

КЛЕТЪЧНИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПРИ ИМУННИЯ ОТГОВОР

Доц. Милена Атанасова, д.б.
Ръководител сектор “Биология”
МУ-Плевен

Въпроси от конспекта

- 43. КЛЕТЪЧНИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПРИ ИМУННИЯ ОТГОВОР.
- 44. АКТИВИРАНЕ НА АНТИГЕН-ПРЕДСТАВЯЩИ КЛЕТКИ. АКТИВИРАНЕ НА Т-ЛИМФОЦИТИ.
- 45. АКТИВИРАНЕ НА В-ЛИМФОЦИТИ, ФАЗИ В ДИФЕРЕНЦИАЦИЯТА НА ИМУНОКОМПЕТЕНТНИТЕ КЛЕТКИ.
- 46. ТИПОВЕ ИМУНЕН ОТГОВОР. ПЪРВИЧЕН И ВТОРИЧЕН ИМУНЕН ОТГОВОР.

Фази на имунния отговор

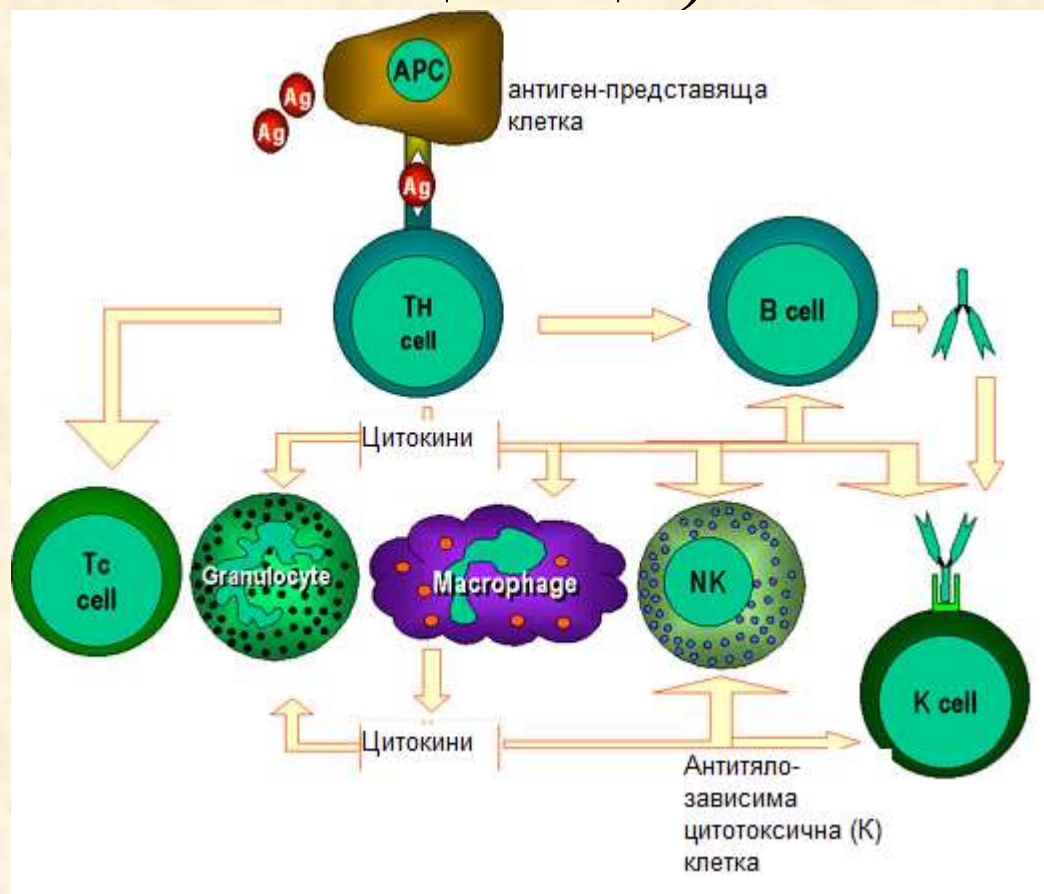
- Подготовка – в периферните лимфоидни органи – взаимодействие на 3 основни типа клетки: Т-, В-лимфоцити и АПК
- Ефекторна фаза – във всеки орган или в целия организъм

Клетъчни взаимодействия при имунния отговор

- Клетките на имунната система си взаимодействат по два начина:
 - Директен контакт (TcR-MHC)
 - Посредством цитокини по автокринен и паракринен път (γ -интерферон напр.)
- Необходими са близък контакт и рецептор за цитокина

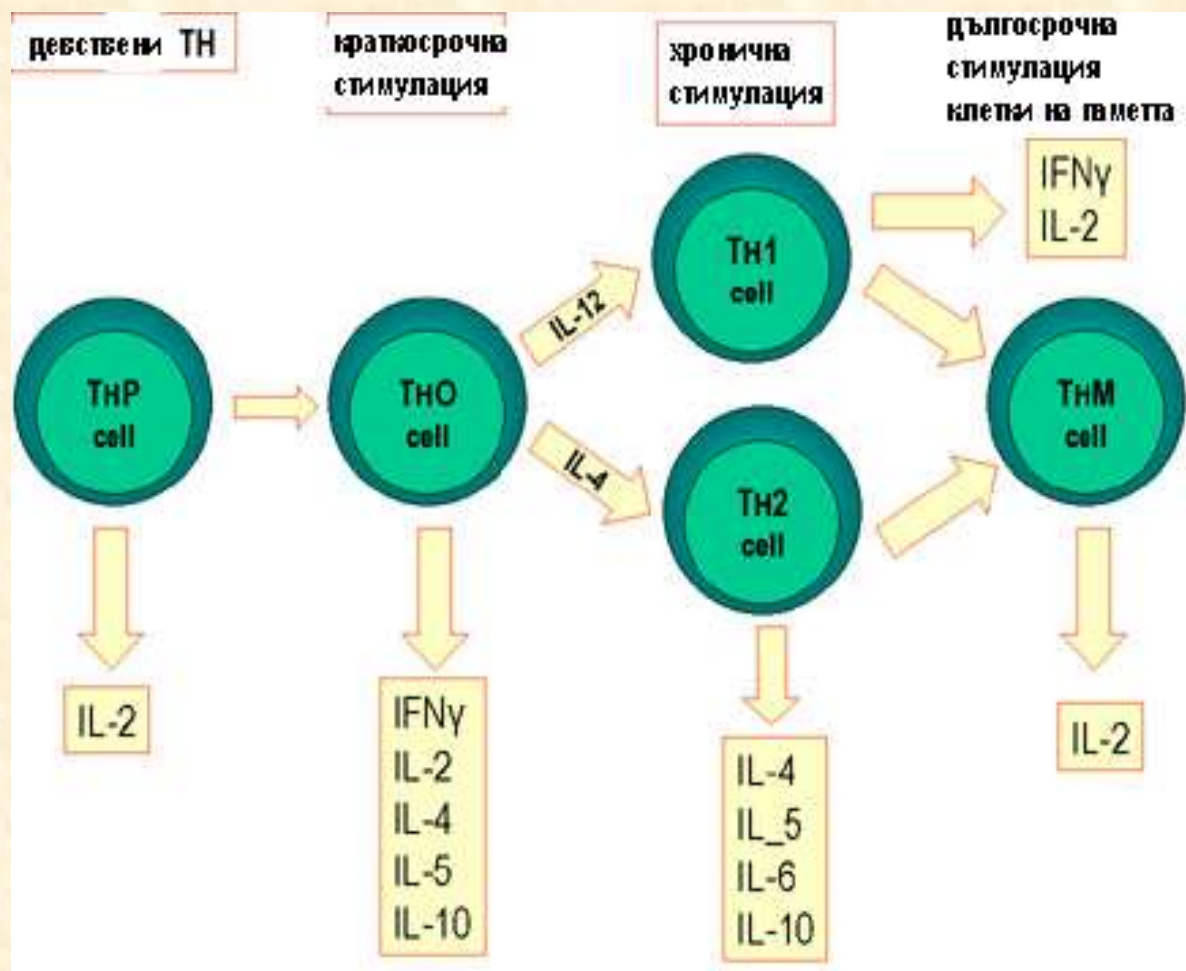
Централна роля на Th (лимфоцити-помощници)

- Определят типа на имунния отговор
 - В-клетъчна активация
 - Пролиферация на Tc
- Пролиферация на ефекторните клетки
- Увеличаване на функционалната активност на други клетки



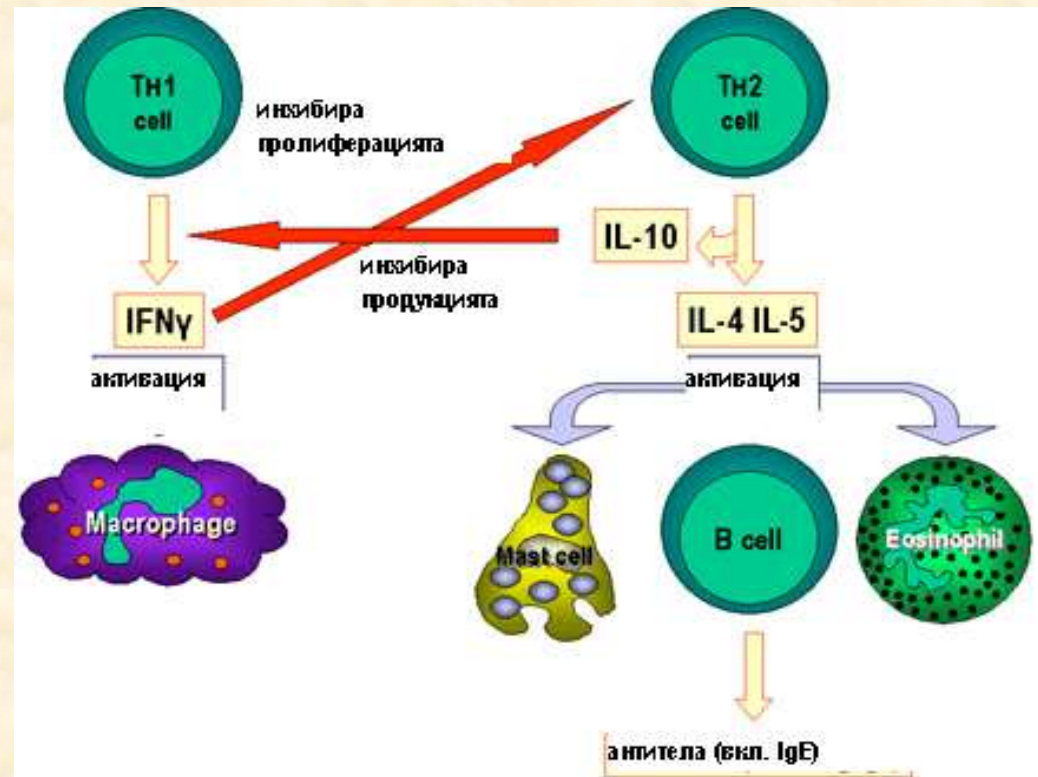
Субпопулации на Th клетки

- Разделянето им се базира на цитокиновия профил на клетката
 - Th0
 - Th1
 - Th2
- Диференциация, определена от цитокините
 - Зависи от вида на антигена
 - IL-4 - Th2 клетки
 - IL-12 – Th1 клетки



