

Imunoloģija II

24.02. 2012 un 02.03.2012

### **Imūnfunkciju fizioloģiskie aspekti**

Organisma ģenētiskā homeostāze: ārējie un iekšējie riski.

Iedzimtās (nespecifiskās) imunitātes cellulārie mehānismi

Makrofāgu, dendrītisko šūnu, neitrofīlo leikocītu, B limfocītu aktivitātes, izmantojot patogēnu un neveselīgo šūnu virsmas molekulāro paternu (*PAMPs*, *DAMPs*) atpazīšanas receptorus. Dabisko galētājšūnu (*NK cells*) un dabisko galētāj-T šūnu (*NKT cells*) aktivitātes.

Specifiskās (adaptīvās) imūnreakcijas secīgas norises: imūnatbildes aferentā un referentā fāzes.

Antigēn-prezentējošo šūnu un limfocītu cirkulācija un migrācija.

Diferencētu limfocītu pamatformas: B limfocīti un plazmocīti; T CD8+ citotoksiskie limfocīti; T CD4+ līdzētājšūnas (Th – *helperi*). Faktori, kas nosaka līdzētājšūnu diferenciācijas pamatvirzienus (Th1, Th2, Th17, Treg) un, līdz ar to, visas imūnatbildes kopējo raksturu.

Imunoloģiskā tolerance: T un B limfocītu centrālās un perifērās tolerances mehānismi un nozīme.

Regulatorisko līdzētājšūnu (*Treg CD4+*) veidošanās tīmusā un perifēros audos; tolerogēno dendrītisko šūnu (*tDC*) loma. Imūnreakciju lokāla supresija gravīdā dzemdē.

Miega/nomoda un cirkadiānās periodikas ietekme uz imūnfunkcijām.

# Organisma ģenētiskā homeostāze

- Visas šūnas, kas veido viena organisma audus ir ar identisku genomu
- Viena organisma šūnās un iekšējās vides šķidrums sastopamie proteīni ir sintezēti, izmantojot vienīgi šī organisma unikālo ģenētisko informāciju

## Ārējie riski

- Infekcija
- Vaļēju brūču saskare
- Hemotransfūzija
- Adu (šūnu) transplantācija

## Iekšējie riski

- Mutācijas, kuru veidošanos veicina mutagēnas vielas, radiācija, DNS replikācijas kļūmes mejozē
- Kanceroģenēze

# Iedzimtā (nespecifiskā) imunitāte

## 1. Barjeras

### 1.1. mehāniskās:

ādas ragslānis  
gļotu pārklājs  
gaisa turbulence elpceļos  
urīna plūsma urīnceļos

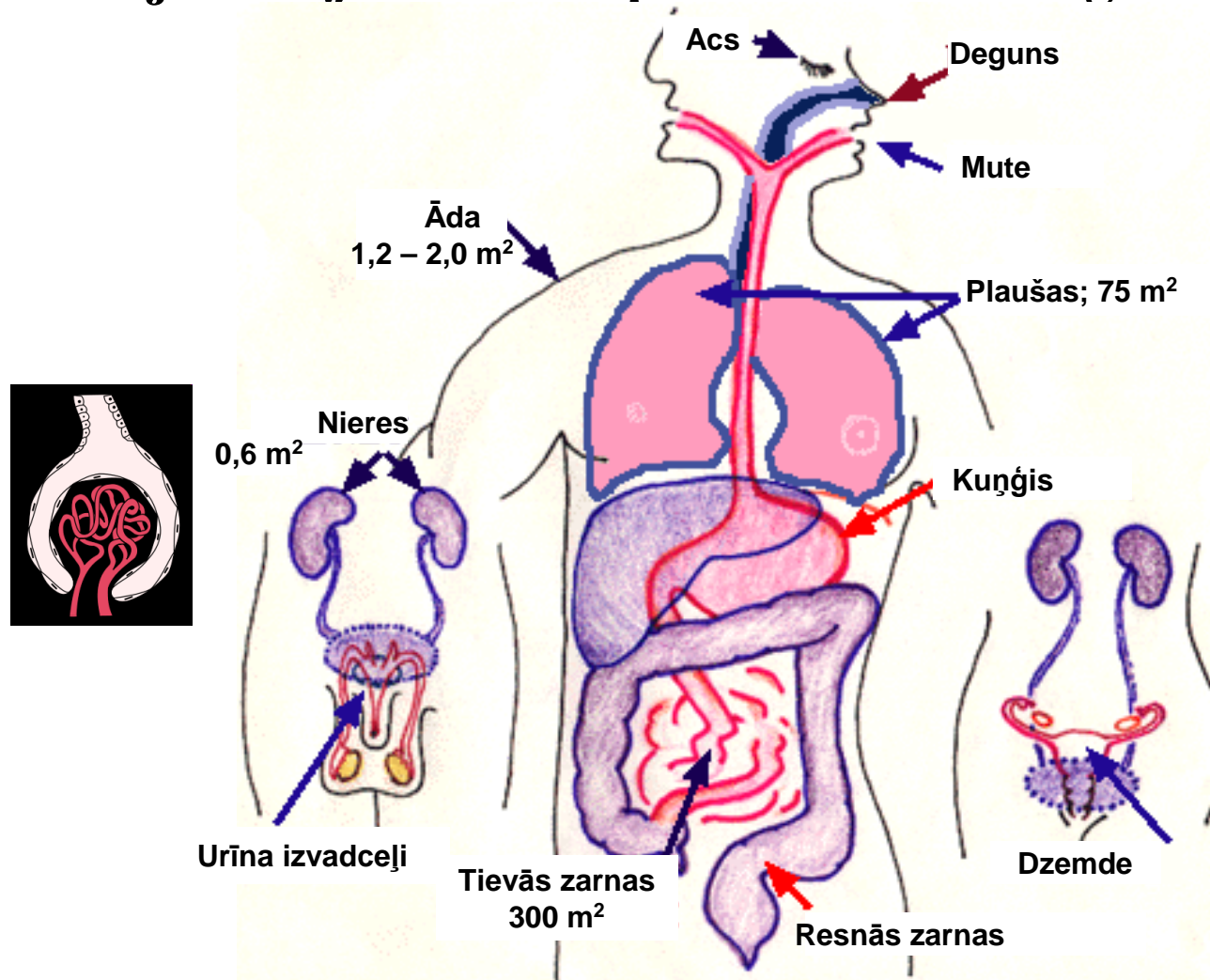
### 1.2. ķīmiskās:

ādas un gļotādu sekrētu  $\text{pH} < 7$   
ādas un gļotādu sekretētas baktericīdas vielas  
(katelicidīns, defensīni u.c.)

### 1.3. bioloģiskās:

komensālā mikroflora – ap 500 sugu.

# Ārējās barjeras ar nespecifiskiem aizsargmehānismiem



# Ādas antimikrobiālie peptīdi

- **Rezidējošu šūnu produkti:**

- katelicidīni
- $\alpha$ ,  $\beta$  defensīni
- lizozīms
- laktoferīns
- dermicidīns

- **Ādā infiltrējušos šūnu produkti:**

- ūdeņraža peroksīds
- antivielas

- **Funkcijas:**

**bakteriocīda un bakteriostatiska ietekme**

uz Gram+ un Gram- baktērijām, mikobaktērijām (arī *Mycobacterium tuberculosis*), iekapsulētiem vīrusiem, sēnītēm;

**imūnmodulējošas ietekmes**

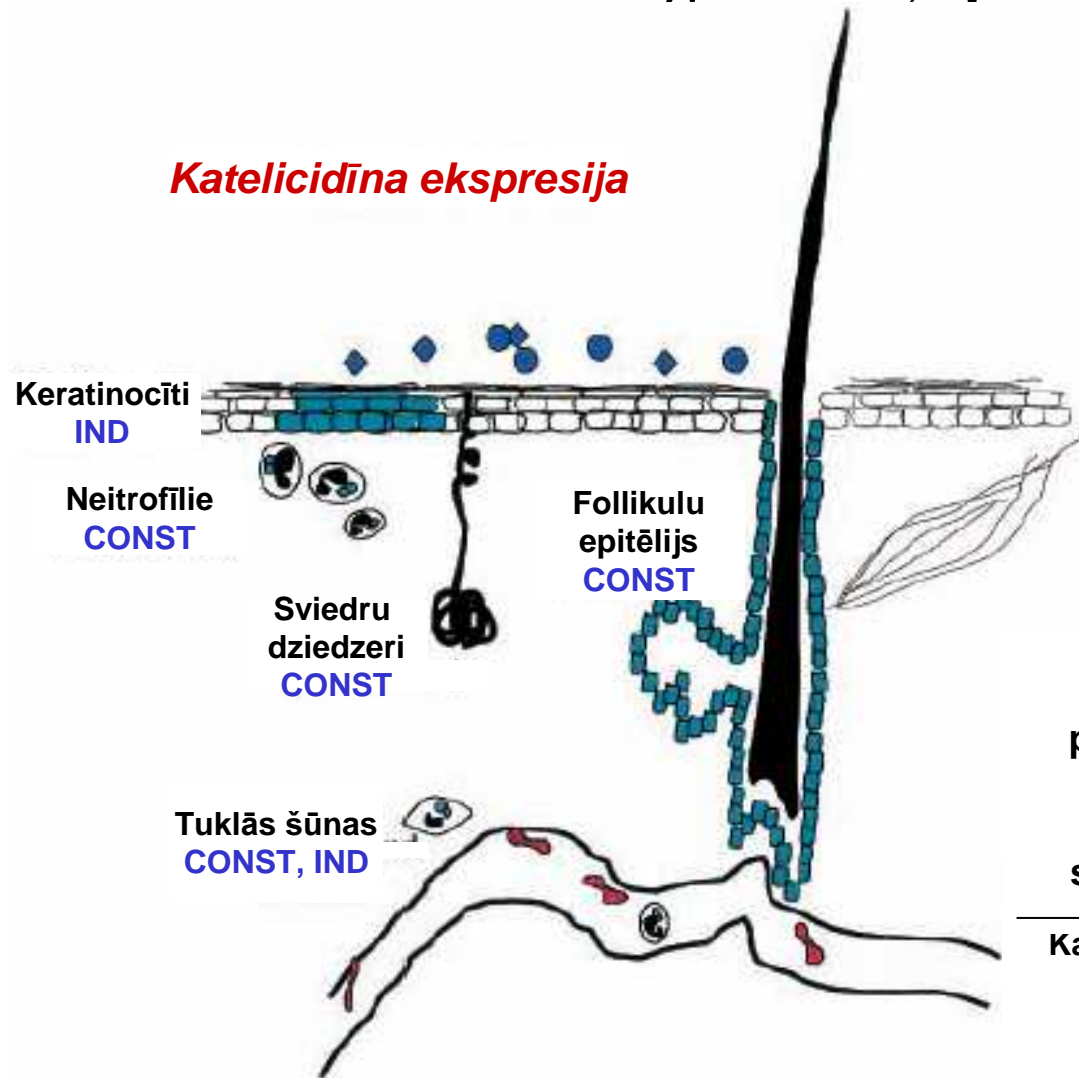
uz iekaisuma citokīnu produkciju, dendrītisko šūnu aktivitāti;

**audu reparācijas veicināšana.**

# Katelicidīnu

famīlijas antimikrobiālie polipeptīdi:  
neitrofīlo leukocītu granulās, epitelocītos, makrofāgos

