

Cuprins

Abrevieri	1
1. Istoric	5
2. Răspunsul imun	15
3. Antigenele	19
3.1. Imunogenicitate-antigenicitate	20
3.2. Condițiile ca o moleculă să fie antigenică	20
3.2.1. Condiții dependente de molecula de antigen	21
3.2.2. Condiții dependente de organism	34
3.3. Clasificarea antigenelor	35
3.3.1. Antigenele TD și TI	35
3.3.2. Xenoantigenele, aloantigenele, antigene de organ și de stadiu evolutiv	36
3.4. Antigenele MHC	39
3.4.1. Antigenele MHC de clasa I	39
3.4.2. Antigenele MHC de clasa II	40
3.4.3. Antigenele MHC de clasa III	40
3.5. Antigene tumorale	41
3.6. Alte antigene	41
3.6.1. Antigene virale	42
3.6.2. Antigene bacteriene	45
3.6.3. Antigenele parazitare	48
3.6.4. Antigenele celulare	48
3.7. Superantigenele	50
4. Modalități de apărare a organismului	54
4.1. Rezistența naturală	54
4.1.1. Factori pasivi (tisulari)	55
4.1.2. Factori umorali	56

4.1.3. Factori celulari	69
4.1.3.1. Polimorfnele neutrofile	70
4.1.3.2. Eozinofilele	72
4.1.3.3. Bazofilele și mastocitele	72
4.1.3.4. Trombocitele (plachetele)	73
4.1.3.5. Monocite/macrofage	73
4.1.3.6. Celulele NK	80
4.2. Toleranța imunologică	81
4.2.1. Toleranța naturală	81
4.2.2. Toleranța dobândită	82
4.3. Imunitatea dobândită	83
4.3.1. Imunitatea activă	83
4.3.2. Imunitatea pasivă	84
4.3.3. Imunitatea de protecție	84
4.3.4. Imunitatea antitumorală	85
5. Imunoglobulinele și răspunsul imun umoral	86
5.1. Structura imunoglobulinelor	86
5.2. Studiul prin digestie enzimatică a imunoglobulinelor	87
5.3. Domeniul imunoglobulinic	93
5.4. Structura lanțurilor grele (H)	94
5.5. Regiunea balama	95
5.6. Structura lanțurilor ușoare	96
5.7. Molecule accesorii	98
5.8. Situsul de legarea a antigenului	100
5.9. Antigenicitatea imunoglobulinelor: izotipuri, alotipuri, idiotipuri	102
5.10. Funcțiile imunoglobulinelor	104
5.11. Clasele și subclasele de imunoglobuline	106
5.11.1. Imunoglobulina G	106
5.11.1.1. Receptorii Fc	108
5.11.2. Imunoglobulina M	108
5.11.3. Imunoglobulina A	111
5.11.4. Imunoglobulina B	112

5.11.5. Imunoglobulina E	113
5.12. Situsul combinativ. Afinitate și aviditate	114
5.12.1. Domenii	114
5.12.2. Situsul combinativ (structură, funcționalitate)	116
5.12.2.1. Structură	116
5.12.2.2. Funcționalitate	116
5.12.3. Afinitate și aviditate	117
5.12.3.1. Afinitatea	117
5.12.3.2. Aviditatea	117
5.12.3.3. Factori care influențează afinitatea și aviditatea la nivel molecular	118
5.13. Biosinteza și catabolismul imunoglobulinelor	119
5.13.1. Biosinteza imunoglobulinelor	119
5.13.1.1. Sinteza independentă a lanțurilor H și L	119
5.13.1.2. Asamblarea intracitoplasmatică a lanțurilor H și L	119
5.13.1.3. Polimerizarea sau dimerizarea	119
5.13.1.4. Cuplarea componentei glucidice	120
5.13.1.5. Rolul nucleotidelor ciclice	120
5.13.1.6. Rolul concentrației imunoglobulinelor în tumori	120
5.13.2. Catabolismul imunoglobulinelor	121
5.13.2.1. Rata de catabolizare	121
5.13.2.2. Sediul de catabolizare	121
5.13.2.3. Mecanismul de catabolizare a Ig	122
5.14. Diversitatea anticorpilor	123

5.14.1. Variația allotipică	123
5.14.2. Variația idiotipică	124
5.15. Utilizarea anticorpilor	125
5.16. Anticorpi monoclonali	126
5.16.1. Crearea anticorpilor monoclonali	126
5.16.2. Utilizarea anticorpilor monoclonali	128
5.17. Imunoglobulinele de membrană	130
5.18. Dinamica răspunsului umoral	131
5.18.1. Imunitatea umorală sistemică	131
5.18.2. Imunitatea umorală locală	133
5.18.2.1. Înglobarea și prezentarea antigenului	133
5.18.2.2. Sinteza secvențială a IgA secretorii	134
5.18.2.3. Modularea adaptativă a sintezei de IgA secretorii	134
5.19. Teorii asupra formării anticorpilor	135
5.19.1. Teorii "instructive"	135
5.19.2. Teorii "selective"	136
5.20. Genetica Ig și generarea diversității anticorpilor	137
5.20.1. Cromozomii, exonii, intronii și rearanjarea genelor pentru Ig	138
6. Complexul major de histocompatibilitate	148
6.1. Caracteristici ale antigenelor de histocompatibilitate	150
6.2. Distribuția moleculelor MHC	155
6.3. Structura moleculelor MHC	156
6.3.1. MHC I	156
6.3.1.1. Rol biologic	158
6.3.1.2. Restricția de histocompatibilitate	159
6.3.1.3. Modul de apariție a complexului MHC I –	

peptida anigenică	160
6.3.2. MHC II	161
6.3.2.1. Rol biologic	162
6.3.2.2. Restricția de histocompatibilitate	163
6.3.2.3. Modul de apariție a MHC II – peptida antigenică	163
6.4. Funcțiile MHC	165
6.1. Generarea liganzilor celulelor T	166
6.1.1. Generarea liganzilor pentru MHC I	170
6.1.2. Generarea liganzilor pentru MHC II	174
7. Organele limfoide	179
7.1. Organele limfoide primare	179
7.1.1. Timusul	179
7.1.1.1. Zona corticală	180
7.1.1.2. Zona medulară	181
7.1.2. Măduva osoasă	183
7.2. Organele limfoide secundare	184
7.2.1. Ganglionii limfatici	184
7.2.2. Splina	187
7.2.3. Amigdalele	188
7.2.4. Plăcile Peyer	188
7.2.5. Apendicele	188
8. Celulele implicate în răspunsul imun	191
8.1. Limfocitele	191
8.1.1. Clasa limfocitelor B (LB)	194
8.1.2. Limfocitele T (LT)	196
8.1.2.1. Limfocitele T helper	198
8.1.2.2. Limfocitele T citotoxice	198
8.1.2.3. Limfocitele T supresoare	199
8.1.2.4. Limfocitele T amplificatoare	200

8.1.3. Celulele celei de "a treia clase"	200
8.1.3.1. Celulele NK	200
8.1.3.2. Celulele LAK	201
8.2. Celulele prezentatoare de antigen (APC)	202
8.2.1. Macrofagele	202
8.2.2. Celulele dendritice	204
8.2.3. Astrocitele	204
8.2.4. Celulele Langerhans	204
9. Structuri moleculare de membrană cu rol imunologic	206
9.1. Markerii CD – clasele de diferențiere	207
9.I. Receptorul pentru antigen al celulei T	209
9.I.1. Alți markeri T	211
9.I.2. Structura TCR $\alpha\beta$	213
9.I.3. Structura TCR $\gamma\delta$	217
9.II. Receptorul pentru antigen al celulelor B	217
9.II.1. Alți markeri ai celulelor B	220
9.III. Receptorii Fc, receptorii pentru complement, receptorul poli-Ig, receptorii pentru citokine	221
9.III.1. Receptorii Fc	221
9.III.2. Receptorii pentru complement	222
9.III.3. Receptorul poli-Ig	223
9.III.4. Receptorii pentru citokine	224
9.IV. Moleculele de adeziune celulară	224
9.IV.1. Integrinele	227
9.IV.2. Selectinele	228
9.IV.3. Superfamilia de imunoglobuline	229
9.IV.4. Familia cadherine	230
9.IV.5. Molecule similare mucinelor	231
9.IV.6. Alte CAM	231
9.IV.7. Molecule de adeziune solubile	232
10. Mediatorii moleculari ai răspunsului imun	233
10.1. Citokinele	233

10.1.1. Interleukinele	237
10.1.2. Factorii de necroză tumorală (TNF)	242
10.1.3. Interferonii	243
10.1.4. Prostaglandinele (PG)	244
10.1.5. Factorii de stimulare ai coloniilor celulare	245
10.1.6. Factorii de transformare a creșterii	246
10.1.7. Chemokinele	246
10.2. Hormonii timici	247
10.2.1. Fragmente timice cu rol endocrin	247
10.2.2. Activitatea biologică in vitro	247
10.2.3. Utilizare clinică a hormonilor timici	248
11. Dezvoltarea și activarea limfocitelor T	256
11.1. Limfocitele T $\gamma\delta$	261
11.2. Activarea limfocitelor T	261
11.2.1. Moleculele accesorii	263
11.2.2. Moleculele co-receptor: CD4, CD8	263
11.2.3. Moleculele co-stimulatorii	266
11.2.4. Integrinele implicate în adeziunea limfocitelor T la alte celule	270
11.2.5. Evenimentele biochimice și moleculare intracelulare din activarea limfocitelor T	271
11.2.6. Activarea factorilor transcripționali ai limfocitelor T	272
12. Dezvoltarea și activarea limfocitelor B	277
12.1. Receptorul pentru antigen al limfocitelor B	285
12.2. Evenimentele biochimice intracelulare ale activării limfocitelor B	287
12.3. Producerea anticorpilor de către limfocitele B	288
12.4. Răspunsul limfocitelor B la antigene T-	

dependente	288
12.5. Rolul citokinelor secretate de celulele T helper în activarea limfocitelor B	289
12.6. Reacții din centrul germinal: maturarea de afinitate și generarea celulelor B cu memorie	290
12.7. Răspunsul limfocitelor B la antigene T-independente	292
13. Fazele răspunsului imun și cooperarea dintre celulele implicate	294
13.1. Faza de recunoaștere a antigenului	294
13.1.1. Intrarea limfocitelor în organele limfoide secundare și recircularea lor	296
13.1.2. Prezentarea antigenului de către APC profesionale	297
13.2. Faza de activare	297
13.3. Faza efectoare	298
13.I. Răspunsul imun în acțiune	300
13.I.1. Imunitatea antitumorală	300
13.I.2. Imunitatea antiinfecțioasă	300
13.I.2.1. Imunitatea naturală	300
13.I.2.2. Imunitatea indusă	300
13.I.2.3. Imunitatea antibacteriană	302
13.I.2.4. Imunitatea antivirală	304
13.I.2.4.1. Antigene virale	305
13.I.2.4.2. Imunitatea umorală în viroze	306
13.I.2.4.3. Imunitatea celular-mediată antivirală	307
13.I.2.4.4. Citotoxicitatea naturală și virusurile	308
13.I.2.4.5. Autoimunitatea și virusurile	308
13.I.2.4.6. Imunosupresia virală	309

13.I.2.4.7. Imunotoleranța și virusurile	310
13.I.2.4.8. Imunopotențarea virală	310
13.I.2.5. Imunitatea antiparazitara	311
13.I.2.5.1. Antigene parazitare	311
13.I.2.5.2. Imunitatea umorală antiparazitara	312
13.I.2.5.3. Imunitatea mediata celular în parazitose	313
13.I.2.5.4. Aspecte imunopatologice în parazitose	313
13.I.2.6. Imunitatea în micoze	314
13.I.2.6.1. Imunitatea protectoare	314
13.I.2.6.2. Imunopatologie	315
14. Proprietățile limfocitelor efector	316
14.1. Citotoxicitatea mediata de celulele T	317
14.2. Activarea macrofagelor de către limfocitele T _H 1 CD4 ⁺	319
15. Toleranța la self și autoimunitatea	321
16. Reacțiile de hipersensibilitate	324
16.I. Aspecte particulare ale imunității	327
16.I.1. Imunitatea gestațională	327
16.I.1.1. Sarcina fiziologică	327
16.I.1.2. Sarcina patologică	329
16.I.2. Relațiile imuno-neuro-endocrine	330
16.I.2.1. Aspecte fundamentale	330
16.I.2.2. Intervenția relațiilor imuno-neuro-endocrine în patologie	332
17. Imunodeficiențe	333
17.1. ID ereditate	334
17.1.1. Defecte ale limfocitelor B	334
17.1.2. Defecte ale limfocitelor T	335

17.1.3. Defecte ale sistemului complement	336
17.1.4. Defectele fagocitelor	337
17.2. ID secundare – infecția HIV/SIDA	338
17.2.1. Organizarea genomului HIV	339
17.2.2. Ciclul de viață al HIV	340
17.2.3. Patogenia infecției HIV	341
17.2.4. Boala clinică aparentă (SIDA)	342
17.I. Principii de imunoterapie	343
17.I.1. Imunoterapia antigen specifică	343
17.I.1.1. Imunostimularea	343
17.I.1.2. Imunosupresia	346
17.I.2. Imunoterapia independentă de antigen	347
17.I.2.1. Imunostimularea	347
17.I.2.2. Imunosupresia	347
Glosar	349
Bibliografie	369

ABREVIERI

AA:	Aminoacid
Ac:	Anticorp
AcMo:	Anticorp monoclonal
ADCC:	Citotoxicitate celulară dependentă de anticorpi (Antibody dependent cell-mediated cytotoxicity)
ADP:	Adenozin difosfat
AFP:	Alfa fetoproteină
Ag:	Antigen
APC:	Celulă prezentatoare de antigen (antigen presenting cell)
β 2-m:	β 2-microglobulina
BCR:	Receptorul pentru antigen al limfocitului B
C':	Sistemul complement
C:	Regiunea constantă a imunoglobulinei
CAM:	Moleculă de adeziune celulară (cell adhesion molecules)
CD:	Clasă de diferențiere
CDF:	Celule dentritice foliculare
CDR:	Regiune determinantă a complementarității
CI:	Complexe imune
CIC:	Complexe imune circulante
CL:	Celule langerhans
CLIP:	Peptid al lanțului invariabil asociat MHC de clasa II
CMV:	Virusul citomegalic
CR:	Receptor de complement (complement receptor)
CRP:	Proteina C reactivă (C-reactive protein)
CSF:	Factorul de stimulare a coloniilor (colony stimulating factor)
DA _g :	Diacil glicerol fosfat
DAF:	Factor de accelerare a degradării

DC:	Celule dendritice (dendritic cell)
EC:	Celule endoteliate
ECF:	Factorul chemotactic pentru eozinofile (eosinophil chemotactic factor)
EGF:	Factorul de creștere a epitelului (epidermal growth factor)
ELAM:	Molecula de adeziune endotelio-leucocitară
Fab:	Fragment (antigen binding) variabil al imunoglobulinelor
Fb:	Fibroplast
Fc:	Fragment constant, cristalizabil, al imunoglobulinelor
FcR:	Receptor celular pentru fragmentul Fc al imunoglobulinelor
FDC:	Celule dendritice foliculare
FR:	Regiunea cadru ("framework")
Gly-CAM:	Molecule de adeziune celulară dependente de glicozilare (glycosylation-dependent cell adhesion molecule)
GDP:	Guanozin difosfat
GM-CSF:	Factor de creștere granulocitar-monocitar
H:	Lanțul greu al imunoglobulinelor
HAV:	Virusul hepatitei A
HBV:	Virusul hepatitei B
HEV:	Venule endoteliate postcapilare
HLA:	Antigene leucocitare umane (de histocompatibilitate)
HRF:	Factor omolog de restricție
HSP:	Proteina de șoc termic
ICAM:	Moleculă de adeziune intercelulară
IFN:	Interferon
Ig:	Imunoglobulină
li:	Lanț invariabil
IL:	Interleukine

IL-R:	Receptor pentru interleukină
IP ₃ :	Inozitol trifosfat
KB:	Secvență a lanțului ușor K al Ig
KD:	Kilodalton
L:	Lanțul ușor al imunoglobulinelor
LB:	Limfocit B
LAK:	Celule ucigașe activate de limfocite
LCA:	Antigen leucocitar comun (leukocyte common antigen)
LPS:	Lipopolizaharid
LT:	Limfocite T
MAC:	Complexul de atac al membranei (membrane attack complex)
MAP-Cam ₁	Moleculă de adeziune celulară de tipul adresinelor mucoasei (mucosal addressin cell adhesion molecule 1)
MAP-kinaze	Proteinkinaze activate de mitogen
MAF:	Factor de activare al macrofagului (macrophage activating factor)
MC:	Mastocit
M-CSF:	Factorul de stimulare a coloniilor de monocite
MG-CSF:	Factorul de stimulare a coloniilor de macrofage și granulocite
MHC:	Complexul major de histocompatibilitate (major histocompatibility complex)
mlg:	Imunoglobulină membranată
MIRL:	Inhibitor de membrană a lizei reactive (membrane inhibitor of reactive lysis)
MRF:	Factor de restricție omolog (homologous restriction factor)
NCF:	Factorul chemotactic pentru neutrofile (neutrophil chemotactic factor)
N-CAM:	Neural cell adhesion molecule
NGF:	Factorul de creștere neurală (neural growth factor)

NF-AT _c :	Factor nuclear de activare al limfocitelor T (nuclear factor of activate T cells)
NO:	Oxid nitric
PG:	Prostaglandine
PMN:	Leucocite polimorfonucleare
PTK:	Protein tirozin kinază
PTP:	Protein tirozin fosfatază
PLC:	Fosfolipaza Cy ₁
PIP ₂ :	Fosfatidil inozitol difosfat
P:	Trombocite-plachete
NK:	Celulă spontan ucigașă (natural killer)
SAM:	Factor de armare specific al macrofagului (specific macrophage arming factor)
SOD:	Superoxid
Tc:	Limfocit T citotoxic
TCR:	Receptorul de antigen al limfocitelor T (T-cell receptor)
TD:	Toxina dermatitei exfolitive
TGF:	Factorul de creștere transformant (transforming growth factor)
Th:	Limfocit T helper
TNF:	Factorul de necroză tumorală (tumour necrosis factor)
Ts:	Limfocit T supresor
TSST-I:	Toxina sindromului de șoc toxic
Tx:	Tromboxan
V:	Regiune variabilă a imunoglobulinei
VCAM:	Molecula de adeziune vasculară
V-CAM ₁ :	Vascular cell adhesion molecule ₁
VEC:	Celulele endoteliului venulelor postcapilare
VEGF:	Factor de creștere vasculară
VLA:	Antigen de activare (integrină) care apare târziu (very late antigen)
vWf:	Factor von Willebrand

CAPITOLUL 1

ISTORIC

Imunologia studiază structura și funcționarea sistemului imun. Termenul **imunitate** (lat. immunis) semnifică la origine scutirea unor persoane de a presta anumite servicii (de obicei militare) față de statul roman, iar în prezent denotă persoanele "scutite" de boală. În cepturile imunologiei ca știință preced cu mult perioada în care s-a demonstrat existența microorganismelor cauzatoare de boli și a unui sistem imun capabil să protejeze indivizii față de îmbolnăviri. Imunologia a debutat prin observația că persoanele care reușeau să supraviețuiască unei boli, ulterior nu mai făceau acea boală. Astfel istoricul grec Tucidide, în descrierea războiului peloponesiac, nota că, în timpul unei epidemii din Atena, bolnavii puteau fi îngrijiți doar de persoanele care avuseseră boala și se vindecaseră pentru că acești indivizi nu mai dezvoltau boala a doua oară.

Încă din antichitate, medicii rămași prin scrierile lor în memoria umanității și a practicii medicale, precum Hippocrate – în lumea greacă –, Galen – în cea romană – și Avicenna – în aria Orientului Apropiat, au remarcat, cu prilejul marilor epidemii (holeră, rujeolă, gripă, ciumă) că persoanele care au trecut printr-o boală, fără sfârșit letal, nu mai contractau, de regulă, afecțiunea respectivă, ulterior, în cursul vieții.

Perioadei empirice îi aparțin și numeroase observații în același sens din timpul Evului Mediu și epocii feudale, furnizate îndeosebi de călugării care îngrijeau suferinții prin lazarete sau bolnițele de lângă mănăstiri.

Această etapă se încheie cu descoperirea și aplicarea primei vaccinări, cea antivariolică, de către Edward Jenner, în

1798. El a remarcat, în cursul evoluției unui val epidemic de variolă, în aria rurală pe care o asigura din punct de vedere medical în Anglia, că mulgătorii de vite nu se îmbolnăveau. Dorind să explice fenomenul, Jenner a rămas surprins să constate că mâinile pe mulgătorilor se găseau leziuni veziculoase asemănătoare celor din erupția variolică, prezente de asemenea și pe ugerul vitelor. Raționând deopotrivă simplu, dar și genial, el a pus problema protejării oamenilor împotriva variolei prin administrarea lichidului pustular din leziunile de pe ugerul vitelor, pe pielea scarificată a omului. Rezultatele s-au dovedit spectaculoase, valoarea vaccinării antivariolice menținându-se intactă până în zilele noastre, când, în principal datorită acestei metode de protecție imună, boala se consideră a fi eradicată. Această înfăptuire de pionierat în profilaxia specifică a unei infecții majore este cu atât mai semnificativă cu cât, la momentul respectiv, nu se cunoșteau nici morfologia agentului viral cauzal (virusul fiind vizualizat prin microscopie electronică după aproape 200 de ani), nici modalitatea de protecție (imunizarea încrucișată cu virus vaccinia – nepatogen pentru om împotriva infecției cu virus variolic – patogen –, datorită similitudinii antigenice dintre cei doi agenți virali).

Această etapă se întinde de la sfârșitul secolului XVIII-lea până în deceniul antepenultim al secolului XIX-lea. Ea este ilustrată de emiterea a numeroase ipoteze asupra reactivității specifice, orientate, dintre care menționăm teoria “lanțurilor zonale” aparținând marelui chimist german Paul Ehrlich, potrivit căreia organismul ar elibera, în prezența factorilor cauzali ai infecțiilor, niște *replici (structuri complementare zonale)*, care s-ar uni specific cu agenții cauzali.

Un secol mai târziu, Louis Pasteur (1822-1895) a formulat teoria germenilor, care menționa că boala este produsă de microorganisme. Deși Pasteur a fost fondatorul microbiologiei, el a fost interesat și de prevenirea bolilor

determinate de microbi. Pentru a induce imunitatea față de microorganisme, Pasteur a folosit **vaccinuri**. Aceste substanțe conțin componente ale organismelor infecțioase care stimulează imunitatea, dar nu induc boala și care protejează față de reinfecția cu aceleași organisme. *Atemuarea virulenței* (eliminarea sau diminuarea capacității de a induce boala) era obținută în două moduri: prin folosirea microorganismelor păstrate timp îndelungat în cultură și prin variația temperaturii de cultivare. Pasteur a demonstrat (plecând de la o observație accidentală) că agentul determinant al holerei găinilor își pierde virulența dacă este muștinut în cultură timp îndelungat, dar își păstrează capacitatea de a induce imunitate. De asemenea, Pasteur a arătat că temperatura atenuază și agentul cauzal al antraxului (*Bacillus anthracis*). Vaccinurile astfel obținute se numesc **vaccinuri atenuate**. Ulterior au mai fost introduse două tipuri de vaccinuri: cele care foloseau **germeni omorâți** și cele bazate pe **toxozizi** (toxine bacteriene atenuate).

Pe lângă numeroasele contribuții la dezvoltarea microbiologiei medicale, Louis Pasteur a avut meritul covârșitor de a descoperi și statua legile de bază ale imunității antiinfecțioase, precum și principiile vaccinării moderne. De altfel, el a introdus termenii *imunitate* (definită ca răspuns de apărare specifică, protectoare, față de agenți infecțioși), *anticorpi* (factori serici care realizează cuplarea specifică cu antigenul) și *vaccin* (preparat din germeni sau fracțiuni de germeni capabil ca introdus în organismul uman sau animal, să determine protecție specifică împotriva unei infecții omologe cu germeni patogeni). Toate aceste puneri la punct teoretice se situau în timp cu multe decenii înaintea stabilirii cu exactitate a substratului “material” al anticorpilor în cadrul proteinelor sanguine, precum și – în cazul, de pildă al vaccinului antirabic viu, atenuat – a precizării morfologiei și geneticii virale (selecția de mutante prin pasaje seriate pe gazde sensibile)

Principalele descoperiri în domeniul imunologiei din secolul al XIX-lea sunt: (1) identificarea principalilor mediator ai imunității, (2) recunoașterea faptului că răspunsul imun poate avea și efecte în detrimentul organismului, (3) descrierea principalelor grupe sanguine și (4) observarea faptului că gazda nu inițiază în mod normal răspunsuri imune față de proprii constituenți.

Principalii mediator ai imunității descriși au fost fagocitele, anticorpii și complementul. În același timp a fost demonstrat faptul că una din caracteristicile esențiale ale imunității este *specificitatea*. Imunologic, specificitatea înseamnă că anticorpii sau celulele imune care protejează un individ față de pojar nu sunt capabili să asigure protecția față de oreion. Oricum, anticorpii care protejează un individ față de o boală pot fi transferați altui individ, asigurându-i protecția față de aceeași boală. Aceste rezultate au arătat că organismul este capabil să producă anticorpi specifici în momentul invaziei agenților infecțioși.

Descoperirea de către Karl Landstein în 1900 a grupelor sanguine din sistemul ABO a dus la demonstrarea faptului că reacțiile imune pot induce distrucții tisulare. Eritrocitele diferă de la o persoană la alta și dacă unui individ i se transfuzează sânge incompatibil se declanșează un răspuns imun, care duce la distrugerea eritrocitelor transfuzate.

În timpul celui de al II-lea război mondial, problemele medicale urgente au dus la creșterea interesului pentru imunobiologie și au contribuit la dezvoltarea imunologiei ca știință de baza implicată în studierea bolilor infecțioase, alergiei, interacțiunilor materno-fetale, toleranței imunologice, imunodeficiențelor, autoimunității, transplantării și cancerului. Această modificare a câmpului de interes este ilustrată de cercetările toleranței imunologice. Bazele experimentale pentru înțelegerea toleranței au fost furnizate în 1946 de Ray Owen, care a observat că unii gemeni dizigoți ai

vacilor erau incapabili să reacționeze la țesuturile provenite de la celălalt frate. Datorită unui defect, pe durata gestației, gemenii dizigoți prezentaseră o circulație sanguină comună. Pornind de la aceste observații, Peter Medawar a imaginat în 1953 un experiment în care expunea embrionii la celule provenite din pielea unor animale străine, inducându-le astfel în mod deliberat toleranța față de grefele străine de piele. Medawar a demonstrat și că toleranța era specifică, deoarece animalele adulte acceptau doar grefele de piele pentru care fuseseră tolerizate în viața embrionară, respingând alte grefe de piele. Ulterior s-a demonstrat că rejețul grefelor este realizat de celulele sistemului imun. În jurul anului 1930, Snell a demonstrat că în problema transplantării erau implicați factori genetici și că rejețul grefei se datora unor markeri tisulari moșteniți ereditar, care erau recunoscuți de către sistemul imun. De asemenea, s-a demonstrat că celulele canceroase posedau markeri unici, recunoscuți drept străini de către sistemul imun. Descoperirea răspunsurilor imune specifice față de tumori a condus la apariția unei subdiscipline a imunologiei, numită imunologie tumorală.

Una din cele mai importante descoperiri ale acestei perioade a fost recunoașterea implicării unui tip de globule albe (*limfocitele*) în răspunsul imun. Aceasta a dus la separarea imunologiei în *imunologie umorală* și *imunologie celulară*. Recunoașterea că responsabile de această divizare erau două tipuri de limfocite, limfocitele B – producătoare de anticorpi și limfocitele T, a condus la explicarea modului în care limfocitele recunosc substanțele străine.

Inițial, termenul de imunitate implica doar rezistența la boli, deoarece bolile infecțioase reprezentau principala cauză de deces în acea perioadă. De aceea, imunologii erau preocupați în special de studierea modului de inducere a imunității față de agenți infecțioși. În momentul în care într-un organism gazdă erau introduse substanțe străine (bacterii,

virusuri, paraziți, fungi), gazda reacționează în două modalități: (1) elimină nespecific cu ajutorul unor componente preformate agentul infecțios, sau (2) produce celule și molecule specifice față de invadatorul străin. Invadatorul străin care induce și reacționează cu celulele imune și cu moleculele pe care le-a indus (anticorpi) este numit *antigen*.

Deceniul al doilea al secolului nostru a marcat punerea la punct a reacțiilor antigen-anticorp *in vitro*, pentru determinarea prezenței și/sau titrului de anticorpi serici antibacterieni ori antivirali, ca: reacția de fixare a complementului Bordet-Wassermann (lues), reacția de inhibare a hemaglutinării Hirst (gripă), reacția Widal (febre tifoide sau paratifoide), reacția Weil-Felix (tifos exantematic), reacția Wright (bruceloză), etc. Privitor la tehnicile serologice antigen-anticorp folosite pentru diagnosticul infecțiilor, este din nou demn de subliniat paradoxul devansării cunoștințelor moderne de imunologie, în speță a informațiilor privind legătura specifică epitopi-imunoglobulină, prin aplicații practice de importanță majoră în atestarea indirectă a unei infecții.

În deceniul al patrulea al secolului nostru, au luat un avânt deosebit cercetările de imunochimie, în special prin punerea la punct a electroforezei, pentru separarea proteinelor sanguine în câmp electric, precum și prin clivarea unor proteine plasmatică cu enzime (papaină, pepsină, etc). Astfel, a fost posibilă, pentru prima oară, constatarea că majoritatea activității de anticorp este legată de globulinele serice care migrează în zona γ a câmpului electroforetic, precum și aceea că, în urma clivării enzimatică a anticorpilor *in vitro*, legătura specifică a antigenului suferă diminuări nuanțate de manifestare.

Începând cu anii șaiszeci, au luat o dezvoltare impresionantă cercetările destinate descifrării rolului diferitelor celule leucocitare în realizarea imunității. Astfel s-a stabilit că celula centrală a răspunsului specific este *limfocitul* (cu

diferitele sale subseturi), a cărui funcție cardinală este modulată de numeroase alte tipuri celulare (macrofage sau alte celule de prezentare a antigenului, celule endoteliate etc). De altfel, în acest domeniu, explozia informațională poate fi comparată, credem noi, doar cu cea genetică.

Imunomodularea – definită ca ansamblu de mijloace de reglare a imunității – reprezintă, sintetic vorbind, proiecția viziunii cibernetice în imunologie. Astăzi, am putea grupa datele în materie în *receptori* și *semnale*, cu relații reciproce de stimulare sau represie (inclusiv, de tip “*feed-back*”). În această arie tematică, cele mai spectaculoase date se referă la *receptorii de recunoaștere a antigenului de pe suprafața limfocitelor T și B*, precum și la *citokine* și *molecule de adeziune*, verigi principale ale imunomodulării.

Imunitatea nespecifică (numită și rezistență naturală) operează în faza precoce a răspunsului imun. Imunitatea nespecifică constituie prima linie de apărare și include mecanisme de protecție externe și interne. Componentele imunității nespecifice sunt *performante* (sunt prezente înainte de stimularea antigenică), *standardizate* (magnitudinea răspunsului este constantă), *fără memorie* (răspunsul este identic la contacte ulterioare cu același patogen) și *nespecifice* (imunitatea nespecifică nu poate face distincția între invadatori). Mecanismele de protecție externă care aparțin imunității nespecifice (*bariere naturale* – pielea, mucoasele, fluidele organismului) împiedică penetrarea patogenilor în țesuturi. Dacă patogenii reușesc să depășească barierele externe și invadează țesuturile, intervin mecanismele interne de protecție ale imunității nespecifice. Există trei mecanisme interne principale ale imunității principale nespecifice: (1) factori fiziologici, (2) fagocitoza și (3) inflamația. Factorii fiziologici (temperatura corpului, presiunea oxigenului) oferă condiții improprie pentru dezvoltarea patogenilor. Microorganismele pot activa ele însele mecanisme ale

imunității nespecifice precum *sistemul complement*, care mediază liza celulară. Celulele infectate viral eliberează *interferoni*, care protejează celulele învecinate de infectarea cu virus.

Fagocitoza, unul din mecanismele foarte eficiente ale imunității nespecifice, implică ingestia și distrugerea patogenilor de către celulele fagocitare. Există două tipuri de fagocite: *macrofagele* și *leucocitele polimorfonucleare neutrofile*. Un alt grup de celule numite *limfocite natural ucigăse* (natural killer cells) nu fagocitează, dar contribuie la imunitatea nespecifică față de celule infectate viral și celule tumorale.

Inflamația este inițiată de mediatori chimici eliberați ca răspuns la injurii tisulare. Inflamația include: (1) activarea sistemului de coagulare, (2) creșterea fluxului sanguin, (3) creșterea permeabilității capilare și (4) creșterea influxului de fagocite. Activarea sistemului de coagulare duce la localizarea infecției. În același timp, celulele sistemului imun (în principal fagocitele) se deplasează la sediul inflamației sub influența unor mediatori chimici. Primele celule care se acumulează la sediul inflamației în 30-60 de minute sunt neutrofilele. Dacă stimulul care a declanșat inflamația persistă, în 5-6 ore macrofagele și limfocitele vor infiltra aria inflamatorie. Substanțele vasodilatatoare eliberate din aceste celule (histamină, bradikină) induc creșterea fluxului sanguin la sediul infecției și duc la atragerea a tot mai multe fagocite. Deoarece aceste substanțe induc și creșterea permeabilității capilare, fagocitele traversează pereții vaselor situate în aria de inflamație și pătrund în țesuturi. La nivelul țesuturilor, fagocitele ingeră patogeni, mediază procesele de reparație și produc molecule care controlează interacțiunile celulare ulterioare.

Datorită faptului că microorganismele evoluează rapid, își crează mecanisme care le permit să se sustragă răspunsurilor stereotipe ale imunității nespecifice. Pentru a

supraviețui, vertebratele utilizează un sistem adițional de recunoaștere a patogenilor, numit **imunitate specifică** (imunitate dobândită).

Imunitatea dobândită recunoaște *specific* antigenele străine și le elimină *selectiv*. Caracteristicile principale ale imunității specifice sunt: (1) specificitatea, (2) diversitatea, (3) memoria, (4) discriminarea self-ului de non-self.

Recunoașterea și răspunsul imun la antigen sunt înalt specifice, deși există și *reactivitate încrucișată*, datorită asemănărilor fizice dintre unele antigene. Sistemul imun este capabil să recunoască și să inițieze reacții unice față de un număr foarte mare (10^9) de antigene. Această diversitate este rezultatul existenței unui număr identic de receptori diferiți pentru antigen.

Memoria imunologică reprezintă capacitatea sistemului imun de a "reține" antigenele cu care a venit în contact, astfel încât la contactele ulterioare cu același antigen, răspunsul imun este mai rapid și mai eficient. Deși este capabil să recunoască 10^9 structuri străine, sistemul imun nu reacționează (este tolerant) față de antigenele self (proprii). Ruperea toleranței la self poate duce la dezvoltarea de boli autoimune.

Există două tipuri de imunitate specifică. **Imunitatea umorală** este mediată de molecule antigen specifice numite *antiorpi* care protejează față de antigene extracelulare circulante (bacterii, toxine microbiene). Anticorpii sunt produși de plasmocitele derivate din **limfocitele B**. **Imunitatea mediată celular** este realizată de celule antigen-specifice numite **limfocite T**. Există două subpopulații de celule T: helper (T_H) și citotoxice (T_C). Imunitatea mediată celular protejează față de patogeni intracelulari (de exemplu virusuri) și este importantă în rejețul organelor transplantate și în reacțiile față de celule tumorale. Deoarece limfocitele B și T antigen specifice activate sunt implicate în eliminarea

antigenului, sunt denumite *celule efector*. Celulele B își exercită acțiunea efector prin producerea și eliberarea anticorpilor, în timp ce limfocitele T_H eliberează molecule implicate în interacțiuni celulare (citokine), iar celulele T_C lizează celulele țintă.

Privitor la imunologia românească, ne vedem obligați, ca un gest de moralitate profesională, să amintim că, din anul 1971, a fost înființată Societatea Română de Imunologie, inițiatorii săi fiind prof. dr. Ioan Moraru și dr. Victor Gheție. Cercetările imunologice românești sunt bine apreciate pe plan internațional, nume ca dr. A. Sulica, dr. A. Olinescu, dr. chim. G. Szegli, prof. dr. Jeana Rodica Radu, prof. dr. V. Cristea (Cluj), prof. dr. E. Carasevici (Iași), prof. dr. C. Voiculescu (Craiova), fiind cunoscute și citate în materiale prestigioase. Cercetarea imunologică din țara noastră se grupează atât în cele trei institute naționale (Institutul "Cantacuzino", Institutul "Victor Babeș", Centrul Național de Imunologie din cadrul Institutului de Virusologie "Șt. Nicolau"), cât și în cadrul catedrelor de profil din universitățile sau facultățile de medicină românești (Iași, Timișoara, Cluj-Napoca, Craiova, etc.).

CAPITOLUL 2

RĂSPUNSUL IMUN

Astăzi se cunosc două tipuri de răspuns imun: *umoral* și *celular*.

Răspunsul imun umoral. Imunitatea umorală intervine *prioritar* în următoarele situații: față de proteine serice de altă specie sau alt allotip; față de antigene infecțioase (bacterii, virusuri, paraziți), în cazul evoluției acute sau subacute a afecțiunii; față de antigenele eritrocitare de heterogrup (reacțiile de incompatibilitate în sistemul grupelor sanguine ABO sau Rh). Ca mecanism secundar, imunitatea umorală intervine în reacția de respingere a grefei, ca și în boala canceroasă (prin citotoxicitate anticorpodependentă). *Veriga efectorie* este reprezentată de niște proteine specifice, aflate în umori sau secrețiile externe (mucoase, piele), sintetizate în urma contactului cu antigenul corespondent și capabile de cuplare cu acesta, denumite *anticorpi* sau *imunoglobuline*. *Locul* contactului antigen-anticorp corespondent poate fi situat la distanță de poarta de intrare a antigenului, ca și de sediul de sinteză a imunoglobulinelor. Testarea răspunsului imun se face cu ajutorul *reacțiilor antigen-anticorp*.

Răspunsul imun celular. Această formă de reactivitate specifică *predomină* în cazul replicii organismului față de antigene tumorale sau de grefă, față de antigene infecțioase, care produc o evoluție cronică a bolii, cu tendința de cuibărire a germenilor în profunzimea țesuturilor, marcată de descărcări periodice în torentul circulator (tuberculoză, bruceloză, sifilis, lepră, malarie, toxoplasmoză, leishmanioză, etc.), precum și în alte situații de declanșare și întreținere a

stărilor de hipersensibilitate tardivă. *Veriga efectorie* este constituită din subseturi de limfocite T (timodependente), ca: limfocitele CD4⁺Th₁ de hipersensibilitate tardivă, limfocitele CD8⁺T-citolitice. *Locul* contactului antigenului cu veriga efectorie este situat mai aproape de poarta de intrare a acestuia, unde se poate produce "granulomul" caracteristic, cu componente lezionale și, respectiv, reactive. *Aprecierea în laborator* a imunității mediate celular se efectuează prin teste *in vivo* (intradermoreacții de tip întârziat) și prin teste *in vitro* (transformarea blastică a limfocitelor T, apreciată prin rata de incorporare a precursorilor ADN- marcați radioactiv; testul de inhibiție a migrării macrofagelor; testul de imunocitoză directă, prin evaluarea ratei de eliberare a cromului radioactiv din celulele "țintă" antigen, în prezența limfocitelor CD⁺₈T-citolitice).

Dinamica răspunsului imun primar. Prin răspuns primar, se înțelege reacția specifică (imună) a organismului după primul contact cu un antigen. Curba acestui răspuns indică mai multe faze, și anume: (1) *faza latentă (lag)* - are o durată de 4-7 zile și se caracterizează prin lipsa aparentă a vreunei reacții specifice sau schițarea debutului acestuia; (2) *faza exponențială* - are o durată mai scurtă (2-3 zile) și constă în creșterea ușoară, constantă, a nivelului de răspuns specific; (3) în *faza staționară* (3-5 zile) intensitatea răspunsului, nu prea înaltă, se menține la nivel relativ constant; (4) *faza de declin* (după 14 zile) - în care răspunsul diminuează progresiv în intensitate, până la epuizarea sa totală sau până la un nivel minim, de regulă neprotector.

Dinamica răspunsului imun secundar. Acest răspuns, denumit plastic și "*reacție anamnestică*", se instalează după impactul organismului cu un antigen cu care a mai venit în contact. Răspunsul imun secundar reflectă o adaptare mai bună a sistemului imunoformator, reacția fiind mai precoce, mai promptă, mai rapidă, mai intensă, mai persistentă, mai

eficace. În acest tip de răspuns, faza de latență apare scurtată sau absentă, în cursul fazei exponențiale creșterea intensității răspunsului este rapidă, iar în faza staționară instalată după 4-7 zile de la contactul cu antigenul, se caracterizează printr-un nivel ridicat (de 5-10 ori mai mare decât nivelul maxim al reacției imune primare), precum și printr-o durată mai lungă. În cursul fazei de declin, nivelul răspunsului scade ușor, cu menținerea de obicei, a unui fond rezidual, protector.

De fapt, prin vaccinare, obținem la subiectul vaccinat inducerea deliberată a unui răspuns imun primar, astfel că, ulterior, la venirea în contact a organismului vaccinat cu un antigen infecțios omolog ca specificitate antigenului din vaccin, acesta reacționează cu răspuns de tip secundar, prompt și eficient.

Proprietățile fundamentale ale răspunsului imun.

Există trei proprietăți de bază ale imunității, cărora li se subsumează diversele mecanisme de declanșare, dezvoltare și reglare ale reacției specifice, și anume: *recunoașterea, specificitatea și memoria imună.*

a) *Recunoașterea* reprezintă însușirea generală a celulelor implicate în imunitate de a recunoaște antigene din mediul extern.

b) *Specificitatea* se definește prin faptul că, în cadrul imunității, sistemul imunoformator recunoaște și se diferențiază pentru răspuns specific față de un anumit antigen din noianul de antigene ale mediului extern sau intern. În cazul răspunsului imun umoral, specificitatea se reflectă, de pildă, în sinteza anticorpilor orientați către un antigen, precum și în unitatea specifică cu acesta. În cazul răspunsului imun celular, specificitatea constă în declanșarea în focarul de impact antigen-celule Tefectori, a unui cortegiu de evenimente de tip semnal-receptor, dacă celulele finale sunt specifice acelui antigen. Trebuie adăugat că, specificitatea se asigură și printr-un ansamblu de mecanisme imunoreglatoare, care modulează

receptorii celulari de pe suprafața limfocitelor B sau T, precum și de pe suprafața celulelor de prezentare a antigenului (în special, a macrofagelor).

c) *Memoria imună* este proprietatea sistemului imunoformator de a recunoaște mai prompt și mai rapid antigenele cu care a venit în contact vreodată și de a se diferenția pentru un răspuns mai intens, mai persistent și mai eficient față de acestea. Memoria imună este realizată prin mecanisme complexe și rafinate, explicate numai parțial până astăzi.

CAPITOLUL 3

ANTIGENELE

Termenul de antigen a fost folosit pentru prima dată de către L. Deutsch în anul 1989, prin el înțelegându-se orice structură care este recunoscută ca străină de un organism și care este capabilă să declanșeze reacții imune specifice și să reacționeze cu produsele acestor reacții, respectiv cu anticorpii.

Antigenele (Ag) sunt structuri moleculare care sunt recunoscute în mod specific de către celulele sistemului imunitar. Inițial, antigenul a fost definit ca și o moleculă, sau mai multe, care stimulează producerea de anticorpi (Ac). În prezent această definiție restrictivă a fost abandonată, fiind considerat antigen orice moleculă care este recunoscută ca străină de către receptorii limfocitari specifici, denumiți **receptori de antigen**. Acești receptori limfocitari sunt de două tipuri:

a) cei prezenți pe limfocitele T, numiți TCR (de la "T cell receptor");

b) cei de pe suprafața limfocitelor B, BCR (de la "B cell receptor"), denumiți și imunoglobuline de membrană (mIg), care pot fi secretați sub formă de **anticorpi** (Ac).

Trebuie subliniat faptul că nu întreaga moleculă de Ag reacționează cu un receptor limfocitar, ci doar o mică porțiune din antigen, care este denumită **epitop** sau după vechea denumire **determinant antigenic**. Un epitop corespunde unei zone mici, cu diametrul de aproximativ 3nm (nanometri), care interacționează cu o porțiune restrânsă a receptorului specific numită **paratop**.

Antigenele sunt de cele mai multe ori exogene (din afara organismului), cele mai cunoscute și mai frecvente fiind

cele bacteriene, viruale, ale protozoarelor, paraziților și ciupercilor, dar și endogene (din interiorul organismului), molecule proprii alterate (îmbătrânite, tumorale).

3.1. Imunogenitate - antigenitate

Trebuie să se facă distincția între antigenitate și imunogenitate. **Imunogenitatea** este capacitatea unui Ag (imunogen) de a induce un răspuns imun în tot organismul unui individ, iar **antigenitatea** este proprietatea antigenului de a se combina cu Ac sau receptorul limfocitar specific. Toate imunogenele sunt antigene, dar nu toate antigenele sunt totodată și imunogene. De exemplu haptenele nu sunt imunogene prin ele înșăși dar pot să reacționeze cu anticorpii preformați, induși prin injectarea haptenei legată de moleculă mare purtătoare – “cărăuș (carrier)”

Odată recunoscute ca atare de celulele sistemului imun din organism, antigenele, dacă sunt imunogene, declanșează o cascadă de reacții imune și anume: (1) activarea limfocitelor care posedă receptorii potriviți; (2) sinteza de anticorpi specifici; (3) instalarea memoriei imunologice; (4) răspunsul imun efector specific. În unele situații, adesea nedorite, poate să apară fie lipsa de răspuns imun față de un anumit antigen (fără să fie afectat răspunsul la alte antigene) **toleranța imunologică** (caz în care antigenul respectiv se numește **tolerogen**), fie un răspuns imun deviat sau în exces cu se întâmplă în **stările de hipersensibilitate**.

3.2. Condițiile ca o moleculă să fie antigenică (imunogenă, nu tolerogenă)

La o privire sumară a celor enunțate mai sus, se poate deduce deja că nu orice substanță străină “non self” sau self-modificată are calitatea de antigen. De exemplu, așchiile de lemn sau bucățile de sticlă, intrate accidental în piele, nu

determină un răspuns imun, deși sunt structuri străine. Evident organismul va reacționa și va iniția îndepărtarea acestor corpuri străine prin inflamație locală, realizată de către factorii de apărare nespecifici. Dar nu devenim imuni la acești corpi străini. La a doua agresiune organismul va reacționa la fel ca prima oară, adică fără atributele fundamentale ale răspunsului imun: specificitate și memorie imunologică.

Capacitatea de a induce un răspuns imun depinde de interacțiunea dintre antigen și sistemul imun.

La rândul ei, pentru ca o substanță să fie un bun imunogen trebuie să îndeplinească mai multe condiții, care depind atât de molecula de antigen cât și de organism:

- a) condiții dependente de imunogen;
- b) condiții dependente de organismul antigenic;
- c) condiții dependente de calea și modalitatea în care se realizează accesul antigenului la sistemul imun al organismului gazdă.

3.2.1. Condițiile dependente de molecula de antigen

A. Molecula să fie *străină*, “non self” (non propriu). Nu se produc reacții imune față de componentele proprii (“self”) deși acestea pot fi imunogene la alte specii animale. O substanță este cu atât mai imunogenă cu cât se deosebește mai mult de componentele proprii, ceea ce se întâmplă atunci când provine de la o specie mai îndepărtată pe scara evolutivă. De exemplu la om proteinele bacteriene sunt mult mai puternic imunogene decât cele ale maimuțelor.

Un antigen trebuie să fie străin gazdei cu care vine în contact. El poate fi de origine virală, bacteriană, vegetală, animală și din punct de vedere structural, poate exista sub formă de moleculă, celulă sau țesut. Antigen poate fi însă și o structură self (proprie organismului), care a suferit unele modificări ce fac să nu mai fie recunoscută ca proprie (self

denaturat) – de exemplu, o celulă infectată viral, o celulă transformată malign, etc.

Cu cât diferența filogenetică dintre antigen și gazdă este mai mare, cu atât caracterul străin al antigenului este mai pronunțat și imunogenicitatea sa este mai mare. Folosirea terminologiei de transplant ajută la clarificarea acestui concept.

a) **Antigenele autologe** se găsesc în cadrul aceluiași individ, ceea ce înseamnă că nu sunt străine pentru acel individ. De exemplu, o grefă cutanată prelevată de pe coapsa unui individ și depusă în alte zone este o autogrefă; aceasta nu este recunoscută ca străină și nu va fi rejectată de sistemul imun.

b) **Antigenele singenice (sinegeneice)** se găsesc la indivizi identici genetic (de exemplu la membrii unei linii înbred de șoareci, sau la gemeni monoziгоți). Linia sau populația înbred cuprinde animale identice din punct de vedere genetic, obținute experimental prin încrucișări consanguine (frate-soră) repetate, timp de cel puțin 20 de generații. O grefă între membrii unei linii înbred este o **grefă singenică** sau o **izogrefă** și nu este recunoscută ca străină, fiind acceptată.

c) **Antigenele alogene (alogeneice, aloantigene)** se găsesc la membrii diferiți genetic ai aceleiași specii. De exemplu, un transplant renal de la mamă la fiică se numește **allogrefă** sau **homogrefă**. O astfel de grefă este recunoscută ca străină și, prin urmare, poate induce un răspuns imun în organism care o primește, fiind rejectată. Unele aloantigene sunt prezente doar la anumiți membri ai unei specii și au fost numite **izoantigene**; antigenele de grup sanguin A sau B sunt exemple de izoantigene.

d) **Antigene xenogene (xenogeneice)** se găsesc la specii diferite. De exemplu, transplantarea rinichiului unei maimuțe la om se numește **heterogrefă** sau **xenogrefă** și este foarte imunogenică. Termenul **heterolog** este folosit uneori ca sinonim pentru xenogenic.

Antigenele heterofile au fost denumite astfel pentru că se găsesc la organisme aflate la distanță în arborele filogenetic. Antigenele heterofile au în comun unul sau mai mulți epitopi; aceasta stă la baza înrudirii lor antigenice. Astfel, ele dau reacții încrucișate: se combină cu același anticorp specific din cauza prezenței epitopilor comuni.

Exemple clinice:

Reacția încrucișată a antigenelor heterofile are o serie de aplicații practice stând la baza câtorva teste clinice.

1) Testul pentru diagnosticarea sifilisului. Spirocheta care produce sifilisul (*Treponema pallidum*) are epitopi în comun cu cardiolipinum, un lipid din structura miocardului. Prezența acestui antigen stă la baza testului screening de diagnostic a sifilisului. Indivizii afectați cu *Treponema pallidum* sintetizează anticorpi care reacționează încrucișat cu cardiolipinum.

2) Testul screening pentru diagnosticul mononucleozei infecțioase. Agentul etiologic al mononucleozei infecțioase este virusul Epstein-Barr. Majoritatea bolnavilor au anticorpi serici care reacționează încrucișat cu hematiile de oaie.

3) Teste screening pentru tifosul exantematic (*Rickettsia proaezekii*) și febra pătată a Munților Stâncoși (*Rickettsia rickettsii*). Serul pacienților cu infecție rickettsiană aglutinează unele linii de *Proteus vulgaris*. Acest răspuns imun heterofil se numește reacție Weil-Felix și este folosit în investigarea serologică a pacienților cu tifos exantematic și febră pătată a Munților Stâncoși.

B. *Greutatea moleculară* trebuie să fie mai mare de 40kDa. În general cu cât volumul unei molecule este mai mare cu atât ea este mai imunogenă. Ca regulă generală, sunt bune imunogene moleculele cu greutate moleculară peste 40 kDa; au imunogenitate medie moleculele cu masă moleculară cuprinsă între 5-40 kDa și sunt slab imunogene sau neimunogene

moleculele mai mici de 5kDa. Adesea monomerii sunt tolerogeni dar prin polimerizare devin imunogeni. Totuși unii polimeri sintetici deși au o greutate mare (nylon, poliacrilamida, teflonul) nu sunt imunogeni; dextranul sau gelatina sunt slab imunogene, deși au greutate moleculară mare (peste 40kDa); insulina are o greutate mică (6 kDa), dar poate fi imunogenică.

Mărimea moleculei poate influența imunogenitatea în două moduri:

a) Numărul și diversitatea epitopilor crește proporțional cu dimensiunea proteinei. Totuși, în cazul unor macromolecule, cum ar fi antigenele hidrocarbonate, odată cu creșterea mărimii moleculei crește numărul epitopilor, dar nu și diversitatea acestora. Aceste macromolecule sunt numite imunogene cu "epitopi monotoni repetitivi".

b) Moleculele mari pot fi fagocitate. Procesarea antigenului duce la formarea mai eficientă de anticorpi. Aceasta implică fagocitarea în prealabil a antigenului de un macrofag. Moleculele trebuie să fie accesibile catabolismului intracelular al fagocitului. Antigenele care sunt greu sau imposibil de fagocitate sunt neimunogene. De exemplu, particulele de polistiren, deși sunt rapid înghițite de macrofage, nu sunt imunogene, deoarece fagocitul nu are enzimele necesare degradării polistirenului.

Haptenele sunt molecule prea mici pentru a fi imunogene; ele sunt cunoscute și sub denumirea de antigene "incomplete" sau "parțiale". Haptenele nu pot induce un răspuns imun prin ele însele, dar pot reacționa cu produșii acestui răspuns (celule și molecule) (antigenicitate). Exemple de haptene: antibiotice, analgezice și alți compuși cu greutate moleculară mică (metil-dopa).

Multe hidrocarburi complexe funcționează ca haptene. De exemplu, polizaharidul capsular de tip b din structura *Haemophilus influenzae* (Hib) este foarte slab

imunogen când este administrat la copii de 1 an (care reprezintă grupa de vârstă cu cel mai mare risc de meningită după infecția cu acest microorganism), dar este un imunogen acceptabil în cazul administrării la adulți. Polizaharidul capsular al Hib este un antigen T-independent, iar la copilul mic răspunsul limfocitelor B față de acest tip de antigen este slab. Când polizaharidul capsular este cuplat cu proteine imunogenice ca toxoidul difteric (toxina difterică tratată cu formaldehidă), copiii imunizați cu acest complex vor produce și o cantitate suficientă de anticorpi față de polizaharidul capsular al Hib ca răspuns la vaccinare. Așadar, polizaharidul capsular de tip b al *Haemophilus influenzae* acționează ca haptena la copii mici și ca imunogen la adulți.

Răspunsul imun al pacienților cu lupus eritematos sistemic față de diverși acizi nucleici este posibil datorită cuplării acizilor nucleici cu proteine bazice în starea lor naturală.

Haptenele pot deveni imunogene dacă sunt cuplate *in vivo* sau *in vitro* cu o moleculă de dimensiuni mari, de regulă o proteină, care ea însăși este imunogenă, și care a fost denumită **moleculă purtătoare** sau **carrier**. Când se cuplează cu o proteină, o haptena se comportă ca determinant antigenic (epitop). Un epitop poate, totuși include haptena plus o regiune adiacentă din carrier.

