

Obilježja imunoreakcija u respiratornim infekcijama

Characteristics of Immune Reactions in Respiratory Infections

Alenka Gagro

Odsjek za celularnu imunologiju

Odjel za istraživanje i razvoj

Imunološki zavod

10000 Zagreb, Rockefellerova 10

Sažetak Imunoreakcija u respiratornoj infekciji mora biti brza i učinkovita u prevenciji infekcija koje su potencijalno letalnog ishoda. Međutim, pretjerana i neadekvatna upalna i imunosna reakcija može značajno oštetiti tkivo pluća i poremetiti respiracijsku funkciju. Prvu liniju obrane čine mukus i trepetljike respiratornog epitela, a zatim medijatori koji predstavljaju prirodenu imunost. Ti medijatori (npr. laktoferin, lizozim, kolektini i defenzini) mogu direktno lizirati mikroorganizme ili ih uništiti opsonizacijom i mobilizacijom upalnih stanica. Specifična imunost uključuje lučenje antitijela i T-limfocite. Različite podgrupe T-limfocita koji izlučuju Th1 ili Th2-tipične citokine mogu značajno utjecati na odstranjenje mikroorganizma u plućima i inducirati oštećenje tkiva ovisno o vrsti citokina koje izlučuju.

Ključne riječi: prirodna imunost, specifična imunost, antitijela, T-limfociti

Summary The immune response to respiratory infection must be rapid and efficient in preventing those with a potential lethal outcome. However, the excessive or inappropriate inflammatory and immune responses could lead to destruction of lung tissue thus grossly affecting respiratory function. The first line of defence comes from barriers such as mucus and cilia, followed by mediators that constitute the innate response. Activation of these mediators (i.e. lactoferrin, lysozyme, collectins and defensins) can lead directly to lysis of pathogens, or to destruction through opsonisation or the recruitment of inflammatory cells. The adaptive immune response includes the production of antibodies and the responses of T lymphocytes. Different subsets of T lymphocytes secreting Th1- or Th2-associated cytokines may dramatically alter the balance between clearance of the pathogen from the lung and induction of tissue damage depending on the cytokines they secrete.

Key words: innate immunity, adaptive immunity, antibodies, T cells

Činjenica da se respiratorne infekcije razvijaju i u zdravih osoba upućuje na sposobnost mikroorganizama da zaobiđu imunosne mehanizme koji su se evolucijski razvili kako bi reducirali invazivnost, virulenciju i perzistenciju tih patogena. U ljudi su pluća osobito izložena velikom broju potencijalnih mikroorganizama zahvaljujući udisanju od oko 10 000 litara zraka na dan u odrasle osobe.

Nespecifična imunost u respiratornim infekcijama

Cilj imunoreakcije u plućima je brzo odstranjenje mikroorganizama kako bi se izbjeglo oštećenje tkiva i plućne funkcije te razvoj kronične infekcije.

Intaktne sluznice, trepetljike respiratornog epitela, zaštitne molekule u slini i sekretu u respiratornim putovima prve su zapreke koje sprječavaju respiratorne infekcije. Neposredno nakon ulaska mikroorganizma u dišni sustav različiti čimbenici, a potom i stanice nespecifične imunosti, nastoje obraniti tijelo različitim mehanizmima (1).

Mucini koji se nalaze u sekretu hvataju te mikroorganizme i potom ih nastoje odstraniti gibanjem cilija. U toj ranoj fazi infekcije specifična antitijela mogu neutralizirati mikroorganizme, npr. viruse i spriječiti njihov ulazak u stanice. U sekretu dišnih putova nalaze se različiti topljivi čimbenici koje izlučuju stanice respiratornog trakta i koji posjeduju endogeno antimikrobno djelovanje te su dio tzv. nespecifične

imunosti. Tablica 1. prikazuje najvažnije čimbenike nespecifične imunosti čija se koncentracija značajno povisuje u infekcijama, a ovisi i o koncentraciji soli u sekretu dišnih putova (2). Ti medijatori mogu direktno lizirati mikroorganizme ili ih uništiti opsonizacijom i mobilizacijom upalnih stanica.

Tablica 1. Molekule koje imaju različite uloge u respiratornim infekcijama

Upalni medijatori	Kemotaksijski medijatori	Antimikrobni medijatori
citokini	CAP-18/LL-37	CAP-18/LL-37
kemokini	β -defenzini	β -defenzini
leukotrijeni	kemokini	lizozim
kalprotektini	leukotrijeni	laktoferin
		SLPI
		elafin
		kalprotektin
		fosfolipaza A2
		SP-A, SP-D
		anionski peptidi

Legenda:

CAP-18 = kationski protein 18

SLPI = inhibitor sekrecijske leukocitne proteinaze

SP = surfaktant

Lizozim koji izlučuju epitelne stanice, makrofazi i žlijezde u respiratornom traktu osobito je učinkovit protiv gram-pozitivnih bakterija (3).