## Katelicidīna ekspresija



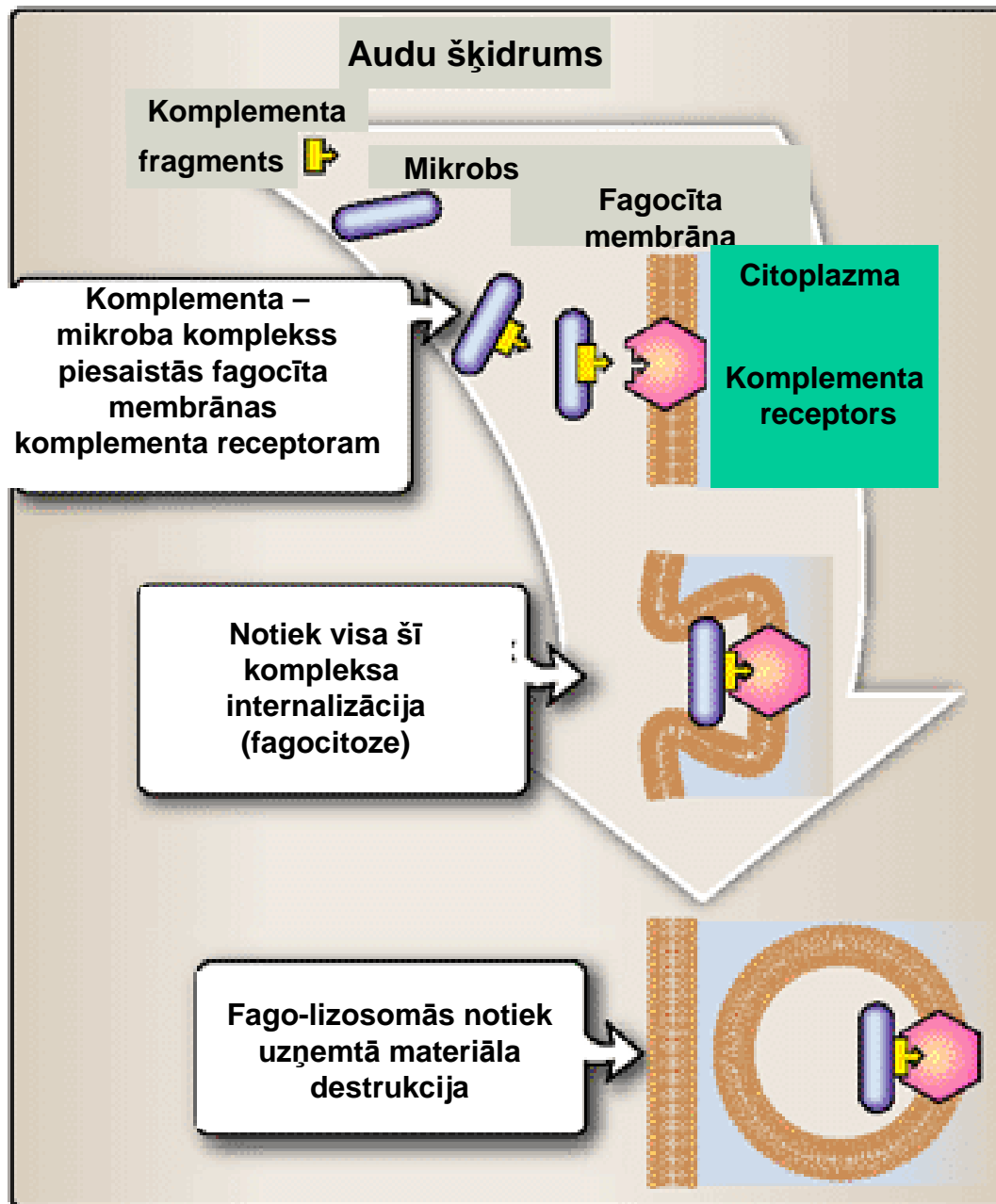
## Katelicidīna funkcijas

Primārā aizsardzība:  
antibakteriāla,  
antifungāla,  
antivirāla  
iedarbība

Sekundāra aizsardzība:  
hemotaksisks efekts

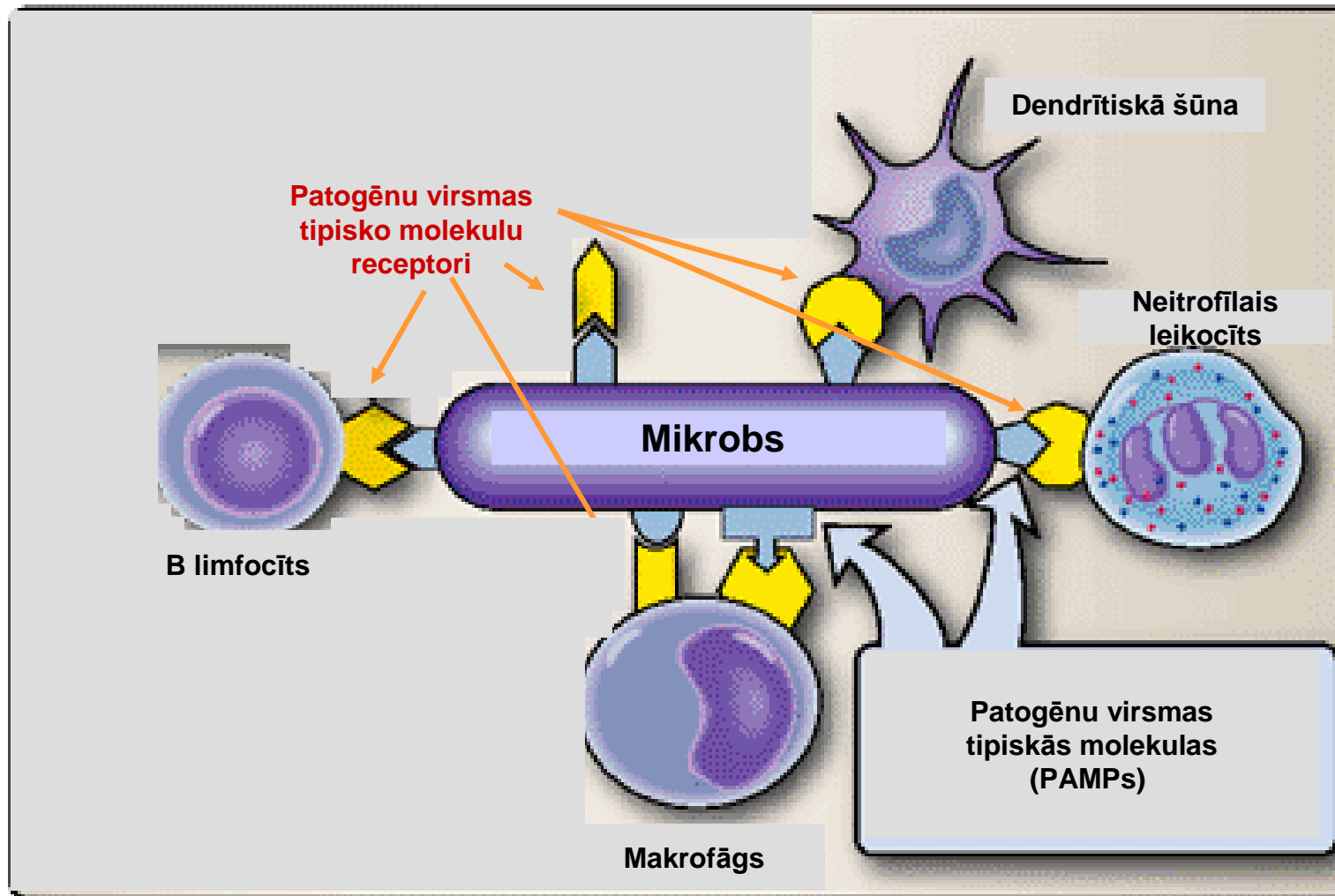
Reparācijas  
stimulācija:  
proteāžu inhibitori,  
angiogēnes un  
šūnstarpu vielas  
sintēzes stimulantu

Katelicidīns ◆◆



**Komplements veicina fagocitozi (opsonizējošs efekts)**

Fig. 2.7.



Patogēnu-asociētās molekulārās struktūras (**pathogen-associated molecular patterns – PAMPs**) atpazīst un piesaista īpaši patogēnu struktūras atpazīstošie receptori (**pattern recognition receptors – PRRs**), kas fiksēti saimnieka šūnu membrānās vai ir šķīstošā veidā organisma šķidrums



# Pattern recognition receptors (PRRs)

- Šūnas membrānas PR receptori:
  - Toll-like receptors (TLRs);
  - mannozes receptori – multielektīna proteīni makrofāgu un dendrītisko šūnu virsmā
- Intracellulārie (citoplazmas) PR receptori:
  - NOD-like receptors (Nucleotid-binding domain, Leucin-rich repeat containing -NLRs) – citoplazmas proteīni, kas saistās oligomeriski ar atpazītiem mikrobu proteīniem vai šūnas stressa proteīniem, un kuru funkcija ir iekaisuma un apoptisko reakciju regulācija (izmanto kā sekundāros mesendžerus NF- $\kappa$ B un MAP kināzes).
  - RIG-I-like receptors (RLRs)
- Sekretētie PR receptori- komplementa receptorie komponenti, sēruma amiloids, C-reaktīvais proteīns, peptidoglycan recognition proteins (PGRs)

# **Damage-associated molecular-pattern molecules (DAMPs)**

## **Damage-associated molecular-pattern molecules (DAMPs)**

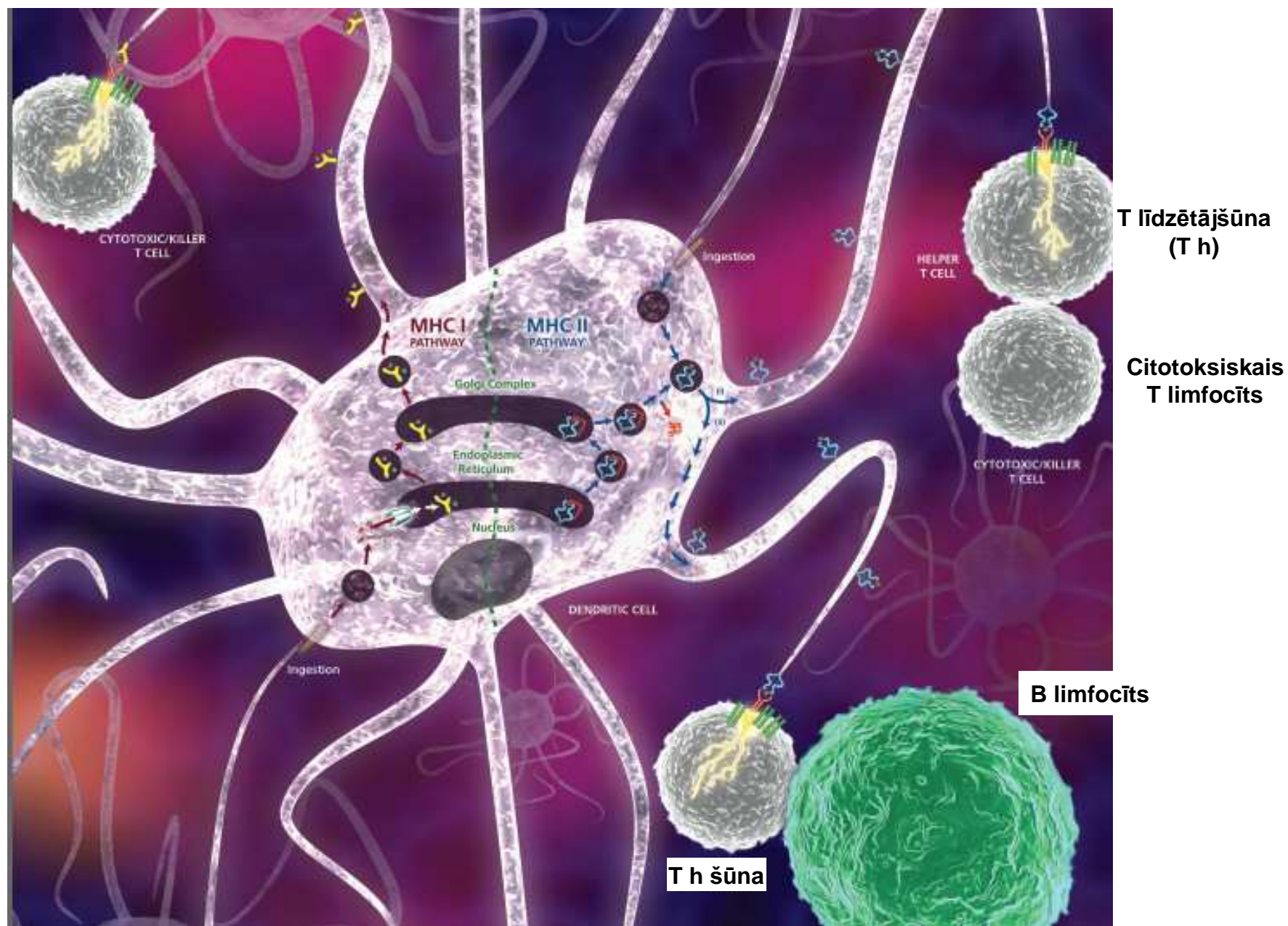
- Izdala šūnstarpu vidē bojātas, inficētas, malignizētas šūnas
- Repertuārs ir atkarīgs no audu tipa
- Tās var būt iekaisumu veicinošas vielas, ko inficētā šūna sekretē, vai atbrīvojas, šūnai sabrūkot; t.s. Piem., chromatin-associated protein high-mobility group box 1 (HMGB1), thioredoxin, MIF
- Tās ir oxreduktāzes, kas maina ekstracellulāro oksred situāciju
- Jutīgas ir daudzas šūnas – makrofāgi, tuklās šūnas, eozinofīlie u.c.

**DAMPs** – *damage associated molecular pattern molecules* – ierosina un provocē imūnreakcijas **neinficēti** bojāto audu iekaisumā.

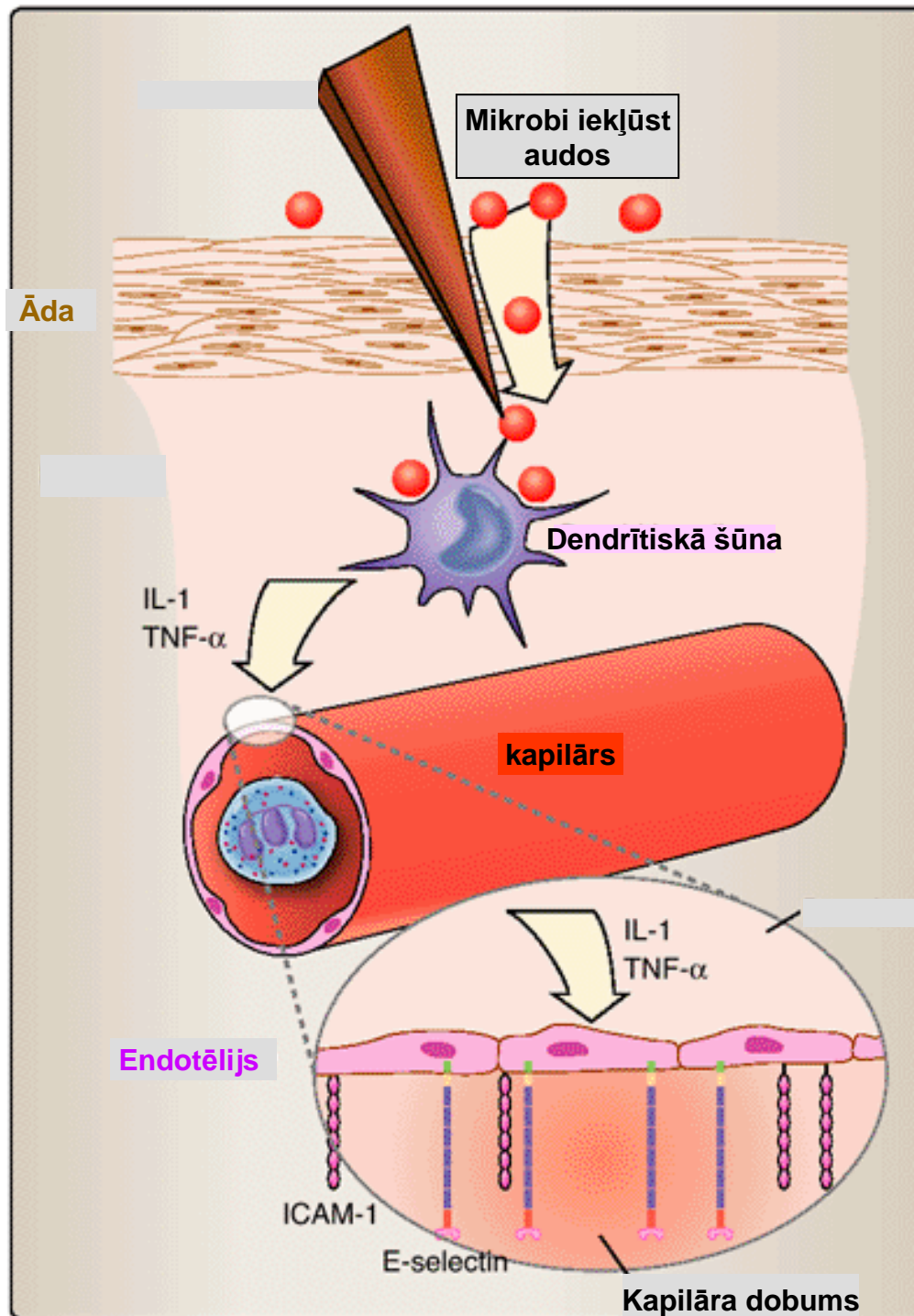
Līdzīgi kā *pathogen-associated molecular pattern molecules* (PAMPs).

DAMPs ir

- **kodola un citozola proteīni, arī DNS**, kas, izejot no bojātās šūnas, denaturējas. DAMPs saistās ar TLR2, TLR4 un RAGE (*Receptor of advanced glycation endproducts*) receptoriem, piem., **dendrītisko šūnu membrānās**, un stimulē to nobriešanu, kā arī stimulē mieloīdo šūnu proinflammatoro citokīnu (IL-1, TNF $\alpha$ , IL-6, IL-8) sekrēciju un adhēzijas molekulu (ICAM-1, VCAM-1) ekspresiju endotēlija šūnās;
- **purīna metabolīti – ATF, adenoziņi** – atstāj traumēto šūnu ļoti augstā koncentrācijā un kalpo kā ķīmijatraktanti dendrītiskām šūnām un ko-faktoru produkcijas stimulatori.



**Dendrītiskā šūna**



## Dendrītiskās šūnas (DŠ):

hematopoētiskas izcelsmes (no monocītiem) šūnas.

### Nenobriedušas dendrītiskās šūnas

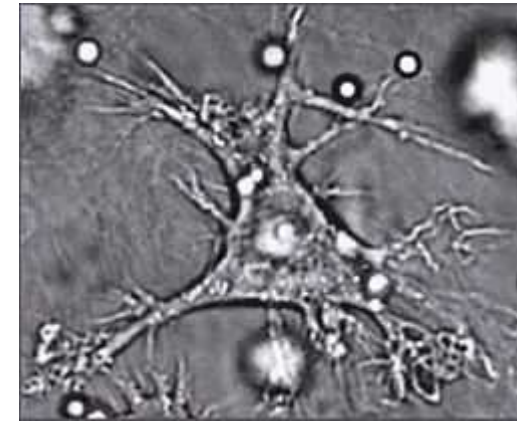
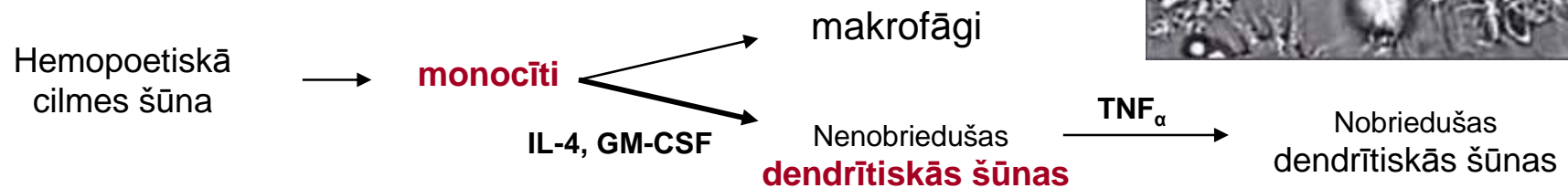
- rezidē zemādā un zemgļotādā;
- ekspresē *pattern recognition receptors*;
- endocitē antigēno materiālu.