Alte haptene sunt macromolecule (>100kDa). Nu se știe exact de ce aceste substanțe sunt mai degrabă haptene decât imunogene, dar s-a constatat că, în urma cuplării cu proteine induc un răspuns T helper față de complexul haptena-purtător.

Moleculele carrier pot fi albumine, globuline sau polipeptide sintetice.

Haptenele sunt larg folosite în imunologia fundamentală ca determinanți antigenici definiți (epitopi). Spre deosebire de epitopii naturali ai proteinelor, haptenele pot fi

ușor mânuite în laborator, atât sub formă liberă cât și cuplată. Ele l-au ajutat pe imunologi să evalueze specificitatea, afinitatea și heterogenitatea anticorpilor și să estimeze dimensiunile situsului lor de combinare cu antigenul.

Reacțiile adverse ale unor medicamente apar uneori datorită comportamentului lor ca haptene. În organism, medicamentul sau metaboliții săi se combină cu o moleculă mare, de obicei o proteină (carrier), inducând un răspuns imun specific (producere de anticorpi). Un exemplu des întâlnit în clinică îl constituie reacția alergică a unor persoane la penicilină.

C. *Structura moleculei*, compoziția chimică și structura spațială condiționează imunogenitatea antigenului. Proteinele, polizaharidele și glicoproteinele sunt puternic imunogene, iar lipidele și acizii nucleici sunt slab imunogene. Homopolimerii (polipeptidele formate din același AA) nu sunt imunogene, pe când heteropolimerii sunt. În plus prezența AA aromatici (tirozina) măresc imunogenitatea moleculei. Cu cât structura secundară, terțiară și cuaternară a moleculei este mai complexă, cu atât crește și imunogenitatea ei. Contează izomerismul optic (L sau D) în favoarea moleculelor L, care sunt mai puternic imunogene, deoarece pot fi degradate enzimatic. Procesul de degradare se realizează de către unele enzime proteolitice, în special enzimele lipozomale ale macrofagelor. Fragmentele parțial degradate ale antigenului (porțiunile responsabile de inducerea răspunsului imun), puternic imunogene (epitopii), vor fi apoi prezentați pe suprafața APC (celulelor prezentatoare de antigen). Densitatea epitopilor în molecula de Ag are importanță, deoarece cu cât densitatea lor este mai mare cu atât scade imunogenitatea și crește toleranța.

Proteinele sunt cele mai puternic imunogene. Proteinele au o varietate structurală remarcabilă, care face ca molecula proteică să aibă epitopi cu specificități diferite.

Răspunsul imun global la o proteină este suma tuturor anticorpilor produși față de epitopii respectivi.

Lipoproteinele sunt imunogene proteice complexe care induc răspunsuri imune atât față de epitopul lipidic, cât și față de cel proteic, și sunt prezente în membrana multor celule.

Polizaharidele sunt în marea lor majoritate neimunogene pentru că nu au o diversitate chimică suficientă. Ele pot deveni imunogenice și pot conferi o specificitate unică unui antigen, dacă sunt cuplate cu o moleculă carrier corespunzătoare. Multe polizaharide sunt degradate rapid după ce intră într-un organism, deci nu se află în contact cu sistemul imun suficient timp pentru a produce un răspuns imun. Totuși unele polizaharide pot fi imunogenice: polizaharidele capsulare ale pneumococului, lipopolizaharidele de tipul endotoxinelor din membrana celulară a bacteriilor gram negative.

Imunogenicitatea **glicoproteinelor** este cel mai bine ilustrată de antigenele de grup sanguin A și B și de antigenele sistemului Rh. Aceste substanțe sunt imunogene puternice și induc un răspuns imun față de epitopul hidrocarbonat al moleculei.

Insulina și hormonul de creștere sunt **polipeptide mici**, slab imunogene. Răspunsul imun apare numai după o expunere prelungită la antigen, sau prin folosirea adjuvanților (substanțe care cresc mult imunogenicitatea moleculelor fără a le altera compoziția chimică).

Neimunogenici sunt considerați **acizii nucleici**, care totuși în combinație cu proteinele bazice pot acționa ca imunogeni. La pacienții cu lupus eritematos sistemic apar anticorpi atât față de nucleoproteinele autologe cât și față de ADN-ul dublu catenar.

Lipidele sunt și ele neimunogene, deși unele (cardiolipinul) pot conferi specificitate antigenelor atunci când sunt prezentate adecvat sistemului imun.

Caracterul de străin, dimensiunea moleculei și natura chimică sunt principalii factori dependenți de antigen, care influențează imunogenitatea. Relația dintre acești factori poate fi ilustrată:

$$\text{Imunogenicitatea} = (\text{caracterul de străin}) \times (\text{greutatea moleculară}) \times (\text{natura chimică})$$

Există și alți factori care depind de antigen și influențează imunogenicitatea.

Multiple studii au evidențiat că nu toată molecula este imunogenă, în sensul că este recunoscută de receptorii specifici ai celulelor imunocompetente sau participă la reacția cu anticorpii specifici, ci anumite fragmente ale sale, numite **determinanți antigenici sau epitopi**.

Epitopii numiți și **grupări determinante** sau **determinanți antigenici** sunt situsuri, aflate pe suprafața sau în interiorul antigenului, cu care reacționează anticorpii și receptorii celulelor T sau B. Antigen este un termen generic folosit pentru a desemna o macromoleculă, un virus, o bacterie, un țesut sau un organ. Anticorpii posedă un situs de combinare, denumit și **paratop**, similar ca structură, dimensiune și formă între anticorpi cu specificități diferite. Acest situs de combinare nu este complementar întregului corp bacterian, sau întregului organ, dar este mereu complementar unui determinant antigenic particular, care are dimensiuni moleculare limitate. Efectorii celulari ai răspunsului imun specific sunt **limfocitele B** (precursorii celulelor producătoare de anticorpi) și **limfocitele T**. Acestea au pe suprafața lor molecule cu rol de receptor:

- receptorii limfocitelor B sunt imunoglobuline identice structural cu anticorpi serici, cu excepția zonelor intracitoplasmatic de implantare. Situsul de combinare al receptorului limfocitului B este identic cu cel al anticorpilor produși;

- receptorii limfocitelor T se deosebesc de cei ai limfocitului B: celulele rezultate în urma activării limfocitului T nu produc o formă solubilă de proteină receptor, iar recunoașterea antigenului de către acest receptor diferă de modul de recunoaștere a limfocitului B. Pentru a putea fi recunoscut de limfocitul T, antigenul trebuie procesat (fragmentat enzimatic). Procesarea are loc în interiorul unor celule specializate, numite APC (celule prezentatoare de antigen), care pot fi macrofage sau chiar limfocite B. Limfocitul T recunoaște o parte din antigen, un peptid scurt prezentat într-o cupă moleculară situată pe suprafața celulei prezentatoare. Cupa moleculară este produsul genelor complexului major de histocompatibilitate (MHC) de clasa I sau II.

Cele mai multe antigene sunt **timo-dependente**: necesită o dublă recunoaștere de către limfocitele T și B. Sunt un număr redus de antigene timo-dependente, care nu necesită recunoașterea de către limfocitele T și care pot duce la o formare eficientă de anticorpi după ce au interacționat numai cu limfocitele B.

Epitopii au dimensiuni foarte mici. Determinanții antigenici pot fi părți de proteine, polizaharide, acizi nucleici, glicolipide, lipide sau alte molecule biologice; el este format din 4-6 aminoacizi sau 6-8 unități monozaharidice.

Epitopii, în funcție de poziția aminoacizilor care îi formează, pot fi:

- **lineari (continui, determinanți secvențiali)** – reprezentați de o succesiune continuă de aminoacizi în secvența primară a proteinei;
- **conformaționali (discontinui)** – conținând aminoacizi situați în aceeași zonă de pe suprafața proteinei, care sunt plasați la distanță în secvența primară a proteinei.

Dacă anticorpii generați de o proteină reacționează bine și cu tetra-, penta-, sau hexapeptide derivate din acea proteină, atunci anticorpii recunosc un determinant secvențial.

Pe de altă parte, anticorpii sintetizați împotriva unui determinant conformațional care reacționează foarte bine cu molecula întreagă, nu vor mai reacționa cu fragmente peptidice rezultate în urma denaturării proteinei respective.

Este de reținut că cele mai multe proteine globulare și acizii nucleici nativi au epitopi conformaționali, în timp ce majoritatea polizaharidelor, proteinele fibrilare și acizii nucleici monocatenari au epitopi secvențiali.

Sedii moleculare de combinare cu anticorpii, epitopii pot fi situați:

- la suprafața moleculei de antigen (**epitopi topografici, externi**) accesibili celulelor imuno-competente în forma nativă a proteinei;

- în interiorul antigenului (**interni**) sunt recunoscuți după ce antigenul a fost parțial degradat (procesat) în interiorul unei celule specializate.

Epitopii au funcțiile:

- determină **specificitatea** moleculei de antigen, motiv pentru care sunt denumiți grupări determinante;

- sunt **imunoreactivi** — sunt capabili să reacționeze cu anticorpii specifici. Nu toți determinanții antigenici induc în mod constant un răspuns imun: între ei există **competiție antigenică** (unii sunt mai imunopotenți decât alții.)

Imunopotența poate fi definită drept capacitatea unei regiuni a moleculei de antigen de a servi drept determinant antigenic și de a induce un răspuns imun specific. Din punct de vedere al imunopotenței putem clasifica epitopii în **dominanți, subdominanți și criptici**.

Există epitopi "**tăcuți**", **criptici, ascunși** care în unele condiții nu se exprimă deloc iar în alte situații pot declanșa un răspuns imun eficient. Astfel, un determinant antigenic poate fi "tăcut" în interiorul unei macromolecule, dar poate deveni imunopotent când un segment din macromolecula pe care se află este folosit pentru imunizare. Un determinant nemanifest poate deveni imunopotent la animale la care s-a indus toleranța imunologică față de alte părți ale imunogenului din care face parte determinantul respectiv.

Bacteriile și celulele mamiferelor sunt puternic imunogenice și prezintă un spectru vast de antigene diferite. Această diversitate a fost denumită **mozaic antigenic**.

Antigenele pot prezenta mai mulți epitopi. Valența unui antigen este egală cu numărul total de epitopi ai acestuia.

Antigenele sunt **multivalente**. O moleculă de antigen are mai mulți epitopi diferiți, uneori de ordinul sutelor, dintre care unii determină sinteza de anticorpi dirijați față de determinantul A, B, etc. Ca și alte antigene, proteinele au un spectru continuu de determinanți antigenici, care corespund unor porțiuni limitate din structura de suprafață și care sunt localizate preferențial în regiunile cele mai expuse la exterior. Relația antigenitate-structură este mai complexă în cazul proteinelor globulare decât în cazul altor antigene, prin faptul că ea depinde într-o mare măsură de conformația globală a întregii molecule. Explorarea regiunilor antigenice de pe suprafața proteinelor a devenit mai ușoară grație anticorpilor monoclonali și a metodelor rapide de sinteză peptidică.

Alterarea antigenicității. Moleculele de antigen pot fi manipulate artificial alterând, adăugând sau îndepărtând epitopi. Antigenicitatea este alterată o dată cu fiecare schimbare.

- Prin alterarea epitopilor se produc noi antigene. Aceasta se poate realiza conjugând diferite molecule la antigen sau îndepărtând enzimatic porțiuni de

antigen. Schimbările de acest fel par a fi importante în apariția bolilor autoimune, cum ar fi lupusul eritematos sistemic indus medicamentos.

- Denaturarea sau hidroliza proteinelor distruge aproape întotdeauna epitopii conformaționali.

Variația antigenică a organismelor infecțioase este un mijloc foarte eficient de a se sustrage acțiunii anticorpilor neutralizanți produși de răspunsul imun umoral al gazdei.

Alterarea antigenității glicoproteinei de suprafață este un mecanism stabilit printre paraziți, prin care aceștia reușesc să eludeze răspunsul imun. Variația antigenică este principalul mijloc prin care protozoarele (*Tripanosoma*, *Plasmodium*, *Giardia*) și unele specii de bacterii persistă în organismul gazdei. De asemenea, acest fenomen este important și pentru persistența virusurilor animale.

Variația antigenică a virusurilor se observă în cazul **virusurilor gripale A**. Alterările glicoproteinelor de suprafață ale acestora (hemaglutinine și neuraminidaza) se produc prin două mecanisme:

- **Drift-ul** antigenic – implică modificări minore ale antigenității proteinelor de suprafață și se pare că ar fi implicat în persistența virusului în populațiile susceptibile. Drift-ul antigenic apare prin acumularea de mutații punctiforme în genele care codează hemaglutina și neuramidaza;

- **Shift-ul** antigenic – implică modificări genetice majore, răspunzătoare de dezvoltarea unui "nou" virus în cadrul aceleiași specii. Mecanismul shift-ului antigenic constă în reasortări genice între tulpini de virusuri gripale A. Deși virusul gripal nu determină infecții persistente în organismul gazdei, apariția unor virusuri (tulpini) cu antigenicitatea modificată explică persistența virusurilor gripale într-o populație anumită și larga lor răspândire pe glob.

Variația antigenică la **lentivirusuri** apare în același individ infectat. Acest grup include **virusul imunodeficienței umane (HIV)** și un număr tot mai mare de virusuri animale care determină infecții persistente sau cronice. Variația antigenică a lentivirusurilor apare prin acumularea de mutații punctiforme la nivelul glicoproteinelor de suprafață.

Variația antigenică a virusurilor animale și a protozoarelor reprezintă mecanismul prin care ele persistă în organismul infectat generând un răspuns imun precar și dificil.

Pentru obținerea vaccinurilor anti-gripale se identifică tulpina predominantă, la debutul epidemiei, producându-se vaccinuri față de această tulpină. În cazul lentivirusurilor, această strategie nu poate fi aplicată deoarece mutațiile și selecțiile apar la aceeași gazdă infectată. Astfel, într-un vaccin anti-lentivirus ar trebuie introdusă o gamă largă de epitopi neutralizanți pentru a preveni evoluția infecției.

Paratopii. Anticorpul are specificitate față de epitopi. Regiunea din molecula de anticorp care interacționează cu epitopul se numește **paratop**. Structura acestuia este complementară spațial celei a epitopului

Interacțiunea antigenului cu anticorpul omolog. Dispoziția sarcinilor electrice la nivelul epitopului și a paratopului influențează interacțiunea antigenului cu anticorpul omolog.

D. Să aibă o *perioadă de remanentă* (persistență) în organism, în special a epitopilor, suficient de îndelungată pentru a permite realizarea răspunsului imun.

E. *Cantitatea* (doza) inoculată, care trebuie să fie "optimă", nici prea mare (se induce "**toleranța de zonă joasă**") nici prea mică (poate să apară "**toleranța de zonă înaltă**"). Cantitatea optimă diferă de la un imunogen la altul (la fel și la vaccinuri, pentru care există însă standarde internaționale cu doza de antigene per fiolă).

F. în cazul vaccinurilor, pentru obținerea efectului dorit trebuie să fie cunoscut *intervalul de timp dintre administrări*, deoarece un interval prea scurt poate induce fenomenul de **supresie imună**, în timp ce un interval prea lung poate conduce la o scădere a "memoriei imunologice", în sensul că este uitată "figura epitopului".

G. *Asocierea cu adjuvanți* s-a dovedit uneori salutară pentru creșterea imunogenității moleculei de Ag. Un adjuvant este o substanță, sau un amestec de substanțe, ce mărește imunogenitatea antigenului prin producerea unei reacții inflamatorii care-l încetinește eliminarea, favorizând captarea și prezentarea lui către limfocite intensificând astfel răspunsul imun. Ei sunt folosiți în producerea vaccinurilor. Adjuvanții pot fi de origine bacteriană sau compuși chimici: anorganici (hidroxid de aluminiu, alaun, fosfați) care formează precipitate cu componentele vaccinurilor, sau organici (stearoil tirozină, complexul imunostimulator - ISCOM).

3.2.2. Condițiile dependente de organism.

a. *Vârsta individului* - în perioada intrauterină și/sau perinatală antigenele induc toleranță, care se menține și în viața adultă, deoarece sistemul imun este imatur. Lipsa răspunsului imun poate să survină și la copiii mici, datorită aceleiași cauze. La bătrâni, sistemul imun suferă degenerare care îl fac incapabil de a edifica un răspuns adecvat la stimularea cu un Ag nou, iar imunitatea creată anterior este mult diminuată.

b. *Condiția fiziologică a organismului* în momentul contactului cu antigenul influențează răspunsul imun. În timpul gravidității, sau la persoanele tratate cu derivați de cortizon sau cu imunodepresoare, stimulul antigenic poate trece neobservat deoarece organismul nu reacționează la intensitatea normală.

c. *Specia* este un alt element important. Cu cât există o depărtare filogenetică mai mare între specia căreia

aparține antigenul și omul (animalul) imunizat, cu atât vor apare reacții imune mai puternice. Microorganismele inoculate la om sau animale provoacă răspunsuri imune de mare amplitudine. La speciile apropiate filogenetic (primate și om, de exemplu) diferențele de structură proteică sunt mici, uneori nule, ceea ce poate duce la răspunsuri imune slabe sau absente.

d. *Diferențele genetice* (fenotipice). Există indivizi, în cadrul unei specii, care nu răspund, sau au răspunsuri slabe, la stimularea cu un anumit Ag, pe când alții reacționează puternic. Responsabile de acest fenomen sunt genele răspunsului imun (**genele Ir**) care fac parte din complexul major de histocompatibilitate (MHC).

e. *Calea și modalitatea de acces* a antigenului la sistemul imun al organismului gazdă. Administrarea antigenului pe cale subcutanată sau intramusculară este optimă pentru substanțele solubile, în timp ce injectarea intravenoasă sau intraperitoneală poate fi mai eficientă în cazul imunogenelor celulare de tipul eritrocitelor și vaccinurilor bacteriene. În practică, calea intravenoasă nu este folosită datorită riscului embolismului și al altor reacții adverse.

3.3. Clasificarea antigenelor

Antigenele pot fi clasificate în funcție de structură, origine, sursă, înrudire genetică, modul de prezentare, mecanismele imune implicate.

3.3.1. Antigene TD și TI

În cazul mării majorități a Ag este necesară cooperarea limfocitelor B (producătoare de anticorpi) cu limfocitele T helper (Th) pentru inducerea de Ac specifici. Din această cauză ele sunt denumite **antigene T dependente** (Td). Există însă Ag capabile să stimuleze limfocitele B, în lipsa interacțiunii cu LT - **antigenele T independente** (TI). Antigenele TI sunt, de obicei, molecule mari, polizaharidice

(ce nu pot fi prelucrate în APC și prezentate în contextul MHC), formate din epitopi identici multipli, care prin legarea concomitentă (cross-linkarea) a mai multor receptori limfocitari B (mIgM) stimulează aceste limfocite. Spre deosebire de Ag TD, acestea induc producerea doar de IgM și nu generează limfocite B cu memorie.

În cadrul acestor Ag se pot deosebi două tipuri:

- Antigenele **TI de tip 1** acționează ca mitogeni policlonali, adică provoacă multiplicarea mai multor clone de limfocite, indiferent de specificitatea acestora. Ele pot fi de origine vegetală (lecitine, ca: PWM – pokeweed mitogen) sau bacteriană (LPS – lipopolizaharidul din peretele bacteriilor Gram negative).

- Antigenele **TI de tip 2** sunt tot de tip polizaharidic, dar induc un răspuns specific prin legarea concomitentă a receptorilor IgM specifici (levan, dextran, galactan, polizaharidul din capsula de *Streptococcus pneumoniae*)

3.3.2. Xenoantigenele, aloantigenele, antigene de organ și de stadiu evolutiv

Xenoantigenele. Cu cât cele două specii sunt mai puțin înrudite, mai îndepărtate pe scara evoluției, cu atât reacția imună este mai puternică. Multe proteine ale mamiferelor sunt asemănătoare, deoarece aparțin unui nivel evolutiv mai recent, dar se deosebesc foarte mult de cele ale bacteriilor.

1	În raport cu capacitatea de a induce reacții imune și de a reacționa cu anticorpii (sau TCR) <i>in vitro</i> :	<ul style="list-style-type: none"> - Ag complete - Ag incomplete (haptene)
---	--	--

2	În raport cu modul de formare:	<ul style="list-style-type: none"> - Natural (există ca atare) - Sintetice (obținute în laborator)
3	În raport cu originea:	<ul style="list-style-type: none"> - Animale (proteine, glicoproteine, lipoproteine, fosfolipide, acizi grași) - Vegetale (proteine, glicoproteine) - Bacteriene, virale (proteine, glicoproteine, polizaharide)
4	În funcție de sursa Ag:	<ul style="list-style-type: none"> - Externă (exogene) - Internă (endogenă, din interiorul organismului prin denaturarea sau îmbătrânirea propriilor structuri)
5	În raport cu gradul de înrudire genetică:	<ul style="list-style-type: none"> - Autoantigene (proprii ale individului) - Ag singene (izologe) comune indivizilor din aceeași specie care sunt genetic identici – frați gemeni, univitelini - Aloantigene (omologe) comune indivizilor din aceeași specie care sunt genetic diferiți - Xenoantigene aparținând unor specii diferite
6	În funcție de intensitatea răspunsului imun:	<ul style="list-style-type: none"> - Slab imunogeni (lipidele, acizii nucleici) - Puternic imunogeni (proteine, glico sau lipoproteine)
7	În funcție de necesitatea participării	<ul style="list-style-type: none"> - TD (T dependente) – pentru producerea Ac au nevoie de

	LT:	<p>cooperarea cu LT helper</p> <p>- TI (T independente) – pentru producerea Ac nu este necesară cooperarea cu LT helper:</p> <ul style="list-style-type: none"> ❖ De tip 1 acționează ca mitogeni (activatori policlonali), lecitine (PWM), LPS bacteriene (endotoxine) ❖ De tip 2 produc activarea LB prin legarea încrucișată a BCR: polizaharide bacteriene, levan, dextran, galactan -> IgM
8	În funcție de forma sub care apar:	<p>- Ag solubile (libere)</p> <p>- Ag celulare</p>

Tabloul 3.1. Criteriile de clasificare ale antigenelor. (V. Cristea 1999)

Antigenele diferite ale unei specii față de alta sunt denumite **xenoantigene** (izoantigene), iar indivizii speciei respective sunt **xenogenici** față de altă specie (șoarecii sunt xenogenici față de om). Specificitatea de specie se referă la antigenele comune în cadrul aceleiași specii (cele de pe suprafața celulară a leucocitelor, eritrocitelor, a mușchilor striati, etc.)

Aloantigenele – sunt caracteristice numai anumitor grupe de indivizi care aparțin aceleiași specii. Antigenele respective se numesc **aloantigene**, iar persoanele sunt **alogenice**. Astfel de Ag se întâlnesc la nivelul celulelor

sistemului limfatic, pe lanțurile grele ale imunoglobulinelor, pe hematii, la diferite tulpini de bacterii sau unele virusuri.

Antigenele organ-specifice. Unele antigene sunt caracteristice pentru anumite organe, indiferent de specia animalului de proveniență. Ficatul și cristalinul, spre exemplu, posedă antigene specifice, care sunt prezente pe ficatul sau cristalinul altui individ și nu se regăsesc în alte organe ale aceluiași individ.

Antigenele dependente de stadiu evolutiv, sau de dezvoltare ontogenică, se raportează în principal la celulele organismului care aparțin sistemului limfatic. Lt sau LB aflate în stadiile imature de dezvoltare exprimă unele antigene de membrană care dispar când ajung la maturitate, sau există antigene caracteristice celulelor mature, imunocompetente (CD3, respectiv mIgD) care sunt absente în cele imature. Unele antigene, denumite oncofetale, sunt prezente în timpul dezvoltării fetale (intrauterine) dar ulterior dispar. Reaparitia lor la adulți se poate produce în unele forme de cancer: alfa fetoproteina (AFP) în cancere de ficat, antigenul carcinoembrionar (ACE) în cancere de colon.

3.4. Antigenele MHC

Antigenele de histocompatibilitate, descrise de către Snell în 1948, sunt reprezentate de o serie de molecule înalt antigenice, care sunt codificate de un grup de gene foarte polimorfe, strâns legate între ele, denumite **complexul major de histocompatibilitate – MHC** (Major Histocompatibility Complex). MHC uman este HLA (Human Leukocyte Antigen). Au fost descrise 3 clase distincte de molecule: MHC de clasa I, MHC de clasa II și MHC de clasa III.

3.4.1. Antigenele MHC de clasa I

Moleculele **MHC de clasa I** sunt glicoproteine membranate codificate de genele din clasa I ale MHC și sunt

prezente pe membrana tuturor celulelor nucleate din organism. Din acest motiv ele reprezintă antigenele clasice de transplant. Au rol în prezentarea epitopilor, rezultați din fragmentarea antigenelor, limfocitelor T citotoxice CD8 pozitive (Tc). Moleculele sunt alcătuite dintr-un singur **lanț polipeptidic mare α** asociat necovalent cu o moleculă polipeptidică - **β_2 microglobulina - β_2m** (codificată de o genă situată în afara MHC). Lanțul α are structură similară la toate speciile de mamifere, fiind deosebite doar de secvența aminoacizilor, care diferă nu atât între specii cât și între indivizii aceleiași specii. Acest polimorfism conferă caracteristici antigenice diferite fiecărui subiect și din acest motiv AgMHC sunt considerate a fi un fel de carnete de identitate genetice și moleculare pentru fiecare individ.

3.4.2. Antigenele MHC de clasa II

Moleculele **MHC de clasa II** sunt tot glicoproteine membranare heterodimere codificate însă de genele din clasa II ale MHC. Ele sunt formate din două lanțuri polipeptidice: **lanțul α și lanțul β** și au o distribuție celulară mult mai redusă, fiind exprimate selectiv pe suprafața celulelor prezentatoare de Ag (APC): monocite, macrofage, celule dendritice, LB. MHC de clasa II sunt polimorfe și au rolul de a prezenta limfocitelor T helper/inductoare CD4 pozitive epitopii rezultați din fragmentarea antigenelor exogene în lizozomii din APC.

3.4.3. Antigenele MHC de clasa III

Moleculele **MHC de clasa III** nu sunt membranare, prezintă un polimorfism redus și nu au rol în prezentarea antigenelor. Unele dintre ele sunt implicate în răspunsul imun, în special în distrugerea celulelor, fie direct (factorul de necroză tumorală THF- α și β), fie prin intermediul Ac specifici precum componentele complementului C2, C4, factorul B, sau în opsonizare, prelucrarea Ag (proteine de șoc caloric HSP), producerea de anafilatoxine și substanțe chemotactice.

3.5. Antigenele tumorale

După modul de inducție a exprimării genice, antigenele prezentate pe celula malignă, se clasifică în:

- *Antigenele virus-induse*, exprimate *de novo*: Virusul oncogen, intrat în celulă, se integrează (se cuplează cu ADN-ul nuclear), determinând ulterior, prin genele sale, exprimarea unor noi antigene (antigenul "T", antigenul "TARA" - tumour-associated rejection antigen, antigenul "TSRA" - tumour specific rejection antigen).

- *Antigene celulare derepresate odată cu cancerizarea*. Este vorba de antigene, pentru a căror sinteză și exprimare există gene structurale în ADN-ul celular. Dar care sunt represate (inactive) în celula normală: antigenul carcino-embriionar, de exemplu, care este prezent pe suprafața celulei normale embrionar-fetale, nu este prezent pe suprafața celulei normale adulte și se regăsește pe suprafața celei malignizate. Aceasta se explică prin faptul că gena structurală care codifică exprimarea acestui antigen se manifestă activ la embrion și făt, este represată la adult și redevine aptă de inducere a exprimării antigenului odată cu malignizarea (depresie genică). Antigenul carcino-embriionar are mare însemnătate în imunodiagnosticul unor tumori, el reprezentând fie prin exprimarea sa pe suprafața tumorii, fie mai ales sub formă liberă, în ser, un imunomarker precoce, în special în cancerurile colo-rectale sau hepatice. Din aceeași categorie, fac parte și alte oncoantigene ca: CA-125 (pentru cancerul ovarian), SHYFFRA (pentru cancerul bronho-pulmonar), de asemenea cu mare valoare diagnostică și prognostică.

3.6. Alte antigene

După originea lor antigenele naturale pot fi clasificate în mai multe categorii:

3.6.1. Antigene virale.

Antigenele virale sunt de obicei componente proteice ale capsidului viral. O situație specială o au virusurile învelite, de exemplu cele gripale. La acestea, antigenul anvelopei, situate la suprafața virusului – hemaglutinina și neuraminidaza – au o deosebită importanță, deoarece sunt responsabile de variația antigenică, care stă la baza apariției epidemiilor și pandemiilor. Cu toate eforturile depuse de cercetători, gripa a rămas una din bolile infecto-contagioase cu extindere mondială greu de stăpânit, în fiecare sezon rece apărând noi variante antigenice, față de care populația nu este imună.

Patru considerente pot fi avute în vedere la gruparea antigenelor virale: localizare, potențial imunogen, specificitate, exprimare în sau pe celula infectată cu oncogene virale:

a) *Localizare*. Antigenele virusurilor pot fi situate la diferite niveluri:

- În nucleoproteina profundă (antigenul NP al virusului gripal);
- În capsomerele capsidului (antigenele enterovirale, antigenul adenoviral)
- La nivelul învelișului (antigenele glicoproteice ale virusului HIV, neuraminidaza și hemaglutinina virusului gripal)
- Eliberate în mediul extracelular (hemaglutinele poxvirale)

b) *Potențial imunogen*. În general, antigenul profund (legat de acidul nucleic viral) sunt mai puțin imunogene, în vreme ce antigenul capsidular (cele enterovirale) sau de înveliș (neuraminidaza, hemaglutinina virusului gripal, glicoproteinele gp 120 și gp 41 ale virusului HIV) reprezintă imunogene puternice.

c) *Specificitate*. Din acest punct de vedere se disting:

- Antigene de grup (arbovirusuri de grup A sau B, virusuri Coxsackie de grup A sau B)
- Antigene de tip (virus poliomielic de tip 1, 2 sau 3; virus herpes simplex de tip 1 sau 2; virus gripal de tip A, B sau C)
- Antigene de subtip (subtipurile de virus gripal A sau B, respectiv subtipurile de virus HIV, legate de fenomenul variației antigenice)
- Antigene de tulpină (variațiile intratipice ale virusurilor poliomielitice, covariate cu neuropatoogenitatea tulpinii)

d) *Exprimare în sau pe celula infectată cu oncogene virale*. Pe lângă antigenul *de novo*, exprimate pe celula malignizată consecutiv integrării unui virus oncogen, în cazul unor virusuri care își programează sintezele prin revers-transcripție, manifestând și potențial oncogen, ele pot apărea în citoplasma celulei infectate sau se exprimă pe suprafața acesteia ca proteinele p10, p12, p15, p30 (retrovirusuri de tip C).

Pentru unele antigene virale (capsidale, de înveliș) se pot folosi tehnici de identificare uzuale, în prezența anticorpilor standard (*reacția de inhibare a hemaglutinării, reacția de seroneutralizare*). Pentru antigenul viral exprimate pe suprafața celulelor virus-infectate se poate utiliza *imunofluorescența directă sau indirectă*. În vederea depistării antigenelor virale "libere" în ser (antigenul virusurilor hepatice, de tipul HBs sau Hbe, antigenul p24 al virusului HIV) se pot utiliza *tehnici imunoenzimice de tip ELISA*. Antigenele retrovirale pot fi decelate cu *tehnici radioimunologice*.

În lumea agenților virali, plasticitatea antigenică are un caracter permanent, grevând de multe ori epidemiologia

bolilor aferente. Ca exemple pentru *variația antigenică la virusuri* pot fi date:

- *Variația antigenică a virusurilor gripale.* Prin pasaj interuman spontan sau pasaj om-animal, mai ales în cazul virusurilor gripale de tip A, datorită fenomenelor genetice de selecție a mutantelor, dar mai ales de recombinare naturală, apar la intervale de timp variabile noi variante sau subtipuri virale, față de care populația umană, imunizată prin boală sau prin infecție inaparentă cu prilejul unui val epidemic anterior de gripă, nu este pregătită imunologic. Astfel se explică de ce același individ poate contacta gripă de mai multe ori în viață (cu variante de virus diferite, de la o perioadă la alta). Un fenomen corelat este și "păcatul antigenic originar", constând în aceea că subiecții imunizați cu o variantă de virus gripal care a circulat cu mai multe decenii în urmă sunt mai puternic apărați imunologic în prezența unei variante proaspete de virus gripal, comparativ cu cei care au trecut printr-o epidemie mai recentă. Explicația este legată de revenirea "ciclică" în populația umană a unor variante sau subtipuri aparținând unei perioade anterioare (20-30 de ani). Variația antigenică a virusurilor gripale are consecințe și în planul imunoprofilaxiei, deoarece se impune dezideratul obligatoriu de a introduce în vaccinul antigripal o variantă antigenică cât mai apropiată de cea circulantă sau care ar putea circula în curând într-o anumită zonă geografică cu endemie de gripă.

- *Variația antigenică a virusului HIV.* "Mobilitatea" genomului viral HIV este chiar mai mare decât a virusurilor gripale. Așa se explică apariția ciclică de variante antigenice, legate mai ales de glicoproteina de înveliș gp 120. Mecanismul constă tot din producerea de recombinări genetice naturale prin pasaj interuman. Acest fapt reprezintă unul din handicapurile aplicării pe scară largă a vaccinării anti-HIV.

3.6.2. Antigenele bacteriene.

Antigenele bacteriene sunt de mai multe categorii: "O" somatice, "H" flagelare sau ciliare, "F" fimbriare, "K" de înveliș, "Vi" de suprafață (de virulență).

Antigenele bacteriene se împart în: corpusculare (de structură) și solubile.

a) **Antigenele bacteriene corpusculare (de structură)** pot fi legate de elementele anexă ale celulei bacteriene (cili, fibrii, capsulă) sau de corpul celulei.

Legate de elementele anexă ale celulei bacteriene.

Anexele ciliare (flagelare sau "H") au o mare importanță mai ales la enterobacteriile ciliate (E.coli, Salmonella). La salmonelle, ele prezintă fenomenul genetic al "*variației de fază*", în sensul că se pot găsi în faza *specifică* sau *nespecifică*, după cum tulpina bacteriană este proaspăt izolată sau este întreținută prin subcultivări *in vitro*. Antigenele H ale salmonellelor se pot manifesta în faza nespecifică și la tulpini proaspete, dar izolate de la cazuri tratate insuficient sau inadecvat cu antibiotice *per os*. Fenomenul "*variației de fază*" prezintă importanță practică în metodologia de identificare serologică a serotipurilor din genul Salmonella.

Antigenele capsulare strâns atașate capsulei bacteriene, se corelează adeseori cu virulența tulpinii (la pneumococ sau meningococ). La pneumococ, antigenul capsular conferă specificitatea de tip, având o pondere majoră în identificarea serologică a tulpinilor. Polizaharidul capsular pneumococic este, de fapt o haptenă, el putând induce sinteza de anticorpi specifici la animal (șoarece) numai dacă este cuplat cu o proteină-purtător. Acest proces de legare a haptenei polizaharidice capsulare se produce și în condiții de imunizare spontană (om, animal) cu proteine din organism. Specificitatea de tip a polizaharizilor pneumococici capsulari se datorează deosebirilor, de la un tip la altul, în ceea ce privește conținutul

molecular în hexoze sau metilpentoze. Astfel tipul I de pneumococ conține acid galacturonic, galactoză, fucoză, glucozamină, tipul II conține acid glucuronic, glucoză și ramnoză, pe când tipul III are un antigen capsular compus dintr-un polimer de acid cellobionic (glucoză+acid glucuronic). Imunogenitatea antigenelor capsulare ale pneumococului depinde și de specia la care se administrează complexul haptenă-purtător (puternică la om și șoarece; slabă la iepure și cal), fapt care pledează în favoarea factorului genetic (de specie) în modularea imunogenității. Este de asemenea de notat că răspunsul secundar (anaptic) față de antigenul pneumococic diferă de cel față de alte antigene, în sensul că deși marchează o alură progresivă, nu depășește nivelul răspunsului primar.

Antigenele fimbriale sunt proteine mai puțin cunoscute ca structură și antigenicitate decât cele ciliare și capsulare. Este probabil că ele contribuie la potențarea rolului fimbriilor, în atașarea germenilor bacterieni la suprafața unor mucoase ca: *E. coli* enteropatogen în intestin sau *Neisseria gonorrhoeae* în căile genitale.

Legate de corpul microbial (somatice)

Antigene streptococice. Unele antigene legate de corpul streptococului determină specificitatea de grup, în cazul grupului A ele conținând polimeri ramificați de ramnoză și N-acetilglucozamină. Alt antigen streptococic situat în peretele celular este proteina M, legată de viruleța tulpinii, care induce anticorpi sistemici aglutinați protectori (anti-MAP "M-associated protein").

Antigenele bacililor Gram-negativi (endotoxinele). De natură glucido-lipido-poli-peptidică, ele definesc grupul unor germeni (*Salmonella*, *Shigella*, *E. coli*) Sunt de regulă puternic imunogene, determinând sinteza de anticorpi aglutinați, mai mult sau mai puțin protectori. De analiza structurii antigenului glucido-lipido-poli-peptidic enterobacterian se leagă numele

cercetătoarei române Lydia Mesrobeanu care împreună cu francezul Boivin a descris acest antigen în anul 1934. Din componența acestui tip de antigen, face parte lipopolizaharidul (LPS "lipopolysaccharide") cu rol de imunoadjuvant și de mitogen nespecific. Polizaharidul fosforilat din cadrul LPS este constituit din unități repetitive de hexoze și amino-hexoze. Dintre hexoze, unele se găsesc foarte rar în natură, reprezentând "scheletul" structural al antigenelor somatice la bacteriile bacilare Gram-negative (taveloza, decuoza, paratoza, colitoza).

b) **Antigenele bacteriene solubile** reprezintă antigene eliberate de bacterii în mediul ambiant. Ele se împart în: exotoxine și exoenzime.

Exotoxinele sunt sintetizate și eliberate în mediu de către bacteriile toxigene: *Corynebacterium diphtheriae*, *Clostridium tetani*, clostridiile gangrenei gazoase, *Clostridium botulinum*, etc. Cu excepția toxinei bultulinice, înalt termostabilă, celelalte sunt termolabile. Ca structură, reprezintă holoproteine și sunt imunogene, în sensul că induc în organism, fie spontan (prin boală), fie prin vaccinare – administrare sub formă nenocivă, adică formolate – anticorpi neutralizanți protectori. Tot în această categorie, putem include toxina eritrogenă a streptococului beta-hemolitic, capabilă de a imuniza protector. O notă particulară o aduce streptolizina O, aparținând tulpinilor de streptococ beta-hemolitic grup A, capabilă să inducă anticorpi neutralizanți sistemici, dar fără acțiune protectoare.

Exoenzimele. Unele enzime legate de virulență (capacitatea de invazie a unor tulpini bacteriene) sunt și antigene specifice de specie și chiar serotip (fibrinolizele streptococilor și stafilococilor, streptodornaza streptococică, lecitinaza speciei *Clostridium perfringens*).

3.6.3. Antigenele parazitare

Antigenele parazitare pot fi particulare (legate de celulă) sau solubile.

Parametrii de clasificare a antigenelor parazitare pot fi trei: după *natura parazitului* (antigene helmintice și antigene ale protozoarelor); după *localizare* (antigene legate de corpul parazitului și antigene "solubile", deci aliberate în mediu); după *forma de imunitate indusă prioritar* (antigene care induc sinteză de anticorpi – mai ales, helmintice, dar și ale protozoarelor cavitare precum Giardia sau Entamoeba; antigene care induc imunitate celulară – cu deosebire protozoarele tisulare, precum Plasmodium, leishmania, Toxoplasma, Trypanosoma, dar și unii helmiți ca Taenia echinococcus sau Ankylostoma doudenale).

Pe de altă parte, remarcăm și cazul antigenelor parazitare, posibilitatea apariției, prin pasaj interuman, a variației antigenice, ca la unele protozoare tisulare (Trypanosoma, plasmodium).

3.6.4. Antigenele celulare

Antigenele celulare sunt prezente pe membrană sau în interiorul celulelor organismelor pluricelulare.

- **Antigenele sistemului ABO** au descrise în 1900 de Landsteiner, care a observat că pe suprafața hematiilor există două antigene diferite, pe care le-a numit aglutinogen A și B. În ser se găsesc anticorpi naturali (IgM) ce aglutinează eritrocitele respective – aglutina, sau hemaglutina, α și β (anticorpi anti-A respectiv anti-B). Persoanele a căror hematii posedă antigenul (aglutinogenul A) prezintă în ser anticorpi anti-B și invers. În funcție de prezența sau absența aglutinelor și hemaglutinelor, populația umană se împarte în patru grupe distincte:

❖ **Grupa O_I** este lipsită de antigenele A sau B, dar are în ser ambele aglutine (α și

β). Subiecții din acest grup sunt considerați "donori universali", deoarece pot dona sânge atât celor din grupul lor cât și celorlalte grupe. Hematiile lor, care nu posedă antigenele A sau B, nu vor fi aglutinate de către hemaglutinele α sau β din serul unui primitor care aparține celorlalte grupe. În schimb, ei nu pot primi sânge decât de la cei din același grup, deoarece după transfuzie hematiile provenite de la celelalte grupe vor fi aglutinate de aglutinele α și/sau β existente în propriul ser.

❖ **Grupa A_{II}** , cu aglutinogen A și hemaglutină β (Ac anti-B), poate să primească sânge de la cei din același grup sau de la cei O_I și pot dona sânge celor din grupul lor sau din grupul AB_{IV} .

❖ **Grupa B_{III}** , are aglutinogen B și hemaglutină α (anti-A), pot primi de la O_I și propriul grup și dona grupului lor și subiecților AB_{IV} .

❖ **Grupa AB_{IV}** sau a "primitorilor universali", poate să primească sânge de la indivizii tuturor grupelor anterioare, deoarece nu au în ser hemaglutine. Se înțelege că nu pot dona decât celor din același grup sanguin.

- **Antigenele sistemului Rh** au fost descrise de Landsteiner, împreună cu Wiener, patru decenii mai târziu. Ei au observat că serul de iepure imunizat cu hematiile maimuței *Macaccus rhesus* aglutinează eritrocitele a 85% din oameni, eritrocitele Rh^+ . Aceste antigene, ca și cele ale sistemului

ABO, sunt transmise ereditar. O mamă Rh⁻ care poartă un fetus Rh⁺, caracter moștenit de la tată va fi imunizată de hematiile fetale și va produce anticorpi (IgG), anti-Rh care, trecând prin placentă, produc aglutinarea eritrocitelor fătului și moartea intrauterină sau eritroblastoză nou născutului. Spre deosebire de aglutinele din sistemul ABO, în sistemul Rh nu există anticorpi naturali, ei apar după imunizarea persoanelor Rh⁻, a mamei cu hematii Rh⁺ fetale sau după transfuzii sanguine de la persoane Rh⁺.

- **Alte antigene celulare** sunt prezente pe limfocite, monocite/macrofage, granulocite, trombocite sau pe suprafața diferitelor celule din organe și țesuturi. Aceste antigene sunt răspunzătoare de specificitatea de specie, de grup, de organ sau sunt caracteristice pentru un anumit subiect dintr-o anumite specie.

3.7. Superantigenele.

Superantigenele (S-Ag) sunt o familie de molecule care stimulează un număr foarte mare de LT prin legarea foarte diferită de cea utilizată pentru marea majoritate a imunogenelor T. Ele unesc anumite porțiuni variabile din lanțul beta (V β) al TCR de molecule MHC de clasa II (lanțul β) de pe apc, în domeniile externe față de zonele lor de prezentare a epitopilor. Majoritatea S-Ag sunt exogene, toxine ale unor bacterii, dar pot fi și endogene, produși ai genelor unor retrovirusuri integrate în genomul celulelor gazdă. Primele sunt în principal exotoxinele, respectiv enterotoxinele, eliberate de unele serotipuri de stafilococ aureu (*Staphylococcus aureus*) (SE-A, SE-B, SE-C1, 2 și 3, SE-D, SE-E), precum și exotoxinele produse de câteva tulpini de streptococ piogen (*Streptococcus pyogenes*) de grup A (SPE-A, B, C, D).

Pe lângă acestea au mai fost descrise alte toxine, cu rol de superantigene, secretate fie de *S. aureus*: toxina

dermatitei exfoliative (TD), toxina sindromului de șoc toxic (TSST-1), fie de alte bacterii: enterotoxine produse de *Clostridium perfringens* (CPE), mitogenul solubil de *Mycoplasma arthridis* (MAS), antigenul de *Yersinia enterocolică* (YEA) etc.

Cele mai studiate superantigene virale sunt superantigenul Mls (minor lymphocyte-stimulating) codificat de MMTV (virusul tumorii mamare la șoarece), existent însă doar la șoareci și proteina N din nucleocapsida virusului rabiei.

Mecanismul de acțiune diferă de cel al antigenelor clasice. Deoarece S-Ag stimulează LT în forma sa integrală, fără a fi în prealabil prelucrat în peptide, și se leagă de alți AA - situați pe partea exterioară a domeniului V din lanțurile β ale TCR și a moleculelor MHC (în special de clasa II), stimularea va interesa un număr mult mai mare de limfocite (10-40%, care au domeniul V β adecvat) decât cea indusă de un Ag obișnuit (<0,01%, care au receptori specifici pentru antigenul respectiv) și la concentrații mult mai mici.

Efectele activării policlonale a LT pot fi:

- Stimularea proliferării LT și producerea de citokine proinflamatoare, care stau la baza simptomatologiei din toxiinfecțiile alimentare (inflamație, diaree, șoc);
- Declanșarea de boli autoimune prin activarea LT citotoxice și helper autoreactive, ducând la creșterea producerii de autoanticorpi (scleroza în plăci sau poliartita reumatoidă);
- Apariția imunosupresiei, prin anergizarea LT de memorie, survenită după o activare tranzitorie.

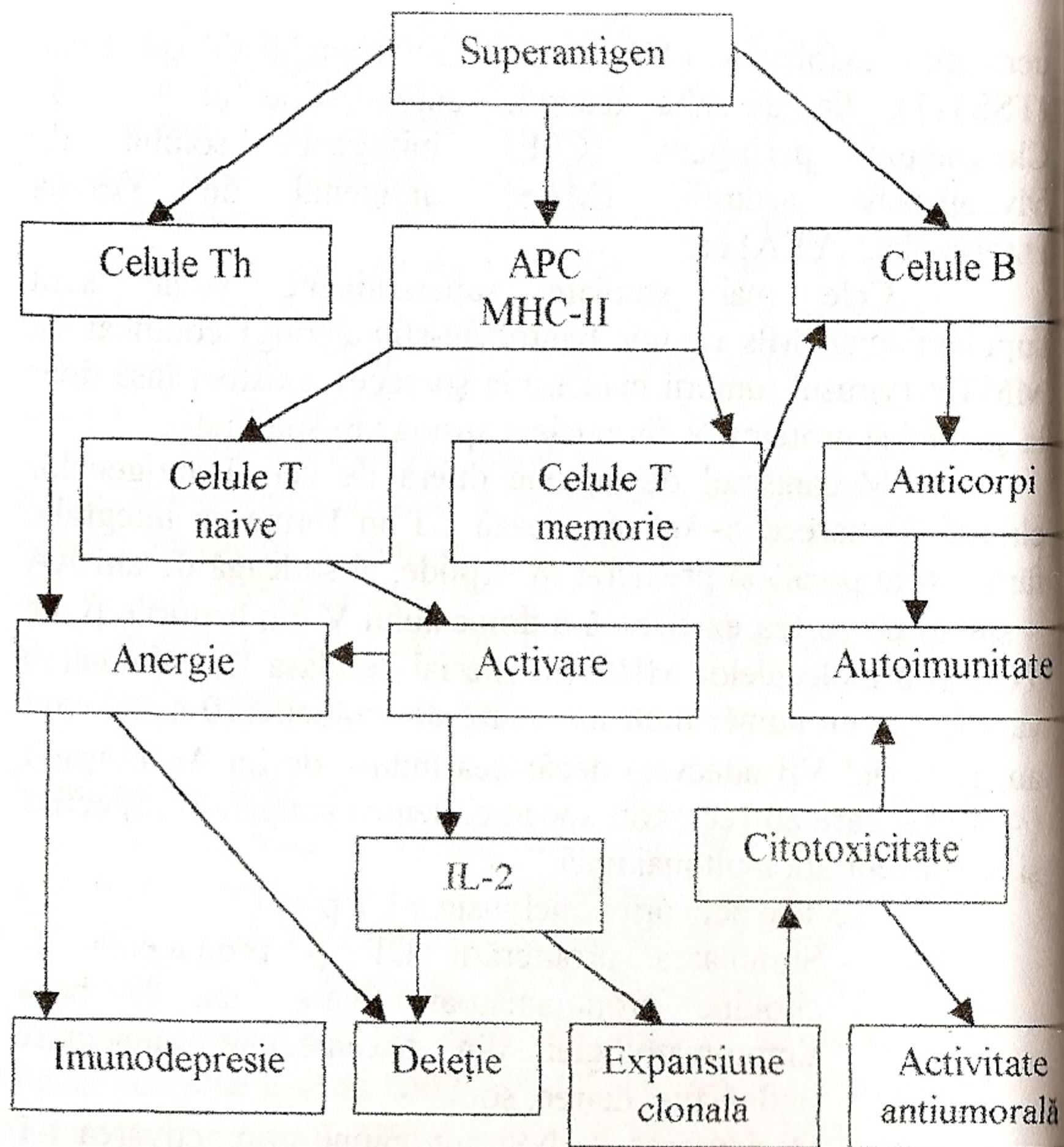


Fig. 3.1. Activarea limfocitelor T helper și limfocitelor B prin superantigene (V. Cristea, 1999)

Recent au fost descrise molecule care deoarece acționează la nivelul limfocitelor B, în mod similar cu superantigenele T, au fost denumite Superantigene B (S-AgB). Cele mai cunoscute sunt: proteina de membrană a stafilococului auriu (SpA) și glicoproteina de înveliș a virusului imunodeficienței umane HIV-1 (gp 120). SpA se leagă de domeniul variabil din lanțul greu al imunoglobulinelor (familia

VH3) atât secretate cât și de membrană. Fiind multivalentă, ea produce legarea încrucișată a receptorilor membranali (BCR) și activarea unui număr mare de limfocite B, dar – spre deosebire de LT – numai în prezența unei costimulări (IL-2 sau altă citokină).

CAPITOLUL 4

MODALITĂȚILE DE APĂRARE A ORGANISMULUI

În funcție de performanțele antigenului (natura, cantitatea, calea de pătrundere în organism) precum și de calitatea genetică și starea fiziologică a organismului în cauză, imunitatea poate fi **naturală** (imunitatea de specie) și sau **dobândită** (individuală). La aceste două forme clasice s-a adăugat în ultimul timp și cea de toleranță imună.

4.1. Rezistența naturală

Imunitatea naturală (de specie) are un substrat genetic și înseamnă lipsa de receptivitate față de un anumit agent infecțios. De aceea, corect în acest caz se folosește denumirea de **rezistență înăscută**, **rezistență nespecifică** sau **rezistență naturală** (constituțională). Principalele sale particularități sunt:

- cuprinde toți indivizii unei specii fără excepții;
- s-a realizat și perfecționat printr-o îndelungată dezvoltare filogenetică;
- se manifestă nespecific și nediferențiat, indiferent de natura agentului infecțios;
- are un caracter genetic și prin urmare transmitere ereditară;
- poate interesa chiar unii indivizi din cadrul unei specii susceptibile.

Factorii care asigură rezistența naturală sunt pasivi și activi. Factorii pasivi sunt cei tisulari – barierele naturale în

calea invaziei microbiene – iar cei activi pot fi umorali sau celulari.

4.1.1. Factori pasivi (tisulari)

Factorii pasivi sunt reprezentați de structurile anatomice de înveliș ale organismului și care, atât timp cât sunt intacte structural și funcțional, realizează o barieră primară prin care se împiedică pătrunderea "nonself"-ului.

Intrarea în organism a majorității agenților microbieni patogeni este împiedicată prin diverse mecanisme nespecifice:

➤ **Pielea** se opune pătrunderii microorganismelor, în cazul în care este intactă, nu prezintă soluții de continuitate, datorită unui cumul de proprietăți:

- integritatea anatomică se constituie într-o barieră ideală de protecție;
- descuamarea continuă a stratului cornos al epidermului care se opune colonizării de durată a microorganismelor de suprafață;
- aciditatea (PH: 3-5) datorită acizilor grași nesaturați;
- secreția glandelor sebacee și sudoripare care sunt concentrate în zone cu risc de infecție.

➤ **Mucoasele** au rol în realizarea unei bariere de protecție prin mai multe proprietăți:

- Prezența mucusului formează un strat vâscos, aderent cu rol protector și care antrenează fixarea și neutralizarea bacteriilor;
- Producerea unui PH acid (mucoasa gastrică, vaginală) se opune colonizării bacteriene în exces a acestor organe cavitate.

➤ **Microbiocenozele locale** dispersate în întreg organismul, s-au constituit în specii de cele mai multe ori comensale (nepatogene) și împiedică în mod normal dezvoltarea unor populații patogene. Microbiocenoza cavității bucale sau cea a colonului în condițiile unor tratamente intempestive, brutale și greu de justificat pot fi distruse, favorizând dezvoltarea ulterioară a unor bacterii patogene sau a ciupercilor (micoze).

4.1.2. Factorii umorali

Factorii umorali sunt factori activi care asigură rezistența naturală și sunt prezenți în sânge, limfă, lichid articular, lichid cefalorahidian, diverse secreții (lapte, salivă, lacrimi). Cei mai bine caracterizați și mai importanți factori umorali sunt: lizozimul, properdina, sistemul complement, lizina, spermina.

➤ **Lizozimul** este o enzimă care degradează pereții microbieni prin scindarea legăturilor glicozidice, ceea ce duce la permeabilizarea membranei și distrugerea agentului patogen prin șoc osmotic. Enzima este produsă de celulele fagocitare, macrofagele și neutrofilele, prezente în aproape toate țesuturile și fluidele organismului, cu excepția urinei, transpirației, umorii apoase. Lizozimul protejează mucoasele nazală, bucală, conjunctivală și corneea împotriva bacteriilor.

➤ **Mucusul** are mai multe calități antibacteriene, chimice și fizice. În componența sa intră mucinele, glicoproteine secretate de mucoase, care prin componența lor polizaharidică împiedică atașarea microorganismelor de glicoproteinele de pe membranele celulelor organismului gazdă. Agenții patogeni prezintă la suprafață molecule de adeziune, adevine sau hemaglutine, prin care se atașează de aceste glicoproteine celulare, promovând astfel colonizarea și infecția. Microbii sunt captați de mucus și pot fi în acest mod eliminați.

➤ **Proteazele din tractul gastrointestinal** au efecte antibacteriene prin degradarea proteinelor. Marea majoritate a microbilor sunt distruși în urma acțiunii pepsinei, din stomac, ce acționează la pH 1,0. Rarele bacterii acidofile, rezistente la atacul pepsinei, pot fi distruse de proteazele din partea superioară a intestinului subțire sau intră în competiție pentru nutrienți cu microorganismele nepatogene din intestin. Când acestea sunt distruse de tratamentele cu antibiotice, se produce frecvent înlocuirea lor cu microorganisme patogene.

