**КЛИНИЧКА ИМУНОЛОГИЈА**

Tрансплантацијa

Клиничка ера трансплантације почело је 23. децембра 1954. када је др Џозеф Мареј извео прву успешну трансплантацију бубрега генетски идентичним близанцима. Неки елементи имунског система одговарају на трауму која прати трансплантацију органа, успостављањем перфузије и услед хируршке интервенције, док други реагују након одређеног препознавања антигенских разлика између даваоца и примаоца. Ако се овај процес настави неконтролисано то неминовно узрокује губитак графта. Тако пресађивање аутографта (пресађивање ткива са једног места појединца на другу локацију) и изографта или сингеног калема (пресађивање ткива између два генетски идентична лица такве да нема антигенских разлика) пружају мање компликација, док алографт (трансплантацији ткива из генетски различитих појединаца) обично изазива агресивну реакцију имунског система која настаје услед антигенских разлика између даваоца и примаоца. Пресађивање ткива између појединаца различитих врста, ксенографт, је такође могуће, али није у клиничкој употреби јер ксенографт обично изазива бржи и агресивнији имунски одговор у односу на алографт.

**Неспецифична имуност и оштећење услед исхемије/реперфузије**

Траума графта је покренута чак и у тренутку добијања графта, јер мождана смрт донора изазива хемодинамски и неуроендокрини одговор, па органи донора после срчане смрти трпе период топле исхемије. Током хладног складиштења, губитак интрацелуларног калијума и оштећење ћелија се наставља. Реперфузиона повреда настаје брзо након реваскуларизације и загревања. Зато се улажу напори да се током складиштења и саме трансплантације органа смањи метаболизам складиштењем на леду и перфузијом са специјализованим хладним перфузионим течностима. Овај приступ има за циљ да смањи нагомилавање токсичних метаболита и, као последица промену pH вредности, како би се смањио утицај хладне исхемије на негативне исходе трансплантације као што је закаснела функција графта.

Оштећење ткива узрокује експресију молекулских образаца удружених са оштећењем (енг. *damage-associated molecular patterns*) DAMPS, као што су хепарин сулфата, *heat shock* протеини, нуклеинске киселине и HMGB1, (енг. *high mobility group box protein* 1). Ове молекуле препознају рецептори за молекулске обрасце урођеног имунског система TLR, што за последицу има локалну продукцију инфламаторних медијатора, као што су IL-1 и IL-6, хемокина и експресију адхезионих молекула у графту. Овај рани одговор неспецифичне имуности је виђен и у аутографту и изографту и није алоантиген специфичан. Заузврат, ово изазива активирање макрофага и дендритских ћелија које појачано приказују антигене. Ендогени сигнали, као што је стрес може да активира комплемент који промовише сазревање дендритских ћелија и накнадно њихову способност да активирају Т лимфоците. Дендритске ћелије се такође активирају интерфероном-гама који производе NK ћелијe. Неспецифична имуност на ове начине подстиче покретање специфичног имунског одговора када постоје антигенске разлике између даваоца и примаоца. Тешко оштећен калем ће иницирати агресивнији имунски одговор, а то може да објасни боље преживљавање графтова уколико живих донора у односу на графтова преминулих донора, чак у присуству значајних неусклађености MHC молекула.

Иницирање специфичног имунског система

Одбацивање је сложен процес покренут због препознавања разлика између MHC молекула даваоца и примаоца. Полиморфизам MHC гена онемогућава комплетно уклапање донора и реципијента.

Сигнал 1: Препознавање алоантигена

Инфламаторни одговор који се активира у алографту након трансплантације, не само да иницира миграцију леукоцита донора већ и њихово сазревање у функционалне антиген презентујуће ћелије које изражавају висок ниво MHC молекула донора. Презентација интактних алогених MHC молекула на АПЋ донора Т лимфоцитима је позната као директна презентација. Ово је доминантан пут којим се покреће имунска реакција на графт, и Т ћелије које одговарају на непрерађене антигене чине већину алореактивног имунског репертоара. Имунски одговор на алографт се одржава захваћујући антиген презентујућим ћелијама реципијента (дендритске ћелије, В лимфоцити) које преузимају и обрађују MHC молекуле донора који се отпуштају са ћелија (солубилни MHC молекули или из апоптотичних ћелија). Овај други пут приказивања алоантигена је познат као индиректан пут. Експериментални модели су показали да индиректна презентација антигена игра већу улогу у одбацивању трансплантата од директне презентације, јер се наставља све док је калем *in situ*.

Сигнал 2: Костимулација

Активација Т лимфоцита зависи од контакта TCR/CD3 комплекса са специфичним MHC-пептид комплексом, сигнала (1), али и од сигнале који потичу од интеракције неколико костимулаторних рецептора и њихових лиганада, познатији као сигнал 2. Костимулаторни рецептори се деле на две велике породице, B7 породице (CD28 и CD152) и фактор некрозе тумора (ТNF) породица (CD40). Иако је неколико пара костимулаторних молекула идентификовано, до сада су јасно дефинисани CD28 и CD40 путеви.

Сигнал 3: пролиферација и диференцијација ефекторских Т ћелија

Након препознавања алоантигена и костимулације, почиње процес који укључује регрутовање и фосфорилацију низа сигналних молекула, који опет резултирају активацијом три интрацелуларна сигнална пута: калцијум-цалцинеурин, Ras и Raс МАР киназни пут и протеин киназе С, нуклеарни фактор капа В (NF-κB) пут.