Laktoferin također pridonosi zaštiti od infekcija jer može ubiti i/ili aglutinirati bakterije vežući se za ugljikohidrate na njihovoj površini i stimulirajući izlučivanje superoksida.

α i β -defenzini imaju široku mikrobicidnu aktivnost protiv gram-pozitivnih i gram-negativnih bakterija, mikobakterija, gljiva i virusa (4). Osim u respiratornom traktu te molekule imaju važnu antimikrobnu ulogu i u probavnom i urogenitalnom sustavu. Značajno je da izlučivanje defenzina povećava proupalni citokin interleukin 1 (IL-1). Osim što potiču permeabilizaciju, aktiviraju i komplement alternativnim putem. Danas su posebno dobro istražena djelovanja trahealnog antimikrobnog peptida (TAP) čija se koncentracija izrazito povisuje u prisutnosti lipopolisaharida (LPS).

U **kolektine** ubrajamo velik broj proteina koji prepoznaju i vežu se za ugljikohidrate na površini bakterija i virusa te potiču imunoreakcije aktivacijom komplementa alternativnim putem i direktnom aktivacijom makrofaga te limfocita. Najvažniji kolektini su **surfaktanski protein A (SP-A) i D (SP-D)** te **lektin** koji veže manane (5).

Osim izlučivanja antimikrobnih peptida, epitelne stanice izlučuju i topljive čimbenike kojima privlače fagocite. Ovi će odstraniti mikroorganizme koje nije uspio

eliminirati respiratorni epitel te dendritičke stanice i limfocite i tako započeti specifičnu imunoreakciju u plućima. Na površini sluznica nalaze se receptori koji prepoznaju molekularne obrasce tipične za mikroorganizme (PAMP, od engl. pathogen-associated molecular pattern) koji su obično dijelovi bakterijske ovojnice (npr. lipopolisaharid, proteoglikani) ili dijelovi bakterijske ili virusne DNK odnosno RNK. Grupa receptora koju zovemo receptori slični Tollu (prvi put su opisani u vinske mušice) prepoznaju PAMP-ove na mikroorganizmima te preko adaptorskih unutarstaničnih proteina, kao što je MyD88, aktiviraju signalne kinaze. Te kinaze fosforiliraju unutarstanične proteine i aktiviraju molekule važne za transkripciju različitih proteina kao što su proupalni citokini IL-1, TNF- α i IL-6. Tablica 2. prikazuje PAMP-ove koji sudjeluju u prepoznavanju mikroorganizama na epitelnim stanicama dišnog sustava (6).

Pored dijelova mikroorganizama i neke efektorske molekule prirodene imunosti vežu se za TLR-e. Tako SP-A veže TLR4 i aktivira makrofage. β -defenzin-2 također se veže za TLR4, i to na dendritičkim stanicama i povećava sazrijevanje i ekspresiju kostimulacijskih molekula na tim stanicama. Usprkos dosadašnjim saznanjima o djelovanju antimikrobnih peptida njihova

Tablica 2. Najvažniji primjeri receptora koji prepoznaju dijelove mikroorganizama

Receptor	Ligand	Mikroorganizam
TLR1	Triacil-lipopeptidi	
TLR2	Lipoteihoična kiselina, peptidoglikan, lipoproteini, lipopeptidi, HSP70 (endogeni)	gram-pozitivni gram-negativni gljive
TLR3	Dvostruko uzvojita RNK	
TLR4	LPS, HSP60 i 70 (endogeni), dijelovi hijaluronske kiseline	gram-negativni RSV (glikoprotein G)
TLR5	Flagelin	
TLR6	Diacil-lipopeptidi	
TLR7	Sintetske komponente	
TLR8		
TLR9	CpG DNK	
TLR10		
TLR11		
CD14	LPS	
CFTR	LPS	

Legenda:

HSP = heat shock protein

CpG = bakterijska deoksiribonukleinska kiselina koja sadržava nemetilirane CpG-sljedove

LPS = lipopolisaharid

CFTR = transmembranski regulator prijenosa kod cistične fibroze

Tablica 3. Primjeri plućnih bolesti u kojima je nađena povišena koncentracija antimikrobnih peptida