➤ **Oponina** este denumirea tuturor componentelor serice care se leagă de suprafața microbilor sau celulelor promovând astfel fagocitarea acestora și ulterior distrugerea lor intracelulară. Legarea opsoninei de antigenele solubile sau particulate este denumită opsonizare. Principalele molecule care intervin în opsonizare sunt: anticorpul și unele componente ale complementului (C3).

➤ **Sistemul complement.** Complementul reprezintă un complex de 20 de proteine, care împreună cu sistemul coagulării, fibrinolizei și cel formator de kinină, constituie o parte din sistemele enzimatiche plasmatiche. Particularitatea comună a acestor sisteme este producerea unui răspuns rapid și „ult amplificat” la un stimul declanșator, prin fenomenul de „cascadă”. Acest fenomen este posibil datorită faptului că o parte din factorii complementului sunt zimogeni (pro-enzime) a căror activitate necesită clivajul proteolitic. Componentele complementului sunt desemnate prin litera C urmată de un număr, care este corelat mai mult cu momentul cronologic al descoperirii acestor factori, decât cu ordinea intrării lor în reacție. Alți factori ai complementului sunt desemnați prin literele: B, D, H, I, P. Componentele complementului sunt sintetizate în principal de ficat, dar macrofagele și fibroblastele pot sintetiza și ele unii factori (C2, C3, C4, C5, B, D, P, I).

Există două căi de activare a sistemului complement: calea alternativă și calea clasică.

Calea alternativă de activare a complementului. Este inițiată în absența anticorpilor, aparținând imunității nespecifice. Complementul pivot al acestei căi este factorul C3, care este cel mai abundent în plasmă (1,2 mg/ml) și are o greutate moleculară de 195 kDa. C3 prezintă o legătură internă de tip tiolester între reziduu de cisteină și unul de glutamină, care permite reacția formei solubile a C3 cu apa. Calea alternativă se află continuu într-o stare de activare spontană la o rată foarte scăzută datorită hidrolizei C3 de către apă. Această reacție duce la formarea unui interval instabil numit C3i sau C3[H₂O] similar ca funcție cu C3b (produs prin clivarea C3). În prezența magneziului (Mg²⁴) C3i se poate cupla cu un alt component al complementului, factorul B. După complexarea cu C3i, factorul B devine susceptibil clivajului de către altă enzimă plasmatică, factorul D (o serin protează prezentă în ser în forma activă). Factorul D clivează proteolitic factorul B, eliberând un fragment mic (Ba), fragment mai mare (Bb) rămânând asociat la C3i. Complexul C3iBb este instabil, fiind rapid degradat dacă nu este stabilizat de un alt factor al căii alterne, properdina. Complexul C3iBb stabil este capabil să cliveze C3 într-un fragment mic (C3a) și unul mare (C3b). Fragmentul C3b este instabil, legătura tiolester fiind susceptibilă atacului de către grupări nucleofilice (amino sau hroxil). Majoritatea legăturilor tiolester din C3b reacționează rapid cu moleculele de apă, fiind inactivate. Totuși, unele legături tiolester sunt transesterificate prin formarea unor legături covalente cu grupări amidice sau ester prezente pe suprafețele microbiene, C3b fiind astfel stabilizat.

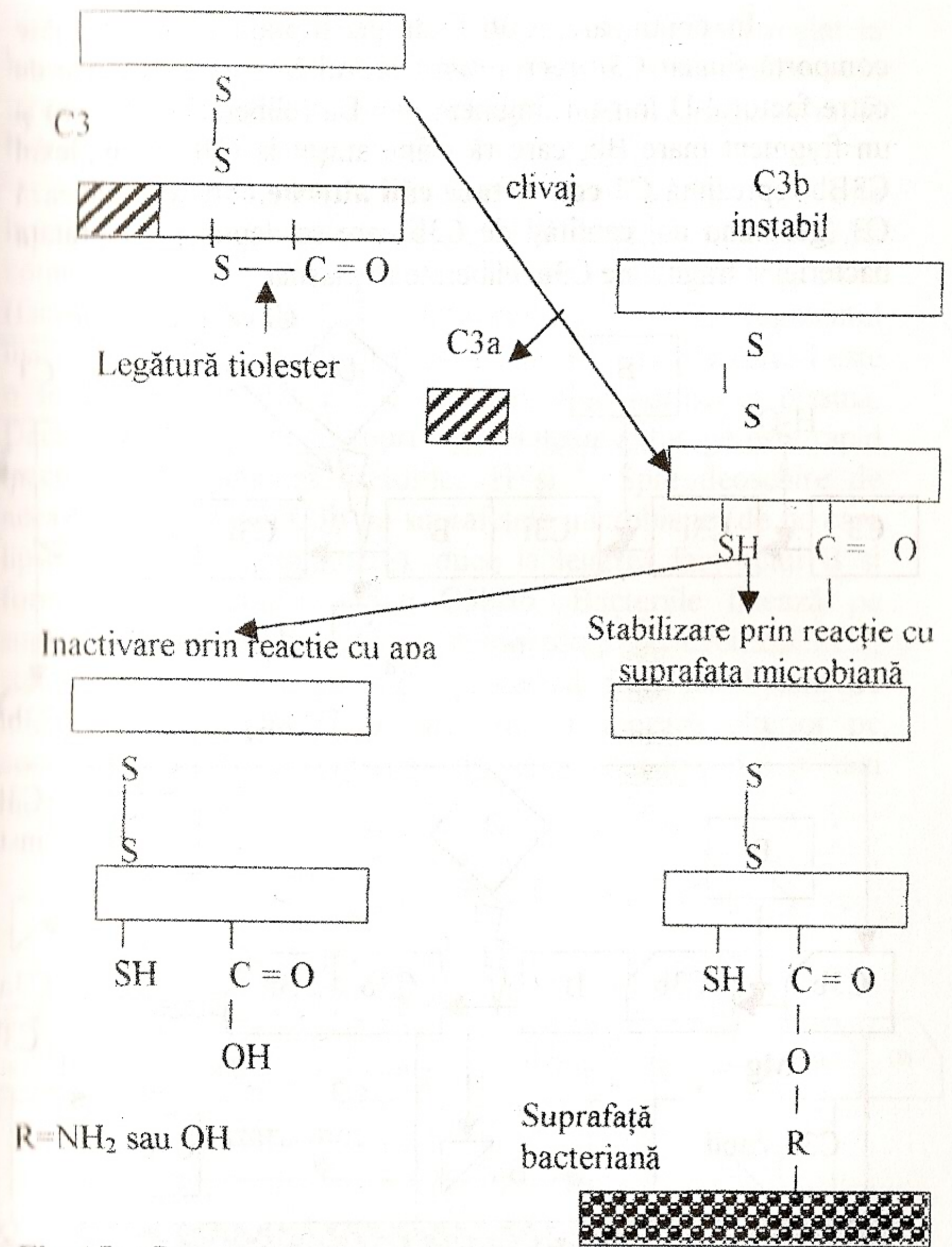


Fig.4.I. Reprezentare schematică a legăturii tiolester a moleculei C3 și a rolului ei în formarea legăturilor covalente cu alte grupări (E. Carasevici, 1999)

În continuare, C3b fixat pe suprafața microbiană se comportă similar C3i: recrutează factorul B, care este clivat de către factorul D într-un fragment mic Ba (eliberat în plasmă) și un fragment mare Bb, care rămâne atașat la C3b. Complexul C3Bb reprezintă **C3 convertaza căii alterne** deoarece clivează C3, generând noi cantități de C3b care se depun pe suprafața bacteriei și fragmente C3a, eliberate în plasmă.

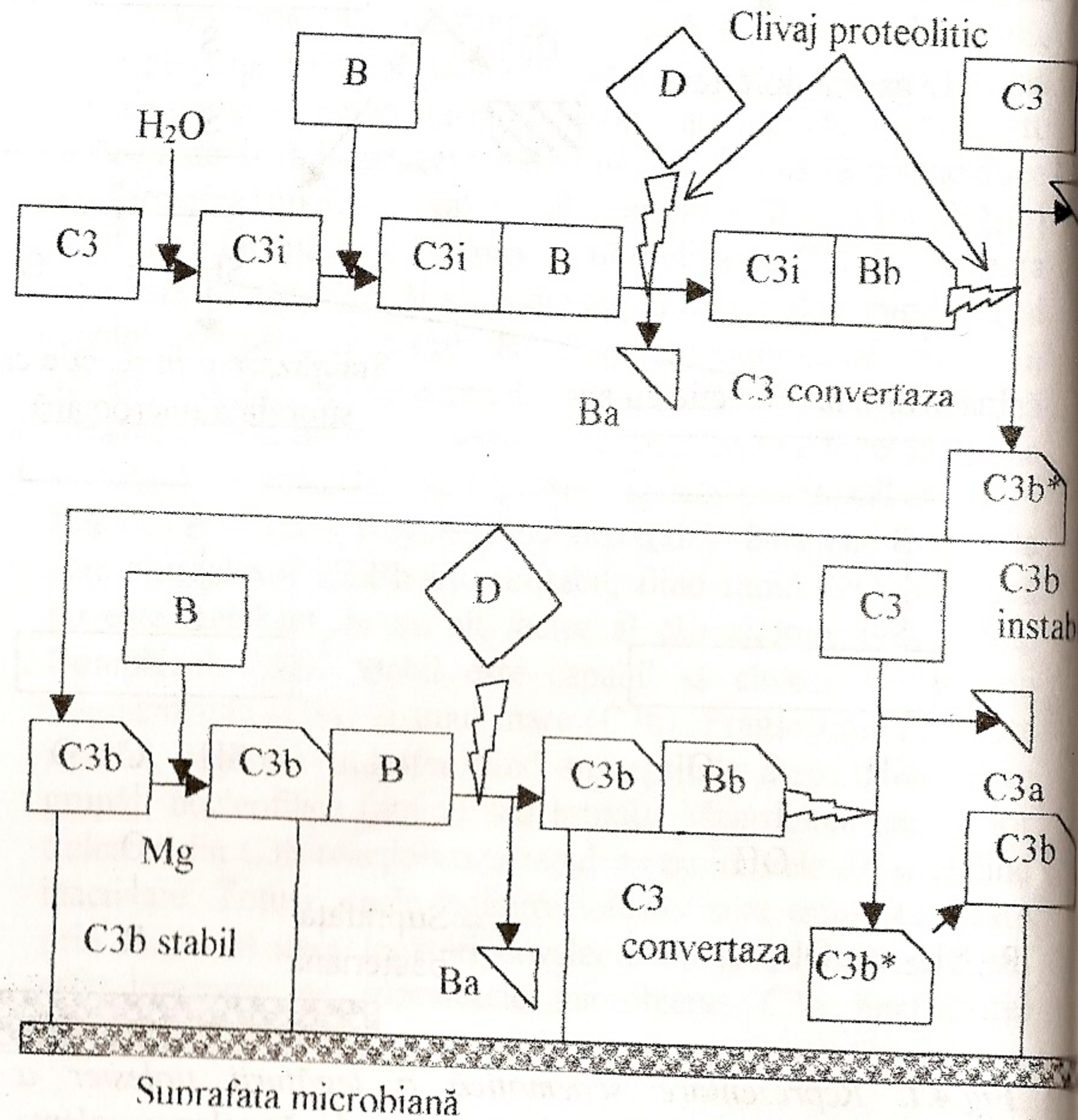


Fig.4.II. Clivajul spontan al C3 și calea alternativă de activare a sistemului complement

În mod normal clivajul spontan al C3 este reglat la nivele foarte mici. Deși C3b este generat spontan continuu în circulație, nu induce efecte negative deoarece este rapid hidrolizat într-o formă inactivă.

Nivelul C3b este controlat în două moduri: C3b este instabil în soluție și factorul B este ușor înlocuit cu factorul H, complexul C3bH este susceptibil la degradare prin factorul I (factor inactivator al C3b), care clivează C3b în fragmentul inactiv biologic iC3b și C3f și apoi C3c și C3dg. Factorul I este o serin protează prezentă și activă în mod normal în plasmă. Dacă C3b se depune pe suprafața celulelor autologe este rapid inactivat prin acțiunea factorilor H și I. Spre deosebire de aceasta, depozitarea C3b pe suprafețele microbiene (de pe care lipsesc proteinele reglatoare), duce la legarea factorului B și formarea convertazei active C3bBb. Bacteriile fixează pe suprafața lor formată din carbohidrați convertaza C3, stabilizând-o și în acest mod protejând fragmentul C3b de intervenția factorului H. **Properdina** acționează ulterior pe convertaza legată la suprafața bacteriei, stabilizând-o și mai mult.

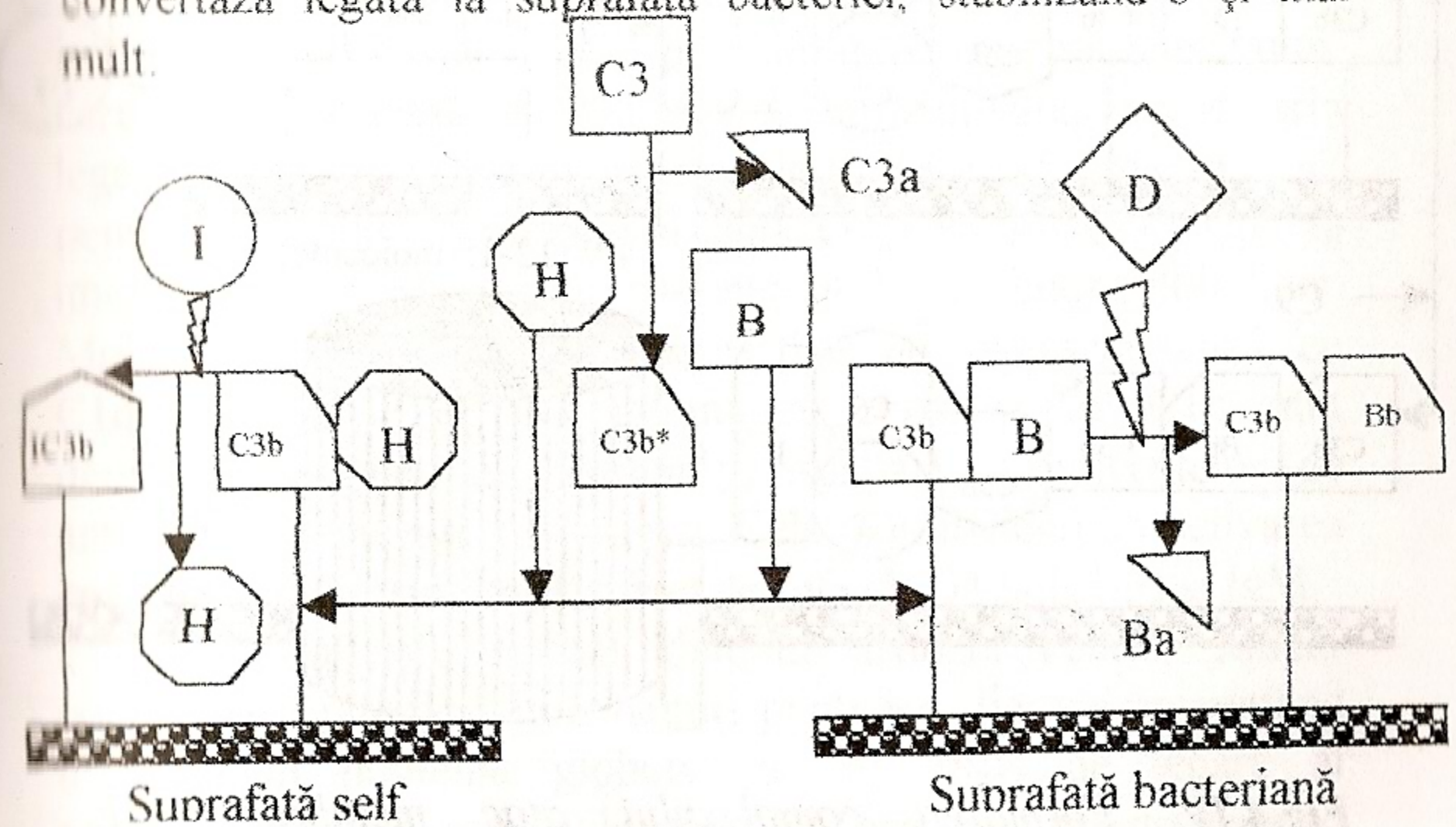


Fig.4.III. Reglarea căii alterne a complementului

Calea alternă furnizează și un mecanism intrinsec de amplificare pentru sistemul complement, prin faptul că fragmentele C3b generate și depuse pe suprafața bacteriană formează noi convertaze C3. Cum C3b poate fi generat și pe cale clasică, se poate produce activarea căii alterne, care va amplifica și calea clasică.

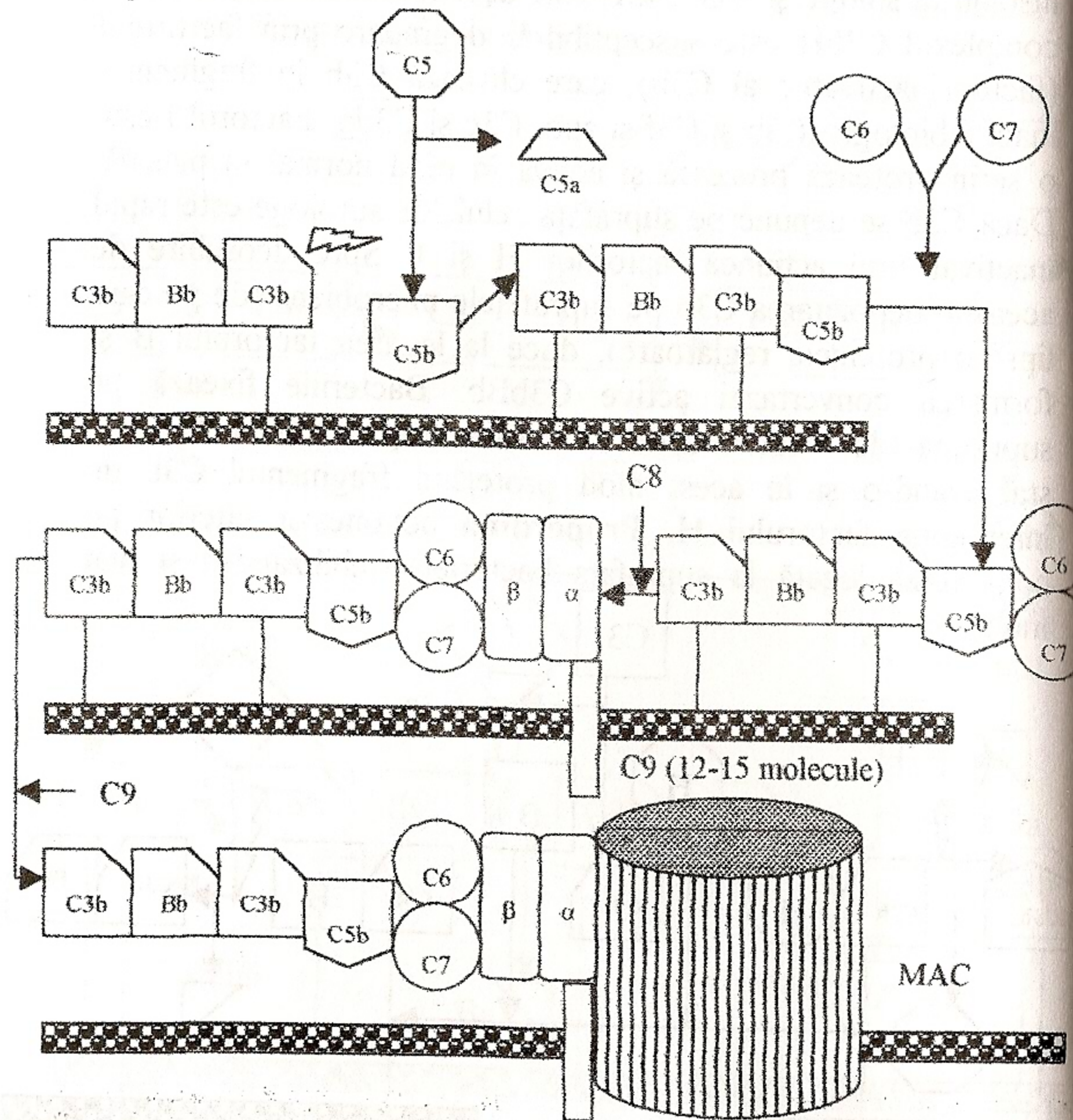


Fig.4.IV. Formarea complexului atac membranar (E. Carasevici, 1999)

Unele dintre moleculele C3b generate de convertaza C3 a căii aeriene se leagă la C3 convertaza depusă pe suprafața bacteriană, rezultând complexul C3bBbC3b. Acest complex reprezintă C5 convertaza căii alterne, având funcția de a cliva C5. Din acest moment, calea alternă și cea clasică converg (calea post C3). Convertaza C5 clivează factorul C5 în două fragmente: C5a (eliberat în plasmă) și C5b. C5b este legat slab la C3b și duce la atașarea rapidă, neenzimatică, a C6 și C7 la C5b. Complexul C5bC6C7 este slab legat pe membrana bacteriei, dar are afinitate pentru lanțul peptidic β al C8. Lanțul α al C8 se inseră în membrana bacteriei și generează modificarea conformației C9, care se transformă într-o moleculă amfipatică capabilă să se insereze în bistratul lipidic. În continuare, C9 polimerizează și se formează o structură anulară, numită MAC (membrane attack complex) care permite pătrunderea în celulă a apei și electroliților. Datorită presiunii coloid osmotice intracelulare mari apare un influx net de sodiu și apă care duce frecvent la liza osmotică a celulei.

Calea clasică de activare a complementului. Este inițiată de anticorpii legați pe suprafața microorganismului, care interacționează cu factorul C1q. Activarea apare prin legarea C1q la un situs (plasat la nivelul domeniului C_{H2} pentru molecula de imunoglobulină G și în domeniul C_{H3} la imunoglobulina M) de pe fragmentul Fc al imunoglobulinei. Moleculele de imunoglobuline native nu interacționează cu C1q. Situsurile de interacțiune cu componentul C1q sunt demascate numai de configurația spațială a moleculelor de anticorpi complexate cu antigen. Cele mai eficiente în activarea complementului sunt moleculele de IgG (IgG1 și IgG3) și IgM.

C1q este format dintr-un trunchi central similar colagenului, ramificat în 6 lanțuri peptidice, fiecare prezentând în vârf un domeniu globular cu un situs de legare al anticorpilor. C1q este polivalent în ceea ce privește legarea

anticorpilor. C1q se asociază cu alte două subunități, **C1r** și **C1s** formând un complex, stabil în prezența calciului. Complexul conține câte două molecule C1r și C1s.

În mod normal, activarea spontană a complexului C1r-C1s este împiedicată de un factor inhibitor numit **C1-Inh**. În momentul în care complexul antigen-anticorp se atașează la două sau mai multe capete globulare ale C1q (unde se găsesc situsurile de interacțiune cu anticorpul), apare o modificare a conformației moleculei, care duce la eliberarea C1-Inh și la activarea autocatalitică a unei molecule de C1r și ambele clivează cele două molecule de C1s, activându-le. Atât C1r cât și C1s conțin unități repetitive de 60 de aminoacizi, cu o structură globulară, numite unități repetitive de consens (short consensus repeat) sau proteine repetitive de control a complementului (complement control protein repeat).

C1s activat are activitate serin proteazică și poate acționa asupra factorului C4 după ce acesta s-a legat la complexul C1, C4, care prezintă o legătură tiolester similară C3, este clivat enzimatic de C1s și generează un fragment mic, C4a și unul mare C4b (similar cu C3b în ceea ce privește activitatea lui de opsonizare). C4b se poate lega fie la complexul C1-anticorp, fie la suprafața microorganismului. C4a are activitate anafilatoxinică, dar mai scăzută decât C5a și C3a. În prezența magneziului, C2 se poate atașa la C4b, devenind astfel susceptibil la clivajul de către C1s. Produsul rezultat este complexul **C4b2b** care este **C3 convertaza căii clasice**, care are aceeași acțiune cu complexul C3Bb.

Calea post C3 este inițiată prin formarea C5 convertazei, prin atașarea de C3b la C4b2b, rezultând complexul **C4bC2bC3b**, **C5 convertaza căii clasice**. C5 convertaza căii clasice clivează C5 într-un fragment mic C5a (eliberat în plasmă) și un fragment mare C5b. Evenimentele următoare se succed identic în cele două căi (atașarea factorilor

C6, C7, C8 și C9) rezultând în final generarea complexului de atac membranar.

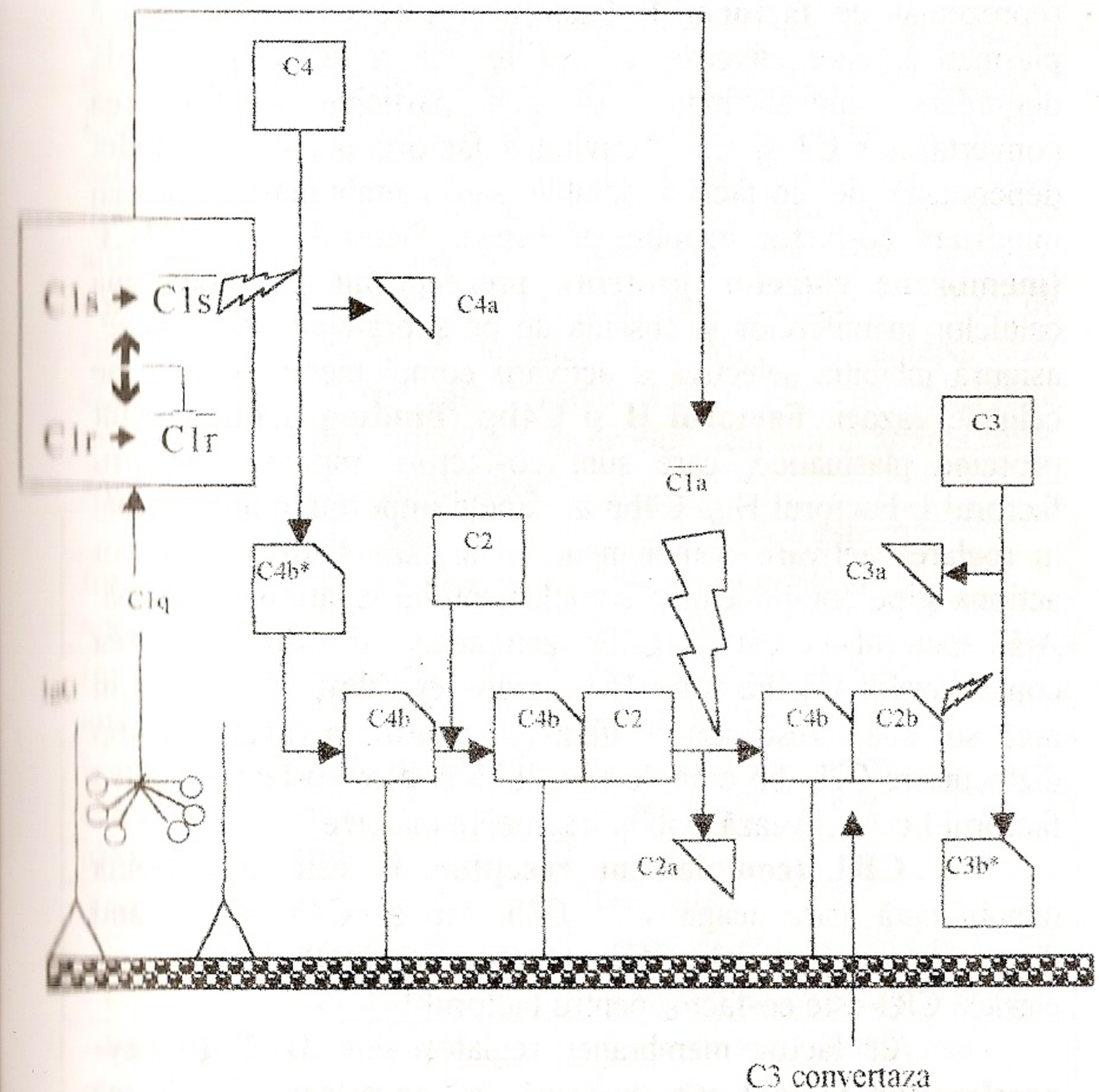


Fig.4.V. Calea clasică de activare a complementului

Odată activate complet, atât calea clasică cât și cea alternă au capacitatea să genereze foarte repede o cantitate mare de molecule C3b sub acțiunea convertazei C3. Aceste procese trebuie să fie atent reglate, atât în plasmă cât și pe suprafața celulelor gazdei, pentru a împiedica consecințele

patologice datorate consumului excesiv de C3, generării în exces a mediatorilor inflamației și lizei celulelor self.

Primul mecanism care controlează convertaza C3 este reprezentat de **factorul I**. Factorul I este o serin protează plasmatică, care clivează C3b, C4b cât și compușii lor de degradare, împiedicându-I să mai participe la formarea convertazelor C3 și C5. Activitatea factorului I este complet dependentă de co-factori solubili sau membranari. Cel mai important co-factor membranar pentru factorul I este **MCP (membrane cofactor protein)**; prezența lui pe membrana celulelor mamiferelor și absența de pe suprafețele microbiene, asigură inhibiția selectivă a activării complementului doar pe celulele gazdei. **Factorul H și C4bp (binding protein)** sunt proteine plasmatică, care sunt co-factori importanți pentru factorul I. Factorul H și C4bp au funcții importante în principal în reglarea activării complementului în fază solubilă, dar pot acționa și pe componentele complementului legate pe membrană. Atât factorul H cât și C4bp acționează și prin disocierea convertazelor C3. Factorul H se poate lega de C3b sau C3i în fază solubilă, crescându-le afinitatea pentru factorul I. C4bp dizlocuiește C2b din complexul C4b2b și este co-factor pentru factorul I care clivează C4b în fragmente inactive.

CR1 (complement receptor 1) este o proteină membranară care leagă atât C3b cât și C4b, accelerând disocierea convertazelor C3 generate pe cale alternă sau clasică. CR1 este co-factor pentru factorul I.

Alt factor membranar reglator este **DAF (decay-accelerating factor)** care se leagă de convertaza C3 (alternă sau clasică) și induce eliberarea rapidă a Bb sau C2b. DAF nu are și activitate de co-factor pentru factorul I.

Formarea complexului de atac membranar este controlată de doi factori: **CD59 (protein)** și **HRF (homologous restriction factor)**. CD59 și HRF împiedică asamblarea MAC în faza C8-C9.

Cea mai importantă acțiune a complementului este facilitarea preluării și distrugerii patogenilor de către fagocite. Aceasta se realizează prin recunoaștere specifică a componentelor complementului legate pe suprafața patogenului de către **receptorii pentru complement (CR)** de pe fagocite. Există mai multe tipuri de receptori pentru complement, dintre care unii (CR1, CR2, CR3, CR4) reacționează cu fragmente mari (C3b) și stimulează fagocitoza patogenilor opsonizați, iar alții sunt specifici pentru fragmentele mici (C5a, C3a, C4a) cu rol în procesul inflamator. Receptorii pentru complement de pe suprafața eritrocitelor umane au rol în îndepărtarea complexelor imune care conțin C3b, C4b pe suprafața eritrocitelor și transportul lor la nivelul ficatului și splinei unde sunt îndepărtate de către fagocite.

Calea clasică	Calea alternă
Interacționează cu imunitatea specifică	Apartine imunității nespecifice
Inițiată de anticorpul legat la antigen	Inițiată de suprafețele bacteriene
Necesită intervenția tuturor celor 9 componente majore ale complementului	Nu necesită intervenția factorilor C1, C4, C2
Trei faze: - Faza de inițiere diferită	Trei faze: - Faza de inițiere diferită
- Faza de amplificare diferită	- Faza de amplificare diferită
- Faza de atac membranar comună	- Faza de atac membranar comună

Tabelul 4.1. Comparatie între cele două căi de activare a complementului (E. Carasevici)

Sistemul complement are multiple efecte biologice, dintre care cele mai importante sunt: opsonizarea (se augmentează fagocitoza acestuia de către celulele fagocitare), chemotacismul (eliberarea unor componente în cursul activării

ce atrag celulele fagocitare), liza agentului patogen (se realizează distrugerea sa).

Defecte ale sistemului complement

Genele pentru factorii B, C2 și C4 ai complementului sunt localizate în regiunea genelor pentru MHC numită clasa III, de pe cromozomul 6 la om. Genele pentru proteinele reglatoare ale complementului și pentru unii receptori ai complementului se găsesc pe cromozomul 1, împreună cu genele pentru C6, C7, C8 și C9.

La om au fost descrise deficiențe congenitale ale tuturor componentelor complementului, cu excepția factorului B. Aceste defecte duc frecvent la creșterea susceptibilității pentru infecții bacteriene sau la boli autoimune produse prin complexe imune circulante.

Deficiența severă sau absența C3 se asociază cu o predispoziție la infecții cu piogeni (pneumonie, meningită, otită, faringită)

Deficiența ereditară în factorul inhibitor al C1 (C1 Inh) duce la producerea excesivă de C2a și se caracterizează prin episoade recurente de edem localizat. Condiția respectivă a fost numită edem angioneurotic ereditar.

Sistemul complement are și efecte negative, în anumite condiții:

- se poate fixa pe mastocite, trombocite sau polimorfonucleare, ceea ce are ca rezultat eliberarea de histamină și creșterea permeabilității vasculare consecutivă cu apariția șocului anafilactic letal în unele situații;

- poate favoriza precipitarea complexelor antigen-anticorp la nivelul peretelui vascular (fenomen Arthus) cu gama largă de manifestări clinice grave. Complementul este format din mai multe fracțiuni a căror activare se poate face în funcție de natura antigenului dar și de alți factori.

- **Properdina** este o glicoproteină cu efect antibacterian, antiviral și antineoplazic implicată în activarea complementului.

- **Spermina și spermidina** sunt proteine cu efect bactericid în special asupra cocilor Gram pozitivi și negativi (stafilococ, gonococ), dar și asupra bacilului Koch. Se găsesc în lichidul seminal precum și în țesutul renal.

- **Proteina C-reactivă** face parte din proteinele plasmatică de fază acută, a căror concentrație crește în cursul infecțiilor. Ea acționează ca o opsonină prin legarea de peretele celulelor bacteriene care duce la activarea complementului.

- **Lactoferina și transferina** sunt proteine care fixează fierul competitiv cu microorganismele, dar și cu celulele active aflate în dezvoltare de exemplu celulele embrionare, celule neoplazice.

- **Interferonii (IFN)** sunt un grup de proteine secretate de diferite celule (macrofage, fibroblaști, limfocite), cu rol antiviral. Ei sunt produși rapid în cursul infecției și constituie prima linie de rezistență împotriva unui număr mare de virusuri.

4.1.3. Factori celulari

Fagocitoza este ingerarea și distrugerea în interiorul celulelor a substanțelor particulare (bacteriile). Fagocitoza reprezintă o formă de **endocitoză, o alta fiind** pinocitoza (**internalizarea fluidelor**).

Fagocitoza necesită energie (generată pe calea metabolismului glucidic), sinteză de noi membrane celulare și un sistem al proteinelor contractile citoplasmatică foarte activ. Există mai multe tipuri de celule fagocitare. Metchnikoff a descris două tipuri de fagocite pe care le-a denumit: microfage și macrofage.

Se consideră că factorii celulari au rolul principal în **apărarea rapidă, inițială** față de infecții. Ei intervin în

procesele de apărare, ca celule efectoare nespecifice, atât prin fagocitoză cât și prin pinocitoză și produc în acest fel distrugerea microorganismelor. Cele mai cunoscute și importante celule cu rol fagocitar sunt **granulocitele** sau **polimorfonuclearele** (au granule în citoplasmă și nucleul multilobat – polimorf): neutrofilele, eozinofilele, bazofilele, mastocitele și celulele fagocitare **mononucleare** – macrofagele. Toate aceste celule provin dintr-un strămoș comun – celulă sușe (stem) mieloidă, care, la rândul ei provine dintr-o celulă sușe (stem) hematopoietică pluripotentă.

4.1.3.1. Polimorfonuclearele neutrofile

Leucocitele polimorfonucleare neutrofile (PMN) sunt celule mici (microfagelor descrise de Metchnikoff), care își au originea dintr-un precursor comun din măduva hematopoietică (celula sistem hematopoietică). Neutrofilele sunt granulocite circulante în sânge și formează populația predominantă de leucocite sanguine. PMN sunt celule terminale incapabile de diviziune, cu viață scurtă, care migrează foarte rapid la sediul invaziei microorganismelor prin traversarea peretelui vascular. Neutrofilele au nucleu polilobat și foarte multe granule care nu se colorează cu hematoxilină și eosină.

Neutrofilele au trei tipuri de granule:

◆ **Primare**, numite și **azurofile** deoarece se colorează în albastru închis cu colorantul Wright, și care reprezintă 33% din totalul granulelor lizozomale. Lizozomii reprezintă “saci” cu enzime, care fuzionează cu fagozomul pentru a forma fagolizozomul. Granulele primare conțin multe enzime hidrolitice: mieloperoxidaza, lizozimul și proteinele cationice bazice bogate în arginină.

◆ **Secundare** sau **specifice** (67% din granulele lizozomale) conțin fosfataza alcalină, lactoferina (chelator al fierului; împiedică achiziționarea lui de către bacterii) și lizozim.

◆ **Tertiare** asemănătoare lizozomilor convenționali și care conțin hidrolaze acide.

Granulocitele neutrofile au depozite importante de glicogen, care pot fi utilizate pentru glicoliză, permițând funcționarea acestor celule și în condiții de anaerobioză. Polimorfonuclearele neutrofile sunt esențiale în apărarea împotriva bacteriilor piogene.

Polimorfonuclearele neutrofile sunt primele care intervin în apărare, fiind implicate în procese inflamatorii acute și cronice, cu funcții fagocitare foarte active. Dintre globulele albe ale sângelui, ele sunt cele mai numeroase 60-70%, adică 3-6.000/mm³. Celula (cu diametru de 10-12μ) prezintă un nucleu caracteristic, dens și format din mai mulți lobi. Citoplasma este abundentă, ușor bazofilă și cu numeroase granulații. Granulele sunt de două tipuri:

◆ **Lizozomi** (granulații azurofile primare și secundare) care au un conținut bogat în enzime hidrolitice (proteolitice și glicolitice) și alte molecule active implicate în inflamație, care se unesc cu veziculele de fagocitoză (fagozomi) și formează fagolizozomi.

◆ **Peroxisomi** care conțin enzime de reducere a oxigenului și peroxidului de hidrogen, având ca efect generarea de compuși toxici ai oxigenului și halide toxice pentru microbi – mieloperoxidaza.

PMN se caracterizează printr-o mare capacitate de locomoție. Dacă sunt atrase de substanțele chemotactice, ele aderă la suprafața celulelor endoteliale ale vaselor și apoi trec prin peretele acestora în țesuturi (diapedeză). Sunt abundente în sânge și constituie principala componentă a puroiului, în inflamații. Neutrofilele au și un echipament enzimatic lizozomal foarte eficient, capabil să elimine bacterii Gram- pozitive, Gram-negative, fungi și chiar unele virusuri cu anvelopă. În procesul de fagocitoză digeră total bacteriile, fără

conservarea determinantilor antigenici. Conținutul granulelor poate fi eliberat extracelular în cazul stimulării cu complexe antigen-anticorp, având efecte nefaste asupra țesuturilor din jur, fenomen important în patogenia bolilor cu complexe imune (hipersensibilitate de tip III).

4.1.3.2. Eozimofilele

Eozinofilele reprezintă 2-5% din totalul leucocitelor din sânge. Au un aspect asemănător cu cel al neutrofilelor (diametru 9-12 μ , nucleu bilobat) cu excepția granulațiilor care sunt mult mai mari, ocupă toată citoplasma și se colorează în roșu cu eozină. Acestea conțin enzime, proteine și factori toxici (proteina majoră bazică), care pot fi eliberați fie în exteriorul celulei (exocitoză), în urma activării eozinofilului, fie în vacuole de fagocitoză din interiorul celulei, cu efecte toxice asupra microbilor fagocitați. Eozinofilele au un rol major în apărarea față de paraziții mari (helminți, larve de schistosoma) și sunt implicate într-o serie de procese inflamatoare, prin efectele citotoxice ale conținutului granulelor și prin eliberarea unor mediatori chemotactici, care atrag alte celule la locul inflamației.

4.1.3.3. Bazofilele și mastocitele

Bazofilele sunt rare în sângele periferic (\approx 0,5% din totalul leucocitelor), mai mici decât restul granulocitelor (diametru 5-7 μ), cu nucleu bi- sau multilobat, caracterizat prin granule mai mari din citoplasmă, care se colorează în violet închis (colorația May-Grünwald-Giemsa). Proprietățile lor funcționale sunt similare cu cele ale mastocitelor. Mastocitele sunt celule mononucleare mari, ovoide sau alungite, cu nucleu unic, excentric, dar prezintă în citoplasmă granulații de același tip.

Ele sunt de două feluri:

- ◆ asociate țesutului conjunctiv (concentrate în piele, timus, țesut limfoid)

- ◆ asociate mucoaselor (vezică urinară, pe mucoasele tractului căilor respiratorii și digestive).

Ambele tipuri de celule participă la o mare varietate de procese patologice, în special alergice. În aceste afecțiuni, dețin rolul cheie de eliberare din granule a unor mediatori chimici ce conduc la declanșarea unor procese inflamatorii sau de hipersensibilitate. Bazofilele și mastocitele sunt primele care stimulează afluxul PMN și al monocitelor la locul inflamației și eliberează o serie de mediatori solubili din granulații, care intervin în principal în șocul anafilactic: heparină, histamină, factori chemotactici, SRS-A, enzime proteolitice, etc.

4.1.3.4. Trombocitele (plachetele)

Trombocitele provin din megacariotele mari din măduva osoasă și au un rol principal în coagulare, dar sunt implicate și în procesele inflamatorii. Ele conțin granulații (granule α și β , bogate în enzime proteolitice, amine vasoactive și proteine catodice), se agregă la suprafața endoteliilor lezate și eliberează substanțe chemotactice (atrag PMN), și activează complementul. Valoarea medie normală din sânge a trombocitelor este 250.000/mm³.

4.1.3.5. Monocite /macrofage

Macrofagele derivă din măduva hematopoietică, care se diferențiază în monocite circulante. Monocitele sanguine sunt prezente în proporție mai mică în sânge comparativ cu neutrofilele. Monocitele migrează în țesuturi unde se diferențiază în macrofage, care sunt răspândite în toate țesuturile corpului și formează **sistemul fagocitelor mononucleare**. Macrofagele sunt celule cu viață lungă, cu rol important în combaterea microorganismelor (bacterii, virusuri, protozoare) capabile să trăiască în interiorul gazdei.

Monocitele sunt celule mononucleate mari (diametru 10-15 μ), cu un nucleu oval încurbat, de forma boabelor de

fasole (cu cromatina mai laxă decât cea a granulocitelor) și conțin în citoplasmă granulații azurofile (lizozomi și vacuole de fagocitoză). Monocitele circulă în sânge ($\approx 6,5\%$ din totalul leucocitelor), dar pot imigra în țesuturi, unde sunt numite macrofage, celule mari (diametru $20-200\mu\text{m}$), adesea de formă neregulată și cu citoplasmă abundentă. Macrofagele se găsesc în toate organele și în țesuturile conjunctive, fiind denumite după localizare: celule microgliare (în sistemul nervos central), Kupffer (în ficat), macrofage alveolare (în plămân), osteoclaste (în oase). Unele se pot diferenția în alt tip de celule, denumite celule dendritice. Macrofagele au multiple funcții și participă bidirecțional în interacțiunea dintre imunitatea înăscută și cea adaptivă:

♦ Macrofagele fagocitează particulele străine: microbi, macromolecule și chiar celule proprii lezate sau moarte (hematii îmbătrânite), fiind considerate principalele "celule gunoier" ale organismului. Sunt capabile să ajungă la locul stimulului și să înglobeze particula străină prin **pinocitoză** sau prin **fagocitoză**. Macrofagele secretă enzime, produse toxice ale oxigenului și NO, care pot ucide microbii, controlând astfel răspândirea infecțiilor, dar să și lezeze celulele proprii din imediata vecinătate.

Fagocitoza poate fi divizată în patru stadii:

❖ **Chemotaxia** reprezintă migrarea fagocitelor la sediul invaziei microbiene sub influența unor **factori chemotactici**. Invazia bacteriană și distrucțiile tisulare duc la producerea unei mari varietăți de factori chemotactici: fragmentul C5a (generat prin activarea sistemului de complement), interleuchina 8 (IL-8) produsă de multe celule (macrofage, fibroblaști, celule epiteliale și endoteliale), molecule eliberate de neutrofile, mastocite și trombocite (leukotriene, histamină) și produși bacterieni (peptide care conțin aminoacidul formil-metionină, absent din celulele

mamiferelor). Neutrofilele sunt primele care răspund la stimulii chemotactici și migrează mai rapid decât monocitele. La sediul infecției, neutrofilele mor și își eliberează conținutul, ceea ce duce la distrucții tisulare și generarea de noi factori chemotactici. În momentul în care monocitele (macrofagele) ajung la locul invaziei, distrug microorganismele restante și materialele rezultate din distrugerea neutrofilelor și a țesuturilor și inițiază procesul de reparare tisulară.

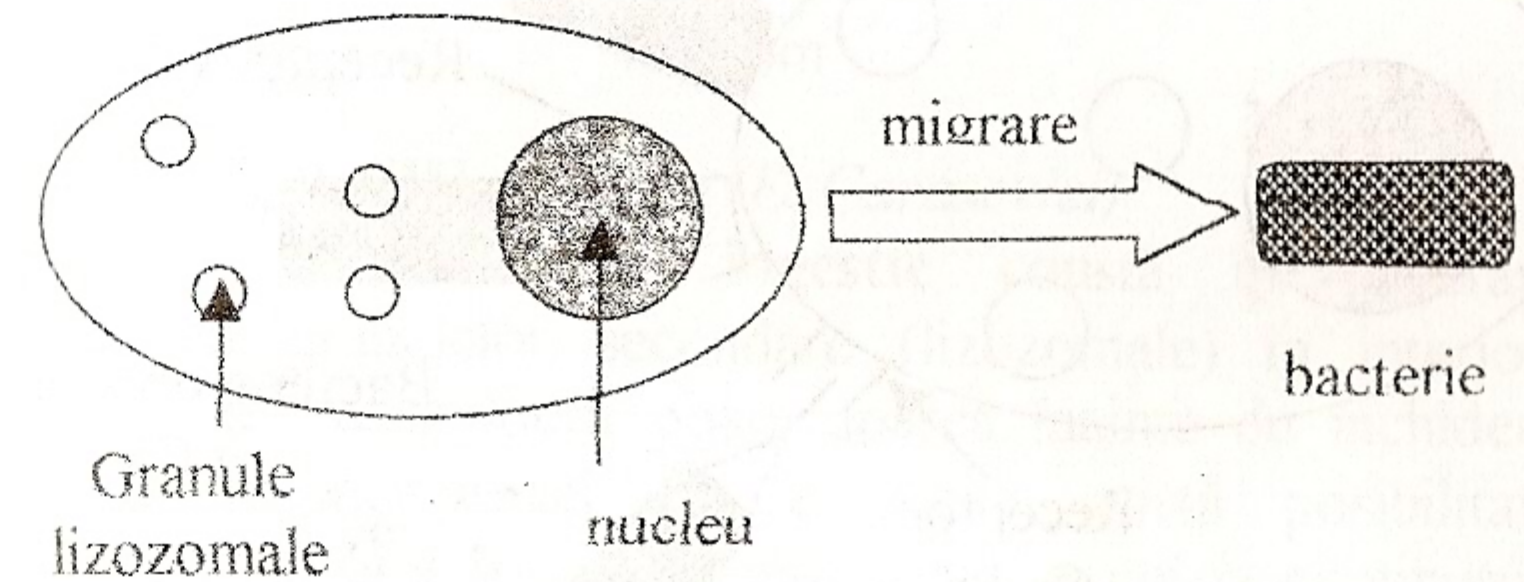


Fig.4.VI. Chemotaxia (E. Carasevici)

❖ **Aderența** bacteriei la suprafața fagocitului este mediată de mecanisme primitive de recunoaștere, care probabil implică carbohidrați. **Integrinele leucocitare CD11b/CD18** sau **CD11c/CD18** recunosc constituenți ai peretelui bacterian ca **lipolizaharidul (LPS)**. Alți receptori exprimați de macrofagele tisulare și neutrofile implicați de macrofagele tisulare și neutrofile implicați în recunoașterea componentelor microbiene comune sunt: **receptorul pentru manoză** al macrofagelor, **receptorul scavenger** și **CD14** (leagă LPS). Macrofagele și neutrofilele mai exprimă și receptori pentru fragmentul Fc al imunoglobulinelor și pentru unele fragmente ale sistemului complement (C3b). Astfel bacteriile acoperite cu anticorpi sau C3b pot adera la fagocite prin intermediul acestor receptori și stimula fagocitoza. Moleculele

care se depun pe suprafețele bacteriene și stimulează fagocitoza poartă numele de **opsonine**. Anticorpul sunt cele mai eficiente opsonine, dar și multe componente ale complementului (C3b) acționează astfel. Izotipurile IgG1 și IgG3 sunt cele mai active în opsonizare.

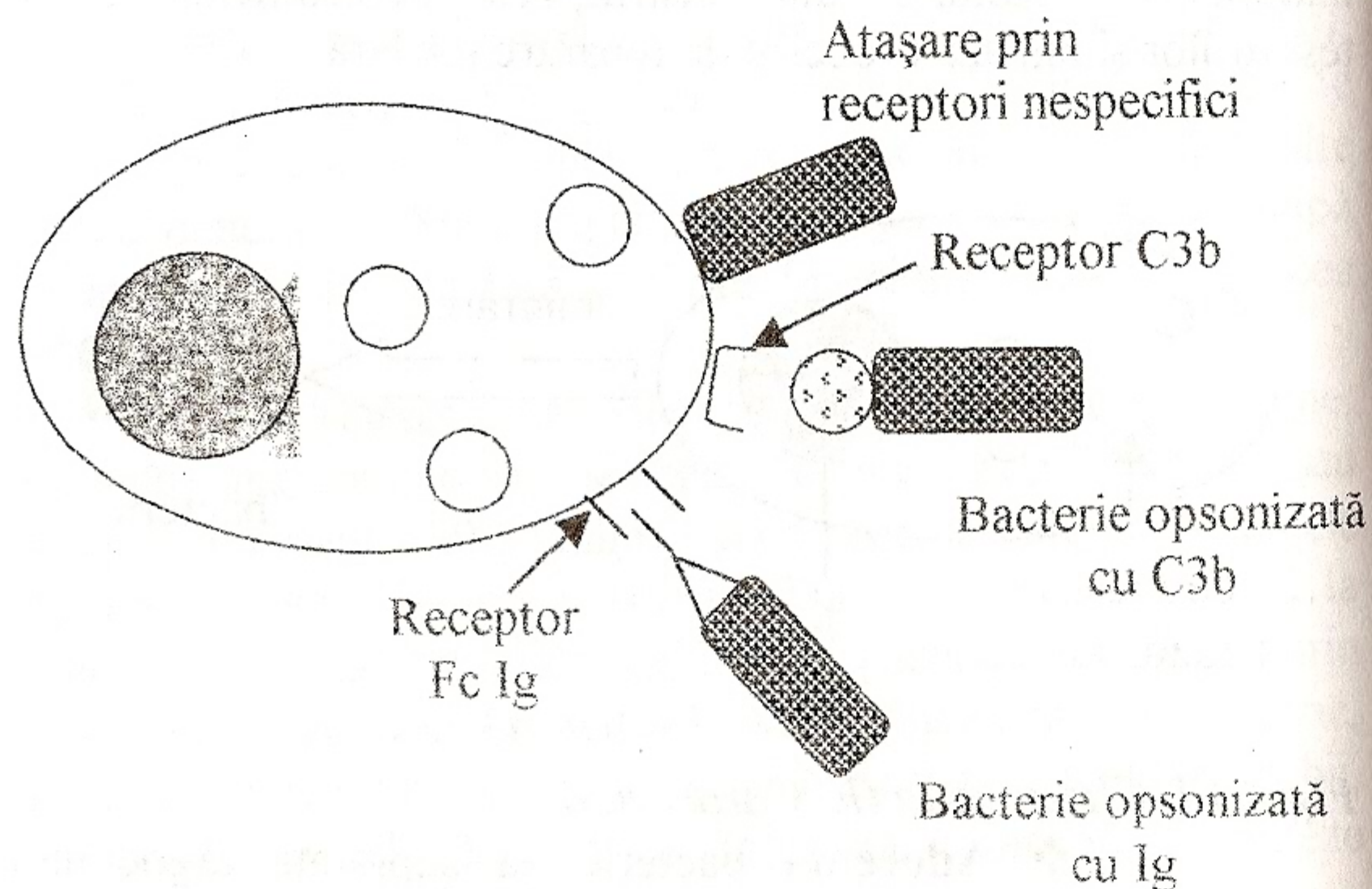


Fig. 4.VII. Aderența (E. Carasevici)

❖ **Faza de ingestie** presupune activarea sistemului contractil actină-miozină, care provoacă apariția unei depresiuni a membranei, care se accentuează și avansează în citoplasma celulei. În acest mod tot mai mulți receptori adiacenți de pe membrană se pot atașa succesiv la suprafața bacteriană și membrana se închide progresiv în jurul particulei, ca un fermoar. În final, bacteria este izolată complet de restul celulei într-o vacuolă numită **fagozom**. Urmează fuziunea fagozomului cu lizozimii, cu formarea unei vacuole numită **fagolizozom**.

