана реакција може да е невозможно, но осигурувањето дали таа е предизвикана од вакцина е можно преку соодветни проучувања на вакцинираната и контролната популација.

1. (а) Точно. (б) Точно. (в) Точно. (г) Неточно: Бидејќи ДНК вакцините овозможуваат продолжено изложување на противген, тие веројатно создаваат имунолошко памтење. (д) Точно. (ѓ) Неточно: ДНК вакцината го содржи генот кој го кодира целиот протеински противген, кој веројатно содржи повеќе епитопи.

2. Бидејќи ослабените организми се способни за ограничен раст во клетките домаќин, тие се обработени во цитозолната патека и се претставуваат на мембраната на заразените клетки на домаќинот заедно со класа 1 ГТК молекулите. Според тоа, овие вакцини обично можат да поттикнат клеточно посредуван имун одговор. Ограниченото растење на ослабените организми во домаќинот често ја отстрануваат потребата од ревакцина. Исто така, ако ослабениот организам може да расте во мукозните мембрани, тогаш вакцината ќе може да поттикне создавање на секреторен ИгА. Главниот недостаток на ослабените вакцини со цел организам е тоа што тие можат да се претворат во вирулентна форма. Тие, исто така, се понестабилни од другите видови на вакцини, што бара замрзнување за да се одржи нивната активност.

3. (а) Противтоксинот се дава за да го инактивира кој било токсин кој би можел да се создаде доколку *Clostridium tetani* ја инфицирал раната. Противтоксинот бил потребен бидејќи девојчето не било претходно имунизирано и, според тоа, немала циркулирачко противтело против тетанусниот токсин или памтечки Б-клетки кои се специфични за тетанусниот токсин. (б) Поради лекувањето со противтоксин, девојчето нема да развие имунитет против тетанус како резултат на првата повреда. Според тоа, по втората повреда, 3 години подоцна, таа ќе треба да добие втора доза на противтоксин. За да стекне долготраен имунитет, таа треба да се вакцинира со тетанусен токсоид.

4. Сабиновата полио вакцина е атенуирана, додека Салковата вакцина е инактивирана. Според тоа, Сабиновата вакцина ги има вообичаените предности на ослабена вакцина во споредба со инактивираната вакцина (види одговор 2). Покрај тоа, бидејќи Сабиновата вакцина е способна за ограничен раст во гастроинтестиналниот тракт, поттикнува создавање на секреторен ИгА. Ослабената Сабинова вакцина може да предизвика животозагрозувачка инфекција кај лицата, како што се деца со СИДА, чиишто имун систем е тешко супримиран.

5. Вирусните видови кои се користат за назално дадените вакцини се мутанти кои се чувствителни на температура и кои не можат да растат на човечка телесна температура (37° С). Живиот ослабен вирус може да расте во горниот респираторен тракт и да поттикне имунитет, но нема да расте во долниот респираторен тракт за да предизвика инфлуенца.

6. Т-клеточните епитопи, во основа, се внатрешни пептиди, кои обично содржат висок удел на хидрофобни остатоци. Наспроти тоа, Б-клеточните епитопи се поставени на површината на противгените, каде што се пристапни за противтелото и содржат висок удел на хидрофилни остатоци. Според тоа, синтетичките хидрофобни пептиди веројатно претставуваат Т-клеточни епитопи и поттикнуваат клеточно посредуван одговор, додека синтетичките хидрофилни пептиди најверојатно ќе претстават пристапни Б-клеточни епитопи и поттикнуваат противтелен одговор.

7. Кога поголемиот број од населението е имуно на одреден патоген, односно, постои групен имунитет, тогаш веројатноста дека одреден број чувствителни лица од населението да стапат во контакт со заразените лица е доста мала. Според тоа, мала е веројатноста дека чувствителните лица ќе се заразат со патогенот. Ако бројот на имунизирани лица се намали доволно, најчесто поради намалувањето на вакциналните стапки, тогаш групниот имунитет повеќе не работи за да ги заштити чувствителните лица и инфекцијата може да се шири брзо кај населението, што води до епидемија.

8. Во оваа хипотетична ситуација, генот може да се клонира во прикажувачкиот систем, а протеинот прикажан и прочистен со цел да се тестира како рекомбинантна протеинска вакцина. Како алтернатива, генот може да се клонира во плазмидски вектор кој може да се внесе директно и да се тестира како ДНК вакцина. Употребата на клонираниот ген како ДНК вакцина е поефикасно, бидејќи ги отстранува чекорите кои се потребни за подготовка на протеинот и негово прочистување. Сепак, плазмидот кој го содржи генот за заштитниот противген мора да биде соодветно прочистен за употреба при човечките испитувања. ДНК вакцините имаат поголема способност да ги стимулираат и хуморалните и клеточните гранки на имуниот систем отколку протеинските вакцини и поради тоа можат да дадат целосен имунитет. При изборот мора, исто така, да се земе предвид фактот дека рекомбинантните протеински вакцини се во широка употреба, но ДНК вакцините за хумана употреба сè уште се наоѓаат во фаза на тестирање.

9. Патогените со краток период на инкубација (на пр., инфлуенца вирусот) предизвикуваат симптоми на болест пред да се поттикне одговор на памтечките клетки. Заштитата против таквите патогени се постигнува со повторувачки реимунизации за да се одржат високи нивоа на неутрализирачкото противтело. За патогените со подолг инкубациски период (на пр., полио вирусот), одговорот на памтечката клетка е доволно брз за да спречи развивање на симптоми, а високите нивоа на неутрализирачко противтело во времето на инфицирањето не се неопходни.

10. Бактериските капсуларни полисахариди, инактивираните бактериски егзотоксини (токсоиди) и површинските протеински противгени. Последните два обично се создаваат со рекомбинантна ДНК технологија. Покрај тоа, се проценува употребата на ДНК молекулите за насочување на синтезата на протеините при имунизацијата.

11. Противтелата од пасивната имунизација се врзуваат за Фк рецепторите на мајчините Б-клетки, што ги спречува Px^+ Б-клетките да се активираат и да создаваат противтела против фетусот кој се развива. На овој начин, вакцинацијата го штити новороденчето од напад од мајчиниот имун систем.
12. Можно губење на групниот имунитет кај населението. Дури и кај вакцинирана популација на деца, мал процент може да имаат намален имунитет против целната болест поради разликите во прикажувањето на ГТК молекулите во популацијата, што обезбедува резервоар за болеста. Покрај тоа, повеќето вакцинирани лица, ако се изложат на ова заболување, ќе добијат блага болест. Изложувањето на невакцинираните лица на изворот на болеста ќе ги стави на ризик за сериозна болест. Епидемиите кај возрасното население ќе имаат посериозни последици, а смртноста на новороденчињата поради овие болести ќе порасне.

13. (а) 1 или 2. (б) 2. (в) 3. (г) 4. (д) 1. (ѓ) 2. (е) 2.

Анализирање на податоци: (а) PSG5DNK-Bcl-xL која цели на калретикулинот (CRT) и LAMP-1 се најефикасните вакцини за поттикнување на $КД8^+$ Т-клетките да создаваат ИФН-гама. PSG5DNK-Bcl-xL која цели на HSP70, исто така ги активира $КД8^+$ Т-клетките. Сепак, создавањето на pSG5 без против-апоптозниот ген кој цели на CRT, исто така, поттикнува добар $КД8^+$ Т-клеточен одговор. (б) Калретикулинот е придружен протеин кој е поврзан со делумно обвитканите класа 1 ГТК молекули во ендоплазматскиот ретикулум. Поврзувањето на противгенот Е7 со придружникот може да го зголеми оптоварувањето на класа 1 ГТК молекулите со Е7, при што го прави противгенот подостапен за Т-клетките штом ќе биде прикажан на клетките. (в) ДНК вакцините кои се коинјектирани со PSG5DNK-Bcl-xL биле ефикасни при поттикнувањето на $КД8^+$Т-клетките, веројатно бидејќи прикажувањето на противапоптотичните гени во стеблестите гени им овозможило на овие клетки да опстојат подолго и подолго време да го претставаат противгенот на Т-

клетките. Колку подолго тие го претставуваат противгенот, толку подолго домаќинот ќе реагира за да создаде противген-специфични Т-клетки. (г) Податоците на слика б покажуваат дека при отсуство на КД4$^+$ помагачките Т-клетки (кај глувците кај кои е отстранет КД4$^+$), доаѓа до неефикасна активација на КД8$^+$ Т-клетките. Според тоа, Т-клеточната помош е неопходна за активација на КД8 одговор; преку целење на противген за ГТК 2, поефикасно ќе ги активирате помагачките Т клетки. Создадениот Sig/E7/LAMP-1 бил неопходен бидејќи повеќето противгени кои се претставени од ГТК 2 молекулите се обработени во ендоцитната патека, а создадениот Sig/E7/LAMP-1 го цели противгенот во Голџи, каде Е7 пептидите можат да се разменат со КЛИП и да се вметнат во ГТК 2. (д) Помагачките Т-клетки (слаб одговор кај глувците со отстранет КД4), долгоживеачките стеблести клетки (имунизацијата со PSG5DNK-Bcl-xL го подобрува одговорот), противгенот (отсуството на пептидот не успеал да поттикне одговор) и целењето на противгенот за ГТК 2 (имунизирањето со создадениот Sig/E7/LAMP-1 е единствениот кој поттикнува КД8$^+$ Т-клеточен одговор).

Поглавје 20

Прашања од клиничкиот фокус: Пред невирапинот да може универзално да се дава кај сите мајки при породувањето, потребно е да се знае дека придобивките од ова лекување го надминуваат ризикот. Придобивката од лекот, како што е познато од досега извршените проучувања, е тоа што значително го намалува пренесувањето на ХИВ кај новороденчињата родени од заразени мајки. Мора да се направи студија за ризикот при внесувањето на невирапинот кај здравите мајки и нивните новороденчиња и само доколку постојат минимални или воопшто не постојат несакани ефекти може да се препорача лекувањето.

1. (а) Точно. (б) Неточно: Икс-врзаната агамаглобулинемија се карактеризира со намалување на Б-клетките и отсуство на имуноглобулините. (в) Неточно: Фагоцитните дефекти доведуваат до повторувачки бактериски и габични инфекции. (г) Точно. (д) Точно. (ѓ) Точно. (е) Точно. (ж) Точно. (з) Неточно: Овие деца обично можат да ги отстранат вообичаените инкапсулирани бактерии со противтело плус комплемент, но се чувствителни на вирусни, протозоални, габични и внатре-клеточни бактериски патогени, кои се отстрануваат со клеточно-посредуваната гранка од имуниот систем. (ѕ) Неточно: Хуморалниот имунитет, исто така, е засегнат бидејќи класа 2-спрегнатите $T_{по}$ клетки мора да се активираат за да настане противтелен одговор.

2. (а) 3. (б) 4. (в) 2. (г) 5. (д) 1. (ѓ) 2.

3. Дефектот кај Икс-врзаниот хипер-ИгМ синдром е во КД40Л кој е прикажан на Б-клетките. КД40Л посредува при врзувањето на Б-клетките за Т-клетките и праќа костимулаторни сигнали до Б клетката за превклучување класи. Без КД40Л не настанува превклучување на класите и Б-клетките не прикажуваат други изотипови на противтела.

4. Како што објаснивме во Поглавје 10, тимусот е место за диференцијација и зреење на помагачките и цитотоксичните Т-клетки. Во овој орган, исто така, настануваат позитивната и негативната селекција. Според тоа, тимоцитите кои се создаваат во коскената срцевина на пациентите со Ди Џорџиевиот синдром немаат способност да созреваат во ефекторни видови на клетки. Во поглавје 2, видовме дека со текот на времето големината и работата на тимусот се намалуваат. Кај возрасните, популациите на ефекторни клетки веќе биле создадени (тимусот е најголем во пубертетот); според тоа, дефект по оваа фаза ќе предизивка полесен Т-клеточен недостаток.

5. (а) Леукоцитниот адхезивен недостаток се јавува како резултат на биосинтезата на дефектна бета-верига во ЛФА-1, КР3 и КР4, кои ја содржат истата бета верига. (б) ЛФА-1 игра улога во клеточната атхезија преку врзување за МКАМ-1 кој е прикажан на различни видови на клетки. Врзувањето на ЛФА-1 за МКАМ-1 е вклучено во меѓудејствата помеѓу $T_{по}$ клетките и Б-клетките, помеѓу ЦТЛ и целните клетки и помеѓу циркулирачките леукоцити и васкуларните ендотелни клетки.

6. (а) Преуредените тешковерижни гени кај ТКИН (SCID) глувците ги немаат Д и/или Ј генските сегменти. (б) Според моделот на алелско исклучување кој е објаснет во Поглавје 5, пред да се преуредат капа верижните гени мора да настане продуктивно преуредување на тешковерижните гени. Бидејќи ТКИН глувците немаат продуктивно преуредување на тешката верига, тие не пробуваат да ја преуредат капа лесната верига. (в) Да: Преуредениот тешковерижен ген ќе се препише за да даде функционална ми тешка верига. Присуството на тешката верига ќе поттикне преуредување на генот за ми-веригата (види слика 5-11).

7. (а) 4. (б) 3. (в) 2. (г) 1. (д) 8. (ѓ) 6. (е) 5. (з) 7.

8. (а) Неточно: ХИВ-2 и СИВ се потесно поврзани. (б) Неточно: ХИВ-1 ги инфицира шимпанзата, но не предизвикува имуна супресија. (в) Точно. (г) Неточно: Зидовудинот (АЗТ) дејствува на ниво на реверзното препишување на вирусниот геном, додека индинавирот е инхибитор на вирусната протеаза. (д) Точно. (ѓ) Неточно: Пациентите со напредната СИДА понекогаш немаат забележливи серумски противтела против ХИВ. (е) Неточно: ПВР ја открива ХИВ провирусната ДНК во латентно заразените клетки. (ж) Точно.

9. Најверојатната причина за намалувањето на Т-клетките при СИДА се цитопатичните ефекти на ХИВ инфекцијата. Ако количеството на вирус во циркулацијата се намали со употребата на противвирусните агенси, бројот на Т-клетки ќе порасне.

10. Не. Во хроничната фаза на ХИВ инфекцијата, вирусното размножување и бројот на КД4$^+$ Т-клетките се наоѓаат во динамичка рамнотежа, а нивото на вирусот останува релативно неизменето.

11. Порастот во вирусниот број и намалувањето на нивото на КД4$^+$ Т-клетките покажува дека ХИВ инфекцијата напредува од хронична фаза во СИДА. Често инфекција со опортунистички агенс се јавува кога се зголемува вирусниот број, а нивото на КД4$^+$ Т-клетките се намалува. Болеста СИДА кај ХИВ-1 заразено лице се одредува со присуството на одредени опортунистички инфекции или ако бројот на КД4$^+$ Т-клетките е помал од 200 клетки/мм^3 (види табела 20-3).

12. Реактивноста на кожниот тест се надгледува за да ја покаже функционалната активност на $T_{по}$ клетките. Како што сидата напредува, а бројот на КД4$^+$ Т-клетките се намалува, доаѓа до пад на реактивноста на кожниот тест на вообичаените противгени.

13. Рецепторите за одредени хемокини, како што е ЦХЦР4 и ЦЦР5, исто така, функционираат како корецептори за ХИВ-1. Хемокинот кој е нормален лиганд за рецепторот се натпреварува со вирусот за врзување со рецепторот и на тој начин може да ја инхибира клеточната инфекција преку

блокирање на прикачувањето на вирусот. Цитокините кои ги активираат Т-клетките стимулираат инфекција бидејќи тие го зголемуваат прикажувањето на рецепторите кои ги користи вирусот (види слика 20-12в).

14. Не. Постојат латентно заразени клетки кои живеат во лимфните јазли или на други места. Овие клетки можат да се активираат и почнуваат да го создаваат вирусот, и на тој начин предизвикуваат повторување на болеста. Со вистинскиот лек за СИДА, од пациентот треба да исчезнат сите клетки кои содржаат ХИВ ДНК.

15. Пациентот LS се совпаѓа со дефиницијата за СИДА, додека пациентот BW не се совпаѓа. Клиничката дијагноза за СИДА кај лицата кои се заразени со ХИВ зависи од бројот на Т-клетките и присуството на разни индикаторни болести. Види табела 20-3.

Анализирање на податоци: (а) ЧВИН го намалува бројот и процентот на помагачките Т-клетки. (б) Табела 1 покажува дека има помалку неискусни КД8$^+$ Т клетки кај пациентите со CVID. Ова може да значи дека хроничната активација кај ЧВИН ги направила овие Т-клетки помалку зависни од ИЛ-2. Како алтернатива, слика 2 покажува дека клетките од коскената срцевина кај ЧВИН пациентите создаваат помалку ИЛ-2. Ако ова исто така е точно за $Т_{по}$ клетките или ако има помалку $Т_{по}$ клетки (како што се гледа во табела 1), тогаш создавањето на ЦТЛ може да се намали. Овој пример за сложеноста на имуниот систем покажува дека специфичните реакции не се секогаш лесно предвидливи. (в) Неточно. Податоците на слика б покажуваат дека кинетиката и целокупното создавање на ТНФ-алфа е поголемо кај ЧВИН отколку кај нормалните пациенти, но ИЛ-2 е помал. Според тоа, нема постојано влијание. Врз основа на она што го знаеме за активноста на ТНФ-алфа, таа може да е одговорна за зголемената патологија или клеточната смрт, можеби објаснувајќи ја загубата на КД4$^+$ и КД8$^+$ клетките кај пациентите со ЧВИН. (г) Според Поглавје 20, ЧВИН ги намалува ИгГ, ИгА и ИгМ. Сепак, врз база на податоците кои се претставени во табела 1, може да се предвиди дека во отсуство на Т-клеточна помош, превклучувањето класи ќе биде значително засегнато.

Поглавје 21

Прашања од клиничкиот фокус: Бидејќи цервикалниот канцер е поврзан со човечка папилома вирусна инфекција, можна е превентивна вакцина за канцер - при што ако се спречи инфекцијата со ХПВ, тогаш ќе се спречи и цервикалниот канцер. Меѓу другите канцери кои може да се цел на таквата превенција спаѓаат возрасната Т-клеточна леукемија/лимфом и црнодробниот канцер кој е поврзан со хепатит Б инфекција. Повеќето канцери не се јасно поврзани со агенс на инфекција и затоа превентивна вакцина не е опција.

1. (а) Неточно: Наследниот ретинобластом се јавува како резултат од инактивацијата на двата алели на *Рб*, тумор супресорски ген. (б) Точно. (в) Точно. (г) Точно. (д) Неточно: Одредени онкогени ретровируси немаат вирусни онкогени. (ѓ) Точно.

2. Клетките од пред-Б-клеточната линија имаат преуредени гени за тешките вериги и ја прикажуваат ми тешката верига во нивната цитоплазма (види слика 11-3). Можете да направите анализа со Садернови дамки со $К_{ми}$ проба за да видите дали гените од тешката верига се преуредени. Исто така, можете да направите флуоресцентно боење со противтело специфично за цитоплазматската ми тешка верига.

3. (а) Меланомските клетки од раната фаза изгледа дека функционираат како противген прикажувачки клетки, го обработуваат противгенот во егзогената патека и го претставуваат противгенот на тетанусниот токсоид заедно со класа 2 ГТК ДР молекул. (б) Меланомските клетки од напредната фаза може да имаат намалување на прикажувањето на класа 2 ГТК молекулите, или не можат да го внесат и обработат противгенот во егзогената патека. (в) Бидејќи параформалдехид-фиксираните рани меланомски клетки можат да го претстават обработениот тетанусен токсоид, тие мора да прикажуваат класа 2 ГТК молекули врз нивната површина. (г) Обојте ги раните и напреднатите меланомски клетки со флуоресцентно моноклонско противтело специфично за класа 2 ГТК молекулите.

4. Туморските противгени може да се кодирани од гените кои се прикажани само од туморите, може да се продукти на гените кои прекумерно се прикажани од туморот или гените кои нормално се прикажани само при одредени фази од диференцијацијата, или може да се продукти на нормалните гени кои се модифицирани со мутација. Во некои случаи вирусните продукти може да се туморски противгени.

5. ИНФ-алфа, ИНФ-бета и ИНФ-гама го засилуваат прикажувањето на класа 1 ГТК молекулите на туморските клетки и при тоа го зголемуваат ЦТЛ одговорот на туморите. ИНФ-гама, исто така, ја зголемува активноста на ЦТЛ, макрофагите и КПУ, при што секој од нив игра улога во имуниот одговор на туморите. ТНФ-алфа и ТНФ-бета имаат директна противтуморска активност, поттикнувајќи хеморагична некроза и туморска регресија. ИЛ-2 ги активира ЛАК и ТИЛ-клетките, кои имаат противтуморска активност.

6. (а) Меланомските клетки трансфектирани со Б7 генот можат да достават костимулаторен сигнал кој е неопходен за активацијата на ЦТЛ-претходниците во ефекторни ЦТЛ, кои потоа можат да ги уништат туморските клетки. Меланомските клетки трансфектирани со ГМ-КСФ генот го лачат овој цитокин, кој ја стимулира активацијата и диференцијацијата на противген-прикажувачките клетки, особено стеблестите клетки, кои се во близина. Потоа, стеблестите клетки можат да претстават туморски противгени на $Т_{по}$ клетките и ЦТЛ-претходниците, засилувајќи го создавањето на ефекторните ЦТЛ (види слика 21-11). (б) Бидејќи дел од туморските противгени од човечките меланоми се прикажани од страна на други видови на канцери, трансфектираните меланомски клетки можат да се ефикасни против други тумори кои носат идентични противгени.

7. (а) 4. (б) 2. (в) 1. (г) 5. (д) 3. (ѓ) 9. (е) 8. (ж) 7. (з) 6.

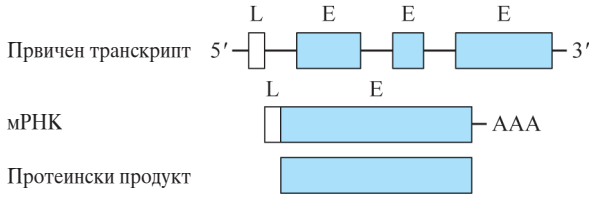
Поглавје 22

Прашања од клиничкиот фокус: Микроанализите на докторот му овозможуваат способност за попрецизна дијагноза на болеста. На пример, ако моделите на генско прикажување варираат кај два фенотипски слични тумори, можно е да се редефинира болеста како две различни болести со различни придружни третмани.

1. (а) Геномскиот клон содржи вметнати (интервентни) секвенци (интрони) кои се отстрануваат при обработката на првичното препишување и затоа не назначуваат ниту еден аминокиселински остаток во протеинскиот продукт. (б) ДНК мора да се микроинјектира во оплодено јајце за да може ДНК (трансгенот) да се пренесе на сите клетки ќерки. (б) Првичните лимфоидни култури имаат одреден животен циклус и содржат хетерогена популација од клетки.

2. (а) Хомозиготни; сингенични. (б) Нормални противген-подготвени Б-клетки; канцерозни плазма-клетки (миеломски клетки); неограничено; моноклонски противтела. (в) Трансформација, неодредена.

3.



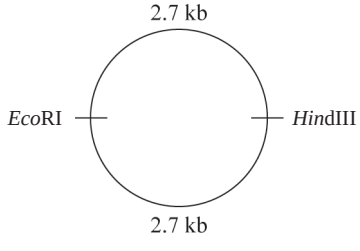
4. в.

5. а, б, г.

6. Трансфектираната ДНК се вклучува само во мал процент од клетките. Ако, исто така, е присутен селектиран обележен-ген, малиот број на трансфектирани клетки ќе растат во соодветен медиум, додека доста поголемиот број на нетрансфицирани клетки.

7. Глушецот ќе стане мозаичен каде трансгенот би бил инкорпориран во дел од соматските клетки, но не во сите.

8. Бидејќи разложувањето со секој посебен рестрикциски ензим создал една лента, плазмидот, кој е тркалезен, мора да содржи едно рестрикциско место за секој ензим. Бидејќи истовременото разложување на 5,4 кб плазмидот со двата ензими даде една лента, фрагментите од секое разложување мора да имаат иста должина. Според тоа, рестрикциските места мора да се подеднакво оддалечени една од друга во двете насоки на плазмидот, како што е прикажано на сликата.



9. г.

10. Изолирајте ја мРНК од активираните Т-клетки и препишете ја во кДНК со употреба на реверзна транскриптаза. Вметнете ја кДНК во соодветен прикажувачки вектор, како што е плазмидската ДНК која носи ампицилин селектиран ген. Пренесете ја рекомбинираната плазмидска ДНК во *E. coli* и да расте во присуство на ампицилин за да се селектираат бактериите кои содржат плазмидска ДНК. Направите тест на супернатантот од бактериска култура за присуство на ИЛ-2 со тоа што ќе видите дали моноклонското противтело кон ИЛ-2 реагира со супернатантот од културата. Штом се утврди дека бактериската култура лачи ИЛ-2, кДНК може да се клонира.

11. Радиоактивно обележете ја мРНК и употребете ја обележаната мРНК како проба за скенирање на геномската библиотека преку ин ситу хибридизација. Одново поставете го на плочка и култивирајте го селектираниот клон и изолирајте ја клонираната ДНК од ДНК на домаќинот.

12. При создавањето на трансгените глувци, во геномот се додава функционален туѓ ген. Овој процес вклучува вметнување на клониран природен ген или кДНК во оплодено јајце, кое потоа се вметнува во псевдо-бремената женка. При создавањето на отстранетите (нокаутирани) глувци, нефункционална форма на глувчешкиот ген го заменува функционалниот ген, за да животното не го прикажува кодираниот продукт. Процесот вклучува селектирање на трансфектираните ембрионски матични (ЕМ) клетки кои го носат мутираниот ген и се внесуваат ЕМ клетките во лимфобластот, кој потоа се вметнува во псевдобремената женка.

13. Отстранетите глувци се животни каде одреден ген или ДНК секвенца се избришани, додека вметнатите (knock-in) глувците се животни каде дел од ДНК се разменува за ендогена ДНК секвенца.

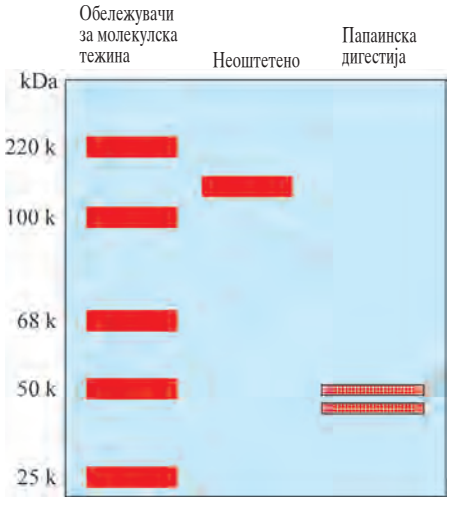
14. Системот Cre/*lox* овозможува специфично да се избрише или вметне ДНК секвенца по избор во ткивото по избор во одредено време за време на развојот со употреба на ткивно специфични поттикнувачи да ја водат промената на ДНК секвенцата. Според тоа оваа технологија ги засилува отстранувачките и вметнатите стратегиите со тоа што ги прави поселективни. Исто така, понекогаш со ограничување на промената на секвенцата на одредено ткиво ќе овозможи последиците од делецијата или инсерцијата да се проучат во тоа едно ткиво иако може да биде смртоносно за организмот ако е присутно во сите ткива.

15. (а) 8. (б) 2. (в) 5. (г) 9. (д) 4. (ѓ) 3. (е) 6. (ж) 7. (з) 10.

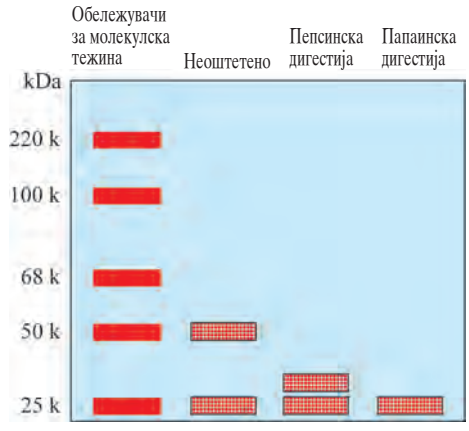
16. Клетките кои се земени директно од пациенти или нормални дарители потесно ја претставуваат ин виво активноста на овие клетки, што претставува предност за употребата на PBMC. Сепак, тие се мешана клеточна популација и не е секогаш јасно како клеточните меѓудејства можат да влијаат врз експерименталните резултати. Со употреба на клеточни лози се отстрануваат ефектите од меѓуклеточните меѓудејства и јасно се одредува кој специфичен клеточен тип е одговорен за ефектот. Исто така, експериментите изведени со PBMC ќе покажат варијација дарител-до-дарител, додека клеточните лози ќе дадат попостојани резултати поради генетската хомогеност на клеточната популација. На крајот, клеточните лози често се трансформирани или потекнуваат од канцерски клетки и може да отстапуваат на значителни начини од ин виво клеточните типови кои ги претставуваат.

17.

