

CUPRINS

Capitolul 1. OBIECTUL IMUNOLOGIEI.....	11
Capitolul 2. ISTORICUL IMUNOLOGIEI.....	12
Mihai CARP-CĂRARE	
Capitolul 3. SISTEMUL IMUNITAR.....	16
<i>Dorina TIMOFTE</i>	
3.1. Conceptul de self și non self.....	17
3.2. Conceptul de repertoriu.....	17
3.3. Răspunsul imun ca o reacție adaptativă a organismului.....	18
3.4. Implicațiile sistemului imunitar în patologie.....	20
Capitolul 4. ELEMENTELE SISTEMULUI IMUN.....	21
<i>Dorina TIMOFTE</i>	
4.1. Organele limfoide primare (centrale).....	22
4.2. Organele limfoide secundare (periferice).....	24
4.3. Dezvoltarea și maturarea țesuturilor limfatice.....	26
4.4. Circulația limfocitelor.....	27
Capitolul 5 DIFERITE ASPECTE ALE IMUNITĂȚII.....	30
Mihai CARP-CĂRARE, Dorina TIMOFTE	
5.1. Definiția imunității și clasificarea stărilor de imunitate..	30
5.2. Imunitatea naturală sau esențială	31
5.3. Factorii implicați în imunitatea naturală.....	31
5.3.1. Barierele naturale.....	34
5.3.2. Factorii umorali.....	35
5.3.3. Factorii celulari.....	41
5.3.4. Modificarea imunității naturale.....	47
Capitolul 6. IMUNITATEA DOBÂNDITĂ.....	49
<i>Mihai CARP-CĂRARE</i>	
6.1. Imunitatea materno-fetală.....	51
Capitolul 7 ANTIGENELE.....	56
<i>Mihai CARP-CĂRARE, Dorina TIMOFTE</i>	
7.1. Structura unei molecule de antigen.....	56
7.2. Condițiile antigenității.....	57

7.3. Clasificarea antigenelor.....	60
7.4. Principalele categorii de antigene naturale.....	64
7.4.1. Antigenele bacteriene.....	64
7.4.2. Antigenele virale.....	66
7.4.3. Antigenele parazitare.....	66
7.4.4. Antigenele de grup sanguin si Rh.....	67
7.4.5. Antigenele de histocompatibilitate.....	68
7.4.6. Antigenele sechestrate	70
Capitolul 8. RĂSPUNSUL IMUN (IMUNOGENEZA).....	71
<i>Mihai CARP-CĂRARE, Dorina TIMOFTE</i>	
8.1. Efectorii umorali ai răspunsului imun (anticorpii).....	72
8.1.1. Structura imunoglobulinelor.....	73
8.1.2. Clasele de imunoglobuline.....	73
8.1.3. Biosinteza și catabolismul imunoglobulinelor.....	83
8.1.4. Dinamica imunoglobulinelor în răspunsul imun umoral.....	84
8.1.5. Unele particularități privind imunoglobulinele la animale.....	85
8.1.6. Anticorpii monoclonali. Teoria hibridomului.....	88
8.1.6.1. Tehnici de preparare a anticorpilor monoclonali.....	89
8.1.6.2. Aplicațiile în practică a anticorpilor monoclonali.....	91
8.1.7. Citokinele (monokine și limfokine).....	91
8.1.7.1. Interleukinele.....	92
8.1.7.2. Interferonii.....	96
8.1.7.3. Factorii de necroză tumorală.....	96
8.1.7.4. Neuroleukinele.....	97
8.1.7.5. Factorii de stimulare ai coloniilor celulare.....	97
8.1.7.6. Prostaglandinele.....	98
8.1.7.7. Factorii de transformare a creșterii (TGF).....	99
8.2. Efectorii celulari ai imunității.....	100
8.2.1. Ontogeneza limfocitelor.....	101
8.2.2. Ontogeneza limfocitelor B.....	103
8.2.3. Ontogeneza limfocitelor T.....	105
8.2.4. Metode de identificare a celulelor limfoide.....	110
8.2.5. Macrofagele (Mcf).....	115
8.2.6. Celulele Killer.....	118
8.2.7. Celulele Natural- Killer.....	120
8.3. Dinamica răspunsului imun.....	121
8.3.1. Reglarea genetică a răspunsului imun.....	128
Capitolul 9. SISTEMUL IMUN ÎN ACȚIUNE.....	130
<i>Mihai CARP-CĂRARE, Dorina TIMOFTE</i>	

9.1. Imunitatea antibacteriană.....	130
9.2. Imunitatea antivirală.....	133
9.3. Imunitatea antimicotică.....	141
9.4. Imunitatea antiparazitară.....	142
9.5. Imunitatea anti-grefă.....	148
9.6. Gestația: o relație specială gazdă-grefă.....	153
9.7. Imunitatea antitumorală.....	155
Capitolul 10. IMUNITATEA LOCALĂ.....	163
<i>Mihai CARP-CĂRARE</i>	
10.1. Imunitatea tractusului digestiv.....	163
10.2. Imunitatea tractusului respirator.....	167
10.3. Imunitatea tractusului uro-genital.....	170
10.4. Imunitatea glandei mamare.....	172
10.5. Imunitatea pielii.....	174
Capitolul 11. TOLERANȚA ȘI AUTOIMUNITATEA.....	181
<i>Mihai CARP-CĂRARE</i>	
11.1. Relația dintre toleranță și antigene.....	183
11.2. Relația limfocite- toleranță.....	184
11.3. Factorii care favorizează instalarea unei boli autoimune.....	187
11.4. Mecanismele ruperii toleranței.....	188
11.5. Boli autoimune	191
<i>Mihai CARP-CĂRARE, Dorina TIMOFTE</i>	
11.5.1. Lupusul eritematos diseminat (LED).....	191
11.5.2. Poliartrita reumatoidă.....	195
11.5.3. Reumatismul articular (febra reumatismală.....	196
11.5.4. Tiroidita Hashimoto.....	197
11.5.5. Orhita autoimună.....	198
11.5.6. Diabetul zaharat.....	199
11.5.7. Miastenia gravis.....	200
11.5.8. Sindromul Good – Pasture.....	202
11.5.9. Uveitele.....	202
11.5.9.1. Uveita recurentă ecvină (oftalmia periodică).....	203
11.5.10. Anemia pernicioasă.....	204
11.5.11. Anemia hemolitică autoimună (AHAI).....	204
Capitolul 12. SINDROAME DE IMUNODEFICIENȚĂ ȘI IMUNODEPRESIE	207
Mihai CARP-CĂRARE	
12.1. Imunodeficiențe primare (IDP) prin afectarea celulelor limfoide.....	208
12.2. Deficite primare ale fagocitelor și complementului.....	215
12.3. Imunodeficiențe secundare (IDS).....	218

Capitolul 13. STĂRILE DE HIPERSENSIBILITATE.....	226
<i>Mihai CARP-CĂRARE</i>	
13.1. Stările de hipersensibilitate imediată (SHI).....	227
13.2. Reacții citotoxice sau citolitice.....	233
13.3. Reacții mediate de complexe imune.....	237
13.4. Stările de hipersensibilitate tardivă (HST).....	244
13.5. Hipersensibilitatea stimuloare de tip V.....	245
Capitolul 14. IMUNOPROFILAXIA.....	247
<i>Mihai CARP-CĂRARE, Dorina TIMOFTE</i>	
14.1. Vaccinuri: definiție și clasificare.....	247
14.2. Vaccinuri vii și neatenuate.....	248
14.3. Vaccinuri vii atenuate.....	249
14.4. Vaccinuri vii inactivate și anatoxine.....	250
14.5. Vaccinurile obținute prin tehnologii moderne.....	252
14.6. Modul de aplicare al vaccinurilor.....	254
14.7. Serurile imune	257
14.8. Modul de preparare al unui ser.....	258
14.9. Modul de aplicare al serurilor.....	259
Capitolul 15. SUBSTANȚE IMUNOMODULATOARE, IMUNO- STIMULATOARE ȘI IMUNOADJUVANTE.....	260
<i>Mihai CARP-CĂRARE</i>	
15.1. Termenii folosiți pentru desemnarea substanțelor cu efect asupra sistemului imunitar.....	260
15.2. Clasificarea substanțelor imunomodulatoare.....	261
15.3. Modul de acțiune	263
15.3.1. Acțiuni asupra antigenului.....	263
15.3.2. Acțiuni asupra organismului gazdă.....	264
15.4. Modul de acțiune al unor imunoadjuvanți specifici.....	265
15.5. Produse chimice definite, bacteriene sau micotice.....	265
15.5.1. Micobacteriile.....	265
15.5.2. Lipopolizaharidele și polizaharidele.....	267
15.5.3. <i>Propionibacterium acnes</i> (<i>Corynebacterium parvum</i>).....	267
15.5.4. Endotoxinele bacteriene mixte.....	268
15.5.5. Avipox și Parapoxvirusurile. Alte virusuri.....	268
15.5.6. Saponinele.....	269
15.6. Produsele biologice ale sistemului imun și analogi sintetici.....	269
15.6.1. Interferonii.....	269
15.6.2. Hormonii timici și limfokinele.....	270
15.6.3. Homopolimerii ARN complementari dublu torsadați.....	270
15.7. Substanțe și preparate chimice.....	271
15.7.1. Compușii de cupru.....	271
15.7.2. Vitamina E și seleniul.....	272

15.7.3. Compușii de zinc.....	272
15.7.4. Compușii de aluminiu.....	272
15.7.5. Emulsiile uleioase.....	273
15.7.6. Levamisolul.....	274
15.7.7. Dinitroclorbenzenul (DNCB).....	275
15.7.8. Azimexon și Tufstin.....	275
15.7.9. Lipozomii.....	275
15.8. Inocuitatea adjuvanților.....	275
BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ.....	277

PREFAȚĂ

Imunologia este poate domeniul cel mai dinamic al biologiei, motiv pentru care completarea manualelor de specialitate cu date noi, devine necesară și în același timp destul de dificil de realizat.

Trecerea a aproape șase ani de la prima ediție a manualului de Imunologie și Imunopatologie face simțită nevoia reeditării manualului într-o formă actualizată. Discuțiile purtate între timp cu specialiștii sau studenții, cu referire la acest manual, au oferit numeroase sugestii ce au fost luate în considerare la redactare. Ca urmare s-au făcut o serie de modificări care, sperăm, vor face mai ușoară înțelegerea mecanismelor imunologice și imunopatologice.

Astfel, unele capitole au fost rescrise, adaptate sau reorganizate cu scopul creării unei mai bune continuități a textului. De asemenea au fost introduse numeroase imagini noi, au fost îmbunătățite cele deja existente, iar stilul redactării încearcă să ușureze lectura unui text dificil prin specificul său.

Exprimăm speranța că această nouă ediție va răspunde așteptărilor celor interesați și în primul rând al studenților și medicilor veterinari, cărora li se adresează.

Aducem mulțumirile noastre referenților științifici pentru amabilitatea cu care au răspuns invitației de a face parte din comisia de analiză și pentru contribuția adusă la finalizarea acestei lucrări.

AUTORII

CAPITOLUL 1

OBIECTUL IMUNOLOGIEI

Imunologia este o ramură a biologiei care se ocupă cu studiul imunității și a tuturor tipurilor și mecanismelor de răspuns imun.

Noțiunile de imunogenetică, imunochimie, imunopatologie, imunoprofilaxie și imunoterapie, constituie, de asemenea, obiectul imunologiei.

Ca știință, imunologia a apărut la sfârșitul sec. XIX, prin descoperirea metodelor de serologie, care au permis analizarea detaliată a reacțiilor de tip antigen - anticorp și derivă de la latinescul *immunis* = *scutit, apărat* și *logos* = *știință, doctrină*.

La începuturile ei, imunologia se ocupa cu studiul mecanismelor de rezistență antiinfecțioasă, acestea constituind în ansamblul lor starea de imunitate. În urma descoperirii implicației fenomenelor imunologice într-un număr mare de procese, optica asupra conținutului acestei discipline s-a schimbat în bună măsură.

Obiectul de studiu al imunologiei este privit astăzi, în raport de comportarea organismului față de structurile proprii (*self*) și improprii (*non-self*). Organismul are capacitatea de a recunoaște și de a deosebi selful de non-self, reacționând diferit față de aceste două structuri, după cum urmează: selful este recunoscut și acceptat, iar non-selful este respins (îndepărtat, distrus, neutralizat) sub acțiunea unor efectori imuni.

În sfera de studiu a imunologiei au fost cuprinse, de asemenea, toate modalitățile de acțiune a organismului atât față de structurile non-self cât și față de selful modificat sub acțiunea diferiților factori nocivi.

CAPITOLUL 2

ISTORICUL IMUNOLOGIEI

Imunologia, ca disciplină medicală, se diferențiază abia la sfârșitul secolului al XIX- lea, deși observații asupra rezistenței față de bolile difuzabile au existat încă din timpuri imemorabile.

În evoluția imunologiei se disting două perioade:

- ◆ Perioada observațiilor și remediilor empirice;
- ◆ Perioada științifică.

Perioada observațiilor și a remediilor empirice

Este cert că pentru crescătorii de animale, epizootiile au prezentat o preocupare și o teamă permanentă. Scrierile din antichitate evocă epizootii extinse și păguboase, dar descrierile simptomatologice sunt vagi și nu putem identifica, cu certitudine, care anume boli evoluau în acele timpuri.

În general, epizootiile erau percepute ca pedepse pe care zeii le aplicau oamenilor. Egiptenii clasificau pedepsele aplicate de IEHOVA în zece categorii punitive, din care, a cincea și a zecea pedeapsă, se referea la *ciuma* animalelor care se abătea, deopotrivă, peste cai, măgari, cămile, boi și oi (Exodul 9.3), precum și asupra noilor născuți, la oameni și animale (Exodul 11.5).

HOMER (Iliada II,1; 49-50) arăta că în timpul războiului Troiei, Apollon i-a pedepsit pe greci prin îmbolnăvirea în masă a animalelor, care a dus la moartea lor, boala cuprinzând ulterior și oamenii.

Observațiile acumulate în timpul marilor epidemii și epizootii au dus la desprinderea câtorva concluzii care au stat la baza tacticii aplicate în prevenirea bolilor infecțioase.

Astfel, popoarele din antichitate au recunoscut rolul contagiunii, fie direct, fie indirect, prin intermediul agenților de contaminare. Rolul

rezistenței antiinfecțioase este evocat de TUKIDIDE (II,51,6), în descrierea faimoasei peste de la Atena din anii 430 - 420 î.e.n. Istoricul a remarcat faptul că subiecții trecuți prin boală și care au supraviețuit au putut fi folosiți ca transportori de cadavre sau gropari, fără riscul de a se reîmbolnăvi.

Observațiile empirice au fost aplicate și asupra animalelor și au dus la unele concluzii profilactice, care își păstrează utilitatea până în zilele noastre. În acest sens, în caz de îmbolnăviri, se recomandă izolarea animalelor bolnave, transportul cirezilor pe alte pășuni, cât mai departe de locul contaminat, împărțirea turmelor în grupuri mici, controlul meticulos al alimentelor și a apei, sacrificarea animalelor în caz de eșec terapeutic.

Introducerea variolizării a reprezentat o metodă de profilaxie cunoscută și aplicată de chinezi încă din sec. X - XI e.n. Variolizarea constă în inocularea de puroi variolic sau inhalarea de cruste variolice, fiind aplicată și la abisinieni, prin administrarea de cruste variolice, în siropuri, la asirieni prin scarificare sau prin flagelare cu nuiiele infectate cu puroi variolic la vechii slavi.

Prima vaccinare deliberată, în Europa, a fost făcută în 1720 de către **LADY MARY MONTAGU** (1689-1762), soția ambasadorului britanic de pe lângă Înalta Poartă, care și-a vaccinat cei patru copii **prin scarificare**, ei făcând la locul de inoculare o pustulă variolică și neîmbolnăvindu-se ulterior de variolă.

<http://www.library.unt.edu/rarebooks/exhibits/women/Images/Montagubig.jpg>



Perioada științifică

După cum se observă din concepțiile perioadei empirice, fenomenele de imunitate au fost privite ca strict legate de procesele infecțioase. Imunologia are însă, astăzi, o arie de cercetare mult mai vastă. Prin **fenomen imunologic** se înțelege orice reacție de răspuns a unui organism față de structuri morfologice și biochimice străine de organism.

Cel care a făcut **prima vaccinare științifică** a fost medicul englez **EDWARD JENNER** (1749-1823).



Imunizarea preconizată de acesta se baza pe observația că fermierii care contractau **variola** de la bovine făceau o boală benignă și că deveneau rezistenți la variola umană, foarte răspândită în acele vremuri. El și-a confirmat observația prin inocularea experimentală a unui lot de deținuți din închisoarea Newgate (1798), experiment încheiat cu deplin succes.

(http://www.bbc.co.uk/history/historic_figures/jenner_edward.shtml)

Secolul al XIX-lea reprezintă, însă, pasul decisiv al metodelor de imunizare prin cercetările marelui savant francez **LOUIS PASTEUR** (1822-1895). Prima observație științifică în acest sens a fost făcută



asupra rezistenței față de **holera aviara**, boală contagioasă a galinaceelor cu o mortalitate ridicată. PASTEUR a păstrat o cultură virulentă de *Pasteurella spp.*, timp de câteva luni, în condiții de laborator. Inocularea la găini sănătoase a culturii învechite, nu numai că nu a produs boala, dar, a conferit acestora o rezistență față de o inoculare ulterioară cu o cultură proaspătă și cu o înaltă virulență (1878).

(<http://www.britannica.com/EBchecked/topic-art/445964/3094/Louis-Pasteur>)

Cu această ocazie L. PASTEUR a propus termenul de **vaccinare** (lat. *vacca* = specia de la care s-a recoltat primul antigen), termen care a fost adoptat și s-a impus în lumea medicală. Această primă vaccinare a reprezentat un imens progres în imunologie, întrucât, față de variolizare și aftizare, care utilizau tulpini sălbatice și care nu puteau fi controlate, L. PASTEUR a utilizat o cultură atenuată, lipsită de patogenitate, care nu a reprezentat nici un pericol pentru animalele inoculate.

Cercetările lui L. PASTEUR în domeniul imunității au culminat cu celebra experiență de la Pouilly-le Fort (5 mai 1881) în care s-a demonstrat fără echivoc valoarea metodei **vaccinării anticărbunoase**. Utilizarea **vaccinului antirabic** (1885) a încununat definitiv era imunizărilor cu ajutorul vaccinurilor cu tulpini atenuate.



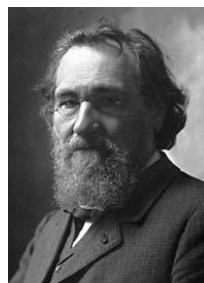
SALMON și THEOBALD SMITH (1887) au demonstrat că pentru imunizarea artificială se pot utiliza și germeni omorâți, sensul termenilor vaccin și vaccinare, fiind extins în mod



corespunzător.

<http://www.mentalfloss.com/blogs/archives/15843>, http://en.wikipedia.org/wiki/Theobald_Smith

În aceeași perioadă au apărut și lucrările lui **ILIA ILICI MECINIKOV** (1845-1916) care, în 1883-1884, a descoperit ***fenomenul de fagocitoză*** și a semnalat rolul leucocitelor în mecanismele imunității naturale sau dobândite.



Sfârșitul sec. al XIX – lea a adus o serie de observații care au permis elucidarea modalităților de interacție între antigen și anticorp și specificitatea acestor reacții. **G.H.F. NUTTAL**, în 1888, a descoperit ***proprietățile bactericide ale serului sanguin***, iar un an mai târziu **H. BUCHNER** (1889) a descoperit ***alexina***.

http://ro.wikipedia.org/wiki/Ilia_Illici_Mecnikov



În 1890 **E. BEHRING** și **S. KITASATO** au descoperit ***toxinele tetanică și difterică*** și au recomandat seroterapia în bolile respective. Descoperirea acțiunii specifice a serurilor și-a găsit imediat aplicare în terapie și diagnostic.



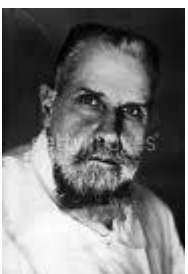
<http://www.cartage.org.lb/fr/themes/Biographies/mainbiographie/B/behring/behring.htm>
http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/articles/behring/index.html



EHRlich (1891) a demonstrat că toxinele vegetale pot fi antigenice și **J. BORDET** (1898) a reușit imunizarea la animale, cu hematii provenite de la altă specie.<http://www.immunotherapy-in-oncology.com/gateway.aspx?sc=1>



http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1919/



GASTON RAMON (1886-1963) a preparat ***anatoxina tetanică*** și a descoperit rolul substanțelor adjuvante în mărirea capacității imunogene a vaccinurilor.

Aceste observații au dus la reconsiderarea noțiunii de imunologie, lărgindu-i mult sensul și devenind ***știința despre antigene și anticorpi*** care nu se reduc strict

la rezistență antiinfecțioasă. <http://www.gettyimages.com/detail/2666199/Hulton-Archive>



Stările patologice ale mecanismelor imunogenice ca anafilaxia (**PORTIER și RICHET**, 1902; RICHET, 1907-1911), anafilaxia locală (ARTHUS, 1903), reacția la tuberculină (KOCH, 1891),



boala serului (PIRQUET și SCHICK, 1905) s-au dovedit a fi consecințe ale unor reacții de tip antigen-anticorp.

<http://www.historiadelamedicina.org/richet.html>

<http://clendening.kumc.edu/dc/pc/p.html>

Explicațiile și teoriile asupra mecanismelor imunității au încercat să demonstreze că imunitatea este un răspuns activ al organismului față de o substanță străină de organism (EHRICH, 1807; HAUROWITZ, MUDD, ALEXANDER, 1932; BURNET, 1958).

Cercetările din ultimele decenii ale sec. XX, cu ajutorul microscopului electronic, difuziunii în geluri, electroforezei și imunoelectroforezei, cromatografiei anticorpilor fluorescenți au dus la extinderea considerabilă a cunoașterii antigenelor și anticorpilor și a reacțiilor dintre acestea.

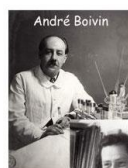


Știința românească a adus contribuții substanțiale la evoluția imunologiei. **VICTOR BABEȘ și M.C. LEPP** (1889) au făcut cercetări asupra vaccinării antirabice și au formulat principiul imunității pasive umorale. Una dintre cele mai remarcabile descoperiri făcute de V. BABEȘ în domeniul imunologiei este utilizarea serovaccinării (1895).

<http://www.medicalstudent.ro/personalitati/victor-babes.html>

A. BOIVIN și L. MESROBEANU (1933-1935) au extins în mod considerabil cunoștințele asupra structurii chimice a antigenelor, prin descoperirea antigenelor glucido-lipido-poli-peptidice.

<http://www.pasteur.fr/ip/easysite/go/03b-000026-04a/history>



Lydia Mesrobian



Prof. PAUL RIGLER (1867-1936), unul dintre colaboratorii apropiați ai lui V. BABEȘ este considerat pe drept cuvânt ***întemeietorul imunologiei veterinare în țara noastră***, atât prin lucrările sale în domeniul utilizării vaccinurilor la animale și a seroterapiei, cât și prin rolul determinant pe care l-a avut în înființarea primului institut de preparare a vaccinurilor și serurilor din țara noastră, Institutul Pasteur (1909) din București.

În jurul lui PAUL RIGLER s-a format o valoroasă școală de microbiologie și imunologie veterinară, care onorează știința românească, din care amintim: **AL. CIUCĂ** (1880-1972), **I. POPOVICI** (1902-1982), **N. MUNȚIU** (1909-1977), **N. STAMATIN** (1905-1992) și alții.

CAPITOLUL 3

SISTEMUL IMUNITAR

În concepția moderă (Jerne, 1973,1985), sistemul imunitar poate fi considerat ca un organ difuz, celular și molecular, alcătuit dintr-un număr mare de limfocite (aprox. 2×10^{12}) și molecule de anticorpi. Așa cum organismele vii selecționate în cursul evoluției își mențin integritatea de specie, grație sistemului lor genetic, sistemul imunitar asigură integritatea organismelor individuale față de agresiunea diferiților agenți patogeni sau de pătrunderea unor substanțe nedorite, menținându-le individualitatea și homeostazia.

Sistemul imun este alcătuit din ansamblul celulelor și moleculelor, ale căror acțiune și interacțiune permit organismului să discearnă, în mod specific, cu promptitudine și sensibilitate, substanțele proprii (self) de cele străine (nonself). În acest proces, sistemul imunitar acționează ca un dispozitiv de recunoaștere ("Recognito machine-Jerne, 1977). În mod normal, manifestă o toleranță perfectă față de constituienții proprii și reacționează împotriva celor nonself, în sensul neutralizării, distrugerii și eliminării lor din organism.

În ansamblu, sistemul imunitar este unul dintre cele mai complexe din organism. Complexitatea sa derivă din structura de rețea complicată de comunicații, celulară și moleculară, din ubicvitatea constituienților săi, din capacitatea de a determina efecte multiple, bazate pe un număr relativ puțin numeros de tipuri diferite de celule, care interacționează direct sau prin intermediul unor mediatori moleculari biologic activi. Celulele și moleculele acestei rețele defensive mențin permanent supravegherea organismelor. Ele recunosc o varietate aproape fără limite de celule și molecule străine, deosebindu-le de cele ale organismului însuși. Când un agent patogen (virus, bacterie, etc) pătrunde în organism, îl detectează și se

mobilizează pentru a-l neutraliza și/sau a-l îndepărta. Ele își “amintesc” fiecare infecție și la a doua expunere, la același agent patogen, reacționează cu mult mai mare eficiență. Remarcabil, după Tonegawa (1985) este faptul că sistemul imunitar face toate acestea cu un foarte mic “buget de apărare, respectiv utilizând numai o mică parte a genomului și, în general, a resurselor organismului.

3.1. CONCEPTUL DE SELF ȘI NONSELF

Termenii *self* și *nonself* au fost propuși de Burnet și Fenner (1945) cu scopul de a facilita discuțiile asupra capacităților de recunoaștere ale sistemului imunitar. Capacitatea organismelor de a deosebi substanțele proprii (eng. “self= identic, personalitate, făcut din același material) de cele străine (“non-self”) a fost semnalată încă din anul 1597, de chirurgul italian Tagliacozzi.

Inițial, conceptul de nonself se referea exclusiv la substanțele străine exogene. Ulterior, numeroase observații au evidențiat capacitatea sistemului imunitar de a răspunde prin producerea de anticorpi sau prin reacții de hipersensibilitate față de unii constituenți proprii organismului gazdă. Acesta este cazul unor substanțe aflate, în mod normal, prin poziția lor anatomică, la dăpost de contactul cu celulele sistemului imunitar (antigenele “sechestrare”) sau care au suferit o serie de modificări, în special calitative, ale suprafeței celulare (self “alterat, transformare malignă, etc.). Sistemul imunitar poate reacționa și față de molecule străine, care, în principiu, nu sunt dăunătoare, așa cum sunt unele proteine din alimente, dacă nu sunt, în prealabil, degradate de enzime la aminoacizi.

3.2. CONCEPTUL DE REPERTORIU

Sistemul imunitar dispune de un repertoriu imens de unități de recunoaștere și de legare a antigenelor, codificate genetic sub forma

receptorilor celulari și a situsurilor active de combinare (paratopi) ale moleculelor de anticorpi.

După cum s-a demonstrat, fiecare limfocit individual are pe suprafață o populație de receptori, având situsurile de combinare identice. O subpopulație sau o clonă de limfocite diferă de alta prin natura receptorilor și, astfel, prin natura substanțelor antigenice de care pot fi stimulate.

Capacitatea organismului de a răspunde la toate antigenele pe care virtual le poate întâlni în cursul existenței sale este consecința repertoriului imens, de clone diferite, fiecare purtând receptori specifici pentru un antigen distinct. Repertoriul "teoretic este imens și apreciat de unii cercetători la aprox. 10^{30} entități, cu specificități diferite.

Teoretic, acest repertoriu dă organismelor posibilitatea de a recunoaște nu numai orice antigen natural, dar chiar orice altă substanță sintetizată artificial până în prezent sau care ar putea fi obținută în viitor. Cel mai adesea, combinarea specifică dintre antigen și anticorp a fost descrisă ca rezultatul "potrivirii dintre o cheie (determinantul antigenic) și o regiune complementară a lacătului, corespunzătoare sistemului activ de combinare al anticorpilor. În felul acesta, repertoriul receptorilor și anticorpilor este echivalentul unui set imens de chei, pregătite dinainte, între care există o cheie potrivită pentru orice lacăt teoretic posibil.

După Coutinho și colab. (1980), repertoriul imunitar ar avea caracterul de complet (completeness și oarecum "închis). Aceasta înseamnă că, teoretic, organismul poate răspunde cu producere de anticorpi specifici, față de molecula străină existentă în natură sau sintetizată artificial, inclusiv față de moleculele pe care nu le-a întâlnit niciodată mai înainte.

3.3. RĂSPUNSUL IMUN CA REACȚIE ADAPTATIVĂ A ORGANISMULUI

Spre deosebire de mecanismele de rezistență sau de imunitate înăscută ("*Innate immunity*"), care asigură protecția nespecifică a

organismului față de diferite agresiuni externe, răspunsul imun are caracter adaptativ. Acest caracter decurge din orientarea specifică a reacțiilor sale spre un anumit agent patogen sau o anumită substanță nonself. Ele sunt determinate de mobilizarea unor celule programate, care "așteaptă să fie activate de un anumit agent specific, corespunzător specificității lor.

Răspunsul adaptativ are o serie de particularități esențiale, care, în ansamblu, determină eficiența sa atât de marcată:

1. Acționează **strict specific**, pe baza capacității sistemului imunitar de a deosebi substanțele self de cele nonself și de a recunoaște o diversitate enormă de substanțe nonself.

2. Acționează **cu o mare economie de mijloace**, deoarece selecționează și activează numai subpopulațiile celulare corespunzătoare substanței nonself respective, toate celelalte celule și molecule rămânând disponibile pentru alte interacțiuni.

3. Reacțiile adaptative **asigură și protecția descendenților** unui organism imun, prin transferul transplacentar al anticorpilor și/sau prin lapte și au, în plus, o proprietate fundamentală unică, memoria imunologică.

În ansamblu, funcționarea sistemului imunitar și evoluția răspunsului adaptativ sunt caracterizate printr-o mare suplețe și o foarte mare eficiență, asigurate prin punerea în acțiune a mai multor strategii diferite, menite să neutralizeze diferite substanțe străine sau devenite străine.(Fig.1)

Întreaga activitate este controlată genetic și supusă unui număr mare de mecanisme de reglare, care modulează interacțiunile constituienților și/sau ale moleculelor de mediator, amplificându-se enorm sau, din contră, atenuând sau chiar represând răspunsul imun, în funcție de nevoile organismului.

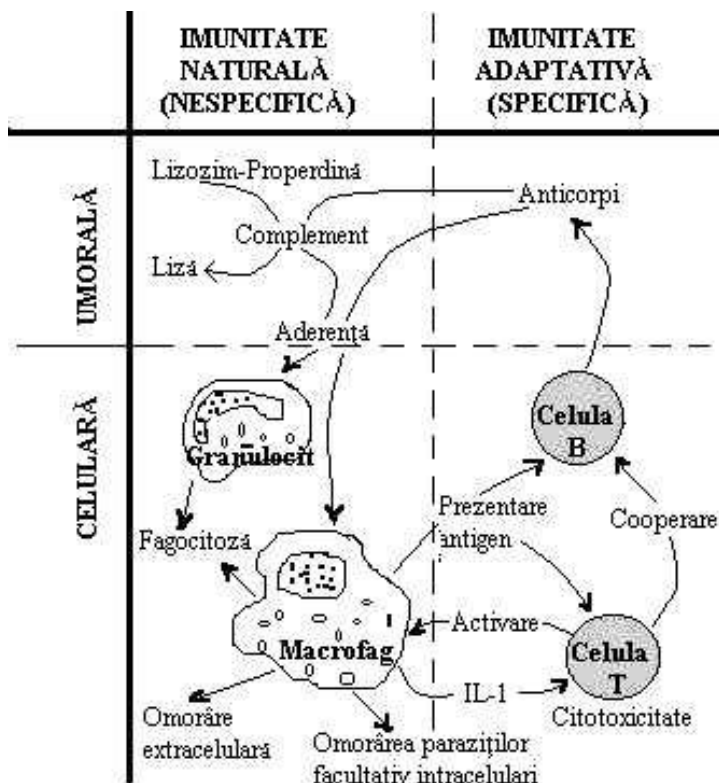


Fig.1. - Prezentarea schematică a interacțiunii dintre mecanismul imunității naturale (nespecifice) și ale imunității specifice (adaptative).

3.4. IMPLICAȚIILE SISTEMULUI IMUNITAR ÎN PATOLOGIE

Există un acord unanim în a considera existența unui sistem imunitar integral reactiv, ca o premisă esențială pentru supraviețuirea organismelor în lupta cu diferiți agenți patogeni infecțioși (viroizi, virusuri, bacterii și alte microorganisme), toxici sau oncogeni. Numeroase stări patologice consecutive deficiențelor imunitare reprezintă confirmarea cea mai elocventă a acestei necesități. Cu toate acestea, în anumite circumstanțe, răspunsul imun poate fi dezavantajos. Imunopatologia reprezintă, în prezent, unul dintre domeniile importante și de mare dificultate ale științelor medicale,

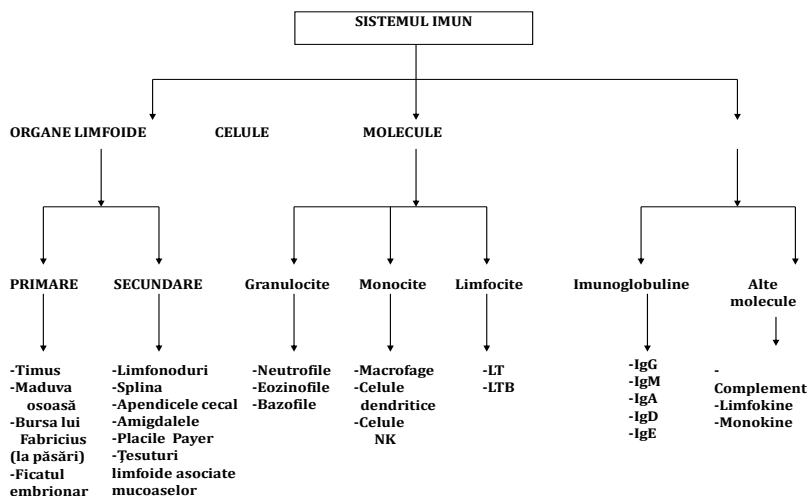
prin complexitatea mecanismelor patogenetice, a dificultăților de diagnostic și mai ales a implicațiilor terapeutice.

Mai multe exemple ilustrează importanța și semnificația acestui domeniu. Diferite stări patologice consecutive reacțiilor de hipersensibilitate, alergii la polen și la substanțele chimice (coloranți, medicamente, etc.), bolile consecutive depunerii complexelor antigen-anticorp la nivelul unor organe (de exemplu, rinichiul) sunt exemple foarte familiare, care ilustrează efectele unui răspuns imun nedorit. Reacțiile imunitare anormale ca intensitate și/sau natură pot sta la baza unor boli autoimune, care afectează grav diferite țesuturi și organe. Un alt exemplu de implicare a sistemului imunitar în patogenia unei boli este reprezentat de accidente de tipul eritroblastozei fetale (maladia hemolitică a nou-născutului) determinată de anticorpii materni. În sfârșit, respingerea imunitară a transplantelor de țesuturi și organe, corelate, în unele cazuri, cu funcții vitale, reprezintă încă un exemplu dramatic dintr-o gamă foarte largă de situații asemănătoare.

CAPITOLUL 4

ELEMENTELE SISTEMULUI IMUN

Răspunsul imun este expresia conflictului dintre **AGRESOR**, pe de o parte (bacterii, virusuri, paraziți, toxine, etc) și **ORGANISMUL AGRESAT**, pe de altă parte. Agresorul, prin antigenele sale (non-self), deranjează funcțiile normale ale gazdei și generează reacții de apărare din partea acesteia, care vizează neutralizarea acțiunii lui. Menținerea funcțiilor organismului în limite normale este realizată de către un sistem specializat în acest sens, denumit **SISTEMUL IMUN (SI)** alcătuit din organe, molecule și celule.(Schema nr.1)



Schema nr. 1 – Elementele sistemului imun

4.1. ORGANELE LIMFOIDE PRIMARE (CENTRALE)

Sunt reprezentate de măduva osoasă, ficatul embrionar, timusul și bursa lui Fabricius la păsări. În aceste organe, limfocitele, macrofagele și celelalte celule implicate în realizarea răspunsului imun, se formează și se dezvoltă ca elemente celulare, devin active în urma unor procese de maturare și citodiferențiere, fără intervenția antigenelor.

Măduva osoasă

La mamifere și la om, celulele sușă multipotente apar în etapele timpurii ale embriogenezei, în insulele hematopoetice din mezodermul sacului vitelin, apoi în ficatul fetal și în măduva osoasă. În condiții normale, în viața extrauterină, măduva osoasă reprezintă singurul organ furnizor de celulă sușă multipotentă. Deci, măduva roșie hematoformatoare este sediul genezei celulei “cap de serie, numită și *celula precursoră, celulă stem, sușă sau pluripotentă*. Celulele stem au două caracteristici principale:

- ⊗ diferențierea spre una din seriile sangvine;
- ⊗ autoreplicarea pentru menținerea constantă a numărului celulelor stem;

Populația de celule stem nu este uniformă, atât din punct de vedere morfologic, cât și funcțional.

Din punct de vedere funcțional se disting două grupe:

- ⊗ *celule stem pluripotente* (mielo-limfopoietice)
- ⊗ *celule stem unipotente*, orientate spre o serie sangvină.

La nivelul măduvei hematoformatoare, în afară de celula sușă, se mai găsesc toate treptele de maturare, inclusiv pentru hematii, polimorfonucleare, monocite, megacarionocite.

În ceea ce privește limfocitele, în afară de celulele sușă și precursorii limfocitelor, la nivelul măduvei se mai pot întâlni, limfocite mature B și chiar plasmocite. Celulele purtătoare ale markerilor

limfocitelor T nu se găsesc în mod normal decât sub formă de celule progenitor (*celule precursorare pretimice*). Limfocitele sunt în general amestecate cu celelalte celule, dar pot fi observate și sub formă de aglomerări focale.

Limfocitele circulă din măduvă în alte organe limfoide pentru a-și exercita funcția imună. Celulele sușă care se vor diferenția în limfocite T vor trece în timus, iar celulele care vor deveni limfocite B, după unele opinii, rămân și se maturează la nivelul măduvei iar după altele, trec în țesuturile limfoide, asociate mucoaselor.

Ficatul embrionar

În etapele timpurii ale dezvoltării embrionfetale, ficatul embrionar este singurul furnizor de celule sușă pentru toate elementele figurate ale sângelui. Se consideră că după naștere, rolul ficatului embrionar este preluat de către măduva hematogenă.

Timusul

Este un organ limfoepitelian, format din doi sau mai mulți lobi, situat în mediastinul inferior la om, în toracele anterior dispus ventral la mamifere, iar la păsări este dispus sub forma unor lobi înșirați de-o parte și alta a vertebrelor cervicale.

Timusul este esențial la începutul vieții, pentru a asigura **maturarea imunologică normală a limfocitelor T (LT)**, iar la organismele adulte reaprovizionarea anatomică și funcțională a sistemul de apărare celulară. O dată cu îmbătrânirea, timusul involuează, dar nu dispăre complet, el asigurând organismului necesarul de celule T virgine pentru toată viața, dar într-o cantitate redusă.

Limfocitele T capătă competență imună numai după ce au părăsit timusul. Ele asigură imunitatea mediată celular (antigrefă, antitumorală, contra unor boli infecțioase, etc) acționând direct, citotoxic sau indirect, prin intermediul limfokinilor.

În afara de imunitatea celulară, limfocitele T au și un important rol în elaborarea răspunsului imun umoral, prin procesul de cooperare celulară cu limfocitele B.

Bursa lui Fabricius

Este un organ limfoepitelial, pericloacal, prezent numai la păsări și cu structură lobulară, asemănătoare cu timusul. Organul involuează după maturizarea sexuală a păsărilor.(Fig.2)

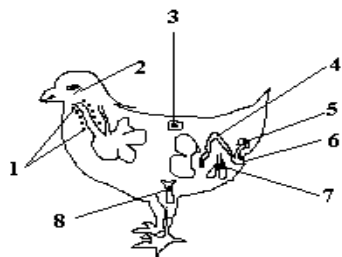
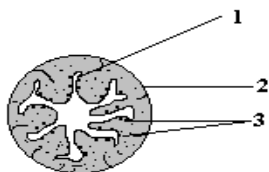


Fig. 2. Sistemul limfoid la păsări (după Pastoret și col.)

1. Timusul
2. Glanda Harder
3. Splina
4. Plăcile Payer
5. Bursa lui Fabricius
6. Diverticulul Meckel
7. Formații limfoide cecale
8. Măduva osoasă



Secțiune prin bursa lui Fabricius

1. Pliuri bursale
2. Lumenul bursal
3. Foliculii limfoizi

Stroma epitelială a bursei este populată cu celule limfoide precursorare, provenite din sacul vitelin, ficatul fetal și măduva osoasă. La nivelul Bursei lui Fabricius, celula sușă multipotentă suferă un proces de citodiferențiere și maturare analog celui care are loc la nivelul timusului, dar care conferă limfocitelor însușiri calitativ deosebite de cele ale limfocitelor T.

Ubicvitina este un factor umoral, cu rol citodiferențiator manifestat asupra limfocitelor, notate cu simbolul B.

După formare în organele limfoide primare, LB migrează în organele limfoide secundare, devin capabile să reacționeze la stimulul antigenic prin transformări blastice în plasmocite producătoare de anticorpi (Ig), care sunt efectorii imunității umorale.

La mamifere, organul limfoid primar pentru limfocitele B nu este pe deplin cunoscut. Echivalentul bursei la mamifere sunt considerate țesuturile limfoide, asociate mucoaselor: *amigdalele faringiene, plăcile Peyer, apendicele ileo-cecal*. După alte cercetări, echivalentul bursei la mamifere ar fi măduva osoasă și ficatul embrionar

(B de la *bone marrow* = *măduva osoasă*).

4.2. ORGANELE LIMFOIDE SECUNDARE (PERIFERICE)

Limfocitele T și B, după maturare și instruire în organele limfoide centrale, le părăsesc și populează organele limfoide periferice, reprezentate de: limfonoduli, splină, țesuturile limfoide asociate mucoaselor și glanda Harder (la păsări).

Limfonodulii

Sunt formațiuni limfoide localizate pe traseul vaselor limfatice, în hilurile unor organe sau în anumite zone anatomice, regionale. Limfonodurile sunt organe conectate direct la circulația limfatică. Prin vasele limfatice aferente, afluează limfa din teritoriul de drenaj. O dată cu limfa, sunt transportate și diferite antigene, limfonodurile reprezentând adevărate sisteme de filtrare și de reținere a elementelor străine (non self).

La nivelul limfonodulilor se găsesc trei categorii de celule:

- ⊗ **celule limfoide** (LT, LB și plasmocite), care sunt celule imunocompetente și care, sub influența stimulilor antigenici, devin apte de expansiune clonală și diferențiere, fiind capabile să producă efectori ai imunității specifice atât umorali cât și celulari;
- ⊗ **celule ale sistemului fagocitic mononuclear**, care asigură apărarea și clearance-ul organismului de antigenele străine și autologe alterate, prin procesul de fagocitoză; ele intervin în cooperarea macrofag – LB - LT, în elaborarea răspunsului imun;
- ⊗ **celulele ale țesutului conjunctiv** (fibrocite, fibroblaste, celule reticulare și celule reticulare dendritice).

Limfonodulii cresc mult în volum în caz de inflamație sau de stimulare antigenică, datorită proliferării limfocitelor. În cazul unui răspuns imun mediat umoral, proliferază limfocitele B din zona centrilor germinativi, în timp ce în cazul unui răspuns imun mediat

celular are loc o proliferare a limfocitelor din aria timodependentă paracorticală.

Splina

Este organul limfoid periferic cel mai mare, conectat direct la circulația sangvină. Nu are vase limfatice aferente sau eferente, de aceea antigenele acced la splină exclusiv pe calea sangvină, fiind reținute și prelucrate.

Splina, ca și limfonodurile, pe lângă funcția imună, are și rol de distrugere a elementelor îmbătrânite sau patologice, ca și de depozitare a rezervelor de fier.

Din punct de vedere imunologic, materialul antigenic ca atare sau prelucrat, activează LB din centrul germinativ folicular. Anticorpii produși la nivelul splinei au specificitate mai ales față de antigenele corpusculare administrate pe cale sangvină. O altă particularitate o constituie faptul că sângele, pe calea venei splenice, circulă din splină în ficat, fiind stimulată astfel și activarea celulelor Kupffer.

Țesutul limfoid asociat tubului digestiv

În submucoasa tubului digestiv, în diverse locuri, se găsesc sub forma unor aglomerări locale, colecții limfocitare. Aceste aglomerări limfocitare, în anumite locuri, sunt destul de mari, căpătând aspectul organoid așa cum sunt: amigdalele faringiene, palatine, linguale și tubale, formând așa zisul inel Waldeyer. De asemenea, formațiuni limfoide dezvoltate se găsesc în special în ileon, așa zisele plăci Peyer și țesutul limfoid apendicular sub forma unor centri germinativi mari în mucoasă. În mod sigur, țesutul limfoid asociat tubului digestiv are un rol de primă importanță în imunitatea împotriva agenților infecțioși cu poartă de intrare digestivă. Dovadă este și faptul că secrețiile gastrointestinale conțin mai multă IgA produsă de plasmocitele de la acest nivel decât secretă celulele din ganglionii limfatici. Atât imunoglobulinele cât și celulele limfocitare, pe lângă eliminarea lor în lumenul gastrointestinal sunt drenate prin limfatice și în circulația generală. În aceste formațiuni limfoide se găsesc atât limfocite T cât și limfocite B, în proporții variate.

4.3. DEZVOLTAREA ȘI MATURAREA ȚESUTURILOR LIMFATICE

Răspunsul imun al unui animal la un imunogen depinde de existența seturilor de limfocite normal dezvoltate și funcțional competente, posesoare de receptori, genetic determinați, pentru a reacționa cu imunogenul respectiv. În acest sens, funcțiile imune normale (imunocompetența și imunoreactivitatea) depind de dezvoltarea și maturarea completă a țesuturilor limfoide.

Eșecul dezvoltării și maturării limfocitelor, în oricare din etapele succesive ale procesului, pot conduce la o imunodeficiență (deficit al funcției imune).

Celula sușă primitivă apare în sacul vitelin (în primul trimestru de sarcină), migrează în ficatul și splina fetale (trimestrul II), apoi colonizează măduva osoasă a oaselor lungi (trimestrul III), unde rămâne să funcționeze și postnatal.

Asemenea celule sușă se păstrează multicompetente, adică au capacitatea de a se diferenția în precursorii liniilor de celule limfocitare, mielocitare, eritrocitare și megacariocitare.

Există indici că celulele limfoide din măduva osoasă, care se diferențiază din celulele sușă, sunt deja programate pentru a deveni celule T sau B. Aceste celule sunt denumite protimocit și respectiv, precursor B.

Protimocitele migrează în timus, unde capătă caracteristicile de celule T. Precursori B se maturează în celule B în măduva osoasă și, probabil și în splină (la păsări în bursa lui Fabricius). În acest stadiu de dezvoltare, ambele tipuri de celule sunt morfologic identice, dar sunt deja programate pentru antigenul față de care vor putea reacționa.

Moleculele receptor de pe limfocitele B mature sunt identice cu imunoglobulina particulară pe care o va sintetiza celula după transformarea ei în plasmocit. În cursul maturării însă, tipul de Ig receptor de pe membrană se modifică: inițial, este IgM, apoi IgD și la maturitate devine tipul pentru care celula a fost programată să-l secrete

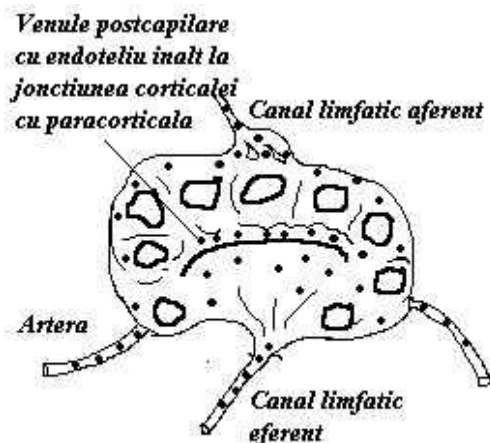
(de ex. IgG), consecutiv stimulării cu determinantul specific. *(Există date care arată că celulele aflate în curs de maturare, posedând receptori IgM și IgD funcționează ca celule latente în răspunsul imun primar și ca celule memorie în răspunsul secundar).*

4.4. CIRCULAȚIA LIMFOCITELOR

După maturare în organele limfoide centrale (timus, măduva osoasă), LT și, respectiv, LB migrează, intră în circulația sanguină și se împrăștie în întreg organismul, populând organele limfatice periferice (limfonodurile, țesuturi limfoepiteliale) în care se **constituie lotul sechestrat** de limfocite, la care se adaugă **lotul de limfocite recirculante** prezente în sânge și, uneori, în canale limfatice, lot format din celule aflate în drumul între organul limfoid central și cele periferice, ori migrând între sau în interiorul organelor periferice.

În organele periferice, cele două tipuri de celule se acumulează în arii anatomice diferite. Astfel, **în limfonoduri, limfocitele B**, pătrund prin venulele postcapilare și se localizează în ariile corticale, iar descendenții lor, plasmocitele, migrează în direcție inversă spre medulară (traversând, probabil, aria timus-dependentă).

Limfocitele T vin, de asemenea, pe cale circulatorie și se aglomerează în ariile paracorticeale.



Venulele postcapilare predomină în zona de jonctiune între cortex și paracortex și posedă un tip particular de celule endoteliale, denumit endoteliu înalt. Limfocitele T și B pot traversa rapid acest endoteliu dinspre circulația sanguină în ganglion, circulă în ganglion de-a lungul sinusurilor și pot părăsi ganglionul prin sinusurile medulare, reintrând în canalul limfatic eferent prin care pot pătrunde în ganglionul următor sau din nou în circulația sanguină **via** canalul toracic. (Fig.3)

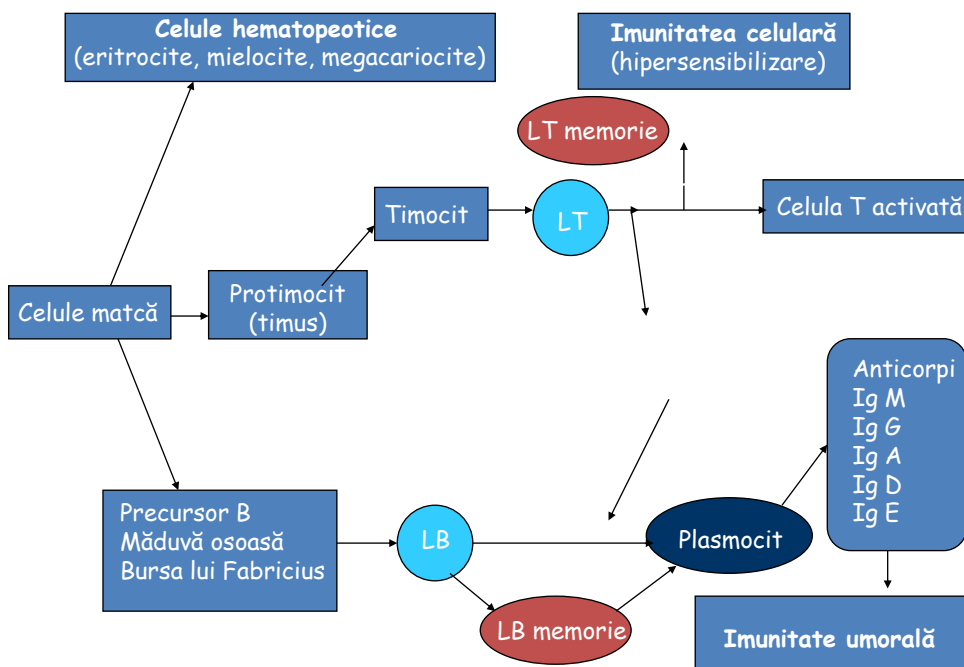
Fig.3 Circulația în ganglionul limfatic

În splină, LT se aglomerează formând manșoane în jurul arterelor mici centrale ale corpusculului lui Malpighi. LB tind să se plaseze excentric în raport cu zona T și, ocazional, formează foliculii cu centru germinativ (conținând limfocite tinere, cu talia mare), înconjurați de macrofage care fagocitează antigene venite pe cale venoasă.

În sângele periferic, aproximativ 80% sunt LT și 15-20% LB. În decursul unei zile, datorită procesului de recirculare, numărul total de limfocite circulante este de 10-12 ori mai mare decât numărul real existent.

LT circulă, de asemenea, și în țesutul interstițial, extravascular al unor organe ca: tegument, rinichi, ovar, uter, testicul și altele. LB nu circulă extravascular.

Distribuția topografică și traficul limfocitar asigură supravegherea imunologică a tuturor ariilor organismului gazdă, cu excepția unor zone segregate anatomic de accesul acestor celule imunocompetente.



CAPITOLUL 5

DIFERITE ASPECTE ALE IMUNITĂȚII

5.1. DEFINIȚIA IMUNITĂȚII ȘI CLASIFICAREA STĂRILOR DE IMUNITATE

Imunitatea este o stare de rezistență, grație căreia, organismul sănătos se află protejat parțial sau total contra acțiunii patogene a microorganismelor și a toxinelor.

Această definiție se referă la ansamblul de factori umorali și celulari care protejează organismul contra acțiunii infecțioase sau toxice a microorganismelor patogene.

Imunitatea este un fenomen general observat la toate speciile vii: la animale (vertebrate și nevertebrate), plante și microorganisme (față de bacteriofagi, etc.).

Starea de rezistență sau imunitate se clasifică după următoarele criterii:

1. **După natura imunității:**

- ⊗ *imunitate naturală sau esențială*, care poate fi absolută sau relativă;
- ⊗ *imunitate dobândită* natural în timpul vieții prin îmbolnăvire sau provocată experimental prin vaccinare (activă) sau serumizare (pasivă);

2. **După specificitatea imunității:**

- ⊗ *imunitate specifică* față de un antigen (imunitatea anticărbunoasă, antirabică);

- Ⓢ *imunitatea paraspecifică* față de un antigen înrudit (virusul fibromului lui SHOPE pentru Myxomatoză, virusul herpetic de curcă pentru boala lui MAREK).

5.2. IMUNITATEA NATURALĂ SAU ESENȚIALĂ

Este o rezistență înăscută, transmisă ereditar, determinată de structura morfofiziologică a speciei căreia îi aparține organismul considerat.

Imunitatea naturală este o proprietate pe care o posedă organismul de a fi refractar la diferiți agenți patogeni. Se consideră că această imunitate este nespecifică deoarece, ea se manifestă chiar și atunci când organismul nu a venit în prealabil în contact cu antigenul. Imunitatea naturală este la originea rezistenței față de majoritatea microorganismelor anodine cu care organismul este în contact, permițând în același timp și lupta contra agenților patogeni foarte agresivi.

Imunitatea naturală absolută corespunde unei rezistențe care acționează în orice condiții și se pune în funcție, în boli unice, viroze și protozoze, în timp ce ***imunitatea naturală relativă*** o întâlnim în mai multe boli bacteriene și poate fi învinsă prin diferite artificii.

Exemple:

- Ⓢ *PASTEUR* reproduce cărbunele la găină prin scăderea temperaturii corporale
- Ⓢ *CHARRIU* și *ROGER* reproduc cărbunele la șobolanii surmenați, iar broasca devine sensibilă la *M. tuberculosis* la 38°C.

Principalele caracteristici ale imunității naturale sunt următoarele:

- Ⓢ are un caracter de specie, cuprinzând toți indivizii unei specii;
- Ⓢ reprezintă un fenomen general, apărând la cele mai simple viețuitoare (bacterii, protozoare) până la organismele superioare (plante și animale);
- Ⓢ apare pe o anumită treaptă de evoluție filogenetică a speciei;
- Ⓢ are un caracter genetic stabil și transmisibil ereditar;

- ☉ efectorii imunității naturale sunt constituiți din structuri și funcții normale a organismului, a căror acțiune este nespecifică și nediferențiată indiferent de natura selfului;
- ☉ în determinismul imunității naturale nu sunt implicate mecanismele de memorie imunologică;

5.3. FACTORII IMPLICAȚI ÎN IMUNITATEA NATURALĂ

Una din primele condiții ale realizării unei infecții este trecerea barierelor anatomice, boala fiind rezultatul multiplicării agentului etiologic în organism, fără a fi distrus de factorii umorali, celulari ai acestuia.

Factorii imunității naturale la organisme superioare se pot clasifica după mai multe criterii:

a) localizarea lor în organism:

- ☉ interni
- ☉ externi;

b) felul în care participă la determinismul stării de imunitate:

- ☉ predominant pasivi
- ☉ predominant activi;

c) nivelul lor de organizare biologică sau biochimică:

- ☉ compuși chimici, în marea lor majoritate prezenți în umori (*factorii umorali*)
- ☉ diferite celule răspândite în aproape toate organele și țesuturile care acționează prin însăși activarea lor biologică (*factorii celulari*);

d) complexitatea structurii sau funcției constituente a factorului de rezistență

- ☉ factori cu un grad redus de complexitate (factorii menționați anterior)
- ☉ factori complecși, reprezentați de caracteristici constituționale, constante morfologice sau fiziologice

organismului, cum sunt: structura genetică, presiunea sanguină, temperatura normală, etc.

e) *natura factorului în raport cu normalul și patologicul* (hipertermia, inflamația, producția de interferoni). Aceștia din urmă acționează după ce *non-selful* a reușit să se instaleze în organism și pot avea două tipuri de consecințe, posibile pentru organism: unul salutar, în cazul când *non-selful* este făcut inofensiv, altul nociv, când menținerea non-selfului duce la o amplificare a procesului patologic agravând evoluția bolii.

Luând în considerare criteriile de clasificare amintite factorii și mecanismele imunității naturale pot fi sistematizate conform tabelului nr.1:

Tabel nr. 1

Barierelor naturale	externe	pielea mucoasele capcanele anatomice (corneții nazali)
	interne	pereții vaselor țesuturile dense membranele celulare

Mecanismele de potențare a rolului barierelor	regenerarea și exfolierea epiteliilor		
	mișcarea cililor epiteliilor ciliate		
	acțiunea secrețiilor glandelor	mecanică	spălare, includere în mucus urmată de eliminare
		chimică	acidul undecilenic (piele) acidul clorhidric (sucul gastric) factorii umorali diverși prezenți în lacrimi, lapte etc.
	antagonismul microbian între flora normală autohtonă și cea patogenă autohtonă sau alohtonă		

Factorii umorali	lizozimul complementul (C) proteine de fază acută (ex. PRC=proteina C reactivă) polipeptidele bazice beta-lizina opsoninele anticorpii naturali diverși interferonii (IFN)		
Factori celulari	microfagele	leucocite polimorfonucleare în general și mai ales cele neutrofile	
	macrofagele	mobile	histiocitul monocitul
		fixe	splenice peritoneale alveolare din ganglioni limfatici din endoteliile vasculare celulele Kuppfer macrofagele osteoclastele celule nevroglice
Mecanisme complexe	fiziologice	temperatura normală circulația sanguină și limfatică presiunea sanguină	
	fiziopatologice	hipertermia inflamația elaborarea de interferoni	
Factori constituționali și genetici			Specie, rasă, linie, individ

5.3.1. Barierele naturale

a. Pielea și mucoasele se opun pătrunderii germenilor patogeni în organism printr-o protecție mecanică funcțională și chimică.

Protecția mecanică și funcțională este determinată de integritatea lor morfofuncțională (cu excepția virusurilor, leptospirelor, brucelelor, ankilostomelor care pot pătrunde chiar prin pielea intactă), prin capcane anatomice și mobilitatea ciliară, care îndepărtează continuu secrețiile mucoaselor, încărcate cu diferite particule străine și microorganisme, de pe suprafață acestora.

Protecția chimică la nivelul pielii și mucoaselor se realizează prin reacția acidă a secrețiilor acestora (acidul undecilenic la piele, acidul clorhidric la mucoasa gastrică, acidul lactic la mucoasa vaginală, etc) și prin prezența în conținutul lor a unor substanțe cu rol bactericid cum ar fi: lizozimul, mucoproteinele și altele.

Lizozimul este o enzimă mucolitică care produce liza bacteriilor Gram (+) și a cărei acțiune la nivelul mucoaselor este potențată de IgA secretorie.

Mucoproteinele sunt mai active contra diferiților viruși iar acidul clorhidric are un efect bactericid foarte important la anumite păsări de pradă (vulturul pleșuv, pitulicea) care consumă adesea cadavre în descompunere. El permite distrugerea tuturor bacteriilor în stomac, permițând și menținerea sterilității din duoden și jejun la anumite specii.

b. Antagonismul microbial între flora normală autohtonă și cea patogenă alohtonă se manifestă prin efectul de barieră (secreția unor bacteriocine active față de alte bacterii patogene, competiția nutrițională și de ocupare a spațiului vital prin viteza de multiplicare, etc.).

Flora bacteriană saprofită acționează asupra agenților patogeni în doua moduri:

- ⊗ competiție pentru elementele nutritive esențiale;
- ⊗ secreția unor substanțe bactericide;

Astfel, la nivelul intestinului se găsesc bacterii saprofite care secretă substanțe cu rol bactericid. De exemplu:

- ⊗ *Escherichia coli* secretă substanțe numite colicine care se inseră la nivelul membranei bacteriei patogene și modifică potențialul energetic, determinând moartea acesteia;
- ⊗ Bacteriile saprofite de la nivelul epiteliului vaginal metabolizează glicogenul (produs de celulele epiteliale vaginale) și îl transformă

în acid lactic. Acidul lactic scade pH-ul vaginal creându-se un mediu nefavorabil dezvoltării bacteriilor patogene.

c. Spațiul extracelular, prin gelul de mucopolizaharide bogat în acidul hialuronic, se opune prin vâscozitatea sa la mobilitatea bacteriilor cu excepția celor producătoare de hialuronidază.

d. Tensiunea locală de oxigen acționează prin nivelul ei ridicat sau scăzut. Nivelul ridicat în pulmon permite, de exemplu, dezvoltarea bacilului tuberculozei (a bacteriilor aerobe) în timp ce diminuarea oxigenului din țesuturi atrage după sine germinarea sporilor de germeni anaerobi (*Clostridium*) după intervenții chirurgicale.

5.3.2. Factorii umorali

Factorii umorali sunt reprezentați de: complement (alexina), lizozimul, interferonii, polipeptidele bazice, opsonine nespecifice, beta - lizine, proteina C reactivă și anticorpii naturali diverși.

Complementul sau alexina reprezintă un sistem seric complex de 26 de substanțe proteice din plasmă (C_1 - C_{26}) denumite *componente* care se activează succesiv una pe cealaltă într-o ordine dată (*activare în cascadă*).

Acestea se găsesc într-o concentrație relativ constantă în serul normal. Cantități mai mari de complement se găsesc în serul de cobai, iepure și nură. Componentele complementului sunt sintetizate atât de macrofage și monocite cât și de către celulele hepatice (cu excepția C_1 care ar fi sintetizată la nivelul epiteliului gastrointestinal și urogenital).

Elementul central constă în activarea fracțiunii C_3 . Enzimele activatoare (*convertazele*) sunt înscrise cu linie continuă. Închiderea buclei autocatalitice de activare a lui C_3 pe cale alternativă este marcată cu linie întreruptă. Pentru simplificarea schemei s-a omis marcarea inactivatorilor și a inhibitorilor sistemului C' și alte detalii ale activării finale.

Proteinele sistemului complement reprezintă 3 - 4% din totalul proteinelor plasmiei (cca. 300 mg/ 100 ml).

Activarea complementului este declanșată prin două mecanisme (căi):

1. **calea clasică** amorsată de complexe moleculare rezultate din cuplarea anticorpilor cu antigenele (*complexe imune*).
2. **calea alternativă** care este declanșată în afara complexului antigen-anticorp la care participă factorii: agregate moleculare de anticorpi, polizaharide, bacterii Gram pozitive sau Gram negative, paraziți (ex. *Trypanozoma*), endotoxine bacteriene, levuri (ex. *Candida albicans*).

1. Calea clasică de activare a complementului

Moleculele de imunoglobulină după ce au fixat antigenul suferă modificări conformaționale care descoperă situsul de legare cu C' – situat în zona Fc. Odată descoperit situsul de legare pentru C', leagă fragmentul C_{1q} din complexul proteic C₁ al C'. Acesta are forma unui buchet de lalele. (Fig.)-de introdus Extremitatea globuloasă se leagă la situsul pentru complement de pe molecula de Ig, iar tija (în prezența Ca²⁺) activează fragmentele C_{1s} și C_{1r}. După activare, C_{1s} și C_{1r} sunt convertite în enzime proteolitice numite "convertaze" (Fig.4)

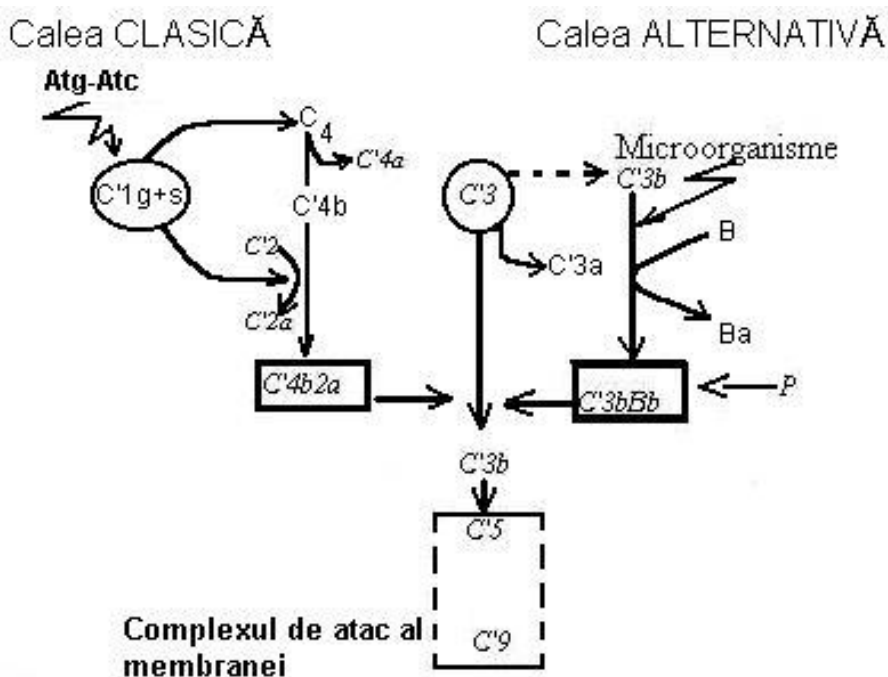


Fig.4. Modelul de activare enzimatică în cascadă a complementului

Ambele căi produc enzime specifice *convertaze* care vor acționa asupra componentei a 3-a a sistemului (C_3) rupând-o în două fragmente C_{3a} și C_{3b} . C_{3a} este un agent inductor de inflamație, iar C_{3b} se depune pe bacterii sau pe alte celule - țintă, pe care le elimină prin două mecanisme: imunoaderența și liza. O serie de fagocite (granulocite, neutrofile, macrofagele și celulele dendritice) exprimă pe suprafață receptori specifici pentru C_{3b} (denumiți CR_1). C_{3b} mijlocește pe această cale atașarea celulelor - țintă pe fagocite (*imunoaderență*) și înglobarea lor ulterioară. Această învelire cu C' a țintelor care facilitează fagocitoza a fost denumită *opsonizare*. C_{3b} poate media, totodată, continuarea activării în cascadă a sistemului care se va finaliza prin asamblarea unui complex enzimatic $C_{5,6,7,8,9}$ pe suprafața celulei - țintă. Acest complex a fost denumit *unitate de atac* a membranei, deoarece, provoacă soluții de continuitate care duc la liza celulei atacate. Mecanismul este foarte eficient deoarece o singură moleculă de C'_3 - convertază poate activa sute de molecule de C'_3 pe suprafața celulară. Este de subliniat faptul că C'_3 nativ din plasmă este o moleculă instabilă. Ea generează continuu și aparent spontan C'_{3b} cu o rată foarte scăzută. Această autoactivare poartă riscul formării convertazei căii alternative și de aici pe acela al declanșării secvențelor înscrise mai sus (activarea autocatalitică a lui C'_3). Organismul este protejat împotriva acestei activități potențial devastatoare prin mai mulți inactivatori plasmatici și celulari care acționează în diverse puncte ale cascadei, începând cu dezasamblarea convertazei.

Evaluarea în clinică a complementului poate fi făcută prin dozări radioimune ale componentelor, prin titrarea componentelor cu ajutorul ELISA sau prin aprecierea globală a activității sistemului, care are ca principiu evaluarea capacității serului de cercetat de a liza 50% dintr-o suspensie standard de eritrocite de oaie, învelite cu anticorpi specifici. Această determinare a *complementului hemolitic* (CH_{50}) apreciază global activitatea căii clasice de activare și servește ca test de triaj pentru detectarea unor anomalii mai pronunțate ale sistemului.

Complementul prezintă în mare, următoarele **acțiuni**:

- provoacă liza antigenelor după fixarea pe complexe antigen-anticorp;
- activează fagocitoza;
- are acțiune flagogenă;
- activează chimiotaxia;
- mărește imunoaderența;
- produce conglutinare.

Lizozimul (muraminidaza) este un ferment glucidolitic (*FLEMING, 1922*), prezent în lichidele organice ale diverselor specii de animale, în special la mamifere și păsări și care are o acțiune dezintegrantă asupra celulei bacteriene. Modul de acțiune constă în liza componentelor mucopeptidice (mureina) ale peretelui celulei bacteriene și consecutiv, a distrugerii acestora.

Activitatea optimă a lizozimului se desfășoară la pH 7,2 și temperatura până la 50°C, în condiții de anaerobioză și aerobioză.

Răspândirea lizozimului în organism este mare, prezența lui fiind semnalată în secrețiile care umectează mucoasele conjunctivală, bucală, nazală și vaginală. De asemenea, se găsește în umori ca în lichidul pleural, plasma sanguină și într-o serie de organe, stomac, ficat, amigdale, intestin, precum și în albușul de ou.

Lipsește din urină, fecale, și lichidul cerebro-spinal.

Activitatea lizozimului este mai marcată asupra bacteriilor Gram pozitive saprofite (*Micrococcus, Sarcina, Staphylococcus, Bacillus*) și mai puțin marcată asupra Gram - negativilor.

Interferonii (IFN) reprezintă o familie de glicoproteine moleculare provenite din mai multe surse:

- IFN alimfocitea, produși de leucocite (*IFN leucocitari*);
- IFN beta, produși de fibroblaști și celulele epiteliale (*IFN fibroblastici*);
- IFN gamma, produși de limfocitele T (*IFN imuni*). (Fig.5)

După pătrunderea un virus, celulele parazitare produc și secretă IFN. Acesta se atașează pe receptori specifici exprimați pe membrana

celulelor învecinate cărora le induce o stare de rezistență antivirală, care stânjenește diseminarea virusurilor. Moleculele de interferon, se leagă la receptorul pentru interferon (RIFN) de pe celulele învecinate celei infectate. Complexul IFN – RIFN este endocitar și interferonul acționează prin două mecanisme pentru a împiedica infectarea acestor celule:

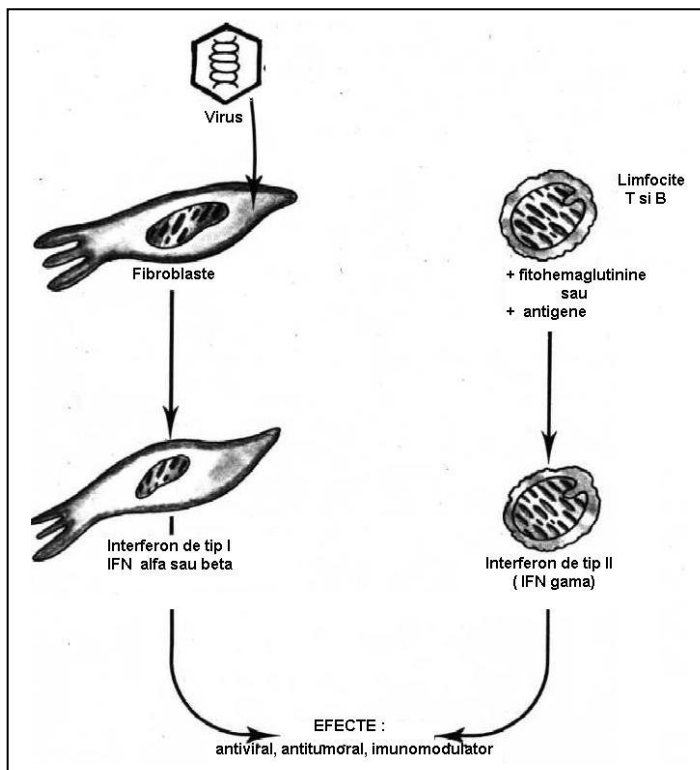


Fig.5. - Tipurile de interferoni

- ⊗ **activarea unei gene** care blochează sinteza proteinelor virale;
- ⊗ **activarea unei enzime** (endoribonucleaza) care fragmentează ARN viral.

Producția IFN apare foarte repede după ce s-a produs infecția. Se presupune că celula reacționează față de acizii nucleici virali prin derepresia genelor pentru IFN.

Speciile cele mai eficiente în apărarea antivirală sunt IFN alimfocitea, IFN beta. IFN gama joacă un rol important în reglarea sistemului imun: activează macrofagele, limfocitele B și T, celulele NK

și indirect, reglează producția de anticorpi. IFN prezintă specificitatea de specie (au activitate maximă asupra celulelor speciei care i-a produs). În prezent, IFN, care pot fi produși in vitro prin inginerie genetică, sunt utilizați în tratamentul mai multor afecțiuni neoplazice sau inflamatorii.

Poliptidele bazice acționează asupra bacteriilor Gram pozitive, mecanismul fiind asemănător cu a detergentilor cationici fără a acționa asupra lui *Listeria* și *Pneumococcus*.

Anticorprii naturali (opsonine nespecifice)

Se numesc anticorpi naturali, componentele serice care există în serul indivizilor normali în afara tuturor imunizărilor specifice de origine infecțioasă sau vaccinală. În realitate, acești anticorpi naturali sunt produși după același proces ca și anticorprii imuni rezultați dintr-o imunizare specifică. Totuși trebuie menționată existența lor în cadrul imunității nespecifice din moment ce prezența lor în umori este naturală, deci neconsecutivă unei imunizări voluntare sau postinfecțioase.

Plecând de la anticorprii naturali, transmiși eventual, de la mamă la nou - născut pe cale transplacentară sau colostrală și care dispar în prima perioadă de viață extrauterină, aceștia sunt produși ulterior de același individ în număr și în concentrație crescută, pentru a atinge un maxim la sfârșitul perioadei de creștere. Sinteza lor este datorată resorbției intestinale a antigenelor florei bacteriene normale sau alimentelor ingerate (de origine vegetală în principal). Animalele axenice, crescute în boxe sterile și private de floră intestinală nu produc acești anticorpi decât foarte puțin și apar numai ca un răspuns la antigenele de origine alimentară. Acești anticorpi naturali sunt IgM produse de limfocitele B purtătoare a markerului CD₅.

Numărul crescut de antigene existente în lumea vie, stă la baza cuplării nespecifice a anticorpilor naturali din serurile normale cu bacteriile, globulele roșii, celulele animale sau vegetale ce urmează a fi captate prin endocitoză. Fagocitoza majorității antigenelor necesită în prealabil, opsonizarea (sensibilizarea) lor prin intermediul anticorpilor naturali și a complementului (C').

Opsonizarea constă în legarea opsoninelor de antigene solubile sau corpusculare, reacție care permite, aderența acestora de suprafața celulelor fagocitare purtătoare de receptori Fc sau C' cu rol majoritar în inducerea fagocitozei (imunoaderență).

Anticorpii naturali provoacă, de asemenea, aglutinarea antigenelor bacteriene în suspensie, motiv pentru care mai sunt cunoscuți și ca aglutinine naturale. Dar, puterea aglutinantă a serurilor normale se poate exercita și asupra hematiilor. Sunt calificate drept **heterohemoaglutinine** naturale, anticorpii serului unei specii care aglutinează hematiile unei alte specii. De exemplu, serul de găină conține numeroase heterohemoaglutinine pentru globulele roșii ale unor diverse specii de animale.

În cazul în care globulele roșii ale anumitor indivizi sunt aglutinate de către serul altor indivizi din aceeași specie, se vorbește de **izohemoaglutinine**. Ele au fost în mod particular demonstrate de serul uman (izohemoaglutinine contra antigenelor de grup A și B). Serul a numeroase specii de animale domestice nu conține izohemoaglutinine naturale cu excepția celui de la câine de grup sangvin DEA - 7 (care conține izohemoaglutinine anti DEA - 7 naturale) și a celui de la pisică de grupă B care conține izohemoaglutinine anti - A.

Încrucișările antigenice sunt, de asemenea, frecvente între bacterii și explică de ce anticorpii naturali îndreptați împotriva bacteriilor banale din flora digestivă pot juca un rol benefic în mod natural și contra bacteriilor patogene înrudite antigenic.

Beta - lizinele

Este recunoscut faptul că **plachetele sangvine** constituie sursa unei mici proteine bazice (6 KDa) care este eliberată atunci când se produce agregarea lor în cursul coagulării. Această proteină este stocată în granulele plachetelor sangvine. Ea s-a denumit *B - lizină de origine plachetară* pentru a o distinge de o altă proteină diferită, care posedă aceleași activități, izolată din lizozomii leucocitari și cunoscută sub numele de *B - lizină neplachetară*. Probarea originii plachetare a beta-lizinei rezultă din constatarea că serul, obținut prin coagularea plasmei, nu conține beta - lizine.

Beta - lizinele sunt în egală măsură găsite în salivă și în lacrimi unde prezența lor este asigurată printr-o sinteză a celulelor secretoare ale glandelor salivare și canalului lacrimal.

Efectul lor asupra bacteriilor sensibile constă într-o liză asupra peretelui acestora, după contactul cu serul activ, liza bacteriilor Gram pozitive are loc în câteva minute. Această eficacitate bacteriolitică remarcabilă a lizozimului și beta-lizinelor, capabilă să neutralizeze milioane de bacterii saprofite care vin în contact continuu cu țesuturile organismului la nivelul rănilor, face parte din mecanismele naturale de defensivă nespecifică.

Proteina C reactivă (PCR) își trage numele de la faptul că reacționează, printre altele, cu proteina C a pneumococului. PCR se atașează pe unele bacterii sau fungi și promovează învelirea acestora cu moleculele de C'. Acoperirea antigenelor cu C' (*opsonizarea*) produce facilitarea fagocitării acestora. (Fig.6)

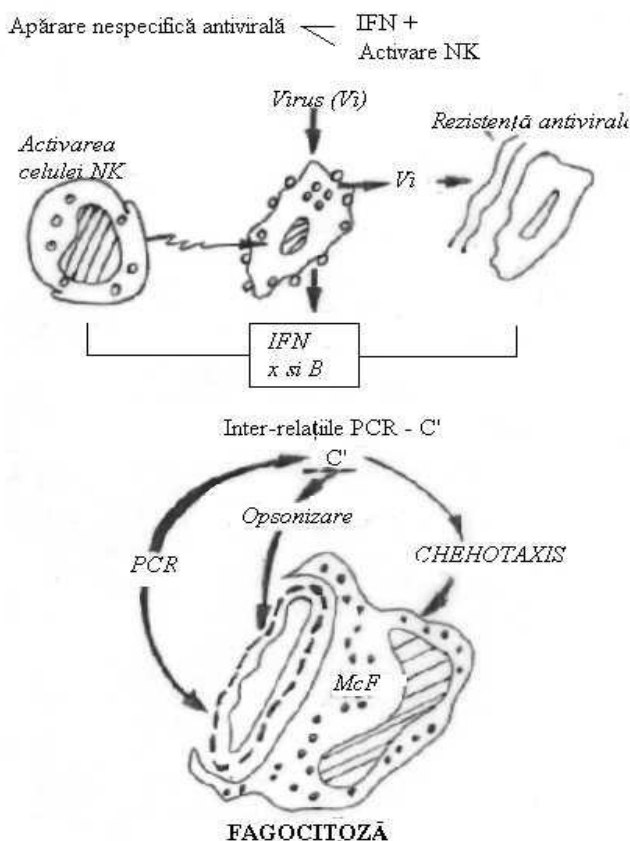


Fig.6. Modele de cooperare între factorii imuni umorali și celulari în apărarea nespecifică

5.3.3. Factorii celulari

În această grupă de factori sunt încadrate toate celulele din sistemul fagocitar mononuclear și polimorfonuclear (polimorfonucleare neutrofile), microfage (monocite), macrofagele mobile și fixe care se găsesc răspândite în toate organele și țesuturile, precum și celulele NK.(Fig.7).