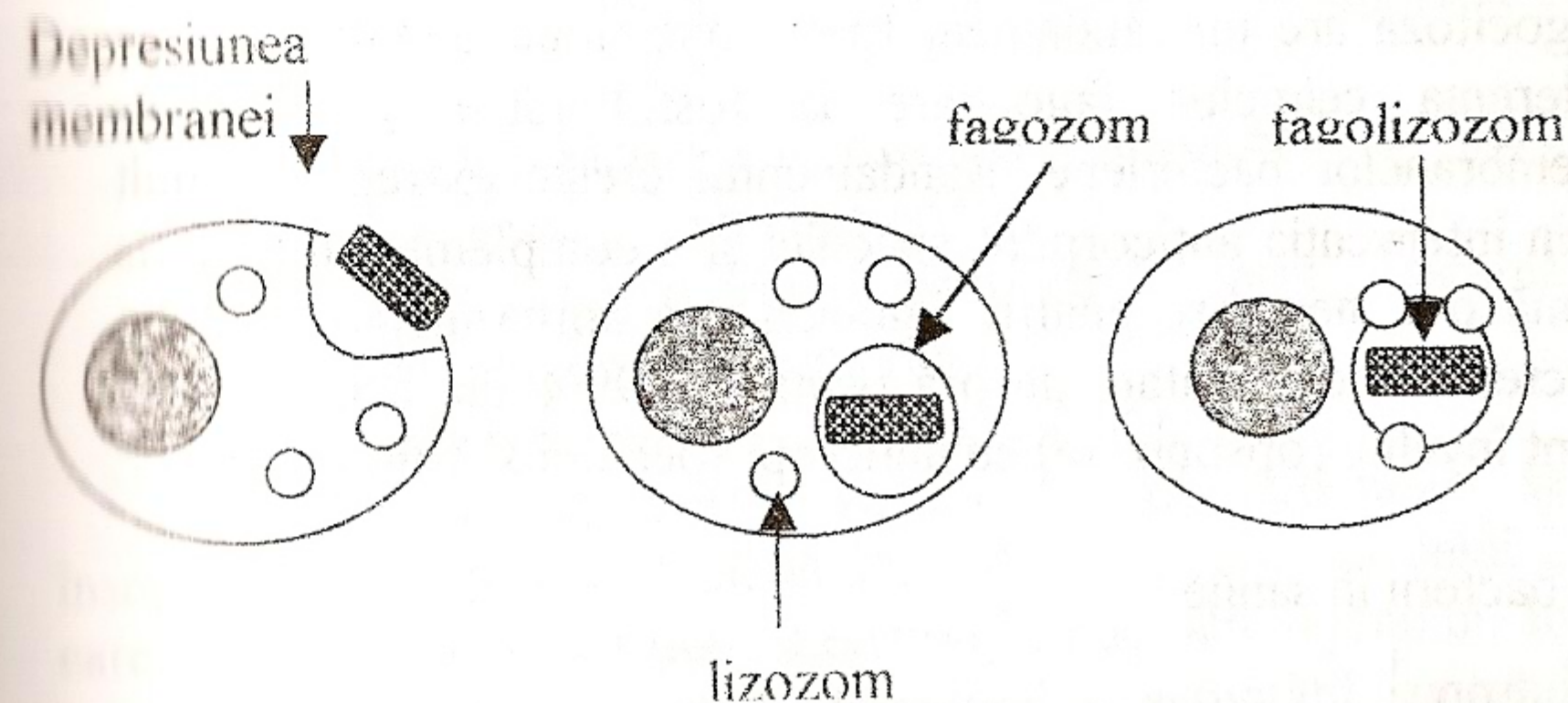


Fig.4.VIII. Ingestia (E. Carasevici)

❖ **Faza de ingestie** constă în eliberarea conținutului granulelor secundare (lizozomale) în interiorul fagozomului. Acest lucru poate apărea înainte de închiderea completă a membranei și de aceea există posibilitatea eliminării enzimelor în spațiul interstițial; expulzia conținutului granulelor în afara celulei se numește **exocitoză** sau **regurgitare**. Conținutul granulelor lizozomale digeră materialul ingerat, distrugând bacteriile; bacteriile pot fi distruse complet sau pot rezulta corpi reziduali, care sunt expulzați din celulă.

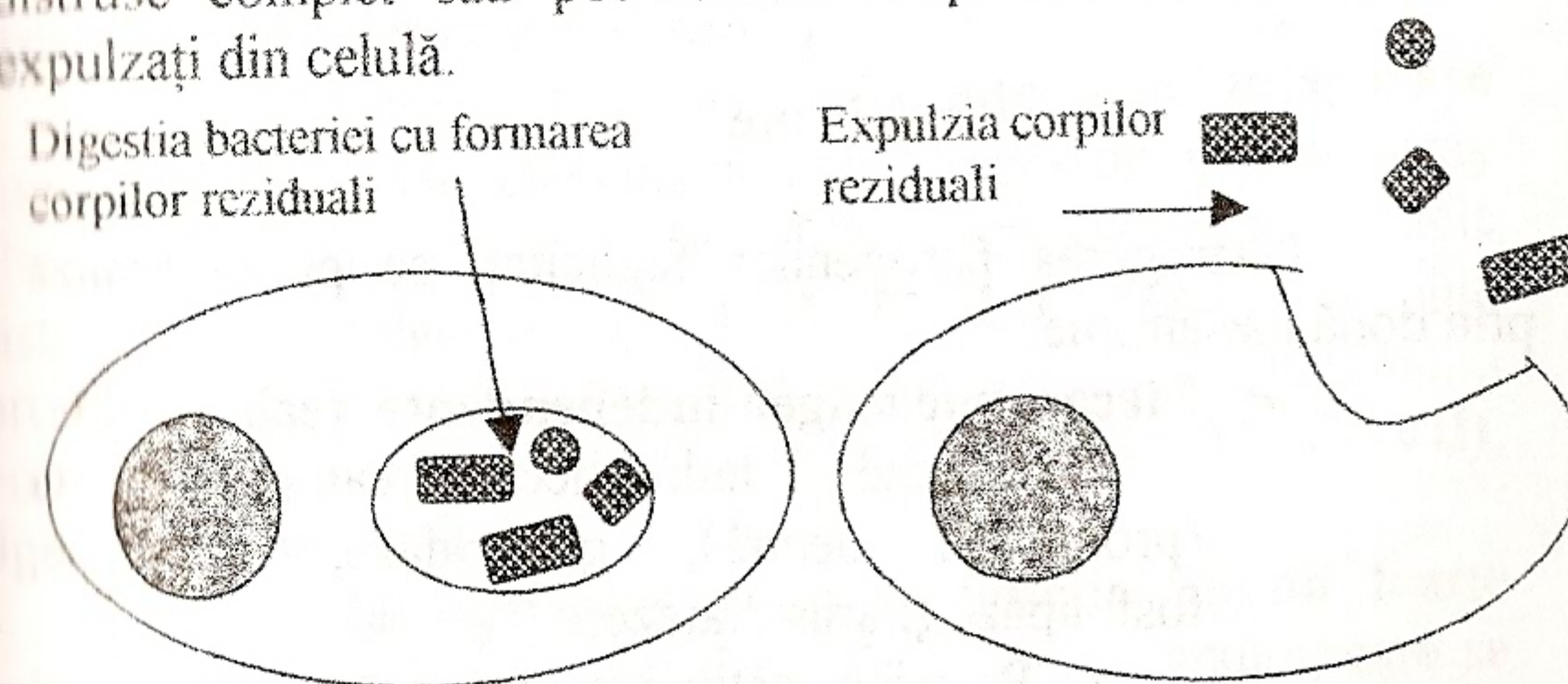
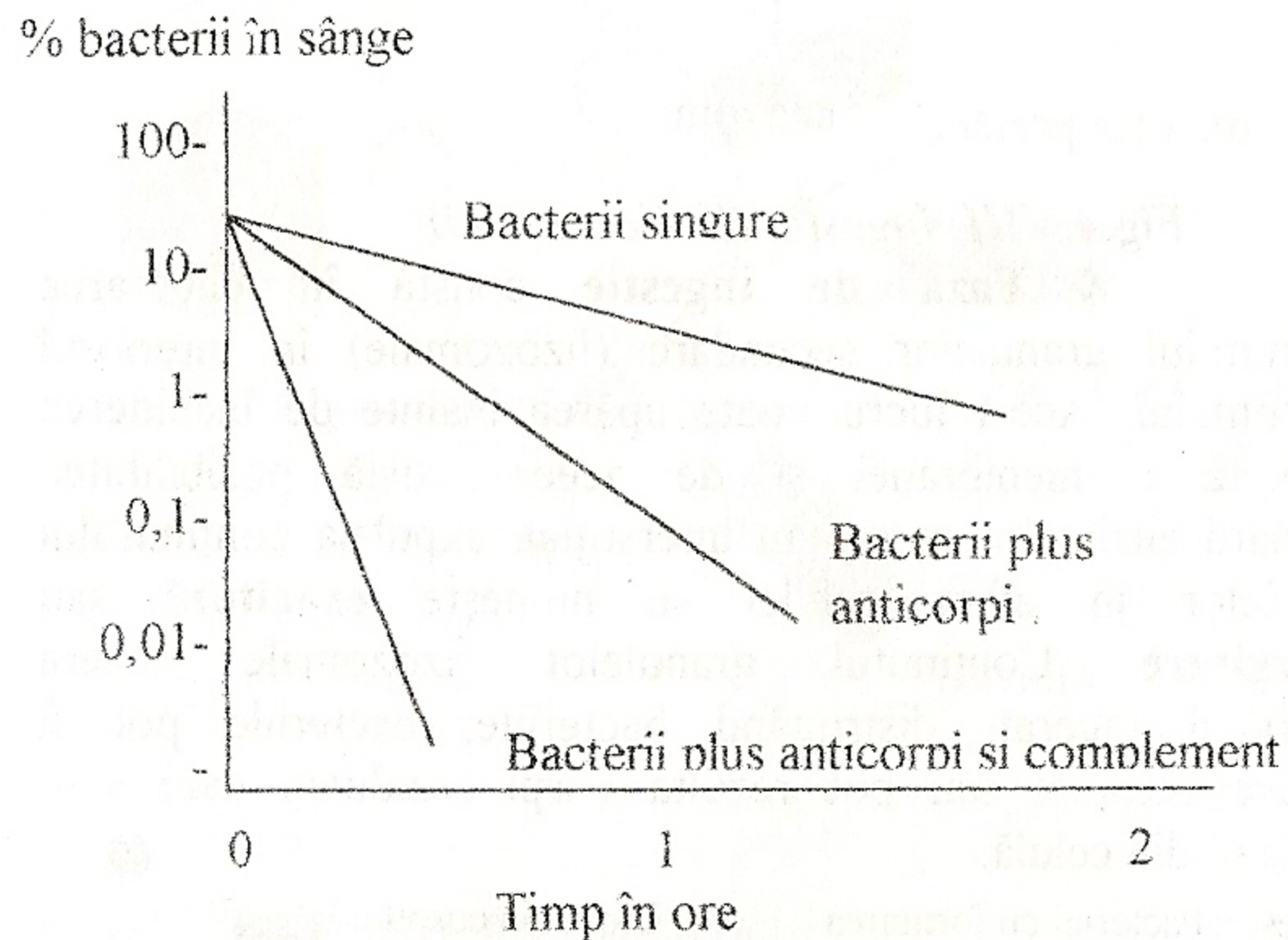


Fig.4.IX. Digestia bacteriei și expulzia corpilor reziduali (E. Carasevici)

Fagocitarea bacteriilor neopsonizate, singure, fagocitoza are un randament foarte mic, fiind dictată doar de aderența celulelor fagocitare la fosfolipidele și glucidele membranelor bacteriene. Randamentul crește extrem de mult prin intervenția anticorpilor specifici și a complementului, de la două ore, necesare pentru fagocitarea a aproximativ 90% din bacterii, la o jumătate de oră pentru 99,99% din acestea dacă sunt învelite (opsonizate) cu anticorpi specifici și complement.



Distrugerea patogenilor fagocitați se poate realiza prin două mecanisme:

- **Mecanisme oxigen-independente**, realizate de:
 - Enzime hidrolitice: catepsina G (proteinaza neutră), glicozidaze, fosfataze, fosfolipaze și arilsulfataze;
 - Proteine cationice, nu sunt enzime, ci peptide bazice cu un conținut bogat în arginină (histonele nucleare). Acesteaucid

microorganismele prin interacțiune cu enzime microbiene esențiale și cu proteine transportoare ale bacteriei.

- Lizozimul este o mucopetidază care clivează peretele bacterian.

- Lactoferina acționează prin legarea fierului necesar bacteriei.

➤ **Mecanisme oxigen-dependente:**

Evenimentele metabolice din timpul fagocitozei se însoțesc de un puseu al metabolismului respirator al celulei, care duce la producerea unor metaboliți toxici ai oxigenului. În primul rând apare o creștere dramatică a activității șuntului hexoz-monofosfaților, prin care se generează NADPH (nicotinamid adenin dinucleotid fosfat). NADPH-ul este utilizat pentru reducerea oxigenului molecular legat de un tip unic de citocrom din membrana plasmatică (cyt b₅₅₈). Oxigenul este consumat și convertit în **anion superoxid** (oxigen molecular care a captat un electron în plus), **O₂ singlet**, **peroxid de hidrogen (H₂O₂)** și **radicali hidroxil (OH)**. Toți acești compuși sunt agenți microbicizi puternici. Combinația peroxid, mieloperoxidază și compuși halogenați (ioni de clor) constituie un sistem de halogenare foarte puternic, capabil să distrugă atât bacterii cât și virusuri.

- ◆ Macrofagele secretă **substanțe cu rol în apărare** cum sunt citokinele chemotactice (chimiotactice), care atrag alte celule inflamatorii mai ales PMN, responsabile de efectele sistemice ale inflamației (IL-1, TNF, IL-6, IFN-α), și alte produse biologice active: componente ale sistemului complement, diverși factori ai coagulării (IX, X, V, VII), lipaze, eritropoietină, etc.

- ◆ Macrofagele au și o **funcție imună** foarte importantă, cu rol în apărarea specifică a organismului, care se corelează nemijlocit cu cea fagocitară. Spre deosebire de

neutrofile, digestia antigenului se realizează cu menajarea epitopilor, care apoi pot să fie prezentați pe suprafața membranei, macrofagele funcționând ca **celule prezentatoare de antigen** (APC- antigen-presenting cells). În afară de rolul APC, macrofagele produc mediatori (citokine) cu rol în stimularea proliferării și diferențierii limfocitelor, precum și molecule costimulatoare.

◆ Macrofagele activate pot exercita un **efect citotoxic direct** sau prin intermediul anticorpilor asupra celulelor străine sau tumorale.

4.1.3.6. Celulele NK

Ucid fără restricție MHC o largă varietate de celule tumorale și infectate viral, sau chiar bacterii izolate, fungi, paraziți. Reprezintă o linie importantă și primordială de apărare a organismului. În sânge sunt recunoscute după aspectul tipic, care se aseamănă cu limfocitele și monocitele. Apar sub formă de limfocite mari cu citoplasmă mai bogată, care conține numeroase granulații azurofile (ca și monocite) fiind denumite **limfocite mari granulare**. Fagocitarii celulari și umorali ai imunității nespecifice reprezintă prima linie de apărare a organismului, care apare rapid și este similară în cazul oricărui tip de leziune (infecții, traumatisme, arsuri, etc.). Spre deosebire de imunitatea adaptivă, care apare mai lent, rezistența naturală nu prezintă specificitate și memorie. Cele două tipuri de imunitate sunt puternic interconectate în organism, se influențează și se potentează reciproc.

Factori fiziologici ai sistemului imun nespecific sunt:

◆ **Temperatura corpului**: multe microorganisme nu reușesc să producă infecții la om deoarece temperatura de 37°C nu este favorabilă dezvoltării lor;

◆ **Tensiunea de oxigen** inhibă creșterea anaerobilor mai ales la nivelul plămânilor unde este în mod special crescută;

◆ **Balanța hormonală**: un nivel ridicat al corticosteroizilor diminuează răspunsul inflamator și duce la scăderea rezistenței la infecție. De aceea, persoanele aflate sub corticoterapie pentru boli autoimune sau transplant de organe au o susceptibilitate crescută la infecții;

◆ **Vârsta**: persoanele esub 3 ani și cele peste 75 de ani sunt mult mai susceptibile la infecții datorită răspunsului imun nespecific și specific suoptimal.

Depășirea acestor bariere duce la intervenția a două categorii de sisteme de apărare:

- ◆ Factori chimici (enzime bactericide);
- ◆ Fagocitoza.

4.2. Toleranța imunologică

Este o stare caracterizată prin lipsa unei reacții specifice a țesutului limfoid față de un antigen, când acesta este administrat în anumite doze, într-un anumit ritm și/sau pe o anumită cale de inoculare. Această stare este asociată cu păstrarea capacității organismului de a răspunde imun la toate antigenele, în afara celui care a indus-o. Prima descriere a sa a fost făcută de Paul Ehrlich în anul 1900.

Există mai multe tipuri de toleranță imunologică

4.2.1. Toleranța naturală

Toleranța naturală (acceptare a propriului) apare în cursul dezvoltării ontogenice a sistemului imun față de structurile proprii și se menține stabilă în cursul vieții unui individ. Pe această cale organismul poate să recunoască și să-și accepte propriile structuri și să nu reacționeze împotriva lor. În cazul în care propriile structuri își modifică configurația (prin infecții virale, bacteriene, etc.), ele ies din tiparele "self"-ului devenind străine iar organismul care are un sistem imunitar matur, cu o bună memorie imunologică, va reacționa împotriva propriilor structuri (cu toate că uneori rezultatul poate fi

dăunător – boli autoimune). Singurul lucru care contează pentru realizarea unui răspuns imun este ca o substanță să fie imunogenă, nu contează dacă este sau nu toxică, virulenă, patogenă, etc.

4.2.2. Toleranța dobândită.

Toleranța dobândită se realizează la animale imunologic mature, cum este cazul animalelor de experiență inoculate repetat cu cantități mari de antigen, **toleranță de doză înaltă**, sau la cele inoculate repetat cu cantități foarte mici de antigen, **toleranță de zonă joasă**.

Toleranța indusă de stări patologice apare în cursul unor boli care alterează răspunsul imun normal (în cursul unor infecții cronice)

Existența toleranței imunologice a fost recunoscută încă din secolul XVII, prin observarea respingerii grefelor între indivizi diferiți și acceptarea lor de către același individ sau la gemenii monozigoti. Experiența și observațiile ulterioare au demonstrat originea imună a rejetului de grefă și faptul că toleranța imunologică poate fi indusă (demonstrație pentru care F. Burnet și P. Medawar au primit premiul Nobel).

Există mai mulți factori care influențează inducerea toleranței:

- ❖ Vârsta (toleranța este mai ușor de indus la animalele tinere);
- ❖ Calitatea antigenului (imungenicitatea este invers proporțională cu inducerea toleranței)
- ❖ Alți factori care favorizează inducerea toleranței (iradierea limfoidă, administrarea de droguri citostatice) și care acționează prin scăderea numărului și funcției limfocitelor T.

În acest proces complex intervin și mediatori celulari de tipul limfokinelor. Astfel IL-2 inhibă sau împiedică procesul de inducere a toleranței. Un argument îl constituie și faptul că

tratamentul cu medicamente de tipul cortizonului sau ciclosporinei, care inhibă producerea de IL-2, duce la instalarea toleranței față de antigen.

4.3. Imunitatea dobândită

Imunitatea dobândită poate fi definită ca fiind capacitatea de răspuns imun față de un antigen pe care o primește un individ:

- ❖ În mod activ – prin stimulare directă a sistemului imun de către antigenul respectiv (virus, bacterie, parazit)
- ❖ În mod pasiv – datorită transferului de anticorpi (seropatie) ca atare ori transplacentar, în cazul nou-născutului, sau prin transferul celulelor limfoide sensibilizate provenite de la un alt individ imunizat cu antigenul corespunzător.

Imunitatea dobândită (individuală) cuprinde două forme: **imunitatea activă** (naturală – postinfecțioasă sau artificială - postvaccinare) și **imunitatea pasivă** (naturală – transplacentară sau artificială prin ser imun).

4.3.1. Imunitatea activă

În trecut imunitatea activă se dobândește în mod natural la trecerea infecției. Odată cu perfecționarea metodelor de vaccinare s-a realizat un deziderat de mare importanță, de a inocula forme atenuate ale agenților infecțioși sau produși ai acestora (anatoxine) care stimulează sistemul imun de apărare al organismului fără să producă boala.

De la trecerea prin infecție (imunitate câștigată natural), cu riscurile pe care le incumbă, spre profilaxie (imunitate artificială) prin vaccinuri, pasul a fost uriaș și efectele lui s-au văzut în timp.

Vaccinurile în funcție de proveniența lor pot fi bacteriene sau virale, cu virulența atenuată sau omorâte,

obținute în mod natural sau prin inginerie genetică. Administrarea poate fi unică (o singură doză) sau cu rapeluri (revaccinări). Imunitatea care se instalează poate fi de lungă durată sau de scurtă durată. Rareori pot da reacții adverse și uneori au și efecte secundare.

4.3.2. Imunitatea pasivă

Imunitatea pasivă poate să fie dobândită în mod natural, prin transferul natural transplacentar al anticorpilor de la mamă la făt. Acest transfer se realizează în mod pasiv, în sensul că mama oferă viitorului copil proprii anticorpi față de unele infecții pe care le-a avut sau față de care a fost vaccinată (difteria, rubeola, poliomielite). În acest fel nou-născutul va fi temporar imun la aceste boli până când anticorpii materni vor fi metabolizați și înlocuiți cu cei proprii. Perioada de protecție oferită de acești anticorpi este de aproximativ 4 luni – timp în care nou-născutul este protejat de majoritatea bolilor infecțioase, boli care apar de regulă după intervalul de timp menționat.

Acest tip de imunitate poate fi câștigat și în mod artificial prin inocularea de anticorpi proveniți de la pacienți care au trecut prin infecție (seroterapia cu ser de convalescent sau prin administrare de anticorpi antitoxici – antitoxine). În ultimele decenii, se practică administrarea de Ig specifice – preparate prin vaccinare animalelor de laborator. Avantajele seroterapiei cu astfel de gamaglobuline heterologe sunt multiple – o serie de boli cu transmitere interumană (HAV, HBV, CMV) fiind evitate.

4.3.3. Imunitate de protecție

Imunitatea de protecție (rezistența imună) se referă la protejarea organismului față de o anumită infecție. Poate fi de două feluri:

➤ **Imunitatea de protecție specifică** se realizează fie ca urmare a trecerii prin boală (febra tifoidă, scarlatina,

rubeola), fie prin vaccinare. În ambele cazuri, această stare se instalează atât prin răspuns umoral (imunitate mediată prin anticorpi) cât și prin răspuns celular (imunitate mediată celular), datorită activării sistemului limfoid numai de către antigenul respectiv.

➤ **Imunitatea de protecție nespecifică** se realizează prin participarea tuturor mecanismelor nespecifice care contribuie la apărarea unui organism contra unor macromolecule, microorganisme patogene și altele care ar putea provoca starea de boală. Deoarece nu implică recunoașterea și dezvoltarea unui răspuns imun specific, termenul a fost înlocuit cu cel de rezistență nespecifică și care se referă la barierele fizico-chimice, fagocitoză, interferoni.

4.3.4. Imunitatea antitumorală

Imunitatea antitumorală este o stare de imunitate specifică anumitor organisme, caracterizată prin capacitatea de a opri dezvoltarea unui proces neoplazic. Eficiența imună antitumorală depinde de capacitatea sistemului mononuclear-macrofagic de a recunoaște și de a dezvolta un răspuns imun față de celulele aberante de tip neoplazic apărute prin mutații sau ca urmare a integrării unor virusuri oncogene în genomul celulelor normale ale organismului.

În acest proces acționează conceptul de **supraveghere imunologică** postulat de M. Burnet conform căruia sistemul imunologic al organismului detectează rapid celulele proprii modificate malign, datorită noilor antigene apărute pe suprafața acestor celule și le distruge înainte de a avea timp să se multiplice, prevenind în acest mod dezvoltarea cancerelor.

CAPITOLUL 5

IMUNOGLOBULINELE ȘI RĂSPUNSUL IMUN UMORAL

Totalul anticorpilor formează o familie de proteine plasmatiche numite imunoglobulin. Molecula de imunoglobulină are două funcții distincte: **recunoașterea specifică** a patogenului care a declanșat răspunsul imun și **funcția biologică** (recrutarea altor celule și molecule pentru distrugerea patogenului după legarea anticorpului de el). Cele două funcții sunt separate structural în cadrul moleculei de imunoglobulină. Relația dintre structura și funcția imunoglobulinelor este rezultatul evoluției moleculare, prin duplicarea și diversificarea unui domeniu din structura moleculei. În molecula imunoglobulinei există un paradox: uniformitatea domeniilor omologe și diversitatea domeniilor de recunoaștere. Structura de bază a anticorpilor este reprezentată de domeniul imunoglobulinic. Și alte proteine ale sistemului imun (receptorul limfocitelor T-TCR, moleculele MHC, moleculele CD4 și CD8) conțin domenii similare, fiind incluse în superfamilia imunoglobulinelor.

5.1. Structura imunoglobulinelor

Imunoglobulinele prezintă o regiune constantă și una variabilă. Regiunile variabile sunt identice în proporție de 70-99%, dar specificitatea antigenică va fi diferită chiar dacă regiunile variabile diferă doar printr-un singur aminoacid.

Molecula prototip de imunoglobulină este imunoglobulina G1 (IgG1). Este formată din patru lanțuri polipeptidice reunite într-un complex macromolecular prin punți disulfidice. Două lanțuri sunt mai mici și sunt numite

lanțuri ușoare (light chains), iar cele două lanțuri mari sunt numite lanțuri grele (heavy chains). Datorită faptului că doar una din cele două gene pentru lanțul greu și respectiv ușor se exprimă în celula formatoare de anticorpi (excluzie alelică – o singură alelă funcționează pentru lanțul H sau L), cele două lanțuri dintr-o moleculă de imunoglobulină sunt identice.

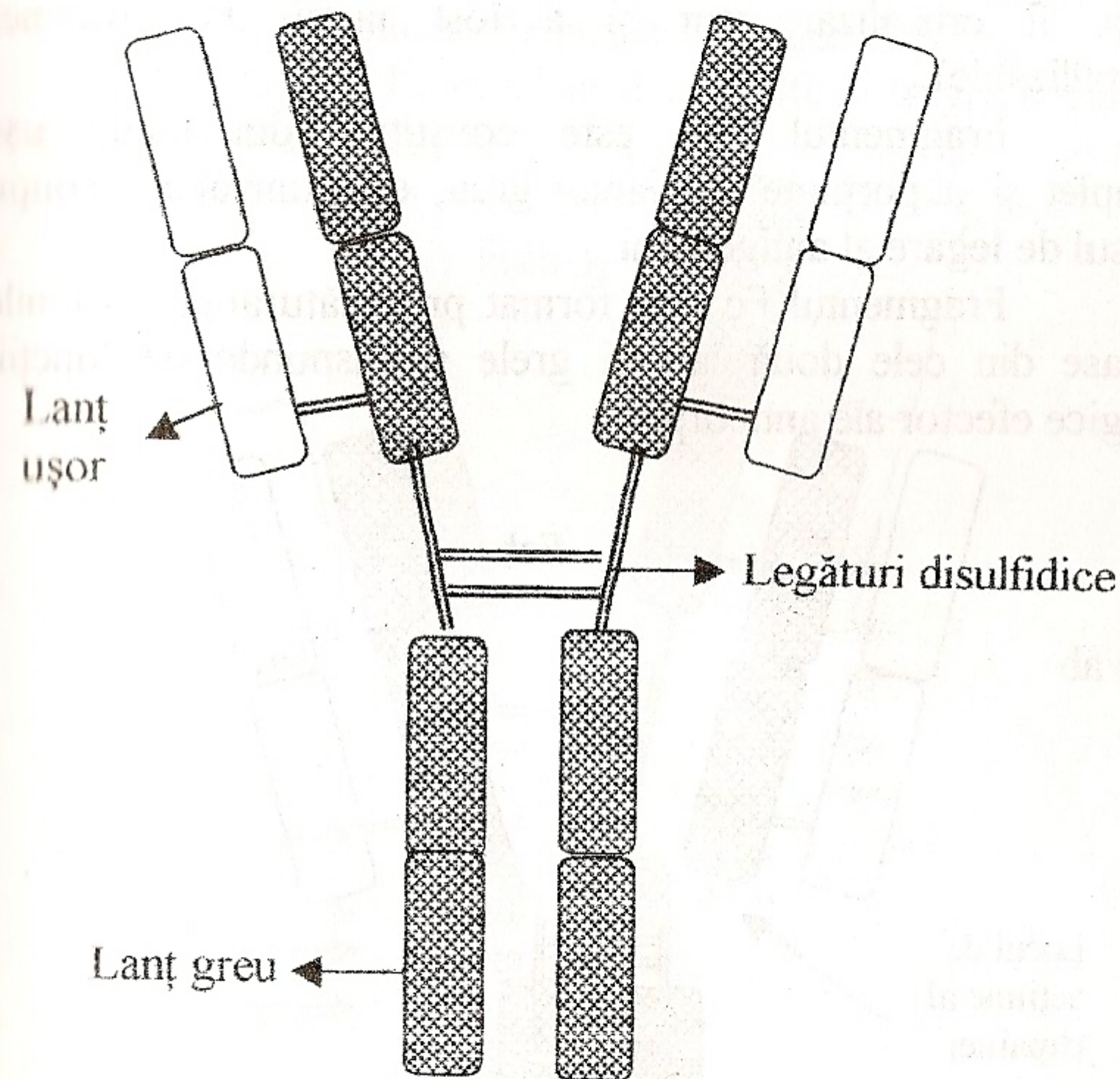


Fig. 5.1. Structura moleculei de imunoglobulină (E. Carasevici)

5.2. Studiul prin digestie enzimatică a imunoglobulinelor

Primele studii care au adus informații despre lanțurile monomerului de imunoglobulină au fost efectuate de Edelman și Porter (a tratat anticorpii obținuți la iepure cu enzima proteolitică papaină și apoi a separat produșii obținuți).

Digestia proteolitică cu papaină duce la obținerea din molecula de imunoglobulină a trei fragmente: două sunt indentice (cu o greutate moleculară de aproximativ 50kDa) și conțin activitatea de legare a antigenului numite Fab (fragment antigen binding); cel de-al treilea fragment (cu o greutate moleculară de aproximativ 80 kDa) nu leagă antigenul, dar poate fi cristalizat ușor și a fost numit Fc (fragment crystallizable).

Fragmentul Fab este constituit din lanțul ușor complet și o porțiune din lanțul greu, este univalent- conține situsul de legare al antigenului.

Fragmentul Fc este format prin alăturarea porțiunilor rămase din cele două lanțuri grele și răspunde de funcțiile biologice efector ale anticorpilor.

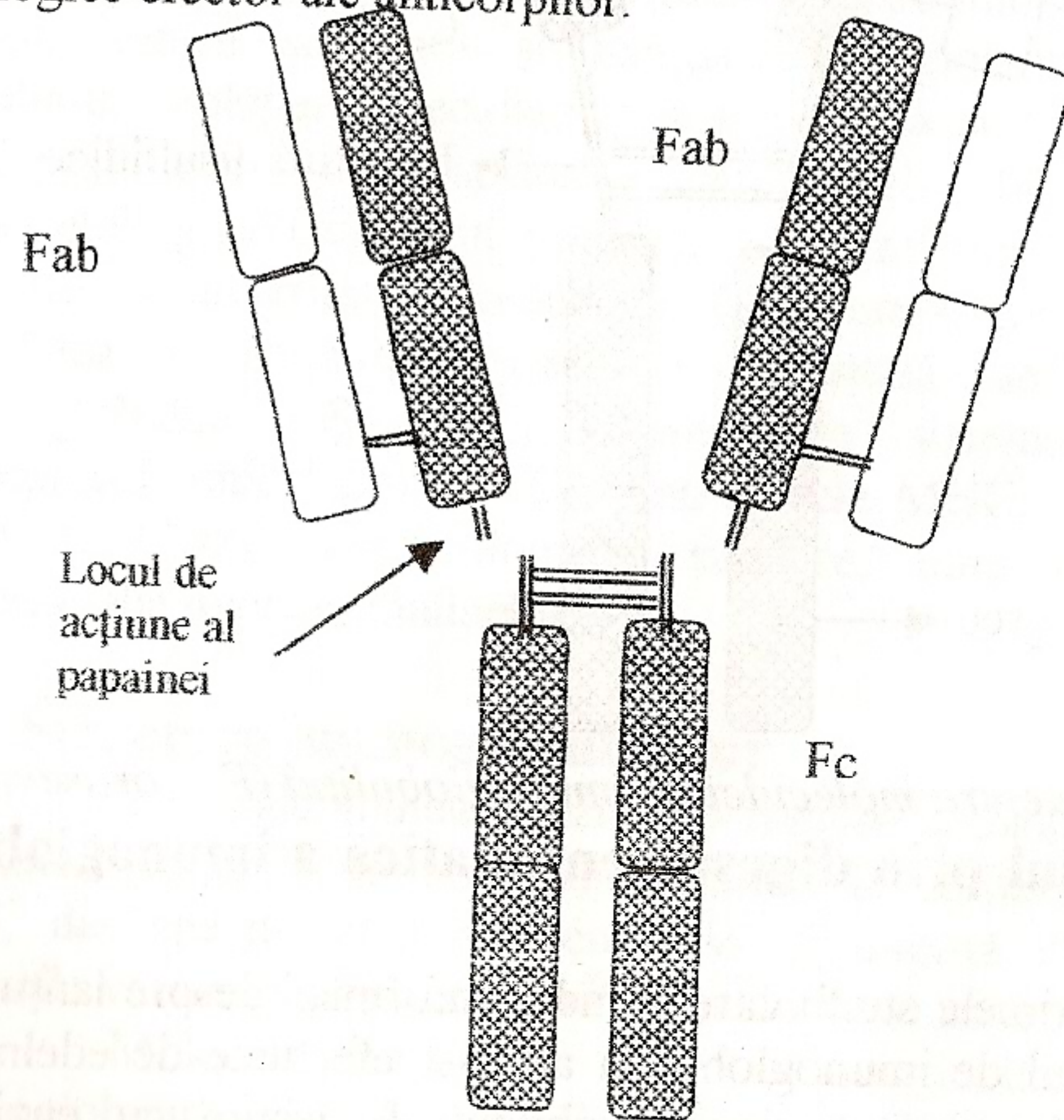


Fig. 5.II. Clivajul proteolitic cu papaină (E. Carasevici)

Nisonoff a tratat molecula de imunoglobulină cu pepsină, obținând un rezultat diferit. Pepsina clivează molecula de anticorp într-un fragment $F(ab')_2$ și mai multe porțiuni mici din fragmentul Fc. Fragmentul $F(ab')_2$ constă din cele două fragmente Fab și porțiunea din lanțul greu care conține una sau multe punți disulfidice între lanțurile grele. $F(ab')_2$ este divalent - are două situsuri de legare a antigenului.

Fragmentul Fc este clivat în multiple fragmente mici, cel mai mare fiind numit Pfc' .

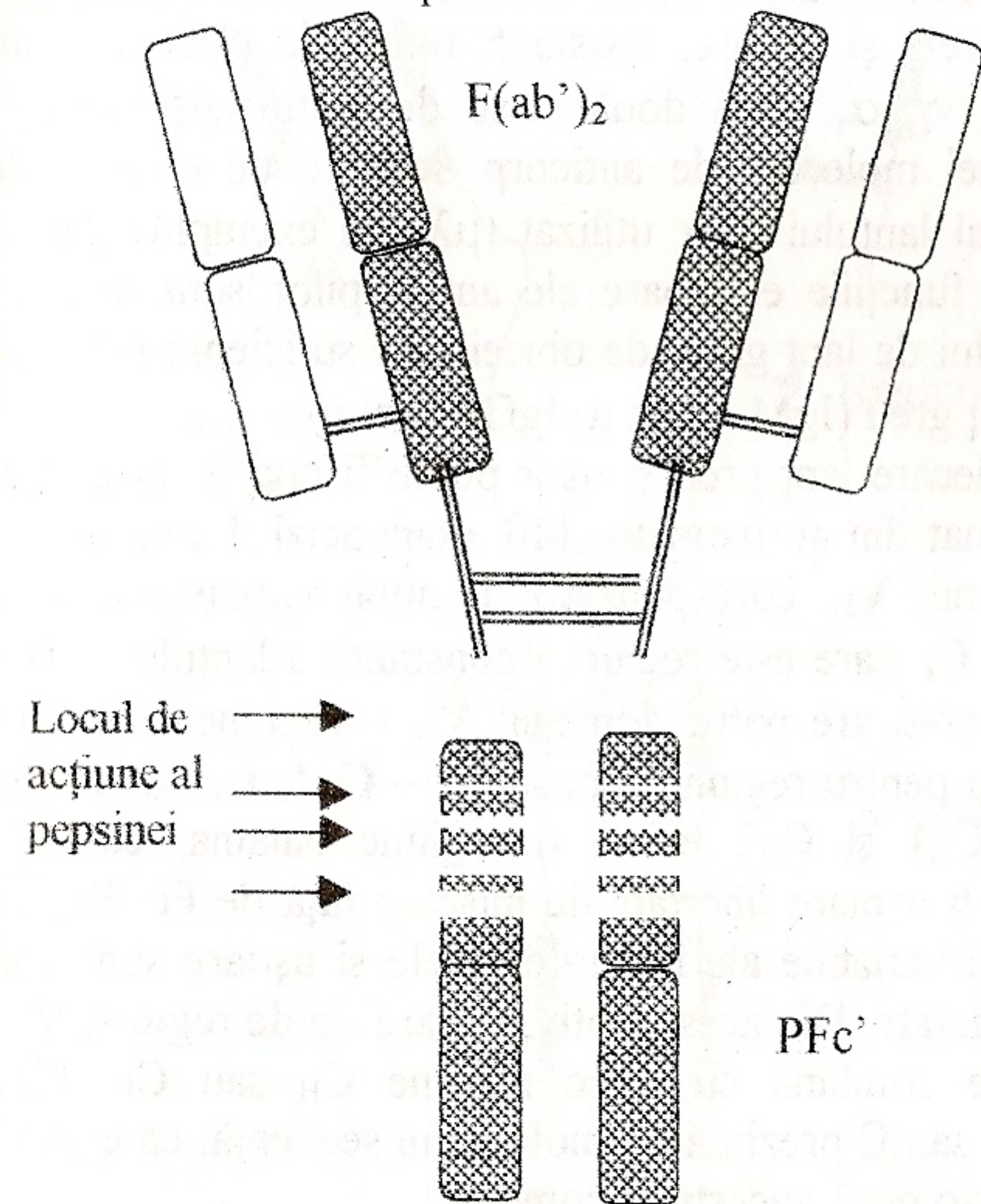


Fig. 5.III. Clivajul proteolitic cu pepsină (E. Carasevici)

Diferite enzime proteolitice clivează molecula de imunoglobulină în situsuri diferite, ceea ce duce la obținerea de fragmente cu dimensiuni diverse.

Unele studii ale structurii imunoglobulinelor au autilizat anticorpii ca antigen. Au fost folosite ca surse de imunoglobuline omogene proteine din mielomul uman (tumoră rezultată prin transformarea malignă a plasmocitelor), plasmocitomul murin sau hibridoame. Au fost obținute antiseruri heterologe (folosind metode de absorbție), care subdivizau imunoglobulinele într-un număr finit de grupe. Aceste grupe au fost denumite izotipuri și sunt consecința faptului că există câteva tipuri diferite de regiuni constante ale lanțurilor grele și ușoare. Există 5 tipuri de clase de lanțuri grele (μ , δ , γ , α , ϵ) și două clase de lanțuri ușoare (κ , λ) Izotipul unei molecule de anticorp depinde de clasa lanțului greu și tipul lanțului ușor utilizat ($\mu\lambda$, de exemplu). Datorită faptului că funcțiile efectoare ale anticorpilor sunt consecința doar a tipului de lanț greu, de obicei este suficientă referirea la clasa de lanț greu (IgM – lanț μ , IgG – lanț γ).

Fiecare lanț greu și ușor poate fi divizat în **domenii**, fiecare format din aproximativ 110 aminoacizi. Lanțul ușor are două domenii: V_L , corespunzător regiunii variabile a lanțului ușor (L) și C_L , care este regiunea constantă a lanțului L (κ sau λ). Lanțul greu are patru domenii: V_H – regiunea variabilă și trei domenii pentru regiunea constantă – C_{H1} , C_{H2} , C_{H3} . Între domeniile C_{H1} și C_{H2} există o regiune balama, care oferă porțiunii Fab o mare libertate de mișcare față de Fc. Regiunile constante și variabile ale lanțurilor grele și ușoare sunt codate de gene separate. Din acest motiv, fiecare tip de regiune V_H sau V_L se poate combina cu orice regiune C_H sau C_L . Fiecare domeniu V sau C prezintă o omologie în secvență, care arată că derivă dintr-o genă ancestrală comună.

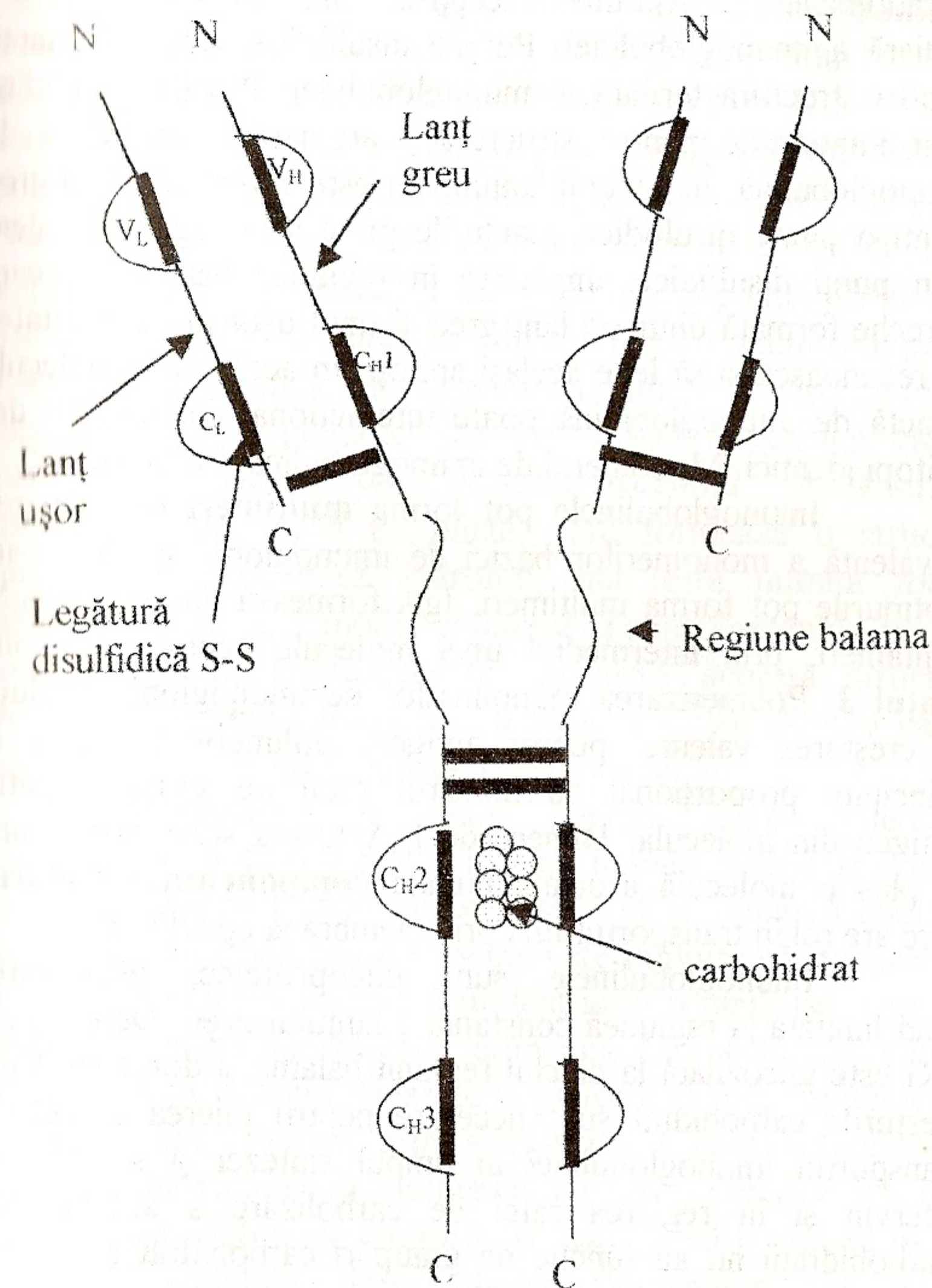


Fig.5.IV. Structura monomerului de imunoglobulină. (E. Carasevici)

O caracteristică a structurii domeniilor imunoglobulinice este prezența a două cisteine care formează o punte

disulfidică intradomeniu. Există o singură legătură disulfidică intradomeniu (cu puține excepții), care menține structura terțiară a imunoglobulinei. Punțile disulfidice sunt importante pentru structura terțiară a imunoglobulinei. Punțile disulfidice sunt importante pentru structura cuaternară a moleculei de imunoglobulină. În general lanțul ușor este atașat de lanțul greu printr-o punte disulfidică. Lanțurile grele sunt legate covalent prin punți disulfidice amplasate în regiunea balama. Fiecare pereche formată dintr-un lanț greu și unul ușor are capacitatea să recunoască și să lege același epitop. În acest fel o moleculă intactă de imunoglobulină poate interacționa simultan cu doi epitopi identici. Monomerul de imunoglobulină are **valența 2**.

Imunoglobulinele pot forma **multimeri** prin legarea covalentă a monomerilor bazici de imunoglobulină. Nu toate izotipurile pot forma multimeri. IgA formează dimeri, iar IgM pentameri, prin intermediul unei molecule accesorii, numită **lanțul J**. Polimerizarea monomerilor de imunoglobulină duce la creșterea valenței pentru antigen: polimerii pot lega în principiu, proporțional cu numărul total de situsuri pentru antigen din moleculă. Dimerii de IgA forma secretorie conțin în plus o moleculă asociată numită **componenta secretorie**, care are rol în transportul IgA prin membrana epitelilor.

Imunoglobulinele sunt glicoproteine, glicozilarea fiind limitată la regiunea constantă a lanțului greu. De exemplu IgG este glicozilată la nivelul regiunii balama și domeniul C_{H2} . Resturile carbohidrat sunt necesare pentru pliarea corectă și transportul imunoglobulinei în timpul sintezei și se pare că intervin și în reglarea ratei de carbolizare a anticorpilor. Carbohidrații nu au funcție de grupări carbohidrat și acestea sunt diferit localizate în moleculă.

5.3. Domeniul imunoglobulinic

Imunoglobulinele sunt formate din combinarea liniară a unei subunități structurale de bază, numită **domeniu**. Domeniul imunoglobulinic are o structură tridimensională globulară compactă. Studiul prindifracție cu raza X a lanțurilor imunoglobulinelor cristalizate a demonstrat că, un domeniu este format din 7 lanțuri polipeptidice antiparalele β -pliate. Fiecare domeniu conține două straturi: unul constituit din patru lanțuri β -pliate și al doilea cu 3 lanțuri β -pliate. Cele două straturi formează un sandwich hidrofoab și sunt stabilizate printr-o legătură disulfidică intradomeniu. Lanțurile β sunt reunite la capete prin bucle peptidice, frecvent bogate în glicină, care le mărește flexibilitatea. Acest prototip structural – două straturi constituite din lanțuri β -pliate, care formează o structură cilindrică cu un miez hidrofoab, mai este numită *fold-ul* imunoglobulinei sau model *β -barrel*. Toate domeniile regiunii constante a imunoglobulinelor conservă această structură. Domeniile regiunii variabile au o structură ușor diferită câteva din buclele care leagă lanțurile β sunt mai lungi.

Porțiunea din lanțul peptidic care ceneștează domeniile V și C (C_L sau C_H1) este numită *switch* și conferă flexibilitate (permite domeniilor C și V să se rotească unul față de celălalt). Posibilitatea de rotație este importantă deoarece în momentul în care se combină un lanț greu și unul ușor pentru a forma o pereche intactă H-L, domeniile C_H1 și C_L fac contact prin stratul cu 4 lanțuri (plasate în plafon), în timp ce domeniile V_H și V_L fac contact prin stratul cu 3 lanțuri (plasate în planșeu). Împerecherea domeniilor C_H-C_L creează un miez compact hidrofoab între straturile β , care oferă o ancoră pentru domeniile variabile. Împerecherea domeniilor V_H și V_L formează între straturile β un miez mai puțin hidrofoab, care va delimita un buzunar (un șanț) în care se pot potrivi molecule mici de antigen. Acest șanț împreună cu buclele de la capetele

regiunii variabile formează **situsul de combinare cu antigenul** al moleculei de anticorp.

5.4. Structura lanțurilor grele (H)

Lanțul greu prezintă o regiune numită Fd (formată din domeniile V_H și C_H), regiunea balama și regiunea Fc. Regiunea Fd împreună cu lanțul ușor constituie regiunea Fab. Domeniul V_H are capacitatea de a lega antigenul, iar domeniul C_H1 reprezintă atât o ancoră cât și un *spacer* (distanțier) pentru V_H stabilizează și menține la distanță regiunea care leagă antigenul de regiunea Fc. Regiunea Fc, constituită din domeniile C_H2 și C_H3 , are funcții efectorii. Această regiune poate exista sub două forme: **membrantară** și **secretată**. Diferența se află la nivelul capătului carboxi-terminal: forma membrantară prezintă în plus un *spacer* foarte hidrofil, o secvență hidrofobă transmembrantară cu configurație α -helix și o scurtă coadă citoplasmatică hidrofilă. Pentru forma membrantară există doi exoni adiționali M_1 și M_2 . Sinteza celor două forme de regiuni Fc este determinată prin procesarea post-transcripțională diferită a ARN-ului.

În toate cele trei domenii constante (C_H1 , C_H2 , C_H3) ale lanțului greu există trei aminoacizi înalt conservați: două cisteine (formează legătura disulfidică intradomeniu) și un triptofan (are rolul de protejare a legăturii disulfidice de agenții reducători). Aminoacizii cei mai conservați între clasele de imunoglobuline sunt plasați la nivelul lanțurilor β .

Regiunea Fc a lanțurilor μ și α are în plus o secvență de 18 aminoacizi la capătul carboxi-terminal. Această secvență este situsul de legare al lanțului J, implicat în formarea multimerilor de IgM și IgA. Identitatea totală a regiunilor Fc interclase este de aproximativ 30%. Identitatea dintre lanțurile γ și ϵ este semnificativ mai mare decât media. Domeniile carboxi-terminale ale lanțurilor μ , α , γ au o identitate medie de

41%. Omologia între clasele de imunoglobuline interspecii este mai mare decât omologia interclase la aceeași specie. În fiecare domeniu există aminoacizi plasați la exterior, cu rol funcțional, în timp ce aminoacizii dispuși la interior sunt elemente structurale.

5.5. Regiunea balama

Balamaua acționează ca un spacer mai flexibil, care permite fragmentului Fab și să se miște mult mai ușor în spațiu. Regiunile balama prezintă cea mai mare variabilitate interclase. Lanțurile μ și ϵ umane nu au o regiune balama, fiind înlocuită cu un întreg domeniu ($C_{\mu 2}$, $C_{\epsilon 2}$).

Regiunea balama conține multe reziduuri de cisteină și prolină. Regiunea balama de la molecula de IgG1 conține secvența cisteină-prolină-prolină-cisteină pe ambele lanțuri. Cisteina participă la formarea legăturilor disulfidice dintre lanțurile grele, cu apariția unui octamer ciclic. Octamerul acționează ca un pivot, conferind regiunii balama o flexibilitate foarte mare. Balamaua moleculei de IgG3 conține patru astfel de octameri ciclici și prezintă o flexibilitate excepțională.

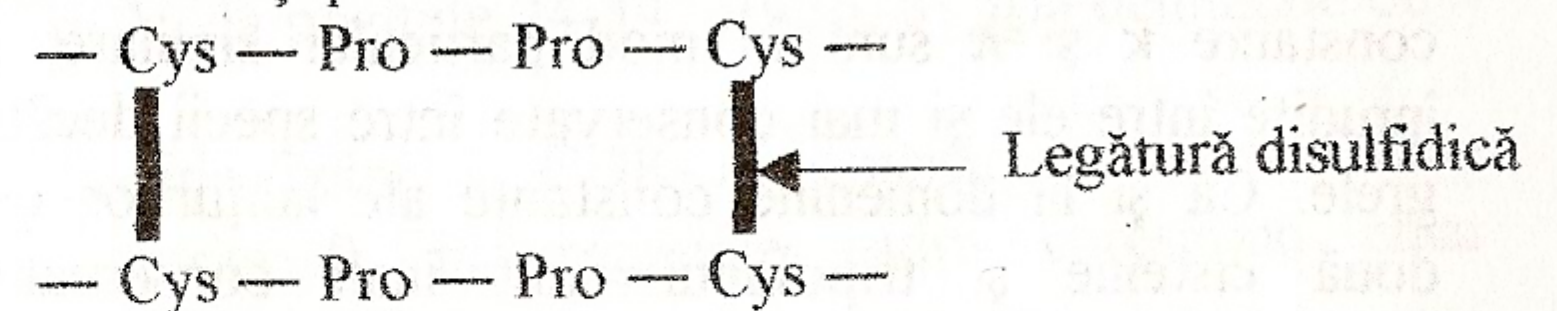


Fig. 5.V. Structura octamerului ciclic prezent la nivelul regiunii balama. (E. Carasevici)

Regiunea balama lipsește la o minoritate de IgG (1%); aceste proteine sunt denumite Dob și McG și au flexibilitate mult redusă.

Regiunile balama ale lanțurilor δ și $\alpha 1$ reprezintă sediul atașării carbohidraților. Carbohidrații din regiunea balama a lanțurilor $\alpha 1$ și $\alpha 2$ conferă rezistență la clivajul de

către proteazele intestinale (și enzimele bacteriene pentru α_2), proprietate esențială pentru IgA secretorie.

Rolurile functionale posibile ale carbohidraților:

- ❖ Rol în menținerea structurii terțiare a imunoglobulinelor (acționează ca un spacer plasat în centrul fragmentului Fc)
- ❖ Rol în sinteza și secreția imunoglobulinelor
- ❖ Rezistență la digestia proteolitică
- ❖ Creșterea solubilității imunoglobulinelor în soluții apoase
- ❖ Rol în catabolizarea imunoglobulinelor din ser (clearance-ul anticorpilor este modulat prin interacțiunea carbohidraților cu receptori specifici de pe celulele hepatice).

5.6. Structura lanțurilor ușoare.

Lanțurile ușoare sunt formate din domeniile V_L și C_L și conțin aproximativ 214 aminoacizi (greutate moleculară de 23 kDa). Domeniul constant poate fi de tip κ sau λ , produse de gene diferite, plasate pe cromozomi diferiți. Domeniile constante κ și λ sunt în mod particular similare: sunt mai înrudite între ele și mai conservate între specii decât lanțurile grele. Ca și la domeniile constante ale lanțurilor grele, cele două cisteine și triptofanul sunt înalt conservate, ca și aminoacizii care formează lanțurile β . Raportul de utilizare κ/λ la om este de 70/30 și se corelează cu numărul de segmente genice pentru regiunea variabilă (la om există aproximativ 300 gene V_κ și 100 V_λ).

Regiunile variabile au două caracteristici importante:

- ❖ Un număr foarte mare de gene care codează regiunile variabile (peste 1.000), spre

deosebire de regiunile constante ale lanțurilor grele și ușoare (codate de cel mult 15 gene)

- ❖ variabilitatea

Pentru exprimarea cantitativă a variabilității Wu și Kabat au imaginat o metodă pentru descrierea și determinarea variabilității. Variabilitatea era exprimată ca raportul dintre numărul aminoacizilor diferiți la o anumită poziție și frecvența celui mai comun aminoacid la aceeași poziție (frecvența este dată de numărul aparițiilor aminoacidului cel mai comun la poziția dată, raportat la numărul proteinelor studiate).

Variabilitatea este o trăsătură comună a proteinelor. În cazul regiunii variabile, variabilitatea nu este distribuită uniform și apar niște vârfuri de variabilitate, care depășesc de cel puțin trei ori variabilitatea proteinelor obișnuite (citocromul c).

Ariile cu variabilitate înaltă sunt denumite **regiuni hipervariabile (HVR)** sau **regiuni determinante ale complementarității (CDR)**. Ariile conservate sunt numite **regiuni cadru (framework regions)**. Există 3 regiuni hipervariabile (pentru V_H plasate la pozițiile 31-35, 50-65, 95-102; pentru V_L la pozițiile 24-34, 50-56, 89-97) delimitate de 4 regiuni cadru.

Poziția celor 3 CDR-uri coicide cu bucele care reunesc lanțurile β , iar regiunile cadru corespund chiar lanțurilor β .

Atunci când domeniile V_H și V_L se combină pentru a forma situsul pentru antigen, regiunile hipervariabile din domeniu se alătură rezultând o singură zonă hipervariabilă plasată în vârful fragmentului Fab.