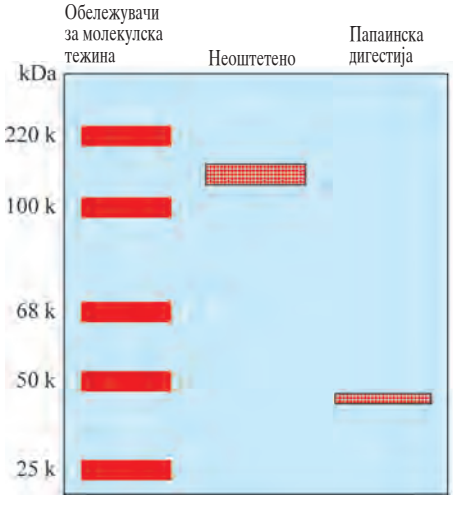
(а)



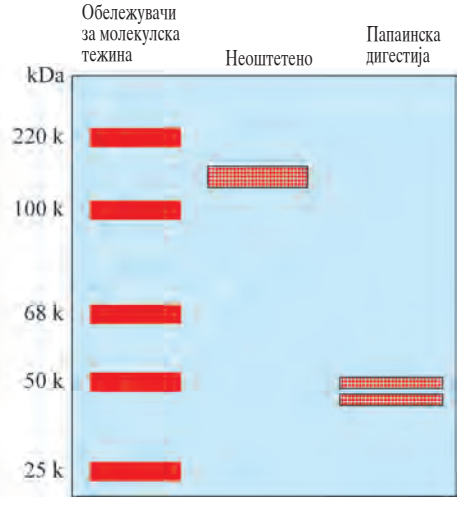
(б)



(в)



(1) Против-идиотипско мПт



(2) Поликлонски зајачки против-глувчешки ИгГ

Индекс

Бројот на страни кој е означен со *с* означува слика, а бројот на страни кој е означен со *т* означува табела. Таму каде пред бројот на страната стои А или Б се однесува на додатоците.

Абакавир, за инфекција со ХИВ, 517т, 518
Абзими, 106
абл, кај ракот, 528
Абциксимаб, 141т
Авидиин, 164
  радиоозначување со, 551
Авидитет, противтело, 148-149
Авидитетен модел, при селекцијата во тимусот.251-252
Автоимуна болест, 407-413. *Види исто* Специфични болести.
  АИРЕ при, 407
  гама-делта Т-клетки, 223
  генски фактори кај, 205, 407
  главен ткивносовпадлив комплекс кај, 205, 414
  животински модели на, 411-413
  имун одговор при, 403т
  имуни комплекси при, 393
  имуносупресија за, 419-420
  кај жените, 415, 416-417
  моноклонски противтела за, 420-421, 421с
  орални противгени за, 421-422
  орган специфично, 407-410
  патогенеза на, 414-419
  плазмафереза за, 420
  системско, 410-413
  сопствени противгени при, 403т
  спонтано, 407
  тимектомија за, 420
  Т-помагачки клетки кај, 413-414
  ХЛА-Б27 кај, 205, 414
  хронично воспаление при, 420-421
Автоимуна полиендокринопатија-кандидијаза-ектодермална дистрофија, 407
Автоимуна хемолитична анемија, 403т
Автоимуни анемии, 408
Автоимунитет, 19, 401-422
  вкрстена реактивност при, 417
  главен ткивносовпадлив комплекс, 205, 414, 418-419, 419с
  дефинирање на, 401
  експериментални модели на, 412т, 413
  животински модели за, 41-413, 412т, 418-419, 419с
  кај животните, 411-413
  кај имунокомплексна преосетливост, 372, 393
  молекулска мимикрија при, 417-418, 418т
  ослабена толеранција и, 407. *Види исто* Поттикнување на толеранција
  поликлонска Б-клеточна активација кај, 419
  полови разлики при, 415, 416-417
  секвестрирани противгени кај, 415
  Т-клеточен рецептор кај, 414
  цитокините кај, 418-419, 419с
Автологно пресадување, 33. *Види исто* Пресадување.
Автопреадоци, 426. *Види исто* пресадување,
Автореактивни лимфоцити, 276-278
  активирање на, 415-419. *Види исто* Автоимунитет,
  негативна селекција на, 287-289, 287с, 288с, 415с
  отстранување на, 401-407. *Види исто* толеранација,
Агамаглобулинемија, 284, 494с, 495т, 496с, 498
Аглутинација, 97
  бактериска, 154
  одредување на, 153
  пасивна, 153с, 154
Аглутинациска инхибиција, 154
Аглутинациски инхибициски метод, прозонски ефект кај, 153
Аглутинини, 153
Аденозин деаминазен недостаток, 497, 503
Аденозин монофосфат (АМФ), при преосетливост, 379
Адисонова болест, 403т
Адјувнси, имуногеност, 81
Адреналин (Епинефрин), 388, 388т
Адреналин, 388, 388т
Азатиоприн, при пресадување, 434, 436с
Азотен оксид, 66–68, 68с
Аизен, Х.Н., 164, 164с
AIRE, 407
Активациски поттикната клеточна смрт, 264
  при толеранција, 406
Активациски поттикната цитидин деаминаза (АПД), 128-129
Активен имунитет, 5, 477т, 478-480. *Види исто* вакцини/вакцинирање
Акутна леукемија, 530-531. *Види исто* леукемија.
Акутно фазен воспалителен одговор, 61, 342-344, 344с
Акутно фазни протеини, 61, 168, 342-344, 342с, 344с
Алвеоларни макрофаги, 36
Алели, 191. *Види исто* Ген(и) на ГТК, 205-206
Алелско исклучување
  Б-клетка, 121-122, 122с
  Т-клетка, 231
Алемтузумаб, 141т
  за канцер, 542, 542т
Алергени, 372, 373-374, 374т, 381-383. *Види исто* реакции на преосетливост
Алергии на храна, 20, 383
Алергија на амброзија, 20, 374, 374т, 381
Алергија на лешници, 20
Алергија на пеницилин, 391, 391т, 393
Алергија на поленов прав, 20, 374, 374т, 381
Алергиски ринит, 381
Алерегија на бубашваби, астма и, 385
алерегиски контактен, преосетливост од задоцнет тип кај, 393-396, 393т, 396, 397с
Алерии на полен, 20, 374, 374т, 381. види исто Преосетливи рекации
Алисон, Ј.П., 325
Алогени организми, 241
Алогено пресадување, 33
Алопресадоци, 33, 426-440. *Види исто* Трансплантација
  отфрлање на, 426-434. *Види исто* отфрлање на пресадок
  прифаќање на, 427с, 428
  Т-клетки и, 241-242
  толеранција на, 439-440
  хистокампатибилност на, 428
Алореактивност, 241-242, 242т, 431
Алотипски епитопи, 101, 101с
Алрегиски контактен дерматит, преосетливост од одложен тип при, 393-396, 393т, 396, 397с
Алт, F.W., 122
Алтернативна комплементна патека, 170с, 173-175, 173т, 174с, 176с. *Види исто* Комплемент/комплементен систем,
Алтернативно спојување
  противтелно различие и, 234с
  различие на Т-клеточниот рецептор и, 233-234, 234с
Алфа-бета Т-клетки, 223, 224, 226-228, 226с, 227с, 228т
Алфа-фетопротеин, 536-537, 537т
АМФ (аденозин монофосфат), при преосетливост, 379
Амхерст, Џефри, 468
Анализа на олигонуклеотидите, 567–568
Анализа на поместување во гелот, 561-562
Анализа со микронизи, 567–570, 570с
Анафилактичен шок, 381
Анафилатоксини, 18, 20, 371, 381. *Види исто* реакции на преосетливост
Ангиоедем, наследен, 186
Анемија,
  автоимуна,
  пернициозна,
  хемолитична,
    автоимуна,
    поттикната од лекови,
Анергија, 404
  клонска, 259-260, 260с, 404, 406
  поттикната од, при имуносупресија на пресадок, 438
Анимални модели, 546-547, 563-564, 564с, 564т. *Види исто* Глувци,
Анкилозен спондилит, 403т, 414
  лекување на, 419-422
Антагонист на рецепторот за интерлеукин 2, 314
Антибиотици
  алергија на, 391, 391т, 393
  отпорни на *Mycobacterium tuberculosis,* 469-470
Антракс, при биотероризам, 468-469, 469с
Апоптоза, 26, 27с, 28с
  Б-клетка, 276-278, 296
  Бцл-2 при, 265
  генско прикажување при, 26-27, 27т
  каспази при, 264, 265с, 359, 360с
  на тимоцити, 41, 249-251, 249
  наспроти некроза, 26, 27т

откажување на, при синдромот Канал-Смит, 266-267
при поттикнување на канцер, 528-529
при толеранција, 406
при хематопоезата, 26-28, 27с, 28с
регулирање на, 26-27, 27т
сигнализирање при, 264
Т-клетка, 264-267
Фас/ФасЛ при, 36, 264-267, 358-359, 359с, 406
функции на, 264
Апоптозоми, 265
АПЦ туморен-супресорен ген, 528т, 530
Артрит
автоимун, животински модел за, 412т, 413
псоријатичен, гени КИР-ГТК при, 364-365
ревматоид, *види* Ревматоиден артрит.
Артусова реакција, 392, 392с
Архидонска киселина, 339, 339с
Асоцијативно препознавање, 291, 292
Асоцијациска константа (K_a), 146, 146т
Астма, 18-19, 381-383, 382с
генски фактори кај, 383-385
кај Афроамериканците, 20, 384-385
лекување на, 386-388
Атазанавир, за инфекција со ХИВ, 517т, 518
Аксија телеангиектазија, 495т, 500
Атимични (голи) глувци, 41, 503-504, 503с
Атопија, 373-374, 381-383
генски фактори кај, 385
Атопичен дерматит, 383
атопичен, 383
Аутизам, вакцини и, 4
Афинитет на противтелата, 145-150
дефинирање на, 145-146
на повеќе врзувачки места, 148-149
одредување на
преку плазмонска површна резонанца, 149-150, 150с, 151с
преку рамнотежна дијализа, 147-148, 148с
Афинитет, противтело, 145-150
Афинитетна константа (K_a), 146-148, 146т, 147с, 148с
Афинитетно зреење, 126, 271, 293-296, 294с
во зародишниот центар, 292-293, 294с
менување на класи кај, 294с, 296
соматска хипермутација кај, 293-295, 294с
Африканската болест на спиење, 462
Афроамериканци, астмата кај, 20, 384-385

Бабуни, ксено-пресадоци од, 435, 444
Бавнореактивна супстанца на анафилакса (СРС-А), 339, 339с
Базофили, 37, 38, 38с
при хиперсензтивиност, 375, 377-379
формирање на, 25с
бакс, при апоптоза, 27т
Бактерии
грам-негативни, пили на, 455
избегнување одбраната на домаќинот преку, 455-457, 456с, 457т
комплементен отпор при, 181-182, 181с, 182с
механизами за клеточно поврзување кај, 455
противгена варијација при, 455
размножување на, 455-457, 457т
структура на, 8с
ткивна инвазија преку, 455, 457, 457т
ткивно оштетување со, 455, 457, 457т
Бактериофаген ламбда вектор, 556-558, 557с, 558т
Бактериофаген П1 вектори, 557, 558, 558т
Бактериска аглутинација, 154
Бактериска флора, нормална, 53, 447
Бактериски вектори со вештачки хромозоми, 557с, 558, 558т
Бактериски инфекции, 455-460
дифтерија, 4т, 458
имун одговор во, 455-460
негативни ефекти на, 457-458
имунизација за. *Види исто* Вакцини/вакцинација,
комплемент при, 181-182, 181с, 182т, 455, 456с, 457т
одложен тип преосетливост кај, 393-396, 393т
појава/повторна појава на, 467, 467с, 470-471
прекумерно создавање на цитокини кај, 318-319, 457
при биотероризамот, 468-469
смртност од, 448с
создавање гранулом кај, 458
туберкулоза, 218, 393, 395, 458-460. *Види исто* Туберкулоза.
чекори при, 455, 456с
шистозомијаза, 462-465, 465с
Бактерицидно/пропусно зголемувачки протеин, 66
БАЛТ (бронхусно асоцирано лимфоидно ткиво), 46
Балтимор, Дејвид, 119
Bacillus anthracis, при биотероризамот, 468-469
Беван, Мајкл, 217
Бевацизумаб, за канцер, 542, 542т
Безопасни тумори, 525
Бела пулпа,45, 46с
Бели крвни зрнца, види Бели клетки,
Белодробна болест
имунизација, активна, 478, 579т, 485
пасивна имунизација за, 477-478, 478т
поврзано со ХИВ, 513-514
Бенакераф, Б., 19, 189, 206, 207
Бенет, Ц., 113
Бених, Х., 374
Бенс-Џонсонов протеин, 86
Берек, Клаудија, 126-127
Беринг, Емил фон, 4, 98
Бернанд, Кристијан, 442
Берсон, С.А., 154-155
Беснило, имунизација за, 3, 477-478, 478т
Бета поставена плочка, 87
Бета2 интергрини, 328
Бета2 микроглобулин
ГТК молекули класа 1 и, 193-195, 194с, 195с
кај имуноглобулинска суперфамилија, 103, 104с
библиотеки на кДНК, 556
испитување за, 558-559, 558с
Библиотеки
фаг, 137–139
геномска, 558
испитување на, 558–559, 558с
кДНК, 556
Биотероризам, инфекциски агенси при, 468-469
Биотински означено, 551
Биохемија, протеин, 551-555
Бишоп, Џ.М., 527
БКАФ (човечки Б-клеточен активациски фактор)
БКЖ (Бацилот на Калмет-Жерин), 459-460, 481-482
за канцер, 540
за туберкулоза, 459-460
Б-клетка(и), 12-13, 30, 34. *Види исто* Лимфоцит(и),
В-1, 275-276, 276с
В-2, 275-276, 276с
активирање на, 34, 44, 264, 271, 272с, 278-289
анатомски страни на, 292, 292с
Б-клеточен рецептор/корецептори при, 279-284
во вторичните лимфоидните органи, 23, 40с, 42-49
во слезината, 45-46
КД40/КД40Л кај, 286, 286с, 296
конјугати Т-Б кај, 285-286, 286с
липосахариди кај, 287
наспроти активирање на Т-клетките, 281
од М-клетки, 47-48, 47с
при автоимунитет, 419
при клеточен циклус, 279
при првичен наспроти вторичен имун одговор, 289-290, 289с, 290т
сигнализирање на, 279-281, 279с, 280с, 282с
Т помагачки клетки, 278, 285-287, 285с, 290-291, 291с
тимусно зависни, 278, 279, 279т, 285-287, 285с
тимусно независни, 278-279, 279т
фосфорилација кај, 280с, 281, 282с
цитокини кај, 286-287
апоптоза на, 276-278, 296
афинитетно зреење кај, 126, 271, 293-296, 294с
во зародишните центри, 293-297, 294с
во слезината, 45
диференцијција на, 15с, 34, 271, 272с, 289-290
анатомски места на, 292, 292с
апоптоза кај, 296
афинитетотно зреење кај, 293-296
во зародишни центри, 292-297, 294с
кај плазма - наспроти памтечките клетки, 296-297, 297т
превклучување класи кај, 296, 296с
противген поттикнати, 292-297
слекеција на, 295-296
соматска хипермутација кај, 293-296, 295с
ефектор, 12с, 13, 30, 31с, 34. *Види исто* Ефекторен одговор; плазма-клетки.
ефекторни молекули создадени од страна на, 353, 353т
зреење на, 15с, 16, 17с, 112с, 246
афинитет, 271
генско преуредување кај, 116-122, 272-273, 273с, 274с, 278. *Види исто* Имуноглобулински гени преуредување на
ИгД кај, 273
ИгМ кај, 273, 276-277
кај Икс врзана агамаглобулинемија, 284
клеточно-површински обележувачи кај, 274с, 275
пред-Б-клеточен рецептор кај, 274-275, 275с
препишувачки фактори кај, 274с, 275
сопствени реактивни Б-клетки кај, 276-278
стромални клетки од коскената срцевина кај, 272-273, 273с
сурогат-лесни вериги кај, 274, 275с
трансгени глувци Х-2^k кај, 277-278, 277с, 277т

имуноглобулинско генско прикажување кај, 130-135
истовремено прикажување на ИгМ и ИгД од, 133
клетки природни убијци и, 361
клонска селекција на, 16-17, 17с
клонски отстранување на, 276-278
негативна селекција кај, 276-278, 287-289, 287с, 288с
афинитетно зреење и, 295-296
неискусни (во мирување), 18, 30, 271, 279, 289, 290т
особини на, 297т
рециркулација на, 336
памтење, *види* Памтечки Б-клетки,
потекнува од коскената срцевина, 42
превклучување на класи кај. *Види исто* Превклучување на класи.
препознавање на противген од, 81-84, 82т, 208
поврзани, 290-291, 290т, 291с
претходник, 272-273, 273с274с
рецептор за, 274-275, 275с
при активирање на Т-клетките, 263т, 264
прогенитор, 272-273
противгено прикажување од, 209, 263т, 264. *Види исто* Противген прикажувачки клетки (ППК).
противгено-посветени, 16, 17с
развој на
противген зависна фаза на, 271, 272с
противген независна фаза на, 271, 272с
чекори при, 272с
размножување на, анатомска страна на, 292, 292с
рецептор уредување кај, 404
создавање на, 25с
создавање на, 271
соматска хипермутација кај, 295-296, 295с
сопствено реактивни, 276-278
активирање на, 414-419. *Види исто* Автоимунитет.
негативна селекција на, 287-289, 287с, 288с
отстранување на, 401-407. *Види исто* Толеранција,
специфичност на, генско преуредување и, 117-118, 117с, 118с
структура на, 12-13, 12с
толеранција кај, 401-407. *Види исто* Толеранција
центробласт, 293, 294с
циркулирачка група на, 271
Б-клетка-претходник, види Пред-Б-клетка
Б-клетки В-1, 275-276, 276с
Б-клетки В-2, 275-276, 276с
Б-клеточен имунонедостаток, 495-496, 495-500
Б-клеточен корецептор, 281-284
Б-клеточен лимфом. *Види исто* Лимфом, *бцл-2* кај, 27
дијагноза на, анализа со микронизи на, 568-569
Б-клеточен рецептор (БКР), 12-13, 12с, 102-103
имунорецепторски тирозински базиран активирачки мотив, 235, 279, 280с
претходник, 274-275, 275с
при активирање на Б-клетките, 279-284
противгенска специфичност за, 14-16
разновидност кај, 14-16
структура на, 102, 102с, 279-281, 280с
хетеродимер Иг-алфа/Иг-бета кај, 102, 103, 104с, 275, 279
Б-клеточен специфичен активаторски протеин (БКСАП), 274с, 275
Б-клеточни епитопи, 81-84. *Види исто* Епитоп(и), Б-клетка,
Б-клеточни клонови, 35
Б-клеточни хибридоми, подготовка на, 550-551, 550с
Б-клеточно поврзан протеин (БКПП), при активирање на Б-клетките, 280с, 281, 282с
Бластни клетки, 31с
Блк, при активирање на Б-клетките, 280с, 281, 282с
БЛНК, при активирање на Б-клетките, 280с, 281, 282с
Блокирачки противтела, 386
Блустон, Ц.А., 438
Бми-1, 26, 26т
Боење со флуоресцентно противтело, 160-161, 161с
проточна цитометрија и, 160-161, 162с
Боење, флуоресцентно противтело, 160-161, 161с
проточна цитометрија и, 161-162, 162с
Болест на белите дробови
имунизација за, пасивна, 477–478, 478т
имунизација, активна, 478, 479т, 485
поврзано со ХИВ, 513–514
Болест на белоклеточна атхезија кај говедата, 343
Болест пресадок-наспроти-домаќин, 19, 33, 367-368, 441-442
екс виво проучувања на, 367-368
клеточно посредувана цитоксичност, 367-368
слезинечен индекс кај, 368
Болест,
инфекциска, *види* Инфекциски болести,
релативен ризик од, 205
Бордер, Џулиет, 6, 168
Ботлер, Брус, 63
Ботулизам, пасивна имунизација за, 477-478, 478т
Брадикинин, 338, 338с
при преосетливост, 380
Брацијал, Т.Џ., 209
Бреинл, Фридрих, 6
Бременост
авотимуна болест и, 417
имун систем при, 417
ХИВ кај, 507
Бронхиектазија, 213
Бронхоконстикција
кај астмата, 381-383
кај преосетливоста, 380
Бронхусно асоцирано лимфоидно ткиво (БАЛТ), 46
Брутон, О.Ц., 284
Брутонова тирозинска киназа, (Бтк)
во Икс врзана агамаглобулинемија, 280с, 281, 282с
при активирањето на Б-клетките280с, 281, 282с
Брутонова хипогамоглобулинемија, 284, 494с, 495т, 496с, 498
Бубрежно пресадување, 425, 440с, 441 види исто Пресадување,
историја на, 425
ксенопресадоци кај, 435
ХЛА совпадливост при, 430, 430с
Бурза на Фабрициус, 34, 42
Бурки, К., 277, 278, 288-289
Буркитов лимфом, 527, 529, 529с, 531, 531с, 535
Епштајн-Барова инфекција и, 527, 535
бцл-2, при апоптоза, 26-27, 27с, 265
кај канцер, 27, 528, 529, 528т

v-onc, 527, 528
v-src, 527, 528
В генски сегменти
имуноглобулин, види исто Имуноглобулински гени,
лесна верига, 115, 116с
повеќекратно, различие на противтело и, 123, 124с
прераспоредување на, 117-122, 117с, 118с. *види исто* Имуноглобулински гени, преуредување на,
тешка верига, 115, 116, 116с
Т-клеточен-рецептор, 228-235, 229т. *види исто* Т-клеточен рецептор (ТКР),
В-(Д)-Ј рекомбинација, 119
Вајсман, Ирв, 28
Вакцина HBsAg, 478, 479т, 485
Вакцина *Neissria meningitidis*, 485
Вакцина за Бацилус Калмет-Жерин (БКЖ), 459-460, 481-482
за канцер, 540
за туберкулоза, 459-460
Вакцина против кравји сипаници, 2
Вакцина со вектор за канаринско сипаници, 488-490
вакцини со ДНК, 482т, 488, 489с
Вакцини со конјугати, 48т, 486-487
Вакцини/Вакцинирање, 475-490
а антракс, 469
ако вектори, 488-490, 489т
ацилот на Калмет-Жерин, 459-460, 481-482, 540
болести кои повторно се појавуваат и, 479-480
вектор на вирусот на канаринско сипаници, 488-490
видови на, 482т
вкрстена-реактивност кај, 149
влијание врз, 3, 4т
во земјите во развој, 475, 476
време на задоцнување, 289, 289с, 290т
генетско модифицирање, 482т, 483, 488-490, 489с
групен имунитет и, 480
денешни и идни напади за, 475, 476
дефинирање на, 2
ДНК, 482т, 488, 489с
евакцина, 479
ефикасност на, 479-480, 480с
траење на, 479, 480
живи-ослабени, 481-484, 482т
за *Haemophilus influenzae*, 478, 479т, 486
за *Neisseria meningitidis,* 485
за беснило, 3, 477-478, 478т
за големи сипаници, 2, 3, 4т, 468, 475
за дифтерија, 4т, 458, 478, 479, 479т
за заушки, 4т, 478, 479, 479т
за инфекција со ХИВ, 518-520
за инфлуенца, 3, 4т, 478, 479т, 483-484
за кокошкини сипаници, 478т, 480с
за маларија, 461
за патници, 479
за пертусис, 4т, 478, 479, 479т

за пневмококна болест, 478, 479т, 485
за полио, 3, 4т, 475, 478, 479т, 481-483, 481с, 482-483, 483с
за рубела, 4т, 478, 479, 479т
за сипаници, 4т, 478, 479, 479т
за тетанус, 4т, 7-8, 478, 479, 479т
за туберкулоза, 459-460
за хепатит, 478, 479
за хуман папиломавирус, 534-535
за цервикален канцер, 534-535
идни предизвици со, 4
изложување на жива од, 4
имунолошко памтење кај, 475-490
историја на, 2-3, 475
кај возрасни, 479-480
кај деца, 478-480, 479т, 480с
конјугат, 482т, 486-487
конјугати хаптен-носач, 290-291
кравји сипаници, 2
неактивни (убиени), 484
опаѓачки стапки на, 479-480
оригинална противгена дупка, 290
памтечки Б-клетки кај, 290
пасивен имунитет и, 5, 95, 98
поединица, 482т, 484-486
полисахарид, 485
конјугат, 482т, 486-487
преглед на, 475-477
развој на, 475-477, 481
рани проучувања на, 2-3
рекомбинаторен вектор, 482т, 483, 488-490, 489с
ризици и добивки од, 3-4, 4т
синтетски пептид, 485-486
слабени патогени за, 2-3, 483, 484т
со неактивни токсоиди, 458
странични ефекти од, 479, 482-483, 484т
токсоид, 458, 482т, 485
утизам и, 4
Варијабилни (променливи) (В) подрачја, 85, 85с, 87-89, 88с
кодирање на гените, 114-116, 116с
преуредување на, 116-122. *види исто* Имуноглобулински гени, преуредување на,
лесна верига, 85, 85с, 87-89, 88с
кодирање на гените, 115, 116с
преуредување на гените, 117-118, 117с, 119-122
при автоимунитет, 414
при моделот два гени еден пептид, 113-114, 115
тешка верига, 85, 85с, 87-89, 88с
кодирање на гените, 115, 116с
преуредување на гените, 117-118, 117с, 119-122
уредување на, 404
Варичела, имунизација за, 478, 479т
Вацинија, 468
како вакцински вектор, 488-490, 490с
при имузација за големи сипаници, 2, 4т, 75, 468
цитокинска инхибиција од, 314
Вбета 8.2 моноклонско противтело, за автоимуна болест, 421
Вектори на габичен вештачки хромозом, 557с, 558, 558т
Вектори,
бактериофаг P1, 557с, 558, 558т
бактериофаг ламбда, 556-558, 557с, 558т
бактериски вештачки хромозом, 557с, 558, 558т
вакцина, 482т, 483, 488-490, 489т
вирусен, 556, 557с
ретровирусен, 563
габичен вештачки хромозом, 557с, 558, 558т
геномски, 556-558, 557т
козмиден, 556, 556т, 558т
плазмиден, 556-558, 557с, 558т
Вермус. Х.Е., 527
Вестернови дамки, 158
Вилеј, Дон, 240
Вирус на имунонедостаток кај мајмуните (СИВ), 509
Вирус на човечки имунонедостаток, 508-509, 508с
активирање на, 511с
генска организација на, 510с
инвазија на целната клетка од страна на, 511с
класификација на, 512
корецептори за, 512
М-тропични видови на, 512
опсег на домаќинот при, 509
особини на, 508-509, 508с, 510с
провирусна форма на, 508, 511с
протеински функции кај, 510с
противгенска варијација при, 451
реплицирање на, 508, 509-510, 510с, 514, 514с, 516с
ретровирусна форма на, 508-509
структура на, 508с
Т-тропични видови на, 512
што поттикнува синцициум наспроти што не поттикнува синцициум, 512
Вирус со големи сипаници, цитокинско попречување од страна на, 314
Вирусен интерлеукин 10, 314
Вируси,
дефинирање на, 448
ДНК, канцер и. 527
избегнување на механизмите за одбрана на домаќинот преку, 450-451
имуносупресивни ефекти на, 451
инфлуенца, 451-454
како клонирачки фактори, 556, 557с, 563
кои предизвикуваат канцер, 526-527
онкогени и, 527-530
ослабени видови на, кај вакцини, 2-3
особини на, 448-449
провируси, 508
противгенска варијација кај, 451
размножување на, 448-449, 509-512
ретровируси, 508-509
РНК,
канцер и, 527
ретровируси, 508-509, 563
струкутра на, 8с
стратегии за преживување на, 448-449, 449т
уништување со посредство на противтело, 449-450, 451
Вирусна мимикрија,
кај автоимунитет, 417-418, 418т
на цитокински рецептори, 314, 314т
Вирусни вектори, 556, 557с
ретровирусни, 563
Вирусни гликопротеински вакцини, 485
Вирусни инфекции,447, 448-454
анализа за попречување аглутинација, 154
главен ткивносовпадлив комплекс, 204
имунизација за, види Вакцина/вакцинирање,
имун одговор на, 447-454
клеточно остварен, 449т, 450
хуморален, 449-450, 449т
инфлуенца, 451-454
комплемент кај, 180т, 184-185, 185с
нови, 467, 467с, 470-471
преосетливост од одложен тип кај, 393-396, 393т
смртност од,448с
ХИВ, види Инфекција со вирусот на човечки имунонедостаток,
цитокинска инхибиција кај, 314, 314т
Вирусот на Западен Нил (West Nil), 449, 470
Вискот-Олдричов синдром, 494с, 495т, 496с, 498
Високи еднотелни венули (ВЕВ), 44, 334-335, 334с, 335с
при хронично воспаление, 346, 346т
Високоактивна противретровирусна терапија, 518
при бременост, 507
ВКАМ-1, 1, 328с, 329, 329т, А-13. *види исто* клеточно-адхезиски молекули (КАМ),
во суперфамилијата на имуноглобулини, 103, 104с
при Б-клеточно зреење, 273
при екстравазација на белите клетки, 329т, 333-334
при екстравазација на лимфоцитите, 337
Вкрстена реактивност, 77, 149
дефиниција на, 149
на вакцини, 149
на противгените од крвната група АБО, 149
на Т-клеточниот рецепор, 242
на хаптени, 77, 78т
при автоимунитетот, 417
Вкрстено поврзување, на противгени, 99, 100с
ВЛА-4,
при зреење на Б-клетките, 273
противтела за, за воспаление, 347
Внатревенозен имун глобулин, 98
за имунонедостатоците, 502
Внатреепидермални лимфоцити, 49
Внатреепителни лимфоцити, 47
Внатреклеточни адхезивни молекули (МКАМ), 59
Ворзасна Т-клеточна леукемија/лимфом, 509, 527, 530. *Види исто* Канцер, Леукемија
Воспалителен одговор од одложен тип, 383
Воспалителн одговор, 57-59, 340-346, види исто Имунитет, вроден
активирање на, 169, 169с
акутен, 340-344
анафилатоксини при, 182-184, 338-339
бавно реагирачка супстанција на анафилакса при, 339, 339с
васкуларни промени при, 340-341, 341с
дефинирање на, 340
едем при, 57, 340, 341с
екстаравазација при, 38, 57, 58с, 59, 331-334, 332с, 333с, види исто Екстравазација бели клетки, 38, 57, 58с, 59, 60с, 327-328, 332-334
лимфоцити, 334-338, 335с-337с
интерлеукини при, 339-340, 339-342, 339т, 341, 341с-343с
кардиоваскуларна болест и, 66-67
кинински систем при, 338, 338с
комплемент при, 180т, 182-184

