

2.
DEL

BAKTERIJA IN GOSTITELJ

Bakterija in gostitelj

Normalna mikrobna flora

Katja Seme

POMEN NORMALNE MIKROBNE FLORE

NORMALNA MIKROBNA FLORA V DIHALIH

NORMALNA MIKROBNA FLORA V PREBAVILIH

NORMALNA MIKROBNA FLORA SEČIL IN SPOLOVIL

NORMALNA MIKROBNA FLORA KOŽE

Normalna mikrobna flora so mikroorganizmi, ki naseljujejo kožo in sluznice zdravih ljudi (slika 5.1). Sestavlja jo veliko različnih vrst bakterij ter posamezne vrste gliv in parazitov. Mikroorganizme normalne mikrobne flore lahko razvrstimo v **stalno** in **prehodno** floro. Stalna flora so tiste vrste mikroorganizmov, ki jih v nekem starostnem obdobju praviloma vedno najdemo na enakem območju. Prehodna mikrobna flora so nepatogeni ali pogojno patogeni mikroorganizmi, ki začasno (nekaj ur, dni ali tednov) naseljujejo kožo ali sluznice. Predstavniki prehodne mikrobne flore praviloma nimajo posebnega pomena, dokler je stalna normalna mikrobna flora neokrnjena. Kadar koli pride do motenj v sestavi stalne normalne mikrobne flore, pa lahko predstavniki prehodne mikrobne flore kolonizirajo neko območje, se

namnožijo in povzročijo okužbo z izraženo bolezensko sliko.

POMEN NORMALNE MIKROBNE FLORE

Predstavniki normalne mikrobne flore so s človekom v komenzalnem sožitju. Njihova prisotnost za človeka ni nujno potrebna, vendar je na nekaterih območjih zelo pomembna pri ohranjanju zdravja in normalne funkcije organizma. Tako npr. predstavniki normalne flore črevesa sintetizirajo vitamin K in sodelujejo pri absorpciji hranil. Mikroorganizmi normalne mikrobne flore s svojo prisotnostjo na koži in sluz-

nica preprečujejo kolonizacijo teh območij s patogenimi bakterijami in posledični razvoj okužbe. Poleg koristnih učinkov pa lahko predstavniki normalne mikrobne flore v nekaterih okoliščinah povzročijo tudi hude okužbe. Ti mikroorganizmi namreč nimajo virulentnih dejavnikov, ki bi jim omogočali aktivni prodor v organizem, zato zanje že sama koža in sluznice pomenijo zadostno oviro pred vdorom v tkiva in krvni obtok. Če je mikroorganizmom normalne flore z odstranitvijo teh ovir (zaradi poškodbe, invazivnega posega idr.) omogočen vdor v tkiva in krvni obtok, lahko postanejo patogeni. Tako npr. pride pri izdrtju zoba ali odstranitvi tonzil do vdora veliko alfa-hemolitičnih streptokokov v krvni obtok, ki na okvarjenih ali umetnih srčnih zaklopkah lahko povzročijo bakterijski endokarditis. Anaerobne vrste rodu *Bacteroides* so najštevilnejši prebivalci debelega črevesa, kjer ne povzročajo nobene škode. Lahko pa povzročijo zelo nevarna gnojna vnetja, če pri predrtju črevesa (zaradi poškodbe ali bolezenskega procesa) pridejo v peritonealno votlino.

Sestava normalne mikrobne flore se med posameznimi anatomskimi območji razlikuje in s starostjo marsikje tudi spreminja. Odvisna je tudi od različnih fizioloških dejavnikov, kot so temperatura telesne površine, vlaga, prisotnost hranil ali antimikrobnih snovi.

NORMALNA MIKROBNA FLORA V DIHALIH

V dihalih je normalna mikrobna flora naseljena na sluznici nosne votline in žrela, medtem ko so obnosne votline, grlo, sapnik, bronhiji, bronhioli in alveoli praviloma sterilni. V nosni votlini prevladujejo stafilokoki, ki ne tvorijo encima koagulaze (koagulazno negativni stafilokoki – KNS), nadalje korinebakterije in najserije, medtem ko je v žrelu več alfa-hemolitičnih

streptokokov. Podrobno sestavo stalne in prehodne normalne flore dihal prikazuje tabela 5.1.

NORMALNA MIKROBNA FLORA V PREBAVILIH

V prebavilih je normalna mikrobna flora naseljena v ustih (tabela 5.2), požiralniku, želodcu, tankem in debelem črevesu (tabela 5.3), medtem ko jetra in žolčnik praviloma ne vsebujeta mikroorganizmov. Količina mikroorganizmov je najmanjša v želodcu (10^3 do 10^5 bakterij/g vsebine) in dvanajstniku (10^3 do 10^6 bakterij/g vsebine), največja pa v debelem črevesu (10^8 do 10^{10} bakterij/g vsebine), zlasti v sigmoidnem kolonu in v danki (10^{11} bakterij/g vsebine), kjer zaseda kar 10 do 30 % vse fekalne mase.

NORMALNA MIKROBNA FLORA SEČIL IN SPOLOVIL

Pri zdravem človeku so mikrobi v sečilih praviloma samo v sečnici, in to le v njeni distalni tretjini ali polovici, medtem ko so preostali predeli sečil sterilni. Normalno floro sečnice sestavljajo koagulazno negativni stafilokoki, enterokoki, difteroidi (predvsem iz rodu *Corynebacterium*), nepatogene najserije, različne vrste enterobakterij, acinetobaktri, mikoplazme in glive kvasovke (največkrat *Candida albicans*). Število mikrobov v izločenem seču tako pri zdravem človeku ni večje od 10^2 do 10^4 /ml.

Normalna nožnična mikrobna flora se spreminja s starostjo ženske glede na njeno hormonsko stanje in vzporedno spreminjanje pH nožnice (tabela 5.4). V rodnem obdobju prevladujejo laktobacili, ki s fermentacijo ogljikovih hidratov (zlasti glikogena) do kisline omogočajo vzdrževanje kislega pH. Kisel pH preprečuje kolonizacijo nožnice s potencialno patogenimi bakterijami.

NORMALNA MIKROBNA FLORA KOŽE

Na koži se zaradi njene nenehne izpostavljenosti zunanjemu okolju nahaja poleg stalnih normalnih mikrobov tudi precej prehodne flore. Razporeditev normalne mikrobne flore je na koži odvisna od žleznih izločkov, načina oblačenja in bližine sluznic (npr. ustne, nosne in perianalne).

V stalni kožni mikrobni flori prevladujejo aerobni in anaerobni difteroidi, sledijo koagulazno negativni stafilokoki (zlasti *Staphylococcus epidermidis*), mikrokoki, aerobni sporogeni bacili iz rodu *Bacillus*, ki so v zraku, vodi in zemlji, najserije, alfa-hemolitični streptokoki, peptostreptokoki in enterokoki. V kožnih gubah se pogosto nahajajo glive kvasovke, medtem ko z lojnicami bogata mesta naseljujejo nepatogene mikobakterije.

V prehodni kožni mikrobni flori najdemo predvsem manjše količine sicer patogene bakterijske vrste *Staphylococcus aureus*, enterobakterij in acinetobaktrov.

Slika 5.1

Območja in najpogostnejši predstavniki normalne bakterijske flore pri človeku.

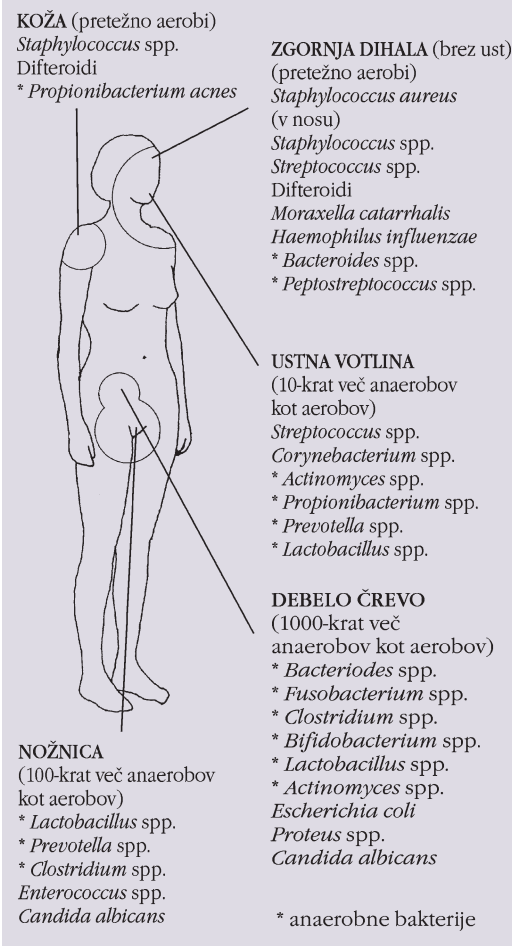


Tabela 5.1

Normalna mikrobna flora zgornjih dihalnih poti.

Anatomski predel	Sestava stalne normalne mikrobne flore	Sestava prehodne normalne mikrobne flore
nosna votlina	<i>Staphylococcus</i> spp. (prevladujejo koagulazno negativni stafilokoki) <i>Corynebacterium</i> spp. <i>Neisseria</i> spp.	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Haemophilus</i> spp. <i>Moraxella catarrhalis</i> enterobakterije
žrelo	<i>Streptococcus</i> spp. <i>Neisseria</i> spp. <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Corynebacterium</i> spp. <i>Peptostreptococcus</i> spp. <i>Fusobacterium</i> spp. <i>Prevotella</i> spp. <i>Bacteroides</i> spp. <i>Porphyromonas</i> spp.	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Haemophilus</i> spp. <i>Neisseria meningitidis</i> <i>Moraxella catarrhalis</i> <i>Enterococcus</i> spp. enterobakterije

Tabela 5.2

Normalna mikrobna flora ustne votline.

Starostno obdobje	Sestava normalne mikrobne flore	Opomba
ob porodu	–	Ustna votlina je ob porodu sterilna.
4-12 ur po rojstvu	<i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Neisseria</i> spp. <i>Corynebacterium</i> spp. <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Streptococcus salivarius</i> <i>Candida</i> spp.	
1. leto življenja	<i>Streptococcus salivarius</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Neisseria</i> spp. <i>Veillonella</i> spp.	
po izrastu prvih zob	<i>Streptococcus sanguis</i> <i>Streptococcus mutans</i> <i>Actinomyces</i> spp. <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Rothia dentocariosa</i> <i>Capnocytophaga</i> spp.	Naštete bakterije naseljujejo trde površine v ustih.
zdravi otroci do pubertete	<i>Streptococcus salivarius</i> <i>Streptococcus sanguis</i> <i>Streptococcus mutans</i> <i>Actinomyces</i> spp. <i>Peptostreptococcus</i> spp. <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Leptotrichia buccalis</i> <i>Porphyromonas</i> spp. <i>Prevotella</i> spp.	Anaerobi se pojavljajo s poglobljanjem gingivalnih žepov po izrastu stalnih zob.
zdravi odrasli	<i>Streptococcus</i> spp. <i>Neisseria</i> spp. <i>Corynebacterium</i> spp. <i>Actinomyces</i> spp. <i>Prevotella</i> spp. <i>Fusobacterium</i> spp. <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Rothia</i> spp. <i>Capnocytophaga</i> spp. <i>Treponema denticola</i> <i>Treponema socranskii</i> <i>Treponema vincentii</i> <i>Treponema pectinovorum</i>	V zdravih ustih je delež anaerobnih bakterij vedno < 1 % vse mikrobne flore. Ustne treponeme najdemo v velikih količinah v subgingivalni mikroflori pri vnetnih spremembah, medtem ko jih je na zdravi sluznici zelo malo.
starostniki	<i>Streptococcus salivarius</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Neisseria</i> spp. <i>Corynebacterium</i> spp. <i>Veillonella</i> spp.	Ustna flora je podobna dojenčkovi. Ni možnosti za rast anaerobnih bakterij.

Tabela 5.3

Normalna mikrobna flora v prebavilih.

Anatomski predel	Sestava normalne mikrobne flore	Opomba
požiralnik	variabilna	Mikroorganizmi, ki jih najdemo v požiralniku, pridejo vanj s slino in hrano.
želodec	<i>Lactobacillus</i> spp. <i>Streptococcus</i> spp. <i>Staphylococcus</i> spp. <i>Corynebacterium</i> spp.	Nizek pH želodčnega soka vzdržuje malo mikroorganizmov (10^3 - 10^5 /g vsebine). Uživanje protiulkusnih zdravil, ki zvišajo pH želodčnega soka, lahko privede do znatnega zvišanja števila mikroorganizmov v želodcu.
dvanajstnik, jejunum in proksimalni del ileuma	<i>Lactobacillus</i> spp. <i>Enterococcus</i> spp. <i>Corynebacterium</i> spp.	Količina mikroorganizmov postopno narašča z višanjem pH črevesne vsebine (10^5 - 10^8 /g vsebine).
distalni del ileuma in debelo črevo	enterobakterije <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus</i> spp. <i>Enterococcus</i> spp. <i>Corynebacterium</i> spp. <i>Peptostreptococcus</i> spp. <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Bacteroides</i> spp. <i>Eubacterium</i> spp. <i>Bifidobacterium</i> spp. <i>Propionibacterium</i> spp. <i>Clostridium</i> spp. (prevladuje <i>Clostridium perfringens</i>) glive kvasovke vlaknate plesni paraziti: <i>Entamoeba coli</i> , <i>Endolimax nana</i> , <i>Iodamoeba bütschlii</i> , <i>Trichomonas hominis</i> , <i>Chilomastix mesnili</i>	V debelem črevesu pri zdravih odraslih je več kot 100 različnih vrst mikroorganizmov, 96-99 % normalne bakterijske flore so anaerobi.

Tabela 5.4

Sestava normalne mikrobne flore nožnice.

Starostno obdobje	Sestava normalne mikrobne flore	Opomba
1. mesec življenja	<i>Lactobacillus</i> spp. <i>Fusobacterium</i> spp. <i>Peptostreptococcus</i> spp. <i>Staphylococcus</i> spp. <i>Corynebacterium</i> spp. <i>Enterococcus</i> spp.	Zaradi vpliva materinih estrogenov je mikrobna flora v prvem mesecu življenja podobna tisti v rodnem obdobju.
deklištvu do pubertete	<i>Staphylococcus</i> spp. <i>Corynebacterium</i> spp.	kožna flora
rodno obdobje	<i>Lactobacillus</i> spp. (prevladuje <i>Lactobacillus acidophilus</i>) <i>Peptostreptococcus</i> spp. <i>Prevotella</i> spp. <i>Fusobacterium</i> spp. <i>Clostridium</i> spp. <i>Staphylococcus</i> spp. <i>Corynebacterium</i> spp. <i>Enterococcus</i> spp. enterobakterije glive kvasovke	Prehodno lahko najdemo v normalni flori nožnice tudi <i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>Listeria</i> spp., <i>Gardnerella vaginalis</i> , <i>Ureaplasma urealyticum</i> , <i>Mobiluncus</i> spp.
pomenopavzavno obdobje	<i>Staphylococcus</i> spp. <i>Corynebacterium</i> spp.	kožna flora

LITERATURA ZA NADALJNI ŠTUDIJ

Hausler, W. J. Jr., Sussman, M. Bacterial infections. V: Collier, L., Balows, A., Sussman, M., ur. Topley and Wilson's microbiology and microbial infections. 9. izdaja, 3. zv. London: Arnold; 1998.

Bakterija in gostitelj

Patogeneza in širjenje bakterijskih okužb

Srečko Koren, Alojz Ihan, Marija Gubina

PATOGENOST IN VIRULENCA

NASTANEK BAKTERIJSKE OKUŽBE

POTI VSTOPANJA BAKTERIJ V TELO IN NJIHOVO ŠIRJENJE

Neposreden vnos mikrobov skozi kožo

Neposreden vnos mikrobov skozi sluznice

POSREDEN VNOS MIKROBOV

BAKTERIJSKA ADHERENCA

Pilusi

Biofilm

INVAZIVNOST BAKTERIJ

Giblјivost bakterij

Utekočinjanje sluzi

Privzemanje železa

KOCHOVI POSTULATI

PATOGENOST IN VIRULENCA

Okužba (infekcija) je proces, pri katerem mikrobi (npr. bakterije) vdrejo v telo, kjer se razmnožujejo. Posledica je lahko okvara tkiv in organov in razvoj bolezenskih znakov. Na izid okužbe vplivata bakterijska patogenost in gostiteljeva odzivnost.

Patogenost je sposobnost bakterij, da povzročijo bolezen pri gostitelju. **Stopnja patogenosti je virulenca.** Posamezni sevi patogenih bakterij so bolj ali manj virulentni. Virulenco posamezne bakterije izrazi-

mo s številom bakterij, ki povzročijo bolezen pri polovici poskusnih živali (ID_{50} = infektivna doza 50). Nekatere vrste bakterij pri poskusnih živalih povzročijo smrt. V teh primerih virulenco bakterije izrazimo s številom bakterij, ki povzročijo pogin polovice poskusnih živali (LD_{50} = letalna doza 50). Bolezen ali pogin lahko povzroči malo močno virulentnih ali več šibko virulentnih bakterij.

Patogenost je odvisna od lastnosti bakterij, splošno imenovanih virulentni dejavniki, in od sprejemljivosti gostitelja. Lahko jih razdelimo v 2 skupini:

- virulentni dejavniki, ki bakterijam omogočajo **naseljevanje** (kolonizacijo)

telesnih površin in **vdiranje** (invazijo) v globlje ležeča tkiva in organe;

- virulentni dejavniki (toksini), s katerimi bakterije **okvarjajo** gostiteljeve celice, tkiva in organe.

Patogene bakterije s številnimi virulentnimi dejavniki večinoma povzročajo okužbe, pri katerih nastanejo patološke spremembe in klinični znaki bolezni. Včasih je gostiteljeva obramba tako učinkovita, da okužba s patogenimi bakterijami poteka brez bolezenskih znakov. Razvije se **asimptomatična** ali inaparentna (nepoznavna) infekcija. Asimptomatični klicenosci, ki izločajo patogene bakterije, so pomemben vir okužbe. **Klicenoštvo** je pogosten pojav tudi po preboleli infekcijski bolezni, kadar imunskemu sistemu ni uspelo popolnoma uničiti njenega bakterijskega povzročitelja. Znani so primeri klicenoscev patogenih enterobakterij (salmonel, šigel, ešerihij).

Komenzalne bakterije, ki kolonizirajo kožo in sluznice in sestavljajo normalno mikrobno floro, v fizioloških okoliščinah ne škodujejo gostitelju. Ob zmanjšani odpornosti in pomanjkljivem imunskem odzivu ali ob vstopu v telesne predele, kjer navadno ni mikrobov, se razbohotijo in povzročijo oportunistične infekcije. Takrat jim pravimo oportunisti oz. pogojno patogene bakterije. Tipični **oportunist** je npr. bakterija *Escherichia coli*, ki je del normalne črevesne flore, a lahko povzroči vnetje, kadar zaide v sečila ali trebušno votlino, in sepsa, kadar se ob pomanjkljivem imunskem odzivu razširi po krvi.

NASTANEK BAKTERIJSKE OKUŽBE

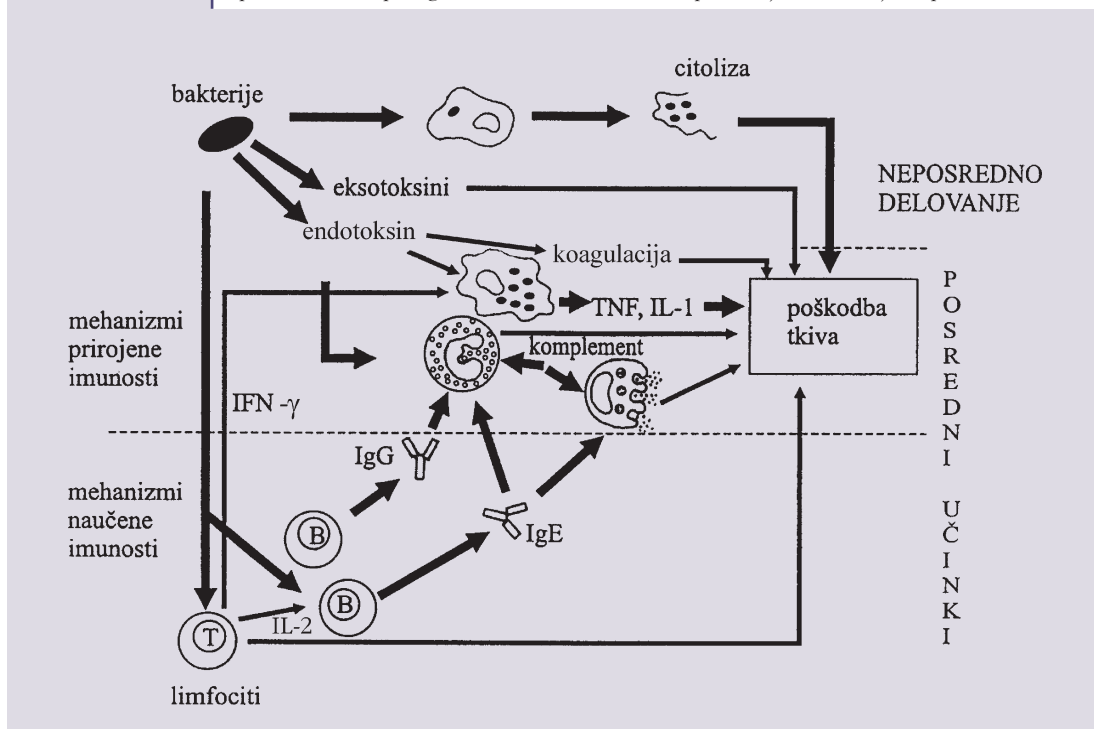
Poglavitni stopnji bakterijske okužbe sta **vstop bakterij v telo** (adherenca in ko-

lonizacija telesnih površin) in **invazija** v gostiteljeve celice in tkiva. Bakterije se pogosto širijo po telesu s krvjo. Prisotnost bakterij v krvi se imenuje **bakteriemija**. Organizem ima mnoge fiziološke protimikrobne prepreke, katerih normalno delovanje preprečuje okužbe (koža, sluznice, protimikrobni izločki, izpiranje površin). Poleg tega ima gostiteljev imunski sistem specializirane celice, ki prepoznavajo in odstranjujejo tujke iz telesa. Zato so morali "uspešni" parazitski mikrobi evolucijsko razviti številne prilagoditve, s katerimi lahko kolonizirajo gostitelja kljub njegovim protimikrobnim mehanizmom. Bakterije lahko npr. sproščajo toksine, uničujejo tkiva, slabijo gostiteljevo imunsko zmožnost in povzročajo izrazite bolezenske znake, kot jih npr. opazamo pri davici in griži. Po drugi strani lahko ustrezno prilagojeni mikrobi (npr. treponeme in mikobakterije) ostanejo prikriti za imunski odziv in se dolgo obdržijo v tkivih. Od tega, kako se mikrobom uspe prikriti ali upirati imunskemu odzivu, je v veliki meri odvisna njihova obstojnost v gostitelju, pa tudi vrsta bolezenskega procesa, ki ga povzročajo (slika 6.1).

Patogeneza bakterijske okužbe je kombinacija škodljivega delovanja bakterij in imunskega odziva. Bakterije se lahko naselijo v gostiteljevih celicah in jih uničujejo (znotrajcelične bakterije), lahko pa uničujejo gostiteljeve celice in tkiva z izločanjem eksotoksinov (npr. povzročitelji davice) ali s sproščanjem endotoksina, ki je sestavni del celične stene pri po Gramu negativnih bakterijah. Okvare tkiv nastanejo lahko tudi zaradi aktivacije protibakterijskih imunskih mehanizmov (interferonov, protiteles, komplementa itd.), ki poškodujejo telesne celice. Zlasti dolgotrajne imunske reakcije (kronična vnetja) lahko nepopravljivo poškodujejo tkiva.

Slika 6.1

Splošna shema patogenetskih mehanizmov, ki privedejo do škodljivih posledic okužb.

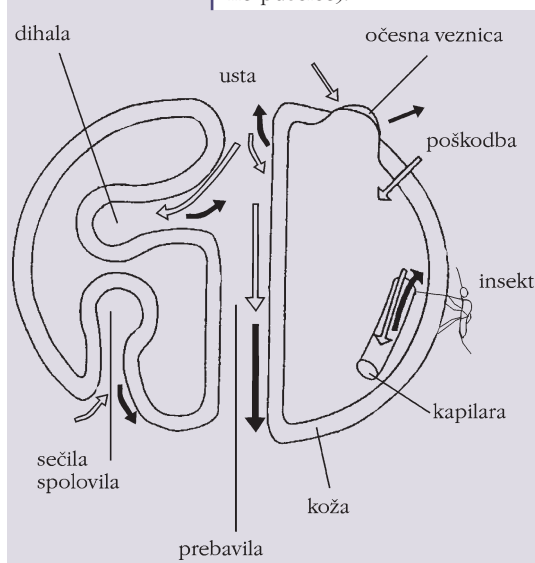


POTI VSTOPANJA BAKTERIJ V TELO IN NJIHOVO ŠIRJENJE

Telesne površine, ki jih sestavljajo koža in sluznice, so najpogostnejše vstopno mesto za patogene bakterije (slika 6.2).

Slika 6.2

Vstopanje mikrobov v telo (svetle puščice) in njihovo širjenje iz bolnika v okolje (temne puščice).



Zdrava **koža** učinkovito varuje telesno notranjost pred mikrobi. Njena varovalna mehanizma sta luščenje poroženele zunanje plasti in baktericidni izločki kožnih žlez, npr. maščobne kisline. Koža je tudi izredno trdna mehanska prepreka, zato bakterije lahko le izjemoma prodrejo skozi njo globlje v tkiva, če ni poškodovana. Normalna bakterijska kožna flora s svojimi kislimi izločki preprečuje kolonizacijo patogenih bakterij. Okvarjena koža (rane, opekline, vnetne in druge bolezenske spremembe) je v nasprotju z zdravo zelo izpostavljena bakterijski kolonizaciji in naglemu širjenju bakterij globlje v tkiva.

Sluznice dihal, prebavil, sečil, spolovil, oči in ušes omogočajo izmenjavo snovi med organizmom in okoljem. Temu ustrezna je njihova zgradba - notranjost organizma (krvne žile) loči od zunanosti marsikje samo ena plast epitelijskih celic. Zato so sluznice pogosto vstopno mesto. Na sluznicah delujejo številne protibakterijske prepreke. Normalna bakterijska flora na

Neposreden vnos mikrobov skozi kožo

- a) **Okvara kože** npr. z vrezom, vbodom, ugrizom, skozi ranjeno in opečeno kožo. Do okužbe pride praviloma že pri poškodbi sami ali neopazno zaradi prenosa mikrobov z umazanimi rokami.
- b) **Vnos z vektorjem** ali prenašalcem, npr. s členonožcem, ki s pikom lahko vnese mikrobo, npr. rikecije, borelije in druge mikrobo.

sluznicah preprečuje razmnoževanje patogenih bakterij. Usmerjeni tok sluzi, ki ga poganjata **peristaltika** in **utripanje migetalk**, odplavlja bakterije in zmanjšuje možnost kolonizacije. Snovi, kot so **solna kislina** v želodcu ali **žolčne soli** v črevesju, tvorijo neugodne razmere za razmnoževanje bakterij. Protibakterijsko delujejo še številni drugi **izločki sluznic** (laktoperferin, laktoperoksidaza, lizocim itd.). Za optimalno protibakterijsko obrambo sluznic je potrebno tudi primerno delovanje imunskega sistema sluznic, zlasti tvorba protiteles razreda **IgA**. Okvarjene sluznice (poškodbe, vnetne, tumorske in druge bolezenske spremembe) so zlasti izpostav-

ljeno vstopno mesto za širjenje bakterij po telesu. V tabeli 6.1 so prikazani glavni načini, s katerimi bakterije vstopajo v telo.

Neposreden vnos mikrobov skozi sluznice

- a) Povzročitelji okužb se med ljudmi lahko širijo **aerogeno z vdihavanjem kapljic**, v katerih so mikrobi iz dihal ali ust, ali pa so v vodi in okolju.
- b) **Prenos s stikom**. Neposreden prenos mikrobov je mogoč, kadar se dotikamo sluznic (npr. spolni prenos) in kadar vstopamo z nesterilnimi predmeti v rano. Zlasti je prenos enostaven, če si ne umijemo rok po uporabi stranišča (fekalni oralni prenos) in si ne razkužimo ter zaščitimo rok, ko pregledujemo ali negujemo bolnike.

POSREDEN VNOS MIKROBOV

Posredno vnesemo okužbo z okuženimi ali nečistimi predmeti (oblačili, zaščitnimi pokrivali, maskami, predrtimi rokavicami, nesterilnimi predmeti, okuženimi dezinfekcijskimi sredstvi, okuženimi predmeti v bolnikovem okolju idr.) ter z zaužitjem okužene hrane in pijače.

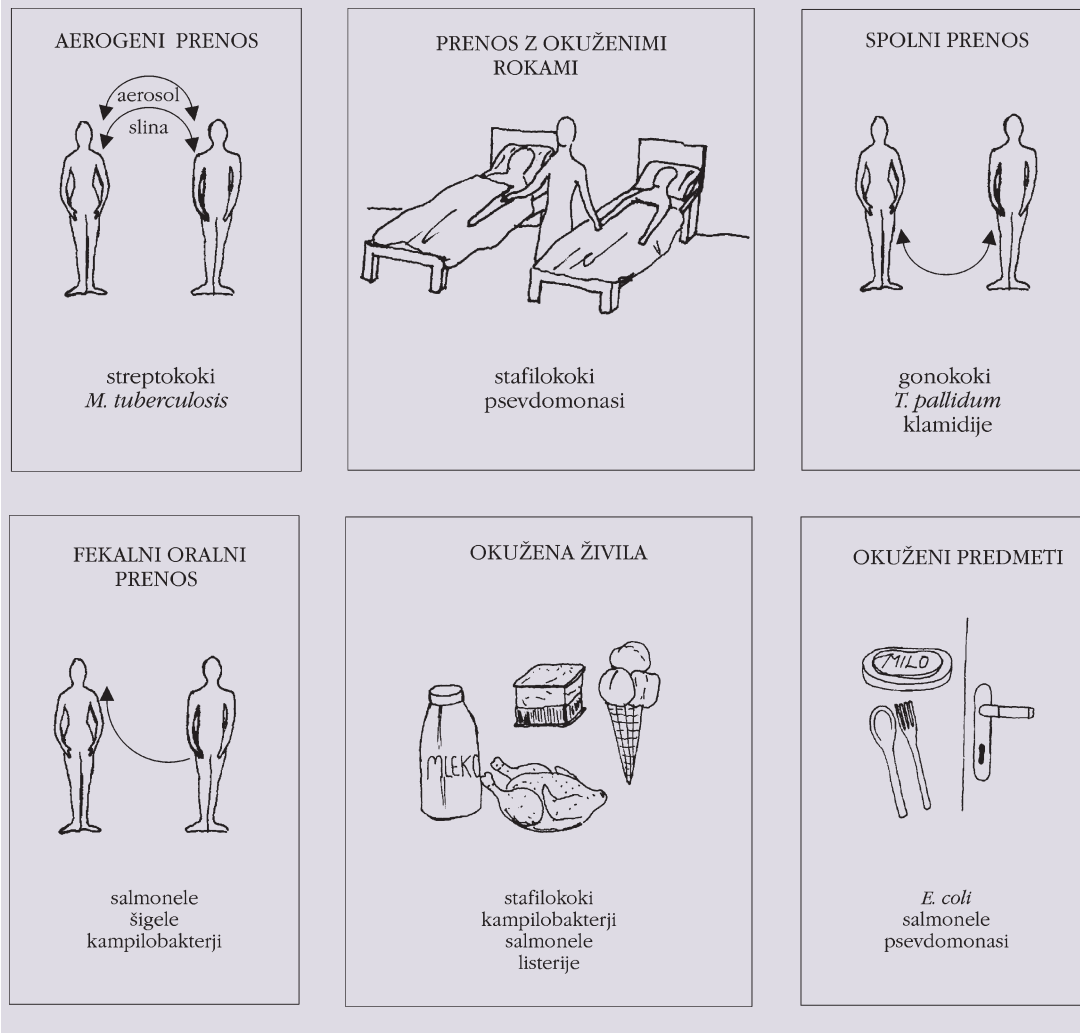
Tabela 6.1

Načini vstopa bakterij v telo.

Načini vstopa	Bakterije
hranjenje in pitje	salmonele, šigele, jersinije, enteropatogene ešerihije, vibriji, kampilobaktri, listerije, brucele, <i>Clostridium botulinum</i> , <i>Bacillus cereus</i>
dihanje	mikobakterije, nokardije, mikoplazme, legionele, bordetele, <i>Chlamydia pneumoniae</i> , <i>Corynebacterium diphtheriae</i>
ranitev, vbod z iglo	<i>Clostridium tetani</i> , stafilokoki, streptokoki, psevdomonasi
žuželčji piki in vbodi	rikecije, erlihije, koksiele, francisele, borelije
spolni odnosi	gonokoki, klamidije, <i>Treponema pallidum</i>
transplacentarni prenos	<i>Treponema pallidum</i> , <i>Listeria monocitogenes</i>

Slika 6.3

Načini prenosa povzročiteljev okužb.



Za preživetje patogenih mikrobov kot bioloških vrst ne zadošča samo njihova zmožnost naselitve in razmnoževanja v gostitelju. Enako kot razmnoževanje v gostitelju je za patogene mikrobe pomembna tudi sposobnost širjenja z gostitelja na gostitelja. To jim omogoči preživetje, kljub temu da gostitelj z imunskim odzivom po nekem času uniči patogene mikrobov. Tudi patogeni mikrobi, ki lahko trajno ostanejo v gostitelju, bi skupaj z gostiteljem poginili, če ne bi imeli zmožnosti širjenja na druge gostitelje. Širjenje je lahko **horizontalno**, tj. med osebkami iste vrste, pri čemer se mikrobi širijo z enega

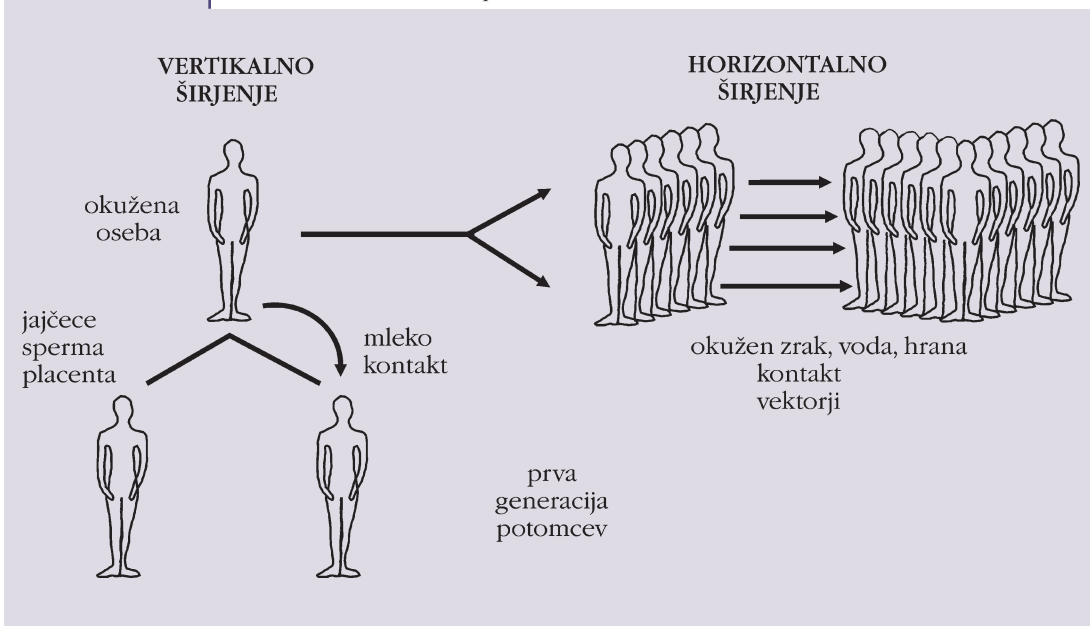
na vse več novih, navadno še neokuženih gostiteljev, npr. z okuženo vodo ali hrano, aerogeno ali s stikom (sliki 6.3, 6.4). Drug način širjenja je **vertikalni** prenos, pri čemer se okužba prenese s staršev na potomce (npr. po placenti).

