

Univerzitet u Beogradu
Fakultet veterinarske medicine



Fiziologija imunosti

Doc. dr Milica Stojković
Katedra za fiziologiju i biohemiju

28. decembar 2023. godine

Fiziologija imunosti

Imunitet- sposobnost organizma da prepozna, neutrališe i da ukloni ono što je strano (infektivni agensi, tumorske ćelije)

- **Nespecifični imunitet (prirodni, urođeni)**
 - ✓ Prva linija odbrane- prepreka prodoru mikroorganizama u vidu mehaničke barijere preko kože, sluzokože, telesnih otvora
 - ✓ Fagocitoza
 - ✓ Nema pamćenja antiga nakon odbrambene reakcije
- **Specifični (adaptivni, stečeni) imunitet**
 - ✓ Imunitet u užem smislu- reagovanje imunskog sistema sa unetim antigenom
 - ✓ Imunsko pamćenje određenog antiga nakon odbrambene reakcije

Fiziologija imunosti

Uloge imunskog sistema

- Da spreči ili iskoreni infekciju
- Homeostatska– reparacija oštećenih tkiva
- Imunska kontrola - uklanjanje nenormalnih (aberenčnih) formi ćelija (mutacije)

Imunski odgovor se definiše kao reakcija imunskog sistema na m.o. ali i druge molekule prepoznate kao strane, nezavisno od posledica reakcije koja može biti fiziološka i patološka

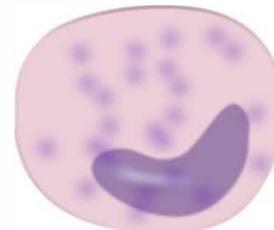
Nespecifični imunitet- urođen

Mehanizmi nespecifične otpornosti:

- **Lokalni**- epitelne barijere (koža i sluzokože)
- ✓ Masne kiseline u koži, nepatogene bakterije; pljuvačka (lizozim-mukolitički ferment); HCl u želucu
- **Sistemski mehanizmi**
- ✓ Celularni mehanizmi – fagocitne ćelije (neutrofilni granulociti i mononuklearni fagociti), NK ćelije, interferon
- ✓ Humoralni mehanizmi- komplement, citokini i proteini plazme

Fagocitoza

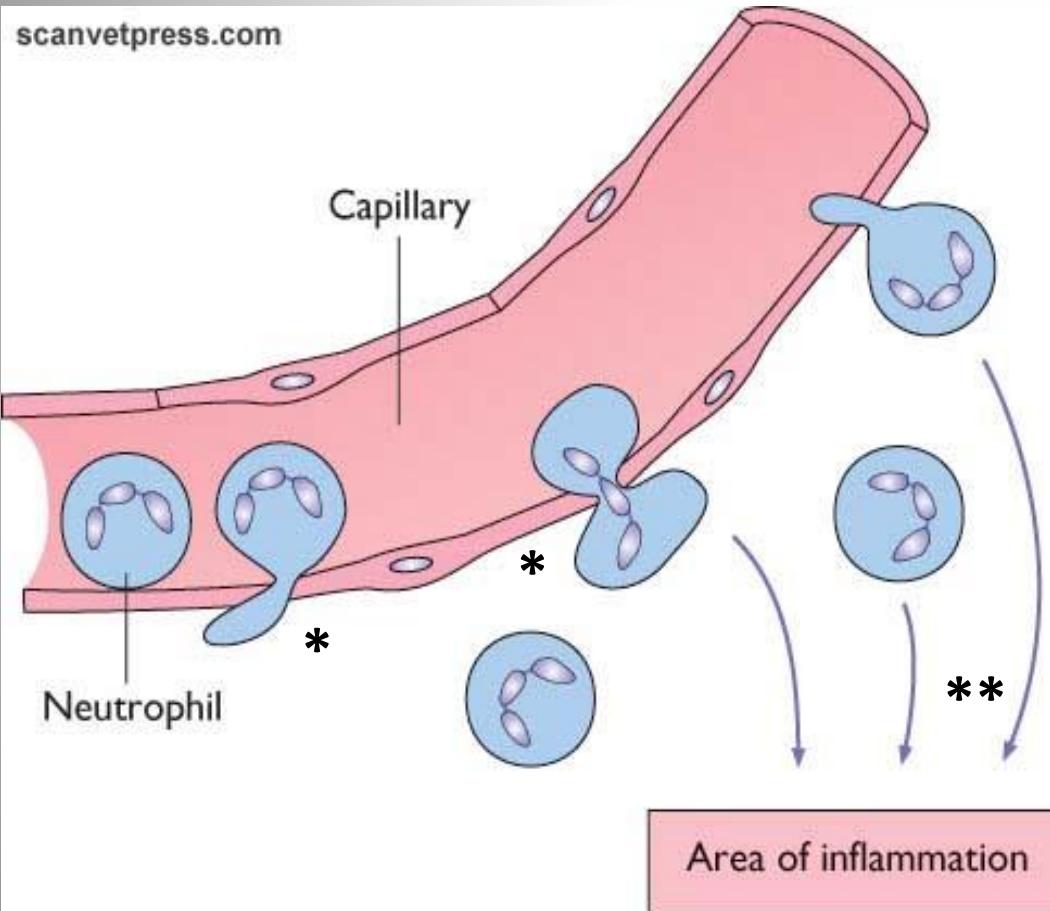
- ❖ Najvažniji mehanizam nespecifične odbrane organizma
- ✓ Fagociti- ćelije koje imaju sposobnost fagocitoze
- ✓ Mikrofagi-PMN i makrofagi-monociti krvi



- ✓ U tkivima -fiksni makrofagi
(Kupferove ćelije, mastociti, histiociti, mikroglija, osteoklasti)
- ✓ Fagociti imaju receptore u membrani za Fc fragment Ig i aktivirane komponente komplementa (C3b).

Dijapedeza i hemotaksa

scanvetpress.com

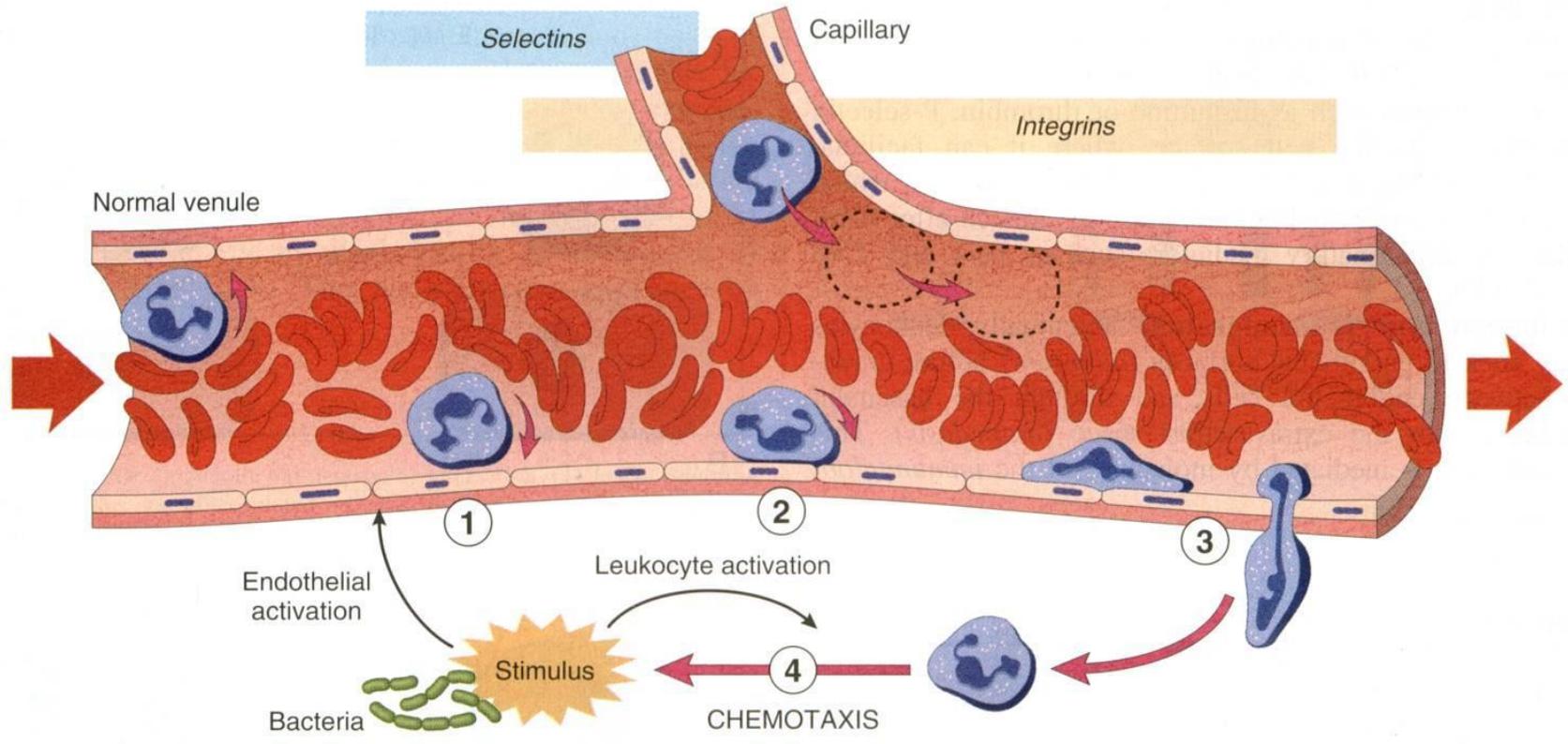


* Dijapedeza – izlazak neutrofila iz krvi u tkiva kroz zidove kapilara

** Hemotaksa- kretanje neutrofila prema nekom hemijskom stimulusu usled zapaljenskog procesa

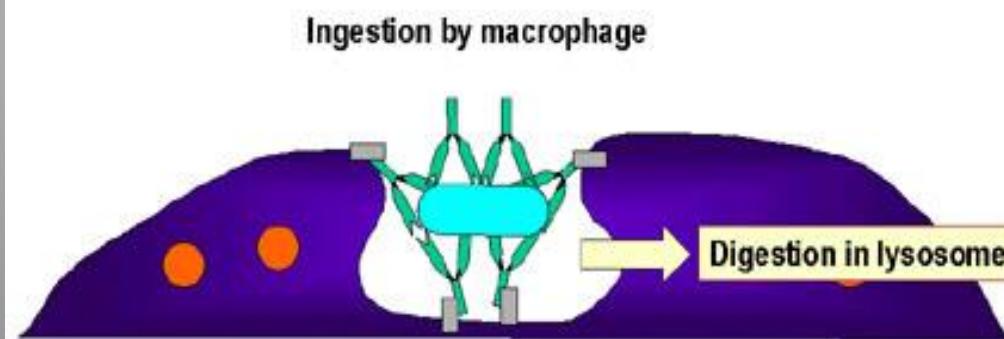
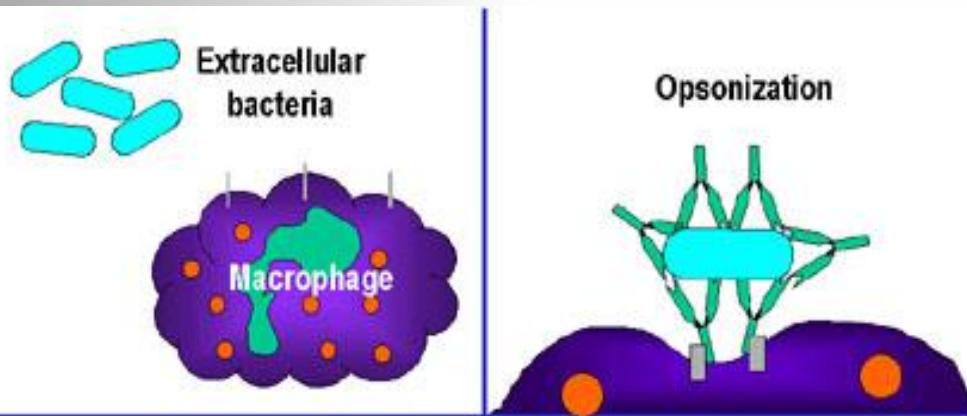
Dijapedeza i hemotaksa