леукотриени при, 339, 339с
липиди при, 339, 339с
локализирана (доцна фаза), 340-342, 341с, 3803
неутрофили при, 340
при астма, 381-383, 382с
при преосетливи реакции, 371, 383
простагландини при, 339, 339с
противвоспалителни агенси за, 346-348, 347с, 348с
реактивни азотни соединенија кај, 65-66, 68с, 340
реактивни кислородни соединенија кај, 65-66, 68с, 340
респираторен прасок (експлозија) кај, 65-66, 640
сигнализирање на, 342-344, 344с
систем за сосирување при, 338
системска (акутна фаза), 61, 342-344, 344с
создавање гранулом и, 344
тромбоксани при, 339, 339с
фагоцитоза при, 9, 36-37, 37с, 58с, 59, 341, 341свиди Фагоцитоза
фиброза и, 344
Хагеманов фактор при, 338, 338с
хемоатрактанти при, 332-334, 332с, 333с, 340, 343
хемокини при, 332-335
хронична, 344
при автоимуна болест, 420-421
цитокини при, 306-307, 307т, 339-340, 339-346, 339т
при акутно воспаление, 340-344, 341с, 342с, 344с
при одговор во доцна фаза, 383
при системски одговор, 340-342, 341с
при хронично воспаление, 344-346
Впред-Б, 273т, 274
Врзување противген, 89-94
во комплементарно определувачки подрачја, 90-93, 91с, 92с
конформациски промени кај, 92-93, 92с
Вроден имунитет, види Имунитет, вроден
Вродена агранулоцитоза, 494с
Врски
водородни (хидрогенски), кај меѓудејствата противген-противтело, 145, 146с
јонски, кај меѓудејствата противген-противтело, 145, 146с

Габи, структура на, 8с
Габични инфекции, 7, 465-467, 466т
преосетливост од задоцнет тип, 393-396, 393т
смртност од, 448с
ГАГЕ-1/2, 537
ГАЛТ (гастроинтестинално асоцирано лимфоидно ткиво) 46-47
Гама/делта-клетки, 223, 226-228, 226с, 227с, 228т
при синдромот со голи лимфоцити, 213
Гама-вериги, 87, 87т
Гама-глобулин, за имунонедостатоци, 502
Гамаглобулинемии, 494с, 495т
Гарбоши, Дејв, 240
Гастроинтестинално асоцирано лимфоидно ткиво (ГАЛТ), 46-47
ГАТА-1, 24-26, 26т
ГАТА-2, 24-26, 26т
ГАТА-3, при вкрстеното регулирање на Т-помагачките клетки, 317
Гел, П.Г.Х., 207
Гемтузумаб озогамицин, за канцер, 542, 542т
Ген(и),
алели на, 191
имуноглобулин, 111-142. Види исто Имуноглобулински гени,
ин витро анализа на, 562-566
поттикнувачки секвенци на, 133-134, 135с
поврзан со канцер, види клонирање на онкогени, види исто клонови/трансфер при клонирање, 562-566
псевдогени, 115
имуноглобулин, 115, 123
Т-клеточен рецептор, 229
РЦА, 177-180, 178с
рекомбинациска активација 119
иммуноглобулин, 119
Т-клеточен рецептор, 231
Репортер 562
Т-клеточен рецептор, 228-235. Види исто Т-клеточен рецептор (ТКР),
засилувачки секвенци на, 133-134, 135с, 136
Гени на главниот ткивносовпадлив комплекс (ГТК)
препишување на, 562–563
Гени-известувачи, 562
истражување, имуни рани откритија, 4-5, 5т
Нобелови награди за, 4, 5т
Геномски ДНК библиотеки, испитување на, 558-559, 558с
Геномско ДНК клонирање, 556-558, 557с
Геномско истражување по случаен избор, 385
Генотип, имуногеност и, 80
Генска терапија, 33
Генски проучувања,
истражување на геномите по случаен избор при, 385
метод ген-кандидат при, 384-385
Генски сегменти J
имуноглобулин, види исто Имуноглобулински гени
голем број, разновидност на противтела и, 123, 124с
лесна верига, 115, 116с
преуредување на, 117-118, 117с, 118с
тешка верига, 115, 116, 116с
Т-клеточен рецептор, види исто Т-клеточен рецептор (ТКР),
Генски сегменти,
дефинирање, 115
кодирање на лесна верига, 115, 116с
кодирање на тешка верига, 115-116, 116с
преуредување на, види Имуноглолбулински гени, преуредување на,
генски фактори при, 493-495
Генско модифицирање, 136-141. Види исто Технологија за рекомбинација на ДНК
при развојот на вакцините, 483
за замена на имуноглобулините, 502-503
Генско насочување, 565-566, 566с
кај нокаут глувците, 564-565, 565с
поттикливи, 565-566, 566с
со системот кре/локс, 565-566
Генско претворање (конверзија), 127
активациски поттикната цитидин деаминаза, кај 128-129
Гентузумаб, 141т
Германски сипаници, види Рубела,
Герхард, В., 208
Главен ткивносовпадлив комплекс (ГТК), 13–14, 35, 189–218. види исто под ХЛА, ГТК,
алели на, 205–206
детерминантен селекциски модел на, 206
геномско означување на, 201–203, 202с
животински модел на, 193. види исто Х-2 комплекс,
имунолошка нереактивност и, 206–207
кај комплексите Т-клеточен рецептор-пептид-ГТК, 238–241, 240с, 241с. види исто Комплекси ТКР-пептид-ГТК
кај вирусните инфекции, 450–451
класа 1 молекули/гени на, 13с, 14, 16, 16с, 190, 191, 193–195
во суперфамилијата на имуноглублините, 103
врзување на пептидите со, 197–198, 197т, 198с, 215–216
егзони/интрони на, 196
кај туморните клетки, 538–539
класичен, 191, 202, 202с
недостаток на, 213
некласични, 191, 202–203, 202с
означување на, 201–203, 202с
полиморфизам при, 191, 192, 197–201, 205–206
препишување на, 204
при отфрлање на пресадок, 431, 432с, 433
при селекцијата во тимусот, 249–251, 250т, 251с
при синдромот на голи лимфоцити, 213
при зреењето на Б-клетките, 277–278, 277с, 277т
прикажување на, 203–205, 203с
противгено прикажување на, 209, 209т
различие, 199–201, 204
склопување на, 215–214, 212с
структура на, 193–195, 194с–197с
Т-клеточни рецептори и, 236–237, 237т, 241
трансгеност Х-2^{dk}, 277–278, 277с, 277т
клеточно прикажување на, 203–205, 203с
модел дупки-во-различието при, 206
молекули/гени од класа 2 на, 16, 16, 16с, 190, 191
во суперфамилијата на имуноглублините, 103
егзони/интрони на, 196
микроглобулин-бета^2, 193–195, 194с, 195с
означување на, 202с, 203
пептидно врзување за, 197, 197т, 198–199, 215–216
полиморфизам кај, 191, 192, 197–201, 205–206
препишување на, 204
при активирање на Б-клетките, 285–287
при автоимунитет, 418
при имунолошка нереактивност, 206–207
при отфрлање на пресадок, 431, 432с, 433
при селекција во тумусот, 249–251, 250т
прикажување на противгените од страна на, 209, 209т
прикажување на, 203с, 204–205
противген прикажувачки клетки, 13с, 14
различие на, 199–201, 204
склопување на, 215–217, 215с, 216с
структура на, 194с, 195–196, 196с, 197с
Т-клеточни рецептори и, 236–237, 237т, 241
молекули/гени од класа 3 на, 191
означување на, 202с, 203
наследување на, 191–193, 192с
нерамнотежа при поврзување кај, 200–201, 205

ограничување на сопствен-ГТК и, 206с, 207, 207с, 224, 224с
селекција во тимусот и, 248–250
организација на, 190–191, 190с
полигенски, 200
поолиморфизам кај, 191, 192, 197–201
чувствителност на болест и, 205–206, 206т
поттикнувачи кај, 204
преглед на, 189
пренесување на пептидите во, 211–212, 211с
препишување во, 204
препознавање на противгените од страна на, 16, 16с
ограничено на ГТК од класа 1/2, 207
преработување на противгените при, 189, 208–217
при активирање на Т-клетките, 245
при автоимунитет, 205, 414, 418–419, 419с
при отфрлање на пресадок, 428
при селекција во тимусот, 249–250
при зреење на Т-клетките, 245
прикажување на гените при, 203–205, 203с
регулирање на, 204–205
прикажување на противгените при, 189, 207–217
различие на, 199–201, 204
хаплотипови од, 191–193, 192с
чувствителност на болест и, 205–206
Глик, Брус, 6
Гликолипидни противгени, прикажување на, 217-218, 218с
Гликопротеин со променлива површина, при трипанозомијазата, 462, 463с
Гломерулонефритис, постстрептокен, 403т
Глувци со отсечен ген (konckout), 564-565
создавање на човечки противтела од страна на, 137, 138с
Глувци
автоимунитет кај, 411–413, 412т, 413с
вкрстени видови кај, 547, 548т
голи (атимични), 41, 503–504, 503с
конгени видови на, 193
негојни дијабетични, 412–413, 412т
Новозеландски бели, 412, 412т
Новозеландски црни, 412, 412т
нокаут (knockout), 546–565, 564т
создавање на човечки противтела од страна на, 137, 138с
сингени, 193, 547
ТКИН (SCID), 504
трансгени, 136
автоимунитет кај, 418–419, 419с
наспроти нокаут (knockout) глувците, 564т
создавање на, 563–564, 563с
Х-2 комплекс кај, 190с
хаплотипови на, 191–192, 191т, 192с
химерни, 136
Глушец со тежок комбиниран имунонедостаток (ТКИН), 504
Гм обележувачи, 101
Гној, 340
Голдсмит, Марк 512
Големи сипаници, 2, 2с
имунизација за, 2, 4т, 468
остранување на, 3, 475
при биотероризам, 468
Големи сипаници, имунизација за, 478, 479т
Голи глувци, 41, 503–504, 503с
Голуб, Тод, 568
гп130, 310
Г-протеини,
при активирање на Т-клетките, 257с, 258, 258с
при сигнализирање, 333, 333с, 340
при воспаление, 340
при врзување на хемокинкиот рецептор, 331-332, 331с
Грам-негативни бактерии, отпор на комплементот кај, 181-182, 181с, 182т
Гранзими, 353, 357-358, 360с
Грануломи, 81, 344
кај бактериските инфекции, 458
кај преосетливост од одложен тип, 395, 395с
некротизирачки, кај синдромот на голи бели клетки, 213, 213с
Гранулоцитен колонии стимулирачки фактор, 321т, 323, 324с, 344, Б-3
Гранулоцити, 37, 38с
Гранулоцитно-макрофаген колонии стимулирачки фактор, 309-310, 321-323, 321т, 324с, 344, Б-3
за канцер, 540
Грејвсова болест, 346т, 403т, 409, 410с
Груб ендоплазматски ретикулум
создавање на имуноглобулин кај, 133, 134с
склопување на пептиди во
во цитозолната патека, 211-212, 211с, 216с
во ендоцитната патека, 215-217, 215с, 216с
Груб, Дејвид, 466
Групен (херд) имунитет, 480
Групи на фаги, 137–139
ГТК рестрикција, види Ограничување на сопствен-ГТК,
ГТК тетрамери, КД8$^+$ цитотоксични Т-лимфоцити кај, 355, 355с
ГТК, види исто главен ткивносовпадлив комплекс (ГТК),
ГТК-КИР гени, болест и, 364–365
Гуднал, Ц., 287, 404

Д генски сегменти,
имуноглобулин, 115, 116, 116с. *види исто* Имуноглобулински гени, голем број, противтелно различие и, 123, 124с
преуредување на, 118, 118с. *види исто* Имуноглобулински гени, преуредување на,
Т-клеточен рецептор, 228-235. *види исто* Т-клеточен рецептор (ТКР)
Даклизумаб, 141т
Дамешек, Вилијам, 434
Движење, лимфоцит, 336
Двојна имунодифузија, 151-152, 152т
Двојнонегативни Т-клетки, 246-248, 247с
Двојнопозитивни Т-клетки, 247с, 248-249
Двократни рекомбинациски сигнални секвенци, 119
Двоспецифични противтела, 136-137, 137с
Двофотонски микроскоп, 570-571
Дејвис, М.М., 224-225
Дексаметазон, при имуносупресија на пресадок, 436
Дел од гама-глобулинот, во серумот, 85
противтела кај, 85, 86
Делавирдин, за инфекција со ХИВ, 517т, 518
Деоксирибонуклеинска киселина, *види* ДНК,
Дерматит,
Дермис, 53
des-Arg форми, 182-183
Детергент-протеин комплекси, при создавањето на повеќевалентна вакцина, 487, 487с
Дефект на рецепторот за интерферонот гама, 495т, 498
Дефектни римбозомални продукти (DRiPs), 210
Дефенсини, 59-61т
Деца, *види исто* под Неонатален,
Ди Џорџов синдром, 41, 351-352, 494с, 495т, 500, 500с
Диданозин, за инфекција со ХИВ, 517т, 518
Дијабетис мелитус, 346т, 403т
гени КИР-ГТК кај, 364-365
животински модели на, 412-413, 412т, 418-419, 419с
како автоимуна болест, 408-409, 410с
пресадување на клетките од панкреасните островчиња кај, 440с, 442-443
Дијализа, рамнотежа, 147-148, 147с, 148с
Дик, Џон, 24
Динатриум хромогликат, за преосетливост, 388, 388т
Директно боење со фулоресцентно противтело, 160-161, 161с
Дисоцијациска константа (K_d), 146-147, 146т
Дисоцијациска константа (K_d), 146-147, 146т
Дифтерија, 458
болест која повторно се појавува, 470
епидемичен, 480
имунизација за, 4т, 458, 478, 479, 479т
пасивна имунизација за, 477-478, 478т
Дифузен голем Б-клеточен лимфом, *види исто* Лимфом дијагноза за, анализа со микронизи кај, 568-569
ДКу, 202с, 203
ДН клетки, 246
ДНК вируси, канцер и, 527
ДНК отисоци, 560-561, 561с
ДНК сонди, 558-559, 558с
ДНК,
засилување на, 559-560, 560с
клонирање на, 556-559, 557с, 558с
комплементарност, *види йод* кДНК,
расечување на, 555-556, 556т
рекомбинирана, *види* Рекомбинантна ДНК технологија,
секвенцирање на, 559, 559с
секвенцна анализа за, 560-562, 561с
Додавање на гени во регионот П
противтелно различие и, 125, 125с234с
разновидност на Т-клеточниот рецептор и, 234, 234с
Додавање на нуклеотид во подрачје Н, разновидност на противтело и, 125, 125с, 234–235, 234с
Додаток, 47
Доерти, П., 189, 207, 224
Долг терминален повторувач, 563
Домати, вроден имунитет кај,71, 71с
Домени во константното подрачје, 87-89, 88с, 93-94
зглобно подрачје на, 89с, 93-94, 93с, 97с
карбоксилни терминални домени и, 94
лесна верига, 93
од Т-клеточен рецептор, 226-228, 226с, 227с
тешка верига, 93, 94
Домени на варијабилните подрачја, 87-89, 88с, 89-90, 89с
варијабилност кај, 89-90, 89с
комплементарно определувачки подрачја, 85, 90-93, 91с

на Т-клеточниот рецептор, 226-228, 226с, 227с
при автоимунитет, 414
работни подрачја на, 90
хиперваријабилни подрачја на, 90, 91с
Досе, J., 19
ДП, 202с, 203
ДР, 202с, 203
Дрејер, Њ., 113
Дрозд, 7
Дрозомицин, 59-61, 61т
Дрозофила меланогастер, вроден имунитет кај, 71, 71с
Дупки во моделот на различие, 206
DCC туморно-супресорен ген, 528т, 530

E2A, 274с, 275
Егзем, алергичен, 383
Егзогени суперпротивгени, 260-261, 261т
Егзони, кај Т-клеточниот рецептор, 231-232, 231с
Егзотоксини, при активирањето на Т-клетки, 260-261, 261т
Егзоцитоза, 37, 37с
Едем, 340, 341
при воспаление, 57
Еднојадрени фагоцити, 36, 36с. види исто Макрофаг(и), Моноцити, фагоцитоза
Еднократни рекомбинациски сигнални секвенци, 119
Еднопозитивни тимоцити,248, 253, 254с
Еднопотентни зародишни клетки, 32
Езинофилен хемотактичен фактор, при преосетливост, 379, 380т
Езинофили,37, 38, 38с
одговор во доцна фаза, 383
создавање на, 25с
Експериментален автоимун енцефаломиелит, 412т, 413, 413с, 414
лекување на, 421, 421с
Експериментален автоимун тироидит, 412 т, 413
Експериментална автоимуна мијастенија гравис, 412т, 413
Експериментални системи, 546-547, 547т
адоптивен-трансфер, 547
двофотонска микроскопија кај, 570-571
електрофореза на гел кај, 551-553, 552с, 553с
животински модели кај, 546-547, 563-564, 564с. Види исто Глувци,
ин виво наспроти ин витро, 546
култивирање на клетки, 547-551, 549т. Види исто Клеточни лози,
рендгенска кристалографија кај, 553-555, 555с
технологија за рекомбинирање на ДНК кај, 555-560. Види исто
Технологија за рекомбинирање на ДНК,
Екстравазација, 38, 57, 58с, 59
леукоцит, 38, 57, 58с, 59, 60с, 327-329, 329т, 331-334, 332с, 333с, 341, 340-342, 340с, 341с
чекори при, 332, 332т
клеточно-атхезивни молекули кај, 327, 328-329, 329т, 332, 332с, 333, 333с, 334
моноцитите при, 333-334, 333с
неутрофилите при, 332-333, 332с, 333с, 340-341, 341с
противвоспалителни агенси и, 346-348, 347с, 348с
лимфоцит, 334-338, 335с-337с
Ексфолијативен дерматитен токсин, 261т
Екулизумаб, за пароксизмална ноќна хемоглобинурија, 183
Електронски микроскоп, 434
Електрофореза на гел, 551-553, 552с, 553с
Елион, Гетруда,
ЕЛИСА (ензимски врзана имуносорбентна анализа), види Ензимски врзана имуносорбентна анализ (ЕЛИСА),
ЕЛИСПОТ одредување, 157, 158с
Ембрионски сем (ЕС) клетки, 32
кај нокаут глувците, 564-565, 565с
Емтрицитабин, за инфекција со ХИВ, 517т, 518
Ендопламен ретикулум,
пептидно склопување кај,
во цитозолната патека, 211-212, 211с, 216с
во ендоцитната петека, 215-217, 215с, 216с
создавање имуноглбулини кај, 133, 134с
Ендотоксини,
отпор на, 63
при септичен шок, 319
Ендоцитна патека, противгено обработување кај, 209, 210с, 214-217, 214с-217с
Ендоцитоза, 9
Ензими, ограничување, 555-556, 556т
Ензимски врзана имуносорбентна анализа (ЕЛИСА), 155-158
ЕЛИСПОТ одредување, 157, 158с
индиректна, 156
компетитивна, 156
сендвич, 156
хемилуминисценција при, 156-157
цитокин, 305, 305с
Енфувиртид, за инфекција со ХИВ, 517т, 518
Енцефаломиелитис, експериментален автоиминитет, 412т, 413, 413с, 414
лекување на, 421, 421с
Епидермис, 53
Епител, 53-54, 54с, 55с
Епитоп(и), 81-84
алотипичен, 101, 101с
Б-клеточен, 81-84
аминокиселинска секвенца на, 81-82
имунодоминантен, 84
континуирано, 82-83, 82с
локација на, 84
неконтинуирано, 82-83, 82с
особини на, 81-84
подвижност на, 84
повеќекратно преклопување, 84
дефинирање на, 76
идиотипски, 101-102, 101с
имуноглобулин, 100-102, 101с
изотипски, 101, 101с
локација на, 84, 101с
означување на, 150, 151с
специфичност на, одредување на, 150, 151с
Т-клетка, 81, 82т
Епитопско мапирање, 150-151, 151с
ЕРАП, 212-214
ЕРАП2, 212
Еритробластозис феталис, 389-391, 390с
Еритропоиетин, 321-323, 321т, 324с
Ерлих, Пол., 293
ЕРп47, 212, 212с
*erb*B, кај канцер, 527, 528т, 530
Естрадиол, при автоимуна болест, 416-417
Естроген, автоимунитет и, 416-417
Escherichia coli,
кожен отпор на, 53, 55с
комплементен отпор при, 181, 181с
при клонирање на ДНК, 556-558
создавање на фаги од страна на, 138, 139с
Ефавиренз, за инфекција со ХИВ, 517т, 518
Ефекторен одговор, 1. Види исто Имун одговор,
Б-клетки во, види Ефекторни Б-клетки,
експериментална анализа на, 366-368
клетки природни убијци во, 35-36, 68, 351, 360-363
КПУТ-клетки, 364-365
натпревар на противгените за, 297, 298т
при отфрлање на пресадок, 431-432, 433с
противтелно зависна инхибиција на, 297-298
противтелно зависна клеточна цитоксичност во, 35, 95, 98, 366, 366с
регулирање на, 297-298
сигнализирање кај, 352-353
Т-клетки во, види Ефекторни Т-клетки,
Ефекторни Б-клетки, 12с, 13, 30, 31с, 34. Види исто Плазма-клетки
ефекторни молекули кои се создаваат од страна на, 353, 353т
Ефекторни каспази, при апоптоза, 264, 265с
Ефекторни Т-клетки, 11с, 14, 262. Види исто Цитотоксични Т-лимфоцити (ЦТЛ), Т цитотоксични (Тцт), Т помагачки (Тпо) клетки,
наспроти неискусни клетки, 6, 268, 401
особини на, 352-353, 352с, 353с
при клеточно посредуваниот имунитет, 262, 351-359
создавање на, 353-354, 354с
цели на, 352

Жени, автоимуна болест кај, 415, 416-417
Жени, болест кај, 415, 416-417
Живи ослабени вакцини, , 481–484, 482т, види исто Вакцини/вакцинирање
Жители од сиромашните делови од градот, астма кај 20, 384-385

Залцитабин, за инфекција со ХИВ. 517, 518
ЗАП-70, 255-257, 281
при тежок комбиниран имунонедостаток, 497
Зародишна клетка
еднопотентни, 32
ембрионска,32
многупотентни,32, 33с
повеќепотентни,32
пресадување на, 32-33 види исто Пресадување на коскена срцевина,
при генска терапија,33
хематопоиетска, види Хематопоетски зародишни клетки,
целоспотентни, 32
Зародишни линии, 562
Зародишни центри, 43, 292-297
афинитетно зреење кај, 293-296, 294с
диференцирање на Б-клетки при, 296-297
клеточни процеси кај, 294с
селекција во, 294с, 295-296
создавање на памтечки Б-клетки, 296-297
создавање на плазма-клетки, 296-297
светла зона кај, 293, 294с
темна зона кај, 293, 294с
Засилувачи, 133-134, 135с, 136
Заушки, имунизација за, 4т, 478, 479, 479т
Зглобно подрачје, 89с, 93-94, 93с, 97с
Зелен флуоресцентен протеин, 571

Зидовудин, за инфекција со ХИВ, 517т, 518
при бременост, 507
Зимогени. 169
Зрнести клетки, 30

IA, 202с, 203
Ибритумомаб тиуксетан, 141т
за канцер, 542, 542т
IE, 202с, 203
IκB, 69, 70с
ИгА, 99-100. Види исто Имуноглобулин(и),
биолошки активности на, 96т, 99-100
домени на константното подрачје кај, 94
недостаток на, 495, 495т, 499-500
поткласи на, 96т, 99
алотипови на, 101
секреторен, 99-100, 99с
функции на, 99-100
серум, 99
структура на, 87, 87т, 97с, 99, 99с
својства на, 96т, 99-100
тешки/лесни вериги кај, 87, 87т
во млеко од градите, 100
ИгГ, 95-96, 96т. Види исто Имуноглобулин(и),
биолошки активности на, 95-96, 96т
домени на константното подрачје кај, 94
како нецелосно противтело, 153
недостаток на, 500
поткласи на, 95-96, 96т, 98с
алотипови на, 101
при комплементна активација, 170-173, 172с
при преосетливи реакции. 371, 372, 372с, 389-391. Види исто Преосетливи реакции, цитоксичност со посредство на противтело (тип 2),
создавање на, 315
структура на, 85-86, 86с, 87т, 88с, 95, 97с
својства на, 95-96, 96т
тешки/лесни вериги кај,87, 87т
ИгД, види исто Имуноглобулин(и),
биолошки активности на, 95-96, 96т, 100
истовремено лачење со ИгМ, 133
при активирање на Б-клетките, 273
структура на, 97с
својства на, 96т, 101
тешки/лесни вериги кај, 87, 87т
ИгЕ, 100. Види исто Имуноглобулин(и),
биолошки активности на, 96т, 101
врзување на рецепторот Фк за, 372-373, 374, 376-377, 376с.
домени на константното подрачје кај, 94
особини на, 96т, 101, 374-375
откривање на, 100
при шистозомијаза, 464, 465
противтело за, за преосетливост, 387
Реакции на преосетливост, 18, 20, 100, 100с
со посредство на ИгЕ (тип 1)
референтни граници за, 374
рекација П-К и, 100
создавање на, 315
структура на, 97с, 374-375
тешки/лесни вериги кај, 87, 87т
ИгМ, види исто Имуноглобулин(и),
биолошки активности на, 96-97, 96т
домени на константно подрачје кај, 94
истовремено лачење со ИгД, 133
недостаток на, 500
при активирање на Б-клетките, 273, 276-277
при комплементна активација, 170-173, 171с, 172с
при преосетливи реакции. 371, 372, 372с, 388-391. Види исто Преосетливи реакции, цитоксичност со посредство на противтело (тип 2),
структура на, 96, 97с, 170, 170с
својства на, 96-97, 96т
тешки/лесни вериги кај, 87, 87т
Идиопатскаа тромбоцитопенична пурпура, 403т
Идиотипи, 101
Идиотипскии епитопи, 101-102, 101с
Идитародска трка, 5
Изопресадоци, 426, види исто Пресадување,
Изотипски епитопи, 101, 101с
Изотипско превклучување, види Превклучување на класи
Изохемаглутинација, 389
Икарос, 26, 26т
Икс врзан тежок комбиниран имунонедостаток, 19, 311, 494с, 495т, 496-498, 496с, 497с
Икс врзан хипер-ИгМ синдром, 296, 494с, 495т, 496с, 498
Икс врзана агамаглобулинемија, 284, 494с, 495т, 496с, 498
Икс врзана хронична грануломатозна болест, 66, 494с, 495т, 496с, 501
интерферон-гама за, 322-323
Имун глобулин, внатревенозен, 98
за имунонедостатоци, 502
Имун одговор
вторична, 10т, 17, 262, 289-290, 290т
ефикасност на, 7
ефектор, 1
Б-клетки во, види Ефекторни Б-клетки
во отфрлање пресадок, 431-432, 433с
експериментално утврдување на, 366-368
клетки природни убијци во, 35-36, 68, 351, 360-363
КПУТ-клетки во, 364-365
противген натпревар во, 297, 298т
противтелно зависна инхибиција на, 297-298
противтелно зависна клеточна цитотоксичност, 35, 95, 98, 366, 366с
регулација на, 297-298
сигнализирање во, 352-353
Т-клетки во, види Ефекторни Т-клетки
на тумори, 537-538
патогена одбрана против, 447
памтечки, 1, 10, 12, 17, 18, 18с, види исто Памтечки Б-клетки, памтечки Т-клетки
при имунизација, 481
при отфрлање на пресадок, 426
полови разлики во, 415, 416-417
првична, 10т, 17, 262, 289-290, 290т
при бременост, 417
при инфекциски болести, 447-472
бактериски, 455-460
вирусни, 447-454, 449т
габични, 465-467
нови/повторно појавени, 467-471
паразитски, 460-465
при канцер, 537-538
регулирање на, 297-298
чекори при, 15с
со посредство на клетка, 14, 15С, 351-368, види исто Т-клетка,
во вирусни инфекции, 448-451, 449т, 450
клонска експанзија кај, 18
рани проучувања на, 4-6, 5т
хуморален имунитет и, 351
цитотоксичен одговор кај, 351-368види исто Ефекторен одговор,
цитотоксични механизми кај, 351-368, види исто Клеточно посредуван имун одговор,
хуморален, 14, 15с, 18, 18с, 76, 289-297, види исто Б-клетки
вторични, 10т, 17, 18с, 262, 289-290, 290т
ефект на носителот кај, 291
ин виво поттикнувачки места за, 292
клонална експанзија во, 18, 18с
комплементно остварени процеси во, 180-185, 180т
наспроти клеточно остварен имунитет, 351
поврзано прпознавање на, 290-291, 290т, 291с
првични, 10т, 17, 18с, 262, 289-290, 290т
при вирусни инфекции, 448-451, 449т
при преосетливост, 372-373, види исто Преосетливи реакции,
проучувања на клеточниот трансфер на, 290-291, 290т, 291с
рани проучувања на, 4-6, 5т
Имун привилигирани места, пресадување, 439
Имун систем
клетки на, 30-40
еволуција на, 48с, 49
органи на, 40-49
преглед на, 1-20
при бременост, 416-417
Имун(и) комплекс(и),
отстранување на, 169, 180т, 185, 186с, 391
при автоимуно болест, 393
при инфекциски болести, 393
при одговор на лекови, 393
при преосетливост, 391-393
при реакциите на Артус, 392, 392с
при серумска болест, 392-393, 392с
Имунизација
активна, види Вакцини/вакцинирање
пасивна, 5, 95, 98, 477-478, 477т, 478т
Имунитет
активен, 5, 477т, 478-480, види исто Вакцини/вакцинирање,
групен, 480
дефинирање на, 2
историска перспектива на, 2-5
рани проучување на, 4-5, 5т
вроден, 8-10, 52-72, 447
влијание на имунонедостатоците, 493-495, 494с, 500-502
воспаление на, 57-59
време на одговорот при, 9, 10т, 53т
делови на, 8-9
дефинирање на, 1-8
еволуција на, 48с, 49, 52
ефектори на, 56, 57
здрава флора и, 447
кај без'рбетниците, 71, 71с, 72т
кај растенијата, 71, 71с, 72т