BAKTERIJSKA ADHERENCA

Za uspešno kolonizacijo se morajo bakterije najprej pritrčiti na telesno površino, sicer jih telesne tekočine (seč, slina, črevesna sluz) odplavijo. Vezavo (adherenco) omogočajo posebne površinske strukture bakterij, imenovane adhezini.

Slika 6.4

Vertikalni in horizontalni prenos okužb.



Pilusi

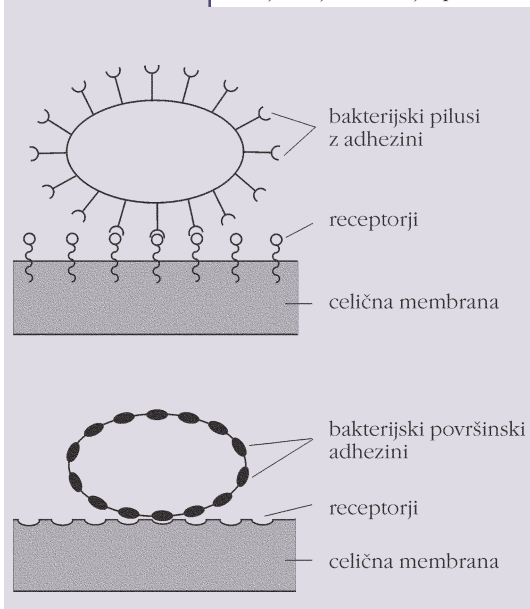
Najbolje raziskani adhezini so na pilusih ali fimbrijah (slika 6.5). Imajo jih predvsem po Gramu negativne bakterije, kot sta *Neisseria gonorrhoeae* in *E. coli*. Posamezna bakterija ima lahko na površini več sto bolj ali manj enakomerno razporejenih pilusov. Sestavlja jih beljakovina, imenovana pilin.

Za vezavo na celice je odločilen pilusov vrh, ki ima posebne adhezinske beljakovine.

Kaže, da je sprijemanje bakterij in telesnih celic s pilusi pogosto samo prva faza v bakterijski pritrditvi, ki ji sledi tesnejša in močnejša vezava s posebnimi adhezini na površini bakterij. Površinski adhezini so vsekakor pomembni za pritrjevanje po Gramu pozitivnih bakterij, ki zvečine nimajo pilusov. Tako ima bakterija *Streptococcus pyogenes*, povzročiteljica angine in kožnih gnojnih vnetij, na zunanji strani bakterijske stene **beljakovino F**, ki se veže s fibronektinom na površini epiteljskih celic v žrelni sluznici, in **beljakovino M**, ki se veže na površino keratinocitov v koži.

Slika 6.5

Pritrjevanje bakterij s pilusi.

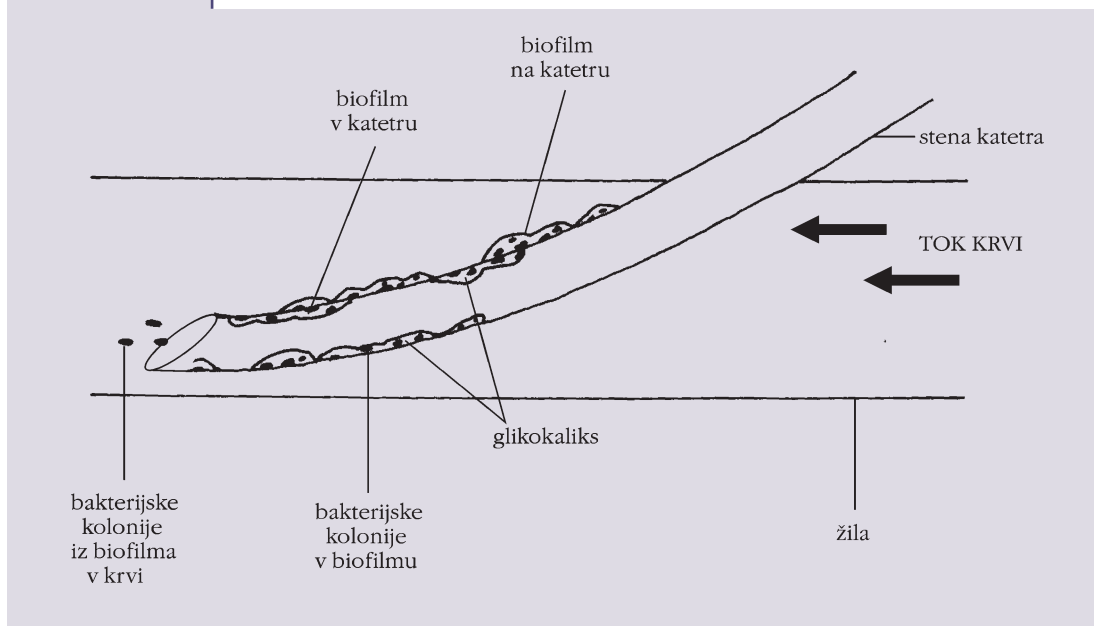


Biofilm

Bakterijska kolonizacija **trdih površin** in nekaterih tkivnih površin pogosto ustvari t. i. **biofilm**. To je večplastna obloga iz veliko bakterij, ki so izločile na površje zaščitni polisaharidni matriks, imenovan **glikokaliks**. Bakterije v biofilmu so dobro zavarovane pred delovanjem antibiotikov in fagocitov.

Slika 6.6

Biofilm na žilnem katetru.

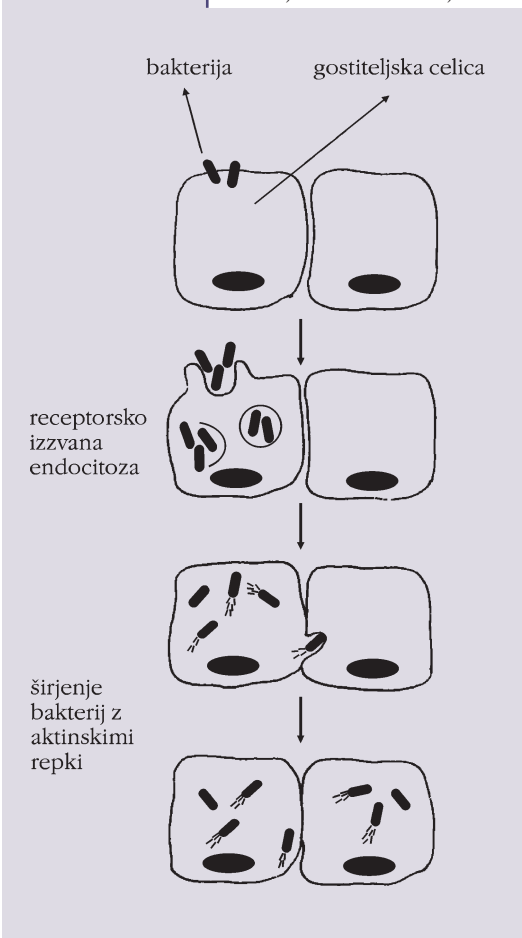


Notranjost krvnih žil obdajajo endotelijske celice. Gladka površina žilnega endotelija s svojimi elektrostatičnimi lastnostmi preprečuje, da bi se bakterije, ki pridejo v krvni obtok, oprijele notranjih površin žil ali srca in tam osnovale kolonijo. Poškodba žilnega endotelija (npr. pri aterosklerozi) pa ustvari ugodne razmere za pritrnitev bakterij in kolonizacijo. Tudi vsadki iz umetnih materialov (npr. umetne srčne zaklopke) in različni vstavljeni katetri imajo površine, ki jih bakterije lahko kolonizirajo. Kadar se košček biofilma z bakterijami odtrga in pride v krvni obtok, se lahko bakterijska okužba razseje in v oddaljenih organih povzroči nastanek ognjokov.

V novejšem času vse bolj spoznavamo pomen bakterijske kolonizacije v obliki biofilmov na plastičnih katetrah in vstavkih, ki jih uporabljamo v klinični medicini. Z bakterijami kolonizirani venski ali sečni katetri in umetne srčne zaklopke so pogosto vzrok bolnišničnih infekcij (tudi smrtno nevarnih seps) v intenzivnih bolnišničnih enotah (slika 6.6).

Slika 6.7

Invazivnost in širjenje znotrajceličnih bakterij.



INVAZIVNOST BAKTERIJ

Bakterije, ki so se prilagodile za preživetje v gostiteljskih celicah (**znotrajcelične bakterije**), vstopijo vanje tako, da se vežejo na ustrezne celične receptorje in izzovejo endocitozo (npr. *Shigella* spp.). Posebne beljakovine na površini bakterij, imenovane invazini ali internalini, povzročijo preurejanje celičnega citoskeleta, čemur sledi tvorba psevdopodijev, ki obdajo bakterijo. Proces je enak kot pri makrofagni fagocitozi, le da požirajo bakterije nefagocitne celice.

Bakterije se v celicah živahno razmnožujejo. Nove, invazivne bakterije potujejo na obrobje citoplazme in se prerinejo v sosednje celice. Pri tem pride do interakcije s citoskeletom in polimerizacije aktina pod vplivom bakterijskih beljakovin z ATP-azno aktivnostjo. Tanke nitke aktina se nabirajo na enem koncu bakterije in jo potiskajo skozi citoplazmo. Kadar bakterije prispejo do celične površine, jih aktinski repki porinejo skozi citoplazemsko membrano v sosednjo celico (slika 6.7).

Bakterije se širijo na sosednje celice tudi po propadu gostiteljske celice. Pogosto pa se zgodi, da se bakterije v gostiteljskih celicah (npr. makrofagih) tudi razširjajo po telesu.

Primer invazivnih znotrajceličnih bakterij je *Salmonella* Typhi, ki vstopi skozi celice

črevesne stene v limfatične folikle in se od tam razširi po telesu.

Zunajcelične bakterije so zelo izpostavljene gostiteljevim obrambnim mehanizmom, npr. fagocitozi, ali delovanju protiteles. Zato so razvile agresivne mehanizme za širjenje po tkivih in zaviranje imunskega odziva. Širjenje po tkivih pospešujejo bakterijski encimi, ki uničujejo celice in medceličnino (tabela 6.2).

Med pomembnejše bakterijske virulentne dejavnike spadajo tudi gibljivost, sposobnost utekočinjanja sluzi in sposobnost privzemanja železa.

Gibljivost bakterij

Gibanje bakterij omogočajo **bički (flageli)**, 15 do 20 μm dolgi izrastki, zgrajeni iz beljakovine, imenovane flagelin. Gibljive bakterije se lahko širijo po tkivih, potujejo v predele, kjer je veliko hranil, in se izogibajo fagocitom. Zdi se, da ima gibljivost tudi važno vlogo pri naseljevanju bakterij na sluznicah (npr. *Helicobacter pylori*). Slina, seč in druge telesne tekočine neprestano odplavljajo bakterije in jim preprečujejo pritrjevanje. Bakterije z bički se upirajo odplavljanju tako, da se premikajo proti sluznični površini.

Tabela 6.2

Nekateri bakterijski encimi, pomembni pri invaziji.

Encim	Mikrob	Delovanje
lecitinaza	klostridiji	raztaplja celične membrane
hialuronidaza	streptokoki, stafilokoki	uničuje medceličnino
kolagenaza	klostridiji	uničuje medceličnino
fosfolipaze	streptokoki, klostridiji	razkrajajo celične membrane
proteaze	streptokoki, klostridiji	razgrajujejo celične beljakovine
nukleaze	streptokoki, stafilokoki	razgrajujejo celično DNK, RNK
streptokinaza	streptokoki	raztaplja fibrinske obloge
koagulaza	stafilokoki	tvori zaščitne fibrinske obloge

Utekočinjanje sluzi

Sluznice v človeškem telesu so prekrte z bolj ali manj debelo plastjo goste sluzi (mucina), ki ovira gibljivost bakterij in jim preprečuje dostop do površinskih sluzničnih celic. Viskoznost sluzi povečujejo molekule sluzničnih protiteles razreda A (IgA), ki vežejo z delom Fab bakterijske antigene in z delom Fc mucin. V sluzi ujete patogene bakterije izdelujejo in izločajo **proteazo IgA**, ki razgrajuje imunoglobulinske molekule in utekočinja sluz.

Privzemanje železa

Železo je nujno potrebno za rast in razmnoževanje bakterij, zato so razvile učinkovite načine, s katerimi privzemajo in kopičijo železo. Bakterije privzemajo železo s posebnimi molekulami, imenovanimi **siderofore**, ki z veliko afiniteto vežejo proste železove ione. Bakterije izločajo siderofore v okolje. Po vezavi železa skupki siderofor in železovih ionov vstopijo z endocitozo v bakterijo. Po razpadu skupkov se železovi ioni sprostijo in sodelujejo v presnovnih procesih. V človeškem telesu je železo večinsko vezano na različne beljakovine (npr. laktoferin, transferin itd.) in ni dostopno bakterijam. Nekatere bakterije so sposobne vezati tudi skupke beljakovin in železa ter tako privzemati železo.

KOCHOVI POSTULATI

Človek je hkrati poseljen s številnimi bakterijskimi vrstami, zato je pogosto težko vzročno povezati bolezensko stanje z neko bakterijsko vrsto.

Splošne kriterije, s katerimi bi nedvomno dokazali, da je določena bakterija povzročiteljica določene infekcijske bolezni, je pred približno sto leti postavil nemški

mikrobiolog Robert Koch. Znani so štirje **Kochovi postulati**:

1. Prisotnost bakterije iste vrste moramo dokazati v vseh primerih določene bolezni.
2. Bakterijo moramo osamiti iz bolnikovih prizadetih tkiv in organov s kultiviranjem na umetnem gojišču (*in vitro*).
3. Čista kultura namnožene bakterije mora po vbrizganju v občutljivo poskusno žival povzročiti značilne bolezenske znake.
4. Bakterijo moramo ponovno osamiti iz prizadetih tkiv in organov zbolele poskusne živali.

Z odkritjem številnih novih bakterijskih povzročiteljev bolezni je postalo jasno, da Kochovi postulati niso vedno izpolnjeni. Tako npr. bakterije *T. pallidum*, ki povzroča sifilis, ne znamo kultivirati *in vitro*, bakterija *N. gonorrhoeae*, ki povzroča gonorejo, pa ne povzroča bolezni pri poskusnih živalih. Pri nekaterih boleznih bolezenske znake povzročajo bakterijski toksini, ne da bi bila bakterija prisotna (npr. stafilokokna zastrupitev s hrano).

V novejšem času so uspeli dokazati vzročno povezanost nekaterih bakterij z nalezljivimi boleznimi tako, da so v tkivih bolnikov odkrili specifični bakterijski genski material. Pri tem je bila odločilna uporaba molekularnobiološke metode PCR, ki omogoča pomnoževanje zelo majhnih količin nukleinskih kislin, prisotnih v okuženih predelih telesa. Na ta način so že odkrili nekaj bakterijskih povzročiteljev bolezni (npr. bartonele in erlihije), še preden so jih lahko opazovali z mikroskopom ali kultivirali na gojiščih.

LITERATURA ZA NADALJNI ŠTUDIJ

Mims, C. A., Nash, A., Stephen, J. Mims' Pathogenesis of Infectious Disease. 5. izdaja. San Diego: Academic Press Inc; 2001.

Bakterija in gostitelj

Bakterijski toksini

Srečko Koren

EKSOTOKSINI

EKSOTOKSINI Z ZNOTRAJCELIČNIM DELOVANJEM (TOKSINI A-B)

Davični toksin

Toksin kolere

Ešerihijska enterotoksina

Toksin oslovskega kašlja

Šigov toksin

EKSOTOKSINI Z DELOVANJEM NA CELIČNO CITOPLAZEMSKO MEMBRANO (CITOLIZINI)

EKSOTOKSINI Z DELOVANJEM NA ŽIVČEVJE (NEVROTOKSINI)

Tetanusni toksin

Botulinusni toksin

EKSOTOKSINI S SUPERANTIGENSKIM DELOVANJEM (PIROGENI TOKSINI)

ENDOTOKSINI

SEPTIČNI (ENDOTOKSIČNI) ŠOK

Patogenost ali sposobnost povzročanja bolezni pri gostitelju je odvisna od različnih bakterijskih lastnosti, med katerimi je ena najpomembnejših zmožnost izdelovanja toksinov (toksigenost). Bakterijski toksini so pomembni virulentni dejavniki, ki okvarjajo celice v gostiteljevem telesu, ovirajo njihovo delovanje ali pa počnejo oboje.

Poznamo bakterijske eksotoksine in endotoksine. Eksotoksini so beljakovine, ki jih izločajo žive bakterije, endotoksini pa lipopolisaharidne sestavine bakterijske ste-

ne, ki se sprostijo po odmiranju bakterij.

Osnovne značilnosti eksotoksinov in endotoksinov prikazuje tabela 7.1.

EKSOTOKSINI

Bakterije lahko izdelujejo enega ali več eksotoksinov. Nekateri učinkujejo le v določeni vrsti celic, drugi so dejavni v različ-

Tabela 7.1

Značilnosti bakterijskih eksotoksinov in endotoksinov.

Lastnost	Eksotoksini	Endotoksini
izdelovanje	po Gramu pozitivne in po Gramu negativne bakterije	po Gramu negativne bakterije
sproščanje	iz živih bakterij	iz mrtvih bakterij
kemična zgradba	beljakovine	lipopolisaharidi, toksični del molekule je lipid A
lega	bakterijska citoplazma	bakterijska stena
genski zapis	v bakterijskih kromosomih, plazmidih, bakteriofagih	v bakterijskih kromosomih
toksičnost	zelo močna, smrtni odmerek za poskusne živali je nekaj mikrogramov	močna, smrtni odmerek za poskusne živali je nekaj miligramov
občutljivost za toploto	večinoma termolabilni, segrevanje nad 60 °C jih hitro uniči	večinoma termostabilni, odporni proti večurnemu segrevanju pri 100 °C
imunogenost	močna, sprožijo izdelovanje nevtralizirajočih protiteles - antitoksinov	šibka
zmožnost pretvorbe v nestrupene, imunogene toksoide	da, davični in tetanusni toksoid uporabljamo za cepljenje	ne
zmožnost zvišanja telesne temperature (pirogeno delovanje)	večinoma ne	da

nih celicah in tkivih. Mnogi so izredno močni, zato lahko toksigene bakterije povzročijo hude, celo smrtno nevarne bolezni, kot so davica, tetanus, botulizem, kolerita itd.

Zapisi za bakterijske toksine so večinoma v zunajkromosomskih delcih DNK - plazmidih in bakteriofagih. Zaradi lokalizacije genov v prenosljivih genskih delcih se lahko sposobnost izdelovanja toksinov s konjugacijo ali transdukcijo razširi na sorodne netoksigene bakterije.

Po mehanizmu delovanja in mestu učinkovanja ločimo 4 vrste eksotoksinov:

- eksotoksine, ki vstopijo v tarčno celico in preprečijo sintezo beljakovin (toksini A-B),
- eksotoksine, ki poškodujejo citoplazemsko membrano tarčne celice (citolizini),
- eksotoksine, ki ovirajo prenos živčnega vzburjenja v sinapsah in motoričnih ploščicah (nevrotoksini),
- eksotoksine, ki delujejo kot superantigeni (pirogeni toksini).

V tabeli 7.2 so zbrani nekateri pomembnejši bakterijski eksotoksini in na kratko prikazani njihovi učinki in mehanizmi delovanja.

Tabela 7.2

Pomembnejši bakterijski eksotoksini, njihovi učinki in mehanizmi delovanja.

Bakterija	Toksin	Učinek	Mehanizem delovanja
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	davični toksin (toksin A-B)	poškodbe srca, ledvic in drugih organov	ADP-riboziltransferaza, oviranje sinteze beljakovin
<i>Vibrio cholerae</i>	toksin kolere (toksin A-B)	driska	ADP-riboziltransferaza, čezmerno izdelovanje c-AMP
<i>Escherichia coli</i>	toksin TL (toksin A-B)	driska	ADP-riboziltransferaza, čezmerno izdelovanje c-AMP
	toksin TS	driska	čezmerno izdelovanje c-GMP
	verotoksin 1 in 2	hemoragični kolitis, HUS	glikozidaza, oviranje sinteze beljakovin
<i>Bordetella pertussis</i>	toksin oslovskega kašlja (toksin A-B)	poškodbe celic sluznice dihal, poškodbe levkocitov	ADP-riboziltransferaza, čezmerno izdelovanje c-AMP
	adenilatciklaza	poškodbe levkocitov	čezmerno izdelovanje c-AMP
<i>Shigella dysenteriae</i>	Šigov toksin (toksin A-B)	griza, HUS	glikozidaza, oviranje sinteze beljakovin
<i>Clostridium tetani</i>	tetanusni toksin (nevrotoksin A-B)	krčenje mišic	proteaza, oviranje sproščanja neurotransmitorjev (glicin, GABA)
<i>Clostridium botulinum</i>	botulinusni toksin (nevrotoksin A-B)	ohlapnost mišic	proteaza, oviranje sproščanja neurotransmitorjev (ACh)
<i>Clostridium perfringens</i>	toksin alfa (citolizin)	razkroj celic	fosfolipaza, poškodovanje citoplazemske membrane
<i>Staphylococcus aureus</i>	toksin alfa (citolizin)	razkroj celic	tvorba por v citoplazemski membrani
	toksin beta (citolizin)	razkroj celic	fosfolipaza, poškodovanje citoplazemske membrane
	TSST-1, SEA, SEB, SEC	zvišana telesna temperatura, padec krvnega tlaka, šok	superantigen
<i>Streptococcus pyogenes</i>	streptolizin S (citolizin)	razkroj celic	fosfolipaza, poškodovanje citoplazemske membrane
	streptolizin O (citolizin)	razkroj celic	tvorba por v citoplazemski membrani
	pirogeni eksotoksini (SpeA, SpeB, SpeC) (eritrogeni toksini)	kožni izpuščaj, razkroj mišičnih in vezivnih celic, zvišana telesna temperatura, padec krvnega tlaka, šok	superantigen

TL - termolabilni toksin; TS - termostabilni toksin; HUS - hemolitični uremični sindrom; ACh - acetilholin; GABA - gamaaminomaslena kislina; TSST-1 - toksin sindroma toksičnega šoka; SEA, SEB, SEC - stafilokokni enterotoksini A, B, C; SpeA, SpeB, SpeC - streptokokni patogeni eksotoksini A, B, C.

EKSOTOKSINI Z ZNOTRAJCELIČNIM DELOVANJEM (TOKSINI A–B)

Različne bakterije izdelujejo številne toksine, ki v telesnih celicah ovirajo sintezo beljakovin, presnovno dejavnost in prenos sporočil. Kljub razlikam v zgradbi imajo enak osnovni mehanizem delovanja in še nekaj drugih skupnih značilnosti.

Sestavljeni so iz dveh podenot, ki imata različni dejavnosti. Podenota B je odgovorna za vezavo (**b**inding) na površino tarčne celice in za prehod v celico, podenota A pa za encimsko (toksično) delovanje (**a**ctivity).

Podenota B se veže na specifične membranske receptorje. Vstop v citoplazmo poteka na dva načina. Pri prvem podenota B ostane vezana na celični površini, podenota A pa prehaja skozi citoplazemsko membrano. Pri drugem načinu ves toksin vstopi v celico z endocitozo. Ko se vsebina endocitotskega mešička zakisa, se toksin razcepi in podenota A prestopi skozi membrano mešička v citoplazmo, kjer se aktivira.

Aktivirana podenota A večine toksinov A-B je encim **ADP-riboziltransferaza**, ki katalizira prenos adenoindifosfatiriboze (ADP-riboze) iz nikotinamidadenindinuk-

leotida (NAD^+) na različne tarčne beljakovine. ADP-ribozilacija inaktivira tarčne beljakovine, kar povzroči okvare celične dejavnosti (slika 7.1).

Učinek ADP-ribozilacije na celico je odvisen od dejavnosti tarčne beljakovine. Pogosto so tarčne beljakovine encimi (npr. GTP-aze), ki sproščajo energijo za pomembne celične dejavnosti. Med najbolj znanimi toksini, ki učinkujejo na ta način, so toksini davice, kolere in oslovskega kašlja.

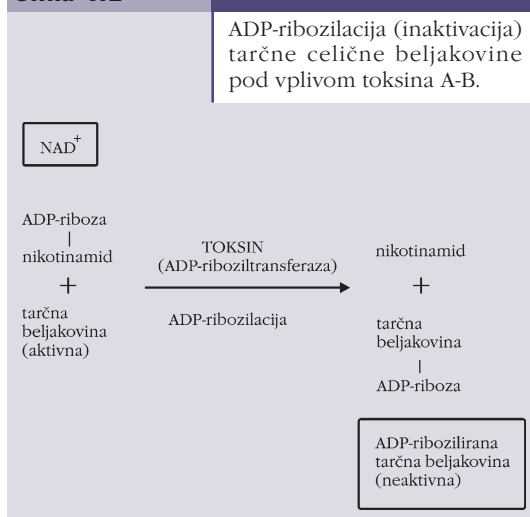
Davični toksin

Davični toksin izdeluje bakterija *Corynebacterium diphtheriae*. Toksigeni so samo tisti bakterijski sevi, ki imajo v genomu vgrajeno bakteriofagno DNK z zapisom za davični toksin.

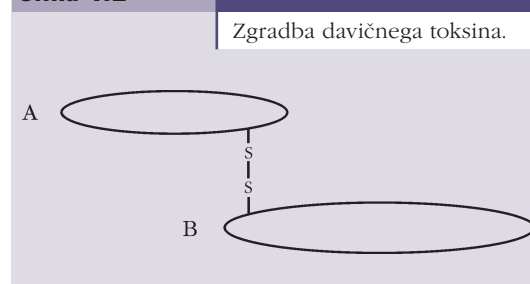
Davični bacili se po okužbi naselijo v sluznici zgornjih dihal, kjer povzročijo vnetje in nastanek psevdomebran, ki ovirajo dihanje. Bacili se ne širijo po telesu, torej so neinvazivni. Izločajo pa toksin, ki se širi po krvi in okvarja sintezo beljakovin v celicah različnih tkiv in organov.

Beljakovinska molekula davičnega toksina je sestavljena iz podenot A in B (slika 7.2).

Slika 7.1



Slika 7.2



Na podenoti B sta receptorski odsek, ki se veže z beljakovinskim receptorjem na tarčni celici, in translokacijski odsek, ki omogoči prehod podenote A v citoplazmo. Na podenoti A je katalitični odsek, ki katalizira ADP-ribozilacijo tarčne beljakovine.

Po spojitvi z receptorjem membranske proteaze razcepijo davični toksin v podenoti A in B, ki sta povezani še z disulfidno vezjo. Skupek receptorja in toksina vstopi v celico z endocitozo. Ko se v endocitotskem mešičku zniža pH na približno 5, se spremeni konformacija obeh podenot. Izpostavljeni hidrofobni deli molekule se vrinejo v membrano mešička, tako da skupaj z disulfidno vezjo štrlijo v citoplazmo. Sledi redukcija disulfidne vezi pod vplivom glutationa in dokončen razpad toksina, pri čemer se podenota A sprosti v citoplazmo.

Podenota A **ADP-ribozilira elongacijski faktor 2 (EF-2)**. EF-2 je beljakovina, natančneje translokaza z GTP-azno aktivnostjo, ki premika ribosome vzdolž sporočilne RNK. Ker je ADP-ribozilirani EF-2 ne dejaven, se ustavi podaljševanje peptidne verižice in s tem sinteza celičnih beljakovin. Prizadete celice, predvsem miokardne, ledvične in živčne, odmrejo, to pa povzroči odpoved delovanja srca in ledvic ter ohromitev mišic.

Toksin kolere

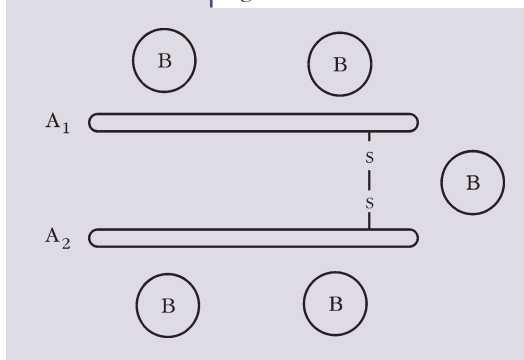
Toksin kolere izdeluje in izloča bakterija *Vibrio cholerae*. Vibriji kolere so neinvazivni, po okužbi kolonizirajo sluznico tankega črevesa. Njihova patogenost je odvisna od izdelovanja enterotoksina, ki deluje v epitelijskih celicah sluznice tankega črevesa (enterocitih). Zaradi spremenjene prepustnosti membrane enterocitov se povečata koncentracija ionov in količina vode v črevesni svetlini. Močna driska, povezana s čezmerno izgubo tekočine in elektrolitov, lahko v najhujših primerih povzroči hipovolemični šok in smrt.

Toksin kolere je po zgradbi podoben davičnemu toksinu. Pomembna razlika je v tem, da je sestavljen iz ene podenote A in petih enakih podenot B. Podenote B tvorijo prstan, v katerem je vpeta podenota A

(slika 7.3). Podenota A ima odseka A₁ in A₂, ki ju povezuje disulfidna vez.

Slika 7.3

Zgradba toksina kolere.



Toksin kolere je zapisan v operonu *ctxAB* (**cholera toxin**), ki ima dva gena (*ctxA* in *ctxB*) in je del genoma bakteriofaga, ki se je vgradil v bakterijski kromosom. Gen *ctxB* se učinkoviteje prepisuje kot *ctxA*, zato nastaja več molekul podenote B.

Sestavljanje toksina poteka v periplazemskem prostoru med citoplazemsko membrano in zunanjo membrano vibrija kolere. Podenote se v razmerju 1 A : 5 B združijo v kompletan toksin, ki se skozi zunanjo membrano izloči v okolje.

Izločeni toksin kolere se veže na gangliozidni receptor GM1, ki je v celični membrani enterocitov. Pri tem se pet podenot B pripne na pet molekul GM1. Prehod toksina v celico še ni raziskan. Domnevajo, da se podenote B ugreznejo v citoplazemsko membrano in oblikujejo transmembranski kanalček, skozi katerega vstopi v celico podenota A. Ni pa mogoče izključiti niti možnosti vstopa z endocitozo. Podenoto A, ki je na prvi ali drugi način prišla v citoplazmo, glutation z redukcijo disulfidne vezi razgradi v odsek A₁ in odsek A₂.

Odsek A₁ je aktiven encimski del toksina kolere. Deluje tako, da **ADP-ribozilira beljakovino Gs**, ki uravnava dejavnost

adenilatciklaze in s tem sintezo cikličnega AMP (c-AMP) v celici (slika 7.4).

Spodbujevalna beljakovina Gs je v fizioloških okoliščinah v dveh oblikah. V aktivni obliki je nanjo vezan GTP, v neaktivni pa GDP. Preklop aktivne v neaktivno obliko poteka tako, da beljakovina Gs, ki je GTP-aza, pretvori (hidrolizira) GTP v GDP. Skupek Gs-GTP spodbuja adenilatciklazo v membrani enterocitov in poveča koncentracijo c-AMP. Skupek Gs-GDP ne vpliva na adenilatciklazo, zato se koncentracija c-AMP zmanjša.

V prisotnosti toksina kolere ADP-ribozilirana beljakovina Gs ne more hidrolizirati GTP, posledica česar je trajna aktivacija adenilatciklaze in čezmerno izdelovanje c-AMP.

Povečana raven c-AMP v enterocitih povzroči spremenjeno dejavnost ionskih črpalk v membrani enterocitov. Posledica

tega je zaviranje vstopa ionov Na^+ in Cl^- v enterocite in spodbujanje izstopa ionov Cl^- in HCO_3^- iz enterocitov. Ker molekule vode pasivno spremljajo potovanje ionov, je zmanjšan vstop vode v enterocite in povečan izstop vode iz enterocitov. Protiasorptivni in hipersekrecijski učinek v sluznici tankega črevesa je vzrok za veliko izgubo vode in elektrolitov.

Podobno kot toksin kolere delujejo enterotoksini, ki jih imajo nekatere druge črevesne bakterije, npr. ešerihije.

Ešerihjska enterotoksina

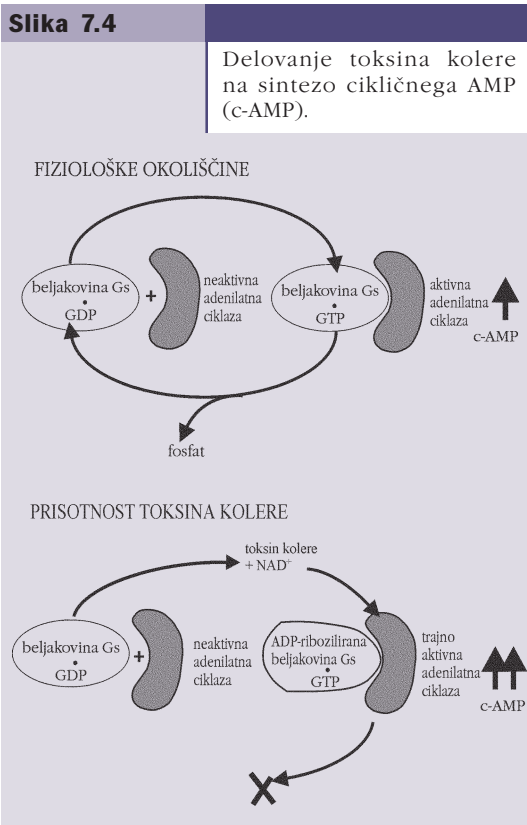
Enterotoksigeni sevi bakterije *E. coli* izdelujejo in izločajo dva različna enterotoksina: termolabilni (TL) in termostabilni (TS) toksin.

Toksin TL je po zgradbi in delovanju močno podoben toksinu kolere, toksin TS pa je drugačen. Sestavlja ga več majhnih, med seboj podobnih beljakovin. Kratke polipeptidne verižice imajo enostavno prostorsko zgradbo, zato jih visoka temperatura ne more preurediti niti inaktivirati. Toksin TS spodbuja dejavnost gvanilatciklaze v membrani enterocitov. Pri tem ne vstopi v celico, ampak se veže na površinski receptor, ki je povezan z gvanilatciklazo. Povečana raven cikličnega GMP okvari delovanje ionskih črpalk in prepreči vstop ionov Na^+ in Cl^- v enterocite, vendar izraziteje ne vpliva na izstop ionov iz enterocitov.

Pomembno je dejstvo, da sta toksina TL in TS bakterije *E. coli* plazmidno kodirana, zato lahko s konjugacijo pride do prenosa na druge črevesne bakterije.

Toksin oslovskega kašlja

Toksin oslovskega kašlja je zapisan v kromosomu bakterije *Bordetella pertussis*. Neinvazivni bacili oslovskega kašlja se po



vstopu v telo naselijo v sluznici zgornjih dihal. Izločajo toksin, ki uničuje migetalčne celice v sluznici dihal in povzroči obilno izločanje sluzi. Pojavijo se hudi napadi kašlja z oteženim dihanjem. Poleg tega toksin onemogoči fagocitne celice, ki izgubijo zmožnost kemotaktičnega premikanja in požiranja.

Toksin oslovskega kašlja ima značilno zgradbo toksina A-B (slika 7.5). Encimska podenota A (beljakovina S1) je povezana s petimi različnimi vezavnimi podenotami B (beljakovine S2, S3, dve S4 in S5).

Pritrjevanje toksina oslovskega kašlja na občutljive celice posredujeta beljakovini S2 in S3. Beljakovina S2 se veže na posebni glikolipid v membrani celic migetalčne epitelijske dihal. Beljakovina S3 se veže na posebni gangliozid na površini fagocitov. Med pritrjevanjem se spremeni prostorska zgradba toksina, kar omogoči prehod beljakovine S1 skozi citoplazemsko membrano.

Aktivirana beljakovina S1 **ADP-ribozilira beljakovino Gi**, ki je na notranji strani citoplazemske membrane. Inhibicijska beljakovina Gi zavira beljakovino Gs oz. adenilatciklazo, po ADP-ribozilaciji pa njena dejavnost ugasne. Posledica je povečana aktivnost adenilatciklaze. Povečana raven c-AMP v celicah sluznice dihal

ovira utripanje migetalk in poveča izločanje sluzi.

Bacil oslovskega kašlja povečuje znotrajcelično raven c-AMP tudi tako, da sam izdeluje toksin, ki deluje kot adenilatciklaza. Bakterijska adenilatciklaza je beljakovina, katereaminski konec ima vezavno mesto, karboksilni konec pa encimsko dejavnost. Aktivira se šele po vstopu v občutljivo celico in združitvi s kalmodulinom, beljakovino, ki veže kalcij in jo imajo le evkariotske celice. Podobno kot toksin oslovskega kašlja deluje močno protifagocitno.