Una dintre funcțiile de bază ale acestui sistem celular este reprezentată de fagocitoză, respectiv pinocitoză.

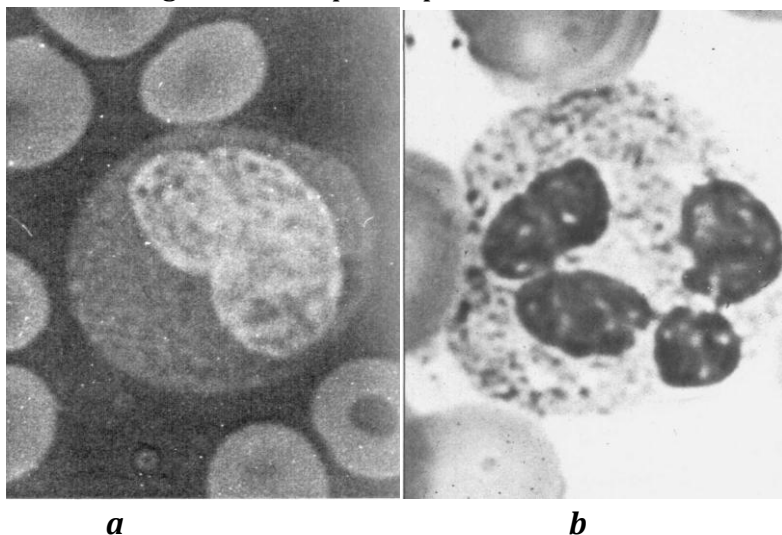


Fig 7: a. Polimorfonucleare neutrofile; b. Monocite (microscopie optică).

1. Fagocitoza și pinocitoza (*gr. fagien = a mânca, Mecinikov, 1905*) sunt mecanisme cunoscute în cele mai fine detalii. Termenul de fagocitoză este utilizat pentru particule cu o talie mai mare și o structură de regulă corpusculară (o celulă bacteriană sau animală sau un fragment din acestea), iar cel de pinocitoză pentru materialele fagocitabile, al căror nivel de organizare este molecular (macromolecule proteice sau complexe, endotoxine bacteriene etc).

Ambele fenomene au aceeași dinamică, ele desfășurându-se în patru faze :

- ⊗ **faza de apropiere** care presupune congestie, marginație leucocitară și deplasarea prin pseudopode;
- ⊗ **faza de fixare** a materialului fagocitabil, pe fagocit, realizată pe fondul chimiotactismului determinat de complementaritățile de natură electrostatică și stereochemică dintre receptorii membranei fagocitului și grupările chimice de la periferia particulei fagocitabile; faza de fixare este mediată și de intervenția unor factori umorali din categoria opsoninelor sau anticorpilor naturali;
- ⊗ **faza de înglobare**, inițiată prin formarea unei invaginări a membranei care se adâncește treptat, până când se închide deasupra moleculei sau particulei, incluzând-o într-o vacuolă intracitoplasmatică, ce poartă numele de fagozom;
- ⊗ **faza de digestie** a materialului fago(pino)citat, prin enzime de tip lizosomal, debutează prin apropierea și apoi contopirea fago(pino)zomului cu un lizozom. La nivelul acestuia se produce degradarea materialului fago(pino)citat prin procese enzimatică în care predomină reacțiile oxidative și cele de hidroliză. Majoritatea enzimelor decelate în cursul digestiei intrafagocitare sunt de tipul oxidazelor, al mieloperoxidazei și a hidrolazelor acide. (Fig. 8)

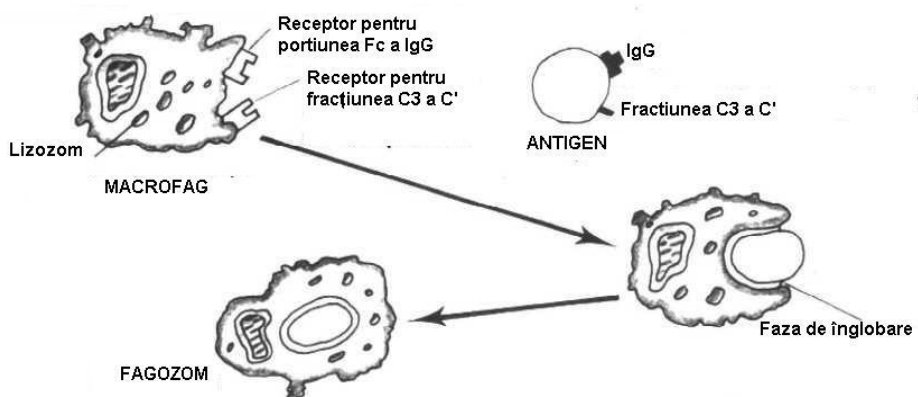


Fig. 8. Prezentarea schematică a fagocitozei

În faza de digestie se poate constata o destul de mare diversitate în comportarea materialului fagocitat în funcție de starea imunologică în care este implicat, procesul de fago(pino)citoză:

- *digestia completă*, constând în degradarea materialului fago(pino)citat până la produși finali, este un fenomen constant, în cazul leucocitelor polimorfonucleare și, frecvent, în cazul macrofagelor; metabolizarea totală a particulelor ingerate este un mecanism nespecific caracteristic imunității naturale;

- *digestia parțială* a non-selfului în proporție, ajungând până la 90% , dar cu păstrarea la suprafața macrofagului a aproximativ 10% din non-self și purtarea acestuia la exteriorul celulei, timp de câteva săptămâni. Este un mecanism care intervine în imunitatea dobândită și în fenomenele de alergie. Acest tip de fagocitoză poate fi numită și ***fagocitoză imună***.

Ea este un atribut exclusiv al macrofagelor, iar non-selful fagocitat este antigenic. În fixarea antigenului pe suprafața macrofagului intervin și anticorpii citofili. Prezența acestor anticorpi este confirmată și prin evidențierea receptorilor Fc la nivelul membranei macrofagelor. Elementele antigenice păstrate pe suprafața celulei sunt ulterior oferite limfocitelor, după unul din modelele care vor fi descrise la capitolul de imunogeneză.

- *persistența nealterată* și menținerea viabilității unor bacterii patogene. Exemplul clasic este cel al bacililor tuberculozei, care nu numai că nu sunt digerați, dar rămân vii, se multiplică, determină transformarea fagocitelor în celule gigante, iar acestea devin un mijloc de vehiculare a germenilor în organism;

- *digestia unor tipuri de non-self* pe care fagocitele organismelor neimunizate în mod normal nu le digeră. În organismul animalelor cu imunitate antituberculoasă apar macrofagele capabile să digere bacilii tuberculozei. Aceste fagocite au, prin urmare, o comportare de sens contrar cu cele menționate anterior. Noua însușire dobândită de aceste macrofage, numite acum imunofagocite, poate fi considerată ca un mecanism al imunității dobândite, cu toate că gradul de specificitate al acestei transformări calitative celulare este redus. Imunofagocitele

obținute cu bacilii tuberculozei manifestă aceleași proprietăți și față de brucele, salmonelle sau listerii, germeni caracterizați și ei prin rezistență la digestia intrafagocitară.

Pinocitoza se deosebește de fenomenul de fagocitoză prin câteva caractere diferențiale (MESROBEANU și BONA, 1968):

a) În timp ce inductorul de pinocitoză este solubil cel al fagocitozei este întotdeauna o particulă solidă.

b) Inductorul de pinocitoză trebuie să posede o anumită încărcătură electrică, pe când corpusculul fagocitat poate fi neutru.

c) Pinocitoza, spre deosebire de fagocitoză nu implică chemotactism.

d) Aspectul citologic al celor două fenomene diferă: în fagocitoză apar modificări ale membranei celulare sub formă de pseudopode, în pinocitoză apar invaginări, vezicule sau canalicule ale suprafeței celulare.

Încorporarea particulelor virale, printr-un fenomen similar pinocitozei se numește viropexie.

Tabelul 2

Caracterele distinctive între fagocitoza normală și cea imună

Caracterul distinctiv	Imunitatea naturală	Imunitatea dobândită
Celule implicate	Microfagele polimorfonucleare și macrofagele	Numai macrofagele
Categoria de non-self	Toate categoriile	Numai antigenele
Factorii care facilitează fixarea pe celulă	Numai opsoninele (anticorpii naturali)	și anticorpii citofili fixați pe receptorii Fc ai macrofagului
Tipul de digestie	Totală	Parțială
Soarta materialului nedegradat	Este eliminat	Este transmis limfocitelor

Celulele NK (*natural killer cells*) recunosc modificări de suprafață care apar la celulele infestate cu virusuri. Celulele NK sunt activate de IFN produs de acele celule pe care le ucid printr-un mecanism de citotoxicitate directă.

Morfologic, sunt asemănătoare cu limfocitele, dar au talia mai mare și granulațiile azurofile în citoplasmă (*large granular lymphocytes*) - LGL.

După infecția virală, celulele infestate sunt induse să exprime pe suprafață o serie de structuri glicoproteice macromoleculare care ar fi recunoscute de celulele NK cu ajutorul unor receptori. După alipirea la celula-țintă are loc eliberarea mai multor proteine active din granulațiile celulelor NK. Cea mai importantă dintre aceste substanțe este *perforina* (*citolizina*) care-și trage numele de la faptul că produce pori în membrana celulei-țintă, întocmai ca și componenta a 9-a a C', cu care de altfel, are unele analogii structurale.

Perforinele se atașează pe membrana celulei țintă și, în prezența ionilor de Ca^{2+} , vor polimeriza și vor forma canale care străbat membrana țintei de la exterior spre interior. Se creează o diferență de presiune între interiorul și exteriorul celulei ceea ce face ca prin aceste canale să intre apă și ioni de Na^+ , celula țintă fiind în cele din urmă lizată.

Celulele NK au pe suprafața membranei un proteoglican numit CONDROITIN SULIMFOCITEAT A, care protejează celulele NK de activitatea perforinelor.

În concluzie, celula NK îndeplinește următoarele roluri:

- ☉ distruge celulele infectate cu virus;
- ☉ distruge celulele tumorale;
- ☉ are rol în supravegherea hematopoezei deoarece distruge celulele "defecte rezultate din hematopoeză;
- ☉ **reglarea răspunsului imun** prin secreția de citokine (interleukina 2 și interferon gamma) care intervin în cooperările intercelulare.

5.3.4. Modificarea imunității naturale

Imunitatea naturală nespecifică poate fi modificată prin mecanisme complexe fiziologice, fiziopatologice și de factorii constituționali și genetici.

Temperatura normală circulația sanguină și limfatică și presiunea sanguină contribuie la activitatea normală a imunității umorale și celulare nespecifice.

Temperatura scăzută, diminuarea circulației sanguine și limfatice duc la scăderea indicelui opsono-citofagic (a fagocitozei), la lipsa de oxigenare și nutriția țesutului.

Hipertermia sau reacția febrilă are un rol benefic în apărarea nespecifică naturală, prin activarea circulației periferice și centrale, creșterea catabolismului celular și a oxido-reducerilor celulare în urma unor activități intense a hormonilor tiroidieni și steroizi. La acestea trebuie adăugat și contribuția reacției febrile la mobilizarea celulelor implicate în procesul de fagocitoză și a activării factorilor serici ai reactivității nespecifice (lizozimul, complementul, interferonii, etc). Hipertermia poate acționa și direct asupra unor virusuri *reci* care nu suportă temperaturi mai mari de 38,5°C.

Principalele substanțe piretogene (lipopolizaharidele bacteriene, amidele, endotoxinele, interleukina 1. etc) acționează asupra centrului de termoreglare din hipotalamus ducând la hipertermie.

Reacția inflamatorie prin efectele ei, mecanismele și caracterele histologice precum și evoluțiile ulterioare poate influența imunitatea naturală nespecifică.

Manifestarea mai aparentă sau mai puțin aparentă a unui proces infecțios, semnifică puterea de apărare a organismului respectiv.

Inflamația reprezintă o reacție locală a organismului față de invazia microorganismelor în țesuturi. *Ea limitează diseminarea germenilor și reduce considerabil mortalitatea prin septicemie.*

Clinic, procesul inflamator local se caracterizează prin congestie (*rubor*), edem (*tumor*), căldură (*calor*), durere (*dolor*) și tulburări funcționale (*functioles*).

Microorgansimele pătrunse într-un țesut, produc la poarta de intrare o alterare inițială atât prin prezența lor fizică cât și prin produsele lor metabolice. În această alterare inițială (încetinirea circulației, vasodilatației, creșterea permeabilității vasculare, diapedeza

leucocitelor etc), un rol important joacă histaminele care determină aceste modificări. Granulațiile din mastocite, bazofile, eozinofile, neutrofile (celule specializate care însoțesc inflamația) conțin în majoritate histamină și alți principii activi: heparina, serotonina, bradichinina, leucotriene, tromboxani, prostaglandine etc.

În continuare, exudatul inflamator se îmbogățește în diverși principii activi (leucotoxine și factorul de inițiere a leucocitozei - LPF), care își au originea în celulele care participă la inflamație (limfocite, plasmocite, histiocite).

Sistemul nervos intervine în mecanismele de vasodilatație prin reflexul de axon pus în evidență de stimularea capătului periferic a unui nerv secționat, care determină o vasodilatație în teritoriul inervat de acesta.

Fibrele simpatice stimulează frânarea reacției inflamatorii, iar simpatectomia intensifică vasodilatația.

Evoluția ulterioară a inflamației în funcției de agresivitatea agentului patogen duce la constituirea focarului inflamator și la localizarea infecției.

Cantitatea crescută de acid lactic din focarul inflamator, consecința glicolizei anaerobe, este susceptibilă de exercitarea unei acțiuni nocive printr-un pH scăzut, asupra diverșilor agenți infecțioși (ex. bacilul tuberculozei).

Factorii care modifică imunitatea naturală nespecifică sunt:

a) factorii diminuanți: neintegritatea barierelor anatomice, anestezicile, iradiațiile, imunodepresoarele și unele boli ca: silicoza, diabetul, obezitatea, etilismul cronic, etc.

b) factorii favorizanți: endotoxinele bacteriene, micobacteriile (*M. avium*, *M. kansasii*), BCG, *Corynebacterium parvum*, poliadjuvantul din peptidoglicani și adjuvantul complet Freund.

CAPITOLUL 6

IMUNITATEA DOBÂNDITĂ (INDUCTIBILĂ)

Imunitatea dobândită (inductibilă) este starea de rezistență a organismului față de factorii *non-self* antigenici, realizată prin structuri și funcții de neoformație cu un înalt grad de specificitate pentru antigen.

Principalele caracteristici ale imunității dobândite sunt următoarele:

- ☉ are un ***caracter individual***, sfera ei de cuprindere referindu-se numai la unii indivizi dintr-o specie;

- ☉ prima treaptă filogenetică pe care apare este reprezentată de ***vertebrate***;

- ☉ momentul apariției este ***dependent de pătrunderea în organism a antigenelor*** și poate fi oricând în cursul dezvoltării ontogenetice a individului matur imunologic;

- ☉ are un ***caracter netransmisibil ereditar*** numai în unele cazuri se poate transmite vertical de la mamă la făt;

- ☉ ***efectorii imunității dobândite*** sunt constituiți din structuri și funcții de neoformație de natură umorală (anticorpi sau imunoglobuline) și celulară (limfocitele sensibilizate specific și alte tipuri de celule);

- ☉ ***acțiunea efectorilor*** este ***specifică*** și ***diferențiată*** în funcție de antigen;

- ☉ în determinismul imunității dobândite ***sunt implicate mecanisme cu memorie***.

Imunitatea dobândită se poate clasifica după mai multe criterii:

1. Prezența antigenului și participarea organismului la elaborarea efectorilor imuni, criteriu după care imunitatea dobândită poate fi împărțită în:

a) imunitate activă, în care antigenul pătrunde în organism pe căi naturale, de regulă printr-o **infecție naturală**, sau pe căi artificiale, în mod voit prin **vaccinare**. Imunitatea activă se instalează în 6 - 10 zile, timp necesar producerii efectorilor imuni și este de lungă durată, în funcție de capacitatea imunogenă a materialului imunizant, poate dura de la câteva săptămâni, luni, ani și chiar toată viața.

b) imunitatea pasivă, în care antigenul nu vine în contact cu organismul, care nu-și produce singur efectorii imuni, primindu-i însă prin transfer de la un organism donator cu o stare de imunitate activă.

Prin analogie cu imunitatea activă, imunitatea pasivă poate fi dobândită pe căi naturale, prin transferul efectorilor, de cele mai multe ori a celor umorali de la mamă la făt, **transplacental** la speciile cu placentă hemocorială și **colostral**, la speciile cu alte tipuri de placentă nepermeabilă sau pe căi artificiale prin **serumizare** sau transfer de celule. Imunitatea pasivă se instalează chiar în momentul transferului efectorilor imuni și este de scurtă durată de la câteva zile la două - trei săptămâni.

2. Tipul predominant de efectori imuni, criteriu după care pot fi deosebite următoarele tipuri de imunitate:

a) imunitatea de tip umoral în care responsabilitatea stării de rezistență revine anticorpilor (imunoglobulinelor), care predomină și au capacitatea de a anihila efectul nociv al antigenului;

b) imunitatea de tip celular în care starea de rezistență se datorește diferiților efectori celulari.

Sunt relativ puține antigenele care determină imunitate de tip exclusiv umoral sau celular, în majoritatea cazurilor, cele două categorii de efectori imuni coexistă și acționează cooperant în realizarea stării de imunitate.

3. Persistența antigenului viu ca factor condiționant al stării de imunitate. După acest criteriu, imunitatea se poate clasifica în:

a) imunitate sterilă în care starea de imunitate nu este dependentă de persistența antigenului viu în organism;

b) imunitatea nesterilă, numită și premuniție sau stare premunitivă, care implică necesitatea prezenței antigenului viu în organism.

Mecanismele prin care organismul recunoaște antigenul, organele în care se produc efectorii imuni și în care aceștia pot reacționa cu antigenul, sunt tratate pe larg în capitolele următoare.

6.1. IMUNITATEA MATERNO - FETALĂ

Maturarea sistemului imunitar la fetus și nou-născut este un fenomen complex. El se desfășoară într-un context particular și trebuie să țină seama de numeroase aspecte, uneori contradictorii, și de interacțiuni variate:

- construcția unui sistem imunitar eficace, care să permită organismului în mod progresiv o defensivă autohtonă, contra agresiunilor ulterioare;
- schimburile imunologice între mamă și progenitura sa;
- la mamifere toleranța fetusului de către mamă în cursul gestației;
- achiziționarea toleranței tânărului organism în ceea ce privește antigenele proprii.

Achiziționarea competenței imunitare se face progresiv pentru toate speciile de animale.

Ca o regulă generală, mamiferele, specii care au o scurtă perioadă de gestație, prezintă la naștere un sistem imunitar mai matur față de cel al speciilor cu durată lungă de gestație.

Celulele sușe ale sistemului hematopoietic apar la nivelul sacului vitelin în momentul debutului gestației. Ele produc celule din toate liniile hematopoietice și, în particular, limfocite, care migrează după aceea din sacul vitelin către ficatul fetal, apoi către măduva osoasă, puțin înainte de naștere. Din măduva osoasă își asumă rolul pe toată durata vieții animalului.

Timusul este primul organ limfoid primar care se diferențiază, acesta este responsabil de maturarea LT la toate speciile. La păsări,

bursa lui Fabricius este în legătură cu diferențierea LB, neexistând ca organ anatomic comparabil la mamifere.

Primele răspunsuri imune umorale sunt limitate la clasele de IgM, apoi intervine rapid IgM și IgG și în final IgM, IgG, IgA. IgD sunt ca și la adulți atașate suprafeței limfocitului. Nu există practic niciodată anticorpi circulanți din clasa IgD.

Fetusul este, în principiu, steril, neavând plasmocite. Prezența acestor celule la fetus sau la nou-născut sunt întotdeauna rezultatul unei infecții fetale.

Studiile practicate pe șoarece au demonstrat că în absența tuturor influențelor exterioare, LB capabile să răspundă la diversele stimulări antigenice apar de un ordin dat și imuabil: achiziționarea repertoriului exprimat este prin urmare sub control genetic.

Ca o regulă generală, reacțiile imunitare mediate celular apar relativ devreme în cursul gestației. Animalul nou-născut sau nou-eclozionat, care provine dintr-un mediu protejat, este brusc confruntat cu mediul exterior și cu o mare varietate de microorgansime potențial patogene. Nou-născuții sunt, totuși, capabili din punct de vedere imunologic să răspundă la agresiuni, răspunsul lor fiind de tip primar, caracterizat printr-o lungă perioadă de latență și printr-o scăzută sinteză de anticorpi. Nou-născutul este așadar protejat numai de o haină imunitară pasivă, de origine maternală, pentru a nu fi expus la infecție.

Protecția maternală, exclusiv **umorală**, se poate exercita la nivel general (sistemic) sau local. După naștere, la mamifere protecția locală la nivelul tubului digestiv este conferită prin secreții colostrale și lactate.

Din contră, imunitatea pasivă sistemică poate fi deja, achiziționată înainte de naștere (la primare), în mare parte după naștere (la carnivore și rozătoare) sau integral după naștere (la rumegătoare, suine și equine) în funcție de tipul de placentăție.

Aceste modalități de transmitere a imunității maternale furnizează animalului tânăr un nivel de anticorpi circulanți echivalent celui de la mama sa.

Imunitatea maternală face parte din imunitatea dobândită pasiv, întrucât anticorpilor gata formați trec de la mamă la făt, fie prin

filtrul placentar (imunitate congenitală, diaplacentară, transplacentară), fie prin lapte (imunitate trofogenă, colostrală, lactogenă), fie prin vitelus (imunitate vitelină la păsări).

Transmiterea anticorpilor în timpul vieții intrauterine este legată de tipul de placentă al speciei respective. La speciile cu placentă de **tipul sindesmocorial** (cal, bou, oaie, capră, măgar, cămilă) trecerea substanțelor protectoare de la mamă la făt nu este posibilă.

Placentă de **tip hemocorial**, prezintă la om, maimuță și rozătoare, ușurează trecerea anticorpilor.

Placentă **endotelială** (carnasierele, cerbul) ocupă un loc intermediar între cele două tipuri, lăsând să treacă numai o parte de anticorpi.

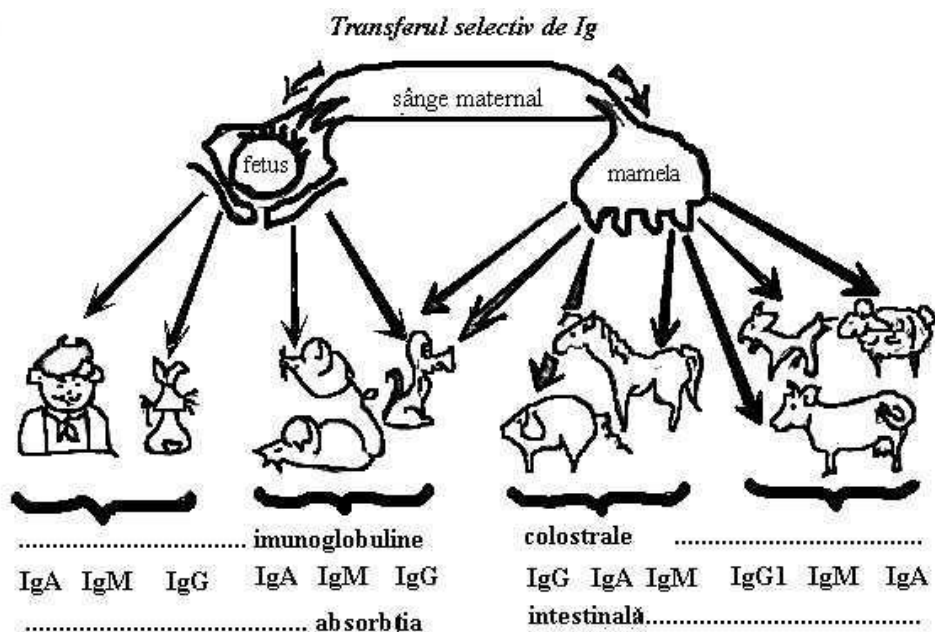
Astfel, în funcție de placentă, de transferul de anticorpi, de la mamă la făt, animalele pot fi clasificate astfel:

a) specii la care transferul de anticorpi este complet la naștere (iepure și cobai);

b) specii la care transferul de anticorpi se face atât în timpul vieții uterine, cât și după fătare (șobolani, șoareci, carnișiere);

c) specii la care transferul de anticorpi se face exclusiv după fătare prin colostru și în unele cazuri prin lapte (rumegătoare, porcine, cabaline, etc.) (fig.9 și fig.10).

Laptele maternal constituie, așadar o sursă de IgG care se leagă de un receptor FcRn al celulelor epiteliale de la nivelul intestinului. Acest receptor există sub formă de monomeri și de dimeri. Prin procesul denumit transcitoză, moleculele de IgG sunt transportate prin traversul epiteliului intestinal și intră în circulație. Complexele rezultate din legătura dintre receptori și Ig sunt localizate în depresiunile membranei plasmactice, fiind situate preferențial la baza microvililor. Receptorul FcRn se leagă de regiunea Fc formată de al doilea și al treilea domeniu constant al celor două lanțuri de IgG. Acest receptor posedă o proprietate unică, fiind în măsură să se lege pe IgG la un pH acid (6,0), așa cum este cel existent la nivelul lumenului intestinal, și să pună în libertate imunoglobulina la pH de 7,4, prezent în sânge. Această proprietate asigură transportul unidirecțional al Ig din lumenul intestinal către sânge.



Studiile au demonstrat că receptorul FcRn prezintă o strânsă analogie de secvență cu moleculele de CMH din clasa I. Sinteza acestui receptor este tranzitorie și nu este prezentă decât în perioada de achiziție a imunității pasive, care la șobolan merge până la trei săptămâni.

La artiodactile, în special, colostrul este în mod evident mai bogat decât sângele în IgG (suinele) sau IgG¹ (rumegătoarele). Totalitatea acestor Ig derivă din sângele maternal. Originea aproape exclusiv serică a IgG¹ din colostru la rumegătoare este atestată prin observarea unei importante scăderi a concentrației acestei subclase de Ig în sângele maternal.

Originea aproape exclusiv serică a IgG din colostru la rumegătoare este atestată prin observarea unei importante scăderi a concentrației acestei subclase de Ig în sângele maternal, plecând de la a doua săptămână ce precede fătarea la oaie (de la 15 mg/ml la 6 mg/ml).

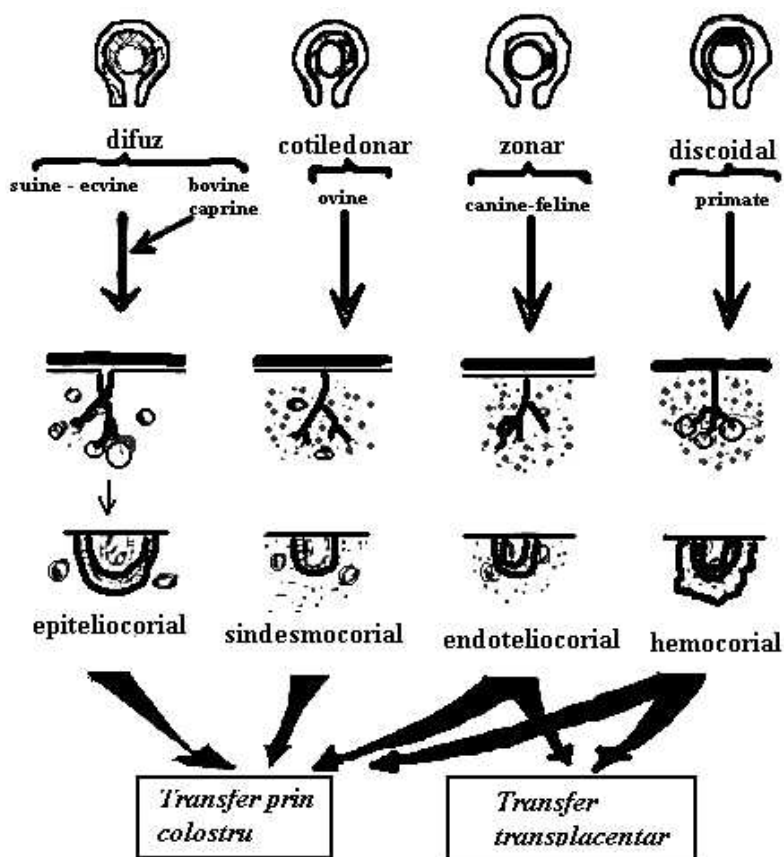


Fig.10 Diferite tipuri de placentă la mamifere

BOHL (1975) a observat că la scroafa care alăptează nu se elaborează IgA specifice virusului gastroenteritei transmisibile a porcului decât dacă stimulii se exercită la nivelul intestinal.

El demonstrează apoi că la rozătoare majoritatea plasmocitelor producătoare de IgA, recunoscute în mamelă, derivă din intestin. Aceste rezultate aduc proba experimentală a existenței unei legături imunologice între intestin și mamelă și permite explicarea faptului că IgA din secrețiile lactate sunt în speță specifice agenților patogeni recunoscuți în lumenul intestinal.

Variații specifice sunt observate în resorbția intestinală a Ig. La primate nu există aproape nici un fel de pasaj, în timp ce intestinul purcelului nou-născut absoarbe nespecific diferitele clase de Ig, cu excepția IgA secretorie, care rămâne fixată pe epiteliul intestinal. La vițelul nou-născut nu există aparent nici o selecție, toate Ig ingerate

inclusiv IgA secretorie traversează epiteliul intestinal. Acestea nu subzistă de obicei mai mult de două zile în circulație după care ele sunt eliminate printr-un proces de transudație inversă la nivelul epiteliilor secretorii.

La rozătoare absorbția se face grație receptorilor pentru IgG din regiunea proximală a intestinului, unde activitatea lizozomală a celulelor este mai puțin dezvoltată. Absorbția IgG la aceste specii se continuă până la 18 - 21 de zile.

La rumegătoare, cal și porc, absorbția Ig este maximală în primele ore de la naștere apoi decade rapid, probabil din cauza activității lizozomale a celulelor epiteliale. După naștere, această activitate crește progresiv, antrenând digestia enzimatică a Ig, absorbția încetând după 24 ore la bovine și cabaline și 36 ore la porc.

Nivelul anticorpilor maternali diminuează apoi gradual cu o viteză dependentă de timpul de înjumătățire al anticorpilor la specia considerată și cu viteza de creștere a acesteia.

Pe lângă anticorpii specifici, principalii factori antimicrobieni nespecfici din colostru sunt: lizozimul, lactoferina și lactoperoxidaze (BRUNO - REITER, 1978).

Colostrul vacilor conține 200 - 500 mg de lactoferină la 100 ml. Lactoferina are proprietatea de a lega Fe. Unele bacterii și, în special, *E. coli*, au nevoie de Fe ca factor de creștere. Prin fixarea Fe pe lactoferina colostrală, germenii sunt lipsiți de acest factor și ca atare creșterea lor este inhibată (KOLB, 1981).

Progresiv secreția mamară evoluează de la colostru către lapte. La speciile domestice, această evoluție este cu atât mai rapidă cu cât rasa a fost selecționată pentru producția de lapte.

CAPITOLUL 7

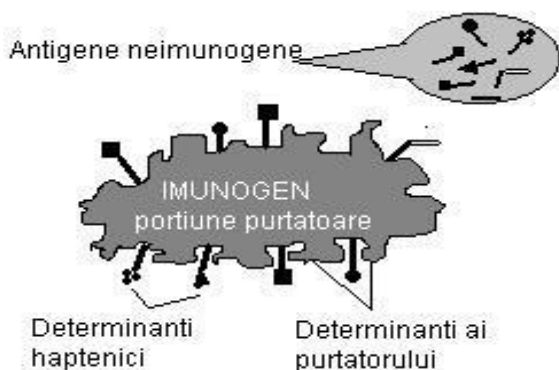
ANTIGENELE, DEFINIȚIE, STRUCTURĂ, CLASIFICARE ȘI CONDIȚIILE ANTIGENITĂȚII

Antigenele (Atg) sunt substanțe care induc un răspuns umoral sau celular.

7.1. STRUCTURA UNEI MOLECULE DE ANTIGEN

Din toată molecula de Atg., numai unele arii mici, cu suprafața de aproximativ $7 \mu\text{m}^2$, situate obligatoriu la suprafața moleculei, îi conferă specificitate antigenică.

Aceste **arii** sau **situsuri antigenice** alcătuiesc grupările determinante sau **epitopii moleculei de antigen**. Deci, epitopii nu sunt altceva decât niște segmente mai mari sau mai mici din lungimea unui lanț polipeptidic, la nivelul căreia aminoacizii se succed într-o secvență particulară, care diferă de cele din lanțurile proteice ale gazdei și care generează formarea de situsuri antigenice recunoscute ca non-proprie de către sistemul imun al acesteia.



**Fig 11 Diagrama
ilustrând diferența
dintre antigene
imunogene și
neimunogene.**

Pe suprafața unei singure molecule poate exista un număr diferit de epitopi cu specificități multiple, molecula nefiind de fapt, *un antigen unic*, ci un *mozaic de antigene*, cu un număr mai mare sau mai mic de epitopi. De exemplu, pe o moleculă de ovalbumină care are greutatea moleculară de cca 40.000 Da., există 5 epitopi diferiți, iar pe una de tiroglobulină cu greutatea moleculară 70.000 Da., există 40 de epitopi. Epitopul are deci o **funcție haptenică** simplă, reacționează specific cu anticorpul, dar singur nu poate declanșa sinteza acestuia.(Fig. 11)

Pentru aceasta, este necesară intervenția unei componente care să-l *poarte* conferind complexului format o anumită dimensiune care-l face *vizibil* pentru limfocite. Această componentă moleculară se numește *grupare purtătoare* sau *carrier* și este dată de către restul moleculei. Schematic, un imunogen este alcătuit dintr-o grupare purtătoare care-i conferă dimensiuni și o grupare determinantă sau epitop care-i conferă specificitatea antigenică. (Fig.12).

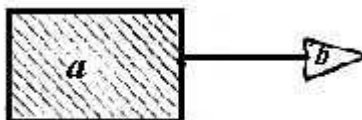


Fig.12. Părțile componente ale unei molecule de antigen:

- a) gruparea purtătoare (carrier);**
- b) determinantul antigenic (epitopul);**

Gruparea purtătoare poate *purta* un singur epitop sau un număr multiplu de epitopi cu una sau mai multe specificități antigenice. Pentru fiecare dintre acești epitopi, în populația de celule limfoide, există un corespondent reprezentat de un grup restrâns (clonă) de limfocite care exprimă pe suprafața lor receptori unici și specifici.

7.2. CONDIȚIILE Atg

Antigenele posedă două calități definitorii: imunogenitatea și specificitatea.

A. Imunogenitatea depinde de:

A.1. Dimensiunea moleculei: cea mai mică moleculă cunoscută care este capabilă să inducă răspuns imun (RI) este **Vasopresina** (gr. mol. 1000 Da). Se admite însă, ca factor general, că o moleculă poate avea proprietăți antigenice dacă greutatea sa moleculară este mai mare de 5000 Da. O astfel de moleculă poate conține în structura sa mai mulți epitopi identici sau diferiți. În funcție de numărul și diversitatea epitopilor, o macromoleculă antigenică va reacționa cu mai mulți anticorpi diferiți.

Numărul de molecule de anticorpi cu care poate reacționa o moleculă de Atg. reprezintă *valența antigenului*. Există însă molecule foarte mici care, prin forma lor primară, nu întrunesc condiția de mărime care să le confere proprietăți imunogenice (haptene).

Ele vor deveni antigenice numai după ce se vor combina cu macromoleculele gazdei. Combinațiile respective se numesc *haptene*. Față de aceste combinații, organismul răspunde prin formare de Atc împotriva moleculei mici. Moleculele - carrier conferă numai proprietatea de antigenicitate haptenei prin prezentarea acesteia către LB sub formă multivalentă capabilă să le provoace activarea. *Cărbușii* pot fi molecule solubile circulante (ex. *serum albumina*) sau molecule constitutive ale membranei unei molecule (de ex. eritrocite, granulocite sau trombocite).

În anumite împrejurări, penicilina se poate fixa pe membrana eritrocitelor cu care formează complexe haptene. Atc. anti - penicilină se vor fixa pe haptena și vor înveli eritrocitele. În trecerea acestor eritrocite prin splină, Mcf. splenice vor atașa anticorpii prin intermediul Rfc de pe membrana lor (imunoaderență și încercând să elimine complexe imune Atc + P (fenomenul de *clearance*) vor fagocita totodată și eritrocitele purtătoare. Prin urmare, eritrocitele vor fi distruse prematur numai prin faptul că au devenit purtătoare de haptene (procesul a fost denumit mecanismul *spectatorului inocent* și este implicat în liza indusă de droguri pentru mai multe categorii de celule sanguine).

A.2. Calea de pătrundere: o substanță care s-a dovedit antigenică, dacă a fost administrată intradermic, poate fi non-imunogenică dacă este introdusă intramuscular.

A.3. Asocierea Atg. cu un adjuvant întărește imunogenicitatea în anumite condiții experimentale. Adjuvanții ar produce o captare mai mare a Atg. de către Mcf și o eliberare mai lentă combinată cu producerea unei reacții inflamatorii la locul injectării. Adjuvantul cel mai utilizat experimental este o emulsie de ulei mineral, de bacili Koch omorâți (adjuvantul Freund complet).

A.4. Natura chimică a Atg.: proteinele sunt mai antigenice ca polizaharidele care la rândul lor sunt mai antigenice decât lipidele. Macromoleculele de ADN sunt foarte slab antigenice.

A.5. Repertoriul imunologic al individului reprezintă ansamblul antigenelor pe care le poate identifica un individ dintr-o specie. Specii diferite sunt programate să recunoască anumite Atg. Această programare este controlată genetic. Ex. Atg. Rh de pe suprafața Er. umane produc un răspuns imun energic la om, dar nu produc nici un fel de răspuns la iepure și cobai.

La om, repertoriul imunologic ar însuma aproximativ 10^8 posibilități calculate.

B. Specificitatea

Un Atg. este în principiul identificat de un Atc specific. Această identificare este realizată de receptorii pentru Atg. de pe suprafața limfocitelor.

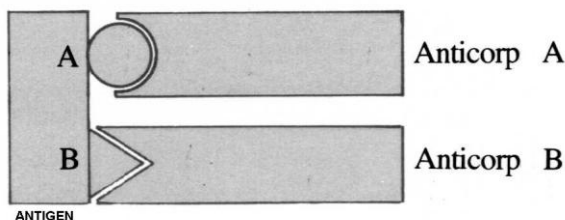


Fig. 13 Specificitatea antigenică

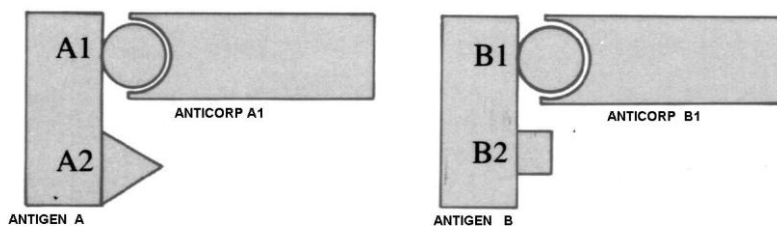


Fig.14. Reacții încrucișate

În cazuri rare, Atg. diferite pot avea epitopi similari sau identici dând naștere la producerea unor Atc. *crossreactivi*.

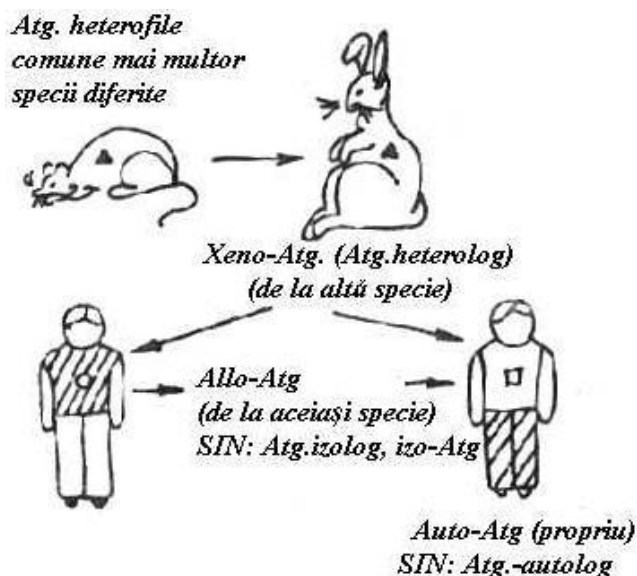
Legarea Atc. pe Atg. (*recunoașterea Atg.*) este un proces fizic care nu diferă de acela prin care se asociază între ele două macromolecule chimic înrudite. Acest proces implică o potrivire reciproc complementară între configurația spațială a epitopului și cea a situsului combinativ al anticorpului (*paratopul*) și o solidarizare a celor două molecule partenere prin 4 tipuri de legături nespecifice: electrostatice, punți de hidrogen, legături hidrofobe și legături Van der Waals.(Fig. 13,14)

7.3. CLASIFICAREA ANTIGENELOR

Totalitatea antigenelor existente în natură alcătuiesc un sistem foarte complex și divers, un adevărat univers antigenic, căruia sistemul imunitar al organismelor i se opune prin mecanisme adecvate de recunoaștere, discriminare, neutralizare și eliminare, cu ajutorul efectorilor imuni, în scopul menținerii homeostaziei normale. Marea varietate a antigenelor face dificilă o clasificare care să corespundă tuturor cerințelor. Din rațiuni didactice, în prezentarea diferitelor tipuri și categorii de antigene, adpotăm următoarele criterii de clasificare:

După origine, Atg. pot fi clasificate în patru grupe (Fig.15):

1. Atg. heterofile - comune mai multor specii de animale, plante și microorganisme.



În 1911 J. FORSSMAN a observat că injectarea unor antigene de rinichi de cobai la un iepure duce la apariția unor Atc. care vor acționa și cu Atg. rinichiului de cobai și cu Atg. ale eritrocitelor de oaie. Aceste tipuri de Atg. care induc apariția unor Atc. care reacționează și cu Atg. speciei inductoare și cu Atg. altor specii au fost denumite *heterofile*. Indiferent de sursa lor, Atg. heterofile au ca element comun o grupare heptenică similară, care determină activitatea lor imunologică comună.

Ele sunt prezente pe eritrocitele unui mare număr de specii (oaie, capră, cal, câine, cobai) ca și la unele microorganisme, însă sunt absente la iepure și bou. La om sunt prezente numai la indivizii de grup sanguin A și AB. Antigenele heterofile de tip *Forssman* indiferent de originea lor, s-au dovedit a avea o grupare haptenică similară, care asigură reactivitatea lor imunologică comună. Haptenele antigenelor heterofile au structură lipopolizaharidică, însă structura chimică a antigenului global variază de la o specie la alta și chiar de la un organ la altul.

Cercetările ulterioare au demonstrat că distribuția antigenelor heterofile nu este uniformă. Astfel, la unele specii (de exemplu: oaia)

sunt prezente atât în țesuturi cât și pe eritrocite, pe când la altele (de exemplu: cobai) se găsesc numai țesuturi.

Demonstrarea prezenței antigenelor *Forssman* se poate efectua prin inocularea de titrat de rinichi de cobai de iepure. Se obține astfel un ser ce conține anticorpi hemolizanți față de hematiile de oaie (*ser Forssman*). Cercetările au dovedit că antigenul “rinichi de cobai nu este identic cu antigenul “hematii de oaie. Din acest punct de vedere s-a precizat că un ser hemolitic antioaie este activ și pentru hematiile de bou, pe câtă vreme serul *Forssman* este activ numai față de hematiile de oaie. În consecință se apreciază că hematia de oaie are o structură antigenică mai complexă, prezentând un antigen termolabil la 100°C, specific și izofil și un antigen termostabil la 100°C, nespecific, heterofil, care este de fapt haptena *Forssman*.

2. Atg. heterologe (xeno Atg.) = provin de la indivizi de altă specie.

3. Atg. izolage (allo Atg.) = provin de la indivizi de aceeași specie și exprimă polimorfismul genetic în cadrul unei specii. Doi indivizi ai unei specii sunt diferiți din punct de vedere antigenic.

4. Atg. autologe (auto Atg.) = Atg. exprimate de celulele proprii ale unui individ.

După gradul de complexitate al moleculei de antigen se deosebesc:

☉ **antigene complete** - sunt considerate acele antigene care posedă atât suportul coloidal, cât și grupările de specificitate (epitopii). Acest tip de antigene determină formarea de anticorpi și reacționează specific cu aceștia “in vitro. Cele mai multe din antigenele naturale sunt antigene complete;

☉ **antigene incomplete (haptene)** - sunt considerate ca fiind “fragmente ale moleculei de antigen complet, care nu sunt capabile să inducă formarea de anticorpi specifici, atunci când sunt inoculate singure la un organism primitiv. Ele au însă capacitatea de a reacționa cu anticorpul, proces finalizat prin producerea unor reacții vizibile. Haptenele pot, deci, interacționa cu anticorpul specifici (posedă antigenitate), dar nu pot induce formarea lor (nu sunt imunogene). Haptenele sunt în general compuși chimici cu greutate moleculară mică,

ce se pot ataşa de o moleculă purtătoare, fiind restabilită astfel funcţia antigenică primară.

După structura chimică se deosebesc următoarele tipuri:

Antigene proteice - constituie grupa cea mai numeroasă de substanţe care îndeplinesc, de cele mai multe ori, condiţii de imunogenitate şi antigenitate. După intensitatea răspunsului imun se disting proteine cu imunogenitatea ridicată (*exemplu: albuminele, glicoproteinele serice, etc*) şi proteine cu imunogenitate slabă (*exemplu: hemoglobina şi polipeptidele cu masă moleculară mică*).

Tratarea termică sau chimică a unor proteine poate modifica imunogenitatea lor. Este important de subliniat că formaldehida aboleşte activitatea biologică (patogenă) a unor proteine, fără a afecta imunogenitatea lor. Această proprietate este deosebit de importantă şi are aplicabilitate practică la prepararea vaccinurilor. Dimpotrivă, tratamentul cu glutaraldehidă conferă moleculei (*exemplu: albumina serică umană*) noi determinanţi antigenici constituiţi probabil din nucleee piridinice, rezultate din reacţia glutaralhidei cu grupările amino ale lizinei.

Antigene polizaharidice - constituie o grupă importantă de substanţe întâlnite în natură, dar care sunt dotate cu proprietăţi imunogene mai puţin marcante decât proteinele. Cu toate acestea, numeroase substanţe polizaharidice sunt active în cadrul unor compuşi complecşi. Trăsătura caracteristică a celor mai multe polizaharide este structura lor regulată repetitivă, în care unităţi monozaharidice sunt legate în lanţuri lungi lineare sau ramnificate. Atât compuşi polizaharidici lineari cât şi cei ramnificaţi au proprietăţi antigenice evidente, desigur, cu modificările corespunzătoare de specificitate, determinate de structură. O serie de polizaharide prezente în structura bacteriilor au un rol în determinarea specificităţii răspunsului imun faţă de acestea. Aşa este cazul compuşilor glucidici ai pneumococilor, salmonelelor, colibacililor, etc. Antigenele de pe suprafaţa eritrocitelor, care conferă specificitatea de grup sanguin (O, A, B, AB) sunt de natură glicoproteică, specifică.

Substanţele glucidice au proprietăţi imunogene care se manifestă

și prin inducerea și declanșarea stărilor de hipersensibilizare mediate umoral (prin anticorpi). Astfel de fenomene se realizează prin unele polizaharide, ca atare, cât și prin haptenele lor glucidice, componente ale unor antigene. Stările de hipersensibilizare mediate celular pot fi induse și declanșate numai de către haptene polizaharidice cuplate pe macromoleculele proteice purtătoare. Polizaharidele purificate au putere imunogenă slabă, unele dintre ele (acidul hialuronic) fiind neimunogene sau imunogene doar pentru unele specii de animale (exemplu: polizaharidul de tip III din capsula pneumococului este imunogen pentru șoarece și om, dar nu și pentru cobai și iepure).

Antigene nucleice - reprezentate de acizii nucleici, ADN și ARN, care, deși sunt macromolecule, au slabe proprietăți imunogene. Pot interveni în unele procese imunologice, dar mai frecvent ca haptene, decât sub forma unor antigene complete. Pot induce formarea de anticorpi, atunci când formează complexe cu unele polizaharide sau proteine. Încercările de a demonstra imunogenitatea acizilor nucleici liberi au dat rezultate contradictorii. Imunizarea cu ADN a indus răspunsuri mai constante în urma asocierii sale cu adjuvant *Freund*. Dovada imunogenității lor este dată de existența anticorpilor anti-ADN mono sau dublu catenar, în lupusul eritematos sistemic (uman sau murin) sau în alte boli autoimune.

Antigenele lipidice - includ diferite lipide, singure sau în asociere cu alte substanțe. Lipidele ca atare sunt lipsite de proprietăți imunogene, dar pot avea calități de haptene, mai ales dacă se cuplează cu proteine. Astfel, se pot obține anticorpi anticolesterol, antilecitină, anticefalină, etc. Mai bine studiate sunt proprietățile antigenice ale cardiolipinei, o haptenă folosită în reacția *Wasserman*, reacție utilizată în diagnosticul serologic al sifilisului la om. Cardiolipina (răspândită în țesuturile animalelor, plantelor și chiar la unele bacterii) reacționează pozitiv numai cu anticorpii oamenilor infectați cu *Treptonema pallidum*. Lipidele conferă proprietăți antigenice și funcționale lipopolizaharidelor, endotoxinelor și altor complexe antigenice.

După modul de formare, antigenele se clasifică în naturale, artificiale și sintetice:

⊗ **antigene naturale** - reprezentate de diferiți constituenți

naturali, întâlniți la animale, plante și microorganisme. Pot fi substanțe solubile (proteine, polizaharide, acizi nucleici) sau diferite particule insolubile, corpusculare (celule, bacterii, virusuri, paraziți).

☞ **antigene artificiale** - formate din macromolecule naturale cu rol de purtător, pe care se leagă în condiții artificiale diferite haptene, care vor imprima caracterul de specificitate.

☞ **antigenele sintetice** - întâlnite în condiții de laborator și care sunt produse prin diferite procedee de sinteză. Sunt reprezentate de polipeptide sintetizate în mod artificial, prin polimerizarea unor derivați ai L sau/și D- aminoacizilor (anhidridele N-carboxiaminoacizilor).

După capacitatea de a stimula limfocitele T sau B, antigenele se clasifică în antigene T-independente și antigene T-dependente.

☞ **antigene T-independente** (*timus independente*) sunt antigene capabile să inducă maturarea limfocitelor B purtătoare de receptori pentru antigen, fără a necesita intervenția limfocitelor.

☞ **antigene T-dependente** (*timus dependente*) sunt antigene care induc formarea de anticorpi de către descendenții celulelor B, purtătoare de receptori pentru antigen, numai prin cooperare cu limfocitul T ajutător (LTh), fiind necesar existența unor stimuli adiționali.

7.4. PRINCIPALELE CATEGORII DE ANTIGENE NATURALE

7.4.1. Antigenele bacteriene

O bacterie nu este unică de punct de vedere antigenic, fiind de fapt constituită dintr-un mozaic de antigene. Acestea sunt reprezentate de diferite componente chimice prezente în structuri bacteriene. Astfel se disting:

Antigenele somatice "O" sunt antigene extrase din corpul bacteriilor, având localizarea preponderentă în peretele celular. Sunt de natură polizaharidică, termostabile și posedă însușiri biologice complexe:

- a. sunt imunogene, asigurând specificitatea de specie la bacteriile Gram-negative și de grup la cele Gram pozitive;
- b. dezvoltă hipersensibilitatea imediată și de tip *Sanarelli-Scwartzmann*;
- c. stimulează sistemul mononuclear fagocitar și imunitatea nespecifică;
- d. manifestă activitate anticomplementară.

La bacteriile Gram negative antigenul somatic este reprezentat de endotoxine, iar la bacteriile Gram pozitive de către acizii lipoteichoici.

Antigenele flagelare "H" sunt obținute din flagelii (cili) celulelor bacteriene. Abrevierea H provine de la cuvântul *hauch* care înseamnă vâl. Din punct de vedere chimic sunt de natură proteică, iar imunologic stimulează mai ales LB. Antigenele flagelare au fost bine studiate la bacteriile din familia *Enterobacteriaceae*, îndeosebi la cele din genul *Salmonella*, având un rol important în identificarea (tipizarea) serologică a acestor bacterii.

Antigenele fimbriale "F" se obțin din fimbriile bacteriilor. Prezintă specificitate corelată cu specia bacteriană, însă pot da reacții încrucișate. Mai bine studiate sunt antigenele F la *E.coli* și anume F₄ (K₈₈) prezente la tulpinile ce îmbolnăvesc porcii și F₅ (K₉₉) întâlnite la tulpinile patogene pentru viței. Aceste antigene au o importanță deosebită în mecanismul patogen al colibacilozei, favorizând fixarea colibacililor la suprafața eritrocitelor.

Antigenele de înveliș "K" sunt prezente în structura capsulară a bacteriilor capsulogene. Din punct de vedere chimic, capsula prezintă diferențe de la o specie bacteriană la alta sau chiar în cadrul aceleiași specii. De exemplu, la *Streptococcus pneumoniae* este de natură polizaharidică și se disting 83 de tipuri antigenice, la *Bacillus anthracis* are o structură polipeptidică, iar la *Klebsiella pneumoniae* este de natură poliglucidică și se disting 83 de tipuri capsulare. Antigenele capsulare au rol mai ales în mecanismul patogen inhibând fagocitoza.

Antigene de suprafață "Vi" definesc capacitatea de virulență a bacteriilor care posedă astfel de antigene. Sunt situate în celula bacteriană, exterior antigenului somatic, împiedicând aglutinarea cu seruri anti-O (inaglutinabilitate). Prezența lor se corelează cu virulența tulpinilor respective și au fost descrise la unele salmonele (*S. tify*, *S.*

hirschfeldii, *S. typhimurium*) dar și la alte specii bacteriene (*Citrobacter*). Sunt antigene termolabile, dar insensibile la alcool și formol. Pentru a elimina fenomenul de inaglutinabilitate, tulpinile testate se supun încălzirii.

7.4.2. Antigenele virale

Capacitatea imunogenă a virusurilor rezidă în structura lor chimică complexă. În general, componentele proteice ale capsidei și pericapsidei virale îndeplinesc condiții de antigenitate și imunogenitate, declanșând răspunsuri imune satisfăcătoare, pe când acizii nucleici au o slabă capacitate imunogenă.

Unele virusuri sunt unice din punct de vedere antigenic, fiind puternic imunogene (exemple: *virusul IBR/IPV*, *virusul bolii lui Aujeszky*, *virusul pseudopestei aviare*, etc), pretându-se la prepararea unor vaccinuri eficiente. Alte virusuri prezintă un accentuat fenomen de variație antigenică, caracterizat printr-o mare labilitate antigenică și, mai ales, imunogenetică, care duce la apariția de noi variante antigenice, chiar pe parcursul aceleași epidemii (exemple: *virusul febrei aftoase* prezintă 7 tipuri cu următoarele subtipuri sau variante: A-32, O-11; C-5, SAT₁-7, SAT₂-3. SAT₃-4 și Asia₁-3; *virusul pestei porcine africane* prezintă 20 variante imunologic distincte; *virusul exantemului veziculos al porcului* are 11 variante, etc.).

Aspectele particulare sub raportul variației antigenice se întâlnesc la virusurile din familia *Orthomyxoviridae* (gripale). Acestea posedând un genom segmentat, există posibilitatea apariției unor "rearanjări a segmentelor genomice provenite de la virusuri diferite, cât și între virusurile gripale umane, cu cele ecvine, porcine și aviare.

La *virusul anemiei infecțioase* se descrie așa numita "derivă antigenică determinată de modificarea antigenității anvelopei virale sub acțiunea anticorpilor formați în organism, astfel, că noii progeni apăruiți în procesul de replicare se deosebesc antigenic de sușele parentale.

Variația antigenică crează dificultăți în obținerea unor vaccinuri eficiente, ca urmare a faptului că prin schimbarea periodică a profilului antigenic se evită neutralizarea prin intermediul anticorpilor produși

față de sușele parentale.

7.4.3. Antigenele parazitare

Paraziții prezintă, de asemenea, o structură antigenică complexă. Ei reușesc să se mențină în organism prin intermediul unor organite de fixare sau acoperirea cu substanțe prin care se evită răspunsul imun din partea organismului. La o serie de paraziți, cum ar fi plasmodiul malariei, tripanosomele și boreliile, ca urmare a mutațiilor genice spontane cu implicații asupra structurii lor antigenice, pot supraviețui răspunsului imun dezvoltat de gazdă, față de populația parazitara inițială, care posedă o structură antigenică diferită de cea a mutanților lor. Antigenele pot fi solubile sau particulate.

În infecțiile cu paraziți intracelulari, imunitatea celulară este necesară pentru a conferi rezistență față de agresiunea parazitara, pe când în infestațiile cu paraziți extracelulari (nematozi, trematozi, etc) rămâne o problemă deschisă dacă se dezvoltă sau nu imunitatea protectivă față de acești paraziți. Se cunoaște că în organismul parazitat cu diverși helminți sau alte categorii de paraziți, se dezvoltă anticorpi de tip reagenic (IgE) și stări de hipersensibilizare imediată. Acești anticorpi sunt produși de stimulare cu antigene, fie somatice, fie produse de metabolism ale paraziților.

În principiu este acceptat faptul că paraziții care în ciclul lor evolutiv dezvoltă larve ce invadează țesuturile gazdei, determină un răspuns imun, iar cei cu localizare intestinală nu determină răspuns imun protectiv.

Din paraziții adulți sau diferite stadii larvare au fost obținute antigene cu utilizare în reacții serologice (*hemaglutinare pasivă, RFC, seroprecipitare, ELISA, imunofluorescență, etc*) sau alergice. Astfel de antigene au fost obținute din *Cystricercus celulose*, *Cysticercus bovis*, *Anaplasma sp.*, *Trichinella spiralis*, *Toxoplasma gondii*, *Tripanosoma equioerdum*, *Hipoderma bovis*, etc.

7.4.4. Antigenele de grup sanguin și Rh

Conform sistemului antigenic A,B,O, oamenii pot fi clasați în 4

grupe distincte și anume:

- grupa I sau 0, cu aglutinine, dar fără aglutinogeni;
- grupa II sau A, cu aglutinogen A și aglutinine beta;
- grupa III sau B, cu aglutinogen B și aglutinine alimfocitea;
- grupa IV sau AB, cu aglutinogeni AB dar fără aglutinine.

Transfuzia interindividuală este posibilă numai în cadrul aceleași grupe, cu excepția grupei 0, care nu ridică asemenea probleme. În caz contrar, transfuzia poate fi letală pentru receptor, deoarece aglutininenele proprii vor aglutina hematiile transfuzate, producând obstruarea vaselor sangvine. Aglutinogenii sistemului A, B și 0 se transmit ereditar, fiind sub controlul genelor A și B cu 3 alele (A,B,O), 6 genotipuri (AA, AO, BB, BO, OO, AB) și 4 fenotipuri (A, B, O, AB). Grupa O este întotdeauna hemozigotă (OO), iar grupa IV este heterozigotă (AB).

Antigenele de grup sangvin sunt determinate genetic.

Exemple:

1. Antigenele de grup sanguin din sistemul ABO sunt produse la comanda unor gene plasate pe cromozomul 9. Ele sunt exprimate atât la suprafața eritrocitelor cât și pe alte celule tisulare. Uneori pot exista și în lichide biologice (salivă) la indivizii denumiți *secretori*.

2. Antigenele de grup din sistemul Rh sunt produse la comanda unor gene plasate pe cromozomul 1. Ele sunt exprimate numai pe eritrocite.

Sistemul RH a fost semnalat de către *Lansteiner* și *Wiener* (1940), care au constatat că serul iepurilor imunizați cu eritocitele maimuțelor *Macaccus rhesus* aglutinează eritrocitele a 85% din oameni. Aceștia au fost numiți **Rh pozitivi**, ceilalți fiind Rh negativi.

Folosirea de antiseruri, obținute prin izoimunizare, a dus la identificarea a 26 de antigene Rh, deci un adevărat sistem. Cel mai frecvent se întâlnesc următoarele antigene: D, d, C, c, E, e. Grupul genic ce coordonează sinteza antigenelor Rh se transmite ereditar după legile mendeliene și este responsabil de **eritroblastoză fetală**. Astfel, o mamă **Rh⁻** care poartă un fetus Rh⁺ (caracter moștenit de la tată), va fi imunizată de hematiile fetale. Anticorpui apăruiți produc aglutinarea eritrocitelor fetale și moartea produsului de concepție.

Spre deosebire de aglutininele alimfocitea și beta ale sistemului A, B, O, în sistemul Rh nu există anticorpi naturali, apărând numai după imunizarea mamei de către hematiile fetale sau după transfuzii cu eritrocitele subiecților D (Rh⁺) sau de la cei D (Rh^v).

Antigenele ce reprezintă grupele sanguine sunt constituite din molecule membranare prezente la suprafața celulelor sanguine circulante, unele dintre ele fiind puternic imunogene. Toate antigenele grupelor sanguine stimulează producerea de anticorpi specifici.

Acestea se identifică în laborator cu ajutorul anticorpilor specifici. Este vorba de o *reacție de aglutinare*, dar, adesea, pentru a deveni vizibilă se impune uneori efectuarea unor “artificii”, cum ar fi mediul macromolecular, adăugarea unor enzime, aplicarea testului Coombs.

3. Antigenele leucocitare (*Human Leukocyte Antigens HLA*) sunt produse de gene grupate într-o zonă a brațului scurt al cromozomului 6 denumită *complexul major de histocompatibilitate* (CMH).

7.4.5. Antigenele de histocompatibilitate

Antigenele de histocompatibilitate (AHC) sunt reprezentate de structuri moleculare situate la suprafața tuturor celulelor unui organism. Ele nu diferă de la un organ la altul sau de un țesut la altul, ci diferă de un individ la altul, în funcție de linia genetică din care provine. AHC s-au dovedit a fi controlate de gene de histocompatibilitate situate pe cromozomi.

CMH conține mai mulți loci, care la rândul lor codifică trei familii de proteine. Locii A, B, C codifică proteinele exprimate pe suprafața tuturor celulelor nucleate și a trombocitelor. Aceste proteine (A, B, C) sunt denumite *proteine din clasa I*. Regiunea D cuprinde locii DP, DQ și DR. Produsele acestor gene au fost denumite *proteine din clasa a II-a*.

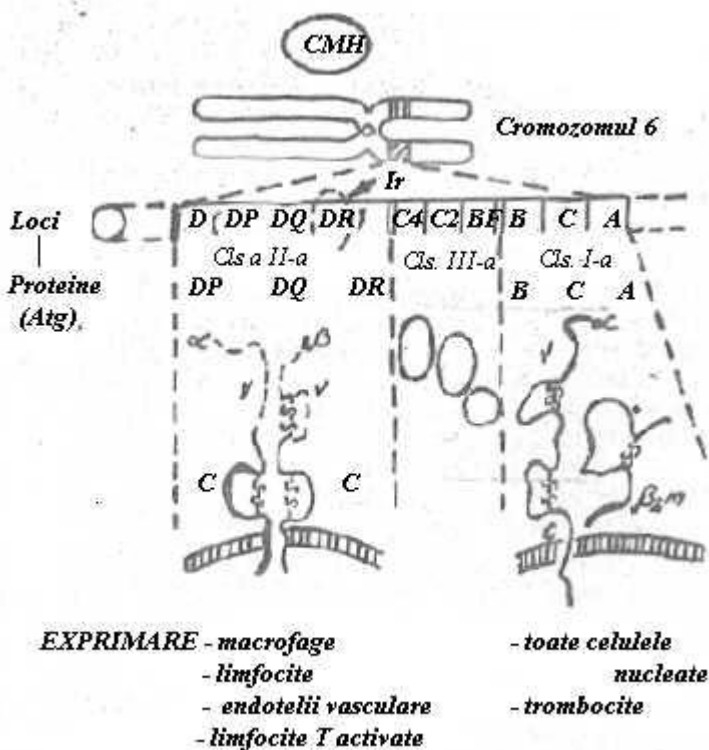


Fig.16 Complexul major de histocompatibilitate și antigenele HLA

Sunt exprimate de un număr mai restrâns de celule și anume cele care sunt interesate funcțional în transmiterea informației antigenice: macrofagele care prezintă antigenele și din partenerile lor care receptează această informație: limfocitele B și limfocitele T activate. Proteinele din clasa I și a II-a formează sistemul antigenelor HLA.

Pe lângă genele ce codifică sistemul HLA, CMH mai cuprinde alți trei loci care controlează producerea unor componente din sistemul complement C₂, C₄ și Bf. Aceste proteine foarte slab antigenice au fost grupate sub numele de proteine de clasa a III-a .(Fig.16).

7.4.6. Antigenele sechestrate

Prin cercetările lui *Burnet* și ale lui *Medawar* și *col.* s-a dovedit că

există o toleranță imună înăscută față de toate antigenele de organe, care au venit în contact cu sistemul limfoid. Pentru structurile tisulare care rămân topografic în afara contactului cu limfocitele circulante, nu există o toleranță imunologică înăscută. Asemenea structuri se găsesc în anumite țesuturi, cum ar fi tiroida, creierul, testiculul și unele componente oculare și care în condiții fiziologice nu sunt vehiculate în organism.

În cazuri patologice are loc deversarea lor în circulație, iar în contact cu celulele imunocompetente, acestea le recunosc drept non-self și vor produce împotriva lor efectori imun, având drept consecință inducerea de boli autoimune. Se amintește în acest sens tiroidita autoimună, oftalmia simpatică, aspermia autoimună, etc.

CAPITOLUL 8

RĂSPUNSUL IMUN (IMUNOGENEZA)

Răspunsul imun sau imunogeneza este reacția organismului prin care acesta produce efectorii imuni consecutivi unui stimul antigenic. Prima condiție a dezvoltării unui răspuns imun este recunoașterea non-selfului. Ca și în cazul imunității naturale, organismul acționează în sensul distrugerii, al îndepărtării sau anihilării efectelor nocive ale non-selfului. În timp ce mecanismele imunității naturale acționează în mod egal, nediferențiat, împotriva non-selfului, indiferent de compoziția lui chimică și indiferent dacă acesta are sau nu proprietăți antigenice, răspunsul imun are loc numai față de structuri non-self dotate cu attributele antigenității și se caracterizează printr-un înalt grad de specificitate.

În cazul răspunsului imun, organismul elaborează efectori imuni, reprezentări de structuri de neoformație, inexistente anterior pătrunderii antigenului. Acestea pot fi, ca nivel de organizare, molecule sau celule.

Efectorii imuni cu nivel de organizare molecular se numesc **anticorpi**, denumirea subliniind complementaritatea lor față de antigen sau **imunoglobuline**, termen mai modern, care precizează compoziția chimică corelată cu intervenția lor în procesele imune.

Efectorii imuni cu nivel de organizare celulară poartă denumiri diferite, în funcție de natura celulelor efectoare, de modul lor de formare și de acțiune.

Starea de imunitate instalată pe baza răspunsului imun poate fi considerată ca fiind de tip umoral sau celular, în funcție de predominanța uneia din cele două categorii de efectori imuni; împărțirea aceasta, este arbitrară întrucât și efectorii imunității umorale sunt de fapt tot rezultatul unor activități celulare.

Trăsătura esențială a răspunsului imun constă în faptul că atât în recunoșterea non-selfului cât și în procesul de elaborare a efectorilor imuni organismul reușește să diferențieze detalii fizico-chimice de extremă finețe ale antigenului și să determine negativul acestuia sub forma unor complementarități de o extrem de riguroasă specificitate. Capacitatea de discernere și diferențiere a detaliului de către organism este elocvent demonstrată de exemplul clasic în care, în elaborarea anticorpilor specifici unor antigene artificiale preparate prin cuplarea unei proteine cu acidul tartric, gradul de specificitate al anticorpilor merge până la sesizarea tipului de rotație al luminii polarizate.

Astfel, anticorpii a căror formare este determinată de antigenul ce conține acid tartric dextrogir nu reacționează decât cu acest antigen și sunt incapabili să reacționeze cu antigenul în care gruparea determinantă este reprezentată de acidul tartric levogir.

Producerea efectorilor imuni este determinată de acea însușire a unor sisteme morfofuncționale ale organismului numită imunocompetență.

Într-un sens mai larg, imunocompetența este atribuită tuturor organelor, țesuturilor, celulelor care contribuie într-un fel sau altul la realizarea răspunsului imun.

Într-un sens mai îngust, imunocompetența este recunoscută numai elementelor morfofuncționale care produc prin biosinteză sau din care rezultă prin transformare blastică efectori imuni.

Într-o concepție mai modernă, inspirată din lucrările imunologului VICTOR GHETIE, imunocompetența ar putea fi definită *ca însușirea unor celule din organism de a recunoaște, cu ajutorul receptorilor imunologici de pe suprafața lor, semnalele antigenice, de a le traduce și de a le amplifica intracelular, determinând celula să producă efectori imuni, sau să îndeplinească ea însăși acest rol.*

Treapta filogenetică la nivelul căreia apare imunocompetența o reprezintă vertebratele. Peștii sunt, prin urmare, viețuitoarele cele mai evolute, capabile să dezvolte un răspuns imun. Suind pe scara filogenetică se constată o strânsă corelație între superioritatea treptei și complexitatea răspunsului imun.

8.1. EFECTORII UMORALI AI RĂSPUNSULUI IMUN (ANTICORPII)

Răspunsul imun umoral se realizează prioritar față de următoarele antigene: eritrocite heterologe, bacterii, virusuri, proteine plasmatiche heterologe, paraziți care determină infestații cu evoluție acută, etc. Veriga efectoare a răspunsului imun umoral o reprezintă niște proteine specifice numite anticorpi (Atc.) sau imunoglobuline (Ig) sintetizate în urma stimulării cu un anumit antigen, capabile să se unească cu antigenul inductor formând așa numitele *reacții antigen - anticorp*.

Anticorpii sunt molecule complexe cu **2 poli funcționali**:

- Un pol servește pentru **recunoașterea antigenelor**. Este o zonă cu structură moleculară foarte variabilă, adaptată pentru recunoașterea și cuplarea cu enorm de multe structuri antigenice din mediu (se admite că numărul maxim de structuri elementare recunoscute de către anticorpi este de ordinul 10^{17}).

- Celălalt pol denumit **efector** are o structură constantă. Servește pentru amorsarea activării complementului prin calea clasică și pentru atașarea (imunoaderența) la macrofage.

Din punct de vedere biologic, atc. sunt molecule adaptative bifuncționale, servind ca piese de legătură care mijlocesc atașarea atg. pe fagocite. Atc. nu distrug antigenele, dar convertesc diversitatea materială a antigenelor într-un semnal unic și accesibil mecanismului ancestral de apărare care este fagocitoza.

8.1.1. Structura imunoglobulinelor (Ig)

Ig sunt formate din combinații de lanțuri polipeptidice cu lungimi diferite: unele lungi, denumite lanțuri grele sau H (de la *Heavy*), celelalte scurte - lanțuri ușoare sau L (de la *Light*). Există cinci tipuri de lanțuri H (gama, alimfocitea, miu, delta și epsilon) și două tipuri de lanțuri L (kapa și lambda). Lanțurile H definesc clasa imunoglobulinelor (ex. gama pentru IgG, alimfocitea pentru IgA, miu pentru IgM, delta pentru IgD,

epsilon pentru IgE.). Genele care comandă producția de lanțuri H și L sunt plasate pe cromozomi diferiți (cromozomul 14 pentru lanțurile H, cromozomul 2 pentru lanțurile K și cromozomul 22 pentru lanțurile lambda). *Ig sunt elaborate de LimfociteB*. O celulă produce un singur tip de lanț ușor (kapa sau lambda). Lanțurile grele și cele ușoare se formează pe poliribozomi diferiți, după care se assemblează 2 câte 2 pentru a forma molecula de Ig.

8.1.2. Clasele de Ig.

IgG - Structura acestei Ig este considerată modelul tip pentru toate clasele de Ig: 2 perechi de lanțuri formate fiecare din ele din câte un lanț H plus un lanț L. Cele patru lanțuri sunt legate între ele prin punți disulimfociteidice. Configurația generală a moleculei schematizată după imaginea observată la microscopul electronic, amintește forma literei Y, în care cele două brațe reprezintă extremitățile aminoterminală, iar coada, extremitățile COOH- ale lanțurilor.

După compoziția în aminoacizi, lanțurile H și L sunt formate din două domenii: **variabil** (V), la extremitatea aminoterminală și **constant** (C) la extremitatea carboxilică. Secvența de aminoacizi din compunerea domeniilor V diferă de la o moleculă la alta. Diferențele sunt maxime în trei puncte ale secvenței - zonele *hipervariabile* care formează situsul combinativ cu antigenul. Domeniile C sunt cele care caracterizează lanțurile gama, kapa sau lambda. Există patru variante de lanțuri gama (gama 1 gama 4) care definesc patru subclase de IgG (IgG₁.....IgG₄). Papaina atacă moleculele de IgG în amonte de legătură -S-S- care unește cele două lanțuri H. Rezultă două fragmente Fab (ab = *antigen binding*) care conține secvențe combinate cu Atg. și un fragment Fc (c = *cristalizabile*) care constituie **elementul efector al moleculei** (fixarea complementului și fixarea pe celule care posedă receptori specifici pentru Fc). (Fig. 17).

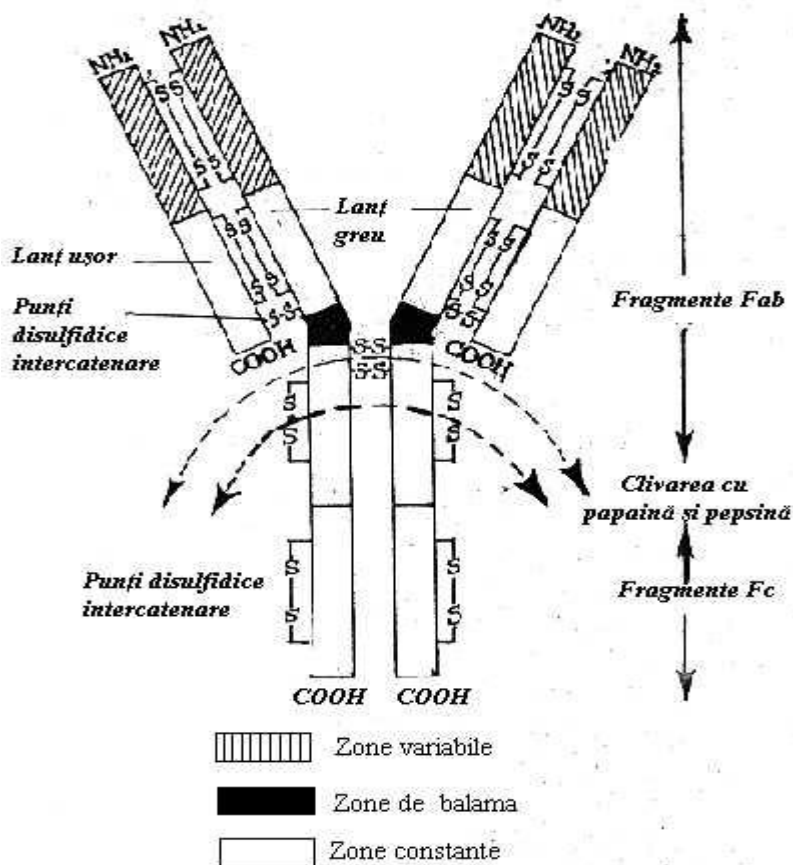


Fig. 17 Schema unei molecule de imunoglobulină G

Locul activității proteolitice a pepsinei este plasat în aval de puntea disulfimfociteidică dintre lanțurile H. Rezultă un rest F (ab)₂ format din cele două Fab - uri unite prin puntea -S-S- și care se comportă ca un anticorp, plus 2 resturi ale C_H care sunt degradate în peptide mici. IgG pot străbate barierele endoteliale. Ele difuzează în spațiile extravasculare unde participă activ la reacția de apărare antibacteriană. După atașarea pe corpii microbieni, IgG mijlocesc prin segmentul efector Fc, imunoaderența și, uneori, activarea complementului. Prin abilitatea de a traversa placenta ele protejează nou-născutul (al cărui sistem imun

este incapabil de reacții eficiente) împotriva infestării cu microbi. (Tabelele nr. 3 și 4)

IgM au dimensiuni mult mai mari (*macroglobuline*) rezultate din asocierea a 5 unități monomerice compuse și ele din împerecherile de lanțuri H (aici lanțuri miu) cu lanțuri L (kappa sau lambda). Există două feluri de lanțuri miu (miu 1 și miu 2). Cele 5 unități monomerice se unesc între ele prin extremitățile distale ale segmentelor Fc formând imaginea unei stele cu cinci brațe.

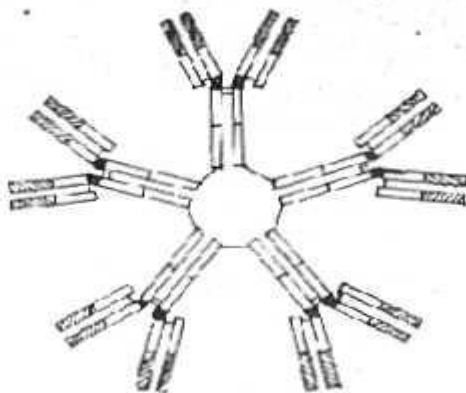


Fig. 18 Structura imunoglobulinei M

În consecință molecula pentamerică conține 10 Fab-uri (10 situsuri combinate cu antigenul. (Fig.18).

Sinteza IgM precede pe aceea a IgG în răspunsul imunitar primar. Din cauza dimensiunilor lor foarte mari, IgM nu poate părăsi ușor spațiul intravascular, unde joacă un rol important în combaterea bacteriilor. Prin multiplele lor valențe combinate cu antigenul, **ele pot lega simultan, mai mulți corpi bacterieni** (fenomen care este denumit aglutinare), iar prin abilitatea lor marcată de activare a complementului (o moleculă de IgM fixată pe un Atg. declanșează calea clasică) **produc liza acestora**.

Tabel nr. 3 Caracteristicile imunoglobulinelor

Clase de Ig	Lanț greu	Lanțuri ușoare	Lanțuri supliment.	Nr de subunități	Subclase	Greutate moleculară	Coefficient de sediment	Perioada de înjumătățire	Concentrația medie în ser de adult mg/100 ml	Proprietăți imunologice
IgM	μ	κλ	J	5	IgM ₁ IgM ₂	900.000	19 S	1	45-150 (125)	Apar procese în răspunsul imun eficient. Opsonizează, aglutinează, fixează C. Anticorp principal pentru polizaharide, bacterii G(-)
IgG		κλ		1	IgG ₁ IgG ₂ IgG ₃ IgG ₄	150.000	7S	23	720-1500 (1200)	Cel mai frecvent anticorp, mai ales extravascular. Apare în lichide biologice, trece prin placentă; subolasele 1,2 și 3 fixează C. Anticorp principal pentru toxine, virusuri, bacterii.
IgA	α	κλ	J SC	1,2,3	IgA ₁ IgA ₂	170.000	7-15 S	6	90-325 (210)	Ig principală în secreția sero-mucoasă a mucoaselor.
IgE	ε	κλ		1		200.000	8 S	2	0,04-0,1	Prezent în secreții seromucoase. Indicator al infecției parazitare.
IgD	δ	κλ		1		180.000	7.S	3	3	Nu se cunosc.