### Aktivētas dendrītiskās šūnas

- nobriest un migrē uz limfmezgliem;
- stimulē endoteliocītu adhēzijas molekulu ekspresiju;
- procesē un prezentē antigēnus;
- liesā un limfmezglos antigēnspecifiski aktivē T-līdzētājšūnas, T-galētājšūnas, B limfocītus un atmiņas šūnas;
- ekspresē T šūnu koaktivatorus B7-1, B7-2, CD40;

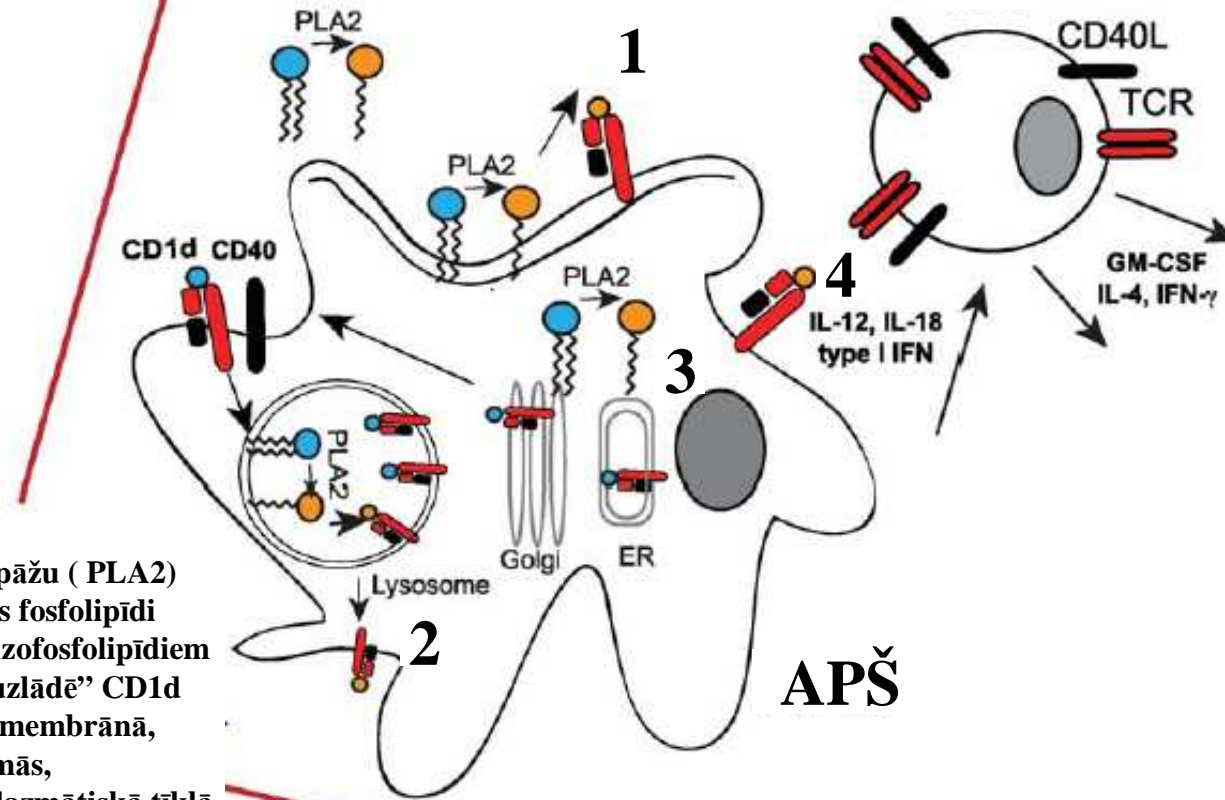


# Dendrītiskās šūnas



- Veidojas no kaulu smadzeņu hematopoētiskajām cilmes šūnām.
- Nenobriedušas DŠ savācas tur, kur ir vīrusu un baktēriju invāzija, jo DŠ ekspresē *pattern recognition receptors* (PRRs), tādus kā *tool-like receptors* (TLRs).
- Nenobriedušām DŠ ir augsta endocitotiskā aktivitāte.
- Patogēnu virsmas molekulu piesaiste TLRs ir DŠ aktivācijas signāls un DŠ pārvēršas nobriedušās DŠ, kas
  - 1) prezentē šūnas membrānā fagocitēto proteīnu fragmentus ar MHCII molekulu līdzdalību;
  - 2) ekspresē T šūnu aktivācijas ko-receptorus (CD80, CD86, CD40); limfocītu membrānā ir attiecīgās ligandas, piem., CD40L;
  - 3) ekspresē arī citokīnu receptorus CCR7, kas nepieciešami veiksmīgai hemotaksei no asinīm uz liesu, vai no limfas uz limfmezgliem.
- Šais limfātiskajos orgānos DŠ ir antigēna prezentēšanas funkcija - antigēna prezentācija T-līdzētājšūnu, T-citotoksisko šūnu un B-šūnu aktivācijai.

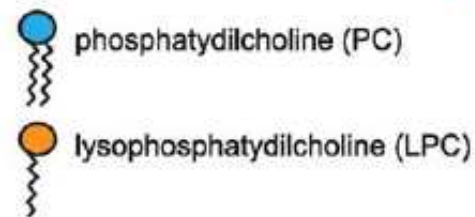
## Dabiskā galētāj-T šūna (NKT cell)



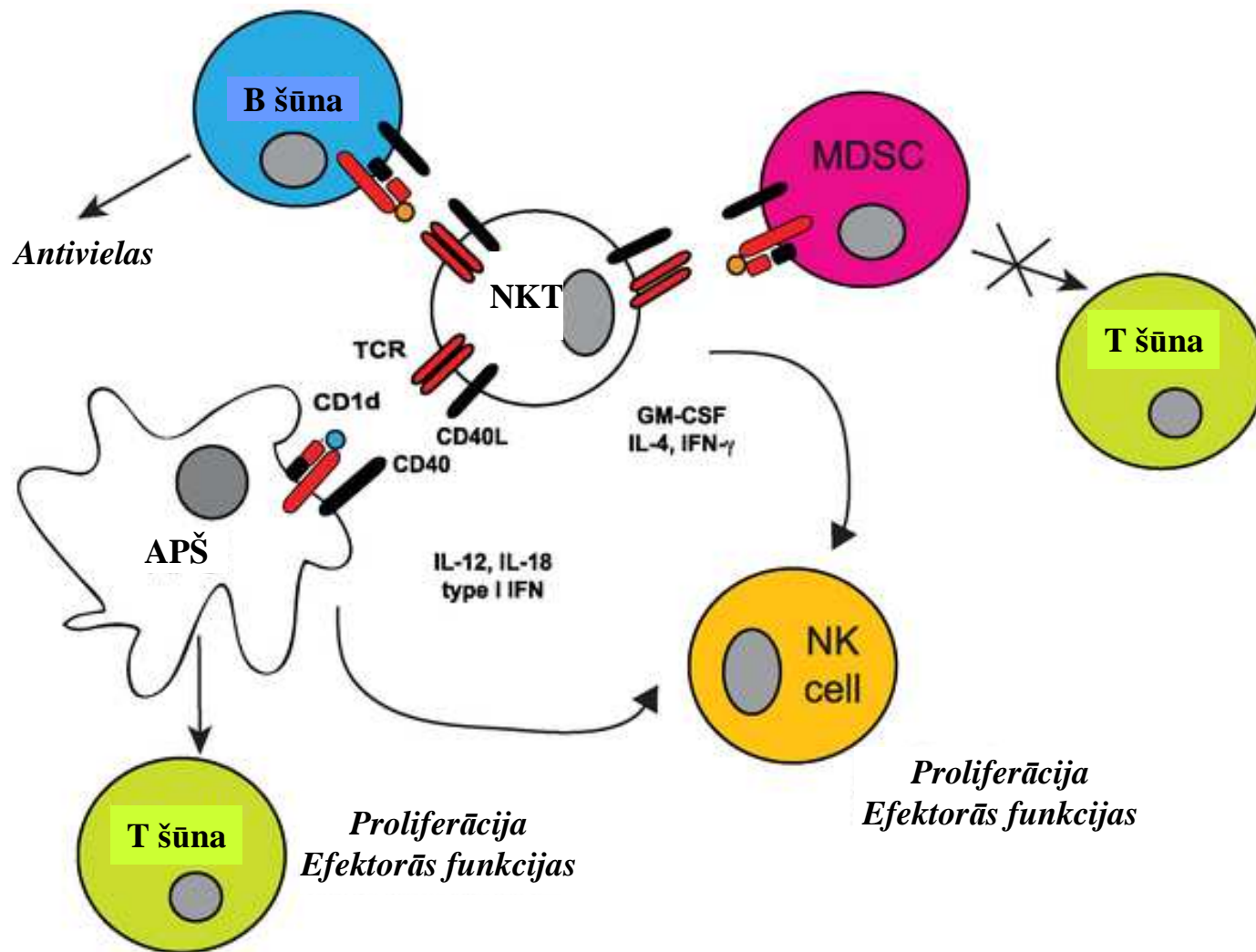
Aktivēta iNKT šūna sekretē citokīnus

Iekaisumā fosfolipāžu ( PLA2) ietekmē membrānas fosfolipīdi transformējas par lizofosfolipīdiem PC un LPC, kuri “uzlādē” CD1d receptorus 1) šūnas membrānā, 2) lizosomās, 3) endoplazmātiskā tīklā.

Antigēnpresētējošā šūna aktivē dabisko galētāj-T šūnu (NKT), saistot CD1d-LPC kompleksus pie TCR un sekretējot IL-12, IL-18 un pirmā tipa interferonus.



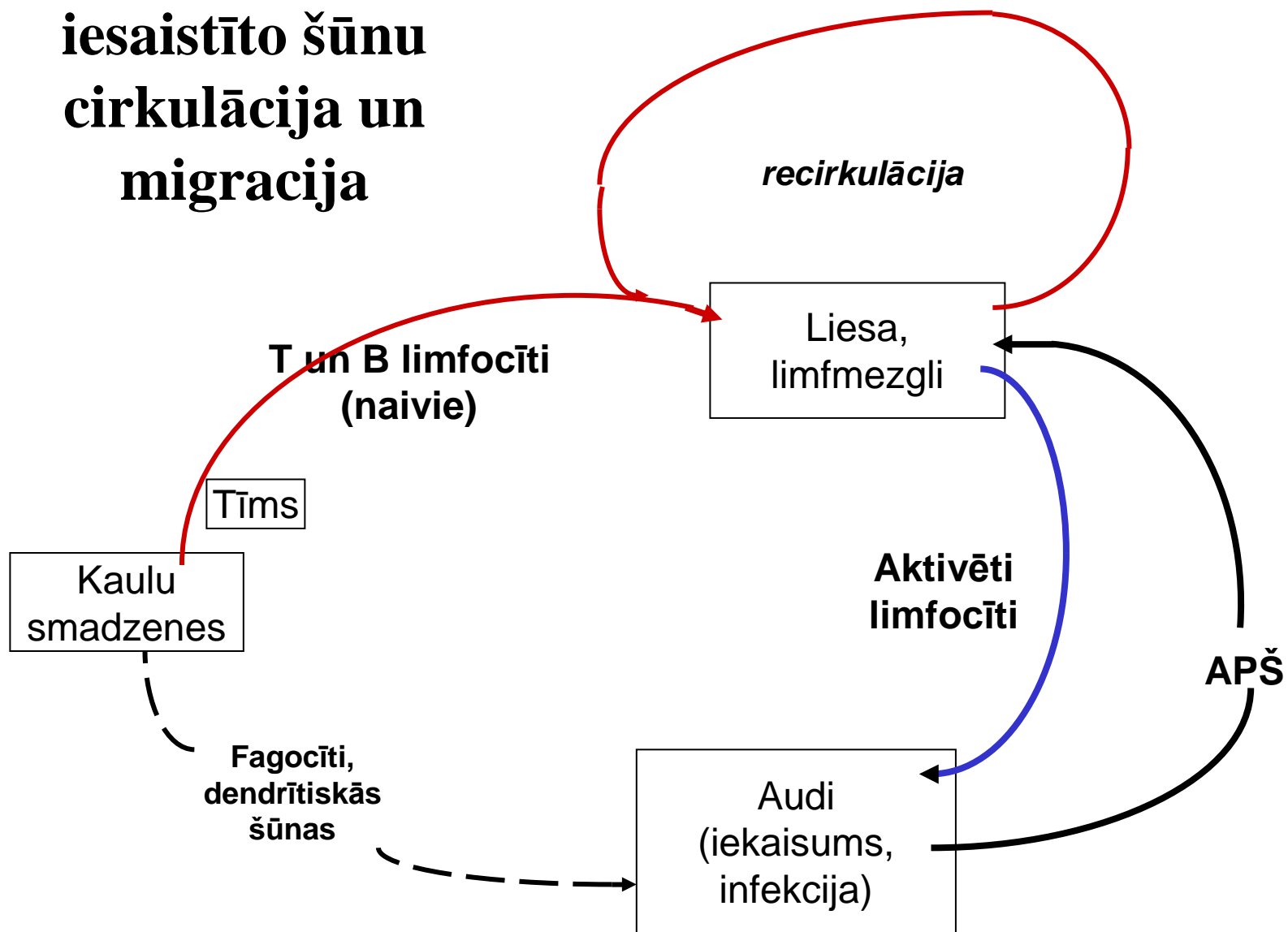




**Dabiskās galētāj-T šūnas** (natural killer T cells; NKT cells) atpazīst **lipīdu antigēnu**, ko antigēn-prezentējošā šūna (APŠ) vai B šūna prezentē ar CD1d receptora starpniecību.

- Aktivēta NKT šūna
- 1) stimulē T limfocītu proliferāciju,
  - 2) stimulē B šūnu populācijas antivielu produkciju,
  - 3) stimulē dabisko galētājšūnu (NK cells) proliferāciju un funkcijas,
  - 4) kavē mioīdo supresoro šūnu (MDSC) nomācošo ietekmi uz T limfocītiem.