Šigov toksin

Nekateri toksini A-B imajo aktivno podenoto, ki ne deluje kot ADP-riboziltransferaza. Takšen primer je Šigov toksin.

Šigov toksin je eksotoksin, ki ga izdeluje bakterija *Shigella dysenteriae*, povzročiteljica bacilne griže, dolgotrajne driske s krvavimi in sluzastimi iztrebki.

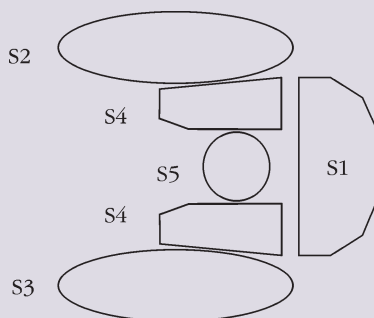
Šigov toksin ima eno encimsko (A) in pet vezavnih (B) podenot. Zapisan je v genih *stxA* in *stxB* (**Shiga toxin**), ki sta združena v kromosomskem operonu *stxAB*.

Potem ko se podenote B združijo z glikolipidnimi receptorji Gb3 na površini celic, celotni toksin vstopi v celico z endocitozo. Sledi razpad molekule in prestop podenote A v citoplazmo. Aktivirana podenota A (glikozidaza) prekine sintezo celičnih beljakovin oz. podaljševanje peptidne verižice, tako da razcepi r-RNK 28 S. Zaradi spremenjene zgradbe ribosomov je ovirano delovanje elongacijskega faktorja 1 (EF-1), ki veže aminoacil prenašalne RNK na sporočilno RNK.

Čeprav so sprva najbolj prizadete epitelijske celice črevesne sluznice, je verjetno še pomembnejše delovanje Šigovega toksina na endotelijske celice v žilni steni.

Slika 7.5

Zgradba toksina oslovskega kašlja.



Okvare žilja so ključne pri razvoju akutne ledvične odpovedi v poteku hemolitičnega uremičnega sindroma (HUS), najnevarnejšega zapleta pri okužbi s šigelami.

Omenimo še, da enterohemoragični sevi bakterije *E. coli* (predvsem serotip O157 : H7), ki prav tako povzročajo krvavo drisko in HUS, izdelujejo dva toksina, močno podobna Šigovemu toksinu. Imenujemo ju SLT-I in SLT-II (**Shiga-like toxin**) oz. VT1 in VT2 (**verotoksin**), ker *in vitro* uničujeta kulture opičjih ledvičnih celic, imenovanih Vero. Toksina sta zapisana v bakteriofagih, zato obstaja možnost prenosa na druge črevesne bakterije.

EKSOTOKSINI Z DELOVANJEM NA CELIČNO CITOPLAZEMSKO MEMBRANO (CITOLIZINI)

Toksini mnogih bakterij učinkujejo na celično površino, pri čemer poškodujejo ci-

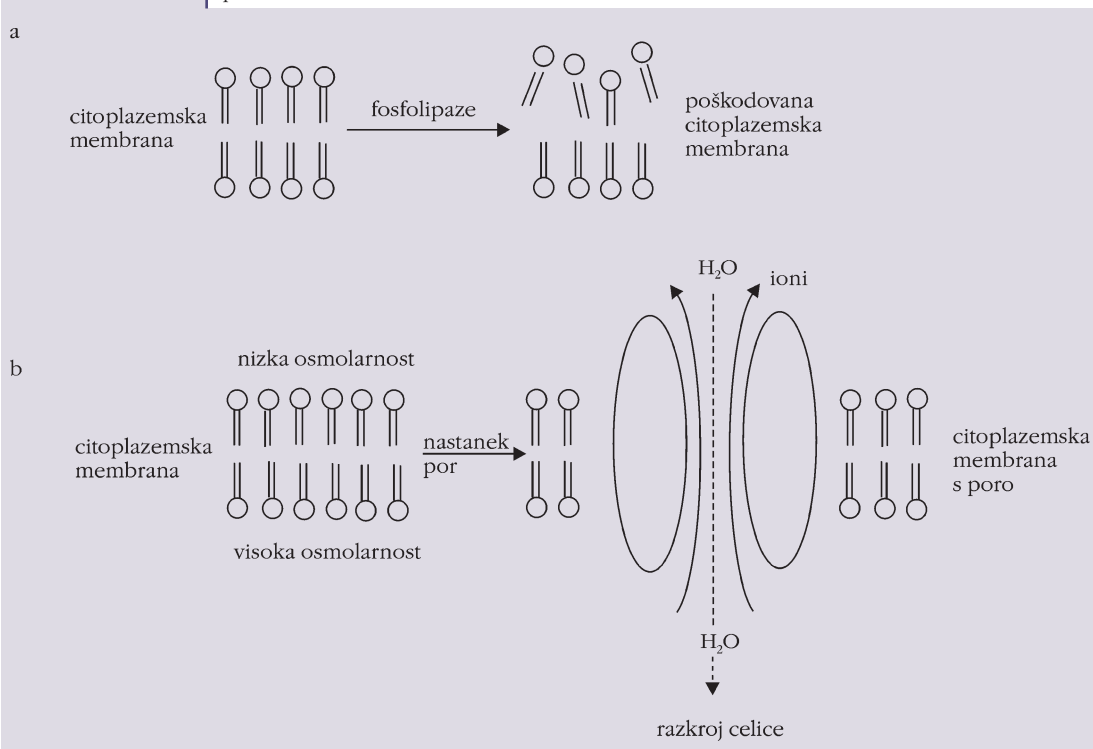
toplazemsko membrano ali spremenijo njeno prepustnost. Posledica je razkroj (liza) celice. Ločimo dve vrsti eksotoksinov z delovanjem na citoplazemsko membrano. Eni so **encimske beljakovine, fosfolipaze**, ki hidrolizirajo fosfolipide v citoplazemski membrani in jo tako poškodujejo. Drugi so **strukturne beljakovine**, ki se vgradijo v citoplazemsko membrano in oblikujejo **pore**, skozi katere vdira v celico voda. Prenapolnjena celica poči (slika 7.6).

Številne citolizine imajo klostridiji, stafilokoki in streptokoki.

Najpomembnejši citolizin, ki ga izdeluje in izloča bakterija *Clostridium perfringens* (povzročiteljica plinske gangrene), je toksin alfa. Razkraja mišične in vezivne celice (nekroza), uničuje pa tudi eritrocite (hemoliza) in levkocite. Deluje na različne fosfolipide, predvsem na lecitin, zato ga imenujemo tudi lecitinaza oz. fosfolipaza C.

Slika 7.6

Delovanje citolizinov: a – poškodba citoplazemske membrane; b – tvorba pore v citoplazemski membrani.



Lecitinazi klostridijev je podobna sfingomielinaza C (toksin beta), ki ga izdeluje bakterija *Staphylococcus aureus*. Omenjeni toksin oz. encim razgrajuje sfingomielin v citoplazemski membrani eritrocitov, zato ga imenujemo tudi hemolizin beta.

Fosfolipide v citoplazemski membrani eritrocitov in levkocitov poškoduje še streptolizin S, ki ga izdeluje bakterija *Streptococcus pyogenes*.

Med eksotoksine, ki povzročajo nastanek por v citoplazemski membrani, sodijo stafilokokni toksin alfa oz. hemolizin alfa in skupina za kisik občutljivih citolizinov, med katerimi je najbolj raziskan streptokokni streptolizin O.

Stafilokokni toksin alfa tvori homogene pore s premerom 3 nm, ki jih sestavlja po 7 transmembranskih beljakovin. Pore streptolizina O so heterogene, imajo premer do 30 nm in so zgrajene iz različnega števila beljakovin.

EKSOTOKSINI Z DELOVANJEM NA ŽIVČEVJE (NEVROTOKSINI)

Medicinsko pomembni bakterijski nevrotoksini so po mnogih lastnostih podobni toksinom A-B. V posebno skupino jih uvrščamo zaradi specifičnega delovanja na živčne celice.

Najbolje raziskana nevrotoksina sta tetanusni toksin, ki ga izdeluje bakterija *Clostridium tetani*, in botulinusni toksin, ki ga izdeluje bakterija *Clostridium botulinum*. Delujeta tako, da preprečujeta izločanje prenašalcev živčnega vzbujenja (nevrotoksini). Tetanusni toksin učinkuje centralno v sinapsah osrednjega živčevja, botulinusni toksin pa periferno v živčno-mišičnih sinapsah.

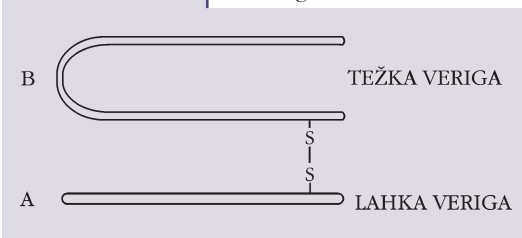
Tetanusni toksin

Tetanus je posledica okužbe ran s sporama bakterije *C. tetani*. V globini ran (anaerobno okolje) se spore razvijejo v vegetativne bakterije, ki začnejo izdelovati tetanusni toksin (tetanospazmin). Toksin potuje po živcih v osrednje živčevje, kjer blokira sproščanje nevrotoksinih. Pojavijo se močni krči prečnoprogastih mišic po vsem telesu. Zaradi krčev dihalnih mišic lahko pride do zadušitve.

Tetanusni toksin je beljakovina zapisana v bakterijskem plazmidu. Proteaze ga razcepijo v dva odseka, povezana z disulfidno vezjo. Daljši odsek (težka veriga) je odgovoren za vezavo na površino celic, krajši odsek (lahka veriga) je aktivni del molekule z encimsko dejavnostjo (slika 7.7).

Slika 7.7

Zgradba tetanusnega in botulinusnega toksina.



Delovanje tetanusnega toksina je natančno poznano. Po vezavi z gangliozidnimi receptorji na živčnih končičih v motoričnih ploščicah z endocitozo vstopi v aksoplazmo. V endocitotskih mešičkih potuje v živčnem vlaknu vzvratno v sprednje rogove hrbtne mozga. Sprva lokalno, pozneje pa po vsem hrbtnem mozgu **preprečuje sproščanje nevrotoksinih (glicina in gamaaminomaslene kisline - GABA) iz inhibicijskih interneuronov**, ki posredujejo zavirajoče dražljaje motoričnim nevronom. Izostanek zaviranja povzroči čezmerno vzbujenje motoričnih nevronov in povečan mišični tonus oz. spastično krčenje mišic.

Botulinusni toksin

Botulizem je posledica zastrupitve s hrano, v kateri je toksin bakterije *Clostridium botulinum*. Zaužiti toksin se absorbira v želodcu in po krvi prenese do perifernih živčnomišičnih stikov (motoričnih ploščic), kjer **ovira sproščanje acetilholina** iz presinaptične membrane. Pojavijo se ohlapne ohromitve različnih mišic, v najhujših primerih je prizadeto tudi dihanje.

Različni sevi botulinusnih bacilov izdelujejo 7 toksinskih tipov (A-G), zapisanih v plazmidih ali bakteriofagih.

Botulinusni toksin je po zgradbi in delovanju povsem podoben tetanusnemu toksinu (slika 7.7). Je najmočnejši znani bakterijski toksin. Ocenjujejo, da je smrtni odmerek za človeka približno 1 µg.

Novejše raziskave na molekularni ravni so natančno pojasnile, kako tetanusni in botulinusni toksin preprečujeta sproščanje neurotransmiterjev iz živčnih končičev (slika 7.8).

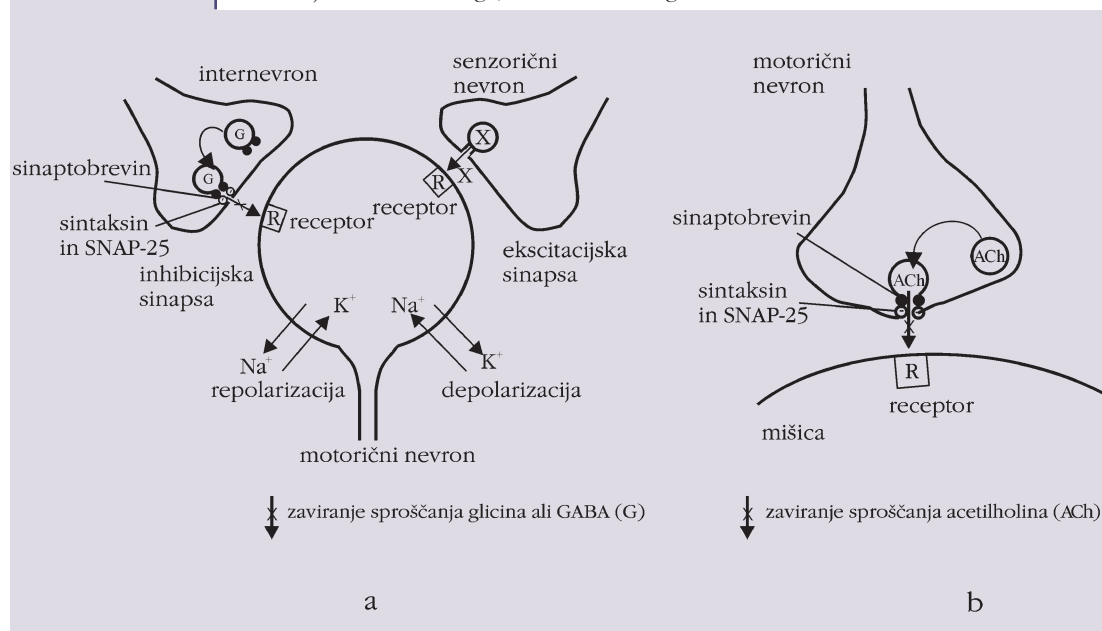
Ob prenosu živčnega vzbujenja se neurotransmiterji sproščajo v sinaptično režo z ekscitacijo, pri čemer se sinaptični mešički (sinaptosomi), napolnjeni z neurotransmiterji, zlijejo s presinaptično membrano živčnih končičev. Zlitje omogočajo posebne fuzijske beljakovine, **sinaptobrevin**, **sintaksin** in **SNAP-25** (synaptosome associated protein). Sinaptobrevin je v membrani sinaptosomov, sintaksin in SNAP-25 sta v membrani živčnih končičev. Ugotovili so, da sta tetanusni in botulinusni toksin **proteazi**, ki razgrajujeta fuzijske beljakovine in tako preprečita zlitje sinaptosomov s presinaptično membrano in sproščanje neurotransmiterjev.

EKSOTOKSINI S SUPERANTIGENSKIM DELOVANJEM (PIROGENI TOKSINI)

Pirogene toksine s superantigenkim delovanjem izdelujejo različne bakterije. Najbolj znani so stafilokokni enterotoksini, stafilokokni toksin sindroma toksičnega šoka in streptokokni eritrogeni oz. pirogeni eksotoksini.

Slika 7.8

Delovanje: a - tetanusnega; b - botulinusnega toksina.

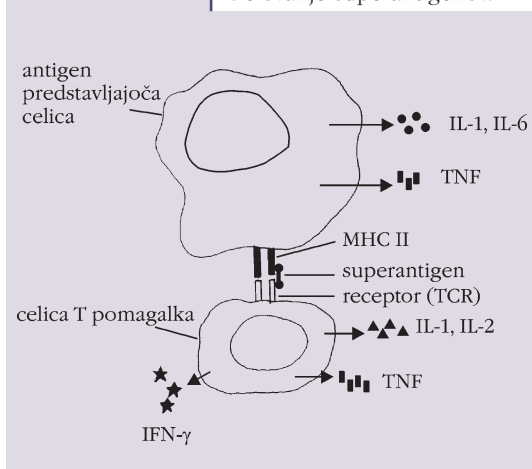


Pirogeni toksini so beljakovine z majhno molekularno maso, ki imajo podobno zgradbo, obliko in delovanje. Zaradi značilne konformacije se lahko vežejo z različnimi molekulami na različnih celicah imunskega sistema in delujejo kot **superantigeni**. V primerjavi z navadnimi antigeni imajo posebne lastnosti. Učinkujejo, čeprav jih predhodno ne predelajo antigen predstavljajoče celice (APC), saj se vežejo neposredno na molekule MHC II (poglavitni kompleks tkivne skladnosti razreda II ali major histocompatibility complex) na APC. Poleg tega se lahko vežejo z manj variabilnimi odseki površinskih receptorjev na celicah T pomagalkah. Zaradi tega se združi z APC več celic T pomagalk. Prve in druge celice se vzburijo in sproščajo velike količine citokinov (interlevkinov (IL-1, IL-2, IL-6), interferona gama (IFN- γ), tumorje nekrotizirajočega faktorja (TNF) itd.) (slika 7.9). Posledica je razvoj toksičnega šoka s potekom, ki je zelo podoben kot pri septičnem (endotoksinskem) šoku.

Med bakterijskimi okužbami, katerih ključni patogenetski mehanizem je delovanje superantigenov, sta najpomembnejša stafilokokni sindrom toksičnega šoka in streptokokni sindrom, podoben toksičnemu šoku.

Slika 7.9

Delovanje superantigenov.



Sindrom toksičnega šoka (toxic shock syndrome - TSS) povzročajo sevi bakterije *Staphylococcus aureus*, ki izdelujejo in izločajo eksotoksin, imenovan toksin sindroma toksičnega šoka (toxic shock syndrome toxin-1 - TSST-1). TSS je nevarna bolezen z znaki, podobnimi septičnemu šoku (zvišana telesna temperatura, padec krvnega tlaka itd.). Zaradi odpovedi delovanja več organov je možen smrtni izid.

Številni primeri TSS so bili povezani z uporabo menstruacijskih tamponov, v katerih so se razmnožili stafilokoki, ki so izločali TSST-1. Toksin je skozi vaginalno sluznico vstopil v kri in kot superantigen povzročil obsežno aktivacijo limfocitov in sproščanje citokinov.

TSS lahko povzročijo tudi stafilokoki, ki kolonizirajo druge telesne sluznice (npr. nosno sluznico) ali kožo. "Nevaginalni" stafilokoki največkrat ne izločajo TSST-1, ampak stafilokokne enterotoksine (SEA, SEB in SEC), ki so prav tako superantigeni.

Sindrom, podoben toksičnemu šoku (toxic shock-like syndrome - TSLS), povzročajo sevi bakterije *Streptococcus pyogenes*, ki izdelujejo in izločajo streptokokne toksine s superantigenim delovanjem, imenovane eritrogeni oz. streptokokni pirogeni eksotoksini (SpeA, SpeB in SpeC). SpeA je istoveten z eritrogenim toksinom, ki je v preteklosti (pred uporabo penicilinov) povzročal smrtno nevarne oblike škrlatinke.

Geni (*speA* in *speC*) z zapisom za SpeA in SpeC sta v bakteriofagu in ju imajo samo lizogeni (toksigeni) sevi bakterije *Streptococcus pyogenes*. Gen (*speB*) z zapisom za SpeB je v bakterijskem kromosomu.

TSLS je največkrat posledica streptokokne okužbe rane. Začne se kot zelo boleč, obsežen in hitro napredujoč nekrotizirajoči fasciitis in miozitis (propad podkožnega

maščobnega tkiva, mišičja in ovojnic). Kmalu se mu pridružijo kožni izpuščaji, visoka telesna temperatura in znaki šoka s padcem krvnega tlaka, dihalno stisko in odpovedjo več organov. Smrtnost je do desetkrat večja kot pri TSS.

Patogeneza TSS je zelo podobna kot pri TSS. Osnovni patogenetski mehanizem je poliklonska aktivacija limfocitov T in pospešeno izločanje različnih citokinov. Pomembna razlika je, da se pri TSS razširi po telesu le toksin (toksemija), stafilokoki pa ostanejo na vhodnem mestu, pri TSS pa streptokoki vdrejo v kri in izločajo velike količine toksina (bakteriemija in toksemija).

je **lipid A**, ki se sprosti, kadar se bakterije razkrojijo, npr. zaradi delovanja kompleksa, fagocitov ali antibiotikov.

Pri nenadzorovanem razmnoževanju in širjenju bakterij po krvi pride do preplavljanja organizma z bakterijami in njihovimi toksičnimi sestavinami. Lipopolisaharidni endotoksin oz. lipid A v krvnem obtoku (endotoksemija) povzroči obsežno sproščanje biološko aktivnih citokinov. Sproži se buren sistemski odziv, ki se kaže s klinično sliko **seps**e in se v najhujših primerih razvije v **septični šok** s hudo prizadetostjo krvnega obtoka, trdovratnim znižanjem krvnega tlaka in odpovedjo več organov. Bolnikovo življenje je ogroženo.

ENDOTOKSINI

Toksičnost bakterij, ki ni povezana z delovanjem eksotoksinov, so začeli proučevati že kmalu po odkritju prvih za človeka patogenih bakterij. Dokazali so, da posebna toplotno odporna sestavina vibrija kolere, ki se sprosti po odmiranju bakterij, povzroči šok in pogin poskusnih živali. Toksično snov so imenovali endotoksin, saj so domnevali, da je v notranjosti bakterij. Kasneje so ugotovili, da je endotoksin **lipopolisaharid (LPS)** in da je v zunanji membrani bakterijske stene po Gramu negativnih bakterij. Prav tako je postalo jasno, da imajo endotoksinovemu podobno delovanje tudi teihoična kislina in nekatere druge sestavine bakterijske stene po Gramu pozitivnih bakterij.

Kljub spoznanju, da je stena po Gramu pozitivnih in po Gramu negativnih bakterij zgrajena iz različnih molekul s toksičnimi učinki, prevladuje mnenje, da so najpomembnejši bakterijski endotoksini molekule LPS. Toksični del molekule LPS

SEPTIČNI (ENDOTOKSIČNI) ŠOK

Začetni znaki seps so zvečine neznačilni – zvišana ali znižana telesna temperatura, pospešeno dihanje, hitrejši srčni utrip, povečano ali zmanjšano število levkocitov itd. Diagnostično pomemben je dokaz bakterij v krvi (pozitivna hemokultura). V tem obdobju je mogoče bolnika pozdraviti z velikimi odmerki antibiotikov. Če ga ustrezno ne zdravimo, se zaradi nezadržnega naraščanja števila bakterij v krvi nabira vse večja količina endotoksina. Sledi razvoj septičnega (endotoksičnega) šoka z zapleteno patogenezo (slika 7.10).

Molekule LPS se sprimejo s posebnimi beljakovinami v plazmi. Nastali skupki se vežejo z receptorji (CD14) na monocitih, makrofagih in endotelijskih celicah žil, ki začnejo izločati različne citokine, med katerimi so za nastanek septičnega šoka najpomembnejši IL-1, IL-6, IL-8 in TNF. Omenjeni citokini učinkujejo neposredno ali posredno, tako da sprožijo izdelovanje mediatorjev septičnega šoka (vazoaktivnih

kininov, prostaglandinov in levkotrienov) in aktivirajo komplementni in koagulacijski sistem.

IL-1 vpliva na termoregulacijski center v hipotalamusu in zviša telesno temperaturo.

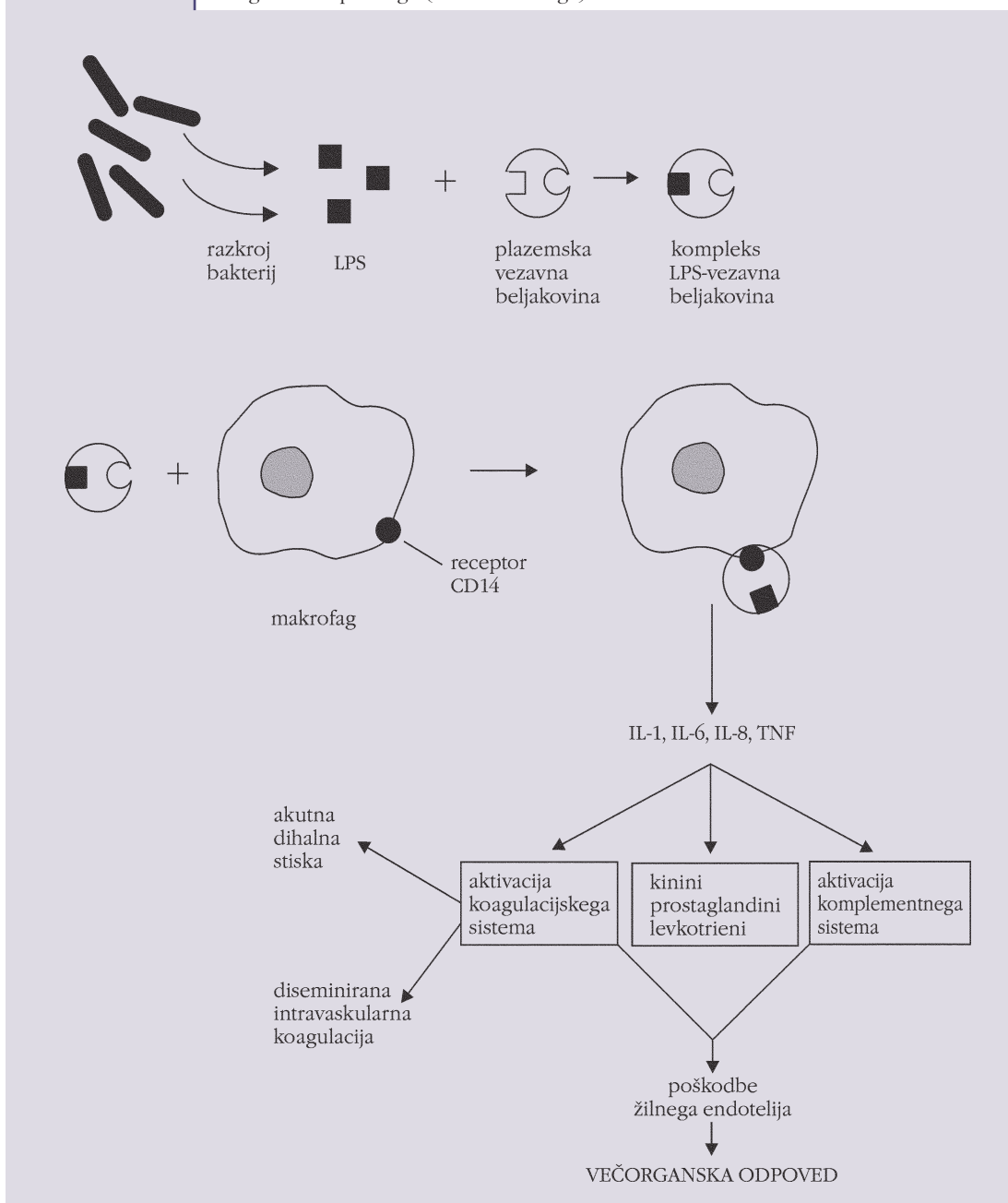
TNF oslabi delovanje srčne mišice in širi žile, zato se močno zniža krvni tlak. Poleg

tega poškoduje endotelijske celice žil, iz katerih se sprošča dušikov oksid (NO), ki tudi širi žile. Poškodbe endotelijskih celic povečajo prepustnost žilne stene in prestop tekočine v okolno tkivo. Omenjene spremembe povzročijo nezadostno prekrvljenost številnih tkiv in organov.

Stanje poslabšajo še aktivirane sestavine komplementnega sistema (predvsem C3a

Slika 7.10

Patogeneza septičnega (endotoksičnega) šoka.



in C5a), ki privablja in prileplja nevtrofilne granulocite na žilni endotelij. Nevtrofilci izločajo reaktivne kisikove presnovke in lizosomske encime, ki dodatno poškodujejo kapilarno steno.

Pomembno vlogo v razvoju septičnega šoka ima obsežna aktivacija koagulacijskega sistema. Aktivirani dejavnik XII (Hagemanov faktor) sproži koagulacijsko kaskado, ki se konča s pretvorbo fibrinogena v fibrin. Zaradi tromboze in zamašitve majhnih žil se pojavijo ishemične nekroze različnih organov (pljuč, jeter, ledvic, nadledvičnih žlez itd.). Slaba prekrvljenost možganov je vzrok za bolnikovo zmedenost in nemirnost.

Diseminirana intravaskularna koagulacija povzroči med napredovanjem septičnega šoka pomanjkanje trombocitov, strjevalnih dejavnikov in fibrinogena. Številne krvavitve še poslabšajo prekrvljenost mnogih telesnih organov, tako da lahko pride do popolne odpovedi njihovega delovanja. Značilno je popuščanje delovanja ledvic z zmanjšanjem izločanja seča.

Med ključnimi organi, ki so posebej prizadeti v poteku septičnega šoka, so pljuča. Poškodbe alveolarnega epitelija ter nabiranje tekočine in levkocitov vodijo v akutno dihalno stisko.

Septični šok se pojavlja pri okužbah s po Gramu negativnimi in po Gramu pozitivnimi bakterijami. Najpogostnejše povzročiteljice so bakterije *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Neisseria meningitidis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae* in *Streptococcus pyogenes*.

Umrljivost v najhujših primerih septičnega šoka je velika in znaša do 70 %. Posebej izpostavljeni so bolniki v bolnišničnih intenzivnih enotah, pri katerih je pogosta

t. i. "katetrška sepsa" zaradi okuženih venskih vstavkov. Pomemben dejavnik razvoja septičnega šoka je tudi imunska oslabelost pri raku, aidsu, zdravljenju z imunosupresivnimi zdravili itd. Naraščanje števila septičnih bolnikov je močno povezano tudi s hitrim širjenjem bakterijske odpornosti zaradi prevelike in nepravilne uporabe antibiotikov.

LITERATURA ZA NADALJNI ŠTUDIJ

Salyers, A. A., Whitt, D. D. Bacterial pathogenesis. Washington: ASM Press; 1994.

Bakterija in gostitelj

Prirojena imunost

Alojz Ihan, Vladimir Kotnik

IMUNSKI ODZIV IN MIKROBI

TELESNE PREGRADE IN ODPORNOST ORGANIZMA

ANATOMIJA IMUNSKEGA SISTEMA IN IMUNSKE CELICE

Kostni mozeg

Timus

Bezgavke

Vranica

Imunske celice sluznic

PRIROJENI (NESPECIFIČNI) IN PRIDOBLJENI (SPECIFIČNI) IMUNSKI ODZIV

VNETJE

Citokini

ZGRADBA IN DELOVANJE KOMPLEMENTNEGA SISTEMA

DELOVANJE KOMPLEMENTNEGA

SISTEMA

Aktivacija komplementa po alternativni poti

Aktivacija komplementa po klasični poti
BIOLOŠKE POSLEDICE AKTIVACIJE KOMPLEMENTA

URAVNAVANJE DEJAVNOSTI KOMPLEMENTNEGA SISTEMA

KLINIČNI POMEN KOMPLEMENTNEGA SISTEMA

CELICE, KI OMOGOČAJO PRIROJENO IMUNOST

FAGOCITI

Nevtrofilci

Mononuklearni fagociti – monociti in makrofagi

BAZOFILCI IN MASTOCITI

EOZINOFILCI

IMUNSKI ODZIV IN MIKROBI

Velika večina mikrobnih vrst ni prilagojena za življenje v človeku, ki z njimi nima ne-

posrednega življenjskega odnosa; nekatere od njih so zanj pomembne, ker mu koristijo tako, da pridelujejo njegovo hrano (npr. sir, jogurt, vino, pivo), izdelujejo zdravila (npr. antibiotike, hormone), razgrajujejo odpadke (gnilobne bakterije), delajo rodovitno prst in tudi večino kisika,

ki ga diha (cianobakterije v morju). Nekatere med njimi pa naseljujejo človeško kožo in sluznice (npr. prebavila, zgornja dihalna, sluznice spolovil, sečnice). S svojo navzočnostjo mu večinoma koristijo – v črevesju izdelujejo nekatere vitamine, s svojo naselitvijo tudi odvzemajo življenjski prostor bolezenskim mikrobom. Bolezenskih mikrobov je razmeroma malo vrst. Zanje je značilno, da so se zmožni naseliti v telesu in s svojo dejavnostjo (z razmnoževanjem, izločanjem presnovkov in toksinov) povzročiti bolezen. Večina bolezenskih mikrobov je tako zelo prilagojena na človeka, da ne morejo dlje časa preživeti zunaj njega. Zato se največkrat prenašajo z enega človeka na drugega, kar imenujemo okužba. Okužbe, katerih vir so živali, so zoonoze (npr. bruceloza). Patogene bakterije navadno niso zmožne živeti zunaj telesa, v naravnem okolju, čeprav so tudi izjeme (npr. legionele).

TELESNE PREGRADE IN ODPORNOST ORGANIZMA

Odpornost proti mikrobom v organizmu omogočajo različne fizikalne in kemične pregrade. Te preprečujejo, da bi mikrobi vdirali v notranjost tkiv in organov, ki normalno niso naseljeni z njimi. Telesne pregrade so koža in sluznice. Zunanjo površino kože in nekaterih sluznic navadno naseljuje nenevarna mešana mikrobna flora, ki pa lahko povzroči škodo pri oportunističnih okužbah.

Vsaka telesna pregrada ščiti na svoj način. Kožne lojnice izločajo maščobne kisline, ki zavirajo bakterijsko rast. Poleg tega se keratinska plast kože neprestano lušči in preprečuje trajnejšo naselitev mikrobov. Zaradi trdne zgradbe je koža zelo učinkovita pregrada. Mikrobi vdrejo skozi le, kadar je poškodovana (rana, opekline, tumor).

Sluznice (dihal, prebavil, sečil, spolovil, oči, ušes) so glede obrambe proti mikro-

bom posebej občutljivi predeli. Zlasti sluznice v prebavilih in dihalih omogočajo živahno izmenjavo snovi med organizmom in okoljem. Zato so sluznice pogosto vstopna mesta za vdor mikrobov v telo. Za preprečevanje okužb je pomembna normalna bakterijska flora na sluznicah, ki onemogoča rast patogenih mikrobov. Usmerjen tok sluzi (ki ga poganja peristaltika in ciliarno delovanje) odplavlja mikrobe in zmanjšuje možnost kolonizacije, solna kislina v želodcu ali žolčne soli v črevesju preprečujejo rast patogenih mikrobov, protimikrobno pa delujejo še številni drugi izločki sluznic (laktoferin, laktoperoksidaza, lizocim).

Nekateri mikrobi so razvili načine, da kljub pregradam vdirajo v organizem in s svojo dejavnostjo (z razmnoževanjem, presnovki, toksini) okvarjajo tkiva. S svojim parazitiranjem škodujejo organizmu. Obrambni sistem prepoznava in uničuje mikrobe, ki vdrejo v notranjost organizma. Čeprav je delovanje imunskega sistema zapleteno, je njegova osnovna logika preprosta: prepoznati sovražnika (tujek), mobilizirati obrambne celice in napasti tujke. Razumevanje anatomije in sestavnih delov imunskega sistema omogoča podrobnejše razumevanje te logike.

ANATOMIJA IMUNSKEGA SISTEMA IN IMUNSKÉ CELICE

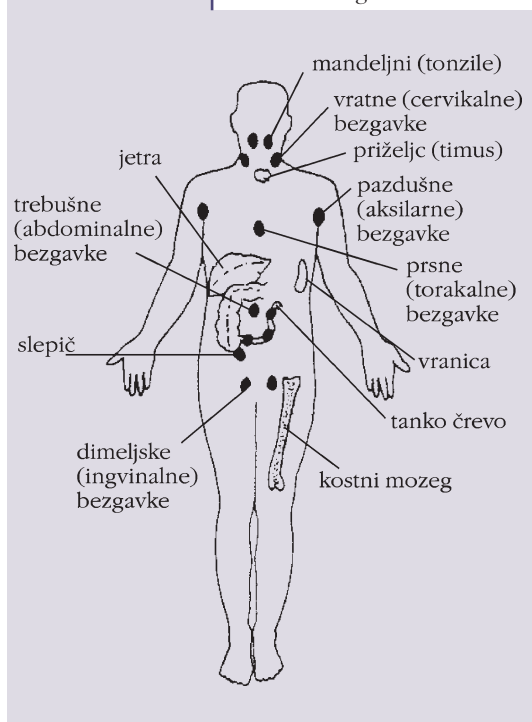
Imunski sistem sestavljajo celice, organi in limfne žile. Limfne žile oskrbujejo vse telesne organe in tkiva, razen možganov. V limfnih žilah se pretaka motna, gosta tekočina (limfa), ki vsebuje maščobne kapljice in bele krvničke.