Legendă: J= lanț de legare (Joining)
C = complement

SC= componenta secretorie

Tabel nr. 4

Tipuri de leziune imunologică (după Nakamura și Tucker, 1973)

Tipuri de reacție	Debut	Atc	Celule	Sediul reacției	Mediatorii biochimici
A. Dependente de Atc 1. Anafilactic (reaginic, atopic)	Rapid (sec.-min)	IgE	Bazofile Mastocite (posedă receptor pentru Fc al IgE)	Reacția locală variază în raport cu poarta de intrare; poate fi sistematică (generalizată)	Histamină, heparină, serotonină, SRS-A și ECF
2. Mediate de complement activat de a. Complexe imune (cu Atg liber sau încorporat în membrana celulei ținte)	între 30 min și 2 ore	IgM IgG	Neutrofile	Variază cu localizarea tisulară a complexelor ori cu sediul reacției între anticorpi și constituenții (antigenul) tisular	- factori complement chemotactici; - enzime lizozomale hidrolitice eliberate de neutrofile
b. Imunoaderență	Min.-ore	IgM IgG	Celule SRE (poses. de recep.pt C _{3b})	Sinusuri vasculare a SRE	- complement: C3b
3. Citotoxic (reacția CMCD a celulei K)	Interme- diar	IgG	Mononucleare celule K ("nule") , posesoare de receptor pentru Fc	Variază cu sediul tisular al celulei țintă acoperită cu anticorpi	- receptor pentru Fc; - factor citotoxic liberat de celula K - fagocitoză
B. Mediate de limfocit T 1. Granulomatoasă	întârziat 18-48 ore	-	-cel. T-efect (secretorii) -monocite, macrofage (recrutate)	-variază cu țesutul unde este localizat antigenul recunoscut	Liberare de limfokine solubile din limfocit T activat de Atg.
2. Citotoxică-citolitică	întârziat 18-48 ore	-	- celule T-efector (ucigașe)	-variază cu localizarea celulei țintă	Factor citotoxic liberat de limfocitul T-killer

SRS-A- *Slow reacting substance of anaphylaxis* (sub. lent reactivă a anafilaxiei)**ECF:** *Eosinophil chemotactic factor* (fact. chemotactic al eosinofilelor)
de Atc**SRE:** Sistem reticulo-endotelial**CMCD:** Citoliza mediată de celule dependentă

IgA se prezintă sub două forme: IgA serică și IgA secretorie. Structura de bază este o combinație de 2 lanțuri alimfocitea cu două lanțuri L (kappa și lambda).

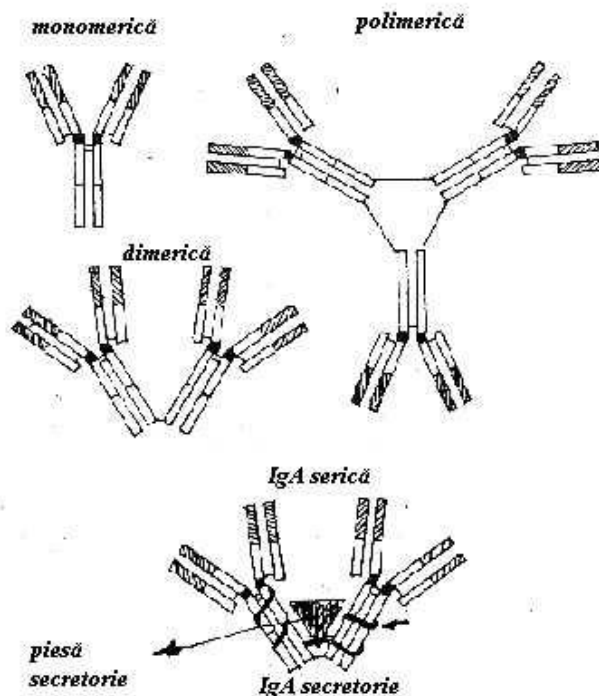


Fig. 19 Structura imunoglobulinei A

Există două subclase de IgA (alimfocitea 1 și alimfocitea 2). IgA serică poate fi monomerică, dimerică sau polimerică. Rolul său nu este bine cunoscut. IgA secretorie este prezentă în concentrație ridicată în salivă, lapte, lacrimi, spută sau secreții digestive. Este formată din două unități monomerice unite între ele printr-o *piesă secretorie* și un mic polipeptid (lanțul J). (Fig.19)

IgA secretorie este produsă local de elemente limfoide specializate din submucoase, sub formă de dimeri stabiliizați prin lanțuri J.

Aceștia se unesc cu un **receptor expus** pe membrana celulelor epiteliale cu care formează un complex care traversează aceste celule către suprafața lor externă sau luminală. La acest nivel molecula receptorului se scindează, iar fragmentul care rămâne legat cu dimerul de IgA formează *piesa secretorie*. Aceasta din urmă ar avea rolul de a apăra de proteoliză IgA expusă pe suprafețe. IgA secretorie asigură protecția antibacteriană la nivelul suprafețelor care vin în contact cu mediu extern. Ea inhibă aderența microorganismelor la mucoase, prevenind în acest mod străbaterea barierelor externe de către agenții microbieni.

IgD este la fel ca IgG o structură monomerică cu formula $\delta_2 + L_2$ (kapa sau lambda). Concentrația serică a IgD este foarte redusă (0,025 g/l). La fel ca și IgM, IgD sunt frecvent exprimate pe suprafața limfocitelor B unde operează ca receptori specifici pentru Atg.

IgE sunt produse în titruri mari în cursul reacțiilor alergice, când se fixează pe receptorii Fc de pe membrana granulocitelor bazofile și a mastocitelor declanșând eliberarea de histamină și de alte amine vasoactive. Au fost denumite și *reagine*. Sunt compuse din lanțuri epsilon și L. Urme de IgE există și în serul normal. **Rolul fiziologic al IgE ar fi cel de protecția suprafețelor mucoaselor externe.** Microbii care depășesc apărarea locală mediată de IgA și se combină cu IgE, induc prin intermediul unor mecanisme mediate de acestea, o recrutare locală de efectori solubili (de ex. complement și IgG și de celule în special de fagocite).

Ig sunt produse de Limfocite B sub două forme (fig.20):

1. Ig exprimate pe suprafața membranei LB: moleculele respective sunt încastrate în membrana Limfocite printr-o *piesă de legătură* (secvența de aminoacizi de la nivelul carboxiterminal al moleculei). Extremitatea aminoterminală (care conține situsul combinativ) proemină în afara membranei. Ig de suprafață (sIg) joacă rolul de receptor pentru Atg. al LB. Interacțiunea specifică sIg - Atg. produce un semnal care activează LB.

2. Ig secretate de către LB activate și transformate în plasmocite se găsesc ca molecule libere în plasmă, în secreții și lichidele

extravasculare unde joacă rol de anticorpi care se cuplează cu antigenul recunoscut în prealabil de slg.

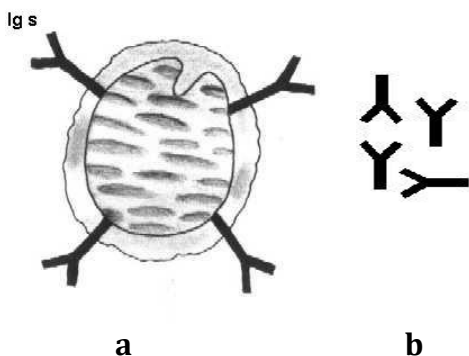


Fig.20. Formele sub care sunt produse Ig.
a. exprimate la suprafața limfocitului B (Igs)
b. molecule libere

Această dublă recunoaștere și interacțiune cu Atg. este posibilă deoarece slg. și Atc., ca produși ai aceleiași celule sau ai unei clone de celule, au situsul combinativ cu structură moleculară identică. Spre deosebire de slg moleculele de Atc. nu au piesă de legătură. Extremitatea lor carboxiterminală posedă un situs de combinare cu componenta C_{1q} a complementului. C_{1q} se atașează pe Atc. după cuplarea acestora cu Atg. Atașarea C_{1q} la Atc. declanșează secvențele activării C' prin calea clasică.

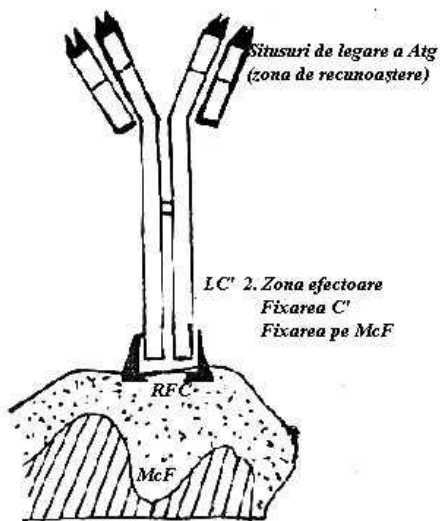


Fig. 21 Modul de eliminare a Atg prin fagocitoza imună

Macrofagele exprimă receptori prin care atașează pe suprafața lor segmentul carboxiterminal (Fc) al Atc. Prin intermediul Atc. care aderă la

suprafața sa, macrofagul își apropie Atg. fixat la celălalt pol al moleculei anticorpului. Se crează astfel, condiția optimă pentru fagocitarea Atg.

Fixarea și activarea complementului împreună cu atașarea și fagocitarea complexelor Atg - Atc reprezintă cele două mecanisme prin care se realizează eliminarea Atg. (Fig.21).

Ig reprezintă o situație unică în biologie pentru că sunt în același timp și anticorpi și antigene (prin natura lor proteică se comportă ca imunogene care provoacă apariția unor Atc anti - Ig). Aceștia recunosc diverși epitopi ai moleculelor de lanțuri H și L.

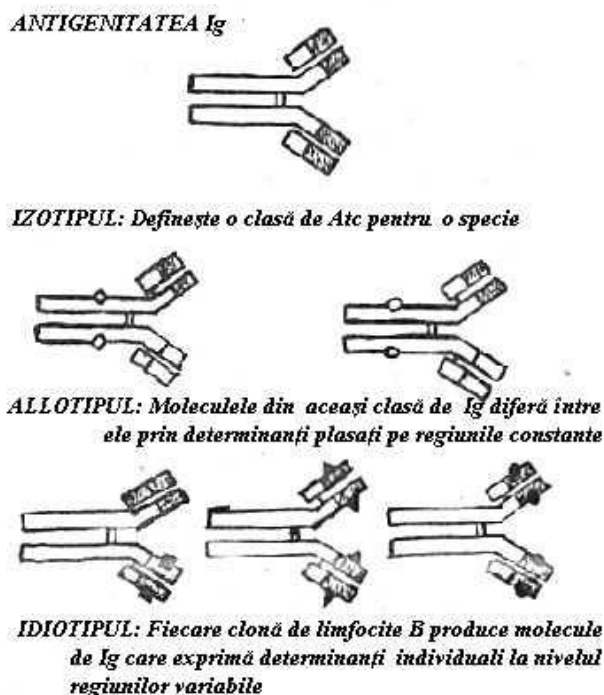


Fig. 22 Antigenitatea imunoglobulinelor (Ig)

Există trei feluri de epitopi (determinanți antigenici) distribuiți în anumite zone precise ale moleculei (Fig.22).

1. Epitopi care determină specificitatea de specie (izotipică): clasele de Ig sunt identice din punct de vedere antigenic pentru toți indivizii speciei. Izotipurile sunt determinate de lanțurile H. Antigenicitatea izotipică poate fi exploatată în practică pentru prepararea de reactivi. Ig umane injectate unui iepure se comportă ca antigene. Animalul dezvoltă o reacție imună în urma căreia se va

produce anticorpii anti-Ig umane. Serul animalului imunizat a primit numele de *antiser* deoarece reacționează in vitro (prin anticorpii săi anti-Ig) cu Ig din serul uman.

Cu ajutorul unui astfel de antiser se poate evidenția prezența Ig umane în diverse umori sau fixate pe suprafața unor celule. Pe acest principiu funcționează testul Coombs direct (TCD) care evidențiază Atc. fixați pe Atg eritrocitare. În practica medicală TCD servește pentru identificarea unor imunizări posttransfuzionale sau pentru diagnosticul anemiilor hemolitice autoimune și al bolii hemolitice a nou-născutului.

2. Epitopii specifici pentru indivizii unei specii (allotipuri) (gr. allos = altul + tupos) sunt exprimați pe regiunile constante ale lanțurilor gama (sistemul A2m) sau kapa (sistemul Km).

Allotipurile sunt comandate de gene somatice și se transmit după legile mendeliene. Datorită expresiei acestor allotipuri, Ig diferă din punct de vedere antigenic de la un individ la altul: administrate la alți indivizi ai speciei, Ig unei clase (izotip) pot genera în anumite condiții sinteza de anticorpi anti-allotip. Foarte rar, incompatibilitatea dintre allotipuri pot genera reacții post transfuzionale.

3. Epitopi care sunt specifici numai pentru moleculele de Ig, elaborate de o clonă celulară (idiotipuri): un individ va elabora familii de molecule de Ig care exprimă fiecare alt idiotip.

JACQUES OUDIN (1963) a demonstrat existența idiotipurilor într-un *experiment pe iepuri cu identitate allotipică*. El a administrat unui iepure un **Atg. (X)**, apoi a separat **Atc. anti-X** și i-a administrat la alt iepure. În mod neașteptat, cel de-al doilea animal a dezvoltat **Atc. anti-anti-X**, sugerând că moleculele anti-X posedă structuri antigenice particulare și individuale, altele decât specificitatea allotipică.

Determinanții idiotipici sunt plasați la nivelul regiunilor hipervariabile ale lanțurilor H și L. S-a demonstrat ulterior că un individ normal ar dispune de mai multe sute de mii de idiotipuri diferite. distribuite pe Ig serice și pe receptorii pentru antigen ai limfocitelor B și T. Răspunsul la antigenul X nu s-ar limita numai la producția de Atc. specifici, deoarece aceștia, prin determinanții lor idiotipici (care se comportă ca antigene), ar declanșa și producția unor anticorpi anti-idiotip (anti-Id₁). Aceștia, la rândul lor, vor genera molecule de anti-anti-

idiotip (anti -Id₂) care, în continuare, vor duce la producția unor anti -Id₃, ș.a.m.d. Dacă admitem foarte schematic că situsurile combinate ale unui Atc. (*paratopii*) reproduc în *negativ* configurația spațială a Atg. și că aceleași situsuri combinate conțin și idiotipurile generatoare de anti-Id, putem concepe două aspecte caracteristice ale acestei reacții în lanț:

a) anti-Id₂ pot prezenta un grad mare de identitate cu Atc. inițiali anti-X și deci posibilitatea de recunoaștere a Atg;

b) configurația paratopilor ce intră în compunerea anti-Id₁ ar putea fi extrem de asemănătoare cu Atg. însuși. Atc. anti-Id₁ s-ar comporta deci ca un fel de *image internă* a Atg., ceea ce înseamnă că în interiorul sistemului imunitar sunt reproduse elemente ale lumii exterioare organismului. Această rețea de interacțiuni, în care mai sunt implicate și celulele limfoide B și T (prin idiotipurile exprimate de receptorii lor pentru Atg.) crează un sistem de reglare foarte flexibil (*teoria rețelei idiotipurilor* concepută în 1974 de NIELS JERNE).

8.1.3. Biosinteza și catabolismul imunoglobulinelor

Biosinteza imunoglobulinelor se realizează în interiorul plasmocitului, prin formarea independentă a lanțurilor H și L la nivelul ribozomilor, fiecare lanț fiind codificat de o genă separată în interiorul celulei secretoare. Poliribozomii cu 7-8 unități ribozomale sintetizează lanțurile. Asamblarea lanțurilor polipeptidice se face la nivelul reticulului endoplasmatic plasmocitar.

Procesul de sinteză a imunoglobulinelor se supune legii cibernetice a conexiunii inverse (Feedback), în sensul că la un prag înalt de concentrație biosinteza este inhibată, iar în cazul scăderii nivelului de imunoglobuline în umori, procesele de sinteză sunt accelerate.

Degradarea moleculelor de imunoglobuline sau catabolizarea lor, exprimată ca *timp de înjumătățire* ($T_{1/2}$) este un proces fiziologic care permite înlocuirea permanentă a moleculelor îmbătrânite cu altele tinere, cu menținerea unui nivel constant al lor în organism. Există o relație direct proporțională între ***rata de catabolizare (K)***, ***concentrația de imunoglobuline (A)*** și ***timpul (T) exprimat în zile***, relația fiind $K=A/T$, în care K este rata de catabolizare într-o singură zi. Deci $T_{1/2}$ este cu atât mai lung cu cât rata sa de catabolizare este mai mică. Dar, în afară de rata de catabolizare, $T_{1/2}$ mai este dependent și de clasa de

imunoglobuline, de specia animală, de viteza de sinteză a moleculelor, respectiv de nivelul concentrației lor în ser, etc. Pentru determinarea valorii acestui timp, moleculele sunt marcate radioactiv, de regulă cu I^{125} , după care se urmărește prezența iodului în organism. Așa s-a determinat că la om $T_{1/2}$ a IgM este de 5,1 zile, iar la IgG de 22 zile. La șoarece, animal cu greutate corporală mică și cu o activitate metabolică intensă, $T_{1/2}$ a IgG este de numai 3,9 zile, în timp ce la animalele cu greutate corporală mare, valoarea lui este mult mai mare.

Procesul de degradare al Ig se realizează la nivelul ficatului, precum și la nivelul altor organe bogate în sistem reticulo-histiocitar.

Mecanismele care stau la baza catabolizării moleculelor de imunoglobuline nu sunt bine cunoscute fapt pentru care au fost emise diferite ipoteze prin care se încearcă explicarea lor.

O ipoteză a *catabolizării selective* susține că molecula de imunoglobulină, atunci când îmbătrânește, își modifică conformația devenind străină de organism. Acesta are preformați anticorprii care recunosc moleculele modificate, se combină cu ele, formând complexe care sunt fagocitate și eliminate din organism de către celulele din seria monocitar-macrofagică.

O altă ipoteză, a *receptorilor de protecție*, susține că celulele din seria monocitară care catabolizează imunoglobulinele, au receptori de membrană pentru Fc. Celulele pot lega moleculele din ser fie direct, fie prin intermediul acestor receptori. Moleculele fixate la receptori sunt trecute prin filtrul celular și eliminate extracelular fără a fi distruse de către celulă. Moleculele fixate, odată ajunse în celulă, în lipsa protecției pe care o conferă receptorii, sunt atacate de către *protein-disulfimfociteid-reductază*, o enzimă care desface legăturile dintre lanțurile H sau dintre H și L. Lanțurile odată eliminate devin susceptibile la acțiunea catapsinelor care le vor descompune în continuare până la nivel de aminoacizi.

La hipergamaglobulinici, deci în exces de molecule de imunoglobuline, $T_{1/2}$ scade la jumătate față de valoarea normală (cca. 12 zile), iar la hipogamaglobulinici crește de aproximativ 3 ori față de normal (cca 70 zile). Catabolizarea claselor IgM și IgA nu este influențată de concentrația lor în ser.

8.1.4. Dinamica imunoglobulinelor în răspunsul imun umoral

În cazul unei stimulări antigenice, organismul va reacționa prin sinteză de Atc., acest răspuns fiind cunoscut sub denumirea de **răspuns primar**. Prima categorie de anticorpi specifici care apar sunt anticorpii IgM, a căror creștere este de 80 molecule/sec. și au tendință de epuizare rapidă. Ulterior, apar IgG a căror creștere este lentă și progresivă, cu tendință deseori de descreștere.

Dacă organismul revine în contact cu același Atg. apare **răspunsul secundar** (reacția anamnetică) în care creșterea IgM este neglijabilă și se epuizează rapid, în timp ce anticorpii de tip IgG cresc intens și rapid, atingând un nivel ridicat și persistent, urmat de scăderea lentă până la un anumit prag de protecție imună reziduală.

Diferențele între răspunsul imun primar și cel secundar constau în scurtarea timpului de apariție a efectorilor imuni și titrul mult mai ridicat al acestora, indiferent de doza de antigen reinoculată. (Fig.23).

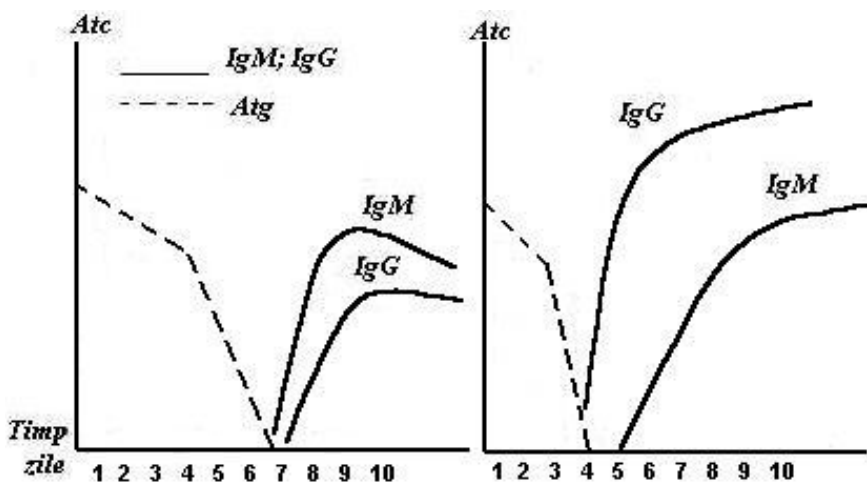


Fig. 23 Dinamica imunoglobulinelor în răspunsul imun primar și secundar

Răspunsul secundar se bazează pe persistența în organism a limfocitelor de memorie care, la al doilea stimul antigenic, sunt responsabile de promptitudinea și intensitatea răspunsului imun.

8.1.5. Unele particularități privind imunoglobulinele la animale

La diferite specii de animale, imunoglobulinele înregistrează variații în ce privește antigenicitatea, greutatea moleculară, viteza de sedimentare, proporția lor în diferite umori, variații condiționate de o mare diversitate de factori ca: specia, rasa, vârsta, starea de întreținere, anotimpul, etc.

Taurinele și ovinele au următoarele caracteristici în ce privește imunoglobulinele.

NORHEIM și col. (1985) au cercetat relația între conținutul în imunoglobuline și vârstă, zonă geografică, anotimp, tehnologia de creștere și starea epizootologică a efectivelor și au observat valorile maxime ale IgG serice în perioada august-octombrie și minime primăvara (martie-mai). Efectul anotimpului asupra cantității de imunoglobuline a fost mai pregnant la viței în vârstă de 31-90 zile. Conținutul în imunoglobuline a fost influențat în sens pozitiv la creșterea vițelor în grup și pe așternut și în sens negativ la ținerea lor în boxe individuale, alături de vacile mame și de absența așternutului.

Zona geografică a influențat în mod constant concentrația serului în imunoglobuline. Autorii opinează că titrul de IgG seric ar putea constitui un indicator uzual al influenței factorilor ecologici asupra sănătății vițelor.

La vârsta de 100 zile, concentrația serului în IgG se stabilizează întrucâtva la 18 mg/ml, fiind mai puțin supus variațiilor în funcție de factorii de mediu.

Deși s-a reușit izolarea și identificarea clasei IgE de origine bovină, totuși, la bovine și ovine clasele IgE și IgD au fost puțin studiate.

Imunoglobulinele la bovine

Caractere și proprietăți	IgG		IgM	IgA	
	IgG ₁	IgG ₂		Ser	Secreții
Număr subclase	2	2	1	1	?
Greutatea moleculară	165000	150000	900000	163000	400000
Constanta de sedimentare (S _{20 W})	6,3	6,6	1,9	6,7	10-12
Mobilitatea electroforetică	β și δ		β ₂	β ₂	β ₂
Procent hidrați de C	1-2 %	1-2 %	6%	1,2-1,5%	5-9%
Concentrația de ser *	18,4	18,4	2,6	0,3	0,3
Concentrația în salivă*	4,0	4,0	1,0	56,0	56,0
Concentrația în colostru*	40-60	40-60	4,9	4,5	4,5
Timp de înjumătățire (zile)	9,6	9,6	17,7	2,0	2,0
Fixarea complementului	+	?	+	0	0
Fixarea la piele	+	?	0	0	0

* g/100 ml; + = reacție pozitivă;
 0 = reacție cu caracter absent;
 ? = necunoscut.

Tabelul 6

Imunoglobulinele la ovine

Caractere și proprietăți	IgG		IgM	IgA	
	IgG ₁	IgG ₂		Ser	Secreții
Număr subclase	2	2	1	2	?
Greutatea moleculară	150000	150000	900000	170000	420000
Constanta de sedimentare (S ₂₀ W)	6,5	6,7	19	7,0	10,8
Mobilitatea electroforetică	β și γ		β ₂	β ₂	β ₂
Procent hidrați de C (%)	1,7-1,8	1,7-1,8	4,0	4,1-4,2	4,1-4,2
Concentrația de ser*	2,1	2,1	1,2	0,25	?
Concentrația în salivă*	10,0	10,0	1,0	56,0	56,0
Concentrația în colostru*	60,0	60,0	4,1	?	2,0
Concentrația în lactoser*	30,0	30,0	3,0	?	6,0
Fixarea complementului	+	+	+	0	0

* g/100 ml; + = reacție pozitivă;
0 = reacție cu caracter absent;
? = necunoscut.

Bubalinele sunt apropiate în ce privește clasele și subclasele de imunoglobuline de taurine.

Cabalinele au același echipament în imunoglobuline existent la om și celelalte specii animale, dar cu unele deosebiri caracteristice

pentru această specie. Cabalinele par să aibă mai multe izotipuri, fiind astăzi admise la această specie cel puțin șase clase.

IgT reprezintă o clasă specifică ecvinelor, care a fost inițial considerată ca fiind analoagă cu IgA a altor specii, de aceea poate fi întâlnită în lucrări mai vechi și sub notația **IgAT**. Ulterior, s-a dovedit însă a fi mai apropiată de IgG decât de IgA; lanțurile ei ușoare sunt antigenic identice cu cele ale IgG; În privința compoziției în aminoacizi a fracțiunilor Fc se constată însă o diferență față de IgG (14 aminoacizi la IgT, față de 19 la IgG). Masa moleculară a IgT este de 150000 da.

IgB, descrisă și sub simbolul **AI** (*agregating immunoglobulinis*), reprezintă, ca și IgT, o altă imunoglobulină specifică ecvinelor, căreia forțele inonice îi asigură un slab grad de agregare. Masa ei moleculară este de 160 000 da., iar coeficientul de sedimentare variază între 7 S și 19 S.

Datele privind IgD și IgE la cabaline sunt sumare și neconcludente.

Suinele posedă în umorile organismului izotipurile clasice de imunoglobuline, studii mai detaliate fiind realizate asupra IgG, IgM, IgA și, într-o măsură mai redusă, IgE.

Păsările conțin în umori aceleași clase de imunoglobuline ca și mamiferele. IgG și IgM au fost identificate în sânge ca principalii anticorpi serici, iar IgA în secreții, majoritatea lucrărilor referindu-se la prezența ei în bilă.

Valorile imunoglobulinelor, relevă faptul că IgA și IgM sunt prezente în tubul digestiv al embrionului și provin mai degrabă din albuș decât din gălbenuș. IgG din intestin pare să-și aibă originea în gălbenuș și să ajungă în embrion prin lichidul amniotic, în care în a 12-a zi este încă absentă, dar poate fi detectată în a 17-a zi de viață.

Datele de mai sus sugerează o analogie între modalitățile de transfer vertical pasiv a imunoglobulinelor la păsări cu cea de la mamifere.

8.1.6. Anticorprii monoclonali. Tehnica hibridomului

Serurile conțin mai mulți anticorpi în funcție de determinanții (epitopii) antigenului. Deci, serurile convenționale *clasice* sunt policlonale, având și anticorpi inutili de balast. Inconvenientul serurilor policlonale care conțin mai mulți Atc. constă în **nespecificitatea unor reacții** și **imposibilitatea de a recunoaște antigenii comuni**. De asemenea, mai intervin și alte dificultăți:

- ⊗ dificultatea de a discrimina diversele tipuri de virusuri sau bacterii (virusul herpetic I de virusul herpetic II);

- ⊗ dificultatea de a discrimina hormoni care au fragmente comune (hormonul foliculostimulant hipofizar -FSH, de hormonul gonadotrop corionic uman-HCG);

- ⊗ dificultăți în dozajul imunologic al medicamentelor (digoxină și teofilină) care dau reacții încrucișate datorită produșilor lor de metabolism;

- ⊗ lipsa de omogenitate din cauza reactivității individuale a producătorului de ser.

S-a născut în felul acesta ideea unui ser monospecific.

8.1.6.1. Tehnici de preparare a anticorpilor monoclonali

G. KOHLER și C.MILSTEIN (1975 Cambridge), căutând structura sau modalitatea fuzionării celulare *in vitro* ajung printr-o fericită întâmplare să descopere principiul preparării anticorpilor monoclonali. În formarea anticorpilor monoclonali intervin două celule: **limfocitul B** luat din splina de șoarece, imunizat contra hematiei de oaie care se clonează și se ajunge la o clonă specifică și **celula mielomatoasă** de șoarece (linia P3).

Principiul producerii anticorpilor monoclonali constă în fuzionarea acestor două celule. În ceea ce privește necesitatea de fuzionare și de participarea fiecăruia dintre celule la edificarea anticorpilor monoclonali, limfocitul B vine cu informarea antigenică iar celula mielomatoasă vine cu două proprietăți:

- ⊗ celula mielomatoasă produce Ig, dar totdeauna de un singur tip (de obicei IgG);

- ⊗ această celulă are capacitatea de diviziune practic infinită (nu i se decelează modificări de cariotip nici după 20 de generații).

Se obține în acest mod o celulă nouă de tip *himeră* denumită **hibridom** (Fig.24). Pentru obținerea LB utilizat în reacția de fuzionare s-a utilizat ca Atg. hematia de oaie, care a fost purificată de o serie de epitopi ce nu erau specifici lăsându-i-se numai epitopii ce conferă specificitatea strictă pentru acest Atg. S-a inoculat acest Atg. direct în splină la șoarece.

După un anumit timp, necesar formării de Atc. (7 - 14 zile) se prelevează limfocite din splină. Celulele mielomatoase se obțin prin inocularea șoarecilor cu uleiuri minerale intraperitoneal obținându-se mieloame (cancere ale sistemului imunitar) și implicit linii mielomatoase murine (linii X₆₃; NS₁; MSO₁; etc.).

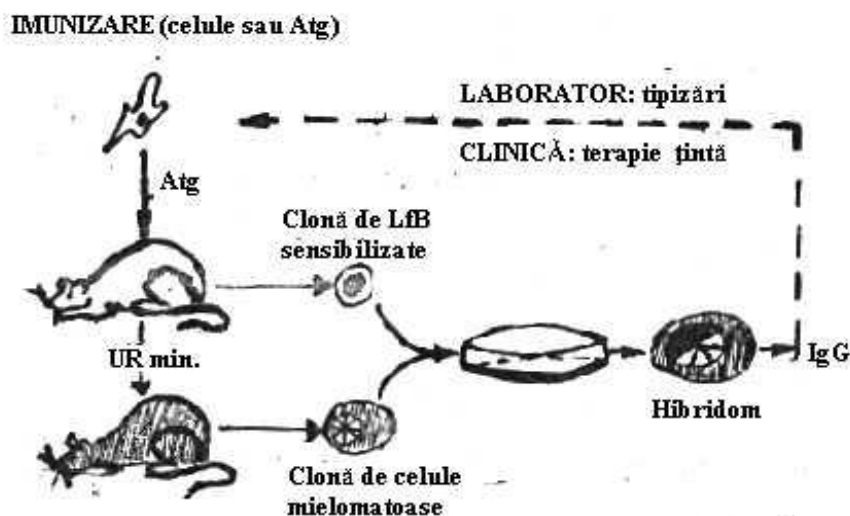


Fig. 24 Schemă simplificată de producere a anticorpilor monoclonali

Urmează partea cea mai dificilă, hibridarea, adică punerea în contact a limfocitului normal cu celula mielomatoasă. Fuziunea celulară se face prin două modalități:

- ⊗ în prezența polietilenglicolului;
- ⊗ prin electrofuziune.

Prin metoda cu polietilenglicolul numai un limfocit dintr-o populație de 200 000 este capabil de fuzionare.

În metoda electrofuziunii rata de fuzionare crește la 80% și aceasta presupune existența unui ecran microscopic în care se evaluează apropierea celulelor limfocitare de cele mielomatoase.

În momentul în care în câmpul microscopic se observă mai multe apropieri se face o descărcare de curent electric în lichid, producând fuzionarea celulelor.

Momentul următor constă în clonarea celulelor fuzionate pentru a găsi și a alege numai ser monoclonal cu Atc. specifici.

Celula hibridom are moștenire de la celula mielomatoasă capacitatea de a sintetiza un singur Atc. Clonarea celulelor fuzionate are loc pe **mediul HAT** (hipoxantină – aminoterină - timidină).

Celulele hibridom se mențin în condiții de laborator pe culturi de țesuturi și se inoculează intraperitoneal la șoarecii *nuzi* care sunt lipsiți de timus și nu au păr. Aceștia nu au nici un fel de apărare imunologică. În urma inoculării celulelor menționate, aceștia fac tumori limfomatoase iar lichidul ascitic recoltat de la subiecții în cauză este foarte bogat în anticorpi monoclonali. În esență modelul Kohler-Milstein de obținere a celulei hibridom propune următoarele etape:

- ⊗ purificarea antigenelor cu obținerea epitopilor specifici;
- ⊗ inocularea antigenului purificat la șoareci;
- ⊗ scoaterea splinei și recoltarea limfocitelor B la 7 - 14 zile de la inoculare;
- ⊗ hibridarea (fuziunea limfocitului cu celula mielomatoasă);
- ⊗ clonarea celulelor fuzionate pe mediul HAT.

8.1.6.2. Aplicațiile în practică ale Atc. monoclonali

Anticorpii monoclonali prezintă o serie de avantaje deosebite în diagnosticul foarte divers imunologic. De ex.:

- ⊗ diferențierea tipurilor de bacterii sau virusuri, strâns înrudite;
- ⊗ identificarea chlamidiilor;
- ⊗ identificarea rapidă și specifică a germenilor din diareile nou-născuților;
- ⊗ identificarea salmonelilor în timp scurt (2 ore) din alimente (procedeul clasic durând 6 zile);
- ⊗ identificarea virusurilor respiratorii sincițiale;

- ⊗ dozarea progesteronului;
- ⊗ depistarea și supravegherea unor celule maligne în special din colon și rect;
- ⊗ pentru identificarea populațiilor și subpopulațiilor de limfocite, etc.

În vederea diagnosticului se prepară **kitt-uri** cu Atc. monoclonali specifici unor antigene specifice diferiților agenți patogeni sau elemente ce urmează a fi identificate sau titrate. Dificultățile obținerii Atc. monoclonali, pe lângă cele tehnice, sunt legate în primul rând de găsirea epitopilor specifici.

8.1.7. Citokinele (monokine și limfokine)

Efectul de cooperare T-B poate fi demonstrat în culturi în care cele două populații celulare sunt separate de o membrană cu pori foarte fini. Suplimentarea mediului de cultură cu diverse populații celulare induce activarea sau inhibiția acestora. Reiese că celulele implicate în reacția imună pot comunica între ele prin factorii solubili care posedă anumite activități biologice.

Mcf. și LT sunt surse principale de citokine. De aceea produsele acestor celule mai sunt denumite și monokine sau, respectiv, limfokine.

Monokinele și limfokinele sunt secretate numai de celule activate fie specific (în urma contactului cu Atg.), fie nespecific (de către diverse citokine). Activarea prin citokine a celulelor implicate în răspunsul imun atrage după sine recrutarea unui număr mare de celule la locul conflictului cu Atg. Și, implicit, amplificarea reacției de apărare. Această interacțiune între diferite celule a dus la formarea termenului de *interleukine* pentru regruparea acestor limfokine și monokine care induc relații reciproce de stimulare între celulele partenere.

Citokinele sunt glicoproteine și, cu toate că există anumite familii de substanțe care au un precursor comun, ele se deosebesc de Ig, deoarece nu posedă nici aceeași structură moleculară de bază și nici nu demonstrează o homologie importantă a secvențelor lor de aminoacizi cu acele ale Ig.

Citokinele nu sunt specifice: mai multe celule diferite pot secreta după stimularea antigenică sau nespecifică o aceeași substanță;

substanța respectivă poate acționa pe mai multe tipuri celulare cărora le induce activități biologice diferite.

Majoritatea citokinelor acționează asupra celulelor-țintă de o manieră analoagă celei a hormonilor peptidici: fixarea pe un receptor specific membranei, activarea unui mesager secundar intracelular care transmite semnalul la nucleu și induce astfel apariția efectului biologic specific.

Numărul și densitatea receptorilor pe suprafața celulelor țintă sunt bine determinate. Efectul biologic al citokinelor nu este în mod necesar corelat cu numărul receptorilor exprimat pe celulă. Afinitatea receptorului pentru ligandul sau fiziologic poate avea un rol important în acest sens.

8.1.7.1. Interleukinele

Principalele substanțe din această clasă sunt:

IL 1 secretată de celule prezentatoare de Atg. (Mcf., celule Langerhans), granulocite.

Producția de IL 1 crește substanțial după activarea celulelor monocito-macrofage. Această activare poate fi indusă după endocitarea Atg. (în cadrul procesului de *prezentare* a acestuia) sau prin acțiunea altor citokine asupra Mcf. (IL2, IFN gama).

IL 1 acționează pe mai multe substraturi celulare. Contribuie la activarea limfocitelor B și T. Pentru ca această activare să se producă este nevoie ca asupra limfocitelor să opereze simultan mai multe semnale. IL 1 ar furniza unul dintre acestea. Ca răspuns la stimulare, limfocitele vor secreta și alte limfokine (IL2, IL3, IFN gama). Stimulează producția de prostaglandină din celulele endoteliale prin intermediul căreia induce febră. Stimulează hepatocitele să producă proteine de fază acută cu rol în apărarea nespecifică cum ar fi proteina C-reactivă. Mărește capacitatea funcțională a granulocitelor și mobilizarea lor chemotactică.

IL 2 (*T-cell growth factor*) este produsă în special de LTh. Secreția IL 2 necesită două semnale: Atg. (prezentat pe suprafața Mcf.) și IL 1.

În stare de repaos LTh exprimă pe membrană un număr mic de receptori pentru IL2. După receptarea semnalelor de activare se produce

inițial o creștere rapidă a numărului R IL2, după care are loc secreția de IL 2. Aceasta va acționa asupra propriei celule producătoare (efect autocrin) și asupra altor LT pe care le activează nespecific. Se pare că IL2 activează toate tipurile de subpopulații T (Th, Ts, Tc) care răspund identic prin exprimare R IL2 și proliferare. În plus, IL2 activează și alte celule (LB, Mcf., celulele NK) și ar determina creșterea activității *killer* a limfocitelor.

Glucocorticoizii inhibă producția de IL2, prin intermediul inhibării secreției de IL1 de către Mcf.

IL 3 este produsă de LT activate de Atg. și are efecte funcționale multiple. Din cauză că promovează proliferarea *in vitro* a celulelor stem multipotente și eritroide (din care rezultă formarea de colonii celulare) a primit și numele de *multi-CSF* (CSF - colony stimulating factor). Rolul său în imunitate este neclar: se pare că ar contribui indirect la diferențierea LT și la creșterea activității citotoxice a macrofagelor. La acestea se mai adaugă efectele asupra sistemului hematopoietic care furnizează majoritatea celulelor auxiliare cu rol în apărare.

IL 4 ar acționa ca factor de proliferare a LB (de aici și vechea denumire a substanței: BCGF₁-(*B-cell growth factor 1*). Acționează într-o etapă a activării LB, când aceste celule exprimă receptorii săi specifici și poate induce secreția de IgG₁ (o subclasă de IgG care apare rareori în răspunsul imun). În plus, ar putea conferi activitate citotoxică macrofagelor normale și ar induce proliferarea mastocitară.

IL 5 (*BCGF II-B cell growth factor II*) ar induce la șoareci proliferarea LB și secreția de IgM, IgG și IgA. La om rolul IL5 este incomplet elucidat. Este un produs al LT (un astfel de factor a fost izolat din culturile de LT umane stimulate cu HTLV-1 (*Human T-cell lymphoma/leukemia virus I*)).

IL 6 produsă de Mcf. acționează sinergic cu IL3 asupra celulelor stem multipotente ale hematopoiezei. Este implicată în activarea LT și în inducerea producției proteinelor de fază acută. Sinteza IL6 este stimulată de IL1.

IL7 este produsă de celulele stromale ale măduvei osoase. Induce diferențierea limfocitelor foarte tinere (pre-B), dar nu are efecte asupra LB mature.

IL8 a fost cunoscută la început ca un factor proteic de activare a neutrofilelor, face parte din familia chemokinelor (citokine pro-inflamatorii). Astăzi se știe că IL8 este o citokină produsă de monocite, macrofage, neutrofile, LT, celulele endoteliale, epiteliale și fibroblaste ca răspuns la o varietate de stimuli care include LPS, TNF- α (interleukin-1), IL1, IL7 precum și în cazurile de hipoxie. Are rol chemotactic asupra neutrofilelor, bazofilelor, LT, efecte proinflamatoare (degranularea neutrofilelor și bazofilelor, stimularea metabolismului oxidativ și aderenței PMN) și angiogenetice (neoformare de vase sanguine). De asemenea, determină sporirea activității enzimelor lizozomale și exprimarea receptorilor pentru complement.

IL9 este un factor de proliferare pentru LT și mastocite, fiind secretată de LT activate (CD4⁺) și LT cu memorie. Rolul biologic este multiplu, prin acțiunea asupra LB, LT, precursorilor hematopietici și mastocitelor. Stimulează producția de IgG, IgE (sinergism cu IL4), amplifică proliferarea LT din sângele periferic, fiind totodată un stimulator al precursorilor eritropietici (alături de EPO), hematopietici și al diferențierii mastocitelor (mai ales în parazitozile intestinale).

Acțiunea **IL9** se manifestă împreună cu alte limfokine produse de LTh₂ ca **IL3**, **IL4** și **IL10**. Receptorii pentru **IL9** sunt prezenți pe diferite celule cum ar fi LTh, clone celulare de limfoame, macrofage și mastocite.

IL10 a fost descrisă în 1989, fiind produsă de clone de LTh₂ ce inhibă sinteza de citokine de către un alt set de clone Th₁.

Când a fost identificată, i s-a atribuit rolul de factor inhibitor al sintezei unor citokine proinflamatorii produs de LTh₂. În prezent se știe că **IL10** este produsă de mai multe tipuri de celule: LT^{CD4+} și LT^{CD8+} (în repaus și cu memorie), LB, monocite, eozinofile, mastocite, celule epiteliale bronșice, unele tipuri de celule canceroase etc. Efectele biologice sunt pleiotrope imunomodulatoare: pe de o parte anti-inflamatoare și imunosupresoare, iar pe de altă parte imunostimulatoare.

Se poate spune că principalele acțiuni biologice ale **IL10** sunt cele inhibitorii asupra activității monocitelor/macrofagelor, ale LTh₁ și antiinflamatorii.

IL₁₁ a fost identificată în supernatantul unei linii celulare de măduvă osoasă. Este secretată de LT și are efecte stimulatorie asupra LB. Există date care sugerează că **IL₁₁**, în conjuncție cu **IL₃**, induce formarea precursorilor megacariocitari prin creșterea lor numerică și în dimensiuni. De asemenea, este activată proliferarea și producția de Ig de către LB.

IL₁₂ a fost izolată în 1989 și reunește structural elemente întâlnite la alte citokine. **IL₁₂** este o citokină heterodimerică de 70 kDa, produsă de APC profesionale (macrofage, celule dendritice, LB activate) și are o dublă acțiune, proinflamatorie și imunoreglatoare.

IL₁₃, descoperită aproape concomitent cu **IL₁₂**, are funcții “de tip **IL₄**”, dar mai puțin pregnante. Este o proteină de 10 kDa produsă de LT^{CD4+} (Th0, Th1, Th2) și LT^{CD8+} activate, care acționează la nivelul LB și monocitelor/macrofagelor.

IL₁₄, identificată în 1991, este produsă de LT și stimulează LB activate (dar nu și pe cele în repaus). În schimb, inhibă sinteza de Ig în cazul în care LB este activat de mitogeni (ConA, PHA).

IL₁₅ a fost descrisă în 1994, independent, de două grupe de cercetători ca analog funcțional al **IL₂**, capabil să stimuleze LT și NK. Sursa principală de **IL₁₅** în organism o constituie placenta, dar este exprimată consecutiv și în alte țesuturi (pulmon, ficat, rinichi, cord, mușchi striati) sau celule (monocite/macrofage, celule stromale medulare, epiteliale). Asemănător situației întâlnite la **IL₁₃**, **IL₁₅** ar putea fi o formă alternativă a **IL₂** necesară în limfopoieză și/sau modularea răspunsului imun, având în plus activitate de proliferare a mastocitelor.

IL₁₆, produsă de LT^{CD8+}, LT^{CD4+}, mastocite, eozinofile, celule epiteliale din căile respiratorii, are acțiune proinflamatorie și imunomodulatoare. Ea este chemoatractantă pentru celulele LT^{CD4+} și eozinofile, recrutându-le la locul inflamației. Stimulează exprimarea RIL₂, IFN γ și a celulelor de adeziune la matricea extracelulară a monocitelor și eozinofilelor.

IL₁₇ este o citokină identificată recent, care are activitate de stimulare a secreției de citokine proinflamatoare, chemokine și prostaglandine de către fibroblaști, celule epiteliale și endoteliale și a exprimării moleculelor de adeziune de către aceste celule. Efectele ei

inflamatoare sunt similare cu cele ale TNF și LT. În plus are efecte hematopoietice, argumentează producerea de **IL₆**, G-CSF și de neutrofile.

IL₁₈ sau factorul inductor al sintezei de IFN gamma (*IGIF-IFN gamma- inducing factor, IL-1 gamma*), descoperită de echipa lui Okamura în 1995 ca o consecință a capacității acesteia de a induce producerea de IFN gamma la șoarecii cu șoc endotoxic, este o proteină cu greutatea moleculară de 18,3 kDa.

IL₁₈ este exprimată larg, dar nu universal, pe diferite tipuri tisulare, fiind detectată în pancreas, rinichi, mușchi scheletic, ficat, pulmon, os (osteoblaste) și piele (keratinocite). A fost identificat și receptorul pentru **IL₁₈** (**IL₁₈R**) care este exprimat mai ales în splină, timus, leucocite, ficat, pulmon, cord, intestin, prostată și placenta (dar nu și în creier), mușchi scheletici, rinichi, pancreas.

IL₁₈ acționează asemănător **IL₁₂**, ca un factor stimulator asupra LTh1 și are un efect de activare a celulelor NK.

8.1.7.2. Interferonii

IFN gama, produs de LT, face parte dintr-o familie de substanțe cu activitate imunomodulatorie, antivirală și antitumorală.

IFN gama acționează sinergic cu alte citokine în inducerea producției de Atc. și sporește activitățile de tip citotoxic ale Mcf, LT și celulelor NK asupra celulelor transformate.(Fig.25)

8.1.7.3. Factorii de necroză tumorală

Limfotoxina (TNF beta), înrudită cu factorul precedent, este produsă de LT activate și are efecte citolitice asupra celulelor țintă (tumoraie, străine sau alterate de agresiunea antigenică).

Factorul de necroză tumorală (TNF alimfocitea = tumor necrosis factor alimfocitea) sau **cașectina** este produsă de macrofage. Pe lângă efectul de distrugere a celulelor tumorale *in vitro*, TNF alimfocitea cooperează sinergic cu **IL₂** în activarea chimiotaxiei și a funcției de bactericidie a granulocitelor, activarea LT (care la rândul lor vor produce **IL₂** și IFN gama și alți factori stimulatori), reglarea producției de anticorpi, eliberarea activă de proteine de fază acută din hepatocite.

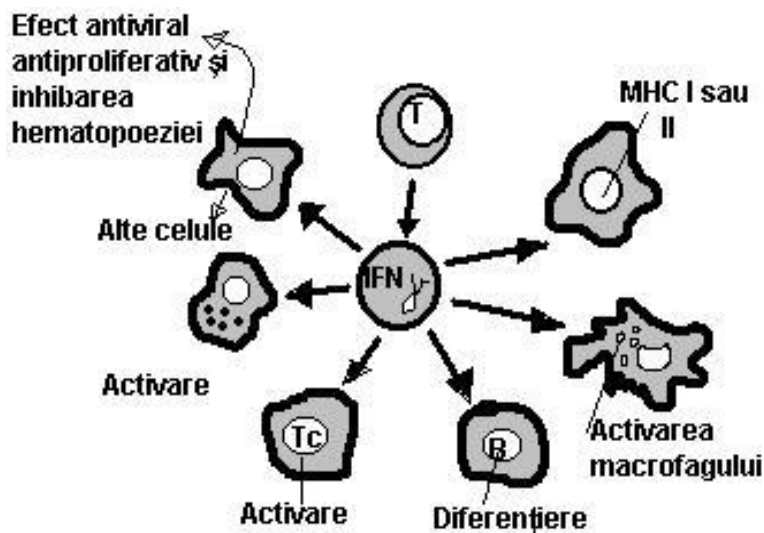


Fig.25. Schematizarea efectelor IFN γ asupra mai multor categorii de celule.

8.1.7.4. Neuroleukinele sunt substanțe care permit examinarea noilor interacțiuni între sistemul nervos și rețeaua de citokine.

Proteina murină matură, comportând 588 acizi aminați este un factor de creștere pentru anumiți neuroni. Ea este produsul glandelor salivare, mușchiului striat, creierului, dar mai ales al LT stimulate prin lectine. Din punct de vedere imunologic, în mod cert, neuroleukina joacă un rol împreună cu **IL₄** și **IL₅** în activarea expansiunii clonale a LB. În mod curios, ea prezintă o foarte mare homologie cu o enzimă (fosfoexoză izomerază) importantă în glicoliză.

8.1.7.5. Factorii de stimulare ai coloniilor celulare

CSF (Factorul stimulator de colonii)

Numeroase citokine sunt capabile, printre alte activități să stimuleze creșterea uneia sau mai multor linii hematopoietice. Acest lucru este evident în cazul **IL₃**, dar și în cazul **IL₁**, **IL₆**, **IL₇**.

Ultimele 3 sunt considerate în acest caz drept CSF, având același titru ca și **IL₃**, dar fără a fi disociat decât dintr-o rațiune de nomenclatură.

GM-CSF (factorul stimulator al coloniilor de granulocite și macrofage) se definește ca o citokină care stimulează proliferarea

liniilor precursorare pentru macrofage și granulocite. El activează în mod egal și polimorfonucleare mature.

La om, reprezintă un lanț polipeptidic de 127 acizi aminați, cu care proteina murină prezintă 50% homologie.

Gena corespondentă comportă 3 introni și a fost localizată pe regiunea q₂₃-q₃₁ a brațului lung al cromozomului 5 de la om.

Este produs în principal, de macrofage, putând fi în mod egal produs de către anumite linii de celule tumorale, de celule stromale ale măduvei osoase prin LT activate, fibroblaste și celulele endoteliale.

G-CSF (factorul stimulator al coloniilor de granulocite) stimulează în mod particular linia precursorare de granulocite. Se prezintă ca un lanț de 177 aminoacizi, fără să prezinte homologii cu GM-CSF sau IL₃. Gena corespondentă este localizată pe brațul lung (q_{11,2}-q₂₁) al cromozomului 17 la om.

M-CSF sau CSF-1 (factorul stimulator al coloniilor de macrofage) stimulează proliferarea liniei precursorare a monocitelor.

Proteina matură conține 224 aminoacizi. Homologia cu proteina murină este probabil crescută (de ordinul 78% pe o parte a secvenței). Gena corespondentă comportă 10 exoni la om și este localizată la nivelul regiunii q₃₃ ml al brațului lung al cromozomului 5.

M-CSF poate fi produs de fibroblaste, celule endoteliale sau macrofage.

8.1.7.6. Prostaglandinele sunt compuși biologici activi, produși practic de către toate țesuturile și celulele care au suferit un proces de stimulare la nivelul membranei plasmactice. Sunt sintetizate local în cantități foarte mici și acționează scurt timp datorită metabolizării lor rapide. Sunt printre cele mai răspândite și active substanțe din natură, prezența lor fiind semnalată de la viețuitoare inferioare până la specii din lumea vegetală.

Pe baza structurii și activității lor biologice s-au descris mai multe clase de PG: PGA, C, D, E, F, H, I, iar în cadrul acestor clase există molecule cu una sau două duble legături notate ca molecule de tip 1 sau 2. De exemplu, se vorbește de PGE₁ și PGE₂.

O sursă importantă de PG sunt acizii grași nesaturați, hidrolizabili și polioxigenați, care conțin un inel de ciclopentan și au un

schelet de bază alcătuit din acid prostanoic. Acesta, sub influența fosfolipazelor, se transformă în acid arahidonic care este un precursor al tuturor moleculelor de prostaglandine. Sub influența lipooxygenazelor, are loc formarea de leucotriene, substanțele cu implicații majore în desfășurarea proceselor inflamatorii.

Inițial s-a considerat că PG au efect fiziologic predominant asupra mușchilor netezi și în inducerea proceselor inflamatorii. Ulterior, s-a demonstrat clar că au multiple funcții biologice: intervin în fiziologia mușchilor netezi, în transmiterea influxului nervos, în interacțiuni hormonale și implicit în procesele imune.

Prostaglandinele influențează comportarea celulei, inducând schimbări în funcțiile membranei, căreia îi alterează compoziția în lipide, proteine și glicoproteine, inducând schimbări în fluiditatea și permeabilitatea membranei.

8.1.7.7. Factorii de transformare a creșterii (TGF) formează o familie de citokine produse de LT activate de către antigene și de către celulele mononucleare activate bacterian. Cuprind două tipuri de proteine notate cu α și β , formând citokinele TGF- α și TGF- β .

TGF- α este implicată în creșterea și diferențierea celulelor mezenchimale și epiteliale.

TGF- β este principalul factor de transformare a creșterii având o acțiune stimulatorie sau inhibitorie asupra celulelor țintă, în funcție de tipul celular și de interacțiunea cu alți factori celulari. TGF- β modulează creșterea, diferențierea și activitatea LB, LTh, LTc, celulelor NK și LAK.

TGF- β inhibă activarea celulelor NK precum și producția de citokine a LT, fiind considerată o citokină importantă cu rol imunosupresor al expansiunii celulare excesive în cadrul răspunsului imun.

Descoperirea citokinelor are o mare importanță fundamentală, demonstrând că în cadrul răspunsului imun se produce de fapt o comutare de la un mecanism dirijat în mod specific de Atg. la un sistem universal de reglare de tip hormonal.

Deoarece citokinele acționează ca imunomodulatori, dirijarea activității lor ar putea constitui noi linii de terapie mai dezvoltate la boala neoplazică.

☞ administrarea de IL_2 ar duce în anumite condiții la selectarea unor celule cu potențial citotoxic antitumoral (*lymphokine activated killer cells*= LAK). În ciuda unor rezultate promițătoare la bolnavi cu cancer avansat, metoda rămâne limitată de efectele toxice ale IL_2 (produce grave tulburări ale permeabilității capilare cu anazarcă);

☞ diverși IFN preparați prin inginerie genetică sunt utilizați cu succes în mai multe afecțiuni neoplazice: leucemia cu celule păroase, limfoame cutanate, leucemia granulocitară cronică, sarcomul Kaposi secundar sindromului SIDA; în hepatita cronică activă tratamentul cu IFN, grăbește eliminarea virusurilor HBs și HBc; în asociere cu acyclovir IFN constituie tratamentul de selecție al keratitei herpetice;

☞ unele boli autoimune ar fi corelate cu o activare dezorganizată a LT. Recent s-a descoperit o substanță extrasă dintr-o ciupercă (Cyclosporina A) care este capabilă să inhibe selectiv LT fără efecte secundare asupra hematopoiezei. Pe aceste baze s-a conceput administrarea Cy-A în aplazia medulară idiopatică. Cy-A mai are un domeniu de aplicare major: la receptorii de grefe de organ pentru stăpânirea fenomenelor de respingere.

8.2. EFECTORI CELULARI AI IMUNITĂȚII

Celulele limfocitare sunt responsabile de specificitatea reacțiilor imunologice.

În sânul populației limfocitare se disting două subpopulații cu funcții distincte: LT care asigură imunitatea celulară și LB care asigură imunitatea umorală.

În favoarea limfocitului ca celulă *omniprezentă* în procesul de imunitate specifică, pledează o serie de argumente de ordin filogenetic, ontogenetic, clinic și experimental.

- Argumente de ordin **filogenetic**. Procesele de apărare specifică, nu apar decât la speciile de animale la care apar celule, care morfologic pot fi identificate ca limfocite (începând cu ciclostomii).

- Argumente de ordin **ontogenetic**. În cursul dezvoltării embrionare, fetusul la vertebrate nu câștigă imunitate specifică, decât în momentul când apar primele celule limfocitare. La câine de exemplu, răspunsul imun apare în a 40 zi de viață fetală, când limfocitele apar în timus și în alte organe limfoide (măduva osoasă și ganglionii limfatici).

- Argumente de ordin **clinic**. S-a constatat că în sindromul de deficit imunitar secundar la om (Sindroamele Glazmann-Riniker și Good), nu pot fi decelate, la individul bolnav, celulele cu aspect limfocitar. Sindromul de deficit imunitar, se traduce prin lipsa oricărui răspuns imunitar, după o stimulare antigenică.

- Argumente de ordin **experimental**. Șoarecii expuși în mod experimental unei iradierii (Rx) cu doze subletale, fac o aplazie limfocitară, consecutivă iradierii. Această aplazie este însoțită de lipsa oricărui răspuns imunitar față de o incitație antigenică.

8.2.1 Ontogeneza limfocitelor

Diferențierea LB și LT are loc în OLC și parcurge mai multe etape care se caracterizează prin apariția succesivă a unor molecule funcționale în citoplasmă sau sprafața celulară. Celulele maturate părăsesc OLC și se distribuie în zonele B, respectiv T-dependente din OLP (homing), grație unor receptori specifici de suprafață. Fenomenul de homing caracterizează limfocitele pe toată durata vieții lor: un LB, de exemplu, care părăsește un ganglion și circulă în organism se va așeza în alt teritoriu limfoid, dar tot într-o zonă B-dependentă. Celulele mature imunocompetente, care au părăsit OLC și nu au întâlnit încă Atg. specific sunt denumite **virgine**. După întâlnirea cu Atg. aceste celule suferă o serie de transformări morfologice și structurale care se finalizează cu o mitoză. Celulele **transformate** au o talie foarte mare și citoplasma intens bazofilă. Ele au fost denumite celule **blastice** (deoarece au o înfățișare asemănătoare cu elementele medulare tinere -blastice- din care se formează celulele sanguine) sau **imunoblaști**.

Prin mitoză, imunoblaștii generează 2 celule-fiice diferite: una va parcurge până la completare programul de maturare al liniei celulare

respective și va deveni **celulă efectoră** a răspunsului imun (RI), cealaltă va rămâne identică cu celula-mamă persistând ca **celulă de memorie**. Compartimentul celulelor de memorie are o importanță funcțională deoarece asigură menținerea clonelor specifice pentru Atg. Fenomenul transformării blastice poate fi reprodus *in vitro* dacă limfocitele cultivate sunt incubate cu Atg. sau cu lectine vegetale (denumite și substanțe mitogene). Fitohemaglutinina și Concanvalina A stimulează transformarea blastică a LT. **Pokeweed** mitogen produce transformarea și a LT și a LB. Testul de transformare blastică este curent utilizat în clinică pentru testarea funcției limfocitelor.

Măduva osoasă este sediul CSL care provin din diferențierea CS multipotente. CSL sunt bipotente: generează LB și LT. La mamifere și la om joacă un rol de organ burso-echivalent de diferențiere și de maturare a LB. (Fig. 26)

Schema generală a distribuției celulelor limfoide

Compartimentul de diferențiere și de maturare	Compartimentul funcțional
<p>Măduva osoasă (M.O.)</p> <p>↓</p> <p>LimfociteT → Timus →</p> <p>↘</p> <p>Celule stem limfoide (CSL) →</p> <p>M.O.</p> <p>LimfociteB</p>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Ganglioni limfatici ◆ Splina ◆ Structurile limfoide asociate tractului digestiv și respirator, inelul limfatic Waldeyer, plăcile Peyer, apendicele, pătura submucoasă. ◆ Altele: stratul dermic, etc.
Organe limfoide centrale (OLC) (primare)	Organe limfoide periferice (OLP) (secundare)

- ◆ apariția precoce în cursul dezvoltării embrionare;
- ◆ centrele limfopoiezei: inițial diferențiere CSL* în celulele B și T imature: în continuare maturarea LimfociteB și T și migrarea celulelor devenite imunologic competente în OLP;
- ◆ procesele de diferențiere-maturare sunt independente de Atg;
- ◆ extirparea sau iradierea lor precoce, atrag după sine lipsa formării Limfocite mature și imunodeficiențe grave. Repopularea lor poate fi realizată numai cu celule stem
- ◆ se formează în urma OLC;
- ◆ sediile unde se distribuie LimfociteB și T imunologic competente formate în OLC;
- ◆ LimfociteB și T se repartizează preferențial în zone microanatomice, distincte B-dependente (foliculii limfoizi) și T-dependente (zonele paracorticeale din ganglioni și tecile periarteriale din splină);
- ◆ trafic permanent de Limfocite între diversele OLP;
- ◆ după iradiere corporală totală pot fi repopulate cu Limfocite mature;
- ◆ sedii ale răspunsului imun;

* CSL - celule stem limfoide

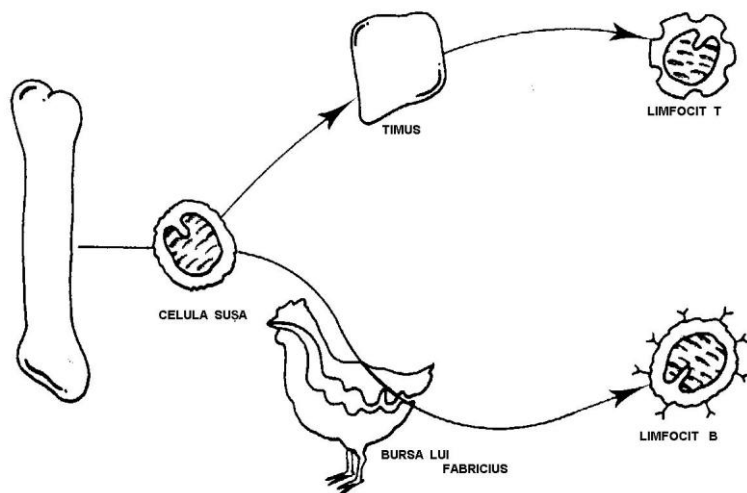


Fig26. Ontogeneza limfocitelor B și T

8.2.2. Ontogeneza limfocitelor B

a) etapa medulară (independentă de Atg). Evenimentul inițial care anunță angajarea CSL în diferențierea către linia B este rearanjarea genelor pentru lanțurile H de Ig, care se materializează prin apariția de lanțuri miu intracitoplasmatic (cμ).

Rearanjările încep pe ambii cromozomi 14, dar se finalizează numai pe unul singur împiedicând astfel producerea de lanțuri cu specificități diferite în aceeași celulă. Ulterior se rearanjează și genele pentru lanțurile L (K) și astfel se assemblează în citoplasmă molecule complete de IgM (cIgM). Celulele cμ⁺ și cIgM⁺ au fost denumite **pre-B**.

Într-o etapă ulterioară, IgM devine exprimată pe suprafață (sIgM) (**celulele B imature**). sIgM poate funcționa ca receptor pentru Atg. și se presupune că celulele B imature pot reacționa cu Atg. proprii dacă moleculele de Ig exprimate pe suprafață sunt corespunzătoare. Această interacțiune nu ar reproduce modelul celulelor mature (transformarea blastică, mitoză, etc.), ci ar fi urmată de desprinderea IgM de pe suprafață. Deoarece LB imature nu pot reface aceste sIg, ele vor rămâne în continuare inactive. Acest fenomen de selecție negativă ar preveni

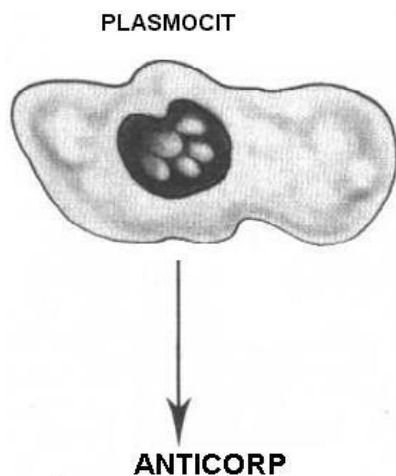
dezvoltarea unor clone autoreactive și ar putea sta la baza tolerării selfului.

Celulele care nu au fost făcute nereactive continuă să se maturizeze. În cursul maturării sunt achiziționate pe suprafață și alți markeri: Atg. CMH de clasa I și II (DR), CR₁, CR₂, RF_{cy}.

LB virgine care părăsesc MO exprimă pe suprafață 2 molecule de slg: IgM + IgD. Unele celule B suferă în procesul de maturare o comutare a sintezei IgM în altă clasă de Ig. În acest caz, grupul de gene VDJ care fuseseră asamblate anterior cu o genă CH miu, ajunge să se cupleze cu alte gene CH (Cgama sau Calimfocitea, de exemplu). Noua Ig produsă de celulă are deci același idiotip cu IgM originală. Procesul de comutare explică variațiile sintezei Atc. în răspunsul imun: în răspunsul primar domină secrețiile de IgM; în răspunsurile secundare, Atc. dominanți aparțin altor clase cu aceeași specificitate (IgG sau IgA în exemplele citate).

b) etapa dependentă de Atg.

După întâlnirea cu Atg. specific, **LB mature** suferă procesul de transformare blastică în urma căruia vor genera celule de memorie și plasmocite efectoare.



Plasmocitul reprezintă stadiul terminal al ontogenezei LfB(Fig.27).

În acest proces LfB pierde slg și vor exprima în schimb alți markeri de suprafață ("*plasma cell antigens*"): PCA₁ și PCA₂.

Celulele de memorie sunt celule de repaos, însă se activează rapid după orice reîntâlnire cu Atg. specific reluând ciclul de mai sus (Fig.28 și 29).

Fig.27. Veriga finală a imunității umorale: sinteza anticorpilor de către plasmocite

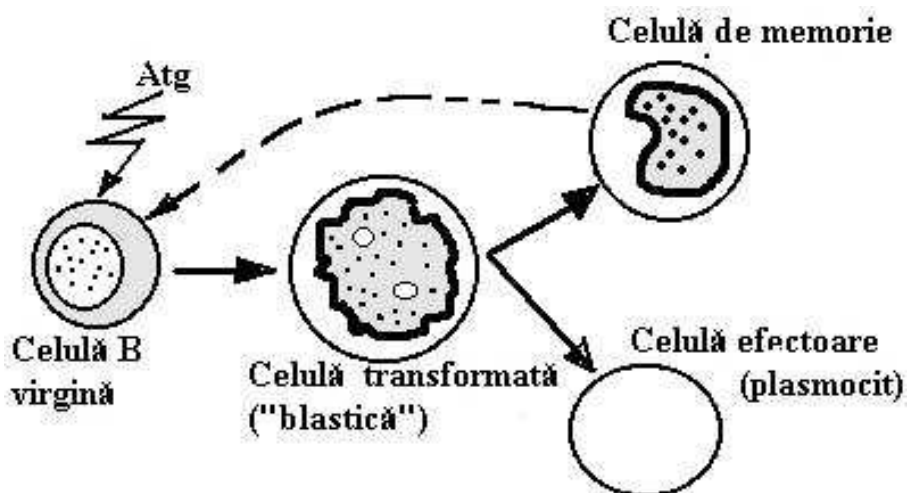


Fig. 28 Etapa dependenței de Atg.

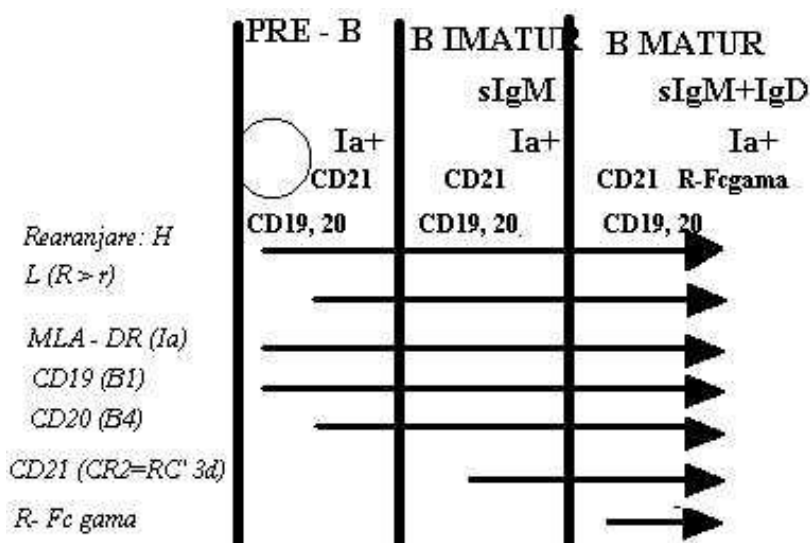


Fig. 29 Exprimarea markerilor în cursul diferențierii limfocitelor B

8.2.3. Ontogeneza limfocitelor T

a) În etapa timică celulele stem migrate din măduva osoasă (*protimocitele*) se dispun în zona corticală unde vin în contact cu celulele epiteliale ale stromei și cu celulele fagocitice (dendritice) localizate în timus. Toate aceste celule secretă factori stimulatori (*hormoni timici* - timo-poiatina, timulina, timozina, factorul timic seric-

care sunt secretați de celulele epiteliale și IL_1 care este produsă de celulele dendritice) și exprimă antigenele condicicate de CMH. Sub influența acestor molecule protimocitele se vor diferenția ireversibil în LT. Procesul diferențierii implică două serii de evenimente care se întrepătrund:

- ⊗ maturația și diversificarea în subseturi (subpopulații) funcționale;
- ⊗ dobândirea toleranței față de self (educația LT).

Ca și în cazul LB, maturația LT conduce în final la exprimarea pe suprafață a receptorului specific pentru Atg. (**Ti**) și a altor molecule funcționale care asigură *imunocompetența*. Pe măsură ce se maturează, limfocitele intratimice (*timocitele*) migrează din corticala timică în medulară. De-a lungul acestui parcurs ele vor trece prin trei stadii de diferențiere (Fig.30)

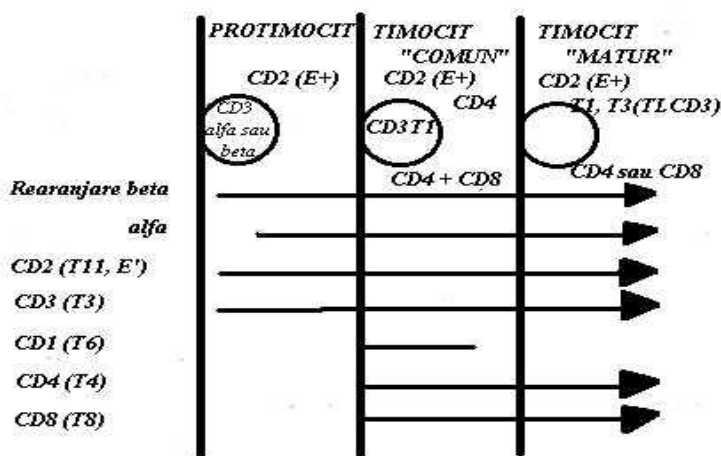


Fig. 30 Exprimarea markerilor în cursul diferențierii limfocitelor T

♦ **Stadiul I de protimocit cortical** este inițiat de exprimarea pe suprafață, a receptorului pentru eritrocitele de oaie (CD^2 sau T_{11}) și de sinteza de molecule CD^3 care rămân localizate intracitoplasmatic. Începe rearanjarea genelor pentru lanțurile beta și ceva mai târziu aceea a lanțurilor alimfocitea ale receptorului pentru Atg. (**Ti**). Aceste lanțuri vor rămâne în acest stadiu cantonate în citoplasmă.

♦ **Stadiul II de *timocit comun*:** pe suprafața celulară apar încă trei Atg.: **CD¹** sau **T6**, un Atg. efemer care se exprimă numai în acest stadiu, **CD⁴** și **CD⁸** (care apar ca coexprimate pe aceeași celulă).

♦ **Stadiul III de *timocit matur*.** Timocitele migrează în medulară și segregă în două grupe: celulele **CD⁴⁺** și celulele **CD⁸⁺**.

Paralel cu această selecție apar pe suprafață trei molecule noi: **Ti**, **CD³** și **CD⁸**. Din acest moment timocitele au ajuns să completeze exprimarea pe suprafață, a tuturor moleculelor implicate în recunoaștere și activare: receptorul pentru Atg. (**Ti**) care se asociază fizic cu **CD³** (și formează complexul de recunoaștere **Ti-T3**), moleculele **CD⁴** și **CD⁸** (exprimate fiecare pe câte un subset specific de LT) și moleculele **CD²** (care se mențin pe suprafața LT). Devenite deci, imunocompetente cele două subseturi de LT (**CD⁴** și **CD⁸**) părăsesc timusul și se distribuie în zonele T-dependente al OLP. Etapa timică de la celulele stem până la eliberarea LT mature durează circa 3 zile.

Activarea LT, mediată de moleculele de suprafață semnalate mai sus, implică două mecanisme:

⊗ **activarea specifică de Atg** și cuplată respectiv cu recunoașterea moleculelor codificate de CMH. LT pot recunoaște Atg. numai dacă acesta este expus pe o suprafață celulară și asociat în mod obligatoriu cu moleculele CMH. Pentru acest model de recunoaștere, LT operează cu două grupe de molecule de suprafață: complexul **Ti-T3** și moleculele de legare **CD⁴** și **CD⁸**. Interacțiunea LT cu celulele care expun Atg. ar începe prin formarea unor legături între moleculele **CD⁴** și **CD⁸** cu moleculele CMH expuse pe celula parteneră (perechile de molecule partenere sunt **CD⁴** - CMH clasa a II-a și **CD⁸** - CMH clasa I; memotehnic $4 \times 2 = 8$ și $8 \times 1 = 8$). Ulterior receptorul **Ti** recunoaște Atg., iar semnalul de recunoaștere este amplificat și transmis în interiorul LT prin intermediul lui **CD³**.

În acest sistem, **CD⁴** și **CD⁸** joacă un rol asociativ în recunoașterea Atg. care este îndeplinită specific de către **Ti**.

⊗ **activarea independentă de Atg.** și de moleculele CMH este mediată de **CD²**. Această moleculă a fost semnalată ca o proteină care mediază formarea rozetelor de eritrocite de oaie dar efectul de activare a

LT și formarea rozetelor sunt independente, deoarece sunt mijlocite de epitopi diferiți. Activarea prin **CD²** este independentă de complexul macromolecular Ti-T3 și ar funcționa ca o cale alternativă de recrutare nelegată de Atg. și care ar avea rol de augmentare (amplificare) nespecifică a reacției imune moleculare. Activarea prin **CD²** este controlată de receptorul Ti: după ce o celulă a fost stimulată prin intermediul acestuia, activarea nespecifică prin **CD²** este blocată. Activarea prin **CD²** poate fi indusă in vitro cu AcMo speciali, dar *triggerii*, care acționează in vivo, nu au fost încă identificați. Deoarece moleculele **CD²** apar încă în stadiul I al diferențierii intratimice, calea alternativă de activare poate acționa în etapele dinaintea exprimării complexului Ti-T3 și ar servi la colectarea și eliminarea clonelor LT autoreactive.

Comportamentul LT vis-a-vis de Atg. și de proteinele codificate în CMH prezintă următoarele particularități:

☉ **recunosc și răspund dacă li se prezintă:**

1. un Atg. străin asociat cu proteinele codificate de CMH-ul propriu (proteinele CMH);
2. proteinele CMH non-self, în absența antigenului, ca de exemplu în situația allogrefelor (respingerea grefelor s-ar datora faptului că proteinele CMH caracteristice țesutului transplantat se comportă și apar la nivelul molecular ca un Atg. străin);

☉ **nu reacționează împotriva:**

1. proteinelor selfului codificate în CMH, în absența Atg. (*tolerează*) selful;
2. Atg. străine prezentate împreună cu proteinele CMH non-self.

Rolul timusului în ontogeneza LT ar avea deci o dublă valență:

- ☉ organ de diferențiere și maturare;
- ☉ organ de educare a LT pentru recunoașterea selfului.

Deoarece în cursul maturizării intratimice, majoritatea celulelor limfoide proliferază intens și sunt lizate în număr foarte mare, s-a propus că **procesul de educare** ar consta în eliminarea selectivă a celulelor care reacționează împotriva selfului (antigenele codificate în CMH, asociate eventual cu alte Atg. proprii). Această reacție care ar determina proliferarea intensă a clonelor autoreactive ar duce în final la epuizarea (*erodarea*) lor. În acest proces, celulele destinate să

recunoască Atg. străine nu sunt eliminate în această fază deoarece nu au aproape deloc șanse să întâlnească aceste antigene. Ele își perfecționează maturarea, trec în sistemul limfoid periferic, unde vor stabili contactele cu Atg. străine. Rolul major al educării l-ar juca celulele stromei timice care exprimă Atg. CMH proprii și cu care timocitele în curs de maturare stabilesc contacte intercelulare strânse. În esență mecanismele discriminării selfului nu sunt descifrate. Se presupune că LT posedă nativ un repertoriu de posibilități de a produce molecule de receptori pentru Atg. străine și pentru o gamă largă de Atg.CMH (și proprii și străine). Epiteliul timic ar selecționa numai acele celule limfoide care posedă receptori pentru moleculele CMH autohtone exprimate pe suprafața celulelor epiteliale. Deși, este logic, modelul presupus nu explică paradoxul comportării LimfociteT mature: cu toate că sunt tolerante față de moleculele CMH-self posedă un aparat de recepție prin care se recunoască Atg. străine numai dacă sunt asociate cu Atg. CMH proprii.

b) Etapa posttimică (dependentă de Atg.)

Subpopulațiile T mature au fost grupate în două mari categorii cu funcții distincte:

celule cu funcții efectoare

- **LTc** = LT *citotoxice*, implicate în distrugerea celulelor infectate cu virus a celulelor tumorale și în respingerea grefelor.

celule cu funcții de reglare

- **LTh** = LT *helper* sau auxiliare, au rol esențial în stimularea apariției plasmocitelor și activarea celulelor Tc și Ts.
- **LTs** =LT *supresoare*, modulează răspunsul imun umoral și celular în sens limitativ.

LTh sunt T4⁺ (exprimă markerul **CD4⁺**). Populația CD4⁺ cuprinde, însă, pe lângă LTh și LT *inductoare*. Acestea favorizează selecția celulelor corespunzătoare Atg. și induc maturarea LTc și Ts.

La fel, populația **CD8⁺** include atât LTc cât și LTs. O subpopulație aparte ar fi aceea a LT_{HD} implicate în reacțiile de hipersensibilitate întârziată.

În plus LTs sunt expuse și ele unui sistem de reglare negativă exercitat de un subset auxiliar de **limfocite contrasupresoare** (LTcs) care au capacitatea de a elibera LB de sub influența negativă a LTs.

LT în repaos exprimă pe suprafață, moleculele implicate în cele două căi de activare: **CD²** și complexul **Ti-T3**. Numărul moleculelor Ti-T3 este maxim. În schimb, **RIL₂** este absent sau slab exprimat.

După recepția semnalului eliberat de Atg. are loc următoarea secvență de evenimente celulare:

- internalizarea (*modularea*) complexului Ti-T3;
- exprimarea rapidă a RIL₂ pe suprafață celulară;
- secreția IL₂;
- diviziunea celulară.