Datorită faptului că cele trei regiuni hipervariabile din fiecare domeniu constituie situsul pentru antigen și determină specificitatea moleculei de anticorp prin realizarea

unei suprafețe complementare antigenului, mai sunt numite regiuni determinate ale complementarității (CDR).

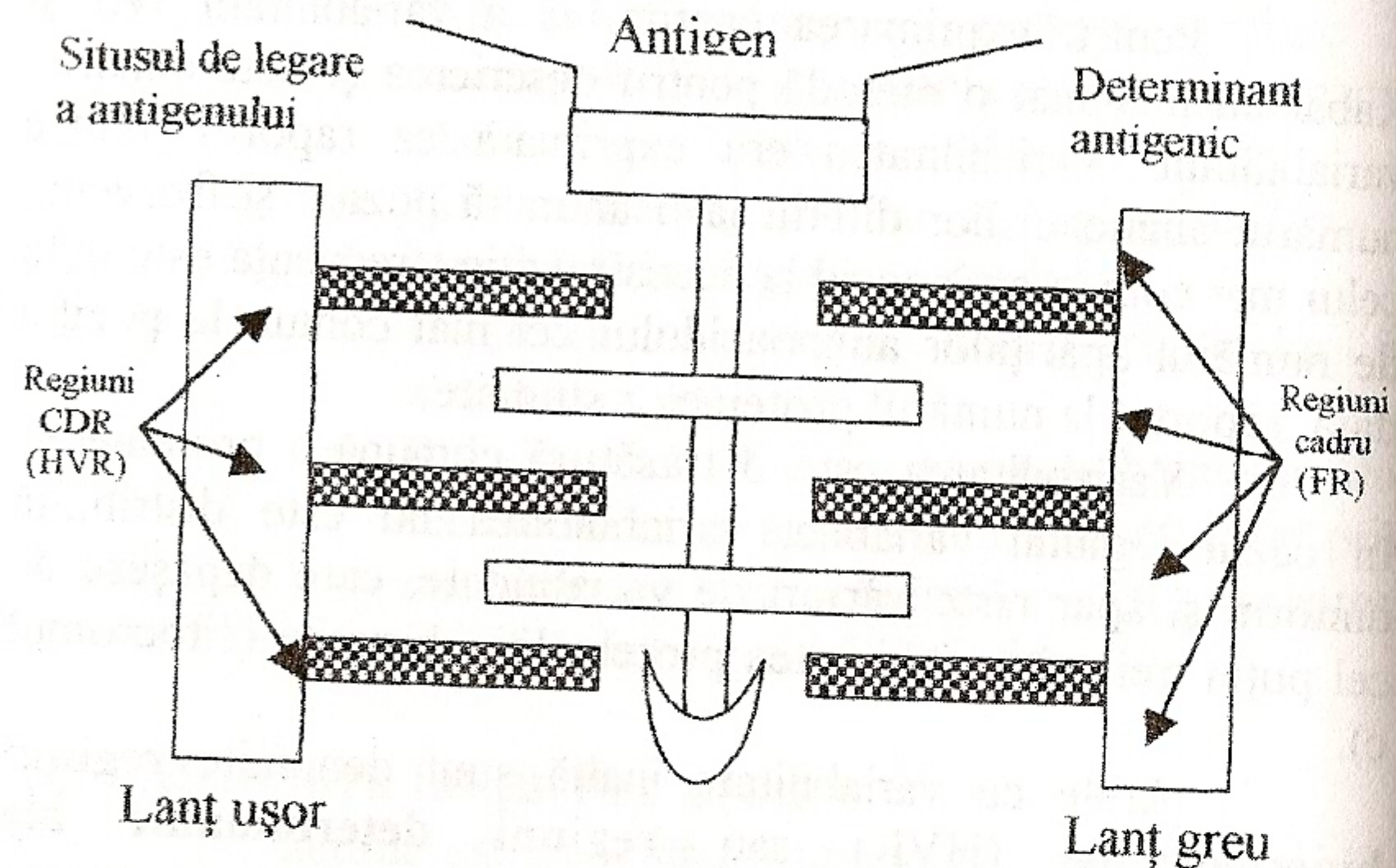


Fig. 5. VI. Situsul de legare a antigenului (E. Carasevici).

5.7. Molecule accesorii

Lanțul J (joining chain) este constituit din 137 de aminoacizi (215 kDa) și are rol în polimerizarea moleculelor de imunoglobuline: IgA formează dimeri (și uneori tetrameri), iar IgM pentameri (și uneori hexameri). Lanțul J este produs de aceeași celulă b care sintetizează imunoglobulinele și conține multe cisteine (minim 6). Genomul uman și cel murin conțin o singură genă pentru lanțul J, genă care nu este înlănțuită cu nici unul din locii genelor pentru imunoglobuline. Secvența de aminoacizi a lanțului J nu este semnificativ înrudită cu cea a domeniului imunoglobulinic. Oricum, se pare că lanțul J are o structură tip β -barrel. Limfocitele B nestimulate conțin o cantitate mică sau nu conțin lanț J: după stimularea celulelor B

cu mitogen apare o creștere dramatică a nivelului de mARN și de proteină pentru lanțul J. Fiecare dimer de IgA sau pentamer de IgM este asociat cu un singur lanț J.

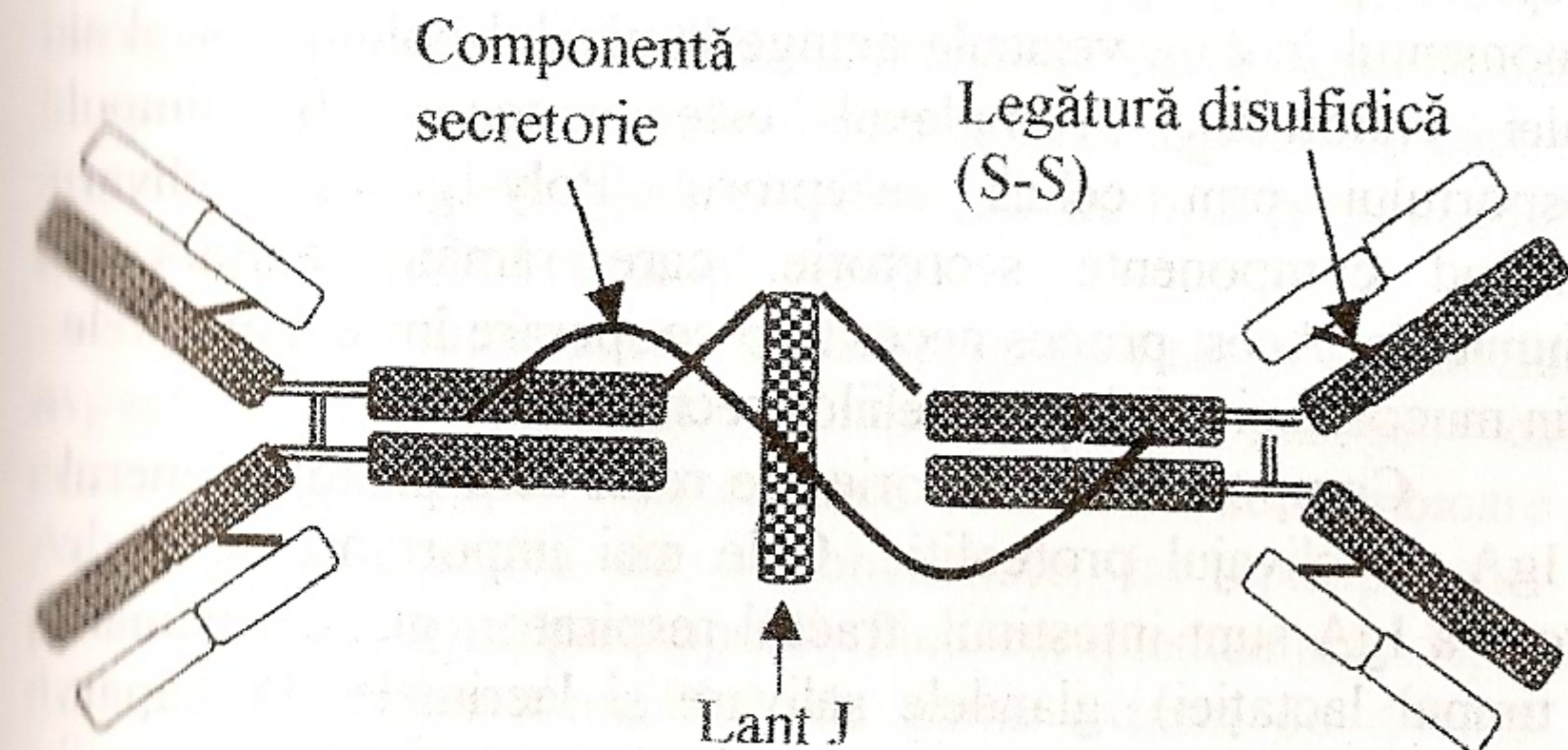


Fig. 5. VII. Structura dimerului de IgA (E. Carasevici)

Mecanismul exact al polimerizării nu este cunoscut. Se știe că toate cozile monomerilor sunt implicate în interconectare pentru realizarea multimerului. Mecanismul exact prin care polimerizarea se oprește la 5 pentru IgM și la 7 pentru IgA este necunoscut.

Componenta secretorie a fost descrisă inițial ca polipeptid asociat covalent sau necovalent cu IgA din secrețiile externe ale organismului. Ulterior a fost descris și sub formă liberă, în secrețiile glandelor mamare și parotide. Componenta secretorie reprezintă domeniul de legare al unui receptor transmembranar pentru complexe de polimeri de imunoglobulină (pentamer de IgM sau dimer de IgA). Molecula completă de receptor se numește **receptor Poly-Ig** (PolyIgR) și este membru al superfamiliei imunoglobulinelor (conține domenii imunoglobulin-like și un al 7-lea domeniu cu structură diferită). Acest receptor este sintetizat la nivelul multor

epitelii glandulare și este exprimat pe membrana bazolaterală a celulelor epiteliale.

Receptorul Poly-Ig leagă multimerii de imunoglobulină, iar complexul rezultat este endocitat și transportat prin citoplasma celulei într-o veziculă (transcitoză). În momentul în care vezicula ajunge la nivelul polului apical al celulei endoteliale, complexul este exocitat. În timpul transportului prin celulă receptorul Poly-Ig este clivat, rezultând componenta secretorie, care rămâne atașată la regiunile Fc. Acest proces necesită o cooperare între limfocitele B din mucoasă și celulele epitelilor secretorii.

Componenta secretorie are rolul de a proteja dimerul de IgA de clivajul proteolitic. Cele mai importante sedii de sinteză a IgA sunt intestinul, tractul respirator, glanda mamară (în timpul lactației), glandele salivare și lacrimale. Principala funcție a IgA este protejarea suprafețelor epiteliale de agenții infecțioși și asigurarea primei linii de apărare față de mulți patogeni.

5.8. Situsul de legare a antigenului

În cadrul fiecărui domeniu variabil există 3 regiuni caracterizate printr-o variabilitate extrem de mare a AA, denumite **regiuni hipervariabile** (HV1, HV2 și HV3) sau **determinanți ai complementarității** (complementary determining region) CDR (CDR1, CDR2 și CDR3), care corespund celor 3 bucle situate la capetele fiecărei foite β . Ele determină specificitatea anticorpului prin formarea unei suprafețe complementare față de Ag (epitop). Partea cea mai variabilă este CDR3. Restul de 80-85% din aminoacizi, dispuși între CDR, prezintă o variabilitate mai scăzută și formează **regiunile cadru** (frame work region) FR (FR1-FR4), care sunt formate din foite β . În total există 6 regiuni hipervariabile (3 în V_L și 3 în V_H), care se împerechează în proteina compactată,

deci sunt juxtapuse (cele ale lanțului L cu cele ale lanțului H) pentru a constitui împreună **situsul de combinare cu antigenul**, sau **situsul de legare al antigenului** ori **paratopul**, care este specific pentru epitopul antigenului. Paratopul este format din aproximativ 20-30 AA (din cei aproximativ 200 ai întregului domeniu variabil V_L plus V_H) care contribuie fiecare, în medie cu câte un atom, la formarea unei legături cu câte un atom al epitopului antigenului. Molecula de IgG este bivalentă, deoarece posedă doi paratopi identici.

Prin studii recente de difracție cu raze X s-a elucidat **aspectul tridimensional al paratopului**, aspect care contravine concepției clasice, după care zona de combinare a Ag este reprezentată de o concavitate, iar epitopul de o proeminență. Forma paratopului, fiind complementară, depinde de specificitatea anticorpului, de gama extrem de diferită a structurilor spațiale ale epitopilor pe care îi recunoaște. În cazul compușilor chimici mici (haptene, monozaharide terminale dintr-un lanț polizaharidic), antigenul este prins într-o cavitate, o adâncitură de forma unui buzunar adânc. Porțiunile medii ale lanțului polizaharidic sunt legate însă într-un fel de șanț mai lung, mai puțin adânc, ale cărui laturi sunt constituite de cele 6 CDR-uri (3 ale lanțului L și 3 ale lanțului H), de-a lungul cărora este culcat lanțul polizaharidic. În cazul anticorpilor care leagă proteinele mari globulare intacte, paratopul este format dintr-un jgheab deschis la capete, format la interfața dintre V_L și V_H , având suprafața mai plată și ondulată, care cuprinde concomitent unele zone ușor depresionate care alternează cu zone protuberante. Antigenul se cuplează pe o suprafață mare, 700-900 Å², care implică majoritatea sau toate cele 6 CDR-uri; în unele cazuri resturile de AA, situate în afara buclelor hipervariabile, pot contribui de asemenea la legare.

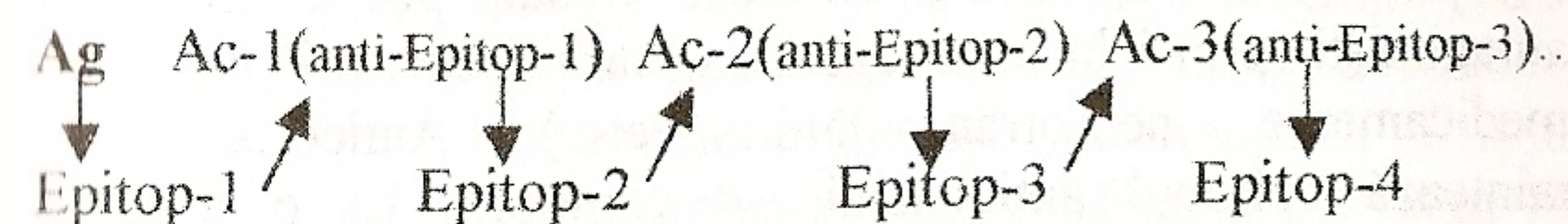
5.9. Antigenicitatea imunoglobulinelor: izotipuri, alotipuri, idiotipuri

Moleculele de anticorpi sunt imunogene. De exemplu, dacă imunoglobulinele umane sunt injectate experimental unui animal (xenoimunizare) acesta le va recunoaște ca fiind străine și va produce anticorpi anti-Ig umane. Acești anticorpi permit diferențierea **claselor, subclasselor și tipurilor** de Ig, denumite și izotipuri. Izotipurile sunt epitopii, codificați de segmente genetice identice la toți indivizii aparținând unei specii, care sunt recunoscuți de anticorpii produși de către altă specie animală. Acești epitopi, prezenți la toți subiecții normali, sunt localizați la nivelul domeniilor constante ale lanțurilor ușoare și grele (κ și λ ale L, precum și cele 9 ale H: $\gamma 1, \gamma 2, \gamma 3, \gamma 4, \alpha 1, \alpha 2, \mu, \delta, \epsilon$).

Dacă imunizarea se face între indivizi aparținând aceleiași specii se obțin aloanticorpi, care evidențiază polimorfismul din cadrul speciei, adică diferențele dintre indivizii aparținând speciei respective – **alotipuri**. Alotipurile sunt date de epitopii codificați de gene alelice (forme alternative ale unor gene, forme mutual exclusive) ce codifică regiunile constante C_L și C_H . Spre deosebire de izotipuri, un individ poate avea doar o singură formă alelică a unui anumit lanț imunoglobulinic (homozigot), fie două forme (heterozigot). La om există variante alotipice la nivelul lanțurilor grele γ și $\alpha 2$, denumite Gm (G1m, G2m, G3m, G4m), respectiv Am (A1m, A2m), precum și la nivelul lanțului ușor κ - Km. Aceste variante se datorează diferențelor de la nivelul unui singur AA al lanțului polipeptidic, mai rar interesează doi AA.

Regiunile variabile ale imunoglobulinelor, în special cele hipervariabile, pot avea secvențe de aminoacizi diferite de cele ale proteinelor proprii, secvențe care pot induce formarea de **anticorpi anti-idiotip**. Anticorpii anti-idiotip sunt generați

față de un anticorp specific și reacționează exclusiv cu paratopii acestui Ac (anti-Salmonella typhi), nu cu regiunile variabile ale anticorpilor care au alte specificități (anti-stafilococ). Fiecare antigen poate avea mai mulți epitopi (un mozaic de epitopi), care vor provoca sinteza unor anticorpi diferiți, iar aceștia vor induce formarea de diverși Ac anti-idiotipici, dând naștere unei adevărate cascade idiotipice.



Denumire	Localizare			Altă denumire
	Lanțul	Domeniu	Localizare	
Izotipică	Lanțuri grele Lanțuri ușoare	Domenii constante Domenii constante	$\gamma(1-4), \alpha(1-2), \mu, \delta, \epsilon$ κ și $\lambda(1-4)$	Clasă, subclasă Tip, subtip
Alotipică	Lanțuri grele Lanțuri ușoare	Domenii constante Domenii constante	$C\gamma 1, C\gamma 2, C\gamma 3, C\gamma 4;$ $C\alpha 2$ $C\kappa$	G1m-G4m, A2m Km(1-4)
Idiotipică	Lanțuri grele Lanțuri ușoare	Ambele domenii variabile	HV și LV	Idiotip (anti-CDR2, anti-CDR3)

Tabelul 5.1. Antigenicitatea imunoglobulinelor umane (V. Cristea)

Interacțiunile dintre anticorpii anti-idiotip-idiotip vor crea o rețea de comunicație moleculară cu rol important în reglarea răspunsului imun, după teoria elaborată de N. Jerne în 1974.

Ac-2, anti-idiotip, reacționează cu diferiți idiotipi ai Ac-1 (secvenționali sau conformaționali); dintre aceștia unii nu împiedică legarea Ac-1 de Ag deoarece recunosc o asociere V_H-V_L distinctă de paratop. Alții inhibă interacțiunea dintre epitop și paratop prin legarea de secvențele de AA care participă direct la formarea paratopului, sau de secvențele aflate în imediata vecinătate a paratopului. Cei care nu inhibă legarea Ag-ului nu au nici un efect. Ceilalți pot fi folosiți ca antagoniști (prin inhibarea legării) ai unor mediatorii (hormoni, medicamente, neurotransmițători, etc.). Anticorpul care mimează epitopul antigenului, se comportă ca o imagine internă a antigenului și pot fi utilizați în vaccinare sau ca agoniști ai mediatorilor.

5.10. Funcțiile imunoglobulinelor

Imunoglobulinele au două categorii de funcții:

- a) funcția biologică de **legare a antigenului**, de **decelare și recunoaștere** a acestuia, realizată de regiunile variabile;
- b) funcțiile biologice **efectoare**, îndeplinite de regiunile constante.

Ambele funcții sunt bivalente.

❖ **Funcția de legare a Ag**, care se produce la nivelul situsului de combinare al Ac, se realizează prin complementaritate (structuri spațiale complementare), iar fixarea lui se face prin legături necovalente: legături de hidrogen, forțe electrostatice, van der Waals și interacțiuni hidrofobe. Prin interacțiunea Ag-Ac se formează **complexe imune (CI)** care, în funcție de mărimea Ag pot fi:

- ◆ solubile
- ◆ precipitare, dacă Ac și Ag sunt cel puțin bivalenți și solubili

- ◆ aglutinare, atunci când Ag sunt particule mari (eritrocite, bacterii)
- ◆ neutralizare, în cazul toxinelor și al virusurilor.

❖ **Funcția efectoare** reprezintă porțiunea de manipulare a anticorpului și este dependentă de izotipul imunoglobulinei.

- ◆ După legarea Ag, la nivelul C_H2 (C_H3 în cazul IgM și IgE) devin accesibile zonele de legare ale fracțiunii C1q a complementului, ducând la activarea în cascadă a acestuia, pe calea clasică, având ca efect final liza celulelor străine.
- ◆ Prin intermediul domeniului C_H3 , fragmentul Fc se leagă de receptorii Fc (FcR) situați pe leucocite (neutrofile, eozinofile, monocite, celule NK), precum și pe trombocite și macrofage (citoadeziune). Au fost evidențiate 3 tipuri de receptori pentru IgG (FcγR): FcγRI (CD64), FcγRII (CD32), FcγRIII (CD16) și două pentru IgE: FcεRI și FcεRII (CD32). Prin legarea Ac de FcγR este favorizată opsonizarea, fagocitoza microbilor și degranularea neutrofilelor. Un rol important îl constituie implicarea în ADCC (citotoxicitatea celulară dependentă de anticorpi) realizată prin legarea Ac de FcγR de pe celulele NK, macrofage sau neutrofile. Ficarea de FcγR intervine în transportul și catabolismul IgG, precum

și în transferul transplacentar, de la mamă la făt, a IgG. Prin intermediul FcεRI și FcεRII, IgE se leagă de bazofile și mastocite, intervin în degranularea acestor celule și eliberarea unor factori implicați în inflamați, în citotoxicitatea antiparazitară și hipersensibilitatea imediată. Au mai fost descriși receptori pentru Fc al IgM (pe celulele NK, unele limfocite B și unele fagocite activate), IgA (pe monocite, neutrofile) și IgD (unele limfocite T).

5.11. Clasele și subclasele de imunoglobuline

Clasele de imunoglobuline diferă între ele în mai multe privințe:

- ◆ Durata de viață;
- ◆ Distribuția în organism;
- ◆ Capacitatea de a fixa complementul;
- ◆ Capacitatea de a interacționa cu receptorii Fc;
- ◆ Abilitatea de a traversa placentă.

Având în vedere că toate clasele au aceleași tipuri de lanțuri ușoare și domenii variabile, diferențele interclase sunt determinate de regiunea constantă a lanțului greu.

5.11.1. Imunoglobulina G

Este imunoglobulina majoritară în ser, reprezentând aproximativ 75% din totalul anticorpilor din ser, cu o concentrație de circa 1.200mg/dl.

Imunoglobulinele G apar mai târziu în cursul răspunsului imun primar, după IgM, dar sunt produse rapid, ca anticorp principal, în răspunsul secundar. IgG este singura care poate traversa bariera placentară și de aceea exercită protecția antiinfecțioasă la făt și apărarea la nou-născut. Este formată din

2 lanțuri grele γ și 2 lanțuri ușoare identice: κ sau λ . Ca la toate imunoglobulinele, conține glucide (sau glicoproteine), care la IgG sunt în cantitate de 2-3% și sunt fixate pe domeniul C_H2. La om există 4 tipuri de lanțuri grele γ , cu diferențe structurale și functionale minore între ele, denumite γ 1, γ 2, γ 3, γ 4, care formează subclasele IgG1, IgG2, IgG3 și IgG4.

Proprietățile biochimice și chimice:

- ◆ Cele mai multe subclase ale IgG au o greutate moleculară de 150 kDa (IgG3 are o greutatea de 170 kDa);
- ◆ În ser majoritatea IgG este dată de IgG1;
- ◆ Imunoglobulinele G prezintă o mare afinitate pentru legarea antigenului;
- ◆ IgG difuzează mai rapid decât alte clase de imunoglobuline în spațiile extravasculare și are afinitate mare pentru antigenul specific. Din aceste motive imunitatea antitoxică este realizată exclusiv de IgG (neutralizarea toxinelor bacteriene);
- ◆ La om IgG este singura imunoglobulină care poate traversa bariera placentară;
- ◆ IgG constituie anticorpul produs majoritar în răspunsul imun secundar;
- ◆ Moleculele de IgG pot activa complementul pe cale clasiă. Situsul de legare a componentului C1q este plasat în domeniul C_H2 și conține trei reziduuri cu sarcini electrice la suprafața proteinei (318-acid glutamic), 320 – lizină, 322-lizină). Complexele formate din bacterii și molecule de IgG declanșează activarea căii clasice atunci când cel puțin două regiuni Fc complexate cu antigenul, leagă C1q.

- ◆ Timpul de înjumătățire al IgG este de aproximativ 21 de zile;
- ◆ IgG este principala iminoglobulină opsonizantă implicată în fagocitoză; neutrofilele au receptori pentru fragmentele Fc ale IgG1 și IgG3.

5.11.1.1. Receptorii Fc

Există multe tipuri de receptori Fc:

1. **Receptorul FcγI (FcγRI)** leagă cu mare afinitate IgG. Este prezent pe monocite și în mai mică măsură pe macrofage nestimulate. Funcționează eficient în medierea uciderii extracelulare a celulelor țintă acoperite cu anticorpi (ADCC – antibody-dependent cell mediated cytotoxicity). Receptorii Fcγ tip I intervin în reglarea nivelului global de IgG din corp: rata de catabolizare depinde direct de concentrația totală a IgG. Datorită faptului că sunt receptori de mare afinitate, FcγRI pot lega și IgG monomer, endocitoza receptorilor Fc fiind implicată în degradarea IgG.

2. **Receptorul Fcγ II (FcγRII)** are afinitate mică pentru IgG. Este distribuit pe monocite, neutrofile, eosinofile, trombocite și limfocitele B. Legarea receptorilor FcγII de pe celulele B are ca rezultat diminuarea responsivității limfocitelor B; această particularitate fiind implicată în feedback-ul negativ al producerii de anticorpi.

3. **Receptorul Fcγ III (FcγRIII)** este de asemenea un receptor de mică afinitate pentru IgG, prezent pe macrofage, eosinofile și limfocite NK. Mediază ADCC-ul realizat de celulele NK și clearance-ul complexelor imune din circulație de către macrofage.

5.11.2. Imunoglobulina M

Imunoglobulinele M au o greutate moleculară mare, 900-970 kDa, sunt cele mai voluminoase și reprezintă aproximativ 50-15% din totalitatea imunoglobulinelor circulante (macroglobulina din ser). Ele sunt constituite din 5

unități de bază (monomeri), $\mu_2\kappa_2$ sau $\mu_2\lambda_2$, reunite prin punți disulfidice și un lanț suplimentar, lanțul J, cu o greutate moleculară de 15 kDa, care-I conferă aspectul de stea sau de erab, cu 10 situsuri de combinare situate la periferia pentamerului. Gradul de glicozilare este ridicat, reprezentând 10-15% din masa totală a moleculei. IgM activează pe calea clasică complementul prin fixarea componentei C1q la C_H3, fiind de 100 de ori mai eficient decât în citoliza celulelor bacteriene. Datorită formei lor, aceste Ig sunt excelenți anticorpi aglutinați și neutralizanti ai antigenelor particulare.

IgM predomină în ser, deoarece volumul nu-I permite trecerea în spațiile extravasculare sau transplacentar, dar poate fi secretată în mucoase, datorită lanțului J, unde asigură, alături de IgA, protecția acestora.

Forma membranară a IgM constituie receptorul pentru antigen al limfocitelor B.

Proprietăți biologice și chimice:

- ◆ IgM precede apariția IgG în filogenia răspunsului imun la vertebrate;
- ◆ IgM este primul anticorp pe care îl produce un limfocit B activat;
- ◆ IgM este eficientă în aglutinare și citoliză. Din acest motiv are importanță particulară în cazul bacterimiei.
- ◆ Semiviața IgM este de aproximativ 10 zile;
- ◆ Anticorpul de tip IgM au o afinitate scăzută pentru antigen, dar aceasta este compensată de valența mare, care asigură o aviditate respectabilă pentru antigene multivalente (efectul bonus al multivalenței)
- ◆ Mare parte din anticorpul "naturali" față de microorganisme sunt de tip IgM (ca și în cazul

izohemaglutinelor – anticorpi față de antigenele carbohidrat din sistemul grupelor ABO)

- ◆ IgM există și sub formă de monomer ca receptor pe suprafața limfocitelor B (fixat în membrană printr-o secvență polipeptidică hidrofobă la nivelul capătului carboxiterminal). Sub această formă IgM reprezintă tipul major de receptor pentru antigen al celulelor B. IgM este exprimat pe membrana limfocitelor B înainte de contactul cu antigenul omolog și la scurt timp apare pe suprafață și IgD
- ◆ Valența combinatorie teoretică a pentamerului de IgM este 10, dar nu este observată decât în cazul interacțiunii cu haptene mici. În cazul antigenelor mari, valența efectivă se reduce la 5 datorită restricțiilor sterice date de flexibilitatea redusă a moleculei
- ◆ Molecula de IgM liberă în soluție are o formă de stea dar atunci când se combină cu o suprafață antigenică adoptă o configurație de “crab”
- ◆ Datorită structurii sale, IgM este cea mai eficientă imunoglobulină în activarea lizei mediate de complement
- ◆ IgM este anticorpul predominant produs de făt (nivelul normal în serul din cordonul ombilical la nou-născut este de aproximativ 10 mg/dl); un nivel ridicat de IgM poate indica infectarea fătului înainte de naștere
- ◆ IgM nu este o opsonină intrinsecă deoarece fagocitele nu au receptori pentru fragmentul Fc al lanțului μ . Oricum, IgM amplifică fagocitoza prin activarea căii clasice a complementului și generarea opsoninei C3b

- ◆ O parte din IgM este sintetizată local, la nivelul țesuturilor secretorii. IgM secretorie, similar IgA secretorie, poate lega componenta secretorie.

5.11.3. Imunoglobulina A

Este prezentă sub două forme: serică și secretorie.

1. **IgA serică**, cu o concentrație de aproximativ 200 mg/dl, reprezintă 15-20% din anticorpii serici.

IgA serică este monomeră, are greutatea moleculară de 160 kDa. Sub formă polimerizată, mai ales dimerică, se găsește în secreții sero-mucoase: salivă, mucus bronșic, mucus intestinal, colostru și lapte, lacrimi și joacă un rol principal în apărarea mucoaselor prin: neutralizarea unor toxine, aglutinarea microorganismelor (bacterii, ciuperci) și modificarea aderenței anumitor germeni, împiedicând astfel penetrarea lor în sânge, prin epiteliul mucoaselor.

Structura: la om peste 80% din IgA serică există ca monomer. Restul se află sub formă de dimer. În forma polimerică, unitățile de monomer sunt reunite prin legături disulfidice și prin lanțul J.

Proprietăți biologice și chimice:

- ◆ IgA nu leagă complementul pe cale clasică, dar o poate face pe cale alternativă (prin IgA agregată). În stare nativă IgA nu poate interacționa cu C1q. Semnificația biologică a acestei căi de activare a complementului nu este clară.
- ◆ Semivida IgA este de 6 zile
- ◆ IgA poate fi inactivată de o protează IgA, produsă de gonococci, meningococci, pneumococci și Haemophilus influenzae

2. **IgA secretorie** (sIgA) este imunoglobulina predominantă în variate secreții: salivă, lacrimi, colostru, transpirație, secreții bronhice, genitourinare, intestinale și nazale.

Structura:

- ◆ IgA secretorie este formată din doi monomeri uniți prin lanțul J, împreună cu componenta secretorie. IgA este sintetizată local de plasmocite și este dimerizată intracelular împreună cu un polipeptid bogat în cisteină, lanțul J. Componenta secretorie are 70 kDa și este solidarizată la sIgA prin legături disulfidice.
- ◆ Subclasa dominantă de sIgA este sIgA₂ (molecula de sIgA₂ este unică prin absența legăturilor disulfidice între lanțurile grele și prezența punților disulfidice între lanțurile ușoare).

Proprietăți biologice și chimice

- ◆ Componenta secretorie are funcția de a proteja IgA de proteaze
- ◆ IgA secretorie are multiple funcții:
 - Protejează suprafețele mucoase de interacțiunea cu moleculele de adezine de pe suprafața potențialilor patogeni și interferează aderarea lor și colonizarea mucoaselor
 - AIgA poate opsoniza particulele străine, neutrofilele având receptori Fc α pe membrană. IgA agregată poate să se lege de neutrofile și poate activa calea alternă a complementului. Acest lucru este responsabil de sinergismul dintre IgA, complement și lizozim, observat în distrugerea unor coliformi.

5.11.4. Imunoglobulina B

Reprezintă mai puțin de 1% din totalul anticorpilor, concentrația serică fiind de aproximativ 3-5 mg/dl.

Rolul acestor imunoglobuline serice, de 160 kDa, în apărarea antiinfecțioasă nu este cunoscut (nu activează

complementul, nu se fixează pe celule fagocitare, etc). Deoarece regiunea balama este foarte mare, ele sunt ușor proteolizate în sânge. IgD este prezent, aproape în totalitate, sub formă membranară. Împreună cu IgM este co-exprimit pe limfocitele B mature, bine diferențiate, unde constituie receptorul acestora pentru antigen

Structura: IgD este un monomer, susceptibil la degradare enzimatică, datorită particularității că prezintă o singură legătură disulfidică între lanțurile grele.

Proprietăți biologice și chimice:

- ◆ Semiviata IgD este de 2-3 zile; aceasta imunoglobulină este labilă la căldură și în mediu acid
- ◆ IgD este prezentă în cantități mari pe membrana limfocitelor B și poate fi implicată, ca receptor pentru antigen în activarea celulelor B. Pe suprafața limfocitelor B IgD este prezentă întotdeauna asociată IgM. Se pare că receptorii de suprafață IgM și IgD interacționează reciproc în controlul activării și supresiei limfocitelor B
- ◆ Se pare că IgD poate acționa și ca anticorp pentru penicilină, insulină și toxoidul difteric.

5.11.5. Imunoglobulina E

IgE este prezentă în cantități foarte mici în serul normal ($\approx 0,05$ mg/dl), constituind 0,004% din totalul anticorpilor serici. Dar o proporție foarte mică de plasmocite din organ produc IgE.

Structura: IgE este prezentă doar sub formă de monomer.

Proprietăți biologice și chimice:

- ◆ Semiviata plasmatică este de 2-3 zile
- ◆ IgE are o greutate moleculară de 190 kDa și este labilă la temperatura de 56°C.

- ◆ Producerea IgE debutează precoce în viața fetală; IgE nu traversează placentă.
- ◆ Este produsă de limfocitele B și plasmocitele din splină, țesutul limfatic amigdalian și adenoidian și cel din mucoasa tractului respirator și gastrointestinal
- ◆ IgE este asociată cu reacțiile de hipersensibilitate imediată (atopia și anafilaxia). IgE este homocitotropică: are afinitate pentru celulele speciei gazdă în care a fost produsă. Această afinitate este în mod particular puternică pentru mastocitele tisulare și bazofilele circulante. Fixarea IgE pe suprafața acestor celule se face prin intermediul fragmentului Fc pe receptorii Fcε. Contactul cu antigenul (alergenul) declanșează degranularea mastocitelor, cu eliberarea aminelor vasoactive și a citokinelor performante și sinteza unor variați mediatorii ai inflamației, derivați de acid arahidonic. Acest produs este responsabil de simptomatologia alergiei (atopiei). IgE induce și recrutarea locală de factori plasmatici și celule efectorii prin declanșarea reacției inflamatorii acute.
- ◆ IgE pare a fi importantă și în imunitatea față de unii paraziți (helminți).
- ◆ IgE nu poate activa complementul pe cale clasică.

5.12. Situsul combinativ. Afinitate și aviditate

5.12.1. Domenii

De-a lungul lanțurilor L și H, în porțiunile lor variabile, se găsesc niște arii distincte, legate de specificitatea de anticorp, definite structural atât prin ordinea de aminoacizi

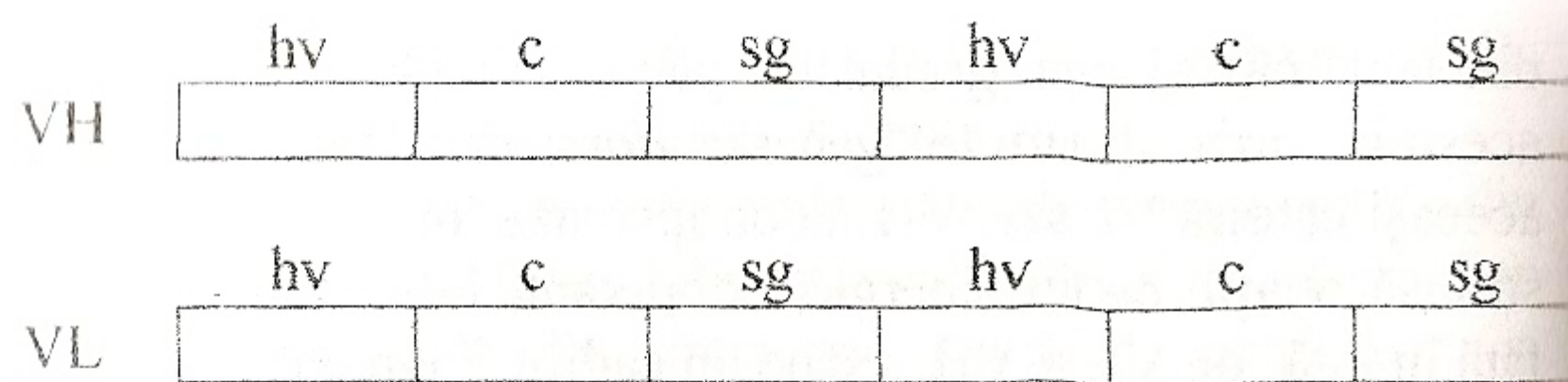
din lanț, cât și prin gradul de pliere sau răsucire spațială a acestuia, arii denumite generic *domenii*. Domeniile de pe aceeași catenă VL sau VH nu cooperează între ele, dar există o strânsă relație de tip sinergic, cooperant, între domeniile aflate față în față, pe VL și VH vecine, în cadrul fragmentului Fab.

Repartiția domeniilor, în raport cu determinanții antigenici de pe lanțurile L și H este:

- Lanțurile L: 2 domenii pentru determinantul κ , 2 domenii pentru determinantul λ ;
- Lanțurile H: 4 domenii pentru determinantul γ , 5 domenii pentru determinantul μ , 4 domenii pentru determinantul α , 3 domenii pentru determinantul δ , 4 domenii pentru determinantul ϵ .

În ceea ce privește caracterul *repetitiv* al unor domenii pe lanțurile H și L, care cooperează "față în față", din loc în loc, de-a lungul lanțului apar:

- Zone hipervariabile ("puncte calde"), în interiorul cărora secvențele de aminoacizi sunt strict legate de specificitatea de anticorp a imunoglobulinei;
- Zone cu puncte invariante, care nu diferă, din punct de vedere al compoziției în aminoacizi, la imunoglobuline cu specificități de anticorp diferite și care contribuie la stabilitatea configurației spațiale a întregii molecule imunoglobulinice, acționând ca "pivot"
- Zone cu subgrupe de aminoacizi, care, de la o regiune variabilă la alta, prezintă deosebiri privind numărul și ordinea aminoacizilor componenți și care ar funcționa catalitic.



hv-hipervariabilitate; c-zone cu puncte invariante; sg-

zone cu subgrupe de aminoacizi

Fig.5.VIII. Reprezentarea schematică a domeniilor alternante de pe regiunile VL și VH vecine și cooperante (C. Voiculescu)

5.12.2. Situsul combinativ (structură, funcționalitate)

5.12.2.1. Structură.

Situsul combinativ cuprinde regiunea fragmentelor Fab la nivelul lanțurilor VH și VL vecine. El ocupă 1% din întreg edificiul molecular al imunoglobulinei. Prin difracție cu raze X, s-a stabilit că situsul poate îmbrăca forme diferite, în funcție de specie. La om situsul se prezintă ca o regiune plată (25x20 Å), prevăzută cu o invaginare superficială, din care sunt proiectate în afară grupările terminale ale aminoacizilor din domeniile cooperante de pe VL și VH.

5.12.2.2. Funcționalitate

După clivarea enzimatică *in vitro* a moleculei imunoglobulinice IgG, s-a constatat că punerea în contact, separat, a lanțurilor H sau L cu antigenul corespondent, este urmată de o legare labilă, slabă a acestuia. Dacă antigenul este supus contactului cu amestecul de lanțuri H și L provenite din aceeași imunoglobulină, legarea este stabilă, similară celei din situația folosirii moleculei inițiale de IgG (neclivată enzimatic). Aceasta demonstrează indirect, necesitatea cooperării lanțurilor H și L, în regiunile variabile ale acestora, la efectuarea cuplării specifice cu antigenul.

În cursul legării antigenului (haptenei), punctelor "calde" (zonelor hipervariabile)le revine rolul principal, de

"prindere în chingă" a epitopilor. Zonele cu puncte invariabile joacă rolul de "pivotal", asigurând pliarea spațială a VL și VH aflate față în față, în cadrul aceluiași fragment Fab.

Zonele cu subgrupe de aminoacizi acționează în calitate de catalizatori, în sensul că ele asigură desfășurarea optimă, pleneră, a fenomenului de legare specifică a antigenului.

5.12.3. Afinitate și aviditate

5.12.3.1. Afinitatea

Afinitatea poate fi definită prin constanta de legare a unui situs combinativ imunoglobulinic cu antigenul corespondent (epitopii haptenei). Fenomenul este, până la un punct, reversibil, apoi, în timp, legătura devine stabilă. În faza reversibilă există un echilibru între formarea de complexe anticorp/antigen și numărul de situsuri combinate imunoglobulinice, epitopi ai antigenului, care nu au intrat încă în relație specifică.

Afinitatea depinde de clasa imunoglobulinică. Astfel legătura specifică IgG-antigen este mult mai stabilă și mai puternică decât legătura specifică IgM-antigen.

Afinitatea mai depinde însă și de caracterul stimulării antigenice. Astfel dacă stimularea se face cu un imunogen puternic și în doze mari, celulele limfoide B, prin receptorul BCR, se diferențiază pentru sinteza finală a unor anticorpi cu afinitate mai slabă. Dacă stimularea antigenică se efectuează cu doze reduse, apar anticorpi cu afinitate mare. În acest mod este explicat de ce după aplicarea unei vaccinări, prin scăderea treptată a concentrației de antigen vaccinat din țesuturi, cu cât trece mai mult timp de la momentul aplicării imunizării active, cu atât apar anticorpi cu afinitate mai puternică.

5.12.3.2. Aviditatea

Aviditatea reprezintă energia de combinare specifică a moleculei de imunoglobulină cu epitopii antigenului

corespondent. Este ușor de înțeles că aviditatea depinde de numărul de situsuri combinate per moleculă imunoglobulinică, deci de valență. De aceea moleculele IgM sunt mai avide, ele fiind pentavalente, comparativ cu moleculele IgG care sunt bivalente.

5.12.3.3. Factori care influențează afinitatea și aviditatea la nivel molecular

Stabilitatea complexelor specifice anticorp/antigen se explică prin aceea că legarea în complex nu are loc într-un singur epitop și un singur situs combinativ imunoglobulinic, ci prin crearea de punți multiple, cu apariția unor adevărate rețele între epitopi și situsurile combinate intermoleculare. Se obține o energie de legare mult mai mare decât dacă relația ar depinde exclusiv de tipul situs singular-epitop. S-a stabilit că în forma legăturii specifice antigen/anticorp intervin diverse categorii de forțe între cei doi parametri:

➤ *Forțe hidrofobe*: atracție între grupările terminale hidrofobe de la nivelul situsului combinativ al imunoglobulinei și cele de pe suprafața epitopului;

➤ *Forțe de atracție electrostatică (coulombiene)*: apropiere, de exemplu: între gruparea NH_3^+ (polarizată) a lizinei de pe epitop și gruparea COO^- de pe molecula imunoglobulinică;

➤ *Forțe Van der Waals*: rezultate ale interacțiunii dintre electronii de pe orbitele atomilor superficiali ai moleculei și cei din nucleeele moleculare, cu dezechilibru temporar al repartiției stratului electronic exterior dintr-o moleculă, cu formarea unui "dipol";

➤ *Legături de hidrogen (covalente)*. Grupările hidrofile ($-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{COOH}$) interacționează formând punți reversibile de hidrogen. Forța acestor legături depinde foarte mult de apropierea strânsă dintre moleculele de anticorp și antigen. Legăturile de hidrogen sunt relativ slabe.

5.13. Biosinteza și catabolismul imunoglobulinelor

5.13.1. Biosinteza imunoglobulinelor

Sinteza imunoglobulinelor nu face excepție de la legile sintezei proteinelor în general, dar prezintă și particularități. Codificarea pentru structura finală a imunoglobulinei este înscrisă în genomul limfocitului B, care preia mesajul antigenic, o dată cu recunoașterea acestuia, ca și în genomul celulei secretorii (plasmocitului), rezultat din diferențierea finală a celulei B.

5.13.1.1. Sinteza independentă a lanțurilor H și L

Sinteza lanțurilor ușoare se face la nivelul unor poliribozomi "ușori", iar cea a lanțurilor grele pe poliribozomi "grei". Nu există specii diferite de ARN mesager, care să transmită informația pentru porțiunile variabile și constante ale lanțurilor H și L, în sensul că o singură specie de ARN mesager, replică a copierii mesajului de pe un singur locus din ADN nuclear, transmite informația unică, atât pentru VL, cât și pentru CL (respectiv VH și CH), de pe același lanț final (sistem comun de gene).

5.13.1.2. Asamblarea intracitoplasmatică a lanțurilor H și L

Cuplarea lanțurilor H și L, consecutivă sintezei acestora pe ribozomi diferiți, se efectuează foarte rapid în reticul endoplasmatic al celulei secretorii. În fapt, apar legăturile disulfidice intercatenare. Ordinea asamblării depinde de clasa imunoglobulinică, ca și de unele particularități structurale ale anticorpului.

5.13.1.3. Polimerizarea sau dimerizarea.

Înainte dimerizării (pentru IgA de tip seric) sau polimerizării (în cazul IgM), trebuie realizată condiția apariției lanțului J. Apărut în citoplasmă, acesta intervine efectiv în legarea monomerilor (prin punți disulfidice), dar și

“controlează” poziția monomerilor în cadrul dimerului sau polimerului neoformat. În cazul moleculelor IgA secretorii, în cursul traversării drumului de la formațiunile limfoide din submucoasă până la mucoasă, se formează mai întâi dimerii IgA, apoi în epiteliu mucoasei, se atașează “piesa secretorie”. Procesul este “ordonat” de o serie de semnale celulare.

5.13.1.4. Cuplarea componentei glucidice.

Oligozaharidele din structura lanțului H al moleculei de imunoglobulină, se plasează într-o anumită poziție în interiorul lanțului polipeptidic, după momentul asamblării lanțurilor H și L (în reticul endoplasmatic), dar înainte de dimerizare sau polimerizare (în cazul IgA și IgM). Atașarea hexozelor, N-acetil-glucozamin-fucozei și acidului sialic, se face într-o anumită ordine secvențială, ceea ce a fost demonstrat prin studii experimentale cu glucozamină marcată cu tritium.

5.13.1.5. Rolul nucleotidelor ciclice.

GMP ciclic, dar cu deosebire AMP ciclic, joacă un rol important în activarea limfocitului B, pentru sinteza finală de imunoglobuline. Acest mecanism trebuie coroborat cu celelalte mecanisme ale activării limfocitului B, care urmează receptării semnalului antigenic de către receptorul BCR.

5.13.1.6. Rolul concentrației imunoglobulinelor în tumori, în determinarea ratei de sinteză a imunoglobulinelor

A fost stabilit că prin relație de tip feed-back, creșterea nivelului cantitativ al imunoglobulinelor din sânge sau din alte umori se soldează cu încetinirea ritmului de sinteză a clasei respective de imunoglobulină. De altfel “jocul” dintre concentrațiile de imunoglobuline din umori și ratele de sinteză și de catabolizare ale acestora explică diferențele de nivel normal în ser.

5.13.2. Catabolismul imunoglobulinelor

5.13.2.1. Rata de catabolizare a imunoglobulinelor

Acest parametru depinde de intervenția concentrată sau de tip antagonic dintre factorii intrinseci și cei extrinseci.

❖ *Factorii intrinseci* se referă la clasa și subclasa imunoglobulinică. Ratele de catabolizare a diverselor clase și subclase diferă în raport cu ratele de sinteză. Relațiile sinteză/catabolism se reflectă atât în ceea ce privește concentrațiile normale în plasmă, cât și asupra duratei de viață (perioadei de înjumătățire).

Clasa de Ig	Timp de înjumătățire (zile)	Rata de catabolizare (mg/kg/zi)	Rata de sinteză (mg/kg/zi)
IgG	18-23	5,6-6,9	28-38
IgM	5,1	1,10-1,7	4,5-6,9
IgA	5,6-6,5	2,52	24-30
IgD	2,8	3,7	0,4

Tabelul 5.II. Timpul de înjumătățire, rata de catabolizare și rata de sinteză a diferitelor clase de Ig la om (C. Voiculescu)

❖ *Factorii extrinseci* sunt reprezentați atât de alotip (linia genetică) cât și de timpul constituțional – metabolic.

5.13.2.2. Sediul de catabolizare a imunoglobulinelor

Locul unde are loc degradarea imunoglobulinelor este situat probabil la nivelul sistemului reticulo-endotelial. Mecanismul de captare a imunoglobulinelor de către celulele acestui sistem este *pinocitoza*. De exemplu, numai în celulele Kupffer din ficat se degradează circa 1/3 dintre moleculele IgG serice. Pe de altă parte, o cantitate de IgG poate fi degradată și în celulele cu platou striat din mucoasa intestinului subțire, ca și în rinichi.

5.13.2.3. Mecanismul de catabolizare a imunoglobulinelor

Pentru a explica acest mecanism, au fost avansate numeroase ipoteze, dintre care:

➤ *Ipoteza "compartimentului de catabolizare"*: o parte dintre moleculele IgG ar trece prin patul vascular într-un așa numit "compartiment de catabolizare", unde se găsesc celule ale sistemului reticulo-endotelial, apte de captare. De fapt, datorită prezenței pe aceste celule a unor receptori, unele molecule IgG ar fi atașate pe suprafața acestora, în timp ce alte molecule, nefixate pe receptori, ar intra în celulă, fiind degradate catabolic (mecanism de selecție a eșantioanelor de IgG ieșite din vasele sanguine). Această ipoteză explică în parte dependența ratei catabolismului de concentrația catabolismului imunoglobulinelor din sânge și alte umori: în cazul prezenței unor concentrații mai reduse de imunoglobuline serice, moleculele ieșite ("evadate") din vase vor fi fixate pe receptorii celulari în cvasitotalitatea lor, astfel încât unele molecule se reîntorc ulterior, intacte în sânge, pe când în situația unei hiperconcentrații de IgG serice, cum numărul receptorilor celulari este limitat, doar o minoritate de molecule imunoglobulinice vor fi fixate, grosul lor trecând în citoplasma celulei, pentru a fi degradate.

➤ *Ipoteza modificării conformaționale a IgG*. Înainte de inițierea procesului de catabolizare, s-ar produce unele modificări de structură a IgG, la nivelul fragmentului Fc. Molecula astfel modificată s-ar putea fixa mai ușor, prin capătul Fc, pe suprafața celulei din sistemul reticulo-endotelial, urmând apoi înglobarea intracitoplasmatică și degradarea metabolică.

5.14. Diversitatea anticorpilor

5.14.1. Variația allotipică

Allotipurile reprezintă variante alelice ale izotipurilor (produsul formelor alelice ale genelor pentru imunoglobuline). Allotipurile sunt prezente doar la anumiți indivizi dintr-o specie și sunt moștenite în manieră medeliană. Deși toți indivizii unei specii au toate clasele de imunoglobuline, fiecare individ prezintă doar una din formele allotipice. Allotipurile se exprimă codominat, dar fiecare limfocit B secretă doar una din formele parentale fenomen numit **ecluzie alelică**. Allotipurile au o distribuție unică la diferite **grupuri etnice**.

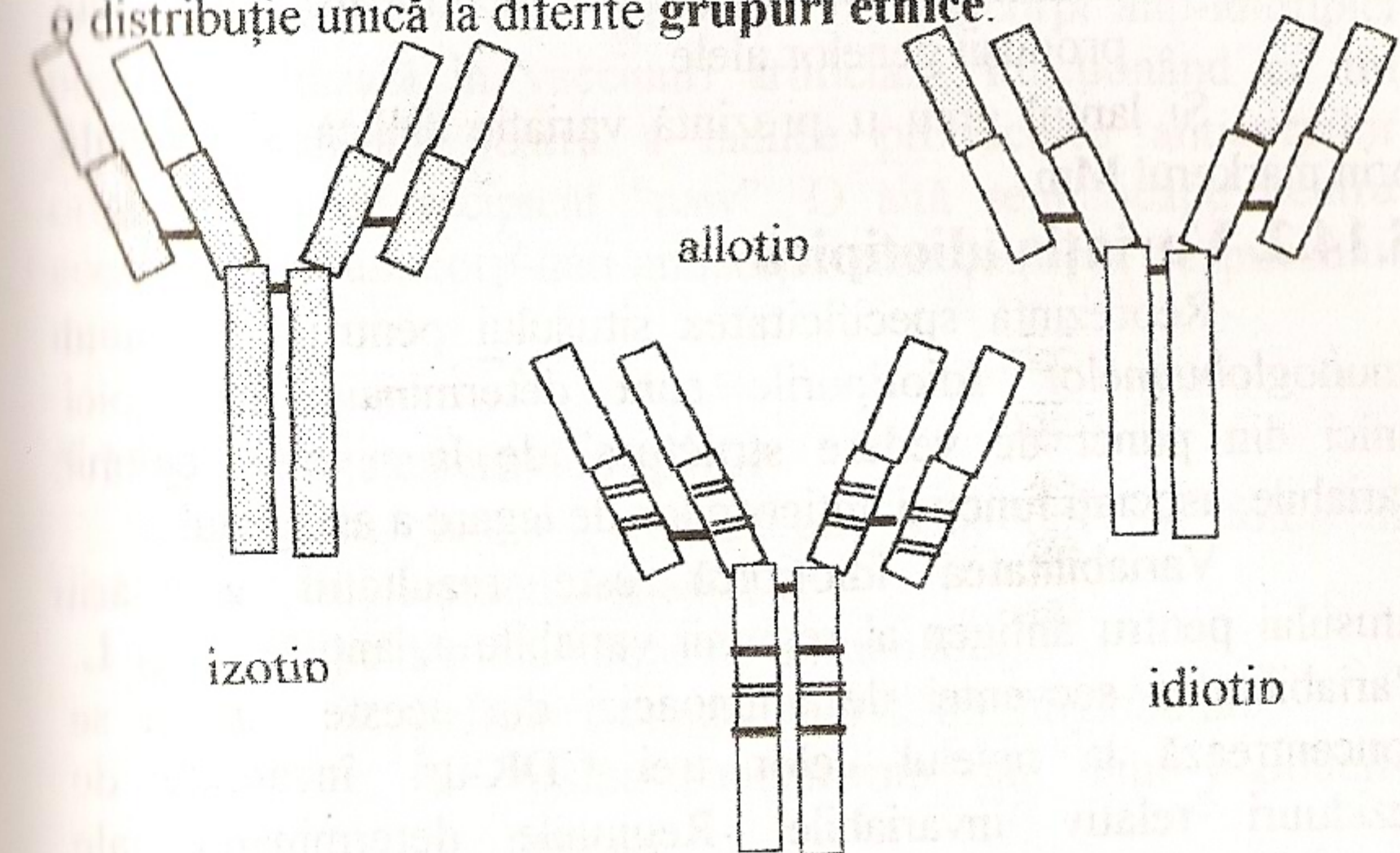


Fig. 5. IX. Markerii genetici ai imunoglobulinelor

Allotipurile sunt identificate prin **markeri allotipici** (diferențe structurale), prezenți la nivelul regiunii constante a lanțurilor grele și ușoare. Pentru lanțurile γ , α și κ au fost create simboluri pentru markerii allotipici:

➤ Markerii de pe lanțurile grele γ sunt numiți Gm (IgG markers). Există peste 20 markeri Gm diferiți antigenic. Acești markeri nu se găsesc toți

la nivelul tuturor moleculelor de IgG, ci se pare că sunt limitați la anumite subclase (G_{1m} , G_{2m} , G_{3m} , G_{4m}).