Ob limfnih žilah so posebna mesta (bezgavke, tonzile, kostni mozeg, vranica, jetra, pljuča, črevo), kjer se lahko bele krvničke, zlasti limfociti, zberejo, organizirajo in usmerijo na določena mesta kot del imunskega odziva. Izjemna organiziranost

imunskega sistema omogoča odziv na vsakem mestu, kjer je potreben. Posledice imunskega odziva lahko preprosto opazimo ob hujši okužbi prsta na roki, ki kmalu povzroči povečanje bezgavk v komolcu. Podobno okužba žrela povzroči povečanje bezgavk pod spodnjo čeljustjo. Bezgavke otečejo, ker se po limfi dovaja več sokrvice in vnetih celic. V bezgavkah se obstoječe in na novo prispele imunske celice organizirajo in sprožijo imunski odziv (slika 8.1).

Slika 8.1

Limfatični organi.



Filogenezno najstarejše obrambne celice so fagocitne (nevtrofilci, makrofagi). Njihova naloga je, da tujke (npr. bakterije) požirajo, nato pa znotrajcelično razgradijo in uničijo. Kasneje v evoluciji so se razvili limfociti, ki tujke (antigene) najprej prepoznajo s specifičnimi receptorji. Po prepoznavi se odzovejo z izločanjem protiteles (limfociti B - humoralna imunost), ki se specifično vežejo s tujkom in ga uničijo. Druga vrsta limfocitov so limfociti T. Ti z antigenškimi receptorji prepoznajo tuje molekule (an-

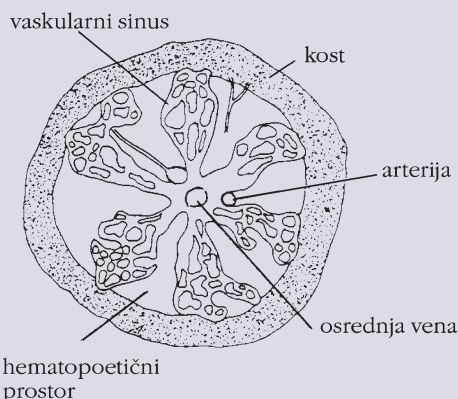
tigene) na celicah lastnega organizma. **Med limfociti T ločimo citotoksične limfocite T in celice T pomagalke.** Citotoksični limfociti T prepoznajo in uničujejo celice, okužene z znotrajceličnimi mikrobi (npr. z virusi ali znotrajceličnimi bakterijami), in tumorske celice. Celice T pomagalke z izločanjem mediatorjev imunskega sistema - citokinov - uravnavajo delovanje imunskih celic. Za obrambo so pomembne tudi **celice naravne ubijalke (natural killers - NK)**, ki pa za prepoznavanje okuženih celic ne uporabljajo antigenških receptorjev.

Kostni mozeg

Kostni mozeg sestoji iz mrežja krvnih žil - sinusov. Med njimi je hemopoetični prostor, ki ima spužvi podobno ogrodje iz retikulumskih celic. V hemopoetičnem prostoru se nahajajo matične celice. Iz njih se diferencirajo posamezne vrste krvnih celic. Dozorele celice iz hemopoetičnega prostora potujejo v vaskularne sinuse, kjer postanejo krvne celice: eritrociti, trombociti (ki niso prave celice, ampak le odlomki megakariocitov), granulociti (nevtrofilci, eozinofilci, bazofilci), monociti in limfociti (slika 8.2).

Slika 8.2

Prerez kostnega mozga.



Prerez kostnega mozga. Osrednja vena sprejema žilne sinuse kot pritoke. Sinusi so široke žile s tankimi stenami, ki potekajo radialno proti osrednji veni. Med sinusi so hemopoetični prostori.

Timus

Timus je limfatični organ, ki ima ogrodje iz retikulumskih celic epitelijskega (ektodermalnega) izvora. V ogrodju so limfociti (imenovani tudi timociti). Timus je razdeljen na režnje (lobuluse), znotraj posameznega režnja ločimo skorjo (korteks) in sredico (medulo). Iz krvi vstopajo v skorjo nezreli limfociti T, kjer so zbrani v značilnih skupkih (Clarkovi paketi, slika 8.3). V timusu limfociti T dozorevajo in se

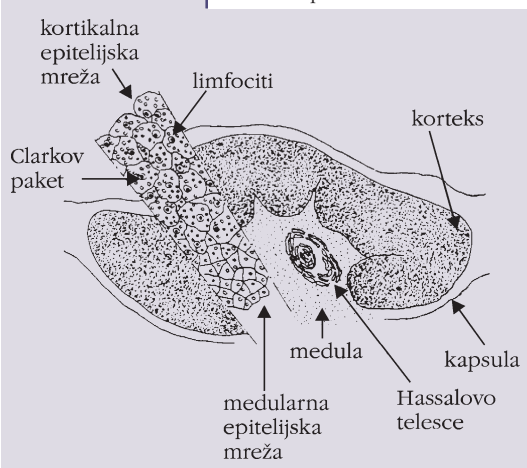
diferencirajo v celice T pomagalk ali citotoksične limfocite T. Zreli limfociti T potujejo v sredico, od koder vstopijo v krvni obtok.

Bezgovke

Bezgovke imajo obliko in velikost fižola in navadno ležijo ob stikih večjih mezgovnic. Tujke, ki pridejo v tkiva, nese tok mezge po mezgovnicah v bezgavke, kjer jih ujamejo dendritične celice in makrofagi. Mezga vstopa v kapsulo bezgavke po dovodnih mezgovnicah. Pod kapsulo je korteks, kjer so pretežno limfociti B, ki so zbrani bodisi v manjših primarnih foliklih (v katerih trenutno ne poteka imunski odziv) ali v večjih reakcijskih centrih (sekundarnih foliklih, v katerih poteka imunski odziv na antigen). Pod korteksom leži parakorteks, ki ga sestavljajo pretežno limfociti T, manj je limfocitov B (razmerje je 3 : 1). Iz korteksa in parakorteksa vodijo tanke mezgovnice radialno v sredico (medulo), kjer se zberejo v odvodno mezgovnico, ki odvaja mezgo iz bezgavke. Limfocitne skupke v sredici imenujemo medularni povezki (slika 8.4).

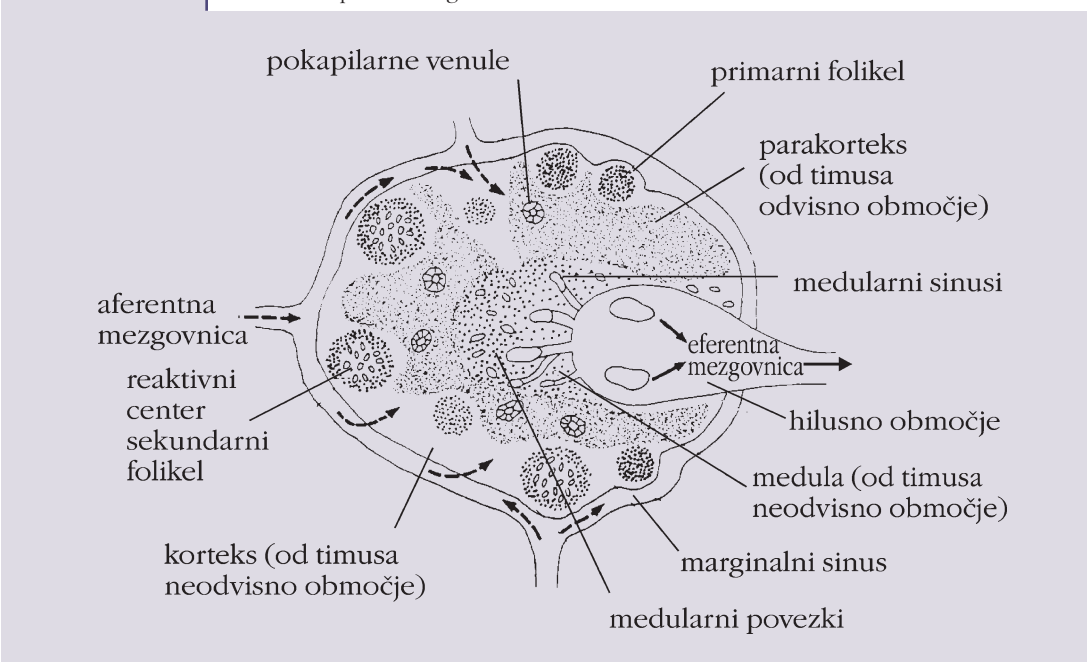
Slika 8.3

Clarkovi paketi v timusu.



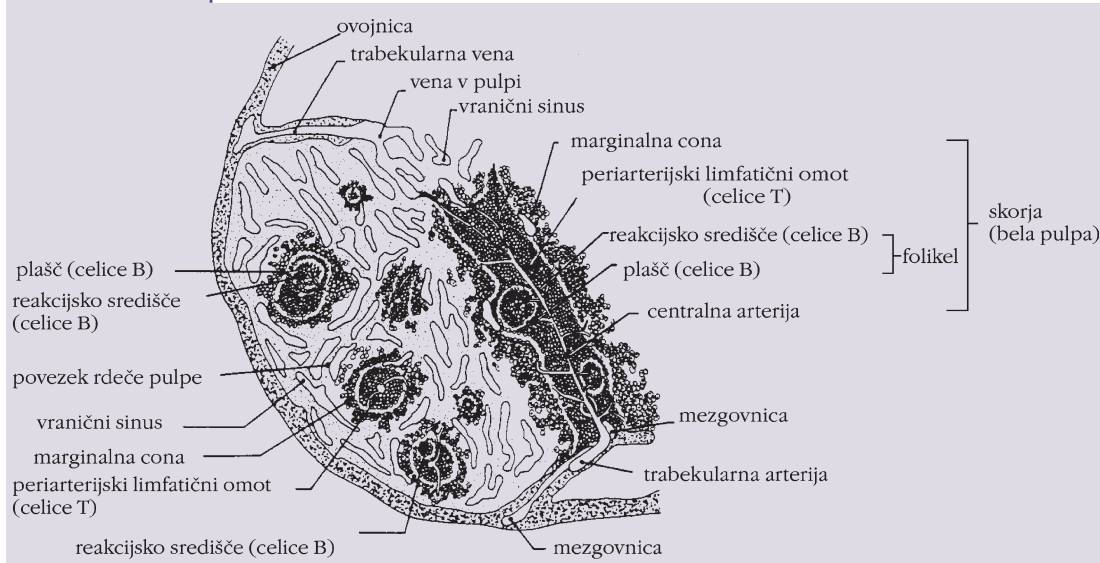
Slika 8.4

Shematični prerez bezgavke.



Slika 8.5

Shematični prikaz poglavitnih območij vranice.

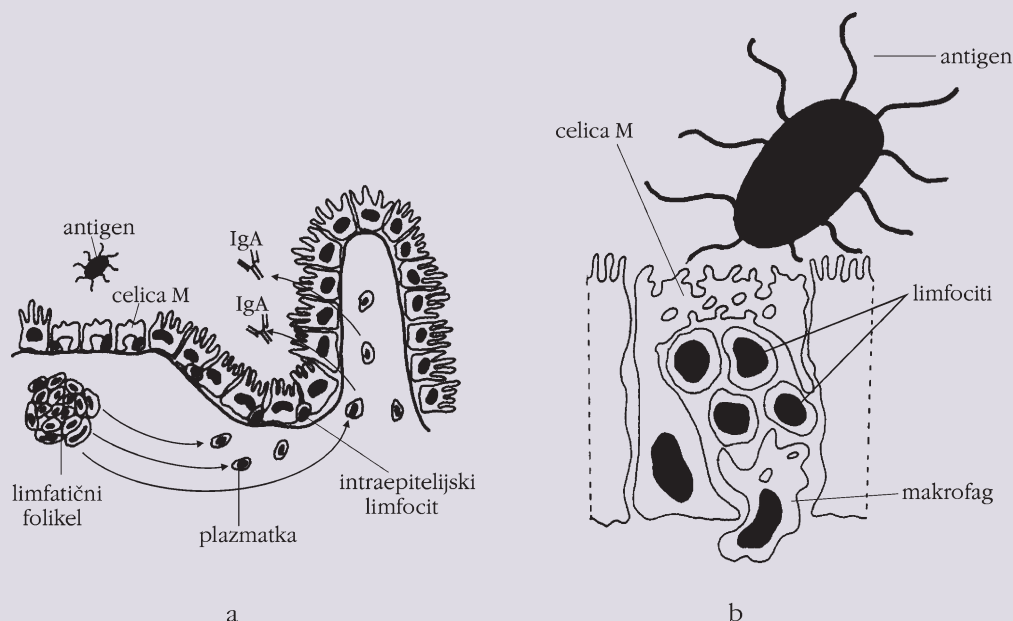


Tujke, ki jih mezgovni tok zanese v bezgavko, najprej zadržijo makrofagi v parakorteksu in jih ponudijo v prepoznavo celicam T pomagalkam, ki z izločanjem mediatorjev sprožijo imunski odziv. Priprave za izdelovanje protiteles se najprej začnejo

zunaj foliklov v parakorteksu kot rezultat srečanja med limfociti T in B. Kompleksi med antigeni in protitelesi (imunski kompleksi) se v foliklih vežejo na površino folikularnih dendritičnih celic in močno aktivirajo limfocite B. Ker se na dendritičnih

Slika 8.6

Imunske celice sluznic.



Imunske celice sluznic: a - imunski odziv v sluznicah; b - celice M, ki prenesejo tujke do skupkov intraepitelijskih limfocitov in makrofagov; plazmatke v sluznicah izdelujejo predvsem protitelesa IgA.

celicah imunski kompleksi ohranijo dolgo časa, to omogoči nastanek močnega protitelesnega odziva.

Vranica

Vranica je velik organ, ki je vstavljen v krvni obtok in rabi za filtriranje in skladiščenje krvnih celic. Vranično parenhimsko tkivo sestavljata rdeča in bela pulpa. Belo sestavljajo ovojnice iz limfatičnega tkiva, ki obdaja arterije in se mestoma razširi v limfatične folikle (Malpighijeva telesca), rdečo pa široki venski sinusi, ki so vloženi v limforetikularno tkivo. Pasove tega tkiva na prerezi imenujemo vranični (Billrothovi) povezki.

V sinusih se skladišči kri, v Billrothovih povezkih pa so makrofagi, ki odstranjujejo okvarjene in ostarele celice. V središču limfatičnih foliklov so arterije, ki jih obdaja periarterijski limfatični omot, pretežno iz limfocitov T. Radialno je plašč iz limfocitov B. Zunaj plašča, na meji s sinusi, je marginalna cona, v kateri so številni makrofagi (slika 8.5).

Imunske celice sluznic

Več kot polovico imunskih celic pri človeku najdemo v sluznicah. Samo sluznice prebavil vsebujejo toliko imunskih celic kot človeška vranica. Deloma so organizirane v sluznične **limfatične folikle**, deloma pa posamično razporejene v **lamina propria (celice M)**. Limfocitni folikli so skupki – zlasti limfocitov – in sestavljajo sprejemni (aferentni) del imunskega sistema sluznic. Prestrezajo tuje molekule in v njih se aktivirajo in razmnožujejo imunske celice. Aktivirane in razmnožene celice nato iz foliklov potujejo v **lamina propria** sluznic. Tam so posamične celice izvršni (eferentni) del sluzničnega imunskega sistema (slika 8.6).

PRIROJENI (NESPECIFIČNI) IN PRIDOBLENI (SPECIFIČNI) IMUNSKI ODZIV

Vdor tujkov v telo sproži različne obrambne mehanizme. Delimo jih na filogenezo starejše mehanizme prirojene (nespecifične, naravne ali konstitucijske) odpornosti in na filogenezo mlajše mehanizme pridobljene (specifične ali adaptibilne) odpornosti. **Mehanizmi prirojene odpornosti (npr. fagocitoza, aktivacija kompleksa) se proti tujkom odzovejo takoj in popolnoma ne glede na to, ali je organizem že kdaj prej prišel v stik z enakimi tujki ali ne.** Nasprotno pa mehanizmi pridobljene (specifične) odpornosti ob prvem stiku s tujkom šele izoblikujejo imunski odziv, ki specifično prepoznava molekule tujka. Zato je potreben čas – **specifični imunski odziv se pojavi z zakasnitvijo nekaj dni do nek nekaj tednov.** Ko se specifični imunski odziv vzpostavi, je imunski sistem dolgo časa (leta in desetletja) pripravljen za prepoznavanje enakih tujkov – **to lastnost prepoznavanja tujka imenujemo imunski spomin.** Ponoven vdor enakih tujkov v telo zato izzove hitrejši (zgodnejši) in močnejši specifični imunski odziv kot ob prvem stiku z njimi.

VNETJE

Vdor mikrobov skozi kožo ali sluznice v telo povzroči v okuženem tkivu reakcijo. Imenujemo jo vnetje, ki je vnaprej pripravljen odziv tkiva na kakršno koli okvaro. Ne glede na vzrok (mikrobni, fizikalni, kemični) tkivne okvare ji sledi sosledje tkivnih reakcij, ki na mestu okvare močno okrepijo obrambno zmožnost tkiva: poveča se prekrvljenost tkiva, povečana prepustnost kapilar omogoči prehod zaščitnih makromolekul (protiteles, proteinov kompleksa) iz žil v tkivo, vnetni media-

torji povzročijo kopičenje obrambnih celic in njihovo aktivacijo. Obrambne celice izdelujejo tudi laktat, ki zniža tkivni pH in s tem zavira bakterijsko rast.

V vnetni reakciji sodelujejo številni biološko aktivni mediatorji. Med njimi je zelo pomembna skupina serumskih proteinov, ki jo imenujemo komplementni sistem. **Navzočnost mikrobov v tkivu sproži aktivacijo proteinov komplementnega sistema.** Med aktivacijo komplementa nastanejo številni dejavniki (mediatorji), ki povzročijo vazodilatacijo, povečano prepustnost žilja in draženje bolečinskih živčnih končičev. Klinično se naštetni učinki kažejo kot pordelost, oteklina (edem) in bolečnost vnetega predela.

Pomemben mediator vnetja je **histamin**, ki povzroča vazodilatacijo in poveča prepustnost žilja. Histamin nastaja v velikih količinah v mastocitih, najdemo pa ga tudi v drugih celicah, npr. trombocitih. Sproščanje histamina iz mastocitov spodbujajo peptidi anafilatoksin. Anafilatoksin so odlomki in sestavine komplementa C3a, C4a in C5a, ki nastanejo med aktivacijo komplementnega sistema. Vnetni mediatorji so tudi **kinini**, med njimi je najbolj znan **bradikinin**, ki v enaki meri poveča prepustnost žilja kot histamin. Kinini nastajajo iz beljakovin kininogenov po encimskem cepljenju, ki ga opravijo encimi kalikreini. Aktivira jih Hagemanov faktor, ki je hkrati pomemben člen v kaskadi strjevanja krvi. Hagemanov faktor se med drugim aktivira tudi zaradi navzočnosti lipopolisaharida iz po Gramu negativnih bakterij.

Pomembni vnetni mediatorji so **levkotrieni** in **prostaglandini**, ki vplivajo na gibanje in metabolizem belih krvnih celic, poleg tega povzročijo tudi agregacijo trombocitov, v možganih pa vplivajo na termoregulacijski center tako, da se poveča telesna temperatura. Aspirin in drugi zaviralci ciklooksigenaze preprečijo nastajanje pro-

staglandinov in znižajo telesno temperaturo, hkrati pa zmanjšajo tudi protimikrobni odziv, ki ga sicer posredujejo prostaglandini.

Med vnetjem se močno poveča krvna koncentracija nekaterih beljakovin, ki se sestavljajo v jetrih. Gre za **beljakovine iz akutne faze vnetnega odziva**, med njimi so zlasti znani C-reaktivni protein, vezavni protein lipopolisaharida, serumski amiloid A, transferin in antitripsin alfa₁. Beljakovine akutne faze na različne načine vplivajo na vnetni odziv.

C-reaktivni protein poveča aktivacijo komplementa, podoben učinek ima tudi vezavni protein lipopolisaharida. Antitripsin alfa₁ po drugi strani zavira proteazne encime, ki sicer pospešujejo vnetje. Transferin veže prosto železo in ga tako odvzema bakterijam, ki ga potrebujejo za rast.

Citokini

Vsak vnetni odziv poteka v medsebojnem sodelovanju raznovrstnih in številnih celic (nevtrofilcev, makrofagov, celic T pomagalk, citotoksičnih limfocitov T, limfocitov B, celic NK). Na mestu vdora mikrobov v telo se morajo ustrezne celice zbrati in z medsebojnim signaliziranjem uskladiti svoje aktivnosti v primerno organiziran imunski odziv. Za medsebojno signaliziranje uporabljajo imunske celice **neposredne stike, ki jih omogočajo receptorske povezave** (zlasti prek adhezijskih molekul). Zelo pomembno je tudi **medcelično signaliziranje prek topnih proteinskih signalnih molekul - citokinov** (citokin dobesedno pomeni "celični premikalec"). Z izločanjem citokinov posamezna imunska celica vpliva na delovanje vseh preostalih, ki so običajno v njeni neposredni soseščini. Citokinov, ki lahko vplivajo na imunske reakcije, je več vrst. Najbolj znani so **interferoni** (sprva so jih odkrili kot pomembne mediatorje vnetja

pri virusnih okužbah), **tumorje nekrotizirajoči faktor** (tumor necrosis factor – TNF), znan predvsem zaradi pomembne vloge pri nastanku septičnega šoka, in **interlevkini** (proteini, ki jih izločajo limfociti in z njimi vplivajo na aktivnost drugih limfocitov). Med slednjimi je najbolj znan interlevkin 2, ki je osrednja molekula, s katero celice T pomagalko vzdržujejo aktivacijo efektorskih imunskih celic (limfocitov B, citotoksičnih limfocitov T, celic NK).

ZGRADBA IN DELOVANJE KOMPLEMENTNEGA SISTEMA

Komplementni sistem se je v evoluciji pojavil pozneje kot drugi načini naravne odpornosti, npr. fagocitoza, in prej, kot se je začel razvijati specifični imunski sistem. Poimenoval ga je Ehrlich (1899). Ime izhaja iz spoznanja, **da komplementni sistem dopolni - komplementira - hemolitično zmožnost imunskega seruma**. Je pomemben in učinkovit način za uničenje in odstranitev bolezenskih povzročiteljev v obdobju pred nastankom specifičnega imunskega odziva in po njem. Sestavlja ga vrsta beljakovin, ki jih najdemo v telesnih tekočinah in na površini celic. Poglavitni vir sestavin komplementnega sistema so jetra. Tu se primarno sintetizirajo sestavine C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, C9, faktor B, zaviralec C1 (C1-inh) in faktor I. C1q in C1r/C1s nastajata v epiteljskih celicah, properdin (faktor P), faktor D in faktor H pa v monocitih.

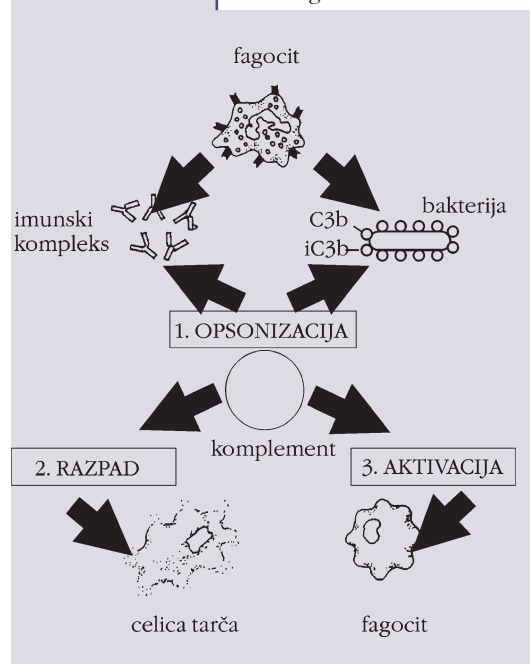
DELOVANJE KOMPLEMENTNEGA SISTEMA

Končni učinek delovanja komplementnega sistema se kaže z nastankom **litičnega kompleksa**. Litični kompleks označujemo tudi s kratico **MAC** (membrane attack com-

plex) ali C5b-9. MAC nastane, ko konvertaze C5 po klasični (C4b2a-C3b) ali alternativni (C3bBb-C3b) ali mananski poti (še ne do konca proučena) razgradijo komponento C5 v odlomka C5a in C5b. Novonastali odlomek C5b se sprva še drži ustrezne konvertaze. Oblikovan je tako, da se lahko veže z enim delom s C3b, ki je povezan s celično membrano, z drugim pa s C6. Če se C6 ne uspe kmalu vezati na C5b, postane molekula C5b neučinkovita. Po uspešni vezavi se C6 veže s C7. To utrdi kompleks v membrani, ki se poslej ne more več iztrgati. Naslednja stopnja je vezava C8, po čemer se kompleks C5b-8 vdre globlje v membrano in tedaj že lahko pride do razpadanja (lize), predvsem starih eritrocitov. Na koncu se v kompleks veže C9. To povzroči nastanek cilindričnih pošodb s premerom okoli 10 nm. Skozi nastalo luknjo se začno izmenjevati elektroliti. Pri metabolno šibko aktivnih celicah (eritrociti), se pokažejo opisane okvare z razpadom celic. Celice z jedrom, ki so zmožne aktivno vzdrževati elektrolitsko neravnovesje in učinkovito popravljati

Slika 8.7

Aktivacija proteinov komplementnega sistema.



okvare v membrani, pa pogosto ostanejo nepokvarjene, če le ni nastala prevelika množina litičnih kompleksov (slika 8.7).

Aktivacija komplementa po alternativni poti

Alternativna pot je filogenezo starejša in za preživetje osebkov pomembnejša od klasične poti aktivacije. Sproži se ob vdoru bolezenskega povzročitelja v organizem, medtem ko se komplementni sistem aktivira po klasični poti šele tedaj, ko nastanejo ustrezna specifična protitelesa. **Aktivacijo alternativne poti sprožijo bakterije, virusi (Simian, Sindbis, rotavirusi) in tumorsko spremenjene celice. Aktivacijo lahko sprožijo tudi eritrociti različnih živalskih vrst (kunčji, kokošji, budrini), kar s pridom uporabljamo v laboratoriju za merjenje aktiviranosti komplementnega sistema. Za sproženje ni potrebna navzočnost specifičnih protiteles. Pomembnejši aktivatorji alternativne poti so: kobrin strup, polianioni (npr. DNK, poliinozinska kislina, dekstranov sulfat, polivinilsulfat, karaginan, celulozni fosfat), polisaharidni komponenti O in R v lipopolisaharidni molekuli (LPS), peptidoglikan in teihoična kislina.** Zaradi odsotnosti ali neučinkovitosti sestavin alternativne poti, predvsem properdina (faktor P), pride pogosto do hudih okužb z bakterijo *Neisseria meningitidis*. Takšne okužbe so pomembno znamenje, ki mora spodbuditi iskanje okvar v delovanju alternativne poti.

Za aktivacijo komplementnega sistema po alternativni poti je najpomembnejša stalna spontana hidroliza komponente C3. Posledica je nastanek molekulskega kompleksa $C3(H_2O)Bb(Mg)$, ki ima podobno delovanje kot odlomek C3b. Nanj se veže faktor B in nastane konvertaza C3, ki cepi nove molekule C3 na odlomka C3a in C3b. Cepljenje C3 se začne tudi tako, da se veže faktor B, ki je po zgradbi in delovanju homologen komponenti C2, s faktorjem D, ki

je serinesteraza. Faktor D razcepi faktor B v dva odlomka, in sicer Ba in Bb. Ko je odlomek Bb vezan s C3, nova konvertaza C3 po alternativni poti cepi nove molekule C3 ali pa postane konvertaza C5 in cepi sestavino C5. Konvertaza C3 po alternativni poti deluje enako kot konvertaza C3 po klasični poti.

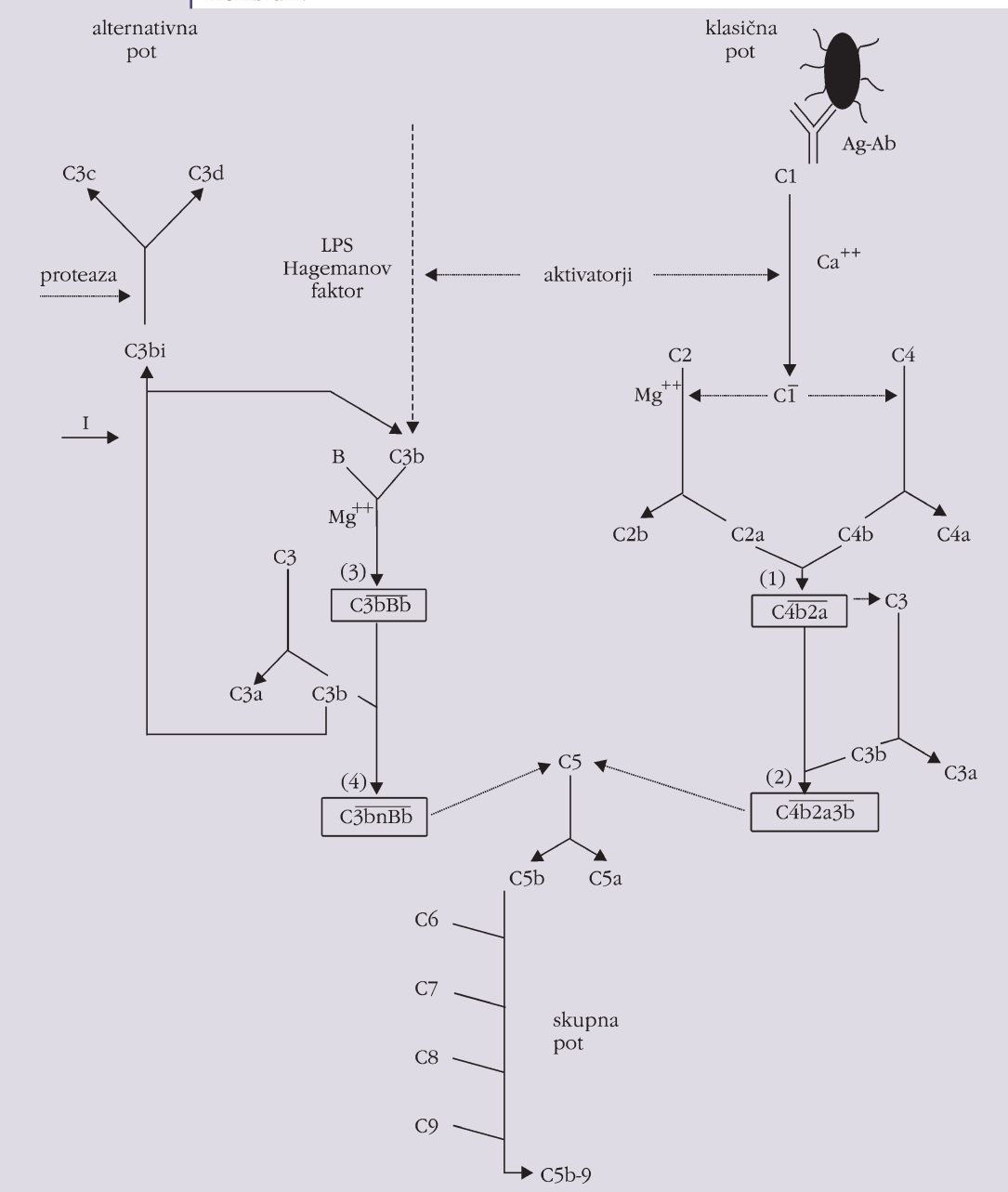
Aktivacija komplementa po klasični poti

Aktivacijo komplementa po klasični poti sproži nastanek topnih in na membrano vezanih imunskih kompleksov. Poleg tega so lahko sprožilci še: na membrano vezane molekule imunoglobulinov (ne pa proste molekule imunoglobulinov), protein A iz celične stene bakterije *Staphylococcus aureus* potem, ko se veže z imunoglobulini IgG (naravna vezava), CRP (C-reaktivni protein) z neposredno vezavo za C1, lipid A iz LPS, mielin, retrovirusi (HIV) ter virusa Sindbis in Newcastle.

Sprožitev se začne, ko se komponenta C1 veže z delom Fc imunoglobulina M ali G. Komponenta C1 je navzoča v plazmi in serumu v obliki neaktivnega molekulskega kompleksa C1q(rs)2. Molekulni del C1q ima šest enakih vezišč, ki se vežejo na aktivni predel na odlomku Fc. Na telo molekule C1q sta vezani z vsake strani po dve molekuli C1r in C1s. Takrat ko se C1q veže, se konformacijsko spremeni, kar povzroči aktivacijo prve molekule C1r, ki se tudi konformacijsko spremeni in postane esterolitična. Esterolitična C1r razcepi drugo molekulo C1r, ki postane zmožna kot encim cepiti prvo molekulo C1s. Ko se ta razcepi, razcepi ista molekula C1r še drugo molekulo C1s. Aktivirani C1s cepi kot encim molekulo C4. Na nastali odlomek C4b, ki je vezan v kompleks s C1, se nato veže še molekula C2. Ista molekula C1s, ki je cepila C4, zdaj razcepi molekulo C2. Nastane kompleks C4b2a, ki je konvertaza C3 po klasični poti.

Slika 8.8

Shematični prikaz aktivacije komplementa in tvorbe litičnega kompleksa v plazemski membrani.



Komplementne beljakovine se kaskadno aktivirajo po dveh poteh. Klasična pot se začne kot aktivacija proteina C1, ki jo povzroči protitelo (IgG, IgM), vezano v imunski skupek. Alternativna pot se začne kot aktivacija C3 zaradi različnih vzrokov (npr. sestavine celične stene nekaterih mikrobov, membrane v dializnih aparatih) in podobno kot klasična pot privede do nastanka litičnega kompleksa (sliki 8.8 in 8.9).

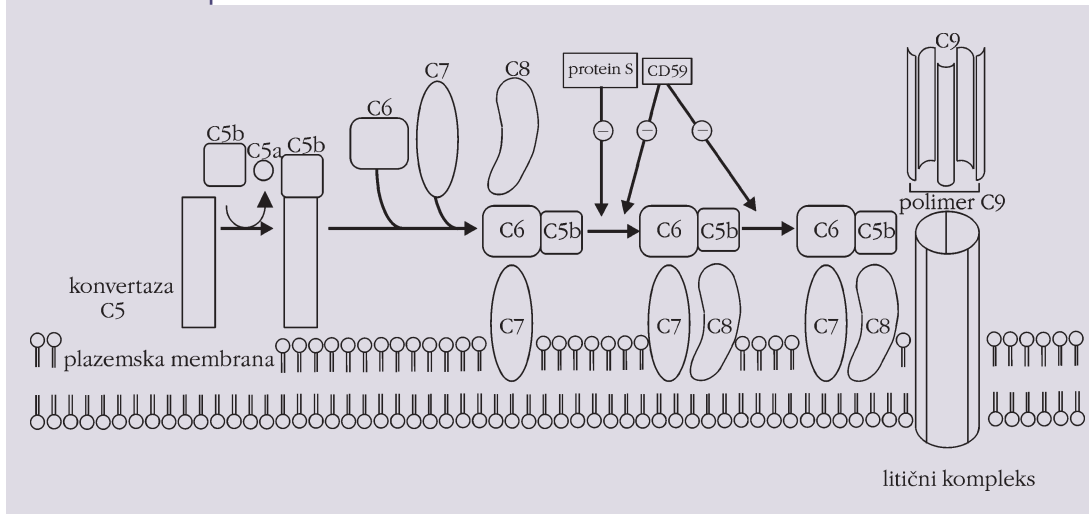
BIOLOŠKE POSLEDICE AKTIVACIJE KOMPLEMENTA

Posledica aktiviranosti komplementnega sistema sta dve vrsti učinkov, ki so lahko za makroorganizem ugodni ali neugodni. **Ugodni učinki** so: ubijanje povzročiteljev

bolezni, odstranjevanje imunskih kompleksov, pomoč in pospeševanje protitelesnega imunskega odziva. **Neugodni učinki** so posledica obsežne aktivacije pri septikemiji s po Gramu negativnimi bakterijami, npr. pri obsežnih nekrozah, po

Slika 8.9

Biološki učinki aktivacije komplementnega sistema.



miokardnem infarktu, obsežnih opeklinah ali pri avtoimunosti (slika 8.7).

