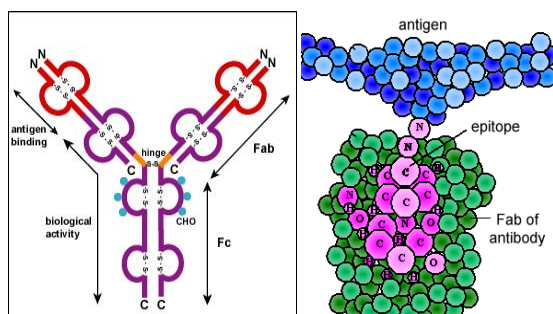


ANTICORPII. RASPUNSUL IMUN

STRUCTURA ȘI PROPRIETĂȚILE Ig

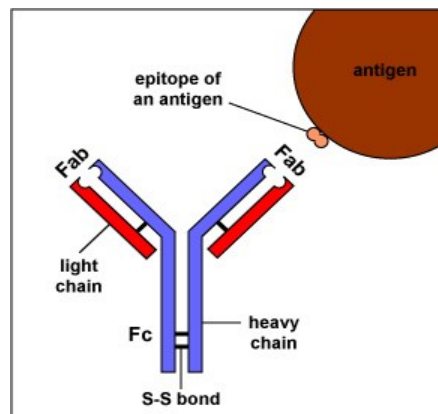
- UNITATEA DE STRUCTURĂ a Ig (monomerul) este constituită din **2 lanțuri** glicoproteice (catene) identice **ușoare L (Light)** și **2 catene grele H (Heavy)**, legate între ele prin punți disulfidice.
- Există 2 tipuri de catene L – κ și λ , identice într-o moleculă de Ig.
- Se disting 5 clase de lanțuri H: γ , α , μ , δ , ϵ , ce corespund celor 5 clase (izotipuri) de Ig: **Ig G**, **Ig A**, **Ig M**, **Ig D**, **Ig E**.
- În componența lanțurilor se disting *regiuni variabile* (aminoterminale) și *regiuni constante* (carboxilterminale).



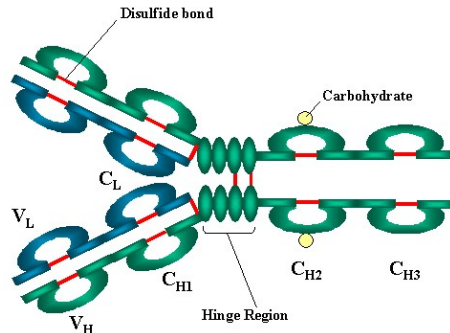
IMUNOGLOBULINELE (ANTICORPII)

- Ig prezintă glicoproteine din fracția γ -globulinelor. Se disting Ig membranare (BCR) și Ig solubile (secretate) – Ac ca atare.
- Ac sunt molecule glicoproteice produse de plasmocitele derivate din limfocitele B activate de Ag. Ac circulă în sânge și pătrund în țesuturi. Sunt eficienți contra bacteriilor, toxinelor microbiene și virusurilor în poziție extracelulară.
- Ac au proprietatea de a recunoaște și a se combina cu Ag complementar, atât *in vivo*, cât și *in vitro*.

- Regiunile variabile** ale catenelor L și H formează o cavitate tridimensională - **centrul activ (paratopul)** al moleculei de Ig, care va reacționa specific cu **determinanta antigenică (epitopul)** Ag corespunzător, constituit din 5-7 AA sau 3-4 reziduuri glucidice. Regiunea variabilă constituie **fragmentul Fab (antigen binding)** al moleculei de Ig.
- Regiunea constantă corespunde fragmentului Fc** (constant, cristalizabil). Este purtător de receptori și responsabil de activitatea biologică a Ig:
 - Transportul transplacentar al unor Ig (Ig G)
 - Fixarea pe diferite celule (mastocite, bazofile, fagocite, limfocite, etc.)
 - Capacitatea de a fixa complementul
 - Capacitatea de fixare a proteinei A a stafilococilor
 - Definește clasele și subclasele de Ig (specificitatea antigenică a catenei H)



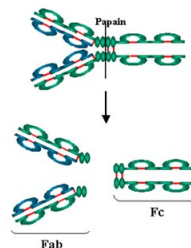
- Monomerul de Ig este constituit din 2 fragmente Fab și unul Fc. Între ele se află **zona balamă**, responsabilă de flexibilitatea moleculei de Ig.
- Numărul paratopilor determină **valența** Ig. Ac cu 2 sau mai mulți paratopi se numesc Ac compleți, cei cu un singur paratop – Ac incompleți.