➤ Markerii lanțurilor grele α sunt desemnați A_m ; există doar două alele la acest locus: A_{m1} și A_{m2} .

➤ Markerii lanțului ușor κ sunt desemnați K_m . Acest locus are trei alele și markerii K_m diferă doar prin aminoacizii din pozițiile 153 și 191. Inițial markerii au fost numiți I_{nv} , după sursa antiserului utilizat pentru identificarea unuia din produșii genelor alele.

Și lanțul greu μ prezintă variație alelică, desemnată prin markerul M_m .

5.14.2. Variația idiotipică

Reprezintă specificitatea situsului pentru antigen al imunoglobulinelor. Idiotipurile sunt determinanți antigenici unici din punct de vedere structural de la nivelul regiunii variabile, asociați funcției anticorpilor de legare a antigenului.

Variabilitatea idiotipică este rezultatul generării situsului pentru antigen al regiunii variabile a lanțului H și L. Variabilitatea secvenței de aminoacizi din aceste regiuni se concentrează la nivelul celor trei CDR-uri, încadrate de reziduuri relativ invariabile. Regiunile determinante ale complementului sunt ariile care realizează contactul cu epitopii antigenului.

Similar determinanților izotipici și allotipici, determinanții idiotipici au fost identificați prin posibilitatea producerii de anticorpi dirijați împotriva lor.

Idiotipii sunt epitopi antigenici prezenți în regiunea variabilă a porțiunii Fab a moleculei de imunoglobulină. Ei pot fi o parte din regiunile CDR, sau pot fi asociați secvențelor cadru ale anticorpilor.

Idiotipul unei anumite imunoglobuline este constituit de suma idiotopilor individuali din aceeași moleculă.

Același idiotip poate fi prezent în comun la anticorpi cu specificități diferite pentru antigen (idiotip public), sau poate fi limitat strict la un anticorp cu o anumită specificitate (idiotip privat).

Idiotipurile sunt definite prin antiseruri, denumite colectiv anticorpi anti-idiotipici. Dacă un anticorp este utilizat ca imunogen (antigen), este posibilă introducerea producției de anticorpi anti-idiotipici, care pot fi similari structural epitopului original. Această a doua generație de anticorpi anti-idiotipici poate fi utilizată în vaccinuri artificiale, funcționând ca un antigen imunizat, pentru a induce producerea anticorpilor originali într-un recipient "naiv". O altă semnificație pentru acest circuit anticorp-anti-anticorp, este reglarea răspunsului imun.

5.15. Utilizarea anticorpilor

Imunoglobulinele (anticorpii) sunt de real folos în multe domenii ale practicii medicale:

a) substituția imună pe termen lung:

❖ deficiențele congenitale de imunoglobuline:

- agama-globulinemie sau hipo- γ -globulinemie,
- deficit izolat de IgA și IgG
- sindromul de imunodeficiență combinată (SCID),

❖ imunodeficiențe secundare sau câștigate:

- hipo- γ -globulinemie din bolile limfoproliferative cu risc crescut de infecții,
- hipo- γ -globulinemia tranzitorie a prematurului sau nou-născutului,
- infecția cu HIV,

- hipo- γ -globulinemie datorată unui consum excesiv, infecții septice acute după arsuri.
- b) Profilactic (imunizare pasivă) sau terapeutic, sub formă de seruri hiperimune:
 - infecții virale (hepatită B, rubeolă, rabie, varicelă)
 - anti-toxine, contra toxinelor produse prin mușcături de animale (viperă) sau înțepături de insecte,
 - infecții bacteriene (difterie, tetanos)
 - profilaxia decesului fetal sau a bolii hemolitice în cazul nou-născutului Rh⁺ cu mamă Rh⁻
- c) Pentru producerea unei imunodepresii, administrarea în cantități mari de imunoglobuline intravenos (γ -globuline) inhibă sau suprimă producerea de autoanticorpi.
 - ❖ Boli autoimune:
 - polineuropatia cronică demielizantă
 - neutropenia autoimună,
 - anemia autoimună,
 - purpura trombocitopenică autoimună (idiopatică),
 - artrita reumatică juvenilă,
 - poliartrita reumatoidă,
 - dermatomiozita,
 - ❖ alergii – administrarea de IgG4.

5.16. Anticorpi monoclonali

5.16.1. Crearea anticorpilor monoclonali (AcMo)

Anticorpii monoclonali au fost produși pentru prima oară de Milstein și Köhler în 1975, prin fuzionarea in vitro a două tipuri de celule somatice : **celule de mielom** (celule

umorale maligne) cu **limfocite B** mature de șoarece, de aceeași rasă în prealabil imunizat cu un antigen – hematii de oaie. Celulele fuzionate (hibride) produc continuu anticorpi anti-hematii de oaie și au fost numite **hibridoame**. Hibridomul moștenește două proprietăți genetice esențiale ale celulelor parentale.

- Nu mor ci se multiplică timp nelimitat, caracter moștenit de la celula mielomatoasă;
- Produc anticorpi specifici față de unul din epitopii antigenului cu care s-a făcut imunizarea, proprietate primită de la limfocitele B normale imunizate.

Prin cultivarea celulelor în mediul HAT (mediu special) au fost menținute în viață doar celulele hibride (selectarea hibridoamelor). Aceste hibridoame au fost subcultivate (clonate), pentru obținerea unei populații celulare omogene provenite dintr-o singură celulă hibridă (clonă celulară). Această clonă produce Ac monospecifici, adică față de un singur epitop, **anticorpi monoclonali – AcMo**. La sfârșit se face trierea riguroasă a hibridoamelor, pentru obținerea doar a celor care produc anticorpii doriti.

Protocolul de generare a hibridoamelor a fost ulterior extins, folosind ca antigene diverse molecule și celule. Au fost obținuți în acest mod anticorpi omogeni, în cantități mari și cu specificitate înaltă.

Avantajele hibridoamelor:

- pot fi menținute in vitro, în culturi de mare randament (10-50 μ de Ig/ml de supernatant)
- pot fi menținute in vivo, prin injectarea celulelor în peritoneul șoarecilor din aceeași linie pură (singeni) care vor face ascită. În lichid ascitic se găsesc cantități mari din Ac dorit (până la 10 mg/ml de lichid).

Anticorpi monoclonali	Anticorpi policlonali
Monospecifici	Polispecifici
Omogeni (clasă, subclasă de Ig)	Heterogeni (clasă, subclasă de Ig)
Titri înalte (1:1.000.000)	Titri mult mai joase (mx. 1:1.000-1:10.000)
Specificitate riguroasă (prin selecționare)	Au mulți Ac contaminați greu de îndepărtat
Sunt "nemuritori", cantități nelimitate	Cantități limitate, depind de viața animalului imunizat
Constanți	Inconstanți, variabili de la un animal imunizat la altul
Concentrații mari de Ig specifice (1-10 mg/ml)	Concentrații mici de Ig specifice (0,5-1% din totalul Ig)
Se pot produce cu Ag nepurificate (molecule, celule)	Sunt necesare Ag foarte purificate (altfel apar Ac contaminați față de diferitele impurități – ale Ag)

Tabelul 5.III. Diferențele dintre caracterele anticorpilor monoclonali și cei policlonali, convenționali (V. Cristea)

5.16.2. Utilizarea anticorpilor monoclonali

Posibilitățile de utilizare practică a AcMo sunt aproape nelimitate (în diagnostic, tratament, mijloc de izolare și purificare a unor molecule sau celule, etc.)

a) diagnostic

❖ hematologie

- ◆ tipizarea hematiilor din sistemele A,B,O, Rh; Ii; etc.
- ◆ diagnosticul leucemiilor
- ◆ tipizarea populațiilor și subpopulațiilor limfocitare T (CD4, CD8, CD3, etc), NK

(CD56, CD57), B (CD19, CD20, mlg), precursorilor și numărarea lor

❖ laborator

- ◆ diverse metode imunologice de dozare (RIA, ELISA) pentru: hormoni, proteine, enzime, medicamente (digoxina), factori ai coagulării

❖ anatomie patologică:

- ◆ diagnosticul naturii celulelor din metastaze, originea metastazelor
- ◆ diagnosticul celulelor din tumora primară (carcinom, limfom, sarcom, melanom)

❖ boli infecțioase produse de bacterii, virusuri sau protozoare:

- ◆ izolarea și caracterizarea antigenelor bacteriene și virale, a deviațiilor antigenice
- ◆ tipizarea rapidă a microorganismelor din țesuturi, lichide biologice
- ◆ depistarea unor molecule circulante (HBs în hepatita B)

❖ medicină internă:

- ◆ tromboze – Ac anti-tripsină
- ◆ infarct miocardic – Ac anti-miozină

❖ chirurgie

- ◆ tipizarea HLA a donatorului și primitorului în vederea transplantelor de organ

❖ oncologie

- ◆ diagnosticul tumorilor in vivo prin radioscintigrafie

b) tratament

- ◆ în tratamente medulare și inhibarea respingerii grefelor

- ◆ inactivarea sau neutralizarea unor toxine
- ◆ unele boli auto-imune
- ◆ vaccinare cu Ac anti-idiotip
- ◆ imunizarea pasivă în unele infecții bacteriene sau virale (tetanos, rabie)
- ◆ în cancer și leucemii, sub formă de imunoconjugate (prin cuplarea AcMo cu citostatice, toxine sau izotopi radioactivi)

c) purificare

- ◆ purificarea unor molecule utilizate în terapie (IFN, hormoni)
- ◆ purificarea unor populații și subpopulații celulare (celule stem, limfocite)

Majoritatea AcMo sunt de proveniență murină (de șoareci) și administrarea lor la oameni generează anticorpi anti-AcMo. Aceștia pot anihila efectul terapeutic al anticorpilor monoclonali, iar complexe imune pe care le formează pot avea efecte patologice nedorite (boala serului). Prin metode de inginerie genetică de menținere a regiunilor de legare a antigenului de la șoarece și de înlocuire a porțiunii Fc sau a domeniilor constante cu cele umane, se încearcă "umanizarea" anticorpilor.

5.17. Imunoglobulinele de membrană

Toate clasele de imunoglobuline pot să existe atât sub formă membranară cât și secretată, dar în procentaje diferite, mergând de la 10% din total în cazul IgM și IgD până la sub 1% pentru IgG, sau la limita decelabilității la IgA și IgE.

Spre deosebire de anticorpii solubili, lanțurile H posedă în partea C-terminală, o secvență de AA suplimentari sau o coadă, foarte scurtă. Ei sunt formați dintr-o regiune extracelulară, una transmembranară hidrofobă și una intracitoplasmatică.

Proteinele membranare cu rol de receptori transmit informația primită, în urma fixării ligandului specific, în interiorul celulei. Intracelulare există o cascadă de complexe moleculare de semnalizare care transmit mesajul mai departe în interiorul citoplasmei, deseori până în nucleu, permițând intrarea în funcție a mecanismelor de răspuns, specific pentru fiecare tip de celulă. În cazul celulelor B, legarea Ag a BCR inițiază diviziunea repetată a celulelor (**expansiunea clonală**) și **diferențierea acestora în plasmocite**, celule care secretă anticorpii, proces cunoscut sub denumirea de **activarea limfocitelor B**.

Simpla legare a Ag de imunoglobulinele transmembranare nu este suficientă pentru activare, pentru că porțiunea intracitoplasmatică a acestuia este prea scurtă pentru a interacționa cu proteinele necesare pentru semnalizarea intracelulară. **Receptorul complet** al limfocitelor B cuprinde în plus două molecule identice dispuse de o parte și de alta a mlg. Fiecare moleculă este heterodimeră, fiind formată din 2 lanțuri polipeptidice invariabile (Ig α și Ig β) legate între ele printr-o legătură disulfidică (CD79). În absența acestor molecule nici imunoglobulinele de membrană nu pot fi exprimate pe suprafața limfocitelor B.

5.18. Dinamica răspunsului imun umoral

5.18.1. Imunitatea umorală sistemică

Fluctuațiile titrului de imunoglobuline sanguine, în cursul răspunsului specific de tip umoral, arată faptul că rolul primordial le revine claselor IgG și IgM, contribuția IgA fiind relativ minoră, IgD puținunoscută, iar IgE nulă.

În **răspunsul primar**, după 2-4 zile de la stimularea cu antigen, apar anticorpii sistemici aparținând clasei IgM, a căror cantitate crește lent, pentru a atinge un nivel nu prea ridicat, după care titrul se epuizează, de asemenea progresiv

(după aproximativ 10 zile de la contactul cu antigenul). Între timp (7-8 zile de la stimularea cu antigen), apar în sânge anticorpii sistemici IgG, cu creștere ușoară a titrului, până la depășirea chiar a nivelului IgM. Persistența IgG este mai mare decât a IgM, dar cantitativ nu se notează un prag de concentrație foarte ridicat, tendința fiind de scădere lentă, cu un nivel rezidual minim sau nul. Înlocuirea anticorpilor IgM cu cei IgG în răspunsul primar se datorează unei reacții de tip feedback, augmentarea progresivă a titrului IgG inhibă implicit sinteza de IgM. O excepție de la regulă este de exemplu răspunsul primar numai cu IgM, față de antigenele timoindpendente (polizaharizii capsulari ai pneumococului, dextranul, polimerii sintetici de D-aminoacizi).

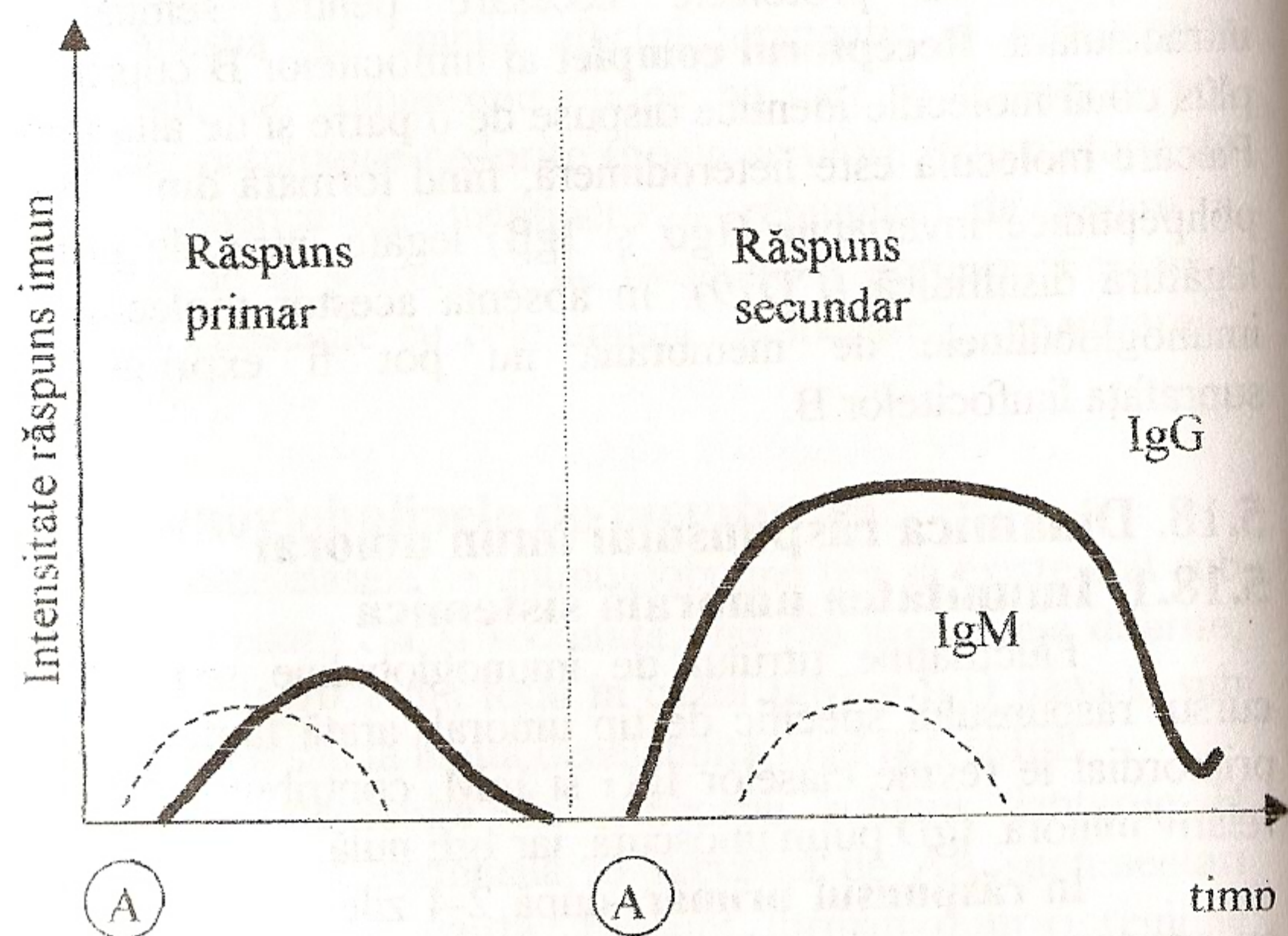


Fig.5.X. Curbele de evoluție a nivelului sanguin de anticorpi sistemici IgM și IgG în cursul răspunsului umoral primar și secundar (C. Voiculescu)

În răspunsul secundar, ca urmare a stimulării antigenice, titrul IgG specific crește prompt, rapid, progresiv depășind de mai multe ori nivelul nivelului răspunsului primar. După o perioadă lungă de persistență în umori, titrul IgG scade lent, dar cu menținerea unui nivel minim protector, în timp. Fluctuațiile anticorpilor sistemici IgM în reacția anamnestică sunt variabile, dar nu se corelează efectiv cu protecția imună. Prin orice tip de vaccinare, se induce deliberat răspuns imun primar, pentru ca, în eventualitatea unei infecții cu germeni purtând antigene similare celor din vaccin, organismul vaccinat să răspundă prin reacție secundară, eficientă.

5.18.2. Imunitatea umorală locală

La suprafața tegumentului și mucoaselor intervine un mecanism eficient de protecție imună, realizat de către imunoglobulinele IgA secretorii, orientate specific spre antigene bacteriene, virale sau parazitare. În acest mod, ecranul imunoglobulinic local împiedică în mare măsură trecerea germenilor antigen dincolo de poarta de intrare. Dinamica formării anticorpilor IgA secretorii este complexă și implică limfocitele B din derm sau din sistemele GALT sau BALT, de la nivelul submucoaselor.

5.18.2.1. Înglobarea și prezentarea antigenului

Germenii-antigen, care există la suprafața pielii sau mucoaselor, stimulează limfocitele B din vecinătate, unele fragmente mici de antigen sunt înglobate și apoi prezentate pentru recunoaștere limfocitelor B. Patru categorii de celule realizează aceste funcții: celulele de membrană "M", de tip epitelial, asociate foliculilor limfoizi izolați sau manșoanelor de limfocite; alte celule epiteliale de la nivelul epidermului sau mucoaselor, inclusiv celulele glandulare; macrofage locale; celule dendritice locale.

Procesul de captare, înglobare și prezentare a antigenului de către categoriile celulare de mai sus, depinde în

mare măsura de exprimarea la suprafața acestora atât a moleculelor de adeziune, cât și a antigenelor de histocompatibilitate din clasa a II-a (HLA-DR, la om).

5.18.2.2. Sinteza secvențială a imunoglobulinelor IgA secretorii.

Limfocitele B, aflate în derm sau submucoasă, se diferențiază, consecutiv receptării semnalului antigenic la nivelul receptorului BCR până la stadiul de plasmocite, care secretă, secvențial și controlat moleculele de IgA monomeric și lanțurile J. Urmează cuplarea celor două elemente, cu apariția dimerilor IgA. În cursul traversării drumului invers (de la derm sau mucoasă către suprafață) la nivelul celulelor epitelului (glandulare), dimerii IgA cuplează, într-un anumit ritm și cu o anume intensitate, "piesa secretorie", presintetizată la acest nivel: celula epitelială "eliberează" diferențiat cantități de piesă, iar plasmocitele asigură legarea monomerilor IgA în dimeri, prin lanțul J. În acest mod eşantioanele de molecule IgA ajunse la suprafața tegumentului sau mucoase sunt corelate cantitativ cu cuantumul de antigen ce urmează a fi neutralizat specific, ca și cu potențialul de sinteză a imunoglobulinei, în formațiunile limfoide din derm sau intraparietale.

5.18.2.3. Modularea adaptivă a sintezei de IgA secretorii

La fel ca în imunitatea umorală sistemică, unele subseturi de limfocite T imunomodulatoare (în principal Th2) intervin în stimularea receptorului pentru antigenul de pe limfocitele B din derm sau submucoasă (BCR), în sensul stimulării diferențierii pentru sinteză finală de IgA. Modularea este completată prin efectele frenatoare (inhibitoare), adaptative, exercitate de unele celule cu efect antagonic. Declanșarea și întreținerea tonusului "stenic" imunomodulator al limfocitelor Th2 locale aparține indirect antigenului, care trebuie prezentat celulelor Th2 de către celulele "M" epiteliale,

macrofagice și dendritice, care exprimă antigenele de histocompatibilitate din clasa a II-a și unele molecule de adeziune.

5.19. Teorii asupra formării anticorpilor.

Încă din perioada pasteuriană, a înțelegerii imunității ca mijloc de protecție specifică, au început să se formeze două categorii de teorii: "instructive" și "selective"

5.19.1. Teoriile "instructive"

Prin această teorie i se acordă antigenului un rol principal, în sensul "imprimării" unei anumite specificități de anticorp, în cursul procesului de sinteză a imunoglobulinelor.

* *Teoria "matriței directe"*. Antigenul, prezent în celula imunocompetentă (limfocit B), ca și în celula secretorie, ar ghida pliarea lanțurilor L și H, astfel încât să se realizeze un situs combinativ corespondent specificității antigenului ("modelarea" unei imunoglobuline "standard" spre o anumită specificitate);

* *Teoria "matriței indirecte"*. Modelarea specificității de către antigen s-ar face nu la nivelul lanțurilor L și H deja sintetizate, ci la nivelul genelor din ADN-ul celulei B sau secretorii, cu inducerea unei conformații specifice finale în imunoglobulina nou sintetizată.

Teoriile "instructive" în planul realității factice au valoare istorică, fiind contrazise prin numeroase contra-argumente observații, din care:

○ Absența antigenului în celula secretorie, ceea ce infirmă potențiala intervenție a acestuia în "modelarea" specificității de anticorp;

○ Complexitatea structurii situsului combinativ al imunoglobulinelor, legată de specificitate, foarte greu de explicat printr-o riguroasă modificare excitată de "amprenta" antigenică.

5.19.2. Teoriile "selective"

Conform acestor teorii, antigenul selectează anumite specificități preformate și nu induce specificitatea de anticorp. În organism există numeroase tipuri de celule limfocitare B, care au înscrise în genom diverse specificități, capabile de a răspunde univoc la stimularea antigenului corespondent.

* *Varianta I a "selecției clonale"* (Burnet, Fenner). În timpul vieții intrauterine, organismul fetal ar conține un număr foarte mare de tipuri de celule precursorare (clone), fiecare corespunzând unei anumite specificități, fie pentru antigen "self", fie pentru antigen "non-self". Deoarece fătul nu vine în contact cu antigenele "non-self", "clonele" corespondente se vor matura, astfel că în viața adultă celulele mature derivate vor reacționa, prin diferențiere, către sinteza imunoglobulinelor specifice, în prezența antigenului complementar. În schimb, "clonele" de celule fetale corespunzătoare antigenelor "self", vor veni în contact cu acestea, impact urmat de blocarea ("interzicerea"), apoi eliminarea "clonelor" respective. În acest mod la adult, nu vor accede celule mature B care să răspundă la stimularea antigenelor "self".

* *Varianta a II-a a teoriei "selecției clonale"*. Celulele embrionar-fetale multigenice corespunzătoare diverselor specificități, vor fi supuse rolului "selector" al antigenelor: antigenele "self" vor determina represia genelor corespondente, iar genele pentru antigene "non-self" se vor derepresa, ulterior celulele devenind mature și apte de răspuns adecvat față de antigenele "non-self".

În favoarea acestor teorii "selective" intervin foarte multe date:

- complexitatea structurală a situsului combinativ al anticorpilor este mai ușor explicată printr-o determinare genetică complexă

- absența antigenului în celula secretorie pledează pentru rolul de selecție a antigenului la capătul "proximal" al șirului de evenimente celulare și nu la capătul final;

- se explică toleranța fiziologică față de antigenele "self"

- modelul "o celulă - o imunoglobulină": receptorul BCR din membrana limfocitului B conține lanțuri imunoglobulinice cu conformație identică celei din structura imunoglobulinei finale, care rezultă din diferențierea celulei B în prezența antigenului corespondent.

5.20. Genetica imunoglobulinelor și generarea diversității anticorpilor

Sistemul imun trebuie să fie capabil să recunoască virtual orice patogen deja existent sau posibil să apară la un moment dat, fapt care depinde de specificitatea anticorpilor.

Un limfocit poate sintetiza anticorpi cu o singură, anumită, specificitate, el fiind preprogramat pentru aceasta. Evenimentele responsabile de generarea din plasmocite a anticorpilor cu o specificitate determinată survin înainte de intrarea antigenului în organism.

Generarea anticorpilor a avut două explicații:

- * genele pentru întreg "repertoriul" anticorpilor sunt prezente în ADN-ul liniei germinale și sunt moștenite de fiecare membru al speciei

- * câteva gene importante pentru sinteza anticorpilor sunt transmise prin intermediul ADN-ului liniei germinale, iar cea mai mare parte a procesului de generare a diversității are loc în celulele somatice, prin reorganizare somatică a genelor din linia germinală.

Descoperirea regiunilor variabile și constante a imunoglobulinelor a determinat apariția ipotezei două gene ⇔

un lanț polipeptidic. Genele din linia germinală se reorganizează în celule somatice pentru a forma o genă completă pentru regiunea variabilă. În continuare se produce asocierea genelor pentru regiunea variabilă cu o genă pentru regiunea constantă, cu apariția unui exon final, care conține mesajul genetic pentru unul din lanțurile imunoglobulinei.

Prin procesul de **recombinare somatică** (rearanjarea și delația ADN-ului), urmat de îmbinarea ARN-ului, sunt generate foarte multe linii de plasmocite variate, care conțin informația genetică pentru diferite lanțuri H și L. La generarea diversității mai contribuie și rata mare a mutațiilor somatice ale genelor pentru lanțurile κ , λ și H. Un proces similar de aranjare a ADN-ului conferă receptorului celulei T specificitatea de legare a epitopilor.

5.20.1. Cromozomi, exoni, introni și rearanjarea genelor pentru imunoglobuline.

Cromozomi. Genele pentru lanțurile grele și ușoare κ și λ se găsesc pe cromozomi separați. Lanțurile H și L variază marcant în secvența de aminoacizi a capătului amino-terminal (regiunea variabilă), dar sunt relativ conservate în porțiunea carboxi-terminală (regiunea constantă). Studiul genelor pentru imunoglobuline a demonstrat că regiunile variabilă și constantă sunt codate separat și genele responsabile sunt localizate pe fragmentele de ADN.

Exoni și introni. Genele pentru imunoglobuline cuprind secvențe de nucleotide care conțin informația necesară pentru producerea secvenței de aminoacizi a moleculelor de imunoglobuline, secvențe numite exoni. Exonii sunt separați prin secvențe de nucleotide necodate, numite introni. Atât exonii cât și intronii sunt transcriși în ARN, dar îmbinarea ulterioară a ARN-ului duce la îndepărtarea intronilor, cu alipirea exonilor.

Rearanjarea genelor pentru imunoglobuline. Exonii pentru domeniile variabile sunt împărțiți în mici

fragmente de ADN, răspândite de-a lungul cromozomului. Constituirea exonilor finali din aceste fragmente scurte necesită rearanjarea și reunirea segmentelor, cu formarea secvențelor genice pentru imunoglobuline. Există o secvență leader necesară pentru transportul peptidului prin reticulul endoplasmatic.

Structura generală a exonului final necesar sintezei unui lanț imunoglobulinic este:

5'		3'
Secvență leader	Exon pentru regiunea variabilă	Exon pentru regiunea constantă.

Organizarea genelor pentru lanțul ușor.

Codificarea lanțului ușor imunoglobulinic este asigurată de trei gene. Pentru lanțul κ uman organizarea este:

Domeniul variabil este codificat la nivelul a două segmente genice: - primul - V_{κ} (segment variabil) - codează primii 95 de aminoacizi ai regiunii variabile. Pe cromozomul 2 există mai mult de 200 de gene V_{κ} . Fiecare segment genic V_{κ} este precedat de o secvență leader, care este transcrisă și translată, dar este excizată din proteină înainte ca molecula de anticorp să fie secretată de celula producătoare. Această secvență leader este necesară pentru transportul moleculei de imunoglobulină în reticulul endoplasmatic.

- o a doua genă, segment de joncțiune (J_{κ}), codifică restul de 13 aminoacizi (96÷108) ai regiunii variabile. Acest segment J nu are nici o legătură cu lanțul J prezent la IgM și IgA. Există 5 segmente genice J_{κ} la nivelul acestui locus.

Secvența de aminoacizi a regiunii constante este codată de o a treia genă C. Pentru lanțul κ există o singură genă C_{κ} care conține informația genetică necesară producerii aminoacizilor 109-214.

Generarea variabilității lanțurilor κ este realizată prin recombinarea somatică a ADN-ului și îmbinarea ARN-ului. În cursul procesului de diferențiere a precursorilor celulelor B în limfocite mature, deleția ADN-ului aduce una din genele V_{κ} lângă o genă J. Acest complex $V_{\kappa}J_1$, ca și restul genelor J sunt separate de gena pentru regiunea constantă C_{κ} , printr-o secvență (itron) de ADN. Gena formată prin alăturarea $V_{\kappa}J_1$ codează una din numeroase variante posibile de regiuni ale lanțului κ . ADN-ul celulelor B este transcris în ARN nuclear, care este prelucrat pentru a forma mARN-ul, în care sunt reunite $V_{\kappa}J_1$ cu C_{κ} , urmând translația în lanțul κ .

Organizarea genelor pentru lanțul greu

Deși organizat similar cu lanțurile ușoare, genele pentru lanțul greu sunt mai complex structurate, în patru grupuri distincte de segmente genice. Pentru exemplificare se va folosi lanțul greu al IgM.

Genele pentru lanțul H trebuie să codeze 3 sau 4 domenii constante și regiunea balama. Regiunea genelor constante pentru lanțul H trebuie să codeze toate cele 5 clase de imunoglobuline, și cele 4, respectiv 2, subclase pentru IgG și IgA. Exonul pentru regiunea variabilă a lanțului greu este format din 3 segmente genice. Segmentul adițional din regiunea ADN variabilă este denumit D (diversitate). Regiunea D_H este responsabilă de producerea regiunii CDR3 a lanțului H și codează doar 2-3 aminoacizi. Rearanjarea genelor reunește inițial un segment genic D_H cu un J_H și apoi se produce alăturarea segmentului genic V_H la DJ, cu formarea exonului VDJ. Există peste 200 de segmente genice V pentru lanțul greu, cel puțin 20 D și 6J. Acest număr foarte mare de gene și combinații posibile stă la baza diversității regiunii variabile a lanțului H.

Prin recombinarea somatică a ADN-ului și îmbinarea ARN-ului se generează diversitatea lanțurilor grele. În timpul

diferențierii precursorilor limfocitelor B în celule mature, deleția ADN-ului aduce una din genele variabile V, o genă D și o genă J împreună. Complexul VDJ și genele J rămase sunt la distanță de genele pentru regiunea constantă, fiind separate printr-un segment de ADN. ADN-ul plasmocitului este transcris în ARN nuclear, care este procesat pentru a forma mARN. În timpul acestui proces este selectată gena C_{μ} și este îmbinată cu exonul VDJ. Rezultă o genă completă care este translată în lanțul μ .

Procesul de recombinare a segmentelor genice se supune cu strictete regulii distanțierului 12/23. Fiecare segment genic este flancat de secvențe necodate de ADN numite **secvențe semnal de recombinare *RSS**), care arată direcția de îmbinare a segmentelor genice. Fiecare RSS constă dintr-o secvență înalt conservată, formată din 3 segmente: un *heptamer* (are 7 perechi de baze), un *distanțier* care conține 12 sau 23 nucleotide (corespund unei , respectiv a două turnante a eliciei ADN-ului) și un *nonamer* (are 9 perechi de baze). Alăturarea segmentelor genice este posibilă doar când sunt flancate de RSS cu distanțieri de lungimi diferite.

În cazul genelor pentru lanțul ușor κ , secvențele semnal de recombinare plasate peste 3' de segmente genice V au un distanțier din 12 nucleotide, în timp ce RSS aflate 5' de segmentele genice J au un distanțier din 23 de nucleotide, acest fapt permite recombinarea VJ.

Genele pentru lanțul ușor λ respectă aceeași organizare, cu deosebirea că distanțierii sunt inverși dispuși (cel cu 12 nucleotide precede segmentele genice J, iar cel din 23 de nucleotide succede segmentele genice V).

Recombinarea genelor pentru lanțul greu este mai complexă datorită intervenției a trei segmente genice, V, D, J. Distanțierii care flanchează segmentele genice V și J au câte 23 de nucleotide, iar segmentele genice D sunt flancate la ambele

capete de RSS cu distanțieri din 12 nucleotide. Pentru respectarea regulii distanțierului 12/23 se pot recombină doar segmente D-J și V-DJ.

Recombinările VJ și VDJ

Mecanismul recombinărilor segmentelor genice ale lanțului greu, prezintă în plus față de cel a lanțului ușor, două rearanjarări (D-J și apoi V-DJ) pentru formarea exonului complet al regiunii variabile a lanțului greu, în rest cele două mecanisme fiind similare.

Recombinarea presupune formarea unei bucle a ADN-ului cuprins între cele două segmente genice care urmează să se alăture, urmată de excizia ADN. Segmentele semnal de recombinare RSS, care flanchează segmentele genice care se vor rearanja, se alătură, acest proces fiind mediat de proteine care recunosc lungimea distanțierilor din RSS. Apoi, ADN-ul este clivat și se produce reunirea segmentelor genice. Clivarea și reunirea catenelor de ADN sunt realizate de **endonucleaze** și **ligaze**. Joncțiunea segmentelor genice este imprecisă, constituind una din sursele generării diversității anticorpilor. Heptamerii se unesc rezultând o piesă circulară de ADN (conține exonii și intronii cuprinși între cele două segmente genice care s-au recombinat), care este pierdută din genom.

În limfocitele pre-B de la șoarece au fost identificate două gene cu rol în procesul de recombinare a genelor pentru imunoglobuline **gene activatoare ale recombinării (RAG-1, RAG-2)** care codează proteine ce recunosc secvențele semnal de recombinare. Aceste procese sunt active doar în stadiile precoce ale maturării celulelor B (și T), astfel fiind asigurată specificitatea limfocitelor.

Genele pentru receptorul celulei T pentru antigen (TCR) sunt organizate similar celor pentru imunoglobuline. În cursul maturării în timus, genele pentru TCR se recombină printr-un mecanism similar celui de la imunoglobuline.

Mecanisme care contribuie la generarea diversității anticorpilor.

1. **Recombinarea la întâmplare a segmentelor genice** generează o parte principală a diversității anticorpilor. Fiind evenimente produse la întâmplare, recombinarea somatică a ADN-ului, urmată de îmbinarea ARN-ului, produce peste 1.000 de varietăți de lanțuri ușoare κ și un număr similar de lanțuri ușoare λ , și se pot produce de asemenea aproximativ 20.000 de tipuri de lanțuri grele diferite.

2. **Combinarea la întâmplare a unui lanț greu cu unul ușor** duce la apariția unui repertoriu imunologic al anticorpilor de aproximativ 10^7 .

3. **Joncțiunea imprecisă a segmentelor genice V, D, J**, este o altă variantă de producere a diversității imunoglobulinelor, duce la apariția unui codon modificat.

4. **Adăugarea regiunii N** poate modifica specificitatea și reactivitatea moleculei de imunoglobulină. Regiunile N reprezintă secvențe peptidice variabile, foarte scurte, care sunt plasate de regulă în apropierea celei de a treia regiuni CDR a lanțului greu. CDR3 este cea mai variabilă regiune din molecula de imunoglobulină și conține aminoacizi codati de segmentul genic D_H . Regiunea N conține două situsuri de joncțiune la cele două capete opuse de conectare cu segmentele V și J. Limfocitele B imature conțin o enzimă Tdt (terminal deoxynucleotidyl transferase) care catalizează generarea regiunii N prin adăugarea de nucleotide la capătul 3' al catenei ADN.

5. **Mutații ale genelor pentru regiunea variabilă** apar cu o frecvență mai mare decât în restul celulelor somatice și operează în celulele B aflate în organele limfoide secundare, după ce s-a produs rearanjarea funcțională a genelor pentru imunoglobuline. Ele pot fi: mutații punctiforme sau hipermutație somatică (substituie un singur nucleotid din

regiunea variabilă a genelor funcționale pentru imunoglobuline); conversii genice (în unele familii de gene pentru imunoglobuline secvențe de nucleotide sunt translocate dintr-un segment genic în altul).

Comutarea clasei imunoglobulinelor (comutarea izotipului)

În timpul răspunsului imun, plasmocitele se comută de la producerea de IgM la IgG sau altă clasă de imunoglobuline. Pe parcursul acestui proces lanțul L nu este schimbat și nici porțiunea variabilă a lanțului greu, astfel încât specificitatea situsului pentru antigen nu este modificată. Comutarea de clasă implică o schimbare a domeniilor constante a lanțului greu (C_H). Cromozomul 14 conține secvențe genice C_H pentru fiecare dintre cele 9 izotipuri de lanțuri grele. În timpul asamblării genei pentru lanțul greu, sunt deletate toate genele C_H cu excepția uneia singure producându-se în acest fel izotipul dorit. Rearanjarea ADN-ului și îmbinarea ARN-ului plasează gena C_H rămasă în continuarea exonului VDJ.

Secvențe repetitive de ADN la nivelul genelor C_H permit realizarea comutării izotipului. Comutarea de clasă are loc prin recombinări între **secvențe switch** aflate în intronul plasat 5' de exonii pentru regiunile constante, cu excepția exonului C_δ . La nivelul intronului, dintre grupul de segmente genice J și exonul C_μ , 5' de secvența switch există un **enhancer** al transcripției. Fiecare comutare aduce enhancer-ul în apropierea exonilor pentru C și activează transcripția indiferent de clasa de lanț greu exprimată. Secvențele enhancer sunt segmente de ADN care amplifică nivelul transcripției prin interacțiune cu un **promotor** plasat 5' de segmentele genice V, D sau J.

În cazul exonului pentru regiunea constantă a lanțului δ , limfocitele pot produce simultan și coexprima IgM și IgD

datorită absenței secvenței switch. Este singura excepție în care aceeași celulă B poate exprima două izotipuri diferite de imunoglobulină, dar cele două molecule au aceeași specificitate (se folosește același exon rearanjat VDJ).

Plasmocitele pot să se comute succesiv de la un izotip la altul (de la $C_{\gamma 1}$ la $C_{\alpha 2}$). Comutarea de clasă este reglată de proteine produse de limfocitele T, care stimulează plasmocitele să se comute pe un anumit izotip.

Producerea imunoglobulinelor secretate și membranare.

Limfocitul B produce imunoglobuline inserate în membrană (Ig de suprafață) sau secretate în diferite stadii de maturare. Imunoglobulina membranară funcționează ca receptor pentru antigen al celulei B. După recunoașterea antigenului și activare, limfocitul B va secreta anticorpi cu aceeași specificitate ca Ig de suprafață.

Cele două tipuri de imunoglobuline, membranară și secretată, diferă numai la nivelul porțiunii carboxi-terminale: Ig membranară conține în plus o regiune transmembranară hidrofobă și o scurtă coadă citoplasmică.

Cele două tipuri de regiuni carboxi-terminale ale formelor membranară și secretată sunt codate de exoni separați. Procesarea alternativă a ARN-ului primar duce la producerea formei membranare sau secretate a imunoglobulinei.

Rearanjări neproductive.

Pentru generarea unei gene funcționale, segmentele de ADN trebuie să se îmbine corect pentru a fi menținut cadrul de lectură. Dacă joncțiunea segmentelor este greșită toate secvențele care urmează sunt în afara cadrului de lectură, ceea ce împiedică translația într-un polipeptid funcțional. În acest caz rearanjarea continuă până la obținerea unei gene funcționale.

Se presupune că apariția în citoplasma celulei pre-B a unui lanț greu este semnalul pentru încetarea rearanjării genelor

pentru lanțul H și se începe rearanjarea genelor pentru lanțul ușor. Procesul de rearanjare a genelor continuă până la obținerea unui lanț L funcțional.

Celula pre-B va intra în următorul stadiu de maturare în momentul în care sunt reunite lanțurile grele și ușoare prin punți disulfidice și limfocitul începe să producă molecule de imunoglobuline complete.

Excluzia alelică și restricția clonală.

Excluzia alelică definește într-o celulă a unei alele de la un anumit locus. Datorită excluziei alelice, într-un limfocit b se exprimă doar o singură genă pentru lanțul ușor și doar una pentru lanțul greu. La indivizii heterozigoți pentru formele alotipice ale lanțurilor H și L, un limfocit B va exprima o alelă sau cealaltă, dar niciodată ambele simultan. Asamblarea cu succes și exprimarea unei gene pentru lanțul H sau L împiedică toate celelalte gene de același tip să se mai rearanjeze în aceeași celulă.

Restricția clonală. Prin dividerea unei celule B, cromozomii celulelor rezultate poartă genele alele selectate și acestea nu mai suferă noi rearanjări VJ sau VDJ. Toate moleculele de imunoglobuline produse de o anumită clonă de limfocite B au specificități identice pentru antigen și au același izotip de lanț ușor.

Atât axcluzia alelică, cât și restricția clonală sunt fenomene caracteristice celulelor producătoare de anticorpi.

Proliferările tumorale.

Erorile survenite în rearanjarea genelor pentru imunoglobuline contribuie la generarea unor tumori maligne ale limfocitului B.

Limfocitul folicular este cea mai frecventă tumoră malignă derivată din celulele B, prezintă translocția unei proto-oncogene, bcl-2, de pe cromozomul 2 în regiunea genelor pentru lanțul H al cromozomului 14. Această proximitate dintre bcl-2 și regiunea activă a genelor pentru lanțul H al

imunoglobulinelor duce la creșterea expresiei proto-oncogenei, care contribuie la transformarea malignă a limfocitelor B.

Limfocitul Burkitt – celulele maligne ale acestei tumori derivate din limfocite B, prezintă o translocție a unei porțiuni din cromozomul 8 (care conține o proto-oncogenă c-myc) la nivelul cromozomului 14, în imediata vecinătate a regiunii genice pentru lanțul H. Proto-oncogenă c-myc este activată în urma translocției în vecinătatea regiunii genelor pentru lanțul greu.

CAPITOLUL 6

COMPLEXUL MAJOR DE HISTOCOMPATIBILITATE (MHC)

Complexul major de histocompatibilitate a fost inițial recunoscut ca fiind o regiune genetică controlând principala barieră a transplantării țesuturilor. Studiul MHC s-a dezvoltat datorită experimentelor de transfer al tumorilor. În 1933, J.B.S. Haldane a recunoscut faptul că "imunitatea" față de tumori nu era dirijată împotriva unei caracteristici unice a tumorii, ci se datora unor antigene ale țesuturilor normale prezente pe suprafața tumorilor, similar antigenelor de grup sanguin. Aceste antigene sunt cele care determină dacă o tumoră apărută într-o specie de animale inbred va crește și la animale din altă specie inbred.

În 1930 Gorer lucrează pe linii de șoareci tehnica transplantului tumoral. Utilizează două linii de animale și observă că:

- dacă se transplantează o tumoră de la șoarece de linia A la șoarece B, atunci tumora, inițial este acceptată pentru ca după 10-12 zile să fie respinsă;

- dacă șoarecele A este imunizat mai întâi cu celule tumorale provenite de la șoarecele B și apoi se transplantează tumora, aceasta nu se dezvoltă. Inițial s-a crezut că este rezultatul anticorpilor dezvoltați față de celulele tumorale;

- dacă și șoarecele A a fost imunizat în prealabil cu celule normale provenite de la șoarecele B și apoi s-a transplantat tumora, aceasta nu crește.

În 1946 Snel și Little obțin linii pure (cosanguine) de șoareci genetic identici și observă că unele sunt 100% sensibile, iar altele rezistente la apariția tumorii. Ei

demonstrează că prinderea sau respingerea unui țesut depinde atât de structura antigenică a donatorului cât și de cea a receptorului și denumesc antigenele răspunzătoare de rejeț drept antigenice de transplantare sau compatibilitate histologică. Vor fi formulate ideile de bază pentru imunologia de transplant, legile lui Snell:

- transplantul de țesut dintre membrii unei linii pure (inbred) sunt acceptate în totalitate;

- transplantul de țesut prelevat de la un donator aparținând unei linii inbred la o gazdă ce aparține altei linii este respins întotdeauna;

- transplantul de la o linie parentală la descendenții de prima generație (F1) este acceptat, dar de la F1 la parental este respins;

- cea mai mare parte din descendenții F2 (75%) acceptă grefa, iar 25% o resping.

Tipuri de grefe:

- **autogrefele** sunt grefe efectuate în cadrul aceluiași individ;

- **singrefele** sau **izogrefele** implică transferul de țesut normal între indivizi identici genetic (singeneici) adică gemeni monoziți sau animale din aceeași specie inbred.

- **alogrefele** sau **homogrefele** reprezintă transferul țesutului normal între indivizi genetic diferiți (alogenici) din cadrul aceleiași specii;

- **heterogrefele** sau **xenogrefele** implică transferul țesuturilor între indivizi din specii diferite.

Experimentele de transplantare au demonstrat că izogrefele și autogrefele supraviețuiesc un interval de timp nedefinit. Grefele alogenice sau xenogenice duc la un fenomen de rejeț imunologic, fenomen care nu poate fi împiedicat prin utilizarea agenților imunosupresori. Există o reacție de rejeț primară (apare în 14 zile) și una secundară (instalată în 7 zile).

Rejetul grefei este un fenomen imunologic. Anticorpii pot fi uneori produși ca răspuns la transplante recunoscute ca străine. Transferul limfocitelor T (suportul imunității mediate celular) de la un donator imunizat într-un recipient naiv duce la apariția unei reacții de rejet de tip secundar. Reacția de rejet prezintă atât specificitate cât și memorie.

În anul 1958 Dausset descrie sistemul principal de histocompatibilitate (MAC). Prin testări serologice efectuate pe multipare sau persoane politransfuzate, s-a observat că serul acestora are capacitatea de a aglutina leucocite provenite de la unele persoane și demonstrează existența în ser a anticorpilor față de antigenele leucocitare.

În anul 1974 se propune folosirea termenului de HLA ("human leucocyte antigen"). În timp s-a demonstrat că incompatibilitatea dintre diferite țesuturi variază, gazda putând elimina grea violent (rapid) sau lent, ducând la concluzia că există două categorii de complexe genice: una încadrată în **complexul major de histocompatibilitate (MHC)** iar a doua în **complexe minore de histocompatibilitate (mHC)**. La toate speciile există un singur MHC și mai multe mHC, situate pe diferiți cromozomi, care controlează sinteza unor molecule proteice.

MHC nu se limitează doar la imunitatea de transplant, el are un rol major în generarea răspunsului imun. Principala lui funcție biologică este de prezentare a fragmentelor peptidice din antigen (epitopilor) limfocitelor T.

6.1. Caracteristici ale antigenelor de histocompatibilitate:

❖ antigenele de histocompatibilitate (antigenele de transplantare) sunt antigene prezente pe suprafața țesuturilor

sau celulelor, care determină compatibilitatea sau incompatibilitatea țesuturilor transplantate;

❖ antigenele induc răspunsul imun al organismului gazdă care poate cauza rejetul țesutului transplantat;

❖ cele mai importante antigene de histocompatibilitate sunt produșii genelor **complexului major de histocompatibilitate (MHC)**.

Produșii genelor MHC controlează multe dintre aspectele răspunsului imun.

Genele MHC sunt subîmpărțite în 3 clase:

❖ **genele clasei I** codifică antigene de transplantare de pe suprafața celulară (implicate și în răspunsurile mediate celular) și antigene serologice (care induc formarea de anticorpi);

❖ **genele clasei II** codifică o serie de antigene numite **antigene Ia** (immune associated), exprimate primar pe limfocite; genele clasei II controlează și nivelul răspunsului față de anumite antigene și de aceea se mai numesc **gene Ir** (immune response);

❖ **genele clasei III** controlează expresia unor componente ale sistemului complement.

La șoarece, complexul MHC, numit H-2, este plasat pe cromozomul 17. La om, complexul MHC se află pe brațul scurt al cromozomului 6. MHC reprezintă aproximativ 2% din ADN-ul cromozomului 6 și 1/3000 din totalul genomului uman, dar are un număr foarte mare de gene dispuse în 3 regiuni.

* În regiunea MHC de clasa I există 3 loci principali: **HLA -A, -B, -C**, care codifică moleculele clasice omonime HLA de clasa IA (plus genele HLA de clasa I-B, care sunt funcționale, dar neclasice - HLA-E, F, G precum și pseudoantigenele HLA-H, J, X, secvențe genice nefuncționale).

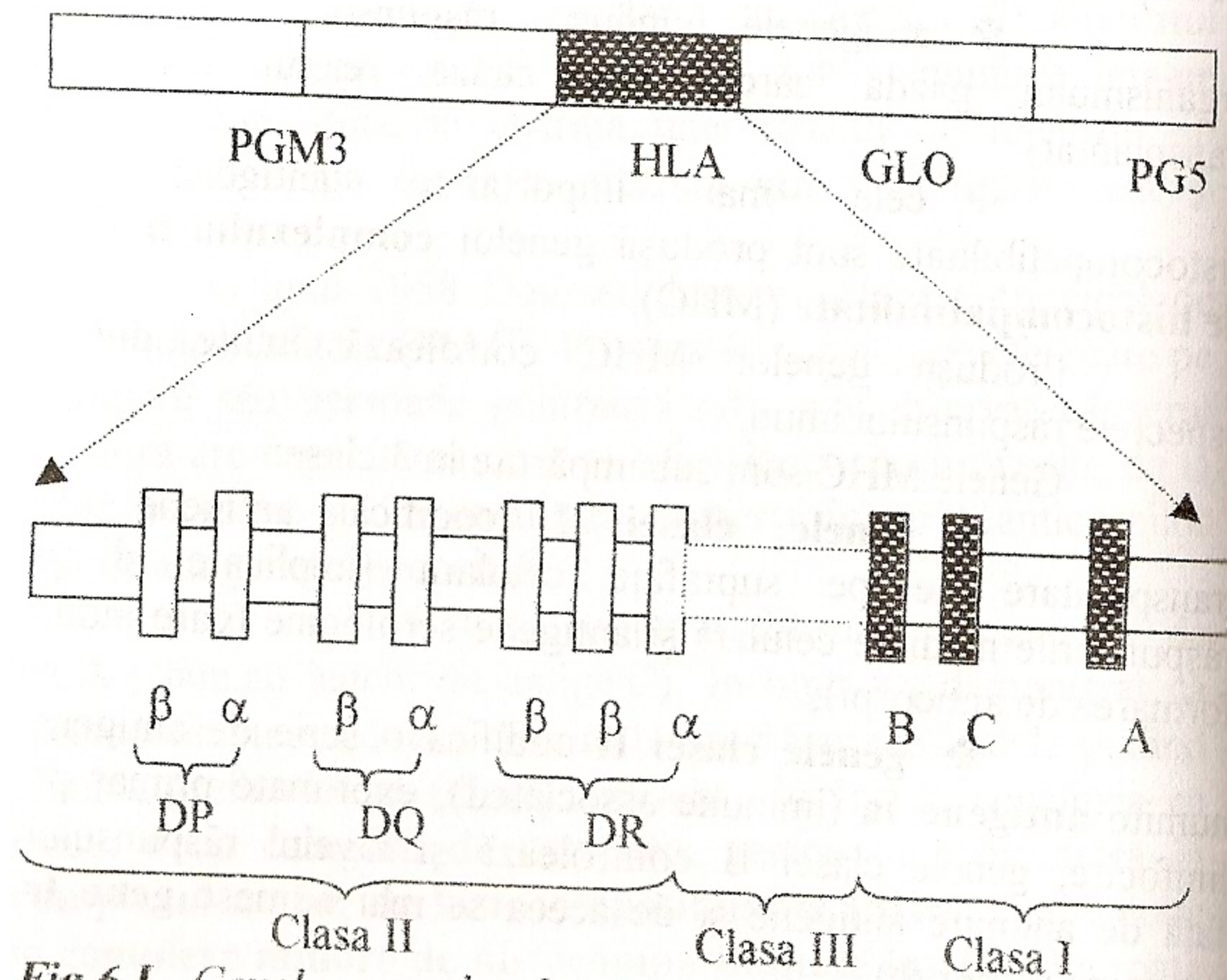


Fig. 6.I. Genele complexului major de histocompatibilitate uman

* Regiunea MHC de clas II – HLA-D, situată mai aproape de centromer, are 23-25 de gene și pseudogene grupate în 3 subregiuni (subloci) principale, sau a genelor clasice: DR, DP, DQ. Fiecare subregiune conține una sau mai multe gene A și B care codifică lanțurile polipeptidice α , respectiv β . Pe lângă genele clasice există gene neclasice DM, DN, DO, gene care controlează anumite etape ale procesării Ag-ului în APC (transportorul de peptide TAP-1, TAP-2) în strânsă asociere cu genele LMP-2 și LMP-7 (care codifică componente ale proteasomilor – un complex de enzime proteolitice), precum și pseudogene.