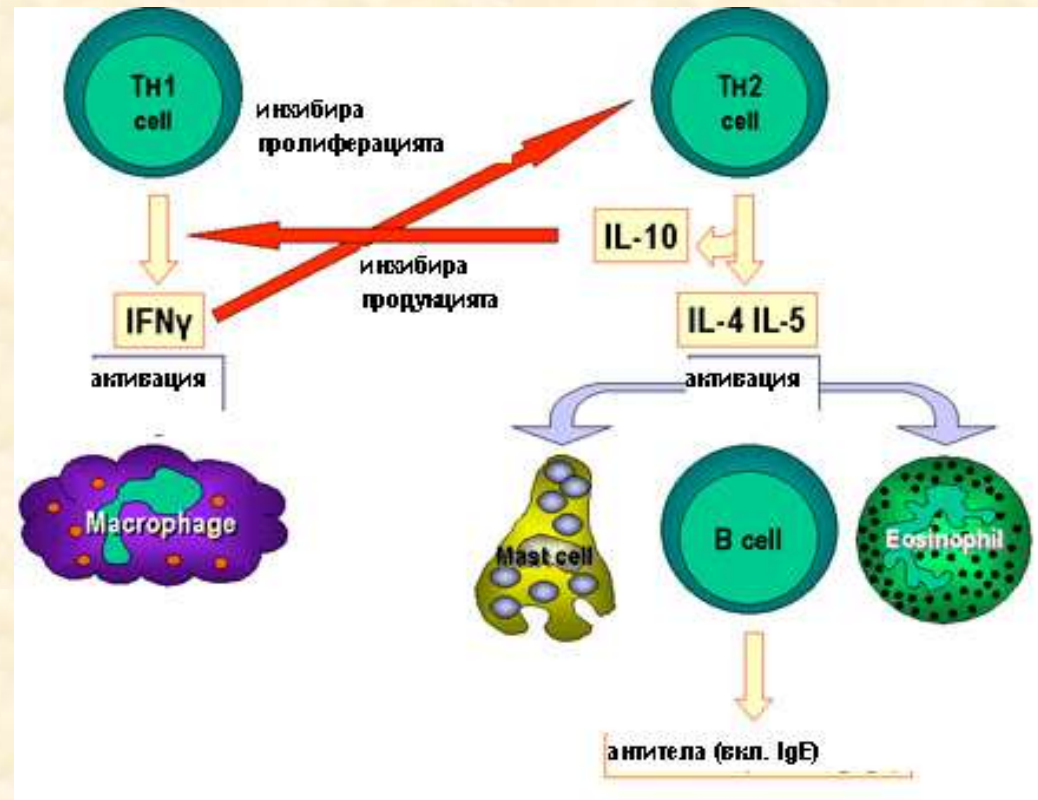
Субпопулации Th клетки

- Th1 цитокини
 - Активират макрофагите
 - Поколение от Tc
- Th2 цитокини
 - Активират В лимфоцити
 - Активират гранулоцити

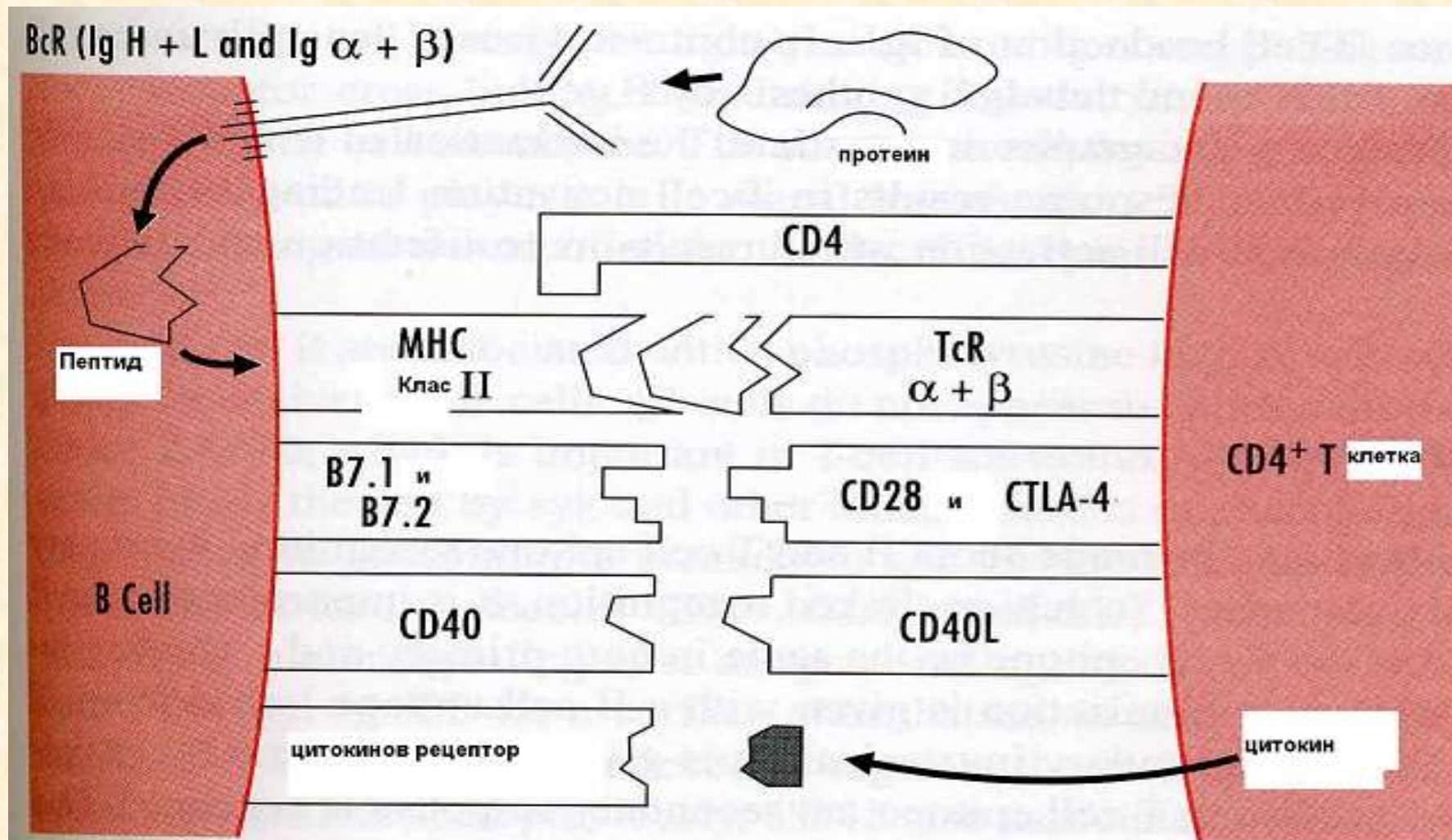


Субпопулации Th клетки

- Регулация
 - Антиген
 - INF- γ инхибира пролиферацията на Th2 клетки
 - IL-10 инхибира продукцията на INF- γ



Взаимодействие на Т- и В-лимфоцити



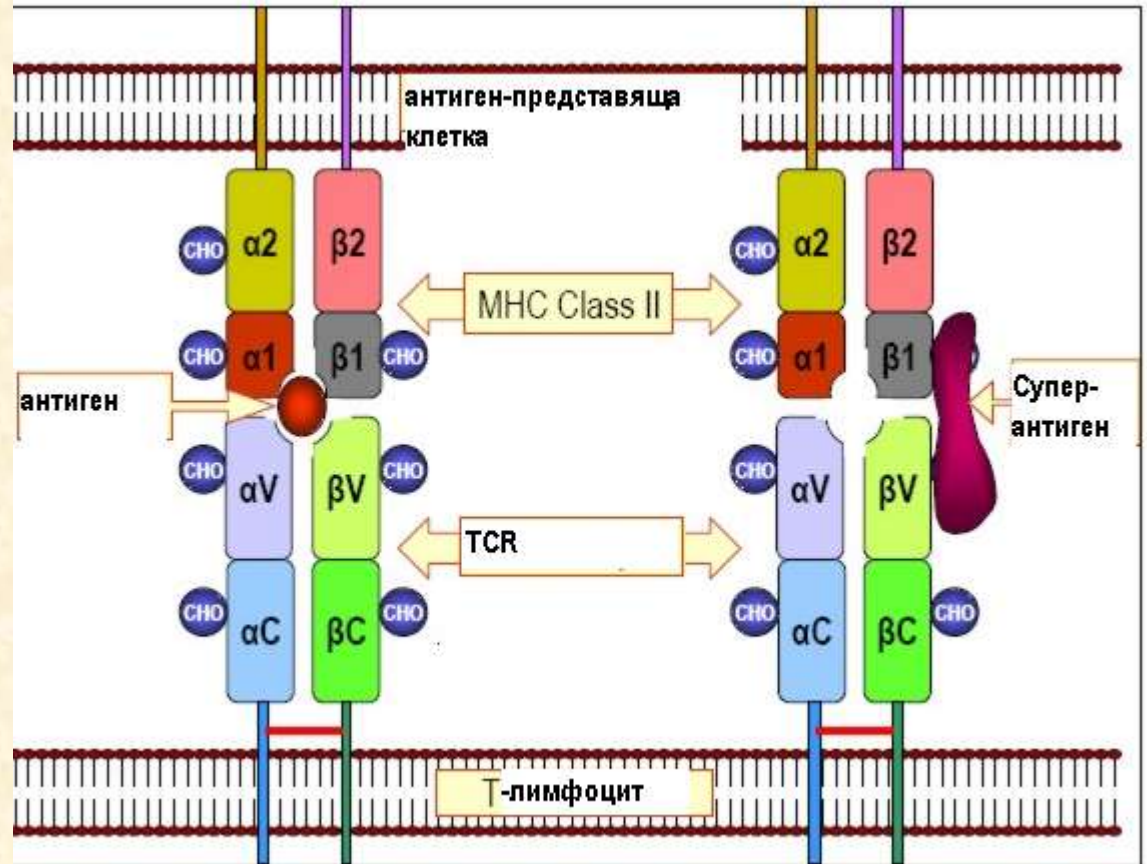
Т-независими антигени

- Т-независими антигени – активират директно В-клетките без участие на Th. Такива антигени са поливалентни антигени с еднообразни епитопи (напр. полизахариди). В резултат се синтезират ниско-афинитетни антитела от клас IgM. Липсва стимулация с интерлефкини и
- Липсва стимулация с интерлефкини и В-клетките се активират в следствие на кръстосано свързване на Ig с детерминантите на поливалентния антиген
- В резултат антиген-свързаните Ig се групират в определена област по повърхността на клетъчната мембрана – кепинг
- Не се образуват паметни клетки

Суперантигени

Бактериални или ретровирусни пептиди.