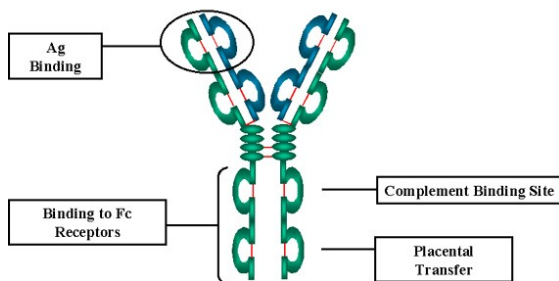
Immunoglobulin Fragments: Structure/Function Relationships



- Fab
 - Ag binding
 - Valence = 1
 - Specificity determined by V_H and V_L
- Fc
 - Effector functions



Immunoglobulin Fragments: Structure/Function Relationships

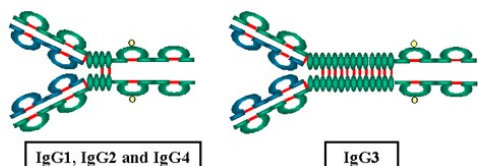


- Ig G, Ig D și Ig E sunt monomeri, Ig A din ser – monomeri, din secretele mucoaselor – dimeri, Ig M sunt pentameri.
- **Proprietățile claselor de Ig**
- **Ig G** (4 subclase IgG1, IgG2, IgG3, IgG4) – reprezintă 75% din ansamblul Ig serice. Constanta de sedimentare -7S, greutatea moleculară -150kDa. *Sunt unicele Ig capabile să traverseze bariera placentară.* Fc al IgG are centre de fixare a complementului (activarea C pe cale clasică), a macrofagelor și neutrofililor (rol în opsonizare), a proteinei A a stafilococilor. Perioada de semi-viață 21 zile. *Manifestă activitate opsonizantă, antibacteriană, antitoxică, antivirală.*

IgG

Structure

- Monomer (7S)

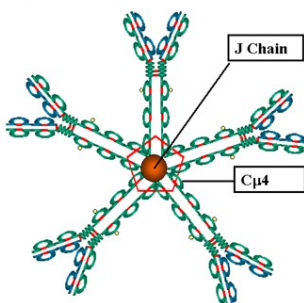


- **Ig M** – 5-6% din totalul Ig. Pentamer. Constanta de sedimentare-19S, greutatea moleculară-900kDa. Se distrug sub acțiunea mercapto-etanolului sau cisteinei. Semi-viața – 5 zile. Fixează și activează complementul pe cale clasică. Nu traversează placenta, *prezența Ig M la nou-născut denotă infecție intrauterină. Sunt primele care apar după un stimul antigenic primar și indică un proces infecțios acut.* Monomeri de IgM constituie BCR pe B-limfocite.

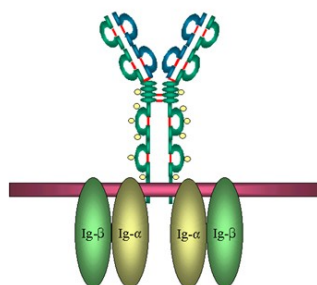
IgM

Structure

- Pentamer (19S)
- Extra domain (C_{H4})
- J chain



B Cell Antigen Receptor (BCR)

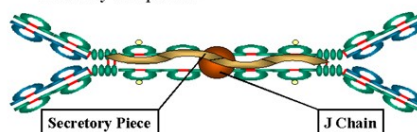


- **Ig A** – 15% din totalul Ig. CS -7S, GM – 160 kDa. Bogate în glucide. Se disting 2 subclase: IgA1 (93%) și IgA2 (7%). Semiviată – 6 zile, nu traversează placenta, nu activează complementul pe cale clasică.
- **Ig A serice** (monomeri) – 6% din totalul Ig serice. Agregate de IgA pot activa complementul pe cale alternativă.
- **Ig A secretoare (sIg A)** – salivă, lacrimi, colostrum, lapte, secreții gastro-intestinale, nazale, bronhice. Dimer. Asigură protecția mucoaselor, blocând atașarea bacteriilor și virusurilor de receptorii mucoaselor.