MARGINATION → ROLLING → ADHESION → TRANSMIGRATION



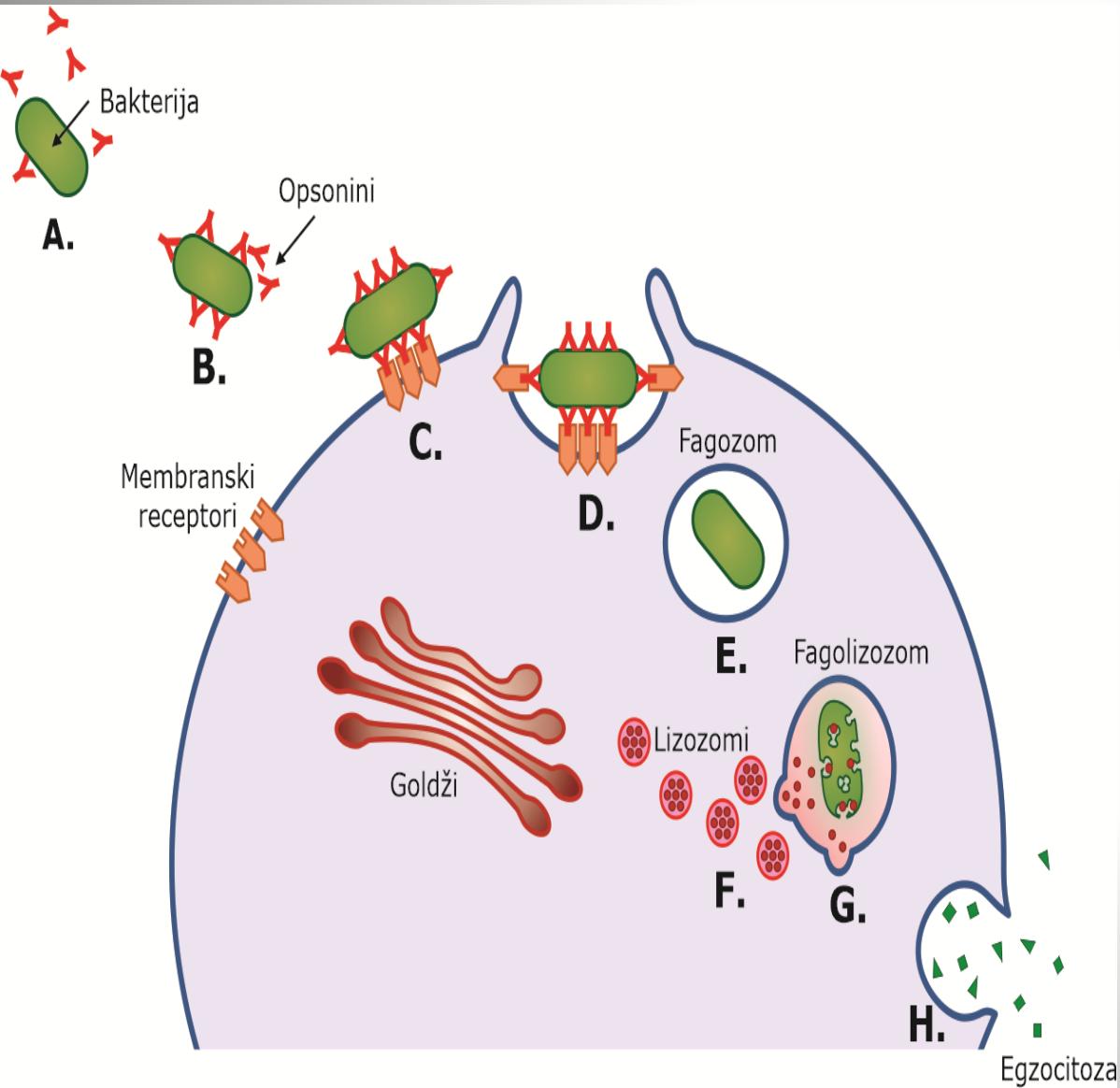
Opsonizacija

- Priprema bakterije za fagocitozu



- Opsonini- materije koje stranu česticu čine primamljivom za fagocitozu
 - Opsonini su **antitela i aktivirane komponente komplementa**
-
- ✓ Opsonizacija- antitelima
 - ✓ Opsonizacija - antitelima i komponentama komplementa
 - ✓ Opsonizacija - komponentama komplementa

Fagocitoza



- Bakterija (m.o. ili Ag)
- Vezivanje antitela za Ag
- Vezivanje Ag-At kompleksa za Fc fragment na fagocitu
- Uleganje membrane, „proždiranje“ Ag-At kompleksa
- Okruživanje m.o. ćelijskom membranom- fagozom
- Lizozomi
- Spajanje lizozoma sa fagozomom – fagolizozom
- U fagolizozomu m.o. može biti ubijen i svaren, kasnije egzocitoza

Komplement

- Sistem komplementa je jedan od najvažnijih efektornih puteva procesa inflamacije
- Posledice aktivacije komplementa:
 - ✓ opsonizacija i olakšavanje fagocitoze
 - ✓ hemotaksa i aktivacija fagocita
 - ✓ liza ciljne ćelije

Komplement

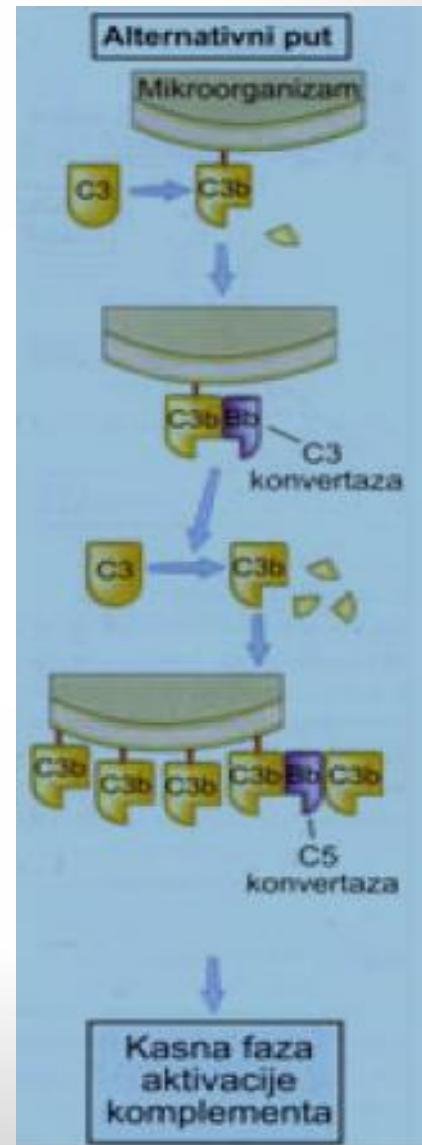
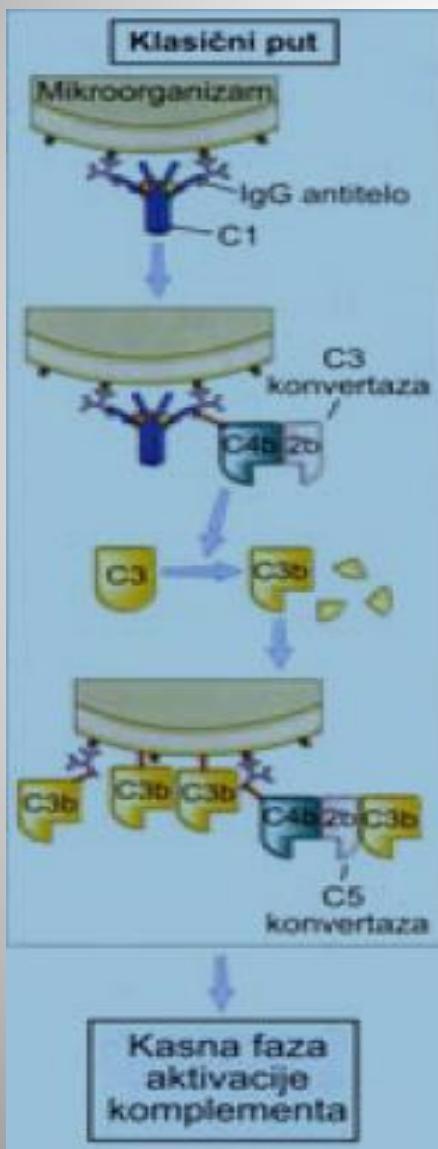
- 30ak serumskih proteina (komponenata) - glavna funkcija kontrola zapaljenja
- Klasičan sistem komplementa se sastoji od 9 proteina nekoliko inhibitora ili inaktivator
- Komponente komplementa se označavaju velikim slovima C i brojem (**C1-C9**)
- Razgradni produkti se označavaju malim slovom (a,b).
- Komponente alternativnog puta označavaju se velikim slovom B, D, P
- Reaguju kaskadno, određenim redosledom aktiviraju jedan drugog pri čemu se stvaraju proteolitički enzimi

Komplement

Aktivacija sistema komplementa :

- Klasičan put- učešće kompleksa Ag-At, odnosno vezivanje Fc fragmenta za C1 protein sistema komplementa
 - Alternativni put- bez učešća At, aktivacija C3 proteina
- ✓ proteinske frakcije oslobođene u toku aktivacije (C3a, C3b, C5a)
-C3b stimuliše fagocitozu
-C3a i C5a (anafilatoksini) imaju hemotaktičku aktivnost, povećavaju propustljivost zida kapilara

Komplement



Interferoni

- Pripadaju grupi proteina koje produkuju ćelije inficirane virusima
- Sintetišu ih: limfociti, neutrofili, fibroblasti
- Blokiraju umnožavanje virusnog genoma što doprinosi sprečavanju širenja infekcije
- Nisu specifični za virus
- Specifični su za vrstu životinje

Antigeni ili imunogeni

- Supstance strane organizmu
- Unete u organizam izazivaju imunsku reakciju i reaguju sa produktima te reakcije
- Imunogenost
- Antigenost
- Determinantne grupe - **EPITOPI**

Antigeni ili imunogeni

Faktori od kojih zavisi imunogenost antigena:

- ✓ molekul antigena mora biti stran imunskom sistemu
- ✓ veličina i hemijska građa molekula
(proteini su dobri antigeni)
- ✓ **PARATOP** (hemijske grupe na At komplementarne EPITOPU na Ag)
- ❖ Haptenci
- ✓ molekuli male molekulske mase i prostije strukture
- ✓ nemaju imunogenost ali **imaju antigenost**
- ✓ postaju imunogeni samo kada se vežu za protein nosač koji je imunogen

Specifični imunitet

- Otpornost prema određenim m.o.
- Rezultat je prisustva antitela i senzibilisanih limfocita
- Sposobnost imunske memorije, pamti prethodni kontakt sa Ag

Specifični imunitet- stečen

Učešće većeg broja organa imunskog sistema i različitih vrsta ćelija

- ✓ aktivni (*prirodni, veštački*)
- ✓ pasivni (*prirodni, veštački*)

Aktivni imunitet

PRIRODNI:

- ✓ otpornost nastala posle prelezane bolesti
- ✓ prisustvo antitela i senzibilisanih limfocita
- ✓ može biti doživotan a nekad privremen
- ✓ npr. svinjska kuga, boginje

VEŠTAČKI:

- ✓ otpornost nastala nakon uspešne vakcinacije (imunizacije) u cilju preventive
- ✓ organizam stvara imunitet (aktivno) ali kontakt sa m.o. je veštački

Pasivni imunitet

PRIRODNI:

- ✓ unošenjem antitela poreklom od majke
- ✓ transplacentarno i kolostrumom (čovek, mesojedi, glodari)
- ✓ kolostrumom (tele, jagnje, jare, ždrebe)

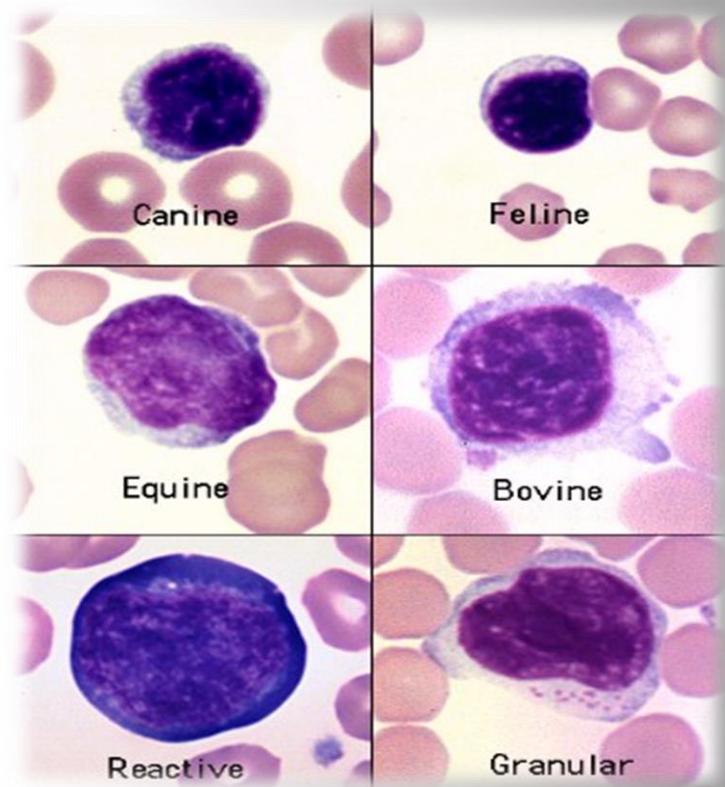
VEŠTAČKI:

- ✓ primena hiperimunih seruma
- ✓ stiče se ubrizgavanjem antitela specifičnih za određeni antigen
- ✓ primer štenećak (hip. serum sadrži visok titar antitela)

Funkcionalna organizacija imunskog sistema

LIMFOCITI

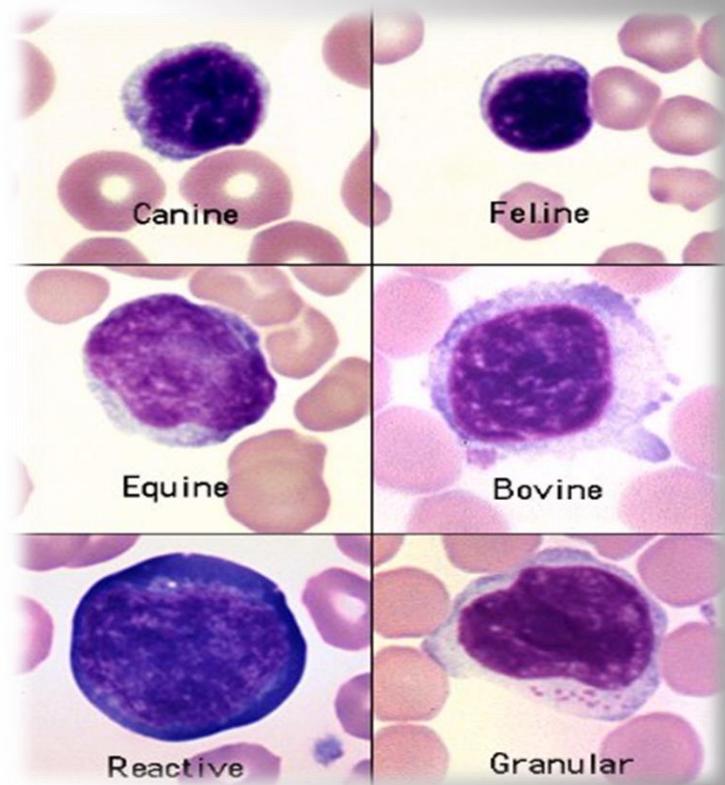
- ✓ mali limfociti ($8\mu\text{m}$), srednji ($9-12 \mu\text{m}$), veliki (preko $12 \mu\text{m}$)
- ✓ sposobnost **dijapedeze** (prolazak kroz zid kapilara)
- ✓ **recirkulacija limfocita**



Funkcionalna organizacija imunskog sistema

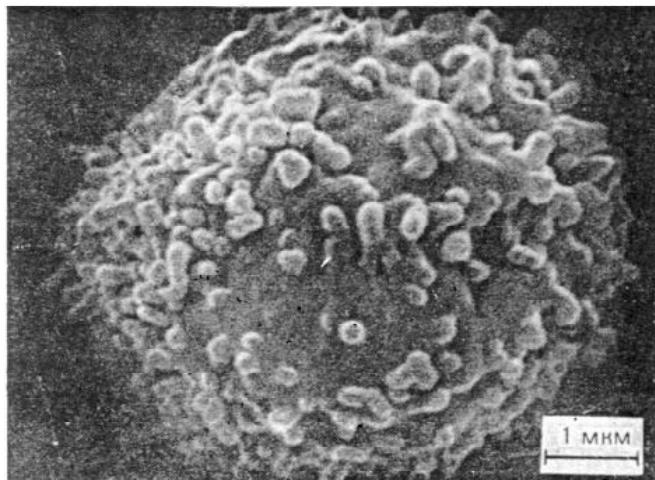
Recirkulacija limfocita

- Kruženje između krvi, tkiva i limfnih organa
- Od velikog značaja zbog veće verovatnoće susreta limfocita sa antigenima

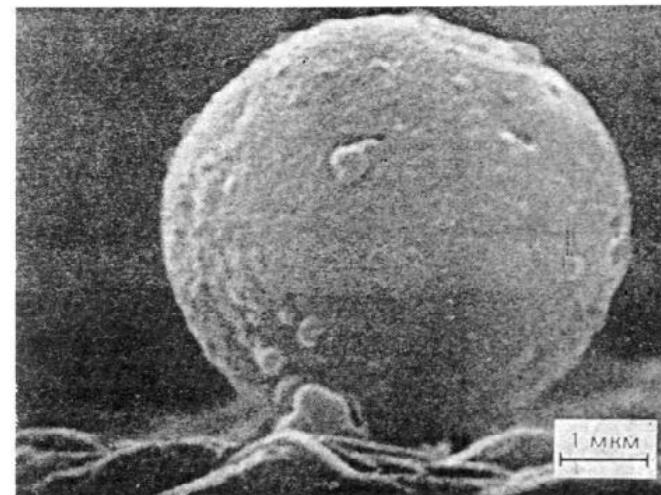


Vrste limfocita

B limfociti (sa razbarušenom membranom)



T limfociti



Organi imuniteta

- **Primarni organi imuniteta** - timus, koštana srž, Burza Fabricii -ptice
 - ✓ differentovanje T i B limfocita
 - ✓ T limf. nastaju u timusu
 - ✓ B limf. u koštanoj srži kod sisara i u Burzi Fabricii kod ptica
 - ✓ nastaju imunokompetentni (zreli) limfociti
- **Sekundarni organi imuniteta** - limfni čvorovi, tonzile, slezina, limfno tkivo urogenitalnog, respiratornog i digestivnog trakta
 - ✓ T i B limf. dolaze u kontakt sa Ag
 - ✓ proliferacija kлона limfocita koji ima receptor za taj antigen
 - diferentovanje-stvaranje antitela, ili senzibilisanih ili citotoksičnih limfocita

T limfociti

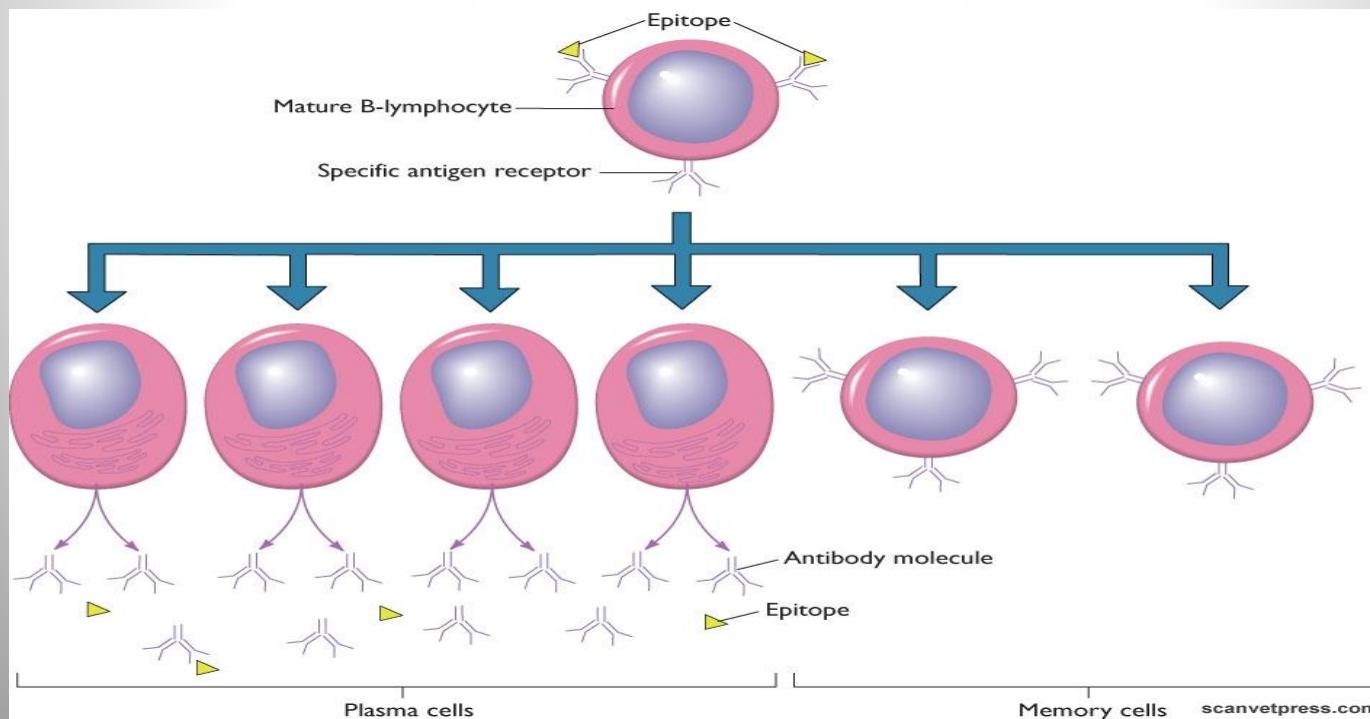
- Prolaze kroz tri faze: pretimusna (protimociti), timusna (timociti), posttimusna faza
- Sazrevanjem- receptori u membrani za prepoznavanje određenog antiga, receptori za Fc fragment Ig, receptori za C3b komponentu komplementa
 - ✓ stiču sposobnost razlikovanja svojih od tuđih antigena
- Posttimusna faza- nastali T limfociti opremljeni za prepoznavanje i kontakt sa Ag

T limfociti

- Pomoćni Th limfociti (*eng. helper*)- stvaraju i izlučuju citokine koji učestvuju u imunskim reakcijama
- Citotoksični Tc limfociti- ubijaju ćelije inficirane virusima, tumorske ćelije i ćelije sa vezanim antitelima.
- Senzibilisani T limfociti- sintetišu lilmokine po kontaktu sa što dovodi do zapaljenske reakcije

B limfociti

- **Antigen nezavisna faza** (u primarnim organima imuniteta)
 - ✓ differentovanje u zreo imunokompetentan B limfocit
- **Antigen zavisna faza** (u sekundarnim organima imuniteta)
 - ✓ kontakt B limfocita sa antigenom- deobe- differentovanje u ćelije – plazmocite koje sintetišu antitela



B limfociti

- Pre B limfociti (nemaju receptore za antigen)
- Nezreli B limfociti (receptori za određeni antigen, IgM klase)
- Zreo B limfocit (dobija nove molekule receptora za antigene, klase IgD, IgM)
 - ✓ monomeri IgM i IgD u membrani B limfocita su receptori za antigen
 - ✓ ima receptore i za Fc fragment Ig i za C3b komponentu komplementa

NK ćelije (ćelije ubice, engl. natural killers)

- Treća populacija limfocita, oko 10 %
- Nemaju receptore za Ag
- Deluju nespecifično-spontano
- Deluju citotoksično na više vrsta ćelija

MHC- Major Hystocompatibility Complex

MHC je otkriven kao genski lokus koji je najbitniji za prihvatanje ili odbacivanje tkiva/organa koji se transplatira sa jedne na drugu osobu

MHC molekuli su membranski proteini na APĆ koji prikazuju peptidne antigene T- limfocitima

MHC- Major Hystocompatibility Complex

Ćelije tkiva i organa jedne jedinke u membrani poseduju molekule antiga karakteristične samo za ćelije te jedinke

Polimorfizam MHC antiga i njegov značaj?

