

## FIZIOLOGIA SISTEMULUI IMUN

**IMUNITATEA – Definitie:** 1. condiție în care organismul, în contact cu un agent patogen (microbian sau de altă natură) nu contractează în mod specific starea patologică (boala) indusă de agentul patogen respectiv;

2. totalitatea mecanismelor de aparare împotriva microorganismelor invazive (bacterii, virusuri, paraziti) a structurilor non-self și a structurilor self modificate.

**IMUNITATEA INNASCUTA NESPECIFICA:** structuri și mecanisme cu rol protector (tegumente, mucoase, enzime din secreții exocrine – lizozimul, bactericidina), pH-ul secreției gastrice, temperatura corpului ce oferă condiții precare de dezvoltare unor microorganisme, presiunea mare a O<sub>2</sub> în alveolele pulmonare ce inhibă dezvoltarea germenilor anaerobi, nivelul cortizolemiei ce influențează răspunsul inflamator și rezistența la infecții.

**IMUNITATEA INNASCUTA SPECIFICA:** rezistența prezentă la naștere unui organism față de anumiți agenți microbieni care îl particularizează de alte organisme din aceeași populație sau specie, sensibile la acțiunea acelor agenți microbieni.

Atunci când rezistența caracterizează toți membrii unei specii, aceasta nu este o condiție de imunitate, ci o lipsă de susceptibilitate a speciei, sau lipsă de agresivitate a agentului microbian.

**IMUNITATEA DOBINDITA:** condiția organismului care prezintă o stare de rezistență specifică față de un anumit agent patogen microbian. Această rezistență se poate instala **ACTIV**, ca **IMUNITATE NATURALA**, în urma contactului cu diferite microorganisme, sau **ARTIFICIALA**, în cazul administrării de antigene sub forma **VACCINURILOR**.

**IMUNITATEA NATURALA DOBINDITA IN MOD PASIV:** este consecutivă pasajului anticorpilor materni la făt.

**IMUNITATEA DOBINDITA ARTIFICIAL:** se poate instala în mod pasiv, în urma administrării de seruri imune sau anticorpi preformați.

**ANTIGENUL:** este orice molecula de origine endogenă sau exogenă, recunoscuta de un organism ca non-self, împotriva careia se declanșează RĂSPUNS IMUN specific umoral (producție de anticorpi) sau celular (clone de celule specifice efectorii). Definiția unei molecule de antigen implică și capacitatea sa de a interacționa specific cu efectorii răspunsului imun: anticorpi sau celule efectorii.

Moleculele cel mai bine recunoscute ca Ag sunt proteinele cu masa moleculară relativ mare ( $M_r > 10000D$ ), dar pot funcționa ca Ag și polipeptide de mici dimensiuni și chiar molecule de sinteză cu  $M_r < 1000D$ . Pot fi Ag și moleculele polizaharidice, lipidice, acizi nucleici sau moleculele organice de sinteză. Când în mod accidental sunt recunoscute ca Ag și moleculele normale ale propriului organism, se instalează autoimunitatea.

**RĂSPUNSUL IMUN:** implică în mod absolut necesar stimularea și proliferarea limfocitelor antigen-specifice și sinteza unor molecule de recunoaștere a antigenului, reprezentate de anticorpi și/sau receptori membranari.

O substanță este antigenică dacă ea declanșează un răspuns imun și reacționează specific cu anticorpii sau receptorii membranari apăruiți în timpul răspunsului imun.

Răspunsul imun se derulează în trei secvențe:

1. *Selecția clonală* este etapa în care sînt selectate de către antigen doar acele limfocite capabile să recunoască antigenul, denumite limfocite antigen-specifice.

O clonă limfocitară este o populație de limfocite capabilă să recunoască un singur tip de antigen, datorită prezenței pe suprafața membranei celulare a unui singur tip de receptor pentru antigen.

2. *Activarea clonală:* activarea metabolismului intermediar al limfocitelor selectate;

3. *Expansiunea clonală:* proliferarea celulelor selectate și activate metabolic; consecință: creșterea numărului limfocitelor din clona stimulată de antigen.

**Antigenul:** caracter imunogen; *imunogenitatea* este complementară unei alte calități a antigenului, *specificitatea:* capacitatea antigenului de a reacționa *specific* numai cu receptorii antigenici solubili (anticorpi) sau cu receptorii membranari, apăruiți ca urmare a stimulării antigenice a celulelor.

Antigenele se împart în două categorii: *antigenele complete* sau *imunogenele* și *antigenele incomplete* sau *haptenele*.

**Imunogenele:** antigene caracterizate de imunogenitate și specificitate. Ele sînt timodependente și timoindependente.

**ANTIGENELE COMPLETE TIMODEPENDENTE** declanșează fie răspuns imun de tip celular, (RIC), fie răspuns imun de tip umoral (RIU); apariția răspunsului imun este condiționată de implicarea LIMFOCITELOR T HELPER (LTH) într-un proces complex de cooperare intercelulară. Majoritatea antigenelor aparțin acestei categorii, fiind de natură proteică.

**ANTIGENELE COMPLETE TIMOINDEPENDENTE** sînt capabile să declanșeze doar RIU, ele stimulînd direct limfocitele B, independent de prezența LTH. Ele reprezintă o categorie minoritară de antigene (endotoxinele germenilor gram negativi, polizaharizii pneumococici).

**ANTIGENELE INCOMPLETE (haptenele)** sînt substanțe cu greutate moleculară mică sau foarte mică, incapabile să declanșeze un răspuns imun în lipsa cuplării cu o macromoleculă complexă și intens imunogenă, denumită *purtător* sau *carrier*. Haptenele au numai specificitate, nu și imunogenitate.

Un antigen complet este alcătuit dintr-o componentă haptenică, responsabilă de specificitatea antigenului, denumită *determinant antigenic* și de o componenta carrier, întreg ansamblul haptenă-carrier fiind responsabil de imunogenitatea antigenului.

Determinanții antigenici sînt de două tipuri: *1.liniari sau secvențiali* și *2.conformaționali*.