IgA

Structure

- Serum - monomer
- Secretions (sIgA)
 - Dimer (11S)
 - J chain
 - Secretory component



- **Ig D** – 0,2% din totalul Ig. CS – 6,5S, GM – 170 kDa. Semi-viața – 3 zile. Rolul – receptor pentru Ag (BCR) pe LB; posibil participă la eliminarea limfocitelor B care produc autoAc (Ac autoreactivi).
- **Ig E** – 0,002 – 0,01%, CS – 7,9S, GM – 185 kDa. Semivitața – 2-3 zile. Nu traversează placentă, nu fixează complementul. Termolabile (inactivate la 56°C în 30 min). Se pot fixa pe suprafața mastocitelor și bazofililor, determinând degranularea lor cu eliberarea unor amine vazo-active (șoc anafilactic, dereglări alergice). Eficiente în afecțiuni parazitare (opsonizarea helminților și artropodelor).

- **Anticorpul** sunt efectorii principali ai **imunității umorale**, iar **limfocitele Tc și macrofagele activate** – ale **imunității celulare**.
- Imunitatea umorală este eficace contra bacteriilor non-invasive (extracelulare), virusurilor libere și contra toxinelor.
- Imunitatea celulară intervine în special contra paraziților intracelulari (bacterii, virusuri) și celulelor proprii modificate (tumoralet)

- **RĂSPUNSUL IMUN UMORAL /IMUNITATEA UMORALA**
Reprezintă o formă a imunității achiziționate asigurată de Ac. Are funcția de a neutraliza și elimina microbii extracelulari și toxinele microbiene. În acest proces participă Ag, CPA, limfocitele T4, limf B.

Fazele răspunsului imun umoral:

- Intalnirea Ag cu limfocitele B.** Are loc în organele limfoide secundare.
 - Dacă Ag patrunde direct în sânge, întâlnirea are loc în splină
 - Dacă Ag penetrează prin tractul respirator – în amigdale și țesutul limfoid asociat bronhiilor și mucoaselor
 - Dacă Ag penetrează în tractul intestinal – plăcile Peyer, foliculi solitari
 - Dacă Ag patrunde prin tegument – întâlnirea are loc în țesutul limfoid asociat tegumentului.

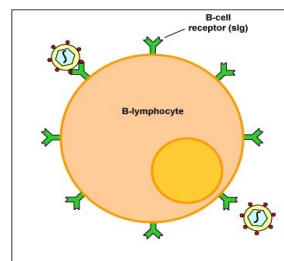
RĂSPUNSUL IMUN

- RI este un proces complex, indus de pătrunderea unui Ag. Are loc în organele limfoide secundare și prevede implicarea mai multor celule (CPA, limfocite T, B, ș.a.) și substanțe solubile (citokine).
- **Consecințele unui răspuns imun:**
 - Imunitate (umorală, celulară)
 - Hipersensibilitate (imediată, tardivă)
 - Memorie imunologică
 - Toleranță imunologică
 - Paralizie imunologică

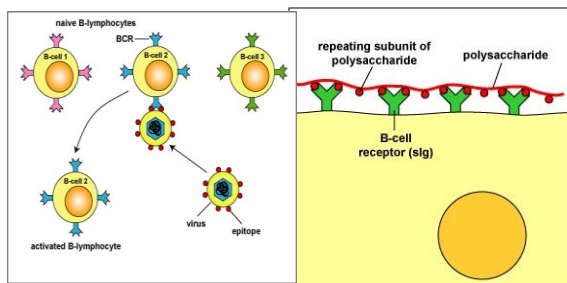
Etapele unui răspuns imun

- Întâlnirea Ag cu CPA, T-, B-limfocite.** Are loc în organele limfoide secundare.
- Recunoașterea** specifică a Ag, asigurată de limfocitele B și T naive prin receptorii pentru Ag (BCR, TCR). BL pot recunoaște epitopi superficiali conformaționali ale moleculelor de Ag native. TL recunosc doar epitopi lineari din Ag proteice prezentate de CPA în asociatie cu moleculele CMH
- Activarea, proliferarea și diferențierea T sau B limfocitelor în celule efectoare și celule B sau T-memorie.** Coordonarea acestor procese este asigurată de contacte celulare directe și de citokine, eliberate de diverse celule
- Realizarea efectului** (neutralizare, opsonizare, liză, etc)