Vrsta	Izvor	Povišena razina u plućnim bolestima
α -defenzini	epitelne stanice, upalne stanice	pneumonije, cistična fibroza, panbronhiolitis, ARDS, kronični bronhitis, idiopatska plućna fibroza
β -defenzini (BD)	epitelne stanice	pneumonija
BD-1	monociti/makrofazi	cistična fibroza
BD-2	dendritičke stanice	panbronhiolitis
BD-3		
BD-4		
katelicidin	epitelne stanice	pneumonija
CAP-18/LL-37	neutrofil	sarkoidoza

Legenda:

ARDS = akutni respiratorni distress-sindrom

uloga u ljudskim bolestima još je slabo poznata. Tablica 3. prikazuje različite bolesti u kojima je koncentracija antimikrobnih peptida povišena (7).

Imunoglobulin A (IgA) najvažniji je imunoglobulin u dišnim putovima zdravih osoba. Na osnovi eksperimentalnih rezultata dobivenih u CD4-deficijentnih miševa čini se da izlučivanje IgA, za razliku od izlučivanja IgG i IgE, nije dio imunoreakcija ovisnih o T-limfocitima jer ti miševi imaju normalnu sekreciju IgA. Međutim, osobe s nedostatkom IgA sklonije su kroničnim respiratornim infekcijama te su infekcije virusom influence i respiratornim sincicijskim virusom (RSV) u tih osoba značajno teže (8, 9).

Izlučivanje **interferona** vrlo je važan dio nespecifične imunoreakcije u virusnim infekcijama (10). Interferone dijelimo u dvije skupine, tip I ili neimunosne interferone (IFN- α i IFN- β) i tip II ili imunosni interferon (IFN- γ).

Tip I interferona inhibira virusnu replikaciju i staničnu proliferaciju, povećava litičku sposobnost NK-stanica i mijenja ekspresiju MHC-molekula, ali pri tome ne djeluje na inficirane stanice. **Tip II interferona** izlučuju Th1-limfociti i NK-stanice. Oni aktiviraju makrofage i polimorfonuklearne leukocite, pojačavaju ubijanje te diferencijaciju Th1-limfocita pri citotoksičkim imunoreakcijama i sintezu antitijela IgG. Svi navedeni mehanizmi dovode do izlučivanja medijatora kao što su IL-8 i različiti kemokini te aktivacije komplementa kojima se privlače neutrofil i pluća. Aktivirani neutrofil zatim fagocitiraju i neutraliziraju mikroorganizme te izlučuju defenzine, TNF- α , IL-1 β i IL-6.

NK-stanice su osobito važne za obranu od virusnih infekcija (11). Uz Fc-receptore, na svojoj površini imaju velik broj receptora koji su važni za ubijanje virusima inficiranih stanica. Tako razlikujemo *ubilačke*

aktivacijske (KAR, od engl. killing activating receptor) i *ubilačke inhibicijske* molekule (KIR, od engl. killer inhibitory receptor). Svoje djelovanje NK-stanice usmjeravaju prema onim stanicama koje na svojoj površini imaju promijenjenu (sniženu ili je nema uopće) ekspresiju molekula HLA-klase I. Upravo virusna infekcija mijenja ekspresiju molekula HLA-klase I. Vežanjem NK-stanica za zdrave stanice KIR-molekule sprječavaju ubijanje tih stanica. Međutim, stanice zaražene virusom u odsutnosti inhibicijskih signala aktiviraju KAR-molekule i započinju ubijanje tih stanica. Dva su glavna mehanizma kojima NK-stanice ubijaju inficirane stanice: preko solubilnih faktora (*perforina* i *granzima*) smještenih u granulama unutar NK-stanica i nakon staničnog kontakta između molekule FAS na inficiranoj stanici i njezina liganda FAS-L na NK-stanici. Polimerizacijom perforina nastaju pore na membrani inficirane stanice kroz koje u njezinu unutrašnjost ulaze granzimi i cijepaju inhibitor deoksiribonukleaze aktivirane kaspazom. Taj enzim potom započinje ireverzibilnu razgradnju DNK inficirane stanice. U RSV-infekciji, NK-stanice potaknute IL-12, vrlo brzo i značajno ranije od T-limfocita specifičnih za virus počinju izlučivati IFN- γ kojim omogućuju efikasnu eliminaciju RSV-a iz pluća (12).