Меморијске Т ћелије

Након излагања антигену настају антиген специфичан меморијски Т и В лимфоцити. Ове меморијске ћелије су онда у стању да индукују бржи и интензивнији имунски одговор на поновно излагање антигену, јер имају нижи праг активације и мање зависе од костимулације. Реципијенти, посебно старији болесници или који су имали претходно излагање страним антигенима кроз претходне трансплантације, трансфузије крви, или трудноће, могу да имају одређене меморијске ћелије специфичне за антигене донора.

Миграција леукоцита

Након активације, хемокини, генерисани на месту запаљења привлаче леукоците активиране у лимфним чворовима у графт. Једном активиран, леукоцити повећавају експресију рецептора за хемокине што им омогућава миграцију дуж хемокинског градијента. Ендотел крвних судова графта се активира експримира Р селектин а хемокини генерисани у графту (IL-8, RANTES, и MCP-1) привлаче леукоците који сложеним процесом улазе у ткиво графта.

Ефекторски одговор и уништавање калема

Имунски систем генерише различите ефекторске механизме који могу бити модификовани према врсти пресађеног ткива, месту пресађивања и имунског статуса примаоца у време трансплантације. Иако је одбацивање трансплантата углавном Т-зависно, многе компоненте имунског система доприносе накнадном разарању пресађеног ткива. Разарање графта уништавање може бити алоантиген специфично, или може бити посматрачко разарање ткива.

Ефекторски механизми одбацивања алографта

Графт се може одбацити различитим имунским механизмима. Међутим, из историјских разлога одбацивање графта се класификује према времену одбацивања после трансплантације, а не према имунским ефекторским механизмима. На основу искуства са трансплантацијом бубрега, хистопатолошки облици одбацивања могу бити хиперакутни, акутни и хронични.

Хиперакутно одбацивање

Хиперакутно одбацивање се манифестује тромботичком оклузијом васкуларног система графта која почиње у првим минутима или сатима након трансплантације. Посредована је већ присутним антителима приомаоца на антигене ендотела крвних судова даваоца. Ова антиген-антитело интерреакција активира комплемент што изазива промене на ендотелу графта са последичном интараваскуларном тромбозом, оклузијом и иреверзибилним исхемијским оштећењима. Комплемент изазива оштећење ендотела чиме се открива субепителна базална мембрана која активира тромбоците. Ендотелне ћелије синтетишу von Wilebrandov фактор који посредује у тромбоцитној адхеренцији и агрегацији, а губе површинске протеогликане који у садејству са антитромбином III спречавају интраваскуларну коагулацију. Сви ови догађаји промовишу тромбозу и оклузију крвних судова графта. Хиперакутне реакције одбацивања су обично посредоване IgM антителима од раније присутним у високом титру. Најчешће су то антитела на антигене из ABO крвно-групног система експримиране на еритроцитима, али и на васкуларним ендотелним ћелијама. Данас је хиперакутно одбацивање изазвано овим антителима веома ретко јер се прималац и давалац бирају тако да имају исту крвну групу или се антитела отклоне пре трансплантације вишеструким плазмаферезама. Ова антитела су препрека за ксенотрансплантације.Хиперакутно одбацивање могу изазвати и антитела класе IgG створена на протеинске алоантигене, рецимо MHC, као последица претходних трансфузија крви, трансплантација или вишеструких трудноћа.

**Акутно одбацивање**

Акутно одбацивање је процес васкуларног и паренхимског оштећења графта посредованог Т лимфоцитима и антителима које обично почиње после прве недеље од трансплантације. Главну улогу имају Т лимфоцити који су специфични за алоантигене графта, укључујући MHC молекуле, присутне на васкуларном ендотелу и паренхимским ћелијама. Активирани CD8+Т лимфоцити директно убијају ћелије графта, а CD4+Т лимфоцити продукују цитокине који регрутују и активирају инфламаторне ћелије које оштећују графт.

Антитела могу бити узрок акутног одбацивања ако су специфична за антигене крвних судова јер ће везивањем за ове антигене активирати комплемент и изазвати трансмуралну некрозу.

**Хронично одбацивање**

Васкуларизовани графт који је преживео више од 6 месеци почиње полако да развија артеријску оклузију као резултат пролиферације ћелија глатких мишића интиме и, коначно, пропада због исхемијског оштећења. Ове промене на артеријама се називају васкулопатија графта или убрзана артериосклероза графта. Васкулопатија је последица оштећења крвних судова током периоперативне исхемије и епизода акутног одбацивања у комбинацији са хроничном реакцијом домаћинових лимфоцита (сличној касној преосетљивости) на донорове антигене. Важну улогу у овом процесу имају IFN-γ i TNF. Такође, испитивања на *knockout* мишевима указују да CD4+ Т лимфоцити и B лимфоцити имају важнију улогу него CD8+ Т лимфоцити.

Због оклузије артерија постепено долази до смањења протока крви, а паренхим бива замењен нефункционалним фиброзним ткивом. Како је терапија за контролу акутног одбацивања унапређена, васкулопатија графта и хронично одбацивање су постали главни узроци губитка алографта.