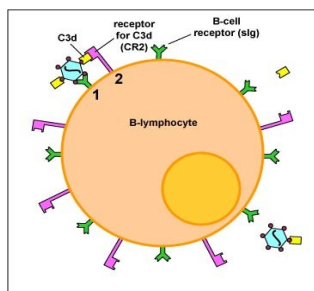
- **II. Recunoașterea epitopilor** unui Ag de către receptorul specific (BCR) de pe suprafața B limfocitelor naive (selecția clonală) și **activarea lor**.
- **Limf B naive** recunosc epitopii prin intermediul moleculelor de Ig M și Ig D (BCR) de pe suprafața lor, capabile să lege epitopi omologi cu forma complementară.



Antigenele T-independente (polizaharide, LPZ) la fixarea lor pe BCR activeaza direct limf B.

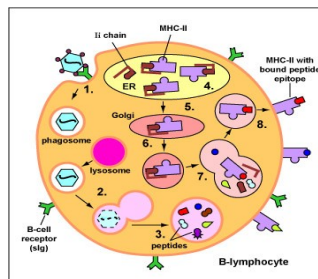


Primul semnal activator reprezinta interactiunea BCR cu epitopul Ag corespunzator. Semnale secundare intervin ulterior (ex.: fixarea pe limf B a fracției C3d a complementului). Astfel limf B naiv este activat, fiind capabil sa producă cantități mari de molecule CMH II, molecule co-stimulatoare și receptori pentru citokinele produse de limf Th.



- Dacă limfocitul B a fost activat de un *Ag T-dependent*, stimularea proliferării se va produce numai prin interacțiunea dintre limfocitul B activat și limfocitul Th activat de același Ag. Limf B și limf T au aceeași specificitate antigenică, doar că LB recunoaște epitopi nativi (conformaționali), iar L Th recunoaște fragmente peptidice ale acestui Ag.
- Producerea limf Th are loc de asemenea în organele limfoide secundare (zonele timo-dependente), unde limfocitele TCD4 naive interacționează cu peptidul antigenic de pe CPA, urmând proliferarea și diferențierea lor în limf efectoare (Th1, Th2), producătoare de citokine. Th2 migrează spre foliculii limfoizi, unde are loc întâlnirea lor cu limf B activat.

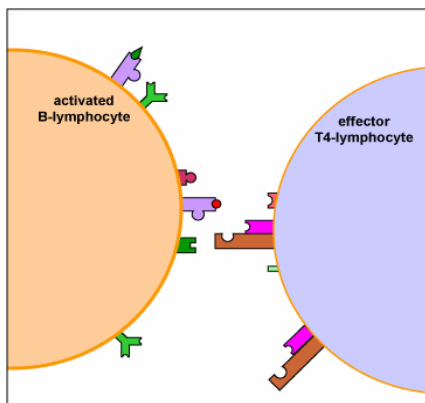
La interacțiunea BCR/Ag T-dependent (proteine), limf B naiv se comporta ca o CPA (inglobarea Ag, degradarea lui, selectarea peptidelor antigenice și prezentarea pe suprafața celulară a complexului peptid/CMH II pentru a fi recunoscute de limf TCD4).



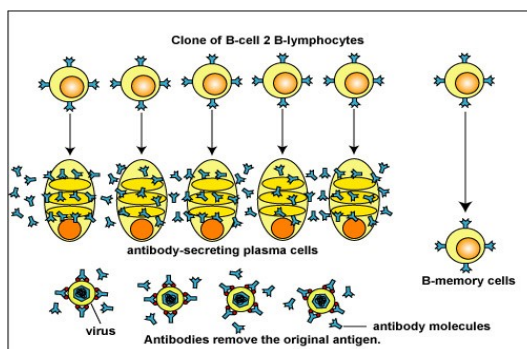
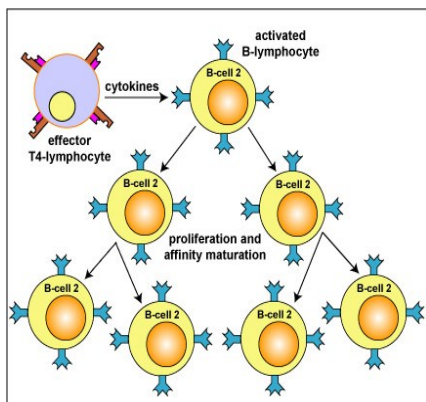
III. Proliferarea limfocitelor B activate si diferențierea lor

După activarea limf B de un *Ag T-independent* urmează proliferarea lui într-o clonă de celule identice (*expansiunea clonală*) și diferențierea în plasmocite, care vor sintetiza și secreta Ac din clasa (izotipul) Ig M, memoria imunologică lipsește.