Specifična imunost u respiratornim infekcijama

Slično ostalim tjelesnim odjeljcima, specifična imunost u plućima ovisi o specifičnom prepoznavanju stranih mikrobnih antigena receptorima na T i B-limfocitima. Za razliku od prirodne (nespecifične) imunosti, stečena imunost razvija se tek nakon prepoznavanja i procesiranja antigena te sazrijevanja T i B-limfocita u efektorske stanice (13). Stoga je za razvoj tih imunoreakcija u respiratornim infekcijama potrebno vrijeme za razliku od imunoreakcija prirodne imunosti. Važno obilježje stečene imunosti na viruse je memorija jer se pri ponovnom susretu s mikroorganizmom imunoreakcija odvija brže i snažnije zahvaljujući postojanju memorijskih T i B-limfocita specifičnih za antigen. U slučajevima kada smo već bili u kontaktu s nekim mikroorganizmom ili smo cijepljeni imamo cirkulirajuća specifična antitijela IgG-klase. Neka od tih antitijela neutraliziraju mikroorganizme ako prepoznaju vitalno važne strukture na njihovoj površini. Ostala antitijela pomažu pri infekciji tako da opsoniziraju mikroorganizme, aktiviraju komplement i olakšavaju fagocitozu mikroorganizama.

Pomoćnički T-limfociti (imaju na površini CD4) izlučuju citokine kojima stimuliraju ili aktiviraju ostale stanice (14). Pomoćnički T-limfociti nakon prepoznavanja antigena se diferenciraju iz Th0 u upalne (**Th1**) i u pomoćničke (**Th2**) limfocite. Th1-limfociti luče IFN- γ , IL-2 i TNF koji aktiviraju makrofage i citotoksičke T-limfocite te su osobito važni pri reakcijama na viruse. Th2-limfociti proizvode IL-4, IL-5, IL-10 i IL-13 kojima

stimuliraju B-limfocite na proizvodnju antitijela te privlače eozinofile. Glavni čimbenici koji usmjeruju diferencijaciju T-limfocita su citokini IL-4 (prema Th2) i IL-12 (Th1). U imunskim reakcijama koje se zbivaju u plućima, sarkoidoza predstavlja tipičan primjer u kojem prevladava Th1-okoliš karakteriziran izlučivanjem IFN- γ i ekspresijom receptora za IL-12 na površini T-limfocita, a aspergiloza primjer infekcije u kojem prevladava Th2-imunoreakcija. I u jednom i u drugom patološkom stanju, međutim, dolazi do značajnog oštećenja plućnog tkiva čime se još jednom naglašava važnost kontrole opsega upalne reakcije (15).

Pored tzv. $\alpha\beta$ T-limfocita, u zaštiti od respiratornih infekcija imaju važnu ulogu i tzv. **$\gamma\delta$ T-limfociti**. Eksperimentalne životinje koje nemaju $\gamma\delta$ T-limfocita osobito su osjetljive za infekcije mikobakterijama, nokardijama i klepsijelama (16-18).

Citotoksički T-limfociti (CTL; CD8+) za razliku od prirodenoubilačkih stanica (NK-stanica), ubijaju ciljane stanice nakon što na njima prepoznaju antigene za koje su specifični (za Ag specifično ubijanje) izlučujući perforine i granzime koji omogućuju razaranje ciljane stanice (19). Slično NK-stanicama, pored solubilnih i neke membranske strukture (FAS-L) na CTL-ima

sudjeluju pri ubijanju ciljnih stanica. Zahvaljujući klonskoj ekspanziji, broj specifičnih citotoksičkih T-limfocita u akutnoj infekciji dramatično raste i opisano je da se njihov broj povisi i do 1000 puta (npr. u influenci).

Nove metode u procjeni imunosti u respiratornim infekcijama

Metodama molekularne biologije (PCR, hibridizacija *in situ*), analizom topljivih čimbenika i staničnih imunoreakcija u dišnom sustavu nastojimo ispitati patoimunološke mehanizme u različitim respiratornim infekcijama. Većina metoda koje se sada rabe, međutim, nije standardizirana i ne rabi se u rutinskoj dijagnostici. Do sada su se uspješno razvile metode kojima se analizira vrsta, broj i relativni udio različitih stanica u bronhoalveolarnom ispirku (BAL) metodama protočne citometrije i analiza citokina koje izlučuju T-limfociti (20, 21). Pored tih metoda, nastoje se razviti i one koje bi analizirale citotoksičke T-limfocite specifične za virus u inficiranih bolesnika metodom MHC-tetramera u BAL-u (22).