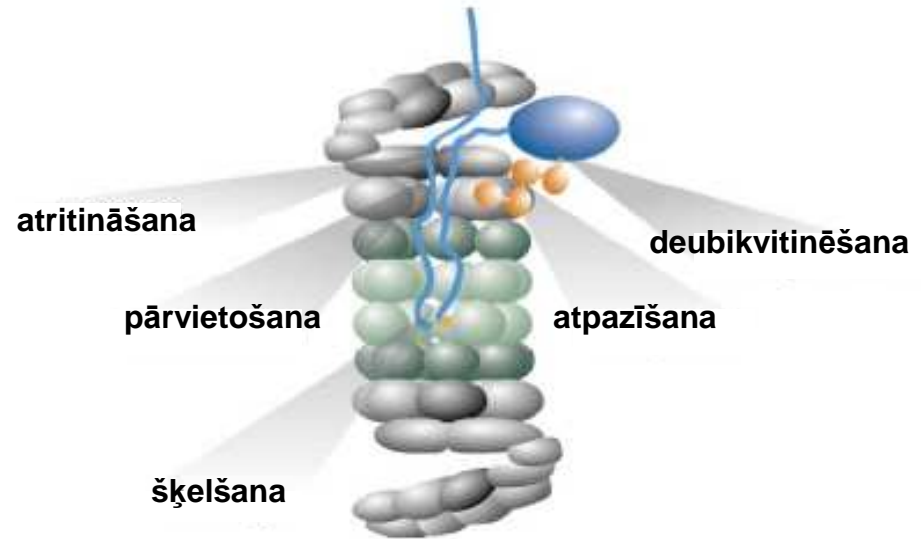
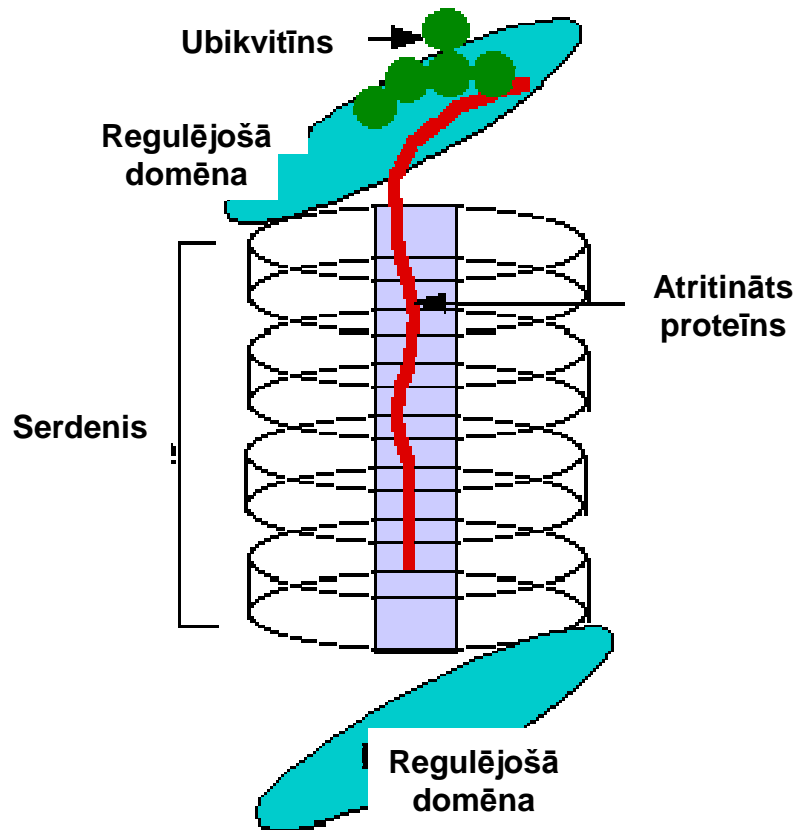
# Imūnreakcijās iesaistīto šūnu cirkulācija un migrācija



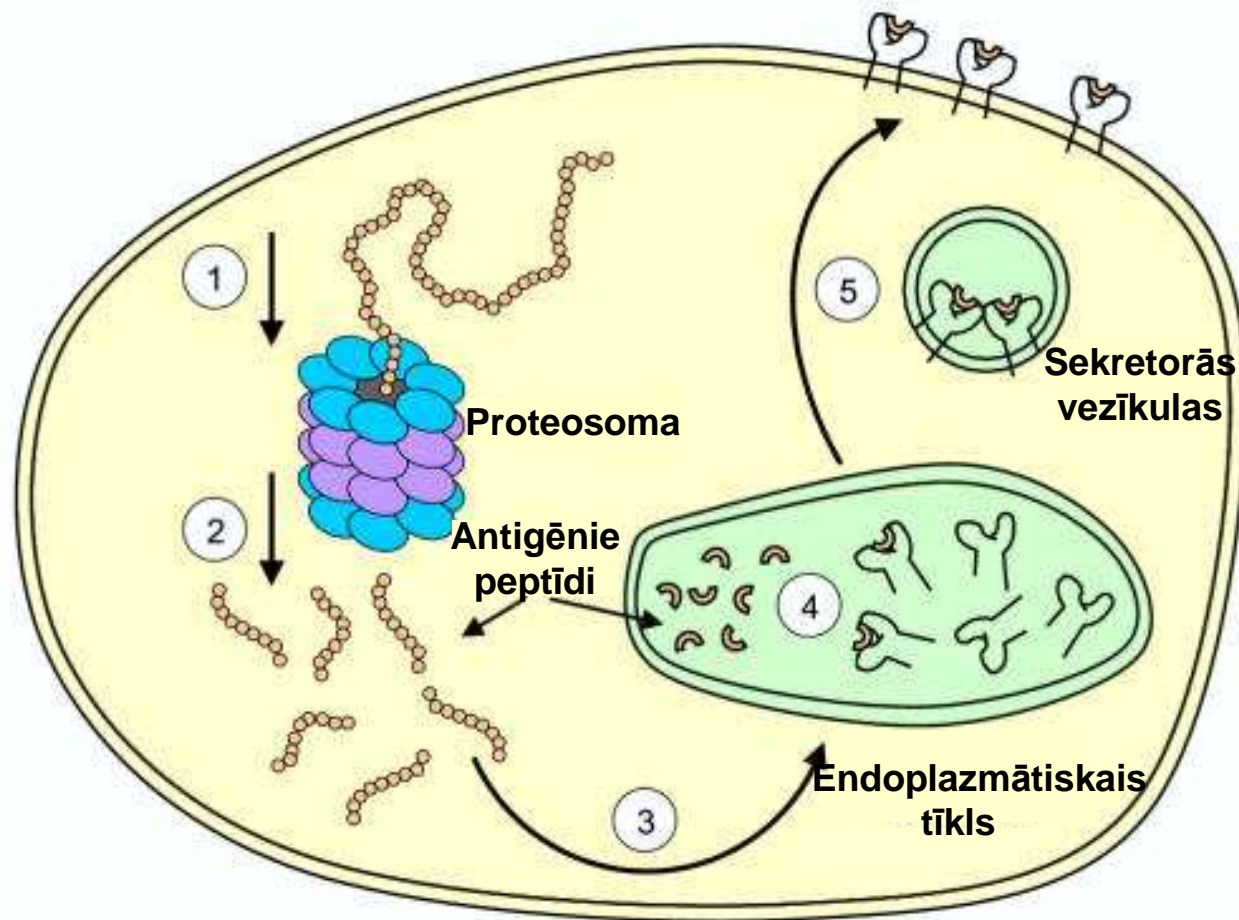
# Specifiskās imūnreakcijas secīgas norises

- Asinsrade.
- Limfocītu cirkulācija.
- Imūnatbildes **aferentā** fāze:
  - antigēnā materiāla sagūstīšana un procesēšana;
  - APŠ migrācija;
  - antigēna prezentēšana;
  - klonu selekcija = klonu progenitoru aktivācija;
- Imūnatbildes **eferentā** fāze:
  - klonu proliferācija
  - nobriedušu  $T_h$  limfocītu loma imūnatbildes taktikas izvēlē;
  - limfocītu migrācija;
  - humorālā imūnatbilde;
  - cellulārā imūnatbilde

# Proteasomu-ubikvitīna sistēma

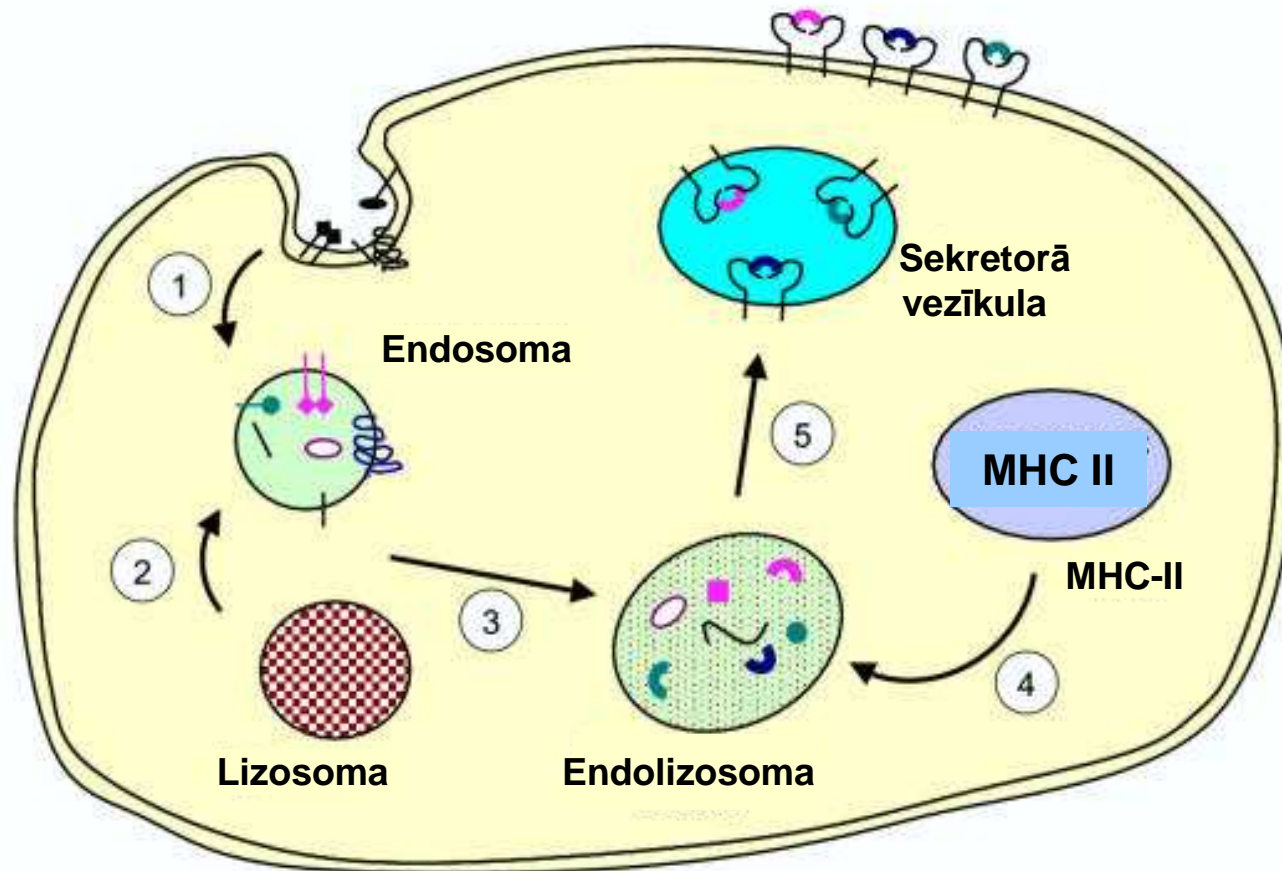


# Endogēnu antigēnu procesēšana un prezentēšana saiknē ar MHC I antigēnu



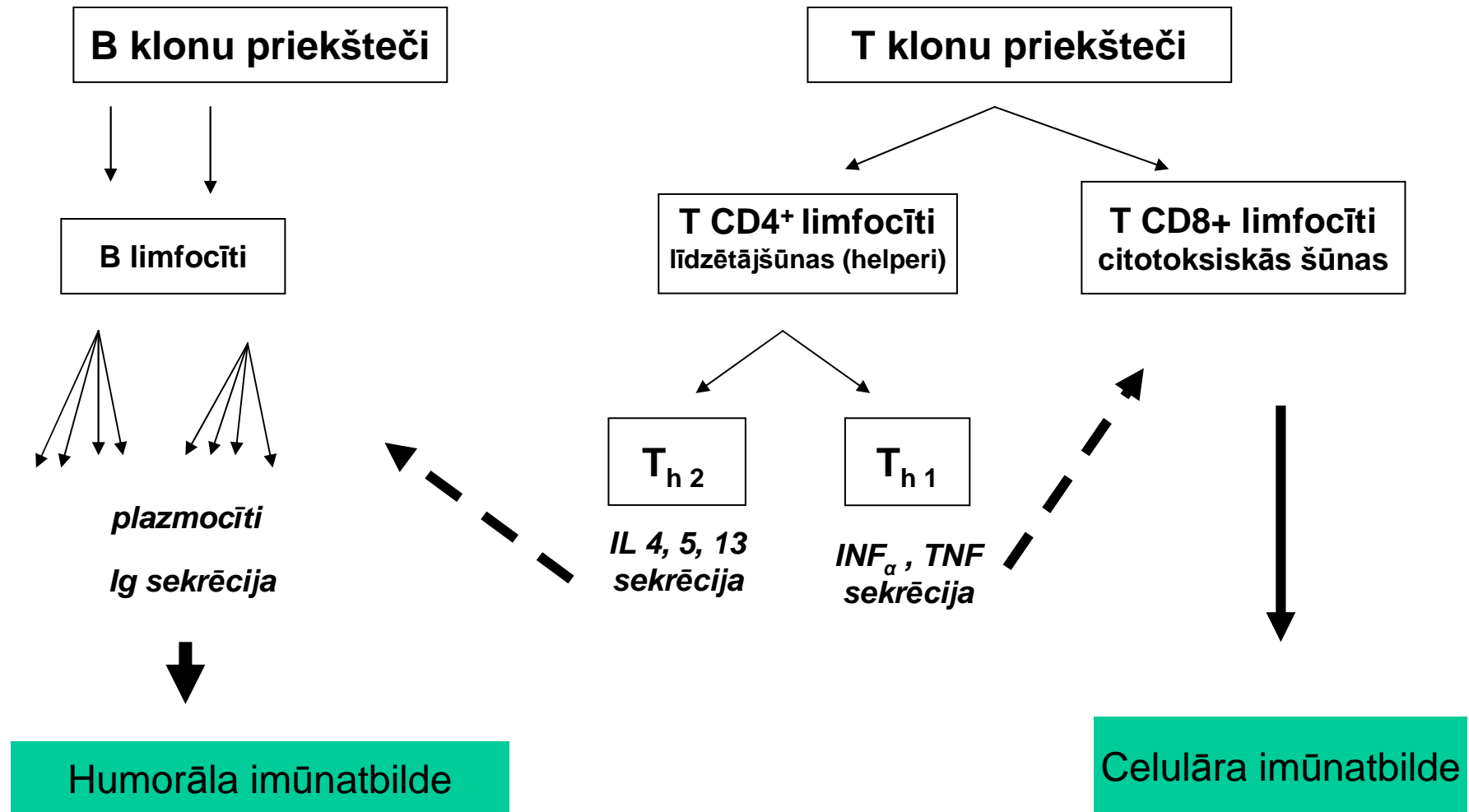
- 1 – proteīnu transports uz proteosomu;
- 2 – proteosomāla degradācija;
- 3 – antigēno peptīda fragmentu procesēšana un
- 4 – pievienošana MHC I proteīniem;
- 5 – Ag-MHC I kompleksu transports un izbīdīšana membrānā.