- Complexul TCR/CD4 de pe limf Th recunoaște complexul peptid/CMH II de pe limf B activat.
- Ulterior se formează alte legături co-stimulatoare. Astfel limf Th devin capabile să secrete citokine: IL- 4, 5, 10, 13, care vor acționa asupra limfocitului B activat.

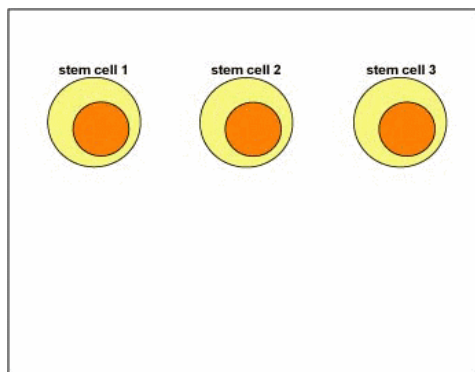


- Aceste citokine induc **proliferarea** limf B activate, stimulează **diferențierea** lor în **plasmocite secretoare de Ac Ig M** cu paratopul (centrul activ) identic cu BCR de pe limf B (2000 Ac/sec sintetizate de un plasmocit).
- Sub influența citokinelor produse de limf Th unele LB pot să se diferențieze în plasmocite secretoare de Ig din alte clase (IFN –IgG2; IL-4 – Ig G4, IgE; TGF beta- IgA).



- Plasmocitele rămân în organele limfoide periferice, iar Ac secretați pătrund în circulația sangvină. Unele plasmocite migrează spre măduva osoasă, continuând să producă Ac mult timp (luni, ani), chiar după eliminarea Ag.
- În caz de infecție a mucoaselor, plasmocitele se vor afla la nivelul mucoaselor (în *Lamina propria*), producând Ac (sIg A) care vor fi transportați la suprafața mucoaselor.

- O parte din LB activate se transformă în celule memorie. Limf B memorie nu secretă Ac, ele circulă prin sânge și supraviețuiesc mai multe luni sau ani fiind gata să reacționeze la o pătrundere repetată a Ag.



IV. Efectul interacțiunii dintre Ag și Ac *in vivo*

depinde de natura Ag și de tipul de Ac și se poate manifesta prin:

- Oponizarea bacteriilor și intensificarea fagocitozei
- Activarea complementului pe cale clasică determinând citoliză (inclusiv bacterioliză)
- Neutralizarea toxinelor, enzimelor
- Inhibiția adeziunii bacteriilor, virusurilor (IgA)
- Neutralizarea virusurilor extracelulare
- Imobilizarea bacteriilor și protozoarelor
- Citotoxicitatea mediată celular anticorp-dependentă (celulele acoperite de Ac sunt distruse de celulele K)

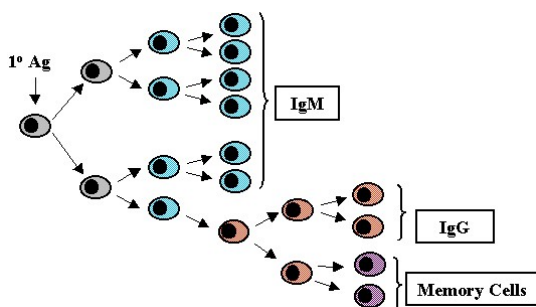
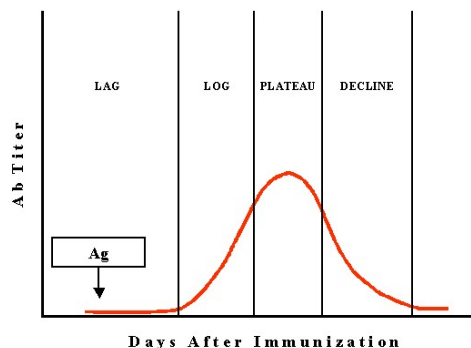
• Răspunsul umoral primar – la primul contact cu Ag

I fază – **de latență** – durează 4-7 zile, până la apariția primilor Ac. În acest timp are loc recunoașterea, degradarea Ag, diferențierea T,B limfocitelor

II fază – **logaritmică** – Titrul Ac crește, atingând max în a 10-15 zi. Inițial are loc producerea Ig M, peste 4-5 zile - IgG sau alte izotipuri de Ig (prin comutație de clasa sub influența citokinelor produse de Th).