- Prisustvo **MHC** antiga u membrani ćelija
- ✓ oni su karakteristika samo ćelija te jedinke
- ✓ njihova brojnost = brojnosti populacije jedinki jedne životinjske vrste
- ✓ tri klase tih antiga (**MHC-I; MHC-II; MHC-III**)

MHC- Major Hystocompatibility Complex

MHC- I klasa antigena

- Nalaze se na svim ćelijama sa jedrom
- To su pravi transplantacioni antigeni
- ✓ **njihovo prisustvo je indikator razlikovanja sopstvenog od stranog tkiva**

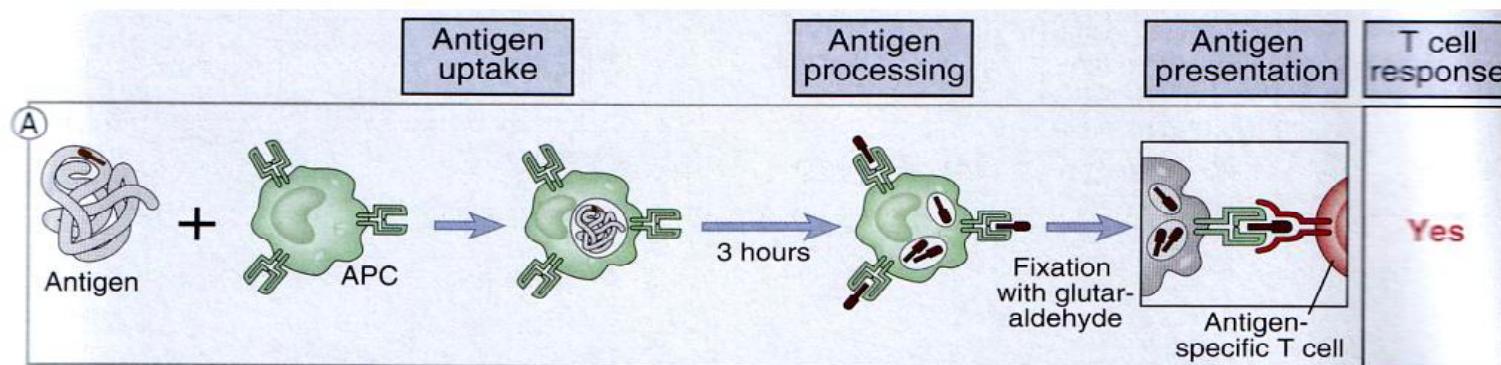
MHC- II klasa antigena

- **NE** nalaze se na **svim** ćelijama sa jedrom
- Nalaze se na B limfocitima, aktivisanim T limfocitima, monocitima, APĆ (antigen prezentujućim ćelijama)

Antigen prezentujuće ćelije – APĆ

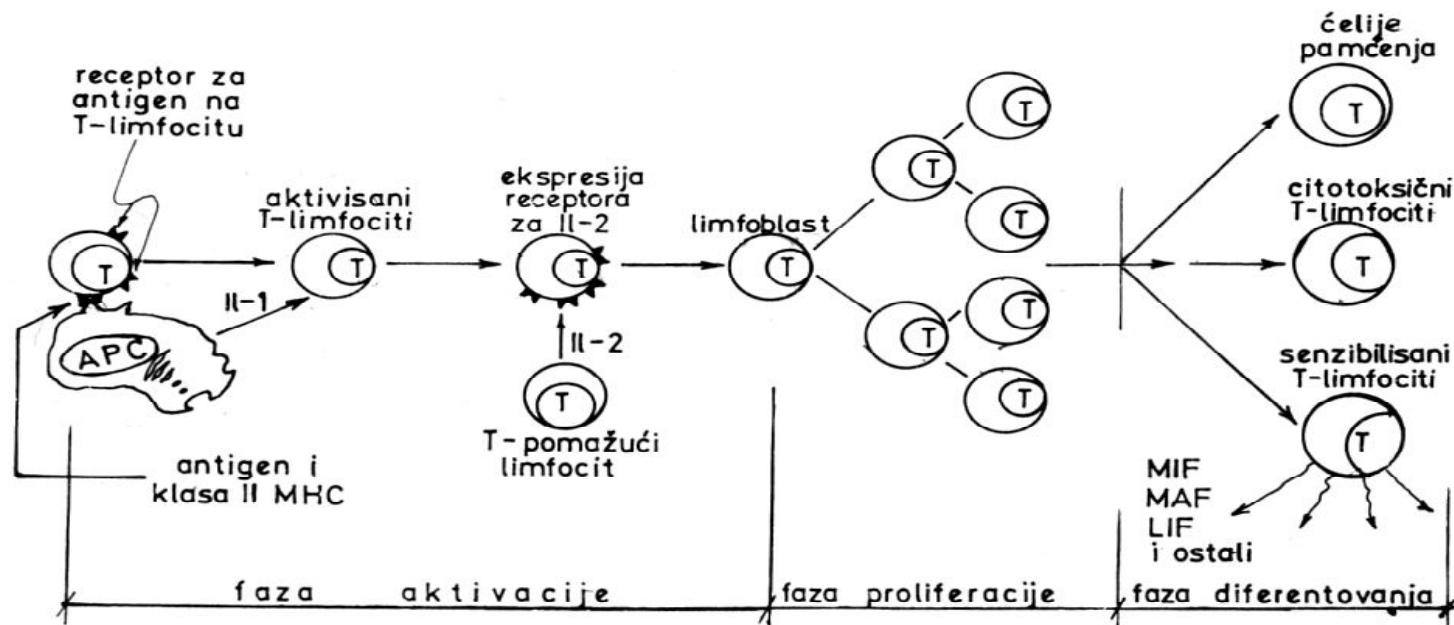
- Prezentuju antigen imunocitima (T i B limfocitima) – vrše obradu antiga
- ✓ Dendritske ćelije – prezentuju T limfocitima
- ✓ Folikularne dendritske ćelije- prezentuju B limfocitima
- ✓ APĆ ima svuda (limfni čvorovi, slezina, timus, koža i dr)
- ✓ imaju veliki broj antiga klase II MHC
- ✓ Imaju receptore za Fc fragment Ig i C3 komponentu komplementa

Obrada antigena



Ćelijski imuni odgovor

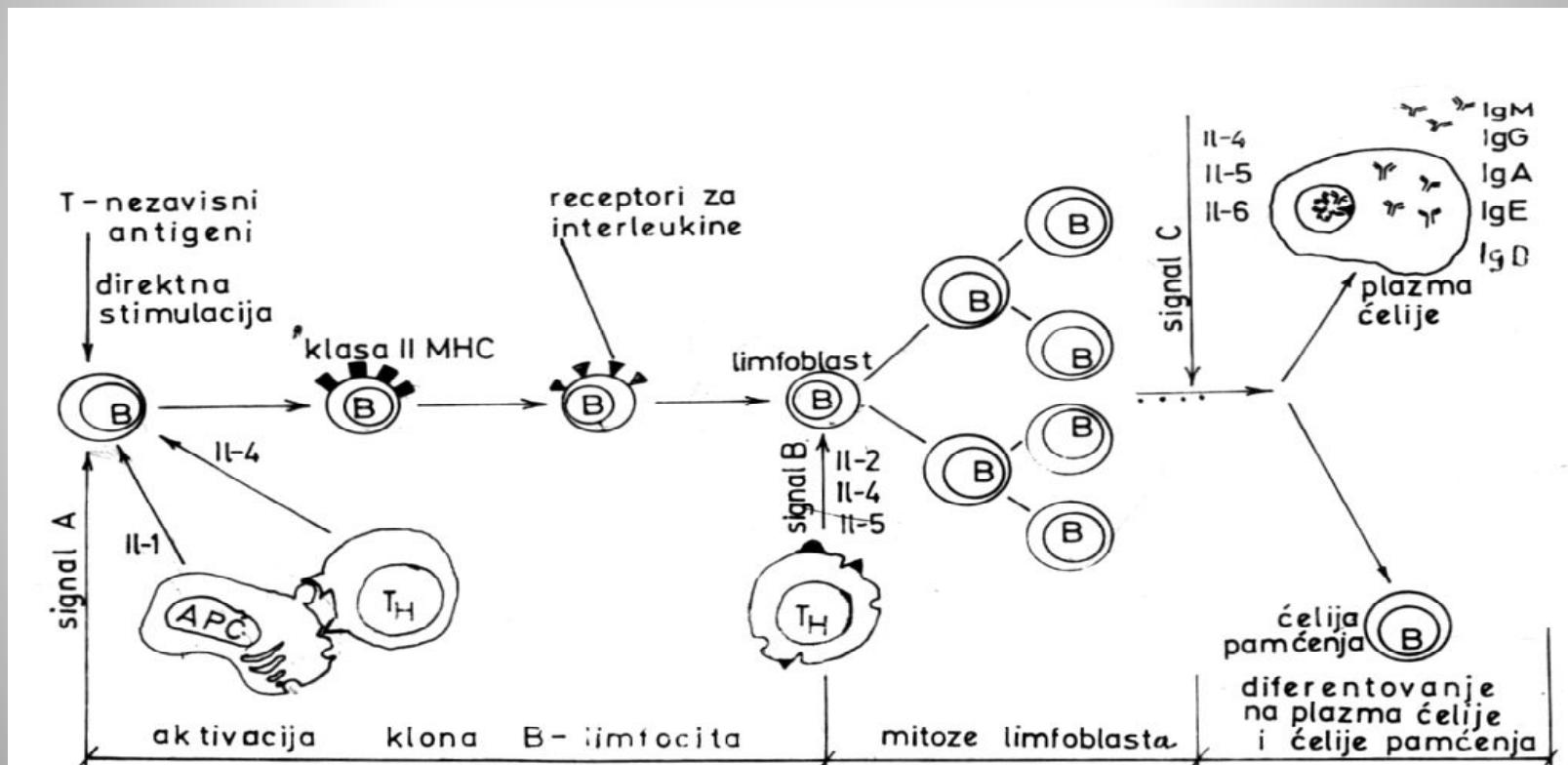
Nosioci ćelijskog imunog odgovora su **T limfociti** a efektori su **senzibilisani T limfociti i citotoksični T limfociti**