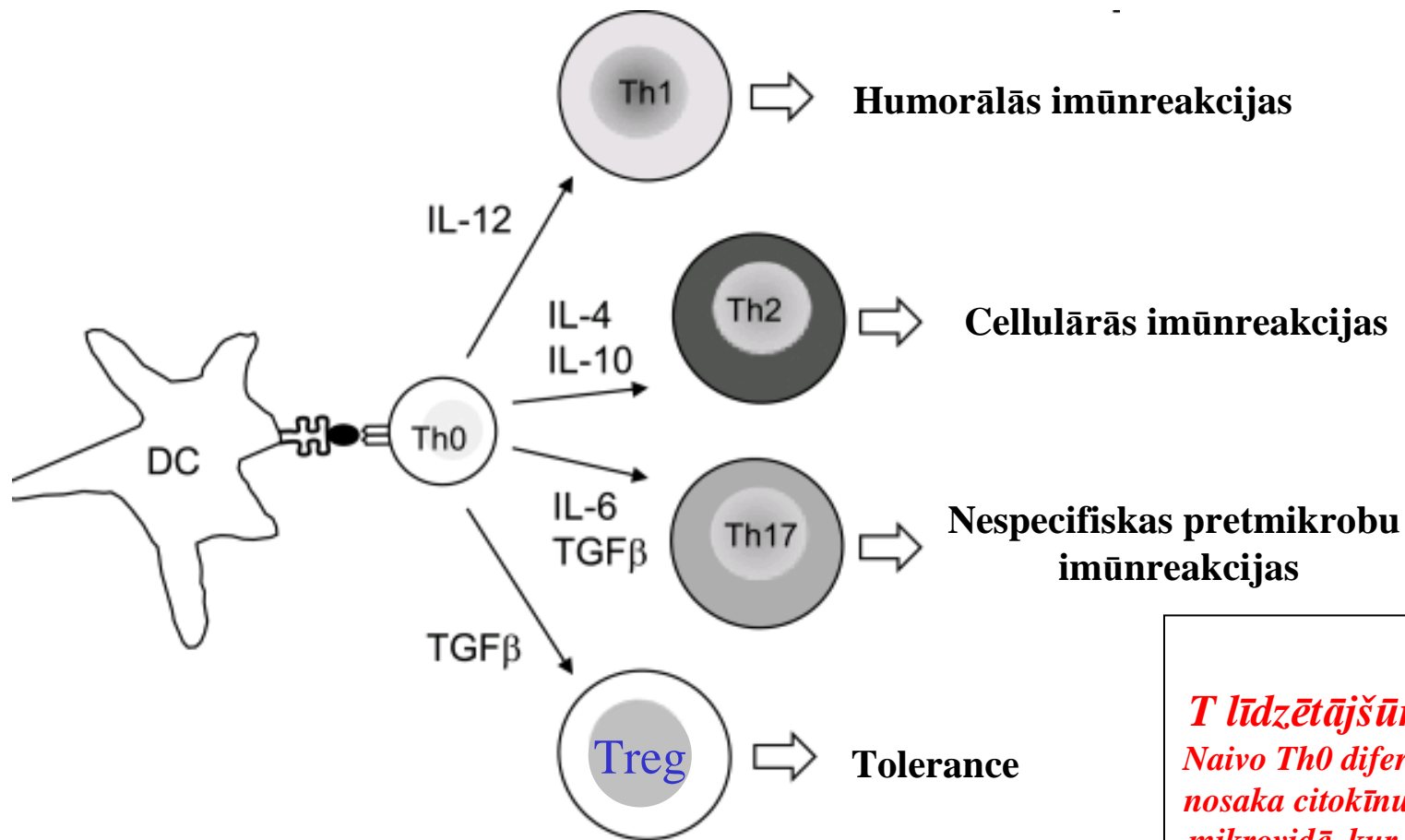
# Ekzogēno antigēnu procesēšana un prezentēšana saiknē ar MHC II antigēnu



- 1 – antigēnā materiāa endocitoze;
- 2, 3 – endolizosomu veidošana;
- 4 – MHCII proteīnu veidošana un transports;
- 5 – Ag-MHCII kompleksu procesēšana un izbīdīšana membrānā.

# Limfocītu diferenciācija



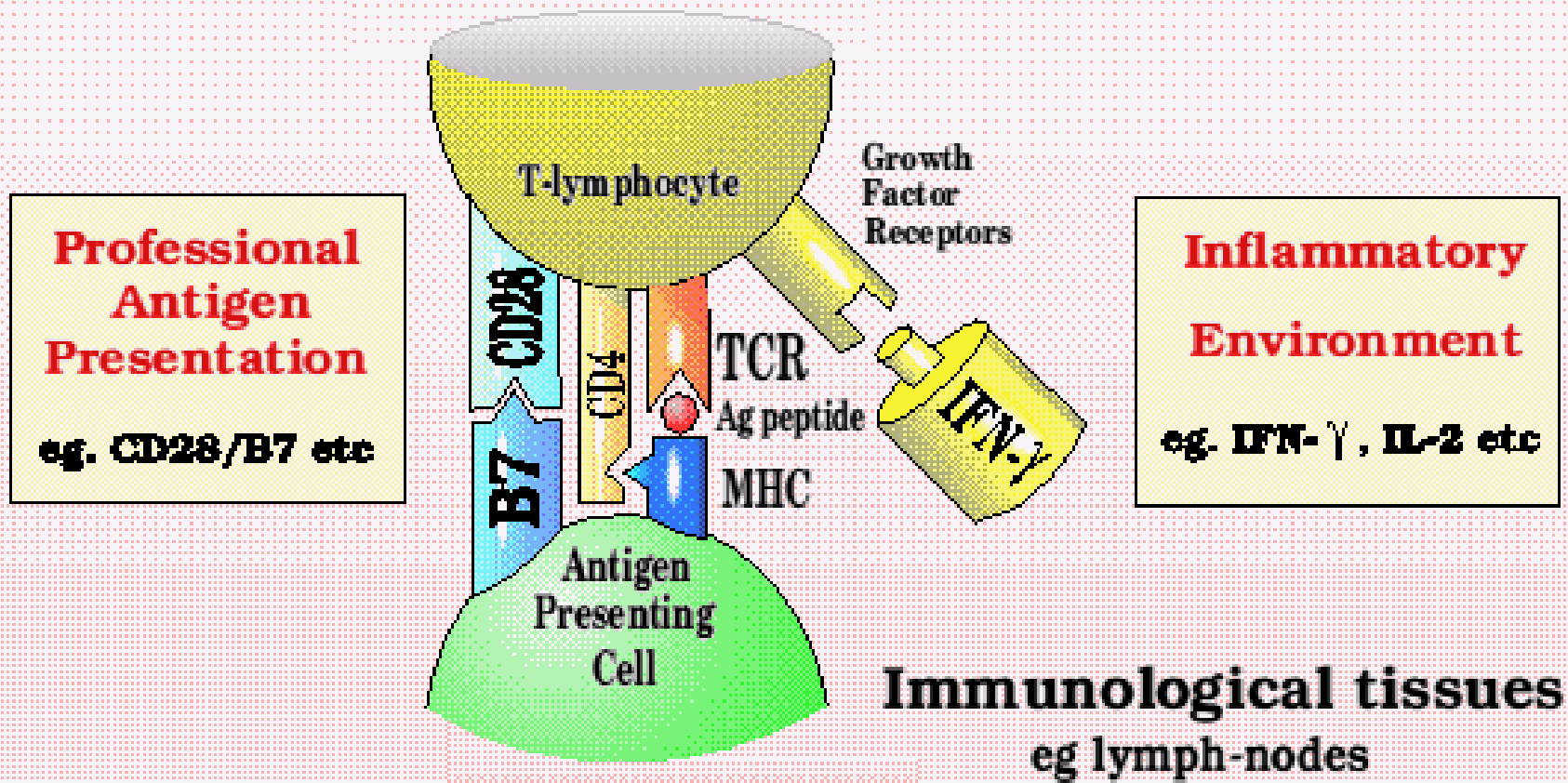


*T līdzētājšūnu difereciācija  
Naivo Th0 diferenciacijas virzienu  
nosaka citokīnu repertuārs lokālajā  
mikrovidē, kur dendrītiskā šūna  
prezentē antigēnu Th0 šūnai.*

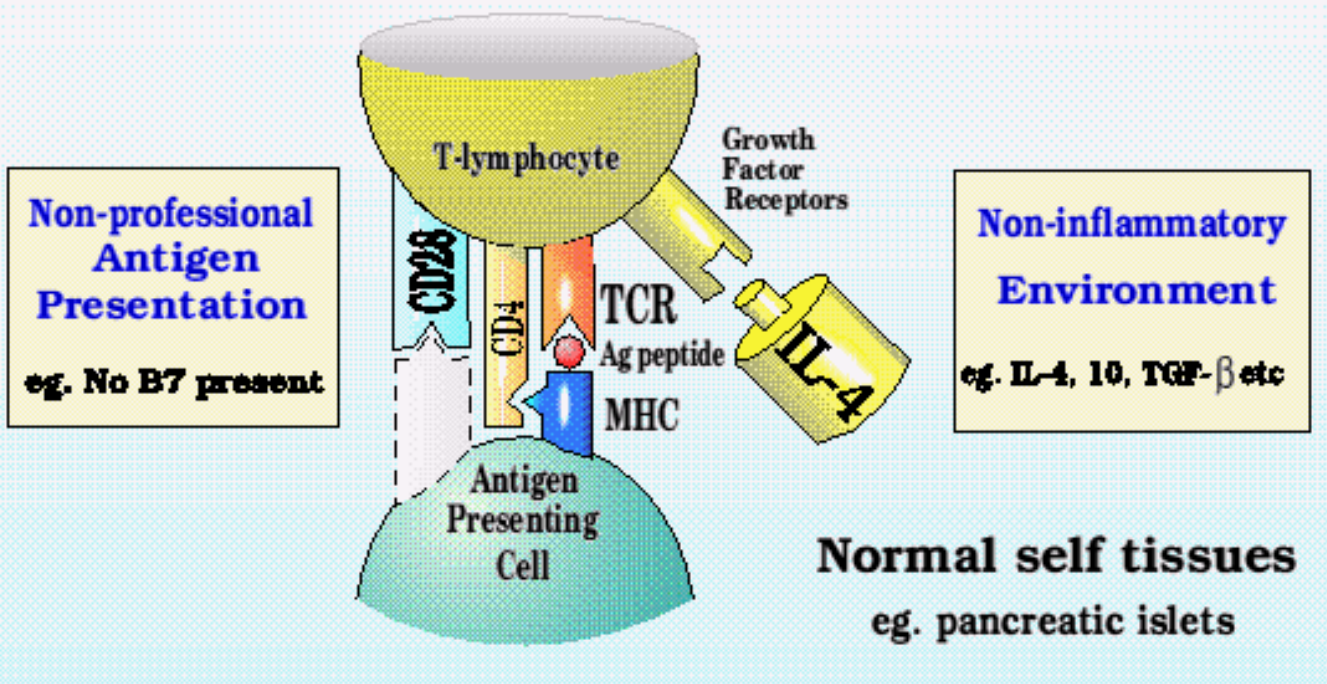
**Treg** ir patstāvīga līdzētājšūnu populācija T CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> CD95<sup>+</sup> GITR<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup>  
( 1 – 3% no visām CD4<sup>+</sup> Th-šūnām; specifiskie marķeri ir:  
CD25 - IL-2 receptors, CD95 - apoptisku signālu receptors,  
GITR - glikokortikoīdu inducētā TNF receptors,  
Foxp3 – ļoti specifisks kā naturālo, tā adaptīvi inducēto  
Treg šūnu marķeris.