III fază – **de producere maximă a Ac** – Durata variază în funcție de Ag

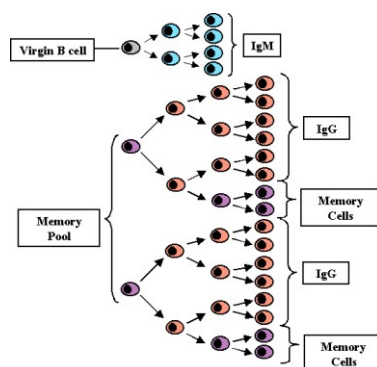
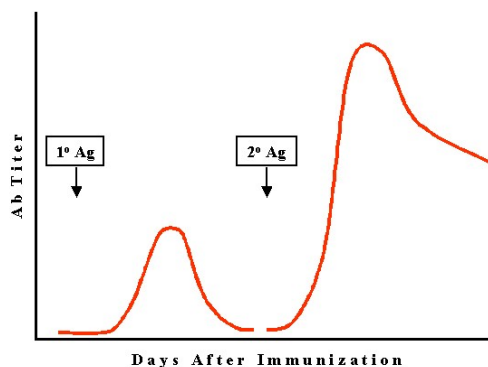
IV fază – **de diminuare a titrului de Ac (declin)** – În cazul Ag proteice durează săptămâni, Ag polizaharidice – luni, Ag virale – ani)



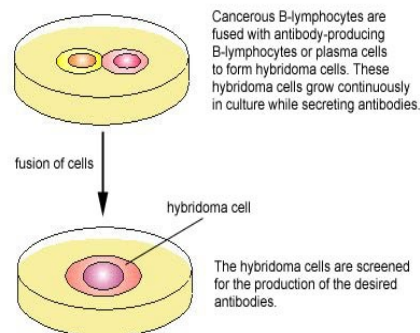
• Răspunsul umoral secundar (la un contact repetat cu același Ag).

Este asigurat de LB-memorie

- Perioadă de latență scurtă (ore)
- Ascensiune rapidă a titrului Ac
- Titru maxim de Ac menținut o durată mai mare
- Afinitate crescută a Ac față de Ag
- Producerea anticorpilor Ig G.



- Serul sanguin obținut de la un organism imunizat cu un Ag conține o mare varietate de molecule de Ac, produși de diferite clone de LB. Aceștia sunt **Ac policlonali**.
- **Ac monoclonali** sunt absolut identici. Se obțin prin fuzionarea LB cu o celulă tumorală. Hibridomul obținut se multiplică ca o celulă tumorală și secretă Ac omogeni, identici cu BCR. Servesc la detectarea receptorilor de pe suprafața celulelor, tratament etc.



• RASPUNSUL IMUN CELULAR (Imunitatea celulară) - IC

Rolul IC este de a elimina microbii care pot supraviețui în vacuole fagocitare sau în citoplasma celulelor infectate. Acest tip de imunitate este asigurat de **limfocitele T**.

- Principalii **efectori** ai IC sunt limfocitele **Tcitotoxice (Tc) derivate din limf TCD8 (T8)**, care au capacitatea de a distruge celulele infectate cu virus sau tumorale și de a liza macrofagele infectate cu bacterii facultativ intracelulare. Ambele tipuri de limfocite (TCD8 naive și Tc) posedă TCR și molecule CD8.

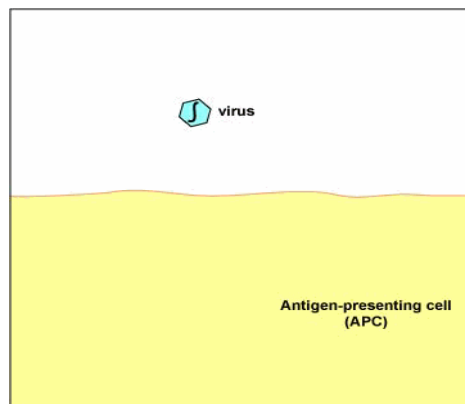
- **Macrofagele activate** reprezintă alți efectori ai IC. Ele sunt atrase în focarul infecțios, apoi activate, devenind capabile să distrugă bacteriile intracelulare.
- **Celulele K și NK** participă de asemenea la realizarea citotoxicității (nu sunt angajate imun).