În inducerea fenomenelor inițiale este necesară intervenția **IL₁** eliberată de Mcf.

Reamintim calea alternativă de activare prin CD₂ care este independentă de IL1. Rolul acestuia rămâne de precizat. După încetarea stimulării prin Atg., receptorii Ti-T3 revin pe suprafață paralel cu dispariția RIL₂.

8.2.4. Metode de identificare a celulelor limfoide

Principalele seturi de elemente limfoide sunt reprezentate de:

- ☉ **LB**: Secreția de Atc., după transformarea în plasmocite (efectorii de RI umoral);
- ☉ **TT** cu mai multe subpopulații:
 - *Tc* - citotoxice (elemente efectoare ale RI celular)
 - *Th* - auxiliare (helper)
 - *Ts* - supresoare elemente ale reglării RI
- ☉ **LGL** (*large granular lymphocytes*) - asigură funcția NK (*natural killer*): citotoxicitate directă
- ☉ **K** (*Killer*) - celule mononucleate asemănătoare cu limfocitele care îndeplinesc funcția de citotoxicitate mediată cu Atc. (**ADCC** = *antibody dependent cellular cytotoxicity*).

a) Identificarea prin anticorpii monoclonali (AcMo)

În prezent, s-a elaborat un număr extrem de mare de AcMo care servesc la identificarea multor tipuri de Atg. Pentru evitarea confuziilor generate de diferențele de terminologie dintre acei AcMo produși de firme diferite dar care recunosc epitopi comuni, s-a introdus nomenclatura **CD** (*Cluster Designation*) pentru definirea markerilor.

Markerii au semnificații diferite:

- ✚ Unii sunt exprimați pe toate celulele unei serii celulare și în toate treptele de maturare ale acestor celule (*panantigene*), servind pentru diagnosticul acelei serii (ex. **CD²** exprimat de LT; **CD²⁴** apare pe LB).

- ✚ Alte Atg. sunt exprimate numai într-o anumită treaptă a maturării celulelor unei serii, permițând identificarea etapei de maturare sau a *vârstei celulare* (ex. **CD¹** este exprimat pe LT imature din timus, iar **CD³** pe LT adulte).

- ✚ Există și markeri care definesc *subseturi funcționale* ale unei populații. **CD⁴** este markerul LT helper, iar **CD⁸** este markerul LTc.

- ✚ Mulți markeri au putut fi asociați cu o *stare funcțională* a celulei (ex. **CD²⁵** reprezintă **RIL₂** care apare după activarea LTh).

- ✚ Există și *markeri comuni* pentru celulele ce aparțin unei serii celulare diferite: **CD³⁵** este exprimat pe LB și LT, dar și pe monocite, neutrofile, eozinofile sau eritrocite și joacă rol de receptor (R) pentru componenta C3 a complementului.

Exemplele citate arată că pentru unii dintre markeri s-a descifrat rolul funcțional. Ei pot fi receptori pentru semnalele diferite din mediu. **CD³** este strâns asociat cu R pentru Atg al LT (RACT) împreună cu care participă la recunoașterea Atg. **CD⁴** și **CD⁸** participă la procesul de recunoaștere a Atg. ca molecule de legătură. Celulele prezentatoare de Atg. exprimă pe suprafața Atg cuplat cu molecule ale complexului major de histocompatibilitate. LT exprimă pe suprafața lor receptorul pentru Atg. (denumit convențional Ti) împreună cu moleculele **CD³** cu care formează un complex funcțional de recunoaștere (Ti-T3). (Fig.31)

Pe suprafața LTh complexe Ti-T3 sunt exprimate alături de moleculele **CD⁴**, în timp ce LTs exprimă complexul Ti-T3 alături de **CD⁸**.

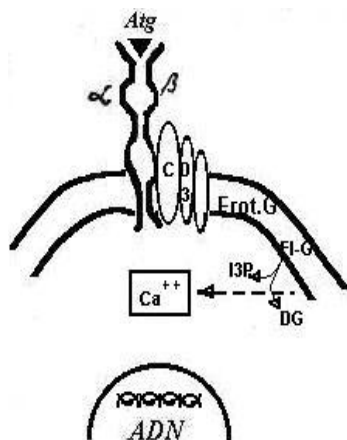


Fig.31 Ti-T3 (Ti-CD3): unitatea funcțională de recunoaștere a Atg. de către limfocitele T. Ti este receptorul pentru Atg. Semnalul receptat este preluat de CD3 și prin intermediu unor relee proteo-enzimatice membranare (proteina G, fosfolipaza C) provoacă generarea mesagerilor secundari (inositol trifosfatul și diacil glicerolul). I₃P și DG induc creșterea Ca⁺⁺ intracelular. Anumite proteine specifice transportatoare de Ca⁺⁺ de exemplu Calmodulina) mediază în continuare activarea unor gene nucleare care comandă activarea celulei (exprimarea RIL 2, secreția IL2, proliferare)

Recunoașterea Atg. este condiționată de legăturile care se crează între aceste 4 molecule partenere. **CD⁴** se asociază cu molecule CMH de clasa a II-a, iar **CD⁸** cu moleculele CMH de clasa I-a.

Aceste asocieri apropie celulele, creând condițiile *analizării* Atg. de către Ti. Dacă semnalul antigenic este acceptat, el va fi transmis cu ajutorul **CD³** în celula limfoidă, provocând activarea acesteia. Dacă semnalul Atg. nu este recunoscut de Ti, cele două celule se desprind urmând să-și caute alte parteneri (Fig.32).

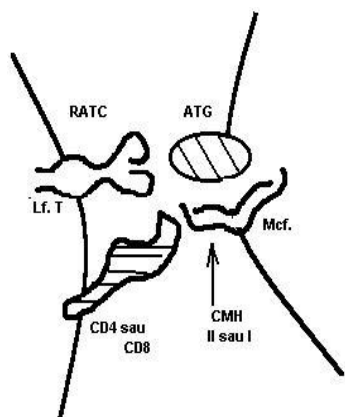


Fig.32 Interacțiuni moleculare care se stabilesc între Mcf și Limfocite T cu ocazia prezentării Atg.

Receptorii sunt determinați genetic. Împreună cu ceilalți markeri (a căror semnificație funcțională nu o cunoștem) alcătuiesc fenotipul specific pe baza căruia pot fi identificate celulele limfoide.

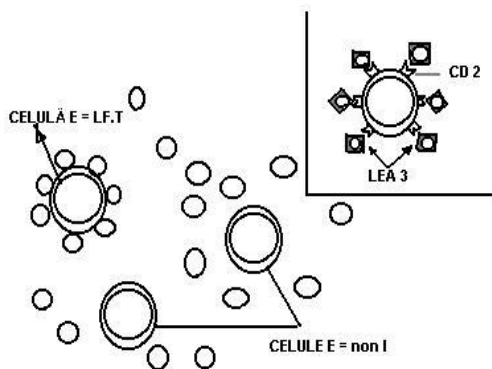


Fig. 33 Formarea rozetelor cu Er. de oaie

b) Identificarea LfT și B prin metoda de rozetare

Eritrocitele de oaie incubate împreună cu LfT se atașează formând un complex celular în care LfT apare înconjurat de Er. (rozetă). Atașarea este mediată de două molecule: CD2 (Th) de pe suprafața LfT (care prezintă unele similitudini structurale cu slg) și LFA 3 de pe membrana eritrocitelor de oaie. LFA 3 (Lymphocyte Function Associated Antigen) este o glicoproteină din familia mare a proteinelor de adeziune și deci diferă de Atg. eritrocitare "de grup sanguin". Aceste rozete au fost denumite "directe" sau "E" (Fig.33.)

LB exprimă pe suprafață R pentru fragmentul Fc al IgG și R pentru C_{3b}. Ele atașează pe acești receptori eritrocite învelite cu IgG (rozete EA-erythrocyt-antibody) și respectiv, eritrocite învelite în molecule de complement care au fost fixate prin intermediul unor Atc. IgM, care servesc ca piese de legătură (rozete EAC - erythrocyte-antibody-complement). (Fig.34).

Prin urmare, dintr-o cohortă de celule limfoide neidentificate, cele care vor fi EA⁺ și EAC⁺ aparțin populației B.

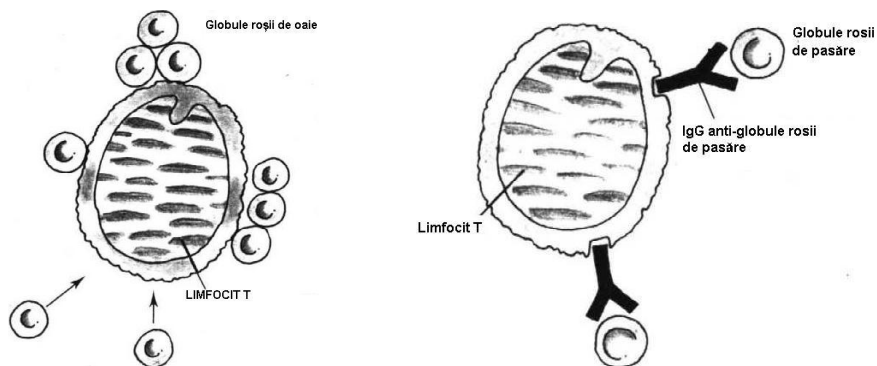


Fig. 34 Rozete EA și EAC

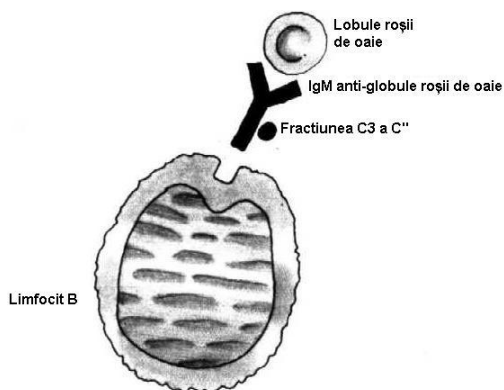


Fig. 35 Principiul formării rozetelor EAC, utilizate pentru studiul receptorilor pentru C'

În sângele periferic circulă 1500 -3000 limfocite/mmc. Dintre acestea, aproximativ 15-20% sunt LB (EAC_H), iar aproximativ 80% sunt LT (E^+), cca 60% sunt LTh și aproximativ 30% LTs. Raportul normal Th/Ts este aproximativ 2. Circa 1-2% dintre limfocitele circulante sunt E^- și EAC^- (*non-B non-T*). Printre aceste celule *nule* unele demonstrează activitate NK și K.

Fenotipul LimfociteB mature

- **sIg** (Ig de suprafață) = R pentru Atg: servește la recunoașterea Atg
- **RFc** = R pentru segmentul Fc al IgG
- **CMH.DR** = Atg de histocompatibilitate de clasa a II-a
- **CD35 (CR1)** = R.C_{3b}
- **CD21 (CR2)** = R.C_{3b}
- **M** (mouse) = R pentru eritrocite de șoarece: exprimat pe LB incomplet mature
- **CD19** = pan B.
- **CD20** = pan B.

Fenotipul LimfociteT mature

- **YT35 (Ti)** = R pentru Atg al LimfociteT
- **CD3 (T3)** = indică maturarea, este asociat funcțional cu Ti
- **CD2 (T11)** = R pentru eritrocite de oaie
- **CD25 (Tac)** = R pentru interleukina 2 (IL2)
- **CD4 (T4)** = este exprimat numai pe LT helper și inductoare (Th/i)
- **CD8 (T8)** = este exprimat numai pe LT citotoxice și supresoare (Tc/s)
- **CMH.DR** = este exprimat numai de LimfociteT activate

c) Identificarea LB și LT după receptorii pentru Atg.

Receptorul pentru Atg. al LB este sIg, exprimată pe LB mature și care poate fi identificată prin tehnici de imunofluorescență. Se prepară un ser anti-Ig umană prin imunizarea specifică a unui animal. Atc. anti-Ig umană din acest antiser se concentrează, se purifică și apoi se cuplează cu fluoresceină. După incubarea cu LB, anticorpii marcați se atașează pe sIg. Preparatele se examinează la un microscop cu sursă de UV. Pe fondul întunecat al câmpului microscopic LB apar înconjurată de un nimb strălucitor de culoare verzuie.

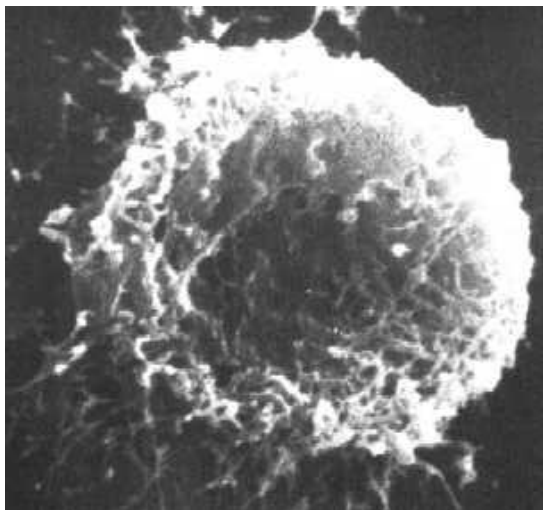
Cu metode similare de marcare a unor AcMo s-a putut observa că LB imature (*celulele pre-B*) nu exprimă receptorii imunoglobulinici pe suprafață, dar prezintă în schimb Ig intracitoplasmatică (cIg). Prin urmare, decelarea cIg și sIg permite aprecierea maturării celulei (*a vârstei*) și apartenența la populația B.

Pe suprafața a peste 95% dintre LT există un receptor specific pentru Atg. (RACT sau Ti) format din 2 lanțuri alimfocitea și beta de mărime inegală. Structura primară a acestor lanțuri amintesc de aceea a lanțurilor H și L din care sunt formate moleculele de Ig: toate conțin o porțiune variabilă (V) unde este plasat situsul de combinare cu Atg. și o porțiune constantă (C). Celelalte 5% dintre LT exprimă un receptor diferit, format prin combinarea unor lanțuri gama și delta. Ca și sIg, RACT reacționează specific cu Atg. Specificitatea este asigurată de diferențele extrem de mari ale secvenței de aminoacizi din porțiunea variabilă a moleculelor receptorilor. O celulă matură exprimă pe suprafață receptori cu o singură specificitate. O astfel de celulă este membră a unei *clone* (o familie de celule identice care provin dintr-un precursor comun).

Prin urmare, organismul conține o multitudine de clone dotate fiecare cu specificitate reactivă pentru un Atg. dat. Se admite ideea că ar trebui să existe tot atâtea clone câte antigene. Aceasta ar însemna construirea unui număr imens de modele moleculare de receptori pentru Atg. Variabilitatea structurală a receptorilor este comandată genetic.

8.2.5. Macrofagele (Mcf)

Mai multe metode experimentale au demonstrat existența unei cooperări între Mcf și limfocite în răspunsul imun. Într-unul dintre acestea s-a lucrat cu o suspensie pură de limfocite (din care s-au înlăturat Mcf) preparată de la un șoarece imunizat în prealabil cu un Atg. (în acest experiment s-a folosit complexul gamaglobulină + dinitrofenol) (gamaglobulina DNP).



**Fig 36. Macrofagul –
microscopie electronică
în baleiaj**

a) incubarea limfocitelor sensibilizate cu gamaglobulină-DNP nu este urmată de secreție de Atc.

b) amestecul limfocite + gamaglobulină-DNP + Mcf. provenite de la șoarecii singenici neimunizați în prealabil cu gamaglobulină-DNP, produce un răspuns anticorplic moderat.

c) limfocite + gamaglobulină-DNP + Mcf. preincubate cu gamaglobulină produce un răspuns energetic.

d) Mcf. care au fagocitat Atg. îl pot transfera la un animal nesensibilizat.

Mcf. sunt necesare pentru declanșarea răspunsului imun. Mcf fagocitează Atg., dar îl degradează doar parțial menținând intactă determinanții (epitopii) pe care-i va expune pe suprafață *oferindu-i* pentru recunoaștere, limfocitelor (*fenomenul prezentării Atg.*).(Fig.37)

Captarea Atg. de către Mcf. ar fi deci prima treaptă necesară pentru declanșarea răspunsului imun. După administrarea unui Atg. în

circulație, se observă dispariția lui treptată (fenomen denumit *clearance* prin care Atg. este captat de Mcf., care-l transportă în organele limfoide). Fenomenul de clearance a fost demonstrat prin administrarea de flagelină de *Salmonella adelaide* marcată cu I^{125} . Autoradiografierea organelor limfoide a evidențiat Atg. legat selectiv de macrofagele migrate în aceste organe.

Mcf. provin din precursori care se diferențiază și se maturează în MO. Celulele maturate în MO sunt **monocyte**. Acestea sunt eliberate în circulație de unde migrează în diverse țesuturi unde-și vor îndeplini funcțiile.

Mcf. sunt monocyte stabilite în diverse țesuturi, unde îndeplinesc două activități: fagocitoză și secreție de substanțe funcționale solubile. În răspunsul imun sunt implicate mai multe asemenea celule ale sistemului macrofagic: Mcf. tisulare, celulele Kupffer (în ficat), celulele Langerhans (în piele), celulele dendritice (în foliculii limfoizi), celulele interdigitate (în zonele paracortice, T-dependente din ganglionii limfatici). Unele sunt specializate numai în funcție de prezentare a Atg.: celulele Langerhans, celulele dendritice și interdigitate.

Altele intervin numai ca elemente fagocitante: celulele Kupffer care sechestrează și fagocitează eritrocite învelite cu anticorpi și molecule de complement. În fine, Mcf. tisulare îndeplinesc ambele activități: de prezentare a Atg. și de eliminare prin fagocitoză a resturilor conflictului imun.

Mcf. activate secretă substanțe solubile denumite generic monokine, dintre care cea mai importantă este **IL₁** capabilă să producă activarea nespecifică a altor celule aflate în proximitatea zonei în care a pătruns Atg.: Mcf.,LT și LB. Se produce o activare în lanț care mărește eficiența răspunsului local. În plus, **IL₁** are și efecte generale: febră, anorexie, somnolență.

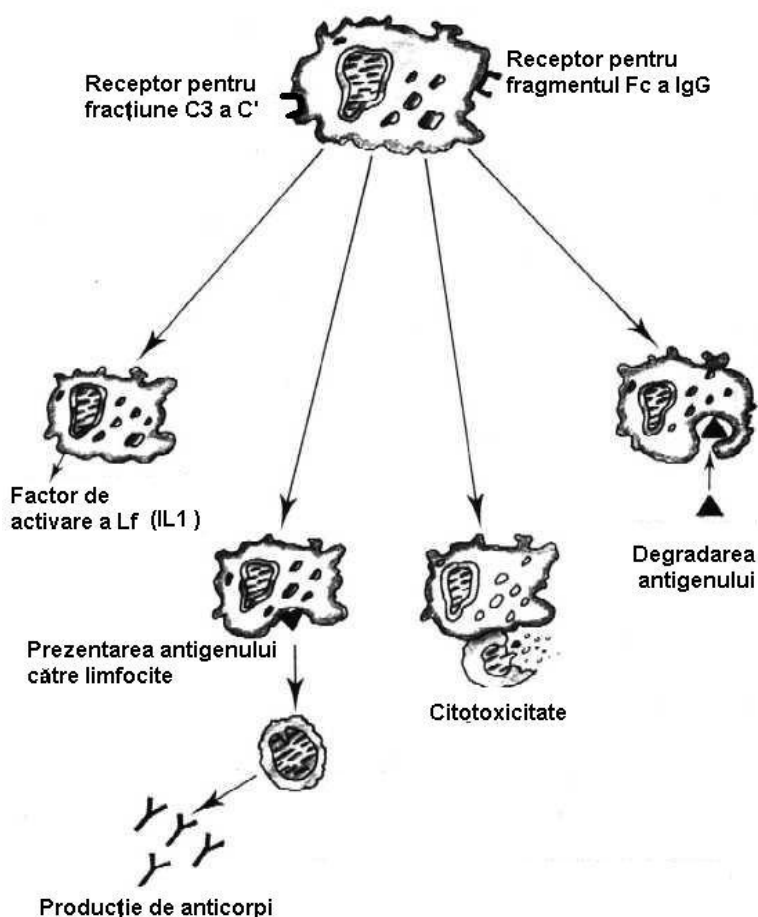


Fig.37. Prezentarea schematică a funcțiilor macrofagelor

În afară de IL_1 Mcf activate secretă și alte substanțe capabile să moduleze secreția imună: o variantă de interferon, constituenți ai sistemului complement (C_1 , C_3 , C_4 , factorul B), prostaglandinele, TNF alimfocitea (induce febră, stimulează secreția unor limfokine, activează Mcf. și posedă capacitatea de liză a unor celule tumorale).

Mcf. posedă pe suprafața receptori pentru C' și pentru segmentul Fc al moleculelor de Atc. Cu ajutorul acestor receptori captează Atg. pe care s-au atașat C' și/sau Atc (imunoaderență). Grație imunoaderenței Mcf. elimină Atg. din organism.

Mcf. intervin în două momente ale reacției imune prin valorificarea funcțiilor lor principale: fagocitoza și secreția de substanțe

active. Cu ajutorul fagocitozei, Mcf. intervin atât la polul aferent (inductor) al răspunsului imun (ca celule prezentatoare de Atg.), cât și ulterior, la polul eferent (efector) al răspunsului când elimină Atg. din organism.

Există o relație dublă între Mcf. și limfocite: prin oferta de Atg. și prin secreția de interleukine (care crează în plus efecte reciproce de activare). Astfel, ca răspuns la **IL₁**, LTh secretă o substanță stimuloare (**IL₂**) care produce activarea Mcf, a LB și a diverselor subpopulații de LT (Th, Ts, Tc).

Modul general de reacție al limfocitelor, ca răspuns la o activare, este secreția unor substanțe care mediază rolul acestor celule în apărare.

LB secretă Atc. care se atașează pe Atg., permițând macrofagelor să elimine aceste Atg. prin intermediul fenomenelor de imunoaderență.

LT secretă alte tipuri de molecule (limfokinele). **LTc** care vin în contact cu celulele străine sau infectate secretă moleculele toxice cu ajutorul căroraucid celulele-țintă (**limfotoxina**, o substanță înrudită din punct de vedere structural cu TNF alimfocitea produs de Mcf.). **LTh** își îndeplinesc multiplele lor funcții de reglare prin intermediul interleukinelor. Acestea joacă rolul unor adevărați hormoni ai mecanismelor imunitare.

8.2.6. Celulele K

Țintele celulare cele mai variate, învelite prin concentrații scăzute de IgG, devin sensibile la efectul citotoxic al anumitor celule mononucleate, celulele K (de la engl. *killer*). Aceasta este citotoxicitatea celulară dependentă de anticorpi (ADCC - *antibody dependent cell-mediated cytotoxicity*). (Fig.38)

Nu există o categorie unică, ci numeroase tipuri de celule sunt capabile de a exercita o activitate ADCC. Ca o caracteristică comună aceste celule posedă pe suprafața lor *receptori de înaltă afinitate pentru fragmentul Fc (FcR)* al IgG, după legarea de aceștia devenind capabile să exercite o activitate citotoxică.

Celulele cele mai bine cunoscute pentru activitatea lor ADCC sunt polinuclearele, macrofagele, plachetele sangvine, celulele ficatului fetal și, mai ales, celulele mononucleare, prezente în organele limfoide lipsite

de markeri și proprietăți ale LB și LT cărora de obicei li se rezervă termenul de celule K. Natura și mecanismele de acțiune ale acestor celule K nu sunt fundamental diferite de cele ale altor celule capabile de ADCC.

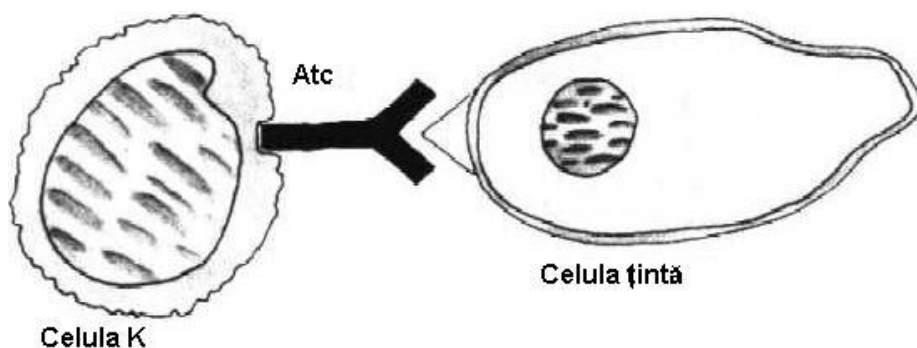


Fig. 38 Schematizarea fenomenului de citotoxicitate celulară dependentă de Atc

Definiția celulelor K este în mod esențial negativă. Celulele K nu prezintă Ig de membrană și sunt lipsite de markeri ai LT (în particular receptorii de rozetare E și antigenele de diferențiere recunoscute prin anticorpii monoclonali). Acest fenotip de celule nule le apropie de efectorii NK. În ultimă instanță nu există markeri specifici care să permită distingerea de o manieră viabilă a celulelor K și NK. Experiențele funcționale de competiție au demonstrat că anumite celule nule prezintă simultan o activitate K și NK, în timp ce altele sunt fie K, fie NK.

8.2.7. Celulele NK

Anumite celule mononucleate prezintă o activitate citolitică aparent nespecifică unui antigen, dirijată contra anumitor celule-țintă, în general reprezentate de linii de celule tumorale, independent de o sensibilizare prealabilă și de restricția CMH. Celulele în chestiune sunt denumite ucigașe naturale prin analogie cu anticorpii naturali produși fără imunizare intenționată (NK pentru *natural killer*).

Linia celulară la care aparțin celulele NK rămâne încă obiect de dezbateri. Celulele NK pot fi reprezentate de o nouă familie de celule

limfoide, derivate din măduva osoasă, fie de un stadiu particular de diferențiere celulară proprie uneia sau mai multor linii hematopoietice. Ele se regăsesc în organele limfoide (cu excepția timusului) și în sânge.

Atât la șoarece cât și la om, celulele exprimă antigenele de diferențiere proprii celulelor limfoide.

Mai multe argumente sugerează legătura cu linia celulară T: prezența anumitor markeri ai LT (antigene Thy -1, de densitate mică la șoarece, fixarea anumitor anticorpi monoclonali anti-T și formarea de rozete E la om: sensibilitatea la **IL₂**). Prezența unui nivel crescut de activitate NK la șoarece ca și modularea prin hormonii timici, sugerează că celulele NK par să reprezinte LT într-o fază imatură a diferențierii lor în timus.

Celulele NK se disting de monocite prin absența fixării anticorpilor Mo 2 și LeuM1, de LB prin absența imunoglobulinelor de suprafață și a receptorilor pentru complement și de LT mature prin absența anumitor antigene (Lyt 2 la șoarece, CD³, CD⁴ și CD⁶ la om). Ele se apropie totuși de LT prin prezența pe o proporție importantă dintre ele, a antigenelor Lyt1 și Thy-1 la șoarece, CD⁸, CD¹¹, Leu5 și CD¹⁰ la om și de celulele fagocitare prin reactivitatea lor cu anticorpii OKM1 ca și cu anticorpii dirijați contra receptorilor Fc.

Anumite limfocite mari granulate de 16-20 μm și care asigură în mod esențial activitatea NK au fost observate în sângele circulant la om. Aceste celule purtătoare de granule citoplasmatiche azurofile, care reprezintă lizozomi sau filamente de ectină posedă un nucleu reniform.

Ele pot fi purificate prin centrifugare în fracțiuni mai ușoare. Aproximativ jumătate dintre ele formează rozete E și sunt recunoscute prin diverși anticorpi monoclonali specifici LT, prin anticorpi OKM1 (specific monocitelor) și Leu7, dar nu prin OKT3. Ele sunt în egală măsură purtătoare de receptori Fc și sunt înzestrate cu activitate citotoxică ADCC. Aceste limfocite la care par să existe numeroase subpopulații, sunt regăsite într-un nivel ridicat în sânge (7%), într-un procentaj mai scăzut în splină (4%), în ganglioni (1%) și în epiteliile mucoase. Ele nu se găsesc în timus.

Interferonii de toate originile, cresc foarte evident activitatea NK, la toate speciile testate. **IL₂** stimulează, de asemenea, activitatea NK și

poate determina apariția unei activități citotoxice de tip NK în celule LTc autentice.

Asemenea celule care și-au pierdut stricta lor specificitate de LTc sunt denumite *Lymphokine activated killer* (LAK). Pe de altă parte, celulele NK sunt sensibilizate de acțiunea mecanismelor supresoare în care intervin LT. Nivelul activității este controlat prin factorii genetici, din care unii sunt asociați CMH.

8.3. DINAMICA RĂSPUNSULUI IMUN

Imunitatea este definită ca ansamblul fenomenelor prin care organismul recunoaște și neutralizează structuri celulare sau necelulare agresoare, care sunt străine de organismul respectiv.

Răspunsul imun are 3 caractere fundamentale:

✚ este **xenofob** (**anti-non-self**), implicând o discriminare a selfului (totalitatea constituenților proprii) de non-self (molecule, macromolecule sau celule străine de organismul respectiv).

Reamintim că selful este definit de moleculele CMH pe care LT sunt *educate* să le recunoască. Moleculele CMH de clasa I (exprimate pe toate celulele nucleate) permit limfocitelor să recunoască celulele proprii și să le deosebească de structurile împotriva cărora trebuie să reacționeze:

- agresori exogeni care nu posedă Atg. CMH (de ex, microbi);
- molecule CMH non-self, exprimate pe celule străine (ca în cazul grefelor);
- molecule CMH proprii modificate (self alterat), exprimate pe celule proprii infestate cu virus sau transformate malign.

✚ este **specific**: răspunsul imun este declanșat numai dacă o substanță străină se unește cu receptorii pentru Atg. exprimați de limfocite și numai dacă există o potrivire structurală între Atg. și situsul combinativ al receptorului (specificitate înseamnă receptor pentru antigen sau un tip de receptor/o celulă, sau o clonă de celule pentru un anumit Atg). Imunitatea stabilită împotriva unui agent străin se exercită numai împotriva aceluia agent.

■ este **memorizat**: reântâlnirea cu un Atg. față de care organismul a fost imunizat în prealabil va declanșa un răspuns mai precoce și mai intens (răspuns secundar sau *anamnestic*).

Există două modele de răspuns imun (RI):

A. RI cu mediere umorală

- declanșat în condițiile în care Atg. au reușit să se răspândească în organism;
- se desfășoară departe de locul unde au pătruns Atg;
- este mediat de Atc. circulanți care in vivo, demonstrează capacitatea de neutralizare a toxinelor, opsonizarea bacteriilor, inactivitatea virusurilor;
- este activat în infecții bacteriene, în reinfecțiile virale;
- răspunsul aberant duce la reacția de hipersensibilitate imediată (anafilactică).

B. RI cu mediere celulară

- declanșat în general de Atg. care rămân cantonate la poarta de intrare (ex. grefelor) sau care sunt fixate în celule ale gazdei (agenți patogeni cu dezvoltare intracelulară ca: virusuri, fungi, B.K., *Brucella*, Atg. tumorale);
- se desfășoară la locul unde este cantonat Atg. (de ex. la poarta de intrare);
- se constată lent (*răspunsul întârziat*);
- este îndreptat în special împotriva unor celule (străine, tumorale, infestate cu agenți patogeni) care exprimă Atg;
- este mediat de LTc specifice, sensibilizate care acționează asupra celulelor-țintă direct sau asistate de producerea unor mediatori solubili.

Derularea unui răspuns imun poate fi sistematizată în următoarele etape:

- întâlnirea cu Atg.
- activarea Limfocite specifice;
- eliminarea Atg.
- supresia răspunsului;

- **Întâlnirea cu Atg.**

Antigenele pătrund în organism străbătând barierele naturale care separă organismul de mediul înconjurător dintre care cele mai importante sunt pielea și mucoasele care tapisează arborele respirator și tractul digestiv. La acest nivel Atg. sunt interceptate de mecanismele de apărare nespecifice, sunt captate de celulele sistemului monocitar-macrofagic și dirijate către ganglionii regionali sau către alte structuri ale sistemului organelor limfoide periferice (OLP) care sunt intercalate în acest circuit (amigdale și alte structuri Waldeyeriene, plăci Peyer, etc.).

Atg care depășesc bariera limfatică și pătrund în sânge (sau cele care accidental, intră direct în sânge), interacționează în plasmă cu anticorpii specifici preexistenți (rezultați în urma unui răspuns anterior față de Atg. dat.) și sunt vehiculate spre splină.

În OLP, Atg. sunt reținute de macrofage și de celulele dendritice și interdigitate. OLP sunt sediile în care se declanșează răspunsul imun. Aici Atg. persistă un timp suficient de lung (zile sau luni) pentru a putea fi înglobate, prelucrate și reexpuse pe suprafața celulelor dendritice și interdigitate, condiție necesară pentru a putea fi prezentate limfocitelor.

Pe suprafața acestor celule, determinanții antigenici sunt reexpuși în asociere cu proteinele CMH de clasa I-a și clasa a II-a.

Se pare că, întocmai ca macrofagele, și LB sunt capabile să înglobeze să prelucreză și să reexpună pe suprafața Atg., împreună cu moleculele CMH de clasa II-a, putând servi în anumite condiții, ca celule prezentatoare de Atg.

Recunoașterea Atg. de către limfocite este condiționată de particularitățile funcționale ale receptorilor specifici pentru Atg:

- receptorul pentru Atg. al LB (slg) poate recunoaște Atg. ca atare;
- receptorul pentru Atg. a LT (Ti) poate recunoaște Atg. numai dacă este prelucrat și asociat cu proteine CMH. Restricția CMH pentru recunoașterea Atg. este diferențiată: celulele **CD⁴⁺** recunosc Atg. asociat cu proteinele CMH de clasa II-a (CMHDR) (aceste proteine sunt prezente numai pe celule care cooperează în răspunsul imun: macrofagele, LB și unele LT activate).

LT^{CD8+} recunosc Atg. asociat cu proteinele CMH de clasa I-a (virtual prezente pe toate celulele nucleate).

- **Activarea celulelor specifice**

Activarea LTh (CD4⁺) ocupă locul central al răspunsului imun. Inițial LTh primește două semnale de activare de la macrofagul care-i prezintă Atg., semnale pe care le asimilează cu ajutorul a trei molecule receptoare.

Cooperare Mcf - LimfociteT.CD ₄	
Semnale	Molecule receptoare
IL1	R.IL1
Atg + CMH II	Ti + CD4

Recepția acestor semnale provoacă activarea limfocitelor, care este urmată de secreția de **IL₂**, care se adaugă ca al treilea semnal de autoactivare a celulei respective (stimularea autocrină). **IL₂** se deversează în mediul înconjurător unde se asociază altor acțiuni al **LT^{CD4+}** activate. Activarea LTh are mai multe consecințe funcționale:

1. Proliferarea clonală a LT auxiliare (cu producere de celule fiice activate care secretă diverse limfokine cu efecte stimulatoare) și diferențierea unor subseturi de celule CD4⁺ capabile să inducă rapid capacitatea T citotoxică de a răspunde la Atg. (LT inductoare) (Fig.39).

2. Proliferarea și activarea LTc.

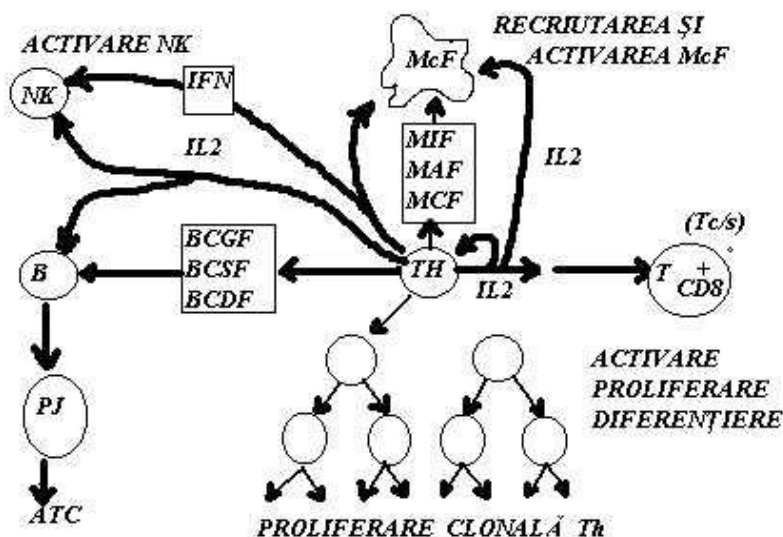


Fig. 39 Activarea limfocitelor T-helper

3. Activarea reciprocă a Mcf. prin **IL₂**: Mcf. activate secretă pe lângă **IL₁**, **IFN** și prostaglandine;

4. Recrutarea de noi Mcf. în focarul de recunoaștere a Atg. și activarea lor prin efectul unor limfokine: **MIF** (factorul de inhibiție a migrației macrofagelor), **MCF** (factorul chemotactic pentru excitarea Mcf.), **MAF** (factorul de activare a Mcf);

5. Stimularea LB specifice la Atg., declanșată prin două semnale: interrelația celulară directă LT-LB și **IL₂**;

6. Amplificarea activării, a proliferării și a transformării LB, în plasmocite secretoare prin intermediul mai multor limfokine: **IL₂**, factorul de stimulare, factorul de proliferare, factorul de diferențiere;

7. Inducerea maturării și activării LTs și activarea prin **IFN** a celulelor NK.

Activarea LB

Selectarea LB este inițiată de atașarea Atg. pe slg. Această legătură nu este capabilă să provoace singură activarea LB specific decât în cazul Atg. timo-independente (molecule mari-polimerice, cu multipli

determinanți identici și dispuși în serie sub formă de unități repetitive care se leagă concomitent pe mai mulți receptori sIg declanșând o sumă de semnale care depășesc pragul de activare a LB).

În majoritatea cazurilor însă, activarea LB este timo-dependentă. Atg. suferă degradarea limitată urmată de reexpunerea epitopilor în conjuncție cu molecule CMH II atât în Mcf. cât și în LB preselectate. Captarea Atg. de către Mcf. este nespecifică. În schimb, Atg. va fi endocitat și prelucrat numai de acele LB care exprimă molecule de sIg specifice pentru Atg. în cauză. Complexele Atg.+ CMH II exprimate pe suprafața Mcf și a LB se leagă pe cuplurile de molecule partenere pe care LTh le exprimă pe membrană (Ti+CD4).

Se concepe realizarea unui model de cooperare între 3 celule: Mcf - LTh și LTh - LB.

În **cooperarea Mcf - LTh** recunoașterea CMH II de către CD4 permite transmiterea semnalului antigenic de la Mcf. la LTh prin intermediul RTi.

În **cooperarea LTh - LB** interrelații simultane CD4 + CMH II și Ti + Atg. fixează cele două celule și eliberează un semnal helper care induce excitarea LB. Acest semnal se însumează cu primul semnal produs prin cuplarea Atg. pe sIg. și se asociază cu efecte stimulatorie ale IL₂ și a altor interleukine emise de LT. În acest model Atg. servește ca o punte de legătură între celulele partenere iar răspunsul este specific deoarece este condiționat de recunoașterea Atg. de către receptorii specifici ai celor două celule.

Activarea LB se soldează cu transformarea acestora în plasmocite care vor secreta Atc. cu aceeași specificitate ca aceea a sIg. Această similitudine asigură reactivitatea Atc. cu Atg.

Funcția principală a Atc. este legarea sa pe Atg. Atc. fixați pe Atg. contribuie la eliminarea acestora prin intermediul așa-numitei funcții efectoare a Atc.: atașarea componentei C_{1q} a complementului urmată de activarea cascadei prin calea clasică și aderarea lor la celule care posedă receptori pentru segmentul Fc (Mcf. și celulele K). Imunoaderența la Mcf. este urmată de fagocitarea și digestia complexelor Atg-Atc., indiferent că Atg. sunt corpusculare (celulare) sau solubile (macromolecule). (Fig.40)

Ataşarea complexelor formate din celule-ţintă + Atc. la RFc exprimaţi de celulele K produce un efect citotoxic exercitat de acestea din urmă asupra celulei-ţintă (ADCC= antibody- dependent cell mediated cytotoxicity). ADCC ar fi o reacţie de apărare îndreptată împotriva celulelor tumorale sau asupra unor celule proprii alterate.

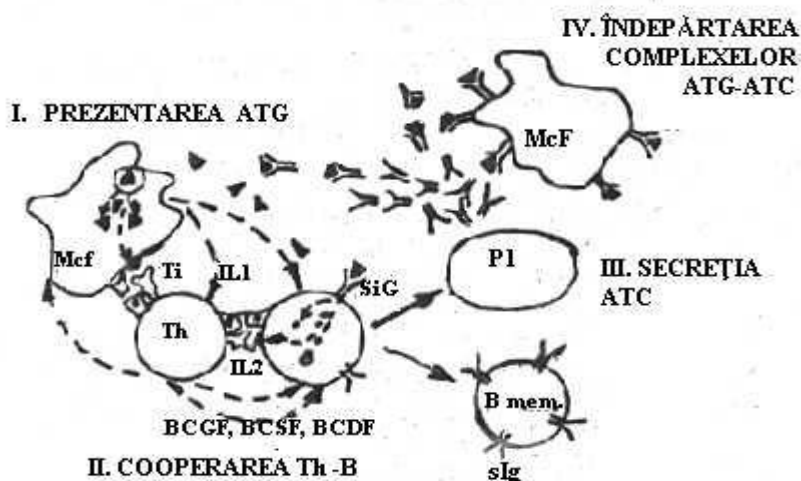


Fig. 40 Răspunsul B Timodependent

Activarea LTc necesită două semnale. *Semnalul specific* este eliberat de Atg. expus împreună cu molecula CMH de clasa I pe o suprafață celulară prezentatoare și este recepționat de LTc prin intermediul complexului Ti+CD⁸. Activarea mediată pe această cale este specifică.

Al 2-lea semnal este furnizat de **IL₂** secretată de LTh prin mecanismul descris mai sus. Țintele LTc sunt celule infectate cu virus sau celule străine care sunt distruse printr-un efect citotoxic direct.

Spre deosebire de citoliza mediată de celulele K și NK citoliza produsă de LTc este foarte specifică, grație dublei recunoașteri a țintelor. Din acest motiv LTc nu recunosc celulele care exprimă numai antigenele specifice în absența moleculelor CMH, ca de ex. hematiile sau bacteriile.

Recent s-au izolat câteva cazuri care se caracterizează prin deficiența formării (sau exprimării) Atg.CMH (sindromul limfocitelor dezagolite). Aceasta se traduce clinic printr-o imunodeficiență gravă cu infecții severe și repetate. (Fig.41)

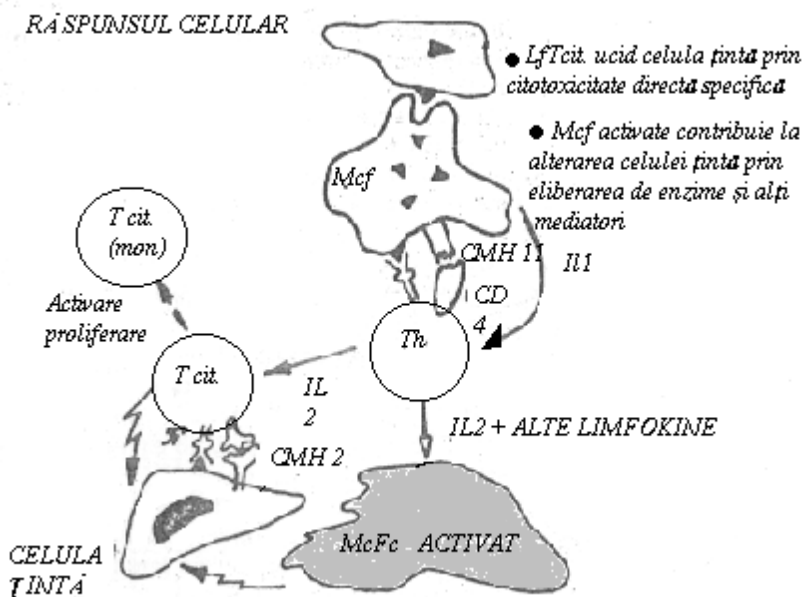


Fig. 41 Răspunsul celular

Activarea LTs se produce, cronologic ca un eveniment tardiv al lanțului activării LB și LT. Aceasta permite desfășurarea răspunsului imun.

Au fost descrise 2 tipuri de LTs: *LTs specifice pentru Atg.* care reacționează numai cu Atg. corespunzător, suprimând răspunsul imun exclusiv față de acesta și *LTs nespecifice pentru Atg.* care suprimă răspunsul imun în general și care ar avea specificitate pentru receptorii LT și LB (și deci și prin idiotipurile acestora).

Maturarea lor este stimulată de LT^{CD4} inductoare, iar activarea lor ar fi dependentă de un helper al LT^{CD4} auxiliare. În dinamica răspunsului normal LTh stimulate de Atg. ar emite mai întâi semnalele de diferențiere pentru LB și mult mai târziu pe cele de producere a LTs. Când acestea ajung într-un număr suficient de mare, induc o inhibiție

retroactivă a celulelor auxiliare care le-a stimulat, realizându-se un circuit imunologic de reglare. Efectul supresor ar putea fi mediat de un factor solubil supresor.

Memoria imunologică este procesul biologic datorită căreia, la orice reîntâlnire cu un Atg., răspunsul imun se instalează mai rapid și este mai energic (răspunsul secundar sau *anamnestic*).

Ambele populații de LB și LT produc celule de memorie. Tratarea șoarecilor cu ser anti-B respectiv anti-T suprimă capacitatea acestora de a determina un răspuns secundar in vitro și în vivo. LT de memorie sunt activate mai rapid decât celulele virgine în prezența Atg. specifice. Activarea este urmată de conversia lor mai rapidă în celule efectoare.

După ce s-au format, celulele de memorie părăsesc locurile lor de naștere (splină, ganglioni, etc.) și pătrund în circulație ca celule de viață lungă (luni, ani) care *patrulează* (recirculă) pe traiectul vaselor de sânge-țesuturi-vase limfatice-ganglioni-conexiuni limfatice interganglionare-duct toracic-sânge.

Unele din ele pătrund în limfonodurile limfatice prin arteriolele aferente și ajunse în venule post capilare străbat pereții acestora trecând astfel în țesutul limfatic ganglionar.

Mecanismul formării celulelor de memorie nu este bine descifrat. După una din ipoteze, Limfocite de memorie s-ar forma printr-o diferențiere asimetrică a celulelor activate de Atg.: după mitoză, una din celulele fiice se transformă în celulă efectoare iar cealaltă rămâne ca limfocit mic de memorie. Aceasta s-ar produce paralel cu expansiunea clonei respective.

8.3.1. Reglarea genetică a răspunsului imun

Există animale care răspund viguros la unele Atg. și altele incapabile să producă Atc după stimularea cu Atg. respective.

Fenomenul a fost studiat de BENACERRAF și MC DEVIT pe sușe de șoareci cu ajutorul unor substanțe antigenice simple care conțin câte un singur determinant. S-au utilizat șoareci din două rase (A și B) cu puii de prima generație rezultați din încrucișarea lor, (hibrizii F_1). Șoarecii A și B răspund în mod diferit (+ sau -) la diversele Atg. Hibrizii F_1 răspund la Atg. recunoascute de oricare dintre cei doi părinți. În concluzie,

aptitudinea șoarecilor de a răspunde la Atg. este controlată de gene dominante. Răspunsul este mediat de limfocite: Limfocite recoltate de la animale reactante transferă capacitatea de răspuns la animale nonreactante preparate prin iradiere letală. Genele respective au fost denumite *Ir* (*Immune response*).

Genele *Ir* ar fi plasate în subregiunea CMH care codifică proteinele de clasa II-a. Produsele genelor *Ir* (*immune response associated antigens*) sunt exprimate pe aceleași celule care exprimă Atg.HLA de clasa II-a. Drept urmare ele ar putea fi implicate în procesele de recunoaștere a Atg.

Date fiind, analogiile observate între CMH murin și uman se admite ca prealabilă existență a genelor *Ir* și la om. Acestea ar fi plasate în regiunea D și ar putea fi chiar gene DR.

Genele răspunsului umoral. Răspunsul anticorpilor al șoarecilor după administrarea unor antigene (eritrocite de oaie) este diferit: există șoareci care răspund printr-o mare secreție de Atc. și alții la care se înregistrează răspunsuri slabe. Selecția riguroasă a acestor animale a demonstrat că această capacitate de răspunsuri ample este ereditară și nespecifică: răspunsurile sunt ample atât vis-a-vis de Atg. inductoare cât și după administrarea altor Atg. T-dependente și T-independente. Genele care controlează intensitatea răspunsului umoral sunt diferite de genele *Ir*. Localizarea lor nu este încă stabilită.

CAPITOLUL 9

SISTEMUL IMUN ÎN ACȚIUNE

În concepția modernă (JERNE,1973-1985), sistemul imunitar poate fi considerat ca un organ difuz, celular și molecular alcătuit dintr-un număr mare de limfocite (cca. 2×10^{12}) și molecule de anticorpi (cca 10^{20}), având funcția esențială de supraveghere a identității organismului. Așa cum organismele vii selecționate în cursul evoluției își mențin integritatea de specie, grație sistemului lor genetic, sistemul imunitar asigură integritatea organismelor individuale fața de agresiunea diversilor agenți patogeni sau de pătrunderea unor substanțe nedorite, menținându-le individualitatea și homeostazia.

Sistemul imun în acțiune include:

- Ⓢ apărarea antiinfecțioasă;
- Ⓢ respingerea grefelor;
- Ⓢ imunitatea antitumorală;

9.1. IMUNITATEA ANTIBACTERIANĂ

Soarta bacteriilor pătrunse în organism depinde de:

- Ⓢ calea de pătrundere;
- Ⓢ localizarea lor extracelulară sau intracelulară;
- Ⓢ starea funcțională a mecanismelor de apărare.

Cea mai mare parte a bacteriilor sunt rapid eliminate la poarta de intrare prin mecanisme nespecifice (lizozim, proteina C reactivă, intervenția fagocitelor, amplificată ulterior de către produse ale răspunsului imun nespecific: anticorpi opsonizanți și limfokine). Germenii care subzistă pot fi neutralizați și eliminați de elemente reziduale ale unui răspuns, specific recent (de ex. de către Atc. de clasa IgG care au o durată de viață de aproximativ o lună). În fine, acea parte a bacteriilor invadante care reușesc să depășească toate mecanismele descrise se multiplică și provoacă boala clinică. Ele vor fi eliminate în urma răspunsului imun specific sau, uneori, pot persista în ciuda unei reacții imune continue împotriva lor.

Mediul intern al organismului este separat de lumea exterioară prin piele și mucoase (respiratorie, digestivă, vaginală). Acestea constituie *bariere naturale* care sunt colonizate continuu de microorganisme. Pielea și mucoasele constituie barierele fizice care împiedică pătrunderea bacteriilor în organism. Unul dintre mecanismele locale eficiente este *descuamarea* continuă a celulelor care formează pătura superficială a acestor învelișuri. Acest mecanism care îndepărtează un număr mare de bacterii este mai eficient la nivelul epidermului, în alcătuirea căruia intră mai multe straturi celulare și este suplimentat, la nivelul suprafețelor mai vulnerabile ale mucoaselor prin alte *activități fizice* (mișcarea cililor din mucoasa bronșică, peristaltismul intestinal, fluxul unor secreții, lacrimi, urina care *spală* suprafețele respective), *biochimice* (aciditatea gastrică, vaginală sau urinară, prezența lizozimului în secreții sau a enzimelor proteolitice în sucurile digestive) sau *ecologice* (competiția bacteriilor nepatogene din tubul digestiv).

Tot la acest nivel periferic, organismul se apără prin *reacții inflamatorii nespecifice* care sunt induse chiar de bacteriile care au reușit să depășească bariera învelișurilor externe. Acestea sunt amorsate de celule ale apărării nespecifice și de o serie de proteine ale plasmiei care exudează și se concentrează în zona conflictului. *Proteinele complementului* sunt activate direct (calea alternativă) se fixează pe bacterii (opsonizare) și le lizează prin acțiunea complexului de atac al membranei. *Lactoferina* eliberată din polimorfonucleare, fixează fierul care este indispensabil celulelor bacteriene. Kininele și alte amine vasoactive care provoacă vasodilatație locală, creșterea permeabilității vasculare și chimiotaxia, atrag în zona conflictului fagocitele (polinucleare și monocite).

Fagocitoza bacteriilor este potențată de opsonizarea lor prin C' care ancorează corpii microbieni la RC_{3b} de pe membrana fagocitelor. Aceasta incită aceste celule să emită falduri ale membranei sau pseudopode care înglobează bacteriile opsonizate într-o vacuolă internă în care sunt deversate apoi enzime proteolitice conținute în granulațiile din citoplasma fagocitelor. Polimorfonucleareleucid bacteriile ingerate printr-un mecanism suplimentar care le este propriu: deversarea în vacuola de fagocitoză a unor metaboliți toxici, de oxigen *activat* (ionul superoxid, apă oxigenată), împreună cu o enzimă specifică, mieloperoxidaza (MPOX). Această enzimă produce hipoclorit din apă oxigenată și cloruri care atacă bacteria fagocitată. Macrofagele, lipsite de MPOX atacă bacteria cu alte substanțe: oxid nitros, proteine cationice,

defensine, lizozim, etc. Paralele cu aceste activități, macrofagele activate emit în mediu, interleukine, TNF alimfocitea sau expun pe suprafață determinanți antigenici proveniți din degradarea bacteriană. În acest mod se face trecerea la mecanismul imun de apărare specific și mult mai flexibil.

Bacteriile pot amorsa ambele tipuri de răspuns imun.

Răspunsul umoral este declanșat de bacterii cu dezvoltare extracelulară și de exotoxine bacteriene. Principalele sedii de producție de Atc. sunt splina și limfonodurile. Bacteriile care rămân cantonate în mucoase bronșice și digestive produc o imunitate locală mediată de Atc.IgA, urmată de neutralizarea bacteriilor la suprafața epitelilor, activarea complementului pe calea alternativă și opsonizare.

Efectele generale ale anticorpilor:

- fixarea pe toxine care împiedică pătrunderea acestora în celulele-țintă (ex. în difterie, tetanos, botulism etc);
- Atc. de clasa IgM, pot produce, uneori, aglutinarea unor bacterii (prin care împiedică difuziunea acestora) sau alteori, liza bacteriilor prin activarea C' pe calea clasică, mecanism îndreptat cu precădere împotriva germenilor Gram negativi);
- Atc. de clasa IgG acționează mai ales prin opsonizare, imunoaderență și fagocitarea bacteriilor.

Răspunsul celular este amorsat mai ales împotriva bacteriilor cu multiplicare intracelulară: mycobacteriile (bacilul Koch, bacilul leprei), brucele, listerii, etc. Înglobate în celulele fagocitice ele sunt protejate împotriva acțiunii anticorpilor din plasmă, iar anumiți factori parietali care le acoperă le face relativ rezistente la acțiunea enzimelor celulare. Drept urmare, aceste bacterii scapă (*se furișează*) de acțiunea litică a fagocitelor și supraviețuiesc timp îndelungat. Ele provoacă infecții cronice greu învinse de mecanismele de apărare între care răspunsul imun celular joacă un rol încă incomplet elucidat. Unele dintre aceste aspecte au fost recent explicate în infecția tuberculoasă. Mcf. infestate cu BK (și incapabile să distrugă organisme invadante) sunt ucise de LTc, iar bacilii eliberați sunt fagocitați de alte celule efectoare mult mai eficiente: Mcf activate (*armate*). În legătură cu acest proces, cercetările aduc în ultima vreme două precizări:

1. LTc careucid Mcf infestate aparțin unui set aparte de LT care prezintă un alt tip de receptor pentru Atg. alcătuit din două lanțuri alimfocitea și delta (diferit de receptorul Ti);

2. Atg.BK care provoacă activarea LTc alimfocitea/delta⁺ sunt membrele unei familii de proteine larg răspândite în natură, denumite **HSP** (heat shock proteins).

➤ LT gama/delta⁺ se pot comporta ca celule helper sau citotoxice. După stimulare ele proliferază și secretă IL₂.

➤ HSP sunt larg răspândite la plante, la unele ciuperci, bacterii și în regnul animal, ca o familie de polipeptide implicate în reglarea conformației altor proteine (plicaturare-netezire, asamblare și dezasamblarea complexelor proteice).

HSP constituie Atg. majore ale multor bacterii cu care organismul uman vine cvasi permanent în contact. Din acest motiv în circulația indivizilor normali există în permanență clone activate de LTc gama/delta⁺ specifice pentru aceste proteine.

S-au descris lungi secvențe homologe în structura HSP care au proveniențe diferite (de ex. 60% din secvența de aminoacizi a HSP 65 a bacilului Koch este identică cu o HSP prezentă în celulele umane).

Aceste similitudini structurale crează posibilitatea unor reacții încrucișate. În infecția tuberculoasă s-au descris clone preformate de LT gama/delta⁺ care reacționează încrucișat și cu HSP 65 tuberculoasă și cu HSP 65 umană, exprimată de Mcf. stresate în prezența bacteriilor intracelulare.

9.2. IMUNITATEA ANTIVIRALĂ

Având un genom extrem de simplu (între 3 și 250 gene) virusurile nu sunt capabile să elaboreze un număr de proteine și enzime importante (de ex. enzime necesare catabolizării glucidelor sau enzime necesare replicării acizilor nucleici). În consecință, ele sunt obligate să paraziteze diverse gazde celulare, pentru ca, folosind *mașinăria biochimică* a acestora, să poată supraviețui și prolifera. Un număr de virusuri care pătrund în diverse celule umane sau animale produc tulburări patologice cu un spectru clinic foarte variat: boala acută, subclinică, recurentă, latentă sau cronică.

Răspunsul organismului gazdă este și el foarte divers implicând toate componentele nespecifice ale apărării, dar cu o nuanță proprie (Fig.25): cu preponderența imunității celulare legată de dezvoltarea intracelulară a virusurilor și relativa ineficiență a răspunsului umoral.

Eficiența globală a răspunsurilor poate fi deplină (ducând la eliminarea virusurilor și stabilirea unei imunizări durabile) sau parțială cu persistența virusului în organism.

În fine, în anumite situații însuși mecanismul imun de apărare poate avea efecte adverse, producând manifestări patologice.

În forma sa obișnuită, infecția virală începe cu invazia unuia dintre învelișurile epiteliale de graniță: tegumente, mucoase respiratorii și digestive. Unele virusuri rămân cantonate la acest nivel. Altele, se răspândesc în organism pe cale sanguină (faza viremică a infecției) și se stabilesc în organele țintă. Pe parcursul acestui traseu aceste virusuri expun A_{tg.} proprii și amorsează mecanismele de apărare nespecifică împreună cu inițierea răspunsului imun umoral. În cazul infecției primare, A_{tc.} virali se elaborează însă prea târziu pentru a putea fi operativi.

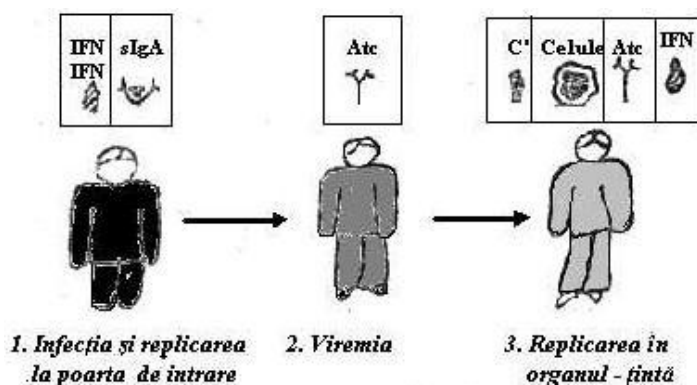


Fig. 42 Mecanisme de apărare în viroze

Ei vor juca un rol mai activ în infecțiile secundare sau în interacțiunea cu celulele care exprimă A_{tg.} virale.

La comanda stimulilor virali celulele gazdă pot fabrica proteine. Drept urmare, în celulele parazitare coexistă atât A_{tg.} virale codificate de genomul viral cât și A_{tg.} celulare codificate de gene celulare activate de virus. Toată această zestre de A_{tg.} apare risipită în nucleu, în citoplasmă sau pe suprafața celulei gazdă. A_{tg.} de suprafață codificate de celula gazdă au potențial redus de a induce răspunsul imun. În schimb, servesc clinicianului ca markeri care dezvăluie persistența infecției. A_{tg.} virale exprimate pe suprafața celulei sunt însă imunogene. Răspunsul declanșat de aceste A_{tg.} este T-dependent. (Fig.43)

Mecanismele de apărare umorală

Mecanismele de apărare umorală au rolul să neutralizeze și să inactiveze virusurile. Inhibiția nemijlocită a infectivității virale prin interacțiunea anticorpilor cu antigenele virale de suprafață, este un mecanism esențial de apărare a gazdei. Anticorpilor previn absorbția și

penetrarea virusului în celula gazdă, iar ulterior difuzarea infecției este limitată tot de către anticorpi.

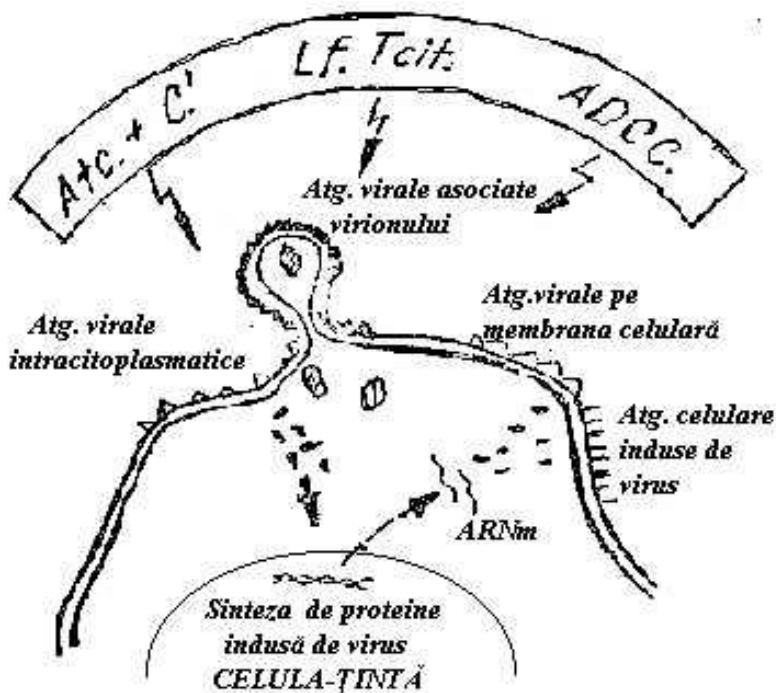


Fig. 43 Exprimarea Atg virale pe suprafața membranei celulare și recunoașterea lor de efectorii imunității umorale și celulare

Anticorpii antivirali sunt capabili să se lege direct de virusuri în faza extracelulară sau pe Atg. virale exprimate pe celule. IgM și IgG interceptează virusurile vehiculate în plasmă și fluidele tisulare, în timp ce IgA din secreții protejează suprafețele mucoaselor porților de intrare. Legarea pe virusurile extracelulare cu efectul său protectiv antiviral reprezintă baza seroterapiei profilactice.

Prin atașarea pe virusurile extracelulare, Atc. pot neutraliza capacitatea infectantă a acestora deoarece ar împiedica pătrunderea lor în celule. Complementul și interferonul acționează sinergic cu Atc. pentru a preveni infestarea celulară.

Complementul poate sprijini acțiunea neutralizantă a Atc. prin învelirea virusurilor sau prin provocarea lizei unei particule virale.

Sistemul complement activat este capabil să medieze o serie de activități biologice, dintre care cea mai cunoscută este capacitatea de a media distrugerea litică a virusurilor cu înveliș lipidic. Mecanismul

este probabil legat de capacitatea sistemului de a produce un răspuns inflamator acut, care are drept scop, să localizeze substanța care a activat complementul.

Virusurile și celulele infectate cu virusuri, învelite cu anticorpi, se comportă ca și complexe imune tipice, activând complementul. Mecanismele de inactivare pot fi litice și nelitice.

Mecanismele litice intervin când sistemul complement este activat de virusuri cu învelișuri, care au lipide celulare înglobate în această structură. Cercetările de microscopie electronică au demonstrat că modificările structurale rezultate din acțiunea sistemului "C pot fi de la distrugeri minore, până la pierderea integrității virale. Aceste modificări de permeabilitate, permit liza osmotică sau influxul de proteine plasmatică și nucleaze în interiorul virusului. Modificări mai extinse duc la pierderea învelișului și la eliberarea acidului nucleic viral. Dintre virusurile ce sunt sensibile la liza mediată de sistemul "C amintim pe cele din genurile *Retrovirus*, *Myxovirus*, *Paramyxovirus* și *Alimfociteavirus*.

Mecanismele nelitice au un rol important în activarea virusului prin acumularea de proteine ale sistemului complement pe învelișul viral, care pot interfera cu adsorbția sau cu penetrarea virusului în celulă, reducând astfel infectivitatea. S-a demonstrat că îndeosebi fracțiunile complementului cu un mare număr de molecule (C_{1q} , C_{4b} , C_{3b}) maschează situsurile necesare pentru atașarea virusului la suprafața celulelor potențial sensibile. Un alt mecanism prin care sistemul complement inactivă virusurile este agregarea. Un astfel de mecanism este realizat, îndeosebi, de componenta C_{3b} pentru care virusul posedă receptori localizați la nivelul infecției virale.

Interferonii. Mai multe specii moleculare de IFN (alimfocitea și beta) sunt secretate de celulele infestate de virus, foarte rapid după debutul infecției încă înaintea apariției Atc. Combinarea acestor molecule de IFN cu membrana celulelor neinfectate din vecinătate inițiază traducerea unui ARNm care codifică o proteină antivirală care împiedică invadarea acestor celule, iar monocitele și macrofagele dobândesc sub influența IFN capacitatea de a se împotrivi replicării virusurilor. În acest mod IFN contribuie la eliminarea focarelor primare ale infecției. Mai târziu, în cursul infecției după stimularea specifică a LT, apare IFN gama produs de acestea, care va amplifica mai multe modele de reacții citotoxice îndreptate împotriva celulelor infectate, reacții efectuate de LTc, celulele NK și K, Mcf. activate.

Atașarea Atc. pe Atg. exprimate pe celula infectată poate produce efecte diferite de la un tip de infecție la altul:

- activarea complementului pe celula-țintă și citoliză;
- atragerea și activarea celulelor K urmate de efect citotoxic indirect (ADCC);
- modularea Atg. virale sau despuieră celulelor de Atg. ar permite celulei infectate să evite distrugerea prin mecanisme citotoxice.

<i>ATC</i>	<i>-BLOCAREA SITUSURILOR CRITICE</i>	<i>NEUTRALIZARE</i>
ATC+C'-	LIZA VIRUSURILOR -	NEUTRALIZARE
	CU LIPIDE MEMBRANARE	
<i>ATC+C'</i>	<i>ÎNVELIRE - ELIMINARE VIA R.C3</i>	<i>POATE INFECTA</i>
		<i>FAGOCITELE</i>
ATC+C' -	LIZA CELULELOR INFECTATE	-POATE DEZGOLI
(CALEA		VIRUSUL CU
ALTERN])		PROTEJARE
		CELULELOR

Schema nr. 4 Efectele antivirale ale anticorpilor

Mecanismele de apărare celulară

În erarhia formelor de apărare antivirală mecanismele imunității celulare joacă un rolul dominant. (Fig.44)

Imunitatea mediată celular joacă un rol important în rezistența față de anumite infecții virale. Ca regulă generală, virusurile care se assemblează la nivelul celulelor infectate sau care determină în cursul replicării neoantigene în zona periferică a celulei, induc imunitatea celulară.

Mecanismul efector al imunității celulare urmează un model simplu, care asigură și participarea mecanismelor nespecifice, ca auxiliar indispensabil. Limfocitele sensibilizate lansate în circulație, devin capabile să sintetizeze o gamă largă de produse biologice active, în momentul contactului cu celulele infectate, tumorale sau celulele alogrefelor. Asemenea celule sunt denumite celule țintă, ele purtând pe membrana lor antigene specifice, în raport cu care limfocitele cu fost sensibilizate.

Atg. virale exprimate pe suprafața celulelor infectate împreună cu Atg.CMH de clasa I stimulează LTc specifice care vor produce liza celulei infestate. Răspunsul este însă mult mai amplificat prin stimularea concomitentă și a LT^{CD4+} care induce prin intermediul secreției de citokine următoarele efecte:

a) recrutarea și activarea Mcf. (care dobândesc capacități citotoxice nespecifice asupra celulelor infectate);

b) activarea și cooperarea cu LB (care primesc semnale helper de recunoaștere a Atg. virale și produc Atc. specifici față de acestea ca și anticorpi care pot interacționa cu particule virale eliberate din celula gazdă distrusă prevenind pe această cale pătrunderea virusurilor în alte celule);

c) activarea LTC;

d) activarea mediată a IFN și a celulelor NK.

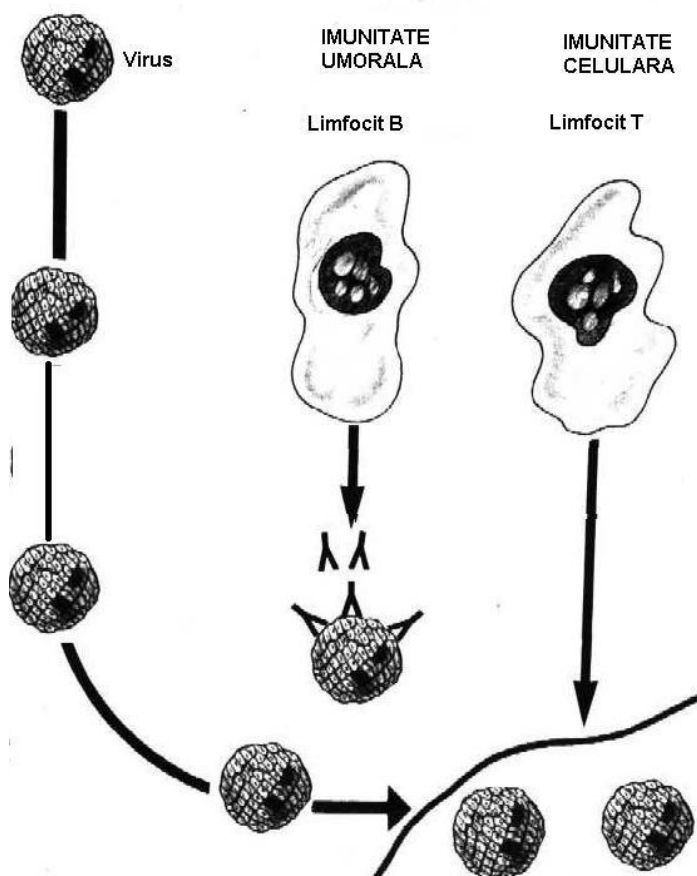


Fig. 44. Răspunsul imun în imunitatea antivirală

Nu întotdeauna mecanismele de apărare reușesc să elimine complet virusul infectant care poate persista luni (sau uneori) ani de zile. Se acceptă trei forme de infecții persistente: cronice, latente și lente.

✚ **infecții cronice** (modelele: infecția cu virus citomegalic, hepatita B) se caracterizează prin persistența virusului în ciuda unei reacții imune

destul de ample, care însă nu influențează evoluția cronică a bolii. Serul bolnavilor conține titruri ridicate de Atc. IgM specifici, dar imunitatea de tip celular pare serios afectată așa cum o demonstrează scăderea răspunsurilor, in vitro, a LT în diverse modele de stimulare. Mecanismele acestei stări de imunodeficiență nu sunt bine cunoscute.

■ **infecțiile latente** (modelele: virusuri herpetice-herpes simplex I și II, varicella-zoster) se caracterizează clinic prin secvența: boala acută, remisiune (vindecare aparentă), recădere, remisiune. În remisiunea clinică virusul persistă de fapt, în celulele organului-țintă. Există o producție de Atc. IgG serici care însă nu conferă protecție deoarece virusurile sunt localizate strict intracelular. Răspunsul celular controlează infecția și o menține în stare latentă dar nu o poate eradica. Recăderile sunt posibile dacă apare o deficiență a controlului infecției: unele medicamente, stări pasagere de imunosupresie sau bolile limfoproliferative cronice pot facilita recrudescența puseelor de boală;

■ **infecțiile lente** au evoluție incertă atât în incubatie cât și în cursul bolii manifestate. Un astfel de exemplu este leucoencefalopatia multifocală (produsă de un virus extrem de răspândit în rândul populației umane de toate vârstele, denumit SV 40). Boala se dezvoltă ca o infecție oportunistă pe terenul unei imunodeficiențe de lungă durată care însoțește bolile limfoproliferative cronice (limfoame maligne de ex.) sau imunosupresia terapeutică aplicată la purtătorii de grefă pentru prevenirea fenomenului de respingere.

În anumite împrejurări, răspunsul imun antiviral provoacă gazdei alterări patologice. Mecanismele T-dependente provoacă uneori leziuni severe și progresive celulelor infectate. Infestarea experimentală a șoarecilor cu virusul coriomeningitei limfocitare produc moartea animalelor în urma unor leziuni cerebrale inversibile. Supresia cu Ciclofosamidă (CFA) a animalelor inoculate previne moartea acestora, dar duce la o infecție persistentă. Efectul produs de CFA poate fi anihilat după administrarea de LT recoltate de la un șoarece imunizat în prealabil, sugerând că moartea animalelor restaurate se datorește efectului citopatic al LT. Un mecanism similar a fost incriminat în hepatita cronică activă umană: Limfocite citotoxice recunosc Atg. exprimate pe suprafața hepatocitelor parazitare și produc o hepatocitoliză persistentă.

Anumite virusuri infectează celulele limfoide cu efecte extrem de severe. Virusul HTLV I (*human T leukemia/lymphoma virus I*) infectează LT^{CD4+} și produce o proliferare continuă a acestora (*imortalizare*) a cărei urmare este apariția unui limfom malign foarte grav (limfomul T endemic). Aceleași LT^{CD4+} sunt ținta predilectă a virusului HIV care are

efect citopatic: distrugerea progresivă a zestrei LT^{CD4+} este unul din mecanismele de bază care explică instalarea sindromului imunodeficienței dobândite (AIDS sau SIDA). (Fig.45)

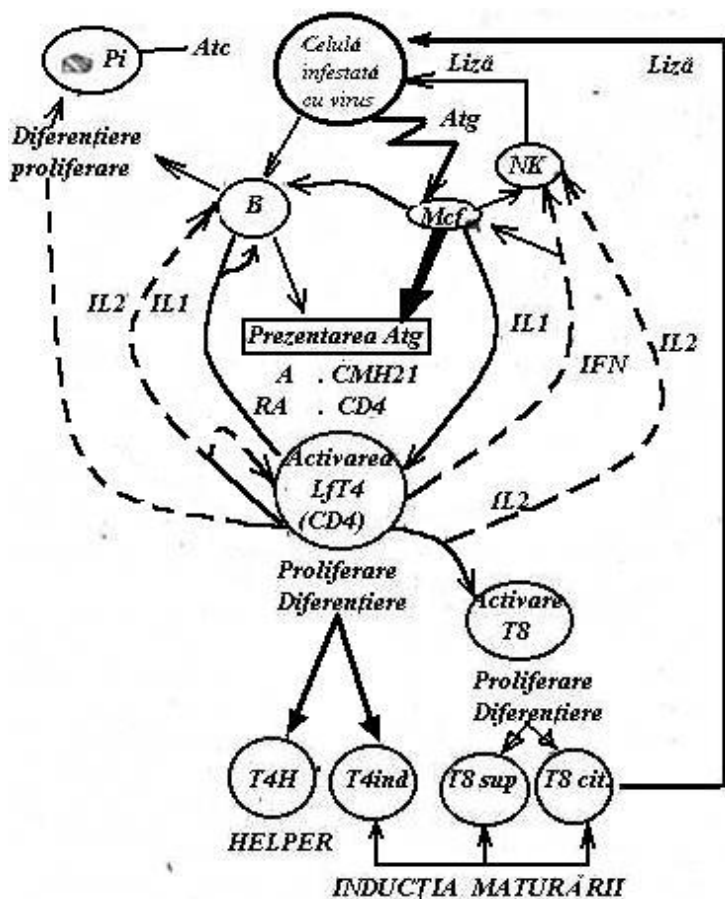


Fig.45 Activarea răspunsului imun în infecția virală

B = LimfociteB; Mcf = macrofage; NK = celule natural killer; T_{4h} = LimfociteT₄ helper; T_{4ind} = LimfociteT inductor; T_{8sup} = LimfociteT₈ supresor; T_{8cit} = LimfociteTh citotoxic; IL₁-IL₂ = interleukina 1 și 2; IFN = interferon; FAB,FPB și FDB = factori de activare, proliferare și diferențiere ai LimfociteB; Atg = antigen; RAtg = receptorul pentru Atg. al LimfociteT; CMH = proteine de clasa II-a din complexul major de histocompatibilitate; CD₄ = markerul LimfociteT₄

9.3. IMUNITATEA ANTIMICOTICĂ

La indivizii normali micetele nu se manifestă ca organisme foarte invazive. Ca regulă generală apărarea antimicotică se realizează prin mecanisme celulare nespecifice (naturale) și specifice (imune)

interdependente: primele sunt capabile în anumite condiții să realizeze eliminarea completă a agenților invadanti. În alte situații, însă, mecanismele naturale pot doar împiedica diseminarea organismelor până ce dezvoltarea răspunsului imun specific capătă suficientă amploare pentru a realiza eliminarea micetilor. La gazdele imunocompromise însă, infecția se poate generaliza și duce la sfârșit letal.

În cadrul reacției nespecifice micetii sunt atacați de 3 tipuri de celule: granulocite, neutrofile, macrofagele și celulele NK.

Polimorfonuclearele joacă un rol important în apărarea împotriva unor specii (*Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*). Atașarea PMN pe corpusculii micotici poate fi mediată de o opsonizare prealabilă dacă speciile respective posedă receptori pentru anumite fragmente ale componentei C₃ (de ex. *Candida albicans*).

Monocitele și macrofagele exprimă receptori pentru unii agenți fungici (de ex. *Candida*). Comportamentul Mcf. vis-a-vis de țintele atașate diferă însă în funcție de starea lor funcțională: capacitatea de a ucide anumite specii crește foarte mult dacă Mcf. sunt expuse în prealabil la interferon gama sau IL₃.

Celulele NK pot provoca reacții de citotoxicitate directă împotriva unor specii de ciuperci (*Cryptococcus neoformans*). Celulele NK venite în contact cu *Candida albicans* sunt provocate să producă TNF care, la rândul-i, activează PMN care pot elimina mai eficient corpusculii micetici. Celulele NK activate pot oferi protecție eficientă împotriva infecției cu *Candida albicans*: după expunere, șoarecii cu deficiență imună combinată (lipsiți deci de LT și LB) dar care demonstrează activitatea NK crescută să apară la fel de bine ca șoarecii normali.

Intervenția mecanismelor nespecifice este adesea suficientă pentru stăpânirea micozelor superficiale. În cazul infecțiilor sistemice principala formă de rezistență este produsă de imunitatea celulară. (Fig.46)

În sângele indivizilor umani normali s-au evidențiat LT specifice pentru micetii. LT^{CD4+} murine, sensibilizate in vivo față de o anumită ciupercă, recoltate și injectate unor șoareci singenici induc eliminarea mai eficientă a respectivului organism iar celulele reactive produc interferon gama cu efecte descrise mai sus. Pe lângă aceste LT capabile să transfere imunitatea specifică antifungică recent (1988) s-a descris și un subset de LT amplificatoare ale răspunsului, care sunt induse tot prin imunizare.

[illegible]

Imunosupresia indusă de miceti permite menținerea și/sau diseminarea microorganismelor. Mecanismele acestei inhibiții nu sunt cunoscute. Două ipoteze sunt prezumabile: inhibarea inducerii de celule protective sau blocarea producției de limfokine de către aceste celule.

Paraziții animali produc procese patologice larg răspândite pe glob, în special în țările tropicale. Acești paraziți pot fi împărțiți în două mari categorii:

- Împotriva acestor agenți infestați, organismul-gazdă reacționează prin variate mecanisme umorale și celulare ale apărării.