**Клиничке импликације одбацивања графта**

Клинички, акутнo одбацивање графта је узрок наглог погоршања функције алографта. Да би се спречило хиперакутно одбацивање, код пацијената на листи чекања за трансплантацију се редовно прате на развој aнтитела на HLА, као маркер сензибилизације. Непосредно пре трансплантације даља провера се врши мешањем лизе спленоцита у присуству серума примаоца и донора. Степен опасности од хиперакутног одбацивања се квантитативно одређује мерењем титра анти-донорских антитела. Високо сензибилисани примаоци могу да остану на листи чекања дужи временски период, или је могућа "десензитизација" уклањањем постојећих антитела применом имуносупресивних агенаса као што је ритуксимаб који исцрпљује В ћелије. Терапијски режими који се примењују у клиници данас су фокусирани на различите кораке Т-ћелијама посредованог имунског одговора на алоантиген. Као што је раније наведено, постоје три главна корака препознавање алоантигена, ко-стимулација, и пролиферација/диференцијација ефекторских Т ћелија. Садашњи клинички покушаји се заснивају на блокади бар једне од ових фаза и / или на општој имунодеплецији.

Ризик од акутног одбацивања графта је највећи током прва три месеца од трансплантације, када се имунсупесија примарно заснива на моћан примени моноклоналнски или поликлонских деплеционих антитела, а "одржавање" имуносупресије најчешће се постиже применом инхибитора калцинеурина (циклоспорин или такролимус), антипролиферативних агенаса (микофенолат мофетил), и ниских доза кортикостероида (преднизолон). Под условом да не постоје епизоде ​​акутног одбацивања, дозе ових лекова се постепено смањују, а затим се одржавање имуносупресије неограничено наставља. Хронична имуносупресија има више секвела, посебно повећан релативни ризика од инфекција и малигнитета, кардиоваскуларни морбидитет и оштећења циљних органа.

**Имунодеплеција**

Анти-тимоцит глобулин (АТГ)

Анти-АТГ IgG антитело специфично за хумане тимоците. Везује се за лимфоците периферне крви, лимфних чворова, слезине и тимуса. Антитело је поликлонално и везује се за антигене на Т и В лимфоцитима, дендритским ћелијама NK ћелијама и супримира их.

Анти-CD52 моноклонско антитело МАБ (алемтузумаб)

Анти-ЦД52 моноклонских антитела (алемтузумаб) је хуманизовано IgG на антиген који експримира 95% лимфоцита периферне крви тако да изазива деплецију готово свих мононуклеарних ћелија.

Сигнал 1: Блокада препознавања антигена

Анти- CD3 моноклонско антитело

Муромонаб је антитело специфично за CD3 компоненту TCR-a и успешно користи као почетна имуносупресија за високоризичне пацијенате или за терапију акутних епизода одбацивања отпорних на кортикостероида. Међутим, тешка нежељена дејства муромонаба су ослобађање цитокина из Т лимфоцита услед активације Т ломфоцита овим антителом и продукција анти-мишjих антитела

Анти- CD20 (Ритуксимаб)

Ритуксимаб је анти-CD20, химерично моноклонско антитело које отклања В ћелије из циркулације. Користи за лечење антителима посредованог одбацивања

Сигнал 2: Блокада костимулације

У недостатку одговарајуће костимулација, делимично активиране Т ћелије или постају хипореспонсивне или умиру апоптозом.

CD28: B7 (CD80/CD86) блокада

CTLA-4 је индуцибилни костимулаторни молекул Т лимфоцита који када се веже за рецепторе CD80/CD86 на антиген презентујућим ћелијама испоручује инхибиторне сигнале активираним Т ћелијама. Белатацепт је спој протеина који комбинује екстрацелуларни домен CTLA-4 са Fc фрагментом IgG1 антитела. Белатацепт има већи афинитет и спорију стопу дисоцијације са В7 молекула него ЦД28, што инхибира костимулацију потребну за ефикасно активирање Т-ћелија

Сигнал 3: Блокада пролиферације / диференцијације

Активиране Т ћелије производе IL-2, и повећавају експресију високоафинитетног рецептора за IL-2. Анти-IL-2R (Базиликсимаб и даклизумаб) се данас најчешће користе у трансплантацији бубрега код нискоризичних примаоцима.

**Трансплантација бубрега**

Трансплантација бубрега понекад може да буде третман избора за већину пацијената у крајњем стадијуму инсуфицијенције бубрега. Критеријуми за селекцију пацијената варирају у зависности од година, присуства сепсе, остеопорозе, фактора коагулације и слично. Користе се два типа донорских бубрега: од кадавера и од живих донора. Селекција кадаверичког бубрега је веома строга. Поред бубрега узима се и слезина и направи се суспензија лимфоцита како би се детектовали MHC молекули класе I и II. Само пацијенти са компатибилном АВО групом могу да се разматрају као могући реципијенти. Пошто се утврди АВО група и HLA типизација кадаверичког бубрега, онда је могућа трансплантација. Пошто се реципијент селектује, серум реципијента се меша са донорским лимфоцитима и испитује се унакрсна реакција. Уколико пацијент има цитотоксичка антитела на MHC молекуле класе I донора, онда такав бубрег није погодан за трансплантацију. Парадоксално, присуство циркулишућих антитела на донорске MHC молекуле класе II може да буде предност. Рођаци који могу да буду живи донори бубрега се клинички испитују. Уради се АВО и HLA типизација. Када не може да се нађе компатибилни донор, онда се бира онај који има најмању разлику у HLA-DR локусу који је најважнији у одбацивању трансплантата. Било да је у питању кадаверични бубрег или бубрег живог донора, обавезна је перфузија бубрега хладним физиолошким раствором, тако да хлађење започиње унутар 30 минута од уклањања. То је време топле исхемије. Следи период хладне исхемије када се обавља даља перфузија бубрега (не дуже од 48 сати). Овакви бубрези имају већу шансу преживљавања.