Активират множество лимфоцити поради свързането им с $V\beta$ участък от TcR



Суперантигени (продължава)

- **бактериални или ретровирусни пептиди** при разпознаването, на които Т-Ly не изисква:
 - свързване на антигена с МНС молекули
 - предварителна преработка на антигена в АПК

Суперантигени са:

- **стафилококи**, причиняващи хранителни отравяния и токсичен шок. При стафилококус ауреус, **бактериалният токсин** действа като **СА** и активира голям процент от Т-Ly. **Масираното освобождаване на цитокини**, последващо действието на СА, причинява увреждането на гостоприемника.
- **вируси** - вируса на беса.

Клетъчни взаимодействия при КИО

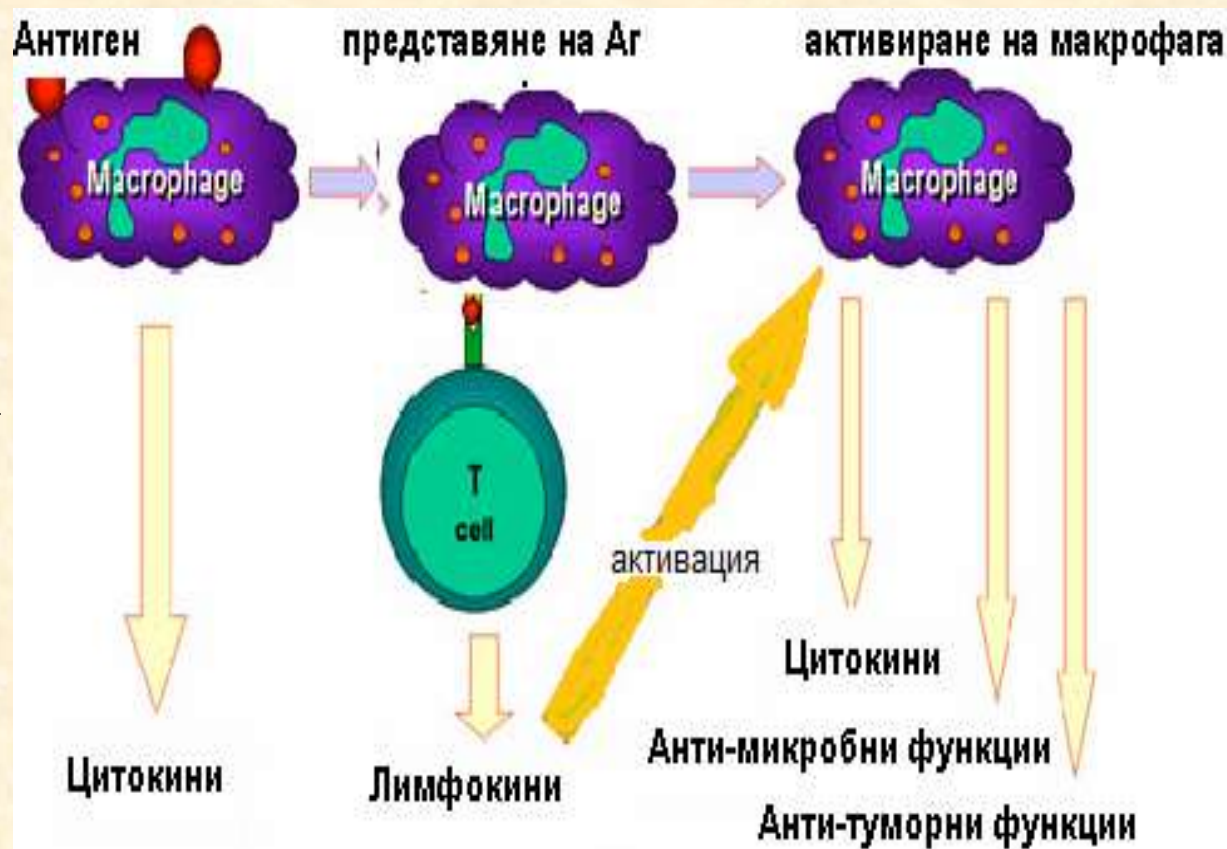
Активация на макрофагите

Отговори срещу ендогенни антигени

Убиване на интрацелуларни антигени

Централна роля на макрофагите за специфичния имунитет

- Начална защита
 - Неспецифичен имунитет
- Антигенно представяне
 - Активация на Th
- Ефекторни функции
 - Продукция на цитокини
 - Анти-микробни
 - Анти-туморни



Подробни функции на макрофагите

Възпаление, Продукция на: IL-6, TNF-alpha, IL-1 – действа като пироген

Имунитет

Селектира лимфоцитите, които трябва да се активират:

IL-12 предизвиква Th1 активация

IL-4 предизвиква Th2 активация

Активация на лимфоцитите:

Продукция на IL-1

Преработване и представяне на антигена

Реорганизация на тъканите,

Секреция на множество фактори:

Деградационни ензими (еластази, хиалоронидази, колагеназа)

Фибробласт-стимулиращи фактори

Стимулация на ангиогенеза

Увреждане на тъканите

хидролази, производство на водороден пероксид, Комплемент C3a

TNF- α продукция

Анти-микробно действие

O₂–зависима продукция на:

водороден пероксид, супероксид,

хидроксилни радикали, хипохлорна киселина

O₂-независима продукция на:

кисели хидролази, катионни протеини, лизозим

Анти-туморна активност продуцирана от:

Токсични фактори

Водороден пероксид

Комплемент C3a

протеази

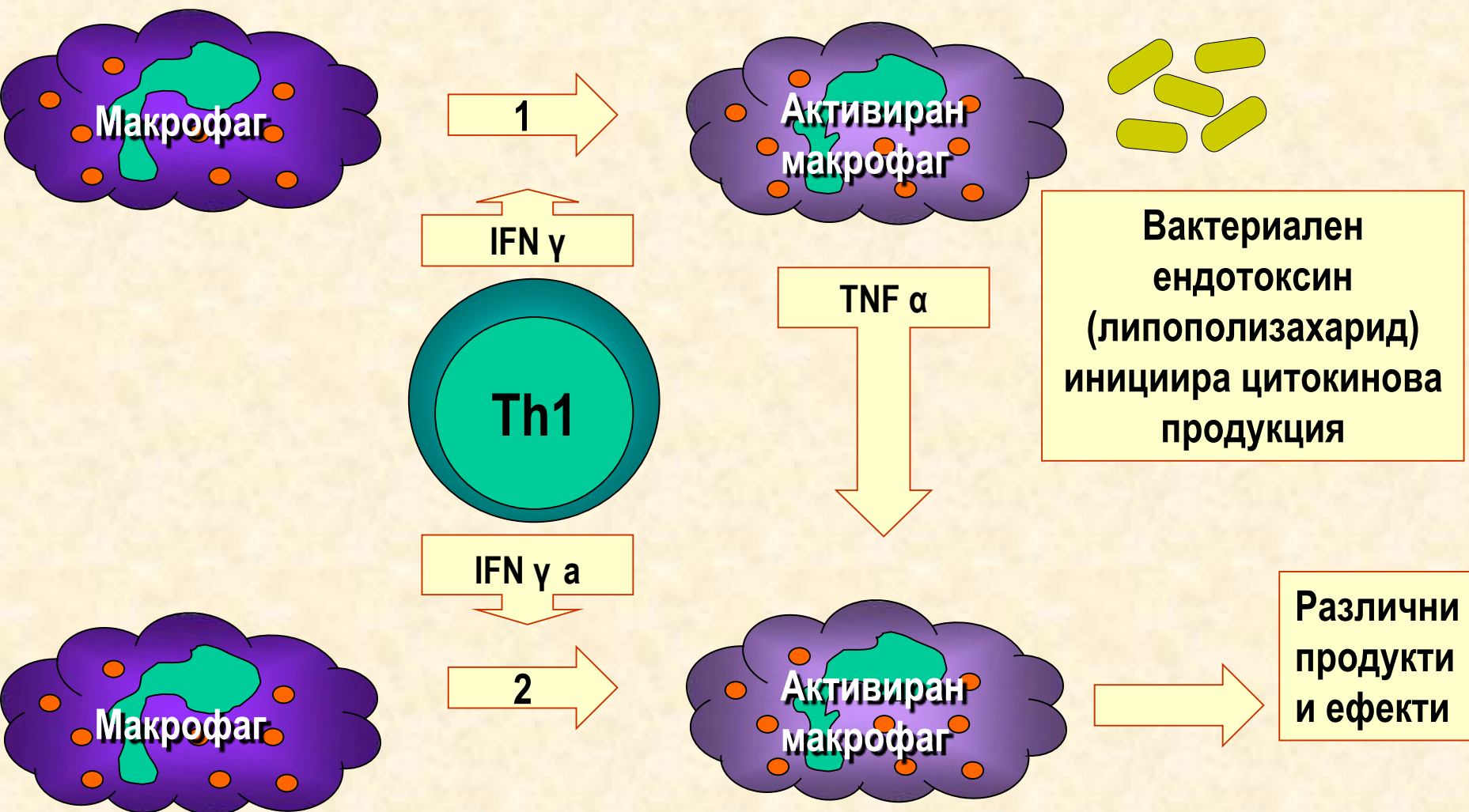
NO

TNF- α

Активация на макрофагите

- Множество ефекторни функции, като резултат от активацията
- Два пътя за активация
 - IFN- γ произведен от Th1 плюс бактериални продукти (ендотоксини; липополизахариди)
 - IFN- γ произведен от Th1 плюс TNF- α произведен от макрофаги

Механизми на макрофагната активация



Антиген-представящи клетки

	Макрофаги	Дендритни клетки	В-клетки
МНС-II експресия	Ниски нива. Индукирани от бактерии и/или цитокини	Винаги експресирани	Винаги експресирани. Индукирани при активация.
Тип на антигена и представяне чрез МНС	Екстрацелуларни Аг: чрез МНС-II	Екстрацелуларни и интрацелуларни Аг: чрез МНС-I и II	Екстрацелуларни Аг- свързани към специфични Ig молекули: чрез МНС- II
Костимулация (експресия на B7)	Ниски нива. Индукирани от бактерии и/или цитокини	Винаги експресирани. Високи нива.	Ниски нива. Индукирани при активация.
Локализация	Лимфоидна тъкан, Съединителна тъкан, Телесни пазнини	Лимфоидна тъкан Съединителна тъкан, Епител (Лангерхансови клетки)	Лимфоидна тъкан, Кръв