Pomembna je dejavnost komplementa pri ubijanju mikroorganizmov. Zaradi aktivacije sistema nastaneta dva pomembna anafilatoksina (C3a in C5a), ki sta tudi kemoaktivna, podobno kot kompleks C5b67 in odlomek Ba. Odlomka C3a in C5a sta zmožna sprožiti sproščanje histamina iz bazofilcev (anafilatoksinska dejavnost), zato sta pomembna za nastanek vnetja, ki spremlja aktivacijo komplementa. Povečata prepustnost žilja in tako omogočata prodor še drugim efektorskim molekulam in celicam na mesto poškodbe. Odlomki C3b, iC3b, C3dg in C4b se ob aktivaciji komplementa vežejo s površino napadene bakterije. Pride do opsonizacije s sestavinami komplementa. Tako prekriti bolezenski povzročitelji se zatem učinkoviteje vežejo s fagocitnimi celicami, ki imajo t. i. komplementne receptorje (CR1 = CD35, CR3 = CD18/11b in CR4 = CD18/11c ali p150, 95). Končna posledica aktivacije komplementa je nastanek litičnega kompleksa MAC (C5b-9). Molekulski kompleks MAC povzroči smrt napadene celice podobno, kot to naredijo ubijalski limfociti T ali pa celice NK.

URAVNAVANJE DEJAVNOSTI KOMPLEMENTNEGA SISTEMA

Komplementni sistem je izjemno učinkovit. S cepitvijo molekule C3 se osnovni signal tisočkratno ojači. Že majhna aktivacija komplementnega sistema torej lahko privede do smrti množice celic, na katerih so se naredili litični kompleksi. Ker se včasih sproži aktivacija komplementnega sistema brez pomembnega vzroka, bi to lahko privedlo do nepotrebne okvare tkivnih celic. Da do nje ne bi prišlo, so se med evolucijo razvili varovalni mehanizmi, ki preprečujejo preveliko porabo sestavin komplementnega sistema. Kontrolni proteini (npr. zaviralec C1, faktor H, I, DAF, C4bp, C8bp, MIP, CD59) zavirajo delovanje posameznih sestavin komplementnega sistema in uravnavajo nastanek litičnih kompleksov.

KLINIČNI POMEN KOMPLEMENTNEGA SISTEMA

Komplementni sistem je pomembno vpleten v obrambo proti povzročiteljem nalezljivih bolezni. Najočitnejše spoznamo njegov pomen, če proučujemo bolezni, ki so povezane z okvarjeno dejavnostjo komplementa. **Če je prizadeta klasična pot**

aktivacije od C1 do C3, se to kaže z okužbami, ki jih povzročajo piogene bakterije, ponavadi streptokoki. Če so okvarjene komponente, ki so potrebne za aktivacijo komplemента po alternativni poti in nastajanje litičnega kompleksa (C3 do C9 in faktor P), so okužbe večinoma povzročene z najserijami, najpogosteje z *N. meningitidis*, lahko pa tudi z drugimi.

Če manjkajo C1, C2 in C4, se pri bolnikih pogosto pojavijo klinična znamenja avtoimunskih bolezni, predvsem sistemski eritematozni lupus (systemic lupus erythematosus - SLE) in njemu podobni sindromi. Vzrok za to je verjetno zmanjšana zmožnost uravnavanja odprave imunskih kompleksov. Bolezen, pri kateri manjka kakšen del komplementnega sistema, potrdimo z laboratorijskim dokazom odsotnosti ali neaktivnosti ustrezne sestavine. Tudi kadar manjkajo regulacijske beljakovine (zaviralec C1, faktor H, I, DAF, C4bp, C8bp, MIP, CD59), so prva klinična znamenja ponavljajoče se bakterijske okužbe.

Laboratorijsko lahko dokažemo vpletenost komplementnega sistema v nastanek bolezni s preskusom njegove aktivnosti *in vitro*. Rezultat preiskave je bodisi *in vitro* povečana (navadno v akutni fazi vnetja) ali zmanjšana aktivnost komplementnega sistema (navadno kronična faza vnetja ali gensko pogojeno pomanjkanje ali okvara ene od sestavin). V vsakodnevnih vzorcih je zmanjšana hemolitična aktivnost komplementnega sistema navadno posledica njegove poprejšnje zvečane aktivnosti in velike porabe posameznih sestavin.

CELICE, KI OMOGOČAJO PRIROJENO IMUNOST

FAGOCITI

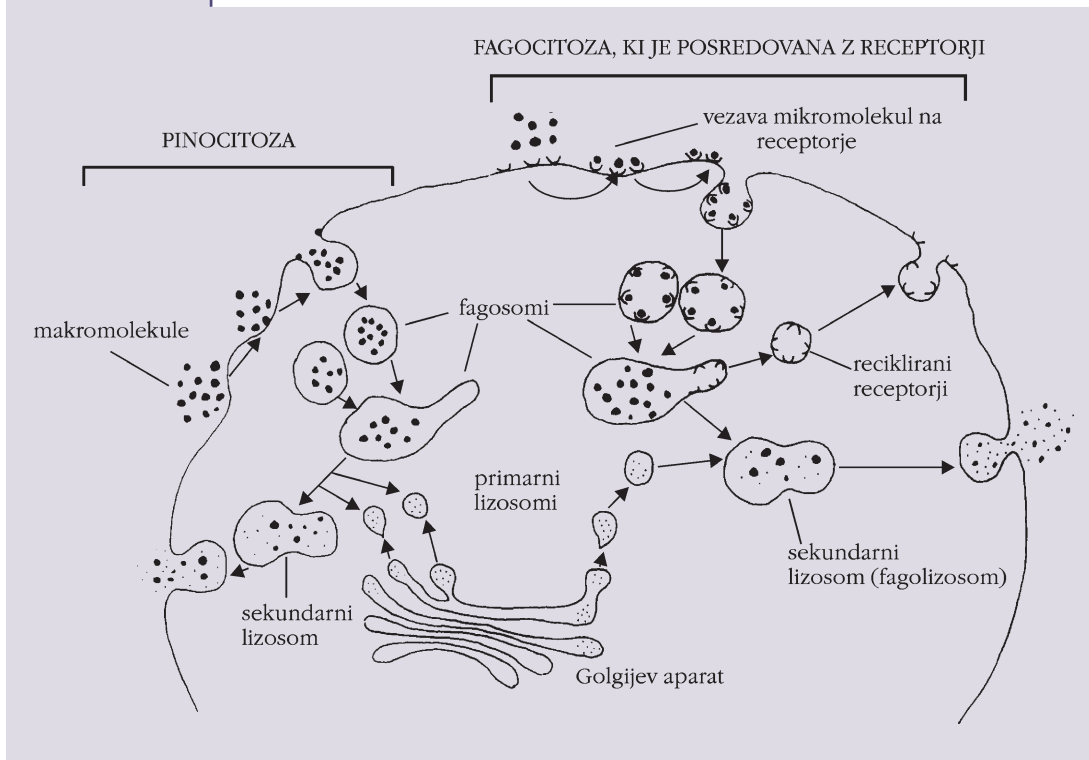
Fagociti so obrambne celice, ki tujke požrejo (fagocitirajo), znotrajcelično ubijejo in razgradijo. Fagociti morajo mikrobo (npr. bakterije) najprej prepoznati kot tujke. Razlikujejo med "svojim" in "tujim" na osnovi nekaterih fizikalnih lastnosti površin delcev, s katerimi pridejo v stik. Dokazano je, da na fagocitozo vplivajo velikost delca, električni naboj njegovih površin, hidrofilnost oz. hidrofobnost površin. Lastnosti bakterijskih površin se večinoma dovolj razlikujejo od površinskih lastnosti telesnih celic, zato se ob stiku fagocitnih celic z bakterijami sproži fagocitoza. Tudi plastične, lateksne ali steklene površine npr. spodbujajo fagocitozo, zlasti če gre za delce, ki so manjši od človeških celic (nekaj mikrometrov).

Fagociti imajo tudi receptorje, ki prepoznajo sladkorje na površinah mikrobov (npr. lipopolisaharid po Gramu negativnih bakterij, peptidoglikan po Gramu pozitivnih bakterij). Pomembni receptorji, ki sprožijo fagocitozo, so tudi Fc, s katerimi fagociti prepoznavajo imunske komplekse, jih nato požirajo in razgradijo. Tudi receptorji za posamezne aktivirane proteine komplemента (npr. receptorji CR1 in CR3) rabijo fagocitnim celicam za prepoznavanje imunskih kompleksov. Vezavi na receptor sledi signal za začetek požiranja tujka.

Proces požiranja je v osnovi enak, kot ga imajo številni enostavni enoceličarji, ki se s fagocitozo prehranjujejo. Ko fagocit pride v stik z ustreznim delcem, ga začne obdajati s citoplazemskimi podaljški. Slednjič se delec znajde v membranskem mehurčku (fagosomu) znotraj celice. V

Slika 8.10

Fagocitoza.



naslednji stopnji se v fagosom zlivajo z encimi bogati mehurčki (lizosomi). Nastane prebavni mehurček (fagolizosom). V njem se aktivirajo oksidacijski encimi, ki katalizirajo nastanek reaktivnih kisikovih spojin (superoksidni ion O_2^- , vodikov peroksid H_2O_2), in hidrolitični encimi (npr. proteaze, lipaze, encimi za razgradnjo sladkorjev). Reaktivne kisikove spojine oksidirajo mikrobn encime, jih inaktivirajo in s tem fagocitirane mikrobo usmrtiljo. Hidrolitični encimi nato mikrobo razgradijo na manjše molekule (sladkorje, aminokislino, maščobne kisline) (slika 8.10).

Med fagocitnimi celicami, pomembnimi za odstranjevanje tujkov, je treba omeniti zlasti nevtrofilce in mononuklearne fagocite.

Nevtrofilci

Nevtrofilci nastajajo v kostnem mozgu, od koder prehajajo v kri (okoli $4000/mm^3$

krvi), v kateri preživijo 1 do 2 dni in nato odmrejo. Vnetni mediatorji (aktivirani proteini komplekta, kinini, izločki limfocitov in aktiviranih makrofagov) jih mobilizirajo, da skozi kapilare vstopijo v vneto tkivo. Tam požirajo tujke. Lizosomi nevtrofilcev vsebujejo hidrolaze, mieloperoksidazo in muramidazo (lizocim).

Aktivirani nevtrofilci lahko citotoksično vsebino lizosomov izločajo tudi navzven, s čimer okvarijo tkivo. To se dogaja zlasti ob navzočnosti imunskih kompleksov, ki se vežejo na receptorje $Fc\gamma$ na površini nevtrofilcev. Tako aktivirani nevtrofilci so pomemben patogenetični dejavnik preobčutljivostne reakcije tipa III. Ker so nevtrofilci najpomembnejše obrambne celice za odstranjevanje tujkov, pomeni njihovo pomanjkanje v krvi (nevtropenija) veliko nevarnost septičnih zapletov.

Tabela 8.1

Poimenovanja makrofagnih celic v posameznih tkivih.

Tkivo	Histološko ime makrofagnih celic
kri	monociti
kostni mozeg	monociti in prekurzorji
koža	Langerhansove celice
jetra	Kupfferjeve celice
kosti	osteoklasti
centralno živčevje	mikroglia
pleuralna votlina	pleuralni makrofagi
peritonealna votlina	peritonealni makrofagi
granulomi	epiteloidne celice, celice velikanke
trdno tkivo (splošno)	histioci

Mononuklearni fagociti - monociti in makrofagi

Mononuklearni fagociti nastajajo v kostnem mozgu iz matičnih krvnih celic. Iz kostnega mozga prehajajo v kri kot razmeroma velike (od 12 do 20 μm), okrogle celice. Imenujejo se monociti in se v krvi zadržijo zelo kratek čas (1 dan), nato iz kapilar prestopijo v različna tkiva in se lokalno preoblikujejo v nepravilno oblikovane celice (tkivni makrofagi ali histioci). Tkivni makrofagi so glede na tkivno lokacijo dobili različna histološka imena (tabela 8.1).

Mononuklearni fagociti prepoznavajo in fagocitirajo tujke ter jih tako odstranjujejo iz tkiv. Ob tem izločajo vnetne mediatorje, ki sprožijo vnetno reakcijo. Poleg tujkov požirajo makrofagi tudi tkivne celice, ki so v fazi **programiranega celičnega odmiranja** (apoptoze). Apoptotske celice na površini izpostavljajo fosfatidilserin, ki je pri zdravih celicah sicer le v notranjem sloju citoplazemske membrane. Makrofagi z receptorji za fosfatidilserin prepoznajo apoptotske celice, jih požirajo in tako odstranijo. Zato pri programiranem odmiranju celic (npr. pri involuciji uterusa po

porodu) ne nastane vnetje kot pri nekrozi celic. Požiranje apoptotskih celic tudi preprečuje nastanek imunskega odziva proti proteinom v notranjosti celic (npr. antimito hondrijskih ali anti-DNK protiteles).

Mononuklearni fagociti poleg tega, da požirajo tujke, tudi predstavljajo antigene celicam T pomagalkam. Prva stopnja predstavljanja antigenov se zgodi v fagolizosomih, kjer proteaze encimsko razcepijo fagocitirane beljakovine na peptide. Peptide nato fagocitne celice predstavljajo celicam T pomagalkam. Če celica T pomagalka z antigenim receptorjem (TCR) prepozna peptid, se aktivira specifični imunski odziv proti peptidu - antigenu.

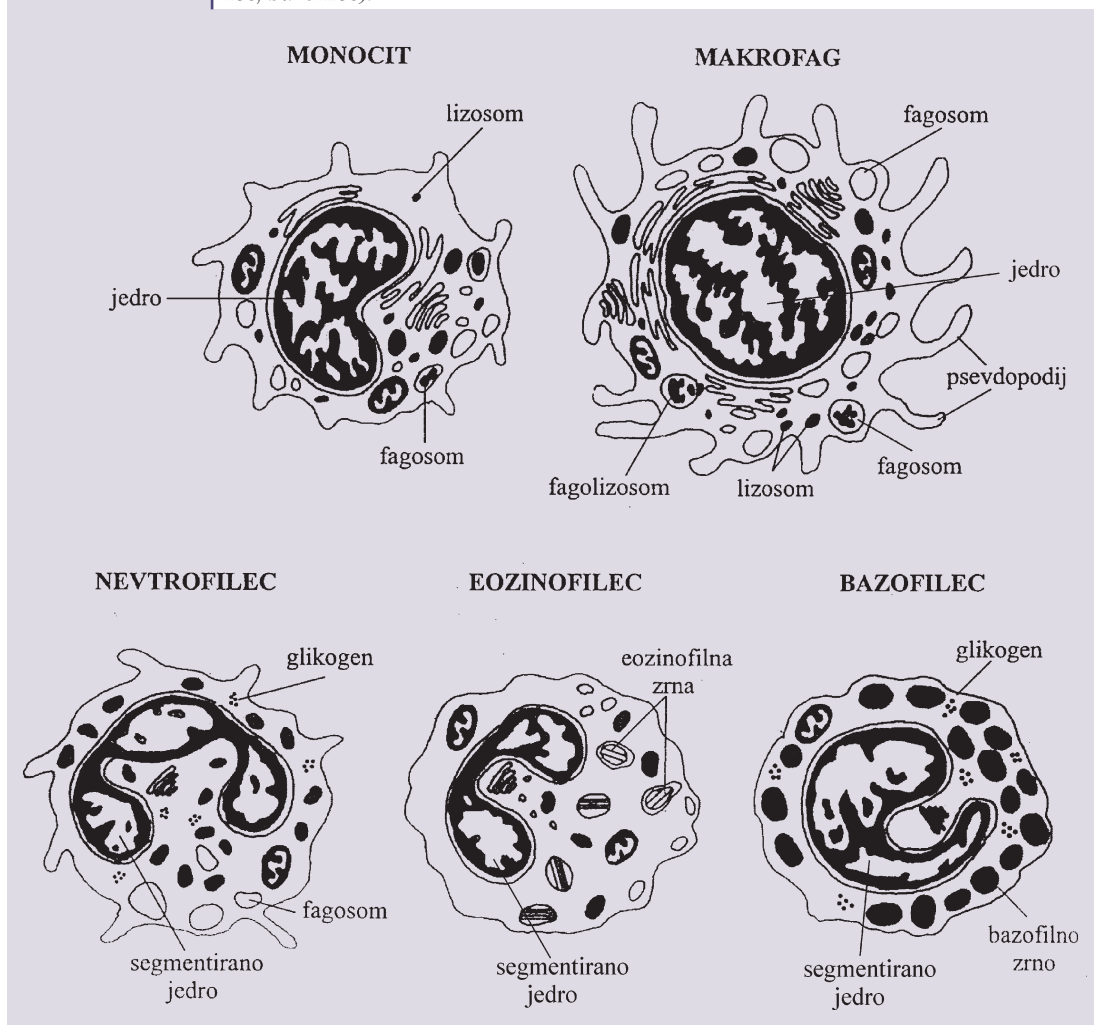
Celice, ki so zmožne predstavljati antigene, imenujemo **antigen predstavljajoče celice (APC)**. Poleg **mononuklearnih fagocitov** so APC tudi **limfociti B**. V nekaterih tkivih (bezgavkah, vranici, timusu) imajo APC zelo specializirane naloge. V foliklih bezgavk in vranice se APC imenujejo **folikularne dendritične celice**. Pomembne so, ker predstavljajo antigene limfocitom B. APC v timusu predstavljajo antigene dozorevajočim limfocitom T. To omogoči odstranitev (selekcijo) tistih nezrelih limfocitov T, ki so z antigenimi receptorji usmerjeni proti antigenom lastnega organizma (slika 8.11).

BAZOFILCI IN MASTOCITI

Bazofilci in mastociti nastajajo v kostnem mozgu. Bazofilci nato preidejo v kri, kjer ostanejo nekaj tednov, nato odmrejo. Tudi mastociti preidejo iz kostnega mozga v kri, od koder se v nekaj dneh preselijo v tkiva, kjer ostanejo kot tkivni mastociti. Mastocite najdemo po vsem telesu, posebno veliko jih je okrog žil in živcev ter pod epitelijem. Morfološko med bazofilci in mastociti ni razlik: obe vrsti celic imata v citoplazmi značilna **bazofilna zrna**. Na celični membrani mastocitov in bazofilcev so številni

Slika 8.11

Mononuklearna fagocita (monocit, makrofag) in granulociti (nevtrofilec, eozinofilec, bazofilec).



receptorji Fc za IgE z močno afiniteto. Na receptorje so običajno vezana protitelesa IgE, ki jih izločajo plazmatke v sluznicah. Vezava antigena za protitelesa IgE, ki so vezana na receptorje Fc, je poglobitni sprožilni mehanizem aktivacije mastocitov in bazofilcev. Aktivirane celice izločajo v okolico vsebino bazofilnih zrn z biološko aktivnimi molekulami (histamin, heparin, kemotaktični faktor za eozinofilce in nevtrofilce), hkrati pa začnejo sintezo številnih novih mediatorjev (interlevkinov, prostaglandinov, levkotrienov), ki sodelujejo pri vnetju. **Z aktivacijo mastocitov in bazofilcev se začne reakcija takojšnje preobčutljivosti (alergijska reakcija).**

EOZINOFILCI

Eozinofilci so bele krvne celice z velikimi eozinofilnimi zrni v citoplazmi. Njihov delež v krvi je do 3 % vseh levkocitov. Večina zrelih eozinofilcev je v kostnem mozgu in vezivnem tkivu. Eozinofilci so pomembni kot citotoksične celice. Na membranah eozinofilcev so receptorji Fc za IgG in IgE ter za nekatere sestavine kompleksa. Vezava imunskih kompleksov na receptorje Fc za IgG povzroči sproščanje vsebine eozinofilnih zrn. Eozinofilci učinkovito **uničujejo mnogocelične parazite**. Pri parazitskih okužbah se koncentracija eozinofilcev v krvi zato zelo poveča. V bližino parazitov privabljajo eozinofilce

kemotaktični faktorji, ki jih izločajo aktivirani mastociti. Eozinofilci izločajo tudi snovi, ki preprečujejo sproščanje in delovanje histamina ter drugih mediatorjev iz aktiviranih bazofilcev in mastocitov. To je verjetno negativna povratna zanka, ki zameji prevelik razmah alergijskega vnetja.

LITERATURA ZA NADALJNI ŠTUDIJ

Hausler, W. J. Jr., Sussman, M. Bacterial infections. V: Collier, L., Balows, A., Sussman, M., ur. Topley and Wilson's microbiology and microbial infections. 9. izdaja, 3. zv. London: Arnold; 1998.

Murray, P. R., Baron, E. J., Pfaller, M. A., Tenover, F. C., Tenover, R. H., ur. Manual of clinical microbiology. 7. izdaja. Washington: ASM; 1999.

Roitt, I., Brostoff, J., Male, D. Immunology. 4. izdaja. London: Mosby; 1996.

Bakterija in gostitelj

Pridobljena (specifična) imunost

Alojz Ihan

SPECIFIČNOST - LOČEVANJE MED SVOJIM IN TUJIM

IMUNSKI SPOMIN IN KLONSKA SELEKCIJA

VRSTE LIMFOCITOV

Limfociti B

Limfociti T

Celice NK

IMUNOGLOBULINI - RECEPTORJI ZA ANTIGEN LIMFOCITOV B

ZGRADBA PROTITELES

Zgradba protiteles razreda IgG

Zgradba protiteles razreda IgM

Učinki protiteles razreda IgG in IgM po vezavi antigena

Protitelesa razreda IgA

Protitelesa razreda IgE

Protitelesa razreda IgD

SINTEZA IMUNOGLOBULINSKIH MOLEKUL

ANTIGENSKI RECEPTORJI LIMFOCITOV T

MOLEKULE MHC I

MOLEKULE MHC II

AKTIVACIJA LIMFOCITOV

AKTIVACIJA LIMFOCITOV T - CELIC POMAGALK

AKTIVACIJA CITOTOKSIČNIH LIMFOCITOV T

AKTIVACIJA LIMFOCITOV B IN PROTITELESNI ODZIV

IMUNSKA TOLERANCA

KLONSKA DELECIJA

KLONSKA ANERGIJA

URAVNAVANJE IMUNKEGA ODZIVA

SPECIFIČNOST - LOČEVANJE MED SVOJIM IN TUJIM

Specifični imunski odziv temelji na zmožnosti, da imunske celice s specifičnimi re-

ceptorji razlikujejo med *svojim* in *tujim*, s čemer vzdržujejo individualnost in integriteto organizma. *Svoje* (lastno, self) opredelimo kot molekule, ki so integralni del organizma in so kodirane v njegovem genomu. *Tuje* (non-self) opredelimo kot vse preostale molekule. Imunske celice - limfociti - imajo na svojih površinah recep-

torje, ki specifično prepoznavajo tuje molekule – antigene. Prepoznavi sledi imunski odziv, katerega cilj je odstraniti antigene iz telesa. Zaradi raznolikosti molekul v okolju mora biti imunski sistem sposoben specifično prepoznavati milijone različnih antigenov in se nanje ustrezno odzivati.

IMUNSKI SPOMIN IN KLONSKA SELEKCIJA

Po prvem stiku z antigenom nastane specifičen imunski odziv v nekaj dneh do nekaj tednih. Imenuje se **primarni imunski odziv**. Ponoven stik z enakim antigenom vzbudi specifičen imunski odziv, ki je hitrejši in močnejši od primarnega. To je **sekundarni imunski odziv** (anamnestični imunski odziv). Primarni in sekundarni imunski odziv sta edinstveni lastnosti imunskega sistema.

Limfociti so celice, ki omogočajo **specifičen** imunski odziv. Limfociti imajo na površini receptorje za antigene, tj. antigenske receptorje. Imunoglobulini (Ig) so antigenski receptorji limfocitov B, T-celični receptorji (TCR) pa antigenski receptorji limfocitov T. Vsak limfocit ima antigenske receptorje, ki so med seboj enaki in specifični samo za eno vrsto antigena. Raznolikost molekul v okolju narekuje obstoj številnih limfocitov, ki se razlikujejo po specifičnosti antigenskih receptorjev. **Zato je v organizmu več milijonov limfocitov, ki se razlikujejo glede na antigensko specifičnost.** Antigen, ki pride v telo, se veže samo na limfocite, ki imajo antigenske receptorje ustrezne specifičnosti. Po vezavi antigena se limfocit začne hitro razmnoževati (proliferirati) in diferencirati.

Iz limfocita, ki po vezavi antigena proliferira, v nekaj dneh nastanejo številni

limfociti, ki imajo enake antigenske receptorje. Tako nastane specifični limfocitni klon. **Posledica klonske ekspanzije specifičnih limfocitov je imunski spomin.** Ob prvem stiku z antigenom je v telesu premalo specifičnih limfocitov, da bi se takoj pokazali učinki imunskega odziva. Zato pravimo, da se **primarni imunski odziv začne zakasnitvijo**, ki je potrebna za ekspanzijo specifičnega klona. **Sekundarni imunski odziv je hitrejši in močnejši**, ker se proti antigenu odzovejo specifični kloni limfocitov, ki so že nastali med primarnim imunskim odzivom. Ker kloni vsebujejo veliko celic (nekaj tisoč), je ekspanzija klona hitrejša in učinki imunskega odziva se pokažejo prej.

Limfociti, ki še nikoli niso prišli v stik s specifičnim antigenom, so naivni (virgin) limfociti. Del limfocitov, ki so nastali med klonsko ekspanzijo, so lahko kratkoživeči (nekaj dni ali tednov), imenovani **efektorski ali aktivirani limfociti**, ki so v stanju odzivanja na antigen; drugi del pa so dolgoživeči (leta, desetletja) ali **spominski limfociti**, ki se aktivirajo pri poznejših stikih s specifičnim antigenom.

V telo prispeli antigen izbere (selekcioniira) med številnimi naivnimi in spominskimi limfociti tiste, ki imajo ustrezne antigenske receptorje. Zato se razmnožijo samo limfociti, ki specifično prepoznajo antigen. Celoten proces, v katerem antigen povzroči ekspanzijo specifičnega klona limfocitov, imenujemo **klonska selekcija** in je temeljno dogajanje vsakega specifičnega imunskega odziva.

VRSTE LIMFOCITOV

Limfociti so filogenezo mlajše imunske celice, ki imajo za prepoznavanje tujih molekul posebne receptorje, tj. antigenske receptorje. Z izrazom antigen označimo vsako molekulo, ki jo imunski sistem

specifično prepozna kot tujek. **Vsak limfocit ima samo eno vrsto receptorjev za antigen, ki prepoznavajo samo eno vrsto antigenskih molekul.**

Limfociti so si morfološko med seboj podobni, lahko pa jih razlikujemo z monoklonskimi protitelesi CD (angl. cluster of differentiation), ki so običajno mišjega izvora. Posamezna vrsta monoklonskih protiteles CD je specifična za eno vrsto molekul na površinah človeških levkocitov. Protitelesa CD3 so npr. specifična za TCR. Zato TCR pogosto imenujemo tudi antigen CD3 ali molekulo CD3. TCR se nahaja samo na limfocitih T. Kadar delamo imunofluorescenčni test s fluorescenčno označenimi protitelesi CD3, so vse celice, ki fluorescirajo, limfociti T. Z drugačnimi monoklonskimi protitelesi določamo značilne molekule drugih vrst limfocitov. Celice T pomagalka imajo na površini molekule CD4, citotoksični limfociti T pa molekule CD8. Za limfocite B so značilne molekule CD19, za celice NK pa molekule CD56 in CD16 (slika 9.1).

Limfociti B

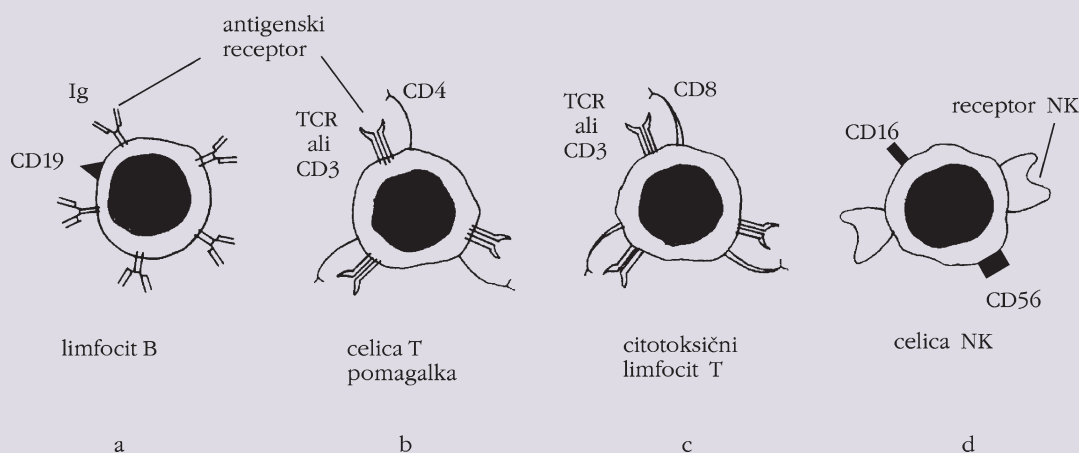
Limfociti B nastanejo in funkcionalno dozori v kostnem mozgu. Njihovi antigeni receptorji so imunoglobulinske (protitelesne) molekule, vsajene v citoplazemsko membrano (membranski imunoglobulini). Ko naivni limfocit B prvič prepozna antigen, sledi aktivacija celice, ki povzroči njeno razmnoževanje (**klonska ekspanzija**). Razmnožene celice ostanejo deloma kot **dolgoživeči (leta, desetletja) spominški limfociti B**, deloma pa se diferencirajo v **plazmatke**, tj. **kratkoživeče (nekaj dni) celice** z ekscentričnim jedrom in obilnimi sekretornimi strukturami (granularni endoplazmatski retikulum, Golgijev aparat) v citoplazmi. Plazmatke izločajo v okolico velike količine protiteles (približno 2000 molekul na sekundo). Plazmatka izloča protitelesa enake specifičnosti, kot jo imajo antigeni receptorji tistega limfocita B, iz katerega je tudi sama nastala (slika 9.2).

Limfociti T

Limfociti T nastanejo iz prekurzorskih limfopoetičnih celic v kostnem mozgu. Od

Slika 9.1

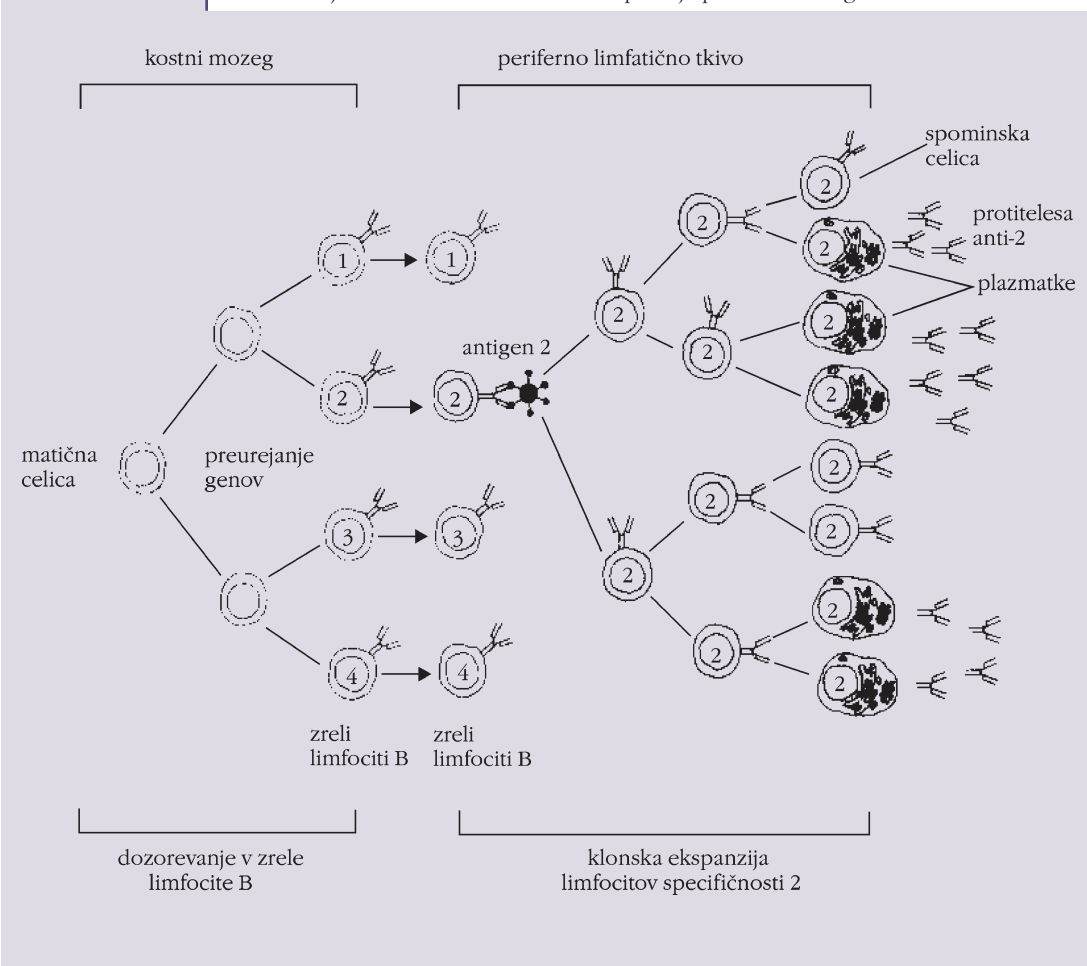
Osnovne vrste limfocitov.



Osnovne vrste limfocitov: a – limfocit B, katerega antigeni receptor je imunoglobulinska molekula (Ig); b – celica T pomagalka (Th), katere antigeni receptor je T-celični receptor (TCR), izraža pa še antigen CD4; c – citotoksični limfocit T (Tc), katerega antigeni receptor je T-celični receptor (TCR), izraža pa še antigen CD8; d – celica naravna ubijalka (NK), ki ima molekuli CD56 in CD16.

Slika 9.2

Dozorevanje limfocitov B in klonaska ekspanzija po stiku z antigenom.



tam prehajajo v kri kot nezreli predhodniki limfocitov T in potujejo v priželjc (timus), kjer funkcijsko dozori bodisi v **celice T pomagalkе (CD4)** ali v **citotoksične limfocite T (CD8)**. Antigenski receptor limfocitov T je T-celični receptor (TCR). Celice T pomagalkе po aktivaciji z antigenom izločajo citokine in tako uravnavajo imunski odziv. Citotoksični limfociti T po aktivaciji z antigenom izločajo citotoksične snovi. Na ta način ubijajo predvsem celice lastnega organizma, ki so okužene z znotrajceličnimi mikrobi (virusi, znotrajceličnimi bakterijami in paraziti).

Celice NK

Celice NK so morfološko podobne limfocitom, vendar nimajo antigenskih recep-

torjev. Tujke verjetno prepoznajo z receptorji za molekule **MHC I** (major histocompatibility complex ali poglavitni kompleks tkivne skladnosti). Molekule MHC I izražajo vse zdrave telesne celice, ki imajo jedro. Odsotnost molekul MHC I na celičnih površinah je za celice NK znak, da gre za tujo ali za okvarjeno celico lastnega telesa. Torvrstni prepoznavi sledi ubijanje tujka z izločanjem vsebine citotoksičnih zrn. Molekule MHC I pogosto prenehajo izražati celice, okužene z virusi, in tumorske celice. Zato so celice NK pomembne za zamejevanje virusnih okužb – zlasti na njihovem začetku, ko specifični citotoksični limfociti T še niso pripravljeni. Celice NK mor da zavirajo tudi nastajanje tumorjev na njihovih začetnih stopnjah – vendar zanesljivih dokazov o tej trditvi še ni.

IMUNOGLOBULINI – RECEPTORJI ZA ANTIGEN LIMFOCITOV B

Antigenski receptorji limfocitov B so imunoglobulinske molekule, ki jih limfociti B izražajo na svoji površini. Imenujemo jih membranski imunoglobulini (mIg). Antigeni, ki jih prepoznavajo mIg, so v nasprotju z antigeni, ki jih prepoznavajo limfociti T, navadno raztopljeni v medcelični. Protiteleso se z veziščem za antigen z nekovalentnimi vezmi neposredno poveže z delom antigenske molekule, ki ga imenujemo antigenska determinanta ali epitop. Posamezna antigenska molekula, ki pride v telo, ima lahko več različnih epitopov, ki izzovejo nastanek različnih vrst specifičnih protiteles.

Po vezavi antigena za mIg se limfocit B aktivira in razmnožuje. Del nastalih limfocitov B se diferencira v plazmatke. Imunoglobulini, ki jih izdelujejo plazmatke, se ne vklopijo v njihove celične membrane (plazmatke na površini nimajo mIg), ampak se izločajo iz plazmatk v okolico. To so protitelesa. Protitelesa so glikoproteinske molekule, ki se vežejo na antigene. Tako antigene onesposobijo ali pa sprožijo različne mehanizme (npr. aktivacija kompleksa, opsonizacija), ki jih odstranijo iz organizma.