Пострансплатациони период

После трансплантације обавезно се прати ренална функција. Акутна тубуларна некроза може да се јави због смањеног тубуларног притиска у реципијенту. Пацијент може да има поремећај бубрежне функције али који траје 3 до 4 недеље. Алтернативно, слаба бубрежна функција може да указује на хиперакутно одбацивање или уринарну опструкцију што захтева хитну хируршку интервенцију. Важно је да се разликује одбацивање од инфекције јер третман избора за инфекције могу да буду антибиотици, а не имуносупресивна терапија. За разликовање инфекције и одбацивања метода избора је биопсија бубрега али ова процедура може да оштети бубрег тако да се не ради више од једне сваких неколико недеља.

**Имуносупресивна терапија** се користи за превенцију одбацивања графта и то је кључна компонента у лечењу. Користи се циклоспорин А, рутински се примењује али може да има штетне ефекте као што су нефротоксичност, хирзутизам, хипертрофија гингива и хепатотоксичност. Користи се азатиоприн, такролимус, кортикостероиди и FK506.Користи се и микофенолат мофетил.

**Хиперакутно и акутно одбацивање бубрега**. Хиперакутно се јавља у року од неколико минута због неподударности крвне групе или MHC молекула класе I што се сада не дешава због правилног одабира трансплантата. Акутно одбацивање се јавља у року од неколико недеља или месеци по трансплантацији и рана дијагноза је важна затио што започињање правилног лечења интравенским метилпреднизолоном или анти-CD3-антителима може да смањи оштећење бубрега. Акутно одбацивање је удружено са повећаном експресијом молекула класе I и II у инфламираном графту и инфилтрацијом CD8+ T лимфоцитима.

**Хронично одбацивање бубрега или** **хронична нефропатија** се јавља месецима или годинама после добре функције бубрега. То је споро прогресивна бубрежна инсуфицијенција и хипертензија. Доминантни хистолошки знак је дуплирање контуре гломерулне базалне мембране, хијалинизација гломерула, фиброза интерстицијума и пролиферација ендотелних ћелија. У терапији могу да се примене стероиди али ако се јави фиброза, она је иреверзибилна.

**Преживљавање графта**

Дуго преживљавање графта је строго у корелацији са степеном HLA подударности, нарочито када су у питању молекули МHC класе II. 50 % кадаверичних графтова који имају пуну подударност могу да преживе око 17 година за разлику од неподударних графтова који преживљавају само 7 година. Пацијенти који су претходно одбацили један графт могу да имају токсична антитела која су удружена са хиперакутним одбацивањем.

Трансплантација је могућа само када постоји у потпуности негативнa унакрсна реакција MHC класе I.

Имуносупресивна терапија узрокује генералиовану имуносупресију. Компликеације које се јављају су повећана осетљивост на инфекције. Честа је инфекција цитомегаловирусом. Да би се превенирала, требало би да цитомегаловирус негативни реципијенти приме само трансплантате цитомегаловирус негативних донора.

Касна компликација бубрежне трансплантације је враћање основне болести. То би требало да се узме у обзир код пацијената када постоји поремећај функције који се јавља после дугог периода стабилне функције графта.

Још једна касна компликација је развој неких тумора код реципијената, као што су лимфоми и Капоши сарком. Све је то повезано са општом имунодефицијенцијом.

Пацијенти такође имају и рирзик од акутног инфаркта миокарда што може да буде повезано са хипертензијом, хипертриглицеридемијом и инсулин резистентним дијабетесом.

**Трансплантација јетре**

Трансплантација јетре има специфичне проблеме што укључује време крварења реципијента. У поређењу са другим органима, фазе одбацивања могу да буду блаже и захтевају мању имуносупресију (у терапији). Ако се изузме унакрсна реакција за молекуле HLA класе I, подударања се не користе рутински иако су студије показале да постоји боља корелација уколико је боља компатибилност HLA-DR локуса. Важна је компатибилност АВО крвног система.

**Трансплантација срца**

Употребом циклоспорина је значајно повећано преживљавање графтова срца, тако да је важно да постоји АВО компатибилност, а није неопходна HLA компатибилност, мада су студије показале да је боље преживљавање графтова уколико постоји компатибилност у MHC локусу класе II.

Имуносупресиви који се користе су исти као и за трансплантацију бубрега али неки додатни лекови укључују моноклонско антитело као што је даклизумаб за анти IL2 рецептор.

Важна је рана дијагноза одбацивања. На одбацивање могу да укажу промене у ЕКГ-у, као и биопсије које показују повећање експресије молекула класе II MHC. Најважнији постоперативни проблем је убрзана атеросклероза у артеријама графта што је и најчешћи узрок смрти пацијената који преживе више од једне године.

**Трансплантација плућа**

Користи се за неке тешке болести плућа као што је цистична фиброза, примарна **плућна хипертензија** итд. Може да се обави трансплантација једног плућног крила, оба, или плућа и срца заједно. Преживљавање је око 3 године.