Cei liniari sînt alcătuiți din lanțuri scurte de aminoacizi (8-12), dispuși succesiv în lanțul peptidic și recunoscuți doar de limfocitele T, după prelucrarea antigenelor integrale de către celulele prezentatoare de antigen (CPA).

Determinanții antigenici conformaționali sînt alcătuiți din grupuri de 8-12 aminoacizi ce aparțin unor regiuni diferite ale lanțului peptidic sau chiar unor lanțuri diferite, aflați în proximitate datorită unor punți disulfurice sau unor legături necovalente. Ei sînt recunoscuți doar de limfocitele B (LB) și de anticorpi.

**FUNCTIONAL :** determinanții antigenici sînt de tip *efector* și de tip *imunoreglator*.

**Determinanții antigenici efectori: pot fi de tip**

- **conformațional, când sînt recunoscuți numai de limfocitele B și declanșează RIU (determinanți antigenici B), sau de tip**
- **liniar sau secvențial, când sînt recunoscuți de limfocitele T citotoxice (LTC) și induc RIC (determinanți antigenici C).**

**Determinanții antigenici imunoreglatori:**

- **sînt implicați în controlul intensității răspunsului imun declanșat;**
- **sînt recunoscuți de limfocitele T helper care amplifică răspunsul imun declanșat (determinanți antigenici H), sau de limfocitele T supresoare (determinanți antigenici S), care limitează sau chiar sistează răspunsul imun declanșat.**

**Antigenele alcătuite predominant din determinanți efectori (B sau C) și determinanți reglatori H se comportă ca imunogene, iar antigenele alcătuite predominant din determinanți antigenici S au comportament *tolerogen*, fiind implicate în procesul de *toleranta imuna*.**

**Antigenele sînt caracterizate de imunogenitate, specificitate și de *imunomodulare*, proprietate prin care antigenul este implicat în decizia asupra tipului de răspuns imun indus și a intensității acestuia.**

**Determinanții antigenici efectori sînt recunoscuți de limfocite extrem de mult diversificate (zeci de milioane de clone limfocitare diferite).**

**Determinanții antigenici imunoreglatori sînt implicați în supravegherea răspunsului imun indus. Această categorie include determinanții antigenici H, care sînt recunoscuți de către limfocitele T helper cu rol de amplificare a răspunsului imun declanșat și determinanții antigenici S, care sînt recunoscuți de către limfocitele T supresoare, cu rol de limitare sau chiar sistare a răspunsului imun.**

**Pentru a fi imunogen, antigenul trebuie să fie o substanță *nonself* sau *străină*. Cel mai frecvent, antigenele sînt percepute ca *nonself* dacă provin din organisme diferite pe scară filogenetică. Antigenul este cu atît mai imunogen cu cît are o structură mai complexă și este prelucrat de către CPA. Tipul de răspuns imun indus de un imunogen și amploarea acestuia sînt condiționate genetic de haplotipul de gene MHC moștenite.**

**Pătrunse în organism, antigenele complete tranzitează țesuturile, sectorul circulant și organele limfoide secundare (splina și ganglionii limfatici). Antigenele T independente ajunse în splină și ganglionii limfatici declanșează RIU, ca urmare a activării directe a limfocitelor B.**

**Antigenele T dependente sînt captate la nivel tisular de diferite CPA. Acestea le transportă preponderant pe cale limfatică la organele limfoide secundare (splină, ganglionii limfatici, țesutul limfoid). Aici, ele sînt prezentate sub forma unor fragmente ale determinantilor antigenici (denumite *epitopi*) limfocitelor B sau T, răspunsul imun indus putînd fi de natură umorală sau celulară, în funcție de natura imunogenului.**

## **ORGANIZAREA SISTEMULUI IMUN**

**Sistemul imun cuprinde două compartimente:**

**1.compartimentul central: alcătuit din măduva hematogenă (unde se produc și maturează limfocitele B și se produc limfocitele T) și din timus, sediul maturării limfocitelor T și**

**2.compartimentul periferic: reprezentat de țesutul limfoid capsulat și necapsulat. Splina și ganglionii limfatici alcătuiesc țesutul limfoid capsulat și reprezintă sediul derulării celei mai mari părți a răspunsului imun. Ariile timodependente ale organelor limfoide secundare capsulate, populate de limfocite T, sînt: paracortexul ganglionar și stratul limfoid periarteriolar intern al splinei. Ariile bursodependente, populate de limfocite B, ale acestor structuri sînt: cortexul ganglionar și stratul periarteriolar extern al splinei. Celulele B sînt dispuse în aglomerări denumite foliculi. Țesutul limfoid necapsulat este localizat la nivelul epiteliului digestiv, bronșic și la nivel cutanat.**

## **CELULELE IMPLICATE IN REALIZAREA RASPUNSULUI IMUN**

**Celulele din sângele periferic implicate în geneza răspunsului imun se regăsesc în formula leucocitară astfel: neutrofile 62%, eozinofile 2,3%, bazofile 0,4%, monocite 5,3%, limfocite 30%. Dintre acestea, unele îndeplinesc rol de celule prezentatoare de antigen, și sînt profund implicate în diverse etape ale răspunsului imun, iar altele au rol auxiliar în acest proces, fiind implicate însă în tipuri particulare de răspuns imun, cum este apărarea antiparazitară în cazul eozinofilelor sau reacțiile de tip alergic în cazul bazofilelor și mastocitelor.**

**Celulele prezentatoare de antigen se împart în două categorii, în funcție de eficacitatea lor. CPA profesionale sînt reprezentate de celulele dendritice, macrofagele și limfocitele B. Din categoria CPA**

ocasionale fac parte fibroblasti, celule gliale, celule endoteliale, cel.epiteliale timice si tiroidiene, cel.beta pancreatice.

CPA profesionale exprima permanent MHCII si molecule cu efect co-stimulator, in timp ce cele ocazionale exprima aceste molecule pe perioade scurte, in timpul raspunsurilor inflamatorii, efect indus de IFN (interferonul) gamma si alfa TNF (tumor necrosis factor).