ZGRADBA PROTITELES

Zgradba protiteles razreda IgG

IgG so najpogostnejša protitelesa v normalnem človeškem serumu, kjer jih je okoli 70 % izmed vseh. Lahko prehajajo skozi placento, zato materina protitelesa IgG ščitijo tudi plod pred okužbami. Osnovno enoto imunoglobulinske molekule razreda G (IgG) sestavljata 2, z disulfidnimi vez-

mi povezani proteinski verigi: večja (težka veriga, MM približno 150.000) in manjša (lahka veriga, MM približno 50.000). Notranje disulfidne vezi oblikujejo lahko verigo v 2 (C_L, V_L), težko pa v 4 (C_H1, C_H2, C_H3, V_H) zanke. Zanki V_L in V_H , ki sta na koncu -NH₂ lahke oz. težke verige, oblikujeta vezišče za antigen. Specifična vezišča za antigen se med seboj razlikujejo. Aminokislinska zaporedja preostalih zank so pri vseh IgG enaka, zato jih imenujemo konstantne regije (constant - C, variable - V).

Protitelesa razreda IgG imajo dve povsem enaki vezišči za antigen. Proteolitični encim papain razcepi molekulo IgG na 3 dele: dva enaka fragmenta imata vezavno mesto za antigen (fragment antigen binding - Fab) in vsebujeta zanke V_L, V_H, C_L in C_H1 ; tretji fragment (fragment cristalizable - Fc -, ker v hladni raztopini kristalizira) pa sestavljata po dve zanki (C_H2, C_H3) od obeh težkih verig, ki sta povezani z disulfidnimi vezmi (slika 9.3).

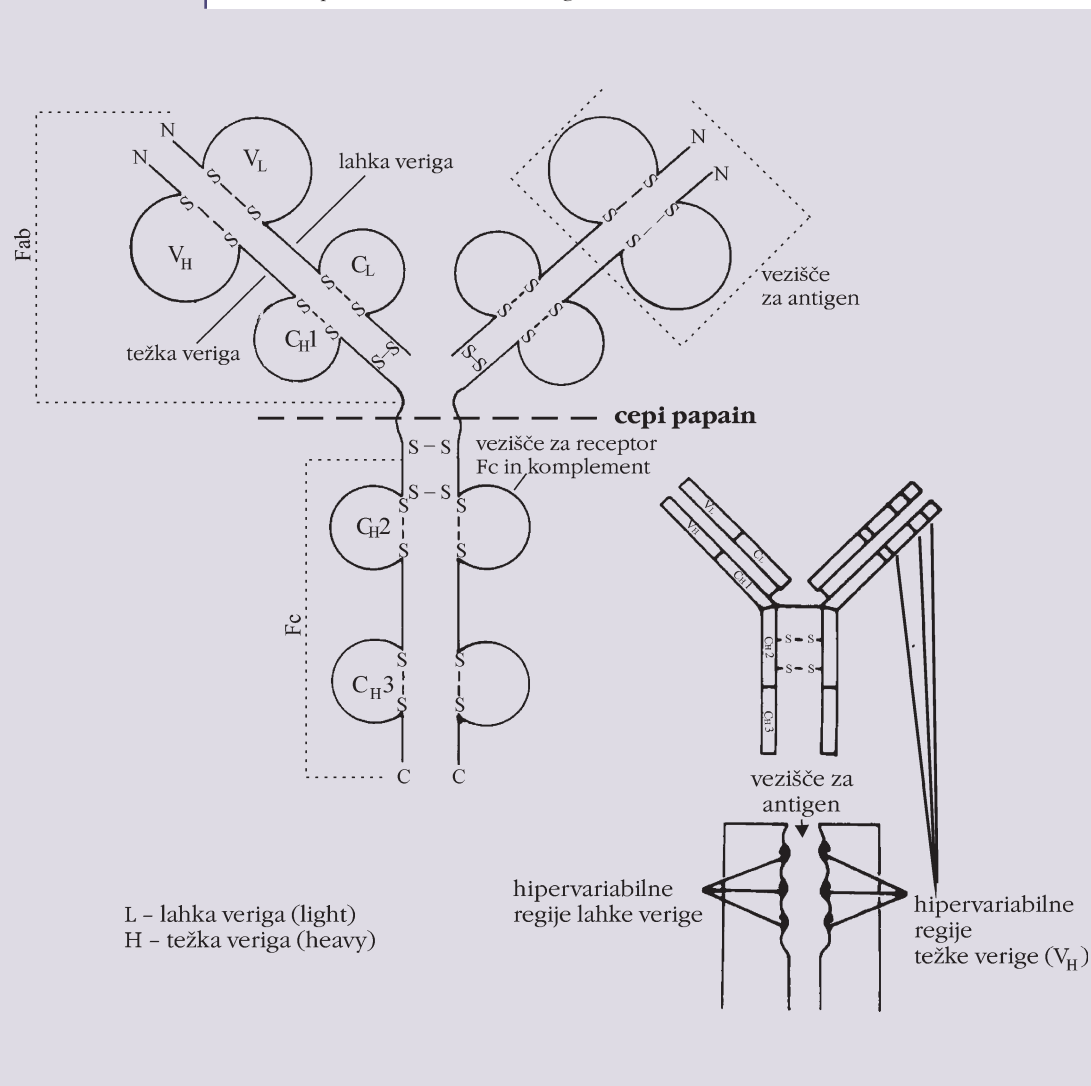
Konstantne regije težkih verig določajo fiziološke učinke, ki jih imunoglobulini po vezavi na antigen povzročijo v organizmu. Ločimo 5 razredov težkih verig (M, G, A, D, E) in glede na to tudi 5 razredov imunoglobulinskih molekul (IgM, IgG, IgA, IgD in IgE), ki se med seboj razlikujejo po molekulski zgradbi in fizioloških učinkih, ki sledijo vezavi antigena s protitelesom (tabela 9.1).

Zgradba protiteles razreda IgM

Protitelesa razreda IgM (makroglobulini - M) imajo veliko molekulsko maso, približno 900.000. Sestavljena so iz 5 enakih enot, med seboj povezanih z disulfidnimi vezmi. Posamezna enota je zgrajena podobno kot molekula IgG. Protitelesa razreda IgM imajo po 10 enakih vezišč za antigen, pri primarnem imunskem odzivu pa nastanejo prej kot IgG. Zaradi multivalentnosti so zlasti učinkovita za pritrjevanje na površino ce-

Slika 9.3

Struktura protitelesne molekule (IgG).



lic, ki imajo veliko število podobnih antigenih mest (taki so npr. antigeni O na po Gramu negativnih bakterijah). Protitelesa IgM se začnejo tvoriti že pri plodu. Ker ne prehajajo skozi placento, je njihovo ugotavljanje uporabno za diagnostiko prenatalnih okužb in okužb v prvih 6 mesecih življenja (slika 9.4).

Učinki protiteles razreda IgG in IgM po vezavi antigena

Protitelesa razredov IgG in IgM se razporedijo v zunajceličnih tekočinah. S svojimi specifičnimi vezišči se povežejo s tujki (an-

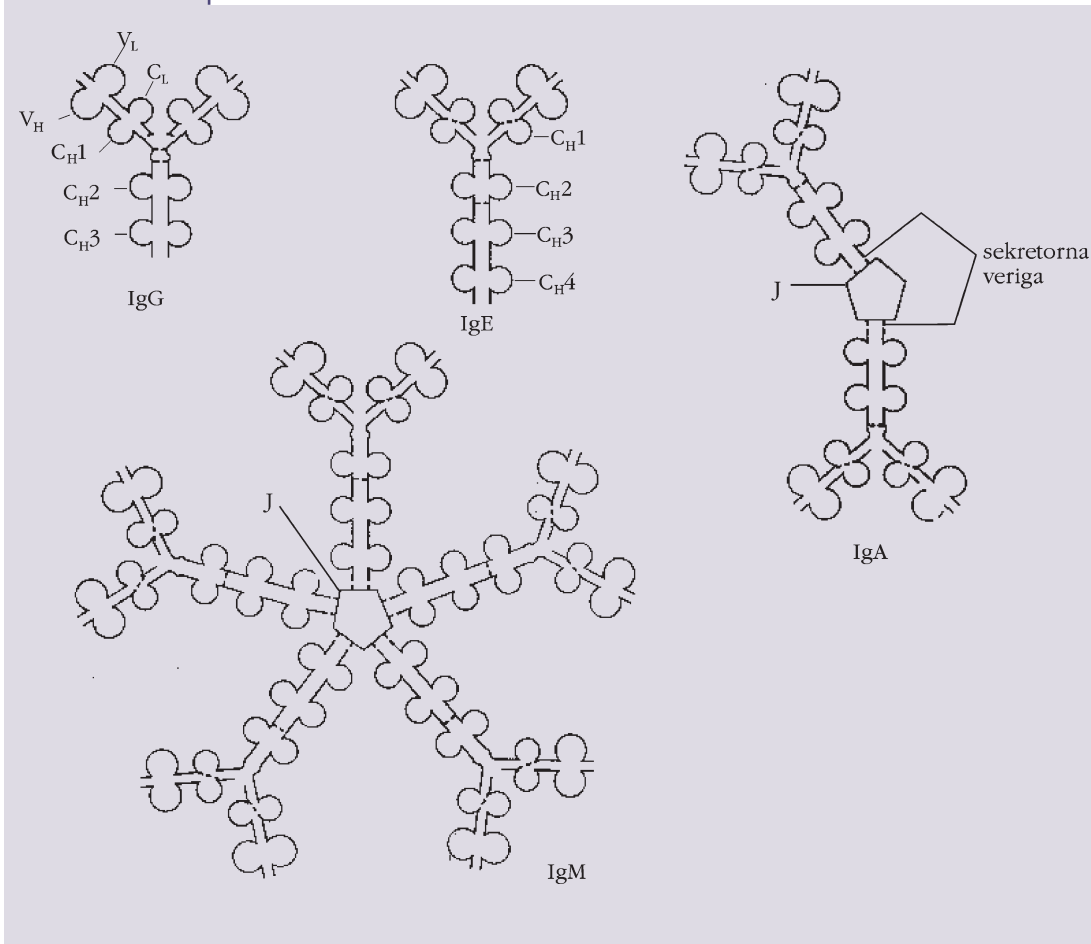
Tabela 9.1

Imunoglobulinski razredi in njihovi učinki.

Razred	Štev. antigen-skih vezišč	Učinki vezave Ag-Ab
IgG	2	aktivacija komplemента, opsonizacija, vnetje
IgM	10	aktivacija komplemента, opsonizacija, vnetje
IgA	4	imobilizacija Ag na sluznicah
IgD	2	ni znano
IgE	2	na mastocitih: degranulacija

Slika 9.4

Razredi (IgG, IgE, IgA, IgM) protitelesnih molekul.



tigeni). Nastanek kompleksa antigen-protitelo (imunski kompleks) ima različne fiziološke učinke, ki prispevajo k odstranitvi tujka iz telesa in izničenju njegovega patološkega učinkovanja na organizem. Fiziološki učinki vezave protiteles na antigene so:

a) **Nevtralizacija** - včasih protitelo že samo z vezavo na antigen izniči njegove patološke učinke. Vezava na molekule toksinov (npr. difterijski toksin) lahko prepreči njihovo toksično delovanje. Vezava IgA na črevesne bakterije prepreči njihovo prodiranje skozi sluznico v kri. Vezava IgG na virusne delce prepreči njihovo širjenje na neokužene celice.

b) **Opsonizacija** - protitelo ob vezavi na tujek spremeni konformacijo tako, da se na njegov del Fc vežejo fagocitne celice s svojimi receptorji Fc (zlasti nevtrofilci). Fagocitne celice po tej vezavi fagocitirajo celoten imunski kompleks in tako odstranijo tujek.

c) **Aktivacija komplemента** - protitelo ob vezavi na antigen spremeni konformacijo tako, da z delom Fc sproži kaskadno aktivacijo proteinov komplementnega sistema (klasična pot). Posledica je nastanek litičnega kompleksa (membrane attack complex - MAC), ki poškoduje bakterijsko steno. Aktivirani proteini komplemента in njihovi odlomki tudi ojačijo vnetno reakcijo in pospešijo prihod celic vnetnic v vnetišče (kemotaksa).

Protitelesa razreda IgA

V tem razredu sta dva podrazreda, IgA1 in IgA2. Prvi, IgA1, se nahaja pretežno v serumu in je zgrajen iz dveh lahkih in dveh težkih verig, podobno kot drugi imunoglobulini. Posebnost drugega, IgA2, je, da ima vezi med lahkimi in težkimi verigami nekovalentne (namesto disulfidnih); prevladuje v izločkih, verjetno zato, ker je odporen proti proteazam mikrobov, ki naseljujejo dihalno in prebavno sluznico.

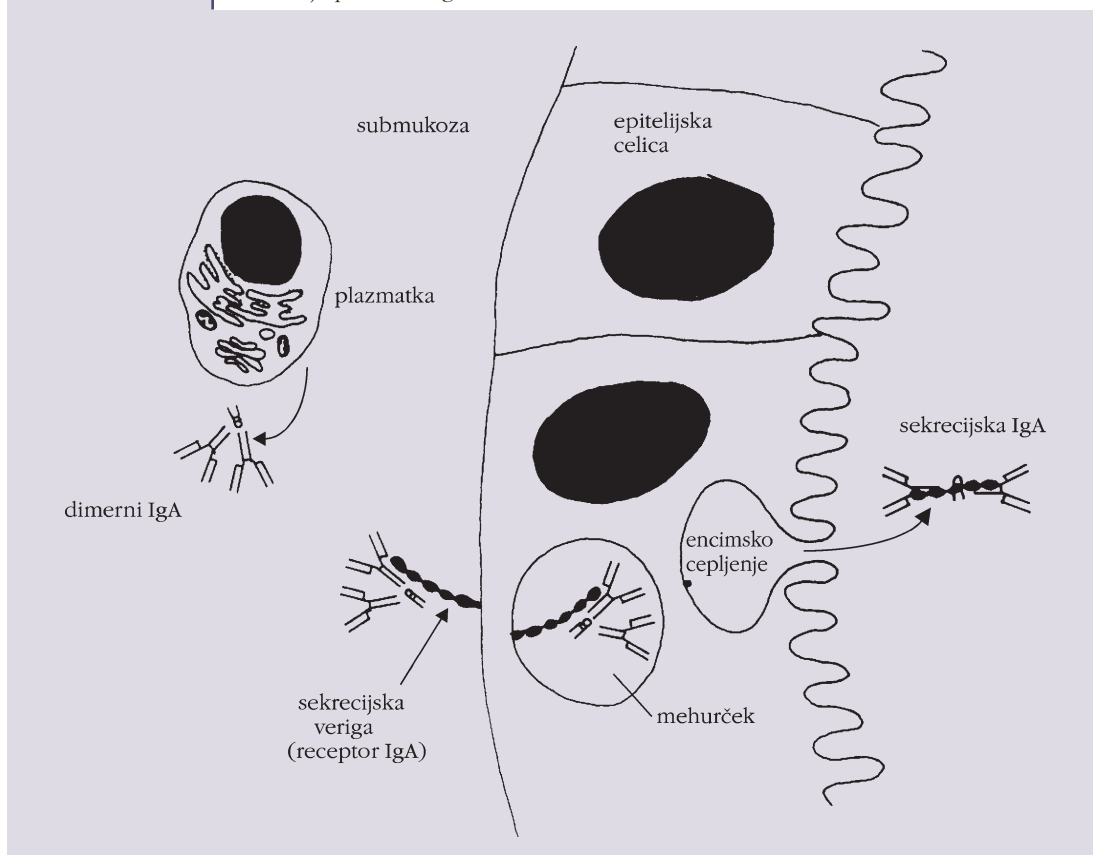
IgA se v izločkih nahaja v posebni, dimeri obliki (tj. sekretorni IgA, sIgA). Pri tem dve molekuli IgA med seboj povezujeta dve dodatni polipeptidni verigi. Ena od teh je veriga J (join), ki nastaja v plazmatkah in poveže dve molekuli IgA v dimer. Druga je sekrecijska veriga (SV), ki nastaja v epitelijskih celicah. Sekrecijske verige delujejo kot receptorji za dimerni IgA. Dimer

IgA se pritrdi na sekrecijsko verigo, nato se IgA skupaj z njo prenese skozi epitelijske celice v izloček. V izločkih ščiti sekrecijska veriga dimer IgA pred cepljenjem s proteolitičnimi encimi.

Poglavitna funkcijska razlika med IgA in preostalimi protitelesi, ki prevladujejo v krvi (IgG, IgM), je, da IgG in IgM aktivirata vnetne dejavnike (proteine komplemента, fagocitne celice), **IgA pa veže tuje molekule na površini sluznic in oteži njihov vdor v sluznice.** IgA v krvi veže tuje molekule in omogoča njihov prenos skozi jetrne celice v žolč. S tem je poskrbljeno, da se imunski sistem ne odzove z vnetno reakcijo na antigene, ki pridejo v telo s hrano in z vdihanim zrakom. V nasprotnem primeru bi prišlo do vnetja sluznic in okvare njihovega delovanja (slika 9.5).

Slika 9.5

Delovanje protiteles IgA.



Protitelesa razreda IgE

Imunoglobulini IgE so sestavljeni iz dveh lahkih in dveh težkih verig ϵ ter imajo dve vezišči za antigen. IgE ne aktivirajo kompleksa. Serum vsebuje izredno malo IgE. Izločajo ga predvsem plazmatke v sluznicah črevesa in dihal. Bistvena za aktivnost IgE pri alergijah in parazitskih boleznih je njegova zmožnost, da se veže na receptor Fc za IgE na mastocitih in bazofilcih. Ko se na celično površino vezane molekule IgE vežejo še ustrezni antigeni, se celice aktivirajo in sproščajo vnetne mediatorje.

Protitelesa razreda IgD

Protiteles IgD je zelo malo v plazmi, veliko pa jih je na limfocitih B, na katerih se pojavijo v obdobju zorenja in so verjetno sestavni del receptorja za antigen (mIgD). Verjetno so predvsem pomembni kot molekule, ki omogočajo diferenciacijo limfocitov B po aktivaciji z antigeni.

SINTEZA IMUNOGLOBULINSKIH MOLEKUL

Specifičnost protiteles določajo variabilne regije imunoglobulinov. Gen, ki kodira variabilne regije imunoglobulinov, je sestavljen iz več genskih segmentov. Variabilne regije težkih verig kodirajo trije genski segmenti: V_H , D (diversity) in J_H (join). Variabilne regije lahkih verig kodirata dva genska segmenta: V_L in J_L . Oba gena za variabilni regiji (gen V_H -D- J_H za težko in gen V_L - J_L za lahko verigo) se oblikujeta šele med dozorevanjem posameznega limfocita B. Območje genoma, ki kodira imunoglobulinske gene, je enako pri vseh nezrelimi limfocitih B in tudi pri vseh drugih telesnih celicah – imenujemo ga zarodna DNK (germ-line DNA). Zarodna DNK vsebuje številne različice genskih segmentov V_H (približno 200), D (10), J_H (4), V_L (približno 200) in J_L (4). Med dozorevanjem posamezni limfocit B iz obsežne zarodne DNK z rekombi-

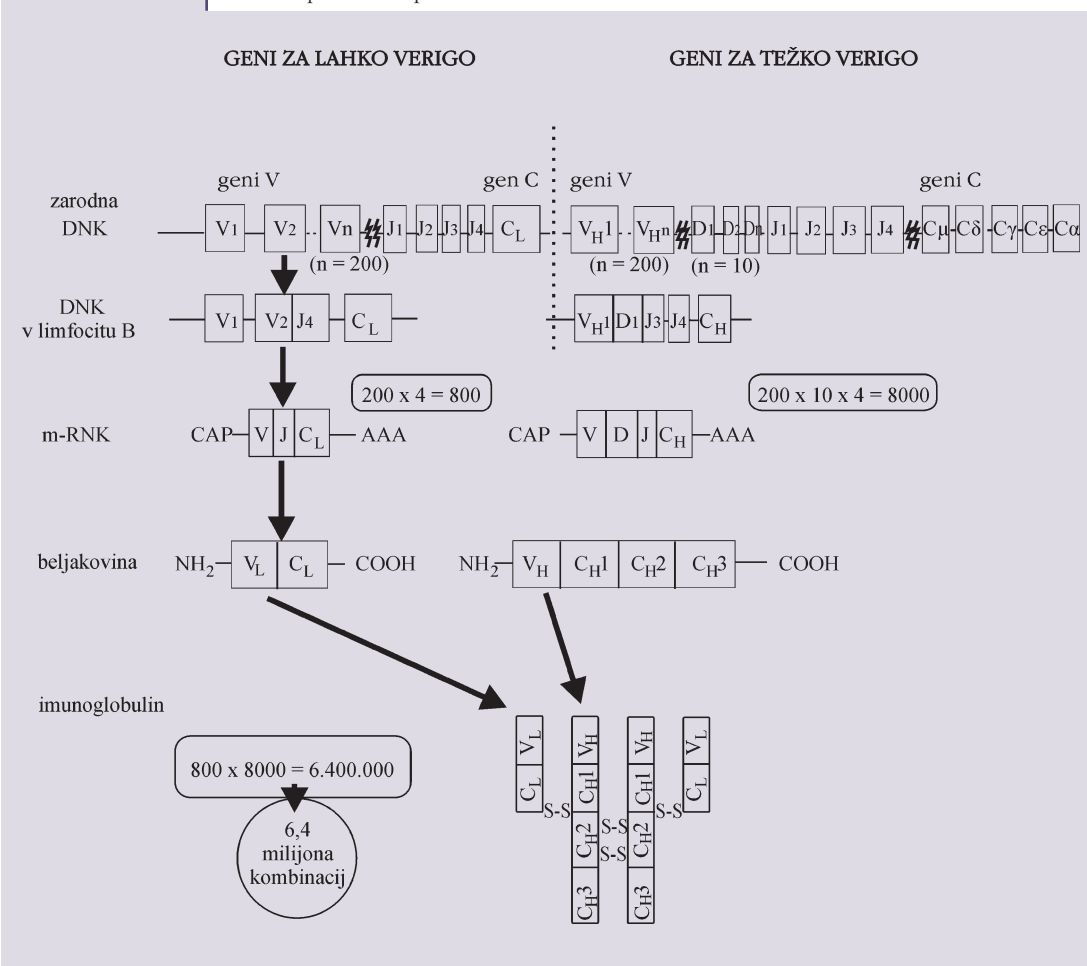
naznimi encimi naključno izrezuje in odstranjuje segmente DNK, dokler ne ostane po en sam primer segmentov V_H , D, J_H , V_L in J_L . Tako nastaneta gen V_H -D- J_H za variabilni del težke in gen V_L - J_L za variabilni del lahke verige. S tem ima zrel limfocit B glede na druge telesne celice spremenjen in količinsko zmanjšan (preurejen) genom. Preureditev (rearrangement) genoma v območju imunoglobulinskih genov je ključni proces dozorevanja limfocitov B. Ker gre za naključen proces sestavljanja genskih segmentov, nastajajo različna vezišča za antigen – teoretično se lahko iz zarodne DNK oblikuje okoli 6 milijonov različnih antigen-skih vezišč. Pri zrelem limfocitu B ostane antigensko vezišče nato ves čas enako, spreminja pa se razred težke verige.

Geni za konstantne regije težkih verig so $C\mu$, $C\delta$, $C\gamma$, $C\epsilon$ in $C\alpha$, ki so v tem vrstnem redu nanizani distalno od izoblikovanega gena V_H -D- J_H . Pri primarnem imunskem odzivu je genu V_H -D- J_H pridružen prvi gen za težko verigo, tj. gen $C\mu$. Posledica je sinteza IgM. Pozneje se gena $C\mu$ in $C\delta$ encimsko izrežeta, zato se genu V_H -D- J_H pridruži gen $C\gamma$, česar posledica je sinteza IgG. Spreminjanje imunoglobulinskih razredov imenujemo imunoglobulinsko preklapljanje. Ker se pri preklapljanju izrežejo geni težkih verig, ki ležijo bližje (proksimalno) variabilni regiji, je ta proces enosmeren in nepovraten – po preklopu od IgM v IgG povraten preklap ni več mogoč. **Zato pri primarnem odzivu na antigen najprej izmerimo povečano koncentracijo IgM, pozneje pa se sinteza preklopi na IgG (v plazmi) ali IgA (v sluznicah).**

Slika 9.6 prikazuje mehanizem, ki omogoči nastanek številnih različnih protiteles. Specifično vezišče protitelesne molekule se oblikuje med preurejanjem variabilnih genskih segmentov, ki poteka med dozorevanjem limfocita B v kostnem mozgu. Preklapljanje med posameznimi razredi protiteles se dogaja v zrelih limfocitih B.

Slika 9.6

Tvorba specifičnih protiteles.



Pri tem so ključni rekombinazni encimi, ki izoblikovanemu odseku DNK z variabilno regijo Ig (VDJ) primaknejo genski zapis za eno od težkih verig Ig. Genske zapise, ki so med obema genoma, encimi izrežejo.

obeh polipeptidnih verig je primerljiva zgradbi lahke in težke verige imunoglobulinske molekule. Na vsaki od verig ločimo konstantne in variabilne regije. Vezišče za antigen tvorita variabilni regiji obeh verig.

ANTIGENSKI RECEPTORJI LIMFOCITOV T

Antigeni receptorji limfocitov T (TCR) so dimerne glikoproteinske molekule, sestavljene iz dveh polipeptidnih verig. Polipeptidni verigi (običajno $\alpha\beta$, pri nekaterih limfocitih T pa $\gamma\delta$) omogočata limfocitom T prepoznavo antigenov. Zgradba

T-celičnemu receptorju je pridruženih 5 polipeptidov, ki jih skupinsko označujemo kot kompleks CD3. Proteini CD3 omogočajo prevajanje receptorskega signala po vezavi antigena na TCR. Takšna vezava antigena na TCR sproži fosforilacije različnih specifičnih celičnih proteinov, ki vplivajo na gensko ekspresijo limfocita T. To vodi v aktivacijo limfocita T, ki se lahko kaže kot celična proliferacija, tvorba citokinov (zlasti pri celicah T pomagalkah) in citotoksična aktivnost (pri citotoksičnih limfocitih T).

Vezišče za antigen se oblikuje med zo-
renjem limfocita T podobno kot vezišče za
antigen limfocitov B. Gen, ki kodira varia-
bilne regije TCR, je sestavljen iz več gen-
skih segmentov. Variabilne regije verig α
kodirajo 3 genski segmenti: $V\alpha$, D (diver-
sity) in $J\alpha$ (join). Variabilne regije verig β
kodirata 2 genska segmenta: $V\beta$ in $J\beta$. Oba
gena ($V\alpha$ -D- $J\alpha$ in $V\beta$ - $J\beta$) se oblikujeta šele
med dozorevanjem posameznega lim-
focita T. Območje genoma, ki kodira gene
TCR, je enako pri vseh nezrelih limfocitih
T in tudi vseh drugih telesnih celicah. Med
dozorevanjem posamezni limfocit T iz
obsežne zarodne DNK za TCR oblikuje po
en gen $V\alpha$ -D- $J\alpha$ in gen $V\beta$ - $J\beta$ za variabilne
dele TCR. S tem ima zrel limfocit T glede
na druge telesne celice spremenjen in ko-
ličinsko zmanjšan (preurejen) genom.
Preureditev genoma v območju genov za
TCR je ključni proces dozorevanja limfo-
citov T. Teoretična raznolikost antigen-
skih vezišč je pri TCR še mnogo večja kot
pri imunoglobulinih – verjetno je možnih oko-
li 10^{15} različnih antigen-skih vezišč, kar da-
leč presega število limfocitov T, ki dozo-
rijo v timusu v vsem življenju.

Antigeni za TCR so peptidi, ki so povezani z
molekulami MHC na celičnih površinah. Če
antigen-ski peptid ni povezan z molekulo

MHC, ga TCR ne more prepoznati kot anti-
gen. Pojav, da je ustrezna molekula MHC
nujno potrebna za prepoznavo antigena,
imenujemo omejitev (restrikcija) MHC.

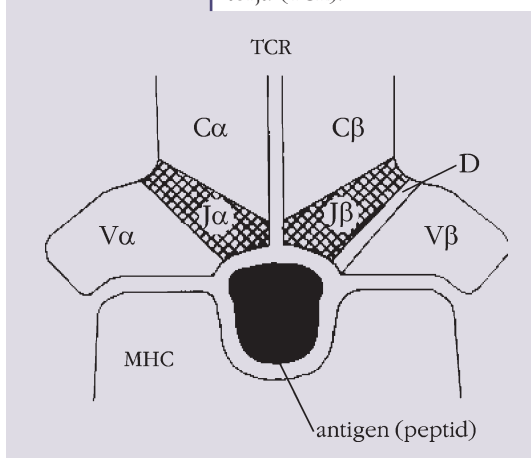
Sliki 9.7 in 9.12 prikazujeta TCR, ki je sku-
pek 8 transmembranskih beljakovin. Belja-
kovini α in β sta povezani z disulfidnimi
vezmi (S-S) in skupaj tvorita vezišče za anti-
genski peptid, ki je del kompleksa
MHC. Vezišče beljakovin α in β se oblikuje
s preurejanjem variabilnih genskih segmen-
tov za TCR (segmenti V, D in J). Dimer α - β
specifično prepozna antigen. Sledi konfor-
macijska sprememba dimera α - β in aktiva-
cija beljakovinskega kompleksa CD3, ki je
nekovalentno povezan z dimerom α - β . Nato
kompleks CD3 sproži znotrajcelične signa-
le (npr. aktivacijo tirozinske kinaze, protei-
nske kinaze C, kalcinevrina), ki aktivirajo gen
za interleukin 2 in njegov receptor.

MOLEKULE MHC I

Molekule MHC I (pri človeku so to humani
levkocitni antigeni – HLA A, B in C) **imajo
na površini vse zdrave telesne celice, ki
imajo jedro**. Vsaka celica majhen del pro-
teinov v citoplazmi encimsko razseka na
(naključne) peptidne fragmente (8 ali 9 ami-
nokislin), ki preidejo v cisterne endopla-
zemskega retikuluma. Tam se peptidi po-
vežejo z novonastajajočimi molekulami
MHC I v proteinske komplekse, ki se vgra-
dijo v citoplazemsko membrano. Molekule
MHC I so torej prenašalni proteini, ki **iz ci-
toplazemskih proteinov nastale peptide
prenašajo na celično površino**. Na tako
predstavljene peptide naletijo citotoksični
limfociti T. Pri normalni, neokuženi celici
molekule MHC I predstavljajo zgolj svoje
peptide, nastale z razsekanjem svojih mole-
kul (npr. kolagena, encimov). V organiz-
mu normalno ni citotoksičnih limfocitov T,
ki bi prepoznavali lastne peptide v komple-
sih MHC I. Kadar je proteinska sinteza celi-
ce virusno spremenjena (celica sintetizira
telesu tuje, virusne proteine), del molekul

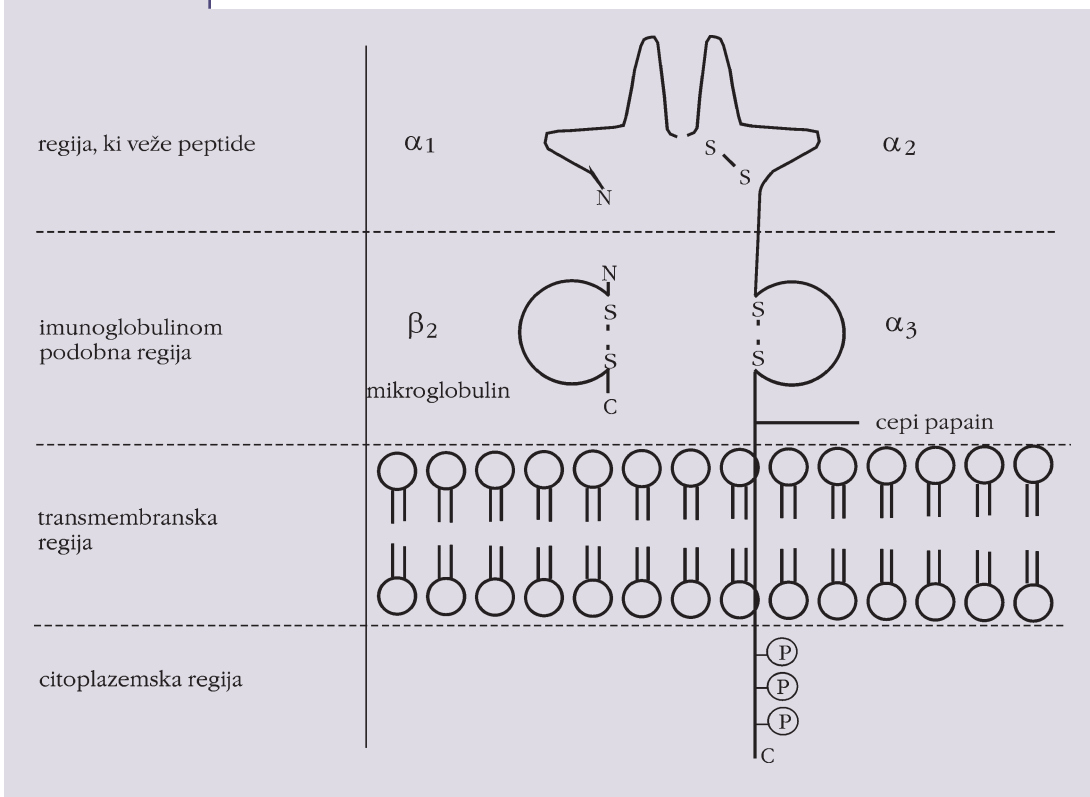
Slika 9.7

Struktura T-celičnega recep-
torja (TCR).



Slika 9.8

Struktura molekule MHC I.



MHC I predstavlja tudi virusne peptide. Zato se najdejo citotoksični limfociti T (limfociti T CD8), ki prepoznajo virusne peptide v kompleksih MHC I in povzročijo smrt okuženih celic (slika 9.8).

Molekula m-RNK s celično ali virusno gensko informacijo omogoči citoplazemsko proteinsko sintezo na ribosomih. Del citoplazemskih proteinov pa proteolitični encimski kompleksi – proteosomi – stalno cepijo na peptidne odseke. Manjše peptide (dolžine 8 do 9 aminokislin) transportni proteinski kompleks (transporter in antigen processing – TAP) prenese v cisterno endoplazemskega retikuluma (ER). Posamezni peptid se lahko veže z alfaverigo MHC I v stabilen molekulni kompleks MHC I, ki je zasidran v membrani endoplazemskega retikuluma. Z membranskim prenosom preko Golgijevih cistern in eksocitoznih mehurčkov postanejo kompleksi MHC

I sestavni del plazmaleme, kjer kot zunanji membranski proteini predstavljajo peptide citotoksičnim limfocitom T (slika 9.9).