**Имунологија трудноће**

Фетус сисара експримира антигене оца који су за мајку алогени али фетус се обично не одбацује. У суштини, фетус је природни аллографт, али је заштићен од одбацивања. Јасно је да је мајка изложена антигенима фетуса током трудноће, јер се антитела специфична за очинске МHC молекуле лако детектују. Очигледно, да постоји механизам који штити фетус од мајчиног имунског система, али ипак овај механизам је слабо разјашњен. Вероватно неколико различитих специјалних молекуларних карактеристика плаценте и баријера постељице уз локалну имуносупресију.

Неколико експерименталних запажања указују да је анатомски положај фетуса критичан фактор за одсуство одбацивања. На пример, трудне животиње су у стању да препознају и одбаце алографтове сингене фетусу уколико је локализован ван постељице без угрожавања опстанка фетуса. Потпуно алогене бластоцисте фетуса које немају мајчине гене могу успешно да се развијају у трудних или псудотрудних жена. Дакле, ни специфични антигени мајке, ни антигени оца нису неопходни за преживљавање фетуса. Хиперимунизација мајке ћелијама које експримирају антигене оца не угрожава раст плаценте и фетуса. Немогућност одбацивања фетус је усмерила пажња истраживача на подручје физичког контакта између мајке и фетуса. Фетално ткиво постељице које је у најинтимнијем контакту са мајком се састоји од васкуларног трофобласта, који је изложен мајчиној крви како би се обављала размена хранљивих материја и од имплантационог трофобласта, који дифузно инфилтрира децидуу материце како би се усидрио у постељици мајке. Једноставно објашњење за опстанак феталних ћелије трофобласта је да не експримирају очинске МHC молекуле. MHC II молекули нису откривени на трофобласту. У мишева, ћелије трофобласта које учествују у имплантацији, али не и васкуларне трофобласт, експримирају очинске MHC I молекуле. Код људи, ситуација може бити још сложенија јер ћелије трофобласта изражавају један неполиморни молекул HLA-G. Овај молекул може да буде укључен у заштиту ћелија трофобласта од лизе посредоване мајчиним NK ћелијама. Специјализовани подтип NK ћелија који се називају утерусним NK ћелијама су главни тип лимфоцита присутних на месту имплантације фетуса и продукција IFN-γ у овим ћелијама је од суштинске важности за развој децидуе. Начин на који се стимулишу утерусне NK ћелије и која је њихова улога у одговору на фетусне алоантигене нису познати. Чак и ако ћелије трофобласта експримирају класичне MHC молекуле, могу да им недостају костимулаторни молекули и да немају улогу антиген презентујућих ћелија.

Децидуа материце може бити место где је имунски одговор функционално инхибиран. У прилог овом ставу иде запажање да је мишја децидуа веома осетљива на инфекције *Listeria*-ом *monocytogenes* а не може да подржи касну реакцију преосетљивости. Основа имунске привилегије очигледно није једноставна анатомска препрека јер мајчина крви има многобројне контакте са трофобластом. Уместо тога, препрека вероватно чини функционална инхибиција. Децидуалне ћелије у култури директно инхибирају макрофаге и функције Т лимфоцита, можда продукцијом инхибиторног цитокина као што је TGF -β. Неке од тих инхибиторних децидуалних ћелија могу да буду резидентне регулаторне Т ћелије, иако је мало доказа за то. Неки експерименти су указали да се на месту контакта фетуса и мајке продукују TH2 цитокини који су одговорни за локалну сузбијање TH1 одговора на антигене фетуса. Међутим, овај налаз не подржавају експерименти у којима је показано да IL-4 и IL-10 нокаут мишеви имају нормалне трудноће. Такође показано је значајно повећање броја и системских и децидуалних регулаторних Т лимфоцита код мајке у трудноћи, а фетус садржи обиље регулаторних Т ћелија. Имунски одговор на фетус може бити регулисан и локалним деловањем триптофана и његових метаболита у децидуи. Ензим индоламине 2,3-диоксигеназа (IDO) катаболише триптофан, а идо-инхибирајући лек 1-метил-триптофан изазива абортус код мишева на Т- зависан начин. Из ових запажања је изведена хипотеза да су одговори Т ћелија на фетус нормално блокирани јер је децидуални ниво триптофана низак или је ниво токсичних метаболита висок. Неколико других механизама могу да ублаже имунски одговор мајке на фетус, укључујући FasL експресију на феталним ћелијама трофобласта које промовишу апоптозу активираних мајчиних лимфоцита који експримирају Fas, настанак толерогених дендритских ћелија у одговору на галектин-1 који је експримиран у децидуи, и утицај на кретање дендритских ћелија из материце у лимфне чворове.

**Примарне имунодефицијенције**

Примарне имунодефицијенције (ПИД) чине више од 130 различитих поремећаја који утичу на развој, функцију имунског система или оба. ПИД су у већини случајева моногенски поремећаји који прате једноставно наслеђивање, међутим, неке ПИД имају полигенско порекло. Пенетрација гена и варијабилност болести су резултат интеракције између генетских и фактора околине.