Клетъчни взаимодействия при КИО

Продукция на цитотоксични Т-клетки

Отговори срещу ендогенни антигени в цитозола

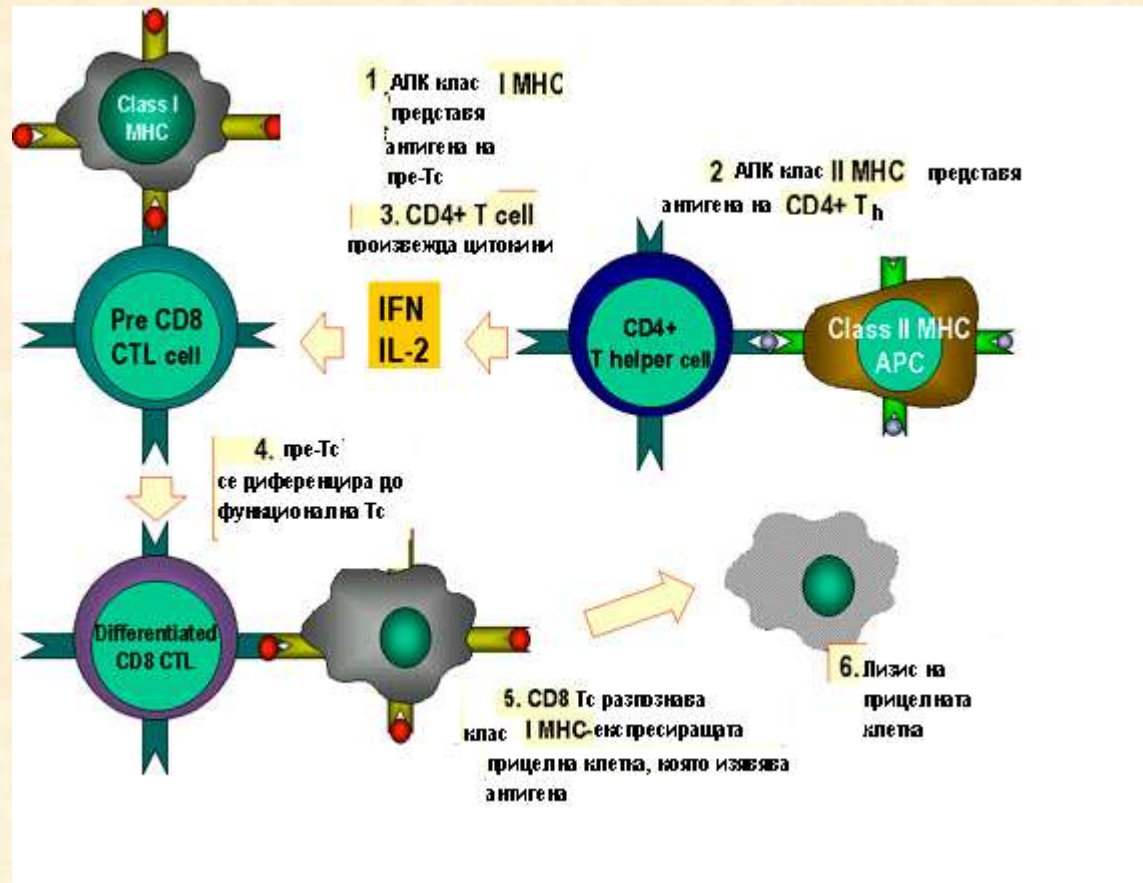
Унищожаване на вирус-инфектирани и туморни
клетки

Цитотоксични Т клетки (Тс)

- Тс не са напълно зрели при излизането им от тимуса
 - Имат TCR асоцииран с class I МНС молекули
 - Не могат да убиват
 - Наричат се “пре-Тс”
 - Трябва де се диференцират в активни Тс-клетки

Генериране на Тс

- Диференцират се в отговор на два сигнала
 - Специфичен антиген, асоцииран с клас I MHC
 - Цитокини, секретирани от Th1 клетки



Особености на действието на Тс

- Антигенно-специфично
 - Прицелната клетка трябва да носи на повърхността си същият антиген, асоцииран с клас I МНС
 - Подсигуряване, че близки клетки няма да бъдат унищожени също
- Тс са способни да унищожават много прицелни клетки
 - Тс не се увреждат при унищожаването на целта

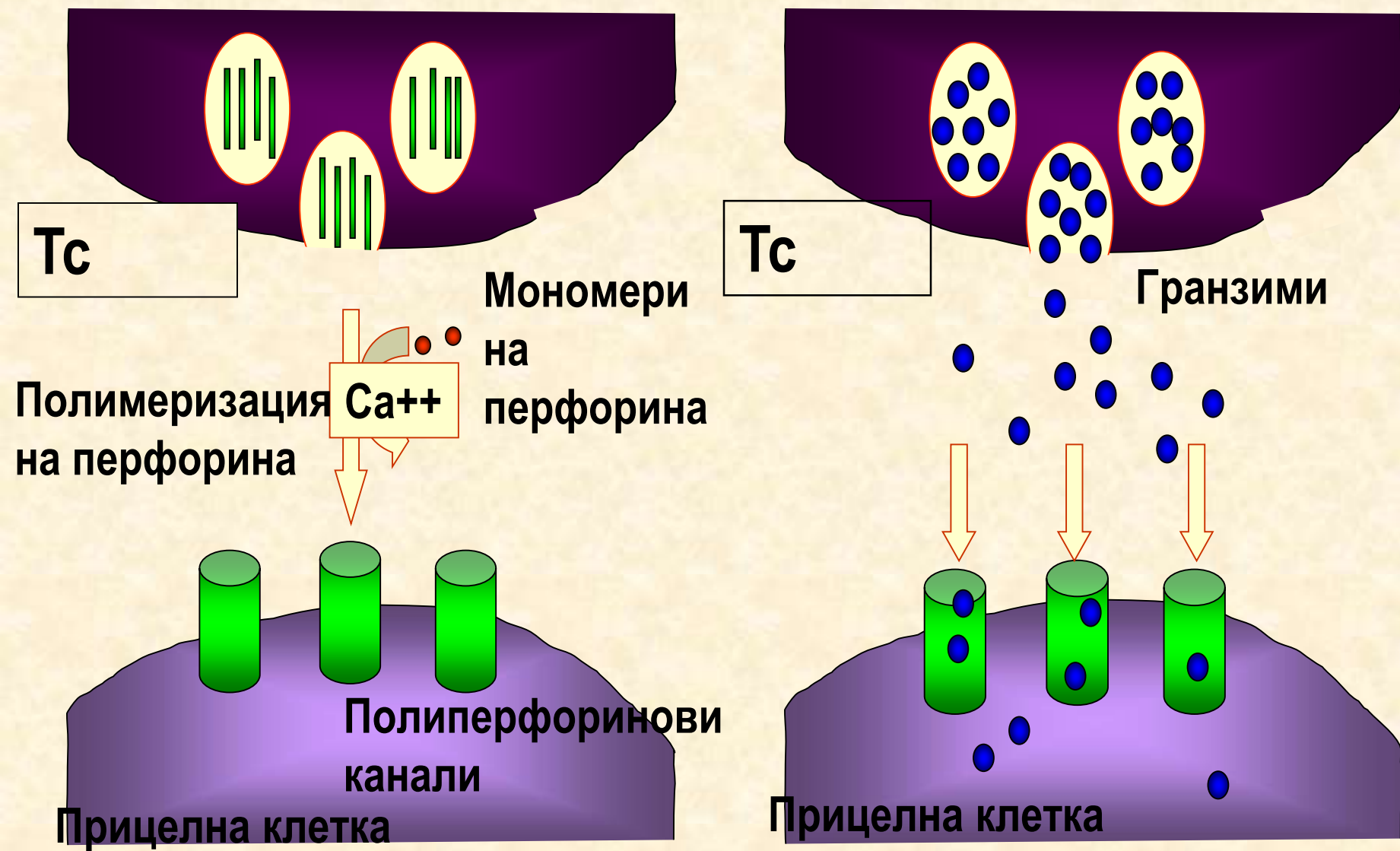
Механизъм на действие на Тс

- Тс използват различни механизми
 - Директен контакт с клетката чрез повърхностни молекули
 - Индиректно сигнализиране чрез цитокини

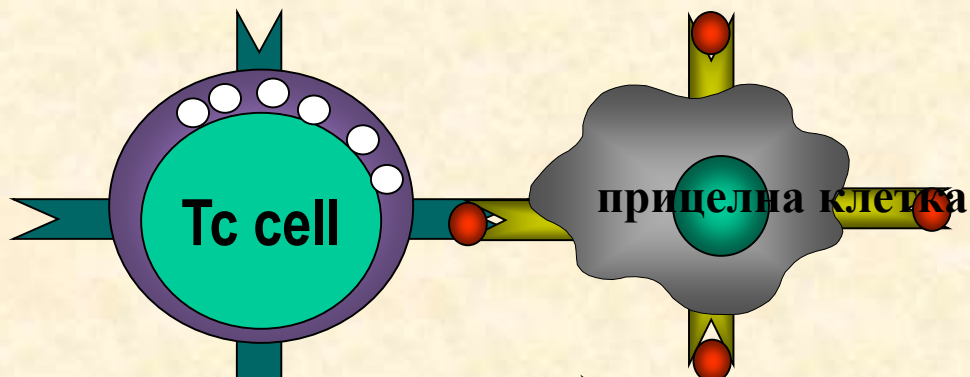
Механизъм на действие на Тс

- Тс секретират гранули, съдържащи перфорин и гранзими
- Перфоринът полимеризира и образува пори в мембраната на прицелната клетка
- Гранзимите (серинови протеази) навлизат през порите и активират каспазите*, като резултатът е апоптоза на прицелната клетка
- *Каспазите или цистеин-зависими, аспартат-съдържащи протеази, са семейство цистеинови протеази, имащи важна роля при апоптозата (програмираната клетъчна смърт) и процесите на некроза и възпаление

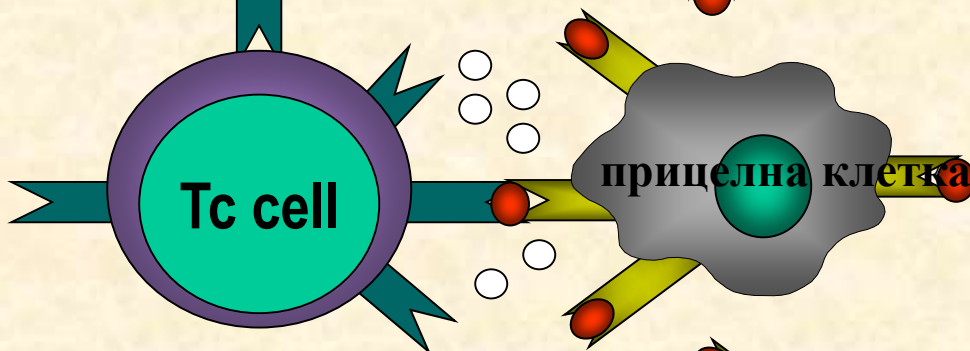
Механизъм на действие на Тс



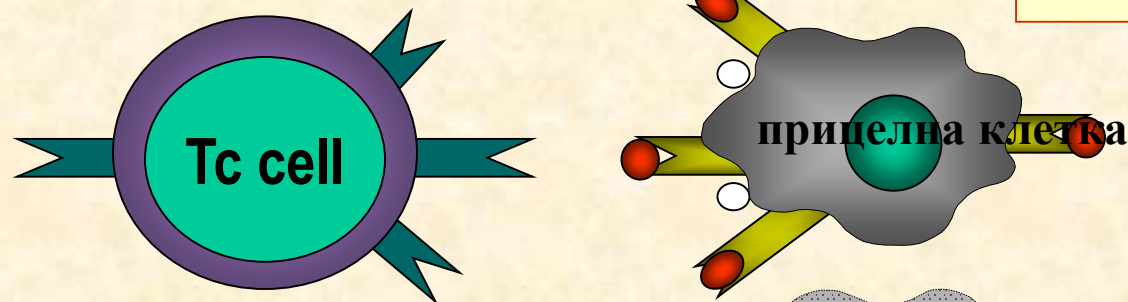
Етапи



1. Тс разпознава антигена на повърхността на прицелната клетка



2. Летален удар чрез секреция на гранзими или $\text{TNF-}\beta$ (при антитяло-зависимата клетъчна цитотоксичност)