Celulele dendritice sint celule produse de maduva hematogena, de unde migreaza spre diferite tesuturi.

Caracteristici: prezenta de pseudopode in starea de repaos, cu anumite particularitati: sint extrem de numeroase, subtiri, efilate sau foarte lungi, depasind de citeva ori diametrul celulei, fapt ce le confera un aspect asemanator celulelor dendritice din SNC. Aceste celule sint CPA datorita prezentei pe suprafata lor a receptorilor pentru captare a antigenelor (CR si Fc $\gamma$ R) si a moleculelor de prezentare a antigenului, mai ales de tip MHCII.

Celulele dendritice (CD) se impart functional in 2 clase:

1.CPA propriuzise, care proceseaza si prezinta antigenele LT, fiind considerate cele mai importante CPA si

2.celulele dendritice foliculare (CDF), care prezinta pasiv antigenul din complexe imune catre LB in gg.limfatici, fara sa le prelucreze.

CD se gasesc la nivel cutanat, la nivelul gg.limfatici si splina si la nivelul epiteliilor mucoase. In timus ele prezinta ag.proprii LT in curs de maturare. CD deriva de la nivel medular din precursor mieloid si limfoid. Cele imature interactioneaza mai ales cu LT. Celulele Langherhans din epiderm migreaza la nivelul paracortexului ganglionar, unde interactioneaza cu LT si devin celule interdigitate. Sint bogate in molecule II MHC, esentiale pentru prezentarea ag. catre LTH.

CDF nu deriva din MH, ci au origine mezenchimala. Se gasesc la nivelul foliculilor limfatici din gg.limfatici, in zonele B-dependente, la nivel splenic si in regiunile MALT. Ele nu migreaza, ci realizeaza o retea stabila prin intermediul unor puternice conexiuni intercelulare, realizate prin desmozomi. Aceste celule sint lipsite de molecule MHC II, dar leaga ag prin receptori pentru complementul, atasat de complexelor imune. Exprima si receptori Fc si produc chemokine importante pentru homingul LB in ariile foliculare ale tes.limfoid.

**MACROFAGELE** sînt celule produse la nivelul măduvei hematogene. Forma circulantă a acestora e reprezentată de monocite, care după ce tranzitează pentru numai 12-24 de ore torentul circulator, ajung în țesuturi, prin traversarea peretelui capilar prin diapedeză, ele fiind atrase de o serie de factori chemotactici. Maturația macrofagelor se realizează intratisular, la acest nivel ele devenind CPA propriuzise. În această calitate, macrofagele captează antigenele corpusculare sau particulare (bacterii, virusuri, paraziți de

mici dimensiuni, diverse celule somatice devenite imunogene), ele neputînd capta antigenele solubile.

Macrofagele se întîlnesc în alveolele pulmonare, splină, ganglionii limfatici, măduva hematogenă, sinusoidale hepatice (celulele Kupffer), cavitatea sinovială (celulele A sinoviale), țesutul conjunctiv (histiocitele), rinichi (celulele mezangiale), creier (celulele microgliale).

După captare, macrofagele endocitează antigenele captate în decursul procesului de fagocitoză, proces ce consumă energie și necesită apariția unor modificări citoscheletale ce duc la emiterea de pseudopode.

Fagocitoza poate fi realizată direct, sau poate fi mult amplificată ca urmare a procesului de *opsonizare*, proces care implică prezența *opsoninelor*. Aceste substanțe sînt prezente în plasmă și în ser; legate de elementele particulare imunogene ele le conferă acestora o mai mare susceptibilitate la fagocitoză. Opsoninele identificate în ser sînt: produșii de clivare a componentelor complementului (C3b, C5b), imunoglobulinele (IgG1 și IgG3, IgG4, IgG2 și IgA).

#### Macrofagele

- captează antigenele corpusculare opsonizate prin componenta C3b a complementului;
- exprima pe suprafața membranei receptori pentru complement (CR), antigenes corpusculare opsonizate prin anticorpi de tipul IgG și antigenes neopsonizate;
- macrofagele au pe membrana lor receptori pentru anumite oligozaharide prezente în structura peretelui bacterian, așa cum sînt manoza și fucoza (F/MR);
- în timpul procesului de fagocitoză, realizează prelucrarea antigenelor endocitate sub acțiunea echipamentului enzimatic extrem de bogat al lizozomilor; în urma prelucrării antigenului rezulta fragmente denumite *epitopi*, singurii conservați dintre aceștia fiind cei mai imunogeni, denumiți *epitopi imunodominanți*; păstrarea unei mici părți din epitopii selectați și eliberarea lor în etape succesive contribuie la întreținerea în timp a răspunsurilor imune; cea mai mare parte dintre epitopii selectați sînt cuplați cu moleculele complexului major de histocompatibilitate MHCII situate pe membrana macrofagelor și prezentați limfocitelor T, în cadrul unui proces de cooperare intercelulară; un element cheie în derularea acestui proces este recunoașterea

epitopilor prezentați de macrofag în asociere cu moleculele MHCII de către limfocitele T helper (TH) din ariile timodependente ale ganglionilor limfatici.

**Echipamentul lizozomal al macrofagelor este extrem de bogat.**

Evenimentele metabolice ale procesului de fagocitoză produc o serie de specii reactive ale oxigenului: anionul superoxid (produs prin captarea de către oxigenul molecular a unui electron în plus), apa oxigenată, radicalul hidroxil, oxigenul atomic (unul dintre electroni se deplasează pe o orbită cu energie mai mare). Toți acești produși sînt foarte instabili și au un puternic efect toxic asupra bacteriilor.

Macrofagele secretă o serie de substanțe cu diverse roluri în organism: factorul de necroză tumorală (TNF), pirogeni endogeni precum interleukina 1 și interleukina 6 (IL-1 și IL6), componente ale complementului (de la C1 la C5, properdina, factorii B, D, I, H).