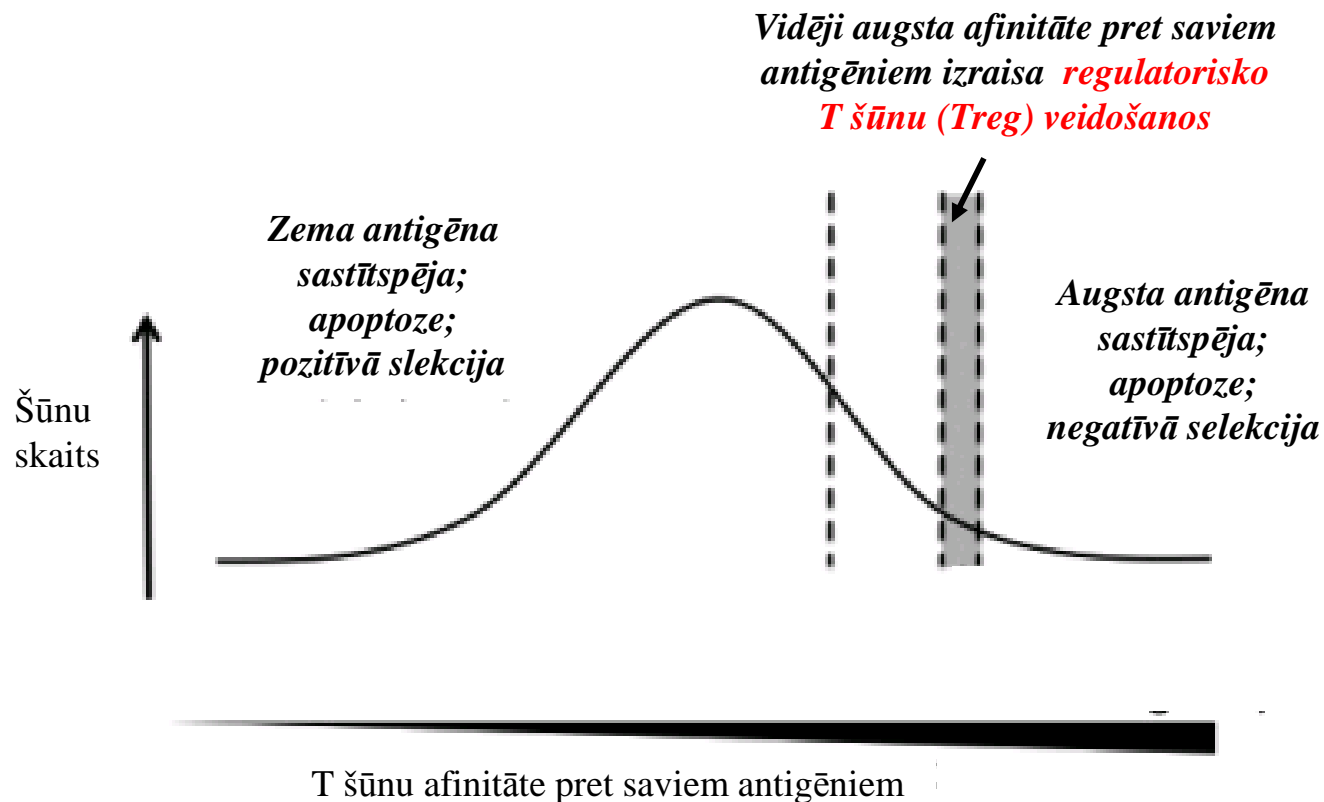
# "Non-self" : activation



# "Self" : tolerance



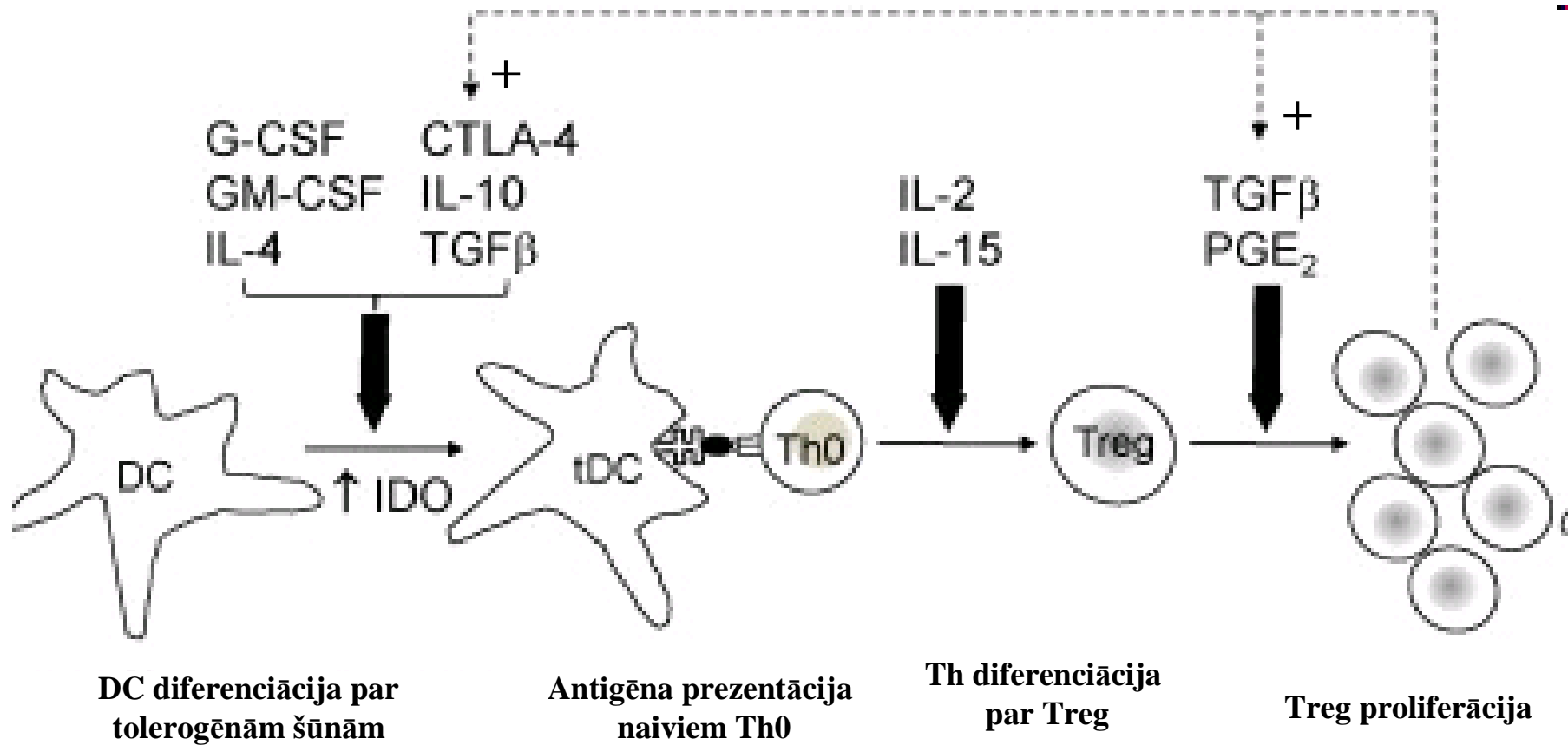




**Tīmusā Treg veidojas selekcijas rezultātā:**

apoptiski iet bojā T šūnas, kuru TCR vāji identificē un recipē tīmusa epitelocītu prezentētos MHC antigēnus (pozitīvā selekcija), apoptiski iet bojā arī T šūnas, kurām ir augsta reaktivitāte pret “saviem” antigēniem (negatīvā selekcija).

T limfocīti, kuru afinitāte ir pārāk augsta lai izraisītu pozitīvās selekcijas apoptozi, bet pārāk zema, lai darbotos negatīvās selekcijas apoptoze, diferencējas par Treg.



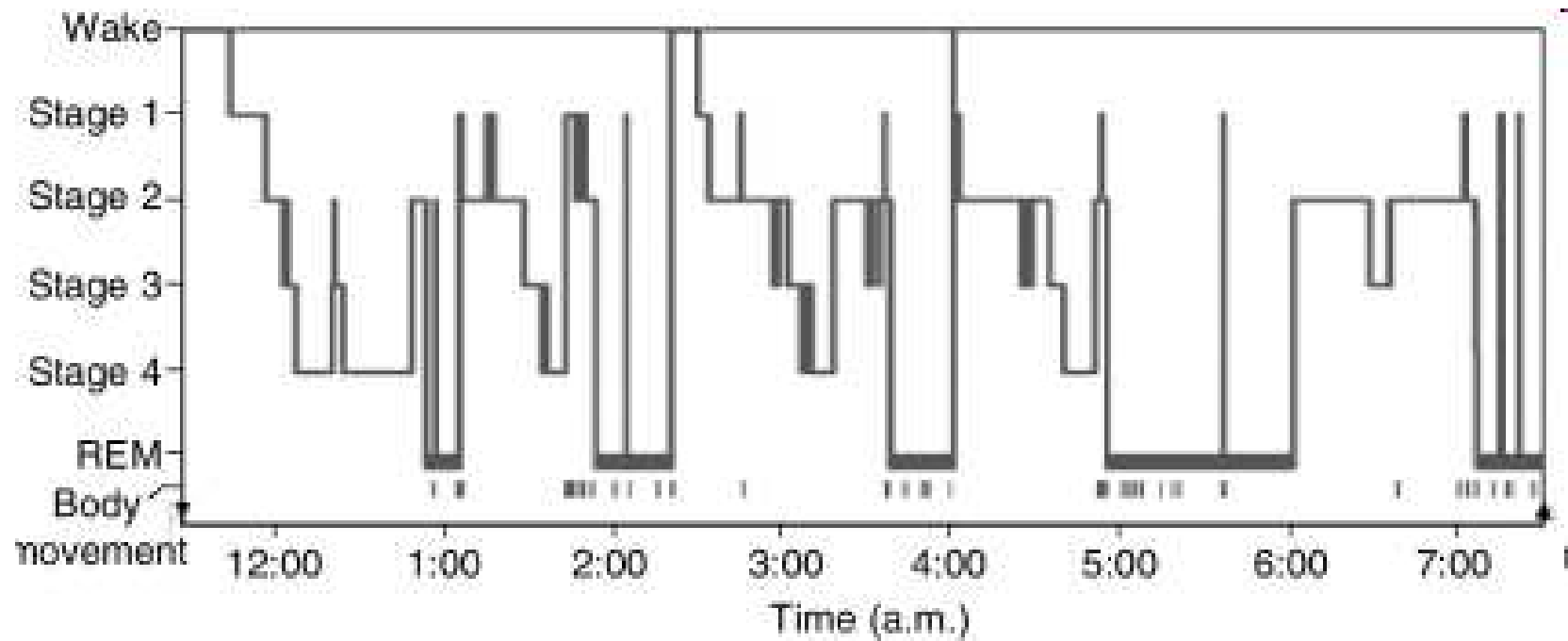
### Citokīnu un vides faktoru nozīme tolerogēno dendrītisko šūnu (tDC) aktivācijā

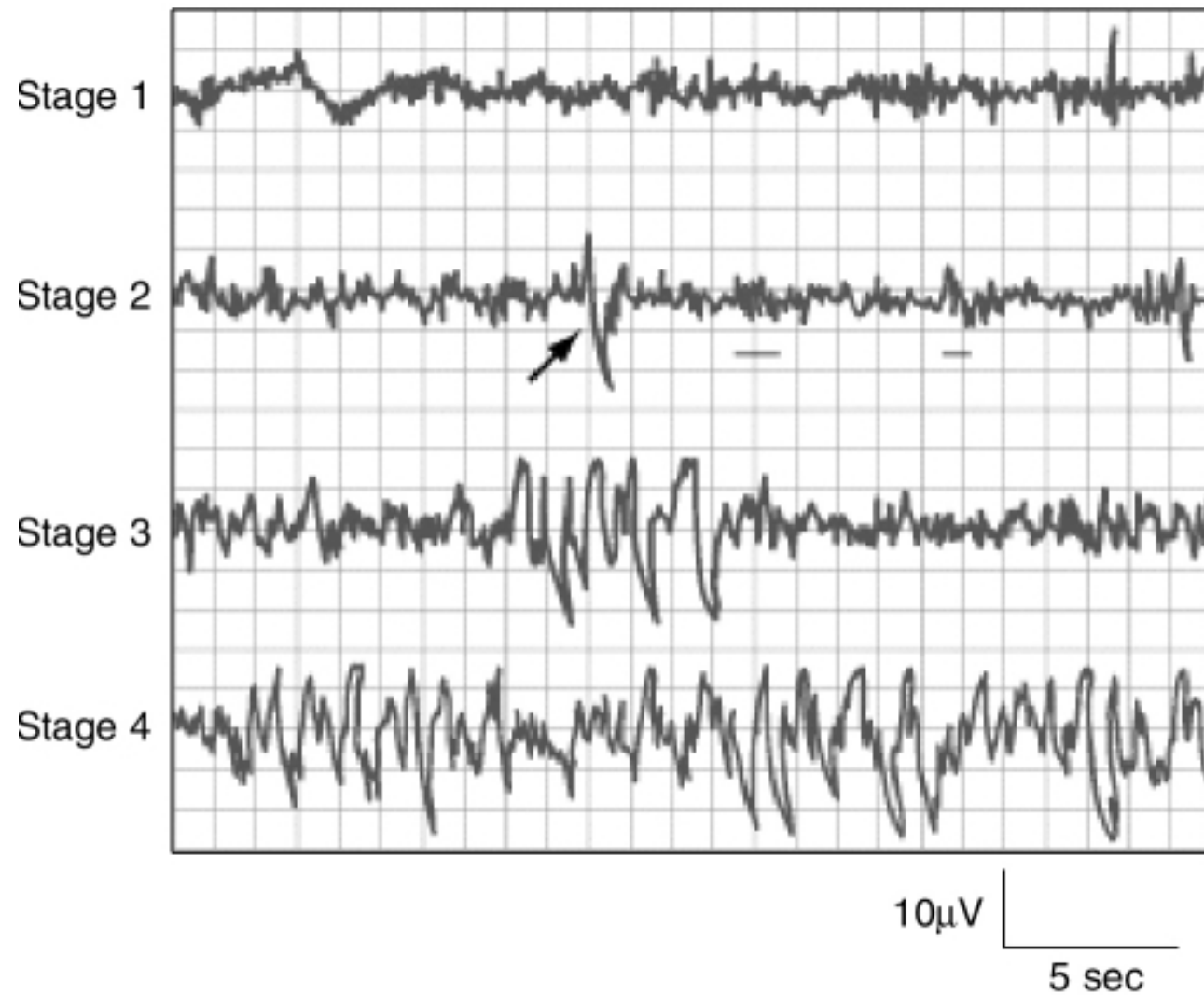
Robertson S et al., *Activating T regulatory cells for tolerance in early pregnancy — the contribution of seminal fluid*

J Reproduct Immunol, 2009, 83, 1-2:109-116.

# Miega/nomoda un cirkadiānās periodikas vadības sistēmas būtiski ietekmē imūnfunkcijas

- Miega/nomoda un cirkadiānās periodikas vadības sistēmas būtiski ietekmē imūnfunkcijas
- Tūlīt pēc iemigšanas pieaug nediferencēto T-šūnu skaits un iekaisumu veicinošo citokīnu koncentrācijas, kamēr efektoro imūnšūnu (piem., citotoksisko NK) skaits un pretiekaisuma citokīnu koncentrācijas vislielākās ir nomodā dienviņdū.
- Miegš stimulē T šūnu ekstravazāciju un pārdali starp limfmezgliem; miegš stimulē IL-12 līdzdalību APŠ un Th līdzētājšūnu komunikācijās
- Uzskatāms eksperimentāls fakts: miegā pēc (prethepatīta A) vakcinācijas ir lielāks antigēnspecifisko Th šūnu skaita un antivielu koncentrācijas pieaugums, nekā nomodā
- Šie efekti saistīti g'.k. Ar lēno viļņu mieg, paaugstinātu augšanas hormona un prolaktīna līmeni, relatīvi zemās kortizola un kateholamīnu koncentrācijām



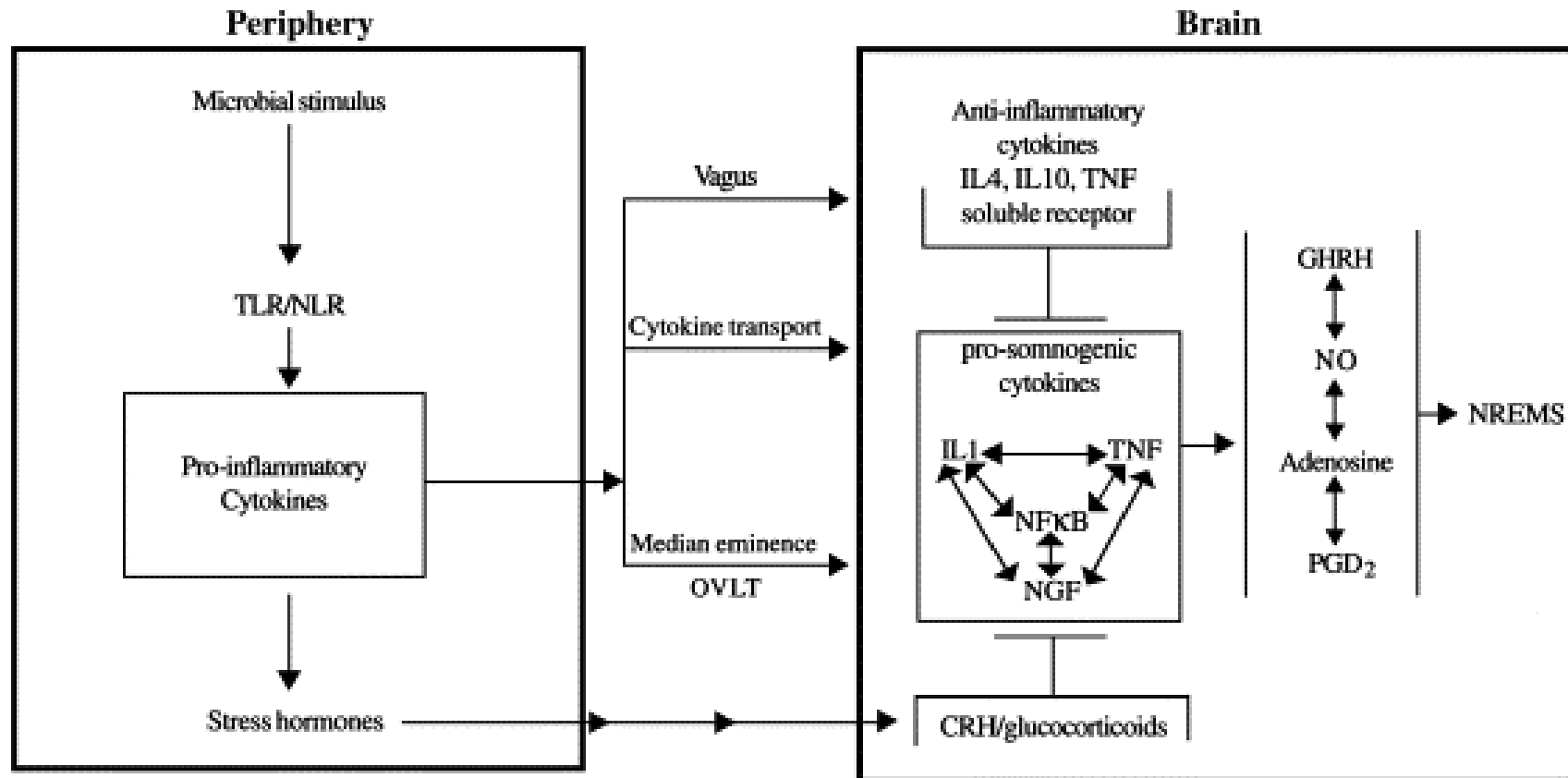


Characteristic EEG activity of each of the four stages of NREM sleep. NOTE: In stage 2, the arrow indicates a K-complex, and the underlining shows two sleep spindles.