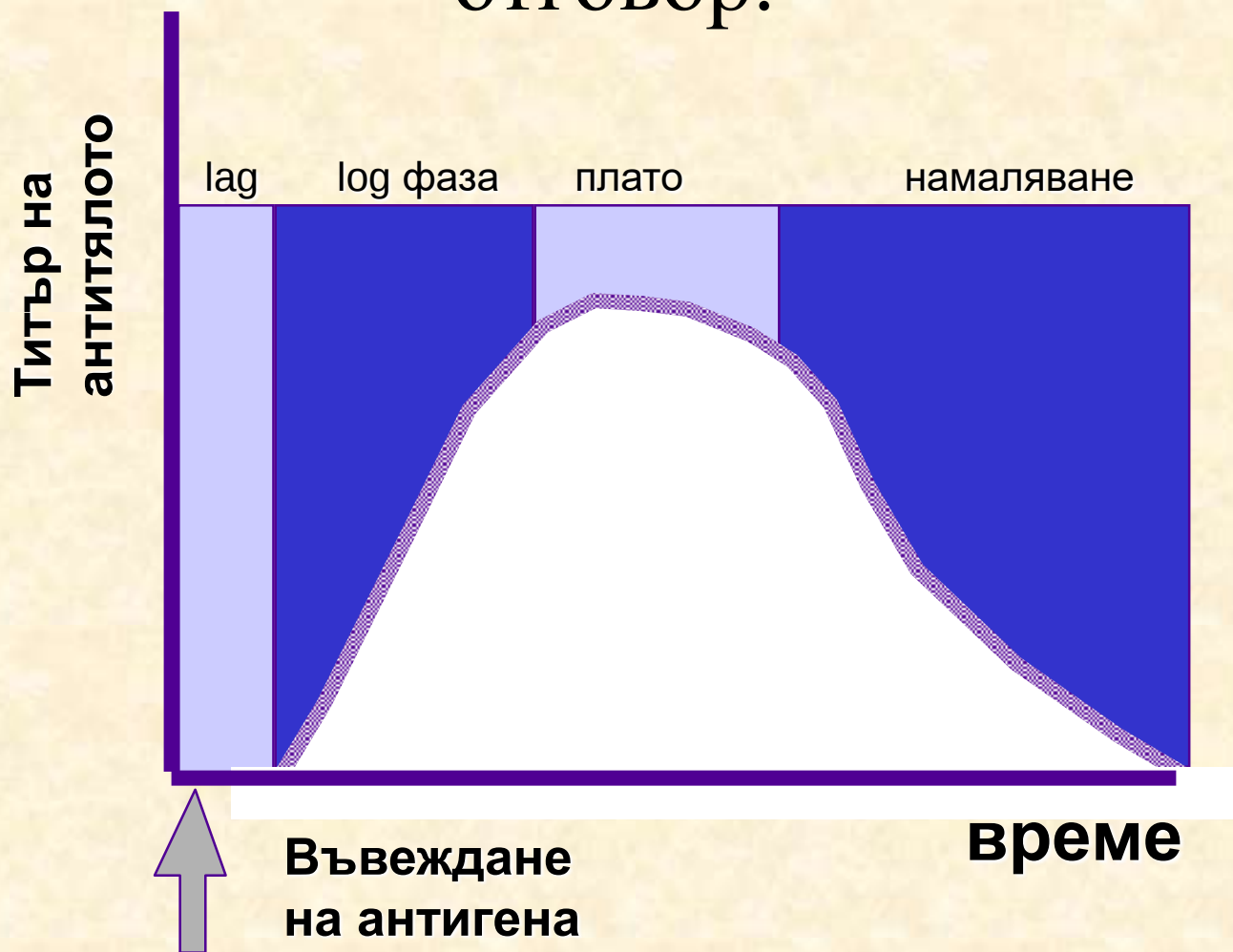


3. Тс се отделя от прицелната клетка



4. Прицелната клетка умира от апоптоза

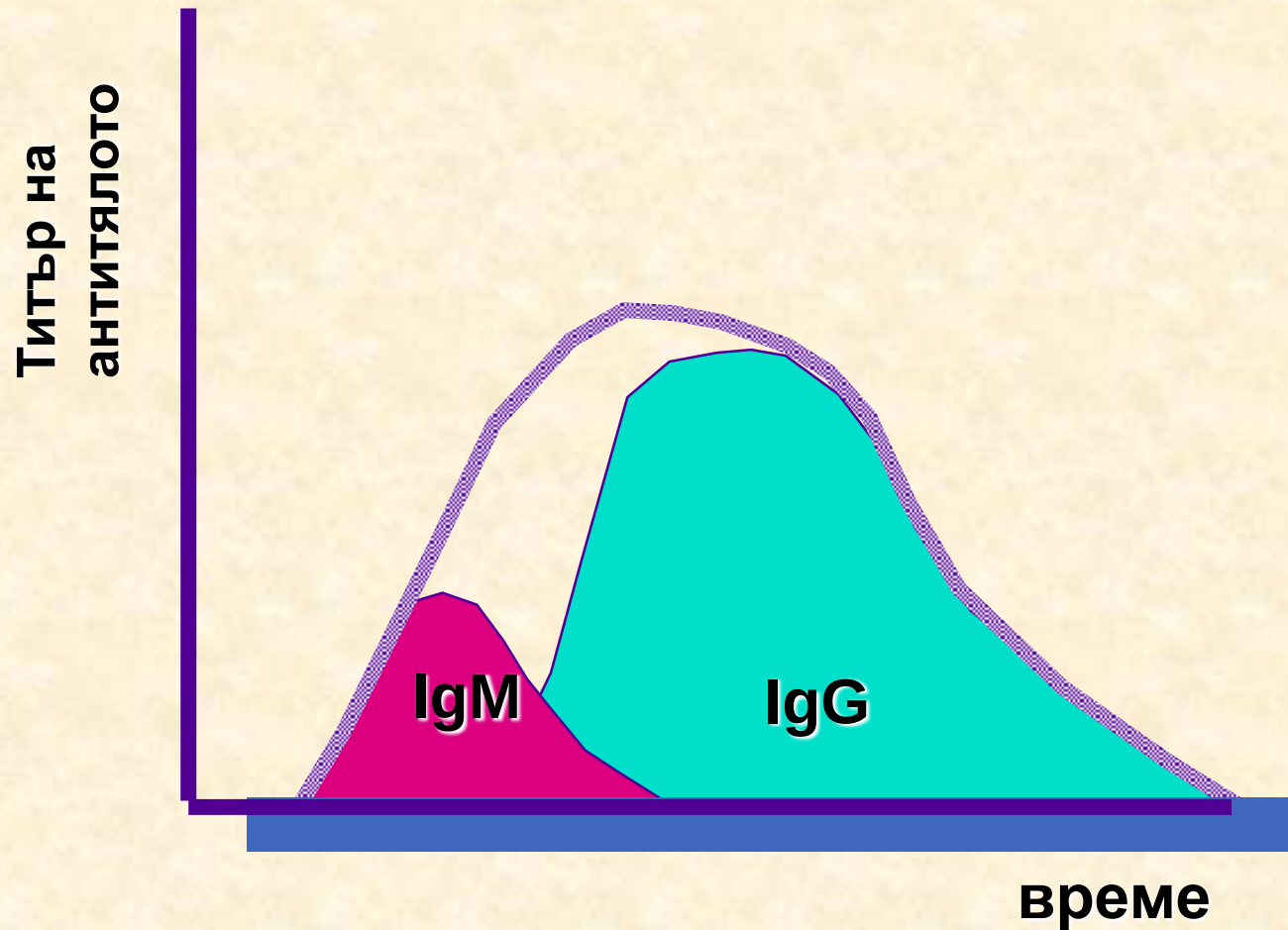
Първичен и вторичен имунен отговор.



Четири фази на ИО

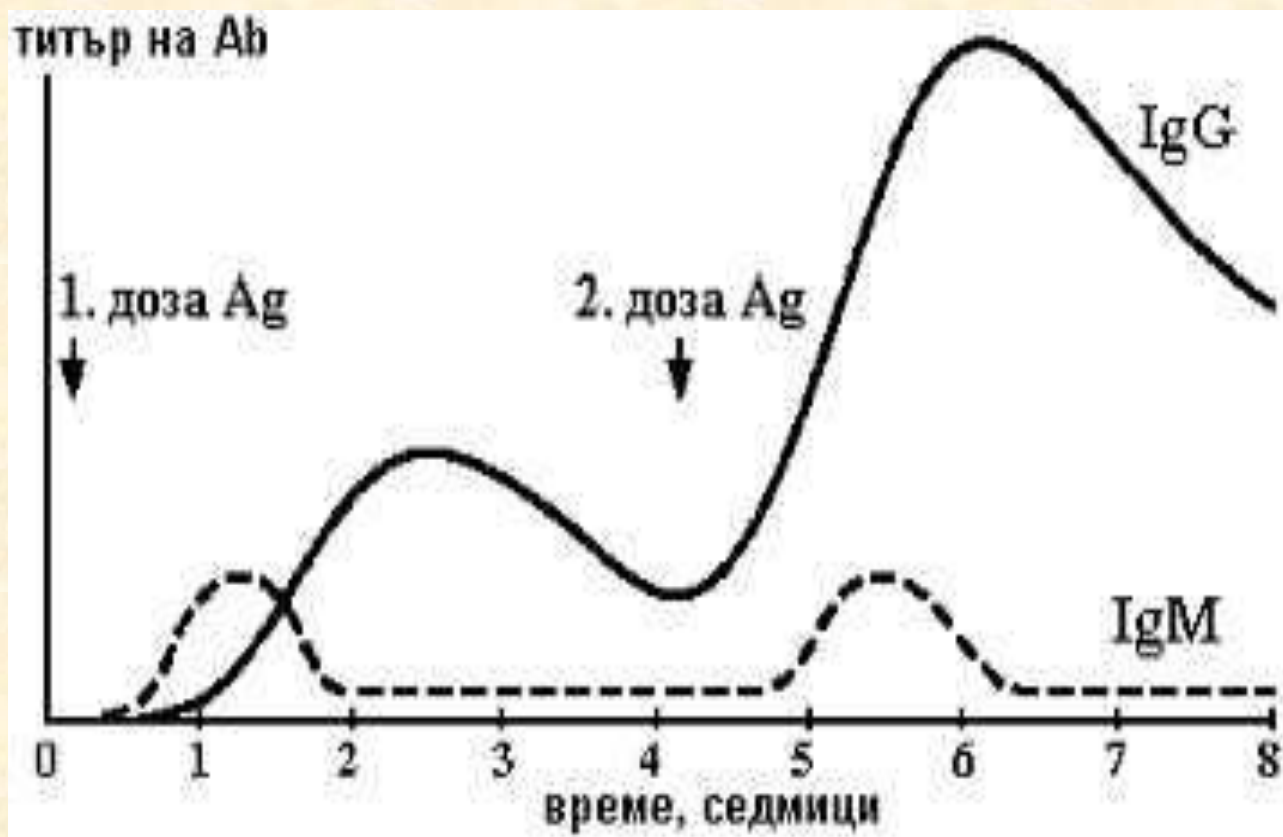
- *lag* фаза - антитялото може да се регистрира
- *log* фаза - титъра на антитялото нараства логаритмично
- Фаза на платото - концентрацията на антитялото остава непроменена
- Намаляване на концентрацията на антитялото

Превключване на класа антитяло



Сравнение на първичния и вторичния ИО

- Време
- Титър на антитялото
- Клас антитела
- Афинитет на синтезираните антитела



- Първичен ИО

- При първа среща на организма с антигена - твърде малко клетки разпознават този антиген.