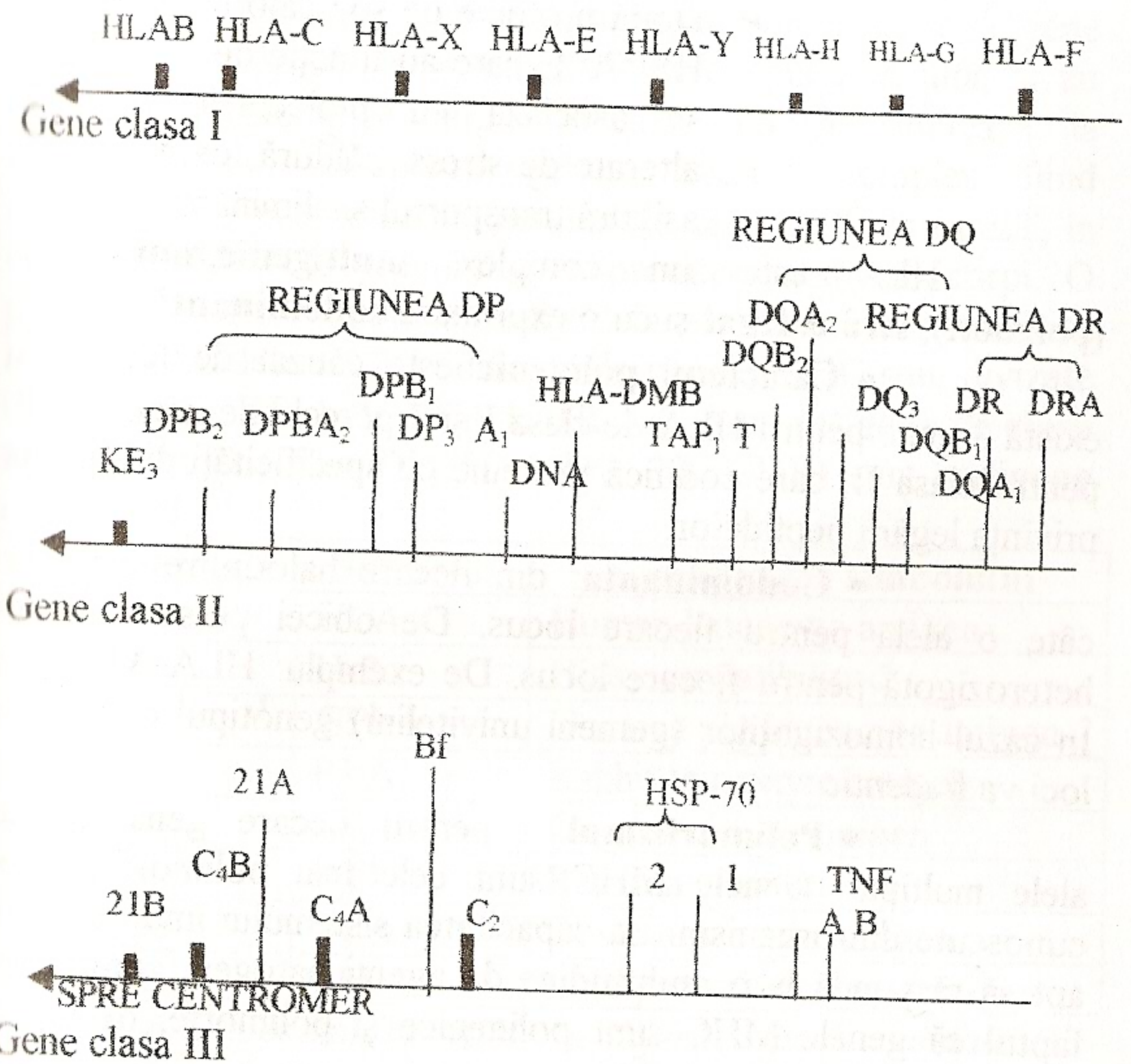


Fig. 6.II. Organizarea schematică a genelor HLA

* Regiunea MHC de clas III, care este situată între regiunile MHC-I și II, cuprinde alte gene care codifică proteine cu funcții imune:

- Proteine ale sistemului complement: C2, Bf (factor B), C4A, C4B
- Gena 21 – steroid hidroxilazei – implicată în sinteza hormonilor steroizi;

- Genele pentru două citokine - TNF α și TNF β
- Două proteine de șoc caloric HSP70.2, HSP70.1, care au funcție de "capișon", se asociază cu moleculele celulare alterate de stress, căldură, oxidare și le asigură transportul și eliminarea.

HLA este un complex **multigenic, multialelic** (polimorf), **strâns legat** și cu o exprimare **codominantă**.

- Caracterul **poligenic** este cauzat de faptul că există 3 gene pentru HLA de clasa I și 3 perechi de gene α și β pentru clasa II, care codifică proteine cu specificități diferite în privința legării peptidelor.

- **Codominanța**: din fiecare halotip se exprimă câte o alelă pentru fiecare locus. De obicei persoana este heterozigotă pentru fiecare locus. De exemplu: HLA-A5 A32. În cazul homozigoților (gemeni univitelini) genotipul celor trei loci va fi identic.

- **Polimorfismul** - pentru fiecare genă există alele multiple. Genele MHC sunt cele mai polimorfe gene cunoscute din organism. La capacitatea sistemului imun de a fi apt să răspundă la o multitudine de agenți patogeni contribuie faptul că genele MHC sunt poligenice și polimorfe, deci pot lega o gamă largă de peptide.

- **Transcomplementarea** - fenomen prin care apar molecule HLA hibride, cele 2 lanțuri α și β , fiind codificate de gene din halotipuri diferite.

- **Legarea**: toate genele HLA se transmit în bloc de la părinți la copii, ca o singură unitate denumită haplotip, descendenții vor avea deci o jumătate de haplotip de la mamă și una de la tată.

- **Dezechilibre de legare** se referă la legarea mai strânsă între alela unui locus și alela altui locus. Aceste

fenomene sunt frecvente în anumite populații A1-B8-DR3 sau A3-B7-DR2.

Complementul MHC, conține un număr mare de gene cu poziție și denumire specifică de la o specie la alta, și au semnificație biologică largă. Aceasta nu se limitează la imunitatea de transplant, genele acestui complex fiind implicate în prezentarea antigenului de către APC spre LT, în cooperarea LT-LB precum și în producerea de anticorpi. O parte din MHC codifică antigenele de histocompatibilitate HLA. Moleculele HLA codificate de genele MHC sunt divizate în două clase: HLA-A, HLA-B, HLA-C sunt **antigene de clasă I**, iar HLA-D (HLA-DP, HLA-DQ, HLA-DR) sunt **antigene de clasă II**.

Specia animală	Simbolul	Semnificația simbolului
Om	HLA	Human leucocyte antigen
Șoarece	H-2	Histocompatibility-2
Cobai	GPLA	Guineea pig leucocyte antigen
Iepure	RLA	Rabbit leucocyte antigen
Câine	DLA	Dog leucocyte antigen
Șobolan	RTI	Rat transplantation I
Oaie	OLA	Ovine leucocyte antigen
Cimpanzeu	ChLA	Chimpazee leucocyte antigen

Tabelul 6.1. Denumirea MHC la diferite specii animale (V. Cristea)

6.2. Distribuția moleculelor MHC

Atât moleculele de clasă I cât și cele de clasă II sunt componente ale suprafeței celulare.

- **Antigenele MHC de clasă I** se găsesc pe suprafața tuturor celulelor nucleate și pe plachete. La șoarece, antigenele MHC (H-2) sunt prezente și pe suprafața eritrocitelor. Au rol în prezentarea la suprafață a unor antigene endogene limfocitelor CD8 pozitive, intervin în apărare prin

intermediul LTc. Antigenele ABO din sistemul grupelor sanguine umane acționează ca antigene de transplant puternice.

➤ **Antigenele MHC de clasă II** se găsesc mai ales pe suprafața macrofagelor, celulelor T umane activate, celule dendritice celulelor **endoteliale** și a limfocitelor B.

Distribuția diferită a celor două tipuri de molecule MHC este consecința funcțiilor efector diferite ale celulelor T care le recunosc.

6.3. Structura moleculelor MHC

Moleculele MHC de clasă I și II sunt glicoproteine de suprafață celulară, cu structură și funcție similară, conțin 10% carbohidrați și 90% proteine.

6.3.1. MHC I

Este constituit din două lanțuri polipeptidice: α (lanț greu), codificat în regiunea MHC și un lanț mai mic, asociat necovalent, β_2 -microglobulina. Lanțul α (44kDa) are două treimi, prezintă o regiune transmembranară și are domenii cu rol în recunoașterea și legarea peptidelor antigenice. β_2 -microglobulina (12 kDa), este o proteină care migrează la electroforeza serului împreună cu β globulinele, nu este codificată în regiunea MHC (gena se află pe cromozomul 15), nu este polimorfă și nu prezintă o regiune transmembranară.

Partea cea mai mare a lanțului greu (α) este organizată în 3 **domenii globulare** (α_1 , α_2 , α_3), care sunt expuse la suprafața celulei. Lanțul α are 340 de aminoacizi, 90 în fiecare domeniu și 60 în fiecare buclă închisă prin câte o punte disulfidică. Lanțul greu este ancorat în membrană printr-o porțiune hidrofobă transmembranară, formată din 40 de reziduuri de aminoacizi. În citoplasmă există o scurtă coadă hidrofila (din 30 de aminoacizi) la capătul carboxiterminal.

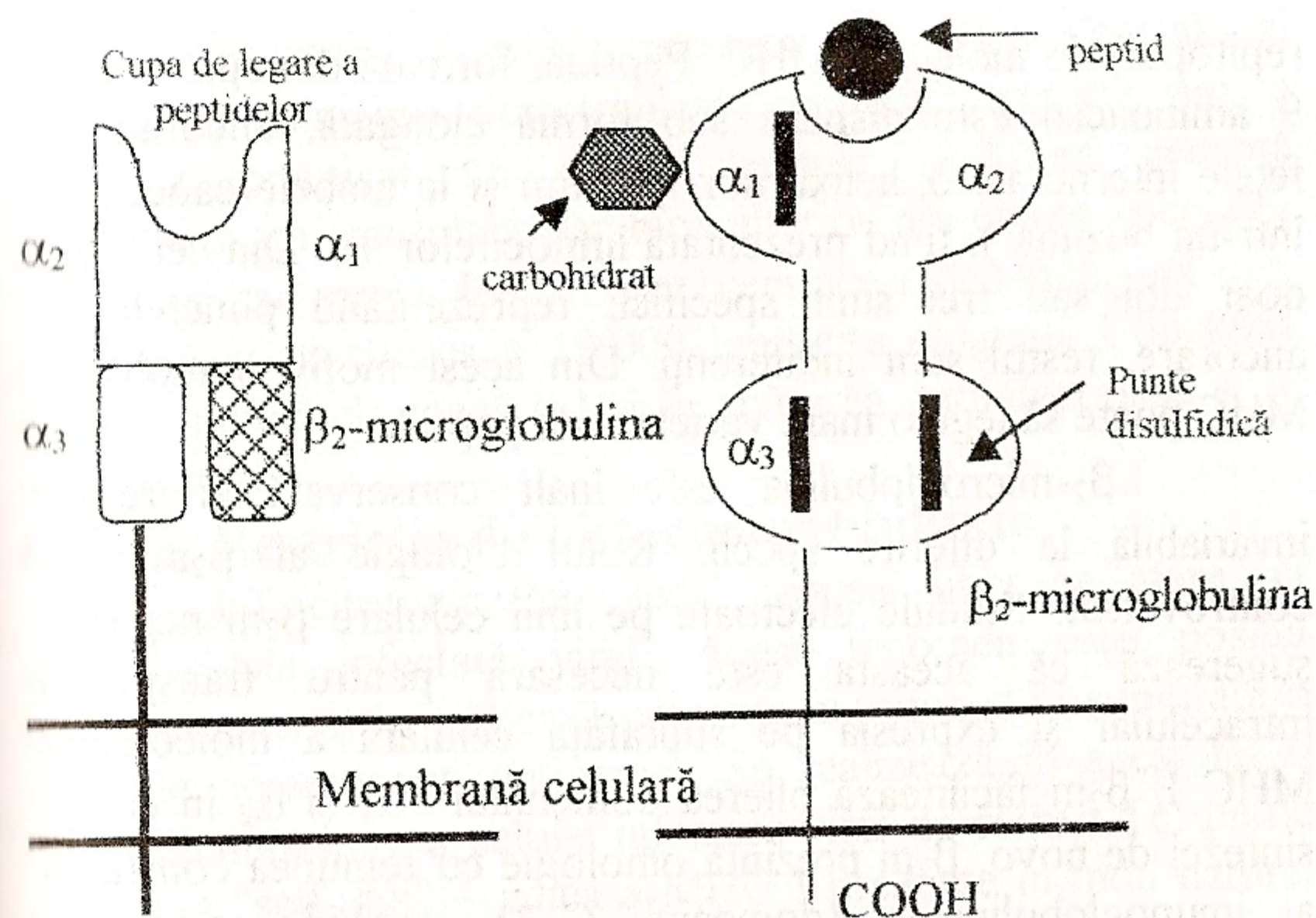


Fig. 6.III. Structura moleculelor MHC de clasă I.

Buclele, în structură tridimensională, formează o nișă (între α_1 și α_2) destinată legării epitopilor din antigenul care va fi prezentat de APC. Ancorarea celulară este realizată de o regiune transmembranară și una intracitoplasmică (C-terminală). β_2 -microglobulina, codificată pe alt cromozom, este formată dintr-un lanț de 99 aminoacizi cu structura globulară compactă, asemănătoare lanțurilor de superfamilie de Ig.

Aspectul tridimensional al moleculei a fost evidențiat prin cristalografie cu raze X. Domeniul α_1 și β_2 -microglobulina (β_2m) au secvența aminoacizilor și structura compactă, menținută de punți S-S, similară cu cea a domeniilor Ig. Domeniile α_1 și α_2 se încolăcesc împreună pentru a forma o structură unică, o cavitate realizată dintr-un planșeu rigid, cu structură de foite β plisate și 2 pereți laterali creați din două spirale ale lanțului polipeptidic, două α helixuri. Această nișă lungă reprezintă zona în care se leagă peptida antigenică

(epitopul) de molecula MHC. Peptida, formată din aproximativ 9 aminoacizi este dispusă sub formă elongată, ancorată de fețele interne ale α helixurilor, precum și la ambele capete (ca într-un buzunar), fiind prezentată limfocitelor Tc. Din cei 9AA, doar doi sau trei sunt specifici, reprezentând punctele de ancorare, restul sunt indiferenți. Din acest motiv o moleculă MHC poate să lege o mare varietate de peptide.

β_2 -microglobulina este înalt conservată și relativ invariabilă la diferite specii. Rolul biologic al β_2 m este controversat. Studiile efectuate pe linii celulare β_2 m negative sugerează că aceasta este necesară pentru transportul intracelular și expresia pe suprafața celulară a moleculelor MHC I. β_2 m facilitează plierea domeniilor α_1 și α_2 în cursul sintezei de novo. β_2 m prezintă omologie cu regiunea constantă a imunoglobulinelor (domeniul C_{H3}), făcând parte din superfamilia imunoglobulinelor.

6.3.1.1. Rol biologic

Rolul MHC de clasă I a fost elucidat de R. Zinkernagel și P. Doherty. Pornind de la constatarea că rezistența la o boală sau alta este competiția între capacitatea de multiplicare a agentului etiologic și capacitatea organismului de a o împiedica, iar cea mai eficientă apărare în cazul infecției virale sau cu alte microorganisme cu multiplicare intracelulară o realizează limfocitul T citotoxic (LTc).

Prin experiențe efectuate pe șoareci s-a evidențiat că titrul virusului ajunge la maxim, în organismul inoculat, după 2-3 zile. Prima armată instruită care apare și atacă celula infectată viral este cea a limfocitelor T citotoxice – după 4-6 zile. Apar apoi (între ziua 6-10) factorii hepersensibilității tardive, iar anticorpii ajung la un titru maxim de abia după 10-14 zile. Înseamnă că împotriva unor astfel de ținte (celule infectate viral) rolul esențial îl au această categorie de limfocite.

În același timp s-a constatat, de către Terasaki și Gorrer, că animalele timentomizate neonatal, iradiate sau la care s-a practicat un drenaj limfatic prelungit acceptă întotdeauna un transplant dar mor ulterior din cauza infecțiilor bacteriene sau virale. Pentru a preveni acest deznodământ este suficientă administrarea a 10.000 limfocite alogene. Concluzia este că limfocitele joacă rol și în apărarea antiinfecțioasă și în transplantare.

6.3.1.2. Restricția de histocompatibilitate

LT citotoxic “nu vede” virusul liber ca atare, ci numai celula infectată viral. Acest fenomen este posibil deoarece virusul își trădează prezența exprimând la suprafață o serie de determinanți antigenici. Se realizează în acest fel o dublă recunoaștere a celulei infectate viral de către LTc: pe de o parte a “self-ului” – adică a MHC I prezente în mod natural pe propriile celule – inclusiv pe cele infectate viral, iar pe de altă parte, prin receptorii specifici se cuplează cu determinantul antigenic al proteinei străine – virale. Această dublă recunoaștere are ca scop eliminarea celulelor proprii alterate prin infectarea virală sau cu un parazit intracelular, înainte ca acesta să se înmulțească prea mult și să atace alte celule. Ea are drept urmare imposibilitatea distrugerii unor celule străine chiar infectate cu același virus, deoarece la nivelul acestora nu există molecule MHC proprii. Această proprietate poartă numele de **restricția de histocompatibilitate**.

Toate celulele nucleate dintr-un organism animal, prezintă anumite molecule sau antigene specific determinate de structuri ereditare și care îl fac unic printre membrii aceleiași specii. Aceste antigene de histocompatibilitate constituie cartea de vizită care singularizează un individ la fel ca și amprente digitale. Datorită lor, sistemul imun are capacitatea de a recunoaște ceea ce îi aparține ca propriu (self) și ceea ce îi este străin (non-self).

6.3.1.3. Modul de apariție a complexului MHC de clasă I – peptidă antigenică

Moleculele MHC de clasă I prezintă peptide derivate din proteoliza unor proteine endogene sintetizate în celulă, constituenți naturali ai acestora sau ai unor virusuri ori bacterii care se replică în citoplasma celulei (citosol). Aceste proteine sunt degradate în citosol de către un complex de enzime proteolitice (proteazom), din care fac parte cele două structuri codificate de gene din MHC – LMP2 și LMP7. Peptidele rezultate din degradarea enzimatică, formate din aproximativ 9AA, sunt apoi transportate în lumenul reticulului endoplasmatic rugos de către un **sistem transportator de peptide** care cuprinde proteinele TAP-1 și TAP-2 codificate de genele MHC de clasă II.

În interiorul reticulului endoplasmatic peptidele astfel transportate se asociază moleculei MHC-I, la nivelul caviții dintre domeniile α_1 și α_2 ale lanțului greu. Întregul ansamblu este apoi stabilizat prin fixarea necovalentă a moleculei de β_2m , nepermițând fixarea altor peptide. Apoi, ansamblul este transportat în aparatul Golgi, unde se produce glicozilarea moleculei MHC (a lanțului α), apoi prin intermediul unei vezicule de secreție ajunge la nivelul membranei celulare. Aici se realizează recunoașterea peptidei antigenice de către LT CD8 pozitive. Receptorul acesteia este cel care poate face discriminarea dintre peptidele diferite prezentate în complexul peptidă: MHC, o moleculă HLA de un anumit tip se poate asocia cu mii de peptide (5×10^{11}) care au 8-10 AA, dintre care doar 2-3 se ancorează în cavitate. TCR recunoaște mai ales aminoacizii din partea centrală a peptidei pe când ancorarea sa de MHC se realizează în special la extremitățile acesteia, pentru formarea ansamblului trimolecular TCR – peptidă-MHC. Pentru ca LT să poată fi activat sunt necesare aproximativ 1.000 de molecule HLA asociate cu aceeași peptidă.

6.3.2. MHC II

Este format din asocierea necovalentă a două lanțuri polipeptidice α (34 kDa) și lanțul β (29kDa) prezintă fiecare două domenii extracelulare (α_1 , α_2 și respectiv β_1 și β_2), o regiune transmembranară și o coadă citoplasmatică. Ambele lanțuri sunt codificate în regiuni HLA-D strâns linkate. Majoritatea epitopilor HLA se găsesc la nivelul lanțului β .

Mai există un alt lanț (31 kDa), **lanț invariabil (Ii)** – nu prezintă polimorfism - , ale cărui gene sunt plasate pe cromozomul 18 la șoareci, deci sunt distincte de cele pentru MHC. Proteina Ii este unică față de majoritatea proteinelor prin faptul că are o orientare opusă în membrană și un subset de molecule Ii este asociat cu proteoglicanul condroitin sulfat. Aceste trăsături particulare ale Ii sunt prezente și în cazul receptorului pentru transferină. Se pare că lanțul Ii este important pentru prezentarea MHC restrictantă a antigenului.

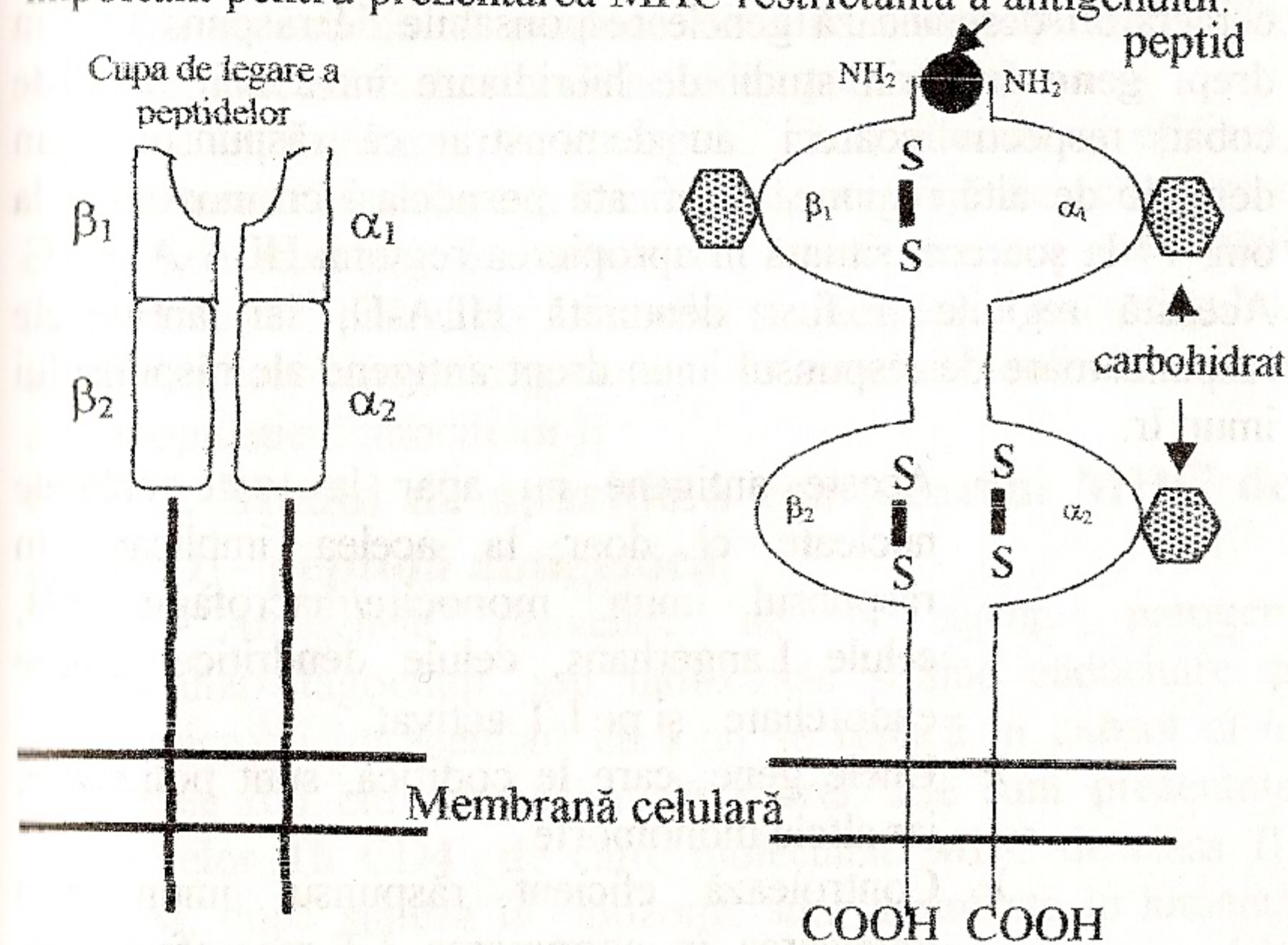


Fig. 6.IV. Structura moleculelor MHC de clasă II.

Antigenele MHC fac parte din superfamilia imunoglobulinelor. Examinarea structurii de bază a MHC I și II pentru a studia omologia dintre ele a demonstrat că ambele molecule pot fi considerate membri ai superfamiliei imunoglobulinelor: prezintă regiuni legate prin punți disulfidice, care au o structură terțiară similară domeniilor constante sau variabile ale imunoglobulinelor.

6.3.2.1. Rol biologic

B. Benacereff se ocupa de răspunsul imun la polipeptidele sintetice simple, între anii 1979-1980, și a observat că la unele linii de cobai răspunsul apare pe când la altele nu. Cercetătorul realizează hărți genetice în care urmărește modul de răspuns imun în funcție de linia pură de animale luate în discuție.

McDevit observă la șoareci aceeași dependență a răspunsului imun și sugerează că s-ar datora tot MHC. Cei doi cercetători desemnează genele responsabile de răspunsul imun drept **gene Ir**. Prin studii de hibridizare între linii pure de cobai, respectiv șoareci, au demonstrat că răspunsul imun depinde de altă regiune, codificată pe același cromozom 6 la om, 17 la șoarece, situată în apropierea regiunii HLA-A, B, C. Această regiune a fost denumită HLA-D, iar antigenele răspunzătoare de răspunsul imun drept antigene ale răspunsului imun Ir.

- Aceste antigene nu apar la toate celulele nucleate ci doar la acelea implicate în răspunsul imun: monocite/macrofage, LB, celule Langerhans, celule dendritice, celule endoteliate, și pe LT activat.
- Unele gene, care le codifică, sunt polimorfe, iar altele monomorfe.
- Controlează eficient răspunsul imun prin implicarea în cooperarea LT-macrofag, LT-

LB, între subseturi LT (Th-Ts), liza celulelor tumorale sau infectate viral prin cooperarea cu LTc și intervin în creșterea sau suprimarea răspunsului imun.

6.3.2.2. Restricția de histocompatibilitate

Rolul Ag Ir este de a prezenta antigenul limfocitului Th, acesta nefiind capabil să recunoască antigenele străine solubile decât dacă sunt prezentate în conjuncție cu antigenele MHC II. Pentru a putea fi văzute, intervine macrofagul care prelucrează antigenul, îl fragmentează, iar peptidele rezultate sunt prezentate la nivelul membranei celulare în contextul AgIr (MHC de clasa II). Și aici este valabil modelul dublei recunoașteri al moleculelor MHC I. Dacă un antigen este prezentat în conjuncție cu antigenele MHC II unui LTh atunci se instituie un răspuns imun. Dacă același antigen este prezentat în conjuncție cu un produs al genelor din regiunea Ir de la alt individ nu se produce stimularea subpopulației LTh, deci funcționează restricția de histocompatibilitate.

În realizarea unui răspuns imun adecvat și eficient, trebuie avută în vedere o cascadă de evenimente (cooperare celulară). Aceasta înseamnă o coordonare a activității limfocitului Th ținând cont de rolul și intervenția macrofagului, a LT supresor/citotoxic și/sau a altor subseturi limfocitare T și a subpopulației limfocitelor B.

6.3.2.3. Modul de apariție a complexului MHC de clasa II – peptidă antigenică.

Antigenele provenite de la agenții patogeni extracelulari fagocitați, sau moleculele străine endocitate și chiar microbii intracelulari care nu se replică în citosol ci în veziculele din citoplasmă au ală soartă. Ele sunt prezentate limfocitelor Th CD4⁺ de către moleculele MHC de clasa II. Acestea, după sinteza în ribozomi, sunt asamblate în lumenul reticulului endoplasmatic sub formă asociată cu un lanț

invariabil Ii, care împiedică fixarea unei peptide în cavitatea formată de domeniile α_1 și β_1 ale moleculei MHC. Complexul astfel format este glicozilat în aparatul Golgi și transportat apoi în endozomi sau lizozomi. Aici, în mediu acid are loc proteoliza parțială a lanțului Ii, cu menținerea legată de MHC a unei porțiuni trunchiate a acestuia, denumită CLIP (class II associated invariant chain peptide). Peptida respectivă evită legarea unei peptide antigenice de MHC II. O moleculă similară MHC II, numită HLA-DM, catalizează eliberarea lui CLIP și legarea unei peptide antigenice.

Prin clivajul ulterior, sau prin disociere, CLIP este eliminat lăsând locul unei peptide rezultate din prelucrarea antigenului în endozomi. Cavitatea moleculei HLA de clasa II poate lega peptide mai mari, de 13-34 AA, derivate din proteazele acide din interiorul endozomilor și lizozomilor. Aceste peptide se leagă, într-o conformație extinsă, de-a lungul șanțului având extremitățile libere (nelegate). Scheletul lor aminoacidic este menținut în poziție culcată de interacțiunile bilaterale șanțului. Deosebiriile dintre secvențele AA dintre acestea sunt date de diferențele alelice ale moleculelor MHC și influențează capacitatea de legare specifică a diverselor peptide. Spre deosebire de alte molecule care leagă peptide MHC nu-și poate realiza structura spațială compactă și stabilitatea dacă nu are legată peptida specifică. În cazul în care nu este stabilă, molecula este rapid disociată în lanțurile consecutive.

Complexul peptid: MHC II este transportat pe membrana celulei printr-o veziculă, ca și în cazul MHC I. Recunoașterea lui se face de LTh CD^+ al cărui receptor recunoaște specific secvențele de AA dispuse în interiorul șanțului, uneori chiar pe cele terminale care atârnă în afara șanțului, care duce la realizarea ansamblului tridimensional TCR – peptidă-MHC de clasa II.

6.4. Funcțiile MHC

Moleculele MHC de clasă I și II sunt importante în controlul răspunsului imun, într-un proces numit **restrictia MHC**.

Moleculele MHC sunt implicate în:

- Prezentarea antigenului
- Moleculele MHC I și II pot servi drept ținte pentru răspunsul imun în rejețul grefelor
- Semnalizarea prin intermediul moleculelor co-receptor (MHC I – CD8, MHC II – CD4) pentru celulele T citotoxice și respectiv, T helper
- Producerea de anticorpi anti-MHC la recipientul incompatibil (anticorpi tip IgM și IgG) în cazul transplantelor
- Reacția limfocitară mixtă (MLR): răspunsul limfocitelor T la antigene MHC, cu transformarea blastică a limfocitelor stimulate
- Reacția grefă contra gazdă (GVH): apare la introducerea celulei imunocompetente într-un animal histocompatibil incapabil să le rejeteze; aceste celule pot să răspundă împotriva gazdei și să producă reacție grefă contra gazdă; reacția GVH reprezintă echivalentul in vivo al MRL
- Reacția de limfolică alogeneică mediată celular (CML): după efectuarea unei MLR, celulele T citotoxice sensibilizate lizează limfocitele stimulatorie; CML reprezintă echivalentul in vivo al reacției de rejeț al grefei.

Transplantele efectuate între indivizi identici HLA pot fi respinse deși într-un interval de timp mai lung, cu excepția gemenilor monoziagoți. Acest rejeț reprezintă consecința existenței antigenelor minore de histocompatibilitate.

Astfel, când donatorul și recipientul sunt identici MHC, dar diferă genetic la nivelul altor loci, rejețul grefei apare după

un interval de timp mai mare. De aceea, polimorfismul genetic responsabil de respingerea transplantelor identice MHC este denumit antigene minore de histocompatibilitate sau antigene H minore. Răspunsul față de antigenele minore de histocompatibilitate este mai puțin intens decât față de diferențele la nivelul MHC deoarece frecvența limfocitelor T specifice este mai redusă. Celulele care răspund la antigenele H minore sunt frecvent limfocite T CD8⁺, ceea ce înseamnă că majoritatea antigenelor H minore este formată din peptide legate în cupa moleculelor MHC I self. Totuși peptidele prezentate de moleculele MHC II self pot să participe la răspunsul față de grefele identice MHC.

Se știe că antigenele minore de histocompatibilitate sunt peptide provenite din proteine polimorfe, care sunt prezentate de către moleculele MHC ale grefei. Teoretic orice proteină produsă de o celulă poate furniza peptide care să fie recunoscute ca antigene H minore. Cum celulele grefei exprimă antigenul minor de histocompatibilitate, răspunsul față de aceste antigene va distruge întreaga greafă. Pentru aceasta, succesul transplantării țesuturilor depinde de utilizarea drogurilor imunosupresoare puternice.

6.1. GENERAREA LIGANZILOR CELULELOR T

Acțiunea celulelor T depinde de capacitatea lor de a recunoaște celule care găzduiesc sau care au internalizat patogeni. Limfocitele T își exercită acest rol prin recunoașterea fragmentelor peptidice derivate din patogen, aceste peptide fiind legate în cupa moleculelor MHC de pe suprafața celulelor infectate. Peptidele provenite din patogeni care se dezvoltă în compartimente diferite ale celulei sunt recunoscute specific de limfocitele T cu funcții distincte.

În interiorul celulelor există două compartimente majore separate de membrane:

❖ **Citoplasma**, care comunică cu nucleul prin intermediul porilor din membrana nucleară;

❖ **Sistemul vezicular**, care include **reticulul endoplasmatic, aparatul Golgi, endozomii, lizozomii**, și alte vezicule intracelulare. Sistemul vezicular este practic în contact cu fluidul extracelular dacă se ia în considerare faptul că veziculele secretorii înmuguresc de pe reticulului endoplasmatic, sunt transportate prin membranele aparatului Golgi, pentru a-și elimina conținutul în exteriorul celulei; invers, endozomii preiau materialul extracelular și îl introduc în sistemul vezicular.

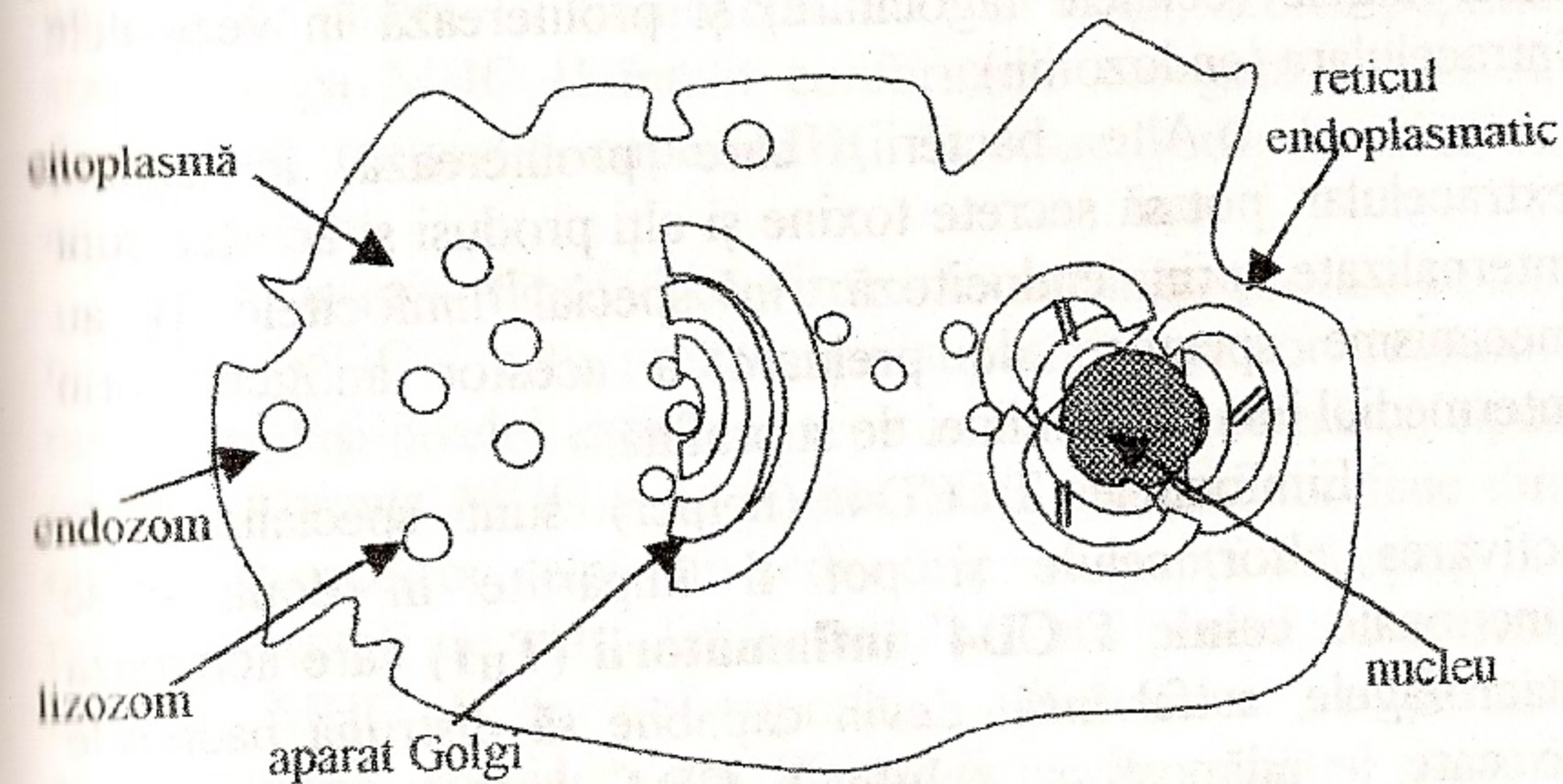


Fig. 6.V. Compartimentele celulare majore

Agentii infecțioși se pot replica într-unul din cele două compartimente intracelulare: virusurile și unele bacterii se replică în citoplasmă, în timp ce cea mai mare parte a bacteriilor patogene și unii paraziți eucarioti se replică în sistemul vezicular (include endozomii și lizozomii).

Sistemul imun dispune de strategii diferite pentru a elimina agenții infecțioși din cele două compartimente celulare.

Celulele infectate cu virusuri sau bacterii care se replică în **citotosol** sunt eliminate de către limfocitele T citotoxice, caracterizate prin prezența moleculei de suprafață CD8. Uciderea celulelor infectate de către limfocitele T reprezintă un mijloc important de a elimina sursele unor noi particule virale sau bacterii citoplasmatică și poate duce la eliminarea infecției.

Agenții patogeni sau produșii lor din compartimentul vezicular al celulei sunt detectați de către o clasă diferită de celule T helper, desemnate prin expresia pe suprafață a moleculei CD4. Antigenele microbiene pot pătrunde în compartimentul celular vezicular prin două moduri:

- Unele bacterii și unii paraziți invadează macrofagele (celulele fagocitare) și proliferază în veziculele intracelulare (endozomii);

- Alte bacterii, care proliferază în spațiul extracelular, pot să secrete toxine și alți produși și acestea sunt internalizate prin endocitoză; în special limfocitele B au mecanisme specifice de preluare a acestor antigene prin intermediul imunoglobulinei de suprafață.

Limfocitele T CD4 (helper) sunt specializate în activarea altor celule și pot fi împărțite în două clase funcționale: **celule T CD4⁺ inflamatorii (T_{H1})** care activează macrofagele, astfel încât devin capabile să distrugă bacteriile pe care le adăpostesc; **celule T CD4⁺ helper propriu-zise (T_{H2})**, care activează limfocitele B să producă anticorpi.

Pentru producerea unui răspuns adecvat față de microorganismele infecțioase este necesar atât ca celulele T să detecteze prezența materialului străin în ambele compartimente celulare, dar și ca limfocitele T să poată discrimina în cele două compartimente. Această discriminare se realizează prin transportul la suprafața celulelor a peptidelor provenite din patogeni care se dezvoltă în compartimente celulare diferite de către două clase distincte de molecule MHC:

- **Moleculele MHC I** transportă pe suprafața celulelor peptide provenite din patogeni prezenți în citosol; complexul peptidic – MHC I exprimat pe suprafața celulară va fi recunoscut de către limfocitele T CD8⁺;

- **Moleculele MHC II** transportă peptide derivate din patogeni prezenți în sistemul vezicular la suprafața celulei; complexul peptid-MHC II va fi recunoscut de celulele T CD4⁺.

Generarea peptidelor presupune modificarea proteinei native, proces denumit **procesarea antigenului**, iar expunerea peptidelor de către moleculele MHC pe suprafața celulară este numită **prezentarea antigenului**.

Moleculele MHC de clasă I leagă peptide care au în general 8-10 aminoacizi. MHC de clasă II prezintă în cupă peptide de minim 13 aminoacizi sau mai lungi; aceste peptide stau în cupa MHC II într-o conformație elongată și pot să depășească marginile cupei MHC II, care sunt deschise la ambele capete.

Datorită faptului că virusurile pot infecta orice celulă nucleată, MHC I este prezent pe suprafața tuturor celulelor nucleate, deși nivelul expresiei acestor molecule diferă cu tipul celular. Absența MHC I de pe suprafața eritrocitelor face din citoplasma acestor celule un sediu în care agenții infecțioși nu pot fi detectați de către limfocitele T. Este posibil ca tocmai absența MHC I de pe suprafața eritrocitelor să permită supraviețuirea speciilor de Plasmodium în aceste situsuri privilegiate.

Principala funcție a limfocitelor T CD4⁺ este să activeze alte celule ale sistemului imun. În mod normal, doar celulele care participă în răspunsul imun exprimă pe suprafața moleculele MHC de clasă II. Astfel moleculele MHC II sunt prezente pe suprafața limfocitelor B, a macrofagelor și a altor celule prezentatoare de antigen, dar lipsesc de pe suprafața majorității celulelor tisulare. Celulele T CD4⁺ helper care recunosc peptide legate de moleculele de MHC II de pe

suprafața limfocitelor B, activează celulele B să producă anticorpi. Celulele T CD4⁺ inflamatorii care recunosc peptide legate de MHC II de pe macrofage, activează macrofagele să distrugă patogenii conținuți în vezicule. Moleculele MHC II sunt exprimate și pe celule prezentatoare de antigen specializate din țesuturile limfatice, unde are loc activarea celulelor T CD4⁺ naive și diferențierea lor în limfocite T helper sau inflamatorii. Multe alte tipuri de celule pot fi induse să exprime MHC II sub acțiunea unor molecule biologice active numite **citokine**, care sunt eliberate în cursul răspunsului imun. Acest fapt poate avea implicații atât în răspunsul imun. Acest fapt poate avea implicații atât în răspunsul imun normal cât și în autoimunitate.

6.1.1. Generarea liganzilor pentru MHC de clasă I

Peptidele care sunt legate de către moleculele MHC de clasă I sunt transportate activ din citosol în lumenul reticulului endoplasmatic. Tipic, fragmentele antigenice care se leagă de moleculele de MHC I pentru a fi prezentate celulelor T CD8⁺ sunt derivate din virusuri. Virusurile preiau "mașinăria" de biosinteză a celulei infectate pentru a-și fabrica propriile proteine în citosol. Moleculele de suprafață ale celulei sunt sintetizate pe fața citosolică a reticulului endoplasmatic (RE) și apoi sunt translocate în lumenul RE, unde trebuie să se plieze corespunzător înainte de a fi transportate la suprafața celulei. De aceea peptidele derivate din proteinele virale din citosol trebuie să pătrundă în lumenul RE și să se lege de moleculele MHC I pentru a fi transportate pe suprafața celulei.

Peptidele sunt transportate din citosol în lumenul RE, unde se găsesc moleculele MHC I, de către **proteine transportoare** (TAP-1, TAP-2). Cele două proteine TAP formează un heterodimer plasat pe membrana RE.

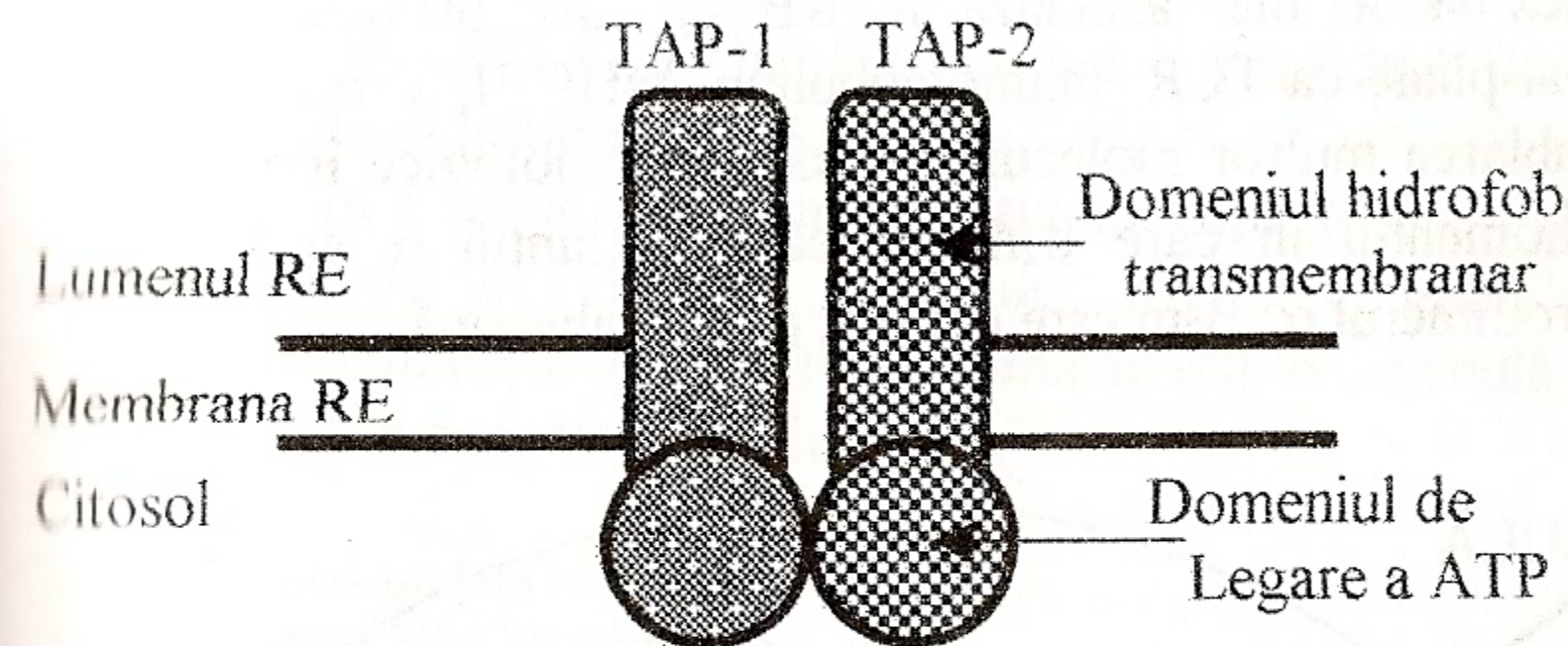


Fig.6.VI. Structura complexului transportor din membrana reticulului endoplasmatic (E. Carasevici)

Atât ATP-1 cât și ATP-2 prezintă un domeniu hidrofob și un domeniu care leagă ATP-ul, care prin asamblare formează un transportor cu 4 domenii. Domeniul care leagă ATP-ul este plasat în citoplasma celulei, în timp ce domeniul hidrofob traversează membrana RE și poartă în lumen.

Cele două gene pentru TAP se găsesc în regiunea genelor pentru clasa a II-a a complexului MHC (între genele DP și DQ), fiind strâns asociate cu două gene numite LMP (low molecular weight polypeptides), care codifică proteine cu greutate moleculară joasă, componente ale proteazomului. Mutațiile genelor TAP împiedică prezentarea antigenului de către moleculele MHC de clasă I.

Moleculele MHC de clasa I nou sintetizate sunt reținute în interiorul RE într-o formă parțial pliată până în momentul legării peptidului; în absența peptidului moleculele MHC I sunt instabile, fiind susceptibile la degradare în RE. Aceasta este explicația faptului că celulele cu mutații ale genelor TAP-1 sau TAP-2 nu reușesc să exprime moleculele MHC I pe suprafața celulară.

Lanțurile α nou sintetizate ale MHC I se leagă rapid de o moleculă de 88 kDa exprimată pe membrana RE, numită **calnexină** (reține moleculele de MHC I parțial pliate în RE).

Calnexina se mai asociază în RE cu alte proteine imature parțial pliate ca TCR, imunoglobuline, MHC II, având un rol în asamblarea multor molecule cu roluri imunologice importante. În momentul în care β_2m se leagă la lanțul α al MHC I, heterodimerul $\alpha: \beta_2m$ este eliberat de pe calnexină.

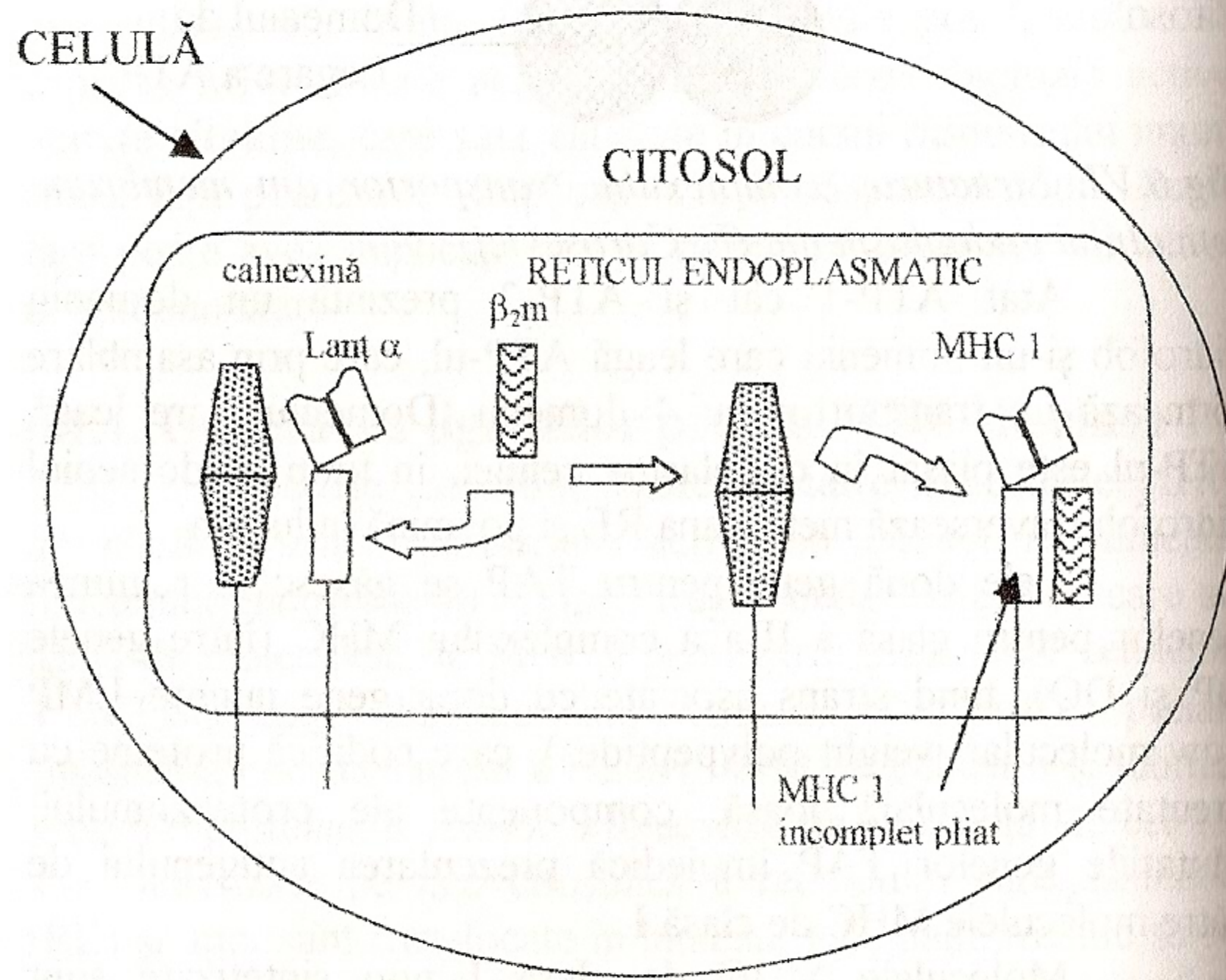


Fig. 6.VII. Asamblarea MHC I în reticulul endoplasmatic (E. Carasevici)

Urmează legarea MHC I la un complex format din două proteine: **calreticulina** și **tapasina** (proteină asociată TAP-1). În acest fel heterodimerul $\alpha: \beta_2m$ este legat la subunitatea TAP-1 a complexului transportor și poate aștepta transportul în lumenul RE a unui peptid corespunzător. Nu se știe dacă asocierea la subunitatea TAP-1 a transportorului are

un rol direct în încărcarea peptidelor în cupa MHC, sau doar permite moleculelor MHC I să scaneze peptidele care sunt transportate în lumenul RE.

În final legarea unui peptid în cupa MHC I duce la eliberarea de pe Tap a moleculei MHC I complet pliate, complexul MHC I: peptid fiind eliminat într-o veziculă RE și transportat la suprafața celulei.

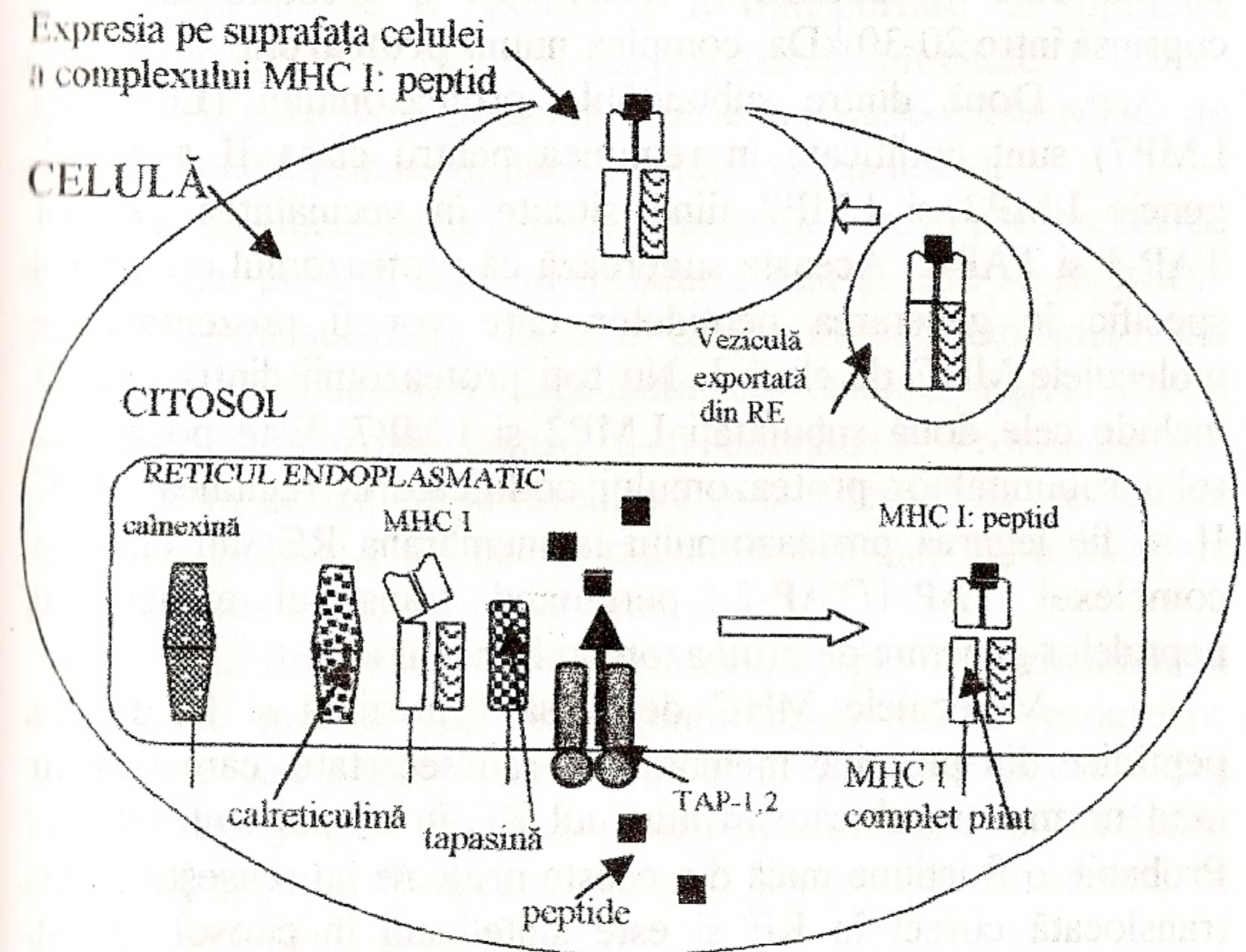


Fig. 6.VIII. Expresia pe suprafața celulei a moleculelor MHC I care au legat peptide în RE.