152

nu duce la eliminarea completă a parazitului dar care se opune cu succes reinfestărilor, reacție cvasi-absentă care permite persistența îndelungată a parazitului.

Antigenicitatea parazitară este complexă. De fapt, fiecare parazit este un adevărat mozaic antigenic. S-au recunoscut mai multe antigene parazitare:

- ◆ Atg. specifice parazitului;
- ◆ Atg. comune mai multor paraziți înrudiți;
- ◆ Atg. exprimate în toate stadiile evolutive ale parazitului sau Atg. specifice pentru un anumit stadiu;
- ◆ Atg. somatice sau Atg. secretate (detectabile în serul bolnavului)

Anumite particularități de antigenicitate permit supraviețuirea unor paraziți: variația antigenică (efectul unei rearanjări de gene), exprimarea unor Atg. înrudite cu Atg. gazdei, prezența de Atg. circulante și formarea de complexe imune.

Infecția este foarte specifică. De exemplu, există mai multe specii de paraziți ai malariei, fiecare cu gazda sa specifică (păsări, animale, om). Relațiile parazit-gazdă sunt foarte complexe: gazda se opune invaziei prin mai multe mecanisme sinergice: parazitul bine adaptat la gazda sa, reușește să supraviețuiască contracarând aceste mecanisme prin diverse procese adaptative de *evaziune* imunologică.

Mecanismele de apărare umorală

În diferite infestații parazitare se înregistrează o sinteză activă de **anticorpi** cu specificitate față de diverși determinanți antigenici ai parazitului invadator. Aceștia au o mare importanță în infestațiile parazitare cu localizare extracelulară, în prevenirea reinvaziei, atunci când paraziții se află în afara celulei, dar își pierde posibilitatea de intervenție atunci când aceștia pătrund în celulă, fără exprimarea la suprafața ei de determinanți antigenici sau fără alterarea membranei celulare.

Mecanismele prin care anticorpul pot acționa asupra paraziților sunt destul de diverse. Astfel ei pot acționa împreună cu **sistemul complement**, direct asupra paraziților, provocând alterări ireversibile la nivelul acestora sau pot bloca atașarea lor la celulele sau de țesuturi pe care le parazitează de predilecție. Se mai precizează că anticorpul pot activa **funcțiile fagocitare** ale neutrofilelor și macrofagelor, acestea intervenind mai eficient în uciderea paraziților prin mecanisme anticorp-dependente. Diferite tipuri de celule efectoare pot

acționa în asociere cu diferite clase de imunoglobuline, acționând selectiv față de paraziți. **Sinteza activă de IgE** în infestațiile cu unele nematode, contribuie la activarea și sensibilizarea mastocitelor și bazofilelor, care la rândul lor eliberează amine vaso-active, capabile să provoace perturbări atât parazitului, cât și locului de cantonare a acestuia.

Antigenele parazitare pot acționa și ca **activatori policlonali**, activând nespecific proliferarea LB și sinteza imunoglobulinelor, fără specificitate de anticorp, ceea ce explică hipergamaglobulinemia nespecifică și o slabă reactivitate imunologică a organismului față de alți stimuli antigenici.

Prezența **anticorpilor cu specificitate față de paraziți** poate fi pusă în evidență prin reacții de aglutinare, precipitare, liză, RFC, imunofluorescență, neutralizare, imobilizare, etc.

Mecanisme de apărare celulară

Controlul infecțiilor parazitare este dependent în special de **implicarea LT**: infestări non-letale la animale normale evoluează progresiv până la exitus la șoarecii timectomizați și iradiați. Reconstituirea animalelor cu LT prelevate de la șoarecii singenici imunizați împotriva parazitului în cauză restaurează răspunsurile. Printre aceste LT sensibilizate s-au decelat LTc și celulele producătoare de limfokine. Acestea stimulează Mcf. să exprime receptorii Fc și C₃ și să secrete enzime și alți metaboliți cu ajutorul cărora dobândesc capacități citotoxice antiparazitare. Mecanismul ar fi deosebit de activ în cazul paraziților care în mod obișnuit se multiplică în Mcf. (*Leishmania donovani*, *Toxoplasma gondii*).

Un alt **mecanism T-dependent** deosebit de activ împotriva unor paraziți pe care organismul nu reușește să-i elimine complet este *incapsularea* acestora: inițial are loc o acumulare locală de celule inflamatorii (cu formarea unui granulom). Mcf. activate local produc factori fibrogenici prin care stimulează constituirea unei capsule fibroase. Astfel de granuloame fibrotice pot izola ouăle unor helminți (ex. ouăle de *Schistosoma*) sau însăși organisme parazitare (*Trichinella spiralis*, *Echinococcus granulosus*).

Granulocitele eozinofile par a fi celule efectoare majore în cazul infecțiilor helmintice. Recrutarea eozinofilelor este mediată de factorii humoralii chemotactici eliberați de parazit (ECF-P = *Eosinophil chemotactic factor- Parasite*) și de mastocite iar activarea lor este stimulată de o limfokină eliberată de LT (ESP = *Eosinophil stimulating promotor*). Efectele LT nu se limitează numai la eliberarea sa. Ele

eliberează și IL₅ care stimulează puternic eozinofilopoieza. Împreună cu Mcf. activate, LT stimulează (prin intermediul IL₄) anumite clone de LB. să producă IgE cu specificitate antiparazitară. IgE activează mastocitele (o populație de celule care ar deriva din monocitele circulante) să producă molecule efectoare: ECF, histamină și alte substanțe vasoactive (prin care controlează permeabilitatea vasculară și reacția inflamatorie locală) și heparina.

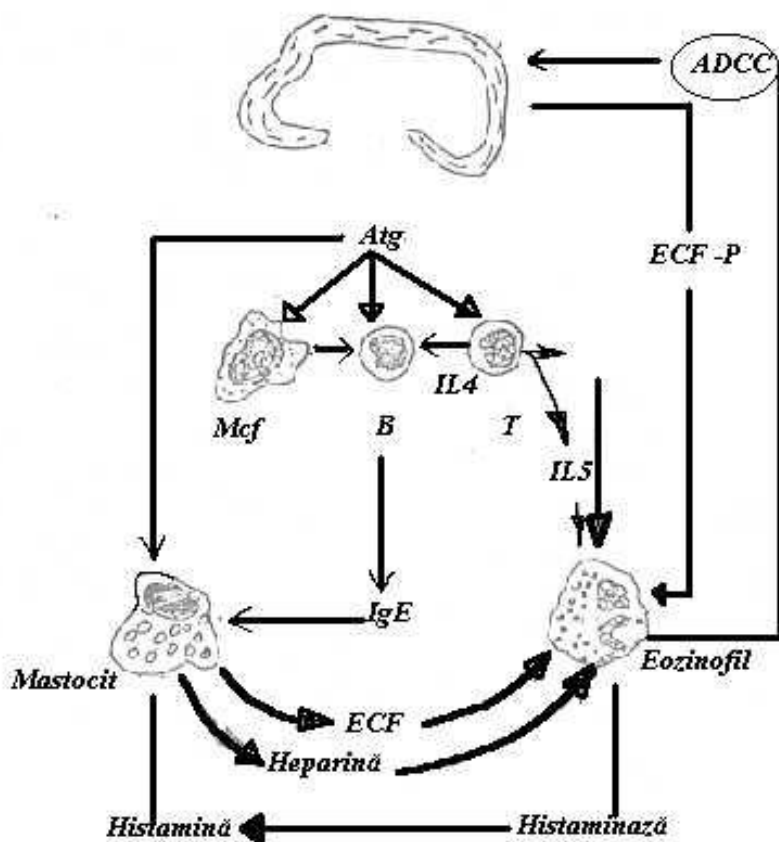


Fig. 47 Apărarea antihelmintică de tip celular

Între **mastocite și eozinofile** se stabilesc interrelații de control reciproc: eozinofilele sunt atrase de ECF iar degranularea lor este limitată de heparina mastocitară. Prin intermediul histaminazei și a altor enzime conținute în granule, eozinofilele controlează reacția

inflamatorie indusă de mastocite. Eozinofilele exercită efecte citotoxice asupra parazitului în colaborare cu Atc. specifici prin intermediul unei reacții de tip ADCC. Eozinofilia sanguină este deosebit de ridicată în cazul infestărilor cu helminți cu dezvoltare intratisulară. (Fig. 47)

În concluzie efectele anticorpilor antiparazitari sunt:

- ♦ **alterare directă** sau prin **citoliză** mediată de inducerea activării C', în cazul unor protozoare cu dezvoltare extracelulară;
- ♦ **blochează situsurile de atașare** ale parazitului pe celulele-gazdă: previne diseminarea infestării de la o celulă la alta (ex. în cazul infecției malarice);
- ♦ **facilitează imunoaderența la celulele fagocitice** care exprimă R.Fc. Captarea organismelor de către Mcf. este mai eficientă dacă Mcf au fixat moleculele de C'. Reamintim că Mcf activate exprimă un număr mare de RFc și RC3. Fagocitoza joacă un rol important în infestările cu plasmodium și cu tripanosome;





PARAZIT	PLASMODIUM (SPOROZOIT) viermi intestinali Trypanozoma	PLASMODIUM SPOROZOITI și MEROZOITI Trypanozoma Toxoplasma	PLASMODIUM TRIPANOZOMA	SCHISTOZOMA TRICHINELLA FILARII
MECANISM				
EFFECT	Alterare directă sau liza mediată de C'	Neutralizarea situsurilor de atașare	Amplificarea fagocitozei	ADCC

Fig. 48 Efectele anticorpilor în parazitoze

- ♦ **ADCC**, importantă în unele tipuri de infestări (tripanosomiază, trichineloză, filarioză, schistomiază) implică Atc. specifici și variate celule cu potențial citotoxic care exprimă RFc (Mcf, PMN, Eo). Efectele citotoxice ale Eo sunt mediate de IgG. Ele se exercită îndeosebi asupra helminților prin intermediul unor enzime-proteine conținute în granulații denumite MBP (*Major basic protein*); MBP atacă

tegumentul unor larve producând moartea acestora. Atc.IgE acționează prin intermediul Mcf. Mecanismul a fost descris mai sus.

Paraziții se protejează împotriva presiunii mecanismelor imune agresoare elaborate de gazdă, prin diverse căi de evadare (Fig.49)

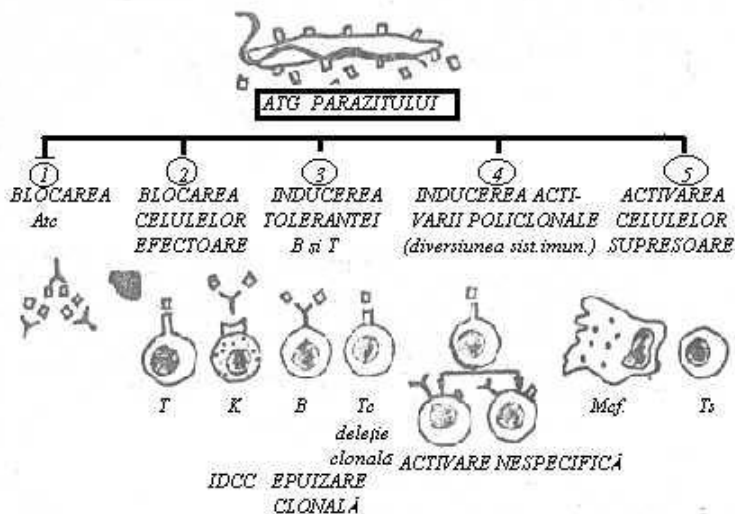


Fig. 49 Mecanisme de evaziune parazitară

◆ **habitat specific:** stabilirea în lumenul intestinal (diverse nematode); cuibărire în unele celule-gazdă care le apără de acțiunea Atc. (tripanosome, leishmanii, plasmodii); formarea de învelișuri chistice (*Trichinella*, *Entamoeba histolytica*, *Echinococcus*);

◆ **evitarea recunoașterii:** modificarea Atg. proprii (variația antigenică) de către unii paraziți expuși la atacul anticorpilor; mascarea propriilor Atg. prin achiziționarea de Atg. de la gazdă (ex. Atg. de grup sanguin A,B și H sau Atg. de histocompatibilitate);

◆ **supresarea nespecifică și specifică a răspunsului imunal gazdei:** alterarea Limfocite prin factorii limfocitotoxici (*Trichinella*), clivarea moleculelor de IgG (*Schistosoma*), stimularea LTs prin factorii solubili (Leishmanii).

Uneori imunosupresia poate fi în avantajul ambilor adversari. De ex., intensitatea fenomenelor care duc la formarea de granuloame în jurul ouălelor de schistosoma apare limitată de imunosupresie. Prin aceasta se previne o serie de alterări ale organului care găzduiește aceste granuloame fibrogene (ficatul) dar, totodată, se reduce și agresiunea împotriva parazitului.

Cronicizarea infestațiilor parazitare, conduce deseori la consecințe imunopatologice secundare incluzând formarea complexelor imune și dezvoltarea unor imunopatii și autoimunopatii, cum ar fi:

- **imunodeficiențe secundare**, ca urmare a colonizării celulelor imunitare;
- **fenomene de hipersensibilitate de tip I** (reacții anafilactice, atopice), demonstrate de concentrația ridicată de IgE;
- **fenomene de hipersensibilitate de tip II**, în urma modificărilor induse în structura eritrocitelor;
- **fenomene de hipersensibilitate de tip III**, consecință a formării și depunerii de complexe imune în diverse țesuturi și organe;
- **hipersensibilitate de tip întârziat (IV)**, inclusiv prin reacții granulomatoase, boli autoimune în special în infestațiile cu protozoare.

Toate aceste reacții imunologice și imunopatologice au permis în ultimii ani în urma cunoașterii lor folosirea tehnologiilor moderne în scopul realizării unei profilaxii specifice, precum și utilizarea unor tehnici imunologice noi pentru diagnosticul parazitozelor la animale.

9.5. IMUNITATEA ANTIGREFĂ

În funcție de relațiile de înrudire genetică dintre receptorii și donatorii de grefe putem deosebi următoarele categorii:

➤ **autogrefa** (transplantul autolog): țesutul grefat provine de la individul care va primi grefa (ex. autogrefa de piele la marii arși cu soluții de continuitate întinse ale tegumentelor);

➤ **izogrefa** (transplantul singenic): receptorul și donatorul sunt identici din punct de vedere genetic- gemeni univitelini, animale experimentale de rase pure;

➤ **allogrefa** (homogrefa sau transplantul allogenetic): receptorul și donatorul aparțin aceleiași specii, dar sunt neidentici din punct de vedere genetic - situația obișnuită a grefelor realizate la om.

➤ **xenogrefa** (heterogrefa): cei doi parteneri provin din specii diferite.

Mecanismele acceptării sau respingerii unei grefe au o bază genetică, demonstrată de SNELL în anii '30 prin încrucișarea pe mai multe generații a unor șoareci de rasă pură. Concluziile lui SNELL sunt considerate adevărate legi ale geneticii răspunsului antigrefă. (Fig.50)

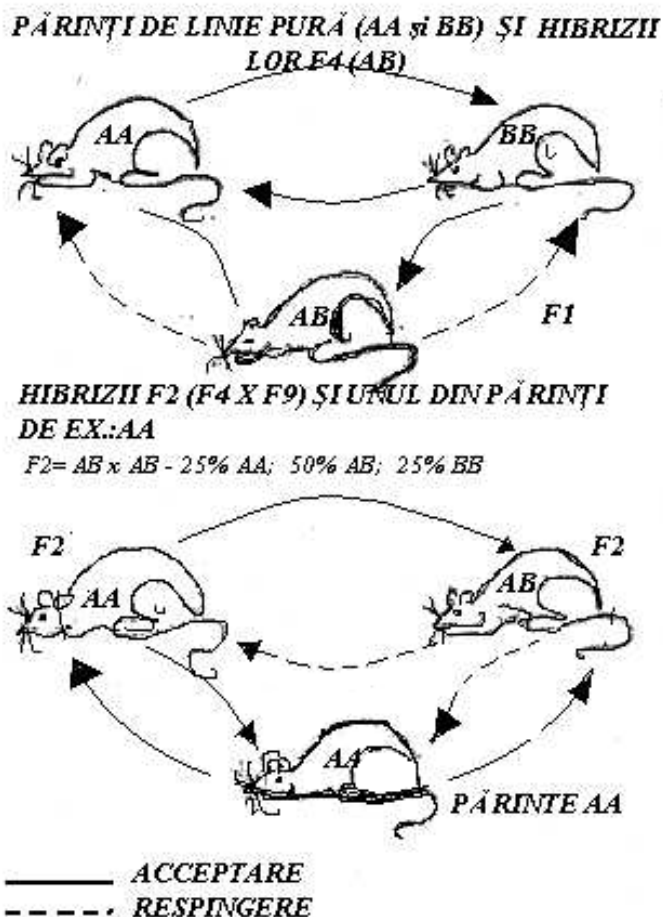


Fig. 50 Legile lui Snell

- izogrefele nu sunt respinse;
- allogrefele sunt totdeauna respinse;
- hibrizii F₁ tolerează grefele provenite de la oricare dintre cei doi părinți. Părinții nu tolerează grefele de la descendenții lor de primă generație (hibrizii F₁);
- grefa provenită de la un animal A transplantată la un hibrid F₂ (descendent de a 2-a generație F₁ x F₁) sau de la un animal rezultat din încrucișare *inversă* F₁ (A x B)+ B prinde doar într-un număr mic de cazuri;
- grefa provenită de la animale F₂ și de la indivizi produși prin încrucișarea *inversă* este acceptată de receptori F₁.

Concluzia generală: genele care controlează transplantarea țesuturilor se transmit de la o generație la alta după legile mendeliene, ca gene autosomale-codominante.

Destinul unei grefe depinde de diferențele de compatibilitate dintre cei doi parteneri: respingerea este provocată de o reacție imunologică (specifică) a gazdei împotriva antigenelor grefonului pe care le recunoaște ca non-self. Reacția de respingere rezultă din împletirea unor mecanisme celulare și umorale așa cum argumentează următoarele observații:

- șoarecii nuzi și șoarecii timectomizați neonatal sunt incapabili să respingă allogrefele;

- restaurarea șoarecilor timectomizați aduce după sine redobândirea capacității de respingere;

- 60% din celulele de reacție ale gazdei, care infiltrează un grefon (de ex. un rinichi) sunt LT activate;

- capacitatea de respingere a unui țesut allogen poate fi transmisă, de la un șoarece presensibilizat (printr-o expunere prealabilă la țesutul respectiv) la un șoarece sănătos, cu ajutorul limfocitelor primului. Această transmitere este specifică;

- cocultivarea a două populații de limfocite allogenice una provenită de la un animal A și cealaltă de la un animal B, duce după aproximativ 5-6 zile, la transformarea blastică și la proliferare. Această inducere de blastogeneză este reciprocă (mutuală). Iradierea poate suprima capacitatea de proliferare a oricărei din aceste două populații. Prin acest procedeu celulele tratate rămân vii dar nereactive, devenind doar niște cărauși inerti de antigene. Populația parteneră, indemnă, va prolifera. Acest model de reacție in vivo a fost denumit *reacție limfocitară mixtă* (unidirecțională) (RLM). Majoritatea celulelor proliferante sunt LT^{CD4+} producătoare de IL_2 . Prelungirea cocultivării duce în final la citoliză directă mediată celular (CML= *cell mediated lympholysis*). CML este îndeplinită de LT_c specifice, care se diferențiază în urma semnalelor helper emise în cursul etapei blastogenice. RLM este incitată de diferențele dintre produsele regiunii CMH D care sunt exprimate pe suprafața celor două populații de limfocite. Recunoașterea acestor diferențe CMH D. reprezintă semnalul de activare a celulelor citotoxice efectoare din CML. Acestea vor ucide celulele-țintă pe baza recunoașterii Atg.CMH de clasa I exprimate pe suprafața acestora. RLM și CML apar ca reproducerea in vivo a fenomenului de respingere a grefelor.

- dacă un animal va primi o grefă (de ex. de piele) de la un animal A, el va distruge grefonul după o latență de aproximativ 12 zile. În

primele zile grefonul evoluează normal și se vascularizează. În perioada de rejecție grefonul se încarcă cu un puternic infiltrat limfo-plasmocitar, iar vasele apar obstruate cu trombi trombocitari și depuneri de fibrină. Repetarea experienței după câțeva vreme duce la eliminarea mai rapidă a fragmentului de piele, iar a 3-a, a 4-a sau a 5-a grefare va fi rejecată din ce în ce mai repede, ajungând până acolo încât grefonul se va necroza și va fi eliminat înainte să apuce să se vascularizeze (grefa *albă* sau rejecția supraacută). În acest experiment animalul receptor suferă imunizări succesive în urma cărora apar Atc. specifici de tip citotoxic care, fixându-se pe celulele endoteliului vaselor grefonului împreună cu C', vor determina endarterita evocată mai sus.

Complexitatea răspunsurilor declanșate după transplantare este legată de structura organului grefat:

➤ în cazul grefelor de organe vasculare reacția de respingere este unilaterală: este o *reacție a gazdei contra grefei*;

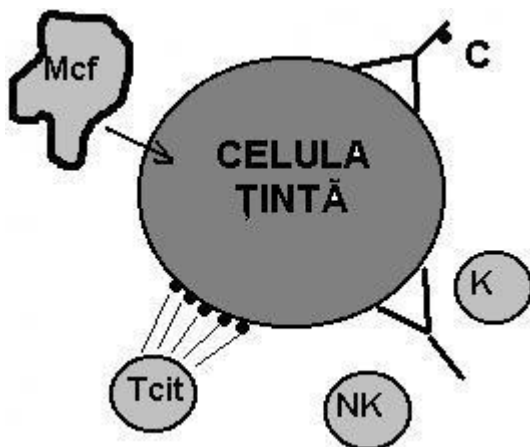
➤ în cazul allotransplantului de măduvă osoasă (MO) respingerea este bilaterală și simultană: o reacție a gazdei contra grefei dublată de o reacție a grefei contra gazdei (GVH= *graft versus host*). Allo-transplantul de MO conține atât celulele hematopoietice cât și celulele limfoide imunologic competente. Acestea din urmă se sensibilizează împotriva celulelor receptorului.

Reacția gazdei contra grefei poate fi disociată în două faze:

➤ inducerea (sensibilizarea);

➤ distrucția (respingerea)

Prima fază este legată de recunoașterea Atg. de histocompatibilitate prezente în grefon de către Limfocite receptorului. Grefonul conține atât Atg.CMH de clasa I (exprimate în general pe celulele tisulare și endoteliale) cât și Atg. CMH de clasa II-a (exprimate de celulele dendritice, de alte leucocite denumite *pasagere*- care există în vasele grefonului- sau de celulele endoteliale vasculare). În cazul izogrefelor aceste molecule sunt identice cu cele ale receptorului. Respingerea nu se va produce decât dacă, accidental, receptorul a fost presensibilizat împotriva așa-numitelor *Atg minore de histocompatibilitate* ale donatorului.



*Fig. 51 Mecanismele
efectoare ale
respingerii unei grefe*

În cursul reacției antigrefă se elaborează și diverși Atc. specifici, Atc. citotoxici cu următoarele efecte: au acțiune antigrefon, se fixează pe Atg. de suprafața și pot antrena C' (cu necroză celulară) sau armarea celulelor K (cu inducerea unei reacții citotoxice de tip ADCC). Atc. blocați (*facilitanți*) se atașează pe Atg. grefei pe care-i maschează făcându-i inaccesibili recunoașterii de către Limfocite efectoare ale gazdei. În final mai multe mecanisme citotoxice pot acționa concentrat asupra celulelor-țintă:

- **specifice** - prin Limfocite T cit;
- **nespecifice** - prin celulele NK, Mcf și prin mecanismul ADCC (Fig.51).

9.6. GESTAȚIA: O RELAȚIE SPECIALĂ GAZDĂ-GREFĂ

Fetușii sunt la mamifere, grefonii semi-allogenici în raport cu mama care îi poartă. Fătul și componentele sale diferă genetic față de mamă dar eliminarea fătului are loc numai după trecerea termenului de gestație, aspect care nu face altceva decât să confirme existența unei toleranțe imune materno-fetale.

Prin tehnica transferului de embrioni s-a putut în prezent obține nașteri în totalitate allogenice la organsimul maternal. De asemenea, s-au transferat embrioni ai unei specii în uterul altei specii: de la zebra la iapă (zebra 46 cromozomi și calul 64 cromozomi). Tehnica mai poate fi utilizată pentru ameliorarea reproducției la anumite specii și pentru salvarea speciilor pe cale de dispariție.

Aceste transfere heterospecifice sunt imunologic acceptate, așa cum este un zigot normal, semiallogenic. Este prin urmare încălcat principiul discriminării selfului de non-self.

Totuși toleranța imunologică a produșilor de concepție este proprie numai gestației, întrucât transplantele cu alte țesuturi efectuate la femelele gestante sunt în mod frecvent respinse.

1. Imunitatea materno-embrionară

Cercetările efectuate cu ajutorul microscopului electronic, au arătat că celulele trofoblastului sunt înconjurate de un strat amorf de natură mucoproteică care maschează antigenii. Această barieră nu permite expunerea antigenelor între trofoblast și organismul matern, asigurând din punct de vedere imunologic, fixarea grefonului semiallogenetic.

O mare proporție de celule ale trofoblastului prezintă rezistență la liză, fie de origine celulară, fie dependentă de anticorpi. Mecanismul acestei rezistențe constituționale este încă puțin cunoscută.

Mentținerea gestației în primele stadii de dezvoltare embrionară se explică prin acțiunea a două tipuri de semnale embrionare, primul fiind în legătură cu activitatea antiluteolitică a embrionului, și al doilea cu activitatea luteotropă a acestuia.

Primul semnal embrionar, a fost numit **trofoblastină** și are efect de inhibare a acțiunii PGF₂ alimfocitea printr-un mecanism local.

Ea este sintetizată de trofoblast începând cu ziua a 8-a de gestație, titrul semnalului diminuând după ziua a 16-a la oaie și a 20-a la vacă. Trofoblastina prezintă o mare analogie structurală cu alimfocitea-interferonul, lucru care explică proprietățile antivirale și antiproliferative ale trofoblastinei.

Al doilea semnal embrionar este reprezentat de **PGE**, care exercită o acțiune luteotropă, măbind sinteza de progesteron.

Oprirea inducției acestor semnale are loc în momentul contactului între celulele trofoblastului și epiteliului uterin maternal legat de procesul de nidație- implantare.

2. Imunotoleranța materno-fetală

În imunotoleranța materno-fetală intervin două categorii de mecanisme: mecanisme reglatoare sistemice și mecanisme reglatoare locale.

a) Mecanisme reglatoare sistemice

Mecanismele sistemice care intervin în urma instalării stării de gestație sunt:

➤ apariția unor Atc. blocați și necitotoxici din clasa IgG₄ în serul matern față de Atg. de histocompatibilitate ale fătului, și a LTs,

sugerată de inhibiția reacției de limfocitotoxicitate a mamei vis-a-vis de produsul de concepție cu ajutorul serului matern;

➤ rolul posibil a unor factori serici imunosupresori neoanticorpici (alimfociteafetoproteine) care sunt elaborați în cursul gestației;

b) Mecanisme regulatoare locale

Majoritatea autorilor atribuie actualmente un rol cheie mecanismelor regulatoare locale dintre care semnalăm următoarele:

➤ anti-IL₂ secretată de deciduală și placentă care blochează exprimarea receptorilor IL₂ pe LT;

➤ prezența unui factor chimiotactic și diferențiar al celulelor deciduale secretat de placentă;

➤ secreția placentară a unor proteine inhibante ale celulelor K și NK;

➤ rezistența celulelor placentare la liza dependentă de anticorpi și complement;

➤ existența unui imunodepresor alimfocitea-2 macroglobulina care servește la menținerea gestației și care în iminența gravă de avort este scăzut;

➤ uromodulina, prezentă în cantitate mare în urina femelei gestante și care se comportă ca un antagonist a IL-1;

➤ EPF - *Early Pregnancy Factor*-, un factor care inhibă formarea rozetelor E la limfocite;

➤ rolul de barieră protectoare al placentei față de Atc. și celulele maternale;

➤ celulele placentei sunt învelite cu o cantitate mare de glicocalix care maschează Atg. de histocompatibilitate.

9.7. IMUNITATEA ANTITUMORALĂ

Circumstanțele în care se produce reducerea eficienței apărării imune reprezintă o importantă situație de risc pentru dezvoltarea unor boli maligne. Astfel de exemple pot fi găsite atât în patologia umană cât și în cea animală: agamaglobulinemia ereditară legată de sex, sindromul Wiskott-Aldrich (boală ereditară legată de sex cu deficiență gravă a imunității celulare și umorale manifestată prin triada infecții iterative, eczemă și trombocitopenie), subiecții imunosupresați terapeutic (de ex. pentru menținerea unei grefe de organ); șoarecii de rasă NZB (*New Zealand Black*) prezintă o multime de anomalii ereditare ale imunității și o mare susceptibilitate la dezvoltarea unor limfoproliferări maligne

spontane. Deasemenea apariția mai frecventă a tumorilor maligne la vârstnici poate fi corelată cu instalarea unei imunodeprimări care este caracteristică acestei perioade a vieții. Invers, animalele cu reactivitate imună normală se poate opune la dezvoltarea unor grefe tumorale singenice. Acest gen de observații a generat ideea că celulele tumorale sunt supuse controlului sistemului imun al gazdei, control care se exercită permanent ca un mecanism de *supraveghere* antitumorală (BURNET, 1967). Conceptul supravegherii imune se sprijină și pe argumente filogenetice: cancerul se dezvoltă în aparență numai la vertebrate, la care apare și se perfectează și imunitatea specifică. S-a postulat ipoteza că dezvoltarea imunității ar putea fi expresia necesității de a rezista împotriva celulelor maligne.

În 1943, LUDWIK GROSS aduce un puternic argument experimental în favoarea ipotezei controlului imun asupra tumorilor, lucrând pe o sușă de șoareci singenici la care a indus sarcoame cu ajutorul unei substanțe iritante (metilcholantrén): șoarecii la care s-a produs regresia tumorii resping celulele sarcomatoase vii la orice încercare de reinoculare a acestora. Experimentul amintește încercările de transplantare cu celulele normale, dar cu diferența că în respingerea celulelor sarcomatoase nu pot fi incriminate Atg.CMH (deoarece șoarecii sunt singenici) ci alte Atg. induse de transformarea malignă, care se comportă la fel cu Atg. de transplantare. Aceste *neoantigene* tumorale au fost denumite TSTA (*tumor specific-transplantation-antigens*). Ulterior s-au identificat pe suprafața celulelor tumorale ale animalelor experimentale și alte tipuri de Atg. O parte din aceste Atg. sunt specifice agentului oncogen utilizat în experimente (Atg. induse de virusuri oncogene sau carcinogene chimice). Alte Atg. care apar pe suprafața unor celule tumorale sunt așa-zisele *Atg. onco-fetale* (Atg. exprimate în mod normal pe celulele embrionare și fetale, care dispar în viața postnatală, dar care sunt reexprimate după malignizarea unor celule).

La om, la care transplantarea sau inducerea experimentală de tumori maligne nu poate fi utilizată, din motive etice nu a putut fi demonstrată existența antigenelor de tipul TSTA. Celulele maligne umane ar exprima conform mai multor observații, neoantigene specifice pentru fiecare tip particular de tumoră, iar anumite tumori umane exprimă și Atg.fetale: Atg. carcinoembrionare Gold (în tumori colorectale și pancreatice), alimfocitea-fetoproteina (în hepatomul primar, seminom), sulimfociteoglicoproteina fetală (în cancerul gastric), fosfataza alcalină feto-placentară (în seminoame și teratoame). Aceste

Atg. au antigenicitatea slabă și servesc mai ales ca markeri utili pentru diagnosticul în clinică al respectivelor tumori.

Tumorile pot suscita o reacție complexă de respingere la care iau parte atât Atc. specifici cât și diverse tipuri de celule cu activitate citotoxică (Fig.52, fig. 54)

Mecanisme de apărare umorală

Atc citotoxici ar putea provoca moartea celulelor tumorale prin două mecanisme:

- activarea C';
- atașarea celulelor K (mecanismul ADCC);

Anticorprii antitumorali au fost evidențiați la bolnavii purtători de diferite tipuri de tumori. De regulă acești anticorpi sunt specifici pentru antigenele MHC ale celulelor tumorale. În funcție de gradul de imunogenitate al celulelor tumorale, producția de anticorpi specifici poate fi masivă sau slabă. Anticorprii de mare afinitate pot împiedica reapariția de noi clone tumorale, cu aceeași specificitate antigenică.

Anticorprii cu afinitate redusă nu sunt la fel de eficienți în blocarea antigenelor tumorale. Ei nu pot forma complexe cu antigenele tumorale eliberate, iar aceste complexe Atg-Atc pot constitui factori circulanți blocați, care au capacitatea de a inhiba acțiunea celulelor T efectoare. Anticorprii cu afinitate redusă se pot fixa pe celulele tumorale, fără a realiza citoliza dependentă de complement a acestor celule. În astfel de cazuri, ei pot totuși contribui la citoliza prin celulele K sau prin macrofage.

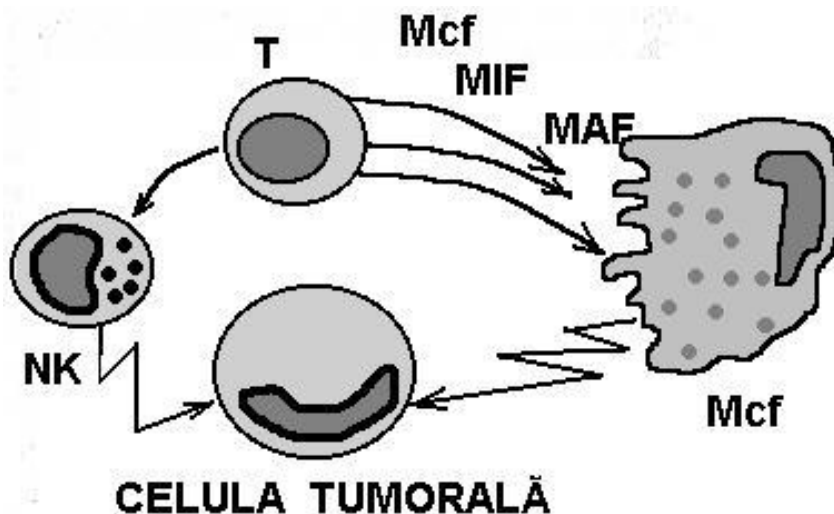


Fig. 52 Mecanisme citotoxice antitumorale nespecifice

Mecanismele de apărare celulară

În acest proces intervin în mod deosebit **LTC**, **celulele NK** și **macrofagele**. Într-o primă fază, **LT** recunosc ca non-self, celulele tumorale. Această recunoaștere se face în prezența și cu contribuția macrofagelor, care de altfel participă și la reacția inflamatorie tisulară locală. Asemenea procese inflamatorii activează macrofagele, care devin capabile să distrugă nespecific celulele tumorale.

LTC sunt considerat ca deosebit de eficiente în supravegherea imunologică. Uciderea celulelor țintă aparținând grefelor sau tumorilor, este una din cele mai importante funcții efectoare ale imunității celulare. (Fig. 53)

LTC sunt derivate din precursorii antigen reactivi, care au proliferat și s-au diferențiat în timpul răspunsului imun, față de antigene de transplantare sau tumorale. După al 2-lea contact in vivo sau o expunere la celulele țintă, LTC devin capabile să ucidă celulele care poartă antigenul cu care au fost sensibilizate.

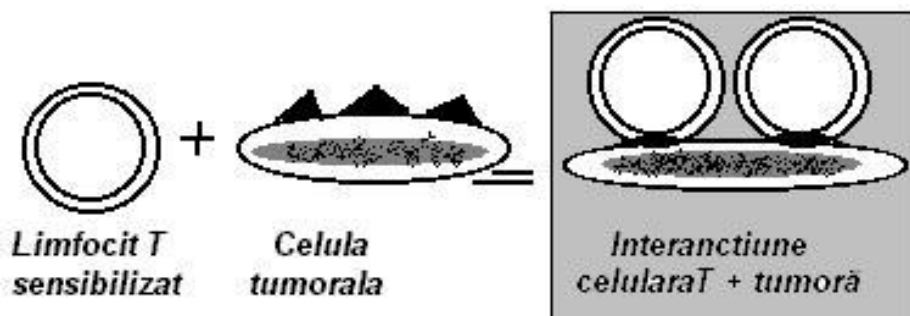


Fig. 53 Liza celulei tumorale prin limfocite T activate (T citotoxice)

Efectul citotoxic al LTC asupra unor celule țintă este specific și necesită un contact intim între efector și țintă având ca rezultat "injectarea în celulele tumorale de substanțe cu efect citotoxic. După uciderea unei celule țintă, LTC se pot desprinde și pot acționa asupra altor celule tumorale. După modul de acțiune se consideră că uciderea țintei se face în mod direct și nu prin intermediul unor mediatori solubili.

Celulele NK sunt capabile să lizeze, în absența complementului, un mare număr de celule țintă normale și mai ales tumorale. Ele pot să recunoască o gamă variată de specificități pe celulele tumorale, având o activitate citotoxică spontană, fără o sensibilizare prealabilă. Prin

capacitatea de a fi prezente și active citotoxic, fără o imunizare o prealabilă. celulele NK pot fi considerate "a priori capabile să recunoască celulele tumorale foarte timpuriu, în cursul dezvoltării acestora și să-și exercite rolul de "supraveghere prin calitatea de celule efectoare.

Activitatea celulelor NK este necesară, în special, pentru a controla apariția metastazelor hematogene.

Mecanismul lizei celulare ar implica 4 faze distincte:

- a. **faza de recunoaștere a celulei-țintă** și formarea de contacte cu aceasta;
- b. **faza de programare pentru liză**, consecutivă legării;
- c. **faza de declanșare a "loviturii letale** prin formarea unui complex litic;
- d. **faza de liză a celulei-țintă**, independentă de celula efectoare.

Se consideră că celulele NK ar acționa printr-un proces de degranulare, cu eliberarea unor substanțe cu activitate citolitică rapidă și puternică. La aceasta se mai adaugă și secreția unor factori solubili citotoxici (*NK cytotoxic factors*). Prăbușirea activității celulelor NK, poate fi cel puțin în parte, răspunzătoare de lipsa unei frâne în dezvoltarea tumorilor.

Macrofagele au o activitate antitumorală demonstrabilă, contribuind la producerea necrozei celulare ca și a altor fenomene asociate procesului tumoral. Participarea macrofagelor la fenomenele de rejecție a grefei nu este imunologic specifică, activitatea lor nefiind condiționată de prezența antigenelor tumorale decât în prima fază, de inițiere a răspunsului imun, atunci când cooperează cu limfocitul T pentru recunoașterea celulelor tumorale.

Deoarece în etapa clinică, tumorile maligne umane evoluează inexorabil, progresând continuu și dezvoltând metastaze, trebuie admisă o **pierdere a controlului exercitat de supravegherea imunologică** indiferent care ar fi substratul celular al acesteia.

Mai multe mecanisme ar putea să concure la această pierdere a controlului asupra dezvoltării tumorale:

- paralizia imună a gazdei, indusă de copleșirea aparatului imun de o cantitate enormă de Atg. tumorale;
- *furișarea* (sneaking-through) pe lângă supravegherea imună a unui număr redus de celule tumorale la care, prin condițiile anatomice locale, accesul elementelor imunocompetente este redus;
- imunosupresia gazdei prin activarea LTs;
- imunodeficiența gazdei;

- exprimarea slabă a Atg. tumorale sau *mascarea lor* cu diverse substanțe prezente pe suprafața celulei mutante, de ex. sialomucina (glicocalixul) care le protejează împotriva atacului imunologic;
- *modularea* Atg. tumorale (internalizarea intracelulară a Atg) sau desprinderea Atg. de pe suprafața celulară care ar *bloca* Atc. citotoxici departe de celulele-țintă;
- *facilitatea* imunologică : învelirea Atg. tumorale, exprimate pe suprafața celulelor maligne, cu Atc. care le izolează de componentele celulare ale aparatului imun;
- eliberarea de celule tumorale a unor substanțe solubile care ar inhiba migrarea Mcf. spre tumoră.

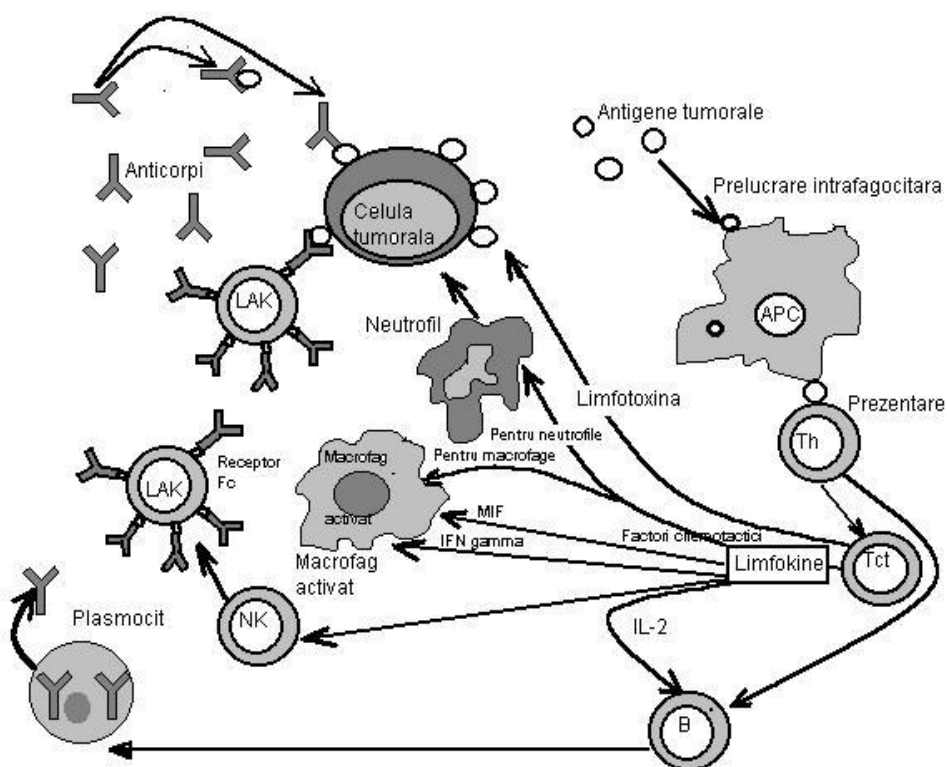


Fig. 54 Răspunsul imun antitumoral și acțiunea efectorilor umorali și celulari asupra celulei maligne

Descifrarea mecanismelor imunitare, în general și a mecanismelor imunității antitumorale deschide în prezent mai multe căi de tratament al bolii canceroase, care utilizează anticorpi specifici, citokine sau celule imunologic competente:

a) *anticorpi monoclonali* (AcMo) specifici antitumorali pot fi folosiți în terapeutică sub 3 forme: ca atare; cuplați cu agenți citotoxici sau bispecfici.

Inițial s-au utilizat AcMo ca atare, în ideea că, după fixarea lor pe celulele tumorale, pot stimula prin segmentul lor efector (Fc) elemente ale sistemelor distructive ale gazdei (complementul, macrofagele, celulele K). Rezultate încurajatoare au fost obținute în unele limfoame limfocitare cu celulele B. Acestea sunt proliferații monoclonale de celule limfoide de fenotip asemănător limfocitelor mature. Date fiind aceste caractere, celulele limfomatoase exprimă pe suprafață receptori imunoglobulinici cu idiotip unic. Pentru aceste tratamente s-au construit în laborator AcMo anti-idiotipici care se vor fixa selectiv pe celulele maligne mediind prin căile amintite, eliminarea lor. În mielomul multiplu, în care creșterea plasmocitelor mielomatoase este stimulată de IL₆, blocarea proliferației tumorale poate fi obținută cu AcMo anti-IL₆. Efectele AcMo în tumorile solide au fost mai vagi. Particularitățile vascularizației intratumorale, exprimarea slabă a antigenelor asociate tumorii, modularea antigenelor, neutralizarea Atc. în sânge de către Atg. desprinse de pe tumoră sunt cauze probabile care explică aceste semi-eșecuri.

AcMo cuplați cu dorguri citotoxice sau cu izotopi radioactivi ar servi ca vehicule pentru o terapie țintită. Unele rezultate încurajatoare au fost observate în limfoame. Recent a devenit posibilă construirea unor molecule de AcMo hibride, care conțin Fab-uri cu specificități combinatorii diferite: pentru Atg. ale celulei tumorale și pentru markeri ai unei celule citotoxice. Asemenea Atc. bispecfici au fost încercați în tratamentul melanomului metastazat.

O limită majoră a tratamentelor cu AcMo este antigenicitatea acestora: fiind produși de linii celulare murine ei trezesc rapid sinteza de anticorpi neutralizanți la pacienții care urmează aceste scheme. În prezent se încearcă prin metodele de inginerie genetică crearea unor anticorpi terapeutici mai puțin imunogenici prin sudarea unor Fab-uri de proveniență murină cu resturi de Ig umane.

b) *Terapia cu citokine*

Interferonii prezintă activitate antineoplazică, mediată de unele dintre efectele lor anticelulare (modificarea ciclului celular, interferarea fenotipului oncogenelor) și imunomodularea (modificarea expresiei Atg.CMH, activarea Mcf și a celulelor NK). IFN este activ în leucemia cu tricoleucocite (hairy cell leukemia), leucemia limfatică cronică, limfoame, leucemia granulocitară cronică, mielom multiplu, melanom metastazat,

sarcomul Kaposi secundar sindromului de imunodeficiență dobândită (SIDA).

IL₂ (singură sau asociată cu IFN gama) este un activator major a trei categorii de celule efectoare (LTc., Mcf și celulele NK), cu ajutorul cărora este capabilă să stăpânească proliferarea unor limfoame, neoplasme renale sau colonice sau a melanomului diseminat.

c) Terapia cu celulele imunocompetente

Are ca principiu izolarea unor subseturi purificate de celule, cultivarea lor cu citokine (de ex. cu IL2) în vederea activării lor în vitro și reinjectarea lor ulterioară la bolnavul de la care au fost recoltate. În prezent sunt utilizate în acest model elemente denumite convențional LAK (Lymphokine activated killers), provenite din celulele NK, MAK (Macrophages activated killers) derivate din monocite circulante și TIL (Tumour-infiltrating lymphocytes). Primele sunt izolate din sânge. TIL se recoltează din fragmente tumorale rezecate chirurgical. Sunt celule limfoide care infiltrează tumora. După activarea lor in vitro dobândesc proprietăți citotoxice asupra tumorii. Reinjectate la bolnavii donatori ele migrează preferențial în teritoriile tumorale unde-și desfășoară acțiunile lor citotoxice. În plus, ele pot fi transformate prin diverse manipulări, în agenți vectori de substanțe antineoplazice.

CAPITOLUL 10

IMUNITATEA LOCALĂ

Sistemul imunitar local al organismelor superioare are scopul de a proteja spațiile, în mod particular vulnerabile, ale organismului, piele și mai ales mucoasele. Acestea sunt locuri de trecere sau de schimburi importante. În starea normală, anumite spații așa cum sunt intestinul și pielea, adăpostesc o floră considerabilă și variată, altele sunt sterile, așa cum este porțiunea profundă a tractusului respirator, glanda mamară sau uterul. Toate pot deveni sediul populațiilor bacteriene sau parazitare, a multiplicării virale și, din acest punct de vedere, al agresiunilor mai mult sau mai puțin severe.

Sistemul imunitar secundar local trebuie să combată aceste atacuri dar în același timp este necesar să facă distincția între antigenele potențial dăunătoare așa cum sunt cele ale organismelor patogene și cele care nu sunt prejudiciabile pentru organism, așa cum sunt cele alimentare sau ale florei comensale.

Organele expuse la agresiunile exterioare posedă toate mecanismele de apărare specifică și nespecifică. Primele care se disting sunt cele ale imunității generale cu următoarele particularități: o imunitate umorală având la bază anticorpii de izotip A, anticorpii având proprietăți biologice proprii și o imunitate celulară cu un număr mare de populații celulare.

De asemenea, circulația limfatică și cea anticorpică permite conexiuni între diversele componente ale sistemului imun.

10.1. IMUNITATEA TRACTUSULUI DIGESTIV

Mucoasa tractusului digestiv și în special cea intestinală sunt sedii rezidențiale pentru numeroase celule izolate, provenite din circulația sanguină, care vin să-și stabilească domiciliul permanent în aceste locuri.

Majoritatea acestor celule sunt limfocite și plasmocite.

La om, proporțiile de plasmocite pentru IgA, IgE, IgG se situează aproximativ la nivelul de 85,10% din numărul total de plasmocite.

Plasmocitele pentru IgD și IgE sunt în număr foarte limitat: acestea pot uneori să crească de o manieră semnificativă în anumite alergii sau parazitoze. La numeroase specii, numărul de plasmocite pentru IgA domină lejer în comparație cu alte izotipuri. Aceste celule imune provin în mare parte din imunoblastele canalului toracic și într-o oarecare măsură, din plăcile lui Peyer (Fig. 55)

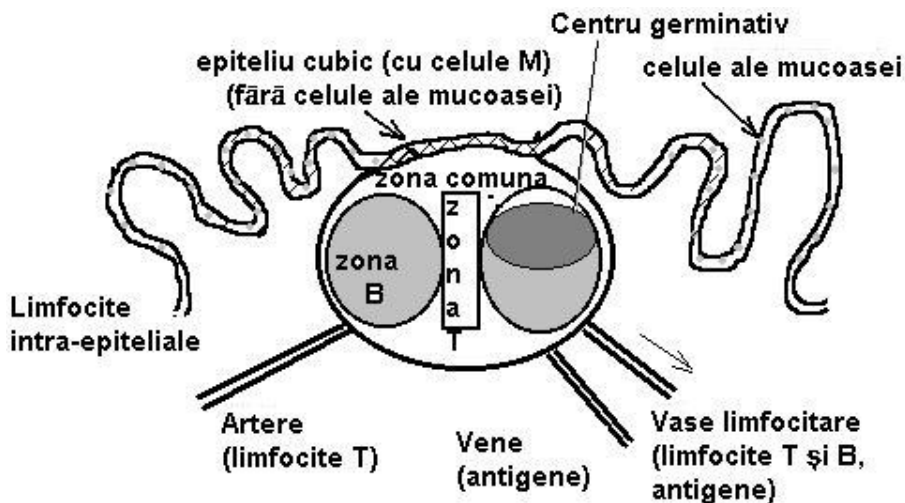


Fig. 55 Placa Peyer

Timpul de înjumătățire al plasmocitelor intestinale este relativ scurt, de 2-5 zile la șoareci.

Lamina proprie a mucoasei intestinale conține în egală măsură numeroase LT, mai ales auxiliare (CD^4), dar și citotoxice/supresoare (CD^8).

Cele 5 clase de imunoglobuline care se cunosc la om și animale, se regăsesc, practic, în toate lichidele biologice ale organismului. Totuși, concentrația lor variază în anumite limite în funcție de localizarea lor. În secrețiile interne, raportul IgG/IgA se situează aproximativ la valoarea 4, ca și în serul sangvin. Din contră, în secrețiile externe, așa cum sunt cele din pulmon sau lumenul intestinal, raportul IgG/IgA este egal sau inferior cifrei 1. Aceste raporturi demonstrează cu claritate că Ig găsite în secrețiile externe nu sunt rezultatul unor simple filtrații a plasmei sangvine, sinteza IgA secretorii fiind realizată la nivelul mucoaselor.

Caracteristicile proprii ale moleculelor IgA sunt:

- rezistența lor la depolimerizare prin agenți capabili să rupă legăturile disulfimfociteurice;
- polimerizarea lor și prezența lanțurilor proteice suplimentare;
- piesa de joncțiune și componentul secretor. Acestea le conferă IgA secretorii determinanți antigenici suplimentari și o greutate moleculară superioară celei a IgA serice.

Proprietatea cea mai interesantă atribuită anticorpilor IgA este puterea lor neutralizantă asupra toxinelor și virusurilor prin blocarea receptorilor membranari.

Enorma acumulare de plasmocite în mucoasa tractusului intestinal pare dependentă în mod esențial de stimulările antigenice provenite de la flora intestinală, în timp ce acestea practic lipsesc la animalele axenice.

Antigenul introdus pe cale orală, induce răspunsul imun la nivelul mucoasei intestinale și care se caracterizează printr-o abundență de plasmocite precursori pentru IgA. În anumite circumstanțe este deasemenea, posibil inducerea răspunsurilor imune pentru IgE.

O altă categorie de fenomene declanșate prin ingestia orală a antigenului o reprezintă toleranța. Mai mulți autori au demonstrat că administrarea pe cale orală a unui antigen la șobolan sau la șoarece, așa cum este ovalbumina, conduce rapid la o toleranță sau cel puțin, la o netă hiporeactivitate față de același antigen, inoculat pe cale generală. Aceasta este dată probabil de numeroasa populație de LTs existentă în plăcile Peyer al epitelului intestinal, dar și de alte mecanisme care au fost descrise.

S-au descris la nivelul tractusului intestinal, atât o serie de mecanisme nespecifice de protecție cât și o serie de mecanisme specifice.

Mecanisme nespecifice

Bariera constituită din epiteliul intestinal opune cu certitudine o rezistență importantă la invazia mediului intern. Acest rol este cu atât mai dificil de jucat cu cât acesta trebuie să fie și selectiv. Epiteliul intestinal este continuu reînnoit. Celulele sușă se divid în fundul criptelor Lieberkuhn și se distribuie apoi în lungul vilozităților. Ajunse la extremitatea lor ele sunt dispersate în lumenul intestinal.

Diverse substanțe bactericide există în egală măsură și la nivel intestinal, unele fiind deversate în intestin, iar altele sintetizate local. Sucul gastric cu pH foarte scăzut și secrețiile biliare, pot anihila în mod particular virusurile cu anvelopă lipidică, mucusul cu rol important în protejarea suprafeței intestinale contra variațiilor de pH și a microorganismelor, lizozimul, lactoperoxidaza și uneori, lactoferina, au roluri antibacteriene.

În principal mecanismul de apărare nespecifică este asigurat de flora bacteriană intestinală. Bacteriile sunt considerate ca autohtone când ele pot crește în anaerobioză, sunt totdeauna prezente la adultul normal, colonizează anumite porțiuni din intestin, implantându-se de la naștere și sunt intim asociate epiteliului intestinal. Această floră bacteriană oferă o rezistență importantă și eficace prin antagonism bacterian față de toate modificările produse în intestin și mai ales, în cazul contaminării cu specii bacteriene patogene.

Mecanisme specifice

Sistemul imunitar intestinal este stimulat de flora intestinală (vezi sch.traficului antigenelor și a limfocitelor B și T de la intestin la intestin) (Fig.56).

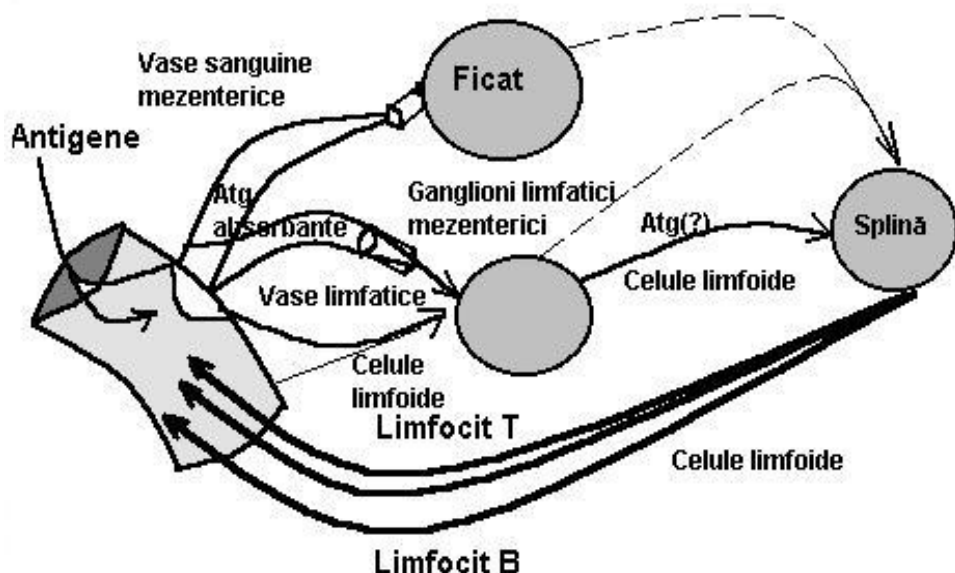


Fig. 56 Drumul parcurs de antigene și de limfocitele B și T de la intestin la intestin

Bacteriile patogene din intestin nu pot să-și exprime patogenitatea decât după adeziunea lor la epiteliul intestinal (*E. coli*, *Vibrio cholerae*) sau după penetrarea acestuia (*Shigella*, *Treponema*, *Salmonella*).

Rolul anticorpilor din clasa IgA în împiedicarea adeziunii bacteriilor patogene la epiteliul intestinal a fost demonstrată de FUBARO și FRETER. Moleculele anticorpilor IgM și IgA pot neutraliza toxinele bacteriene în interiorul mucoaselor intestinale, iar sub forma secretorie

în exteriorul mucoaselor. Mai mult, ele pot aglutina virusurile și bacteriile și să împiedice deasemenea diviziunea acestora din urmă. Se pot decela și anticorpi de izotip IgE în mucoasa intestinală și uneori în suc intestinal în cazul alergiilor digestive sau parazitozelor helmintice. Acești anticorpi IgE sunt susceptibili să antreneze reacții alergice locale care participă la eliminarea paraziților. Anticorpul IgE împreună cu macrofagele și eozinofilele exercită o acțiune citotoxică anticorpo-dependentă care distruge paraziții.

Reacțiile celulare la nivelul intestinului sunt relativ puțin cunoscute. Lamina proprie conține numeroase LT. Funcțiile acestor celule sunt încă puțin studiate, dar ele includ fenomene de hipersensibilitate întârziată (tipul IV), citotoxicitate, de citotoxicitate anticorpo-dependentă precum și de citotoxicitate mediată de celulele NK.

10.2. IMUNITATEA TRACTUSULUI RESPIRATOR

Pulmonul este înainte de toate organul unde se efectuează schimburile gazoase între aerul ambiant și organism. El participă deasemenea, în mod activ la defensivă acestuia din urmă contra agresiunii din mediu, putând fi sediul reacțiilor imune locale sau sistemice. În ultimă instanță, tractusul respirator este în mod continuu, expus particulelor și microorganismelor prezente în aerul ambiant. Particulele mai mari (peste 15 μ) sunt interceptate în partea superioară a căilor aeriene cuprinse între narine și bronhiile de calibru intermediar, iar strănutul, tusea clearance-ul mucociliar și anticorpii din clasa IgA în forma lor secretorie constituie principalele mecanisme de eliminare. Dimpotrivă, căile aeriene inferioare și alveolele sunt lipsite de sistemul de epurare mecanică și depind aproape exclusiv de sistemul fagocitar pentru eliminarea celor mai mici particule care se pot depune.

În condiții normale, macrofagele constituie majoritatea fagocitelor din alveole și din interstițiul pulmonar. Se disting mai multe tipuri de macrofage în pulmon, macrofage alveolare, macrofage bronhice, macrofage interstițiale și macrofagele intravasculare.

În afara de funcția de fagocitoză, macrofagele pulmonare participă activ la reacțiile imune locale. Această participare se explică pe deoparte prin bogăția lor în receptori membranari și pe de altă parte prin eliberarea mai multor mediatorii. Dintre acești mediatorii se pot reține în mod particular metabolizii oxigenului, enzimele, monokinele și lipidele bioactive. Derivații de oxigen în particular, radicalul hidroxil (OH) și peroxidul de hidrogen (H_2O_2) sunt puternici agenți bactericizi și tumoricizi. Monokinele sunt hormoni care permit celulelor să comunice

între ele. Astfel, factorul necrozant al tumorilor (TNF) și interleukina 1 (IL1), au un larg spectru de acțiune, favorizând aderența fagocitelor la celulele endoteliale, recrutarea și activarea limfocitelor T și a polinuclearelor, promovând creșterea fibroblastică. În sfârșit, derivații de acid arachidonic și factorul activator al plachetelor (PAF) sunt principalele lipide bioactive.

Această capacitate a macrofagului alveolar de a răspunde la o întreagă serie de stimuli (factori ai complementului, imunoglobuline, complexe imune, endotoxine, citokine, lipide, etc.) și de a elibera un larg evantai de mediatori conferă fagocitozei un rol de pivot în reacțiile inflamatorii și imune de la nivelul pulmonului.

Limfocitele sunt localizate în diferite spații anatomice ale pulmonului. În primul rând ele se găsesc în ganglionii limfatici de la nivelul marilor bronhii, apoi în nodulii limfoepiteliali ce se află în relație strânsă cu endoteliul bronhic. Acești noduli corespund plăcilor Peyer din tractusul digestiv și au fost denumiți țesut limfoid asociat bronhiilor, sau sub abrevierea de BALT în literatura anglo-saxonă. În final, se găsesc limfocitele izolate în lumenul alveolar.

Polimorfonuclearele neutrofile sunt prezente în bronhii dar sunt virtual absente în alveole. În anumite circumstanțe patologice acestea pot pătrunde și în alveole.

Polinuclearele eozinofile, grație receptorilor Fc sunt capabile de citotoxicitate dependentă de anticorpi. O creștere a numărului de eozinofile în secrețiile pulmonare survine în cursul reacțiilor de hipersensibilitate, rezultat a infestațiilor parazitare, fie a inhalării de alergeni. În secrețiile căilor respiratorii se găsesc și numeroși factori umorali nespecifici cu activitate antibacteriană. Neutrofilele, macrofagele și celulele epitelului glandular produc lizozime care degradează peretele celular al bacteriilor Gr⁺. Macrofagele, LT și epiteliul căilor respiratorii produc interferoni care posedă proprietăți antivirale. Se mai evidențiază lactoferina, transferina și componenți ai complementului care sunt capabili de activitatea antibacteriană.

Imunoglobulinele detectate în secrețiile căilor respiratorii la numeroase specii de animale sunt IgA, IgG și IgM. IgA și IgG predomină dar raportul lor variază în funcție de diferitele spații ale tractusului respirator. IgA sunt majoritare în căile respiratorii superioare, în timp ce IgG cresc în porțiunea distală a tractusului pentru a deveni predominante la nivel bronho-alveolar. Prezența IgM este totdeauna discretă în căile respiratorii superioare (anterioare), dar mai marcată în bronhiole și alveole.

Vaccinurile pe cale nazală sau infecțiile la acest nivel antrenează o concentrație mare de IgA specifice în căile respiratorii superioare, ce constituie o bună protecție contra virusurilor și bacteriilor ce se atașează la mucoasa respiratorie.

Imunitatea bronhică

Inhalarea constantă de antigeni constituie un factor favorizant a răspunsurilor imune, mai întâi la nivel nazal apoi bronhic. Depunerea antigenelor și formarea complexelor imune la suprafața epitelului bronhic sunt etape cruciale în patogenia astmului extrinsec sau alergic.

Fiziopatologia astmului caracterizată prin bronhoconstricție, edem submucos și hipersecreție bronșică este încă imperfect cunoscută. Imunoglobulinele și mastocitele tisulare din submucoasa bronșică sunt protagoniștii majori ai reacției reaginice sau a hipersensibilității imediate din astm. În timpul crizelor de astm, eozinofilele și neutrofilele se acumulează în bronhii atrase de marile cantități de agenți chimiotactici eliberați de mastocite. Mastocitul conține și mari cantități de agenți bronhoconstrictori așa cum sunt: histamina, prostaglandina D₂, leucotrienele C₄, D₄, E₄ etc.

Imunitatea pulmonară

Reacțiile imune fac parte din mecanismele de defensivă ale pulmonului contra tuturor antigenelor, microorganismelor sau virusurilor care afectează căile aerofore terminale și alveolare. Un depozit excesiv de antigene pot antrena o reacție imună intensă asociată sau nu fenomenelor lezionale.

Reacția imuno-acute se acompaniază în mod obișnuit de un edem interstițial alveolar și de un aflux de polimorfonucleare neutrofile din capilarele pulmonare în spațiul alveolar.

Pneumopatiile de hipersensibilitate sunt deseori citate ca exemple de reacții imune cu complexe imune, care se acompaniază de o intensă reacție inflamatorie inițială, urmată de o fază subacută și evoluând spre cronicizare în cazul când stimularea imună persistă. În cazul alveolitelor extrinseci, antigenul este deseori cunoscut (de ex. IgA de porumbel în boala crescătorilor de porumbei sau proteinele derivate din *Thermoactinomyces faeni* pentru *pulmonul de fermier*).

Testele de provocare realizate prin inhalarea antigenului declanșează o reacție imună imediată caracterizată printr-o acumulare de polimorfonucleare neutrofile în căile aeriene distale și alveole. Această reacție imediată este urmată de o fază subacută asociată unui aflux de limfocite, uneori de tip supresor/ citotoxic. Se ajunge în ultimă

instanță la o remaniere de tip fibros la nivelul interstițiilor alveolare cu depuneri de colagen de tip I la nivelul stromei interstițiale, proliferarea fibroblastelor stromei și înlocuirea celulelor epiteliale alveolare aplatizate de tip I prin celulele cubice de tip II. Această fibroză antrenează o mai slabă difuziune a gazelor prin traversul membranei alveolo-capilare.

Acest tip de leziuni fibrozante se regăsesc în egală măsură în patologia strict pulmonară așa cum este fibroza pulmonară idiopatică cât și în imunopatologiile sistemice așa cum sunt anumite boli autoimune și reumatismale, sau mult mai rar sarcoidioza.

10.3. IMUNITATEA TRACTUSULUI UROGENITAL

Tractusul urogenital joacă un rol important în apărarea organismului, bazată pe mecanisme specifice sau nespecifice.

Simplul flux urinar și pH-ul urinei asigură o anumită protecție. Prezența unui epitelii pluristratificat, bogat în glicogen, la nivelul vaginului furnizează prin descumare un substrat abundent pentru dezvoltarea florei specifice care intră în competiție cu germenii patogeni (rezistență la colonizare).

Flora vaginală normală, constituită în principal din *Lactobacillus acidophilus*, produce cantități mari de acid lactic care scade pH-ul vaginal și contracarează proliferarea anumitor microorganisme patogene. Nivelul de glicogen al celulelor epiteliale este sub control estrogenic la femele, infecțiile vaginale apărând mai frecvent înainte de pubertate și mai ales după menopauză. Estrogenii provoacă în același timp un aflux de polimorfonucleare neutrofile la nivelul mucoasei uterine, ce contribuie la eliminarea germenilor prin fagocitoză. Aceasta explică rezistența mai mare la infecții a uterului în faza foliculară. Progesteronul, dimpotrivă, exercită o acțiune inversă. În afara acestor mecanisme neimunologice, anticorpii din diferite clase, mai ales din clasa IgA sunt regăsiți în urină și în mucusul cervico-vaginal. Aceste imunoglobuline protejează în mod eficace mucoasele, în special prin prevenirea adeziunii anumitor virusuri, bacterii și levuri pe suprafața epitelială. Totuși, pot fi detectate în urină mucusul cervic-vaginal, spermă și imunoglobuline din clasele IgE, IgG, IgM. Concentrația IgG crește foarte mult atunci când apar reacții inflamatorii. Mai mult, prezența celulelor sangvine în mucusul vaginal și reacțiile de hipersensibilitate întârziată de tipul IV, observate în cazul infecțiilor cu *Campylobacter fetus* denotă că și imunitatea

celulară participă în egală măsură la defensivă imună a tractusului urogenital.

Tractusul genital mascul

Prezența anticorpilor în secrețiile prepuțiale este frecventă în cazul infecțiilor cu microorganisme, dar rolul lor exact nu este cunoscut. Dimpotrivă, prezența anticorpilor antispermatici în plasma seminală și în ser, poate fi la originea anumitor cazuri de infertilitate la om și animale. Prezența acestor anticorpi rezultă dintr-o autoimunizare sau este consecința unei rupturi a barierei hematotesticulare în urma traumatismelor, inflamațiilor, obstrucției tubare sau vasectomiei.

În medicina veterinară, rolul lor este mai puțin cunoscut, dar poate explica anumite cazuri de infertilitate.

Tractusul genital femel

Existența unui răspuns imun, datorat infecției tractusului genital femel, a fost studiat în situația de infertilitate la vacă. Astfel, infecția acestuia cu *Mycoplasma bovis* sau *M. bovis* se asociază cu prezența aglutininelor în mucusul cervico-vaginal, putând să promoveze de o manieră semnificativă, fagocitoza, aspect descris *in vitro* să împiedice adeziunea micoplasmelor la suprafața mucoaselor, sau să inhibe creșterea lor. În infecțiile cu *Trichomonas fetus* și *Trichomonas vaginalis*, răspunsul imun local este dat în principal de IgE, cel puțin la femeie.

Reacția de hipersensibilitate locală care rezultă stă la baza simptomatologiei, dar afectează și permeabilitatea vasculară cu creșterea concentrației locale în IgG.

Răspunsul imun la infecțiile cu *Candida albicans* a fost în particular studiată la specia umană. Această levură este un microorganism comensal, prezent în tractusul digestiv al omului și animalelor; ea este considerată din această cauză ca un microorganism endosaprofit. În caz de modificare a sistemului hormonal (graviditate), schimbări în floră intestinală (antibioterapie), imunodepresia (administrarea de glucocorticoizi) sau în prezența altor factori favorizanți, *Candida albicans* se dezvoltă și poate invada diferite organe ale corpului.

La nivelul mucoasei vaginale, fagocitoza este mecanismul de apărare nespecifică principală. Aici se găsesc polimorfonuclearele neutrofile, și în măsură mai mică macrofagele, care fagocitează și distrug *Candida albicans* după opsonizarea prin anticorpi. Polimorfonuclearele

neutrofile aderă în egală măsură la formele hifale ale levurii, care sunt fagocitate și distruse datorită enzimelor lizozomale proprii.

În stadiul de dezvoltare hifală defensiva organismului este în general insuficientă, dar o intervenție terapeutică conduce în general la vindecare. Mai mult, au fost descrise și mecanisme specifice ale defensivei imune în care LT par să joace un rol important. În sfârșit prezența aglutininelor în mucusul cervico-vaginal poate fi detectată în vederea unui test de diagnostic. Această situație este asemănătoare și pentru bruceloză, campilobacterioză și trichomonoză.

10.4. IMUNITATEA GLANDEI MAMARE

Ameliorarea condițiilor de creștere și igienă, alături de o antibioterapie adecvată au permis reducerea incidenței mamitelor; cu toate acestea numeroase infecții intramamare subzistă endemic.

În defensiva glandei mamare față de diverși agenți microbieni, intervin atât mijloace de apărare nespecifice cât și specifice. Prima linie de apărare a glandei mamare contra agenților patogeni este reprezentată de canalul papilar. Mușchiul sfincterului ce înconjoară canalul, împiedică contaminarea bacteriană prin menținerea în poziție închisă a orificiului acestuia. Pierderea tonusului muscular al sfincterului conduce la creșterea sensibilității la infecții intramamare. Mulsul contribuie deasemenea, la expulzarea bacteriilor ce pot exista în orificiul sau interiorul canalului.

În mod normal, cheratina, care se găsește la suprafața canalului papilar, obstruiază parțial deschiderea acestuia, împiedicând penetrarea bacteriilor. În cartierele sensibile, acest strat de cheratină este mai subțire, mai puțin dens și se detașă mai ușor de epiteliu, decât cel ce acoperă interiorul cartierelor mai rezistente. În plus, cheratina care provine din cartierele mai rezistente conține o concentrație semnificativă de acizi lauric, miristic și palmitic, în timp ce în cartierele sensibile sunt mai crescute concentrațiile în acid stearic, linoleic, oleic. Proteinele cationice, așa cum este ubicvitina, izolată din cheratină împiedică creșterea lui *Streptococcus agalactiae* și *Staphylococcus aureus*.

Concentrația lizozimului în lapte este de aproximativ 1,3 μg/ml și ea crește în decursul infecțiilor intramamare. Această proteină distruge bacteriile prin liza peretelui, reprezentat de peptidoglicani. O deficiență în lizozim predispune glanda mamară la infecții.

Lactoferina este o substanță bacteriostatică, care reține fierul ce este absolut necesar pentru dezvoltarea bacteriei. Este prezentă în

laptele normal în cantitate scăzută fiind secretată de celulele epiteliale și leucocite. Prezintă eficacitate în defensiva contra stafilococilor și coliformilor intervenind totodată și în modulația funcțională a macrofagelor, limfocitelor și polinuclearelor neutrofile.

Sistemul lactoperoxidază/tiocianat -H₂O₂ din lapte împiedică creșterea lui *Staphylococcus aureus*, a mai multor specii de streptococi și a califormelor.

În ceea ce privește activitățile celulare din glanda mamară, este binecunoscut în prezent faptul că celulele somatice cel mai adesea întâlnite în secrețiile mamare sunt neutrofilele, macrofagele, limfocitele, plasmocitele, eozinofilele și celulele epiteliale. Proporția acestor celule variază în funcție de stadiul lactației, specie și individ.

După ce au depășit prima barieră de apărare, reprezentată de canalul papilar, bacteriile întâlnesc o a doua, reprezentată de leucocitele cu rol fagocitar. Majoritatea leucocitelor prezente în colostru și în caz de inflamație a glandei mamare sunt reprezentate de polimorfonucleare neutrofile. Acestea fagocitează și omoară bacteriile de aceeași manieră ca și macrofagele care reprezintă majoritatea leucocitelor în laptele neinfestat. Macrofagele au ca origine probabilă populațiile din țesutul conjunctiv interalveolar și din epiteliu. Macrofagele intervin în fagocitoza și liza bacteriilor precum și în inducerea imunității mediate celular prin prezentarea antigenului prelucrat limfocitului. Între celulele limfocitare prezente în lapte, pe durata lactației, aproximativ 45% sunt LT, 20% LB și altele sunt celule nediferențiale. LT sunt responsabile de reacția citotoxică și de producția limfokinelor. Aceste limfokine sunt chimiotactice pentru polimorfonucleare neutrofile și macrofage; ele servesc, de asemenea, la stimularea activității leucocitare. Contactul LB cu antigenele bacteriene favorizează multiplicarea clonelor sensibile și maturarea lor în plasmocite.

În ceea ce privește efectorii umorali, s-au evidențiat în secrețiile glandei mamare toate clasele de imunoglobuline. La rumegătoare imunoglobulinele predominante în lapte sunt IgG, urmate de IgG₂. IgM și IgA sunt prezente în cantități mai scăzute. Majoritatea IgG sunt derivate din ser, în timp ce IgM și IgA sunt secretate local. Concentrația anticorpilor în lapte este scăzută (1 mg/ml) și depinde de gradul de permeabilitate vasculară a țesuturilor glandei mamare. Când permeabilitatea crește, concentrația de anticorpi poate atinge 50 mg/ml, nivel care se regăsește în colostru și în laptele provenit dintr-o glandă mamară infectată.

Rolul principal al anticorpilor din lapte este opsonizarea bacteriilor invadante și facilitarea fagocitării lor de către

polimorfonucleare neutrofile. Imunoglobulinele mai importante pentru fagocitoza bacteriană par a fi IgG₂, polimorfonuclearele neutrofile având mai mulți receptori pentru IgG₂, decât pentru IgG₁. Alte studii efectuate la bovine au demonstrat că IgM constituie cele mai bune opsonine pentru stafilococi, ele crescând eficacitatea fagocitozei și implicit a proporției lizei bacteriilor fagocitate. IgM activează complementul și favorizează formarea fracțiunii C_{3b}, care se depune la suprafața bacteriilor determinând fagocitarea acestora de către neutrofile.

IgA din lapte nu are rol opsonizant, dar ea previne aderența bacteriilor la membranele epiteliale, aglutinează și inhibă multiplicarea acestora sau le neutralizează toxinele. Un serios handicap al glandei mamare este concentrația scăzută a tuturor izotipurilor de Ig din lapte, comparativ cu serul.

Infecțiile intramamare sunt mai frecvente în absența lactației. Intervine în acest caz creșterea presiunii interne în glanda mamară care provoacă dilatația canalului papilar, favorizând penetrarea bacteriilor, producându-se totodată și o acumulare a citotoxinelor bacteriene, în glanda mamară. Utilizarea antibioticelor precum tetracilinele, cloramfenicolul, gentamicina, novobiocina și penicilina poate diminua până la 54% capacitatea de fagocitoză în glanda mamară dar efectele benefice legate de utilizarea lor contrabalansează efectele negative. Dimpotrivă, dacă bacteria este rezistentă la antibiotice, efectele negative pot fi serioase și necompensate.

10.5. IMUNITATEA PIELII

Pielea, tegumentul extern sau învelișul cutanat, ca organ de acoperire al corpului animal, exercită prin poziția sa rolul de intermediar între mediul extern și intern. Această poziție *privilegiată* determină relații funcționale strânse cu organele protejate, cărora le asigură mediul normal de activitate. La rândul lor, organele protejate influențează integritatea morfologică și funcțională a pielii. Dintotdeauna s-a insistat asupra rolului protector al pielii față de numeroasele ingerințe din partea mediului extern prin factorii mecanici, fizici și biotici. Cercetările ultimilor ani vin să completeze rolul protector al pielii prin relevarea unei noi funcții, aceea de organ imunitar (Fig.57)

Ca *barieră a mediului extern*, asemănător altor bariere, pielea este dotată cu o vascularizație și o inervație bogată, cât și cu sistem imunitar complex, capabil nu numai să capteze informațiile antigenice, ci și să le transmită organelor imunoformatoare și să reacționeze prompt în

procesele de apărare locală și generală a organismului. Deși reactivitatea deosebită a stratului papilar al dermului (stratul cel mai reactiv din structura pielii) este cunoscută de mai mult timp, abia din 1970, studiul markerilor și a funcțiilor imunologice ale celulelor lui Langerhans a permis consacrarea pielii ca organ imunitar.

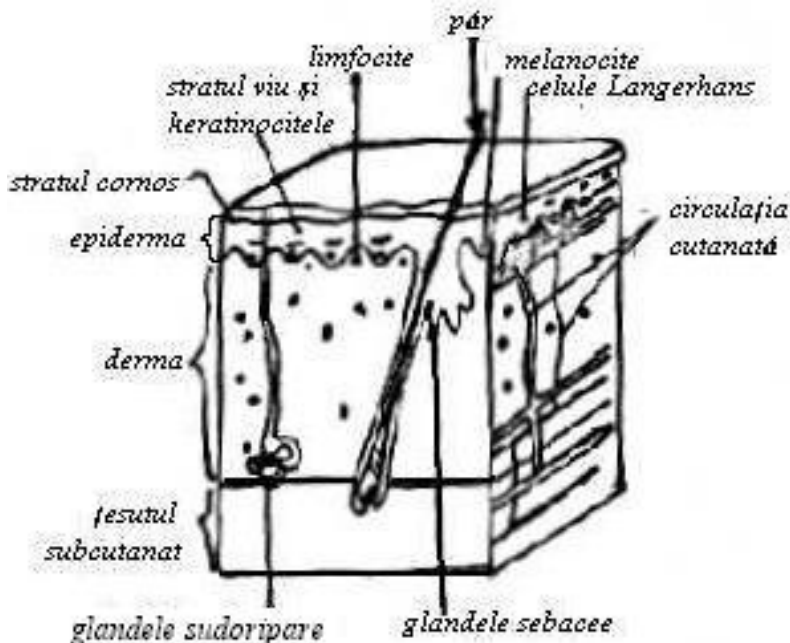


Fig. 57 Secțiune schematică prin piele

Cercetările și observațiile clinice în legătură cu limfoamele pielii au sugerat că aceasta ar avea o funcție analoagă timusului.

Ipoteza legăturii strânse dintre timus și piele este confirmată de existența, mai ales la animalele de laborator, a numeroaselor mutante care afectează concomitent pielea și timusul. Astfel, la șoareci este cunoscută *mutanta nu.* (nude mutation recessive), plasată pe cromozomul 11, care în stare homozigotă determină absența completă a părului și agenezie mai mult sau mai puțin totală a timusului. Acești șoareci sunt incapabili să matureze unele LT. Ei pot fi parțial normalizați prin transfuzie de LT.