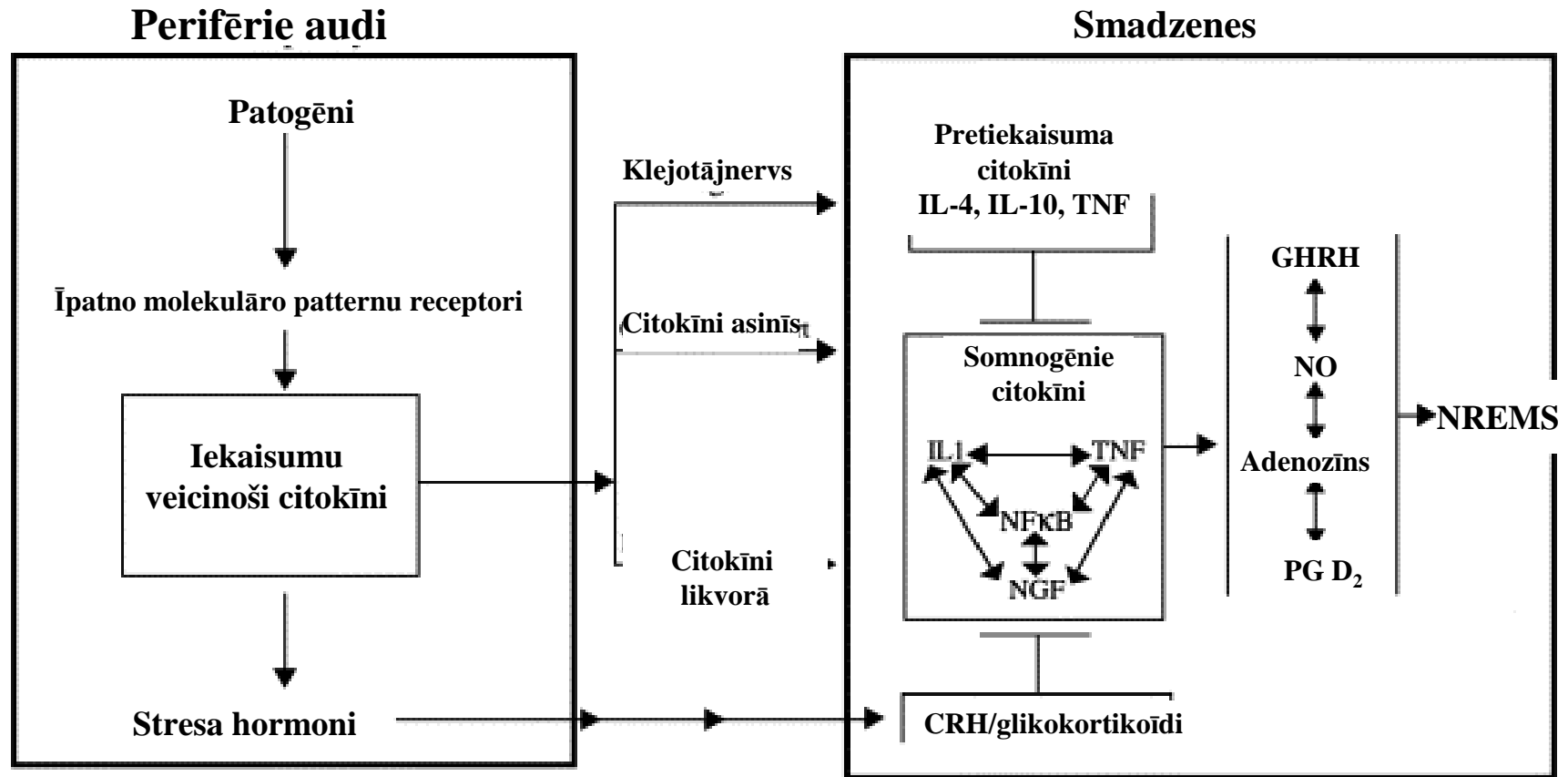


- Akūtu infekciju pavada pagarināts SWS (NREMS) miegs un saīsināti REM-sleep periodi
- Miegā spēcina imūnaizsardzību; infekcijas gadījumā paaugstināta miegainība; miega deficīts vājina imūnaizsardzību
- Miegā, salīdzinot ar nomodu, ievērojami pieaug cellulāro imunitāti stimulējošā IL-2, kā arī IFN $\gamma$  produkcija; monocītu sekretēto (iedzimto imunreakciju stimulējošo) IL-1, IL-6 un TNF $\alpha$  produkcija nemainās

# BRAIN CYTOKINE CASCADE INVOLVED IN SLEEP REGULATION



# Citokīnu dalība miega regulācijā

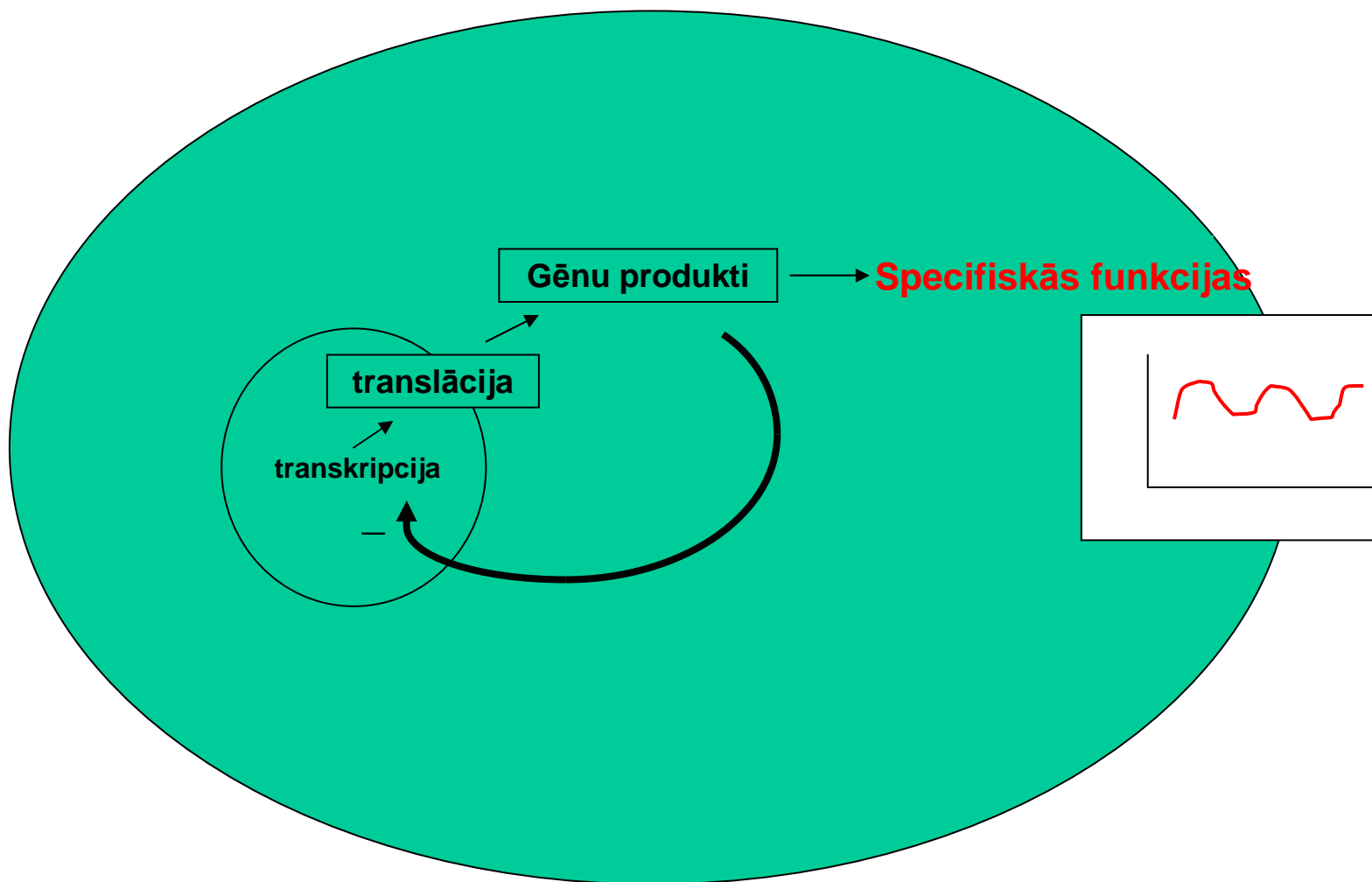


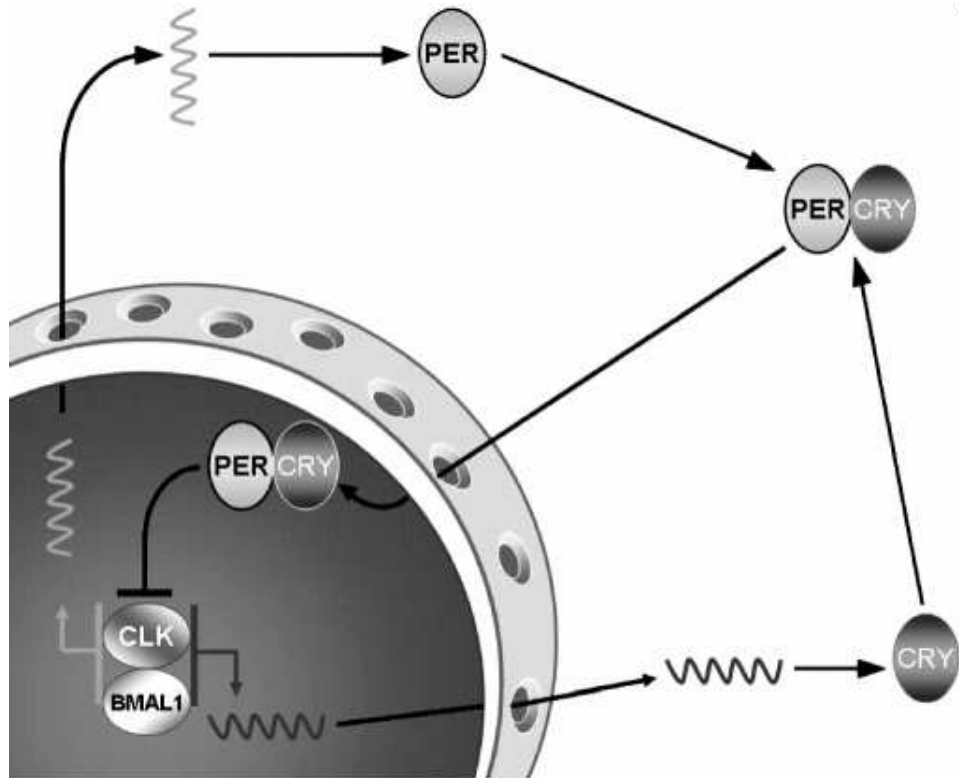
Mikrobu infekcija perifēros audos provocē iekaisumu un smadzenes sasniedz iekaisumu veicinošie citokīni IL-1, TNF u.c., kuriem ir somnogēns efekts (pagarina NREMS); vienlaikus paaugstinās stresa hormonu produkcija.

Somnogēno citokīnu produkciju ierobežo smadzeņu producētie pretiekaisuma citokīni IL-4, 10, TNF un stresa hormoni.



# Negatīvas atgriezeniskās saites loma periodisku fluktuāciju izcelsmē



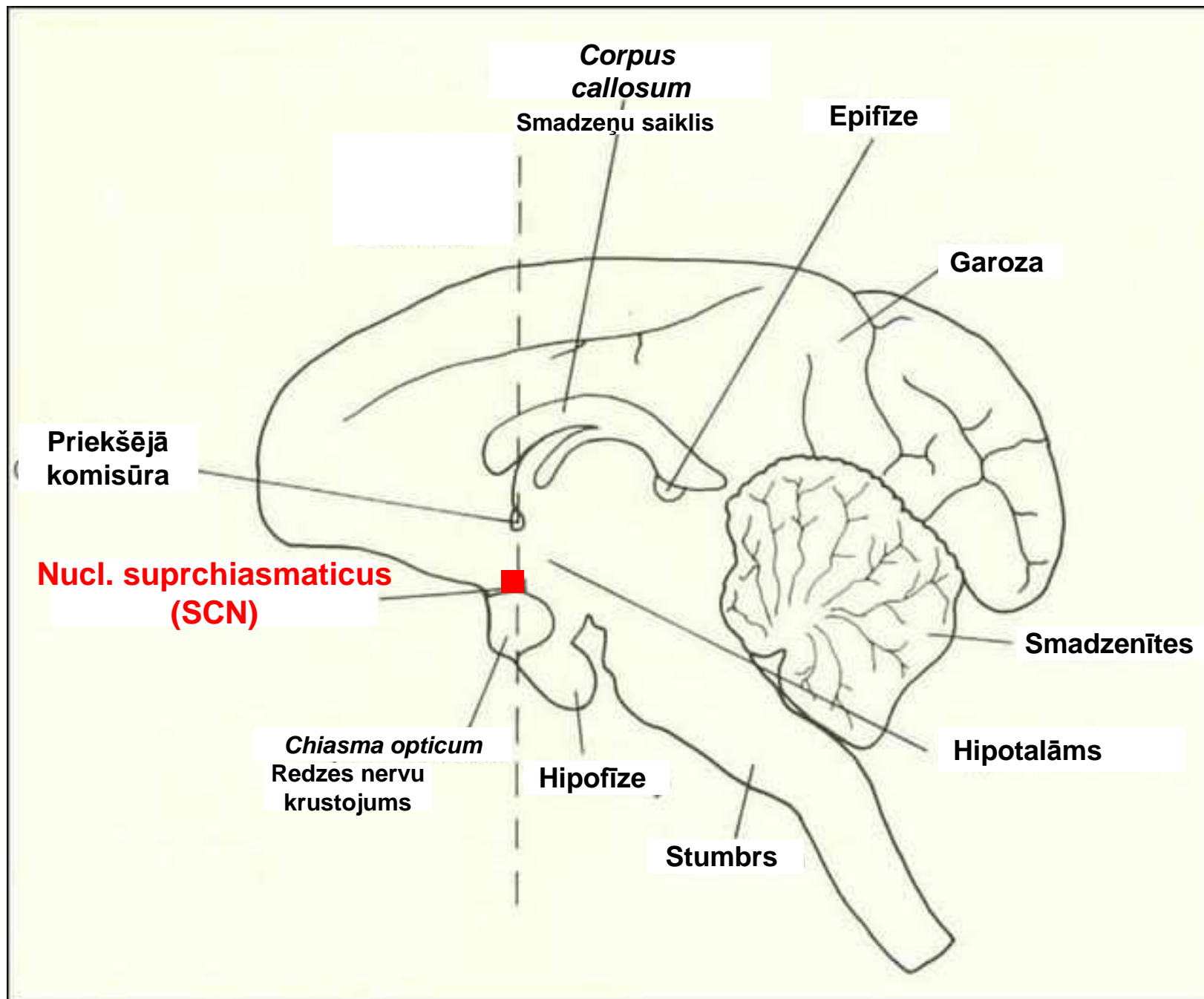


Many other genes are also regulated by Clock and Bmal1, and these genes cycle in this way in many tissues in the body, giving rise to daily patterns of activity. These rhythmically expressed genes contribute to many aspects of cellular function, including glucose and lipid metabolism, signal transduction, secretion, oxidative metabolism, and many others, suggesting the importance of the circadian system in many central aspects of life.