кај 'рбетниците, 71м, 71с, 72т
како прва линија на одбраната, 9
клеточни видови и, 53т, 65-69, 65с
одговор во акутна фаза кај, 61
почетни организми и, 447
препознавање облици при, 9, 61-65
при вирусните инфекции, 449-450, 449т
при габичните инфекции, 466
противмикробски пептиди и, 59-61, 61т
разликување свое-туѓо, 53т
разновидност на, 53т
растворливи фактори при, 9, 55-57, 59-62
сеприсутност, 71
сигнализирње при, 69-71
специфичност на, 10т, 53т
стекнат имунитет и, 9-10, 10т, 55-57
Толовидни рецептори кај, 9, 61-65, 62т, 63с, 64с
фагоцитоза кај, 9, 58с
физиолошки бариери кај, 8-9
пасивен, 5, 95, 98
стекнување на, 477-478, 477т, 478т
стекнат, 9-18, 52, 53т
Б-клеточни/Т-клеточни рецептори кај, 14-16
влијание на имунонедостатоците, 493-500, 494с
внатрешно-надворешно препознавање на, 12, 17
вроден имунитет и, 9-10, 10т, 55-57
вторичен одговор кај, 9, 10т, 17
ГТК молекули кај, 16, 16с
дефиниција, 1
имунолошко памтење при, 1, 9, 10, 12, 17, 18, 18с, 426, 481, види исто под Памтење
клонска селекција кај, 7, 16-17, 16-18, 17с
лимфоцити при, 12-14, 12с, 13с
отивгенска специфичност на, 10-12, 10т, 15с-17с, 16-17
првичен одговор кај, 9, 10т, 17
противген прикажувачки клетки кај, 13с, 14
тероретски предизвици на, 5-7
Имуно истражување
Нобелови награди за, 4, 5т
рани откритија на, 4-5, 5т
Имуно отстранување, 169
комплемент при, 180т, 185, 186с, 391
Имуноанализа, 145, види исто Експериментални системи,
аглутинација, 153-154, 153с
Вестерново дамкосување, 158
двојна имунодеифузија, 151-152, 152т
ензимски врзана имуносорбентна анализа (ЕЛИСА), 155-158, 305, 305с
имуноелектрофореза, 152-153, 152т, 153с
имуноталожење, 158-159, 160с
имунофлуоресценција,160-161, 161с
метод на Манцини, 151-152, 152т
метод на Охтерлони, 151-152, 152т
проточна цитометрија, 161-162, 162с
радијална имунодифузија, 151-152, 152т
радиоимуноанализа, 154-155, 156с
ракетна електрофореза, 151-153, 152т
таложни реакции, 151-153, 152т
чувствителност на, 151, 152т
Имуноблобулин(и), види исто Противтела и специфични имуноглобулини, на пр., IgA,
алотипови на, 101, 101с
биолошки активности на, 95-100
внатревенозни, 98
за имунонедостатоци, 502
врзани за мембраната, 94, 130-132, 131с, 132с
дефинирање на, 4, 76
епитопи на, 100-102
замена, 502
идиотипи на, 100-102, 101с
изотипови на, 101, 101с
класи на, 87, 87т, 95-100
кои се лачат, 94, 130-133, 131с, 134с
комплементарно определувачки подрачја кај, 85, 90-93, 91с, 92с
константни подрачја, види Константно (К) подрачје
лесни вериги на, види Лесни (Л) вериги
откривање на, 4, 84-85
пасивна имунизација со, 5, 95, 98, 477-478, 477т
повеќекратни домени на, 87-89, 88с, 89с
при инфекција со ХИВ, 516
рекомбинантни, 502-503
селективни недостатоци на, 19, 495, 499-500, види исто Имунонедостаток,
варијабилно подрачје на, види исто Варијабилно (В) подрачје
вторични, 79с, 87, 88с
наспроти противтела, 4
првична, 79с, 87
синтеза на, 133, 134с
склопување на, 133, 134с
структура на, 84-89
тешки вериги на, види Тешки (Т) вериги
третична, 79с, 87, 105, види исто Имуноглбулинска дипла,
четвртична, 79с, 87, 88с
Имуноген(и), 77, види исто Противген(и),
имуногеност на, 78-80, 79с
наспроти толерогени, 403
особини на, 78-80, 79с
ревакцина, 80
хаптени како, 77-78, 78т
Имуногеност,
генотип на примателот и, 80
дефинирање на, 77
имуногена доза и внесување и, 80-81
молекулска големина и, 79
надворешност и, 78-79
наспроти противгеност, 77-81
помагачи (адјуванси) и, 81
преработување/прикажување на противгени и, 80
хемиски состав и хетерогеност и, 79, 79с
Имуноглбулинска дипла, 88с-90с, 89-90, 105
Имуноглобулин кој се лачи (sIg), 94
Имуноглобулиновиден рецептор на клетка природен убиец, 362-364
Имуноглобулиновидни рецептори на клетки природни убијци (КИР), 362, 363, 430
Имуноглобулински гени, 111-142
кај Б-клетките, 130-135
кај Т-клетките, 135-136
лесна верига, 115, 116с
модели на
два гена еден полипептид, 113-114, 115
зародишна линија, 113
соматска варијација, 113, 123
мутации на, 127, 293-295, 295с
соматска хипермутација и, 125-129, 126с, 293-295, 295с
организција на повеќе гени, 115-116
повеќекратна зародишна линија, различие на противтелата и, 123, 124с
преглед на, 111-112
препишување на, 130-136, 131с, 132с
засилувачи при, 134-135, 135с
мембрански врзани наспроти создадени имуноглублини со лачење и, 134-135, 135с
поттикнувачи при, 133-134, 135с
регулирање на, 133-136
стапка на, 135
преуредување на
алелско исклучување кај, 121-122, 122с
генско претворање (конверзија) во, 127, 128с
кодирачки споеви кај, 120-121, 120с
лесна верига, 117-118, 117с
механизми на, 119-122, 230-231, 234с
модел за соматска мутација кај, 127
нуклеотиди во подрачје Н, 120, 125, 125с, 234-235, 234с
нуклеотиди во подрачје П, 120, 125, 125с, 234
откривање на, 114-115
при зреењето на Б-клетките, 116-122, 272-273, 273с, 274с, 278
при менување на класи, 128-129, 129с, 130с, 271, 296, 296с
прикажување гени и, 135
продуктивно наспроти непродуктивно, 121
разлики кај видовите, 127
различие на противтело, 123, 124т
различие на, види Различие на противтелата
рекомбинази при, 119-120
сигнални споеви кај, 120, 120с
соматска хипермутација и, 125-129, 126с, 293-295, 295с
стапка на препишување и, 135
тешка верига, 118, 118с
флексибилност при поврзување, 14с, 121, 121с, 123
централна толеранција и, 403-404
чекори кај, 119-120, 120с
при генетското модифицирање, 136-141
прикажување (препишување на), 130-133, 130-136, 131с, 132с
регулирање на, 133-136, 134с, 135с
стапка на, 135
тешка верига, 115-116, 116с
хромозомска локации на, 115т
човечки, создавање во нокаут глувци, 137, 138с
Имунодифузија
двојна, 151-152, 152т
радијална, 151, 152
Имунодоминантни епитопи, 84
Имуноелектронска микроскопија, 164, 164с
Имуноелектрофореза, 152-153, 152т, 153с
Имунокомпетентност, 40
Имунокомплексни болести, 502
Имунокомплексно остварена преосетливост (тип 3), *види* исто Преосетливи реакции, 372, 372с, 391-393
Имунолошка синапса
при активирање на Б-клетките, 287
при активирање на Т-клетките, 257
Имунолошко памтење, 1, 10, 12, 17, 17, 18, 18с
клонска селекција и, 17
Имунонедостаток поттикнат од агенс, 504-505

Имунонедостаток, 19, види исто *Сйецифични нарушувања*
Б-клетка, 495-496
вторична, 504-520, види исто Инфекција со вирус на хуман имунонедостаток,
генски фактори кај, 493
генски фактори при, 495т
животински модели на, 503-504
заедничка варијабла, 494с, 499
Икс врзана, 496с, види исто под Икс врзана,
лекување на, 502-503
лимфоидна, 459-500
лоцирање на дефектите кај, 494с
миелоидна, 500-502
на вродениот имунитет, 493-495, 494с, 500-502
на стекнатиот имунитет, 493-500, 494с, 50-502
недостаток на комплемент и, 185-186, 186с, 502
пасивна имунизација за, 477-478, 477т, 478т
поттикната од агенс, 504-505
првична, 493-504
преглед на, 493
селективна, 19, 495, 495т, 499-500
тимусно нарушување и, 500
Т-клеточна, 496
Имунопреципитација, 158-159, 160с
Имунорецепторски тирозински базиран активирачки мотив (ИТАМ)
Б-клетка, 279, 280с, 284, 362, 376-377
клетки природни убијци и, 362
Т-клетка, 235, 255, 362
Фк рецептор, 376-377
Имунорецепторски тирозински базиран инхибиторен мотив (ИТИМ), 283с, 284
клетки природни убијци и, 362
Имунорецепторски тирозински фосфатен инхибиторен мотив, Т-клетка, 235, 362
Имуностимулирачки комплекси (ИСКОМ), 487, 487с
Имуносупресивна терапија
имунонедостаток поради, 504-505
при автоимуна болест, 419-420
при пресадување, 434-438
габични метаболити кај, 420, 436
кортикостероиди кај, 436, 436с
микотични инхибитори кај, 434-436
моноклонски противтела кај, 437
противтимоцитен глобулин кај, 437
специфични, 436-438, 438с, 439с
целосно лимфоидно рендгенско озрачување кај, 436
Имуносупресија, поттикнатна од вирус, 451
Имунотерапија
за преосетливост, 386-388, 388с
моноклонски противтела при, види Моноклонски противтела
пасивна, 5, 95, 98, 477-478, 477т
Имунотоксини, за канцер, 542-543
Имунофенотипизирање, на леукемија, 163
Имунофлуоресценција, 160-161, 161с, види исто Експериментални системи,
напредоци во, 571
Имуран (азатиоприн), при пресадување, 434, 436с
Ин ситу хибридизација, 558-559, 558с
Индинавир, за инфекција со ХИВ, 517т, 518
Индиректна ЕЛИСА, 156
Индиректно боење со флуоресцентно противтело, 160-161, 161с
Инкостатин М, 344, 344с
Инструктивен модел, на тимична селекција, 253, 254с
Инструктивни теории, 6
Интергрини, 59, 328, 328с, види исто Клеточно-атхезивни молекули (КАМ)
при екстравазација на белите клетки, 332-334, 332с, 333с
при екстравазација на лимфоцитите, 336
при недостаток на леукоцитна атхезија, 501, 502т
Интереферон-бета, Б-3
при вирусни инфекции, 449, 449т, 450, 450с
терапевтска примена на, 322-323
при канцер, 540, 541
Интереферон-гама, 68, 307, Б-4
врзување на рецепторот за, 313, 313с
извори на, 307т
при авотимунитет, 418-419, 419с
при активирање на макрофаги, 344-345, 345с
при вирусни инфекции, 449т, 450
при леишманијаза, 462
при отфрлање на пресадок, 432
при преосетливост,
од одложен тип, 396, 396с
со посредство на IgE, 384-385
при развојот на Т-помагачките клетки, 316
при хронично воспаление, 344-345, 345с
противтело за, при имуносупресија на пресадок, 437
создавање на клетки природни убијци, 360-361
терапевтска примена на, 322-323
при канцер, 540, 541
функции на, 307т, 312, 315
Интерлеукин 1, 68, Б-1
вирус Епштајн-Бар и, 314
извори на, 307т
при септичен шок, 319
при воспаление, 339-340, 339т
при локален одговор, 341, 341с
при системски одговор, 342с, 344
функции на, 307т
Интерлеукин 10, 309, Б-2
вирусни, 314
вкрстено регулирање на Т-помагачките клетки, 317-318
функции на, 315
Интерлеукин 11, 309с, 310, Б-2
при хематопоеза, 321-323, 321т, 324с
Интерлеукин 12, 307т, Б-2
извори на, 307т, 315, 316
при развој на Т-помагачките клетки, 316, 316с
при туберкулоза, 459
функции на, 307т, 315
Интерлеукин 13, Б-2
Интерлеукин 14, Б-2
Интерлеукин 15, Б-2
Интерлеукин 16, Б-2
Интерлеукин 17, Б-2
Интерлеукин 17, кај преосетливоста од одложен тип, 396
Интерлеукин 18, 308
при развој на Т-помагачките клетки, 316, 316с
Интерлеукин 18, Б-2
Интерлеукин 19, Б-2
Интерлеукин 2, 307т, Б-1
противтело за, при имуносупресија на пресадок, 437
извори на, 307т
при активирање на Т-цитотоксичните клетки, 354, 354с
при отфрлање на пресадок, 432-433, 432с
рекомбинантен за, 321
структура на, 305-306, 305с
функции на, 307т
Интерлеукин 20, Б-2
Интерлеукин 21, Б-2
Интерлеукин 22, Б-2
Интерлеукин 23, Б-3
Интерлеукин 23, при развој на Т-помагачките клетки, 316, 316с
Интерлеукин 24, Б-3
Интерлеукин 25, Б-3
Интерлеукин 26, Б-3
Интерлеукин 27, Б-3
Интерлеукин 27, при развој на Т-помагачките клетки, 316, 316с
Интерлеукин 28, Б-3
Интерлеукин 29, Б-3
Интерлеукин 3, 309-310, Б-1
при хематопоеза, 307т, 310
Интерлеукин 30, Б-3
Интерлеукин 31, Б-3
Интерлеукин 32, Б-3
Интерлеукин 4, 307т, Б-1
извори на, 307т
при преосетливост, 384
при развој на Т-помагачките клетки, 316, 316с
структура на, 305-306, 305с
функции на, 307т, 310
Интерлеукин 5, 307т, 309-310, Б-1
извори на, 307т
при хематопоеза, 321-323, 321Т, 324с
функции на, 307т, 310
Интерлеукин 6, 68, 307т, 309-310, Б-1
извори на, 307т
при воспаление, 339-340, 339т
при локален одговор, 341, 341с
при сисмтески одговор, 342с, 344
при канцер, 319-320
при хематопоеза, 321-323, 321т, 324с
функции на, 307т
Интерлеукин 7, Б-1
при зреење на Б-клетките, 273
при хематопоеза, 321-323, 321т, 324с
Интерлеукин 8, Б-1
при екстравазација на белите клетки, 333
Интерлеукин 9, Б-1
Интерлеукин(и), 302, Б-1-Б-3, види исто Цитокин(и),
за канцер, 540, 541
извори на, 307т
при активирање на Б-клетките, 287
при воспаление, 339-342, 339т
при отфрлање на пресадок, 432-433, 432с
при сигнализирање, 313, 313т
при преосетливост, 384
од одложен тип, 396
со посредство на IgE, 380, 380т
при Т-клеточно активирање, 262
при шистозомијаза, 464
рецептори за, види Цитокински рецептори
структура на, 305-306, 305с
функции на, 307т
Интерлеукински рецептори, сигнализање, 313, 313т

Интерферон гама рецепторска фамилија, 309
Интерферон ламбда, Б-4
Интерферон(и), 9, 59, 307т, Б-3, Б-4
при вирусни инфекции, 449, 449т, 450, 450с
при канцер, 540-541
при регулирање на ГТК,204
терапевтска примена на, 322-323
Интерферон-алфа, Б-3
извори, 307т
при вирусни инфекции, 449, 449т, 450, 450с
функции на, 307т
терапевтска примена на, 322-323
при канцер, 540, 541
Инфекција со *Pneumocystis carinii*, поврзана со ХИВ, 513–514
Инфекција со вирус на човечки имунонедостаток, 504-521
активирање на поликлонски Б-клетки, 419
акутна фаза на, 512-514, 512с
болести кои се показател за СИДА кај, 512, 513т, 514-515
вакцина за, 518-520
вирусен товар кај, 512, 512с, 513т, 514-515
габични инфекции кај, 467
гени КИР-ГТК кај, 364-365
глобална епидемија кај, 505, 506с
дијагноза на, 512, 512с
епидемиологија на, 505, 506с
имуни ненормалности кај, 514-516
инфекциски процес кај, 511с
лекување на, 515-518, 517т
фузиски инхибитори кај, 517т, 518
инхибитори на спротивното препишување кај, 517т, 518
интелеукин-2, 321
при бременост, 507
протеазни инхибитори кај, 517т, 518
високоактивна противретровирусна терпаија кај, 518
мајка-дете пренесување на507,
невролошки компликации кај, 515
оптунистички инфекции кај, 512-515, 513т
преглед на, 505
при бременост, 507
развивање на, 512-515
сарком на Капоши и, 527
синцициум кај, 512
смртност од, 505, 505с
спречување на, 506-508, 518-520
Т-клетки КД4^{+} кај, 512, 512с, 513т, 514-515, 515с
Т-помагачки клетки кај, 318, 318с
фактори на ризик за, 506
хронична фаза на, 512с, 514
ширење на, 505-506
Инфекција со вирусот варичела зостер, пасивна имунизација за, 477-478, 478т
Инфекција со висурот на Епштајн-Бар,
активирање на поликлонските Б-клетки, 419
апоптоза кај, 529
Буркитов лимфом и, 527, 535
комплемент кај, 180т, 184-185, 185с
цитокинско попречување кај, 314, 314т
Инфекција со сфингомонас, КПУТ-клетки кај, 365
Инфекциски болести кои повторно се појавуваат, 467с, 468-471
Инфликсимаб, 141т
Инфлуенца, 454-454, 452с-454с, 452т
имунизација за, 3, 478, 479т, 483-484
Инхибитори на спротивната транскриптаза, за инфекција со ХИВ, 517т, 518
ИПЕИкс (имунолошка дисрегулација, полиендокринопатија, ентеропатија, Икс врзан синдром), 407
ИТАМ, види Имунорецепторски тирозински базиран активирачки мотив (ИТАМ),
ИТИМ, Имунорецепторски тирозински базиран инхибиторен мотив, 283с, 284
клетки природни убијци и, 362
Итк, 284
Ишида, Исајо, 137
Ишизака, К., 100, 374
Ишизака, Т., 100, 374

J (врзувачка) верига,
кај IgA, 99, 99с
кај IgM, 96, 97, 97с
JAK-СПАП (JAK-STAT) сигнална патека, 313-314, 313т, 316-317
Јанкопулос, Г.Д., 122
Јанушови кинази, при сигнализирање на цитокините, 312-314, 313т
Јанушови киназни инхибитори, при пресадочна имуносупресија, 437-438
Јелоу, Розалин, 155
Јерсин, Александре, 458
Јонски врски, при меѓудејства противген-противтело, 145, 146с
јун, при канцер, 528

K генски сегменти,
имуноглобулин, *види исто* Имуноглобулински гени,
лесна верига, 115, 116с, 117-118, 117с
преуредување на, 117-118, 117с
структура на, 132
тешка верига, 115, 116, 116с, 130-133
Т-клеточен рецептор, 229-235, 229т. *види исто* Т-клеточен рецептор (ТКР),
К1 инхибитор, 177, 177т, 178с
недостаток на, 186
К1
недостаток на, 186
при комплементна активација
во класичната патека, 170, 170с, 172с
во лектинската патека, 175
структура на, 170, 171с
К2, при комплементна активација, 170, 170с, 172с
во лектинската патека, 175
К3,
недостаток на, 186
при комплементна регулација, 177-179, 177т, 178с, 179с
при комплементна активација,
во алтернативната патека, 173,-175, 174с, 177
во класичната патека, 170, 170с, 172с, 177
во лектинската патека, 175, 177
при воспаление, 182-184, 338-339
К3а/К4а, 181т
К3б, 95, 177, 177т, 178т
при неутрализација на вирусите, 184-185, 185с
при опсонизација, 184, 184с
при системски лупус еритематозус, 185
К4,
при комплементна активација,
во класичната патека, 170, 170с, 172с, 177, 177т
во лектинската патека, 175, 177, 177т
при комплементна регулација, 177-179, 177т, 178с, 179с
недостаток на, 186
К4б врзувачки протеин, 177т, 179
К4б,
при опсонизација, 184, 184с
при системски лупус еритематозус, 184-185, 185с
К5,
при воспаление, 184, 338-339
при комплементна активација, 170с, 172с, 173, 175-176, 176с
создавање на, 174с
К6, при комплементна активација, 170с, 172с, 173
К7, при комплементна активација, 175-176, 176с
К8, при комплементна активација, 175-176, 176с
К9,
во поли-К9 комплекс, 175с, 176
недостаток на, 186
при комплементна активација, 176, 176с
Калнексин, 212, 212с
Калретикулин, 212, 212с
Калциумови јони,
при активирање на Т-клетките, 257с, 258
при обеззрнување на мастоцити, 378-379
при преосетливост, 378-379
Канал-Смит синдром, 266-267
Кандида албиканс, структура на, 8с
Кандидијаза, 7, 466-467
поврзана со ХИВ, 513
Канцер кој е поттикнат од вирусот полиом, 532т, 535–536, 536с
Канцер на дебелото црево,
моноклонски противтела за, 542-543, 542с
напредување на, 530-530с
Канцер на дојката
ц-неу кај, 530
моноклонски противтела за, 141, 141т
Канцер, 525-544*види исто* под Тумор,
алфа-фетопротеин кај, 536-537, 537т
апоптоза кај, 528-529
вируси кај, 526-527
генски фактори кај, 527-530
дебело црево,
моноклонски противтела за, 542-543, 542с
напредување на, 530, 530с
дијагноза на, анализа со микронизи кај, 568- 569
дојка
моноклонски противтела за, 141, 141т
ц-неу кај, 530
имун одговор кај, 537-538
имунонедостаток поврзан со лекување кај, 504-505
имунотерапија за,
имунотоксини кај, 542-543
интерферони кај, 322-323
костомулаторни сигнали кај, 539-540, 540с
моноклонски противтела за, 140-141, 141т, 542-543, 542т
противген прикажувачки клетки кај, 540
цитокини кај, 540-541
карциногени и, 526-527, 532-535
карциноембрионски противген кај, 536-537, 537т
КИР-ГТК гени кај, 364-365
класификација на, 525
клетки природни убијци кај, 537-538
клеточно размножување кај, 527-528

попречување на, 528
малигна трансформација на, 526-527, 526с
метастатска, 525-526с
мутагенеза кај, 526
мутации во, 526-527
на имуниот систем, 530-531
поттикнување на,527-530
пресадок на коскена срцевина кај, *види исто* Пресадување на коскена срцевина,
причини за, 526-527, 532-535
профилирање на генско прикажување кај, 568-569
развивање на, 530, 530с
сигнализирање кај, 528т, 538, 539-540, 539с
создавање на тумори кај,
терминологија на, 525
Т-клеточно преуредување кај, 232-233
туморски противгени кај, 531-538. *види исто* Туморски противгени,
туморски супресорни гени кај, 528, 528т, 530
туморско растење кај, 526, 526с
хромозомско преместување во, 529-530, 529с, 531, 531с
цервиксен
вакцина за, 534-535
КИР-ГТК гени кај, 364-365
цервиксен човечки папиломавирус и, 527, 534-535
цитокини кај, 319
Канцери предизвикани од метилхолантрен, 532–535
Капа верига, види под Лесни (Л) вериги,
Каплер, Ц, 224
Капошиев сарком, 527
Карбоксилно терминални домени, 94
Кардиоваскуларна болест, Ц-реактивен протеин кај, 66-67
Кардиотрофин-1Б-4,
Карел, Алексис, 425
Карициногени, 526-527
вирусни, 526-527
хемиски/физички, 532-535
Карциноембионски противген,536-537, 537т
Карцином, 525, *види исто* Канцер,
Каспаза, при апоптоза, 27т, 264, 265с, 359, 360с
Каталитични противтела, 106
Кателицидини, 59-61, 61т
Кватерна протеинска структура, 79, 87
КД противгени,А-1-126
КД1, А-1,
прикажување на, 218
противгено прикажување од страна на, 217-218, 218с
структура на, 218, 218с
КД102, 329, 329т, А-12
при екстравазација на белите клетки, 329т
КД106, види ВКАМ-1,
КД11/8
при екстравазација на белите клетки, 333, 333с, 334
при екстравазација на лимфоцитите, 337
КД11а/КД18, види ЛФА-1,
КД11б/КД18, 329т
КД152, А-16
при активирањето на Т-клетките, 259, 259с
КД154, А-16
при активирањето на Б-клетките, 286
КД16, 34т, А-3
КД18 интегрини, 328
КД19, 274с, 275, А-3
кај Б-клеточен корецепторен комплекс, 281-284, 283с
КД2, 34т, 237т, 238, А-1
при ефекторен одговор, 352
КД20, А-3
противтело за, за лимфом, 140-141, 141т
КД21, 34т, А-3
кај Б-клеточен корецепторен комплекс, 281-284, 283с
КД22, А-3
кај Б-клеточен корецепторен комплекс, 281-284, 283с
КД25, 274с, 275, 312, А-3
противтело за, 312, 321т
за автоимуно болест,312, 321т
при имунопресадување на, 437
при зреење на Т-клетките, 246
Т-регулаторни клетки и, 35
КД28, 34т, А-4
при имуноглобулинска суперфамилија, 103, 104с
при активирање на Т-клетките, 237т, 238, 259, 259с, 406
КД3, 34т, А-1
во имуноглобулинска фамилијата, 103, 104с
при сигнализирањето, 235
противтело за, при имуносупресија на пресадок, 437
структура на, 235
КД31, види ПЕЦАМ-1,
КД32, 34т, А-4
КД34+, 29, А-4
КД35, 34т, А-4
КД4+, 34т, 236-237, 237т, А-2. *види исто* Главен ткивносовпадлив комплекс (ГТК), молекули од класа 1 и 2, Т клетка(и), Т помагачки ($Т_{ПО}$) клетки
анергични, 260
во имуноглобулинска суперфамилија, 103, 104с
како корецептор, 237-238, 237с, 237т, 238с
при активирање на Т-клетките, 254, 256с, 259, 260
при зреење на Т-клетките, 246, 247с, 248
при инфекција со HIV, 512, 512с, 513т, 514-515, 515с
при отфрлање на пресадок, 426-427
при селекција во тимусот, 250-251, 251, 251с, 252с, 253, 254с
Т-регулаторни клетки и, 35
противтело за, при имуносупресија на пресадок, 437
самоограничена ГТК рестрикција и, 207
структура на, 237. 237с
Т-клеточен рецептор и, 237-238, 237с, 237т, 238с
Т-помагачки клетки и, 35
при прикажување на противгени, 209, 210с, 214-217, 214с, 217с
функција на, 237, 237т
КД40, 34т, А-5
при активирање на Б-клетките, 286
при превклучувањето на класи, 296
кај стеблестите клетки, 39
кај хипер-ИгМ синдромот, 498-499
КД40Л
во класно превклучување, 296
во хипер ИгЕ синдром, 498-499
противтело кон, во пресадок
во Б-клеточна активација, 286
имуносупресија, 438
КД43, 274с, 275, А-5
КД44, А-5
при зреењето на Т-клетките, 246
КД45, 34т, А-6
при активирањето на Т-клетките, 352
КД45Р,
при активирањето на Т-клетките, 237т, 238
при зреењето на Б-клетките, 272, 274с, 275
КД49д/КД29, при екстравазација на белите клетки, 329т
КД4+КД25+, 263
КД5, 34т, 237т, А-2
КД50, 329, 329т, А-7
КД54, види исто МКАМ-1,
КД55, А-8
кај пароксималната ноќна хемоглобинурија, 183
КД56, 34т, А-8
КД59, 177т, 179-180, А-8
кај пароксималната ноќна хемоглобинурија, 183
КД62Л, *види исто* Селектин Л.
КД74, 214-215, 215с, А-10
КД8+ цитотоксични Т-лимфоцити, 35, 355, 356с
при прикажување на противгени, 209-212, 210с-212с, 216с
КД8+, 34т, 236-237, 237т, А-2. *види исто* главен ткивносовпадлив комплекс (ГТК), молекули од класа 1 и 2, Т клетка(и), Т цитотоксични (Тцт) клетки
анергични, 260
како корецептор, 237-238, 237с, 237т, 238с
при активирање на Т-клетките, 254, 256с, 259, 260
при зреење на Т-клетките, 246, 247с, 248
при отфрлање на пресадок, 426-427
при тимусна селекција, 250-253, 250т, 251с-153с
самоограничување на ГТК и, 207
структура на, 237, 237с
Т-клеточен рецептор и, 237-238, 237с, 237т, 238с
Т-цитотоксични клетки и, 35, 355, 356
при прикажување на противгени, 209-212, 210с-212с, 216с
функција на, 237, 237т
КД80,
кај активирањето на Т-клетките, 259, 259с, 263-264
кај денритичните клетки, 39, А-11
КД81, кај Б-клеточниот корецепторен комплекс, 281-284, 283с, А11
КД86, А-11
кај стеблестите клетки, 39
при активирањето на Т-клетките, 259, 259с, 263-264
КД94: рецептори НКГ2, 362
кДНК клонови,
потготовка на, 556-558
скрининг за, 558-559
Т-клеточен рецептор, 224-226, 225с
КДР1, 227, 231с, 232, 235
при ТКР-пептид-ГТК комплекс, 240с, 241
КДР2, 227, 231с, 232, 235
при ТКР-пептид-ГТК комплекс, 240с, 241
КДР3, 227, 231с, 232, 234с, 235
при ТКР-пептид-ГТК комплекс, 240-241, 240с
Кетуксимаб, за канцер, 542, 542т
Киназна патека Рас/МАП, при активирање на Т-клетките, 257с, 258, 258с