Literatura

- BALS R, HIEMSTRA PS. Innate immunity in the lung: how epithelial cells fight against respiratory pathogens. *Eur Respir J* 2004; 23: 327-33.
- BOYTON RJ, OPENSHAW PJ. Pulmonary defences to acute respiratory infection. *Br Med Bull* 2002;61: 1-12.
- DAJANI R, ZHANG Y, TAFT PJ, TRAVIS SM, STARNER TD, OLSEN A i sur. Lysozyme secretion by submucosal glands protects the airway from bacterial infection. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2005;32:548-52.
- COLE AM, WARING AJ. The role of defensins in lung biology and therapy. *Am J Respir Med* 2002;1:249-59.
- WRIGHT JR. Immunoregulatory functions of surfactant proteins. *Nat Rev Immunol* 2005; 5: 58-68.
- STAROS EB. Innate immunity: New approaches to understanding its clinical significance. *Am J Clin Pathol* 2005;123:305-12.
- BASU S, FENTON MJ. Toll-like receptors: function and roles in lung disease. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004;286:L887-L892.
- WALSH EE, FALSEY AR. Humoral and mucosal immunity in protection from natural respiratory syncytial virus infection in adults. *J Infect Dis* 2004;190:373-8.
- BRANDTZAEG P. Role of mucosal immunity in influenza. *Dev Biol (Basel)*. 2003;115:39-48.
- ANTONIOU KM, FERDOOTSIS E, BOUROS D. Interferons and their application in the diseases of the lung. *Chest* 2003; 123:209-16.
- LANIER LL. NK cell recognition. *Annu Rev Immunol* 2005;23:225-74.
- HUSSELL T, OPENSHAW PJ. Intracellular IFN-gamma expression in natural killer cells precedes lung CD8+ T cell recruitment during respiratory syncytial virus infection. *J Gen Virol* 1998;79:2593-601.
- UPHAM JW. The role of dendritic cells in immune regulation and allergic airway inflammation. *Respirology* 2003;8:140-8.
- SINIGAGLIA F, D'AMBROSIO D. Regulation of helper T cell differentiation and recruitment in airway

- inflammation. Am J Respir Crit Care Med 2000;162: S157-S160.
15. BOT A, SMITH KA, VON HERRATH M. Molecular and cellular control of T1/T2 immunity at the interface between antimicrobial defense and immune pathology. DNA Cell Biol 2004;23:341-50.
 16. SAUNDERS BM, FRANK AA, COOPER AM, ORME IM. Role of gamma delta T cells in immunopathology of pulmonary *Mycobacterium avium* infection in mice. Infect Immun 1998;66:5508-14.
 17. TAM S, KING DP, BEAMAN BL. Increase of gammadelta T lymphocytes in murine lungs occurs during recovery from pulmonary infection by *Nocardia asteroides*. Infect Immun 2001;69:6165-71.
 18. MOORE TA, MOORE BB, NEWSTEAD MW, STANDIFORD TJ. Gamma delta-T cells are critical for survival and early proinflammatory cytokine gene expression during murine *Klebsiella pneumoniae*. J Immunol 2000;165:2643-50.
 19. WOODLAND DL, HOGAN RJ, ZHONG W. Cellular immunity and memory to respiratory virus infections. Immunol Res 2001;24:53-67.
 20. DE BLIC J, MIDULLA F, BARBATO A, CLEMENT A, DAB I, EBER E i sur. Bronchoalveolar lavage in children. ERS Task Force on bronchoalveolar lavage in children. European Respiratory Society. Eur Respir J 2000;15:217-31.
 21. BENDELJA K, GAGRO A, BACE A, LOKAR-KOLBAS R, KRSULOVIC-HRESIC V, DRAZENOVIC V i sur. Predominant type-2 response in infants with respiratory syncytial virus (RSV) infection demonstrated by cytokine flow cytometry. Clin Exp Immunol 2000;121:332-38.
 22. KOSOR E, GAGRO A, DRAŽENOVIĆ V, KUZMAN I, JEREN T, RAKUŠIĆ S i sur. MHC-tetrameri: na tragu specifičnoj imunosti. Acta Med Croatica 2003;7: 255-9.

Andol[®]C



Za obavijesti o indikacijama, mjerama opreza i nuspojavama upitajte svog ljekarnika.

Kada Vi to želite

www.andolc.com.hr

Andol C brzo i učinkovito ublažava simptome prehlade. Zahvaljujući obliku šumeće tablete aktivna tvar dolazi u želudac već otopljena zbog čega je djelovanje dvostruko brže nego kod običnih tableta.

Dodana puferska supstanca omogućuje veću sigurnost za želudac.

Jeste li znali da jedna tableta Andola C sadrži vitamina C koliko i 11 limuna!?



PLIVA HRVATSKA d.o.o.
Ulica grada Vukovara 49, Zagreb
www.pliva.hr

... zajedno prema zdravlju  **PLIVA**