Macrofagele eliberează, de asemenea, diferite proteine plasmatică și factori ai coagulării,  $\alpha$ -interferon ( $\alpha$ -IFN), enzime hidrolitice (colagenaze, lipaze, fosfataze), metaboliți ai acidului arahidonic.

**NEUTROFILELE** reprezintă 95% din granulocitele circulante. Au durată de viață scurtă (2-3 zile), comparativ cu sistemul monocito-macrofagic, ale cărui componente pot persista ani și au proprietăți asemănătoare acestora:

*marginafia:* este procesul de aderare la endoteliul capilar, mediat de receptori ai neutrofilului și liganzi prezenți pe suprafața celulelor endoteliale și inițiat de chemoattractanți ai neutrofilului (factori chemotactici) precum interleukina 8 (IL8);

*diapedeza* este procesul de extravazare prin traversarea capilarului la limita dintre două celule endoteliale. Deși lipsite de specificitate pentru antigene, neutrofilele joacă un rol important în inflamația acută, intervenind împreună cu anticorpii și complementul în realizarea protecției împotriva microorganismelor.

Agenții chemotactici pentru neutrofile: fragmente ale complementului (C5a), factori derivați din sistemul fibrinolitic și sistemul kininelor, factori derivați din alte tipuri de leucocite, bacterii și trombocite.

Neutrofilele conțin un întreg arsenal de proteine stocate în două tipuri de granulații lizozomale:

granulațiile primare azurofile conțin hidrolaze acide, mieloperoxidază și lizozim (muramidază);

granulațiile secundare (specifice) conțin lactoferină, lizozim și proteine cu efect antibiotic: *defensine, seprocidine, catelicidine* și



*proteina inductoare a permeabilității bacteriene* (BPI – bacterial permeability inducing protein).

Neutrofilele au receptori pentru fracțiunea Fc a IgG (FcγR), prin intermediul cărora pot fi activate de complexe imune, intervenind astfel în mecanismul declanșării hipersensibilității de tip III.

Neutrofilele au precursor medular comun cu monocitele, CFU-GM (colony-forming-unit-granulocyte macrophage – unitate formatoare de colonii pentru granulocite și macrofage), derivat din celula stem pluripotentă. Mieloblaștii derivați din acest precursor comun devin promielocite și apoi mielocite, care se maturizează și ajung în circulație ca neutrofile mature.

Pe parcursul acestor diviziuni și diferențieri celulare, apar modificări ale markerilor de suprafață celulari: CFU-GM exprimă molecula MHCII și CD38 pe suprafața lor, în timp neutrofilul exprimă CD13, CD14, CD15. Un element important în activitatea neutrofilului (fagocitoza și chemotaxia) desfășurată în prezența opsoninelor este interacțiunea directă cu microorganismele sau/și citokinele eliberate în timpul răspunsului imun. Neutrofilul adult exprimă permanent receptori FcγRIII și FcγRII, în timp ce FcγRI sunt exprimați numai de neutrofilul activat.

**EOZINOFIILE:** celule cu slabe performanțe fagocitare care reprezintă 2-5% în formula leucocitară a sîngelui periferic. Ele sînt totuși capabile de a distruge microorganisme endocitate și joacă un rol important în apărarea antiparazită. Mecanismul de acțiune împotriva paraziților implică fenomenul de degranulare a eozinofilelor, proces în urma căruia este eliberat conținutul granulelor în mediul extracelular. Acest proces poate fi declanșat și de alți stimuli. Nu sînt celule prezentatoare de antigen, eozinofilul fiind implicat în limitarea procesului inflamator și reducerea migrării neutrofilelor în focarul inflamator datorită eliberării de histaminază și aril-sulfatază, inactivatorii substanțelor cu efect pro-inflamator eliberate de mastocite, cit și în inițierea lui: conține proteina bazică majoră (MBP), cu efect toxic pentru paraziți, efect de eliberare a histaminei din mastocite, efect activator al neutrofilelor și trombocitelor și efect bronhospastic.

**BAZOFIILE ȘI MASTOCITELE:** celule implicate în realizarea răspunsului imun, dar nu sînt celule prezentatoare de antigen.

Bazofilele sînt foarte puțin numeroase în sîngele periferic, ele reprezentînd numai 0,2% din leucocitele circulante.

Mastocitele sînt celule extrem de asemănătoare bazofilelor din punct de vedere funcțional; se găsesc doar la nivelul mucoaselor și țesutului conjunctiv, fiind clasificate din acest motiv în două categorii: mastocite ale mucoaselor (MMC – mucosa mast cell) și mastocite ale țesutului conjunctiv (CTMC – connective tissue mast cell). Prima categorie pare T-dependentă, în timp ce cea de a doua categorie de mastocite proliferază independent de limfocitele T.

Bazofilele și mastocitele conțin granulații bogate în heparină, leucotriene, histamină și factorul eozinofil chemotactic al anafilaxiei (ECF-A). Stimulul degranulării bazofilelor și mastocitelor este cel mai frecvent un antigen capabil să declanșeze reacții alergice, adică un *alergen*. Pentru declanșarea acestui tip de răspuns imun, alergenul interacționează prin intermediul IgE situate la suprafața bazofilelor și mastocitelor care exprimă receptori pentru fracțiunea Fc a acestor imunoglobuline (FcεR). Mediatorii eliberați astfel produc simptomele clinice inflamatorii caracteristice alergiei.

LIMFOCITELE B pot juca rolul de CPA, datorită prezenței pe membrana lor a receptorilor de captare a antigenelor BCR, pt.complement -CR-, și pt.IgG -FcγR-, precum și a moleculelor MHCII, prin care pot prezenta celulelor T diversele antigene. Caracteristică limfocitelor B este capacitatea lor de a capta antigenele solubile și nu pe cele de tip corpuscular.

## MOLECULELE PREZENTATOARE DE ANTIGEN

Cele două tipuri de molecule prezentatoare de antigen, MHCI și MHCII sînt sintetizate sub strictul control al unui grup de gene situat pe brațul scurt al cromozomului 6.