Кининский систем, 338, 338с
КИР рецептори, 362, 363
Кир-ГТК гени, при заболување, 362, 363
Кирк, Ален, 438
Кисато, Шибасабуро, 4, 98
Класа 1/2/3 ГТК молекули, *види под* Главен ткивносовпадлив комплекс (ГТК)
Класа 2 асоциран неменлив пептид (КЛИП), 215
Класификацијата Гел-Комбс, на реакции на преосетливост, 371-372, 372с
Класична комплементна патека, 169-173, 170с, 172с, 176с
Кластер на диференцијација (КД), 34. *види исто* под КД
Клетки во мирување, види Неискусни Б-клетки, неискусни Т-клетки
Клетки природни убијци (КПУ), 30, 35–36, 65с, 68, 351, 360–363
  активирање на, 362–363
  дефективни, болест и, 364–365
  кај канцерот, 537–538
  модел на спротивни сигнали кај, 362–363, 363с
  моделот со два рецептори, 362
  наспроти цитотоксичните Т-лимфоцити, 361–362
  откривање на, 360
  попречување на, 363–364
  при имунонедостатоците, 495–500
  при отфрлање на пресадок, 430
  при сигнализирање, 362–364, 363с
  при синдромот на голи лимфоцити, 213
  противтелно зависна клеточна цитотоксичност, 35, 95
  содавање на, 25с
  создавање на цитокини од страна на, 360–361
  Т-клетки и, 361
  цитотоксични механизми на, 361–362
Клеточен противдиуретски хромон, Т-клеточен рецептор и, 238
Клеточна атхезија, хомотипична, 329
Клеточна смрт,
  поттикната со активирање, 264
  при толеранција, 406
  програмирана, *види* Апоптоза.
Клеточни лози, 547-551, 549т
  дефинирање на, 549
  клонирани лимфоиди, 549-550, 549т
  првични лимфоидни, 547-549, 549т
  претворање во, 549
  хибридни лимфоидни, 549т, 550
Клеточно остварена лимфолиза, 367, 368с, 538
Клеточно подредување, 161
Клеточно разградување (лиза),
  кај мембранскиот атак комплекс, 180-182
  со посредство на комплемент, 169, 169с, 179-180
Клеточно-атхезиски молекули (КАМ), 59, 327-329
  Б-клетка, 273
  внатреклеточни, 59
  имуноглобулинска суперфамилија, 103, 104с, 328с, 329. *види исто* под МКАМ,
  при воспаление, 327-329, 340-342, 341с, 346
  при екстравазација на бели клетки, 336
  при леукоцитен атхезивен недостаток, 501, 502т
  при убивање со посредство на ЦТЛ, 356-357, 357с
  противген прикажувачки клетки и, 237т, 238
  специфично за бели клетки, 327
  Т-клеточен рецептор и, 237т, 238, 352-353
  фамилии на, 327-329, 328с, 329т. *види исто* интергрини, муцини, селектини
  функции на, 327-328, 327-329, 340-342, 341с
клеточно-атхезиски молекули при, 328, 329т, види исто Клеточно-атхезиски молекули (КАМ),
  делови на, 103
  рецептори за, 308, 308с
Клеточно-посредуван имун одговор, 14, 15с, 351-368. *види исто* Имун одговор, Т-клетка(и)
  клонска експанзија кај, 18
  при вирусните инфекции, 448-451, 449т
  рани проучувања на, 4-6, 5т
  цитотоксични Т-лимфоцити кај, 1, 14, 15с
    експериментална процена на, 366-368
    ефикасност на, 7
    клетки природни убијци кај, 35-36, 68, 351, 360-363
    КПУТ-клетки кај, 364-365
    при болеста пресадок-наспроти-домаќин, 367-368
    при мешана лимфоцитна реакција, 366-367, 367с
    рани проучувања на, 3-6, 5т
    регулирање на, 297-298
    сигнализирање на, 352-353
КЛИП, 215
Клонирани лимфоидни клеточни лози, 549-550, 549т
Клонови/клонирање, 35
  ДНК, 556-559, 557с, 558с
Клонотипски противтела, при изолирање на Т-клеточниот рецептор, 224
Клонска анергија, 259-260, 260с, 404, 406
  поттикнување на, при имуносупресија на пресадок, 438
Клонска селекција, 7, 16-18
Клонско отстранување,
  на Б-клетки, 276-278, 277с, 277т
  на Т-клетки, 245, 250-251, 250с
Кодирачки споеви, 120-121, 120с
Кожа
  габични инфекции на, 465-467, 466т
  имунолошка улога на, 465-467
Кожни тестови,
  за алергени,386, 386с
  за туберкулоза, 393
  преосетливост од одложен тип кај, 393, 396
Козмидни вектори, 556, 558т
Кокошка од згоен вид, Хашимотов тироидит кај, 412т, 413
Коксаки вирусна инфекција, кај жени, 416
Колектини, 9
Колонии стимулирачки фактори, 321т, 323, 324с
  при воспаление, 344, 344с
  рецептори за, 309-310, 309с, 310с
Комбинаторско спојување,
  различие на противтела и, 123, 124т, 234с
  Т-клеточно различие на рецепторот и, 233-234, 234с
Комензални организми, 447
Компетитивна ЕЛИСА, 156
Комплеменен рецептор(и), 180, 181т
  кај габичните инфекции, 466
  тип 1, 177т, 178с, 179
    при неутрализација на вирусите, 184
    при системски лупус еритематозус, 185
Комплемент/комплементен систем, 9, 55, 62т, 95, 168-187
  активирање на, 55-57, 56, 95, 97, 169-176
    алтернативна патека на, 169, 170с, 173,-176, 174с, 176с
    биолошки последици од, 180-185, 180т
    класична патека на, 169-173, 170с, 172с, 176с
    лектинска патека на, 169, 170с, 175, 176с
    мембрански атак комплекс, 172с, 175-176, 176с
    регулирање на, 177-180, 177т, 178с, 179с
    чекори кај, 170с, 176с
  во бактериски инфекции, 181-182, 181с, 182т, 455, 456с, 457, 457т
  делови на, 55-57
  дефинирање на, 168
  кај габичните инфекции, 466
  недостатоци на, 185-186, 502
    кај пароксизмална ноќна хемоглобинурија, 183
    кај системскиот лупус еритематозус, 185, 186
  обележување и симболи за, 169
  пептидини фрагменти кај, 169, 182-184
  при воспаление, 180т, 182-184
  при имуно отстранување, 185, 185с, 391
  при неутрализација на вирусите, 180т, 184-185, 185с
  при преосетливоста,
    имунокомплексно остварени, 391-392
    противтелно остварени цитотоксични, 388-391, 391-393
  при системски лупус еритематозус, 410, 411
  регулирање на, 177-180, 177т, 178с, 179с
  терминологија за, 169
  функции на, 168-169, 169с
  функционални комплекси кај, 169
Комплементарна ДНК, *види исто* кДНК,
Комплементарно определувачки подрачја (КОП), 85, 90-93, 91с, 92с
  варијација на секвенцата кај, 124т
Конгенични глувци, 193
Конјугати хаптен-носач, 77, 77с
  Т-помагачки клетки и, 290-291, 290т, 291с
Константни (К) подрачја, 85, 85с
  гени кои кодираат, 114-116, 116с
    лесна верига, 115, 116с
    преуредување на, 114-115. *види исто* Имуноглобулински гени, преуредување на, 114-115
    тешка верига, 115, 116, 116с
  кај моделот со два гени и еден пептид, 113-114, 115
  лесна верига, 85, 85с, 87-89, 88с, 93, 115, 116с
  тешка верига, 85, 85с, 87-89, 88с, 93, 115, 116, 116с
Контактен дерматит, 393-396, 393т, 396, 397с
Конфокална микроскопија, 570-571
Коронавируси, 470
Кортикостероиди,
  за преосетливост, 388, 388т
  имуносупресија при пресадување, 436
  противвоспалително дејство на, 347
Коскена срцевина, Б-клеточен развој кај, 42, 272-273, 273с, 274с
Кох, Роберт, 393
Кохлер, Георг., 87, 105-106
КПУ. клетки природни убијци и
КПУТ-клетки, 35–36, 364–365

KP1, 181т
KP2, 181т
при Б-клеточниот корецепторен комплекс, 281-284, 283с
KP3, 181т
при недостатокот на атхезија на белите клетки, 501, 502т
KP4, 181т
при недостатокот на атхезија на белите клетки, 501, 502т
KP5a, 181т
Крајници, 47
K-*рас* онкоген, 528т, 530
Кратки вообичаени повторувња, 177
Крв, создавање на, *види* Хематопоеза,
Крвна плочка-ендотелна клеточно-атхезиски молекул-1 (ПЕКАМ-1), 329
при екстравазација на белите клетки, 332, 334
при екстравазација на лимфоцитите, 336
Крвни плочки, создавање на, 25с
Крвни црнца
бели, *види* Бели клетки,
црвени, *види* Црвени клетки,
Крвно групни противгени
АБО. *Види исто* Противгени од крвната група АБО,
Рх, при еритробластозис феталис, 389-391, 390с
Кре/локс систем, генско целење со, 565-566
Кресвал, Питер, 217
Криптококоза, 466-467
Кристалографија со икс зраци, 553-555, 555с
Кромолин натриум, за преосетливост, 388, 388т
Кронова болест, 346т, 347
Ксенопресадок, 426. *види исто* Пресадување, потенцијална примена на, 435, 443-444
Кубат, Елвин А., 84
Култивирање, клетка, види Клеточни лози,
Кумбсов тест, 390
Купферови клетки, 36
Кустнер, Х., 100, 374

Лајнер, Л., 235
Ламбда-верига, 87, 87т, види под Лесна верига (Л)
Ламивудин, за инфекција со ХИВ, 517, 518
Ламина проприја, 47
Лангерхансови клетки, 39, 39с
при одговор на преосетливост од одложен тип, 394
Лангерхансови островичиња, кај дијабетичарите, 409, 409с
Ландер, Ерик, 568
Ландштајнер, Карл, 6, 19, 77
ЛАТ, 281
Леишманијаза, 462
Лектин кој се врзува за маноза, 55, 56, 61, 62т
недостаток на, 186, 502
при комплементна активација, 175
при воспалителна одговор, 175
Лектин, маноза врзувачки, види Маноза врзувачки лектин
Лектини од типот Ц, при активирањето на клетките природни убијци, 362
Лектиновиден рецептор на клетка природен убиец, 362-364
Лектинска патека која се поврзува со манан, 169, 175
Лектинска патека, 169, 170с, 175, 176с
Лемаитар, Бруно, 62
Ленсшоу, Д.Ц., 438
Лепорипоксивирус, цитокинско попречување од страна на, 314
Лепроза, Т-помагачки клетки при, 318, 318с
Лесни (Л) вериги, 85, 85с
аминокиселински секвенци, 87–89, 89с
варијабилност на, 89–90, 91с
варијабилни подрачја на, 87–90, 88с–91с, 117–122 види исто
Варијабилни (В) подрачја,
видови на, 87, 87т
диплеење на, 87–89, 89с
К генски сегменти при, 115
кодирање на генски сегменти, 115–116с
преуредување на, 117–118, 117с, 119–122 види исто Имуноглобулински гени, преуредување на,
комбинаторско поврзување со тешки вериги, 127
константни подрачја на, 85, 85с, 87–89, 88с, 93, 115, 116с види исто
константни (К) подрачја
при врзување за противген, 91
склопување на, 133, 134с
сурогат, 273т, 274, 275с
κ (каpa), 87, 87t
локација во хромозомот, 115т
кодирање на генските сегменти, 115, 116с
λ (lambda), 87, 87t
локација во хромозомот, 115т
кодирање на генските сегменти, 115, 116с
Леукемија, 525, види исто Канцер,
акутна, 530-531
дијагноза со микронизи на, 568-569
возрасна Т-клетка, 509, 527, 530
имунофенотипизирање на, 163
интерферони за, 322-323
класификација на, 163
моноклонски противтела за, 542-543, 542с
пресадок за коскената срцевина за, 441-442
проточна цитометрија при, 163
Т-клеточни преуредувања како обележувачи за, 232-233
хромозомско преместување на, 529с
хронична, 530-531
Леукемичен инхибиторен фактор, 309с, 310, 344, 344с, Б-4
Леукотриени
анализа за, 80
како бронхоконстриктори, 380
Леукоцит(и), 23
активирање на, 332, 332с
атхезија на, 327-329, 340-342, 341с, 343
дефектна, 328, 343
екстравазација на, 38, 57, 58с, 59, 60с, 327-329, 329т, 331-334, 332с, 333с, 340-341, 340-342, 340с, 341с
клеточно-атхезивни молекули при, 327, 328-329, 329т, 332, 332с, 333, 333с, 334
моноцити кај, 333-334, 333с
неутрофили при, 332-333, 332с, 333с, 340-341, 341с
противоспалителни агенси и, 346-348, 347с, 348с
чекори при, 332, 332т
миграција на, 327-329, 343
проточна цитометрија на, 161-162, 161с
при леукемија, 163
создавање на, види Хематопоеза
тркалање на, 329т, 332, 332с
хемокини и, 329-332, 330т, 331с, види исто Хемокини,
Леукоцитоза, 38
Лиганд Flt-3, 321-323, 321т, 324с
Лигандот Ноч, при развојот на Т-клетките, 246
Лидерски (Л) пептид, 115
Лидерски (Л) пептид, 115
Лизоген, 458
Лизозим од кокошкина белка (ЛКБ), непоследователен епитоп кај, 82-83, 83с
толеранција и, 404-406
Лизозими, 9
Лизозоми, 37, 37с
Лимфатичен систем, 23, 40, 40с, 42
Лимофидни фоликули, 43, 44, 44с
Лимфа, 42, 44
циркулација на, 42, 43с
Лимфни садови, 43–44, 43с
активирање на Б-клетките при, 44
високоендотелни венули во, 334–335, 334с, 335с
при хронично воспаление, 346, 346т
лимфоцити при, 44, 45с
структура на, 44, 45с
за инфекција со ХИВ, 516т
Лимфобласти, 30, 31с
Лимфоидна клетка, 30–34
прогениторна, 24, 25с
Лимфоидни клеточни лози
клонирани, 549–550, 549т
првични, 547–549, 549т
Лимфоидни органи
високоендотелни венули во, 334–335, 334с, 335с
првични, 23, 40–42, 40с
вторични, 23, 40с, 42–49
Лимфоидни прогениторни клетки, 24, 25с
Лимфоидно ткиво
вторична, рециркулација на лимфоцитите во, 336–337
еволуција на, 48с, 49
поврзано со бронхиите, 46
поврзано со дебелото црево, 46–47
поврзано со кожата, 48–49
поврзано со мукоза, 43, 46, 47с
Лимфокини, 302
Лимфолиза, со посредство на клетка, 367, 368с
Лимфом, 525, 530. види исто Канцер
анализа со микронизи при, 568–569
Буркитов, 527, 529, 529с, 531, 531с, 535
дифузна голема Б-клетка, 568–569
интерферони за, 322–323
кај трансгени глувци, 530
моноклонски противтела за, 140–141, 141т, 542–543, 542с, 543с
Т-клеточни преуредувања како обележувачи за, 232–233
Лимфоцит(и), 6
внатреепидермален, 49
внатреепителен, 47
во лимфа, 44
во лимфните јазли, 44, 45с
дефиниција на, 12
екстравазација на, 334–338, 335с–337с
мали, 30, 31с
наивна, 30
Б-клетка, 18, 30, 271, 279, 336
Т-клетка, 30, 262, 262с
прикажување на ГТК генот со класи, 203–205
противгена специфичност за, 15с, 16

противгени рецептори на, види Противтела
Б, види Б-клетка,
рециркулација на, 334, 334с, 336
сопствено реактивни, види Сопствено реактивни лимфоцити,
Т, види Т-клетка
Лимфоцитен хориоменингит, кај жени, 416
Лимфоцитно домување (сообраќај), 336
Лимфочип, 568, 570
Липид(и)
имуногеност на, 79–80
при воспаление, 339, 339с
Липидни противгени, прикажување на, 217–218, 218с
Липидни редици, 255
Липополисахарид
отпор на, 63, 63с
при активирање на Б-клетките, 278
Липополисахариден рецептор,62, 62т, 63с
Листерија моноцитогена, избегнување на одбараната на домаќинот преку, 457
Лиценцирање, 353, 354с
Лофлер, Фридрих, 458
Л-селектин, 328, А–9
при екстравазација на белите клетки, 329т, 333
при екстравазација на лимфоцитите, 336, 337
ЛТБ4, 339, 339с
ЛТД4, 339, 339с
ЛТЕ4, 339, 339с
ЛТЦ4, 339, 339с
Лупус еритематозус, види Системски лупус еритематозус,
Луциферазна анализа, 562
ЛФА, 2,
ЛФА-1, 237т
при воспаление, 339, 339с
при недостаток на леукоцитна атхезија, 501,, 502т
при одговор на ефекторот, 352
при преосетливост, 378с, 379, 380, 380т
при убивањето со посредство на ЦТЛ, 356-357
противтела за
за воспаление, 347
за имуносупресија на пресадокот, 347
ЛФА-3, 103, 104с
Lycopersicon esculuentum, вроден имунитет на, 71, 71с
Lyn, при активирањето на Б-клетките, 280с, 281, 282с

М клетки, 47–48, 47с
Mβ, 203
Магаини, 59–61, 61т
МАГЕ-1/2, 537
МАдКАМ-1, 328ф, 329, 337
Мајмуни
ксено-пресадоци од, 435, 444
ретровируси при, 509
Мајстер, Џосеф, 3
Макрофаг(и), 65с, 66–68, 263–264, 263t. види исто Противген прикажувачки клетки (ППК)
активирање на Т-клетките, 263т, 264
активирање на, 36
алвеолна, 36
преку интерферон гама, 344–345, 345с
преосетливост од одложен тип, 395–396
при фагоцитоза, 9. 36–37, 37с, 58с, 59. види исто Фагоцитоза,
при воспаление, 340–341, 341с
прикажување на противгените преку, 209
противтуморна активност на, 538. види исто Тумор некрозен фактор алфа (ТНФ-алфа)
регрутирање на, 58с
создавање на цитокини од страна на, 306
создавање на, 25с
структура на, 36с
тенкоцревно, 36
Макрофаген воспалителен протеин 1бета, 333
Макрофаген инхибициски фактор, Б–4
Макрофаген колонии стимулирачки фактор, 3210150323, 321т, 324с, 344, Б–4
Маларија, 460–461, 460с
Мали лимфоцити, 30, 31с
Мали одредници за стимулирање на лимфоцит, 261
Мали ткивносвпадливи локуси
пресадување, 431
Малигна трансформација, 526–527, 526с
Малигнен меланом
КИР-ГТК гени, кај, 364–365
туморно поврзани трансплантациски противгени кај, 537
Малигни тумори, 525. види исто Канцер
МАЛТ (мукозно асоцирано лимфоидно ткиво), 43, 46, 47с
Малфа, 203
Марак, П., 224
Маргинална зона, од слезината, 45, 46с
Мастоцити, 38
обеззрнување на
при воспаление, 340
при преосетливост, 340, 373, 377–379, 388
структура на, 375, 375с
функција на, 375–376
Мас-1, 329т
МБЛектинска патека, 169, 175
Меѓуклеточна течност, 42
Меѓуклеточни клетки, 39, 39с
Меѓуклеточни макрофаги, 36
Медџитов, Руслан, 63
Меѓудејства Ван-дер-Валс, противген-противтело, 145, 146с
Мезангијални клетки, 36
МекДевит, Х., 206
Меланом
КИР-ГТК гени кај, 364–365
туморно поврзани трансплантациски противгени кај, 537
Мембрански атак комплекс (МАК)
дефекти кај, 186
при активирањето на клетките, 172с, 175–176, 176с
при разградувањето на клетките, 180–182
создавање на, 177с
Мембрански врзан имуноглобулин (мИг), 94
Мембрански инхибитор на реактивното разградување, 177т, 179–180, 183
Мембрански кофакторен протеин, 177т, 178с, 179
Мембрански протеини
имуноглобулинска дипла на, 105
кај вакцините, 487, 487с
Менингитис, имунизација за, 485
Мерозооити, кај маларија, 460, 460с
Метастази, 525, 526с. види исто Канцер
Метилопреднизолон
за воспаление, 347
за преосетливост, 388, 388т
Метод кандидат-ген, 384-385
Методот Манцини, 151–152, 152т
Метотрексат, при имуносупресија, 434
Мечников, Илија, 5, 6, 6с, 59
Мешана лимфоцитна реакција, 366–367, 367с
при одредување на ХЛА, 429с, 430
Миелински основен протеин (МРВ), при автоимунитет, 415, 418, 421–422
Миелоидни прогениторни клетки, 24, 25с
Миелом, 86
цитокини кај, 319
Миелома мултиплекс, види Миелома
Миеломски клетки, 86, 550с, 551
Миеломски протеин, 86
Мијастенија гравис, 403т, 409–410, 410с, 414
експериментален автоимунитет, 413, 413т
лекување на, 419–422
тимектомија за, 420
Микобактериски инфекции, види исто Туберкулоза
дефект кај рецепторот за интерферонот-гама, 495т, 498
имун одговор на, 458–460, 459с
прикажување на противген кај, 218
Микози, види Габични инфекции
Микоплазма артритидс супернатант, 261т
Микофенолат мофетил, при имуносупресија, 434
Микроглијални клетки, 36
микронизи за кДНК,567-570, 570с
Микроскопија
двофотонска, 570–571
имуноелектронска, 164, 164с
конфокусна, 570–571
флуоресцентна, 160–161, 161с, 570–571
Милотарг (гентузумаб), 141т
Милштајн, Цезар, 87, 105–106, 126–127, 136
Мимикрија, вирусна
на цитокинските рецептори, 314, 314т
при автоимунитет, 417–418, 418т
Миокарден инфаркт, 403т
Митогени, при активирање на Б-клетките, 278
Митчисон, Аврион, 426
МИЦ гени, 202
МИЦ-А/Б, клетки природни убијци и, 362–363
МКАМ, 103, 104с, 328с, 329, 329т. Види исто Клеточно-атхезиски молекули (КАМ),
МКАМ-1, 328с, 329, 329т, А-8
во имуноглобулинска суперфамилија, 103, 104с, 328с, 329
при екстравазација на белите клетки, 333, 333с
при екстравазација на лимфоцитите, 337
при убивање со посредство на ЦТЛ, 356-357, 357с
противтело за,
при воспаление, 347
при имуносупресија на пресадок,437
Т-клеточен рецептор и, 237т
Млеко од градите, ИгА кај, 100
Многупотентни зародишни клетки, 32, 33с
Модел два гени еден полипептид, на имуноглобулинскиот ген, 113-114, 115
Модел за диференциско сигнализирање, при изборот во тимусот, 252-253
Модел за избор на одредници, 206
Модел за соматска мутација, 127
Модел на автоимун артрит, 412т, 413
Модел на зародишната линија, на имуноглобулинскиот ген, 113, 123

Модел на соматска варијација, на имуноглобулинскиот ген, 113-123
Модел на спротивни сигнали, 362–363, 363с
Модел со два рецептори, на клетки природни убијци, 362
Модел со двоен рецептор, на Т-клеточен рецептор,
Моделот со два гени на Дрејер-Бенет, 113-114
Молекулска мимикрија
за цитокинските рецептори, 314, 314т
кај автоимунитетот, 417–418, 418т
Молекулски придружници (чаперони), 212–213
при склопување на ГТК од класа 1, 212–214, 212с
Монокини, 302
Моноклонски противтела, 105–107, 136
абзими како, 106
генски модифицирани, 106
клиничка примена на, 106, 140–141, 141т
кај ревматски артрит, 139
при автоимуна болест, 420–421, 421т
при имуносупресијата на пресадок, 437
при канцер, 140–141, 141т, 542–543, 542т
при пароксимална ноќна хемоглобинурија, 183
подготовка на, 105–106
противцитокински, 319, 320–321
против-ИгЕ, за преосетливост, 387
серумска болест поради, 393
создавање на
кај нокаут (knockout) глувците, 137, 138с
технологија за прикажување на фаги кај, 137–139, 139с
Моноцити
екстравазација на, 332с, 333–334, 333с. види исто Леукоцит(и), екстравазација на
кај преосетливост од одложен тип, 395
создавање на, 25с
структура на, 36с
Морисон, Л.А., 209
Морски млаз, вроден имунитет на, 71, 71с
Мотиф WSXWS, кај интерлеукинските рецептори, 308, 309, 311
Муелер Д., 406
Мукозни мембрани, 53–54, 54с
Мукозно асоцирано лимфоидно ткиво (МАЛТ), 43, 46, 47с
Мултипла склероза, 403т
генски фактори кај, 205
главен ткивносовпадлив комплекс кај, 205
животински модел на, 412т, 413
кај жени, 416–417
како автоимуна болест, 411, 414
лекување на, 419–422
интерферон-бета, 322–323
противвоспалителности кај, 347
Мурej, Џ., 19, 425, 434
Муромонаб-КД, 141т
Мутации
кај канцерот, 526, 529. види Онкогени
кај имуноглобулинските гени, 293–295, 295с
соматски, види модел на Соматска хипермутација, 127
Муцини, 328, 328с. види исто Клеточно-атхезиски молекули (КАМ)
при хронично воспаление, 346
myc, кај канцерот, 528, 529, 531, 531с
Mycobacterium avium, избегнување на одбраната на домаќинот преку, 457
Mycobacterium tuberculosis, 458–460. види исто туберкулоза
отпорност на лекови кај, 469–470