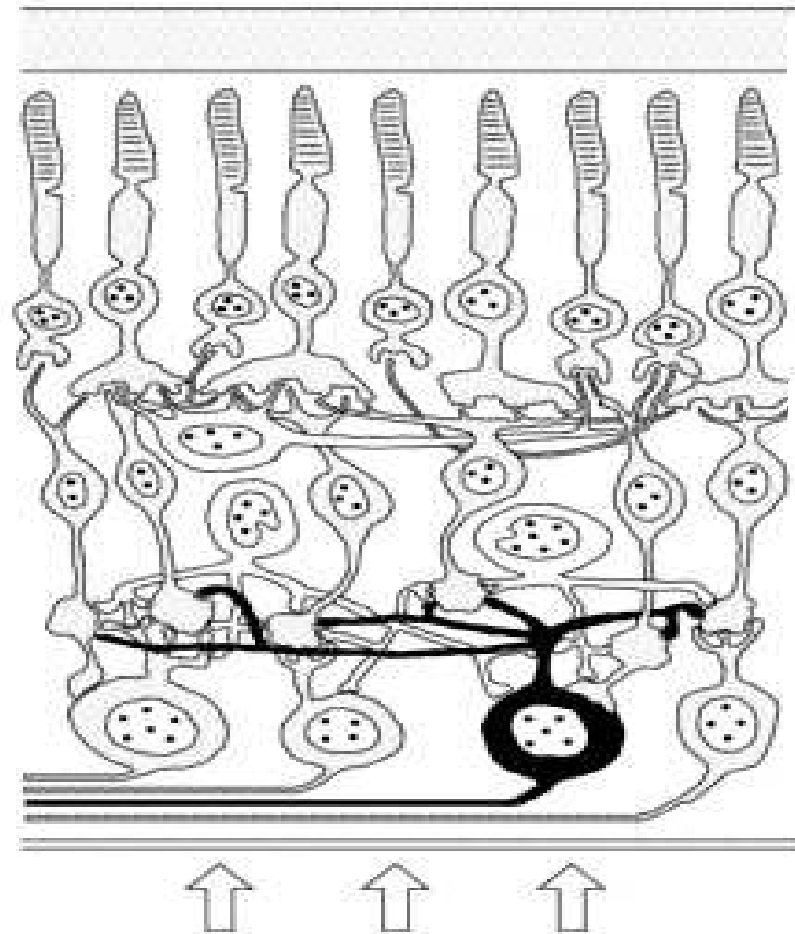
Molecular mechanisms underlying the activity of the circadian clock.

NOTE: The activation and deactivation of *Period* and *Cryptochrome* protein production is the basis of a negative-feedback loop that controls the ~24-hour cycle time of circadian clocks. Thus, the ability of the *Period* and *Cryptochrome* proteins to modulate their own production allows the system to self-regulate.

In mammals, two proteins, Clock and Bmal1, bind together and move into the nucleus of the cell, where they bind to specific sites in the DNA that activate specific genes ([Figure 2-4](#)). Among the genes that they activate are *Period* and *Cryptochrome*. The products of these genes also move back into the nucleus, where they disrupt the binding of Clock and Bmal1 to the DNA, thus inhibiting their own synthesis. This results in a rising and falling pattern of expression of the *Period* and *Cryptochrome* gene products with a periodicity that is very close to 24 hours.



# Tīklene



pigmentepitēijs

nūjiņas un vāļītes

horizontālās šūnas

bipolārās šūnas

amakrīnās šūnas

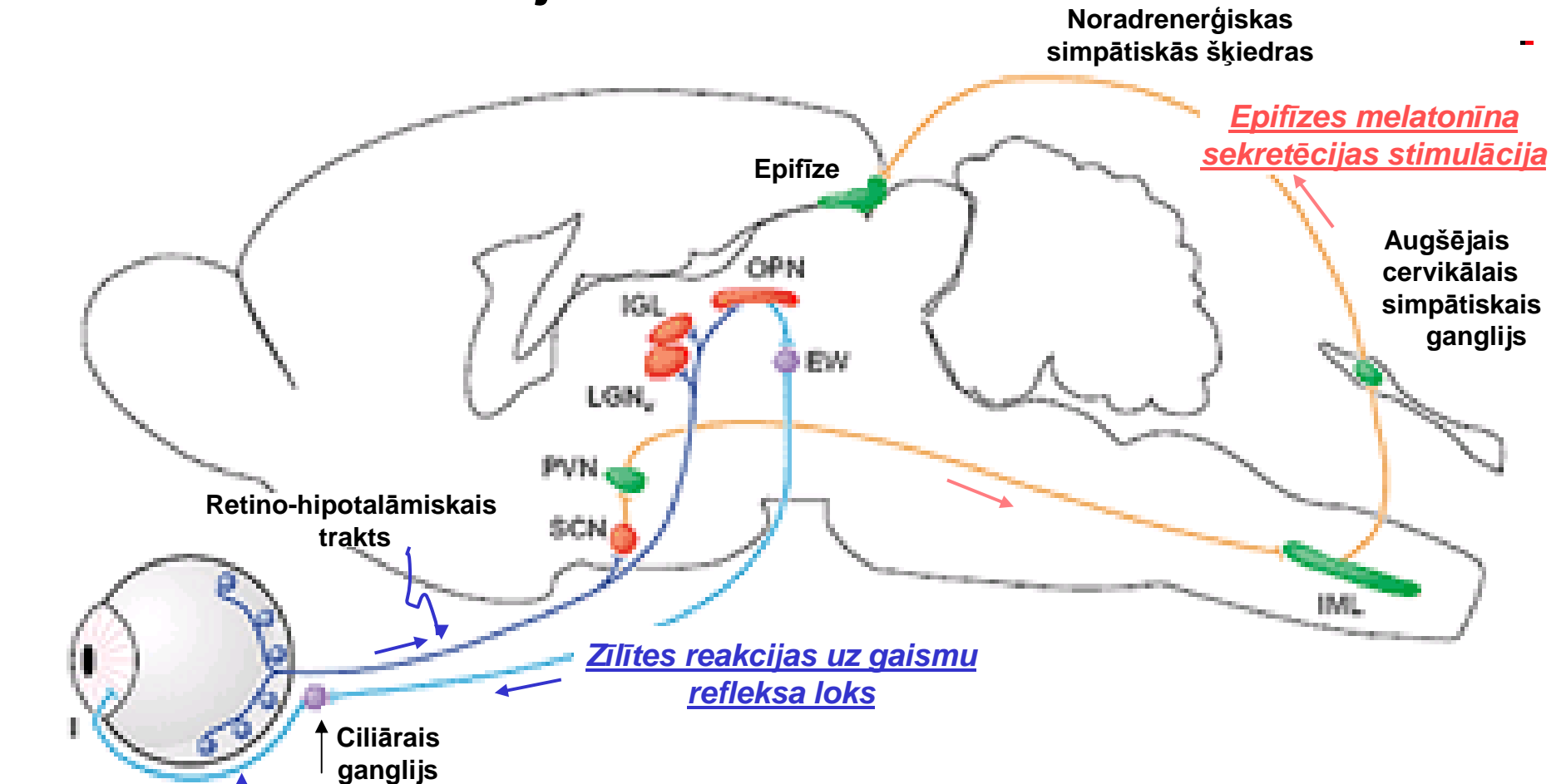
ganglionārie neurocīti

redzes nervs

gaisma



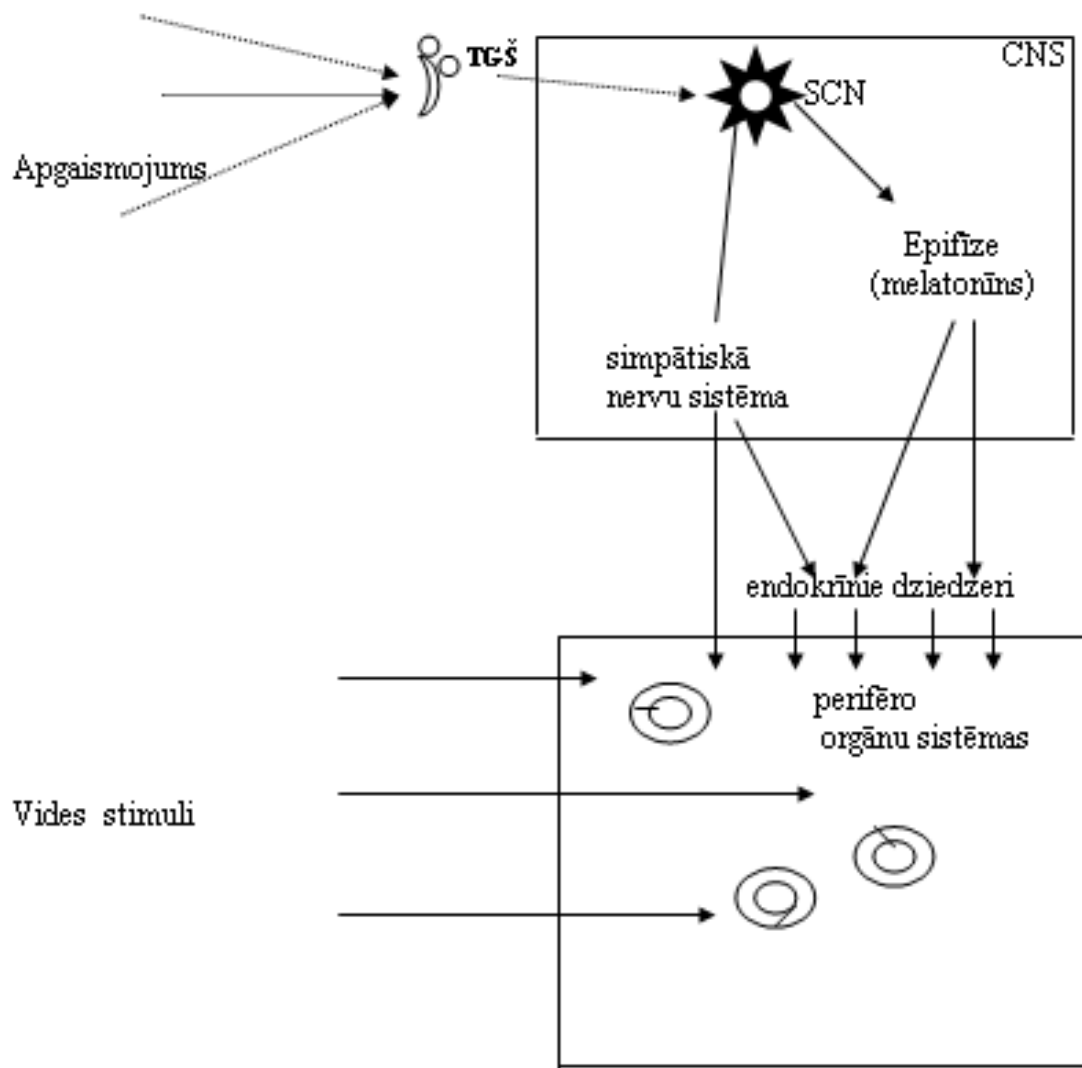
# Attēlu neveidojošā redze



Tīklenes gangliozās šūnas, kas satur fotoreceptīvu pigmentu – melanopsīnu; ipRGCs – *intrinsically photosensitive retinal ganglionic cells*

LGN – nucl. geniculatum lateralis  
 OPN – olīvas nucl. Pretectalis  
 EW - *Edinger Westaphal* nucleus  
 SCN – nucl. Suprachiasmaticus  
 IML – nucl. Intermediolateralis  
 PVN – nucl. paraventricularis

# Diennakts ritmu endogēnā izcelsme

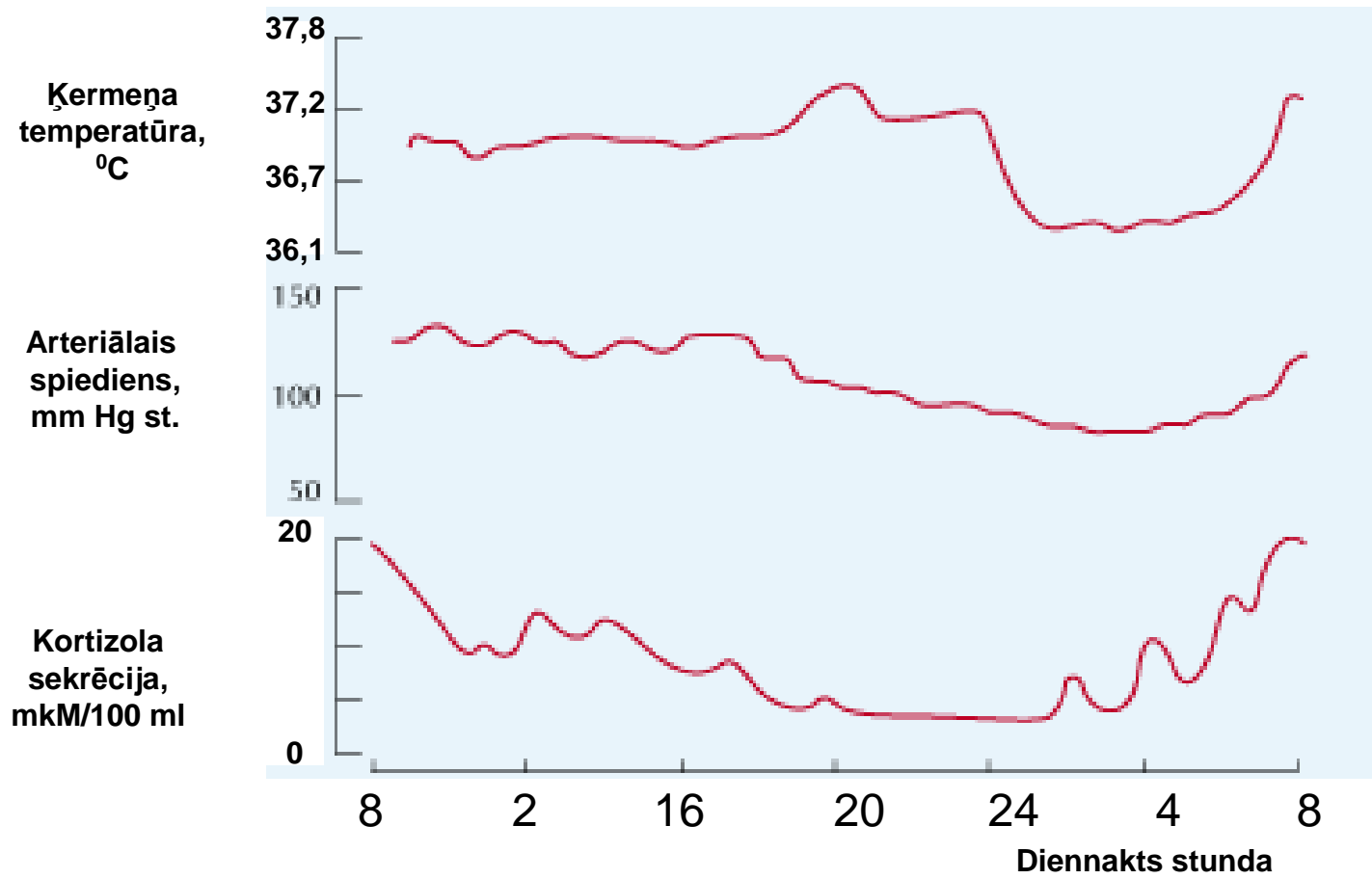


# Melatonīns –

**serotonīna metabolisma produkts; veidojas epifīzē.**

- vada hipotalāma SCN
- provocē miegu
- mitohondriālas izcelsmes melatonīns ir spēcīgs antioksidants:
  - 2x efektīvāk kā E vitamīns sargā membrānas no lipīdu peroksidācijas,
  - 5x efektīvāk kā glutatiāns neitralizē hidroksīla radikālu;
- stimulē dabiskās galētājšūnas, T-līdzētājšūnas, monocītus, kavē tīmus involūciju, novecojot
- kavē vēža šūnu proliferāciju un metastazēšanos

# Cirkadiānais ritms



## *Diennakts ritmi*