Moleculele MHCI: prezente pe suprafața tuturor celulelor din organism, cu excepția eritrocitelor. Ele sînt specializate în prezentarea antigenelor endogene, fiind recunoscute în decursul cooperării intercelulare de către limfocitele T citotoxice și supresoare, care au pe suprafața lor molecula CD8 și sînt implicate în reacția de respingere a grefei.

Moleculele MHCII: prezente numai pe suprafața celulelor implicate în geneza răspunsului imun, așa cum sînt CPA, limfocitele B, limfocitele T. Ele sînt specializate în prezentarea antigenelor exogene, fiind recunoscute de molecula CD4 de pe membrana limfocitului T helper.

## POPULATIILE LIMFOCITARE

**LIMFOCITELE T** reprezintă o clasă celulară foarte heterogenă, în cadrul căreia se descriu 2 mari subtipuri, în funcție de receptorii pt. antigen (TCR). Există 2 mari clase de TCR:  $\alpha\beta$ TCR și  $\gamma\delta$ TCR. Aprox. 95% din LT circulante sunt de tip  $\alpha\beta$  LT, restul fiind de tip  $\gamma\delta$ LT. Subtipul  $\alpha\beta$ LT are 3 subpopulații: LT helper (TH), care exprimă moleculele CD4 și au ca funcție majoră „ajutarea” sau „inducerea” răspunsului imun, LT reglatorii (Tregs), sunt CD4+ și reglează RI și LT citotoxice (Tc), care sunt CD8+. Subtipurile LT helper sunt diferențiate după citokinele secretate în LTH1 și LTH2, și recent descrise LTH17, cu rol în menținerea integrității mucoaselor. LT $\gamma\delta$  pare a juca un rol important în protecția suprafețelor mucoase. În general, ele pot recunoaște ag direct, fără intermediul moleculelor MHC. Se consideră că au efect citotoxic și funcții imunoreglatoare.

Celulele NKT exprimă markeri ai LT și ai celulelor NK (CD3 și o variantă unică de  $\alpha\beta$ TCR). Recunosc ag glicolipidice fără intervenția MHC și au rol de a iniția răspunsul LT la ag non-peptidice, precum și de a regla funcția cel. dendritice, prin intermediul citokinelor secretate.

LT reprezintă 60-80% din totalul limfocitelor periferice și au o durată de viață mare (ani, zeci de ani), ele fiind intens recirculate. Pe suprafața lor se disting trei categorii de receptori:

1. receptori pentru recunoașterea antigenică, și anume: TCR (T cell receptor); complexul CD3 (CD = clasă de diferențiere) cu rol în recunoașterea antigenului sau epitopului prezentat de CPA; CD4 sau CD8 care sînt co-receptori implicați în recunoașterea moleculelor prezentatoare de antigen MHC;

2. receptori cu rol accesoriu în activarea limfocitelor T: CD28, CD45, CD25;

3. receptori cu rol în adeziunea intercelulară: CD2, CD11/CD18.

Limfocitele T recunosc antigenul după structura primară a determinantului antigenic, spre deosebire de limfocitele B și imunoglobuline, care recunosc antigenele după structura lor spațială. Ele recunosc numai antigenele expuse asociat de moleculele MHC pe suprafața CPA.

**Clasificare fenotipică:**

- limfocite TH (CD3+/CD4+/CD28+);
- limfocite TC (CD3+/CD8+/CD28+);
- limfocite Tregs supresoare (CD3+/CD4+/CD25+).

**Activarea limfocitelor T:** este realizată numai de antigenele T dependente, în cadrul unui proces ce necesită în mod obligatoriu participarea CPA. Cooperarea dintre CPA și limfocit este de tip bidirecțional, ambele celule activându-se reciproc. Activarea limfocitului T de către CPA este *anterogradă*, ea derulându-se în sensul prezentării antigenului. Activarea limfocitului este realizată prin intermediul unor semnale activatoare transmise spre citoplasmă. Drept urmare, au loc activarea metabolică, expansiunea clonală precum și producerea de IL (LTH) sau de mediatori implicați în distrugerea imunogenilor (LTC).

Activarea retrogradă se desfășoară dinspre limfocitul T înspre CPA, care este activată. Ea se desfășoară în sens invers față de prezentarea antigenică. Acest tip de activare se realizează prin eliberarea de către limfocitul T a IL-4 și/sau a IFN- $\gamma$ . Efectul acestor substanțe este cel de a stimula exprimarea pe suprafața CPA a moleculelor MHCII, ceea ce sporește capacitatea de prezentare a antigenului.

Activarea limfocitelor T se desfășoară în două etape, prima fiind antigen-independentă, iar cea de a doua- antigen-dependentă. În timpul primei etape, are loc stabilirea unor contacte extinse și intime între suprafețele membranare ale CPA și limfocitele T. Cea de a doua etapă constă în stabilirea unor legături între complexul epitop/MHC de pe suprafața CPA și binomul TCR/CD4 sau TCR/CD8 de pe suprafața limfocitului T.

O mică parte dintre limfocitele T efectorii sînt păstrate în diverse sectoare ale organelor limfoide, ele fiind celule cu memorie.

**LIMFOCITELE B** reprezintă 15-20% din totalul limfocitelor periferice. Ele sînt puțin recirculate și au durată scurtă de viață. Majoritatea sînt distribuite în cortexul ganglionilor limfatici și în pulpa albă a splinei, unde alcătuiesc foliculii limfoizi. Pe suprafața membranei limfocitelor B există aceleași categorii de receptori, ca și în cazul limfocitelor T: receptori pentru recunoașterea antigenului BCR (B cell receptor), receptori cu rol accesoriu în activarea metabolică a limfocitelor B, (CD45 și CD25) și receptori de adeziune intercelulară.