Са изузетком дефицијенције IgА (IGAD), сви други облици ПИД су ретки и имају укупну заступљеност приближно 1 на 10.000 живорођене деце, међутим, стопа је знатно виша ако се посматрају популације са високим степеном сродства или генетички изоловане популације. ПИД-ови су класификоване према компоненти имунског система која је дефицијентна. Поремећаји специфичне имуности обухватају дефицијенције антитела синдроме недостатка и комбиноване имунодефицијенције. Дефицијенције неспецифичне имуности обухватају поремећаје фагоцита, *Toll like* рецептора (ТLR) и комплемента. Сви ови облици се одликују повећаном осетљивошћу на понављане инфекције, тешке инфекције, или оба, са препознатљивом осетљивошћу на различите врсте патогена у зависности од природе имунског дефекта. Поред тога, неки облици ПИД се јављају у облуку имунске дисрегулације, а други (синдром имунодефицијенције) имају сложенији фенотип где је имунодефицијенција само једна од манифестација синдрома. За сваку од разних категорија ПИД, размотрићемо узроке и патогенезу, клиничке и лабораторијске дијагностичке поступке, прогнозу и лечење.

**Патогенеза и клиничка слика комбинованих имунодефицијенција CID**

CID чине хетерогену групу поремећаја развоја или функције Т лимфоцита, или оба, удружено са поремећеном функцијом антитела. Поремећена функција антитела може да буде резултат суштинских поремећаја В лимфоцита или можда одражава неадекватну активност Тh лимфоцита. У најтежим облицима CID познатим као тешка комбинована имунодефицијенција, енг. *severe combined immunodeficiency* [SCID], постоји недостатак функционалних периферних Т ћелија, док број и функција Т лимфоцита, у другим облицима CID могу да буду и нормални. Особе које имају SCID рано у животу развијају бактеријске, вирусне и гљивичне инфекције. Упала плућа изазвана Pneumocystis jiroveci је уобичајена, међутим, интерстицијалне пнеумоније могу да буду и последица инфекције цитомегаловирусом, аденовирусом, респираторним синцицијалним вирусом, или вирусом параинфлуенце. Многа одојчад са SCID имају хронични пролив, што им онемогућава напредовање. Осип може да буде одраз реакције калем против домаћина болести коју изазивају Т лимфоцити мајке који пређ у крвоток новорођенчади са SCID или оштећења ткива услед инфилтрације активираних аутологних Т лимфоцита, кшто се обично виђа у Оменовом синдрому.

SCID имунодефицијенције су класификоване у складу са имунским фенотипом у (1) SCID са одсуством Т лимфоцита али присутним В лимфоцитима (Т2В1 SCID ) или (2) SCID са одсуством и Т и В лимфоцита (Т2В2 SCID ). Обе главне групе SCID укључују облике са или без NK ћелија. Без обзира на имунски фенотип (Т2В2 или Т2В1), пацијенти са SCID имају сличне клиничке карактеристике, укључујући и рану-појаве тешких инфекција респираторног тракта, хронични пролив и прекид у развоју. SCID имају учесталост око 1:50.000 живорођених и чешће су код мушке деце. Патогенеза SCID одражава различите механизме који утичу на различите кораке у развоју Т-ћелија (слика 1). Оштећено преживљавање прекурсора лимфоцита је присутно у ретикуларној дисгенези (РД) и у дефицијенцији аденозин деаминазе (АDА). Оба облика се наслеђује као аутозомно рецесивно и карактерише се екстремним лимфопенијама. Осим тога, пацијенти са РД такође имају озбиљне неутропенија и сензоринеуралну глувоћу. РД је веома редак облик SCID и изазива мутација гена за аденилат киназу 2 (АК2). Овај ензим митохондрија регулише ниво аденозин дифосфат а недостатак АК2 резултира повећаном апоптозом мијелоидних и лимфоидних и прекурсора. АDА је ензим који учествујуе у метаболизму пурина а у одсуству АDА се јавља висок интрацелуларни ниво токсичних метаболита који

проузрокују апоптозу лимфоидних прекурсора у костној сржи и тимусу. Клиничке манифестације дефицијенције АDА поред имунодефицијенција укључују глувоћу, проблеме понашања, костохондралне абнормалности и хепатотоксичност, што одражава чињеницу да је АDА *housekeeping* ензим.

Већина SCID је последица поремећаја цитокинске сигнализације. SCIDХ1 чини 40% свих случајева SCID и изазиван је мутацијом гена за IL-2 рецептор који кодира заједнички ланац рецепторског комплекса за IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 и IL-21. Конкретно, IL-7 посредује у експанзији раних тимоцита, док IL-15 игра улогу у развоју NK ћелија. Сходно томе, пацијенти са SCIDХ1 немају Т лимфцоите и NK ћелије док је број циркулишућих В лимфоцита нормалан. Заједнички ланац рецептора за претходно наведене цитокине је физички и функционално повезано са интрацелуларном тирозин киназом, Јанус киназом 3 (ЈАК3), која учествује у интрацелуларној сигнализацији. Отуда недостаци ЈАК3 који су резултат у аутозомних облика SCID се по имунском фенотипу не разликују од SCIDХ1. Мутације гена за рецептор за IL-7 ометају развој Т лимфоцита, али развој В лимфоцита и NK ћелија остаје инатактан.

Експресија Т-ћелијског рецептора (ТCR) је критична за развој тимоцита. Слични молекулски механизми регулишу експресију пре-ТCR и пре-ВCR-а у току развоју Т и В лимфоцита. Ензими рекомбиназе RAG1 и RAG2 посредују у рекомбинацији V, D и Ј сегменета што је од значаја за експресију ТCR-а и ВCR-а. Поремећаји екпсресије пре-ТCR и пре-ВCR-а чине значајан део аутозомно рецесивне Т2В2 SCID и можда одражавају мутације RAG1 и RAG2 гени (који чине 4% до 20% свих случајева SCID) или гена који кодирају протеине укључене у нехомолого спајање и ДНК поправке, посебно Артемис и ДНК лигазе. У свим овим болестима, развој NK ћелија се наставља нормално, па NK ћелије представљају готово све циркулишуће лимфоците.