În celulele normale (neinfectate), moleculele mature de MHC I de pe suprafața celulară prezintă în cupă derivate din proteine self. Când o celulă este infectată viral, prezența în exces a moleculelor MHC I, permite prezentarea rapidă a peptidelor derivate din patogen la suprafața celulei infectate.

Peptidele derivate din patogeni care se dezvoltă în citoplasmă sunt generate în citosol înainte de a fi transportate în RE. Proteinele sunt continuu degradate în interiorul celulelor și apoi înlocuite cu proteine nou sintetizate. Un rol important în degradarea proteinelor citosolice este jucat de un complex proteazic multicatalitic, format din 28 de subunități (care formează o structură cilindrică, compusă din 4 inele, fiecare din ele cu câte 7 subunități), fiecare cu o greutate moleculară cuprinsă între 20-30 kDa, complex numit **proteazom**.

Două dintre subunitățile proteazomului (LMP2 și LMP7) sunt codificate în regiunea pentru clasa II a MHC, genele LMP2 și LMP7 fiind situate în vecinătatea genelor TAP-1 și TAP-2. Aceasta sugerează că proteazomul are un rol specific în generarea peptidelor care vor fi prezentate de moleculele MHC de clasă I. Nu toți proteazomii dintr-o celulă include cele două subunități LMP2 și LMP7. Este posibil ca rolul subunităților proteazomului codificate în regiunea MHC II să fie legarea proteazomului la membrana RE sau chiar la complexul TAP-1/TAP-2, permițând transferul eficient al peptidelor generate de proteazom în lumenul RE.

Moleculele MHC de clasă I prezintă și fragmente peptidice din proteine membranare sau secretate, care sunt în mod normal translocate în lumenul RE în timpul sintezei lor. Probabil, o fracțiune mică din aceste proteine nu reușește să fie translocată corect în RE și este sintetizată în citosol. Acest mecanism poate explica faptul că glicoproteinele de pe suprafața virusurilor pot genera peptide care sunt prezentate de moleculele de MHC de clasă I.

6.1.2. Generarea liganzilor pentru MHC de clasă II.

Peptidele prezentate de moleculele MHC II sunt generate în vezicule intracelulare acidifiata. În timp ce

virusurile și unele bacterii se replică în citosol, alte clase de patogeni (inclusiv micobacteriile) se replică în vezicule intracelulare ale macrofagelor. Proteinele derivate din acești patogeni nu sunt accesibile proteazomilor datorită faptului că sunt situate în vezicule închise prin membrane. Proteinele din acest compartiment celular sunt degradate de **proteaze veziculare**, rezultând peptide care sunt legate în cupa moleculelor MHC II, pentru a fi transportate la suprafața celulei, unde pot fi recunoscute de către limfocitele T CD4⁺. Antigenele care sunt prezentate de către moleculele MHC de clasă II, rezultă prin degradare în endozomii acidificați.

În unele cazuri sursa peptidelor este reprezentată de bacterii sau paraziți care au invadat celula și care se replică în veziculele intracelulare. În alte cazuri microorganismele sau proteinele străine sunt fagocitate de celulele fagocitare și preluate în lizozomi pentru a fi degradate. Proteinele pot pătrunde în veziculele intracelulare și prin legare la moleculele de imunoglobulină de pe suprafața limfocitelor B, urmată de internalizarea complexului Ig: antigen.

În drumul spre interiorul celulei, pH-ul veziculelor în care sunt incluși patogenii (endozomii) scade progresiv. Veziculele căii endozomale conțin **proteaze** care devin active la pH acid și pot degrada proteinele conținute în vezicule, rezultând peptide. Printre proteazele prezente în endozomi se găsesc catepsinele B, D și L.

Moleculele MHC de clasă II nou sintetizate se deplasează spre suprafața celulei în interiorul unor vezicule, care la un moment dat întâlnesc și fuzionează cu endozomii acidificați, care se deplasează în sens contrar. Fragmentele peptidice provenite din degradarea patogenilor din vezicule sunt legate în cupa MHC II și transportate la suprafața celulei, unde pot fi recunoscute de către limfocitele T CD4⁺.

Similar moleculelor MHC de clasă I, moleculele MHC II sunt sintetizate pe fața citosolică a reticulului

endoplasmatic și apoi sunt translocate în lumenul RE. Funcția moleculelor MHC de clasă II este de a prezenta limfocitelor T CD4⁺ peptide generate în veziculele intracelulare ale limfocitelor B și macrofagelor. Apoi celulele T CD4⁺ activează macrofagele și limfocitele B să distrugă patogenii e care îi conțin, să producă anticorpi.

Datorită faptului că moleculele MHC II sunt specializate în prezentarea antigenelor derivate din patogeni intraveziculari, este esențial ca moleculele MHC II nou sintetizate din lumenul RE să fie împiedicate să lege peptidele transportate în RE de către transportorul TAP-1/TAP-2. Acest lucru este realizat prin asamblarea moleculelor MHC II nou sintetizate cu o proteină specializată, numită **lanțul invariabil**. Lanțul invariabil formează trimeri, fiecare subunitate a lui legându-se necovalent la un heterodimer MHC II $\alpha\beta$. Atât timp cât are loc asamblarea acestui complex în RE, părțile componente ale complexului sunt asociate cu **calnexina**.

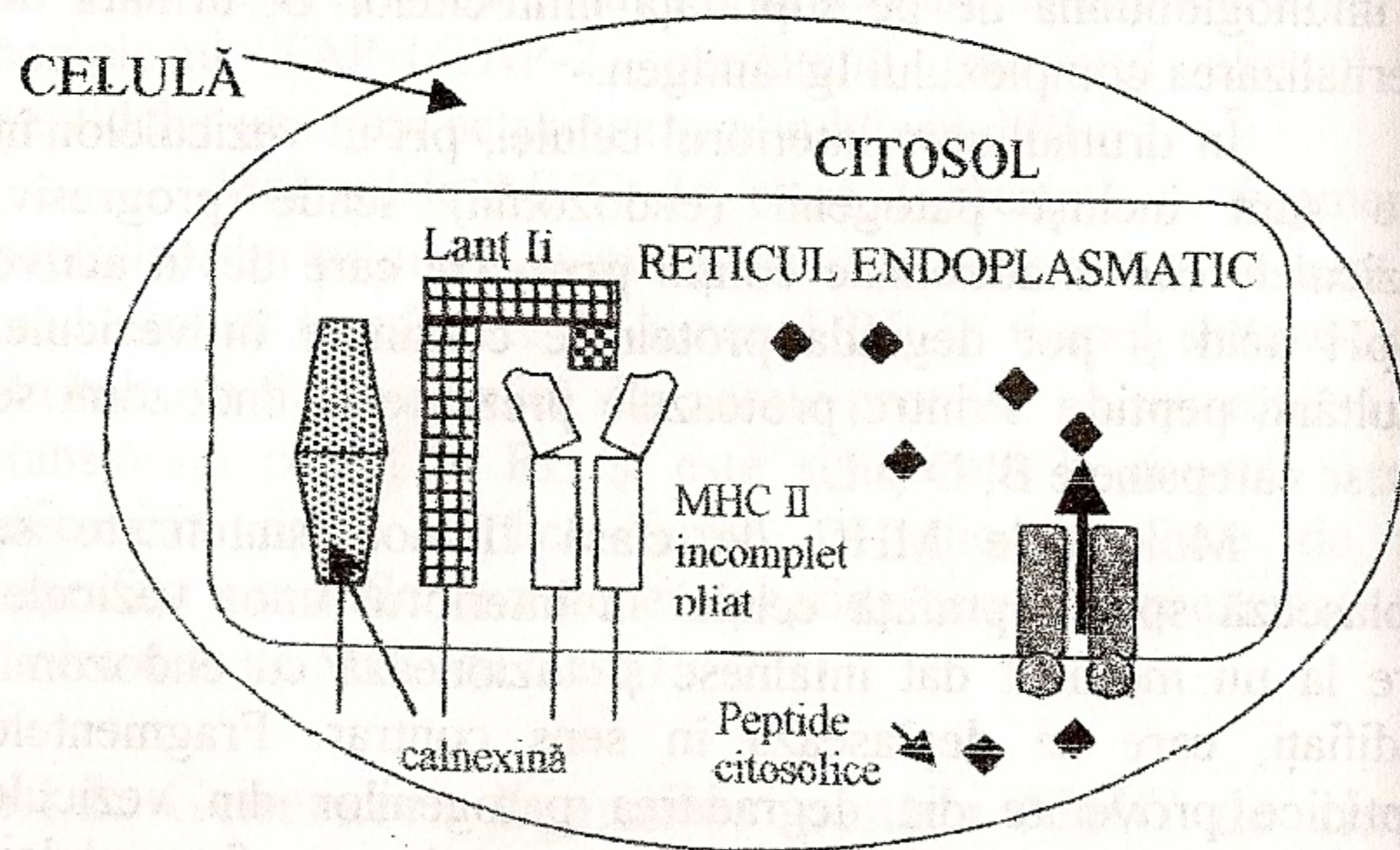


Fig. 6. IX. Asocierea MHC II cu lanțul invariabil în RE (E. Carasevici).

Doar în momentul în care asamblarea este finalizată și rezultă un complex format din 9 lanțuri, acesta este eliberat

de pe calnexină pentru a fi expulzat din RE. În cadrul complexului nonameric, moleculele MHC II nu pot să lege peptide, astfel încât peptidele aduse în lumenul RE nu sunt prezentate, de obicei de către MHC II. Lanțul invariabil are și o a doua funcție – de a dirija transportul moleculelor MHC II într-un compartiment endozonal cu pH scăzut.

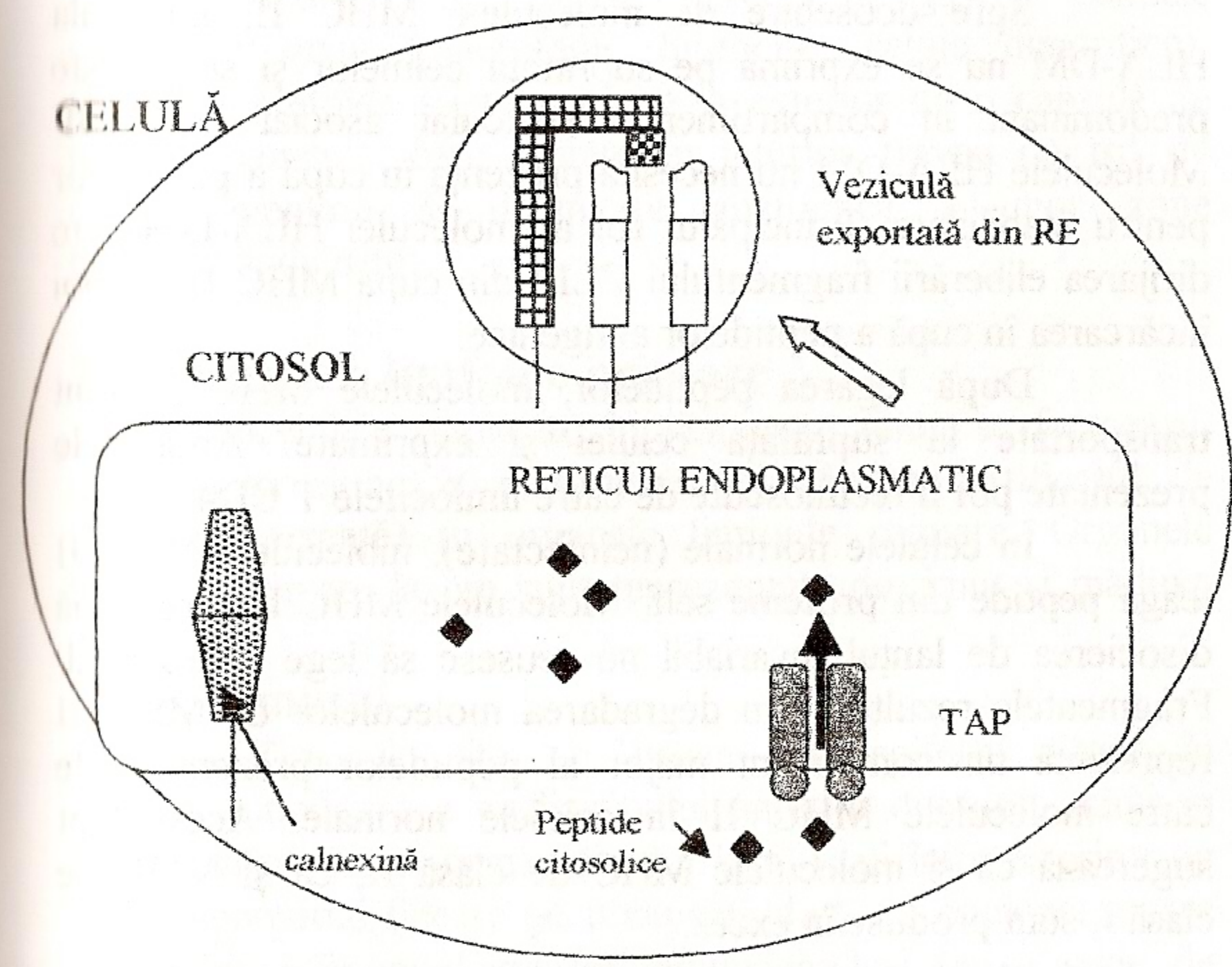


Fig. 6. X. Eliberarea MHC de pe calnexină și exportarea sa din RE.

Complexul MHC: lanțul invariabil este reținut în compartimentul endozomal cu pH scăzut aproximativ 5 ore. În acest interval de timp, lanțul invariabil este clivat la nivelul mai multor situsuri. Clivarea este ordonată, inițial este generată o formă truncată din lanțul Ii, care rămâne legată la molecula MHC II și o reține în interiorul compartimentului proteolitic și

un fragment numit CLIP (situat în cupa MHC II, fiind necesară îndepărtarea lui pentru a permite legarea peptidelor derivate din patogeni). Prin acțiunea moleculei HLA-DM, care este codificată în regiunea MHC II și are o structură asemănătoare MHC II, se facilitează îndepărtarea CLIP din cupa MHC II și legarea peptidelor generate prin clivajul proteolitic al patogenilor din compartimentul vezicular.

Spre deosebire de moleculele MHC II, molecula HLA-DM nu se exprimă pe suprafața celulelor și se găsește predominant în compartimentul vezicular asociat MHC II. Moleculele HLA-DM nu necesită prezența în cupă a peptidelor pentru stabilizare. Principalul rol al moleculei HLA-DM este dirijarea eliberării fragmentului CLIP din cupa MHC II și apoi încărcarea în cupă a peptidelor antigenice.

După legarea peptidelor, moleculele MHC II sunt transportate la suprafața celulei și exprimate. Antigenele prezentate pot fi recunoscute de către limfocitele T CD4⁺.

În celulele normale (neinfectate), moleculele MHC II leagă peptide din proteine self. Moleculele MHC II care după disocierea de lanțul invariabil nu reușesc să lege endozomal. Fragmentele rezultate din degradarea moleculelor de MHC II reprezintă un component major al peptidelor prezentate de către moleculele MHC II în celulele normale. Acest fapt sugerează că și moleculele MHC de clasă II, ca și MHC de clasă I, sunt produse în exces.

CAPITOLUL 7

ORGANELE LIMFOIDE

Organele limfoide au o rețea de bază alcătuită din celule reticulare, în spațiile căreia se găsesc celulele sistemului imun (macrofage, limfocite, celule dendritice). Organele limfoide sunt protejate la exterior de o capsulă de țesut conjunctiv, care trimite în interior travee cu rol de compartimentare și delimitare anatomică a unor zone funcționale diferite.

7.1. Organele limfoide primare

Celulele implicate în răspunsul imun se formează, dezvoltă și ajung la maturitate (își câștigă certificatul de imunocompetență) în organele limfoide primare. Organele limfoide primare la om sunt reprezentate de timus și măduva osoasă.

7.1.1. Timusul

Timusul este un organ limfoepitelial situat în treimea superioară a mediastinului anterior deasupra inimii și vaselor mari. Este format din doi lobi, uniți între ei printr-un istm, înconjurați fiecare de o capsulă de țesut conjunctiv care pătrunde și în interiorul lor subdivizându-i într-o serie de lobuli. În interior timusul este populat cu **promocite**, celule precursorale ale limfocitelor T, derivate din celule "stem" limfoide medulare (celule matcă sau celule sușă), care suferă un proces de maturare transformându-se în limfocite mature cu competență funcțională și migrează apoi în organele limfoide secundare. Ele vor purta numele de **limfocite T (LT)**, dezvoltarea lor făcându-se sub influența unor hormoni timici (**timozine** sau **timopoietine**). În timus producția de

limfocite este continuă și se realizează în absența oricărui stimul antigenic.

Din punct de vedere histologic se pot deosebi în fiecare lobul două zone distincte:

- ◆ Una periferică, închisă la culoare, cu densitate celulară mare: zona corticală sau cortexul timic
- ◆ Una centrală, cu densitate celulară mai redusă: zona medulară.

7.1.1.1. Zona corticală

Zona corticală este formată dintr-o plasă de celule epiteliale, cu prelungiri citoplasmice lungi, reticulare, care compartimentează lobulii. Ochiurile acestei plase sunt ocupate de celule (limfocite T imature) provenite din măduva hematogenă, macrofage, celule dendritice interdigitate.

Cortexul poate fi împărțit în două regiuni distincte:

- ◆ Una periferică subcorticală, mai îngustă, ce conține limfocite proaspăt intrate în timus;
- ◆ A doua, mai groasă, corticala profundă sau cortexul propriu-zis.

În subcorticală se găsesc mai ales timocite mari, celule blastice care proliferază abundant prin diviziuni repetate. Aici se produc primele interacțiuni între timocite și diverse tipuri de celule epiteliale stromale ce formează microambianța timică necesară pentru proliferarea și diferențierea precursorilor limfocitari în limfocite T mature, imunocompetente. Au fost descrise 6 tipuri fenotipic diferite de celule epiteliale în cortex, în medulară și perivascular, care au în comun prezența pe suprafața membranei a moleculelor complexului major de histocompatibilitate (MHC II), a receptorilor pentru interleukina-4 (IL-4) și capacitatea de a produce peptidele necesare diferențierii celulelor T (hormoni timici).

Caracteristice pentru regiunea subcorticală sunt celulele "doică", celule epiteliale specializate, voluminoase, asociate cu un număr mare de timocite (10-200) situate în interiorul citoplasmei sau de jur împrejurul celulei sub formă de coroană, dând aspectul de rozetă.

Din subcorticală timocitele migrează în corticala profundă, dispunându-se în pachete dense ce ocupă ochiurile rețelei formate din prelungirile citoplasmice lungi, reticulare și ramificate ale celulelor epiteliale. Aspectul histologic al timocitelor este heterogen. Unele sunt mari (blaști), altele mici, mai abundente; dintre acestea multe sunt în agonie fapt evidențiat prin aspectul nucleilor care sunt mici, picnotici (apoptoză).

Selecția pozitivă înseamnă alegerea limfocitelor care posedă receptori de membrană capabili să interacționeze cu moleculele proprii MHC (self). Această selecție se produce în zona corticală și este realizată de celulele epiteliale bogate în MHC. Timocitele care au astfel de receptori rămân în viață, celelate vor muri.

În zonele corticală și medulară există o regiune mai îngustă de **jonțiune cortico-medulară** pe care o parcurg timocitele în drumul lor spre medulară, trecând printr-un cordon de macrofage cu rol de "santină". În această zonă se produce degenerarea și moartea limfocitelor ce nu au "absolvit" procesul educațional de diferențiere (cele care nu ar putea să-și îndeplinească funcțiile imunologice). Macrofagele din această zonă au rolul de a ingera timocitele moarte și distruse.

7.1.1.2. Zona medulară

Zona medulară are o celularitate redusă în comparație cu cea corticală. Timocitele sunt în număr redus (3-5% din totalul limfocitelor din timus) și au aspectul celulelor T mature circulante. Celulele epiteliale sunt heterogene, prelungirile lor citoplasmice sunt mai scurte,

exprimă antigene MHC de clasă I și II. Caracteristic acestei zone este prezența **corpusculilor Hassall** mari, formați din celule epiteliale agregate, dispuse concentric. Zona medulară mai conține și alte tipuri de celule de origine medulară: celule dendritice interdigitale, rare macrofage, granulocite extrem de rar.

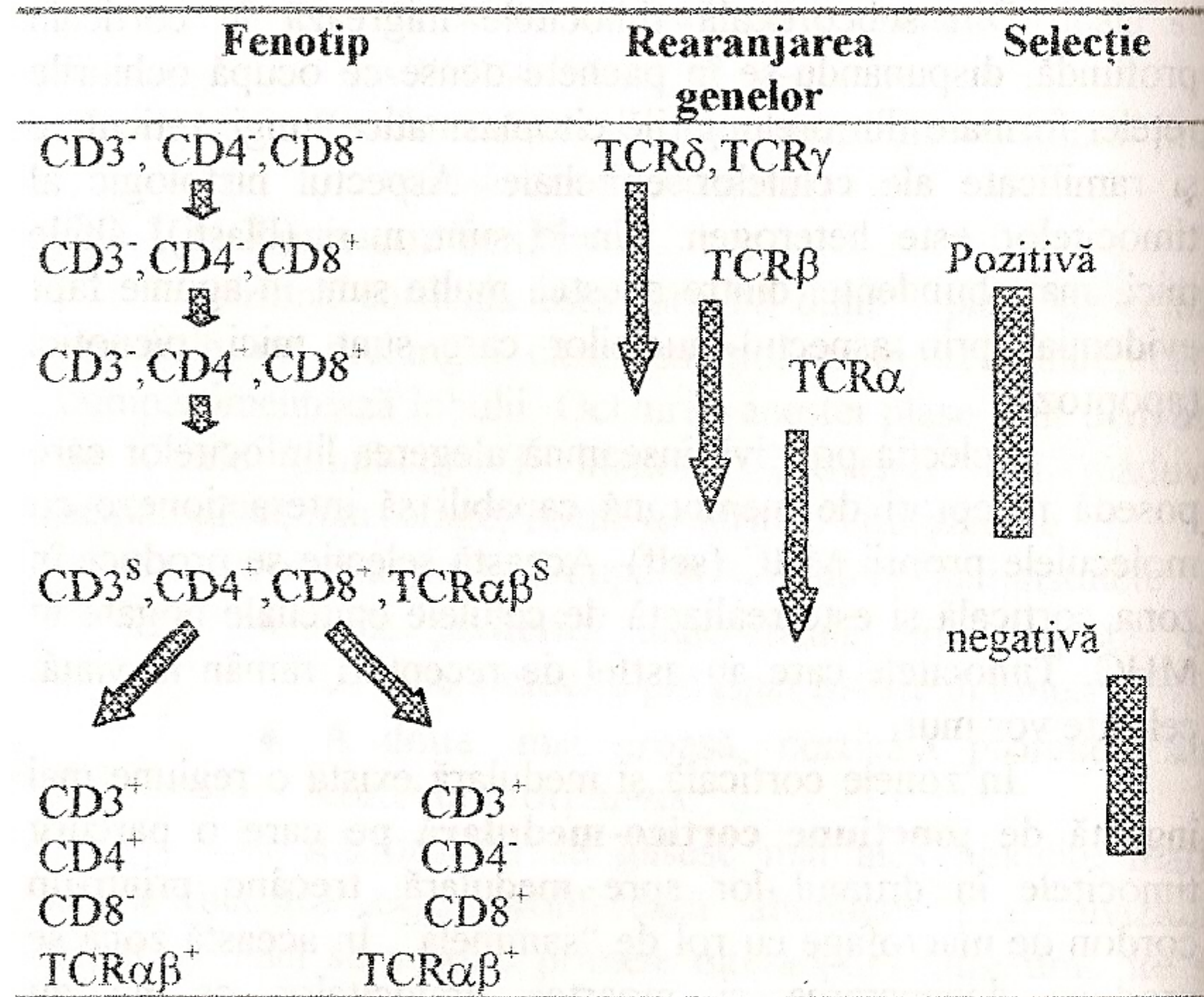


Fig. 7.1. Prezentarea schematică a diferențierii limfocitare T intratimice. CD3^S și TCR^S pentru densitate slabă, + pentru densitate puternică (V. Cristea).

Celulele dendritice interdigitate (IDC) sunt similare celor din organele limfoide secundare, unde constituie principala categorie de APC, având un rol important în activarea limfocitelor T helper. Ele prezintă pe membrană numeroase antigene MHC II, și antigene proprii. În zona

medulară pot fi evidențiate rozete, formate dintr-o celulă dendritică (sau macrofag) centrală, înconjurată de 10-15 timocite. Aici se produce în principal selecția negativă a timocitelor. **Selecția negativă** reprezintă alegerea limfocitelor T care prezintă toleranță față de self, nu reacționează cu peptidele (epitopii) proprii asociate moleculelor MHC proprii. Inducerea toleranței este rolul celulelor prezentatoare de antigen, care au capacitatea de a prezenta limfocitelor antigenele solubile în contextul MHC. Prin procesul de selecție negativă, limfocitele autoreactive sunt fie deletate, fie li se induce o stare de lipsă de răspuns (de anergie). Deleția clonelor autoreactive se produce în urma unui proces de apoptoză sau moarte programată prin inducerea la nivelul ADN-ului din nucleu a programului de moarte a celulei.

Ca urmare a selecțiilor (pozitivă și negativă) din timus sunt eliminate 95% din clonele limfocitare T, și doar restul de 1-5% vor fi exportate în circulație în organele limfoide secundare. Diferențierea intratimică implică și alte procese: exprimarea TCR și a altor molecule, care sunt implicate atât în procesele de selecție, cât și în funcțiile caracteristice limfocitelor imunocompetente mature, adică funcțiile efectoare și/sau capacitatea de a secreta limfokine.

7.1.2. Măduva osoasă

Măduva osoasă hematogenă este sediul celulei stem sau pluripotente și a celor denumite "cap de serie" sau celule **precursoare** (progenitoare) **mieloide** și **limfoide**. Acestea au două proprietăți principale:

- ◆ Se **autogenerează** cu scopul de a menține constant numărul de celule stem
- ◆ Se **diferențiază** spre una din seriile sanguine (granulocitară, eritrocitară, megacariocitară, monocitară, limfocitară).

Celulele stem sunt heterogene atât morfologic cât și funcțional. În măduva hematoformatoare se găsesc: celule

sușe, hematii, PMN, monocite, megacariocite, limfocite B, (toate treptele de maturare ale celulelor). Celula sușă limfoidă comună suferă un proces de diferențiere și maturare ca la nivelul timusului, dar limfocitele primesc însușiri calitative diferite de cele ale LT. Aceste limfocite sunt cunoscute drept **limfocite B**. După migrarea în organele limfoide secundare sunt capabile să reacționeze la stimulul antigenic, se transformă blastic și se diferențiază până la stadiul de plasmocit care produce anticorpi (AC) sau imunoglobuline – efectori ai imunității umorale. Principalul furnizor de celule sușă pentru toate elementele figurate ale sângelui, în etapele inițiale de embriogeneză, este **ficatul embrionar**. După naștere rolul său este preluat de măduva hematogenă.

7.2. Organele limfoide secundare (periferice)

Limfocitele T și B după maturare și instruire în organele limfoide centrale (timus, măduva osoasă), migrează pe cale sangvină în organele limfoide secundare: ganglionii limfatici, splină, plăcile Peyer, amigdale, apendice cecal, aglomerări limfoide de la nivelul pielii și mucoaselor. Popularea acestor organe se realizează imediat după naștere, în perioada perinatală când organismul devine capabil să facă diferențierea în *self* și *non-self*, și să dezvolte un răspuns imunologic complet.

7.2.1. Ganglionii limfatici

Ganglionii limfatici sunt structuri limfoide mici, nodulare, localizate pe traiectul vaselor limfatice sau în hilul organelor parenchimatoase. Ganglionii limfatici sunt conectați direct la circulația limfatică și pot fi solidari sau grupați în anumite zone de elecție (axilari, cervicali, mediastinali, inghinali, mezenterici). Capsula fibromatoasă de înveliș, dezvoltă o serie de travee conjunctive care pătrund în parenchimul ganglionar unde delimitează o **zonă corticală**

populată cu precădere în partea externă de LB (arie timoindendentă sau bursoechivalentă) și una mai profundă în care se controlează LT, și o **zonă medulară** aflată în vecinătatea hilului ganglionar unde se găsesc celule timoindendente. Limfocitele corticale sunt organizate în noduli sau **foliculi** (primari – densitate celulară uniformă, secundari – conțin centri germinativi, apăruți în urma stimulării antigenice).

Ganglionii limfatici conțin trei categorii principale de celule:

- ❖ Celule limfoide (LT, LB) imunocompetente, care sub influența stimulului antigenic se diferențiază și produc efectori ai imunității atât umorali cât și celulari;

- ❖ Celulele sistemului macrofag-mononuclear care asigură clearance-ul antigenelor străine sau a celor proprii modificate și intervin eficient în procesul de fagocitoză al resturilor provenite din celulele neselectate;

- ❖ Celule dendritice și celule conjunctive (fibrocite, fibroblaste, celule reticulare), cu rol de a reține pe suprafața lor diferite antigene pentru a le concentra și prezenta, fără să intervină asupra lor în procesul de fagocitoză.

Ei au o funcție dublă: excluderea agenților patogeni (prin fagocitoza realizată de macrofage) și dezvoltarea răspunsului imunologic specific.

Dacă apar soluții de continuitate pe piele sau mucoase și prin acestea se favorizează pătrunderea antigenelor sau a altor agenți străini în organism, ganglionii limfatici reprezintă prima barieră de oprire a acestora. De obicei apare inflamația locală și primele care intervin sunt celulele cu rol fagocitar. În reținerea și distrugerea antigenului intervin după proliferare atât LT cât și LB.

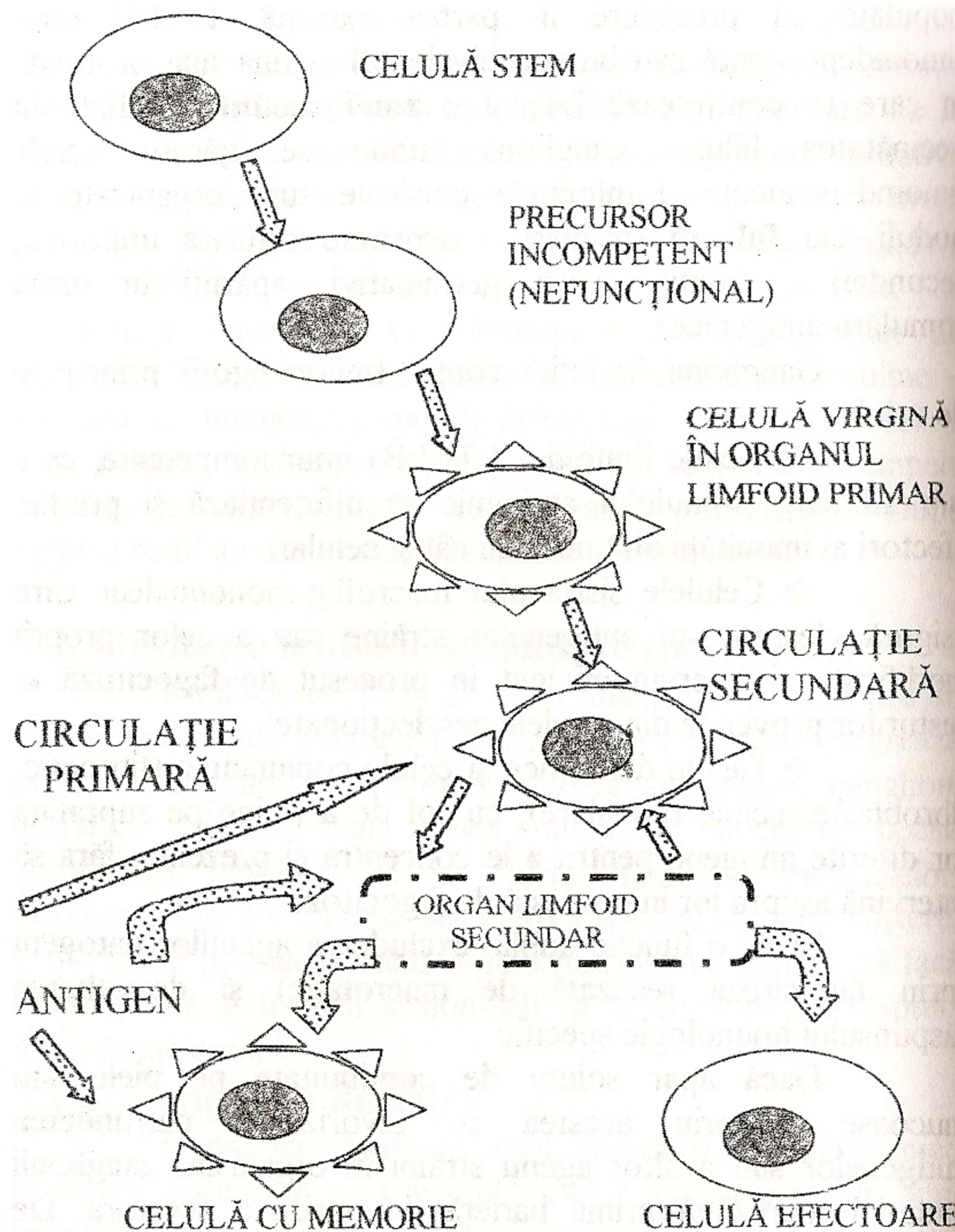


Fig. 7.II. Circulația limfocitelor la nivelul organelor limfoide primare și secundare (V. Cristea)

Centrii germinativi reprezintă zona de **diferențiere secundară** (antigen-dependentă) a limfocitelor B activate de către Ag, fiecare din ei provenind dintr-o singură celulă (expansiune clonală). Ei sunt formați dintr-o zonă mai închisă

la culoare în care predomină **centroblastele**, și una mai clară ocupată în special de **centrocite**, **celule dendritice foliculare**, cu rol de prezentare a Ag celulelor B. La nivelul zonei clare, centrocitele se diferențiază în celule B mici cu memorie, sau în plasmocite care trec prin zona medulară și vase și ajung în măduva osoasă unde se sfârșește diferențierea lor terminală. Ca și în cazul altor organe limfoide, limfocitele neselectate, de antigenul prezentat de celulele dendritice foliculare, mor prin apoptoză și resturile lor sunt fagocitate de către macrofage. În jurul centrului germinativ există o **zonă manta** în care se găsesc LB mici alături de LT.

În cortexul profund sau zona paracorticală, ocupat predilect de LT, se găsesc **celule dendritice interdigitate** și venule post-capilare, prin care intră din sânge în ganglionul limfatic LT. În această zonă paracorticală se realizează activarea limfocitelor T de către antigenul prezentat de celulele dendritice. Tot aici este locul răspunsului primar T-dependent al LB.

Zona medulară este formată din **sinusuri limfactice**, separate de cordoane, în care predomină macrofagele și plasmocitele. La nivelul hilului ganglionar se găsesc: **vase limfactice eferente**, artere și vene.

7.2.2. Splina

Este organul limfoid cel mai voluminos și al doilea ca importanță. Prezintă la periferie o capsulă conjunctivă care trimite în profunzime ramificații trabeculare ce ajung până în hil. Parenchimul este constituit din două părți: pulpa albă și pulpa roșie. În pulpa albă, zonă limfoidă, se găsesc două arii – una timoindependentă populată cu LB și una timodependentă în care se găsesc concentrate LT. Pe lângă limfocite în pulpa albă se găsesc macrofage, celule dendritice, plasmocite.

Pulpa roșie este formată din sinusuri venoase, pulate cu macrofage, în principal. În ea are loc distrugerea

eritrocitelor îmbătrânite și este un rezervor de hematii, care intră în circulație prin contractia splinei.

Splina nu are o circulație limfatică, elementele figurate ajung aici numai pe cale sanguină. În splină se adună și se distrug celulele moarte (în special hematii dar și antigene bacteriene), și este sediul de depozitare a rezervelor de fier.

Splenectomia este compatibilă cu viața omului cât și cu apărarea imună, prin preluarea atribuțiilor splenice de către alte organe sau structuri limfocitare.

7.2.3. Amigdalele

Sunt localizate în loza amigdaliană și reprezintă principalul organ al **inelului limfatic Waldeyer**. Sunt acoperite de o capsulă fibroasă care trimite spre interior o multitudine de fibre conjunctive ce pătrund în parenchim și formează zone de aglomerări ale foliculilor limfoizi.

Amigdalele participă la menținerea unui echilibru al populațiilor bacteriene din microbiogeneza bucofaringiană și conferă protecție căilor respiratorii superioare. De aceea ablația lor chirurgicală trebuie bine motivată.

7.2.4. Plăcile Peyer

Plăcile Peyer sunt aglomerări de celule limfoide anexate mucoasei intestinului subțire sub formă de foliculi limfatici solitari, cu diametrul de până la 3 mm, numeroși, care după colonizarea bacteriană a lumenului duodenului, jejunul și ileonul se pot uni ca să formeze plăci cu lățimea de până la 1 cm.

Plăcile Peyer au un rol important în apărarea imună locală, deoarece sintetizează cu predilecție Ig din clasa IgA care controlează și popularea bacteriană a intestinului subțire.

7.2.5. Apendicele

Apendicele este un organ limfoid destul de voluminos, anexat tubului digestiv. Este alcătuit din aglomerări limfoide sub formă de pliuri în care predomină LB

și plasmicitele. Foliculii sunt mai dezvoltați, atunci când organul este expus unor stimuli antigenici puternici. Ca și în cazul splinei sau amigdalelor, îndepărtarea sa chirurgicală nu duce la dereglarea funcțiilor imune ale organismului.

Caracteristici	Organul limfoid	
	Primar	Secundar
Momentul dezvoltării embriogenetice	Timpuriu	Târziu
Locul de proveniență al celulelor	Celula usșă	Din celule instruite în organele primare
Când se realizează popularea cu elemente limfoide precursore sau mature	Timpuriu, perinatal	După naștere
Proliferarea celulară se realizează	În absența stimulului antigenic	În prezența stimulului antigenic
Activitatea hormonală	Prezentă	Absentă
Starea organului în raport cu vârsta subiectului	Involuează pe măsura înaintării în vârstă	Nu involuează
Circulația limfocitelor la nivelul organului	Într-un singur sens, celulele nu mai revin în organ	În dublu sens
Extirparea organului	Reacții defavorabile	Reacții nesemnificative.

Tabelul 7.1. Principalele caracteristici ale organelor limfoide (V. Cristea)

Inelul limfatic Waldeyer, plăcile lui Peyer și apendicele sunt reunite sub denumirea de GALT (gut-associated lymphoid tissue). Ele colectează antigenele de pe suprafața epitelială a tractului gastro-intestinal.

În organism există și multe alte aglomerări celulare limfactice: trahee, bronhii, bronhiole (reunite sub denumirea de BALB-bronchial-associated lymphoid tissue), piele, rinichi, creier unde microorganismele ajung prin circulația sanguină. În toate aceste zone, direct sau prin intermediul macrofagelor sau altor celule care pot prezenta antigenul, au loc reacții locale sau generale de apărare a organismului.

Atât organele limfoide primare cât și cele secundare au atribute funcționale precise. Se aseamănă între ele prin faptul că toate participă la apărarea imună, dar se deosebesc prin modul în care o fac.

CAPITOLUL 8

CELULELE IMPLICATE ÎN RĂSPUNSUL IMUN

Răspunsul imun reprezintă expresia conflictului dintre "agresor" și organismul gazdă, asupra căruia are loc agresiunea. Gazda generează o gamă de reacții care au drept scop îndepărtarea sau neutralizarea "agresorului" (antigenului).

Distrugerea elementelor non-self se realizează datorită cooperării principalelor elemente ale sistemului imun: organe limfoide, celule imunocompetente, mediatorii solubili.

Celulele implicate în răspunsul imun au trei caracteristici principale: se nasc, păzesc, luptă. Toate derivă din celula sușă pluripotentă (matcă, stem), din măduva oaselor, capabilă să se autogenereze și să dea naștere precursorilor hematopoietici inclusiv celor limfocitari și monocitari.

8.1. Limfocitele

Limfocitele mature sunt celule mici ale seriei albe, rotunde cu dimensiuni cuprinse între 8-15 μ m și nucleu mare, rotund, cu cromatina condensată, fără nucleoli și citoplasmă foarte redusă, bazofilă, dispusă sub formă de inel, sau excentric, în jurul nucleului. Au o cantitate redusă de mitocondrii și ribozomi liberi, un aparat Golgi slab reprezentat, nu au reticul endoplasmatic. Recunosc și reacționează cu non-self-ul prin intermediul unor **receptori de membrană pentru antigene (BCR, TCR)**.

O celulă are receptori care vor recunoaște un determinant antigenic unic. Limfocitele existente în

organismul uman sunt în număr aproximativ de 10^{12} și corespund la 10^8 clone celulare cu receptori pentru epitopi (determinanți antigenici) diferiți. O clonă cu receptori pentru un anumit epitop poate fi alcătuită din 10^7 - 10^8 celule, numărul lor fiind condiționat de intensitatea stimulului antigenic.

Procesul de maturare a limfocitelor, se desfășoară în două faze: una **antigen-independentă** și una **antigen-dependentă**.

➤ Faza **antigen-independentă** are loc la nivelul organelor limfoide primare, unde celula trece prin stadii succesive de dezvoltare până la faza de competență imunologică deși nu a fost stimulată de antigen (celulă "virgină")

➤ Faza **antigen-dependentă** are loc la nivelul organelor limfoide secundare unde celula "virgină" sau "naivă" este stimulată antigenic, și se transformă în limfocit matur cu **memorie imunologică** și/sau **funcții efectoare**.

De la stadiul de precursor la cel de celulă efectoare, limfocitele câștigă sau pierd o serie de receptori și markeri de suprafață. Limfocitele cu receptori pentru antigen (celule antigen-reactive) inițiază răspunsul imun celular sau umoral prin interacțiunea ce are loc la nivelul membranei celulare între antigen și receptor. Fiecare celulă T sau B este **unipotentă**, are receptori pentru un singur epitop al antigenului. La pătrunderea unui antigen în organism vor prolifera și se vor diferenția spre celule efectoare, numai acele limfocite care au receptori specifici pentru antigenul respectiv.

Aceste populații și subpopulații imunocompetente, asigură baza celulară a răspunsului imun.

În funcție de modul și locul de instruire al precursorilor, limfocitele se împart în două clase, sau subpopulații majore: **clasa celulelor T** – timodependente și **clasa celulelor B** – medulardependente. Cele două clase sunt morfologic identice, neputând fi deosebite decât prin

evidențierea tipurilor de receptori pentru antigen (BCR sau TCR), a naturii antigenelor recunoscute de acești receptori și a unor molecule caracteristice de pe suprafața membranei (markeri).

	Limfocite B	Limfocite T
Maturare	Măduva osoasă	Timus
Receptor Ag	BCR-Ig de membrană (IgM, D, G, A, E)	TCR: - $\alpha:\beta$ - $\gamma:\delta$
Ag recunoscut	Native solubile	Prelucrate-peptide legate de moleculele MHC
Epitopi	Conformaționali Secvențiali de suprafață	Secvențiali
Imunitate	Umorală	Celulară
Markeri	CD19-32 CD40	CD3 CD4 CD8

Tabelul 8.1. Caracterile comparative ale limfocitelor B și T.

Atât LT cât și LB reprezintă un mozaic de subpopulații celulare cu diferite atribute funcționale, a naturii pentru Ag, a moleculelor costimulatoare. La nivelul clasei T sunt subclase (seturi) cu funcții ajutătoare (T helper), amplificatoare (T_a), supresoare (T_s), citotoxice (T_c), limfocitele T contrasupresoare (T_{cs}) și celule inițiatore ale hipersensibilității întârziate (T_d). La nivelul celulelor B, se găsesc limfocite cu receptori diferiți sau care ulterior vor secreta numai un anumit izotip de imunoglobuline (IgA, IgG, IgM, IgD, IgE)

În afara celulelor T și B, în populația limfocitară mai există o a treia clasă care cuprinde **limfocitele nule** sau

celule NK (natural killer). Acestea desemnează o subpopulație celulară care nu dețineau markerii de identificare a celor două clase majore de limfocite T și B.

Limfocitele o dată pătrunse în circulație, pot trece în țesuturile limfatice și să revină înapoi în circulație până când întâlnesc antigenul. Ele recunosc țesutul limfocitar și revin în el ori de câte ori este necesar ("homing").

Cele mai semnificative funcții ale limfocitelor sunt:

- ❖ păstrează memoria imunologică după un prim contact cu antigenul, pentru ca la o reîntâlnire cu acesta, să se dividă rapid și să dea naștere unor clone de celule identice, sensibile la antigenul respectiv;

- ❖ prin interacțiunea cu antigenul, pentru care are receptori specifici, se activează transformându-se într-o celulă capabilă de diviziune – fenomen denumit **expansiune clonală**;

- ❖ limfocitele activate secretă mediatorii moleculari (limfokine) cu rol în mobilizarea și augmentarea activității celulelor efectoare nespecifice

- ❖ recunoașterea epitopilor de către receptorii membranari duce la activarea și transformarea limfocitelor în celule imune efectoare;

- ❖ unele limfocite pot acționa direct asupra celulelor țintă.

8.1.1. Clasa limfocitelor B (LB)

această clasă de limfocite este alcătuită din subpopulații de celule care diferă între ele din punct de vedere al moleculelor de imunoglobuline pe care le secretă, precum și a markerilor de suprafață. Un marker caracteristic pentru LB este dat de natura imunoglobulină a receptorului pentru antigen. Este bine cunoscut faptul că LB, după stimularea antigenică se diferențiază în **plasmocite**, secretoare de anticorpi, și **limfocite cu memorie** în funcție de natura receptorului.

Activarea celulelor B este un proces complex, care declanșează un ciclu proliferativ, urmat de diferențiere în plasmocite, producătoare de anticorpi. Au fost descrise două tipuri de activare: una dependentă și una independentă de celulele T. În cazul antigenelor timodependente activarea LB se produce prin intermediul LT.

Trecerea de la celula stem la LB matur și apoi în plasmocit se face printr-o serie de etape intermediare (stadii de diferențiere):

Celula stem multipotentă → Celula pro-B → Celula pre-B → Limfocitul B imatur → Limfocitul B matur ("virgin") → Limfoblast (celulă capabilă să se dividă) → Plasmocit → Limfocit B

cu memorie

► **Limfocitul B matur** este stadiul final al fazei de diferențiere în afara contactului cu antigenele non-self. Poate fi găsit în măduva osoasă, în organele limfoide secundare și în sângele periferic. Organizarea acestor celule se face în clone; fiecare clonă provenind dintr-o singură celulă, cu un anumit receptor de Ag, care se multiplică apoi pe parcursul proceselor de diferențiere. Toți membrii unei clone au aceleași tipuri de gene și drept urmare imunoglobulinele de membrană rezultate (BCR) vor recunoaște același epitop existent pe suprafața antigenelor native solubile, fie că este unul conformațional fie unul secvențial.

Receptorul pentru Ag al limfocitului B (BCR) este reprezentat de o imunoglobulină situată pe suprafața membranei celulare (mIg sau sIg) și ancorată la acest nivel printr-o porțiune transmembranară și o mică regiune intracitoplasmatică. În cazul limfocitului B imatur acest receptor aparține exclusiv clasei IgM, pe când la cel matur este reprezentat de IgM și IgD, care sunt expuse concomitent pe membrana celulei. Toate clasele de imunoglobuline pot

funcționa ca BCR la nivelul limfocitelor B cu memorie cu excepția IgD, dar acesta comportă doar o singură clasă. Transmiterea semnalului activator, reprezentat de unirea cu antigenul specific, este realizată de alte două molecule, situate de o parte și cealaltă a receptorului. Fiecare din ele este formată din două lanțuri diferite, cu structură constantă: Ig α și Ig β .

► **Limfoblastul** este o celulă mare cu diametrul de 12 – 15 μ m, apărută în urma activării limfocitelor B mature. El prezintă un nucleu mare, cu nucleoli proeminenți și cromatina difuză. Citoplasma este abundentă, conține numeroase mitocondri și un reticul endoplasmatic bine dezvoltat. În acest stadiu celula poate începe producția de Ig, dar în cantitate redusă. Limfoblastul este considerat a fi placa turnantă pentru evoluția ulterioară, care poate fi în direcția plasmocitului sau a LB cu memorie.

► **Plasmocitul** este stadiul final din evoluția LB. Celula ajunge până la 20 μ m, are nucleul excentric, cu cromatina condensată sub formă de "spite de roată" și citoplasma abundentă. Durata de viață este de câteva zile și poate produce 5-10.000 molecule de Ig/secundă. Se află concentrat în principalele organe periferice și apare rar în sângele periferic.

► **LB cu memorie** sunt celule cu viață lungă care exprimă pe suprafață receptori de antigen de tip IgG și IgA. La un nou contact cu antigenul, aceste celule se activează rapid, și se transformă în plasmocite care secretă Ig de mare afinitate.

8.1.2. Limfocitele T (LT)

Își au originea în celula stem multipotentă localizată în măduva osoasă la adult sau în ficatul embrionar, în viața intrauterină. Dezvoltarea LT este un proces complex care

presupune participarea timusului ca loc de educare și de câștigare a competenței imune a acestor celule.

Receptorul pentru Ag al limfocitelor T (TCR) este o moleculă heterodimeră formată din două lanțuri polipeptidice, care au o structură asemănătoare cu cea a imunoglobulinelor (Ig). Există două tipuri de receptori: TCR1 (format din lanțurile γ și δ , și TCR2 format din α și β , care împart LT în două lineaje diferite.

Transmiterea semnalului stimulator este realizată de o altă moleculă membranară, CD3, asociată întotdeauna receptorilor $\gamma:\delta$ sau $\alpha:\beta$, cu care formează **complexul molecular CD3**. La nivelul LT mature complexul TCR/CD3 este asociat cu una dintre cele două molecule **CD4** sau **CD8** care interacționează cu moleculele MHC II respectiv I, și astfel împart LT în cele două subpopulații funcțional distincte: LT helper/inductoare și LT citotoxice/supresoare.

Populația T este compusă din subpopulații cu rol de **reglator** – LT helper (LTh), LT inductoare și amplificatoare (Lta), supresoare (LTs), care reglează amplitudinea reacției imune – și din subpopulații cu rol **efector** – LT citotoxice și LTd ce mediază răspunsul imun celular.

TCR*	- $\alpha:\beta$; - $\gamma:\delta$			
Interacțiune cu MHC	Clasa I		Clasa II	
Markeri	CD3, CD8; CD3, CD8		CD3, CD4	CD3, CD4
Funcție	Citotoxică/ supresoare		Helper/inductoare	
Subseturi	Citotoxice	Supresoare	Inductoare -Th1	Helper - Th2
Acțiune asupra celulei	Țintă	Răspunsului imun specific și nespecific	Celule imune și nespecifice	Limfocite B

Mediatori principali	Limfokine (LT), IFN- γ , perforine	Factori supresori	IL-2, IFN- γ , LT (TNF- β)	IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13
-----------------------------	---	-------------------	--	--------------------------------

Tabelul.8.II. Clasificarea limfocitelor T.

8.1.2.1. Limfocitele T helper/inductoare (LTh)

LTh stimulează funcțiile LB, a celulelor T citotoxice și LT supresoare a ăror activitate este dependentă de interacțiunea prealabilă cu antigenul.

Aceste celule posedă un marker specific de suprafață – T4 sau CD4. Ele au rolul cheie în procesele de activare ale imunității umorale. LTh recunosc numai determinanți antigenici cuplați cu **moleculele MHC de clasă II** și prezentați de **celulele prezentatoare de antigen (APC)**.

O dată activat LT CD4 devine capabil să inducă activarea și proliferarea efectorilor imunității umorale (LB) sau celulare. CD4 pozitive pot fi de două tipuri:

□ **LTh1** sunt celule inflamatorii care, prin mediatorii solubili sintetizați, activează răspunsul imun celular: macrofagele infectate, pentru a distruge microorganismele intracelulare, și alte celule efectoare.

□ **LTh2** care activează LB specifice pentru a produce anticorpi prin intermediul altor citokine: interleukinele IL-4, -5, -6, -10.

Ambele tipuri (LTh1 și LTh2) provin dintr-o celulă precursoră **limfocitul Th 0**, care poate sintetiza mediatorii de ambele tipuri: proinflamatori și helper. Toate aceste celule produc factori de stimulare a hemopoiezei medulare: IL-3 și GM-CSF (factorul de stimulare a coloniilor granulocitare și monocitare).

8.1.2.2. Limfocitele T citotoxice (LTc sau LTC)

LTc sunt **celule efectoare**, acționează direct și specific asupra unor "celule țintă": celule infectate viral sau

tumorale, grefele din organ, pe care le lizează. Ele recunosc antigenele străine prezentate de moleculele MHC de clasa I și au ca marker de suprafață caracteristic molecula CD8.

Efectul citotoxic se realizează prin contact direct între acest tip de limfocit și celula țintă, și nu implică nici participarea anticorpilor, nici a complementului (fenomen denumit **citotoxicitate mediată celular – TDCC**)

LTc acționează specific datorită capacității de a recunoaște cu ajutorul receptorului (TCR) de pe suprafața membranei citoplasmice, antigenul specific de pe un singur tip de celulă țintă asupra căreia își exercită efectul. Activarea lor este condiționată de recunoașterea antigenului exclusiv în asociere cu moleculele MHC I.

LTc are un rol important în apărarea antivirală, și sunt principalele celule efectoare cu rol în respingerea acută a grefelor și în distrugerea celulelor tumorale.

8.1.2.3. Limfocitele T supresoare (LTs)

LTs au funcții reglatoare ale răspunsului imun și determină limitarea expansiunii clonale a LT sau LB și suprimarea răspunsului imun. Ele restrâng și mențin în limite normale sinteza de anticorpi și activitatea LT.

Limfocitele Ts, care produc o mulțime de molecule cu efecte supresoare, se pot clasifica, după natura inhibiției: nespecifice (inhibă răspunsul imun indiferent de specificitatea antigenică), antigen-specifice (inhibiția vizează doar un anumit antigen) și imunoglobulin-specifice (inhibă un izotop, alotip, determinant idiotipic particular dintr-un răspuns imun, Th1).

Au mai fost descrise alte două tipuri de celule reglatoare: **celulele T contrasupresoare** și **celulele veto**. Ambele sunt CD8 pozitive, primele eliberează populația helper/inductoare CD4⁺ de sub acțiunea supresivă a Ts efectoare. Celulele veto au rolul de a menține toleranța pentru