#### **Limfocitele B**

- recunosc antigenele solubile după structura spațială a determinantilor antigenici;
- nu necesită obligatoriu prezența și implicarea CPA în declanșarea răspunsului imun;

- după stimularea antigenică, limfocitele B parcurg etapele ciclului celular în mod asemanător cu limfocitele T, devenind limfoblaști B, a căror principală caracteristică este prezența unui mare număr de molecule MHCII pe suprafața membranei celulare, fapt ce le conferă posibilitatea de a funcționa ca CPA;
- celulele rezultate în urma diviziunilor celulare devin limfocite B efective, adică plasmocite, cu directă implicare în derularea și finalizarea răspunsului imun prin sinteza de imunoglobuline; o mică parte dintre ele trec în rezervă ca limfocite B cu memorie, în anumite sectoare din organele limfoide secundare.

### **RASPUNSUL IMUN UMORAL (RIU)**

- este declanșat de antigenele T-dependente;
- necesită cooperarea a trei categorii celulare: CPA, limfocitele T helper și T supresoare, (cu rol imunoregulator) și limfocitele B efectorii.
- parcurge două etape, prima cu efect activator, derulată dinspre CPA spre limfocitele B, care activate devin plasmocite producătoare de anticorpi și a doua etapă cu efect inhibitor sau de control, care limitează răspunsul imun eficient la minimumul necesar; cea de a doua etapă este realizată prin intermediul unor subclase de imunoglobuline și prin activarea limfocitelor T supresoare care limitează participarea limfocitelor B și T la RIU; Menținerea unui echilibru stabil între cele două etape ale RIU reprezintă cheia homeostaziei RIU.

Secvențial, derularea RIU parcurge următorul model:

- antigenul declanșator este preluat de CPA (macrofage sau celule dendritice);
- transportat în ariile timodependente ale organelor limfoide, este prezentat limfocitelor T helper (TH), care se activează și devin limfoblaști TH;
- aceștia migrează în alte domenii ale organelor limfoide, unde urmează să întâlnească limfocitele B cu care cooperează;
- simultan, antigenul este transportat pe cale limfatică în zonele bursodependente ale organelor limfoide, unde este recunoscut de limfocitele B antigen specifice, care vor fi activate, transformându-se în limfoblaști B ce migrează treptat, venind în contact cu limfoblaștii TH, cu care cooperează (direct, datorită numeroaselor molecule

MHCII de pe suprafața limfoblaștilor B sau indirect, prin intermediul IL2 și IL4, eliberate de limfoblastul TH activate);

- în urma acestei cooperări, limfoblastul B este complet activat, el devenind plasmocit producător de anticorpi specifici eliberați în circulație.

## PRINCIPALELE INTERLEUKINE IMPLICATE IN RIU SINT IL-2, IL-4 și IL-5.

### IMUNOGLOBULINELE

#### Imunoglobulinele:

- sînt glicoproteine identificate în plasmă, lichidele interstițiale și secrețiile organismului, care au proprietăți de anticorpi, ele combinîndu-se specific cu antigenele inductoare de răspuns imun;
- structural, imunoglobulinele (Ig) sînt alcătuite din două perechi de lanțuri, unele cu greutate moleculară mare, denumite *heavy*, (*H*) (de tip  $\alpha$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\mu$  și  $\epsilon$ ) și altele cu greutate moleculară mică, denumite *light* (*L*) (de tip  $\kappa$  sau  $\lambda$ ).

Ambele tipuri de lanțuri au secvențe variabile, notate cu VH și VL și părți constante, notate cu CH și CL. Secvențele variabile VH și VL formează împreună situsul de recunoaștere a antigenului, cu care acesta stabilește legături, denumit *paratop*. O moleculă de Ig conține două situsuri de legare a antigenului identice, capabile să recunoască o unică structură antigenică, prin urmare anticorpii sînt structuri monospecifice.

Secvențele constante ale Ig sînt responsabile de celelalte funcții ale acestora:

- activarea complementului pe calea clasică;
- atașarea la suprafața unor celule;
- traversarea barierei fetoplacentare.

-Fragmentul ce conține situsul de legare a antigenului este denumit Fab;

-cel responsabil de funcțiile efectoare ale moleculei de Ig este denumit Fc;

-la limita acestora există punți disulfidice, plasate între lanțurile grele în zona denumită "balama".

Molecula de Ig are o variabilitate izotipică, allotipică și idiotipică.

- variabilitatea izotipică diferențiază membrii aparținând unor specii diferite;
  - cea allotipică se datorează diferențelor genetice intraspecie;
  - variabilitatea idiotipică se datorează prezenței anumitor secvențe de aminoacizi din regiunea variabilă a moleculei de Ig, ce determină capacitatea de legare a antigenului. Variabilitatea idiotipică se corelează cu cea a situsului de legare a antigenului.
- Zona variabilă din structura Ig, (denumită și idiotip) implicată în legarea antigenului (Fab) poate funcționa concomitent și drept determinant antigenic. Acești determinanți antigenici imunoglobulinici, aparțiți în cantitate mare în timpul RIU determină la rândul lor apariția de Ig anti-idiotip. Acest proces se derulează în 3-5 valuri succesive, astfel realizându-se o rețea idiotip-antiidiotip, implicată în stimularea sau inhibarea RIU.

Imunoglobulinele se împart în 5 clase (izotipuri), în funcție de particularitățile secvențelor constante ale lanțurilor grele (CH), care sînt de tip  $\gamma$ ,  $\mu$ ,  $\alpha$ ,  $\delta$ , și  $\epsilon$ .

IgG se regăsește în concentrațiile cele mai mari, ele reprezentînd 75% din totalul Ig circulante. Durata persistenței lor în lichidele organismului poate ajunge la trei săptămîni, ceea ce le conferă un grad înalt al valorii funcționale.

Există mai multe subclase de IgG, în funcție de numărul de punți disulfurice dintre lanțurile H: IgG1, IgG2, IgG3 și IgG4. Funcțional, molecula de IgG conține două zone distincte: porțiunea Fab, care este situsul combinativ al moleculei de IgG și este implicată strict în recunoașterea antigenică și porțiunea Fc, denumit fragment constant sau cristalizabil, responsabil de acțiunile biologice ale moleculei. IgG1 reprezintă subclasa dominantă a IgG. Au rol important în activarea complementului pe calea clasică, în realizarea imunității pasive a nou-născutului.