Мутације компоненти CD3 комплекса утичу на сигнализацију са пре-ТCR-а и изазивају SCID. Описано је и неколико случајева мутација гена за тирозин фосфатазу CD45, која посредује у сигнализацији у Т и В лимфоцитима.

Хипоморфне мутације гена који су обично повезани са SCID могу да омогуће развој неких Т ћелија. У овим случајевима услед оштећеног унакрсне интеракције између тимоцита и тимусних епителоидних ћелије угрожавају се механизми централне толеранције, па се не елиминишу аутореактивни Т лимфоцити и настају регулаторни Т лимфоцити са поремећеном функцијом. Сходно томе, јављају се аутоимунске манифестације са инфилтрацијом циљних ткива активираним олигоклонским Т лимфоцитима. Оменов синдром, који изазива мутација RAG1/2 је прототип ових дефицијенција и карактерише се еритродермијом, лимфаденопатијом и инфламаторним болестима црева.

Дефицијенција CD40 лиганда (CD40L) се наслеђује везано за X хромозом. CD40L је доминантно експримиран на активираним CD4+ Т лимфцоитима и интерреагује са CD40, који је експримиран на B лимфоцтима,моноцитима, дендритским ћелијама. CD40L-CD40 је кључна у процесу активације В лимфоцита, заједно са сигналима посредованим цитокинима утиче на промену класе антитела. Тако мушкарци са дефицијенцијом CD40L молекула имају дефицјенцију свих изотипова антитела осим IgM. Поред тога, интеракција CD40L-CD40 утиче на матурацију DC и секрецију IL-12 утичући тако на активацију Т лимфоцита и продукцију IFN-γ, кључног молекула у одбрани од интрацелуларних патогена. Тако су особе са дефицијенцијом CD40L подложне опортунистичким инфекцијама (P. jiroveci и Cryptosporidium parvum), што значи да према клиничким манифестацијама CD40L дефицијенција спада у CID. Неутропенија се јавља у 65% особа са дефицијенцијом CD40L. Сличан фенотип је описан и код особа са дефицијенцијом CD40, ретке PID која се наслеђује аутозомно рецесивно.

Дефицијенције Т лимфоцита узроковане поремећајима тимуса

Ди Ђорђов синдром је развојни дефект трећег и четвртог ждрелног лука, што резултира

оштећеним развојем тимуса и паратироидних жлезда, аномалијама срца и лица дисморфијама, тешкоћама у храњењу због поремећаја вилице непца и повећаном учесталошћу психијатријских поремећаја у детињству и одраслом добу. Хемизиготна делеција хромозома 22q11 је примећена у 35% до 90% болесника. Постоје благе дефицијенције Т лимфоцита које су резултат поремећеног развоја тимуса. Комплетан Ди Ђорђов синдром са атимијом је редак (1% свих случајева) и представља по функцији SCID. Атипични комплетни Ђорђов синдром се јавља са развојем олигоклоналних Т лимфоцита које су in vivo активиране и инфилтрирају органе, опонашајући Оменов синдром.

FOXN1 је транскрипциони фактор потребан за развој епителоиднихних ћелија тимуса. Аутозомниа дефицијенција FOXN1 је уочена код неколико пацијената и карактерише се као SCID са алопецијом и дистрофијом ноктију.

**Дефицијенције антитела**

Неадекватна производња антитела изазива повећану осетљивост, углавном на бактеријске инфекције, обично горњег и доњег респираторног тракта (упала уха, упала синуса, и пнеумонија) али може такође изазвати апсцесе у кожи или другим органима, менингитис, инфекције уринарног тракта и артритис. Поновљене вирусне инфекције су такође честе. Инфекција Giardia-ом може проузроковати дуготрајну дијареју. Дефицијенције антитела могу да настану услед поремећаја функције молекула који утичу на развој, сазревање, и / или функцију В лимфоцита. Сигнали са ВСR-a су суштински за развој В лимфоцита. Пре ВСR чине тешки м ланци имуноглобулина и сурогат ланци и Igα и Igβ који учествују у преношењу сигнала. Овај комплекс регрутује бројне интрацитопласматске протеине, међу

којима су адаптерски молекул BLNK и Брутонова тирозин киназе (ВТK). Поремећаји ВТK су најчешћи облик (85%) агамаглобулинемија код људе. Мутације у гену за μ тешке ланце имуноглобулина су други најчешћи узрок (5%), док је само неколико пацијената са дефектима λ5, Igα и Igβ и BLNK. У свим овим случајевима, постоји блок између про-В и пре В фаза диференцијације у костној сржи, што изазива одсуство (<1%) циркулишућих В лимфоцита. Међутим, дефект је често непотпун код пацијената са ВТK дефицијенцијом и нешто В ћелија се детектује у периферној крви.

IgA дефицијенција је најчешћа PID, која се јавља отприлике 1:700 у свету. Јављају се и комплетне и парцијалне дефицијенције. Механизам настанка IgA и даље није разјашњен иако је показана удруженост са одерђеним MHC алелима и већа фреквенца у породицама са CVID. Око две трећине особа које имају дефицијенцију IgA су асимптоматске а остали имају рекурентне инфекције, аутоимунске болести, алергију. Одрасли који имају IgA дефицијенцију обично имају и поремећаје IgG субкласа, нарочито IgG2. Деца међутим обично имају одложену матурацију синтезе имуноглобулина и стање не прогредира у значајну имунодефицијецију.