- ИО не може да се регистрира през първите няколко дни.

- През следващите 10 – 15 дни антитяловата продукция нараства постепенно

- В началото се синтезира IgM с пик след около 2 седмици. Тимус-зависим

- Вторичен ИО

- По-бърз отговор към антиген, познат за организма
- съществуват клетки на паметта. Продукцията на антитела се увеличава бързо за много по-кратък период (4-5 дни)
- Бърза пролиферация на Т ефекторни клетки
 - Класове IgG, IgA и IgE с по-висок афинитет и специфичност

- Изисква имунологична памет по отношение на Т- и В-клетките

Клетъчни взаимодействия при антитяловия отговор (ХИО)

Отговор на екзогенни антигени

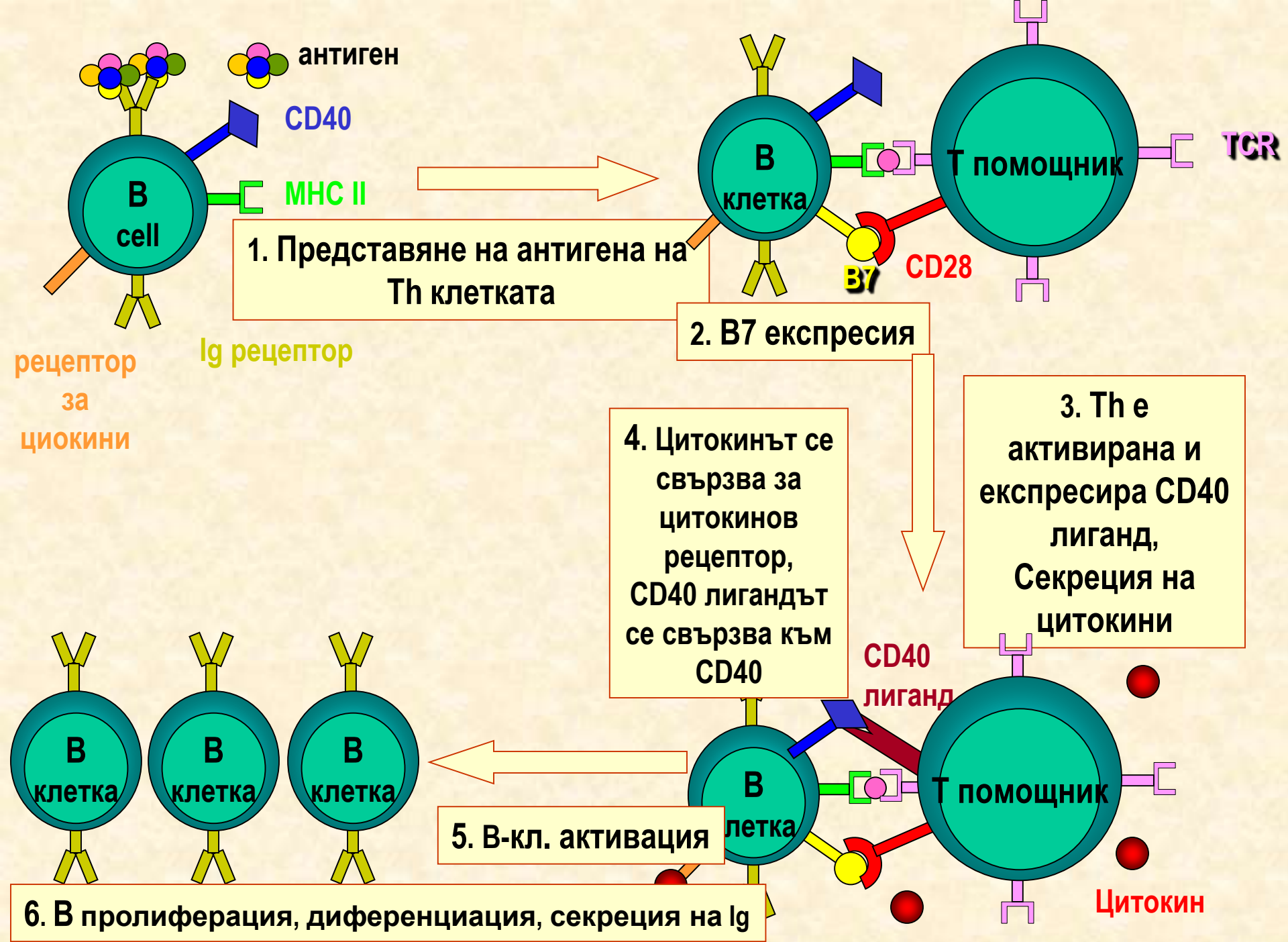
- Т-зависими антигени – индуцират синтез на антитела с участието на Th
- Стимулират В-клетки към пролиферация и диференциране в плазматични клетки

Уникалност на В-клетките

- Експресират на повърхността си Ig молекули и клас II МНС
- Способни са да произвеждат антитела със същата специфичност като тази на повърхностните Ig

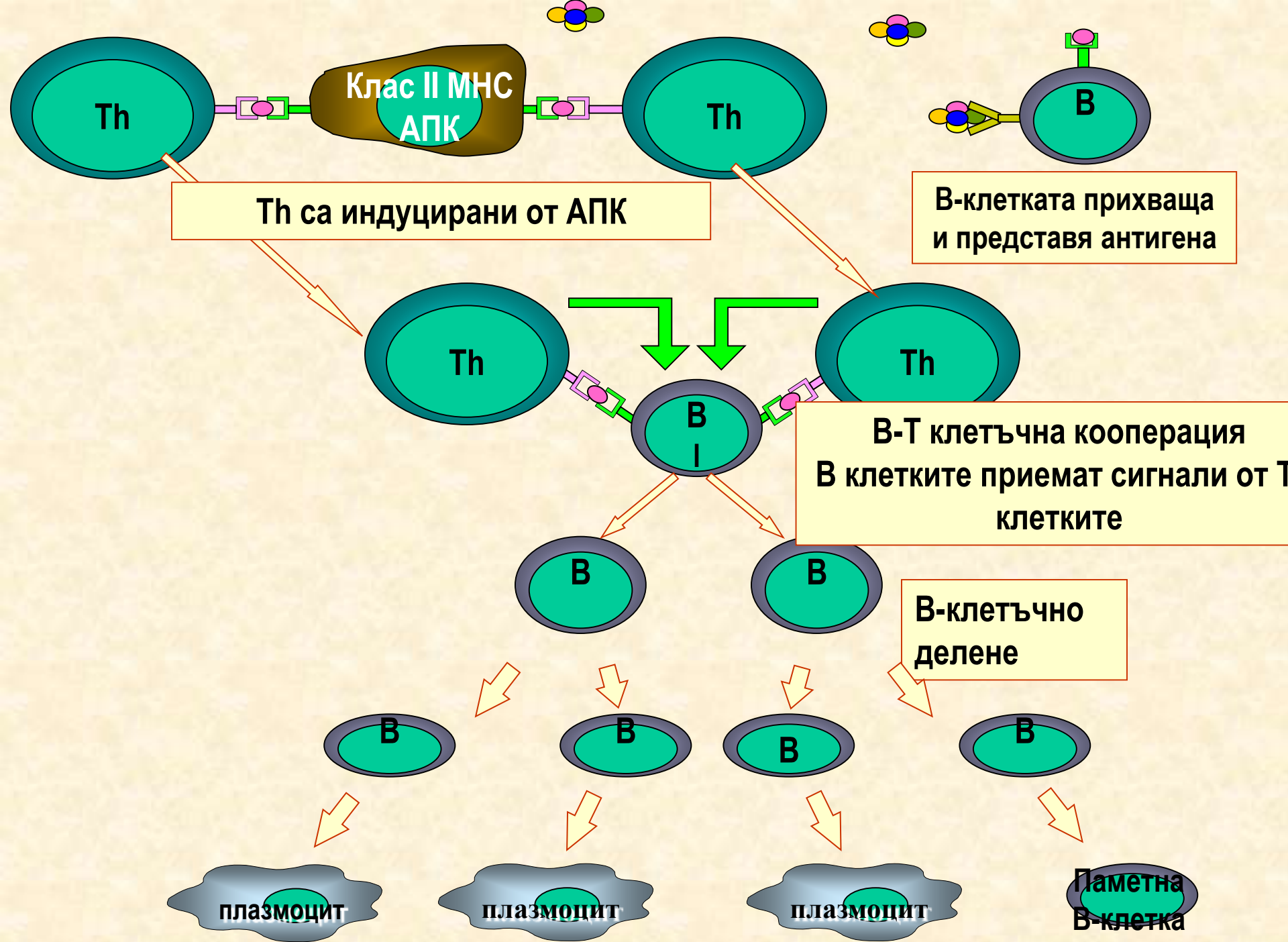
и

- Могат да функционират като антиген-представящи клетки



Клетъчни взаимодействия при първичен имунен отговор

- В-клетките не са най-добрите АПК при първичния имунен отговор
 - Дендритни клетки
 - Макрофаги
- Т_h могат да се свържат с други АПК преди взаимодействието с В-клетките



Клетъчни взаимодействия при вторичен имунен отговор

- В и Т-паметни клетки като резултат от първичния имунен отговор
- В-клетките имат високо-афинитетни Ig рецептори
 - свързват антигена в много по-малки концентрации отколкото други АПК без Ig рецептори
- Паметните Т-клетки се активират много по-лесно от девствените Т-клетки
- В-Т клетъчните взаимодействия са достатъчни за да генерират вторични антитялови отговори

В-клетки при вторичен ИО

- Паметни клетки продуцирани по време на първичния ИО
- Притежават високо-афинитетни Ig рецептори
- Могат да регистрират антигените в много по-ниски концентрации отколкото другите АПК, които не притежават Ig антигенни рецептори

ИО срещу хаптен-носител

- При антицялов ИО към свързани хаптен-носител се изискват Т и В клетки за продукция на антитела
- Th-клетките разпознават антигенните детерминанти на носителя
- В-клетките разпознават антигенните детерминанти на хаптена
- Взаимодействията са рестриктирани от клас II МНС
- В-клетките участват при антигенното разпознаване и представяне