NADPH фагосомна оксидаза (фокс), 65
Накачи Х, 28–29
Наследен ангиоедем, 186
Наследен ретинобластом, 528
Натриум деодицил сулфат полиакриламиден гел (НДС-ПАГЕ), 158
НДС-полиакриламиден гел (НДС-ПАГЕ), 158, 159с
Неактивни (убиени) вакцини, 482т, 484, види исто Вакцини/вакцинирање,
Невирапин
за инфекција со ХИВ, 517т, 518
за ХИВ, при бременост, 507
Невраминидаза, кај вирусот инфлуенца, 451–452, 451с
Негојни дијабетични глувци, автоимунитет кај, 412–413, 412т
Недостаток на леукоцитна атхезија, 328, 343, 494с, 495т, 501-502, 502т
Незелоф синдром. 500
Neissria gonorrhoae
избегнување на одбраната на домаќинот преку, 455, 457с
отпор на комплементот за, 181, 181с
Неискусни Б-клетки, 18, 30, 271, 279, 289, 290т
особини на, 297т
рециркулација на, 336
Неискусни Т-клетки, 30, 262
активација на, 262, 262с
дефиниција на, 262
наспроти ефекторни Т-клетки, 352т
рециркулација на, 336–337
Неконтинуирани епитопи, 82–83, 82с
Некроза наспроти апоптоза, 26, 27с
Некротизирачки грануломи, кај синдромот на голи лимфоцити, 213, 213с
Нелфинавир, за инфекција со ХИВ, 517т, 518
Немазии, Д.А., 277, 278, 288–289, 404
Неменлива верига, 214-215, 215с
Неонатална инфекција со ХИВ, превенција на, 507
Неонатални Фк рецептори, 102
Неоплазма, 525 види исто Канцер, тумор(и)
Неплодност, автоимуна, 403т
Нерамнотежно поврзување, 200–201, 205
Не-регулирање на имунитетот, полиендокринопатија, ентеропатија, Икс врзан синдром (ИПЕИКС), 407
Нестероидни противвоспалителни лекови, 347–348, 348с
неу, кај канцерот, 527, 528т, 530
Неутропенија, 501
Неутрофил(и), 37–38, 38с, 65–66, 65с
екстравазација на 38, 57, 58с, 59, 60, 60с, 332–334, 332с, 333с. види исто леукоцит(и), екстравазација на
недостаток на, 501
преосетливост од одложен тип, 395
при фагоцитоза, 65–66, 65с види исто Фагоцитоза
при одговор во доцна фаза, 383
при воспаление, 340
создавање на, 25с
тркалање на, 60, 60с
Неутрофилно хемотактичен фактор, за преосетливост, 379, 380
Не-Хочкинов лимфом, 530. види исто Лимфом, моноклонски противтела за, 140–141, 141т
Нецелосни противтела, 153
Нецелосниот адјуванс на Фројнд, 81
НКГ2 рецептори, 362
Нови болести, види Инфекциски болести, појава/повторна појава,
Новозеландски црни/бели глувци, автоимунитет кај, 412, 412т
Новороденче, види по Неонатално
Новороденчиња, види Деца, неонатални
вирусни, 448-454, види исто Вирусни инфекции,
габични, 7, 465-467, 466т
преосетливост од одложен тип, 393-396, 393т
смртност од, 448с
имун комплекси при, 393
имун одговор на, 447-472
инфекциски болести, 455-460, види исто Бактериски инфекции
нови/повторно се појавуваат, 448, 467-471, 467с
паразитски, 460-465
патогени одбрани при, 447
патогени при, 7, 7т
видови на, 7т
влезни механизми на домаќинот, 9
кај вакцини, 2-3
при биотероризам, 468-469
болест на Легионерите, 470
дифтерија, 470
инфекција со вирусот Ебола, 470
инфекција со вирусот на Западен Нил (West Nile), 448, 470
несоодветна имунизација и, 479-480
САРС, 470-471, 471с
смртност од, 448с
туберкулоза, 469-470
поврзана со ХИВ, 512-515, 513т
при биотероризам, 468-469
протозоални, 460-462
смртност од, 447-448, 448с
чувствителност на, при недостаток на ТАП, 213
НОД протеини, 61–62, 62т
Нордерново дамкосување, 558с, 559
Нормална флора, 53, 447
Носители, хаптен, 77мс
Носителски ефект, 291
Нуклеарен фактор капа Б, при активирање на Т-клетките, 257с, 258
Нуклеотиди во подрачје Н, 120
Нуклеотиди од регионот П, 120
Нуклеотиди
додавање на Н, 125, 125с, 234–235, 234с
додавање на П, 125, 125с, 234, 234с
подрачје Н, 120
подрачје П, 120
при анализата на олигонуклеотидите, 567–568
НФ-ИЛ6, 344, 344с
NFκB, 69, 70с

Оалфа, 203
Обеззрнување (дегранулација),
при воспаление, 340
при преосетливоста, 340, 373, 377-379, 377с, 378с
инхибитори на, 388
Овен, Реи, 439
Овошни муви, вроден имунитет кај, 71, 71с

Одземачка (субатрактивна) хибридизација, 225-226, 225с
одземачка хибридизација на ДНК, 225-226, 225с
Оетингер, Марјори, 119
Означување, противтело, 164, 164с, 551
Омализумаб, за преосетливост, 387
Онкогени, 527–530
вирусни наспроти клеточни, 527
како туморски противгени, 537
протоонкогени и, 527, 528с, 529–531, 531с
функции на, 527–529
Онкогенот *рас*, 528т, 530
Онкостатин М, 309с, 310, Б–4
Опекотини, кожни пресадоци за, 440с, 443
Опортунистички инфекции, види Инфекциски болести,
при инфекција со ХИВ, 512–515, 513т
Опсонизација, 37, 94–95, 169, 169с, 184, 184с
комплемент кај, 180т
Опсонин, 37
Оригинално противгенско оштетување, 290
Ортоклон ОКТ3 (морумонаб-КД), 141т
Ослабени патогени, кај вакцините, 2-3
Остеокласти, 36
Остеопетросис, интерферон-гама за, 323
Откажување на имуните функции, 18-20
Отров од даб, 396, 397с
Отфрлање на пресадок, 426-434
акутно, 434
алореактивност кај, 241-242, 242т, 431
временски тек на, 426, 427с, 433-434, 433с
главен ткивносовпадлив комплекс кај, 428, 431
ефекторна фаза на, 431-432, 433с
имунолошко памтење на, 426
клинички манифестации кај, 433-434
мали ткивносовпадливи локуси кај, 431
преосетливост од одложен тип, 431-434
сензитизациска фаза на, 431
со ксенопресадоци, 435
специфичност на, 426
спречување на, 434-438. Види исто Имуносупресивна терапија,
стеблести клетки кај, 427
Т-клетки и, 426-427, 428с
алореактивност на, 241-242, 242т, 431
размножување на, 431
хиперакутно, 4331-434, 433с
хронично, 434
цитоксичност со споредство на ЦТЛ, 431-433
Охтерлониев метод, 151–152, 152т
Oct-2, 26

p53, кај канцер, 528, 528т
p56, при активирањето на Т-клетките, 255, 256с
Пализумаб, 141т
Памтење, имунолошко, 1, 10, 12, 17, 18, 18с
при имунизација, 481
при отфрлање на пресадок, 426
Памтечки Б-клетки, 13, 17, 17с, 18, 18с, 30, 31с, 34т, 94, 290т
активирање на, 290
клонска селекција на, 17, 17с, 18, 18с
при имунизација, 290
оригиналално противгенско оштетување ,290
особини на, 297т
создавање на, 289–290, 296–297 види исто Б-клетка, диференцирање на
Памтечки Т-клетки, 262
при екстравазација на лимфоцитите, 337–338
Панкреаси островски клетки, пресадување на, 440с, 442–443. види исто Пресадување
Паразитски инфекции, 462-465, 465с
Паразитски инфекциии, 460–465
имун одговор на, 460–465
леишманијаза, 462
маларија, 460–461, 460с
паразитска структура и, 8с
преосетливост од одложен тип кај, 393–396, 393т
протозоална, 460–462
смртност од, 448с
трипанозомијаза, 462, 463с
хелминитисни, 462–465, 465с
Пароксималната ноќна хемоглобинурија, 183
Пасивен имунитет, 5, 95, 98
стекнување на, 477–478, 477т, 478т
Пасивна аглутинација, 154
Пастер, Луи, 2–3, 3с, 468, 475
Патници, имунизација за, 479
Патоген асоцирани молекулски модели (ПАМО), 55
Патоген(и)
видови на, 7т
дефинирање на, 7
механизми за влез во домаќинот, 9
ослабени видови на, кај вакцините, 2–3
Патогенеза, дефинирање на, 7
Pax-5, 274с, 275
ПВР (полимеразно верижна реакција), 559–560, 560с
Пејерови плочки, 42, 43, 47, 47с
ПЕКАМ-1, 329, А–4
при екстравазација на белите клетки, 332, 334
при екстравазација на лимфоцитите, 336
Пентадекакатекол, кај отровот од даб, 396, 397с
Пентраксини, 61
Пеперуткаст исип, 410, 411с
Пептид(и), види исто Протеин(и)
ГТК врзување на
молекули од класа 1/гени кај, 197–198, 197т, 198с
молекули од класа 2/гени кај, 197, 197т, 198–199, 215–216
кај комплексите ТКР-пептид-ГТК, 238–241
лидер (Л), 115
непроменливи вериги поврзани со класа 2, 215
пренесување на
во цитозолната патека, 211–212, 212с
во ендоцитната патека, 214–215, 216с
ТАП кај, 205
при моделот два гени еден пептид, 113–114, 115
при селекција во тимусот, 252, 253с
противгенски, 16, 16с
противмикробски, 59–61
сигнал, 115
синтетски, кај вакцините, 485–486
создавање на
во ендоцитната патека, 214, 214с, 216с
во цитозолината патека, 210с, 211, 216с
таложење на
во ендоцитната патека, 215–217, 215с, 216с
во цитозолната патека, 212–214, 212с, 216с
фибринопептиди, 338
Пептидни фрагменти, во комплементниот систем, 169, 182–184
Периартериоларна лимфоидна обвивка (ПАЛО), 45, 46с
Периферна толеранција, 401, 402с, 404–406
Перниционзна анемија, 403т, 408
Пертусис, имунизација за, 4т, 478, 479, 479т
Перфорини, 353, 357–359, 358с, 360с
Пили, 54, 55с
Пимонкевич, Р.П., 208
Плазма, 42, 84
Плазма-клетки, 12с, 13, 30, 31с ,34, 86
создавање на имуноглобулин кај, 133, 134с
создавање на, 296–297. види исто Диференцирање на,
Плазмафереза, 391
за авотимуна болест, 420
Плазмацитоидни клетки, 39, 39с
Плазмацитом, 86–87
Плазмидни вектори, при клонирање на ДНК, 556–558, 557с, 558т
Плазмин, 338
Пласмодиум спп.
животен циклус на, 460–461, 461с
имун одговор на, 460–461
Пневмококна вакцина, 478, 479т, 485
Пневмонија
поврзана со ХИВ, 513–514
пневмококна, имунизација за, 478, 479т, 485
Повеќевалентни поединици на вакцините, 486–487, 487с
Повеќепотентни зародшни клетки, 32
Поврзано препознавање, 291, 292с
Поврзување В-(Д)-Ј, различие на противтелата и, 123, 124т
Поврзување
алтернативно
противтелно различие и, 234с
различие на Т-клеточниот рецептор и, 233-234, 234с
комбинаторно
противтелно различие и, 123, 124с, 124т
различие на Т-клеточниот рецептор и, 233-234, 234ф
Поврзувачка (Ј) верига, види Поврзувачка (Ј) верига
Површинска плазмонска резонанца (ППР), 149-150, 150с
Повторувања богати со леуцин, 63
Поединици на вакцините, 482т, 484-487 види Вакцини/вакцинирање
повеќеединечна, 482т, 486-487, 487с
Пол, В.Е., 384
Поли-А места, од генскиот сегмент К, 132, 132с
Поликлонски противтела, 105, 105с
Полимеразно верижна реакција (ПВР), 559–560, 560с
Полинг, Линус, 6
Полио
имунизација за, 3, 4т, 475, 478, 479, 479т, 481, 481с, 482–483, 483с
со вакцината Сабин, 482–483, 483с
со вакцината на Салк, 483, 484
отстранување на, 483, 483с
Полисахаридни вакцини, 485
конјугат, 482т, 486–487
Полови разлики, при автоимуна болест, 415, 416-417
Портиер, Пол, 18, 371, 381
Посредници на плазма-ензимите, воспалителни, 338, 338с

Постстрептококен гломерулонефрит, 403т
Поттиклива синтетаза за азот-оксид (иНОС), 67
Поттикливо генско целење, 565-566, 566с
Поттикнувачи, 133-134, 135с
Потфамилија на интерлеукин 2 рецептори, 309с, 310-311
Потфамилија на рецепторот на интерлеукин 6, 309с, 310
Праусниц, К., 100, 374
Првичен имун одговор, 10т, 17, 262, 289–290, 290т
Првична структура на протеинот, 79с, 87
Првични имунонедостатоци, 493-504 види исто Имунонедостаток,
Првични лимфоидни клеточни лози, 547-549, 549т
Првични лимфоидни фоликули, 43, 44
Превклучување класи, 128-129, 129с, 130с, 271
  активациски поттикната цитидин деаминаза во, 128-129
  во афинитетно зреење, 294с, 296
  интерлеукин 4 и, 315
  кај првичен имун одговор, 289, 290, 290т
  КД40/КД40Л кај, 296
  при Б-клеточна диференцијација, 296, 296с
Превклучувачки подрачја, 128
Пред-Б-клетка, 272–279, 273с, 274с
Пред-Б-клеточен рецептор (пред-БКР), 274–275, 275с
Преднизолон, 347
Преднизон
  за преосетливост, 388, 388т
  при воспаление, 347
  при имуносупресија на пресадок, 436
Пред-Т-клеточен рецептор (пред-ТКР), 246–247, 247с
Преeклампсија, КИР-ГТК гени кај, 364–365
прекројување на РНК, на првичните препишувања на тешката верига, 130-133
Пренесување на сигналот, 10, 11с, 69-71
  вторичните пренесувачи на, 10, 11с
  Г-протеини при, 333, 333с, 340
  кај туморите, 538, 539т
  КД3 кај, 235
  клетки природни убијци при, 10, 11с
  поттикнување на, 10
  преглед на, 10, 11с
  при активирање на Б-клетките, 279-284, 280с, 282с, 286-287
  при активирање на Т-клетки, 254-259, 255т
    костимулаторни сигнали кај, 259, 259с, 263-264
  при активирање на хемокините, 331
  при апоптоза,264
  при вкрстено регулирање на Т-помагачки клетки, 316-317
  при воспаление, 342-344, 344с
  при вроден имунитет,69-71, 70с
  при екстравазација на белите клетки,
  при ефекторен одговор, 352-353
  при канцер, 528т, 538, 539-540, 539с
  при пренесување на пептидите, 214-215, 215с
  при преуредување на имунолглобулинските гени, 119, 119с
  при развој на Т-помагачките клетки, 316-317
  при рекомбинација на В(Д)Ј, 119
  при тимусна селекција, 252
  при толеранција, 406
  протеини кај, 10, 11с
  рекомбинациски сигнални секвенци кај, 119, 119с
  Т-клеточен рецептор кај, 264-248, 247с
  цитокински рецептори кај, 310-311, 312-314, 312с, 313с, 313т
  чекори при, 70с
Пренесување, при канцер, 529-530, 529с, 531, 531с
Преосетливост од задоцнет тип, *види* Преосетливост од задоцнет тип,
Препишување,
  имуноглобулин и, 134-135, 135с
    поттикнувачи на, 133-134, 135с
    регулирање на, 133-136, 134с, 135с
  на ГТК гени, 204
  на имуноглобулински гени, 130-136, 131с, 132с
    засилувачи на, 134-135, 135с
    мембрански врзан имуноглобулин наспроти излачен Препишувачки фактори, види исто Пренесување на сигналот,
  ПАП (STAT), 313-314, 313т
  при активирање на Т-клетките, 254-258, 255т, 262
  при вкрстено регулирање на Т-помагачките клетки, 317-318
  при воспаление, 342-344, 344с
  при зреење на Б-клетките, 274с, 275
  при регулирање на ГТК, 204-205
  при сигнализирање на цитокините, 313
  при хематопоеза, 24-26
Препознавање облици, 9, 61–65
Препознавање свое-туѓо, 12
  клонска слекеција и, 17
  Т-клеточна алореактивност и, 241-242, 242с, 431
Presадок, види исто presадување на ало-трансплanti,
  автопресадоци, 426
  ало-presадоци, 33, 426-440
    отфрлање на, 426-434. Види исто Отфрлање на presадок,
    прифаќање на, 427с, 428
    ткивна совпадливост на, 428
    Т-клетки и, 241-242
    толеранција на, 439-440
  изопресадок, 426
  ксенопресадоци, 426
    потенцијална употреба на, 435, 443-444
Presадоци на кожа,53-54, 54с
Presадување (трансплатација), 425-444
  автологна, 33
  алогенична, види алопресадоци, 33, 426-440
  бел дроб, 440с, 442
  бубрег, 440с, 441
  дефинирање на, 425
  зародишна клетка,32-33
  имуносупресивна терапија при, види исто Имуносупресивна терапија, 434-438
  историја на, 425
  клинички аспекти на, 440-444, 440с
  крв од папочната врвка, 33, 443
  коскена срцевина, 440с, 441-442
    за имунонедостатоци, 503
    предлекување на, 437
  ксенопресадоци кај, 426, 435, 443-444
  неврална клетка, 443
  отфрлање на presадок, 19, 33, 367-368, 441-442, види исто Отфрлање на presадок, болест presадок-наспроти-домаќин,
  панкреас, 440с, 442-443, 443с
  преглед на, 425-426
  привилигирани места кај, 439
  рожница, 440с
  сингенична, 33
  срце, 435, 440с, 442
  тимус, при синдромот ДиЏорџ, 500
  типизирање крв при, 428
  ткивносовпадливост, 428
  толеранција на, 439-440
  ХЛА спарување при, 428-429
  црн дроб, 440с, 442
Presадување на бели дробови, 440с, 442. види исто Presадување,
Presадување на белите дробови, 440с, 442
Presадување на бубрези, 425, 440с, 441, види исто Presадување,
  историја на 425
  ксенопресадоци, 435
  ХЛА совпадливост при, 430, 430с
Presадување на коскената срцевина 33, 440с, 441-442. *Види исто* Presадување,
  за имунонедостатоци, 503
  предлекување кај, 437
Presадување на рожница, 440с
Presадување на срце, 440с, 442. Види исто Presадување на ксенопресадоци кај, 435
Presадување на срце,440с, 442. *види исто* Presадување ксено-presадоци кај, 435
Presадување нервни клетки, 443. види исто Presадување
Претходници на цитотоксичните Т-лимфоцити, активирање на, 353-354, 354с
Преципитини, 151
Привилегирани области, presадување, 439
  прокаспаза 8, при апоптоза, 264
Придружници (чаперони), 212-213
  кај групата на ГТК од класа 1, 212-214, 212с
Прикажување гени, анализа со микронизи кај, 567-570, 570с
Прифаќање на presадок, 427с, 428
Провируси, 508
Прогениторна Б-клетка (про-Б-клетка), 272
Прогениторни клетки
  лимфоидни, 24, 25с
  миелоидни, 24, 25с
Програмирана клеточна смрт, 26 види Апоптоза
Прозонски ефект, 153
Пролактин, при автоимуна болест, 417
Променливост, дефинирање на, 89
Пропердин
  недостаток на, 186, 496с, 502
  при комплементна активација, 173, 174с, 175
Простагландини
  при преосетливост, 378с, 379, 380, 380т
  при воспаление, 339, 339с
Протеази, при преосетливост, 379, 380т
Протеазни инхибитори, за инфекција со ХИВ, 517т, 518
Протеин А, 162
Протеин А/Г, 162-164
Протеин Г, 162
Протеин С, 177т
Протеин(и), види исто Пептид(и)
  акутна фаза, 168

диплење на, 87-90, 88с-90с
дефектен, 210с, 211
мембрана
имуноглобулинска дипла на, 105
кај вакцините, 487, 487с
период на полураспаѓање на, 210
радиообележување на, 551, 552с
структура на
имуногеност и, 79с
нивоа на, 79с, 87, 88с
рендгенска кристалографија на, 553-555, 555с
Протеинска биохемија,551-555
Протеинска киназа, при сигнализирање, 10
кај цитокинскиот рецептор, 312-313
при активирање на Б-клетките, 280с, 281, 282с, 284
при активирање на Т-клетките, 257с, 258
Протеински фосфатази, при сигнализирање. 10
Протеинско разградување, во цитозолната патека, 210-214, 210с
Протеозоми, при прикажување на противген, 210с, 211
Против -КД4 моноклонско пртивтело, за автоимуна болест, 420
Против -Рх противтела, за еритробластозис феталис, 390
Против -ТАЦ противтело, 312
Противвирусни агенси, за инфекција со ХИВ, 515-518, 517т
Противвоспалителни агенси, 346-348, 347с, 348с
за автоимуна болест, 420-421
Противген 1 од зародишната клетка (Сца-1), 28
противген Н-Y, тимоцитно прикажување на, 251
Противген прикажувачки клетки (ППК), 207-209. *Види исто* Б-клетки, стеблести клетки, макрофаги,
Б7 и, 259, 259с, 263-264
видови на, 209, 209т
вкрстено прикажување на, 217, 217с
гама-делта Т-клетки како, 223
ГТК молекули од класа 2 и, 13с, 14, 35, 207-209
дефиниција на, 209
клеточно-атхезиви молекули и, 238, 239с
костимулаторни својства на, 263-264
лиценцирање на, 353, 354с
непрофесионални, 209, 209т
при активирање на Т-клетките, 13с, 14, 68-69, 259-260, 259с, 260с, 263-264, 263т
при лекување на канцер, 540
при отфрлање на пресадокот, 431
професионални, 209, 209т, 263-264, 263т. *Види исто* Б-клетки, стеблести клетки, макрофаги,
рано проучување на, 207-209
Противген противтелно меѓудејство, 145-164
авидитет за, 148-149
алтернативи за, 162-164
афинитет за, 145-150, 148, 148с. *Види исто* Противтелен афинитет,
Вестерново дамкосување.158
вкрстена реактивност кај, 77, 149. *Види исто* Вкрстена реактивност,
во имуноталожење, 158-159
во имунофлуоресценција, 160-161
во проточна цитометрија, 161-162
во флуоресцентно боење, 160-162
дефиниција на, 145
епитопи кај, 81-84
комплементарно определувачки подрачја кај, 85, 90-93, 91с, 92с
контактни подрачја кај, 91-92, 91с, 92с
нековалентни меѓудејства кај, 145, 146с
површна плазмонска резонанца и, 149-150, 150с, 151с
преглед на, 145
при ЕЛИСА, 155-158
при комплементна активација, 170-173, 172с
при радиоимуноанализи, 154-155
при слепувачки реакции, 153-154, 153с
при таложни реакции, 151-153
сила на, 145-149
стапка на, 149-150, 150с
формирање на решетки кај, 151
Противген(и)
АБО крвни групи, *види* исто АБО крвно групни противгени
асоцијативно (поврзано) препознавање на, 291, 292с
вкрстено врзување на, 99, 100с
дефинирање на, 77
додатоци (адјуванси) за, 81
егзогени
вкрстено поврзување со, 217, 217с
прикажување на, 209, 210с, 214-217, 214с-216с
ендогено прикажување на, 209-212, 210с-212с, 216с
епитопи на, *види* Епитоп(и)
имуноген наспрема толерогеничен, 403, 404т
КД, А-1-А-26, види исто под КД.
М, 149
непептид
прикажување на, 217-218, 218с, 226
Т-клеточно препознавање на, 217-218, 218с, 226
радиообележен, 155
рани проучувања на, 6
Рх, при еритробластотис феталис, 389-391
тимусно зависен, 278, 279, 279т
ткивна совпадливост (хистокомпатабилност), 241
топлотно стабилен, 275
тумор, 531-538. *Види исто* Туморски противгени
Противгена варијација
при бактериски инфекции, 455
при вирусни инфекции, 451
Противгена модулација, 538
Противгена обработка, 189, 207-218, 208-209, 208с
во ендоцитната патека, 210с, 214-217, 214с-216с
во цитзололната патека, 209-214, 210с-212с, 216с
на егзогените противгени, 209, 210с, 214-217, 214с-216с
на ендогените противгени, 209-212, 210с-212с, 216с
Противгена секвестрација,
при автоимунитетот, 415
при толеранција, 407
Противгена специфичност, 10-12, 10т, 15т, 16
клонска селекција и, 16-17, 17т
Противгени М, 149
Противгени од крвната група АВО
вкрстена реактивност кај, 149, 149т
одредување типот на, хемаглутинација кај, 153-154, 153с
особини на, 389с
при еритробластотис феталис, 391
при реакциите на трансфузија, 388-389
противтела за, 389
Противгени одредници, *види исто* Епитоп(и), структурно, 82-83, 83с
Противгени пептиди, 16, 16с. *Види исто* Пептид(и)
Противгено поместување,
во варијантни површински гликопротеини, 462, 463с
во вирусот на инфлуенца, 452, 453, 453с
Противгено преместување, кај вирусот на инфлуенца, 452, 453, 453с
Противгено препознавање
од Б-клетките, 81-84, 82т
од Т-клетките, 81, 82т
Противгено прикажување, 35, 189, 207-218
ТАР кај, 211-212, 211с
вкрстено прикажување кај, 217, 217с
ГТК алели и, 205-206
неменлива верига кај, 214-215, 215с
од ГТК противгени од класа 2, 13с, 14, 35, 209
од КД1, 217-218, 218с
од макрофагите, 209
од непептидни противгени, 217-218, 218с, 226
пептиден транспорт во
во ендоцитната патека, 214-215, 215с
во цитозолната патека, 211-212, 212т
преглед на, 209, 210
придружници (чаперони) кај, 212-214
протеазоми кај, 210с, 211
противген прикажувачки клетки, 209. *Види исто* Противген прикажувачки клетки (ППК),
со ГТК противгени од класа 1, 13с, 14, 35, 209
со стеблести клетки, 209
создавање пептиди кај
во ендоцитната патека, 214, 214с
во цитозолната патека, 210с, 211
целни клетки кај, 209
Противгеност
наспроти имуногенеост, 77-81
одредување на, 77
Против-ИгЕ противтело, за преосетливост, 387
Противизотипски противтела, при имуносупресија на пресадок, 101
Против-ИФН-гама противтело, при имуносупресија на пресадок, 437
Противканцерски агенси, види исто Канцерски имунонедостаток поради, 504-505
Против-КД20 противтело, за лимфом140-141, 141т
Против-КД25 противтело, 312, 321т
во пресадочна имуносупресија, 437
за авотимуна болест, 421
Против-КД4 противтело, при пресадочна имуносупресија, 437
Против-КД40Л противтело, во пресадочна имуносупресија, 438
Противлипидни противтела, 79-80
Против-ЛФА-1 противтело, при имуносупресија на пресадок, 437
Противмикробски пептиди, 59-61
Против-МКАМ-1 противтело, при имуносупресија на пресадок, 437

Противонкогени, 528, 528т
Противтела, 76. *Види исто* имуноглобулин(и)
аминокиселински секвенци во, 85, 86
променливост кај, 123-125, 124т
биолошка активност на, 95-100
биспецифични, 136-137, 137с
блокирачки, 386
варијабилни подрачја на, 87-89, 88с. *Види* Варијабилно (В) подрачје,
во серумот, 84-85
дефиниција на, 4, 76
ефекторни функции на, 76, 95-96
кај бактериските инфекции, 455-457, 465с, 457т
кај канцер, 538
како хетеродимери, 85, 85с
каталитички, 106
класи на, 87, 87т, 95-100
клонотипски, при изолирање на Т-клеточен рецептор, 224
комплементно определени подрачја на, 85, 90-93, 91с, 92с
константни подрачја, види Константно (К) подрачје
концентарција на, одредување на, 150
лесни вериги на, *види* Лесни (Л) вериги,
моноклонски, *види* Моноклонски противтела,
наспрема имуноглобулини, 4
нецелосни, 153
означување на164, 164с, 551,
откривање на, 4-5
повратна инхибиција со, 297-298
поликлонскии, 105, 105с
пренесување на, 133
при комплементна активација, 95
при неутарализација на вирусите, 449-450, 451
при опсонизација, 37, 94-95
противвоспалителен, 347
противизотип, 101
противлипид, 79-80
противтумор, 538
специфични за хаптен, 78
специфичност за, 6, 10-12
структура на, 84-89
теорија за странични вериги, 6, 7с
тешки вериги на, види Тешки (Т) вериги,
флуоресцентно боење со, 160-161, 161с
хетерогеност на, 86
химерни, 136, 137с
човечкизирани (хуманизирани), 136, 137
Противтелно зависна клеточна цитоксичност (ПЗКЦ), 35, 95, 98, 366, 366с
при отфрлање на пресадок, 431-433, 432с
Противтелно зависна цитотоксична преосетливост, 388-391. *Види исто* Реакции на преосетливост
Противтелно зависни ефекторни функции, 76, 94-95
Противтелно лекување, види исто Моноклонски противтела за воспаление, 346-347
Противтелно различие (разновидност), 12, 123-127, 233-234, 234с
додавање на Н, 125, 125с
додавање на П, 125, 125с
комбинаторско поврзување на В-(Д)-Ј и, 123, 124с
комбинаторско поврзување на тешките и лесните вериги, 127
механизми за, 233-234, 234с
повеќе генски сегменти од зародишната линија и, 123, 124с
разлики меѓу видовите кај, 127
соматска хипермутација и, 125, 125с
флексибилност при поврзување и, 14с, 121, 121с, 123
Противтимоцитен глобулин, при имуносупресија на пресадок, 437
Против-ТНФ-алфа противтело, 319, 320
за авотимуна болест, 420-421
за септичен шок, 319
Противтуберколозни агенси, 459
Противтуморски противтела, 538
Противхистамини, за преосетливост, 388, 388т
Противцитокински противтела, 319, 320-321
во пресадочна имуносупресија, 437
Протозоални инфекции,460, 462
Протоонкогени. претворање во онкогени, 527-530, 528с, 529-530 види исто Онкогени
претворање во, 529-530
транслокација на, 529-530, 529с, 531, 531с
Проточна цитометрија, 161-162, 162с
при леукемија, 163
Профили на генско прикажување, 568
ПСГЛ-1, 328
Псевдогени, 115
имуноглобулин, 115, 123
Т-клеточен рецептор, 229
Псевдомонас спп., структура на, 8с
Псевдоподија, 37, 37с
П-селектин, 328, 329т, 340
при екстравазација на белите клетки, 333, 333с, 334
Псоријазин, 53, 55
Псоријатичен артрит, КИР-ГТК гени кај, 364-365
Птичји вирус Х5Н1, 454
Птичји леукозен вирус, 530
ПУ.1, 26т