Separarea genelor responsabile de absența părului de cele responsabile de agenezia timusului a fost imposibilă, fapt care dovedește că cele două seturi de gene sunt fie identice, fie strâns legate pe același cromozom.

Mutante care dovedesc absența învelișului pilos și diferite leziuni congenitale ale timusului (până la absența totală a acestuia) au mai fost descrise la șobolani, cobai, hamsteri.

La șoarece a mai fost descrisă *mutanta bg* (beige), genă mutantă recisivă plasată pe cromozomul 13, care antrenează o profundă modificare a culorii pelajului și o diminuare importantă a rezistenței la infecția indivizilor homozigoți. Este echivalentul la șoarece a maladiei Chediak-Higashi de la om. La șobolan este descrisă *mutanta mK*, indusă prin iradiere, caracterizată prin anomalii ale părului și o mare sensibilitate la infecții.

Studii electronomicroscopice au dovedit unele asemănări ultrastructurale între timus și epiderm. Astfel, unele celule epiteliale timice sunt dotate cu structuri granulare specifice care par să fie identice cu granulele din cheratinocitele epidermului. Cercetări cu anticorpi monoclonali fluorescenți au dovedit existența unor cantități de cheratină (proteină considerată proprie celulelor epidermice) în celulele epiteliale timice.

Un alt punct de legătură între timus și piele este enzima dinucleotidiltransferază, detectată în limfocitele ajunse într-un anumit stadiu de maturare în timus, dar care nu apare în limfocitele T mature. Dacă LT sunt puse în cultură împreună cu cheratinocite, enzima își face apariția în cultura celulară.

Ulterior s-a dovedit intervenția cheratinocitelor în maturarea parțială a LT, prin intermediul unui hormon analog timopoietinei (hormonul timic cu rol principal în maturarea LT). Cercetări cu anticorpi monoclonali fluorescenți au identificat pe suprafața celulelor epiteliale timice producătoare de timopoietină, trei receptori specifici TE₄, A₂B_a și q₁₉. Acești receptori au fost găsiți și pe suprafața membranei cheratinocitelor din stratul bazal al epidermului care produc hormonul asemănător timopoietinei. Un alt argument în favoarea rolului imunitar al cheratinocitelor ar fi faptul că vițeele cu paracheratoză congenitală au o susceptibilitate crescută la infecții. La vițeele respectivi se constată o hiperplazie a timusului.

Legătura funcțională dintre piele și sistemul imun este susținută și de constatarea faptului că o substanță exogenă care pătrunde în organism pe cale cutanată nu poate deveni imunogenă, decât dacă este prezentată limfonodurilor de către limfocitele cantonate în tegument.

Substanțele foarte imunogene, ca dinitrofluorbenzenul, aplicate pe tegumentul unui șoarece care a fost expus în prealabil la radiațiile ultraviolete nu induc răspuns imunitar. Areactivitatea este remanentă și

trasferabilă la alt șoarece prin transfuzie de LT de la șoarecele iradiat. Aceste date dovedesc că pielea ar dispune de o clasă de celule care au proprietatea de a prezenta antigenul ȘT-celule prezentatoare de antigen a căror funcție poate fi anihilată prin expunere la radiațiile ultraviolete. Dacă antigenul trece etapa acestor celule (scoase din funcție prin iradiere cu ultraviolete) el induce o areactivitate remanentă, datorită stimulării LTs.

Investigațiile făcute în scopul identificării celulelor implicate în acest proces s-au oprit la celulele lui Langerhans. Sunt celule imunocompetente provenite din măduva osoasă și rezidente în epiderm, unde reprezintă 2-4% din populația locală. Nu există o colorație de rutină pentru evidențierea acestor celule. Cu hematoxilină-eozină celula lui Langerhans apare ca o celulă dendritică, putându-se confunda cu melanocitul. De altfel mult timp celulele lui Langerhans au fost considerate, eronat, ca fiind melanocite epuizate, pe cale de eliminare. Spre deosebire de melanocite însă, acestea sunt aurofile și dopa-negative. Totuși cu clorura de aur, care a permis lui LANGERHANS în 1861 să descopere aceste celule dă rezultate inconstante. Alte colorații (cu iodură de osmiu sau albuș de metil) nu sunt specifice, colorând și melanocitele. Parafenilendiamina și dopamina au o specificitate bună, dar necesită tehnici laborioase. În ultimii ani s-au pus la punct tehnici histoenzimatice, dintre care tehnica de evidențiere a adenozintrifosfatazei este specifică și permite obținerea unei bune imagini a celulelor lui Langerhans.

Totuși, SCHLEGER și BEAN constată că o trasătură aparent unică pentru celulele lui Langerhans din pielea bovinelor, negativitatea reacției pentru adenozintrifosfatază utilizând pentru identificarea acestora reacția pentru fosfataza alcalină. Specificitatea acestor reacții este însă discutată.

La microscopul electronic celulele lui Langerhans apar lipsite de tonofilamente și desmozomi. Au un nucleu lobulat iar citoplasma conține o zonă Golgi bine marcată, reticul endoplasmatic dezvoltat, lizozomi, vacuole, picături de lipide, glicogen, melanozomi fagocitați. În toată citoplasma, dar cu precădere în vecinătatea aparatului Golgi și a membranei citoplasmatică, conțin niște granule considerate markeri ultrastructurali specifici. Acestea îmbracă aspectul unor bastonașe sau rachete, formate din organite emisferice cu structură membranoasă. Membrana lor periferică se dilată de obicei la o extremitate, pentru a forma o veziculă.

S-au descris două tipuri morfologice de celule Langerhans:

♦ **celule de tip I**, așezate deasupra stratului bazal al epidermului, care au citoplasma foarte clară, cu numeroase dendrite, granule Langerhans și care dau o reacție adenozintrifosfatazică intensă;

♦ **celule de tip II**, localizate în stratul bazal, care au citoplasma densă, slab dendritică și sunt sărace în granule specifice, fiind considerate celule mezenchimale pe cale de diferențiere.

MASUTAMI a arătat că la șoarece celulele prelangerhansiene nedeterminate dobândesc, sub acțiunea sensibilizării de contact, granule Langerhans.

Investigațiile imunologice au permis identificarea la nivelul celulelor Langerhans a antigenilor din grupul complexului major de histocompatibilitate (CMH) clasele I și II-a, a antigenilor notați CD₁ și considerați cei mai buni markeri ai LTh. De asemenea s-au identificat receptori pentru regiunea Fc a IgG și pentru fracțiunea C_{3b} a complementului.

Celulele lui Langerhans sunt capabile să capteze antigenii exogeni pătrunși în epiderm ca haptene sau antigeni infecțioși, să-i prelucreze și să-i prezinte LT. Această funcție de prezentare a antigenilor este dependentă de CMH clasa II-a care sunt asociați antigenului în momentul cooperării celulelor Langerhans cu LTh. Acesta constituie primul semnal al activării LT.

Un al doilea semnal este, deasemenea, indispensabil activării LT. Acesta este reprezentat de IL₁, secretată adesea de macrofage. La nivelul epidermului producătorul de IL₁ poate induce producerea de substanțe amiloide de către hepatocite și fibroblaste ca și chimiotactismul pentru neutrofile.

LT se găsesc, la nivel cutanat, în special sub formă de populații celulare situate în stratul papilar al dermului și având rol analog populațiilor limfoide din corionul mucoaselor împreună constituind așa-numitul țesut limfoid asociat mucoaselor și pielii.

La animalul cu pielea intactă, în momentul pătrunderii unui antigen prin piele, acesta este întâmpinat de celulele Langerhans, care îl vor prelucra și îl vor prezenta LTh, care la rândul lui va stimula limfocitul capabil să producă răspuns specific împotriva antigenului respectiv. Cea mai importantă este activarea LB, care va evolua spre stadiul de plasmocit, capabil să producă imunoglobuline. În funcție de particularitățile antigenului, LTh mai poate determina activarea LTc, implicate în distrugerea celulelor infectate de particule virale și în reacția de respingere a grefelor sau activarea celulelor NK cu rol în distrugerea celulelor tumorale.

LT conectate de antigen mai primesc un al doilea semnal prin IL_1 produsă de cheratinocite și celulele Langerhans și răspund acestui semnal prin secreția de IL_2 . Din acest moment, limfocitele astfel sensibilizate vor migra cu *imaginea* antigenului în organele limfoide, unde vor prolifera intens generând o clonă celulară capabilă să răspundă prompt antigenului care a declanșat formarea ei și care se va răspândi în întreg organismul.

Experiențele pe șoareci iradiați cu ultraviolete, la care celulele lui Langerhans sunt scoase din funcție, au sugerat existența la nivelul epidermului și a unui al doilea tip de celule prezentatoare de antigen, rezistente la radiațiile ultraviolete.

Aceste celule au fost descoperite de către GRANSTEIN în 1984. Ele sunt tot celule dendritice, ca și celulele lui Langerhans, dar spre deosebire de acestea, ele prezintă antigenul LTs. Spre deosebire de LTh, care recunosc antigenul cu ajutorul CMH clasa I, LTs intervine în modularea răspunsului imun, limitând răspunsul față de un antigen dat, atât în reacțiile mediate umoral (prin exprimarea transformării LB în plasmocit), cât și în cele mediate celular. Acestea ar explica reactivitatea remanentă (și transferabilă) a șoarecilor iradiați cu ultraviolete la dinitrofluorbenzen.

În cazul unor traumatisme cutanate minore și repetate, însoțite de smulgerea epidermului ca și la animalele iradiate cu ultraviolete, antigenii vor lua contact cu celulele Granstein.

Există și antigeni care prin proprietățile lor intrinseci preferă contactul cu celulele Granstein.

În procesele de apărare cutanată, un rol important revine mastocitelor (*păzitorii porților de intrare*). Membrana celulară a acestora prezintă receptori pentru IgE și numeroase prelungiri fine, utilizate pentru încorporarea materialului brut, necesar sintezei de mediatori chimici. Mediatorii chimici stocați în granulele mastocitare sunt reprezentați de: histamină, serotonină, substanța de atragere a eozinofilelor din procesele anafilactice (EAS-A sau ECF-A) și arilsulimfocitează, enzimă care distruge leucotrienele C4 sau substanțe de reacție lentă a anafilaxiei. Diverși factori patogeni și în mod special, antigenii capabili să cupleze IgE, determină degranularea mastocitelor (eliberarea mediatorilor), cu efect asupra microcirculației. Un alt efect notabil este chemotactismul pentru eozinofile. Acestea intervin în procesele alergice, având o afinitate deosebită pentru IgE (reagine) și pe de altă parte, au un potențial antihistaminic ridicat, observându-se în teritoriile bogate în acest mediator. În plus, este bine cunoscută eozinofilia în bolile parazitare.

Față de reacțiile la antigenii exogeni, cele în care sunt implicați antigenii endogeni au un caracter particular. Astfel, în bolile autoimune din grupul penfigus la suprafața cheratinocitelor se elaborează anumiți antigeni de natură glicoproteică, față de care organismul imun va reacționa. Autoanticorpii se leagă de antigenii de suprafață și determină sinteza activatorului de plasminogen. Creșterea locală a plasmei determină pierderea coeziunii celulelor, prin proteoliză rezultând vezicule și bule intermediare.

Tegumentul răspunde prin reacții imune nu numai la alergenii pătrunși pe cale cutanată ci și la cei pătrunși în organism pe cale digestivă, respiratorie, etc. Mucoasa digestivă este în contact cvasipermanent cu alergenii, constituiți din proteine alimentare sau molecule de masă mică susceptibile de a se comporta ca haptene. Majoritatea acestor proteine sunt hidrolizate de către enzimele proteolitice digestive. O parte sunt complexate de IgA. Totuși o mică parte din aceste proteine alergice pot pătrunde mucoasa intestinală intactă, determinând producerea de anticorpi circulanți. Pasajul proteinelor alergice prin mucoasa intestinală este favorizat de leziunile inflamatorii sau degenerative ale acesteia. Pe de altă parte, insuficiența hepatică are drept consecință insuficienta degradare a proteinelor cu potențial alergizant sau a altor molecule care pot juca rolul de haptene.

Din cele prezentate reiese faptul că în realizarea rolului protector al pielii, în special față de agenții biotici, o importanță deosebită o deține funcția imunitară a acesteia. Legăturile ultrastructurale, biochimice și imunologice dintre timus și piele ca și existența țesutului limfoid asociat pielii vin să justifice considerarea pielii ca organ imunitar.

CAPITOLUL 11

TOLERANȚA ȘI AUTOIMUNITATEA

În anumite condiții experimentale se poate observa o lipsă de răspuns imun față de unele Atg. cu care organismul avusese deja un contact prealabil. Această stare de *areactivitate* sau de toleranță este specifică pentru că:

- ⊗ toleranța este *pregătită* printr-o expunere inițială la un Atg., ea constatându-se după readministrarea Atg. respectiv, deși la această readministrare s-au îndeplinit toate condițiile corespunzătoare pentru declanșarea unui răspuns imun;

- ⊗ un organism devenit tolerant față de un Atg. păstrează capacitatea de răspuns imun față de toate Atg. care nu dau reacții încrucișate cu acel Atg. care a indus starea de toleranță.

Experiența clasică în acest domeniu aparține lui BILLINGHAM BRENT și MEDAWAR (1953) care au arătat posibilitatea tolerării grefei allogenice de piele după o preparare adecvată a animalelor receptoare.

Șoarecii din rasa A au fost inoculați în perioada neonatală cu celule splenice vii recoltate de la animalele adulte de rasă B. După ce au devenit adulți, șoarecii A au primit grefa de piele prelevată de la un șoarece de rasă B. Grefa B a fost tolerată, în schimb o grefa recoltată de la șoarecii de altă rasă (C) a fost respinsă. (Fig.58)

FREI, THORBECKE și BENACERRAF (1963) au imunizat iepuri cu albumină serică bovină (ASB), administrată i.v. După două zile de la injecție au recoltat plasmă de la iepure din care au izolat urme de ASB. Această fracțiune de ASB posedă capacitatea de a induce toleranță, pierzând în schimb proprietățile sale imunogenice native (Fig.59)

Experiența sugerează că o macromoleculă antigenică poate posedea în structura sa determinanți imunogenici și determinanți tolerogenici.

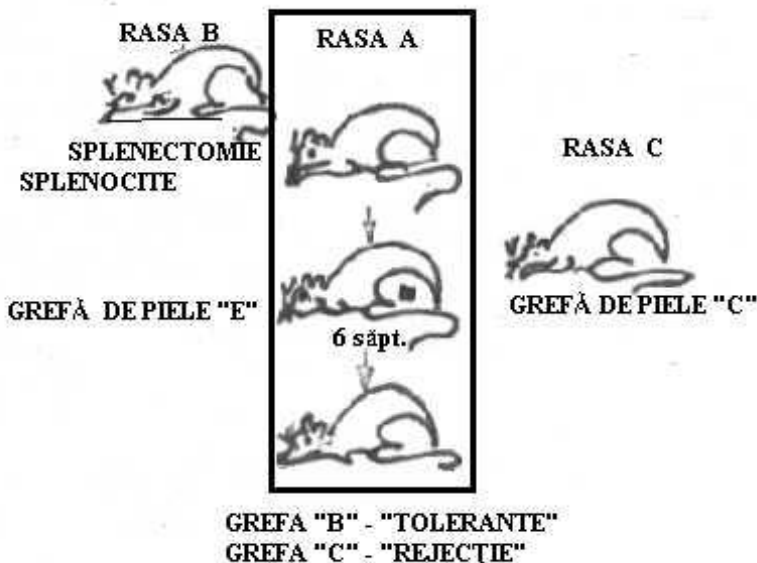
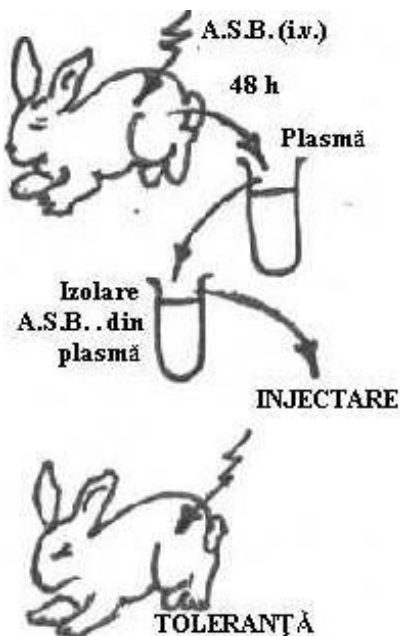


Fig. 58 Toleranța imună.

(BILLINGHAM BRENT, MEDAWAR, 1953)



WEIGLE și col. au obținut toleranță față de gamaglobulină umană (gamma GU) prin injectarea unor șoareci singenici cu forma "dezagregată" (tolerogenă) a gamma GU. Limfocitele T și B izolate de la șoarecii toleranți, împreună cu limfocitele T și B preluate de la animalele martor au fost utilizate în diverse mixturi pentru reconstituirea unor animale iradiate. Toate loturile de animale reconstituite au primit câte o doză imunogenă de gamma GU.

Fig. 59 Experiența lui FREL, THROBECKE și BENACERRAF

Șoarecii restaurați cu LB și T provenite de la donatorii toleranți au răspuns prin toleranță după administrarea de gamma GU nativă și

prin reacție imună după administrare de gamaglobulină de curcă (GC) (Fig.60)

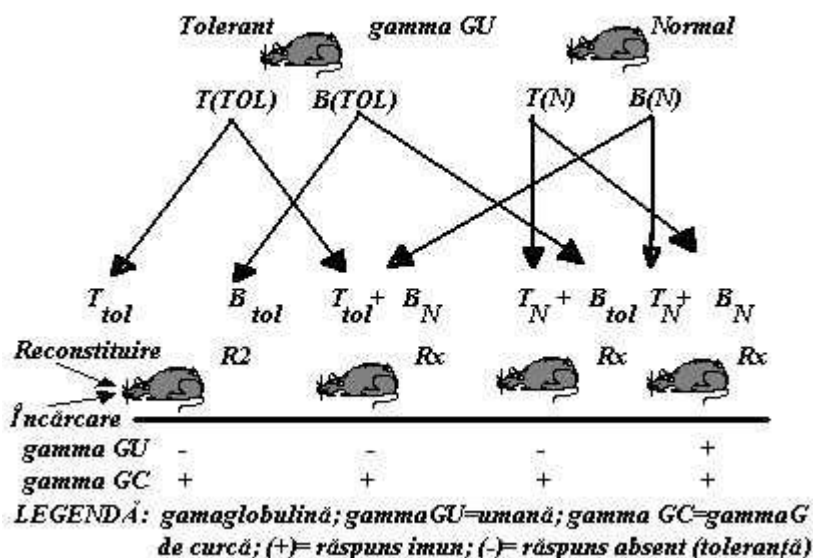


Fig. 60 *Experiența lui WEIGLE și colab.*

Cele trei modele experimentale sugerează 3 trăsături principale:

1. Toleranța este un fenomen biologic activ și specific față de o administrare adecvată de Atg.

2. Anumite proprietăți ale Atg. sunt răspunzătoare de inducerea toleranței. Macromoleculele antigenice au o latură imunogenă și alta tolerogenă. După administrarea fracțiunii tolerogene, toleranța obținută se manifestă și față de fracțiunea imunogenică.

3. Toleranța este mediată de LB și LT capabile să transfere această stare la receptorii singenici. Încercarea de restaurare a capacității de răspuns prin transferarea de celule normale unui animal care posedă limfocite tolerante este dificilă.

11.1. RELAȚIA DINTRE TOLERANȚĂ ȘI ATG

- diferite substanțe antigenice au capacitatea tolerogenă sau imunogenă foarte variabilă;

- anumite proteine care se comportă ca imunogene sub formă agregată și polimerică devin tolerogene sub formă monomerică și solubilă;

- Atg. nemetabolizate (nedegradabile) persistă mult timp în organismul receptorului. Această persistență împreună cu lipsa unor Atc. specifici în circulație au fost interpretate ca dovezi de tolerabilitate. În realitate s-a putut demonstra existența de celule care elaborează anticorpi specifici. Atc. formează complexe cu Atg. respective, complexe rapid îndepărtate din circulație. Acest clearance al complexelor imune explică aparenta absență a Atc. Toleranța în această situație este doar aparentă (*pseudotoleranță*);

- în funcție de doza de Atg. se pot distinge 2 aspecte ale toleranței:

a) toleranța de doză joasă, care este indusă prin injectarea continuă sau repetată de doze mici, inferioare celor care produc răspuns imun. Unele date experimentale sugerează că toleranța de doză joasă este controlată de LTs (care ar fi stimulate de dozele mici de Atg., în timp ce activarea LTh ar necesita doze mai mari).

b) toleranța de doză înaltă, care este indusă de doze foarte mari supraimunogene de Atg. Deoarece Atg. timo-independente nu produc în general toleranță de doză înaltă se concepe că acest model de răspuns implică atât LTh cât și LB.

11.2. RELAȚIA LIMFOCITE-TOLERANȚĂ

Toleranța poate fi indusă mai ușor la animalele imature imunologic. Animalele adulte sunt rezistente la inducerea toleranței dacă aparatul lor imun este normal. Prin comparație cu aceasta, toleranța poate fi indusă mai lesne la indivizii adulți care prezintă unele deficiențe ale sistemului imun fie că acestea sunt înăscute, fie că sunt provocate de diverși factori imunosupresivi (iradierea limfoidă totală, administrarea de droguri citostatice, cum ar fi ciclofosfamida, azatioprina, 6-mercaptipurina, etc. sau de droguri care blochează activitatea IL₂, ca de exemplu Cyclosporina A).

Ambele tipuri de limfocite (B și T) pot fi născute tolerante față de Atg. Toleranța LT este indusă mai rapid și este mai durabilă decât toleranța LB. Experiențele de transfer a limfocitelor normale la gazde tolerante sau a celulelor limfoide tolerante la gazde normale au subliniat rolul LTs în inducerea toleranței. LTs sunt specifice pentru tolerogen și determină instalarea toleranței numai față de acesta. Dozele mici de Atg. care stimulează preferențial LTs induc mai ușor toleranța imună.

Modelele experimentale de inducere a toleranței au oferit baza înțelegerii toleranței selfului. Toleranța self este un fenomen natural care apare timpuriu în ontogeneză, prin procesul de educație a LT. În primele stadii ale dezvoltării lor intratimice, limfocitele imature sunt extrem de susceptibile la inducerea toleranței, cu o doză de Atg. relativ joasă. Inițial s-a crezut că limfocitele specifice pentru Atg. self (limfocite auto- sau self-reactive) sunt eliminate în cursul acestui proces. Ulterior s-a descoperit existența unor clone de LB și LT autoreactive la indivizii adulți normali. Se presupune că ele ar rămâne *liniștite* deoarece nu primesc semnale de activare din partea LTh. Excluderea (*deleția*) funcțională a LTh ar fi susținută de către LTs. Rolul LTs în menținerea self toleranței a fost sugerată de experimente de transfer ale LTs prin care puteau fi blocate răspunsuri imune împotriva unor auto-Atg. (tiroglobulină, proteina bazică a mielinei, Atg. eritrocitare). Anumite experimente sugerează în plus că dozele tolerogenice de Atg. induc LTs, dar menținerea activității supresoare este asigurată de dezvoltarea unor LTs, de memorie.

Ruperea toleranței față de self provoacă o stare autoimună. Atg. care reprezintă ținta atacului autoimun sunt Atg. normale, exprimate pe celulele tisulare sau reprezentând epitopi din structura unor produse normale de secreție (Ig., factori de coagulare, etc).

Reacția autoimună poate fi de tip umoral, celular sau o asociere a celor 2 răspunsuri și conduce în general la o stare de boală.

Autoanticorpii (AAC) pot fi specifici pentru determinanți ai unui organ (ex. insulele Langerhans, suprarenale, miocard) sau pentru determinanți prezenți în mai multe organe (ex. ADN). Pe aceste baze ROITT împarte bolile autoimune în boli specifice și nespecifice de organ (tabelul nr. 7).

Rolul patogen al AAC în generarea bolilor autoimune (BAI) poate fi demonstrat în situații în care este posibilă *transferarea* BAI de la omul bolnav la un șoarece sănătos prin intermediul unui purificat de Ig preparat din serul pacientului (ex. în miastenie) sau în situații în care AAC de clasă IgG (care pot străbate placenta) transferă temporar o BAI de la mamă la făt (ex. gravidele cu purpură trombocitopenică autoimună care transferă pasiv boala la nou-născut; trombocitopenia acestuia durează cca.3 săptămâni până se catabolizează AAC transferați de la mamă).

În anumite situații experimentale s-a putut realiza transferul unei BAI prin intermediul unor suspensii purificate de LT (ex. în encefalomielite alergică experimentală). Clonele de LT autoreactive au putut fi izolate la șoarece. De ex. LT murine sensibilizate in vitro prin

cultivarea cu celulele tiroidiene izolate pot provoca tiroidită la șoarecii sănătoși la care se practică injecții intratiroidiene cu astfel de celule.

Tabelul 7

Evantaiul bolilor autoimune (BAI) după ROITT (1989)

A. BAI specifice de organ	Tiroidita Hashimoto Mixedemul primar Tireotoxicoza Anemia pernicioasă Biermer Gastrita atrofică autoimună Maladia Addison
B. Forme intermediare	Miastenia, diabetul juvenil, sindromul Goodpasture, pemfigusul comun, oftalmia simpatică, uveita. Anemia hemolitică autoimună (AHAI), purpura trombocitopenică ideopatică, (PTI), neutropenia autoimună. Ciroză biliară primitivă, hepatita cronică activă, colită ulceroasă, sindromul Sjögren
C. BAI sistemice (non-specifice de organ)	Lupus eritematos diseminat (LED) Dermatomiozita Sclerodermia Poliartrita reumatoidă

Această clasificare nu este strictă deoarece există multe situații intricate (tabelul 8).

Tabelul 8

Exemple care ilustrează modul de acțiune al AAC

Citoliza	directă	-	în	prezența
complementului: AHAI				
tiroidita		-	în prezența celulelor K (ADCC):	
	Indirectă	-	opsonizare: PTI, AHAI	
Blocarea funcțiilor unor molecule:				
	- circulante: AAC anticoagulanți			
	- receptori: miastenia gravis, diabet			
insulinodependent				
Stimularea unor receptori: boala Basedow				
Depunerea de complexe imune în organism: vasculite				

Adesea însă leziunile organice constatate în modelele experimentale de provocare a unor BAI demonstrează infiltrarea organelor țintă cu celulele mononucleare și prezența unor reacții de hipersensibilitate întârziată vis-a-vis de autoantigenele respective, care coexistă cu AAC specifici, sugerând asocierea mecanismelor celulare și umorale în multe BAI.

11.3. FACTORII CARE FAVORIZEAZĂ INSTALAREA UNEI BOLI AUTOIMUNE

- **vârsta:** BAI apar mai frecvent la tineri; la vârstnici se constată frecvent apariția de AAC cu diverse specificități fără instalarea unei stări de boală;

- **sexul:** sexul feminin este mai expus pentru apariția unor BAI (LED, poliartrita reumatoidă, miastenia) datorită împregnării cu hormoni sexuali specifici. Administrarea de androgeni la șoricioaicele NZB bolnave de LED atenuează gravitatea bolii;

- **infecții intercurrente** (virale, bacteriene, parazitare) pot fi la originea unor BAI. Se pot discuta mai multe mecanisme posibile:

- reacții încrucișate cu auto-Atg;
- activarea policlonală a LB sau LT;
- inducerea unei alterări a Atg.CMH;
- perturbarea rețelei idiotipice.

- **starea funcțională a aparatului imun:** stările de imunodepresie ereditare sau dobândite, sau neoplasmele limfoide, se însoțesc adesea de BAI și invers, anumite stări autoimune sunt urmate de apariția unor boli limfoproliferative, maligne. În patologia umană asemenea asocieri reciproce apar frecvent în leucemia cronică și în limfoamele non-Hodgkin. Șoarecii NZB prezintă cu vârsta o suscețiune spontană de astfel de evenimente care încep cu formarea de AAC urmată de instalarea unei glomerulonefrite prin complexe imune și sfârșesc cu constituirea unui limfom malign.

Există **asocieri neîntâmplătoare** între diverse BAI:

- ☉ anemie Biermer / tiroidită Hashimoto;
- ☉ asocierea LED cu AHAI și/sau PTI;
- ☉ asocierea AHAI cu PTI (sindromul Evans);
- ☉ forme de trecere între LED și PR sau dermatomiozită.

S-a remarcat existența unui **control genetic** al autoimunității:

- ☉ există rase de șoareci la care pot fi induse ușor BAI experimentale și altele rezistente la asemenea încercări

☞ șoarecii NZB și rasa puilor obezi (care produc spontan antitireoglobulină) reprezintă exemple de control genetic al BAI.

Tireoglobulina puilor obezi are structură normală, iar injectarea de tireoglobulină provenită de la pui de rasă Leghorn normali provoacă la puii obezi secreție de AAC. Totul sugerează rolul important al terenului. Este posibil ca răspunsul autoanticorpic să fie controlat tot de genele Ir care ar acționa de o manieră analoagă celei în care-și exercită influența asupra formării Atc. reactivi *normali*. Este posibilă în acest context instalarea unei asocieri anormale între auto Atg. și Atg. CMH de clasa II-a pe suprafața celulelor-țintă. De ex. în unele cazuri de boală Basedow pe suprafața celulelor tiroidiene apar Atg.CMH de clasa II-a (care în mod normal nu sunt exprimate).

În *patologia umană* s-au remarcat două tipuri de asocieri:

- frecvență mare de tulburări autoimune în anumite familii în care unii consanguini fac BAI în timp ce alții sunt numai purtători de anomalii fără manifestări de boală.
- corelarea anumitor profile CMH cu unele maladii cu patogenie autoimună dovedită sau presupusă. Corelațiile cele mai frecvente sunt observate cu Atg. de clasa II-a DR și DQ.

Exemplul tipic în acest sens îl oferă asocierea ***spondilitei ankilopoietice*** cu **Atg. CMH-B27** în care riscul relativ este de aproximativ 80 (Riscul relativ este o noțiune bazată pe o formulă de calcul, care exprimă șansa de a face o anumită maladie de către subiecți care posedă un Atg. CMH în raport cu riscul de îmbolnăvire al indivizilor care nu posedă respectivul Atg.).

Alte exemple ilustrative ar fi diabetul insulinodependent D/DR3/44 (R.R.=47) și maladia celiacă D/DR3/7 (R.R.=70)

11.4. MECANISMELE RUPERII TOLERANȚEI

Răspunsurile autoimune par a fi identice în derularea lor cu răspunsurile dirijate împotriva Atg.convenționale. Din acest punct de vedere pot fi discutate:

1. Recunoașterea auto-Atg. Așa cum am ilustrat în exemplul referitor la rasa de pui obezi, auto-Atg. nu sunt *anormale* la subiecții cu tulburări autoimune. Mai mult, în mod normal prezența auto-Atg. este necesară pentru menținerea toleranței față de self. Afirmatia se sprijină pe exemplul așa-ziselor Atg sechestrate: Atg. cristalinelui și Atg. spermatozoizilor (aceste Atg. sunt izolate prin bariere anatomice de restul organismului: eliberarea lor în organism produce imediat o reacție

imună). Majoritatea auto-Atg. *coabitează pașnic* cu celulele imunologic competente și probabil sunt de tip timo-dependent, adică solicită pentru a declanșa un răspuns prezentarea lor de către Mcf. și cooperarea dintre LTh și LB autoreactive specifice. Mecanismul implică obligatoriu o prezentare restrictivă împreună cu moleculele CMH de clasa a II-a.

Importanța moleculelor CMH de clasa II-a în geneză BAI este sugerată de două fapte de observație:

- exprimarea aberantă a acestor Atg. pe țesuturi care în mod normal nu le exprimă. Această exprimare ar putea fi indusă de unele infecții virale (prin intermediul sintezei de IFN) și ar putea explica apariția unor BAI.

- prevenirea inducerii unor BAI experimentale (ex. encefalomielita sau miastenia gravis) prin injectarea în vivo de Atc. anti-Ia (anti CMH DR). Unii agenți infecțioși pot prezenta determinanți comuni cu epitopi ai auto-Atg. Infecțiile respective provoacă un răspuns autoimun printr-o reactivitate încrucișată. De exemplu, unele tulpini de streptococ hemolitic au determinanți comuni cu miocardul, cu endocardul sau cu celulele cerebrale. Pe aceste baze se explică atingerea cardiacă sau de choree care se observă în reumatismul acut streptococic.

2. Activarea limfocitelor - Existența clonelor autoreactive este în prezent unanim acceptată. Circa 1% dintre limfocitele normale circulante prezintă molecule de tireoglobulină atașate pe receptorii lor specifici fără să existe semne de agresiune autoimună. Mai mult, s-au decelat în circulația subiecților normali diverși auto-Atc. *naturali*. Aceste observații, culese dintre multe altele asemănătoare, sugerează existența LB autoreactive, dar nefuncționale la indivizii normali. Raportată la ansamblul *mașinării* imune această *inerție* a LB autoreactive ar implica inhibiția globală a mecanismului de activare a LB, inhibiție care interesează în special LTh și care ar fi controlată de LTs.

Activarea sistemului (reacție autoimună) ar putea surveni în următoarele împrejurări:

- suprimarea supresiei: administrarea Ciclofosfamidei (inhibitor selectiv al diferențierii LTs) la șoarecii din sușe nativ-rezistente la inducerea de BAI experimentale, permite obținerea unei tiroidite alergice;

- ocolirea (by -pas-ul) supresiei (Fig.61)

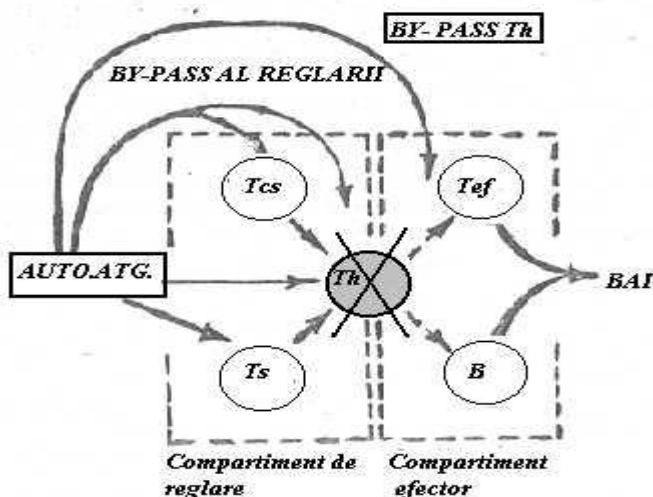


Fig. 61 Ipoteza lui I.M.Roitt (1985) prin care consideră că ruperea toleranței poate apărea prin ocolirea mecanismelor supresoare de reglare

- activarea directă a LT;
- activarea directă a LB și LT efectoare;
- activarea LT contrasupresoare

3. Dereglarea producției de AAC. AAC care se asociază cu BAI sunt extrem de heterogeni: IgM, IgG, IgA sau chiar IgE. Ei posedă diverse idiotipuri publice și private ca diferențe între speciile de molecule ale unei clase de Ig care sunt plasate în regiunile variabile - Fab - ale situsului combinativ.

Controlul sintezei de AAC este exercitat de LTh și de LTs, iar dereglările acestui control au fost amintite în secțiunea precedentă. Reamintind 2 elemente fundamentale (a)slg- receptorul pentru Atg. al LB -are aceeași compoziție moleculară în porțiunea variabilă cu Atc. produși de celula respectivă și (b) receptorii pentru Atg. ai LB și LT prezintă porțiuni variabile, precizând că atât receptorii celulelor limfoide autoreactive cât și AAC exprimă determinanți idiotipici privați (propriei fiecărei clone de AAC) și publici (comuni mai multor clone de molecule care reacționează cu aceleași auto-Atg). Aceste idiotipuri reprezintă de fapt o varietate imensă de autoantigene care ar putea constitui motivele

unei autoimunizări. Recent s-a demonstrat existența unor idiotipuri comune între Atc. anti-Klebsiella și auto-Atc. anti-ADN. Aceasta duce la presupunerea posibilității instalării unei reacții încrucișate între idiotipul unui Atc. specific pentru un Atg. exogen și un determinant corespunzător din structura unui auto-Atg.

11.5. BOLI AUTOIMUNE

Ca orice fenomen biologic și cel autoimun nu este însă unul cu efecte exclusiv nocive asupra organismului. Există și fenomene autoimune benefice, cu caracter fiziologic. Astfel, cooperările intercelulare esențiale în dinamica răspunsului imun sunt posibile numai datorită recunoașterii de către celulele imunocompetente a propriilor antigene ale CMH clasa 1 și a 2-a. În fenomenele de imunoreglare, un rol de bază îl au autoanti-anticorpii, numiți anticorpi antiidiotipici, care asigură alături de alte mecanisme menținerea titrului de anticorpi la nivel optim; astfel, se evită hipergammaglobulinemia care produce dezordine în organism; tot un fond autoimun îl au și mecanismele de eliminare a celulelor senescente. În urma îmbătrânirii, eritrocitele, leucocitele, trombocitele, hepatocitele, celulele renale, etc. își schimbă structura antigenică de suprafață prin clivarea enzimatică a unei proteine din membrana celulară, rezultând moleculele recunoscute ca non self, care după cuplarea lor cu anticorpi din clasa IgG, sunt fagocitate de macrofage, organismul debarasându-se astfel de ele.

Atenția imunopatogeniei este însă în mod firesc centrată către studiul efectelor defavorabile pentru organism al reacțiilor dintre self și anticorpii antiself.

11.5.1. LUPUSUL ERITEMATOS DISEMINAT (LED)

Lupsul eritematos diseminat (LED), cunoscut și sub numele de lupus eritematos sistemic (LES), boală lupică sau sindroamele lupice este boala imună cea mai bine studiată și dovedită ca afecțiune autoimună sistemică a țesutului colagen. Numele de lupus a fost atribuit acestei afecțiuni în evul mediu, pare-se datorită aspectului evocator al acestui animal, pe care-l reprezintă unii pacienți cu leziuni cutanate. Prima semnalare la animale i se datorează lui *Lewis și col.1965 (cit. Gherghariu)* care o diagnostică la câini. Ulterior se semnalează la pisici și la o linie de șoareci (NZB) care au o predispoziție genetică. O asemenea predispoziție a fost observată și la unele rase de câini, cum ar fi Ciobănescul german și Beagle. În funcție

de sex, se pare că boala este prevalentă la femele. Au fost raportate cazuri familiale, de obicei la gemeni, dar și la generații succesive.

Factorul imunologic pare să creeze predispoziție, facilitând instalarea sindroamelor lupice. Particularitatea imunologică cea mai semnificativă, constă în exacerbară imunității umorale, asociată cu deprimarea imunității celulare. Un număr considerabil de anticorpi au fost puși în evidență în serul și țesuturile bolnavilor de LES: anticorpi antieritrocitari, antileucocitari, antitrombocitari, antimușchi neted, etc. Acești anticorpi aparțin principalelor clase de imunoglobuline (IgA, IgM, IgG). Câte odată ei aparțin unei singure clase (de regulă IgG), dar de obicei aparțin mai multora.

În centrul imunopatogenezei se situează **fenomenul LE**, ce constă în formarea de celule de lupus eritematos, cunoscute sub numele de celule LE. Acestea sunt de fapt polimorfonucleare care conțin în citoplasmă, alături de nucleul propriu și nucleii alterați ai altor celule. Din această cauză celulele LE sunt mai mari decât celelalte neutrofile.

Formarea celulelor LE depinde de prezența unor anticorpi antinucleari, capabili să reacționeze cu nucleoproteinele. Acești anticorpi aparțin clasei IgG și sunt anti-AND și antinucleoproteine (factorul LE). Celulele LE sunt considerate drept caracteristice pentru diagnosticul pozitiv al LES, însă pot să apară inconstant și în alte boli cu componentă imună.

Boala lupică este considerată o colagenoză, fiind inclusă în grupul bolilor autoimune ale țesutului conjunctiv. **Clinic** se manifestă ca o boală generală cu manifestări foarte variate. Din multitudinea de leziuni înregistrate, 4 sunt în mod deosebit importante: cutanate, renale, sinoviale și serozite. La câini sunt mai bine exprimate leziunile de poliartrită și dermatită. Acestea din urmă evoluează cu producerea unor zone de alopecie (mai ales la extremitatea cefalică) însoțită de hiupercheratoză, uneori de aspect verucos.

Din multitudinea de autoanticorpi descriși în LED tipurile cele mai frecvente și cele mai semnificative pentru diagnostic sunt cele ale anticorpilor antinucleari. După specificitățile demonstrate, acești anticorpi sunt: antinucleoproteina, anti-ADN nativ (bicatenar) sau denaturat (monocatenar), anti-ARN, anticentromer, antihistone. În afara de Atc. antinucleari, în lupus sau mai descris anticorpi antieritrocitari, antitrombocitari, anticoagulantul lupic, factorul reumatoid sau anticorpii anticardioplinici (care produc reacțiile fals-pozitive pentru sifilis).

Prezența anticorpilor antinucleari poate fi pusă în evidență prin mai multe metode:

- **examenul frotiurilor de sânge periferic**, evidențiază în 70-90% din cazuri prezența clonelor Hargraves (celulele LE): polimorfonucleare care au fagocitat nuclei alterați ai altor polimorfonucleare. Acești nuclei se prezintă sub forma unor mase amorfe palid-liliachii (corpi hematoxiliniici). Fenomenul nucleofagocitozei poate fi reprodus în vitro prin incubarea leucocitelor normale cu ser bolnav (fenomenul Hazerick). Formarea corpior hematoxiliniici este rezultatul acțiunii Atc. antinucleoproteiniici asupra nucleilor-țintă, iar fagocitarea lor (cu formarea celulelor LE) este facilitată de fixarea secundară a complementului. Uneori pot fi surpinse imagini de rozete: corpi hematoxiliniici pe suprafața cărora au aderat mai multe polimorfonucleare. Corpi hematoxiliniici pot fi observați și în cupe tisulare. Celulele LE reprezintă un criteriu major de diagnostic.

- **imunofluorescența** evidențiază existența mai multor categorii de anticorpi antinucleari. Serul bolnavilor este aplicat pe celule hepatice sau renale de șobolan. Fixarea autoanticorpior pe nuclei este demonstrată cu ajutorul unui antiser fluorescent. Pot fi observate 4 modele de distribuție a fluorescenței: omogen (traduce prezența de anticorpi anti-dezoxinucleoproteine), periferic (evocă Atc. anti-ADN), pătat (evidențiază Atc. solubili anti-nucleari) și nucleolar. Prezența Atc. anti-nucleari este cvasi-constantă în puseul acut, evolutiv al bolii. Testul poate fi pozitiv și în alte boli autoimune: poliartrita reumatoidă, sclerodermie, hepatita lupoidă, ciroza biliară primitivă, miastenien, anemie hemolitică autoimună, unele limfoame. De aceea diagnosticul de LED nu se poate sprijini în exclusivitate pe acest test.

- **dozarea radioimună (testul Farr)** este metoda cea mai specifică. Preparate marcate (cu C^{14} sau cu I^{125}) de ADN-nativ, de ADN denaturat sau de ARN sunt incubate cu serul bolnavului. Complexele formate de aceste substraturi cu Atc. specifici sunt separate, iar măsurarea radioactivității evaluează concentrația Atc. respectivi.

- **hemaglutinarea** evidențiază Atc. anti-antigene nucleare solubile noncromatiniene (Atg.Sm). Acești anticorpi sunt foarte specifici pentru LED, dar incidența lor nu depășește 30% din cazuri.

Este de reținut că Atc. antinucleari (AAN) nu sunt specifici pentru LED. Ei pot exista în titruri mici, fără răsunet clinic, la vârstnici, pot însoți alte colagenoze sau boli cu substrat autoimun (lupusul discoidal, poliartrita reumatoidă, sindromul Sjogren, sclerodermie, hepatita cronică activă) sau pot surveni după unele tratamente (hidralozina,

izoniazida, procainamida, beta blocantele; care induc așa numitul *lupus iatrogen*).

Mecanismele care stau la baza acestor alterări imune sunt imperfect cunoscute. Două argumente ar sprijini ipoteza asocierii LED cu un anumit teren genetic: frecvența mai mare a LED la persoane purtătoare ale Atg. CMH DRw2 și DRw3 și modelul natural al șoarecilor de rasă NZB, care dezvoltă spontan pe măsură ce avansează în vârstă, o succesiune de tulburări autoimune printre care anemie hemolitică cu test Coombs pozitiv, anticorpi anti-ADN și anticorpi anti-LT cu deprimarea funcției supresoare. Aceasta explică augmentarea răspunsurilor anticorpice printre care s-ar plasa și producția auto-Atc. semnalată mai sus. Existența hipergamaglobulinemiei în asocieri cu scăderea numărului LT circulante sugerează că lupusul uman reproduce în bună parte pe cel murin. LB sunt hiperactive în puseele clinice ale LED: proliferarea lor în cultură este de 10 ori mai mare decât aceea a LB normale. Cultivarea LT normale în prezența unor seruri fluorescente (normale și lupice) arată o marcarea puternică a limfocitelor incubate cu ser bolnav, demonstrând existența de anticorpi anti-LT. Acești anticorpi ar explica reducerea numărului de LT din fazele active ale evoluției. Alte observații au obiectivat că această depleție afectează LTs. În felul acesta se încheie un cerc vicios: hiperactivitate B (semiautonomă nativă)-disfuncția reglării T (prin scăderea Ts)- pierderea controlului asupra limfocitelor B (cu autoîntreținerea procesului) și asupra clonelor autoreactive (cu apariția auto-Atc.descriși). Factorii declanșatori posibili ai acestui *mecanism circular* ar putea fi infecțiile (mai ales cele virale) asistate de profilul hormonal (hormonii feminini accentuează răspunsurile imune și explică de ce aproape 90% din pacienții cu LED sunt femei). Sarcina este un factor agravant major al evoluției în strânsă legătură cu oscilațiile cortizolemiei. Creșterea acesteia în ultima jumătate a sarcinii ar avea rol protectiv. În schimb prăbușirea sa după delivrență explică agravările care survin frecvent în postpartum.

În privința tratamentului se precizează că nu există o terapie etiologică. Se administrează produse care să diminueze producerea de anticorpi și combaterea proceselor inflamatorii (corticosteroizi, medicamente imunosupresive). La acestea se pot asocia levamisolul și *hormonul timic*. Ameliorarea spectaculoasă a leziunilor din LES se obține prin plasmoforeza, procedeu ce duce la îndepărtarea din ser a unor componente și a complexelor imune, considerate ca principal

factor lezant. Cu toate acestea LED rămâne o boală cu un prognostic nefavorabil.

11.5.2. POLIARTRITA REUMATOIDĂ

Numită și poliartrita cronică evolutivă, artrita reumatoidă este o boală autoimună cu localizări mai frecvente la nivelul articulațiilor și tecilor sinoviale. Boala începe cu o inflamație cronică nesupurativă, ce duce cu timpul la instalarea de leziuni distructive și deformante ale articulațiilor. În această perioadă leziunile distructive care erodează suprafețele articulare sunt de aspect histologic granulomatos, iar sinoviala se îngroașe și este puternic infiltrată cu limfocite și plasmocite. Inflamațiile articulare au caracterul unei reacții granulomatoase, în care sunt bogat reprezentate infiltratele limfoplasmocitare și macrofagele.

Leziunile nearticulare constau din vasculită cu localizări viscerale și tisulare diverse, precum și miocardită, serozită și chiar leziuni de neuropatie periferică.

Modificările morfologice tisulare sunt însoțite de perturbări complexe și severe ale mecanismelor umorale și celulare. Anomalia imună cea mai semnificativă și cu rol în geneza leziunilor, o constituie autoanticorpii anti-Ig, denumiți în trecut, **factorul reumatoid**. Anticorpii anti-Ig, sunt de tip **IgM** și **IgG**. În această boală se precizează că imunoglobulinele, care au în mod normal funcție de anticorpi, joacă rol de antigen și provoacă un răspuns imun, prin producerea de anticorpi anti-Ig. Cantitatea mare de factor reumatoid din lichidul sinovial, comparativ cu cea serică, precum și prezența lui în cavitatea articulară, chiar în absența sa din ser, sugerează că articulația este sursa principală a acestui factor.

Atc. antinucleari care se asociază mult mai rar, sunt de 2 tipuri: comuni (antinucleoproteine sau anti-ADN nativ) în 80% din cazuri și particulari (RAP+ *Rheumatoid arthritis precipitin*) cu o specificitate pentru un Atg., oarecum caracteristic PR (*Rheumatoid arthritis nuclear antigen*). Factorii reumatoizi sunt anticorpi de clasa IgM (curent) sau IgG (rar) cu specificitate împotriva determinantilor Fc ai IgG (umane sau animale). FR de tip IgM pot fi diagnosticați prin reacții de aglutinare in vitro a unor particule învelite cu IgG. Aceste particule pot fi eritrocite de oaie (testul Waaler-Rose) bentonită sau latex. FR de tip IgG pot fi detectați prin aglutinarea unor Er Rh.⁺, sensibilizate prin incubarea lor cu serul bolnavului și puse în contact cu un antiser anti-D. FR pot fi prezenți și în alte boli imune sau infecțioase (lepră, tuberculoză, leishmanioză) sau pot fi induși experimental cu antigene bacteriene (streptolizină S)

sau cu alte microorganisme. Cele de mai sus sugerează o relație cauzală între PR și o stimulare imună cronică produsă la rândul ei de o presiune antigenică de lungă durată.

Diagnosticul pozitiv se stabilește prin:

✚ **determinarea factorului reumatoid** în ser și sinovie (testul Waaler-Rose); evidențierea se face prin reacții de aglutinare a unor particule (eritrocite, latex), învelite în IgG; se precizează că 60-75% din câini cu artrită reumatoidă reacționează pozitiv cu titruri mai mari de 1/16;

✚ **examenul citologic al lichidului sinovial**; se constată 10000-40000 leucocite/ml, între ele fiind menționat prezența "ragocitelor, celule din categoria polinuclearelor, care conțin incluzii intracitoplasmice, rotunjite de culoare verzuie, asemănătoare boabelor de strugure (Pouchelon-1976, cit.Ghergariu).

Tratamentul se bazează pe medicație antiinflamatorie și în unele situații imunosupresivă. Salicilatul, asociat cu doze mici de corticosteroizi, poate avea un efect benefic. Se apreciază că salicilatul ar reduce prostaglandinele care în mod constant sunt crescute în sinoviala reumatoidă. Corticosteroizii sunt contraindicați, datorită accentuării distrucțiilor asupra cartilajului articular.

11.5.3. REUMATISMUL ARTICULAR (FEBRA REUMATISMALĂ)

Numită și artrita reumatismală, boala este definită ca un proces inflamator cu evoluție acută sau cronică, cu afectarea în principal a țesuturilor articulare și periarticulare dar și cu implicarea altor țesuturi, mai frecvent cel cardiac. La animale boala poate a fi frecventă la miei, câini, porci și taurine, deși cazuri de artrită generalizată sunt destul de frecvent semnalate și la alte animale.

Etiologic, reumatismul articular, este singura boala inclusă în categoria bolilor de collagen, la care până în prezent se recunoaște intervenția unor agenți infecțioși. Un rol deosebit se pare că îl au diferite specii de streptococi hemolitici. Din leziunile întâlnite la porc se izolează *Streptococcus suis* și *Erysipelothrix insidiosa*. Nu se exclude și posibila intervenție a unor virusuri.

În **patogeneza** intervenția unui mecanism imun a fost de mult timp presupusă. S-au evidențiat anticorpii față de componentele streptococice (antistreptolizină, antistreptokinază, antistreptodornază, antiproteina M) și s-a dovedit că unii din acești anticorpi reacționează cu țesutul miocardic. La om s-a dovedit că

există o înrudire antigenică între constituienții streptococului și respectiv o glicoproteină în valvulele cardiace, cartilajul articular și aorta, ceea ce ar determina o reacție imună îndreptată deopotrivă și contra streptococului și împotriva propriilor țesuturi (Gruis – 1979, cit. Ghergariu). Leziunile se instalează ca urmare a producerii de complexe imune, cât și a intervenției hialuronidazei și sunt sterile sub raport bacteriologic.

Clinic se constată disfuncție locomotorie, articulațiile fiind tumefiate, calde, direroase. Concomitent pot fi surprinse simptome de tonsilită, endocardită, mamică, glomerulonefrită sau altele. La om se descriu, și tulburări nervoase, consecutiv reacției dintre autoanticorpi cu celulele din ganglionii bazali, anticorpi ce au specificitate față de antigenele din peretele streptococilor.

Diagnosticul pozitiv clinic se delimitează la precizarea unei artrite acute. Diferențierea de alte artrite septice, se face prin examen bacteriologic. Trebuie menționat că infecția poate iniția leziuni articulare, care ulterior se dezvoltă pe un fond de reacție alergică. Se mai pot efectua investigații imunologice (dozarea complexelor imune) și examen histopatologic care poate releva infiltrații focale cu limfocite, plasmocite și macrofage.

Indiferent de modalitatea de producere a leziunilor, important este că toate aceste manifestări apar în relație directă cu o infecție, cel mai adesea streptococică și că printr-o **terapie intensivă** cu anticobiopice de tip penicilinic, regresează semnificativ leziunile cardiace și se ameliorează sau se previn cele articulare. În stadiile tardive, însoțite de anchiloze articulare și endocardite cronice, rezultatele terapeutice sunt iluzorii.

11.5.4. TIROIDITA HASHIMOTO este o boală autoimună caracterizată prin prezența mai multor tipuri de anticorpi antitiroidieni: antitireoglobulină, antimicrosomiali, anticoloidali, antimembranari. Glanda apare larg infiltrată cu celule limfoide. Acestea ar desfășura o activitate citotoxică, posibil de tip ADCC și ar produce remanierea glandei cu efecte funcționale severe: mixedem sau mai rar, hipertiroidie. O boală spontană cu mecanism identic a fost observată la puii obezi, ridicând problema unui control genetic. La om, boala este asociată cu antigenele CMH-B8 și CMH-DR3.

Cazurile familiare sunt relativ frecvente. Există o corelație semnificativă cu anemia Biermer: 30% din bolnavi cu tiroidită au autoanticorpi anticelule parietale gastrice sau anti-factor intrinsec și jumătate din biermerieni produc anticorpi antitiroidieni. S-au citat

perechi de gemeni homozigoți în care un frate suferă de tiroidită autoimună și celălalt de boală Basedow. Aceasta sugerează că în aceste 2 boli operează mecanisme autoimune relativ înrudite. Serul bolnavilor cu tireotxicoză induce in vitro formare și acumulare de coloid în celulele tiroidiene cu care este incubat. Copii născuți de mame basedowiene prezintă manifestări transitorii de tireotxicoză.

Autoanticorpii de clasă IgG din sângele mamei, străbat placenta și determină manifestări de boală nou-născutului o perioadă de timp egală cu durata lor de viață în plasmă. Atc. antitiroidieni din boală Basedow produc un efect asemănător celui al hormonului tireostimulant hipofizar. Deoarece in vitro durata acțiunii lor asupra substratului este mult mai lungă decât aceea a TSH, acești Atc. au primit numele de *long acting thyroid stimulators* (LATS).

La animale sunt mai bine cunoscute tiroiditele autoimune la câini și la linia "obeză de găini Leghorn. La păsări tiroida este infiltrată masiv cu celule limfocitare, între care predomină plasmocitele, în timp ce în ser se găsesc anticorpi antitireoglobulinici. Păsările sunt subdezvoltate, producția de ouă este scăzută, dar au în schimb depozite mari de grăsime subcutanată și abdominală.

11.5.5. ORHITA AUTOIMUNĂ

Capacitatea imunogenă omologă și autologă a spermatozoizilor este cunoscută îndă de la începutul acestui secol. Faptul că spermatozoizii îndeplinesc condiții de antigenitate a fost demonstrat de Marica și col. (1977-1980) care reușesc să obțină anticorpi în urma inoculării experimentale la animale (iepuri și vaci), cât și evidențierea existenței anticorpilor antispermatici la vaci cu însămânșări repetate, aspect care justifică acceptarea ideii de instalare a unei infecundități de natură imunologică. Chiar și unele avorturi pot să se producă prin mecanisme imunologice.

Pe de altă parte, se cunoaște că în testicul se găsesc componente (macromoleculele claustrate în anumite zone), care în condiții fiziologice nu sunt vehiculate în organism. În cazuri patologice are loc deversarea lor în circulație și în urma interacțiunii cu celulele limfocide, care nu recunosc drept self acești antigeni, se declanșează față de ei un răspuns autoimun.

La om orhita posturliană (după oreion-paratidita epidemică produsă de *Myxovirus parotiditis* sau virusul urlian) este considerată ca o afecțiune autoimună, deoarece debutul coincide cu răspunsul imun

maxim la virus, iar virusul nu este detectabil în țesutul testicular afectat.

Incidența orhitei este mai mare la adulți (20% din cazurile de parotirodilită urliană) față de băieți (1,5%), fenomen atribuit diferenței de maturitate sexuală și a unei probabilități crescute a apariției clonelor interzise la adult față de copil. S-a presupus că legătura cu parotidita ar putea fi rezultatul unui antigen specific de țesut cu determinanți comuni pentru cele două glande (parotidă și testicul), astfel încât un stimul antigenic de la parotida bolnavă ar activa o clonă interzisă latentă antitesticul, atunci când aceasta există. Cercetările clinice cu ajutorul tehnicilor de aglutinare au pus în evidență autoanticorpi antispermatici în sânge și plasma seminală, de tip IgG și IgA.

11.5.6. DIABETUL ZAHARAT (tipul I de diabet insulinodependent)

La om, diabetul zaharat (afecțiune a pancreasului endocrin, care se manifestă prin incapacitatea de a metaboliza glucoza) poate fi de două tipuri I și II. Tipul I reprezintă forma insulino-dependentă, întâlnită și la câine. Atât la om cât și la câine, diabetul are un caracter familial, transmisibil ereditar. La om, s-a stabilit chiar o relație între diabetul de tip I și un anumit marker antigenic leucocitar HLA, pe baza căruia boala ar putea fi diagnosticată. Patogeneza diabetului de tip I presupune distrugerea celulelor beta din pancreasul endocrin și incapacitatea organismului de a le regenera. În serul bolnavilor se decelează autoanticorpi anticelule beta, chiar cu mai mulți ani înaintea manifestării clinice a diabetului. S-a emis și o ipoteză după care factorul declanșator al diabetului de tip I ar fi un virus.

Natura autoimună a diabetului a fost, mai întâi, suspectată pe baza infiltrației masive cu mononucleare a insulelor lui Langerhans, ca în 1974, să fie puși în evidență prin imunofluorescență autoanticorpii antitissulari. Acești anticorpi reacționează cu antigenele citoplasmice ale celulelor α , β și δ din insulele lui Langerhans.

Diabetul zaharat este, la fel ca bolile precedente, expresia unor tulburări autoimune sub control genetic. Existența terenului genetic predispozant este argumentată de următoarele observații: asocierea frecventă între diabet și alte boli autoimune (anemia Biermer, tiroidita și boala Basedow, miastenie); concordanța apariției diabetului la gemeni monoziagoți. Efectele acestei predispoziții genetice ar fi instalarea unei stări de autoreacție latentă antitissulară în care ar fi implicate inițial mecanisme de tip celular. In vitro, extractele pancreatice induc activarea

și transformarea blastică a LT izolate de la subiecți susceptibili. LT recoltate de la șoarecii NOD (Non-obese diabetic), o rasă de șoareci care fac o boală asemănătoare cu diabetul uman de tip I, transferate la șoarecii sănătoși, preparați corespunzător produc alterări imune celulare, infiltrații limfoide masive în insulele Langerhans (*insulită*) și în final diabet. Toate aceste fenomene sunt blocate dacă animalele sunt tratate cu ciclosporină -A (care inhibă selectiv LT).

Insulita a fost observată și la om în faza latentă a diabetului în care studiile cu AcMo au relevat o stare de activare critică a limfocitelor expresie crescută a moleculelor CMH-DR și a mai multor receptori funcționali pentru IL₂, pentru transferină, pentru insulină. In vitro aceste LT au capacitatea să inhibe secreția de insulină a celulelor tisulare. Diabetul insulino-dependent pare deci o tulburare cu dezvoltare lentă. Un argument suplimentar în acest sens l-ar aduce observația conform căreia consanguinii normoglicemici ai diabeticilor reproduc aceleași alterări ale LT. Un prim efect al imunității celulare este *îngustarea* paletei de răspunsuri insulinice demonstrată prin probe de hiperglicemie provocată. Explicația acestei alterări ar fi o erodare progresivă a celulelor beta produsă prin efecte citotoxice tisulare. Cu timpul acest mecanism devine secundat de apariția unor anticorpi antitissulari anticelele beta cu diverse specificități (anticitoplasmatici, antimembranari). În această etapă boala este declarată, iar evoluția ei naturală duce la distrugerea cvasi completă a celulelor beta. În era terapiei preinsulinice durata medie de supraviețuire a bolnavilor era de circa 6 ani. Tratamente recente, încă în faza de studiu, cu droguri imunosupresoare (azatioprină) sau imunomodulatoare (ciclosporina A) au adus rezultate încurajatoare în stăpânirea evoluției.

11.5.7 MIASTENIA GRAVIS

Sub denumirea internațională unanim acceptată de *Myasthenia gravis* este desemnată o autoimunopatie neuromusculară, identificată până în prezent la om, câine și pisică. Ea constă într-o slăbire progresivă a musculaturii scheletice, ca urmare a unei defecțiuni în transmiterea comenzii nervoase mușchilor striati.

La câine, există o predispoziție de rasă și s-au descris și cazuri de transmitere congenitală și ereditară a bolii. La aceste rase (Terrier Kack Russell, Foxterrier și Spaniel Springer), există un deficit genetic care se exprimă printr-un număr redus de receptori pentru acetilcolină, la nivelul joncțiunilor neuromusculare.

Fondul autoimun al bolii constă în elaborarea de anticorpi față de receptorii pentru acetilcolină, de la nivelul plăcilor neuromusculare. Fig.62)

Transmiterea influxului nervos de la nervi la mușchi se realizează însă tosmăi prin acetilcolină. Dacă acest mediatir nu se mai poate fixa pe fibra musculară din cauza blocării prin anticorpi a receptorilor care-i sunt destinați, comanda nervoasă nu mai este receptată la nivelul mușchiului. Autoanticorprii induc leziuni postsinaptice ale membranei musculare prin activarea complementului și distrugerea receptorilor. Anticorprii mai pot provoca acest efect distructiv printr-o legare încrucișată a receptorilor din placa motorie, urmată de distrugerea lor prin lizozomi celulari. Consecutiv agresiunii autoimune, s-a constatat la om reducerea receptorilor, din numărul lor inițial, rămânând funcționali numai 30-50%. Efectul blocant al anticorpilor asupra receptorilor poate fi contracarat prin administrarea de anticolinesterază.

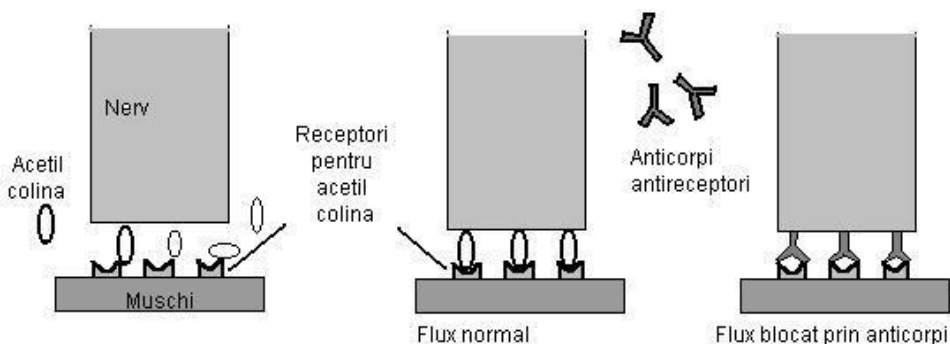


Fig. 62 Mecanismul patogenic în Myasthenia gravis , constând în blocarea prin autoanticorpi a receptorilor pentru acetilcolină de la nivelul joncțiunilor neuromusculare.

La animalele cu Myasthenia gravis se constată de obicei o hiperplazie a medularei timusului cu formarea de centri germinativi sau transformarea malignă a țesutului timic cu dezvoltarea unui timom. Aceste fenomene din partea timusului pot fi explicate pe baza faptului că în timusul normal se găsește o populație de celule mioide, precursori ale celulelor musculare striate, dotate cu receptori pentru acetilcolină, iar atacul autoimun împotriva acestora poate provoca leziunile timice menționate. În sens opus, modificările hiperplazice sau neoplazice de la nivelul timusului potențează , la rândul lor, mioastenia prin timopoetină, hormon cu efect blocant asupra activității

neuromusculare. În caz de hiperplazie sau timom, excesul de timopoetină va duce la agravarea bolii. Această intercondiționare a leziunilor timice cu cele neuromusculare este argumentată și de ameliorarea miasteniei la om în urma timentomectomiei.

Manifestarea clinică a bolii constă în oboselă și slăbiciune, chiar după efectuarea unui efort minim. La câine, myastenia are o tendință de autolimitare și o evoluție mai puțin gravă decât la om, cu toate că există mai multe șanse de a se complica cu citopenie, megaesofag, miozită și miocardită.

Diagnosticul este relativ ușor de stabilit pe baza slăbiciunii musculare și a redresării spectaculoase a acesteia prin administrarea de anticolinesteraze cu efect rapid, cum este cazul tensilonului (clorurii de edrofonium).

Tratamentul trebuie să aibă în vedere administrarea unei medicații anticolinesterazice de lungă durată. Substanțe cu bun efect terapeutic sunt piridostigmina și neostigmina. În medicina umană, s-au obținut unele rezultate cu corticosteroizi, ciclofosamidă și prin plasmafereză. La câine, se preferă tratamentul cu piridostigmină și prednisolon.

11.5.8. SINDROMUL GOODPASTURE este o glomerulonefrită asociată cu o pneumonie hemoptizantă. Imunofluorescența efectuată pe cupe de țesut renal evidențiază depunerea unor depozite liniare pe suprafața membranei bazale glomerulare (MGB). Depozitele sunt formate din Atc. anti-MGB +C'. Aceeași anticorpi sunt depistabili și în serul bolnavilor prin radioimunometrie. Atingerea pulmonară se explică prin existența unor determinanți comuni între MGB și MB pulmonară. Un factor de teren este incriminabil în apariția acestor Atc. nefrotoxici: majoritatea bolnavilor exprimă Atg.CMH DR2.

11.5.9. UVEITELE reprezintă un grup de afecțiuni care pot cuprinde irisul, corpii ciliari și choroidea. Leziunile inflamatorii pot fi independente sau pot apare în asociere cu alte boli cu substrat imunologic (LED, maladia Behcet, sarcoidoza). Asocierea cu un Atg.CMH B27 este frecventă în formele primitive. Patogeneza autoimună a acestor uveite a fost întrevăzută după ce au fost descifrate mecanismele implicate în alte afecțiuni oculare înrudite. Injectarea unui animal, într-un punct îndepărtat de ochi, cu extracte retiniene suplimentate cu un adjuvant produce o uveită autoimună experimentală (UAE), manifestată cu edem și o reacție granulomatoasă compusă inițial din limfocite T inductoare și polinucleare, iar ulterior din limfocite citotoxic-supresoare.

Principiul uveitogen din aceste extracte ar fi o glicoproteină retiniană, denumită proteina S. Oftalmia simpatcă este o uveită granulomatoasă umană, care apare după o plagă penetrantă oculară. Este corelată cu o hiperreactivitate a răspunsului celular față de Atg. oculare. Tulburarea imună este demonstrată de provocarea unor intradermoreacții extrem de intense la locul de administrare a Atg. specific. În plus s-a demonstrat în serul șobolanilor cu UAE sau al pacienților cu oftalmie simpatcă prezența unor Atc. antiproteină S. Rolul exact al acestei proteine rămâne de demonstrat, dar faptul că reacțiile majoritare antioculare sunt mediate de limfocite T a incitat introducerea ciclosporinei în terapia uveitelor. Rezultatele par a fi încurajatoare.

11.5.9.1. Uveita recurentă ecvină (Oftalmia periodică)

Cunoscută mai bine sub denumirea mai mult vehiculată de oftalmie periodică, este cea mai importantă afecțiune oculară a cabalinelor și cea mai frecventă cauză a cecității la această specie.

Etiologia ei, mult timp controversată și considerată ca polifactorială, s-a dovedit în ultimă instanță a avea o bază autoimună determinată de mimetismul antigenic dintre țesutul cornean și mai multe bacterii și paraziți, dintre care pe primul loc se află unele serotipuri ale speciei *Leptospira interrogans*. Argumentele care au permis admiterea leptospirelor ca factor etiologic esențial au constatat în observarea paralelismului dintre perioadele de agravare și remisie ale bolii, cu creșterea și diminuarea titrului anticorpilor antileptospirici din serul; cailor și în faptul experimental că în urma inoculării culturilor inactivate de leptospire, aparținând mai multor serovariante, s-au produs în interval de 10 zile leziuni de opacifiere a corneei, paralel cu apariția anticorpilor antileptospirici în ser. Ulterior, prin imunodifuzie și ELISA, s-a putut stabili înrudirea antigenică parțială între țesutul cornean și serotipurile respective de *L. interrogans*.

În **etiopatogenia** bolii, autogresiunea pornește de la reacția încrucișată între corneea și leptospire. Dar afară de leptospire, efecte similare cu aceasta o poate avea și o altă spirochetă- *Borrelia burgdorferi*, după cum și nematosul *Onchocerca cervicalis*.

Sub aspect anatomic, boala are caracterul unei uveite anterioare (iridociclite) recurente. Animalele manifestă fotofobie, blefarospasm și o secreție lacrimală abundentă. De la un atac la altul, care se succed periodic, gravitatea simptomelor și profunzimea leziunilor este crescândă și cuprinde progresiv celelalte țesuturi oculare până se ajunge la orbire. Histologic, se observă infiltrarea

irisului și a corpului ciliar cu limfocite și neutrofile, după cum și depuneri masive de fibrină.

Tratamentul simptomatic trebuie combinat cu administrarea de corticosteroizi pe cale generală și sub forma de inculări subconjunctivale.

11.5.10. ANEMIA PERNICIOASĂ: deficit al absorbției intestinale a vitaminei B₁₂ din cauză gastrică. Tulburarea primară ar fi atrofia mucoasei gatastrice care ar avea substrat autoimun. Sunt lezate în principal celulele care secretă acidul clorhidric și factorul intrinsec (F.I.). Absența F.I. care protejează vitamina B₁₂ împotriva acțiunii enzimelor enterale, explică deficitul absorbției. Scăderea absorbției poate fi demonstrată prin testul Schilling care se execută cu vitamina radiomarcată administrată p.o. Corectarea absorbției după o nouă administrare p.o. de vitamină marcată plus F.I., precizează natura exactă a tulburării. În serul bolnavilor s-au evidențiat anticorpi anticelule parietale gastrice (aproximativ 90% din cazuri) și anticorpi anti-F.I.. Aceștia din urmă sunt specifici pentru anemia pernicioasă. Ceilalți au fost depistați la normali (într-o proporție de cazuri care crește cu vârsta, de la 2% sub 20 ani la 15% peste 60 de ani), la consanguinii anemicilor, la basedowieni sau la mixedematoși. În submucoasa gastrică există infiltrate celulare în citoplasma cărora pot fi detectate prin imunofluorescență imunoglobuline. O intervenție posibilă a asocierii mecanismelor celulare este sugerată de inducția transformării blastice in vitro a limfocitelor bolnavului în prezența unui extract gastric.

11.5.11. ANEMIA HEMOLITICĂ AUTOIMUNĂ (AHAI). Auto-Atc interacționează cu Atg normale de *grup sanguin* de pe suprafața eritrocitelor (Er). Atc. pot avea afinitate optimă in vitro pentru Atg. eritrocitare la temperatura corpului (Atc. *la cald*) sau la +4°C (Atc.*la rece*). Atc. la cald sunt de clasă IgG, nefixatori de C' și au, în general, specificitate anti-Rh. Ei învelesc și provoacă hemoliza prin fenomenul de imunoaderență + fagocitoză mediată de macrofage purtătoare de receptori pentru Fc care rezidă în splină. Atc. la rece se atașează pe eritrocite la temperaturi scăzute împreună cu fracțiuni C_{1q} activate ale sistemului complement. La temperaturi mai ridicate acești Atc. se desprind de pe Er. dar lasă pe loc molecule de C' care amorsează calea *clasică* a activării acestui sistem biologic. Soarta eritrocitelor depinde de evoluția mecanismului complementului. Atc. la rece pot fi de clasă IgM sau IgG. Atc. la rece IgM au specificitatea anti-Ii. După desprinderea lor de pe aceste Atg. ei lasă la suprafața Er. molecule de C'₃ activat (C'_{3b}). Er.

învelite cu C'_{3b} se atașează (imunoaderență) pe celulele fagocitare care exprimă receptori pentru aceste molecule. Eritrofagocitoza mediată de C'_{3b} are loc în special în celulele Kupffer din ficat. Totodată moleculele de C'_{3b} sunt degradate activ de un inactivator specific care le scindează în 2 fragmente: C'_{3c} și C'_{3d} . Moleculele de C'_{3d} rămân atașate în continuare pe receptorii pentru C' de pe membrana Er. C'_{3d} exercită o dublă protecție a Er pe care le îmbracă: nu este recunoscut de nici o specie de fagocite (deoarece aceste celule nu posedă $R.C'_{3d}$) și blochează permanent receptorii eritrocitari, împiedicând atașarea de noi molecule de C'_3 . Prin aceasta ErC'_{3d} pot circula nestingherite. Al 2-lea mecanism prin care acționează auto-Atc. IgM este aglutinarea care este mai activă la rece. Temperatura până la care IgM rămân atașate pe Er desemnează un prag denumit *amplitudine termică*. În general acest prag este mai mic de 20°C . IgM cu amplitudine termică ridicată poate produce aglutinare și în vivo (moleculele stelate de IgM atașează mai multe Er și formează o rețea de punți care conectează între ele un număr mare de hematii). Aglutinarea in vivo are loc la periferia corpului și mai ales dacă bolnavul este expus la temperaturi scăzute. Ea provoacă obstrucții vasculare, manifestate prin acrocianoză, parestezii sau/și degenerări trofice tegumentare. Atc. la rece IgG au specificitatea anti-Er. Ei se atașează la rece pe Er împreună cu C' . La temperaturi mai înalte imunoglobulina se desprinde iar complementul își continuă activitatea până la constituirea complexului litic final ($C'_5\dots C'_9$). Acesta va provoca hemoliza intravasculară a Er. manifestată prin hemoglobinurie denumită *a frigore*, deoarece apare în crize de expunerea bolnavului la temperaturi joase.

Diagnosticul AHAI se bazează pe testul Coombs direct. În AHAI la cald testul este pozitiv cu ser antiglobulinic (total) și cu ser monospecific anti-Ig. În AHAI la rece cu Atc. IgM diagnosticul se bazează pe demonstrarea fenomenului de aglutinare la rece și pe evidențierea $Er.C'_{3d}^+$ care subzistă în sânge, cu ajutorul testului Coombs direct cu ser anticomplement. Atc. la rece de tip IgG se evidențiază prin testul Donath-Landsteiner; serul bolnavului, C' și eritrocite normale incubate împreună la gheață timp de 60 minute. După încălzirea probei la 37°C apare brusc hemoliza. Datorită acestui comportament în 2 timpi acești auto-Atc. au fost denumiți și *hemolizine bifazice*.

AHAI pot fi boli idiopatice sau secundare. Formele secundare apar asociate în general, cu infecții, colagenoze sau boli limfoproliferative maligne (limfoame, leucemie limfatică cronică, mielom multiplu....).

CAPITOLUL 12

SINDROAME DE IMUNDEFICIENȚĂ ȘI IMUNODEPRESIE

Confruntarea organismului animal cu o varietate largă de microorganisme unicelulare (bacterii, virusuri, levuri) sau cu diverși paraziți pluricelulari este permanentă. Imediat după naștere, nou-născutul începe să fie invadat de microorganisme ambientale în general nepatogene, care solicită intervenția mecanismelor de apărare nespecifice și specifice. Această colonizare cu floră nepatogenă nu reprezintă de fapt o infecție. În schimb contactul cu un microorganism patogen va duce la o stare de boală care va putea fi învinsă numai dacă mecanismele de apărare sunt eficiente.

Deficiența mecanismelor de apărare duce în mod inevitabil la contractarea unor infecții severe, din mediul exterior, dar de multe ori și cu germeni purtați de pacient. Germenii care nu reușesc să producă infecții decât la gazdele imunocompromise (de ex. *Listeria monocytogenes* sau *Pneumocystis carinii*) sunt denumiți germeni condiționat patogeni sau *oportuniști*. O condiție asemănătoare o prezintă unele infecții virale latente (de exemplu herpetice) care se *redeșteaptă* (se reactivizează) mai frecvent la subiecții cu imunodeficiență decât la populația generală (a normalilor). Gravitatea infecțiilor este dependentă de virulența patogenilor respectivi, de cantitatea de germeni, intensitatea inoculului, de modul prin care sunt depășite porțile de intrare, de influența rezistenței organismului-gază (de exemplu citomegalovirusul sau virusul HIV care induc imunosupresie), de starea biologică a bolnavului (organisme malnutrite sunt mult mai predispuse la infecții decât cele eutrofice).

Deficiența apărării trebuie deci suspectată la toți subiecții care, indiferent de vârstă, prezintă infecții recurente, persistente sau neobișnuite. Această deficiență poate fi primară (ereditară) sau secundară (dobândită) și poate interesa elementele componente ale

imunității specifice (limfocite) sau pe acelea ale apărării nespecifice (fagocitele și complementul).

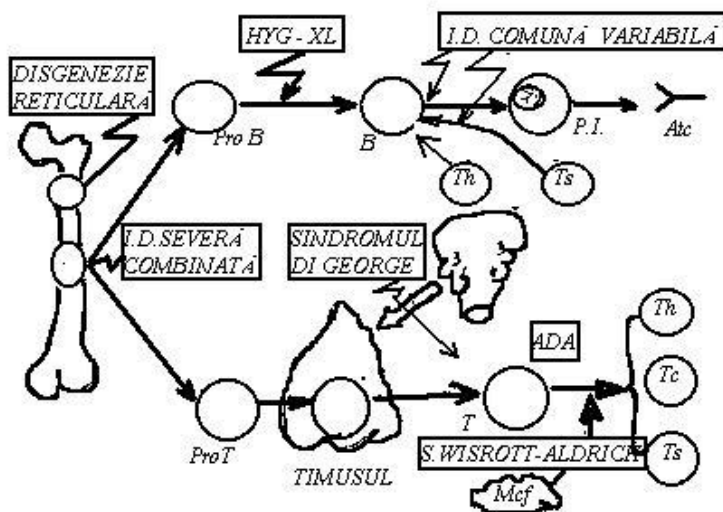
12.1. IMUNODEFICIENȚE PRIMARE (IDP) PRIN AFECTAREA CELULELOR LIMFOIDE

Se recunosc mai multe mecanisme care afectează funcțiile celulelor limfoide:

- ◆ blocarea diferențierii într-un anumit stadiu;
- ◆ tulburări ale activării celulelor diferențiate;
- ◆ alterarea interacțiunilor dintre celulele care cooperează în răspunsul imun.

Lista entităților morbide provocate de aceste anomalii nu este definitivă, deoarece cu ajutorul tehnologiilor de studiu recent introduse au fost identificate noi tipuri de IDP caracterizate prin tulburări la nivelul molecular (absența exprimării unor receptori sau a Atg.CMH pe limfocite, alterarea mecanismelor de transmitere intracelulară a semnalului eliberat de Atg. la nivelul receptorului specific, tulburarea unor gene reglatoare sau a unor enzime implicate în rearanjarea unor gene.).