Slika 3.4. Diferentovanje populacije T-limfocita

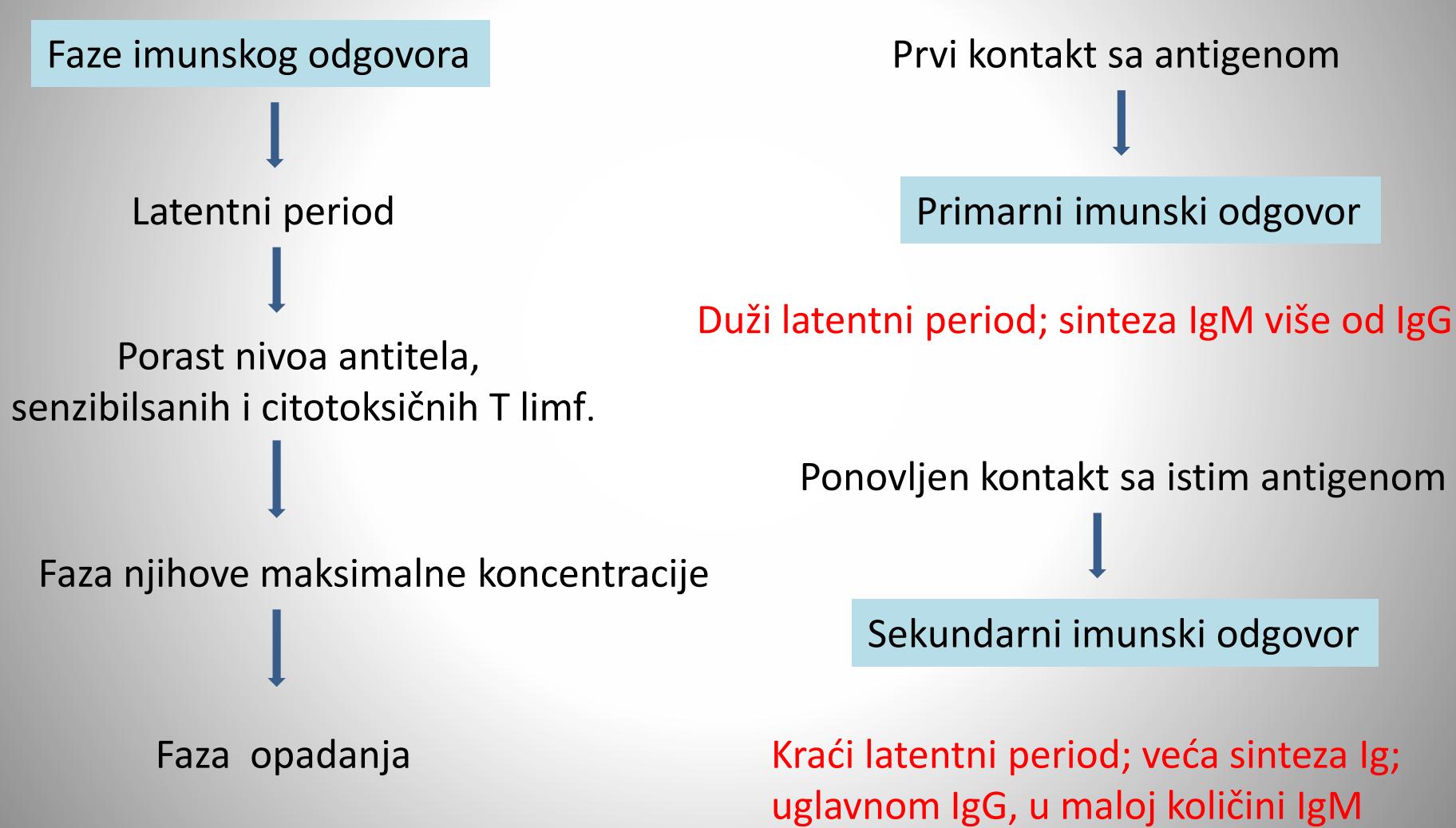
Humoralni imuni odgovor

Nosioci humoralnog imunog odgovora su **B limfociti** a efektori su **antitela**



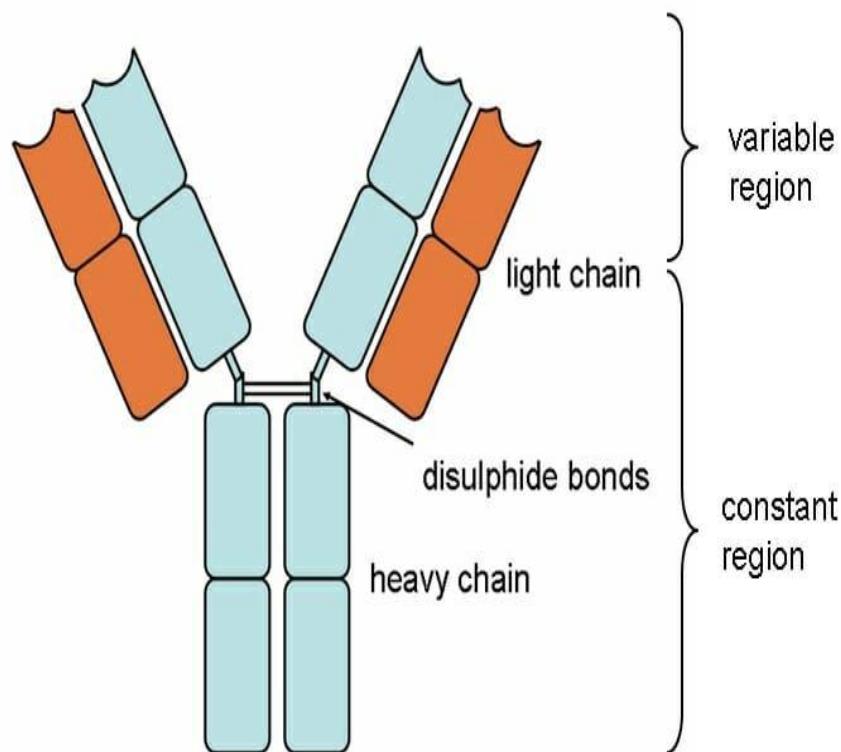
Slika 3.5. Diferentovanje populacije B-limfocita

Primarni i sekundarni imuni odgovor



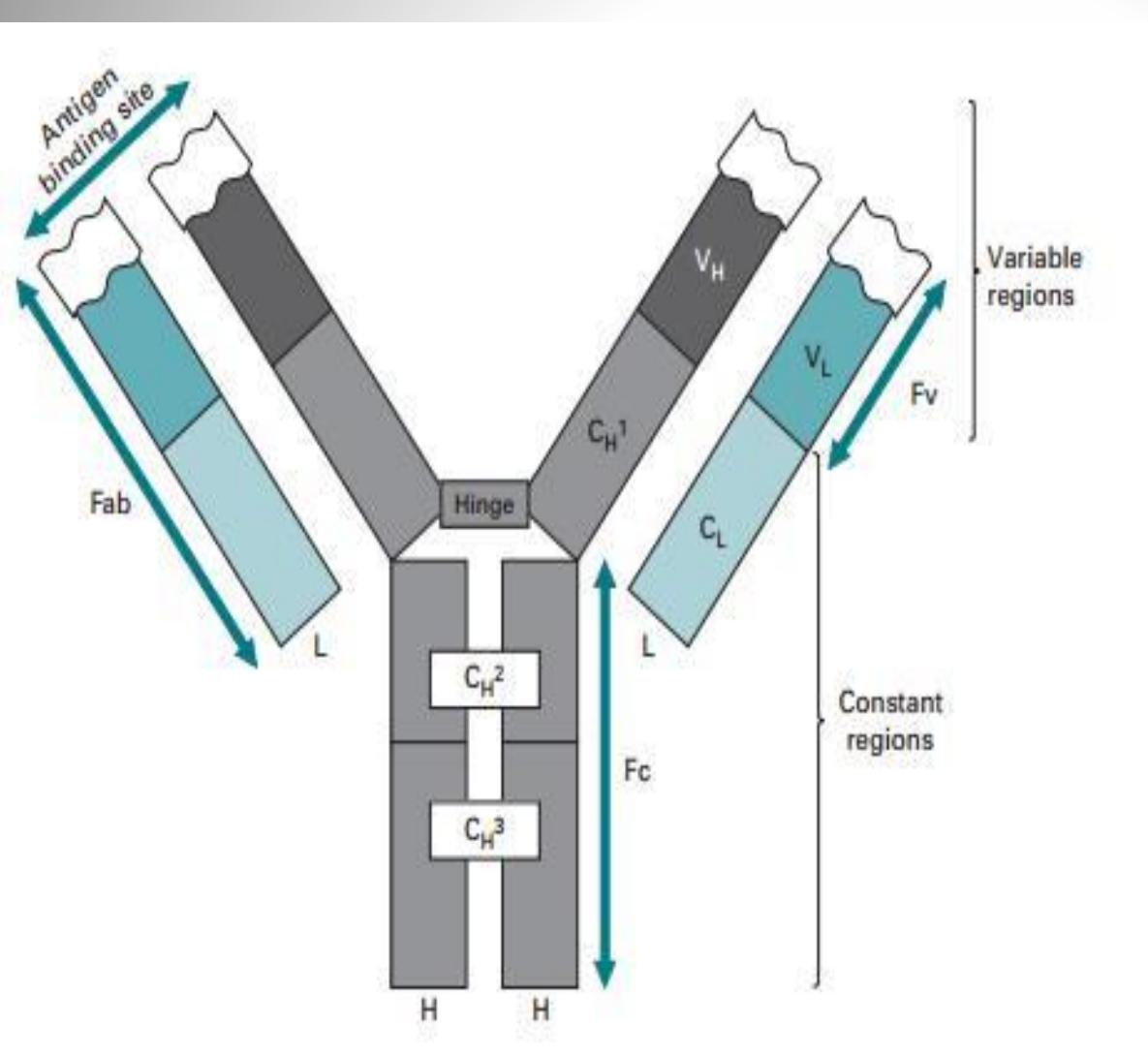
Antitela

Struktura imunoglobulina



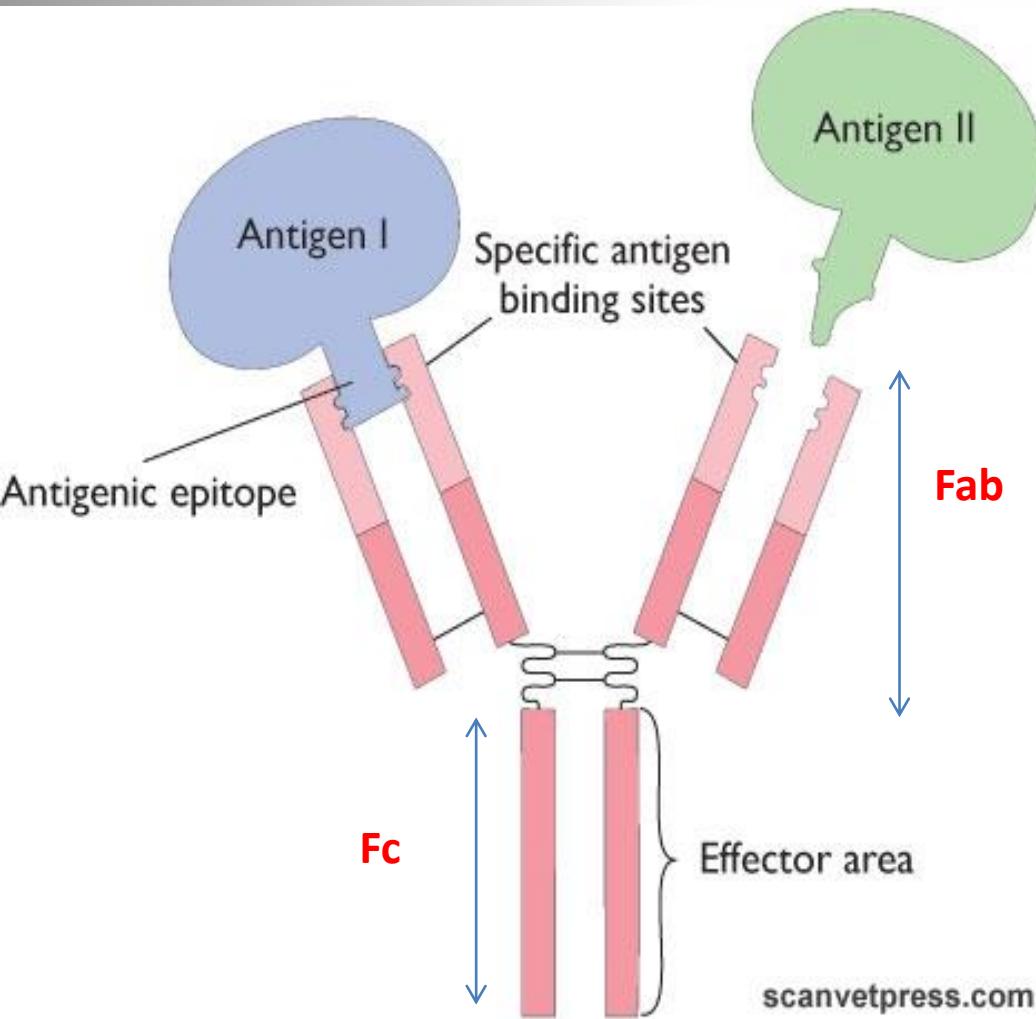
- Četvorolančani heteropolimer
- ✓ 2 polipeptidna identična laka lanca (**L-light**)
- ✓ 2 polipeptidna identična teška lanca (**H-heavy**)
- ✓ teški lanci su spojeni S-S disulfidnim mostovima
- ✓ laki i teški lanci su povezani S-S disulfidnim mostovima
- ✓ na polovini teških lanaca-zglobni region
- ✓ **Y i T oblik Ig**

Regioni i fragmenti imunoglobulina



- V – varijabilni region (paratop)
- C - konstantan region
- **Fab fragment**
(antigen binding fragment)
- **Fc fragment**
(cryostallizable fragment)

Funkcije Fab i Fc fragmenta



Fab fragment:
vezivanje za antigen (oblik Y)

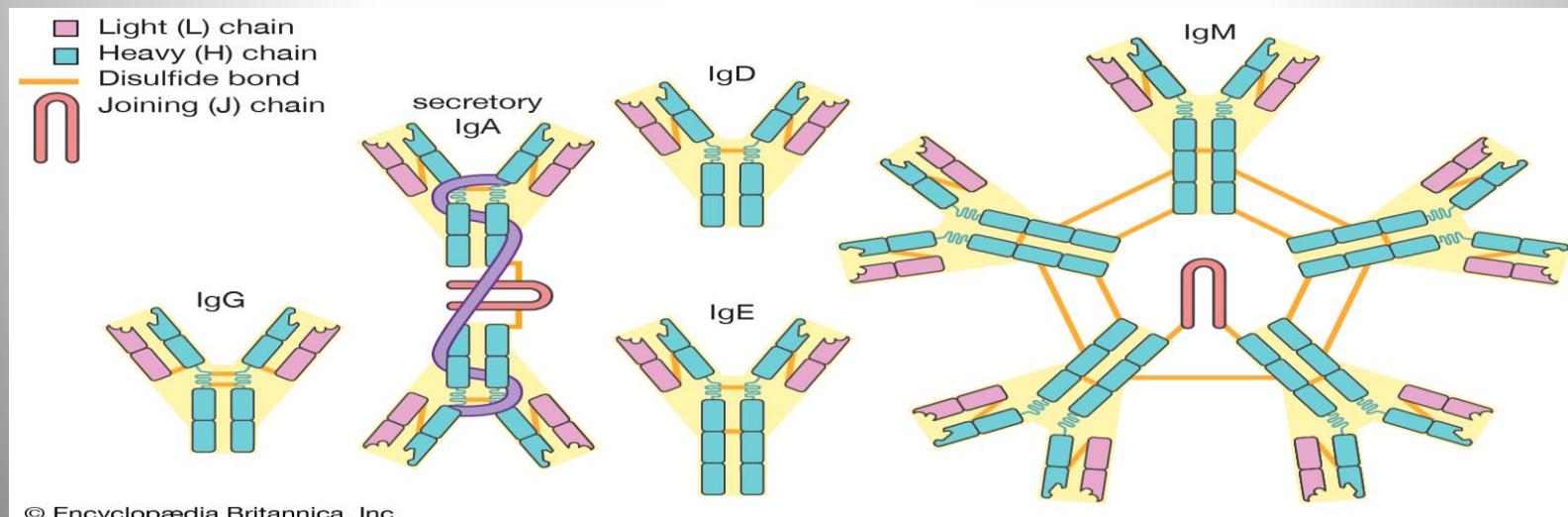
- Fc fragment:**
- a. aktivacija komplementa
 - b. stimulacija fagocitoze
 - c. homocitotropizam-vezivanje za površinu čel. membrane
 - d. sposobnost prolaska Ig kroz placentu