Работни подрачја, 90
равенката/пресметката на Скачард, 147-148, 148с
РАГ-1/РАГ-2, 119
при Б-клеточен развој, 273, 278
при Т-клеточен развој, 249
при преурдување на генот од Т-клеточниот рецептор,231
Радијална имунодифузија, 151-152, 152т
Радијација, целосно лимфоидна, 436
Радиоалергосорбентен тест (РАСТ), за преосетливост, 386, 387с
Радиоимуноанализа (РИА), 154-155, 156с
Радиоимуносорбентен тест (РИСТ), за преосетливост, 386, 387с
Радиоозначување, 164, 164с, 551
Рактена електрофореза, 152-153, 152т
Рактивни кислородни соединенија, 65-66, 68с, 340
Рамнотежна дијализа, 147-148, 147с, 148с
Рамон, Гастон, 458
Ран Б-клеточен рецептор, 274с, 275
Рапамицин, при имуносупресија на пресадок, 436
Расечување, ДНК, 555-556, 556т
РАСТ (радиоалергосорбентен тест), за преосетливост, 386, 387с
Растенија, вроден имунитет кај, 71, 71с, 72т
Rb, 528, 528т
Реактивни азотни соединенија, 66-68, 68с, 340
Реакции на лекови, 393
имуни комплекси кај, 391, 391т
на пеницилин, 154
Реакции на преосетливост, 371-397
анафилакса кај, 18, 20, 371
атопија кај, 385
дефинирање на, 371
Гел-Кумбсова класификација на, 371-372, 372с
задоцнет тип (тип 4), 371, 372, 372с, 393-396
фази на, 394-395, 394с
при инфекција со ХИВ, 516т
при контактен дерматит, 396, 397с
при отфрлање на пресадок, 431-433
при тестирање на кожа, 393, 396
имунокомплексно остварена (тип 3), 372, 372с, 391-393
на бубашваби, астма и, 385
на храна, 20, 383
на пеницилин, 391, 391т, 393
на полен, 20, 374, 374т, 381-383
непосредно, 371
поттикнати од лекови, 391, 391т
имуни комплекси во, 393
противтелно остварена цитоксичност (тип 2), 371, 372, 372с, 388-391
при алергија на пеницилин, 391, 391т
при реакции на трансфузија, 388-389
при хемолитична анемија, 389-391, 390с, 391т
при хемолитична болест кај новороденче, 389-391, 390с
рани проучувања на, 371
со посредство на ИгЕ (тип I), 18, 100, 100с, 372-388, 372с
алергии кај, 372, 372-374, 381-383
анафилакса кај, 18, 20, 371, 381
астма кај, 381-383, 382с
атопичен дерматит кај, 383
атопија и, 373-374, 381-383
базофили кај, 375, 377-379
блокирачки противтела кај, 386
цитокини кај, 380, 380т
дијагноза на, 386, 387с
генски фактори кај, 384-385
хистмамин кај, 379-380, 380т
кожен тест за, 386, 386с
лекување на, 386-388
леукотриени кај, 378с, 379, 380, 380т
локализирана, 381-383
мастоцити кај, 375-376, 375с
механизми кај, 373с
на полен, 383
обеззрнување на, 340, 363с, 373, 377-379, 377с, 378с
П-К реакција при, 100, 374, 375т
посредници на, 379-380, 380т
прикажување противген кај, 383-384
простагландини кај, 378с, 379, 380, 380т
противгенска доза, 383-384
рани проучувања на, 374
реагинско противтело кај, 374-375
реакции во доцна фаза, 383
регулирање на, 383-386
системски, 18, 20, 371, 381
уртикарија кај, 383
Реакција на човечко противтело против-глушец (ХМГП), 393
Реакција П-К, 100, 374, 375т
Ревакцини, имуногеност и, 80
Ревматски артрит, 346т, 347, 403т, 411
генски фактори кај, 205

главен ткивносовпадлив комплекс кај, 205
животински модел на, 412
кај жените, 416-417
лекување на,419-422
моноклонски противтела за, 139
Т-клетки кај, 401-402
Регулатори на гените за активирање на комплементот (РКА), 177-180, 178с
Регулаторни Т-клетки, види Т регулаторни (Трег) Т-клетки
Резултантна инхибиција на, 298
Рекомбинази, 119-120
Рекомбинаторни активациски гени за имуноглобулини, 119
Т-клеточен рецептор, 231
Рекомбинаторни векторски вакцини,482т, 483, 488-490, 489с
Рекомбинаторни имуноглобулини,502-503
за имунонедостатоци,502-503
Рекомбинаторни моноклонски противтела, види Моноклонски противтела
Рекомбинациски сигнали секвенци
различие на противтелата и, 119, 119с, 234, 234с
различие на Т-клеточниот рецептор и, 234, 234с
Релативен ризик, 205
Респираторна болест
имунизација за
поврзано со ХИВ, 513-514
активна, 478, 479т, 485
пасивна, 477-478, 478т
Респираторна експлозија, 65-66, 340
Ретикуларна дисгенеза, 494с, 495
Ретинобластом, наследен, 528
Ретровирусите, 508-509 види исто Инфекција со вирусот на човечки имунонедостаток
како вектори, 563
Рецептор за гранулоцитно-макрофаген колонии стимулирачки фактор, 309-310, 309с, 310с
Рецептор за интерлеукин 1, 308, 308с
Рецептор за интерлеукин 15, 309с, 310
Рецептор за интерлеукин 21, 309с, 310
Рецептор за интерлеукин 27, 309
Рецептор за интерлеукин 3, 309-310, 309с, 310с
Рецептор за интерлеукин 5, 309-310, 309с, 310с
Рецептор за интерлеукин 7, 309с, 310
Рецептор за интерлеукин 9, 309с, 310
Рецептор за интерлеукинот 2, 308-309, 308с, 310-312, 311с, види исто Цитокински рецептори,
афинитет за врзување за, 311-312, 311с
при заболувањето на Чагас, 320
прикажување на, 312
структура на, 310, 311, 311с
форми на, 311-312, 311с
Рецептор за интерлеукинот 4, 309с, 310
Рецептор за леукемичен инхибиторен фактор, 309с, 310
Рецептор поли-Иг, 99, 103, 104с
Рецептори
Б-клетка, види Б-клеточен рецептор
домување, 336
имуноглобулиновидни од клетка природен убиец, 362, 363
интерлеукин, види исто Интерлеукин(и),
интерферон, 308
при сигнализирање, 312-314, 313с, 313т
клетка природен убиец, 62, 62т, 63с
комплемент, види Рецептор(и) на комплементот
лектиновидни од клетка природен убиец, 362-364
леукемичен инхибиторен фактор, 362-364
липополисахарид, 309ф, 310
НКГ2, 362
поврзани со протеинот Г, хемокин, 331-332, 331с
поли-Иг, 99
пред-Б-клетка, 274-275, 275с
пред-Т клетка, 246-247, 247с
препознавање на образец, 55, 68
противген, види Противтела
странична верига, 6, 7с
Т-клетка, види Т-клеточен рецептор (ТКР)
Толовиден, 9, 57, 61, 62-65, 62т, 63с, 64с
патека за пренесување на сигналот за, 69
рецептор на интерлеукинот 1, 308
туморно некрозен фактор, 308, 308с
при апоптоза, 264
уредување на, 404
Фк, 93-94, 102-103, 103с, 372-377, 388 види исто Фк рецептори
хематопоетин, 308-312, 308с, 309с
цитокин, 302-303, 307-314 види исто Цитокински рецептори
чистач, 62, 62т
Рецептори за домување, 336
Рецептори за препознавање облици (РПО), 55, 68
Рецептори за тумор некрозниот фактор, 308, 308с. *види исто* Цитокински рецептори,
при апоптоза, 264
Рецептори на интерферонот, 308, 308с, 309, види исто Цитокински рецептори,
при сигнализирање, 312-314, 313с, 313т
Рецептори на клетките природни убијци, 362–364, 363с
Рецептори на страничната верига, 6, 7с
Рецептори на чистачите, 62, 62т
Рибонуклеинска киселина, види РНК,
Ризик, релативен, 205
РИСТ (радиоимуносорбетен тест), за преосетливост, 386, 387с
Ритонавир, за инфекција со ХИВ, 517т, 518
Ритуксимаб, 141т
за автоимуно заболување, 421
за канцер, 542, 542т
Ричет, Чарлс, 18, 371, 381
Рјевски, К., 384
РНК вируси
канцер и, 527
ретровируси и, 508-509, 563
Рогам, 390, 390с
Родамин, 160
Росентал, А., 207
Ротавирус, структура на, 8с
Роукс, Пјере, 458
Рубела
анализа за инхибиција на агутинација, 154
имунизација за, 4т, 478, 479, 479т
Русов вирус на сарком, 527
Рх некомпатибилност, 389-391, 390с
РЦА гени, 177-180, 178с

Сабинова полио вакцина, 482-483, 483с види исто Полио,
Садерново дамкосување, 114, 558с, 559
Сакано, Хитоши, 136
Саквинавир, за инфекција со ХИВ, 517т, 518
Салкова полио вакциа, 483, 484 види исто Полио,
Salmonella tuphymurium, како вакцин-вектор,490
Salmonella спп., отпор на комплементот при, 181, 181с
Самооштетен модел, на Т-клеточен рецептор, 224
Сарком, 525 Види исто Канцер
САРС (тежок акутен респираторен синдром),470-471, 471с
Светла зона, во зародишаниот центар, 293, 294с
Свињи, ксенопресадоци од, 435, 444
Сврзна флексибилност
разновидност на противтела и, 14с, 121, 121с, 123, 234с
разновидност на Т-клеточниот рецептор и, 234, 234с
Секвенцни епитопи, 82, 82с
Секреторен дел, 99
Секреторен ИгА, 99-100 види исто ИгА,
Сексуални хормони, при автоимуна болест, 416-417
Сексуално преносливи болести, ХИВ/СИДА и, 506 види исто Инфекција со вирусот на човечки имунонедостаток
Секундарен имун одговор, 10т, 17, 262, 289-290, 290т
Секундарна протеинска структура, 79с, 87, 88с
Секундарни лимфоидни фоликули, 43, 43с, 44, 44с
Секундарни преносници на порака,10, 11с
Села, М.,206
Селективни имунонедостатоци, 19, 495, 495т
Селективни теории, 6-7
Селектин Е, 328, 340
Селектини, 328, 328с. види исто Клеточни адхезиски молекули (КАМ),
при екстравазација на белите клетки, 332, 332с, 333, 333с
Селекција во тимусот, 248-253
авидитетна теорија на, 251-252
инструктивен модел на, 253, 254с
$КД4^+$ при, 250-251, 251с, 252с, 253, 254
$КД8^+$ при, 250-253, 250т, 251с-253с
модел за диференцирање на сигнал, 252-253
негативен, 245, 250-251, 250с
при апоптоза, 264-265
ограничување на сопствен-ГТК и, 248-250
пептиди на, 252, 253с
позитивен, 245, 249-251, 250с
при автоимунитет, 415с
сигнализирање на, 252
сопствена толеранција и, 248-249, 250, 250с, 403-404
стохастичен модел на, 253, 254с
суперпротивгени при, 261
Сендвич ЕЛИСА,156
Сензорграм, 150
Септичен шок, цитокини при, 318-319
Серотонин, при преосетливост, 379, 380т
Серум, 4
дел од гама-глобулинот кај, 85
дефинирање на, 84
противтела во, 84-85
Серумска болест, 392-393
СИВ (Вирус на имунонедостаток кај мајмуните), 509
Сигнален пептид,115
Сигнали споеви, 120, 120с
Сигнална преносна патека, 69, 70с

СИДА, 493. *Види исто* Инфекција со вирусот на хуман имунонедостаток
Синапси, имунолошки
при активирање на Б-клетките, 287
при активирање на Т-клетките,257
Сингени глувци, 193, 547
Сингено пресадување, 33
Синдром на слаби лимфоцити, 204, 213, 213с, 494с, 495т, 498
Синдром на стекнат имунонедостаток, *види исто* Инфекција со вирусот на хуман имунонедостаток
Синдромот на Гудпастер, 403т, 408, 409с
Синтетички пептидни вакцини, 485-486
Синиции, при инфекција со ХИВ,512
Сипаници, 383
Сипаници, имунизација за
активна, 4т, 478, 479, 479т, 480, 480с
пасивна, 477–478, 478т
Сипанични вируси, цитокинско попречување на, 314
Сиролимус, при при имуносупресија на пресадок, 436
сис, при канцер, 527, 528т
Сискинд, Г.В., 293
Системи за адоптивен трансфер, 547
Системи за култивирање на клетките, *види исто* Клеточни лози,
Системски лупус еритематозус, 403т, 410-411, 411с
животински модел на, 412, 412с
кај жени, 416-417
комплемент при, 185, 186
лекување на, 419-422
Сјегренов синдром, 403т
Склеродерма, 403т
лекување на, 419-422
Слезина, 44-46, 46с
Слезинечен индекс, 368
Слепувачки реакции, 153-154
СЛП-60, 281
Смртоносни патогени, 468-469
СНАРЕ протеини,378-379
Соединение Поли-К9, 175с, 176, 179
Создавање конјугати, при убивање со посредство на на ЦТЛ, 356-357, 356с, 357с
Создавање на пори, при убивање со посредство на ЦТЛ, 357–358, 358с
Соматска мутација, модел на, 127
Соматска хипермутација, 125-127, 126с
активациски поттикната цитидин деаминаза при, 128-129
дефинирање на, 125-127, 126с
при афинитетно зреење, 293-295, 294с
при противтелно различие, 125-127
Сопствена толеранција, види Толеранација
Сопствени (Само)-реактивни лимфоцити, 276-278
активирање на, 415-419 види исто Автоимунитет,
негативна селекција на,150
отстранување на, види исто Толеранција,
при периферна толеранција, 318-319
при централна толеранција, 404-406
Сопствени противгени, толеранција на, види Толеранција
на Т-клеточниот рецептор, 224, 224с
ограничување на сопствен-ГТК, 206с, 207, 207с
тимусна селекција и,248-251, 250с
Сосирување, 338
Сосирувачки систем, 338
Sox-4, 274с, 275
src, кај канцер, 527, 528, 528т
СПАП (STAT), попречување на, при имуносупресија на пресадок, 313, 313т, 316-317
Специфичност, противтело, 6, 10-12
Спинигерин, 59-61, 61т
Спленектомија, опасни ефекти од, 46
Спорозоити, кај маларија, 460, 460с
Спротивна транскриптаза, 508
Срцева болест, Ц-реактивен протеин кај, 66-67
Срцева болест, Ц-реактивен протеин кај, 66-67
Срцеви напади, 403т
Ставудин, за инфекција со ХИВ, 517т, 518
Статински лекови, 67
за автоимуно болест, 421
Стауд, Луис, 570
Стафилококни ентеротоксини,261т
Стеблести клетки, 38-40, 39с, 56-57, 65с, 68-69, 263-264, 263т. *види исто* Противген прикажувачки клетки,
видови на, 39, 39с
вкрстено прикажување кај, 217
зреење на, 40
Лангерханс, 39, 39с, 394
при преосетливост од задоцнет тип, 394
лиценцирање на, 353, 354с
меѓуклеточни, 39, 39с
плазмацитоид, 39, 39с
при активирањето на цитотоксичните Т-лимфоцити, 354, 354с
при инфекција со ХИВ, 514, 514с
при лекување на канцер, 540
при отфрлање на пресадок, 427, 431
прикажување на противген од страна на, 209
создавање на цитокини од страна на, 306
создавање на, 25с
фоликуларни, 40
функции на, 39-40, 68-69
Стекнат имунитет, види Имунитет, стекнат
Стекнат имунитет, *види* Имунитет, стекнат
Стекната хипогамаглобулинемија, 504
Стероиди
за преосетливост, 388, 388т
при имуносупресија на пресадок, 436
противвоспалително дејство на, 347
Стохастичен модел, при селекција во тимусот, 253, 254с
Стрептавидин, 164
Стрептококни пирогени егзотоксини, 261т
Streptococcus pneumoniae
вакцина за, 478, 479т, 485
избегнување на одбраната на домаќинот преку, 455-457
отпор на комплементот на, 181-182, 181с, 182т
Streptococcus pyogenes, избегнување на одбраната на домаќинот преку, 457
Стромални клетки,24
Структурни одредници, 82-83, 83с
Суперпротивгени
при активирање на Т-клетките, 260-261, 261с, 261т
синдром на токсичен шок, 319
Суперфамилија на имуноглублините, 103-105
Супресорни Т (T_s) клетки,263
Сурогат лесна верига,273т, 274, 275с
Syk, при активирање на Б-клетките, 280с, 281, 282с
Т клетка, види исто Лимфоцит(и)
активирање на, 14, 15с, 35, 44, 208, 208с, 254-261, 281
во слезината, 45-46
вторичен одговор на, 262
генско прикажување при, 254, 255т
интерлеукин при, 262
калциумови јони при, 257с, 258
клонска анергија и, 259-260
комплекси пептид-ГТК,238-241
костимулаторни сигнали при, 258-259, 259с
на неискусни клетки,262
наспроти активирање на Б-клетките, 281
непосредни гени при, 254
нуклеарен фактор капа Б во, 257с, 258
попречување на, при имуносупресија на пресадок, 438
поттикнување на, 255-257, 256с
првичен одговор на, 262
преработување на противген во, 208, 208с
при вторичните лимфоидни органи, 23, 40с, 42-49
при лекување на авотимуна болест, 421
протеинска киназа Ц во, 262
противген прикажувачки клетки, 13с, 14, 68-69, 259-260, 259с, 260с, 263-264, 263т
Рас/МАП патека за киназата, 257с, 258
сигнализирање во, 254-259
суперпротивгени при, 260-261, 261с, 261т
ТКР-КД3 во, 254-257
фосфолипаза Цгама во, 257, 257с
алореактивност на, 241-242
алфа-бета, 223, 224, 226-228, 226с, 227с
анергични, 259-260, 260с
апоптоза на, 264-267 види исто Апоптоза
во периферната крв, 228
во слезината, 45
гама-делта,223, 226-228, 226с, 227с, 228т
двојнонегативни, 246-248, 247с
двојнопозитивни, 247с, 248-249
диференцирање на, 35, 261-264
еднопозитивни, 248, 253, 254с
ефектор, 11с, 14, 15с, 262 види исто Цитотоксични Т-лимфоцити (ЦТЛ), ефекторен одговор, Т цитотоксични (Тцт) клетки, Т помагачки (Тпо) клетки
во клеточно посредуван имунитет, 262, 351-359
наспроти неискусни клетки, 352т
особини на, 353-354, 354с
создавање на, 353-354, 354с
цели на, 352
зреење на, 15с, 16, 34-35, 245-248, 247с, 248с види исто Тимоцитни суперпротивгени во, 261
имуносупресор,
$КД4^+$ прикажување од страна на, 228с, 236-237 види исто $КД4^+$,
$КД4^+КД25^+$, 228с, 236-237, 237с
$КД8^+$ прикажување од страна на, 227с, 228с, 236-237 види исто $КД8^+$,
клетки природни убијци и, 361
неискусни, 30, 262
активирање на, 262, 262с
рециркулација на,336-337
наспроти ефекторни Т-клетки, 352т

ограничени на сопствен ГТК, 206с, 207, 207с, 224, 224с, 245, 248-250
памтење, 262
помагачки. Т-помагачки (Тпо) клетки, 263
препишување на имуноглобулинските гени при, 263
препознавање на противгенот од страна на, 15с, 16, 81, 82т, 208-209, 241, 242, 242с, 352-353
на непептидни противгени, 217-218, 218с, 226
поврзано, 290-291, 291т, 291с
при автоимунитет, 263
при вирусни инфекции, 450
при отфрлање на пресадок, 135-136
при ревматискиот артрит, 401-402
прогенитор, 245
развој на, чекори при, 245, 247с
регулаторни, види Т-регулаторни (Трег) клетки,
сопствено (само)-реактивни
активирање на, 414-419 види исто Автоимунитет,
отстранување на, 401-407 види исто Толеранција,
сосптвено (само)-толерантни, 78-79, 248-249, 250
специфичност на, 231
структура на, 12
супресор,263
тимусна селекција, види Селекција во тимусот,
тимусно потекло на, 40с, 41-42, 41с
толеранција на, 401-407 види исто Толеранција,
T-Bet, при вкрстеното регулирање на Б-клетките, 317
Тајнер, Џон А., 84
TAK1, 69
Такролимус, при имуносупресија на пресадок, 436
Таложни реакции, 151–153, 152т
ТАП (транспортер поврзан со преработување на противгенот)
во цистозолната патека,211-212, 211с
недостаток на, 213
при вирусните инфекции,451
при трансфер на пептидите, 213
ТАПА-1, во комплексот на Б-клеточен рецептор, 281-284
Тапасин, 212, 212с
TATA кутија, 134
Таунсенд, А., 208, 211
ТАЦ противген,
Т-Б конјугати, 285-286, 286с
Тежок акутен респираторен синдром (САРС), 470-471, 471с
Тежок комбиниран имунонедостаток (ТКИН), 19, 29-30, 30т, 311, 494с, 495т, 496-498, 496с, 497с, 504
лекување на, 503
Тек кинази, 284
Темна зона, во зародишниот центар, 293, 294с
Тенофивир, за инфекција со ХИВ, 517т, 518
Теофилин, 388, 388т
Терминална деоксинуклеотидил трансфераза (ТдТ),125, 125с
при Б-клеточен развој, 273, 274т
Тестирање за микротоксичност, 429–430, 429с
Тестирање на лекови, анализи за попречување аглутинација кај, 224
тестови за, 348, 386
Тестостерон, при автоимуна болест, 416-417
Тетанус, 7-8
имунизација за
активна, 4т, 478, 479, 479т
пасивна, 477-478, 478т
Тетрамери на главниот ткивносовпадлив комплекс (ГТК), КД8^{+} цитотоксични Т-лимфоцити кај, 355, 355с
Технологија за прикажување на фагите, 138–139, 139с
Технологија за рекомбинација на ДНК, види исто Генско модифицирање
анализа со промена на гелот при, 561-562
Вестерново дамкосување, 158
гени-известувачи кај, 562
генско целење при,565-567, 566с, 567с
ДНК отисоци при, 560-561, 561с
ин ситу хибридизација кај, 558-559, 558с
клонирање при, 556-559, 557с, 558с
луциферазна анализа кај, 562
микрониза кај, 5567-570, 570с
Нордерново дамкосување при, 558с, 559
отсечување/вметнување ген (knockout/knock-in) при, 564-565
полимеразно верижна реакција во, 559-560, 560с
пренесување на гените при, 562-566
рестрикциски ендонуклеази кај, 555-556, 556т
Садерново дамкосување, 114, 558с, 559
систем Cre/lox кај, 565-566
трансгени глувци кај, види исто Глувци наспроти (knockout) глувци со отсечен ген, 564с
создавање на, 563-564, 563с
Технологија на вметнат ген (knock-in), 565
Тешка кашлица, имунизација за, 4т, 478, 479, 479т
Тешки (Т) вериги, 85, 85с
аминокиселински секвенци на, 87-89, 89с
варијабилност кај, 89-90, 91с
диференциско преработување на РНК кај, 130-133, 131с, 132с
диплеење на, 87-89, 89с
изотипови/подизотипови на, 87, 87т
класи на, 87, 87т
кодирање на генските сегемнти, 115-116, 116с
преуредување на, 118, 118с, Види исто Имуноглобулински гени
комбинаторско поврзување со лесните вериги, 127
константни подрачја на, 85, 85с, 87-89, 88с, 93, 115, 116, 116с. Види исто Константни (К) подрачја,
варијабилно подрачје на, 85, 85с, 87-89, 88с, 115-116, 118-122. Види исто Варијабилни (В) подрачја,
препишување на, 130-133, 131с, 132с
при поврзување за противген, 91
склопување на, 133, 134с
Тимектомија, за автоимуна болест, 420
Тимеросол, аутизам и, 4
Тимоцити, 41
апоптоза на, 41, 249-251, 249с
врзување на ГТК за, 248-251
двојнонегативни, 246-248, 247с, 248с
двојнопозитивни, 247-248, 247с
дефинирање на, 245
еднопозитивни, 248
зреење на, 246-248, 247с
кај трансгени глувци, 250-251, 251с
противген H-Y и, 251
сопствена толеранција и, 249с, 250-251
Тимус, 40с, 41-42, 41с
апоптоза при, 41, 249-251, 249с
нарушувања кај, имунонедостатоци и, 500
отстранување на, при автоимуна болест, 420
пресадување на, при синдромот ДиЏорџ, 500
промени кои се поврзани со возраст кај, 41-42, 42с
структура на, 41, 41с
Т-клеточна селекеција кај, види Селекција во тимусот,
Т-клеточно зреење во, 245-248, 247с
Т-клеточно потекло кај, 34-35
Тимусна аплазија, при синдромот Ди Џорџ, 500
Тимусни стромални клетки, при селекција во тимусот, 249
Тимусно зависни противгени, при активирање на Б-клетките, 278, 279т, 285-287
Тимусно независни противгени, при активирање на Б-клетките, 278-279, 279т
Типизирање на крв
при пресадување, 428
хемаглутинација кај, 153-154
Тирозински кинази, при активирање на Б-клетките, 280с, 281, 282с
Тироидит,
експериментално автоимун, 412т, 413
на Хашимото, 346т, 403т, 407-408, 408с
животински модели на,412т, 413
лекување на,419-422
Тироидно стимулативен хормон, при болеста Грејвс, 409
Тиселиус, Арни, 84
Титар, 154
Ткивна совпадливост, при прифаќање на пресадок, 428
Ткивносовпадливи противгени, 241
ТКИН (SCID) глувци, 504
ТКИН (SCID), види Тежок комбиниран имунонедостаток (ТКИН),
Т-клеточен имунонедостаток,495-500
Т-клеточен рецептор (ТКР), 13, 35, 223-243
алфа-бета, 223-224
генско кодирање, 228-230, 229т
структура и функција на, 226-228, 226с
вкрстена реактивност на, 242
во суперфамилијата на имуноглобулини, 103, 104с
врзување на суперпротивгените за, 260-261, 261с
врзувачи места на, 226-228
врзувачки афинитет на, 237-238, 237т, 237с
гама-делта, 223
генско кодирање, 228-230, 229т
структура и функција на, 226-228, 226с
генска организација во, 228-230, 229т
генско преуредување во, 228-235
алалеско исклучување при, 231
алетернативно поврзување и, 234, 234с
додавање на N, 234-235