În general, anomaliile diferențierii duc la scăderea gravă a producției celulelor funcționale (această scădere poate fi observată în organele limfoide ca depleție celulară sau în sânge ca limfopenie). (Fig.63)



**Fig. 63 Schema localizării leziunilor celulare în cazul unor imunodeficiențe primare HG-XL = hipogammaglobulinemie legată de sex (boala Bruton);
ADA = adenozin-dezaminază**

Programul genetic al diferențierii limfoide poate fi stopat foarte precoce (la nivelul celulelor stem, înainte ca acestea să se diferențieze în LB și LT sau în etape mai avansate ale ontogenezei liniilor de LB sau LT. Anomaliile diferențierii celulelor stem produc sindroamele de imunodeficiență combinată severă deoarece împiedică concomitent formarea LB și LT (disgenezia reticulară, agamaglobulinemia helvetică). (Fig.64)

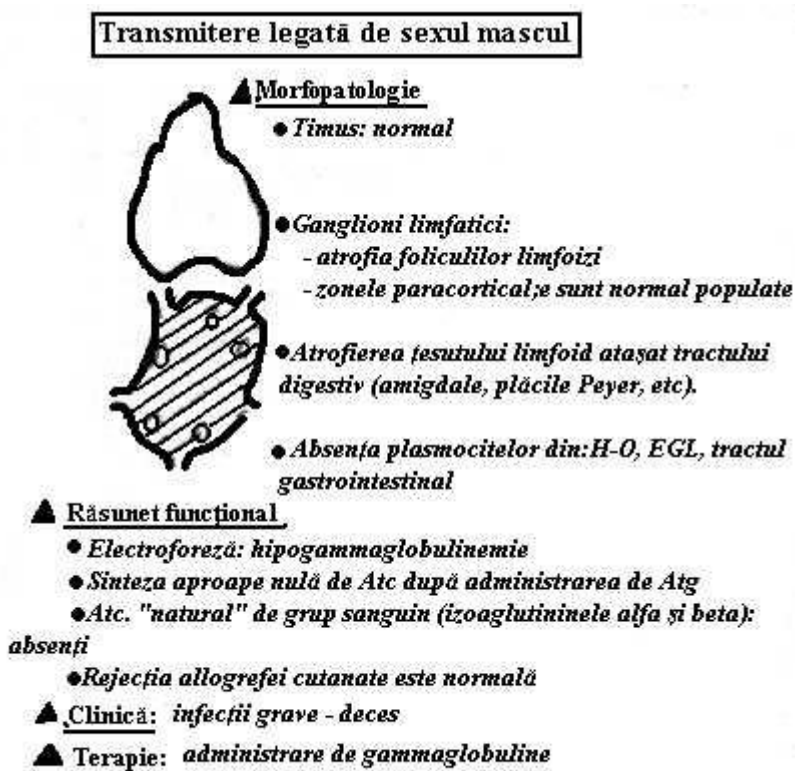


Fig. 64

AGAMMAGLOBULINEMIA Bruton

Anomaliile celulelor deja angajate în diferențiere afectează doar una din cele două populații de limfocite, dar răspunsul funcțional este

diferit. Deficitele de LB produc hipogamaglobulinemie. LB pot fi oprite în diferențiere dintr-o etapă extrem de timpurie ca în agamaglobulinemie legată de sex (Boala Bruton). Alte defecte ale maturării LB care afectează celulele mai mature se însoțesc de perturbarea fenomenului de comutare izotipică (switching) care se exprimă prin hipoagamaglobulinemie selectivă: deficit de IgG cu hiper-IgM, deficit izolat de IgM, deficit izolat de IgG și deficit izolat de IgA. Deficiența de IgA este cea mai frecventă hipoagamaglobulinemie selectivă. Tulburările imune sunt complexe și asociază frecvent formarea de auto-Atc: anti-IgA, anti-eritrocitari (cu anemie hemolitică autoimună), anti-nucleari (cu sindrom de tip LED), factor reumatoid (cu sindromul reumatoid). Fenomenele alergice, asociate cu o creștere a IgE, sunt frecvent citate. Absența IgA care contribuie la protecția mucoaselor explică frecvența mare a infecțiilor respiratorii și digestive la acești bolnavi.

Deficiența diferențierii LT, secundară ageneziei timice (sindromul di George), este redat în figura 65.

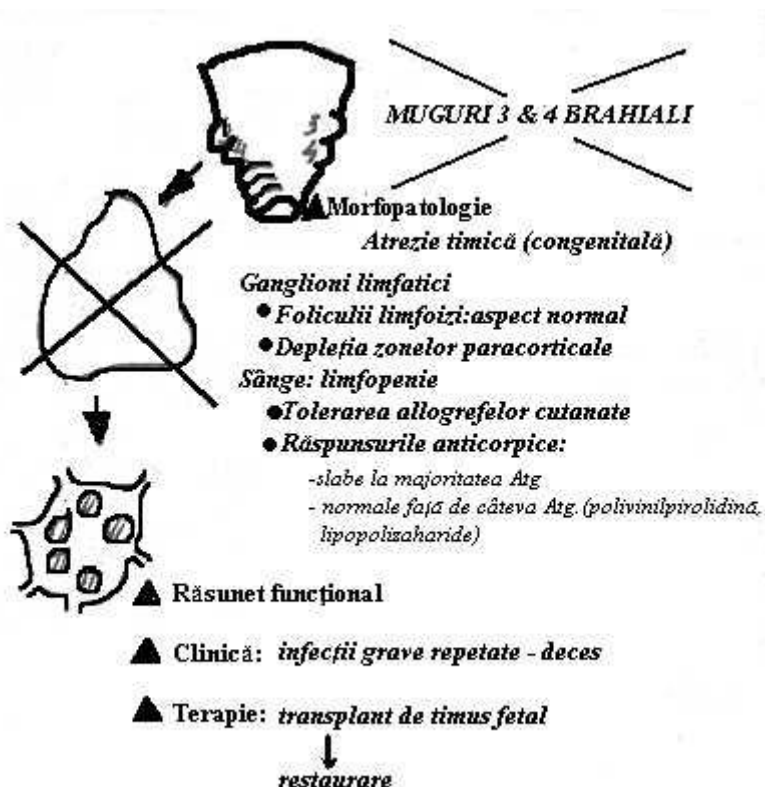


Fig. 65 Sindromul DI GEORGE (Atrezia timică congenitală)

Leziunile moleculare care provoacă alterarea unor funcții cum ar fi activarea sau cooperarea intercelulară nu se soldează în general cu depleție celulară la nivelul organelor limfoide sau cu limfopenie sanguină. S-au descris recent mai multe leziuni moleculare:

♦ **deficiența de ADA (adenozin dezaminază).** Absența enzimei permite acumularea intracelulară a unor metaboliți (adenozină, AMP, ADP, ATP) și a derivaților lor, care au efecte toxice asupra fenomenului de activare și de multiplicare ale LimfociteT și B. ID care rezultă este severă și afectează ambele sisteme (humoral și celular). Pentru această boală au fost imaginate 2 modele de terapie biologică specifică: administrarea repetată a enzimei, care interceptează adenzina difuzată în spațiul extracelular și o transformă în dezoxi-inozină netoxică și injectarea bolnavilor cu limfocite autologe în care s-a inserat o genă ADA normală (BLAESE și ANDERSON, 1990).

♦ **deficiența exprimării moleculelor CMH de clasa I-a și II-a** este secundară lipsei producerii tipurilor specifice de ARNm. Antrenează un defect de cooperare celulară cu absența răspunsurilor de tip celular. S-au descris 2 modele moleculare: deficiența izolată a exprimării Atg.CMH de clasa I (*sindromul limfocitelor dezgolate*) și deficiența asociată a moleculelor de clasa I și a II-a.

În mod normal, exprimarea genelor CMH este reglată de produsele altor gene care sunt plasate la distanță în genomul celular (transactivare). Deficiența transactivării reprezintă leziunea moleculară din această boală. Infecțiile apar repede după naștere (candidoză orală, pneumonii, diarei rebele). Funcțiile limfocitelor T sunt deprimare. Aceasta explică aspectele care caracterizează populația B: absența plasmocitelor tisulare, în contrast cu un număr normal de limfocite B circulante, scăderea titrurilor serice de IgM și IgA și răspunsurilor anticorpice după stimulare.

♦ **deficiența de exprimare a receptorului pentru IL2** pe suprafața LimfociteT, care alterează mecanismele activărilor celulare la mai multe niveluri.

♦ **deficiența exprimării unor molecule de adeziune** (*LIMFOCITEA₁*= *lymphocyte function-associated antigen*). LIMFOCITEA₁ împreună cu alte proteine de adeziune formează o familie de proteine funcționale denumite *integrine*. Ele sunt formate dintr-un lanț alimfocitea care diferă de la o proteină la alta și un lanț beta care este identic pentru toate proteinele familiei. Deficiența constă în tulburarea producerii lanțului beta. Deoarece proteinele de adeziune sunt

exprimate și de Limfocite și de leucocite deficitul de apărare este complex, perturbând atât cooperarea celulară în cadrul răspunsurilor T efectoare cât și aderența, chimiotactismul și fagocitoza polinuclearelor;

♦ **alterarea exprimării pe Limfocite. a complexului funcțional** format din receptorul pentru Atg.(Ti) + CD3 produce o incapacitate a LimfociteT de a recepționa semnalele emise de Atg. specific.

Aspecte clinice generale observate în IDP ale limfocitelor

Practic vorbind, toate deficiențele primare ale LimfociteB, cât și o mare parte a deficiențelor primare ale LimfociteT se exteriorizează printr-o hipogamaglobulinemie (hyG). Această hyG care însoțește deficiențele LimfociteT reflectă de fapt perturbarea mecanismului de cooperare T - B, necesar producerii de Atc. împotriva Atg. timo-dependente.

Deficitul producției de Atc. poate fi global (pan-hyG) sau selectiv (limitat la o clasă sau subclasă de Ig). Manifestările clinice ale hyG sunt infecțiile recurente, care, în imensa majoritate a cazurilor, afectează tractul respirator.

Agenții patogeni cei mai frecvenți izolați sunt bacteriile piogene (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*). Pacienții cu anticorpogeneză deficitară nu prezintă o susceptibilitate deosebită pentru infecții virale sau fungice dacă nu au concomitent și o alterare a imunității celulare. Imediat după naștere, noi-născuții imunodeficitari sunt apărați de Atc. materni (IgG) care au străbătut placenta. Din acest motiv infecțiile severe și recurente încep să se manifeste de abia după ce încetează această protecție imunologică pasivă.

Deficiențele izolate ale imunității de tip celular (T-dependentă) sunt rare. Ele se caracterizează prin dominanța infecțiilor cu agenți intracelulari (mycobacterii, virusuri, fungi, paraziți), mulți dintre ei fiind condiționat patogeni (oportuniști). Redesteptarea unor infecții latente (de ex. cu virus zosterian) este de asemeni posibilă. Spre deosebire de cazurile cu ID umorală, în tulburările primare T-dependente protecția transferată pasiv de la mamă nu este posibilă: infecțiile pot debuta din acest motiv la foarte scurt timp după naștere. Formele de boală infecțioasă sunt severe și adesea fatale.

Imunizarea cu vaccinuri din germeni vii atenuați este formal contraindicată la acești bolnavi deoarece poate fi urmată de infecție postvaccinală fatală ca urmare a neeliminării patogenilor respectivi.

Bolnavii cu ID T-dependentă se debarasează cu dificultate de celulele străine. Acest comportament specific explică 3 situații:

- ☉ posibilitatea (din fericire rară) ca transfuziile cu sânge integral să provoace reacția de grefă - contra-gazdă, generată de LimfociteT transfuzate, care reușesc să supraviețuiască, să prolifereze și să reacționeze împotriva Atg. de histocompatibilitate ale gazdei receptoare (de aici ideea practică de a nu recurge la transfuzii pentru corectarea unei anemii decât în cazuri bine selectate și numai sub forma administrărilor de eritrocite spălate sau, și mai bine, a transfuziilor cu suspensii de eritrocite deleucocitizate prin filtrarea pe vată sau pe acetat de celuloză);

- ☉ riscul crescut (în comparație cu subiecții normali) de apariție a unor boli maligne;

- ☉ eliminarea lentă sau acceptarea allogrefelor. Acest aspect este exploatabil, ca metodă de investigare în clinică a ID mediate celular, sau în scop terapeutic încercări de grefare de timus fetal sau de celule stem limfoide.

Elementele de bază pentru diagnostic sunt:

1. Evaluări globale: numărul absolut de limfocite circulante, titrul γ G serice;

2. Evaluarea răspunsului umoral: dozarea Ig serice:

- ☉ evidențiază hyG globale sau unele hyG selective grosiere (N.B.: niciodată nu apare absența completă a Ig: chiar și în scăderile cele mai severe persistă urme detectabile de IgG, IgM sau IgA);

- ☉ nu evidențiază cu exactitate anumite hyG selective. De ex. 70% din nivelurile globale ale IgG serice se datoresc subclasei de IgG₁; în timp ce activitatea de Atc împotriva unor anumite Atg. poate fi legată de altă subclasă. Subiecții cu deficiența producției de IgG₂ de ex. vor face infecții pneumococice frecvente (Atc. IgG₂ domină printre speciile de Atc. antipneumococ), dar diagnosticul acestei deficiențe selective poate fi ratat la investigarea globală, dacă nu sunt scăzute concomitent și nivelurile IgG₁. Metoda curentă pentru dozare Ig serice se numește *imunodifuzie radială simplă* Mancini (IDRS). Principiul acestei metode este imunoprecipitarea (atunci când un Atg. și Atc. său specific sunt incubate împreună in vitro, formează precipitate dacă concentrațiile lor reciproce sunt optime). În IDRS Mancini cei doi reactanți sunt Ig din serul bolnavului (care joacă rol de Atg) și un antiser antilanturi grele de Ig umane (antigama, antimiu și antialimfocitea). Antiserul este înglobat în agar. Mixtura antiser agar este întinsă în strat subțire și egal pe fundul

unei plăci Petri. Se lucrează în paralel cu 3 plăci Petri: agar + antigama, agar + antimiui, agar + antialimfocitea. În stratul de agar se sapă din loc în loc un număr de godeuri. Un godeu (martorul) va fi umplut cu un ser *standard* (cu o concentrație cunoscută de Ig specifică antiserului înglobat în stratul de agar al plăcii respective). Celelalte godeuri vor fi umplute cu seruri ale bolnavilor de testat Atg., (aici Ig serică) difuzează radier în agarul care mărginește godeul respectiv. În punctul în care se realizează concentrațiile echivalente cu Atc. din antiser se produce imunoprecipitarea. Aceasta va avea aspect circular. Măsurarea diametrelor inelelor de precipitare și compararea lor cu diametrul *standard* poate fi convertită cu ajutorul unei scale în unități de mărime pentru determinarea cantității de Ig din serul de cercetat.

IDRS este o metodă relativ sensibilă (*simte* diferențe de aprox. 5 mg/l) și destul de fiabilă:

- ◆ determinarea titrurilor unor Atc. *permanenți*: ASLO izoaglutininelor naturale alimfocitea și beta;
- ◆ determinarea răspunsului anticorpice după administrarea unui antigen nenociv;
- ◆ aprecierea procentului de LimfociteB circulante (testul rozetelor EAC);

3. Determinarea tulburărilor în linia celulară T:

- ◆ testul rozetelor E
- ◆ evaluarea LimfociteTh și Ts circulante (testări cu anticorpi monoclonali anti-CD4 și respectiv anti CD8).
- ◆ intradermoreacții cu Atg. specifice răspunsului celular (PPD, candidină, trichophiton).
- ◆ teste de transformare blastice in vitro după stimularea cu PPD sau alți mitogeni.

Elemente de terapie:

🌀 identificarea germenilor și antibioterapia țintită;

🛠 substituția specifică:

- ✓ aport de Ig: - perfuzii cu plasmă proaspăt congelată 10-15 ml/Kg corp (repetată la 3 săptăm.)
- ✓ administrare de preparate speciale de Ig injectabile i.v. (încărcare cu 50 mg/Kg/zi x 5 zile apoi 25 mg/Kg săptămânal pentru menținerea unui titru de IgG peste 2g/l).
- ✓ aport de factori timici solubili (alternativă a grefei de timus)

✚ restaurarea imunității:

- ✓ grefe de MO (în hipogamaglobulinemia Bruton sau în ID severe combinate); grefe de timus sau de ficat fetal (în ID timice pure). Risc major *reacție de grefă-contra-gazdă*.

12.2. DEFICITE PRIMARE ALE FAGOCITELOR ȘI COMPLEMENTULUI

Imunitatea umorală este reprezentată de anticorpo-sinteză și de mecanismele efectoare prin care sunt eliminate complexe Atg-Atc:

- ◆ ***fagocitarea complexelor imune***
- ◆ ***liza Atg- țintă cu ajutorul C'***

Această strânsă interdependență între imunitatea umorală specifică și mecanismele efectoare nespecifice explică similitudinile clinice observate în cazul anomaliilor celor două condiții.

Anomaliile neutrofilelor pot fi cantitative (frecvent) sau calitative (rar).

Neutropenia este definită prin valori absolute mai mici de $1,5 \times 10^9/1$ (N.B.= valorile mai mici de $0,5 \times 10^9/1$ reprezintă condiții critice de risc maxim pentru contractarea unor infecții fatale). În practica clinică, imensa majoritate a neutropeniilor sunt dobândite (secundare leucemiilor acute, după administrarea de medicamente citostatice mielodepresive, în cadrul aplaziilor medulare de diverse etiologii, neutropenii autoimune, etc.). Formele primare de neutropenie sunt foarte rare: neutropenia cronică benignă, neutropenia clinică sunt entitățile mai bine conturate.

Anomaliile funcționale (calitative) primare ale neutrofilelor pot afecta motilitatea, chimiotactismul, capacitatea de fagocitoză și de bactericidie. Aceste tulburări se pot asocia în diverse combinații. Afecțiunea cea mai bine caracterizată este granulomatoza septică cronică. Sub această denumire sunt incluse mai multe condiții cu transmitere genetică diferită dar care au în comun un defect de producție de radicali peroxidici în cursul fagocitozei. Se presupune că această tulburare metabolică este rezultatul deficienței de NADPH-oxidază. Rezultatul final este scăderea capacității de a ucide bacteriile peroxidazo-negative fagocitate. Acestea supraviețuiesc și proliferază în mediul intracelular, care le protejează împotriva acțiunii Atc. și a majorității antibioticelor. Manifestările clinice curente sunt infecții prelungite și recurente, în general stafilococice, care afectează cel mai frecvent pielea și mucoasele, dar pot fi însoțite de adenite supurate sau

de abcese cronice și care sunt prost influențate de antibioterapie. Diagnosticul se bazează pe demonstrarea inabilității neutrofilelor activate de a reduce sărurile de tetrazolium. Această reducere se însoțește de virarea culorii substanței din galben în albstru și necesită formarea intracelulară a peroxizilor. (Testul NBT= nitroblue tetrazolium).

Anomaliile complementului. Sistemul complementului (C') este format din circa 20 de proteine plasmatice (*componente*) produse în marea lor majoritate de către Mcf hepatice sub formă inactivă. Toate componentele sistemului se comportă ca proteine de fază acută: rata sintezei lor se accentuează în cursul infecțiilor sau al altor injurii care promovează activarea sistemului. Din punct de vedere molecular activarea unui factor al C' înseamnă o clivare enzimatică în două fragmente: fragmente mici (a) sunt în general implicate în producerea unei reacții inflamatorii locale în timp ce fragmentele mari (b) posedă un situs de atașare (pe membrane celulare sau pe complexe formate din asocierea mai multor componente ale C') și un situs enzimatic care produce clivarea (activarea) altui component al C'. Aceste activări se produc într-o ordine predeterminată (*în cascadă*), Elementul crucial al cascadei este activarea lui C'₃ cu scindarea sa în două fragmente: C'_{3a} cu proprietăți chemotactice și *anafilatoxice* (degranularea mastocitelor- eliberarea histaminei- creșterea permeabilității vasculare) și C'_{3b} cu proprietăți enzimatică care declanșează activarea secvențelor distale (C'₅- C'₉). Activarea completă a C' se finalizează cu liza celulei-țintă (bacterie, celulă infestată cu virus sau alte organisme invadatoare).

Activarea lui C' este promovată de 2 macromolecule proteoenzimatică (*convertaze*). Fiecare din aceste convertaze se formează din precursori proprii în cadrul unor secvențe separate denumite *calea clasică* și *calea alternativă*. Calea clasică este declanșată de Atc. fixați pe Atg. Ea implică atașarea C'_{1q} care asociază C'_{1r} și C'_{1s}. Complexul C'_{1qrs} are activitate enzimatică (=C'₁- esterază) și clivează pe C₄ și pe C'₂: C'_{4b} și C'_{2b} se cuplează și formează convertaza căii clasice a lui C'₃; C'_{4a} și C'_{2a} se diasociază și trec în plasmă (un peptid desprins din C'₂ va juca rolul de substanță kinin-like). Trigger-ii căii alternative nu sunt anticorpi, ci endotoxine bacteriene și elemente ale pereților bacterieni care pot genera *spontan* urme de C'_{3b}. Aceasta va forma convertaza căii alternative prin cuplare cu factorii *proprii* ai acestei căi (factorul B și D).

Diversele elemente ale sistemului complement ar îndeplini 4 funcții în cadrul proceselor de apărare.

- prin învelirea (opsonizarea) cu molecule de C'_{3b} a microorganismelor facilitează imunoaderența acestora la Mcf și procesele de fagocitoză;
- produc liza celulelor-țintă prin complexul litic final (denumit *complexul de atac al membranei* deoarece produce perforații în membrana celulară);
- mediază procese inflamatorii locale prin fragmentele mici (C'_{3a} , C'_{5a} , $C'_{2kinin-like}$): mărirea permeabilității vasculare atragerea de noi fagocite în focar capabile să înglobeze alte celule opsonizate;
- interacționează cu alte procese fiziologice: coagularea, fibrinoliza, sistemul kininelor.
- Controlul cascadei complementului este realizat de mai mulți inhibitori și inactivatori. Unul dintre inhibitorii cei mai importanți este C_{1INH} .
- Trei sindroame principale se asociază cu deficiențe înăscute ale componentelor sistemului (Fig.66)

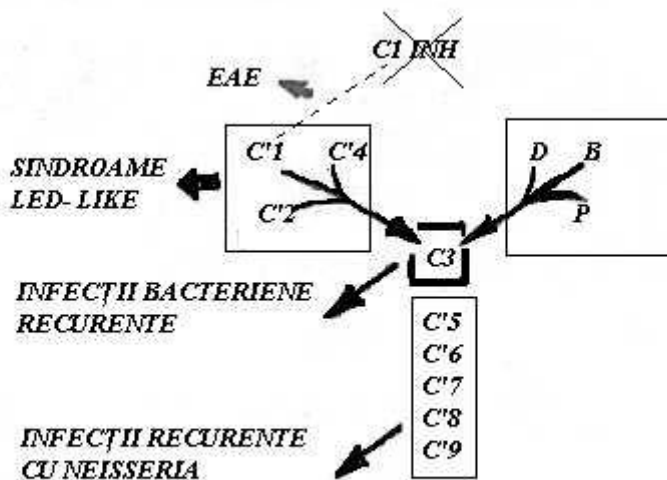


Fig. 66 *Principalele sindroame clasice care se asociază cu deficiențele ereditare ale diverselor componente ale C' (EAE=edem angioneurotic ereditar)*

1. un sindrom asemănător cu LED (eritem facial, artralгии, glomerulonefrită, febră, vasculită) apare în deficiențele C'_1 , C'_4 sau C'_2 .

Anticorpii antinucleari sunt, de regulă, absenți dar apar frecvent complexe imune circulante.

2. o creștere a susceptibilității generale la infecții bacteriene în deficiența de C'_3 sau o tendință la infecții recurente cu *Neisseria gonococcus* sau *N. meningitidis* în deficiența de C'_5 , C'_7 sau C'_8 .

3. edemul angioneurotic ereditar (EAE) apare în deficiențe de C'_1 . Substratele acestui inhibitor sunt C'_{1r} , C'_{1s} , kalicreina, plasmina și factorul XII al coagulării (Hageman). Deficiența C'_{1INH} permite o stare de activare lent-continuă a C'_1 -esterazei care scindează C'_4 și C'_2 generând peptide $C'_{2kinin-like}$. Stresuri fizice, infecții, traume, ciclul sexual pot acționa ca *trigger* care amplifică aceste activări cu consumarea excesivă a inhibitorului. Substanțele necontracurate de tip kinină-kalicreină induc atacurile acute manifestate prin edem subcutanat, laringian (risc de asfixie) sau intestinal (cu dureri abdominale atroce, vărsături provocate de edemul jejunal sau diarei apoase prin edem colonic). Crizele pot dura ore-zile. Diagnosticul se bazează direct pe demonstrarea scăderii titrului cu activități C'_{1INH} sau indirect prin constatarea scăderii fracțiunilor C'_4 și C'_2 (această scădere apare obligatoriu în criză și facultativ în perioade de liniște).

Criza de EAE este o mare urgență medicală și cere administrare imediată de plasmă proaspătă sau de preparate concentrate de C'_{1INH} , terapie cu androgeni (ex. Danazol care stimulează sinteza inhibitorului) și inhibitori ai formării plasminei (acidul epsilon-aminocaproic) pentru reducerea consumului de C'_{1INH} pe alt strat (plasmină).

12.3. IMUNODEFICIENȚE SECUNDARE (IDS)

Deficitele imunitare dobândite sau secundare pot fi observate în cursul a numeroase afecțiuni, unele atingând mai frecvent imunitatea celulară, altele pe cea humorală. Ele joacă un rol important în bolile cu care sunt asociate, fie modificând evoluția lor, fie stând la originea lor.

Deficitele imunitare secundare pot fi grupate la rândul lor în cinci categorii:

- a) deficite asociate hemopatiilor maligne și cancerului;
- b) deficite asociate tulburărilor metabolice;
- c) deficite asociate factorilor stresanți;
- d) deficite de origine iatrogenă sau imunodepresia chimică;
- e) deficite asociate bolilor infecțioase;
- f) alte deficite imunitare secundare (Tabelul nr.9)

a) Deficite asociate hemopatiilor maligne și cancerului

Deficitele imunitare celulare sunt observate în numeroase afecțiuni care ating sistemul limfoid. Dintre acestea amintim:

- leucozele, leucemiile, în special leucemia limfoidă cronică;
- boala lui Hodgkin; subiecții atinși de această boală prezintă o frecvență anormală la diverse infecții bacteriene virale și micotice;
- paralinfoame (*lymphoma-like*) sau limfoproliferări de graniță, recunoașterea acestor forme de graniță, în care persistența unui antigen în organism duce la o hiperstimulare imună cu histio-limfoproliferare, care după o anumită perioadă se transformă în proliferare malignă conturată ca boală Hodgkin, mielom, limfom malign, leucemie limfoidă cronică;
- cancerul- în aceste cazuri deficitul imunitar se aseamănă cu starea de cancer;

b) Deficite asociate tulburărilor metabolice

Prevenirea apariției unor afecțiuni nutriționale și metabolice, acționează mai ales indirect dar și direct asupra creșterii rezistenței indivizilor.

În acest caz dezechilibrările nutritive, consecutive dezechilibrelor alimentare (prin diminuarea sau în exces) nu se manifestă la exterior, dar crează o stare de labilitate, de predispoziție la agresiunea unor agenți infecțioși.

Infecțiile survin mai frecvent la indivizii malnutriți proteino-caloric sau invers toate infecțiile sunt susceptibile a fi declanșate pe indivizi subnutriți.

Deficitele asociate cu dezechilibrele nutritive și tulburările metabolice pot fi grupate și ele în două categorii: deficite prin carență și deficite prin exces.

Deficitele prin carență pot fi:

1. stările de subnutriție proteino-calorică;
2. carența în aminoacizi;
3. carența în vitamine;
4. carența în oligoelemente;

Deficite prin exces:

1. exces de iod;
2. exces de vitamine;
3. exces în lipide;

1. Stările de malnutriție proteică pot fi la originea unor deficite imunitare complexe. În asemenea situații se constată o scădere a titrului

de gamaglobuline din ser precum, și o diminuare a numărului și funcției LT.

2. Carența în aminoacizi. S-a constatat o relație directă asupra carenței în A.A. și răspunsului imun. Astfel, carența în fenilalanină, triptofan, lizină, atinge sinteza de anticorpi și fagocitoza (macrofagele) iar carența de valină, arginină și metionină au o acțiune mai specifică asupra LT.

De asemenea, procentul de valină și raportul cisteină/metionină este necesar menținerii unui număr normal de limfocite și fagocite și raportul valină/glicină permite controlul carenței proteico-calorice.

3. Carența în vitamine. Vitaminele participă la răspunsul imunitar prin activitatea lor coenzimatică sau prin acțiunea lor asupra membranei celulare (vitamina A,E și C) sau prin participarea lor la metabolismul celular și în particular la cel proteic (vitamina B).

Acțiunea imunitară a vitaminelor este legată de răspunsul imun humoral (vitamina E, acidul pantotenic și biotina) dar trebuie reținut deasemenea acțiunea vitaminei B₆ și acidul folic asupra mediatorilor celulari (a LT), a vitaminei E și C asupra fagocitozei, iar vitamina A asupra protecției epiteliiilor și mucoaselor.

4. Carența în oligoelemente. Oligoelementele sunt egal implicate în reacțiile imunitare. Prezența ionilor de Mg, Ca, K, Co, Cu, sunt necesari funcțiilor de fagocitoză și activității sistemului complement properdinic.

Carența în Zn deprimă profund imunitatea celulară iar cea în Mg preferențial asupra imunității humorale. Prezența Fe în organism este necesară pentru blocarea creșterii bacteriilor. Deficite prin exces de I, Fe, Zn duc la creșterea susceptibilității la infecții, inhibarea fagocitozei prin polimorfonucleare iar excesul de vitamina A și C duce la scăderea activității complementului, a răspunsului imunitar și a activității polimorfonucleare neutrofile (PNN). Excesul de lipide determină creșterea sensibilității organismelor la infecții.

c) Deficite asociate factorilor stresanți

Stresul și imunodepresia. Stresul se caracterizează (H. SELYE) prin stimularea axului hipotalamo-hipofizo-suprarenal, care are drept consecință secreția unei cantități crescute de TSH, ACTH, deci corticosteroizi și de STH (reacție postagresivă neuro-endocrină).

Aplicarea stresului experimental (stimulatori vizuali, auditivi, manipulări repetate, supraaglomerarea, transportul, frigul, căldura, etc.) (Tabelul nr.10) diminuează sinteza de anticorpi (Atc) la numeroase specii. Imunitatea celulară este în egală măsură diminuată de stresul

experimental care influențează hipersensibilitatea întârziată, transformarea limfoblastică și rejecția de grefe. Mărirea sensibilității omului la infecții sub efectul factorilor stresanți a fost adesea expusă în literatură dar anumite rezultate sunt contradictorii.

La animalele stresate experimental (șoc electric, șoc termic, constrângere fizică) crește sensibilitatea la infecții virale (herpes, polio, encefalomiocardită). Pentru infecțiile bacteriene și parazitare rezultatele sunt controversate.

Efectul stresului asupra apariției cancerului a fost demonstrat prin experiențele lui RILLEY care a provocat apariția tumorilor mamare la 80 - 100% din șoarecii purtători ai unui genom viral (provirus), stresându-i prin manipulare și brutalizare alalong timp de 8 - 18 săptămâni.

d) Deficite de origine iatrogenă și sau imunodepresia chimică

Numeroase medicamente sunt susceptibile de a antrena o perturbare a răspunsului imun. Agenții terapeuți cel mai adesea puși în cauză, sunt radiațiile ionizante care pot provoca aplazii medulare, antimicoticele, corticosteroizii, agenții alchilanți sau o serie de medicamente imunodeprimante care se utilizează în tratamentul bolilor autoimune sau în prevenirea rejecțiilor de grefe.

Thiopurinele deprimă producerea de anticorpi și reacțiile de hipersensibilitate întârziată.

Agenții alchilanți (cyclophosphamida, clorambucilul) reprezintă imunosupresoare chimice foarte puternice care suprimă producerea de anticorpi și permite introducerea unei toleranțe față de numeroase antigene, utilizându-se pentru a împiedica respingerea grefelor.

Corticoizii produc o supresie celulară a răspunsului imun și au un rol important în acțiunea antiinflamatorie.

Ciclosporina A este un peptid ciclic extras din ciuperci care s-a dovedit a fi un puternic supresor a reacțiilor imunitare mediate de limfocitele T. În particular, ciclosporina A, suprimă răspunsul proliferativ al limfocitelor, mitogeneza specifică a celulelor T și întârzierea rejecțiilor alogrefelor.

Poluanții și imunodepresia. Poluarea cu metale grele (mercur, plumb, cadmiu), organofosforice (paration), organoclorurate (DDT, PCB Dioxine), aflatoxine și alți agenți chimici au efecte imunodepresoare acționând fie asupra imunității umorale fie asupra celei celulare (Tabelul nr.11).

Antibioticele. Unele antibiotice au efect imunodepresor dar efectul lor inhibitor observat *in vitro* nu se corelează totdeauna cu cel *in vivo*. De exemplu tetraciclina *in vivo* nu modifică rezistența puilor imunizați contra maladiei de Newcastle. Alte antibiotice accelerează evoluția maladiei Marek cum ar fi penicilina și streptomycină, în schimb tetraciclina, gentamicina, ampicilina rămân fără efect. Este deci contraindicată utilizarea unor diluanți cu antibiotice pentru vaccinurile vii atenuate.

e) Deficite asociate bolilor infecțioase

Anumite boli infecțioase (tuberculoza, paratuberculoza, lepra, sifilisul, infecția cu pneumococi și meningococi) la animale, pot fi la originea unui deficit imunitar, în special al imunității prin mediere celulară. În diminuarea răspunsului imun intervin în egală măsură paraziții (protozoare, helminți) și virusurile. Fenomenele imunodepresive consecutive infecțiilor virale sunt bine cunoscute atât la om cât și la animalele de laborator. Infecția virală poate induce în anumite cazuri anomalii selective ale limfocitelor T, ale limfocitelor B sau ale macrofagelor. Lista virusurilor care pot perturba răspunsul imun este redată în tabelul nr.12.

Imunodepresia viro-indusă are un caracter pasager, dar poate deveni permanentă când infecția prinde țesutul limfoid și devine persistentă.

f) Alte deficite imunitare secundare

Alte afecțiuni foarte diverse pot fi la originea deficiențelor imunitare globale sau limitate la un antigen particular.

Dintre aceste afecțiuni amintim: supraalimentația, ciroza etilică, anemia prin carență în Fe, diverse maladii metabolice, etc. În sfârșit se spune de mult timp că îmbătrânirea organismului este la originea unui deficit imunitar. Foarte adesea acest deficit este găsit la persoanele și animalele bătrâne și se atribuie frecvenței mari a unor afecțiuni cronice, ca și procentajul crescut al cancerului. Acest deficit imunitar este atribuit îmbătrânirii timusului. De fapt testele *in vitro* pe limfocitele T permit asocierea deficitului funcțional la subiecții vârstnici. În practica curentă testele cutanate la diverși antigeni permite demonstrarea negativității răspunsului imun prin mediere celulară la 2/3 din subiecții peste 75 ani. La acești subiecți toate maladiile, dar mai ales cele virale au o gravitate ridicată.

Tabelul 9

Deficite imunitare secundare

Tulburări metabolice	- sub- și supranutriția proteică, obezitatea; - carențe în aminoacizi, vitamine, oligoelemente, etc.; - deshidratare prin arsuri, diaree și alte afecțiuni; - boli cronice cum ar fi: diabetul, ciroza, insuficiențele renale, etc.
Maladii infecțioase	- Bacteriene: tuberculoza, lepra, paratuberculoza, etc.; - Parazitare: malaria, toxoplasmoza, babezioza, demodecia, etc. - Virale: retrovirozele, herpesvirozele, parvovirozele, etc.
Hemopatii maligne	- limfosarcoame la cal, carcinoame la câine
Maladii de origine iatrogenă	- anestezice, antibiotice, antiinflamatoare, chimioterapice, imunodepresoare, poluanți
Stresul	- lotizări, vaccinări, tratamente, etc

Tabelul 10

Factorii extrinseci care afectează sistemul imunitar

Factori extrinseci	Răspunsul
Frigul	Crește receptivitatea la infecții bacterien

	e primare și secundare, sinteza de interferon scade, sinteza de anticorpi crește, dar timpul de înjumătățire a imunoglobulinelor scade, testele utanate și de proliferare a celulelor T <i>in vitro</i> indică o diminuare a acestora.
Căldura	Crește rezistența la unele virusuri și timpul de înjumătățire a imunoglobulinelor; testele cutanate, testele de proliferare a limfocitelor și absorbția imunoglobulinelor colostrale indică o scădere a acestor activități
Conținutul animalelor	Ridică sensibilitatea la infecțiile bacteriene, parazitare și virale și scade sinteza anticorpilor
Transportul	Sensibilitatea la anumite virusuri și tumori crește, iar sinteza de interferon și funcțiile limfocitelor scade

Tabelul 11

Acțiunea imunodepresivă a poluanților

Poluanți		Modele experimentale	Concluzii
METALE GRELE	Mercur	Infecția șoarecilor cu S. typhimurium	DL 50/10
		Aujeszký la iepure	Scade titrul de Ac din ser
	Plumb	Aujeszký la iepure	Scade titrul de Ac din ser
		Hematii de oaie la șoarece	Scade receptivitatea LB la PHA
	Cadmium	Hexamită murină	Crește sensibil IgM și IgG scade
AFLATOXINE		Bovine	Scade puterea bactericidă a serului
		Pui (holeră, Marek, candidoză)	Crește sensibilitatea
		{oareci (Listeria)	Scade rezistența
		{oareci	Atrofia timusului

ESTROGENI			Scade rezistența umorală și celulară (scade activitatea limfocitelor Ts)
ORGANOFOSFORICE	Parathion	{obolan	Scade capacitatea de rozetare a celulelor B și T
		Iepure	Aplazie limfoidă cu scăderea rezistenței umorale și celulare
ORGANOCLOPURATE	D.D.T	Iepure, șobolan	Scade titrul de Ac în special IgG
		Pui	Crește sensibilitatea la histomonoză și scade Ac din ser
	P.C.B	{oarece	Crește sensibilitatea la endotoxine
		Rață	Crește receptivitatea la virusul hepatitei
		Pui, iepure	Scade titrul de Ac din ser
DIOXINE			Scade rezistența celulară

Tabelul 12

Principalele virusuri imunoderesoare

Familia virală	Virusul și boala determinată
TOGAVIRIDAE	Virusul pestei porcine clasice Virusul diareei bovine (BVD) Virusul encefalomicelitelor equine din Venezuela Virusul dehidrogenazei lactice la șoareci
PARAMIXOVIRIDAE	Virusul rujeolei Virusul bolii lui Carré Virusul pestei bovine Virusul oreionului Virusul pneumoniei șoarecilor Virusul SENDAI la șoarece Virusul bolii de Newcastle
CORONAVIRIDAE	Virusul hepatitei șoarecilor

	Virusul peritonitei infecțioase a felinei
ARENAVIRIDAE	Virusul choriomeningitei limfocitare
REOVIRIDAE	Virusul bolii Gumboro
RETROVIRIDAE	Virusul leucemiei Friend Virusul leucemiei Rauschers Virusul leucemiei Moloney Virusul leucemiei Gross Virusul leucemiei Rowson-Parr Virusul leucozei feline Virusul leucozei bovine Virusul anemiei infecțioase bovine Virusul Visna-Maedi Virusul SIDA la maimuță și om
PARVOVIRIDAE	Virusul bolii aleutine la vizon Virusul panleucopeniei feline Virusul parvovirozei câinelui Virusul parvovirozei șobolanului
PAPOVAVIRIDAE	Virusul SV-40 la hamster
HERPESVIRIDAE	Virusul bolii lui Marek Citomegalovirus mai ales la șoarece și om Virusul varicelei (zona zoster) Virusul Epstein-Barr Herpesvirus 1, a rinotraheitei bovine Herpesvirus 1, a rinopneumoniei eqvine Virusul timic la șoarece Citomegalovirus
IRIDOVIRIDAE	Virusul pestei porcine africane
POXVIRIDAE	Virusul vaccinal

CAPITOLUL 13

STĂRILE DE HIPERSENSIBILITATE

Reacțiile imune umorale și celulare, care în mod normal servesc ca *arme* de apărare împotriva infecțiilor sau a tumorilor pot în anumite împrejurări, să provoace leziuni organismului gazdă. Aceste stări patologice au fost denumite *stări de hipersensibilitate* sau *alergice*.

Termenul de alergie a fost creat de von PIRQUET (1907) pentru a defini o reactivitate alterată după expunerea la un Atg. Antigenele care declanșează o reacție alergică au primit numele de *alergene*.

Alergenele nu se deosebesc de Atg. care declanșează reacțiile imune normale (protective). Ele pot fi macromolecule sau haptene de diverse proveniențe: polenuri, acarienii (moliile de stofă) sau mușcăiurile din praful de casă, păr de animale, veninuri de insecte (viespe de ex.) produse alimentare (lapte de vacă, ouă, carne de pește, căpșuni, zmeură...) medicamente (penicilina în primul rând).

Un element de predispoziție genetică ar putea să fie incriminat în potențarea apariției acestor răspunsuri aberante (de tip alergic) după contactul cu Atg. specifice. Datele nu sunt foarte sigure în acest domeniu, dar unele observații sunt invocate ca argumente în favoarea implicării acestor factori de teren:

- ◆ transmiterea la urmași a tendinței la răspunsuri alergice;

- ◆ coexistența pe orizontală a mai multor consanguini care prezintă diferite manifestări alergice;
- ◆ asocierea unor manifestări alergice cu anumite profiluri CMH: de ex. CMH A3, B7, DR2 se asociază frecvent cu unele forme de alergii mediate de IgE, ca răspuns la alergene multiple.

Stările de hipersensibilitate (HS) au fost împărțite de GELL și COOMBS în 4 modele reactive. Ele pot fi mediate fie de Atc.(HS de tip *imediat*) fie de LimfociteT sensibilizate (HS de tip *întârziat* sau *tardiv*).

13.1. STĂRILE DE HIPERSENSIBILITATE IMEDIATĂ (SHI)

Se împart în 2 grupe după tipul Atc. și după modul de acțiune a Atg.:

1. HSI mediată de IgE = reacții *anafilactice* și *atopice*.
2. HSI mediată de alte clase de Ig (*IgG de ex.*)
 - ◆ reacții citotoxice și/sau citolitice;
 - ◆ reacții mediate de complexe imune circulante sau depuse în țesuturi;

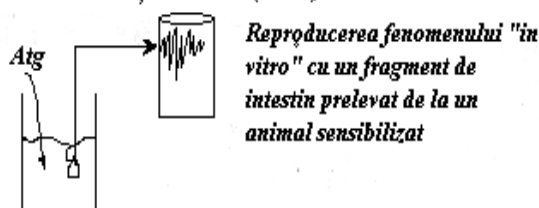
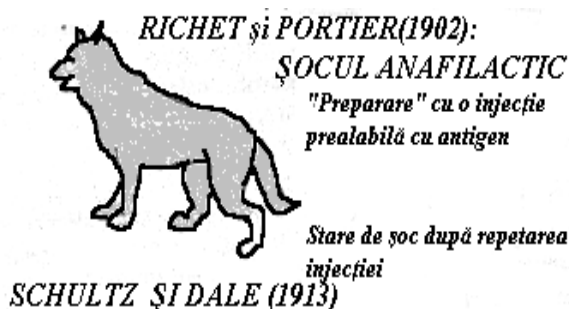
HSI mediate de IgE pot fi împărțite în reacții sistemice (anafilactice) și locale (atopice). Ele produc starea de boală prin așa numita *reacție de tip I* din clasificarea GELL și COOMBS.

Anafilaxia (= contrariu protecției) este în general o reacție sistemică gravă și indusă de pătrunderea directă în circulație a alergenelor. În patologia umană ea se observă după administrarea parenterală de medicamente (penicilină de ex.), după serumizări cu seruri xenogenice (ser de cal) sau după ruptura chisturilor hidatice. Manifestările clinice sunt dominate de dispnee asfixică (provocată de o bronhoconstricție) și de o stare de șoc (secundară unui colaps vascular periferic). Această situație gravă denumită *șoc anafilactic* apare numai la subiecții sensibilizați, adică la persoane care au suferit în prealabil o expunere la alergenul respectiv.

Șocul anafilactic a fost indus experimental pentru prima oară de RICHET și PORTIER (1902) care au vrut să testeze reactivitatea unui câine față de Atg. unor moluște (Fig.67)

După o primă injectare (preparatorie) a Atg., în urma căreia nu au observat efecte notabile, readministrarea Atg. a produs o stare de șoc fatală și nu o reacție anticorpică de apărare așa cum se anticipase ca prezumție a experimentului. Fenomenul a fost ulterior reprodus de

SCHULTZ și DALE (1913) în vitro, pe organe izolate: un fragment de intestin prelevat de la animalele sensibilizate la un alergen și suspendat în soluție fiziologică, se contractă puternic dacă alergenul respectiv este introdus în soluția de suspensie. În 1921 PRAUSNITZ a demonstrat posibilitatea transferului pasiv de anafilaxie: el și-a injectat i.d. ser recoltat de la un donator (care se numea Kustner) presensibilizat față de Atg. de pește. După 48 ore de la prima injecție, PRAUSNITZ și-a administrat i.d. o cantitate mică de Atg. extrase din pește împreună cu un colorant (albastru Evans). La locul injecției a apărut o pată albastră, secundară unei puternice hiperemii locale dublată de vasopermeabilitate, care a permis difuziunea colorantului. Fenomenul *Prausnitz- Küstner* a fost inițial interpretat ca o reacție vasomotorie mediată de o eliberare locală de histamină. Ulterior s-a dovedit că fenomenul este specific și că ar fi legat și de un factor seric prin intermediul căruia s-ar transmite *alergia*. Acest factor seric este IgE.



FENOMENUL PRAUSNITZ-KUSTNER: TRANSFERUL PASIV DE ANAFILAXIE (1921)

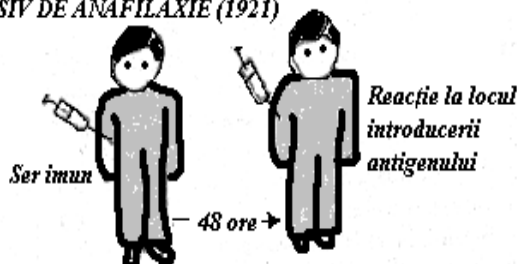


Fig. 67 Descoperirea anafilaxiei

IgE există în mod normal, în titruri mici, în serul tuturor indivizilor, iar sinteza lor sporește ca răspuns normal de apărare față de unele agresiuni, cum ar fi infestarea cu unii paraziți. IgE se comportă ca Atc. citofili: ele sunt atașate selectiv pe celule care exprimă pe suprafață receptori specifici pentru segmentul Fc (RFc Σ) (mastocite și polinucleare bazofile). Alergenele induc producția unor IgE specifice (denumite generic *reagine*) care se atașează pasiv pe celulele RFc Σ^+ . Atașarea reaginelor pe mastocite este durabilă (aprox. 2-3 luni) și duce la activarea mastocitelor purtătoare. Evenimentele descrise (producția IgE specifice și atașarea lor pasivă și durabilă pe mastocite) au loc după primul contact cu alergenul (etapa *sensibilizării* organismului). În momentul în care alergenul pătrunde din nou în organismul presensibilizat, el se va cupla cu IgE atașate pe mastocite și va declanșa un semnal în urma căruia conținutul granulațiilor acestor celule va fi deversat în mediul ambiant. (Fig.68)

Fenomenul este descris sub numele de *degranulare a mastocitelor* iar substanțele eliberate sunt mediatorii reacției anafilactice (Tabelul 13).

Acești mediatori produc în principal:

- ◆ contracția mușchilor netezi (histamina, serotonina, ARS-A)
- ◆ creșterea permeabilității capilare (histamina, serotonina, PAF);
- ◆ chimiotaxia eozinofilelor (ECF-A);
- ◆ agregarea plachetară (histamina);

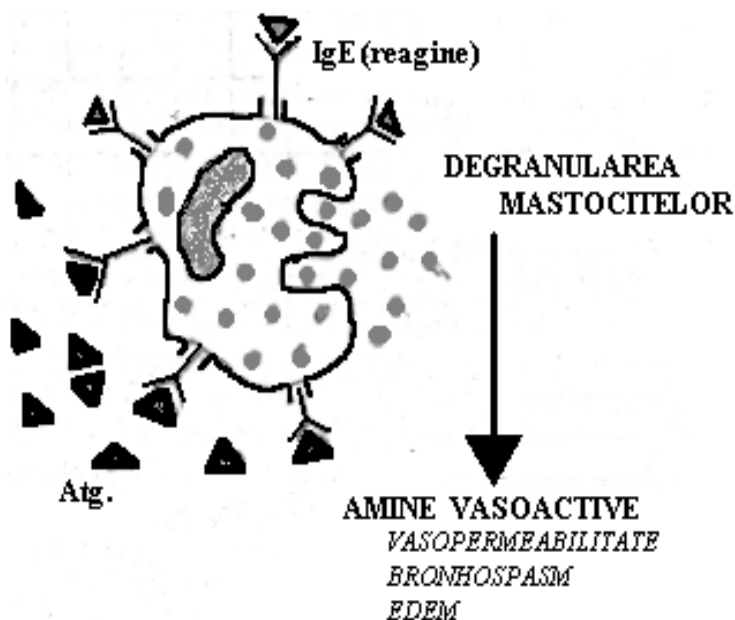


Fig. 68 Reacții de tip I: anafilaxia și atopia

Este de reținut că, pe lângă mastocite și bazofile, o parte din acești mediatori sunt elaborați și de alte celule care pot fi antrenate în reacția anafilactică (neutrofile, monocite/macrofage, trombocite).

Tabelul13

Mediatorii chimici ai anafilaxiei

Substanța	Sursa	Funcții					
		VD	VP	VC	BC	Ch	Altele
1. Histamina	M. B. Tr	+	+		+		Prurit. Secreție de mucus
2. Serotonina	M. Tr. Celule enterocromafine	+	+		+		
3. NCF (Neutrofil chematoactic factor)	M					+	
4. ECF-A	M					+	

(Eusinophil chemotactic factor-A)							
5. VIP (Vasoactive intestinal peptide)	M. N. Ramuscule nervoase cutanate	+					Potențea ză edemul indus de bradikini nă și de C'5a
6. Tromboxan A ₂	N. Mo. Mcf			+	+		Agregare plachetar ă
7. Prostaglandine E ₂ și D ₂	Idem	+	+		+		
8. PAF (Platelet activating factor)	N. B. Mo. Mcf		+		+	+	Agregare plachetar ă
9. SRSA (Slow reacting substance of anaphylactic). Este formată din leucotriene C și D	M. N. Mo. Mcf		+		+		

Legendă: **M** = mastocite; **N** = neutrofile; **VD** = vasodilatație;
VC = vasoconstricție; **Ch** = chimiotaxie; **B** = bazofilie;
Mo = monocite; **Tr** = trombocite; **Mcf** = macrofage;
VP = vasopermeabilitate; **BC** = bronhoconstricție

Atopia se produce printr-un mecanism identic cu reacția anafilactică, dar se deosebește de aceasta prin 2 aspecte:

- ◆ Atg. pătrunde în organism de regulă pe cale digestivă sau respiratorie;
- ◆ reacția alergică este localizată la nivelul unui organ țintă și produce un anumit tablou de îmbolnăvire: mucoasa nazală (rinită alergică, febră de fân), mucoasa respiratorie (edemul Quincke, astmul alergic), mucoasa digestivă (urticaria atopică, unele forme de diaree), piele (eczemă atopică).

Este de subliniat existența unor reacții care mimează atât circumstanțe cât și simptomatologia afecțiunilor alergice: dermatografismul, urticaria a frigore, urticaria actinică, edemul

angioneurotic, alte tipuri de astm bronșic, etc. În nici una din stări nu este implicat mecanismul mediat de IgE.

Elemente de diagnostic:

➤ **teste in vitro**

- ***transformarea blastică a Limfocite*** indusă prin coincubare in vitro cu alergenul (este crescută);

- ***determinarea titrului IgE*** în circulație:

- ◆ ***RIST (radio-immune sorbent test)***; serul de testat se incubează cu IgE marcate și cu Atc. anti-IgE atașate pasiv prin fragmentele lor Fc pe suporturi solide (de ex. pe mici particule de Sephadex). IgE din serul bolnavului și IgE marcate se atașează competitiv pe situsurile combinate ale Fab-urilor, moleculelor de anti-IgE fixate pe suporturi. Cu cât există o cantitate mai mare de molecule de IgE în serul de testat și ocupă mai multe situsuri combinate ale reactivului anti-IgE, cu atât mai puțin moleculele de IgE marcate vor fi atașate. Dacă după centrifugare se aruncă supernatantul care conține toate moleculele de IgE rămase nelegate, măsurarea redioreactivității sedimentului va exprima indirect cantitatea de IgE din serul bolnavului (Fig.69)

- ◆ ***RAST (radio-allergo-sorbent-test)***. Alergenul incriminat fixat pe un suport solid este incubat cu serul bolnavului. IgE serice se vor fixa pe Atg. După îndepărtarea excesului de IgE rămasă nefixată se adaugă reactivul cu anti-IgE marcată. Testul permite atât dozarea IgE cât și identificarea Atg.

- ***determinarea eliberării de histamină*** de către Mcf. sensibilizate: după incubarea lor cu alergenul specific se apreciază fie degranularea, fie că se măsoară cantitatea de histamină eliberată.

➤ **teste in vivo**: aplicarea intracutanată a mai multor alergene (de ex. depunerea unei picături de alergen pe tegumentul înțepat foarte superficial cu un instrument special). O reacție locală este considerată ca test pozitiv. Testul cutanat prezintă însă riscul declanșării unei anafilaxii sistemice; de aceea este necesară pregătirea unei truse cu medicamente antișoc și anafilactice care să existe la îndemână.

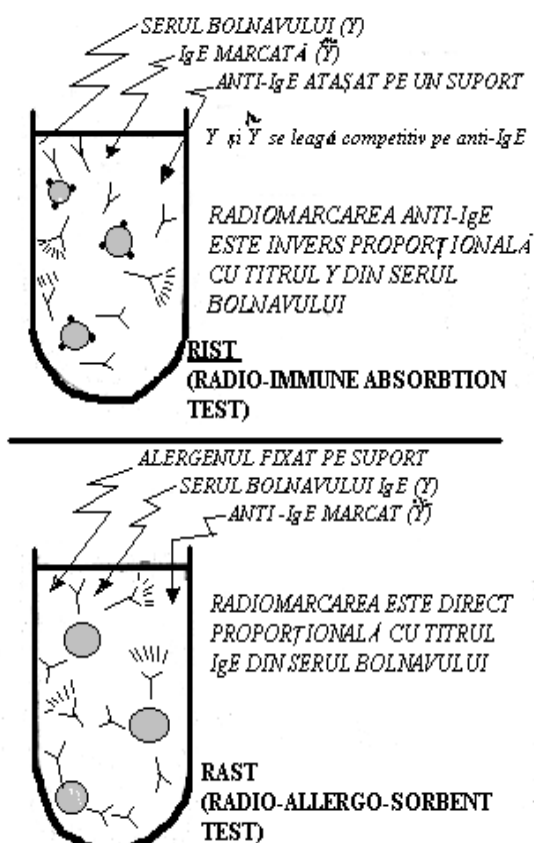


Fig. 69 Metode de dozare a IgE

Elemente de terapie

♦ terapia stărilor acute - combaterea șocului

- Hidrocortizon hemisuccinat 500 mg sau Urbason 250 mg (i.v., lent)
- Adrenalină 1 mg s.c. sau Dopamină 5-15 micrograme Kg/min i.v.
- Tavegil 1-2 fiole i.v.

♦ terapia stărilor cronice

- identificarea și eliminarea contactului cu antigenul
- *desensibilizarea* specifică: alergenul identificat se administrează i.d. la 48 de ore interval în doze progresiv crescânde. Doza inițială este de aproximativ 1/100 - 1/10 din cea mai mică doză care a produs o reacție cutanată pozitivă la testul de identificare a alergenului.

Dozele terapeutice nu trebuie să determine reacții alergice locale sau generale. Dozele desensibilizante de Atg. ar stimula producția unor Atc. specifici de clasă IgG. Aceștia persistă mult timp în circulație (circa 4 săptămâni) și pot intercepta (*bloca*), prin formare de complexe imune, orice noi doze de alergen care depășesc porțile de intrare. Blocarea alergenelor împiedică atașarea lor pe IgE fixate pe mastocite. Complexele alergen IgG sunt eliminate (clearing) de către Mcf.

- droguri antihistaminice: Tavegil, Romergan (p.o.)
- inhibitori ai degranulării mastocitelor: Zaditen (p.o.), (Ketotifene); Cromoglicat de Na (aerosoli)
- glicocorticoizi (Prednison) sau ACTH.
- medicamente cu acțiune asupra bronhospasmului;
- simptomatice: Adrenalina, Efedrina;
- baze xantينية: Teofilina;
- corticoizi fluorinați cu acțiune cutanată locală (pomezi cu Fluocinolon sau Pivalat de flumetazone).

13.2. REACȚII CITOTOXICE SAU CITOLITICE

(reacții de tip II după clasificarea lui GELL și COOMBS)

În acest tip de reacții de HS determinantul antigenic se găsește pe suprafața unei celule-țintă. Atc. specifici care se cuplează cu Atg. fixează și activează C' care produce citoliza (Fig. 70).

- **Atg.**
 - pot fi Atg. care sunt componente ale structurii membranei celulei-țintă;
 - pot fi Atg. (în general haptene) din plasmă care se atașează pe suprafața celulei-țintă.
 - **Atc.**
 - pot fi de clasă IgM sau de clasă IgG - activatoare de C'.
- Celulele care devin ținta principală a acestui model de reacții de HS sunt componente ale sistemului circulator:**

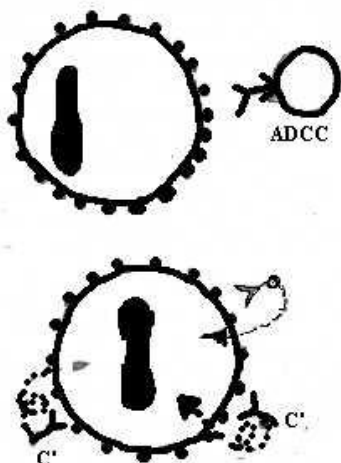


Fig. 70 Reacții de tip II (Citotoxice/Citolitice)

a) Elemente figurate ale sângelui: eritrocite, granulocite și trombocite.

Entitățile clinice principale sunt:

- ◆ anemiile hemolitice prin allo-Atc
 - incompatibilitatea feto-maternală
 - accidente hemolitice posttransfuzionale
- ◆ anemiile hemolitice induse de medicamente
 - granulocitopenii *imunoalergice*
 - agranulocitoza
- ◆ trombocitopeniile produse de medicamente

b) Celulele endoteliului vascular

Entitățile clinice principale sunt:

- ◆ unele purpuri vasculare
- ◆ unele glomerulonefrite

Alloimunizarea este consecința introducerii într-un organism de allo-Atg. eritrocitare sau trombocitare.

Trei situații clinice pot duce la alloimunizare

1. sarcina
2. transfuziile: pot produce allosensibilizarea împotriva Atg. de grup sanguin sau a Atg.HLA.
3. grefele

Alloimunizarea de sarcină. Din punct de vedere antigenic fătul este semiidentific cu mama sa. Atg. fetale moștenite de la tată sunt *străine* pentru sistemul imun al mamei. Așa cum s-a arătat, fătul este tolerat de mamă prin mai multe mecanisme. În cursul sarcinii, cantități mici de sânge fetal pot străbate placenta ajungând astfel în circulația gravidei. Aceste *microtransfuzii* aduc în general o cantitate mică de Atg. fetale pentru a stimula un răspuns al mamei. În cursul travaliului însă (și mai ales dacă se recurge la manevre obstetricale traumatizante) cantitatea de sânge fetal care trece la mamă crește suficient de mult pentru a provoca sensibilizarea acesteia. Dacă Atc. produși sunt de clasă IgG pot străbate placenta. Cu ocazia sarcinilor ulterioare ei vor produce distrucția celulelor fetale purtătoare ale Atg. sensibilizatoare. (Fig.71)

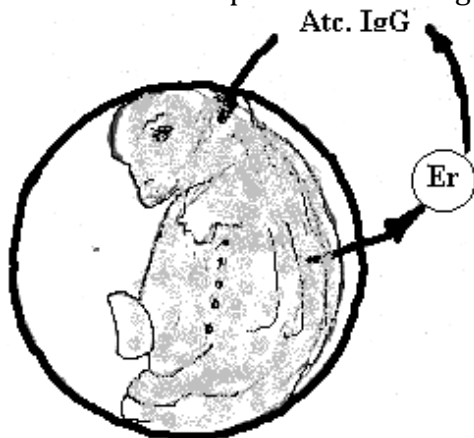


Fig. 71 Alloimunizarea de sarcină

Alloimunizarea de sarcină poate fi indusă de Atg. eritrocitare, leucocitare sau trombocitare. Consecințele clinice cele mai importante sunt asociate cu alloimunizarea antieritrocit. Atc. materni produc hemoliza eritrocitelor fetale. Dacă această hemoliză este deosebit de severă în uter, fătul nu va supraviețui. Dacă hemoliza este de mică intensitate sarcina va fi dusă până la capăt, dar în cursul travaliului o cantitate mai mare de Atc materni vor trece în circulația fetală.

Drept urmare fetusul expulzat va face un puseu sever de hemoliză la câteva ore după naștere. Distrucția excesivă de eritrocite produce anemie și hiperbilirubinemie foarte importantă cu icter intens deoarece ficatul nou-născutului este incapabil să conjuge și să elimine bilirubina care se acumulează progresiv în sânge. Creșterile foarte mari ale bilirubinemiei prezintă riscul impregnării nucleilor cerebrali (icterul nuclear Schmorl). Aceasta este o complicație foarte gravă deoarece mulți fetoși mor iar supraviețuitorii rămân cu sechele neurologice permanente. Icterul hemolitic al nou-născutului este o urgență medicală. El necesită înlocuirea imediată a sângelui (care conține anticorpii materni agresori) cu sânge normal de izogrup (exsanguinotransfuzie).

Alloimunizarea feto-maternală pe linie eritocitară la om poate fi indusă teoretic de oricare dintre Atg. eritrocitare, dar cel mai frecvent

imunizarea mamei se produce în sistemele ABO (2/3 din cazuri) și Rh (circa 1/3 din cazuri).

Imunizarea anti-A sau anti-B apare exclusiv la mame de grup O. Accidentele hemolitice sunt însă rare, deoarece substanțele A și B sunt exprimate nu numai pe eritrocite ci și pe alte țesuturi (chiar și pe celulele endoteliului placentar) sau pot fi prezente în umori. Toată această masă de Atg. neutralizează Atc. maternali înainte ca aceștia să vină în contact cu eritrocitele copilului. Trebuie precizat însă că femeile pot fi uneori imunizate dinaintea sarcinii prin stimulări nespecifice cu substanțe exogene alimentare sau bacteriene (vaccinuri, infecții) care conțin determinanți identici cu substanțele A și B. Așa se explică posibilitatea, rară, ca anemia hemolitică să apară chiar de la prima sarcină incompatibilă.

Imunizarea anti-Rh apare la mame Rh negative după sarcini cu feți Rh pozitivi. În mod normal, persoanele Rh negative nu au Atc. anti-Rh preformați. Sensibilizarea mamei se produce cu ocazia primei sarcini incompatibile, iar primii născuți nu fac anemie hemolitică. În schimb, după sarcină cu feți Rh pozitivi, mama se imunizează tot mai intens și următorii copii fac o boală hemolitică din ce în ce mai gravă. Este de subliniat că Atg. Rh sunt exprimate numai pe eritrocite care astfel suportă tot impactul anticorpilor. Așa se explică de ce boala hemolitică a nou-născutului este mult mai severă în incompatibilitatea anti-Rh decât în incompatibilitatea anti-A,B,O.

Alloimunizarea posttransfuzională

Reacțiile imune se produc între Atc. prezenți în sângele primitorului și Atg. exprimate pe celulele transfuzate (Atg. de grup sanguin sau Atg.CMH). Manifestările clinice cele mai importante sunt puseele de hemoliză (în cazul transfuziilor incompatibile în sistemul ABO și Rh) și reacții febrile (legate de Atc. anti-leucocitari și antitrombocitari).

13.3. REACȚII MEDIATE DE COMPLEXELE IMUNE

(reacții de tip III după clasificarea lui GELL și COOMBS)

Complexele imune se formează în mod normal în cursul răspunsului humoral prin unirea Atc. cu Atg.. Proporția moleculelor de Atg și Atc. în aceste complexe variază în timp, deoarece cantitatea

globală a Atg. scade progresiv în timp ce titrul Atc. crește. Inițial există un exces de Atg. Complexele sunt mici și în cantitate redusă. După câteva zile, când Atc. ajung în exces, complexe apar ca agregate macromoleculare insolubile și precipitabile care sunt îndepărtate rapid de fagocite. Între aceste două extreme există o perioadă în care Atg. sunt în exces moderat. În cursul acestei perioade se formează complexe solubile de talie intermediară care pot activa complementul (Fig.72)

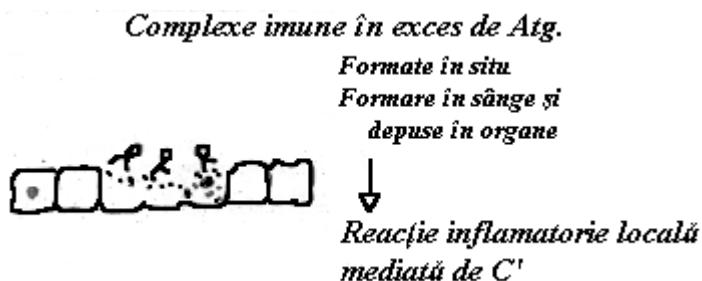


Fig. 72 Reacția de tip III Hipersensibilitatea mediată de complexe imune

Complexele de acest tip pot fi patogene în anumite împrejurări, producând o RHS cu leziuni vasculare și tisulare (Fig.73)

În patologia veterinară antigenele participante la formarea de complexe imune patogene pot fi heterologe (virusuri, bacterii, fungi, paraziți animalii, seruri animale) sau autologe, iar Atc pot fi de clasă IgG sau mai rar IgM. În funcție de tipul de agresiune antigenică activarea complementului poate fi indusă pe calea clasică sau prin cea alternativă.

Complexele imune patologice se pot forma la nivelul unor organe-țintă (*in situ*) pe seama unor Atg. ale acestora, sau în circulația sistemică cu depunere tisulară secundară. Două modele experimentale ilustrează aceste situații: fenomenul Arthus și boala serului.

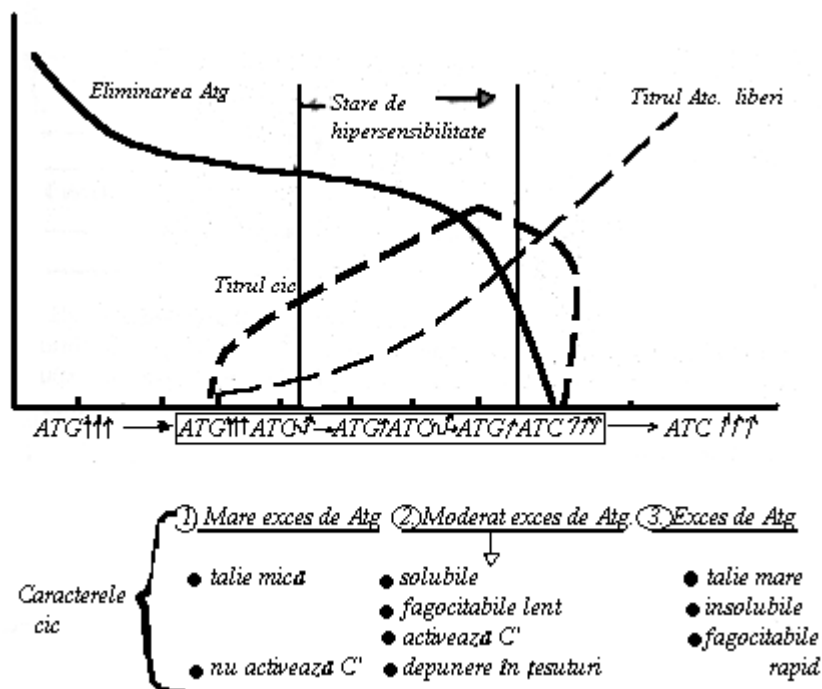


Fig.73

Fenomenul Arthus (modelul de reacție prin CI formate în situ). A fost descris în 1903 la iepurii sensibilizați prin injecții subcutanate cu Atg, solubile (ser de cal). După mai multe administrări se observă la locul injecției o bulă edematoasă dură, însoțită de eritem și de mici hemoragii punctiforme care atinge maximum după 4-8 ore. Evoluția este uneori efemeră (aproximativ 10-12 ore) sau alteori se însoțește de necroză locală.

Reacția poate fi declanșată și pasiv la animalele nesensibilizate:

- ◆ prin administrarea amestecului de Atg. și Atc. preparat in vitro;
- ◆ prin administrarea s.c. a Atg. și i.v. a Atc. (reacție pasivă directă);
- ◆ prin administrarea s.c. a Atc. și i.v. a Atg. (reacție pasivă indirectă);

Microscopic se observă leziuni arteriolare cu edem și extravazare de hematii în spațiul perivascular și agregate intraluminal de trombocite și de polimorfonucleare neutrofile (PMN). Folosirea experimentală de complexe Atg. Atc. marcate radioactiv, a permis

evidențierea prezenței acestora împreună cu PMN în peretele vascular între stratul endotelial și membrana bazală (Fig.74).

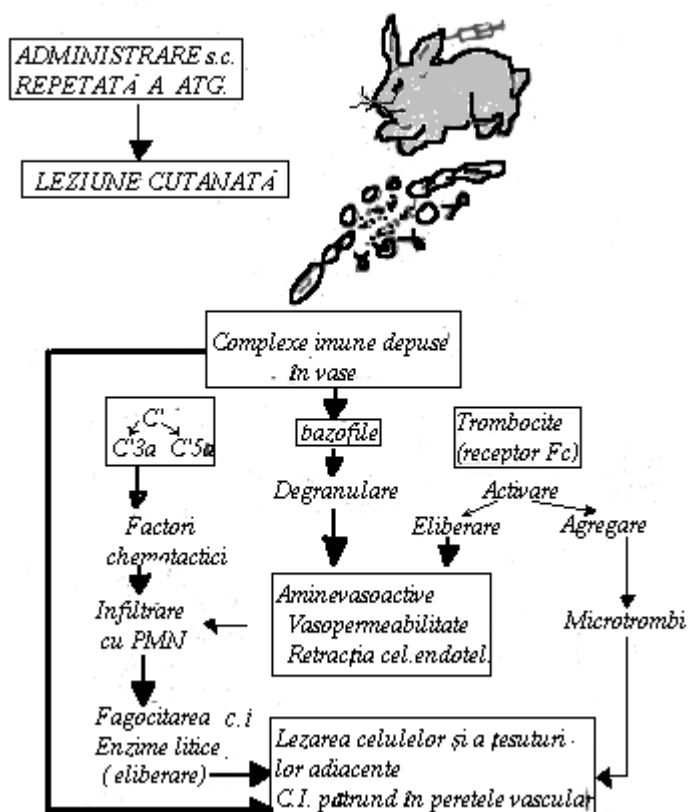


Fig. 74 Fenomenul Arthus

Elementul central care produce leziunile din reacția Arthus este formarea complexelor imune (CI) la nivelul peretelui vascular. CI produc 2 relee de activare:

- ◆ activarea complementului
- ◆ activarea unor elemente figurate: trombocite, bazofile.

Activarea C' duce la formarea anafilatoxinelor C_{3a} și C_{5a} cu efect chemotactic intens asupra polimorfonuclearelor neutrofile (PMN). PMN infiltrază puternic peretele vascular unde ingeră o parte din CI și elimină enzime care produc leziuni necrotice vasculare.

Activarea celulelor duce la eliberarea de enzime vasoactive care produc creșterea debitului sanguin (cu aducerea de noi participanți la

conflict) și a permeabilității vasculare locale (cu producerea edemului local).

Trombocitele se atașează pe CI prin intermediul unor receptori Fc. Trombocitele astfel activate secretă numeroase substanțe active și agregă între ele cu formarea de microtrombi care obstruează vasele respective.

Fenomenul Arthus se deosebește de anafilaxie: nu necesită fixarea prealabilă a Atc. în țesuturi, nu este mediat de IgG, necesită activarea C' și a PMN, necesită mai multe ore pentru a se manifesta, etc. (tabelul 14)

Tabelul 14

Compararea între anafilaxie și fenomenul Arthus

	Anafilaxia	Fenomenul Arthus
Elemente anatomo-clinice - instalare - durată - caractere	- minute - scurtă - contracția mușchilor netezi, permeabilitate vasculară	- ore - lungă (ore-zile) - edem infiltrat celular, ischemie, necroză
Atc. - izotipul - legarea pe celule - formarea de complexe cu Atg - participarea C'	- IgE - + + - - - -	- IgG - - - Da, în peretele vasului lezat - Esențială: îndepărtarea C' stopează evoluția
Participarea mastocitelor	Esențială	Accesorie
Participarea PMN	-	Esențială: îndepărtarea lor stopează evoluția
Inhibiția antihistaminice prin	+	-

Fenomenul Arthus apare ca un exemplu de patologie locală prin complexe imune. Tulburările pulmonare de tip Arthus pot fi observate printre persoane care practică anumite profesii prin care se expun la

inhalarea repetată a unor antigene: în cazul alveolitei fermierilor antigenul este o specie de mușgai al fânului; așa numita maladie a crescătorilor de păsări este provocată de Atg. din excrementele unor păsări ca porumbei, papagali sau mai rar, pui de găină. Reacțiile de hipersensibilitate se manifestă prin crize de tuse cu dispnee severă care apar după circa 6- 8 ore de la inhalarea antigenului, fără asocierea unui bronhospasm (ca în astmul alergic) dar cu depunere de Ig și C' în peretele alveolar urmate de fenomene locale de tipul celor descrise mai sus. Diagnosticul etiologic poate fi afirmat prin teste de provocare constând fie din inhalarea unei soluții apoase de Atg. purificat (reproduce fenomenul clinic) fie din injectarea i.d. a Atg. (produc o reacție cutanată).

Boala serului (model de reacție de HS prin CI circulante)

A fost descrisă la iepuri de către von PIRQUET în 1911, ca o reacție sistemică apărută după injecții i.v. cu doze mari de proteine xenogenice (ser de cal, serum-albumină bovină, etc). În perioada când vaccinările umane se făceau cu heteroseruri imune (de ex. serul antitetanic sau antirabic) boala serului era observată destul de frecvent. Semnele clinice apar după 14-21 zile de la injecție cu febră, urticarie generalizată, edem facial, poliadenopatie, artralгии, hematurie. Fenomenele clinice se însoțesc de neutropenie și de hipocomplementemie.

În această reacție Atg. persistă în circulație unde se cuplează cu Atc. pe măsura apariției acestora. Complexele circulante se depun în vasele diverselor țesuturi unde determină hiperplazia endoteliului, hiperpermeabilitate și leziuni necrotice. Patogeneza leziunilor o amintește pe aceea a reacției Arthus (Fig.75):

- fixarea și activarea C' cu aflusul ulterior al PMN;
- atașarea și activarea trombocitelor;

Consecințele acestor activări sunt:

- hiperemie;
- vasopermeabilitate crescută și edem;
- leziuni vasculare induse de PMN;

Fenomenele se sting pe măsura creșterii titrului Atc., care se însoțește de inversarea raportului Atg/Atc din circulație și de formarea de CI macromoleculare care sunt reținute rapid de Mcf. din ficat și din splină. După epuizarea Atg. din circulație formarea CI încetează și prin aceasta și inducerea de noi leziuni, iar leziunile vechi regresează.

Modelul de mai sus ilustrează o reacție acută indusă de o doză masivă și unică de Atg. Repetarea injecțiilor cu Atg. va întreține formarea de CI patogene în exces de Atg. și va duce la o reacție cronică a cărei țintă principală va deveni glomerulii renali

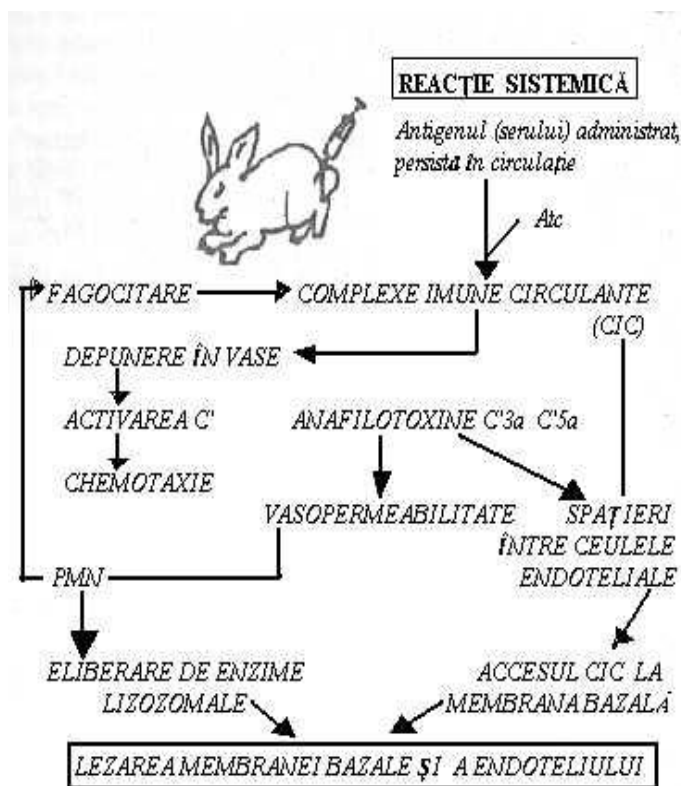


Fig. 75 Boala serului

Depunerea CI și a unor componente ale C' poate fi evidențiată prin imunofluorescență:

- ◆ complexe solubile de talie mică se depun preferențial pe versantul extern al membranei bazale, producând o glomerulonefrită cu depozite extramembranoase. Accesul CI la membrana bazală glomerulară (MGB) este facilitat de 2 factori care permit un contact nemijlocit între MGB și sângele glomerular; existența normală a unor pori în stratul de celule endoteliale (reamintim că celulele endoteliale care formează pereții capilarelor glomerulare sunt dispuse pe fața internă a MGB) și contracția celulelor endoteliale produsă de amine vasoactive, care mărește spațiile dintre aceste celule (Fig.76)

- ◆ CI cu talie intermediară se depun mai ales în mesangium.

Boala serică cronică poate avea o evoluție severă dacă injecțiile cu Atg. sunt prelungite, cu instalarea unei insuficiențe renale cu sfârșit fatal.

Bolile renale în care leziunile sunt produse de CI circulante constituie ponderea majoritară în cadrul afecțiunilor renale cu componenta imună din patologia umană.

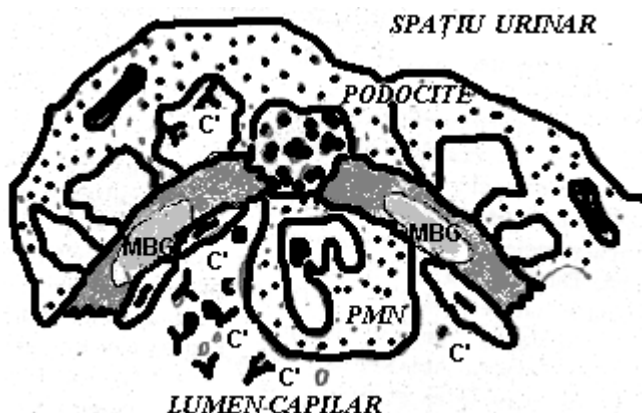


Fig. 76 Leziuni renale (glomerulare) provocate de complexe imune circulante

Atg. poate fi heterolog (bacterii- ca de ex. streptococul, virusuri sau paraziți) sau autolog (acizi nucleici ca în cazul LED, Ig...). Depunerea de CI poate fi observată pe oricare din fețele MGB: subendotelial sau subepitelial (între MGB și podocite) atunci când CI au traversat MGB. Astfel de complexe au fost de exemplu în LED (complexele ADN anti-ADN). Consecințele acestor depuneri sunt îngroșarea MGB, proliferarea endotelială și alterarea filtrării glomerulare.