Antigenski markeri

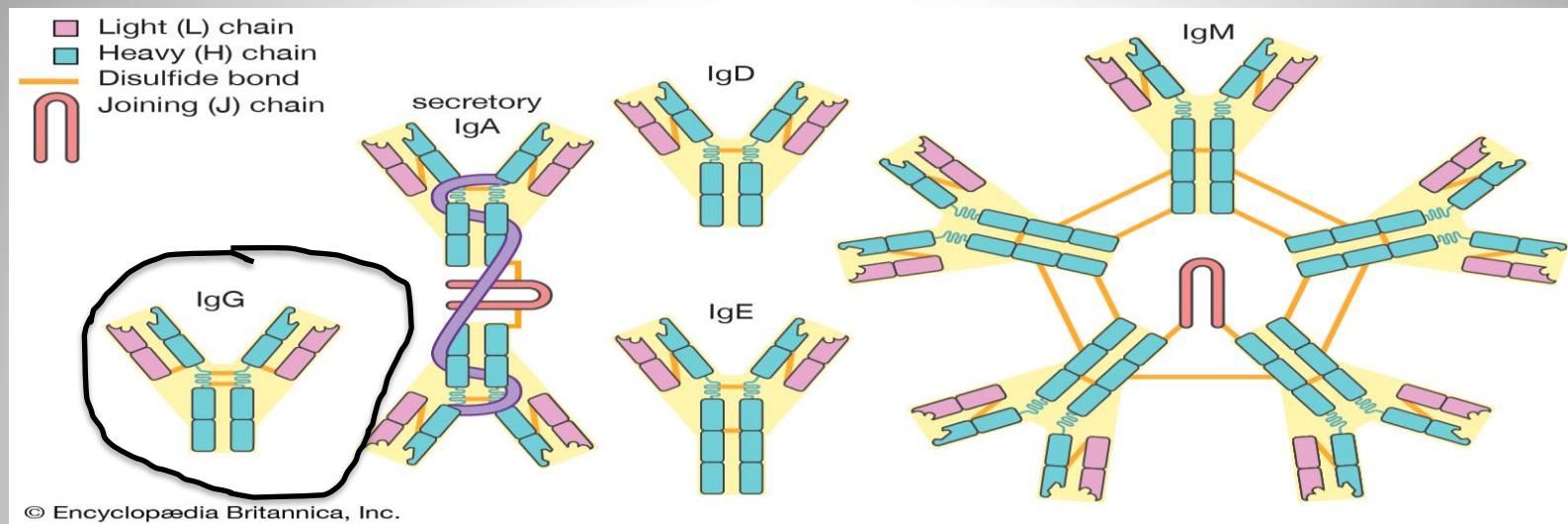
- Antitela su dobri antigeni
- Ubrizgani drugoj životinji dovode do stvaranja **anti-antitela**
- Postoje tri vrste antigenskih markera
 - ✓ Izotipski
 - ✓ Alotipski
 - ✓ Idiotipski

Klase imunoglobulina

- IgG, IgA, IgM, IgD, IgE
- ✓ podela na osnovu razlike u strukturi teških lanaca (γ , δ , ϵ , μ , α)
- ✓ u jednom molekulu Ig može biti samo jedna vrsta teških lanaca
- ✓ podklase Ig utvrđene su kod IgG i IgA
- ✓ postoji dva tipa lakih lanaca: κ (kapa) i λ (lambda)
- ✓ U jednom molekulu Ig može se naći samo jedan tip L lanaca

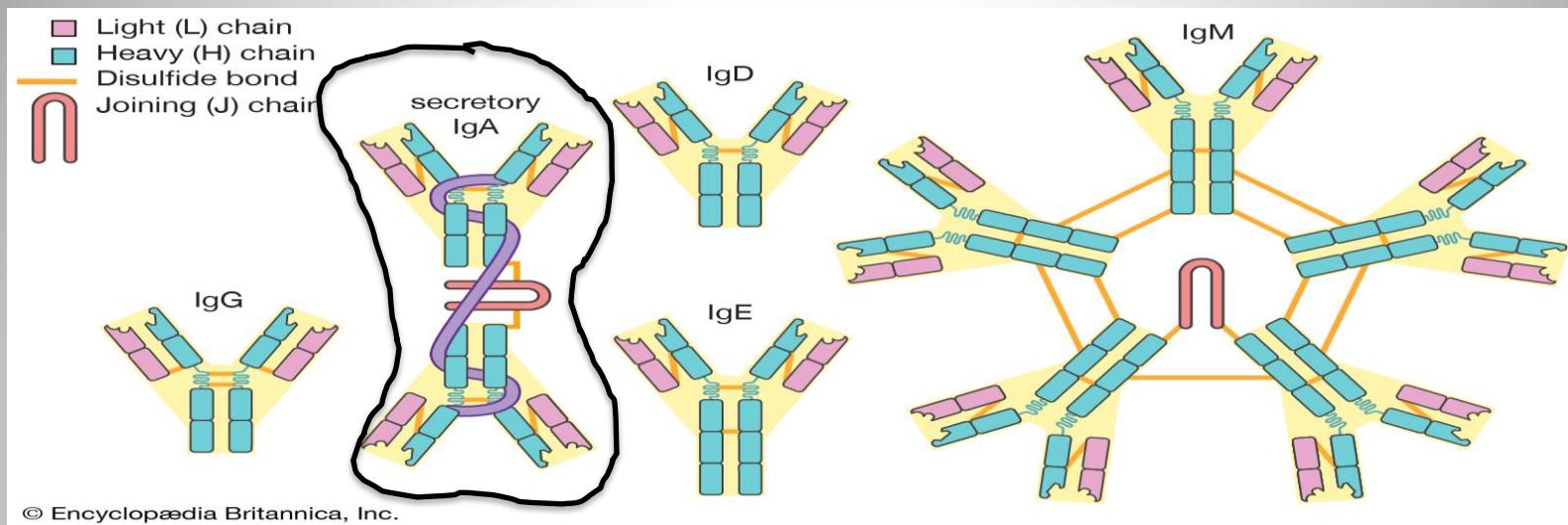


Imunoglobulini G klase (IgG) - monomeri



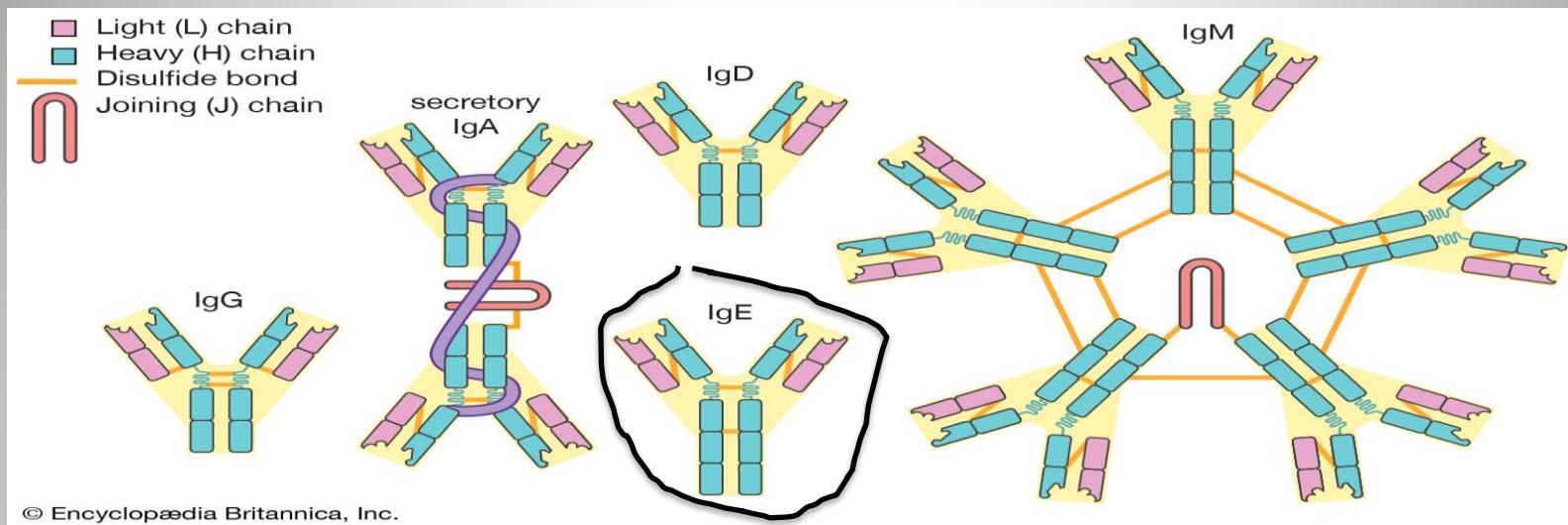
- ✓ koncentracija u krvnom serumu : 10-20 g/L (80% svih imunoglobulina krvi)
- ✓ **glavni Ig sekundarnog imunog odgovora**
- ✓ neutrališu toksine i virusе, stimulišu fagocitozu, aktivиšu komplement
- ✓ **mogu proći kroz placentu** (čovek, mesojedi, glodari)
- ✓ **mogu proći u kolostrum** (IgG1 podklasa kod prezivara)

Imunoglobulini A klase (IgA)



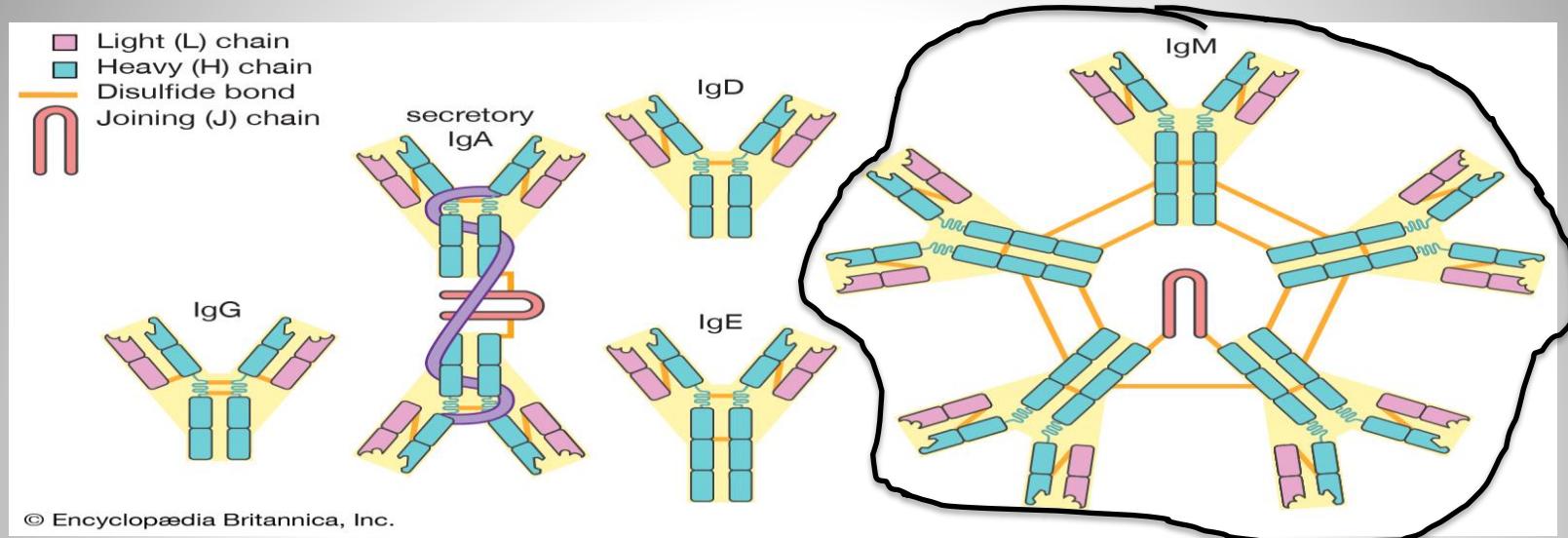
- ✓ nalaze se kao monomeri, dimeri, trimeri
- ✓ 10% od svih imunoglobulina krvi
- ✓ u epitelnim ćelijama monomeri polimerizuju i stabilizuju se sekretornom komponentom (SC) – nastaju slgA
- ✓ egzocitozom se izbacuje slgA na površinu sluzokоже
- ✓ nalaze se u kolostrumu