Limfocitele TCD4+ participă indirect la dezvoltarea răspunsului imun celular, deoarece în urma recunoașterii Ag vor produce un număr mare de citokine care vor acționa asupra diferitelor celule: monocite, limfocite TCD8, TCD4, celule NK, etc.

- **Dezvoltarea răspunsului imun celular**

I etapa –Prezentarea Ag LT naive. Procesul are loc în organele limfoide periferice (OLP).

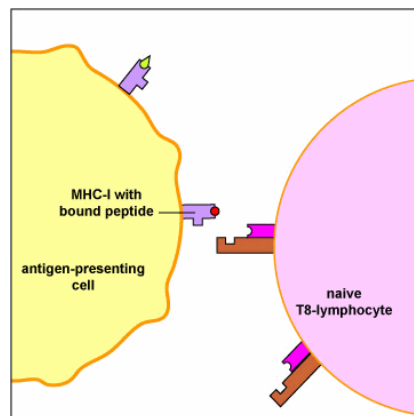
- CPA profesioniste (macrofage, celule dendritice) captează Ag (ex.: celule infectate cu virus sau celule tumorale).
- În cursul fagocitozei unele proteine virale pot fi transferate din fagosome în citoplasma, unde ele vor fi fragmentate de către proteasome. După asamblarea cu moleculele CMH I, complexul peptid /CMH I este scos la suprafața CPA (peste 250.000 complexe per celulă).
- CPA cu limfa sunt transportate în ganglionii limfatici, unde ele vor fi capabile să prezinte Ag limfocitelor TCD8 naive.



II etapa – Recunoașterea epitopilor Ag de către TCR unui LT CD8 naiv și activarea lui.

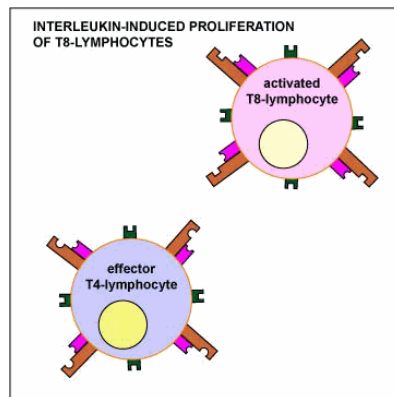
Limf T8 naive vor recunoaște peptide asociate cu CMH I de pe suprafața CPA care au captat celule infectate cu virus. Epitopul trebuie să corespundă cu TCR de pe limfocitul T8, iar CMH I va recunoaște situsuri de pe CD8.

- Aceste interacțiuni, precum și alte legături moleculare între CPA și limf T8, participă la activarea limf T8 naiv (costimulare). Citokinele eliberate de CPA se implică de asemenea.



III etapa – Proliferarea limfocitelor T8 (expansiunea clonală) și diferențierea lor.

- După activare, sub influența unor citokine eliberate de limf Th1 (în special IL-2), are loc proliferarea limf T8 și diferențierea lor în **celule efectoare Tc**, capabile să lupte cu infecția intracelulară sau celulele tumorale.
- Proliferarea începe la 2 zile de la activarea limfocitelor și se produce rapid (peste o săptămână după infectare până la 10-20% din toate limf din OLP pot fi specifice pentru un Ag. $N = 1:10^6$). Diferențierea în celule Tc are loc în paralel cu proliferarea.