IgG2 este un slab activator al complementului.

IgG3 este cel mai puternic activator al complementului pe calea clasică, iar IgG4 nu este activator de complement. IgG sînt implicați în geneza RIU secundar, ce apare începînd cu al doilea contact cu antigenul declanșator.

IgM au o durată de viață mai scurtă, de 10 zile. Ele sînt alcătuite din cinci structuri asemănătoare celei aparținînd moleculei de IgG, fiind, deci, un pentamer. Ele sînt implicate în RIU primar, declanșat la primul contact cu antigenul și sînt cele mai active imunoglobuline în activarea complementului pe calea clasică. Au acțiune aglutinantă asupra bacteriilor și virusurilor.

IgA se găsește în ser sub formă de monomeri, sau este secretată la nivelul mucoaselor sau în lapte sub formă de dimeri. Au fost identificate două subtipuri de IgA, ce diferă prin structura lanțurilor  $\alpha$  ( $\alpha 1$  și  $\alpha 2$ ).

IgD este prezentă în ser cantită în cantități foarte mici. Ea apare frecvent asociată cu IgM, îndeplinind funcția de receptor pentru antigen.

**IgE:**

- prezentă în ser în cantități foarte mici;
  - implicată în declanșarea reacțiilor de hipersensibilitate imediată.

## SISTEMUL COMPLEMENT

**Sistemul complement:** este un complex de proteine serice cu activitate enzimatică, citolitică și reglatoare care prin activare produc chemotaxie, opsonizare și citoliză a agenților patogeni. Complementul este alcătuit din 25-30 de enzime ce sînt activate în cascadă, rolurile jucate de acest sistem în cadrul RIU fiind cel de a finaliza acțiunea anticorpilor asupra antigenelor și cel de a realiza recunoașterea nespecifică a structurilor nonself, aceste roluri putînd fi îndeplinite fie separat, fie complementar.

În mediile lichidiene, fiecare factor al complementului se găsește sub formă inactivă.

Un factor al complementului odată activat, va avea drept substrat un alt factor în formă inactivă, pe care îl va activa, Conversia enzimatică a fiecărui factor inactiv în forma sa activă este un proces de proteoliză limitată, în urma căruia rezultă două fragmente: un fragment mic, notat cu "a" și unul mare, notat cu "b", acesta din urmă putînd funcționa în cadrul cascadei de activare a complementului ca enzimă, sau cofactor (fixator pe membrana celulară a unui alt factor).

Factorii complementului sînt notați de la C1 la C9.

Activarea complementului se face pe mai multe căi. Inițial au fost descrise calea clasică și cea alternă de activare, care sînt distincte dar au o secvență finală comună. Evenimentul central al cascadei complementului este constituit de conversia factorului inactiv C3 în forma activă C3b, sub acțiunea C3-convertazelor.



Calea clasică de activare este declanșată episodic de prezența complexelor imune atașate membranelor celulare și reprezintă o achiziție filogenetică de dată mai recentă.

Calea alternă funcționează continuu, cu o intensitate scăzută, care crește atunci când pe membranele celulare activatoare (bacteriene, parazitare, ale celulelor infectate viral) se depozitează factori ai complementului. Această cale de activare este de dată filogenetică mai veche. Calea alternă de activare a complementului (sau calea properdinei) implică acțiunea unor factori precum factorul B (omologul factorului C2 al căii clasice), factorul D și factorul P sau properdina, care intră în structura C3-convertazei adevărate a căii alterne a complementului.

A treia cale de activare a complementului (MBL pathway – *mannose binding lectin pathway*) a fost recent descoperită. MBL este o proteină plasmatică din familia collectinelor, ce funcționează ca o lectină, fiind singura aptă să activeze complementul.

Agenții patogeni capabili de a se lega de MBL sînt Salmonella, Neisseria, Candida albicans.

Concentrația scăzută a MBL se asociază cu deficite de opsonizare ce se pot manifesta clinic prin diaree severă, hepatită cronică de tip B, infecția HIV și boli autoimune.

Indiferent de calea de activare a complementului, la finele cascadei enzimatică este generat complexul de atac al membranelor, MAC (C5bC6C7C8C9), o structură complexă, tubuliformă, care se inseră pe membrana țintă pe care o perforază.

Ca urmare a creării de multiple comunicări între mediul intra și cel extracelular, are loc alterarea profundă a gradientelor de concentrație ionică de o parte și alta a membranei celulare, cu pătrunderea masivă a ionilor de Na în celulă, urmată de hiperhidratarea acută celulară, în final producîndu-se liza osmotică a celulei și moartea acesteia.

Reacțiile complementului se derulează numai pe suprafața membranelor țintă și nu pe cele self, acestea fiind protejate anticomplement prin trei categorii de receptori.

#### **Raspunsurile imune umorale sint:**

1.primare-declansate la primul contact cu antigenul, caracterizate prin elaborarea de IgM; aceasta se datoreaza participarii la generarea RIU la primul contact cu antigenul a limfocitelor THp, care coopereaza cu CPA; limfocitele THp elaboreaza IL2, care nu are efect asupra fenomenului de comutare izotipica, drept urmare limfocitele B stimulate produc IgM.

Concentrațiile de IgM sînt relativ mici, deoarece la acest prim contact antigenic participa clone limfocitare B și TH imature și insuficient expansionate. În plus, timpul de  $\frac{1}{2}$  al IgM este redus;

2. secundare, caracterizate prin elaborarea de IgG, deoarece la contacte repetate cu același antigen, la cooperarea cu CPA participa limfocite TH2, care elaborează IL4, care, spre deosebire de IL2 activează mecanismul de comutare izotipică: este inhibată producția de IgM și stimulată cea de IgG. IgG au timpul de  $\frac{1}{2}$  crescut ceea ce explică persistența lor mai îndelungată în plasmă.