Imunoglobulini E klase (IgE)



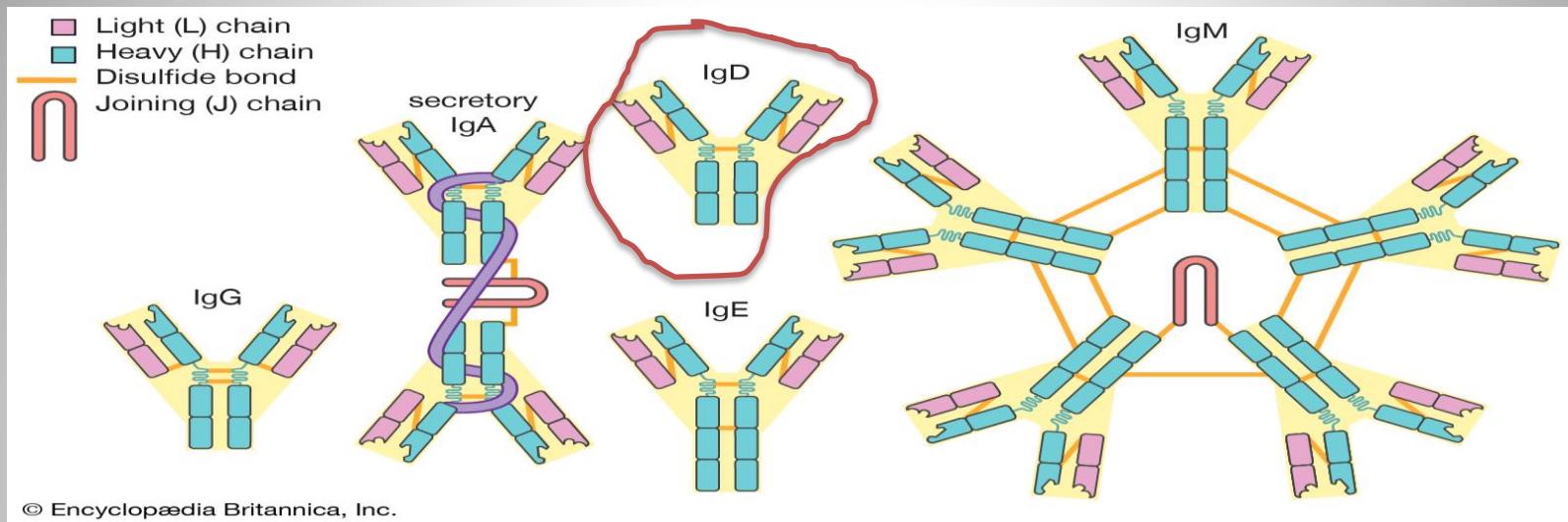
- ✓ niska koncentracija u krvnom serumu: 0,25 g/L
- ✓ oni su homocitotropna antitela (vezuju se za membranu mastocita, bazofila)
- ✓ oslobođanje medijatora (histamina, serotonina) iz tih ćelija izaziva alergijsku reakciju
- ✓ povećan nivo IgE kod parazitskih invazija

Imunoglobulini M klase (IgM)- pentameri



- ✓ koncentracija u krvnom serumu: 1-2 g/L (5-10% svih imunoglobulina krvi)
- ✓ to su **glavni Ig primarnog imunog odgovora**
- ✓ ne prolaze kroz placentu i u kolostrum
- ✓ u klasu IgM spadaju antitela protiv antigena krvnih grupa (izohemaglutinini)
- ✓ može da se sintetiše i u plazma ćelijama submukoze creva (sekretorni IgM)

Imunoglobulini D klase (IgD)- monomeri



- ✓ fiziološka uloga još uvek nepoznata
- ✓ nalaze se kao receptori za antigen na B limfocitima

Reakcije antiga i antitela

- Primarna i sekundarna reakcija
 - ✓ **primarna** je specifična, nevidljiva, traje kratko
 - ✓ **sekundarna** reakcija je vidljiva (precipitacija, aglutinacija, citoliza)

Tip reakcije zavisi od prirode antiga:

- ✓ antigen rastvorljiv- obrazovanje taloga, **precipitata**
- ✓ antigen vezan za površinu ćelije- nastaje **aglutinat**
- ✓ kada antitela vezana za ćelijsku membranu aktiviraju komplement-**citoliza**

Krvne grupe kod ljudi

- Kod ljudi postoje četiri tipa krvnih grupa - **A, B, AB, O**
 - ✓ dva sroдna antigena, tip A i tip B nalaze se na površini eritrocita
 - ✓ antigeni čine eritrocite pogodnim za aglutinaciju (slepljivanje), dobili su ime **aglutinogeni (A i B)**
 - ✓ ovih antigena ima i na površini drugih ćelija (leukociti, trombociti, spermatozoidi)
 - ✓ kao rastvorljivi prisutni su u pljuvačci, seminalnoj plazmi, u folikulskoj tečnosti jajnika
 - ✓ čovek može na svojim ćelijama imati jedan antigen, oba ili nijedan od njih
 - antitela protiv aglutinogena A i B zovu se **aglutinini**
 - pripadaju klasi IgM

Krvne grupe kod ljudi

Nulta grupa – univerzalni davalac, a prima krv samo od svoje grupe

Genotipovi		Krvne grupe	Aglutinogeni	Aglutinini	% učestalosti	
I	OO	O	/	Anti A i anti B	45	
II	OA ili AA	A	A	Anti B	41	
III	OB ili BB	B	B	Anti A	10	
IV	AB	AB	AB	/	4	

Grupa AB- univerzalni pimalac a daju krv samo svojoj grupi

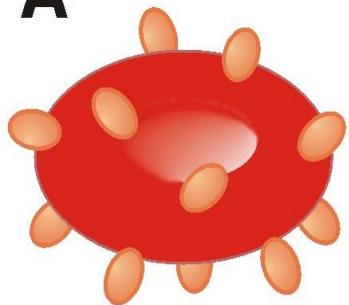
Krvne grupe kod ljudi

	Tip A	Tip B	Tip AB	Tip 0
Eritrociti	Antigen A	Antigen B	Antigeni A i B	Nema antiga ni A ni B
Plazma	Antitelo B	Antitelo A	Nema antitela ni A ni B	Antitela A i B

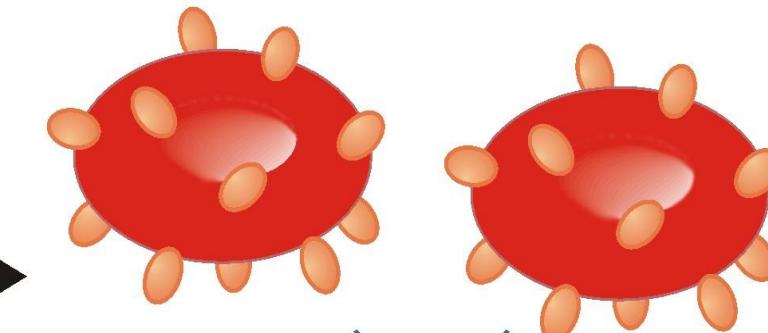
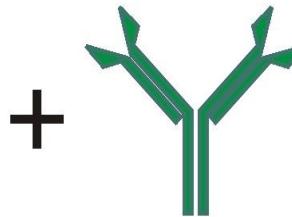
Transfuzijske reakcije kod ljudi

- O-grupa je univerzalni davalac, a prima krv samo od svoje krvne grupe
- Osobe krvne grupe A daju krv svojoj krvnoj grupi i osobama krvne grupe AB
- Osobe B grupe daju krv svojoj i osobama AB grupe
- Osobe AB krvne grupe daju krv svojoj grupi, a primaju krv od svih ostalih krvnih grupa (univerzalni primalac)

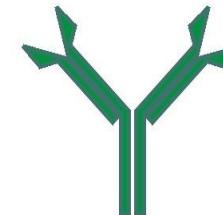
A



Krv davaoca tip A

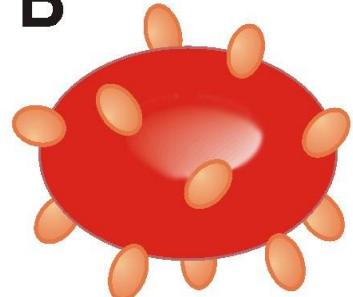


Antigen i antitelo
se ne prepoznaju

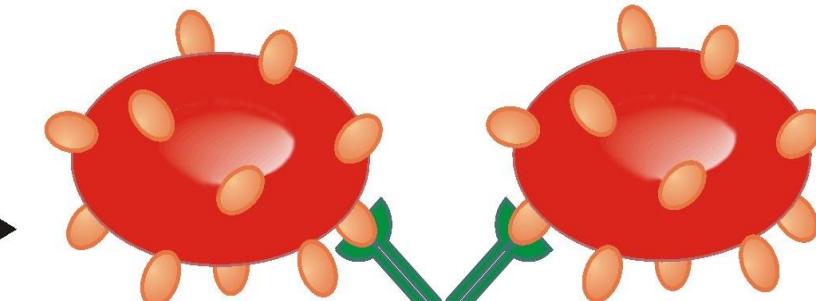
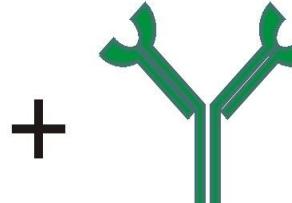


Nema aglutinacije

B

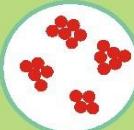
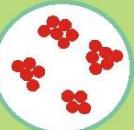
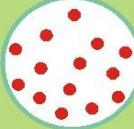
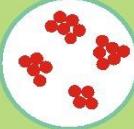
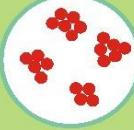


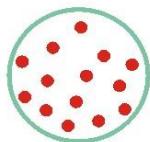
Krv davaoca tip A



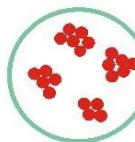
Antigen i antitelo
se prepoznaju

Aglutinacija

Krv primaoca		Reakcija sa krviju davaoca			
Antigeni eritrocita	Antitela u plazmi	Davalac tip 0	Davalac tip A	Davalac tip B	Davalac tip AB
Nema (tip 0)	Anti-A Anti-B				
A (tip A)	Anti-B				
B (tip B)	Anti-A				
AB (tip AB)	(nema)				



Normalna krv



Aglutinirana krv

Rh - sistem

- Rh aglutinogen u membrani eritrocita - Rh faktor
 - ✓ sačinjava ga grupa antigena (D antigen ima najveću antigenost i imunogenost)
 - ✓ Rh (+) osoba – eritrociti imaju D aglutinogen u membrani (85%)
 - ✓ Rh (-) osoba –eritrociti nemaju D aglutinogen u membrani (15%)
- ✓ Rh aglutinogen je dominantno nasledan
- ✓ izbegava se davanje krvi Rh (+) osobe Rh (-) osobi
- ✓ Komplikacije-majka Rh (-) a plod Rh (+)
- ✓ Hemolitička bolest kod mladunaca (ždrebad)

Krvne grupe domaćih životinja

Ne postoji ABO sistem krvnih grupa kao kod ljudi

- ✓ kod govečeta postoji 11 sistema krvnih grupa
- ✓ kod ovaca postoji 7
- ✓ kod svinja postoji najmanje 13

- ✓ tipiziranje krvi - dokazivanje roditeljstva potomaka visokovrednih živ.
- ✓ koristi se za isključivanje roditeljstva ali ne i njegovo dokazivanje
- ✓ koristi se i u selekciji (postoji korelacija: pripadnost krvnoj grupi i proizvodna osobina)

Krvne grupe pasa

Klasifikovane su unutar **DEA** (*Dog Erythrocyte Antigen*, eng.) sistema.