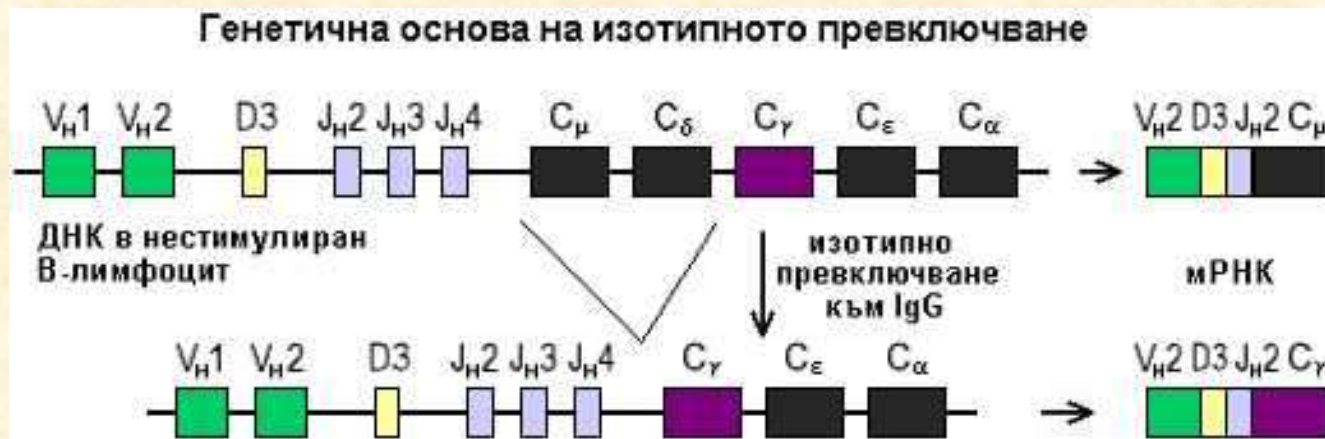
Хаптени - *Малки молекули* (обикновено < 1000 Мт) не могат да предизвикат ИО самостоятелно, а само свързани с молекула носител

Механизъм на ИО срещу хаптен-носител

- Хаптенът се разпознава от Ig рецептор върху В клетката (I сигнал)
- Комплексът хаптен-носител се поглъща от клетката чрез ендоцитоза и се преработва
- Антигенните детерминати се представят свързани с II клас МНС на Th2 клетките
- Активираните Th клетки произвеждат цитокини и CD40-лиганд
- CD40-лигандът взаимодейства CD40 за да активира В-клетката (II сигнал)
- Цитокините насочват пролиферацията и диференциацията на В-клетките към производство на анти-хаптен антитела

Цитокини и превключване на класа

- Th секретират цитокини не само стимулират пролиферация и диференциация на В клетките
- Те участват и в регулацията на класа на произвежданото антитяло



Соматична хипермутация

- Част от процесите на антиген-зависимото диференциране на В-лимфоцитите
- Процес при който в резултат на мутация на гените за вариабилните области, лимфоцитите имат същата специфичност като своя предшественик (т.е. разпознават същия антиген), но сродството им към антигена често е променено, като в едни случаи е засилено, а в други – отслабено.

Соматична хипермутация (продължава)

- Лимфоцитите, които произвеждат антитела с по-висок афинитет, се стимулират да се делят и така се отбират в хода на имунния отговор.
- Соматична хипермутация извършват само клетките, осъществили изотипно превключване. Затова антителата от клас IgM рядко имат висок афинитет към антигена, докато при IgG, IgA и IgE това е често явление

Цитокини и превключване на класа

Цитокини	IgG1	IgG2a	IgG2b	IgG3	IgA	IgE	IgM
IL-4	↑	↓		↓		↑	↓
IL-5					↑		
IFN- γ	↓	↑		↑		↓	↓
TGF- β			↑	↓	↑		↓

Клетъчни взаимодействия при антитялови отговори

Отговор на екзогенни антигени
Т-независими антигени

Тимус –независими антигени

- Активират В-клетките във високи концентрации директно без участие на Th
- Големи полимерни молекули с повтарящи се антигенни детерминанти Т-независими антигени – активират. Такива антигени са поливалентни антигени с еднообразни епитопи (напр. полизахариди). В резултат се синтезират ниско-афинитетни антитела от клас IgM.
- Слабо разграждащи се
- Някои активират и незрелите и зрелите В-клетки; някои само зрели В-клетки
- При ИО преобладават CD5 В клетките

Т-независими антигени

- Липсва стимулация с интерлефкини и В-клетките се активират в следствие на кръстосано свързване на Ig с детерминантите на поливалентния антиген
- В резултат антиген-свързаните Ig се групират в определена област по повърхността на клетъчната мембрана – кепинг
- Не се образуват паметни клетки

Клетъчни взаимодействия при ИО срещу Т-независими антигени

- Няма клетъчни взаимодействия
- Активацията на В-клетки се осъществява без участието на собствени II МНС-рестриктирани Т-клетки
- Полимерният строеж на тези антигени позволява кръстосаното свързване на антигенните рецептори върху В-клетките и резултатът е активация
- Няма вторичен отговор, афинитетно узряване или превключване на класа

CD5+ B cells

- CD5+ B клетки (B1) - популация от B клетки, които се различават от обикновените B клетки (B2)
- Свойства:
 - Появяват се първи през онтогенезата
 - Експресират повърхностни IgM, но малко или почти без IgD
 - Произвеждат молекули първичен IgM от минимално мутирани (пренаредени) герминативни гени
 - Антителата са ниско-афинитетни и могат да свързват различни антигени (полиреактивни са)
 - Представяват по-голямата част от IgM в серума на възрастни

CD5+ В клетки

- Свойства: (продължава)
 - Не се развиват в паметни клетки
 - Самообновяващи се (не се подновяват от стволови костномозъчни клетки)
 - Населяват периферните тъкани
 - Преобладаващата част В-клетки в перитонеалната кухина
- Значение
 - Главна защита срещу много патогени с полизахаридни клетъчни обвивки
 - Индивиди с Т-клетъчни дефекти могат да противодействат на бактериални инфекции

CD5 В –клетки и конвенционални В-клетки

<u>Свойства</u>	<u>CD5 В клетки</u>	<u>В клетки</u>
Развитие	Ранно	Късно
Обновяване	Само- обновяване	от костния мозък
Продукция на Ig	висока	ниска
изотипове	IgM>>IgG	IgG>IgM
Свързване на различни лиганди	Да	Не

Имунна памет

- Имунна памет – способността на ИС да различава антигените с които вече е имала контакт от новопоявилите се
- Паметни клетки – Т и В-клетки, различни от ефекторните и от нестимулираните (девствени) клетки
 - Имат висок афинитет към антигена
 - При повторна среща се активират бързо
 - Т-паметните клетки имат дълъг живот, бивши ефекторни клетки

Имунна памет (продължава)

- В-паметните клетки – произхождат от В-лимфоцити претърпели изотипно превключване с висок афинитет към антигена.
- Диференцират се под контрола на Th
- Къс живот – няколко седмици
- Трайният имунитет срещу антиген изискващ хуморален ИО се дължи на ...

- Th-клетки на паметта

Активна имунизация - ваксинация

- Базира се на феномена на вторичния имунен отговор
- Въвеждане на безвреден патоген или отделни негови компоненти, срещу които ИС реагира с първичен имунен отговор и изграждане на имунна памет
- Хуморален отговор при имунизация с убити патогени или отделни компоненти (повърхностни белтъци или безвредени токсини (токсоиди))
- Клетъчен имунитет се изгражда при имунизация с живи отслабени (атенюирани) патогени. Използва се при микобактерии и вируси .

Цитокини

Протеини:

- различни от антителата
- действат като медиатори между клетките
- според клетките които ги синтезират се класифицират като:
 - Монокини – мононуклеарни фагоцити
 - Лимфокини – аактивирани Т клетки, Th
 - Интерлевкини – (IL) с номерация

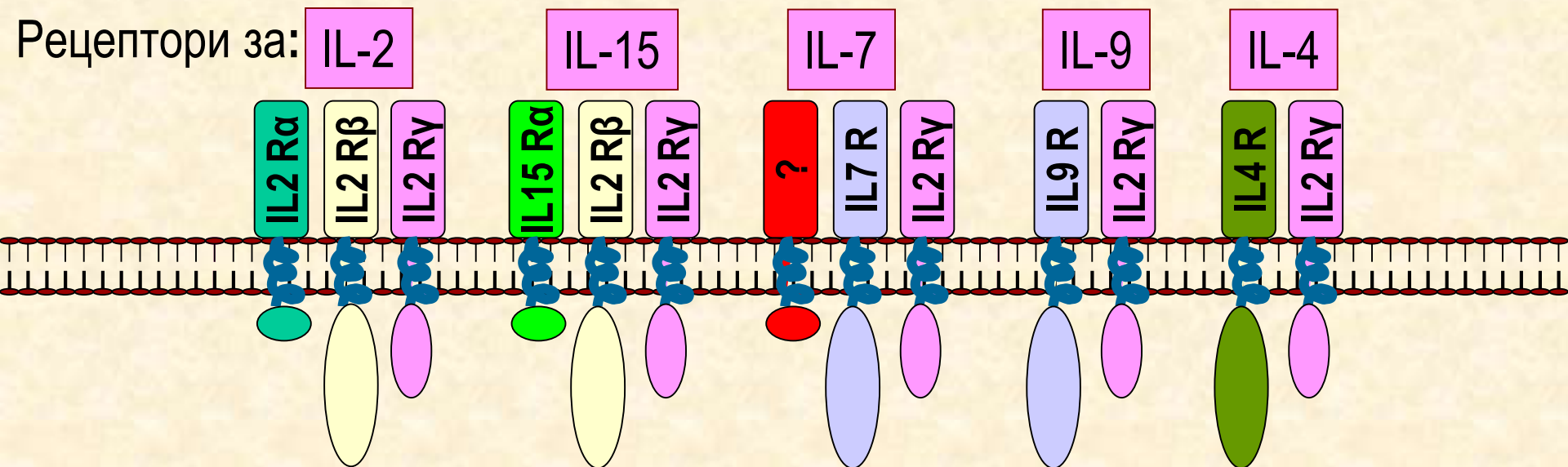
Свойства на цитокините

1. Произвеждат се от клетки, участващи в вродения и придобития имунитет
2. Медиират и регулират ИО
3. Кратка по време и ограничена по място секреция
 - не се съхраняват
 - синтеза се инициира от генна транскрипция
 - кратко-живееща иРНК
 - произвеждат се при необходимост

Свойства на цитокините (продължава)

4. Произвеждат ги различни клетъчни
типове

5. Могат да имат сходно действие



Свойства на цитокините (продължава)

6. Могат да повлияят синтеза на други цитокини
 - каскадно действие
 - усилят или подтискат продукцията на други цитокини
 - упражняват положително или отрицателно действие върху регулаторните механизми на ИО
7. Повлияват действието на други цитокини — могат да бъдат **антагонисти, адитиви и синергисти**

Свойства на цитокините (продължава)