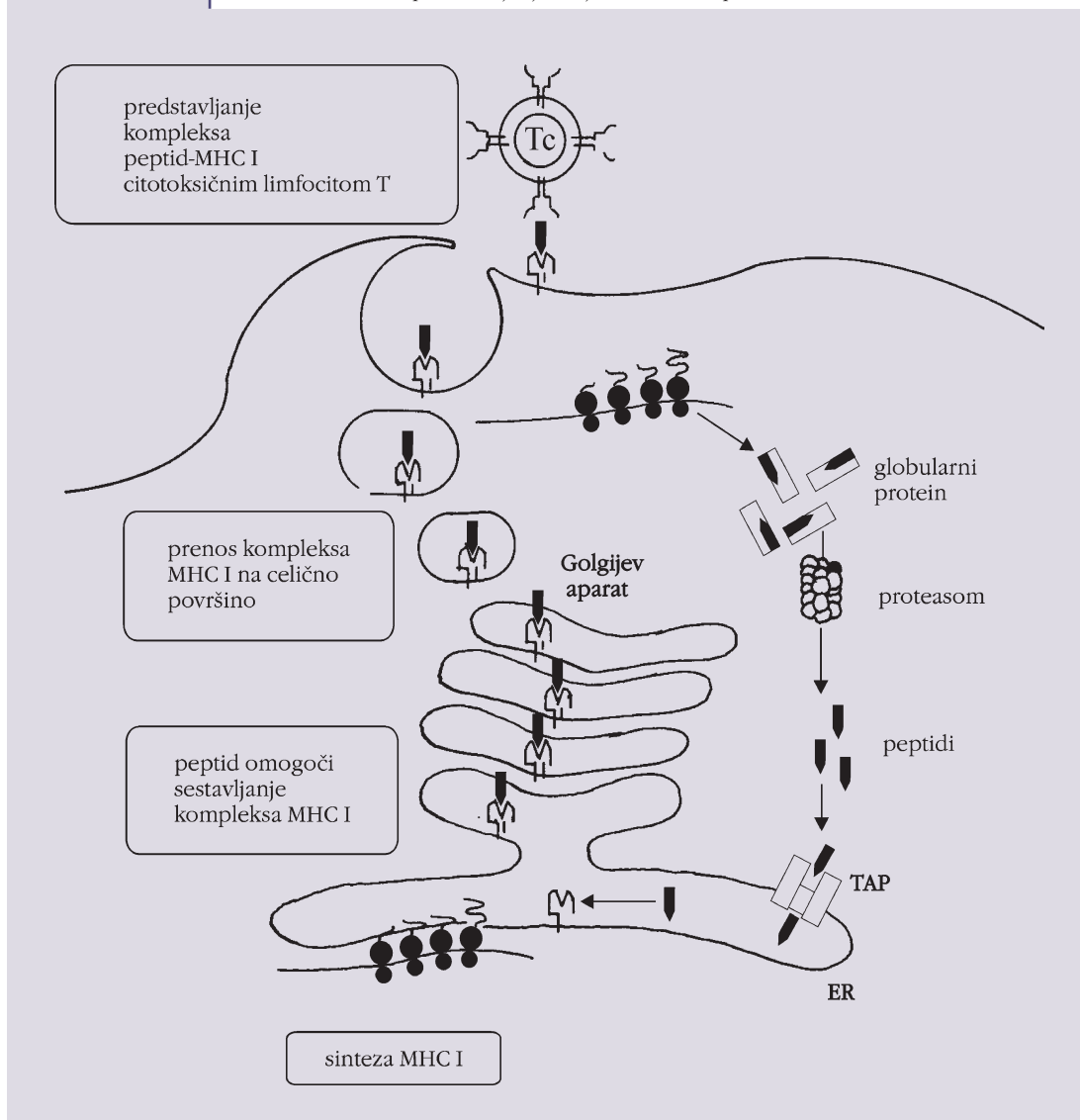
MOLEKULE MHC II

Makrofagne celice tujke požirajo. V prebavnih mehurčkih se fagocitirani proteini encimsko razgradijo na peptidne fragmente. **Molekule MHC II so transportni proteini**, ki take peptidne **fragmente** (dolžine 12 do 15 aminokislin) **prenesejo** na površino fagocitne celice in jih predstavljajo **limfocitom T - celicam T pomagalkam (CD4)**. Če celice T pomagalkam na fagocitnih celicah prepoznajo tujo peptidno sekvenco, se aktivirajo in s svojimi izločki (citokini) vzbudijo in usmerjajo imunski odziv (slika 9.10 in 9.11).

Makrofagne celice požirajo zunajcelične delce ali proteine. V fagocitne mehurčke

Slika 9.9

Molekule MHC I - predstavljanje beljakovin iz citoplazme citotoksičnim limfocitom T.



se zlivajo lizosomi, njihovi encimi pa cepijo proteine na manjše peptide. **Makrofagne celice sintetizirajo molekule MHC II na membranah endoplazemskega retikuluma.** Na tej stopnji prihaja pri antigen predstavljajočih celicah do zlivanja eksocitotnih mehurčkov in prebavnih mehurčkov. Peptidi iz prebavnih mehurčkov (dolgi okoli 12 aminokislin) se povežejo z alfa in beta verigo MHC II v stabilne skupke MHC II, ki postanejo sestavni del plazmaleme, v kateri kot zunanji membranski proteini **prikazujejo fagocitirane peptide celicam T pomagalkam.**

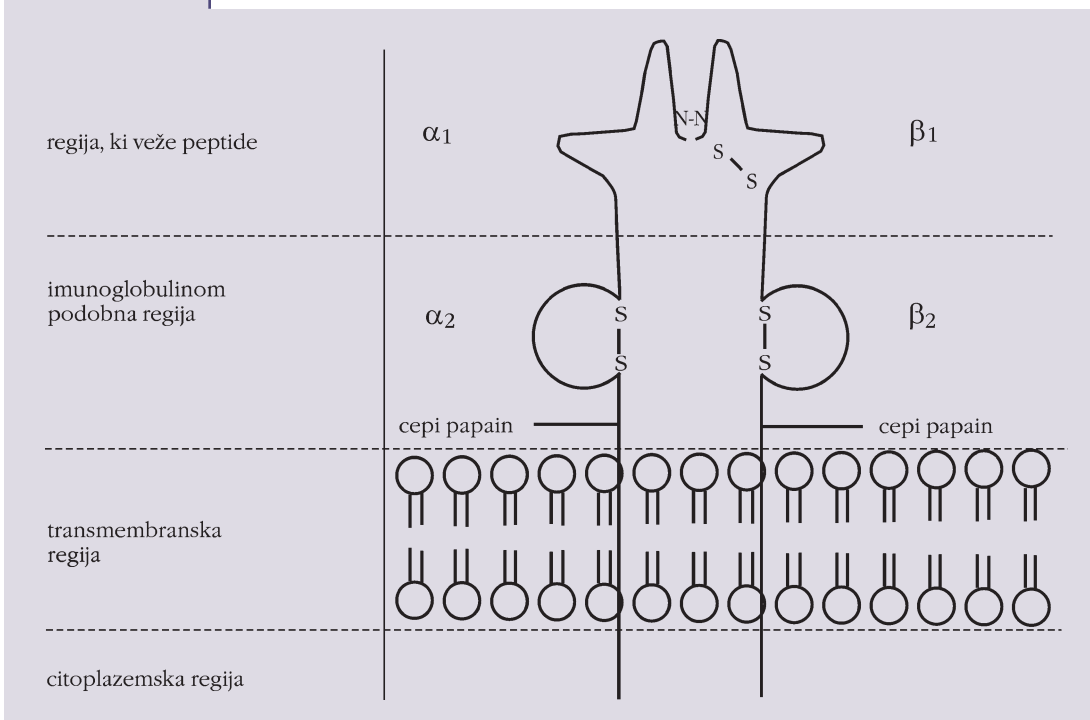
AKTIVACIJA LIMFOCITOV

AKTIVACIJA LIMFOCITOV T - CELIC T POMAGALK

Celice T pomagalk z antigenskim receptorjem (TCR) prepoznajo peptid, ki ga z molekulami MHC II ponujajo v prepoznavo makrofagne celice. Celica T pomagalka s svojim proteinom CD4 (ki je receptor za molekule MHC II) najprej na makrofagu prepozna molekulo MHC II. Nato celica T

Slika 9.10

Struktura molekule MHC II.



pomagalka s svojim TCR lahko prepozna tuj peptid, ki se nahaja v kompleksu MHC II. Če se prepoznava tujega peptida (antigena) zgodi, se v celici T pomagalki aktivirajo geni za sintezo mediatorjev - citokinov. Med njimi je zlasti pomemben interlevkin 2 (IL-2), ki deluje na limfocite B, citotoksične limfocite T, pa tudi povratno na celice T pomagalka. IL-2 povzroči razmnoževanje celic, ki imajo v membrani receptorje zanj. Ker IL-2 zelo hitro razpada (razgrajujejo ga proteazni encimi v tkivni tekočini in plazmi), je njegova učinkovita koncentracija samo v neposredni soseščini aktivirane celice T pomagalka. To je pomembno zato, da se aktivirajo samo celice, ki so neposredno vpletene v imunski odziv, in ne tudi tiste, ki se odzivajo na druge antigene.

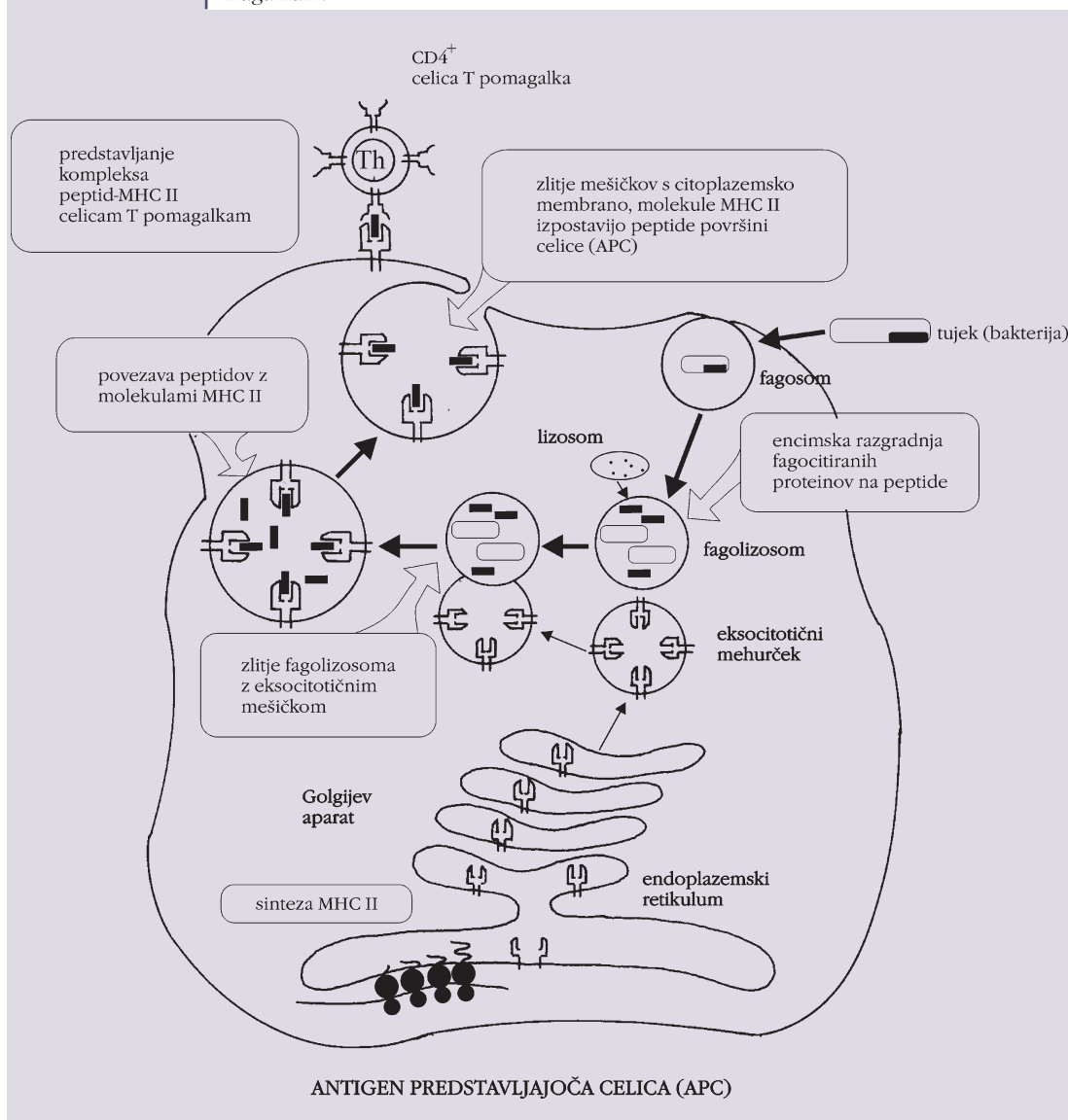
AKTIVACIJA CITOTOKSIČNIH LIMFOCITOV T

Citotoksični limfociti T (CD8+) prepoznajo tuj peptid z antigenskim receptorjem

(TCR). Telesne celice, ki so okužene z znotrajceličnimi bakterijami, paraziti ali virusi, ponujajo tuje (antigenske) peptide v prepoznavo citotoksičnim limfocitom T. Citotoksični limfocit T na vsaki celici najprej prepozna molekulo MHC I in se preko nje poveže s celico. Šele po tej vezavi citotoksični limfocit T s svojim antigenskim receptorjem (TCR) lahko prepozna tuj peptid, ki se nahaja v molekulnem kompleksu MHC I. Če se prepoznava tujega peptida (antigena) zgodi, se v citotoksičnem limfocitu T aktivirajo geni za sintezo receptorjev za IL-2. Če je v okolici dovolj velika koncentracija IL-2 (aktivirane celice T pomagalka v neposredni bližini), se IL-2 veže na receptorje na citotoksičnih limfocitih T in spodbudi izločanje vsebine citotoksičnih zrn proti tarčni celici, ki vsebuje tuje peptide. Citotoksična zrna vsebujejo encime in toksične snovi, ki uničijo napadene celice. Med toksičnimi proteini je znan **perforin**, ki se veže na membrano napadene celice, kjer nato polimerizira in

Slika 9.11

Molekule MHC II - predstavljanje odlomkov fagocitiranih proteinov celicam T pomagalkam.



s tem ustvari transmembranske kanale, ki porušijo ionsko ravnovesje napadene celice. Citotoksični mehanizem ubijanja uporabljajo poleg limfocitov T tudi celice NK, čeprav slednje tujkov ne prepoznavajo z antigen-skimi receptorji (slika 9.12).

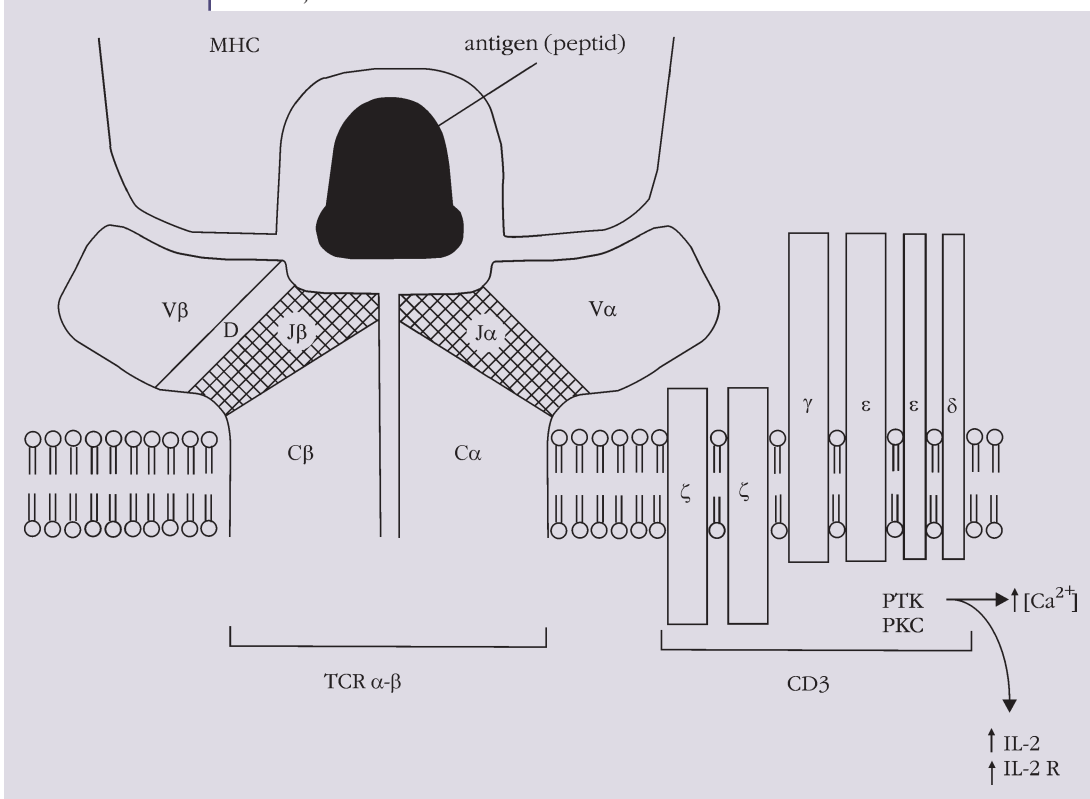
AKTIVACIJA LIMFOCITOV B IN PROTITELESNI ODZIV

Limfociti B prepoznajo antigene v zunajcelični tekočini (topne molekule v nativni

konformaciji, delci) z antigen-skimi receptorji. Pri naivnih limfocitih B so antigen-skimi receptorji mIgD in mIgM. Antigeni, ki se vežejo na antigen-ske receptorje, izzovejo endocitozo. To je signal, da limfocit B sproži sintezo receptorjev za IL-2. Če je v okolici dovolj velika koncentracija IL-2, ki ga izločajo aktivirane celice T pomagalka v neposredni bližini, se ta veže na receptorje na limfocitih B in povzroči njihovo razmnoževanje (klonska ekspanzija) ter diferenciacijo v plazmatke ali spominske

Slika 9.12

Aktivacija limfocitov T.



celice ali oboje. Brez IL-2 aktivacija limfocita B ni uspešna in taka celica navadno propade.

Po aktivaciji z antigenom se limfocit začne naglo podvojevati (klonska ekspanzija). Del limfocitov se takoj diferencira v plazmatke, ki izločajo protitelesa IgM. Preostali limfociti B se razmnožujejo naprej, ob tem pa tudi spreminjajo razred težkih verig imunoglobulinskih molekul. Običajno se sinteza od IgM preklopi na sintezo IgG, IgA ali IgE, kar je verjetno odvisno od kombinacije citokinov, ki oblivajo celico. Proces imenujemo izotipski preklon. **Izotipski preklon se kaže tako, da v začetku okužbe prevladuje sinteza specifičnih protiteles IgM, kasneje pa specifičnih protiteles IgG (v serumu) ali IgA (na sluznicah).**

S trajanjem okužbe opazujemo tudi povečevanje povprečne afinitete specifičnih

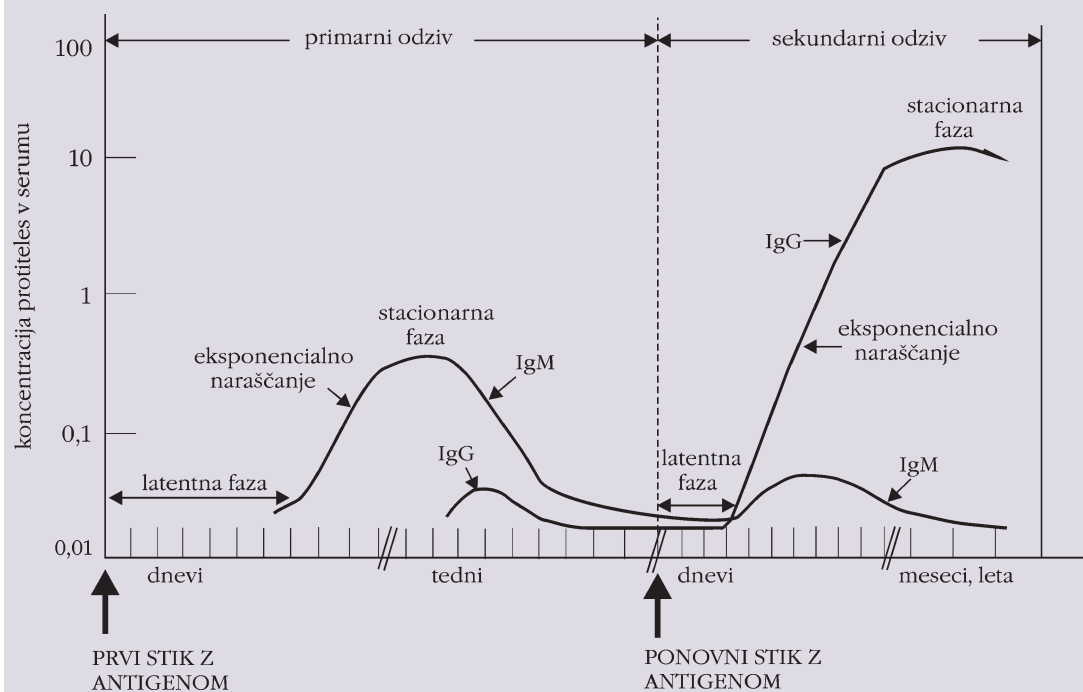
nih protiteles za antigen (avidnost).

Vzrok za to je somatična hipermutacija imunoglobulinskih vezišč, ki se dogaja v foliklih bezgavk. Tam aktivirani limfociti B intenzivno mutirajo gene svojih antigen-skih vezišč, zato nastajajo nove veziščne različice. Mutirane limfocite B (prepoznamo jih kot limfocite B, ki imajo antigen CD5) nadzorujejo folikularne dendritične celice, ki imajo adherirane antigene na svojih površinah in z njimi preverjajo afiniteto novonastalih antigen-skih vezišč limfocitov B.

Za tipični sekundarni (anamnestični) imunski odziv, ki sledi ponovnemu stiku z antigenom po daljšem času, je zaradi opisanih mehanizmov značilen hiter (v nekaj dneh) in močan protitelesni odziv. V serumu prevladuje tvorba protiteles IgG, avidnost protiteles za antigen pa je zelo velika (slika 9.13).

Slika 9.13

Primarni in sekundarni protitelesni odziv.



IMUNSKA TOLERANCA

Imunska toleranca so mehanizmi, ki preprečijo imunski odziv proti lastnim molekulam. Najzahtevnejša naloga imunskega sistema je razločevanje med lastnim in tujim. Limfociti se po aktivaciji z antigenom odzovejo z "napadom", zato v organizmu ne sme biti limfocitov, ki bi se odzivali na molekule lastnega organizma. Teoretično bi bilo to mogoče doseči, če v genomu ne bi bilo zapisov za antigenske receptorje, specifične za molekule lastnega organizma. Vendar eksperimentalni podatki kažejo, da so med nezreliimi limfociti tudi celice, ki imajo antigenske receptorje za lastne molekule. Zato morajo obstajati mehanizmi, ki preprečijo imunski odziv proti lastnim molekulam. Te mehanizme imenujemo imunska toleranca ali popustljivost. Kadar mehanizmi imunske

tolerance ne delujejo, nastanejo avtoimunske bolezni – posledica je uničevanje lastnih celic in tkiv. Med mehanizmi imunske tolerance sta najbolj znana klonska delecija in klonska anergija.

KLONSKA DELECija

Oblikovanje antigenskega vezišča (preurejanje genov za Ig oz. TCR) je naključen proces. V populaciji nastalih limfocitov obstaja zato velika raznolikost antigenskih vezišč. Mnogi limfociti oblikujejo svoja vezišča tako, da ta prepoznavajo tudi molekule lastnega telesa. Obstoj takih limfocitov povzroči imunsko reakcijo proti lastnim tkivom (avtoimunost). Zato je treba med limfociti, preden postanejo funkcijsko sposobni (imunokompetentni), opraviti selekcijo – preživijo lahko le limfociti, ki so se zmožni odzvati na telesu tuje molekule (antigene), ne da bi se odzvali na molekule lastnega organizma.

Selekcija limfocitov T poteka v timusu. Vanj prihajajo nezreli limfociti T (iz krvi), oblikujejo antigensko vezišče (TCR) in izrazijo molekule CD4 in CD8. Dendritične celice v timusu na površinah obilno izražajo molekule MHC I in MHC II. Med nezrelimi limfociti preživijo samo tisti, ki so se s svojimi molekulami CD4 zmožni vezati na molekule MHC II (bodoče celice T pomagalke) ali pa s svojimi molekulami CD8 na molekule MHC I (bodoči citotoksični limfociti T). Tovrstno selekcijo imenujemo pozitivna selekcija, ker v njej preživijo le celice, ki so zmožne sodelovanja z molekulami MHC I ali MHC II. Poleg tega obstaja tudi negativna selekcija, v kateri propadejo vsi nezreli limfociti T, ki s svojim TCR prepoznajo telesu lastne peptide (avtoantigene). Take peptide namreč s svojimi molekulami MHC I v timusu predstavljajo dendritične celice. Iz timusa se zato sprostijo v kri le taki zreli limfociti T, katerih antigenski receptor (TCR) se ni zmožen vezati na telesu lastne peptide. Odstranitev potencialnih avtoaktivnih (avtoimunih) limfocitov T v timusu je najpomembnejši mehanizem imunske tolerance, tj. sposobnosti imunskega sistema, da se proti nekaterim molekulam (npr. proti proteinom lastnih celic) ne odzove z obrambno imunsko reakcijo.

Podobno kot klonska selekcija nezrelih limfocitov T v timusu verjetno poteka tudi klonska selekcija nezrelih limfocitov B v kostnem mozgu.

KLONSKA ANERGIJA

Klonska anergija je pojav, pri katerem limfociti z antigenskimi receptorji prepoznajo antigene, vendar se ne aktivirajo, ampak postanejo neodzivni ali celo propadejo. To se navadno zgodi, kadar ob stiku z antigeni ni ustreznih dodatnih (kostimulativnih) signalov, potrebnih za aktivacijo. Limfociti B ali citotoksični limfociti T se npr. po prepoznavi antigena ne aktivirajo, če v njihovi okolici ni dovolj IL-2, ki ga sicer

izločajo celice T pomagalke. Klonska anergija je varnostni mehanizem, ki zavre imunski odziv, če niso zanj ustrezne okoliščine. Verjetno je klonska anergija pomembna za preprečevanje avtoimunskih reakcij, če v telesu obstajajo limfocitni kloni, usmerjeni proti lastnim celicam in tkivom (avtoaktivni kloni).

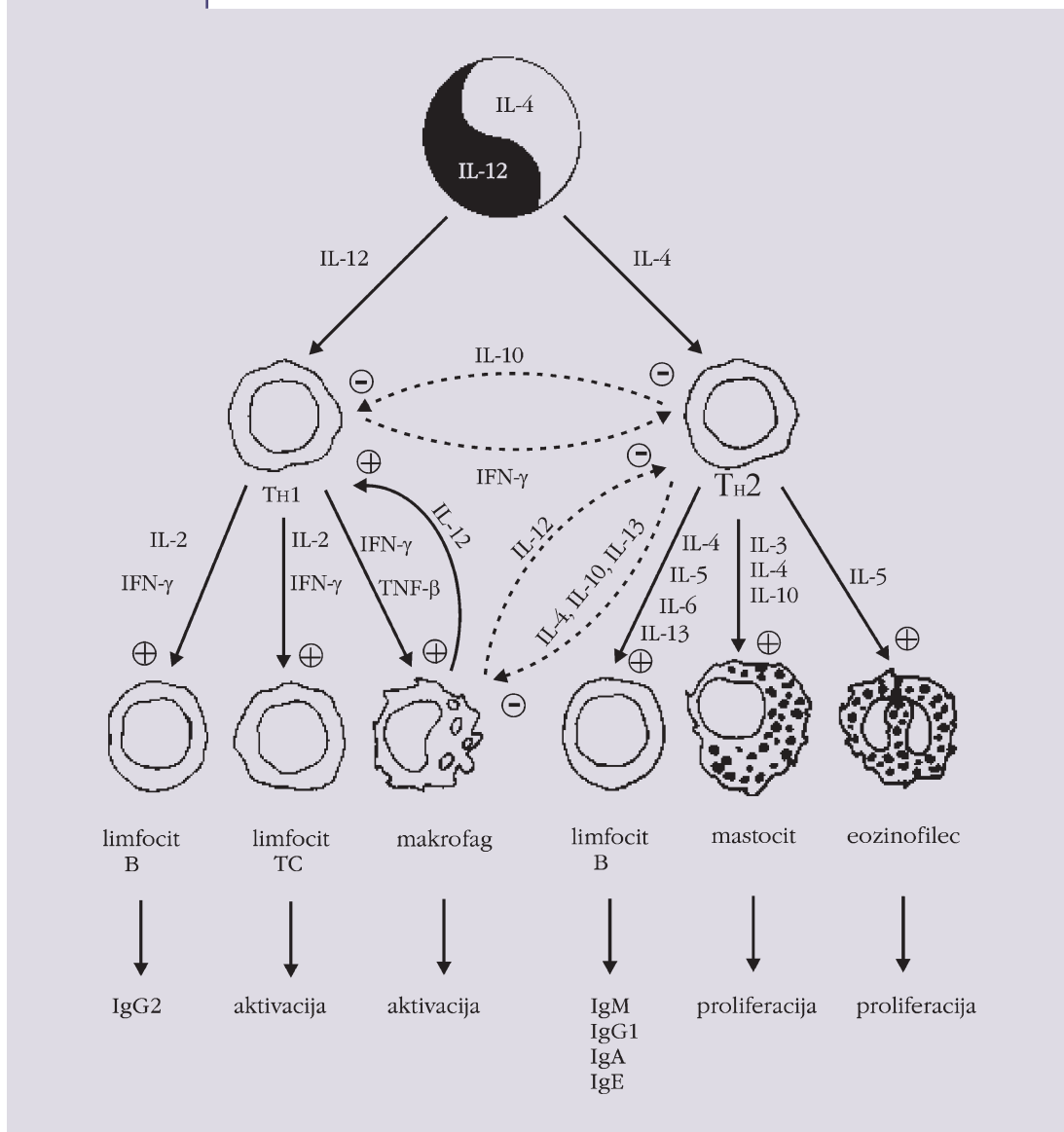
URAVNAVANJE IMUNKEGA ODZIVA

Anatomsko so imunske celice organizirane v limfatičnih tkivih (kot so bezgavke, vranica, limfatični folikli v sluznicah). Samo v njih se ustvarijo razmere za učinkovito imunsko aktivacijo, ki zahteva navzočnost tujkov, neposreden medsebojni stik različnih tipov celic (makrofagov, celic T pomagalke, limfocitov B, citotoksičnih limfocitov T) in dovolj veliko tkivno koncentracijo različnih citokinov. Odziv efektorskih celic (limfocitov B, citotoksičnih limfocitov T) uravnavajo zlasti izločki celic T pomagalke. Med njimi je IL-2 pogoj za aktivacijo efektorskih celic, drugi citokini pa dodatno usmerijo imunski odziv (slika 9.14).

V populaciji celic T pomagalke ločimo več podvrst, ki izdelujejo ustrezne citokine kot odgovor na antigensko draženje. Po prvi spodbudi z antigenom izdelujejo celice T pomagalke predvsem IL-2. Nadaljnje antigensko spodbujanje teh celic usmeri njihovo diferenciacijo v celice Th0, ki izdelujejo številne citokine. Sčasoma se celice Th0 diferencirajo v podvrste Th1 ali Th2, ki izločajo razmeroma omejen izbor citokinov. Celice Th1 izločajo IL-2 in interferon gama. Posledica delovanja celic Th1 je aktivacija citotoksičnih limfocitov T. Celice Th2 pa izdelujejo IL-4, IL-5, IL-10 in IL-13 ter tako zavirajo delovanje citotoksičnih limfocitov T, pospešujejo pa tvorbo proti-

Slika 9.15

Imunski odziv Th1 in Th2.



ravne celice ubijalke k tvorbi IFN- γ , sprožijo odziv, kjer prevladujejo Th1. Nekateri paraziti povzročijo nastanek IL-4, ki spodbuja diferenciacijo v celice Th2. Diferenciacija je odvisna tudi od vrste in lastnosti antigen predstavljajoče celice (APC), ki predstavi antigen. Afniteta, s katero še nespodbujene celice T vežejo antigen, ali koncentracija antigenih kompleksov MHC II na površini APC tudi vplivata na razvoj podvrst celic Th1 ali Th2.

LITERATURA ZA NADALJNI ŠTUDIJ

- Hausler, W. J. Jr., Sussman, M. Bacterial infections. V: Collier, L., Balows, A., Sussman, M., ur. Topley and Wilson's microbiology and microbial infections. 9. izdaja, 3. zv. London: Arnold; 1998.
- Murray, P. R., Baron, E. J., Pfaller, M. A., Tenover, F. C., Tenover, R. H., ur. Manual of clinical microbiology. 7. izdaja. Washington: ASM; 1999.
- Roitt, I., Brostoff, J., Male, D. Immunology. 4. izdaja. London: Mosby; 1996.

Bakterija in gostitelj

Imunski odziv na bakterijske okužbe

Alojz Ihan

IMUNSKI MEHANIZMI PROTI BAKTERIJAM

IMUNOST PROTI TOKSIGENIM BAKTERIJAM

IMUNOST PROTI ZUNAJCELIČNIM BAKTERIJAM

IMUNOST PROTI BAKTERIJAM, KI PARAZITIRAJO ZNOTRAJ CELIC

PREOBČUTLJIVOSTNE REAKCIJE

REAKCIJE TIPA 1 (ALERGIJE, POVZROČENE Z IgE)

Sistemska anafilaksija

Atopija

REAKCIJE TIPA 2 (CITOTOKSIČNOST, POVZROČENA Z IgG IN IgM)

REAKCIJE TIPA 3 (KI JIH POVZROČAJO IMUNSKI KOMPLEKSI)

Arthusov pojav

Sindrom serumske bolezni

REAKCIJE TIPA 4 (KI JIH POVZROČAJO LIMFOCITI T)

AKUTNO IN KRONIČNO VNETJE MED OKUŽBAMI

IMUNSKI MEHANIZMI PROTI BAKTERIJAM

Med bakterijsko okužbo se zbudijo vse vrste obrambnega odziva: fagocitni, protitelesni in celični. Posamezne vrste patogenih bakterij se med seboj razlikujejo po načinu povzročanja bolezni. Zato so tudi posamezne vrste imunskega odziva

različno učinkovite proti različnim bakterijskim okužbam. Proti bakterijskim boleznim, ki jih povzročajo predvsem bakterijski toksini (npr. davica, oslovski kašelj, tetanus), so zlasti učinkovita protitelesa, ki nevtralizirajo toksine. Proti bakterijam, ki parazitirajo zunaj gostiteljevih celic, so učinkovita protitelesa in fagocitne celice. Proti znotrajceličnim bakterijam pa so učinkovitejši citotoksični limfociti T in celice NK.

IMUNOST PROTI TOKSIGENIM BAKTERIJAM

Bolezniški pojavi pri nekaterih bakterijskih okužbah so pretežno posledica delovanja bakterijskih toksinov. Čeprav je pri tetanusu (povzročitelj: *Clostridium tetani*) neposredna lokalna okvara tkiva zaradi bakterijske okužbe rane komaj opazna, kljub temu sproščeni tetanusni toksin povzroči bolnikovo smrt. Pri botulizmu (povzročitelj: *Clostridium botulinum*) ustvari bakterije toksin zunaj človeškega telesa (npr. v pokvarjenih konzervah), zato bolezen ne nastane zaradi okužbe, ampak zaradi uživanja hrane, ki vsebuje toksin (intoksikacija). Bolezenski znaki škrlatinke nastanejo zaradi okužbe tonzil (angina) s sevi streptokokov, ki izdelujejo eritrogeni toksin. Tudi bolezenske težave pri davici (povzročitelj: *Corynebacterium diphtheriae*) in pri oslovskem kašlju (povzročitelj: *Bordetella pertussis*) nastanejo bolj zaradi delovanja toksinov kot zaradi lokalnih učinkov bakterijske kolonizacije tkiv.

Protitelesa se specifično vežejo na toksine, inaktivirajo njihovo toksično delovanje in tako preprečijo bolezenske pojave, ki so posledica delovanja toksinov. Vendar protitelesa nastanejo razmeroma pozno po prvi okužbi, do takrat pa toksini zastrupljajo organizem. Nastanek ustreznih varstvenih protiteles lahko tudi izzovemo s preventivnim cepljenjem (aktivna imunizacija), s katerim preprečimo bolezen. Necepljene bolnike lahko zdravimo tudi s pripravki ustreznih protiteles (pasivna imunizacija). Prednost pasivne imunizacije je takojšnje učinkovanje, medtem ko po aktivni imunizaciji nastane zaščita šele v nekaj tednih.

IMUNOST PROTI ZUNAJCELIČNIM BAKTERIJAM

Zunajcelične bakterije se razmnožujejo in parazitirajo zunaj celic: v krvi, limfi, med-

celičnini ter na epiteliju telesnih poti (dihalne, sečne, prebavne) in votlin (plevra, osrčnik, peritonej, sklepi). To so po Gramu pozitivni piogeni koki (stafilokoki, pnevmokoki), po Gramu negativni koki (meningokoki, gonokoki), mnogi po Gramu negativni bacili (zlasti enterobakterije) in nekateri po Gramu pozitivni bacili (klostridiji).

Zaradi zunajceličnega življenja so mikrobi močno izpostavljeni nespecifični naravni odpornosti (fagocitoza) in specifičnim (protitelesa, citotoksični limfociti) imunskim mehanizmom. Pri tem je zlasti pomembna fagocitoza, ki jo opravljajo nevtrofilci, monociti in makrofagi. Specifična, protibakterijska protitelesa in aktivirani proteini komplemента se vežejo na bakterije in jih opsonizirajo – fagocitne celice jih lažje prepoznavajo in fagocitirajo.