додавање на П, 234-235
комбинаторско поврзување и, 233-234
КОП1/2/3 и, 232, 235
механизми на, 230-231
непродуктивно, 229, 235
преглед на, 229-230, 230с
различие и, 229, 229т, 232-235
сврзна флексибилност и, 234, 234с
селекција во тимусот и, 249, 250-251, 251с
структурни последици од, 231-232, 231с
Т-клеточно зреење и, 246-248, 247с
ГТК молекули од класа 1/2 и, 236-238
домени од варијабилното подрачје, 226-228, 226с, 227с
домени од константно подрачје од,226-228, 226с, 227с
идентификација и изолирање на, 224-225
исклучување на алелите при, 231
КД1 и, 217-218, 218с
КД3 и, 235, 236с
КД4 и, 237-238, 237с, 237т, 238с
КД8 и, 237-238, 237с, 237т, 238с
кДНК клон кај,224-226, 225с
клеточно-атхезивни молекули и,238, 239с, 352-353
комплекси пептид-ГТК и, 224-225 види исто Комплекси ТКР-пептид-ГТК,
КОП1 и, 227, 231с, 232, 235
КОП2 и, 227, 231с, 232, 235
КОП3 и, 227, 231с, 232, 235
корецептори и, 237-238, 237с, 237т
модел на двоен рецептор, 224
модифициран-сопствен модел на, 224
на КПУТ-клетките, 35, 364-365
ограничување на сопствен-ГТК кај, 206с, 207, 207с
особини на, 223
преглед на, 223
пред-Т-клеточен рецептор и, 206с, 207, 207с, 224, 224с
претходник, 223
при автоимунитет, 414
при активирање на Т-клетките, 254-261
при сигнализирање, 235, 246-248, 247с
при Т-клеточно зреење, 246-248, 247с
различие на,16, 229, 229т, 232-235, 234с, 248
рани проучувања на, 223-224
специфичност на, 15с, 16, 223, 224, 227, 231
Т-клеточна алореактивност и, 241-242, 242с
Т-клеточен рецептор-КД3 комплекс (ТКР-КД3) 235, 236с
при активирање на Т-клетките, 238, 239с
при селекција во тимусот, 254-260, 255т, 256с, 227с
цитотоксични Т-лимфоцити и, 259-260
Т-клеточни епитопи, 81, 82т
Т-клеточни клонови, 35
при автоимунитет, 414
Т-клеточни корецептори, 237-238, 237с, 237т
Т-клеточни хибридоми, подготовка на, 550-551, 550с
Т-клеточно дополнителни протеини, види исто под КД,
во суперфамилијата на имуноглобулини,103, 104с
ТКР-пептид-ГТК комплекси, 238-241
клонска анергија и, 259-260, 260с
корецептори и, 238, 239с
при активирање на Т-клетките, 254-260, 255т, 256с-258с
структура на, 240-241, 240с
Тод, Ц., 113
Токсин од токсичен шок синдром, 261т
Токсичен шок синдром,
егзотоксини кај, 261т
цитокини кај, 319
Токсоидни вакцини, види исто Вакцини/вакцинирање, 336
Толеранција, 78-79, 401-407
анергија на, 259-260, 260с, 404
апоптоза на, 406
дефинирање на, 401
кој поттикнува противгени, 402-403
лизозим од кокошкина белка, 404-406
механизми на, 403-407
на алопресадоци, 439-440
откажување на, види исто Автоимуна болест,
периферно, 401, 402с, 404-406
поттикнување на,
изложување на раниот противген кај, 439-440
при пресадување, 439-440
усни (орални) противгени за, 421-422
секвестрација на противгенот кај, 407
сигнализирање при, 406
специфичност на, 403
тимусна селекција и, 248-249, 250, 250с, 403-404
Т-регулаторни клетки при, 406
утврдување и одржување на, 402-407
централна, 401, 403-404, 405с
ЦТЛА-4 во, 406
Толерогени, 403-404
Толовидни рецептори, 9, 57, 61, 62-65, 62т, 63с, 64с, 308
патека за пренесување на сигналот за, 69-71, 70с
рецептор на интерлеукин 1 и, 308
Томас, Е.Д., 19
Тонегава, С.,, 114, 116
Топлотно стабилен противген (ТСА), 275
Торкален канал, 42
Тоситумомаб, за канцер, 542, 542т
Тотипотенти зародишни клетки, 32
Т-помагачки (Тпо) клетки, 30, 35. види исто КД4+; Ефекторни Т-клетки,
активирање на, 14, 44, 208, 208с види исто Т-клетка, активирање на, преработување на противгенот за, 208-209
во слезината,46
од страна на стеблестите клетки, 68-69, 263-264, 263т
попречување на, при имуносупресија на пресадок, 438
ефекторни молекули кои се лачат од страна на, 353, 353т
конјугати хаптен-носач и, 290-291, 290т
особини на, 352-353, 353т
подгрупи на, 262, 314-318
вкрстено регулирање на, 317-318
лачење на хемокините од страна на, 332
лачење на цитокините од страна на, 314-315, 315т
при инфекција со ХИВ, 318
при лепра, 318, 318с
развој на, 318
функции на, 314-315
препознавање на противген од страна на, 208, 208с
при автоимунитет, 413, 414
при активирање на Б-клетките, 278, 285-287, 285с
при активирање на Т-цитотоксичните клетки,353-354, 354с
при вирусни инфекции, 450
при инфекција со ХИВ, 318, 512, 512с, 513т
при леишманијаза, 462
при отфрлање на пресадок, 426-427, 428с, 431
при преосетливост
од одложен тип, 395-396
со посредство на ИгЕ, 384
при туберкулоза, 458-459
при шистозомијаза, 464, 465с
прикажување на противген за, 209, 210с, 212с-217с
создавање на цитокини од страна на, 306
создавање на, 25с
Трансгени глувци Х-2$^{d/k}$, при зреење на Б-клетките, 277-278, 277с, 277т
Трансгени глувци, 136
автоимунитет кај, 418-419, 419с
создавање на, 563-564, 563с
Трансгени, клеточно интегрирање на, 563-564
Транспортер поврзан со обработувањето на противген, види ТАП (Транспортер поврзан со преработувањето на противген),
Транспортери, при прикажување на противгенот, во цитозолната патека, 211-212, 211с
Трансфекција, на клонирани гени, 556, 562-563, 562с
Трансформација, кај клеточни лози, 549
Трансфузија на крв од папочна врвца, 33, 443
Трансфузија на крв од папочната врвца, 33, 443
Трансфузија на крв
за неокмпатибилност на Рх, 390-391
крв од папочната врвца, 33, 443
преостелив одговор кај, 388-389
Трансфузиска реакција, 388-389
Трансцитоза, 95
Транфомирачки фактор за растење-бета, Б-4
при воспаление, 342
функции на, 307т
Транформирани клетки, 556
Транфузија,
а компатибилност на Рх, 390-391
рв од папочната врвка, 33, 443
Траструзумаб, 141, 141т
за канцер, 542, 542
Т-регулаторни (Трег) клетки, 13, 35, 263
при вкрстено регулирање на Т-клетките, 317
при толеранција, 406
Третична (терцијарна) протеинска структура, 79с, 87
Трипанозимијаза, 462, 463с
Тромбоксани, при воспаление, 339, 339с
Тромбопоетин, 321-323, 321т, 324с
Т-супресорни (Тсу) клетки, 263
Туберкулинска реакција, 393
Туберкулоза, 458-460
болест која повторно се појавува, 469-470
вакцина за, 459-460
имун одговор на, 458-460
клинички модели за, 459
лекување на, 459
отпорна на лекови, 469-470
преосетливост од одложен тип, 393, 395
прикажуавање на противген при, 218

Туберкулоидна лепра, Т-помагачки клетки и, 318, 318с
Туѓост, имуногеност и, 78-79
Тумор асоцирани пресадочни противгени (ТАПА), 531-532, 532с, 536-537. *види исто* Туморски противгени,
Тумор некрозен фактор-бета (ТНФ-бета), 315, Б-5
  за канцер, 541
  извори на, 307т
  при отфрлање на пресадок, 423
  при регулирање на ГТК, 204
  функции на, 307т
Тумор специфични пресадочни противгени, (ТСПА), 531-535, 532с. види исто Туморски противгени,
Тумор супресорни гени, 528, 528т, 530
Тумор(и),
  безопасен, 525
  имун одговор на, 537-538
  малигнен, види исто Канцер,
Туморо некрозен фактор-алфа (ТНФ-алфа), Б-5
  вирус Епштајн-Бар, 314
  за канцер, 540, 541, 541с
  извори на, 307т
  при воспаление,
    акутно, 341, 341с, 342с, 344
    хронично, 344
  при отфрлање на пресадок, 432-433, 432с
  при преосетливост, 380, 380т
  при регулирање на ГТК, 204
  при септичен шок, 319
  противтело за, 319, 320, 538
    за автоимуна болест, 420-421
    за септичен шок, 319
    при имуносупресија на пресадок, 437
  функции на, 307т
Туморски противгени, 531-538
  алфа-фетопротеин,536-537, 537с
  карициноембрионски противгени, 536-537, 537т
  онкогени како, 537
  поврзани со тумор, 531-532, 532с, 536-537
  специфични за тумор, 531-535, 532с
    поттикнати од вирус, 535-536, 536с
    утврдување на, 533-535, 534с
    хемиски/физички поттикнати, 532-535
  споделени, 537
Т-цитотоксични ($Т_{цт}$) клетки, 13, 30, 35 види исто Активирање на КД8^{+} кај,
  активирање на, 208
  ограничување на внатрешен-ГТК и, 224
  при инфекција со ХИВ, 514 516с
  при отфрлање на пресадок, 426-427, 428с
  противгено препознавање на, 208
  противгено прикажување кај, 209-212
  со стеблестите клетки, 68-69, 353-354
  создавање на, 25с
  трансформација во цитотоксични Т-лимфоцити, 353-354, 354с
  цитотоксични Т-клетки и, 14

Убиени вакцини, 482т, 484, види исто Вакцини/вакцинирање,
Убиквитин, 210с, 211
Убод од пајакот црна вдовица, пасивна имунизација за, 477-478, 478т
Убоди од змија, пасивна имунизација за, 477-478, 478т
Убоди од инсекти, Артусова реакција кај, 392
Убоди од пајак, пасивна имунизација за, 477-478, 478т
Убоди
  змија, пасивна имунизација за, 477-478, 478т
  инсекти, Артусова реакција при, 392
  пајакот црна вдовица, пасивна имунизација за, 477-478, 478т
Улцеративен колит, 346т
Унане, Е.Р., 208
Уредување, рецептор, 404
Урокиназен тип на плазминоген активатор, 338
Уртикарија, 383

Фаген ламбда вектор, 556–558, 557с, 558т
Фаген фактор ламбда, 556558, 557с, 558т
Фагозоми, 37, 37с
Фаголизозоми, 37, 37с
Фагоцити
  еднојадрени, 36, 36с. види исто Макрофаги, моноцити
  откривање на, 5, 6с
  функции на, 9
Фагоцитоза, 9, 36–37, 58с, 59, 214, 341, 341с
  кај бактериските инфекции, 455–457
  макрофаги кај, види исто Макрофаги, 9, 36–37, 37с, 58с, 59, 341, 341с
  намалена, имунонедостатоци поради, 500–502
  неутрофили кај, види исто Неутрофили, 9, 36–37, 37с, 58с, 59
  преосетливост од одложен тип кај, 395
  чекори при, 58с
Фактор Б, при комплементна активација, 173, 174с, 175
Фактор Д,
  недостаток на, 186
  при комплементна активација, 173, 174с, 175
Фактор за растење кој потекнува од крвните плочки, во суперфамилијата на имуноглобулините, 103, 104с
Фактор И, 177т
Фактор кој активира крвни плочки, 349, 349с
  при преосетливост, 379, 380т
Фактор кој активира лизо-плочка, 349, 349с
Фактор кој забрзува распаѓање, 177т, 178с, 179
  при пароксизмална ноќна хемоглобинурија, 183
Фактор на зародишната клетка/лиганд ц-кит, 321-323, 321т, 324с, Б-4
Фактор Х, 177т, 178т, 179
Фас/ФасЛ, 353
  при автоимунитет, 412
  при убивање на целна клетка, апоптотичен, 27т, 36, 264-267, 358-359, 359с, 406
    со посредство на КПУ, 361
    со споредство на ЦТЛ, 358-359, 359с
Фибрин, 338
Фибринопептиди, 338
Фиброза, 244
Физички бариери, навлегување на патогенот во, 9
Фикоеритрин, 160
Филиарија, структура на, 8с
Фимбрии, 54, 55с
Фишер, Емил, 6, 7с
Фк рецептори, 102-103, 103с
  неонатален, 102
  при опсонизација, 93-94
  при преосетливост, цитотоксичност со споредство на противген, 388
    со посредство на ИгЕ, 372-373, 374, 376-377, 376с
  структура на, 102-103, 103с, 376-377, 376с
Фк фрагменти, 85-86, 86с
  при комплементна активација, 170
ФК506, при имуносупресија,
  при автоимуна болест, 420
  при пресадување, 436
Флора, нормална, 53, 447
Флуоресцеин, 160
Флуоресцентен микроскоп, 160-161, 161с, 570-571
Флуоресцентна технологија, 160-161, 161с
  напредоци кај, 571
Флуорохроми, 160, 571
fms, кај канцерот 527, 528т
Фокс ензими, 65
Фоликуларни стеблести клетки, 40, 295-296
Фон Беринг, Емил, 4, 98, 458
fos, кај канцерот 528
Фосампренавир, за инфекција со ХИВ, 517т, 518
Фосфолипаза $С_{у}$
  при активирање на Б-клетките, 280с, 281, 282с, 284
  при активирање на Т-клетките, 257
Фосфолипаза $А_{2}$, при преосетливост, 379
Фосфолипиди, при воспаление, 339, 339с
Фосфорилација со посредство на протеинската киназа, при сигнализирање. 69
Фосфорилација
  при активирање на Б-клетките, 280с, 281, 282с
  со посредство на протеинска киназа, при сигнализирање, 69, 313
Фрагмент Фпв, 85, 86, 86с
  структурни промени кај, 92-93, 92с
Фрагментини (гранзими), 353, 357-358, 359, 360с
Фузиски инхибитори, за инфекција со ХИВ, 517т, 518
Fyn, при активирање на Б-клетките, 280с, 281, 282с

Х-2 комплекс, 190с. Види исто Главен ткивносовпадлив комплекс (ГТК),
  гени на, 202-203
  хаплотипови на, 191-192, 191т, 192с
Х-2М, 203
Хагеманов фактор, 338, 338с
Haemophilus influenzae, имунизација за 478, 479, 479т, 486
Хаптени, 77-78, 77с, 78т
Харлан, Дејвид, 438
Хаурович, Феликс, 6
Хашимотов тироидит, 346т, 403т, 407-408, 408с
  животински модел на, 412т, 413
  лекување на, 419-422
Хедрик, С.М., 224-225
Хемаглутинација, 153-154
Хемаглутинин, кај вирусот инфлуенца, 451-452, 451с, 454с
Хематопоеза, 23-30
  апоптоза кај, 26-28, 27с, 28с
  генетика на, 24-26
  дефинирање на, 23
  кај коскената срцевина, 24см, 42
  осбласти на, 24с
  процеси кај, 25с
  регулирање на, 24-26

цитокини кај 321-323, 324с
Хематопоетски зародшни клетки од периферната крв, 33. види исто Зародишна клетка
Хематопоетски индуцирана микросредина (ХИМ), 24
Хематопоетски стем клетки, 23. Види исто Зародишна (стем) клетка,
збогатени, 28-30, 29т, 30т
лимфоиден прогенитор, 24, 25с
миелоиден прогенитор, 24, 25с
пресадување на, 32-33. Види исто Пресадување на коскената срцевина,
при генска терапија, 33
регенеративен потенцијал на, 32-33
самообновливи, 24, 25с
Хематопоиетински рецептори, 308-312, 308с, 309с. Види исто Хемокински рецептори, класа 1,
Хемилуминисценција, 156-157, 157с
Хемоатрактанти, 57-59
при воспаление, 332-334, 332с, 333с, 340, 343
Хемоглобинурија, пароксимална ноќна, 183
Хемокини ЦХЦ, 329-331, 330т
рецептори за, 330т, 331-332
при инфекција со ХИВ, 512
Хемокини, 10, 57-59, 302, 329-332
воспалителни, 329
домаќини, 329
подгрупа ЦХ, 329-331, 330т
подгрупа ЦЦ, 329, 330т
преосетливост од задоцнет тип, 395-396
при екстравазација на бели клетки, 332, 332с, 333-334
при екстравазација на лимфоцити, 336-337
при сигнализирање, 331, 331с, 332
рецептори за, 308, 308с, 331-332, 331с
функции на, 329
при вирусно размножување, 512
Хемолиза, 168
хемолитична анемија која е поттикната од лекови, 391, 408
Хемолитична анемија,
автоимуна, 403т, 408
отпорна на лекови, 391, 408
Хемолитична болест кај новороденчињата, 389-391, 390с
Хемолитични реакции при трансфузија, 388-389
Хемостаза,
апоптоза и, 26
хематопоетски, 26
Хемотактични фактори, 38
при преосетливост, 379, 380т
Хемотерапија, имунонедостаток поради, 504-505
Хепатит,
имунизација за,
активна, 478, 479, 479т, 485
пасивна, 477-478, 478т
канцер на црниот дроб и, 527
Херпес симплекс вирус, избегнување на одбрана на домаќинот преку, 450-451
Херпес стромален кератит, молекулска мимикрија кај, 418
Херцептин (трастузумаб), 141, 141т, 542, 542т
Хетеродимер Иг-алфа/Иг-бета, 102, 103, 104с, 275
при активирање на Б-клетките, 279
Хибридни лимфоидни клеточни лози, 549т, 550
Хибридоми, 105-106
подготовка на, 550-551, 550с
ХИВ инфекција, види Инфекција со вирус на човечки имунонедостаток,
ХИВ кај, 507. *види исто* Инфекција со човечкиот вирус на имунонедостаток,
закажување на имунизација за, 478-480, 479т, 480с *види исто* вакцина/вакцинирање
Хидрогенска врска, кај меѓудејствата противген-противтело, 145, 146с
Химери, 136
Химерно противтело, 136, 137с
Хиперваријабилни подрачја, 90, 91с
Хипер-ИгЕ синдром, 499
Хипер-ИгМ синдром, 296, 494с, 495т, 496с, 498
Хиперлипидемија, Ц-реактивен протеин кај, 67
Хипогамоглобулинемија, 504
Хипосензибилизација, за преосетливост, 386-388, 388с
Хистамин, 340
при реакции на преосетливост, 379, 380, 380т
Хистиоцити, 36
Хитчингс, Џорџ, 434
ХЛА алели, чувствителност на болест и, 205-206
ХЛА комплекс, 190, 190с. Види исто Главен ткивносовпадлив комплекс (ГТК),
ХЛА совпаѓање,
мешана лимфоцитна реакција, 429с, 430
при пресадување, 428-429
ХЛА-Б27, при автоимуна болест, 205, 414
ХЛА-ДМ, 203, 215, 215с
ХЛА-ДО, 203, 215-216, 215с
ХЛА-ДР, 203, 215, 215с
чувствителност на болест и, 205
ХЛА-КИР, 364-365
Хозуми, Н., 114
Хомологен рестрикциски фактор, 177т, 179
Хомотипско поврзување, 329
Хонџо, Тасуку, 129
Хофман, Џулс, 62
Хоџкинова болест, 530. види исто Лимфом,
Хромоген супстрат, при ELISA, 155
Хромосомско преместување, при канцер, 529-530, 529с, 531, 531с
Хронична грануломатозна болест, 66, 494с, 495т, 496с, 501, 503
интерферон-гама за, 322-323
Хронична леукемија, 530-531. *види исто* Леукемија
Хронично воспаление, 344-346, 345с, 346с *види исто* Воспалителен одговор,
противвоспалителни агенси за, 346-348, 347с, 348с
ХТЛВ-1 (вирус на човечка Т-клеточна леукемија), 508-509, 527, 530
Худ, Лирој, 115-116
Хуман херпесвирус-8, цитокинско попречување на, 314
Хуманизирани противтела, 136, 137с
Хуморален имун одговор, види Имун одговор, хуморален

Ц/ЕБП, 344, 344с
*c-erb*B, кај канцерот, 527, 528т, 530
c-Kit,
при Б-клеточно зреење, 273, 274с, 275
c-*myc*, кај канцерот, 528, 529, 531, 531с
c-neu, кај канцерот на дојката, 530
c-onc, 527, 528т
c-*src*, 527, 528т
Цајглер, К., 208
цАМФ, при преосетливост, 379
Цврсти комплекси матрица-противтело-противген, при создавање на повеќевалентна вакцина,487
Целни клетки
дефинирање на,209
убивање на, види Ефекторен одговор
Целосниот адјуванс на Фројнд, 81
Целосно лимфоидно рендгенско зрачење, 436
Централна толеранција, 401, 403-404. *види исто* Толеранција
Центробласти, 293, 294с
Центроцити, селекција на, 294с, 295-296
Цервикален канцер,
вакцина за, 534-535
КИР-ГТК гени кај, 364-365
хуман папиломавирус и, 527, 534-535
Церкропини, 59-61т
Цикличен аденозен монофосфат (цАМФ),при преосетливоста, 379
Циклооксигеназни инхибитори, 347-348, 348с
Циклоспорин А, при пресадување, 436, 436с
за автоимунитет, 420
Циклофосфамид, при имуносупресија, 434
Цилија, 53
Цилијарен неуротропен фактор, 309с, 310, Б-4
Цинкернагел, Р., 189, 207, 224, 249
Ciona intestinalis, вроден имунитет за, 71, 71с
Циркумспорозоитен (ЦС) противген, кај маларија, 460
Цитозолна патека, обработување на противген во, 209-212, 210с-212с, 216с, 217, 217с
Цитокин(и), 10, 57, 302-325, Б-1-Б-5. *види исто* Специфични типови
автокрино дејство на, 303, 303с
анализа за, 305, 305с
афинитет за, 302-303
број и разновидност на, 360
вирусна мимикрија на, 314, 314т
врзување на рецепторот за, 302-303, 303с
дефектни кај,
при болестта на Чагас, 320
при канцерот, 319
при септичен шок, 318-319
при токсичен шок, 319
дефиниција на, 302
ендокрино дејство на, 303, 303с
извори на, 306
инхибитори на, 314
клетки природни убијци и, 360-361
координирано дејство на, 307
лачење на ефекторните Т-клетки, 353
лачење на подгрупа на Т-помагачките клетки, 314-318
лимфокин, 302
монокин, 302
од вродениот имунитет, 307т
од стекнатиот имунитет, 307т
особини на, 302-307
отпор на, 303, 304с
паракрино дејство на, 303, 303с
период на полураспаѓање, 307
плеотропно дејство на, 303, 304с
прекумерно создавање на, кај бактериските инфекции, 318-319, 457
при автоимунитет, 418-419, 419с
при активирање на Б-клетките, 286-287
при активирање на Т-клетките, 254-258, 255т, 262
при вирусната репликација, 512
при вкрстеното регулирање на Т-помагачките клетки, 317-318, 317с

при воспаление, 306-307, 307т,339-346, 339т
акутно, 340-344, 341с, 342с, 344с
одговор од задоцнет тип, 383
при системски одговор, 340-342, 341с
хронично, 344-346
при инфекција со ХИВ, 516т
при отфрлање на пресадок, 431-433, 432с
при преосетливост, 380, 380т, 384
задоцнет тип, 395-396, 396с
при регулирање на ГТК, 204
при сигнализирање, 310-311, 310с, 312-314, 312с, 313с, 313т
при фагоцитоза, 14
провоспалителни, 59, 68
противтела за, при имуносупресија на имунопресадување, 437
рано проучување на, 304-305, 305с
регулирање на, 307
редунданција на, 303, 304с
синергизам на, 303, 304с
скалесто поттикнување на, 303, 304с
специфичност на, 307, 313-314
структура на, 305-306, 305с
терпаветска употреба на, 320-321, 320с
кај канцерот, 540-541, 541с
фамилии од, 305-306
функции на, 303, 306-307, 306с, 307т
хематопиетски, 321-323, 324с
хемокин, 302
Цитокински антагонисти, 314
Цитокински рецептори, 302-303, 307-314
афинитет за врзување за, 302-303
вирусна мимикрија на, 314, 314т
димеризација на, 313
имуноглобулинска суперфамилија, 308
класа 1, 308-312, 308с, 309с
поединици на, 309-311, 309с, 310с
структура на, 308-309, 308с, 309с
класа 2, 308, 308с, 309
поединици на, 309
поединици на, 309-311, 309с, 310с, 312
при сигнализирање, 310-311, 310с, 312-314, 312с, 313с, 313т, 316-317
структура на, 308с, 309с
фамилии на, 308
Цитомегаловирусна инфекција,
пасивна имунизација за, 477-478, 478т
цитокинско попречување при, 314
Цитотоксичен Т-лимфоцит, (ЦТЛ), 14, 35, 351, 352-359. *види исто* Ефекторни Т-клетки,
активирање на, 352-353
ефекторни молекули кои ги лачи, 353, 353т
КД8+35, 355, 356с
при прикажување на противген, 209-212, 210-212с, 216с
наспроти клетките природни убијци, 361-362
при вирусните ифекции, 450
при канцер, 533-534, 538, 539-540, 539с, 540с
при отфрлање на пресадок, 431-433
создавање на, 353-354, 354с
туморни противгени и, 533-534
цитотоксични механизми на, 355-359
апоптоза, 355, 358-359, 359с. *види исто* Апоптоза,
создавање на конјугати, 356-357, 356с, 357с
создавање на пори, 357-358, 358с
Corynebacterium diphtherie, 458
COX ½ инхибитори, 347-348, 348с
Црвена пулпа, 45, 46с
Црвени клетки,
АБО противгени и, 149. Види исто Противгени од крвната група АБО,
аглутинација на, 97
одредување на, хемаглутинација на, 153-154
при пасивна аглутинација, 153с, 154
противген натпревар помеѓу, 297, 298т
создавање на, види Хематопоеза,
Црви, паразитски, 462-465, 465с
Ц-реактивен протеин (ЦРП), 55, 56, 61, 62т
при воспаление, 342-344, 342с
при кардиоваскуларно болест, 66-67
Црн дроб
пресадување на, види исто Пресадување,
при воспаление, 344
Црнодробно пресадување, 440с, 442. Види исто Пресадување,
ЦС противген, при маларијата, 460
ЦТЛ, види Цитотоксични Т-лимфоцити (ЦТЛ),
ЦТЛА-4, 237т
при активирање на Т-клетките, 259, 259с
при толеранција, 406
Цунига-Пфлукер, 246
ЦХЦР4, при инфекција со ХИВ, 512
ЦЦР хемокини, 309, 311
рецептори за, 330т, 331-332
при инфекција со ХИВ, 512
ЦЦР5, 330т
при инфекција со ХИВ, 512
ЦЦЦЦ мотив, кај интерлуекинските рецептори, 308, 309, 311

Чагасова болест, 320
Чаз, Мерил, 6
Чедијак-Хигашиев синдром, 495т, 501, 537-538
Чезборо, Брус, 512
Чест варијабилен имунонедостаток, 494с, 499
ЧМГП реакција, 393

Човечки леукоцитни противтела, види ХЛА
Човечки папиломавирус,
вакцина за, 534-535
цервикален канцер и, 527
Човечки Т-клеточен лимфотропен вирус-1 (ХТЛВ-1), 508-509, 527, 530

Џенвеј, Чарлс, 63
Џенес, Едвард, 2, 475
Џенкинс, М. К., 406
Џобов синдром, 499
Џонсон, С.Г.О., 374

Шатз, Дејвид, 119
Шварц. Р.Х., 406-434
Шевах, Е., 207
Шимпанза,
ретровируси кај, 509
ксено-пресадоции од, 435, 444
Шистозомијаза, 462, 465, 465с
Шнел, Г., 19
Шок
анафилактичен, 381 види исто Анафилакса
септичен, цитокини при, 318-319
Штарзл, Т.Е., 444

Xid, 284

Томас Џ. Киндт, Ричард А. Голдсби, Барбара А. Озборн

КУБИ ИМУНОЛОГИЈА

издава: **И. П. ТАБЕРНАКУЛ**
П. фах 251, Скопје
Република Македонија
www.tabernakul.com.mk

за издавачот: **Цветан Вражевирски,**
управител

главен уредник: **Ванчо Каранфилов**

технички уредници: **Владимир Тодоров**
Дијана Трајкоска

компјутерска обработка: **Лазар Кацкаровски, Бобан Китановски,**
Билјана Неделковска, Дејан Димовски

превод од англиски јазик: **Владимир Ѓуров**

стручна редакција: **Проф. д-р Мирко Спироски, д-р науки** (Поглавја 1-6, Речник, Индекс)
Асист. д-р Дејан Трајков, д-р науки (Поглавја 7, 13, 15, 19, 21)
Асист. д-р Александар Петличковски, м-р медицина (Поглавја 8, 14, 20, 22)
Асист. д-р Славица Христоманова (Поглавје 9)
Помл. асист. д-р Мери Киријас (Поглавја 10, 16, 18, Додатоци 1 и 2, Одговор на прашања за учење)
Помл. асист. д-р Александар Сенев (Поглавја 11, 12, 17)

лектура: **Гоце Цветановски, Симон Саздов, Аниса Трпчевска**

печати: **„Табернакул“, Скопје**
тираж: **1000**

CIP - Каталогизација во публикација
Национална и универзитетска библиотека „Св. Климент Охридски“, Скопје

612.017
616-097

КИНДТ, Томас Џ.
Куби имунологија / Томас Џ. Киндт, Ричард А. Голдсби, Барбара А. Озборн ; превод од англиски јазик Владимир Ѓуров. - Скопје : Табернакул, 2011. - XXII, 674 стр. : илустр. ; 22 см

Превод на делото: Kuby Immunology / Thomas J. Kindt, Richard A. Goldsby, Barbara A. Osborne. - Библиографија кон главите. - Регистар

ISBN 978-608-210-159-0
1. Голдсби, Ричард А. [автор] 2. Озборн, Барбара А. [автор]. - I. Kindt, Thomas J. види Киндт, Томас Џ.
а) Имунологија
COBISS.MK-ID 86546442