13.4. STĂRILE DE HIPERSENSIBILITATE TARDIVĂ (HST)

Corespond reacțiilor de tip IV după GELL și COOMBS și sunt mediate de LimfociteT sensibilizate și de limfokine emise de acestea. Reacția se dezvoltă lent - după 24-48 de ore de la introducerea Atg. la locul de introducere a acestuia. SHT poate fi transferată pasiv la un subiect neimunizat prin injectarea de Limfocite. vii sau a unui extract

dializabil al acestuia denumit *factor de transfer*. Specificitatea pentru Atg. este absolută.

În practica clinică cercetarea reacției de HT servește ca mijloc de testare *in vivo* a răspunsului imun celular. Metodele cele mai uzitate sunt intradermoreacția (IDR) la tuberculină sau la derivatul proteic purificat al acesteia (PPD) sau reacția cutanată de contact față de DNCB (dinitroclor-benzen) care se leagă covalent cu proteine ale tegumentului.

IDR la tuberculină (reacția Mantoux) este considerată ca cel mai bun model ilustrativ al unei HT: după 48 de ore de la administrarea i.d. a substanței, se formează la locul injectării o papulă eritematoasă care dispare după 1-2 zile. Examenul histologic al leziunii arată edem tisular și un infiltrat inflamator polimorf iar examinarea ganglionilor locoregionali, de drenaj, evidențiază o hiperplazie a zonei paracorticale (T-dependente).

Cercetările cu celule marcate au arătat că LimfociteT care reacționează specific cu Atg. reprezintă doar un procent foarte mic (aproximativ 4%) dintre celulele prezentate în leziune. Aceste celule T specifice care, ca răspuns la stimularea Atg., determină RHT aparțin unui subset special de LimfociteT_{CD4+}, (diferit de celulele T_H, T_S și T_C) și care au fost denumite T_{DH} (DH = *delayed hypersensitivity*).

Se presupune că celulele nemarcate ale infiltratului inflamator sunt atrase în focar și activate prin intermediul limfokinelor emise de LimfociteT_{DH} specifice: MIF (factorul de inhibiție a migrației Mcf, factorul chemotactic, factorul de activare a macrofagelor, factorul mitogen (care induce proliferarea

Limfocite și a Mcf), factorul de transfer (induce eliberarea MIF și a IRN din Limfocite nespecifice). Toți acești factori cu rol amplificator atrag un număr impresionant de celule la locul conflictului: LimfocitePMN, bazofile, eozinofile și (în special) Mcf. RHT reprezintă mecanismul efector principal în variate condiții clinico-patologice: reacții față de virusuri, fungi, paraziți animalii și bacterii cu localizarea intracelulară în unele boli autoimune și în respingerea grevelor (Fig.77)

Hipersensibilitatea de contact reprezintă o reacție de HT a pielii la contactul cu unele substanțe chimice simple cum ar fi unele metale (Ni, Hg, Cr), bicromatul de K (utilizat în industria pielăriei) unele cosmetice, fibre vegetale (bumbac), extracte din plante (Primula). Reacția apare după circa 7 zile de la contactul cu Atg. sub forma unor papule eritematoase care se acoperă ulterior cu vezicule care decolează epidermul.

În această reacție Atg. este prezentat de celulele Langerhans care se deplasează în ganglionii regionali unde interacționează cu LimfociteT

specific. Acest model de reacție reprezintă substratul unor dermatite de contact denumite eczeme alergice.

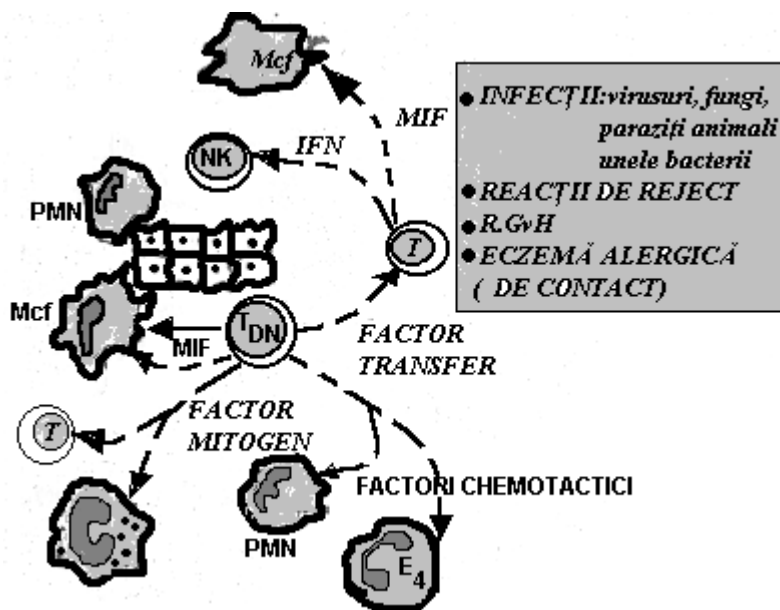


Fig. 77 Reacția de tip IV: Hipersensibilitatea tardivă mediată celular

13.5. HIPERSENSIBILITATEA STIMULATOARE DE TIPUL V

Cadrul conceptual al acestui tip de hipersensibilitate contestată de mai mulți cercetători (WELLS, 1984) a fost elaborat pentru a explica stimularea secreției hormonului tiroidian din boala Basedow de la om și câine și care se caracterizează printr-o stare de tireotxicoză. În mod normal, hormonul stimulator al tiroidei elaborat de hipofiză (HST) se fixează pe receptorii specifici complementari, de pe suprafața celulelor toridiene determinând un semnal activator.

Acest semnal transmis în celulă activează adenilat ciclaza din membrana celulară care mărește concentrația de adenzin monofosfat ciclic (AMPC) și, prin intermediul acestuia, creșterea sintezei și secreției de hormon tiroidian.

În paralel cu acest mecanism poate funcționa, un al doilea, reprezentat de un factor stimulator cu acțiune îndelungată (LATS= *Long acting thyroid stimulator*). Acesta este reprezentat de un autoanticorp,

apartținând izotipului IgG, dirijat de un antigen de pe suprafața celulei tiroidiene și capabil să mimeze, acțiunea ligandului natural. El se cuplează cu receptorul HST sau cu o moleculă asemănătoare inducând deasemeni, creșterea sintezei și secreției de hormon tiroidian.

Legarea anticorpilor de celula tiroidiană poate declanșa și alte tipuri de răspuns:

1. blocarea receptorilor pentru HST;
2. creșterea excesivă a foliculilor tiroidiene fără stimularea creșterii secreției de hormon;
3. blocarea efectului de stimulare a creșterii foliculare.

În același context efectele prezentate au fost confirmate și pentru alte tipuri de anticorpi antireceptori (receptorii de insulină, acetilcolină somatostatină, etc.)

În concluzie se poate spune că legarea anticorpilor de receptorii specifici de pe suprafața celulelor nu determină numai un răspuns unic, caracteristic, ci mai multe, cum ar fi :

1. blocarea situsului de recunoaștere a receptorului;
2. stimularea activității receptorului prin mimarea efectului ligandului natural (ca în cazul LATS);
3. lezarea receptorului și/sau a celulei prin activarea complementului sau a unor celule efectoare;
4. degradarea accelerată a receptorului;
5. alterarea capacității de legare a receptorului de ligandul său natural.

Aceste date au dus la concluzia că reacțiile de tip stimulator pot fi încadrate ca o categorie aparte de tipul II de hipersensibilitate propus de GELL și COOMBS (1968), existența unui tip aparte (V) fiind creată artificial.

CAPITOLUL 14

IMUNOPROFILAXIA

14.1. VACCINURI: DEFINIȚIE ȘI CLASIFICARE

Vaccinurile sunt produse biologice, obținute din microorganisme sau toxinele acestora și care aplicate unui organism îi conferă imunitate activă față de microorganismul din care a fost preparat.

Vaccinurile se pot clasifica după următoarele criterii:

◆ **În funcție de natura antigenului** din care se prepară vaccinurile pot fi:

- *vaccinuri vii atenuate,*
- *vaccinuri inactivate (omorâte)*
- *vaccinuri preparate cu fracțiuni imunogene purificate (vaccinuri subunitare).*

◆ **După conținutul lor în antigeni**, vaccinurile pot fi:

- *monovalente, preparate cu o singură specie bacteriană sau virală,*
- *bi, tri sau polivalente, care conțin corpi bacterieni sau toxine provenind de la două, trei sau mai multe microorganisme.*

◆ **După proveniență și folosirea lor**, vaccinurile pot fi:

- *autovaccinuri* când se prepară cu o tulpină bacteriană izolată de la un individ și folosită în imunizarea acestuia,
- *stock-vaccinuri*, preparate din mai multe tulpini izolate din focar și destinate a fi folosite în imunizări în focar ;
- *vaccinuri unice* cu tulpini standardizate, pentru imunizarea tuturor animalelor dintr-o specie animală.

Prin vaccinuri se obține o **imunitate antiinfecțioasă specifică**, numită și **imunitate activă sau inductibilă**. Imunitatea activă se obține

prin trecere prin boală sau prin vaccinare și are următoarele caracteristici:

- ◆ are un **caracter strict individual**, apare la indivizi maturi și este dependentă de intrarea unui antigen în organism;
- ◆ imunitatea inductibilă **implică o restructurare a organismului** prin apariția de imunoglobuline sau/și limfocite active;
- ◆ acțiunea efectorului imun **este specifică și diferențiată** în funcție de natura antigenului;
- ◆ imunitatea inductibilă prin vaccinare **nu este transmisibilă ereditar**, se instalează în 6-21 zile și durează un timp variabil în funcție de antigen.

14.2. VACCINURI VII ȘI NEATENUATE

Germenii vii care se inoculează sub formă de vaccinuri vii, dau o imunitate solidă, dar au dezavantajul că pot da îmbolnăviri mortale prin aplicare greșită și crează purtători de germeni.

Pentru aceste motive, utilizarea vaccinurilor vii neatenuate este limitată și se practică numai în condiții epizootologice speciale în intervenții de necesitate, ca serovaccinări și seroimunizări.

Folosirea vaccinurilor cu germeni vii, se bazează în principiu pe receptivitatea diferită a țesuturilor față de un anumit antigen. Astfel, virusul variolic produce pe cale subcutanată boala; administrat sub formă de vaccin viu pe cale intradermică produce însă o imunitate solidă.

În ultimul timp se folosesc așa numitele vaccinuri vii paraspecifice sau heterotipice, care se bazează pe folosirea în imunizare a unor germeni vii nemodificați, pentru a conferi protecție față de alți germeni înrudiți antigenic cu cei vaccinali. Astfel în imunoprofilaxia difterovariolei la galinacee se folosește virusul variolic columbar, iar în prevenirea bolii lui Marek se utilizează un herpes virus viu izolat de la curcă. Inoculat la pui de o zi, acesta din urmă, induce o rezistență satisfăcătoare pentru a-i proteja de infecția spontană cu virus Marek.

14.3. VACCINURI VII ATENUATE

Vaccinurile vii atenuate constau din suspensii de bacterii sau virusuri vii, dar cu virulență atenuată în așa fel încât să nu mai poată determina boala la animale, dar să rămână capabile să inițieze o infecție inaparentă, imunogenă.

Prin urmare, vaccinurile vii sunt produse care conțin corpi microbieni viabili dar slab virulenți și care administrate la animale într-o singură injecție, determină o imunitate solidă, comparabilă acelei consecutive trecerii prin boală, fără a fi provocat însă, decât cel mult semne minime de boală.

Indiferent de locul inoculării, agentul infecțios din vaccinul viu atenuat nu rămâne localizat, ci se răspândește în organism, pătrunzând și multiplicându-se în aceleași țesuturi în care se localizează și în cazul infecției naturale. Singura deosebire față de agentul patogen virulent este aceea că, infectând un număr mai mic de celule sensibile și multiplicându-se lent, agentul infecțios din vaccin nu declanșează o boală clinică, ci numai o infecție de formă atenuată, care este însă însoțită de modificările umorale și de reactivitate, necesare pentru stări de imunitate.

Condiția cea mai importantă în prepararea vaccinului viu este aceea că, atenuarea virulenței agenților patogeni să fie stabilă și ireversibilă, pentru ca vaccinurile să nu dăuneze animalelor și să nu creeze focare noi de infecție în colectivitate.

Atenuarea bacteriilor poate fi uneori corelată cu unele modificări ale caracterelor morfologice și culturale ale germenilor (aparitia de variante S sau R). Exemple de boli bacteriene în care se folosesc tulpini atenuate la prepararea vaccinurilor: antrax – tulpina 1190 R (*apatogenă, acapsulogenă, sporogenă și edematogenă*); rujet – tulpina VR₂ (*este o tulpină de tip N, atenuată în mod natural, total apatogenă pentru porc, dar la om poate produce uneori erizipeloid*); tuberculoza – BCG (*bacil Calmette- Guerin, obținut prin pasaje succesive pe mediu cu bilă-cartof bilit- a tulpinii de origine bovină "lait Nocard, timp de 11 ani, prin efectuarea a 198 pasaje*); listerioza- tulpinile R₁ și R₂; bruceloză - tulpina B₁₉; salmoneloza aviară - tulpina 9R; holera aviară - tulpina CU (*Clemons University*), ș.a.

Atenuarea virusurilor se poate realiza prin mai multe modalități: prin pasaje în serie pe culturi de celule; prin adaptare la anumite țesuturi și schimbarea tropismului caracteristic în generarea infecției; prin adaptarea pe specii de animale, care în condiții naturale nu sunt receptive. Vaccinurile obținute din tulpini atenuate prin embriopasaje sau prin adaptare la specii nereceptive natural, au fost denumite avianizate, lapinizate, caprinizate. Exemple de boli virale în care se folosesc tulpini atenuate la prepararea vaccinurilor: pesta porcină - tulpina C (*chineză*) care este total apatogenă; tulpinile Hudson și Koprowsky care au o patogenitate reziduală accentuată,

fiind folosite numai de necesitate în focarele de boală; pseudopesta aviară - tulpina La Sota (*lentogenă*), tulpinile H și Roakin (*mezogene*); turbare - tulpina Flury în două variante (*Flury LEP- low eggs passage* și *Flury HEP --high eggs passage*); tulpina Kelev avianizată; boala lui Aujeszky- tulpina avianizată Buk (*București*); jigodie- tulpina avianizată *Onderspoort Haig*; laringotraheita infecțioasă aviară - tulpina avianizată LS-79/2; encefalomielita infecțioasă aviară - tulpina avianizată *Calnek 1143*, etc.

Vaccinurile vii atenuate au **avantajul** de-a conferi animalelor inoculate o imunitate solidă, pot fi produse de biofabrici în cantități apreciabile și la un preț convenabil. Ca **dezavantaj** semnalăm că vaccinurile vii atenuate pot genera reacții post-vaccinale nedorite, mai ales la animalele tarate sau/și carentate alimentar. Tulpinile vaccinale, necesită o supraveghere și verificare periodică privind menținerea capacității lor imunologice și păstrarea gradului de mitigare (atenuare).

14.4. VACCINURI INACTIVATE ȘI ANATOXINE

Vaccinurile inactivate constau din suspensii microbiene omorâte prin utilizarea unor factori fizici (căldură, ultrasunete, raze ultraviolete) ori sub acțiunea formolului (0,5%) sau a altor substanțe chimice (fenol, chinazol, cloroform, etc.). În practică sunt utilizate sub forma a numeroase vaccinuri ca: vaccin contra cărbunelui enfizematos, vaccin contra enetroxiemiilor, vaccin anticolibacilar, antisalmonelic, vaccin pestos porcilor inactivat cu cristal violet, etc.

Vaccinurile inactivate au o inocuitate bună, putând fi aplicate la animalele debile, tarate, la care vaccinurile vii atenuate sunt contraindicate, sau în cazul unor boli la care nu s-au obținut vaccinuri cu tulpini vii atenuate.

Au dezavantajul că duc la apariția mai tardivă a răspunsului imun, imunitatea este mai puțin solidă și de durată scurtă. Imunitatea trebuie consolidată cu o revaccinare (vaccinare de rapel) la 1-2 săptămâni de la prima vaccinare.

Anatoxinele sau toxozii sunt produse imunizante obținute prin tratarea exotoxinelor cu formol 0,5% și căldură (37°C). În aceste condiții, toxinele își pierd complet toxicitatea, dar își păstrează proprietatea imunologică reprezentată de capacitatea de-a stimula formarea de anticorpi protectori. Preparate de acest fel sunt de exemplu: anatoxina tetanică, anatoxina stafilococică, anatoxina botulinică, etc.

Vaccinuri subunitare (purificate) reprezintă vaccinuri inactivate în care principii activi sunt constituiți numai din fracțiunile imunologic active ale virusurilor, bacteriilor sau metaboliților lor. În acest scop, prin purificarea fracționată, în vaccinurile subunitare se introduc exclusiv fracțiunile protectoare dintr-un antigen, cum ar fi: glicoproteinele peplosului viral, proteinele capsidei virale, aparatului pilier, polizaharidele capsulare și Vi, exotoxinele, etc. Ca la orice vaccin inactivat, fracțiunile separate, pot fi asociate cu o substanță adjuvantă în vederea potențării capacității imunogene. Vaccinurile subunitare prezintă avantajul unei perfecte inocuități prin eliminarea reacțiilor adverse cum ar fi reacțiile locale sau generale, hipersensibilizarea, etc. Imunitatea indusă este comparabilă cu a vaccinurilor clasice inactivate, dar are un grad de specificitate mult mai înalt.

O substanță adjuvantă care are o largă întrebuințare în prepararea vaccinurilor de uz veterinar este hidroxidul de aluminiu ($\text{Al}(\text{OH})_3$) substanță coloidală, de culoare alb-lăptoasă, care are proprietăți adsorbante față de virusuri filtrabile, toxinele bacteriene și proteinele serice. Capacitatea imunizantă a hidroxidului de aluminiu este remarcabilă putând să mărească capacitatea imunizantă a toxinei tetanice, de exemplu, până la 100 ori față de toxina neadsorbită.

Substanțele adjuvante acționează prin inflamația locală și prin eluția treptată a particulei antigenice adsorbite. Unele substanțe adjuvante prezintă și inconveniente în sensul că produc reacții locale mari sau pot mări capacitatea alergizantă a organismului.

Vaccinurile se prepară în institute specializate numite biofabrici.

Principiile de preparare ale unui vaccin constau în următoarele:

- ◆ selecționarea tulpinii (a antigenului) vaccinale și testarea imunogenității ei;
- ◆ cultivarea tulpinii pe medii optimale pentru obținerea unei mase antigenice bogate;
- ◆ inactivarea și eventual adăugarea pe o substanță adjuvantă, în cazul vaccinurilor inactivate;
- ◆ controlul sterilității vaccinului;
- ◆ controlul inocuității pe animale de laborator și pe speciile pentru care este destinat;

Un vaccin pentru a putea fi utilizat în practică trebuie în mod obligatoriu să îndeplinească o serie de condiții:

- ◆ să nu fie nociv, adică să nu producă îmbolnăviri animalelor inoculate în conformitate cu principiul hipocratic *primum non nocere*;
- ◆ să fie activ antigenic, în sensul că odată administrat să provoace apariția masivă de anticorpi protectori;
- ◆ să poată fi preparat în condiții și cantități industriale fiind în același timp și convenabil din punct de vedere economic;
- ◆ să aibă o valabilitate de lungă durată.

Beneficiarul are obligația de a păstra produsul biologic în condiții adecvate de temperatură (+2°C - +4°C) și la întineric să respecte instrucțiunile de aplicare.

14.5. VACCINURILE OBȚINUTE PRIN TEHNOLOGII MODERNE

Vaccinurile obținute prin recombinare genetică se bazează pe separarea și inserția genelor responsabile de sinteza fracțiunilor imunologic active. Cu ajutorul enzimelor de restricție, nucleaze și ligaze, se separă o genă care codifică un anumit epitop care apoi se inseră într-un sistem vector. Sistemul vector poate fi de regulă o plasmidă sau alt vector adecvat, care introduce și integrează gena în genomul unor celule de mamifere, urmată de cultivarea celulelor hibride pe medii adecvate; sinteza substanței dorite care va fi în continuare izolată și purificată prin diferite metode. Antigenele obținute prin tehnici de inginerie genetică au o serie de avantaje decurgând din puritatea și stabilitatea lor, absența efectelor secundare și a riscului de infecțiozitate.

Vaccinurile sintetice folosesc ca determinant antigenic, un lanț polipeptidic scurt, care este adesea slab imunogen și care este cuplat la o proteină de transport (*carrier*) și adsorbit pe un adjuvant mineral sau uleios adecvat. Vaccinurile sintetice se utilizează cu succes în inducerea de anticorpi neutralizanți contra diverselor tipuri și subtipuri de virus aftos. În acest caz, se utilizează peptidele a câtorva acizi aminați care corespund determinantilor antigenici majori a unei proteine a capsidei virale (proteina VP₁) care se cuplează cu o moleculă de transport și o substanță adjuvantă. Se obține un vaccin, care inoculat la animale (bovine, oi, porci) induce apariția unor anticorpi neutralizanți.

Vaccinuri antiidiotipice

Vaccinurile antiidiotipice se bazează pe principiul dualismului imunoglobulinelor. Cele două fațete care conferă caracterul dual al imunoglobulinelor sunt determinate de abilitatea acestora de a îndeplini în organism atât funcția de anticorpi cât și funcția de antigeni. Cu alte cuvinte, un anticorp Ig₁ apărut în urma contactului cu un antigen poate să stimuleze sistemul imunitar și să determine la rândul său sinteza unui nou anticorp (Ig₂).

Anti-anticorpilor (Ig₂) păstrează amintirea antigenului primar, cu care va reacționa specific în toate situațiile.

Se ajunge în felul acesta la posibilitatea de a induce prin intermediul anticorpilor Ig₁ de anti-anticorpi Ig₂ capabili de a se lega de epitopul, prin intermediul căruia sunt în mod indirect formați.

Principiul tehnicii de obținere a anticorpilor antiidiotip este următorul:

Epitop	Anticorpi Ig₁ (idiotipuri) purtători de structuri antigenice în regiuni hipervariabile (idiotopi).	Anticorpi Ig₂ (antiidiotipuri) în care ei reprezintă imaginea internă a epitopului.	Anticorpi Ig₃ corespund anticorpilor inițiali Ig ₁ și prezintă specificitatea de legare pentru epitop
---------------	---	--	---

Prepararea vaccinurilor antiidiotipice a fost facilitată prin folosirea anticorpilor monoclonali, a căror capacitate imunogenă este limitată și deci trebuie potențată prin substanțe adjuvante.

Vaccinurile antiidiotipice prezintă avantajul unei mari specificități și se dovedesc foarte utile pentru a obține răspunsuri imune față de antigeni slab imunogeni (antigeni polizaharidici, antigeni lipopolizaharidici). Prezintă dezavantajul unor reacții adverse mai ales atunci când se folosesc anticorpilor monoclonali proveniți de la altă specie.

Vaccinuri antiparazitare. În profilaxia bolilor parazitare se încearcă prepararea unor vaccinuri utilizând ca antigeni paraziți, atenuați, omogenizat din parazitul integral, paraziți omorâți sau antigeni parazitari solubili.

În protecția contra protozoarelor sanguine s-au preparat vaccinuri folosind ca antigeni paraziți atenuați sau omorâți prin înghețări și dezghețări succesive, tratate cu formol sau beta-propiolactonă sau iradiere cu raze X.

În profilaxia helmintozelor s-a reușit prepararea unui vaccin contra dictiocaulozei, folosind antigeni larvari din *Dictiocaulus viviparus* și *D. filaria*.

În ectoparazitoze, în imunoprofilaxia infestațiilor cu *Ixodidae* se utilizează experimental folosirea de antigeni obținuți din extracte parazitare totale.

Profilaxia specifică prin vaccinări în bolile parazitare este încă în faza experimentală urmărindu-se în mod special purificarea numeroșilor antigeni parazitari în vederea selectării epitopilor specifici.

În cazul vaccinurilor preparate, imunitatea este adesea incompletă și nu s-a reușit decât față de un număr limitat de infestații, profilaxia în bolile parazitare fiind dominant nespecifică.

Vaccinuri antihormonale

Vaccinurile sunt utilizate, pe scară largă în prevenirea bolilor infecțioase sau de invazie, dar pot fi folosite și în scopul reglării imunologice a funcțiilor hormonale.

Ameliorarea în creștere, a prolificității sau din contră castrarea imunologică sunt între principalele ținte, a vaccinurilor antihormonale. Între primele aplicări a fost mărirea foliculogenezei la ovine prin imunizarea cu hormoni steroizi (androsteron, testosteron, oestrodol) conjugați la molecula *carrier* și adionați la adjuvanți uzuali. În faza experimentală se utilizează și castrarea imunologică hormonală la femele și masculi.

14.6. MODUL DE APLICARE A VACCINURILOR

Vaccinurile se administrează la animale sănătoase în scop profilactic, dozele de aplicare fiind în funcție de vaccin și de specia animală care se vaccinează. Căile de administrare sunt parenterale, prin inoculare, sau enterale prin administrarea pe căi naturale.

Vaccinările parenterale devin greoaie sau chiar imposibile de aplicat în unitățile industriale, în special la păsări, numărul mare de animale făcând intervenția individuală inoperantă. Vaccinările pe căi naturale oferă avantajul administrării colective în vaccinări de masă. Vaccinările pe căi naturale sunt deosebit de eficiente în cazul

vaccinurilor vii atenuate, întrucât în numeroase afecțiuni infecțioase procesele patologice se desfășoară la nivelul mucoaselor. O imunizare locală blochează intrarea și fixarea germenilor la nivelul mucoaselor. Procesul de imunizare se caracterizează prin formarea de Atc. protectori de tipul IgA și parțial IgM. Apariția de Atc. secretori este precedată de apariția de celule imunizante în mucoasă, corionul fiind un strat al mucoaselor deosebit de activ pe plan imunologic.

Atg. corpusculari administrați pe căi naturale sunt rapid absorbiți în circulația sanguină declanșând imunitatea umorală.

În general administrările pe căi naturale, per os, conjunctival, prin aerosoli, necesită o supradozare a antigenului în scopul de-a oferi șansa ca toate animalele supuse operației de imunizare să-și primească doza necesară imunizării.

Căile de vaccinare parenterale

◆ **vaccinarea prin scarificare:** se aplică în profilaxia variolilor aviare și constă din scarificarea pielii pe fața anteroexternă a gambei, peste care se badijonează vaccinul. Se poate utiliza și aplicarea vaccinului transcutanat prin presiune prin pielea normală, cu un aparat special numit Hiposprey-jet-injector;

◆ **vaccinarea subcutanată** este cea mai răspândită dintre căile de aplicare a vaccinurilor, se execută cu ace scurte pentru a evita introducerea vaccinului sub fascii. Ca loc de elecție se recomandă:

- a) laturile gâtului la animalele mari;
- b) fața internă a coapsei;
- c) zona posterioară a conchiei auriculare la porcine;
- d) părțile laterale ale toracelui la carnivore;
- e) partea superioară a gâtului la păsări.

◆ **vaccinarea intramusculară** se practică rar, utilizându-se ace lungi, având ca loc de elecție mușchii fesieri și pectorali la păsări. Vaccinarea intramusculară se recomandă în cazul vaccinurilor vii; cele adionate pe hidroxidul de aluminiu depreciază calitatea cărnii;

◆ **vaccinarea intraperitoneală** se practică cu ace cu bizoul scurt, respectând reguli stricte de asepsie. Se recomandă doar la porci, în vaccinările contra enteritelor.

Căile de vaccinare enterale

◆ **vaccinarea conjunctivală**, se aplică la păsări și constă în instilarea vaccinului în sacul conjunctival;

◆ **vaccinarea prin aerosoli** se face sub forma unor suspensii antigenice fine de dimensiuni cuprinse între 20-60 nm. Se utilizează în aplicarea vaccinurilor virale, îndeosebi în imunizarea păsărilor, vaccinul fiind pulverizat prin duze calibrate pentru obținerea de particule fine, la presiunea de 8 atmosfere.

◆ **vaccinarea orală** (per os) se utilizează prin administrarea vaccinului în furaj, în apă de băut. Cantitatea de vaccin trebuie să fie mai mare, de circa 100 de ori, decât în administrarea parenterală întrucât aciditatea gastrică și în general mediul gastrointestinal cenzurează 99% din antigenul administrat. În prezent se utilizează vaccinuri enterale incapsulate în microsfele de copolimeri ai acidului lactic sau acidului glicolic. Antigenele din matricea polimerică, pot fi corpusculare sau sub formă lichidă;

◆ **serovaccinarea** constă în administrarea simultană, dar în puncte separate, a agentului vaccinal nemodificat (virulent) și a unei cantități de ser imun. Serul se administrează pentru a asigura protecție imediată animalelor vaccinate, atât față de intervenția unei tulpini sălbatice a unui posibil agent etiologic specific, dar și împotriva agenului vaccinal, căuia îi atenuează din patogenitatea potențială. Treptat efectul anticorpilor administrați prin serul specific scade, iar organismul începe să-și sintetizeze anticorpii specifici proprii, sub acțiunea inductoare a vaccinului.

Serovaccinarea a fost folosită încă de la sfârșitul secolului trecut în imunizarea antirujetică (*metoda Loretz*) și anticărbunoasă (*metoda Sobrenheim*) și din 1906 s-a introdus în imunoprofilaxia pestei porcine, sub denumirea de serovirulizare, constituind timp de aproape cinci decenii metoda de bază în lupta împotriva acestor grave boli.

Această metoda de vaccinare prezintă dificultăți în privința unei echilibrări judicioase între germeni și ser (raportul antigen/anticorp), existând posibilitatea ca virulența să fie neutralizată de ser (anticorpi) și în consecință să nu se mai instaleze o imunitate activă satisfăcătoare ca intensitate și durată. Pe de altă parte, organismele vaccinate ca agentul patogen folosit ca vaccin viu, pot deveni purtătoare și eliminare de germeni (mai ales în cazul vaccinurilor antivirale) pentru perioade lungi de timp, ducând la crearea artificială a unor focare staționare de boală.

Profilaxia specifică, prin utilizarea vaccinurilor reprezintă pentru prezent modalitatea cea mai eficientă în prevenirea bolilor

infecțioase. Pentru viitor se prospectează prepararea de vaccinuri lipsite de antigeni de lest, care să conțină numai fracțiunea imunizantă (subunit-vaccinuri) și utilizarea pe scară largă a paravaccinurilor (MAYR, 1980).

Imunitatea pasivă

Imunitatea pasivă se obține prin transfer de anticorpi gata formați de un organism donator și prezintă următoarele caractere generale:

- ◆ se instalează fără participarea organismului, prin simplu transfer de anticorpi preparați de alt organism;
- ◆ se instalează imediat;
- ◆ este o imunitate de scurtă durată, 14-21 zile.

14.7. SERURILE IMUNE

Serurile imune sau terapeutice sunt produse biologice obținute din serul sanguin al unui animal imunizat activ prin vaccinare sau al unui convalescent imunizat activ prin trecere prin boală. În ambele cazuri, serul conține anticorpi protectori specifici, capabili să neutralizeze acțiunea antigenului respectiv. Primele încercări de folosire a serurilor în terapia antiinfecțioasă datează de la sfârșitul sec. XIX-lea, când s-a demonstrat că inocularea unei culturi bacteriene la un animal determină apariția în serul sanguin a unor substanțe care pot proteja nu numai organismul care le-a produs ci și alte organisme la care acest ser este inoculat.

Clasificarea serurilor se face după mai multe criterii și anume:

1. După cantitatea de anticorpi serurile se împart în :

a. seruri hiperimune, care conțin o cantitate foarte mare de anticorpi și se obțin prin administrarea antigenului nemodificat sau a toxinei ca atare;

b. seruri de convalescent, se obțin de la animale care au trecut prin boală în mod natural și conțin o cantitate redusă de Atc.

c.concentrate gamaglobulinice, reprezintă fracțiunea globulinică din seruri, sunt foarte bogate în Atc. și ca atare se inoculează în cantități mici, având o valoare de 4-5 ori mai mare decât serul integral.

2. După specia pe care s-a preparat serurile pot fi:

- a. omologe**, care se prepară pe o specie animală și se administrează la aceeași specie;
- b. heterologe** când se prepară pe o specie și se aplică la altă specie animală decât specia pe care s-a preparat.

3. După natura antigenului cu care s-a preparat, serurile pot fi:

- a. seruri antimicrobiene**, când antigenul folosit a fost o bacterie sau un virus;
- b. seruri antitoxice**, când imunizarea s-a făcut cu toxine;
- c. seruri mixte** care conțin atât Atc. microbieni cât și antitoxici;

14.8. MODUL DE PREPARARE A UNUI SER

Serurile se prepară în biofabrici și necesită protocoale de lucru riguroase. În general în prepararea unui ser sunt necesare următoarele etape:

- **alegerea Atg. bacterian**, viral sau toxina care trebuie să îndeplinească condiția purității și antigenității;
- **stabilirea speciei animale** pe care se face imunizarea.

Se utilizează în mod special calul, bovinele și suinele; utilizarea animalelor mici este în general neeconomică. Bovinele și porcinele se utilizează pentru seruri strict omologe. Donatorul preferat rămâne calul, care reacționează imunologic cu majoritatea Atg., are o cantitate mare de sânge și serul său este relativ bine suportat de alte specii. Animalele alese pentru imunizare trebuie să fie sănătoase și indemne de boli infectocontagioase oculte.

- **hiperimunizarea propriu-zisă**, constă în inocularea i.v. a Atg. Primele 2-3 inoculări se fac cu vaccin, următoarele cu Atg. viu în doze progresive, după un protocol de lucru bine stabilit, în funcție de fiecare ser în parte.

- **sângerarea** care se poate face parțial, prin scoaterea a cca. 1/3 din volumul total de sânge la cabaline și bovine, sau *la alb* prin scoaterea întregii cantități de sânge prin puncția cordului (la porcine).

- **recoltarea serului sau a plasmei**, prin defibrinare cu perle de sticlă în recipiente sterile, sau prin exprimarea serului după coagulare pe baghete de sticlă.

- **titrarea serului** se face pentru a se determina cantitatea de Atc. Se evaluează față de seruri *etalon standard* și se exprimă în unități internaționale sau unități de protecție.

- **controlul purității** față de eventualele infecții bacteriene sau micotice, apărute în timpul recoltării serului. Dacă serul este pur se introduce fenol 5% ca substanță prezervantă și se înfiolează.

Condițiile pe care trebuie să le îndeplinească un ser bun

Pentru a fi introdus în practică serul, trebuie să îndeplinească o serie de condiții și anume: să fie activ, adică să conțină o cantitate apreciabilă de Atc.; să fie steril și să nu fie nociv pentru specia animală la care se administrează.

Serurile trebuie păstrate în condiții corespunzătoare de temperatură și întuneric. S-a dovedit că temperatura de 37°C scade titrul unui ser aproximativ 20%, radiațiile solare reduc capacitatea protectoare cu 50%, iar înghețul și dezghețul duc la inactivarea totală a serurilor imune.

14.9. MODUL DE APLICARE A SERURILOR

Serurile imune se aplică în două scopuri:

- a) în scop profilactic în focarul de boală la animalele sănătoase;
- b) în scop curativ la animale bolnave (în special serurile antitoxice).

Căile de inoculare pot fi intravenoase (cu riscuri de șoc anafilactic pentru serurile heterologice), intraperitoneale, subcutan, intramuscular și subdural. Serurile nu se administrează *per os* întrucât anticorpii sunt cenzurați de fermenții tubului digestiv; ele pot fi administrate pe această cale numai la animale nou-născute.

CAPITOLUL 15

SUBSTANȚE IMUNOMODULATOARE, IMUNOSTIMULATOARE ȘI IMUNOADJUVANTE

15.1. TERMENII FOLOSIȚI PENTRU DESEMNAREA SUBSTANȚELOR CU EFECT ASUPRA SISTEMULUI IMUNITAR

Substanțele cunoscute ca fiind capabile să acționeze pozitiv sau negativ asupra imunității au fost denumite diferit de la un autor la altul.

Astfel, POPOVICIU (1980) denumește aceste substanțe *adjuvante* și imunostimulente nespecifice; MAYR (1982) le atribuie calificativul de *inductori* de paraimunitate, TIZARD (1987) distinge două categorii de asemenea substanțe și anume *adjuvanți* care stimulează răspunsul imun dacă sunt cuplați cu un antigen și respectiv substanțe *imunostimulatoare* care au un efect neantigen-specific.

OLINESCU (1983) semnalează utilizarea ca sinonime a termenilor de imunomodulatori, *imunoactivatori*, *imuno restauratori*, iar VANSELOW (1987) simplifică terminologia utilizând termenul de *adjuvant*, introdus de RAMON în 1926 pentru a cuprinde o largă gamă de substanțe cu proprietăți imunomodulatoare, imunopotențatoare și imunoadjuvante.

Potrivit acestui autor imunomodulatorii pot acționa asupra sistemului imun atât în sens pozitiv cât și în sens negativ, adică sunt

capabili să restaureze starea de imunodepresie, dar și să determine un răspuns imun excesiv, de genul hipersensibilizării.

Între imunomodulatori se enumeră unele virusuri, bacterii și produsele lor, precum și alte produse biologice ale sistemului imun.

Imunostimulatorii sau imunopotențatorii stimulează răspunsul imun în combinație cu o stimulare antigenică. Unele substanțe cum ar fi: levamisolul MDP (muramildipeptidul), poate exercita un efect imunomodulator cât și imunopotențator.

Imunoadjuvanții sînt mai eficienți dacă se asociază cu administrarea unui antigen (de exemplu, polinucleotidele MDP, sărurile de aluminiu, adjuvantul complet Freund, endotoxinele bacteriene).

Cu toate acestea s-a constatat numeroși adjuvanți care stimulează imunitatea chiar dacă nu sunt cuplați cu un antigen (de exemplu, emulsiile de apă în ulei).

În cele ce urmează vom folosi termenii de substanțe imunomodulatoare, imunoadjuvante pentru a cuprinde toate produsele extrem de diferite ca origine și structură, care influențează răspunsul imun față de diverși antigeni și față de tumori. Acțiunile pe care le prezintă aceste substanțe nu se exclud reciproc, întrucât o substanță poate dispune concomitent de două sau chiar trei din aceste proprietăți.

15.2. CLASIFICAREA SUBSTANȚELOR IMUNOMODULATOARE

Imunomodulatorii și imunoadjuvanții sunt reprezentați de numeroase substanțe extrem de diferite din punct de vedere al provenienței lor, a structurii lor chimice, a modului de acțiune, încât și criteriile de clasificare sunt la fel de numeroase și diferite, de la un autor la altul.

OLINESCU în 1989 utilizează drept criterii de clasificare a imunoadjuvanților, modul de obținere (naturali-sintetici), proveniență (chimică, biologică) și structură (simplă, moleculară-complexă, celulară, pluricelulară, tisulară).

THEILEN și MADEWELL în 1987 abordează imunoadjuvanții din punctul de vedere al imunoterapiei nespecifice a cancerului, clasificându-i în: substanțe biologice, imunopotențatori chimici și sintetici.

TIZARD în imunologia veterinară din 1987 distinge trei categorii: adjuvanți care se administrează concomitent cu un antigen respectiv, vaccinuri, substanțe imunomodulatoare și extractele leucocitare dializabile.

Cea mai cuprinzătoare clasificare i-o datorăm lui VANSELOW (1987) care grupează imunoadjuvanții în 5 categorii:

- a)** substanțe biologice;
- b)** produși chimici definiți, bacterieni sau fungici;
- c)** analogi biologici sintetici;
- d)** preparate chimice;

Cu toate că nici o clasificare nu este atotcuprinzătoare în cele ce urmează vom da o listă a imunoadjuvanților după autorii de mai sus și completată de noi (tabelul nr.15).

Tabelul 15

Listă adjuvanților utilizați în medicina umană și veterinară

A. SUBSTANȚE BIOLOGICE

- Micobacteriile - M. tuberculosis încorporat în adjuvantul lui Freund complet (AFC)
- M. bovis var. Calmette-Guerin (BCG)
- Fragmente micobacteriene
- Corinebacteriile (C. parvum - denumit actual Propionibacterium acnes; C. granulosum)
- Bordetella pertusis
- Nocardia rubra
- Bacillus subtilis
- Probiotice (Produse bacteriene care blochează multiplicarea bacteriilor patogene și potențial patogene)
- Unele virusuri, între care avi- și parapoxvirusurile
- Saponinele
- Vitamina A (retinol)
- Vitamina E
- Vitamina C
- Vitamina D
- Lanolina
- Gelatina (microsferule)

B. PRODUSE CHIMICE DEFINITE, BACTERIENE SAU MICOTICE

- Lipopolizaharidele
- Polizaharidele (glucanul, lentinanul din levuri)
- Muramil dipeptidul (MDP)
- Trehaloza dimicolat (cord factor) (TDM)
- P 40 (glicoproteină asociată peptidoglicanului din peretele celular, derivată din C. granulosum)

- Omnadin, Aerodin, Zoodin, Polidin (preparate polimicrobiene)
- Cantastim (fracțiuni subcelulare de *Klebsiella pneumoniae*)
- ICB 10 (preparat pe bază de candidină)
- Statolon
- Bestatin

C. PRODUSE BIOLOGICE ALE SISTEMULUI IMUN

- Hormoni timici
- Limfokine și citokine, inclusiv interferonul

D. PRODUSE BIOLOGICE TISULARE

- Extracte tisulare de placentă umană: PDE, Ombilicen, Coriocen, Amniocen
- Extract tisular de splină STE
- Extract tisular hepatic HTE

E. ANALOGI BIOLOGICI SINTETICI

- Homopolimerii ARN complementari dublu torsodați (poli I:C și poli A:U)
- MDP sintetic
- TDM sintetică
- Lauroiltetrapeptidul (RP 40639)
- Steariltirozina clorhidrică

F. SUBSTANȚE ȘI PREPARATE CHIMICE

- Cuprul
- Seleniul
- Zincul
- Compușii de aluminiu (Al(OH)_3 ; AlSO_4)
- Fosfatul calcic
- Dextranul sulimfociteat
- Emusiile uleioase (adjuvantul Freund incomplet- AFI)
- Levamisolul
- Lipozomii
- Adjuvanții poliacrilici
- Dinitroclorbenzenul
- Azimexona
- Tufstinul
- Sferule de albumină sferică
- CP - 20.960

15.3. MODUL DE ACȚIUNE AL UNOR IMUNOADJUVANȚI SPECIFICI

Grație diversității lor mai ales din punct de vedere chimic și al structurii, aproape fiecare grup de substanțe adjuvante și în unele cazuri fiecare substanță au un mecanism propriu de acțiune.

VANSELOW în 1987 încearcă să grupeze mecanismele de acțiune a imunoadjuvanților în trei direcții:

- acțiunea asupra antigenului;
- acțiunea asupra organismului-gazdă;
- acțiunea simultană la ambele niveluri.

15.3.1. Acțiuni asupra antigenului

Imunoadjuvantul plus antigenul au un efect de *depozitare* care influențează răspunsul imun primar și mai puțin pe cel secundar printr-un aflux al celulelor fagocitare la locul de elecție.

Unii imunoadjuvanți cum ar fi bazele alkilice și cei uleioși pot determina modificări ale conformației și sarcinii electrice a moleculei de antigen care devin puternic imunogene.

Alți adjuvanți au posibilitatea de a transforma o haptenă neimunogenă într-una imunogenă. S-a demonstrat că un imunogen puternic este alcătuit dintr-o parte imunogenă - haptena- și o parte cu calități de adjuvant.

Proteinele adăugate prin acilare au tendință mai mare de agregare moleculară și de aderență celulară. Aceste tendințe le sporesc imunogenitatea Atg., inclusiv prin aceea că proteinele atașate macrofagelor sunt mai imunogene decât cele libere.

Efectul adjuvant al conjugatelor lipido-proteice, al substanțelor lipidice și lipidofile se caracterizează prin accentuarea captării Atg. de către macrofagele din limfonoduli, care are ca o consecință globală, stimularea imunității mediate celular.

În sfârșit, alți imunoadjuvanți au capacitatea de a denatura antigenul prin emulsionare sau fragmentare prin adsorbție la alaun, bentonită sau alte substanțe.

Antigenul astfel modificat aderă la suprafața macrofagelor și a celulelor dendritice ale limfonodulilor și splinei, ceea ce favorizează prezentarea lui la limfocite.

15.3.2. Acțiuni asupra organismului-gazdă

Există numeroase date privind efectul adjuvanților asupra organismului gazdă, care de fapt se adaugă celor exercitate asupra antigenului.

Una din ipotezele agreate și confirmate este aceea a depozitării antigenului. Potrivit acestei teorii adjuvanții întârzie înglobarea antigenului la locul de inoculare și îl eliberează treptat (eluție). Astfel, adjuvantul Freund complet (AFC) reține Atg. la locul inoculării timp de 6 luni (OLINESCU, 1988).

De aceleași efecte se bucură mai des, sărurile de aluminiu și emulsiile apă-ulei (A/U).

S-a demonstrat, deasemenea, retenția Atg. la nivelul limfonodurilor regionale. Numeroși adjuvanți pot determina sechestrarea sau captarea limfocitelor (trapping) în organele limfoide.

Captarea limfocitelor favorizează contactul optim între Atg. și celulele sistemului imun.

Pe de altă parte, unii imunoadjuvanți *recrutează* macrofage limfocite și alte celule la sediul inoculării cu formarea de granuloame.

Imunoadjuvanții tensioactivi (endotoxine, ceara D, micobacteriile, retinolul, detergenții anionici și saponina) dispun de grupări distincte hidrofiele sau lipofile care facilitează fixarea Atg. la membrana celulară, eliberarea de limfokine și monokine, precum și lezionarea membranelor lizozomale. Răspunsul organismului gazdă la administrarea adjuvanților, poate fi diferit și în funcție de calea de administrare - local (topic) sau parenteral (sistemic) stimulând imunitatea umorală sau pe cea celulară.

Unii imunoadjuvanți își exercită acțiunea imunoregulatorie prin intermediul nucleotidelor ciclice. Se cunoaște că diferențierea limfocitelor este stimulată de cAMP (3'5' adenozinmonofosfatul ciclic) dar proliferarea este inhibată de cAMP.

Activarea proliferării Limfocite și Mcf este dependentă de cGMP (guanozinmonofosfatul ciclic).

Unii adjuvanți (AFC și lipopolizaharidele) pot stimula prezentarea Atg. precum și exprimarea moleculelor Ia, pe membrana externă a macrofagelor care intervin în cooperarea dintre celulele T și Mcf.

În sfârșit, imunoadjuvanții pot stimula sau inhiba sinteza și eliberarea unor imunoregulatori naturali (citokine, prostaglandine, hormoni polipeptidici) a căror acțiune asupra sistemului imun este binecunoscută.

15.4. MODUL DE ACȚIUNE A UNOR IMUNOADJUVANȚI SPECIFICI

La capitolul anterior (15.3.) au fost redate anumite acțiuni generale ale adjuvanților asupra antigenelor și organismului.

În continuare, vom reda modul de acțiune a unor adjuvanți specifici.

15.5. PRODUSE CHIMICE DEFINITE, BACTERIENE SAU MICOTICE

15.5.1. *Micobacteriile*

Încă din 1924 LEWIS și LOOMIS au observat că la cobaii infectați cu BK are loc o sinteză sporită de Atc față de un Atg inoculat ulterior.

Așa s-a ajuns la prepararea adjuvantului Freund complet (AFC) în anul 1942 de FREUND și McDERMOTT. Mai mult, s-a constatat că nu numai micobacteriile ci și fragmentele acestora exercită efecte imunoadjuvante.

Cele mai ample studii au fost dedicate BCG-ului (*M. bovis* var. Calmette-Guerin) în imunoterapia cancerului la om și animale.

Adjuvantul Freund complet (AFC)

AFC este alcătuit dintr-o emulsie apă-ulei (A/U) conținând un Atg. și respectiv bacili tuberculoși vii sau omorâți. *Mycobacterium tuberculosis* poate fi substituit de alte micobacterii sau chiar de fragmente ale acestora cu ar fi TDM (trehaloză dimicolat). Antigenul este introdus în faza apoasă iar micobacteriile în cea uleioasă.

Atg. specific încorporat în AFC difuzează cu adjuvantul spre limfonodurile adiacente stimulând atât răspunsul imun umoral, cât și pe cel mediat celular. O singură inoculare s.c. sau i.m. de AFC provoacă apariția Atc. în timp de 4-5 zile care pot fi detectați până la 8-9 luni.

Picăturile de emulsie sunt vehiculate la distanță de locul inoculării și provoacă o reacție inflamatorie severă, atât la sediul inoculării cât și la distanță. Datorită acestui efect advers excesiv ca și datorită faptului că AFC include o reacție pozitivă la tuberculină, utilizarea lui a fost abandonată, păstrându-și nealterat interesul experimental (TIZARD, 1983; VANSELOW 1987).

Bacilul Calmette-Guerin (BCG)

BCG (*Mycobacterium bovis* var. Calmette-Guerin) preparat inițial ca vaccin atenuat împotriva tuberculozei și-a dovedit eficiența în stimularea imunității naturale, într-o serie de tumori la om și la animale domestice și de laborator.

La animalele de laborator consanguine administrarea BCG determină regresia tumorilor induse experimental, dar la om și animale neconsanguine el determină regresia numai a tumorilor spontane localizate.

BCG își exprimă efectul mai net în cazul inoculării intralezionale în tumori induse experimental la animale de laborator; hepatoame, osteosarcoame, cancer mamar și cel al vezicii urinare.

La om și-a dovedit eficiența în terapia unor tumori spontane ale vezicii urinare, cancer pulmonar și cancer de sân. La animale s-au înregistrat succese în tratamentul limfosarcoamelor, osteosarcoamelor, tumorilor venerice, sarcoidoza cailor, etc. Stimularea imunității antitumorale cu BCG se exercită prin mai multe mecanisme:

- activează capacitatea fagocitară și oxidativă a macrofagelor;
- stimulează proliferarea limfocitelor Tc și NK;
- stimulează citotoxicitatea anticorpodependentă prin prezența unui efect imunogen nespecific datorită reactivității încrucișate dintre BCG și anumiți antigeni tumorali;
- reducerea fenomenului de toleranță prin *epurarea* unor factori blocați din circulație.

Eficiența terapeutică a BCG depinde de mai mulți factori cum ar fi, sursa utilizată, doza, protocolul terapeutic, frecvența administrării și modul de preparare.

Căile de administrare a BCG pot fi: intralezională, subcutană, intradermică și intravenoasă (ultima în terapia metastazelor pulmonare și hepatice).

Efectele secundare care apar în urma administrării BCG pot fi severe și se referă la frisoane, stări de depresie, anorexie, febră, hipotensiune, limfadenopatie satelită, abcese la sediul inoculării, abcese metastatice (mai ales în ficat), infecție diseminată cu BCG și anafilaxia.

Deasemenea s-au constatat și reacții paradoxale în urma tratării cu BCG a unor pacienți cu sarcom felin când tumoarea a fost stimulată (THEILEM și MADEWELL, 1987).

Micobacteriile totale pot fi substituite de fragmente micobacteriene cum ar fi peretele celular al micobacteriilor, rezidul extras cu metanol (REM), *ceara D*, așa-numitul *cord factor*- adică trehaloza dimicolat (TDM) și muramil dipeptidul (MDP). Acesta din urmă singur nu dispune de acțiune antitumorală, necesitând pentru aceasta un vehicol corespunzător.

15.5.2. Lipopolizaharidele și polizaharidele

Lipopolizaharidele extrase din peretele celular al bacteriilor Gram negative dispune de efecte imunoadjuvante care se datorează fracțiunii lipidice. Ele activează funcția fagocitară a macrofagelor, mitogeneza pentru celulele B și stimulează producerea de limfocite T și B.

Deasemenea s-a mai semnalat că lipopolizaharidele stimulează producerea de interferon și activează complementul (VANSELOW, 1987).

Polizaharidele au acțiuni asemănătoare, ele imitând inflamația prin activarea complementului atrăgând PMN și macrofagele.

15.5.3. *Propionibacterium acnes* (*Corynebacterium parvum*).

P. acnes stimulează imunitatea naturală față de boli virale, bacteriene și protozoare. El este un germen Gram-pozitiv anaerob. Efectul antitumoral se exercită cu precădere asupra tumorilor induse experimental, în timp ce asupra celor spontane de la animalele domestice nu s-a dovedit a fi la fel de eficient. *P. acnes* are efect antitumoral numai omorât, fie prin căldură, fie fenolat.

Principiul activ este un glicopeptid din peretele celular rezistent la formol și căldură. El acționează prin activarea macrofagelor care devin citostatice și citocide, accentuează răspunsul umoral antitumoral prin reacție încrucișată cu antigenele tumorale, sporește producerea de limfocite, Killer (K) și supresoare, fiind considerat cel mai puternic inductor al *captării* limfocitelor.

Suspensia fenolată de *P. acnes* determină regresia unor tumori, murine (osteosarcomul, fibrosarcomul, carcinomul mamar și plasmocitomul) indiferent dacă este administrată intraperitoneal, intralezional sau intravenos.

Ea are și eficiență antimetastatică tot în cazul unor tumori murine și efectul antitumoral maxim apare în cazul administrării intratumorale.

15.5.4. *Endotoxinele bacteriene mixte*

Endotoxinele bacteriene mixte sunt preparate din *Streptococcus* și *Serratia* spp. și s-au utilizat într-o gamă de tumori maligne la om și animale.

Se cunosc date puține cu privire la modul de acțiune și efectul lor imunoadjuvant.

TIZARD susține că endotoxinele stimulează producerea de anticorpi, eliberarea de interleukine, producerea de interferoni, activează macrofagele și acționează ca mitogeni policlonali a celulelor B.

Endotoxinele bacteriene mixte s-au dovedit eficiente în cazul sarcoamelor și a adenocarcinomului mamar felin (MC. EWEN, 1980, cit. de VANSELOW).

15.5.5. Avipox și Parapoxvirusurile. Alte virusuri

Utilizarea avipoxvirusurilor nevirulente ca stimulatoare a imunității nespecifice la viței, debutează la sfârșitul anilor '70. MAYR în 1981, semnalează eficiența unor preparate standardizate de avipoxvirus (PIND-AVI) și respectiv parapoxvirus (PIND-ORF) (PIND derivă de la *Paraimunitatsinducer* = *inductor de paraimunitate*). Se mai utilizează preparatele Duphamum^R și Domovac-Inducer^R care sunt tot avipoxvirusuri heterologe, incapabile de multiplicare.

S-a demonstrat că și alte virusuri, respectiv unele vaccinuri stimulează nu numai răspunsul imun specific ci și pe cel nespecific. Între ele se numără virusul rinotraheitei infecțioase bovine (IBR-IPV în preparatul Bayferon) și parainfluența-3 (vaccinul).

În general aceste virusuri activează fagocitoza, stimulează limfocitele și mai ales induc formarea și eliberarea de interferon. Interesant că administrarea preparatului Pind-Avi la vaci postpartum nu numai că stimulează fagocitoza de către PMN și monocite dar mai determină și o involuție rapidă a uterului.

Toate aceste preparate au fost și sunt utilizate intensiv cu rezultate în general bune, în prevenția și chiar combaterea bolilor digestive neonatale și a bolilor respiratorii.

15.5.6. Saponinele

Saponinele sunt glicozide prezente în numeroase plante, dar o saponină cu o înaltă activitate adjuvantă a fost extrasă din coaja plantei sudamericane *Quillaja saponaria*, denumită și Quil A. Ea se utilizează ca adjuvant în vaccinurile antiaftoase deoarece prin purificarea ei s-a redus considerabil reacția locală.

Saponinele acționează ca substanțe adjuvante prin mai multe mecanisme:

- stimulează prezentarea antigenelor celulelor imunocompetente ca substanțe tensioactive;

- stimulează imunitatea mediată celular și anticorpogeneza față de eritrocitele de oaie precum și față de protozoarele parazite intracelular;
- introduse în vaccinuri, inclusiv în cel anti-Bacteroides nodosus, crește notabil titrul de anticorpi având și virtuți curative în combaterea pododermatitei;
- saponinele purificate au intense efecte imunostimulatoare prin atașarea lor la proteinele de membrană, complexe imunostimulatoare rezultate, purtând numele de iscomi. Iscomii sunt puternic imunopotențatori și în același timp lipsiți de efecte secundare.

15.6. PRODUSELE BIOLOGICE ALE SISTEMULUI IMUN {I ANALOGI SINTETICI

15.6.1. Interferonii

Interferonii sunt glicoproteine secretate de celulele nucleate, ca răspuns la infecțiile virale și la imunostimularea cu diferite substanțe chimice.

Ei sunt specifici pentru fiecare specie și sub acțiunea lor celulele inhibă replicarea virusurilor precum și creșterea celulelor neoplazice.

Interferonul gama inhibă migrarea macrofagelor care la rândul lor favorizează distrugerea microorganismelor parazite intracelular.

Interferonii acționează prin activarea celulelor ucigașe natural Killer (NK), iar în funcție de doză și de timpul scurs dintre două administrări stimulează sau supresează anticorpogeneza.

Ei mai inhibă hipersensibilitatea de tip Întârziat (tipul IV) și stimulează activitatea citotoxică a limfocitelor și macrofagelor. O bună parte dintre imunomodulatori sau imunoadjuvanții amintiți anterior dar și alții acționează și prin inducerea de interferoni.

15.6.2. Hormonii timici și limfokinele

Timozina cuprinde o familie de polipeptide acide cu greutatea moleculară cuprinsă între 1000 și 15000 daltoni.

Dintre aceste polipeptide, factorul umoral timic stimulează eliberarea de IL-2 precum și efectul citotoxic a limfocitelor T. Alimfocitea-1 timostimulina stimulează producerea de IFN-gama, în timp ce

fracțiunea 5 a timozinei determină regresia unor infecții virale (TIZARD, 1987).

Timozina restaurează răspunsul imun celular-mediat, inclusiv capacitatea de rezecție a unor alogrefe, stimulând celulele B în reacțiile gazdă-grefă.

Deasemenea, blochează parțial activitatea celulelor T supresoare, favorizând astfel pe cea a celulelor T-helper și T-citotoxice.

Limfokinele sunt proteine cu greutate moleculară cuprinsă între 25000 și 75000 daltoni eliberate de limfocitele T activate dar care pot fi produse și de limfocitele B ca răspuns la unii stimulenți nespecifici de genul lipopolizaharidelor sau a tuberculinei PPD. Dintre ele fac parte și interferonii menționați anterior iar acțiunea lor nu este antigen-specifică deși mediază peste 90 de acțiuni (vezi. cap. 6.3.).

15.6.3. Homopolimerii ARN complementari dublu torsadați.

Observația că preparatele bogate în acizi nucleici au capacitatea de a restaura activitatea anticorpoformatoare a unor organisme iradiate a condus la cercetarea posibilei acțiuni imunostimulatoare a polinucleotidelor sintetice.

Astfel, amestecarea acidului poliadenilic cu perechea sa, acidul poliuridilic formează așa numitul complex poli A:U, iar amestecul acidului poliinozinic și policitidilic alcătuiesc împreună complexul poli I:C care constituie dau polinucleotide sintetice.

Acestea stimulează formarea de anticorpi față de numeroși antigeni acționând pe diferite căi, dintre care mai importantă este creșterea nivelului de cAMP. Pe această cale ele au un efect antiproliferativ și inductor de diferențiere a limfocitelor.

Polinucleotidele sintetice au și efect antitumoral, stimulând intens producerea de interferoni.

Ele sunt utilizate pentru a spori antigenitatea unor vaccinuri inactivate la animale cum ar fi cele împotriva encefalomielitei ecvine, influența porcului, rabiei, febrei aftoase, tetanosului, brucelozei (VANSELOW, 1987).

15.7. SUBSTANȚE ȘI PREPARATE CHIMICE

15.7.1. Compușii de cupru

Cuprul intră în compoziția a numeroase enzime cu activitate oxidazică de genul aminooxidazelor, produse de fagocitele activate și care conferă protecție organismelor față de speciile bacteriene aerobe. Ceruloplasmina, principala formă de cupru circulantă este o aminooxidază cu activitate histaminazică, a cărei sinteză hepatică este strict controlată de IL-2. Creșterea concentrației acestor enzime în stările inflamatorii septice, sau aseptice este menită să protejeze țesuturile proprii și să defavorizeze supraviețuirea germenilor patogeni.

Aceste informații au fost confirmate prin încercări de reproducere experimentală a bronhopneumoniei enzootice la viței cu *Pasteurella multocida* și respectiv cu PI-3, care au reușit numai la viței carența în cupru.

Asocierea unui aport nutrițional de 100 ppm cupru cu vaccinarea antisalmonelică la pui a fost urmată de un răspuns imun primar superior față de lotul martor în timp ce un aport de 200 ppm cupru la păsările bolnave de tifoză a mărit rata de supraviețuire și chiar sporul de creștere.

JONES și SUTTLE (1981) constată că în carența de cupru la ovine și bovine scade activitatea citotoxică a leucocitelor față de *Candida albicans*.

Suplimentarea hranei cu 250 ppm cupru la purceii înțărcați de 8 săptămâni a avut ca efect un spor de creștere superior. S-a formulat ipoteza că suplimentul de cupru ar avea un efect eubiotic asupra microflorei intestinale și ar acționa ca un imunostimulator. Deasemeni compușii de cupru mai dispun și de efecte antitumorale, fie direct pe tumori induse experimental, fie prin potențarea unor citostatice cum ar fi PTS (piruvaldehidă- bis tiosemicarbozină) (GHERGARIU, 1980).

15.7.2. Vitamina E și seleniul

Vitamina E și seleniul au un efect imunostimulator real dacă se administrează în cantități ce depășesc necesarul nutrițional și dimpotrivă, carența lor au ca rezultat imunodepresia, mai ales a mecanismelor mediate celulare. La subiecții carența în vitamina E și Se s-a identificat un factor seric transferabil care suprimă răspunsul limfocitelor la mitogene și le aglutinează (SHEFFY, 1979, cit. de GHERGARIU, 1980).

Rolul seleniului în cancer a fost și continuă să fie controversat. Este cert că la șobolanii hrăniți ca un aport crescut de Se (5,7 -10 ppm), s-a constatat o creștere a incidenței tumorilor hepatice (NELSON 1940, cit. de GHERGARIU în 1980).

Deși efectul antitumoral al seleniului și compușilor săi era cunoscut de al începutul secolului, s-a renunțat la utilizarea lui în terapia cancerului datorită toxicității sistemice pe care o determină.

Numeroși autori au relevat anticarcinogenitatea seleniului singur sau asociat cu tocoferolul și au evidențiat că la oamenii bolnavi de cancer concentrația sanguină de seleniu este mult mai redusă decât la cei sănătoși.

Prevenția carcinogenezei de către vitamina E și Se se datorează diminuării alterării peroxidative a ADN. Efectul imunostimulator al vitaminei E și Se în cantități care depășesc necesarul nutrițional rămâne incontestabil.

15.7.3. Compușii de zinc.

Deficitul de zinc primar (dismetabolii ereditare) sau secundare (carențe nutriționale) are ca efect involuția timică și imunodepresia. Hipoplazia timică este însoțită și de cea splenică și ganglionară.

Carența de zinc provoacă depresia funcției limfocitelor T-helper. Fără a se putea preciza mecanismele de acțiune se cunoaște că administrarea orală a compușilor de zinc stimulează vindecarea rănilor și mai ales la subiecții carențați. Efectul topic favorabil exercitat de compușii de zinc, în grăbirea cicatrizării rănilor, lasă să se intrevadă mai curând acțiunea lui de farmakon.

15.7.4. Compușii de aluminiu

Efectul adjuvant al compușilor de aluminiu este cunoscut de mult timp. Azi se folosesc numeroase vaccinuri adiționale cu diferiți compuși de aluminiu dintre care cel mai folosit este hidroxidul de aluminiu ($\text{Al}(\text{OH})_3$).

Compușii de aluminiu acționează în special prin efectul de *depozit* care constă cu alte cuvinte în reținerea antigenului timp îndelungat la locul de incuare, favorizând astfel prezentarea antigenului la componentele sistemului imun. Lista vaccinurilor adiționale cu compuși de aluminiu folosiți în medicina veterinară este relativ mare, incluzând atât vaccinuri antibacteriene cât și antivirale.

Compușii de aluminiu sunt în general, bine tolerați chiar dacă administrați subcutant (în loc de instamuscular) pot provoca uneori abcese sterile și noduli persistenți.

15.7.5. Emulsiile uleioase

Emusiile uleioase utilizate ca adjuvant, sunt cunoscute azi sub denumirea generică de adjuvant Freund incomplet (AFI).

AFI este alcătuit în esență dintr-un ulei mineral sau vegetal cu greutate specifică și vâscozitate reduse, la care se adaugă un emulsifiant.

În diferite variante AFI a fost și este utilizat în scopul accentuării eficienței unor vaccinuri. Astfel, {TIRBU și colaboratorii în 1989, adăunează vaccinul antiaftos cu emulsii de apă-ulei; ulei-în-apă și apă-în-ulei- în apă, constatând că răspunsul imun consecutiv este atât de intens încât se poate reduce cantitatea de antigen de 4 ori față de vaccinul adsorbit pe hidroxidul de aluminiu. Pe lângă vaccinul antiaftos AFI a fost inclus cu avantaje similare și în alte vaccinuri ca: anti PI₃, antirabic, antijigodios, antipestos porcin, etc.

AFI acționează tot prin efectul *de depozit* întârziind absorbția antigenului și stimulând producerea locală și sistemică de anticorpi.

El are și un efect moderat de stimulare a imunității mediate-celular.

Întrucât uleiurile minerale folosite determină o serie de efecte secundare nedorite (reacții locale și sistemice, persistență îndelungată la locul de inoculare, contaminarea cu hidrocarburi policiclice aromate carcinogene) ele au fost substituite cu uleiuri vegetale de arahide sau de susan. Aceste uleiuri spre deosebire de cele minerale sunt metabolizate de organism și excretate.

Tot în scopul înlăturării unor efecte secundare s-au realizat așa numitele duble emulsii, apă-în-ulei-în-apă. Ele constau în reemulsificarea unei emulsii A/U întru-un detergent nedăunător, Tween 80. Aceste emulsii au avantajul că fiind mai puțin vâscoase sunt mai ușor de administrat și mai puțin iritante la locul de inoculare.

Ulterior, s-a demonstrat că utilizarea emulsiilor uleioase determină un efect imunostimulator și în absența unui antigen administrat concomitent. S-a constatat deasemeni că emulsiile uleioase stimulează sistemul imun, față de numeroși antigeni, alții decât cei conținuți de un anumit vaccin și că ele pot fi utilizate ca atare în practica prevenirii unor boli la animale.

15.7.6. Levamisolul

Levamisolul a fost inițial preparat ca un medicament antihelmintic, dar ulterior s-a demonstrat la toate speciile de mamifere și inclusiv la om că are remarcabile proprietăți imunostimulatoare acționând atât asupra imunității umorale cât și asupra celei celulare.

Levamisolul este considerat un agent *timomimetic* (VANSELOW 1987) restaurând funcțiile limfocitelor T și ale macrofagelor, dar fără a determina un răspuns imun exagerat.

El stimulează fagocitoza, eliberarea de enzime lizozomale și citotoxicitatea intracelulară precum și diferențierea precursorilor celulelor T. Crește chemotaxia pentru neutrofile și monocite precum și citotoxicitatea mediată de limfocite.

Levamisolul mai reduce, deasemeni și funcția celulelor T supresoare, stimulând în acest fel indirect, producerea de anticorpi,

Efectele levamisolului de imunostimulator sau de imunomodulator depinde de doza, momentul administrării și starea pacientului. De exemplu, o doză unică, stimulează imunitatea mediată celular 4 ore, iar administrarea repetată zilnic determină imunodepresie.

SOPPI și colaboratorii au demonstrat că levamisolul are efecte diferite în funcție de doză, astfel 0,25 mg/Kg, stimulează răspunsul limfocitelor la mitogeni (PHA și ConA) în timp ce 2,5 mg/Kg stimulează numai răspunsul la PHA.

Rezumând calitățile imunoadjuvante și imunomodulatoare ale levamisolului, LOWE, arată că el restaurează numărul de celule T în caz de depleție și le activează; că stimulează fagocitoza, chemotaxia, producerea de limfokine, citotoxicitatea limfocitelor și macrofagelor și restaurează hipersensibilitatea cutanată de tip întârziat.

Administrarea levamisolului are efecte benefice în: deficite imune congenitale; bolile aparatului respirator; infecții cronice recurente; infecțiile herpetice recidivante (labiale și genitale); autoimunopatii și amiloidoză; inflamații cronice (artrită reumatismală, spondiloartrita anchilozantă); aftoză bucală recidivantă.

În terapia cancerului levamisolul s-a dovedit eficient numai combinat cu chimioterapia.

15.7.7. Dinitroclorbenzenul (DNCB)

Substanța stimulează reacțiile locale mediate celular cu distrugerea pielii și a celulelor tumorale. Substanța a fost utilizată cu succes în tratamentul unor tumori multiple cutanate și subcutanate la om. Deasemenea, DNCB s-a folosit în terapia carcinomului cu celule sarcomatoase induse de iradiația solară. Subiecții sunt sensibilizați prin amplificarea topică a diluțiilor de 1:100 până la 1:1000 cu DNCB în emulsie lanolină-în-apă. Aplicând ulterior DNCB pe suprafața tumorii se produce o reacție locală de tip întârziat. Diluțiile folosite la câini sunt dăunătoare pentru om (THEILON și MADEWELL, 1987).

15.7.8. Azimexon și Tufstin

Azimexonul este un imunoadjuvant sintetic care intensifică reacția de hipersensibilitate de tip întârziat. Azimexonul potențează răspunsul imun față de antigenii dependenți și imunodependenți de celulele T și efectul citostatic tumoral al macrofagelor față de tumori. În același timp reduce efectul imunosupresor al ciclofosfamidei și al iradiațiilor.

Tufstinul este un tetrapeptid bazic care potențează exclusiv răspunsul umoral la antigenii T-dependenți, activează efectul citostatic tumoral al macrofagelor și efectul citotoxicității celulare mediate de anticorpi.

15.7.9. Lipozomii

Lipozomii sunt vezicule de fosfolipide sintetice alcătuite din unul sau mai multe straturi concentrice de lipide. Utilizate pentru includerea de proteine și medicamente *lipozomii* se utilizează și pentru încorporarea antigenilor specifici, deci, în imunitatea specifică. Ei pot, deasemenea transporta limfokinele la nivelul celulelor receptive. Ei sunt de obicei neantigenici sau slabi antigenici, netoxici, biodegradabili și prin încorporarea antigenilor reduc riscul unor reacții alergice față de acesta (VASELOW, 1987).

15.8. INOCUITATEA ADJUVANȚILOR

În ciuda virtuților dovedite ale adjuvanților în reglarea răspunsului imun și al paraimunității, administrarea lor nu este lipsită de riscuri. S-au menționat în acest sens, efectele secundare redutabile ale AFC, care deși continuă astăzi să fie cel mai puternic adjuvant cunoscut, a trebuit să fie abandonat ca atare la mamiferele superioare, păstrând doar o utilizare experimentală.

Unii adjuvanți administrați în doze excesive pot determina imunosupresia sau pot deveni toxici. Alteori ei induc inițial imunodepresia de durată și abia ulterior devin imunostimulatori (de ex. levamisolul).

Majoritatea adjuvanților provoacă granuloame, abcese, poliartrite, boala serului, nefrite, pot induce reacții anafilactice și ceea ce este mai grav, pot fi ei însăși oncogeni. Aceste efecte au putut fi înlăturate parțial prin realizarea unor imunorestauratori cu masă moleculară mică, relativ netoxici.

Cu toate aceste limite, folosirea adjuvanților (sau a imunorestauratorilor) are perspective deosebite în protecția unor mari populații, în special în cazul expunerii lor la numeroșii factori imunodepresori care acționează sinergic.

Deocamdată așa cum arată VANSELOW nu există reguli de standardizare a adjuvanților, nici în cazul omului nici în cazul animalelor.

Aceasta în pofida faptului că ei dispun oricum de efecte secundare, sau pot fi în anumite condiții, ineficienți, ca urmare a folosirii unor doze neadecvate, a unor căi de administrare nepotrivite sau a unor subiecți incapabili să mai răspundă la efectul lor.

Dacă oportunitatea adăugării unor adjuvanți la antigenii specifici, respectiv la vaccinuri, nu mai este contestată de nimeni în opinia noastră cele mai largi perspective se deschid în fața administrării adjuvanților fără antigen. Succesul unei asemenea întreprinderi ar însemna un cert progres în prevenția îmbolnăvirilor provocate de expunerea organismului concomitent la mai mulți antigeni, caracteristică funciară a epidemiologiei marilor colectivități.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. **AILIESEI OCTAVIȚA** – Imunologie – tehnici și metode de laborator. Ed. Univ. " Al.I. Cuza, 2000
2. **BARA C.** – Imunologie fundamentală. Ed. Medicală București, 1996.
3. **BERCEANU ȘT., EUGENIA PAUNESCU** - Biologia și patologia imunității. Ed. Academiei Române, București, 1989;
4. **BODIN G.** - Immunologie generale, Tome I, II, III, E.M.V. de Nantes, E.M.V. de Toulouse, 1986-1987;
5. **BOROS I., MORARU I., DOINA ONICA, PAUNESCU E., SULICA A.** - Dicționar enciclopedic de imunologie, Ed. Științifică și Enciclopedică București, 1981;
6. **CARP-CĂRARE M., TIMOFTE DORINA** – Imunologie și imunopatologie, Ed. Vasiliana, Iași, 1998

7. **CARP-CĂRARE M.** – Microbiologie veterinară - Virusologie. Casa de editură Venus, Iași, 2001
8. **COLITA D.** - Introducere în imunologie. Ed. Medicală, București, 1993;
9. **COTEA V. C.** – Biologie celulară - Embriologie generală - Histologie generală, Ed. Tehnopress, Iași, 2001
10. **CRISTEA V.** – Imunologie fundamentală. Ed. Medicală Universitară, Iulia Hăteganu, Cluj-Napoca, 1999
11. **DEJICA D.** – Tratat de Imunologie Clinică. Vol. I, Ed. Dacia, Cluj-Napoca,
12. **DEJICA D.** – Tratat de imunologie clinică. Vol. II – Ed. Dacia, Cluj-Napoca, 1998.
13. **DUCA M.** – Imunologie și Imunopatologie. I.M.F. Iași, 1985.
14. **DUCA EUGENIA, DUCA M., FURTUNESCU G.** - Microbiologie medicală, Ed. a II-a, Ed. Medicală București, 1984.
15. **ENACHE T., GHERGARIU S., MOISE D.** - Terapia nespecifică în medicina veterinară, Ed. Apimondia, București, 1993;
16. **FILIP V.** - Îndreptar de alergologie, Ed. medicală. București, 1968;
17. **GHERGARIU S.** - Bolile alergice și autoimunopatiile la animale. Ed. Ceres, București, 1984.
18. **GHERGARIU S.** - Oligominerale și aligomineraloze. Ed. Academiei Române, București, 1980;
19. **GHERGARIU S., POP AL., KADAR L., SPANU MARINA** – Manual de laborator clinic veterinar. Ed. All, București, 2000
20. **GHEȚA D.** - Interrelațiile imunometabolice. Ed. Academiei Române, București, 1987;
21. **GHEȚIE V.** - Semnale și receptori în imunologie, Ed. Științifică și Enciclopedică, București, 1977;
22. **GHEȚIE V.** - Anticorpii în acțiune. Ed. Enciclopedică Română București, 1971;
23. **GIURGEA R.** - Bursa lui Fabricius, Ed. Academiei Române, București, 1982;
24. **GRECIANU A., RUNCEANU L., CARP-CĂRARE M., HOLBAN D., RĂILEANU N.,** - Cercetări privind capacitatea imunomodulatoare a produsului PDE (placentă umană denaturată emulsionată), Al. VI-lea Congres Național de Medicină Veterinară Sinaia, 25-28 oct. 1994;
25. **IONESCU-DOROHOI I., TITEICA M.** - Practica diagnosticului imunochimic, Baze teoretice, metode logice, aplicații chimice. Ed. Medicală București, 1986.
26. **ITU I., DUMITRAȘCU DIANA** – Breviar de alergologie, Ed. Medicală, București, 1996
27. **JONES D.G., STTILE N.F.** - Res. vet., Sci.31, 301-305, 1981;
28. **MAYR A.** - Ztbl. Vet. Med., B.29, 5-23, 1982;
29. **MESROBEANU I., BERCEANU ST.** - Imunologie, imunochimie, imunopatologie. Ed. Academiei Române. București, 1975;
30. **MORARU I.** - Imunologie (Bazele imunologice ale stării de sănătate și boală). Ed. medicală, București, 1984;
31. **MORARU I.** – Imunologie, Ed. Medicală, București, 1984

32. **MOȚ DANIELA- MARIANA** – “Restructurări imunitare și imunomorfologice în infestația cu *Oestrus ovis*”, Teză de doctorat, UȘAMV a Banatului, Timișoara, 2002.
33. **OLINESCU A.** - Elemente de imunologie comparată. Ed. Ceres București, 1988;
34. **PASTORET P.P., GOVAERTS A., BAZIN H.**- Immunologie animale, Medicine-Sciences Flammarion, Paris, 1990;
35. **PARVU GHE., COSTE H., COSTE MIHAELA** – Nutriția, răspunsul imun și sănătatea animalelor. Ed. Ceres, București, 1996.
36. **PRAISLER P.** – Patologia bolilor imune la animale. Societatea de Med. Vet. R.S.R., Galați, 1982.
37. **RAICU P., IONESCU-VARO M., VERONICA STOIAN** - Celula vie, Ed. Științifică și Enciclopedică, București, 1978;
38. **RĂDUCĂNESCU H.** – Compendiu de imunopatologie veterinară. Ed. Fundației “România de mâine”, București, 1999
39. **RĂPUNTEANU GHE.** – Imunologie și Imunopatologie. Ed. Genis, Cluj-Napoca, 1996
40. **ROITT I.M., BRESTOFF J., MALE D.K.**- Immunologie fondamentale et appliquée. Medicine-Sciences. Paris, 1985;
41. **ROITT I.M.** - Essential Immunology, ed. a 2-a, Blackwell Scientific Publ., Oxford, 1974;
42. **SASSON A** - Biotehnologii și dezvoltare. Ed. Tehnică București, 1993;
43. **THEILEN G.H., MADEWELL B.R.** - Veterinary Cancer Medicine, ed. 2-a Leo and Febinger, Philadelphia, 1987;
44. **TIMOFTE DORINA, ELEONORA GUGUIANU, C.CARP-CĂRARE, I. MISTREANU** - Evidențierea anticorpilor față de virusul parvovirozei canine prin testul ELISA, Lucrări științifice, USAMV Iași, vol. 42 (44), pag.190
45. **TIMOFTE DORINA, CARP-CĂRARE M., GUGUIANU ELEONORA, CARP-CĂRARE C., VALENTIN C.** – Determinarea răspunsului imun umoral prin testul ELISA pentru coronaviroza canină. Simpozionul la 140 ani, ALMA MATER VETERINARIA BUCURESCENSIS, Rezumate 278, 2001, București.
46. **DORINA TIMOFTE** – Cercetări privind imunitatea celulară și umorală nespecifică la unele specii de animale., Lucrări științifice, USAMV Iași, vol.42 (44) pag.190.
47. **TIZARD I.** - Veterinary Immunology, ed. 3-a Saunders Camp. Philadelphia, London, Toronto, Sydney, Tokyo, Hong Kong, 1987;
48. **TRIF R., VIOR C.** – Patologia sistemului imunitar. Ed. Brumar, Timișoara, 1996.
49. **VANSELOW, B.A.**, Vet. Bul., 57, 881-886, 1987;
50. **VIOR C., RADUCĂNESCU H., MANOLESCU N., POPOVICI A.**, -Imunitatea și imunoprofilaxia la animale, Ed. Ceres, București, 1980;
51. **ZARNEA G.** - Tratat de microbiologie generală vol.IV, Ed. Academiei Române, București, 1990;

- 52. **ZEAMA C.** - Imunologie clinică. Ed. Medicală. București, 1980;
- 53. *** - La reponse immunitaire. Laboratoires Delande, (fără an);
- 54. *** - Third International Veterinary Immunology Symposium 17-20 aug. 1992, Budapeste, Ungaria;