Zunajcelične bakterije so razvile številne načine, s katerimi se izognejo imunskemu odzivu. Nekatere bakterije se obdajo s človeško sialično kislino, ki prekrije (zamaskira) bakterijske antigene in zavira aktivacijo komplemента. Bakterijske kapsule varujejo pred fagocitozo. Zunajcelične bakterije imajo tudi druge protifagocitne mehanizme – streptokokni protein M npr. preprečuje opsonizacijo bakterij s komplementnimi proteini. S spreminjanjem površinskih antigenov se bakterije izognejo protitelesnemu odzivu. Gonokoki lahko iz svojega genskega zapisa za protein pilin sestavijo milijon antigeno različnih kombinacij. S tem se med bakterijami iz generacije v generacijo selekcionirajo tiste, proti katerim še ni učinkovite imunosti.

IMUNOST PROTI BAKTERIJAM, KI PARAZITIRAJO ZNOTRAJ CELIC

Številne bakterije parazitirajo znotraj celic, pogosto celo znotraj fagocitnih celic (tabela 10.1). Znotrajcelične bakterije so ne-

dostopne za protitelesa. Tudi fagocitoza ni zelo učinkovita. Mnoge znotrajcelične bakterije celo pospešujejo fagocitozo in jo izrabljajo za vstop v celice. Nato z različnimi prilagoditvami preprečijo, da bi jih fagocitne celice uničile. Listerije npr. po fagocitozi ne ostanejo v fagosomih, ampak s pomočjo encima hemolizina prodrejo v citoplazmo. Tam so zavarovane pred mikrobicidnimi snovmi v lizosomih makrofagov. Mikobakterije in legionele po fagocitozi zavrejo zlivanje fagosomov in lizosomov v fagolizosome in nemoteno bivajo v fagosomih. Bakterije, ki povzročajo gobavost (*Mycobacterium leprae*), z glikolipidi zavrejo nastajanje kisikovih radikalov in zmanjšajo mikrobicidno aktivnost fagocitnih celic.

Fagocitne celice praviloma slabo ovirajo znotrajcelične bakterije pri razširjanju in kolonizaciji tkiv. Pomembne so **celice NK**, ki se aktivirajo zgodaj med okužbo in izločajo velike količine interferona gama (IFN- γ). IFN- γ aktivira makrofage in jim

okrepi fagocitno zmožnost. To navadno zavre okužbo in omogoči razvoj specifične celične imunske reakcije, ki je najpomembnejša za obrambo. Specifično obrambo proti znotrajceličnim bakterijam omogočajo predvsem **citotoksični limfociti T**, ki uničujejo okužene celice lastnega telesa, s čimer zamejujejo širjenje okužbe.

PREOBČUTLJIVOSTNE REAKCIJE

Imunska reakcija v končni fazi vedno sproži vnetni proces, katerega cilj je odstranitev tujka (npr. bakterije) iz telesa. Vnetje poleg nekaterih koristi obenem tudi zmoti delovanje vnetega tkiva, okvara pa je navadno odvisna od obsežnosti in trajanja vnetja. Tkivne okvare med bakterijskimi okužbami niso samo posledica bakterijskih virulentnih učinkov, ampak tudi imunopatoloških dogajanj v vnetem tkivu. Kadar imunske pojave razvrščamo s kliničnega vidika, navadno opisujemo škodo, ki jo imunska povzročena vnetje povzroči v telesu. Vendar je treba v posameznem primeru presoditi tudi korist, ki jo imunska odziv prinese organizmu. Vnetje med okužbo z respiratornimi virusi je zaradi kihanja in kašljanja sicer nadležno, vendar hkrati koristno, ker pomaga ozdraviti bolezen. Če pa človek kiha in kašlja zaradi imunske reakcije proti cvetnemu prahu, pa tak imunska odziv štejejo za škodljiv (preobčutljivostna reakcija), ker sodimo, da bi bilo boljše, če ga sploh ne bi bilo.

O preobčutljivosti torej govorimo, kadar imunska reakcija ni smiselna in organizmu bolj škoduje, kot koristi. Pri izraziti preobčutljivosti navadno sploh ne gre za imunska odziv proti mikrobnim povzročiteljem bolezni, marveč proti

Tabela 10.1

Vrste celic, v katerih parazitirajo znotrajcelične bakterije.

Vrsta celic	Bakterije
makrofagi	<i>Brucella abortus</i> <i>Chlamydia psittaci</i> <i>Francisella tularensis</i> <i>Legionella pneumophila</i> <i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>Mycobacterium leprae</i> <i>Coxiella burnetii</i> <i>Salmonella</i> spp. <i>Yersinia pestis</i> <i>Listeria monocytogenes</i>
epitelijske/ endoteljske	<i>Salmonella</i> Typhi <i>Rickettsia rickettsii</i> <i>Rickettsia prowazekii</i> <i>Shigella</i> spp.
Schwannove celice	<i>Mycobacterium leprae</i>

neškodljivim tujkom (npr. cvetnemu prahu, zdravilom) ali celo molekulam lastnega telesa (avtoimunost). V takih primerih je škoda, ki jo vnetje povzroči tkivu, skoraj izključno posledica imunske reakcije. Zato bi bilo dobro, da bi s proučevanjem izrazitih primerov preobčutljivosti opredelili, kakšno vrsto vnetja in kolikšno škodo povzroči tkivu neka imunska reakcija (slika 10.1).

REAKCIJE TIPA 1 (ALERGIJE, POVZROČENE Z IgE)

Bazofilci so poglavitne efektorske celice pri razvoju vnetja tipa 1. Bazofilci imajo v citoplazmi številna zrna (vakuole), ki vsebujejo biološko aktivne snovi. Ob nekaterih dražljajih se **bazofilci degranulirajo**, tj. v procesu eksocitoze izločajo vsebino zrn v okolico. Snovi, ki se med tem sprostijo iz zrn v okolico, imenujemo primarne mediatorje. Po stiku z alergenom traja

Slika 10.1

Shematična predstavitev mehanizmov preobčutljivostnih reakcij.

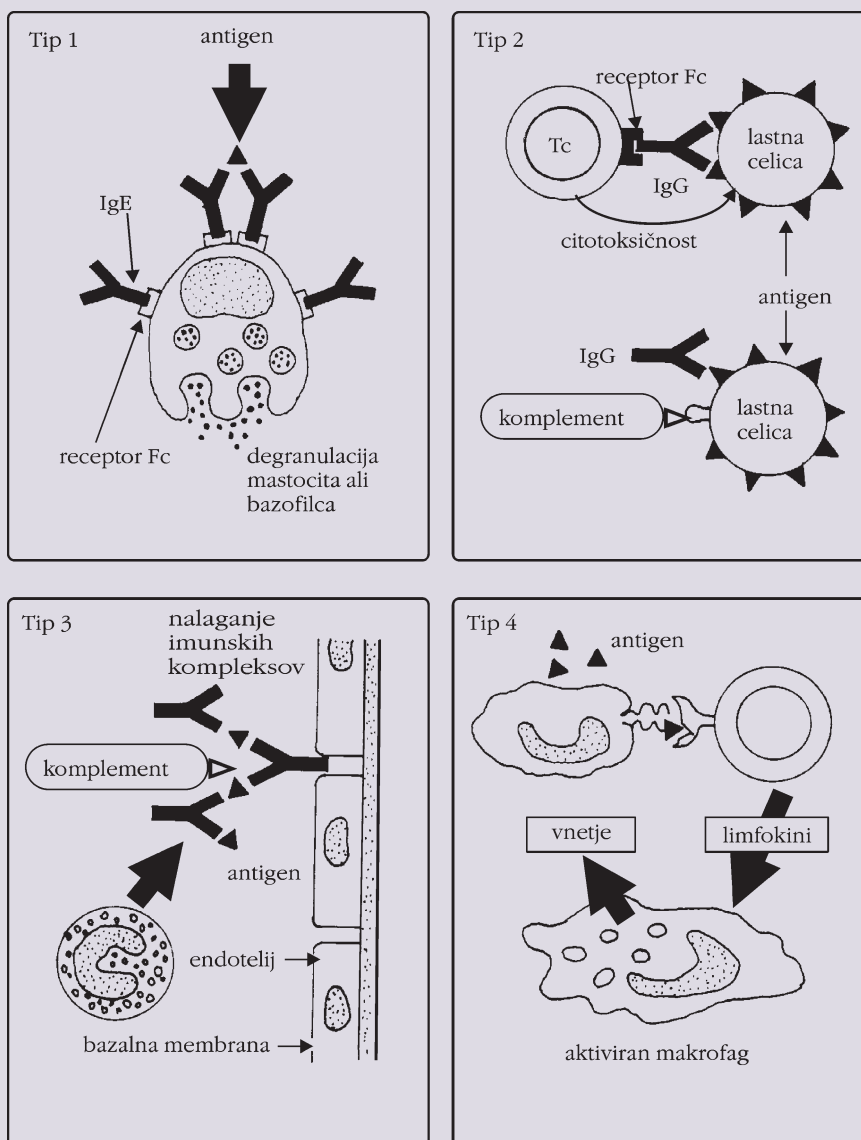


Tabela 10.2

Pregled značilnosti preobčutljivostnih reakcij.

Tip reakcij	Osnovni mehanizmi	Dogajanje v tkivu	Tipične bolezni
1 - takojšnji	IgE se vežejo na mastocite, ki ob stiku z alergenom izločajo mediatorje (histamin, ECF, levkotriene, PAF itd.)	vazodilacija, krčenje gladkih mišic, povečana žlezna sekrecija	astma, anafilaktični šok
2 - citotoksični	IgG ali IgM se vežejo na antigene na celicah, obenem se aktivirajo proteini komplementa, pospeši se fagocitoza	uničenje (nekroza) celic, ki antigene izražajo ali jih imajo adherirane na površini	fetalna eritroblastoza, avtoimunske hemolitične anemije, Goodpasturjev sindrom
3 - imunski kompleksi	nastajanje velikih količin imunskih kompleksov, ki se odlagajo na žilnih stenah, obenem se aktivira komplement	okvare žil (vaskulitis)	sistemske eritematozni lupus, glomerulonefritis, nodozni eritem
4 - celična preobčutljivost	ob stiku z antigenom izločajo limfociti T limfokine in s tem sprožijo imunsko povzročeno vnetje v tkivu	vnetna reakcija, infiltracija tkiva z limfociti, nevtrofilci	kontaktni dermatitis, zavrnitev presadka, tuberkulinska reakcija

ECF = eozinofilni kemotaktični faktor (eosinophil chemotactic factor), PAF = faktor, ki aktivira trombocite (platelet activating factor).

njihov klinični učinek 5 do 30 minut, po 60 minutah pa pojema. Obenem sproži degranulacija v bazofilcih tudi sintezo in sproščanje mediatorjev. Ker zaradi časa, potrebnega za njihovo sintezo, začnejo učinkovati kasneje, jih imenujemo sekundarni mediatorji; njihov učinek postane opazen v 2 urah po stiku z alergenom in lahko traja 2 do 3 dni (tabela 10.2).

Primarni mediatorji so v zrnih bazofilcev. Mednje štejemo **histamin**, ki povzroča krčenje gladkih mišic v dihalnih poteh, poveča prepustnost žilja ter poveča sekrecijo nosnih, bronhialnih in želodčnih žlez. Eozinofilni kemotaktični faktor koncentriira eozinofilce, nevtrofilni kemotaktični faktor pa nevtrofilce na mestu degranulacije bazofilcev. Zrna vsebujejo še **heparin**, **proteaze** in nekatere manj definirane proteinske mediatorje.

Sekundarni mediatorji se ob degranula-

ciji bazofilcev sintetizirajo zaradi aktivacije lipolitičnih encimov (fosfolipaza A2, fosfolipaza C, diacilglicerolna lipaza), ki cepijo membranske fosfolipide bazofilcev. Produkti cepljenja lipidov so biološko močno učinkovite snovi: **levkotrieni** močno povečajo prepustnost žilja, krčijo gladko mišičje v dihalnih poteh, spodbujajo bronhialno sekrecijo, delujejo kemotaktično na nevtrofilce, eozinofilce in monocite. Podoben učinek na žilje in dihalne poti imata tudi **prostaglandin D2** in **PAF** (platelet activating factor).

Degranulacija (eksocitoza) bazofilcev je aktiven proces, pri katerem kontraktilni deli celičnega skeleta (aktin, miozin) prenašajo zrna do celične površine, kjer se potem zlijejo s celično membrano in izločijo vsebino v okolico. Pri tem je za aktivacijo miozina potrebna njegova fosforilacija, ki jo katalizira proteinkinaza C. Med aktivatorji proteinkinaze C je najbolj

znan diacilglicerol, ki nastaja ob receptor-ski aktivaciji fosfolipaze C. Ob degranulaciji bazofilcev se prehodno tudi močno poveča znotrajcelična koncentracija c-AMP, ki aktivira proteinsko kinazo A, ta pa zavira degranulacijo. Prehoden dvig koncentracije c-AMP ob aktivaciji bazofilcev je negativna povratna zanka, ki zaustavi sproženo degranulacijo. Zato snovi, ki povečajo koncentracijo c-AMP v bazofilcih (adrenalin), preprečujejo njihovo degranulacijo in tudi po tej poti zavirajo razvoj preobčutljivostne reakcije tipa 1.

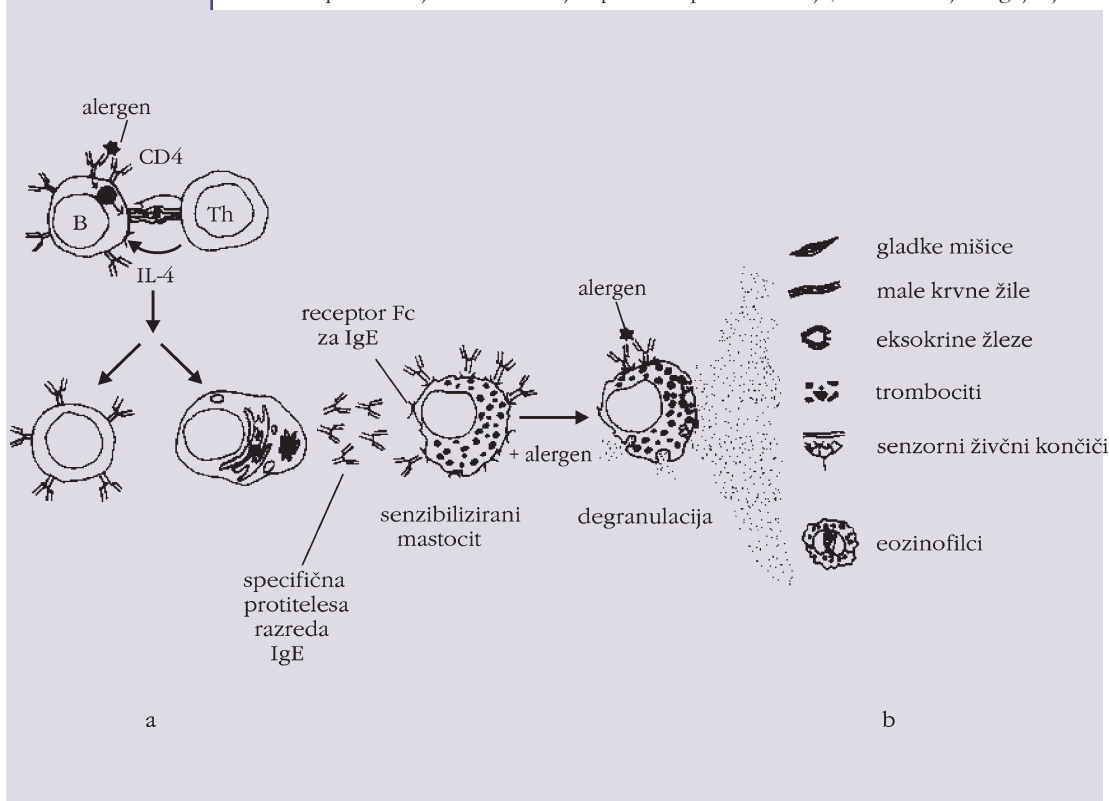
Klinični učinki reakcije tipa 1 so odvisni od lokacije in obsežnosti degranulacije bazofilcev. Pri obsežni degranulaciji so ne glede na mesto antigenovega vnosa prizadeti številni organski sistemi – govorimo o sistemski reakciji. Manj obsežna degranulacija ima navadno lokalne učinke, ki so omejeni na mesto vdora antigena v telo.

Sistemska anafilaksija

Pri ljudeh se sistemska anafilaktična reakcija pojavi po vnosu alergenov (proteinov, hormonov, encimov, zdravil, polisaharidov) v telo, pri čemer je resnost bolezni odvisna zlasti od obsega senzibilizacije z alergenom, tj. od količine specifičnih protiteles razreda IgE na mastocitih. Tudi količina vnesenega alergena vpliva na resnost bolezni, vendar je treba upoštevati, da včasih (pri močni senzibilizaciji) že izredno majhna količina alergena (tudi tako majhna, kot jo uporabljamo za kožno testiranje na alergijo) zadošča za nastanek najhujših oblik anafilaksije. V nekaj minutah po stiku z alergenom izbruhnejo srbenje in kožni izpuščaji, kmalu zatem se zaradi krčenja bronhiolov začne silovit kašelj in dušenje, zaradi oteklih glasilk tudi hripavost. Sledijo bruhanje, trebušni krči in driska. Zaradi padca krvnega tlaka lahko bolnik pade v šok in celo umre.

Slika 1.1

Nastanek preobčutljivostne reakcije tipa 1: a – potek reakcije; b – območja dogajanja.



Atopija

Atopija pomeni dedno nagnjenost k razvoju lokalne anafilaktične reakcije po vdoru alergenov v telo. Okoli 10 % populacije prizadevajo lokalne alergijske reakcije, ki nastanejo zaradi različnih vdihanih (pelodov, živalskih dlak, hišnega prahu itd.) ali zaužitih (rib, jagod, jajc itd.) alergenov. Glede na lokalizacijo atopične reakcije se po vdoru alergena razvijejo nekatere bolezni: urtikarija in angioedem (na koži), alergijski rinitis (na nosni sluznici), astma (v bronhiolih), enterokolitis (na črevesni sluznici) itd.

REAKCIJE TIPA 2 (CITOTOKSIČNOST, POVZROČENA Z IgG IN IgM)

Reakcije tipa 2 povzročajo protitelesa (avtoprotitelesa), ki se vežejo na normalne ali spremenjene molekule (adsorbirana zdravila, virusni delci) na površinah lastnih celic. Specifična vezava protiteles na lastne celice povzroči njihovo uničenje. Glede na obseg uničenja, pomembnost in lokalizacijo uničenih celic se razvijejo posamezni bolezenski znaki. Če so uničeni eritrociti, se razvije anemija; okvare ledvičnih glomerulov vodijo v ledvično odpoved; uničenje kožnih keratinocitov povzroči nastanek pemfigusa. Mehanizmi uničevanja celic so si po vezavi protiteles nanje večinoma podobni: vezava protiteles (IgG in IgM) na celice aktivira komplementni sistem. Aktivirani proteini komplemента naredijo na celični membrani proteinski kompleks, ki okvari membrano in povzroči celični propad. Obenem napadene celice postanejo občutljive za fagocitozo (so opsonizirane), kar dodatno prispeva k njihovem uničenju. Poleg tega so številne vrste obrambnih celic (monociti, nevtrofilci, eozinofilci, celice NK) zmožne ne glede na aktivacijo komplemента ubijati celice, na katere so specifično vezana protitelesa – govorimo o celično posredovani citotoksičnosti, ki je odvisna od protiteles

(antibody dependent cell-mediated cytotoxicity – ADCC).

Osnovno dogajanje, ki povzroči nastanek preobčutljivostne reakcije tipa 2, je nastajanje protiteles, ki se specifično vežejo na organizmu lastne celice ali necelične strukture (npr. bazalne membrane v koži, glomerulih itd.). V nekaterih primerih taka protitelesa nastajajo v sklopu avtoimunskih bolezni. Pri avtoimunskih boleznih so moteni mehanizmi tolerance, ki normalno skrbijo, da imunski sistem usmerja imunski odziv proti tujim in ne proti lastnim molekulam.

Včasih pa protitelesa, ki povzročijo preobčutljivost tipa 2, niso "prava" avtoprotitelesa, denimo pri **fetalni eritroblastoz**, ko Rh-negativna nosečnica po stiku z Rh-pozitivno krvjo izdeluje protitelesa proti molekulam Rh. Protitelesa prehajajo skozi placento v kri Rh-pozitivnega plodu in se vežejo na molekule Rh na površinah plodovih eritrocitov. Vezava materinih protiteles na plodove eritrocite povzroči uničenje slednjih, česar posledica je hudo pomanjkanje eritrocitov (anemija) pri plodu. Čeprav gre pri fetalni eritroblastoz za preobčutljivostno reakcijo tipa 2 proti eritrocitom, pa protitelesa proti plodovim eritrocitom niso avtoprotitelesa. Gre za povsem normalen imunski odziv Rh-negativne matere po stiku z Rh-pozitivno krvjo. Za bolezen sta krivi le okoliščina, da ima Rh-negativna mati Rh-pozitivnega otroka, in dejstvo, da lahko materina protitelesa IgG prehajajo skozi posteljico v plod. Tudi ta lastnost materinih protiteles je normalna in koristna, ker plodu zagotavlja protitelesno obrambo v času, ko ta še nima dokončno razvitega lastnega imunskega odziva. Podoben primer je tudi transfuzijska reakcija, ki nastane po prejemu neskladne krvi.

Tudi vnos nekaterih zdravil v telo lahko povzroči nastanek preobčutljivosti tipa 2.

Imunski sistem včasih reagira z izdelovanjem protiteles IgG in IgM proti penicilinu. Hkrati pa imajo penicilinske molekule veliko afiniteto vezave na eritrocite. Zato se protitelesa proti penicilinu vežejo na penicilinske molekule, ki so na površini eritrocitov. Vezava protiteles na površino eritrocitov povzroči uničenje eritrocitov in posledično njihovo pomanjkanje (anemija). Tudi v tem primeru je anemija posledica preobčutljivosti tipa 2, vendar protitelesa, ki jo povzročajo, niso avtoprotitelesa. Bolezen nastane, če oseba izdeluje protitelesa IgG ali IgM proti penicilinu – to je razmeroma redka, vendar ne nenormalna imunska reakcija po stiku s penicilinom. Druga okoliščina, ki je vzrok bolezni, je vezava penicilina na eritrocite.

Podobno kot penicilin tudi mnoga druga zdravila povzročajo preobčutljivost tipa 2. Skupno vsem reakcijam je, da **nastajajo protitelesa proti molekulam določene zdravila**; vrsta nastalega zboljenja pa je odvisna od tega, na katere celice in tkiva se zdravilo veže. Zdravilo proti malariji kinidin se npr. veže na trombocite, zato nastanek protiteles proti njemu povzroči uničenje trombocitov, posledica je nagljenost h krvavitvam (trombocitopenična purpura).

REAKCIJE TIPA 3 (KI JIH POVZROČAJO IMUNSKI KOMPLEKSI)

V tip 3 uvrščamo preobčutljivostne reakcije, ki nastanejo zaradi kopičenja imunskih kompleksov (kompleksov antigen-protitelo). Ti so različno veliki in v njih so antigeni in protitelesa v različnih molekularnih razmerjih. Najprej nastajajo kompleksi v prebitku antigena, po nekaj dneh pa v prebitku protiteles. Ob relativnem prebitku protiteles nastanejo veliki kompleksi, ki precipitirajo in se lokalizirajo tam, kjer vstopa antigen. Taki kompleksi lahko povzročijo akutno vnetje, ki ga ime-

nujemo Arthusov pojav. Ob prebitku antigena pa lahko nastanejo topni kompleksi, ki krožijo po krvi. Nekateri krožeči kompleksi se odlagajo v različnih tkivih, npr. v sklepih in ledvicah, kjer povzročajo vnetje. Taka bolezenska znamenja se pojavijo pri **sindromu serumske bolezni**. Imunski kompleksi sodelujejo tudi v patogenezi številnih drugih bolezni, kjer pa mehanizem nastajanja, odlaganja in delovanja še ni v celoti pojasnjen (npr. pri glomerulonefritisu, revmatoidnem artritisu).

Nakopičeni imunski kompleksi aktivirajo vnetne mediatorje, zlasti proteine iz skupine komplementnega sistema. Klinične posledice vnetja so odvisne od mesta kopičenja imunskih kompleksov. Če ti nastajajo v krvi, povzročijo vnetne okvare krvnih žil (vaskulitis) in tkiv, ki filtrirajo kri, pri čemer so zlasti ogroženi ledvični glomeruli.

Arthusov pojav

Pojav je dobil ime po francoskem fiziologu Arthusu, ki je vbrizgaval kuncem subkutano vsak teden konjski serum. Sprva ni bilo nobene reakcije, po več tednih, ko so nastale velike količine protiteles, pa je vsaka injekcija povzročila lokalizirano vnetno reakcijo na mestu vbrizganja antigena. Arthusov pojav so opisali tudi pri človeku. **Nastane zaradi imunskih kompleksov, ki vežejo komplement in pritegnejo granulocite**. Njihovi lizosomski encimi, ki se sproščajo ob požiranju in prebavljanju imunskih kompleksov, povzročajo okvaro tkiva. Dodatna okvara nastane tudi zaradi aktivacije komplementa.

Značilno Arthusovo reakcijo lahko prikazemo tako, da najprej intravensko vbrizgamo antiserum in nato v kožo ustreznega antigena. Na mestu vbrizganja antigena nastane vnetje. V praksi lahko Arthusovo reakcijo opazujemo pri ljudeh z velikimi količinami protiteles proti različnim mikro-

organizmom (npr. *Thermoactinomyces vulgaris* in *Aspergillus* spp.), ki uspevajo v razpadajočem rastlinju (v silosih pri temperaturi 45 do 60 °C). Kadar taki ljudje vdihavajo spore oz. delce teh mikrobov, se lahko razvijejo hude lokalizirane okvare pljuč (farmarska pljuča).

Sindrom serumske bolezni

Sindrom serumske bolezni delimo na **akutno** in **kronično serumsko bolezen**.

a) Mehanizem akutne serumske bolezni so analizirali pri kuncih in ljudeh, ki so jim vbrizgali velike količine tuje beljakovine (npr. govejega albumina) v enkratnem odmerku. Bolezen postane vidna od 7 do 14 dni po prvem vbrizganju antigena. V tem času se raven antigena zniža, vendar je še zadosti visoka, da potem ko se pojavijo protitelesa, nastanejo majhni topni kompleksi (pri prebitku antigena), ki povzročajo žariščne žilne okvare v koronarnih arterijah, glomerulih (akutni glomerulonefritis) in drugih tkivih. V že senzibiliziranem prejemniku pa se reakcija pojavi hitreje, in sicer po 3 do 4 dneh (sekundarni protitelesni odziv), za njen nastanek pa je treba tudi manj antigena.

b) Če vbrizgavamo antigen vsak dan dalj časa, postane lahko serumska bolezen kronična. Nastajajo vedno novi kompleksi, ki se največkrat odlagajo v glomerulih. Znamenja akutnega vnetja so manj izražena, zaradi njegove kroničnosti pa lahko pride do nepopravljivih okvar, zlasti ledvic. Kronična serumska bolezen značilno spremlja nekatere bolezni avtoimunskega izvora, pri katerih je imunski sistem kronično izpostavljen določeni količini avtoantigenov - npr. sistemski eritematozni lupus, membranski glomerulonefritis, revmatoidni artritis.

Poudariti je treba, da je nastajanje imunskih kompleksov sicer vsakodnevni pojav

v zdravem organizmu, katerega imunski sistem se normalno odziva na tuje molekule, ki vdirajo v telo iz okolja. Takšne imunске komplekse sproti fagocitirajo fagocitne mononuklearne celice (zlasti nevtrofilci in monociti) in jih na ta način odstranjujejo iz krvnega obtoka. Zapleti navadno nastanejo pri **preobilnem nastajanju imunskih kompleksov**, ki jih fagociti ne zmorejo odstraniti. To se dogaja, kadar se v telesu pojavi velika količina tujih molekul - antigenov. Največkrat gre za bakterijske, virusne, parazitske ali glivične antigene; vdoru mikrobov sledi protitelesni odziv, nastali imunski kompleksi pa se nalagajo in povzročajo vnetje na mestih kopičenja. Včasih velike količine antigenov pridejo v telo hoteno, z vbrizgavanjem - zlasti zdravila (kinidina, penicilina, zaščitnih serumov), včasih tudi drugih snovi (heroina). Poleg eksogenih antigenov, ki povzročijo nastanek imunskih kompleksov, lahko pri drugih boleznih protitelesa nastajajo proti lastnim tkivom, celicam in proteinom. Razumljivo je, da lahko pri tem nastaja veliko imunskih kompleksov, ki jih fagociti ne zmorejo odstraniti. To so zlasti avtoimunske bolezni.

REAKCIJE TIPA 4 (KI JIH POVZROČAJO LIMFOCITI T)

Ta vrsta preobčutljivosti je znana tudi kot **tuberkulinski tip** preobčutljivosti. Opazovali so jo takrat, ko so ugotavljali imunski odziv proti antigenom *M. tuberculosis*.

Reakcije tipa 4 začenjajo senzibilizirani limfociti T. Gre pravzaprav za osnovno reakcijo kakršnega koli specifičnega imunskega odziva, ki se začne s tem, da celica T pomagalka z antigenskim receptorjem prepozna antigen, nato pa s svojimi izločki - limfokini - usmeri druge imunske celice (limfocite B, citotoksične limfocite T) v specifično imunsko reakcijo. Ob prvem stiku z antigenom prepoznavajo limfociti T antigene le, če jih prej fagocitirajo specializirane antigen predstavljajoče celice

(tkivni makrofagi) – APC. Pri poznejšem stiku z antigenom lahko limfocitom T predstavljajo antigene tudi druge celice (limfociti B, endotelijske celice), zato je aktivacija limfocitov, ki so že bili v stiku z antigenom, lažja od aktivacije limfocitov T ob prvem stiku z antigenom.

Aktivirane celice T pomagalko z limfokini omogočajo aktivacijo citotoksičnih limfocitov T. Slednji vsebujejo citotoksične granule, katerih vsebino izločajo proti celicam, ki na površinah izražajo antigenske molekule. V citotoksičnih granulah so različni toksini (perforin, TNF, encimi), ki uničijo napadeno celico. Citotoksične celice tako uničujejo zlasti z virusi in drugimi znotrajceličnimi paraziti okužene celice, verjetno tudi tumorske celice. Sočasno s citotoksično reakcijo povzroči izločanje limfokinov (IL-2, IFN, TNF) tudi privabljanje vnetnih celic (nevtrofilcev, monocitov) in njihovo aktivacijo. Izločki limfocitov in preostalih celic povečajo prepustnost žilja, povzročijo nabiranje fibrina ob žilju in v tkivu, aktivacija koagulacijskih mehanizmov pa povzroči induracijo tkiva. Vnetna poškodba tkiva je odvisna od jakosti reakcije; močna reakcija lahko povzroči tudi odmrtnje (nekrozo) vnetega tkiva.

Ker je tip 4 pravzaprav temeljni celični imunski odziv, govorimo o preobčutljivosti tipa 4 le, če presodimo, da reakcija organizmu bolj škoduje zaradi vnetne okvare tkiva, kot pa mu koristi zaradi imunske obrambe proti antigenu.

Vsi 4 opisani tipi preobčutljivostnih imunskih reakcij so del normalnega imunskega dogajanja pri zdravem človeku. Molekule IgE (reakcija tipa 1) so npr. koristne pri parazitskih infekcijah. Ob vdoru parazita v tkivo protitelesa IgE aktivirajo bazofilce, katerih izločki privabijo eozinofilce, ki zelo učinkovito uničujejo parazite. Kadar nastaja odziv IgE proti neškodljivim antigenom (cvetnemu prahu, zdravi-

lom), pa tak imunski odziv organizmu zgolj škoduje. Protitelesa razreda G in M zagotavljajo zlasti obrambo proti zunajceličnim bakterijam in le kadar pride do napake pri tolerančnih mehanizmi, nastajajo protitelesa tudi proti lastnim telesnim celicam (avtoimunost). Imunski kompleksi so normalen odziv protitelesne obrambe; bolezen zaradi njih (preobčutljivost tipa 3) nastane le, kadar jih na neprimernem mestu nastaja preveč ali pa so okvarjeni mehanizmi, ki skrbijo za njihovo odstranjevanje iz organizma (fagocitne celice). Aktivacija limfocitov T ponavadi zagotavlja aktivacijo in usklajeno obrambo proti mikrobom. Kadar aktivacija limfocitov T organizmu bolj škoduje, kot koristi, govorimo o preobčutljivosti tipa 4.

AKUTNO IN KRONIČNO VNETJE MED OKUŽBAMI

Vnetje je odziv okvarjenega tkiva, pri katerem se močno poveča njegova obrambna (zlasti protimikrobna) zmožnost (kopičenje imunskih celic in njihova aktivacija). Hkrati z aktivacijo obrambnih sposobnosti okvarjenega tkiva potekajo tudi obnovitveni procesi, katerih namen je zaceliti okvaro.

Vnetje delimo na akutno in kronično. Akutno traja praviloma nekaj minut do nekaj dni, značilne vnetne celice v tkivu so nevtrofilci. Pomembne sprožilne molekule akutnega bakterijskega vnetja so nekateri deli bakterijske stene (lipopolisaharid, lipoteihoična kislina, peptidoglikan), ki po eni strani privabljajo in aktivirajo nevtrofilce, po drugi strani pa aktivirajo kaskado proteinov komplementa po alternativni poti. Mediatorji, ki se sproščajo ob akutnem vnetju, povzročijo razširjenje kapilar (povečana prekrvljenost) ter povečan prehod plazme (edem) in

vnetnih celic iz kapilar v tkiva. Sestavine bakterijske stene (zlasti lipopolisaharid) in aktivirani proteini komplemента spodbujajo tudi tkivne makrofage k izločanju IL-1, IL-6 in TNF. Ti mediatorji z delovanjem na možganski termoregulacijski center povzročijo dvig telesne temperature, v jetrih sprožijo sintezo proteinov akutne faze vnetja (C-reaktivni protein, antitripsin alfa₁, amiloid A in P itd.), v večjih množinah pa lahko povzročijo znake septičnega šoka. Mogoči izhodi akutnega vnetja so: obnova prizadetega tkiva, zabrazgotinjenje (nadomestitev funkcionalnega tkiva z vezivom), absces in kronično vnetje.

Kronično vnetje traja dlje časa, njegovo vzdrževanje pa praviloma omogoča medsebojno sodelovanje makrofagov in limfocitov T. Kronično vnetje navadno sledi akutnemu vnetju zato, ker povzročitelj vztraja v tkivu in ga obrambni mehanizmi ne zmorejo odstraniti. V drugih primerih gre za ponavljajoča se akutna vnetja, ki nastajajo zaradi zaporednih tkivnih okužb (npr. vnetje zobne pulpe pri nezdravljenem karioznem zobu). Kronično vnetje pa se lahko začne tudi brez predhodnega akutnega vnetja. To se zlasti dogaja pri okužbah z znotrajceličnimi mikrobi (mikobakterije, virusi), ki razmeroma malo okvarjajo tkivo, toda sprožijo močno celično imunsko reakcijo. Podobno vnetje se dogaja tudi pri imunski reakciji na nekatere nerazgradljive snovi, ki pridejo v tkivo (npr. silikoza ali azbestoza v pljučih), ali pri imunski reakciji, usmerjeni proti lastnim tkivom (avtoimunske bolezni).

Za vzdrževanje kroničnega vnetja je torej potrebno medsebojno spodbujanje makrofagov in celic T pomagalk, ki nastane zaradi kronične prisotnosti antigenskih molekul v tkivu. Kronična prisotnost antigenov v tkivu pa nastane bodisi zaradi ponavljajočih se okužb (npr. kronično

obkoreninsko zobno vnetje zaradi karioznega zoba) bodisi zaradi posebnih lastnosti antigenov, ki so odporni proti makrofagni razgradnji in zato ostajajo v tkivu (npr. silikoza pljuč, tuberkulozno vnetje).

LITERATURA ZA NADALJNI ŠTUDIJ

Hausler, W. J. Jr., Sussman, M. Bacterial infections. V: Collier, L., Balows, A., Sussman, M., ur. Topley and Wilson's microbiology and microbial infections. 9. izdaja, 3. zv. London: Arnold; 1998.

Murray, P. R., Baron, E. J., Pfaller, M. A., Tenover, F. C., Tenover, R. H., ur. Manual of clinical microbiology. 7. izdaja. Washington: ASM; 1999.

Roitt, I., Brostoff, J., Male, D. Immunology. 4. izdaja. London: Mosby; 1996.