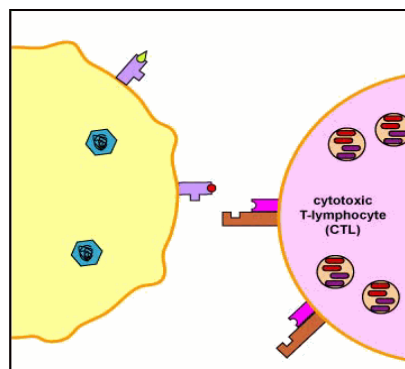


- Celulele efectoare Tc părăsesc OLP și migrează spre tesutul infectat, unde, recunoscând Ag, vor elimina infecția.
- Unele limfocite T se diferențiază în limfocite **T memorie**, durată de viață lungă, inactive funcțional, dar sunt gata să reacționeze rapid la o nouă expoziție la același microb (*răspuns celular secundar*)

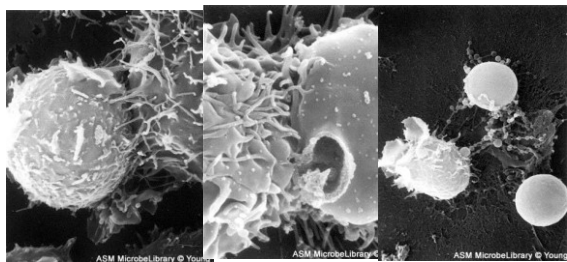
Reacția citotoxică începe printr-un contact membranar dintre Tc și celula-țintă. Apoi limfocitele Tc eliberează perforine care se inserează în membrana celulei-țintă, formând pori. Paralel, limf Tc secretă enzime (granzime) care penetrează în citoplasma celulei prin pori, inducând apoptoza ei.

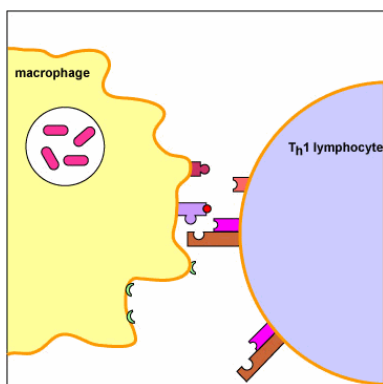
• IV. Realizarea efectului IC

Citotoxicitatea este rezultatul contactului specific direct dintre clona de Tc și ținta lor (celule infectate cu virus sau bacterii intracelulare, celule tumorale). Celulele infectate prezintă pe suprafața sa peptide antigenice asociate cu moleculele CMH I, fiind recunoscute de către TCR și CD8 de pe limf Tc.



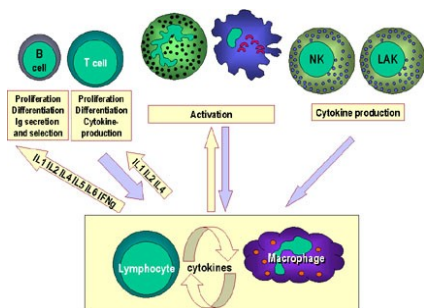
IFN produs și secretat de Th1 este un activator puternic al macrofagelor, stimulând capacitatea lor de a distruge patogeni intracelulari. De asemenea, citokinele menționate activează limf Tc și celulele NK, promovează proliferarea limf T4, stimulează producerea opsoninelor (intensificarea fagocitozei), activează neutrofilele, stimulează creșterea producției de monocite în măduva osoasă, etc.





CITOKINELE

- Citokinele sunt molecule care permit diferitor celule să comunice între ele în producerea unei reacții.
- Citokinele reunes un grup heterogen de molecule: **interleukine** (IL), **limfokine**, **monokine**, **interferoni** (IFN), **factori de stimulare a coloniilor** (CSF), **factori de necroză a tumorilor** (TNF), etc.



- **Memorie imunologica** – Capacitatea sistemului imun de a elabora raspuns mai rapid, mai intens si mai eficace la intalniri repetate cu acelasi Ag.
- **Toleranta** – absenta raspunsului imun la antigene proprii (self). Este determinata de inactivarea si eliminarea limfocitelor autoreactive in procesul de maturizare a limfocitelor T si B.

- Citokinele permit celulelor Sistemului Imun să se multiplice și să se diferențieze (ex.: IL-2 este un factor de creștere al TL, iar IL-4 stimulează BL și diferențierea lor în plasmocite producătoare de Ig E)
- Citokinele sunt glicoproteine care acționează asupra celulelor prin intermediul receptorilor membranari, care nu sunt întotdeauna activi. Expresia lor poate fi indusă de o altă citokină (ex.: IL-1 induce receptorul pentru IL-2 pe T și BL)

- Receptorii citokinelor sunt prezente și pe alte celule ale organismului. Astfel ele ar putea servi la comunicarea între Sistemul Imun și alte sisteme ale organismului, ca SNC și sistemul endocrin.