Controlul RIU constă în activarea limfocitelor T supresoare, care constituie *cascada supresoare*. Aceasta este declanșată abia după declanșarea producției de anticorpi, avînd rolul de a inhiba secvența de activare (efectorie) a RIU.

Cele 2 secvențe ale RIU, de activare și retrocontrol sînt *decalate în timp și echilibrate funcțional*.

## RASPUNSUL IMUN CELULAR

Răspunsul imun celular (RIC) este implicat în trei condiții patologice majore: eliminarea celulelor infectate cu microorganisme cu habitat sau dezvoltare intracelulară (micobacterii, virusuri, legionella, brucela), supravegherea și apărarea antitumorală și rejețul grefelor de țesuturi sau organe. Prin urmare, RIC joacă un rol esențial în recunoașterea și îndepărtarea prin distrugere a două categorii celulare: celulele proprii sau self devenite antigenice (prin infectare sau degenerare malignă) și celulele străine, nonself, provenite prin transplant de țesuturi sau organe.

Pentru realizarea acestor funcții, este necesară participarea a trei tipuri de limfocite efectoare: limfocitele T citotoxice (LTC) și celulele natural killer (NK). Aceste tipuri celulare recunosc celulele țintă prin mecanisme diferite, dar le distrug prin mecanism asemănător, de citotoxicitate extracelulară.

Limfocitele T citotoxice exprimă pe suprafața lor cele trei categorii de receptori: cei de recunoaștere antigenică, TCR, care stabilesc conexiuni atât cu antigenul expus, cît și cu molecula prezentatoare a acestuia, MHC I sau MHC II; din această categorie fac parte receptorii CD3 și CD8.

A doua categorie de receptori e reprezentată de cei cu rol accesoriu în activarea LTC, (CD25, CD28 și CD45).

Cea de a treia categorie e reprezentată de receptorii de adeziune intercelulară, reprezentată de CD2. În funcție de anumite

particularități fenotipice și funcționale, LTC se împart în două categorii: LTC CD8+, care reprezintă peste 90% din totalul acestora și au rol distructiv și LTC CD4+, care reprezintă sub 10% din totalul LTC și îndeplinesc rol preponderent imunoreglator, intervenind în maturația limfocitelor THp care devin LTH1.

LTC realizează o recunoaștere imunologic specifică, dependentă de structurile MHCI, de tip *clonotip*, în sensul că fiecare clonă de LTC poate recunoaște o singură specificitate antigenică, datorită condiționării genetice. (restricție HLA)

Ele pot recunoaște o mare varietate de antigene, întrucât există o mare diversificare clonotipică a acestor celule.

## DINAMICA RIC

Celulele cu cea mai mare implicare în realizarea RIC sînt LTC, datorită extremei diversificări clonotipice, ce permite acestor celule recunoașterea oricărei specificități antigenice. Trăsătura fundamentală a RIC o constituie declanșarea acestuia la nivel predominant intraganglionar, desfășurarea sa ulterioară fiind realizată la nivel tisular.

La baza derulării RIC stă participarea celulelor T cu memorie, deși nu toate limfocitele ce se regăsesc în sângele periferic aparțin acestei categorii. Astfel, există limfocite T naive, inocente, fără nici un contact anterior cu antigenul pentru care au fost programate genetic și limfocite T cu memorie, ce au avut contacte repetate cu antigenul pentru care au fost programate. Cele două categorii de limfocite T se diferențiază fenotipic, parcurg căi diferite și au distribuții (homing-uri) diferite la nivelul organelor limfoide secundare.

Limfocitele T naive parcurg un traseu predominant intracirculator: sânge –limfă -sânge și au un homing intraganglionar, cu rol de a spori șansele acestor celule de a întâlni antigenul specific transportat la acest nivel de CPA.

Limfocitele Tcu memorie au un trafic și homing predominant intratisular.

Prima etapă a RIC este cea de inducție, inițiată în focarul antigenic, dar derulată mai ales intraganglionar. La finele acestei etape, are loc apariția celulelor T cu memorie și creșterea expresiei receptorilor de adeziune intercelulară la nivelul celulelor din acest focar. Această primă etapă este inițiată de pătrunderea intratisulară a antigenului, care este captat imunologic nespecific de CPA, în special de macrofagele rezidente la acest nivel. O parte dintre macrofagele implicate în acest proces rămîn la nivel intratisular, participînd la declanșarea unui proces inflamator. O altă parte dintre macrofage

migrează pe calea limfaticelor aferente și transportă intraganglionar antigenul captat la nivel tisular. Ele se stabilesc ulterior în corticala ganglionară, unde prezintă antigenul transportat celulelor T naive, aflate în permanent trafic la acest nivel. Celulele care vor recunoaște epitopii prezentați pe membranele CPA se vor activa, devenind în final limfocite T cu memorie.

Cea de a doua etapă a RIC se derulează intratisular și implică aderarea limfocitelor T cu memorie la endoteliul vascular, traversarea prin diapedeză a capilarului și cooperarea la nivelul focarului antigenic cu macrofagele rămase intratisular. Rezultatul final al acestei etape este distrugerea completă și îndepărtarea antigenului declanșator. Celulele implicate în această etapă sînt: macrofagele, limfocitele TH1, limfocitele TC CD8+ și limfocitele TC CD4+.

Limfocitele TC și celulele NK distrug celulele tinta printr-un proces de *citotoxicitate extracelulară*, prin eliberare de mediatori solubili. Astfel sînt eliminate celule singenice (infectate sau metaplaziate) și allogenice (din transplant de țesut sau organ). Liza celulelor tinta este realizată prin lezarea membranelor tinta sub acțiunea perforinei și a granzimelor și prin alterări nucleare, fragmentarea ADN fiind cea mai frecventă (apoptoză).

Granzimele sînt omologii proteazelor și catepsinelor mastocitare și ale neutrofilelor, ce contribuie la distrugerea membranelor tinta.