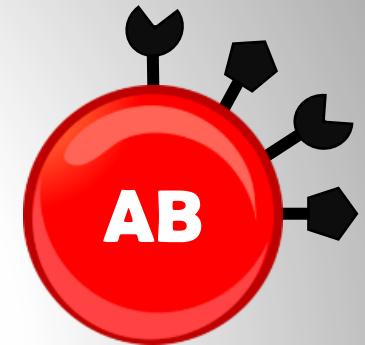
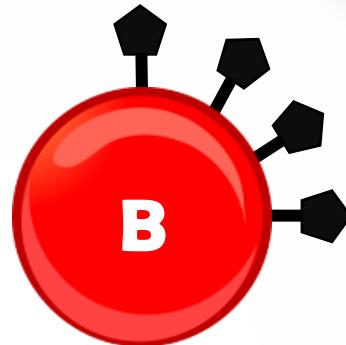
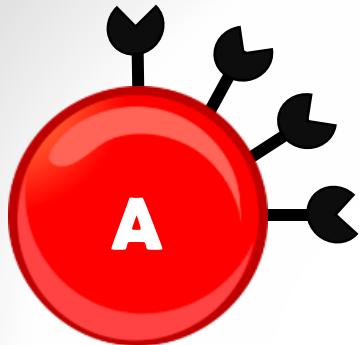
Opisano je barem 13 krvnih grupa, ali je samo **7 standardizovano**.

Psi jedne krvne grupe najčešće **nemaju** urođena antitela na antigene stranih krvnih grupa (**prva transfuzija je bezbedna**).



Krvne grupe mačaka

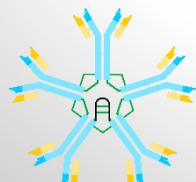
Krvna grupa



Antigen



Antitela



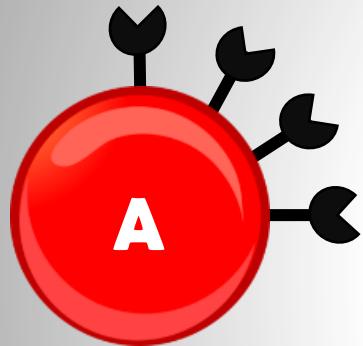
Anti-B

Anti-A

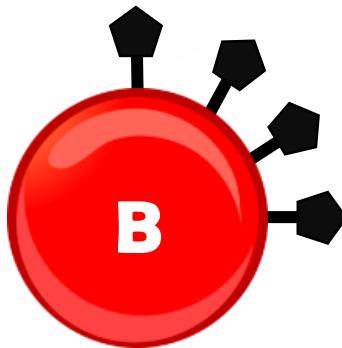
Nema antitela

Krvne grupe mačaka

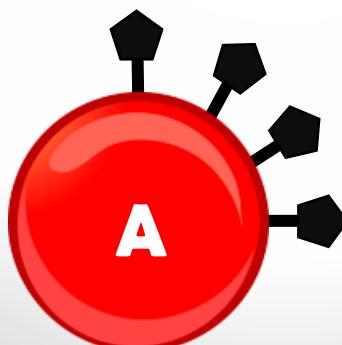
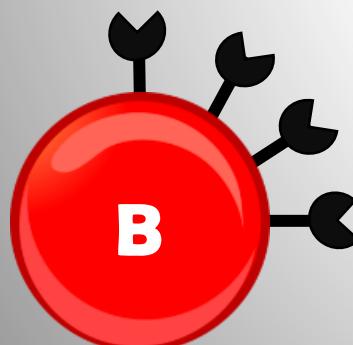
Donor



Recipijent



Teška transfuzijska reakcija
(akutna hemolitička reakcija)



Blaga transfuzijska reakcija
(odložena hemolitička reakcija)

Ispitivanje kompatibilnosti između donora i recipijenta

Test biološke nekompatibilnosti

Recipijentu aplikovati **5 – 20 mL** krvi donora i pratiti reakciju.

Nemir, drhtanje, ubrzan puls, otežano disanje, uriniranje, defeciranje i povraćanje ukazuju na **nekompatibilnost**.



Ispitivanje kompatibilnosti između donora i recipijenta

Unakrsni (*Cross-match*) testovi

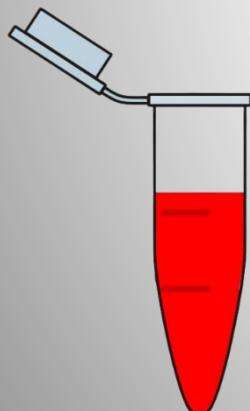
Glavni unakrsni test

- Na mikroskopskoj pločici
- U epruveti

Sporedni unakrsni test

- Na mikroskopskoj pločici
- U epruveti

Donor



Recipijent



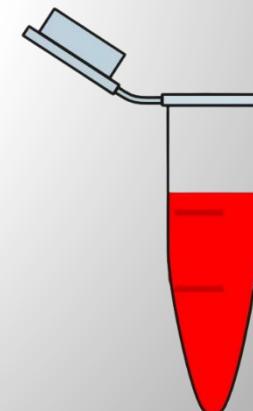
Puna krv
ili eritrociti

Krvna
plazma

Donor



Recipijent



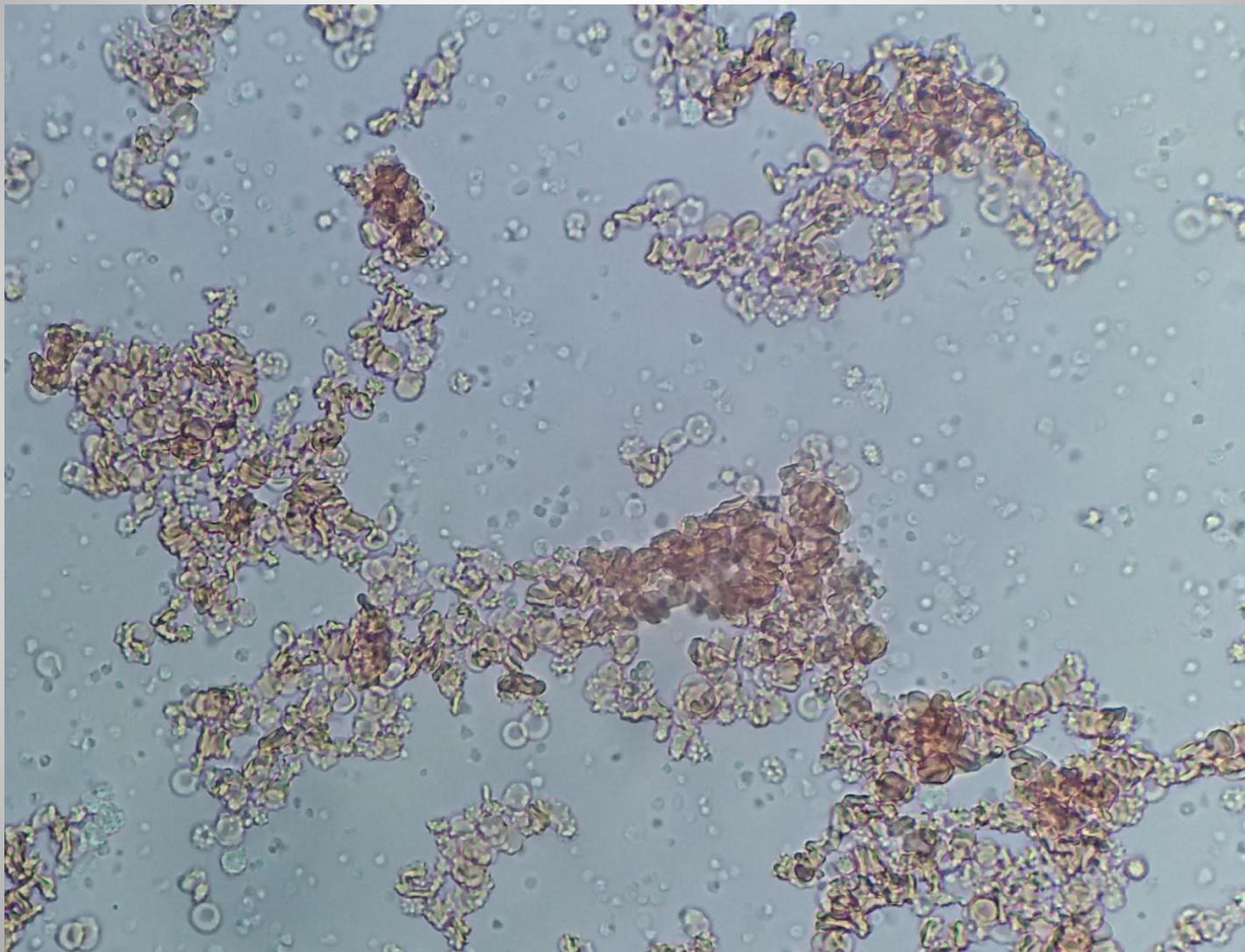
Puna krv
ili eritrociti

Krvna
plazma

Makroskopski pregled na pločici

Aglutinati - nekompatibilnost

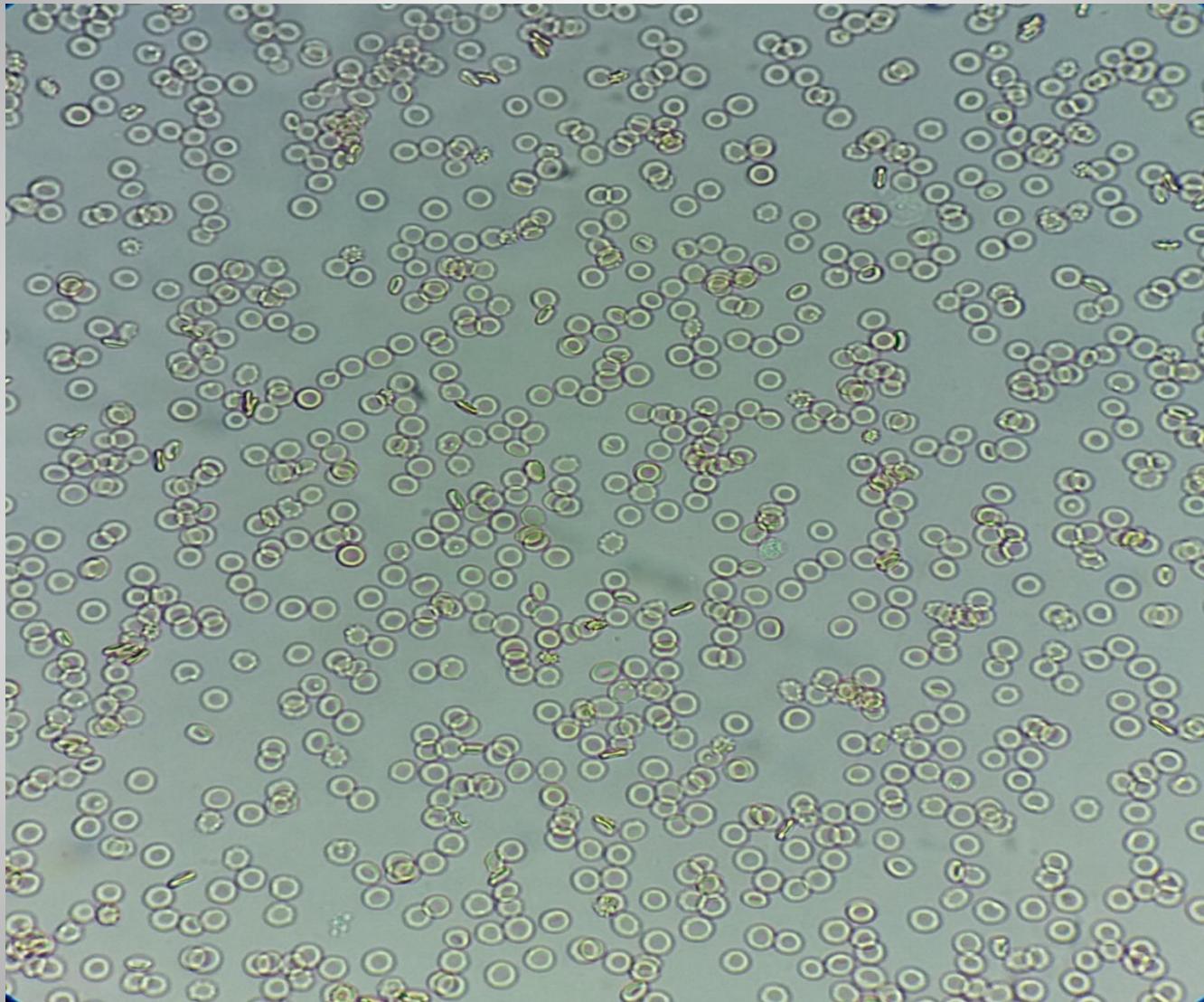
Mikroskopski pregled sedimenta



Aglutinati - nekompatibilnost



Mikroskopski pregled sedimenta



Slobodni eritrociti - kompatibilnost