8. Свързват се с рецепторите с висок афинитет
9. Клетките, отговарящи на цитокините могат да бъдат:
 - същите които ги секретират (**автокринно действие**)
 - близко-стоящи (**паракринно действие**)
 - отдалечени клетки чрез циркулацията (**ендокриннодействие**)
10. Клетъчните отговори на цитокините са бавни, изискват нови иРНК и синтез на протеини

Медиатори и регулатори на естествения имунитет

- Тумор-некротичен фактор- α (TNF- α)
- Интерлевкин-1 (IL-1)
- Хемокини (**Хе**мотаксични цито**ки**ни)
- Тип I Интерферони (IFN- α and IFN- β)
- Интерлевкин -12 (IL-12)
- Интерлевкин -10 (IL-10)

Тумор-некротичен фактор- α (TNF- α)

- Произвеждат го активирани макрофаги
- Най-важният медиатор при възпаление в отговор на Gram-негативни бактерии (срещу липополизахариди)
- Медира въвличането на неутрофилите и макрофагите на местата с възпаление
- Предизвиква треска като въздейства на хипоталамуса
- Предизвиква синтеза на острофазови протеини

Интерлевкин-1 (IL-1)

- Произвежда се от активирани макрофаги
- Ефектите му са подобни на действието на $\text{TNF-}\alpha$

Тип I Интерферони (IFN- α и β)

- IFN- α - група протеини произвеждани от макрофаги, IFN- β единичен протеин произвеждан от множество клетки
- И двата интерферона инхибират вирусната репликация
- И двата увеличават експресията на клас I МНС
- И двата активират NK клетките

Интерлевкин-12 (IL-12)

- Произвеждат го активирани макрофаги и дендритни клетки
- Стимулира продукцията на IFN- γ
- Индуцира диференциацията на Th клетките към Th1
- Усилват цитолитичната функция на Tc и NK клетките

Интерлефкин-10 (IL-10)

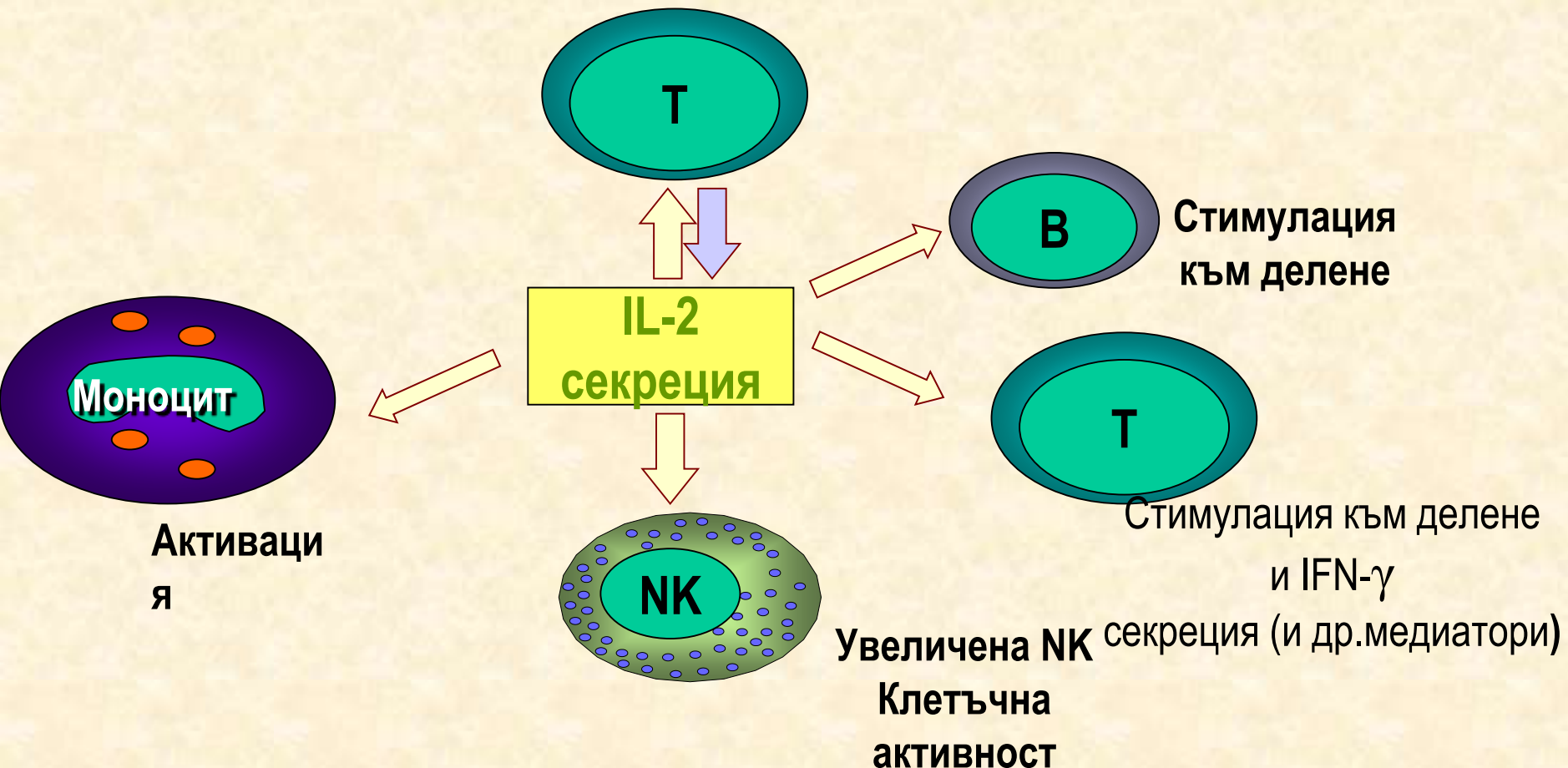
- Произвеждан от активрани макрофаги, Th2 клетки
- Инхибиторен цитокин
- Инхибира производството на цитокини от активираните макрофаги
- Инхибира експресията на клас II МНС и костимулаторни молекули върху макрофагите

Медиатори и регулатори на специфичния имунитет

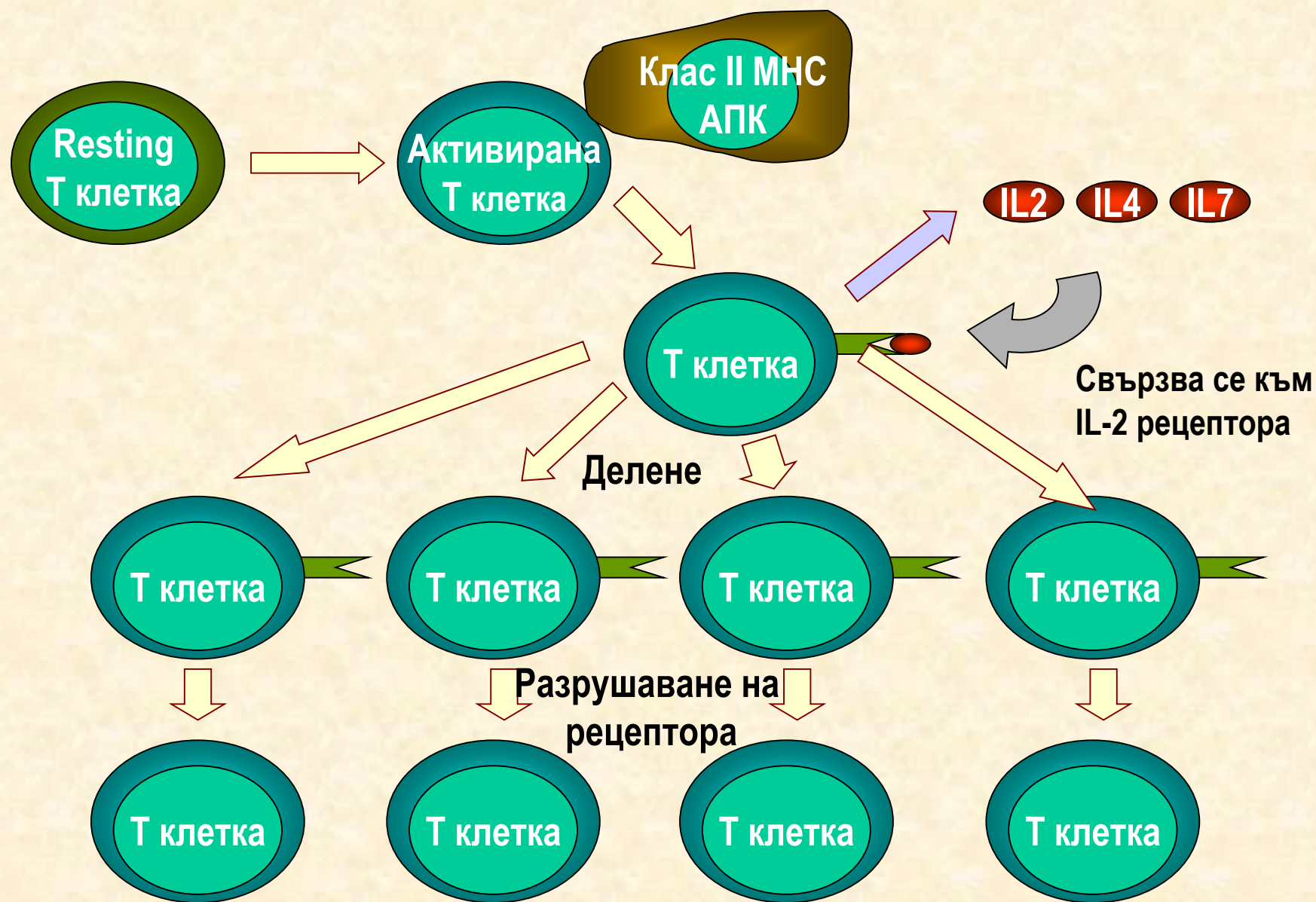
- Интерлевкин-2 (IL-2)
- Интерлевкин -4 (IL-4)
- Интерлевкин -5 (IL-5)
- Интерлевкин -10 (IL-10)
- Интерферон- γ (IFN- γ)

Интерлевкин -2 (IL-2)

- Произвеждат го Th>>Tc
- Главен растежен фактор за Т-клетките



Автокринна функция на IL-2



Интерлефкин-4 (IL-4)

- Произвежда се от Th2 клетките
- Стимулира Ig клас превключване към IgE изотип
- Стимулира развитие на Th2 клетки от девствени Th клетки
- Промотира растежа на диференцирани Th2 клетки

Интерлефкин-5 (IL-5)

- Произвеждан от Th2 клетки
- Промотира растежа и диференциацията на еозинофили
- Активира зрели еозинофили
- IL-4 и IL-5 могат да действат съвместно
Хелминти, опсонизирани с IgE могат да
бъда убити от еозинофили

Интерлефкин-10 (IL-10)

- Произвеждан от активирани макрофаги, Th2 клетки
- Инхибира производството на IFN- γ чрез Th1 клетки необходими за активиране на макрофагите

Интерферон- γ (IFN- γ)

- Произвеждан от Th клетки >> Tc and NK клетки;
Множество функции при натуралния и специфичния имунитет