Такође могу да се јаве изоловане дефицјенције IgG. Патофизиологија дефицијенције IgG сублкаса је у већини случајева непозната; показане су код малог броја особа делеције оба алела који кодирају константне регионе тешких ланаца. Дефицијенције појединих класа антитела се карактеришу поремећеном синтезом антитела (нарочито на угљенохидратне антигене) без поремећаја у укупном нивоу имуноглобулина или броју В лимфоцита.

Имунодефицијенције са дисрегулацијом имунског система

Неке имунодефицијенције карактеришу аутоимунске манифестације ипоремећај имунске хомеостазе. Централна имунска толеранција се постиже делецијом аутореактивних клонова Т лимфоцита у тимусу. AIRE протеин (енг. autoimmune regulator protein) је транскрипциони фактор који екпсримирају медуларне епителоидне ћелије тимуса. AIRE омогућава експресију ткивно специфичних антигена на медуларним епителоидним ћелијама тимуса и дендритским ћелијама у току рзвоја Т лимфоцита и тако омогућава делецију аутореактивних клонова. Мутације AIRE гена узрокују аутоимунску полиендокринопатију са кандидијазом и ектодермалном дистрофијом. Хипопаратироидизам и инсуфицијенције надбубрега су истакнуте аутоимунске манифестације овог аутозомног поремећаја. За настанак регулаторних Т лимфоцита у тимусу кључна је експресија FOXP3 фактора транскрипције. Мутације гена за FOXP3 изазивају имунску дисрегулацију са полиендокринопатијом и ентеропатијом (IPEX синдром), са тешким и аутоимунским ентеропатијама, инсулин зависним дијабетесом и екцемом. Мутације гена за CD25 (α ланац рецептора за IL-2) изазивају синдром сличан IPEX-у. Хомеостаза имунског одговора се такође заснива на апоптози аутореактивних лимфоцита на периферији. Интеракција између Fas лигандa који експримирају активирани лимфоцит и FAS (CD95), активира интрацелуларни сигнални путева који на крају активира каспазе и изазива ћелијску смрт. Мутације Fas гена су доминантан узрок аутоимунског лимфопролиферативног синдрома (ALPS), са лимфаденопатијом, хепатоспленомегалијом, и аутоимуних цитопенија. Ове особе имају већи ризик од појава лимфома, углавном В ћелија.

**Имунодефицијенције са оштећењем цитотоксичности посредоване ћелијама**

Цитотоксична активност Т и NK ћелија зависи од активности цитолитичких протеина који се налазе у гранулама и транспортују се преко микротубула до синапсе која је формирана у контакту са циљним ћелијама. Неке имунодефицијенције карактеришу поремећаји механизама транспорта, везивања, или ослобађање литичких гранула. Ови поремећаји су често повезана са поремећајем интрацелуларног транспорта меланина, што изазива поремећаје пигментације. Чедјак Хигаши је аутозомно рецесивно обољење узроковано мутацијама LIST (Lysosomal Trafficking regulator) гена. Поред оштећене цитотоксичности, јављају се џиновски лизозоми у леукоцитима, сиво-сребрна косе, и периферна неуропатија.

**Дефицијенције неспецифичне имуности: фагоцита, TLR, сигналих путева у леукоцитима и комплемента**

Поремећаји фагоцита. Фагоцити играју кључну улогу у одбрани од бактерија и гљивица, сходно томе, болесници са поремећајима броја или функције фагоцита периодично имају тешке гљивичне (посебно Candida и Aspergillus врста) и бактеријске инфекције. Инфекције респираторног тракта и коже доминирају, али и апсцеси су такође чести. Понављани стоматитиси су присутни у већини случајева. Тешка конгенитална неутропенија се дефинише када је неутрофила мање од 0.5х109 ћелија/L. Најчешће неутропенију изазива мутације ELA2 гена, који кодира неутрофилне еластазе. Ова болест може да буде спорадична или аутозомно доминантна и повезана је са блоком развоја неутрофила на нивоу промијелоцит-мијелоцит у костној сржи. Неке мутације ELA2 изазивају цикличне неутропеније, са осцилацијама у броју неутрофила, који достиже максиму отприлике сваког 21. дана, што резултира периодичним од инфекцијама. ELA2 мутације су удружене са повећаним ризиком од мијелодисплазија и мијелоидне леукемије

што је повезано са соматским мутацијама гена за рецептор фактора стимулације колоније гранулоцита. Нутропеније могу да изазову и мутације гена за HAX1, глукозо-6-фосфатазу,

р14 а овај облик је повезан са делимичним окулокутаним албинизмом и ниским растом.

**Хронична грамулатозна болест је** прототип дефицијентне функције фагоцита и узрокована је поремећајима NADPH ензимског комплекса. У 75% случајева дефицијенција се наслеђује везано за Х хромозом, мутација CYBB гена који кодира gp91phox компоненту NADPH oксидазе. Аутозомно рецесивне форме су узроковане мутација p22phox, p47phox и p67phox који се налазе у мембрани фагозома. По фагоцитози активација NADPH оксидазе резултира продукцијом микробицидних компоненти (супероксидних радикала и хидроген пероксида) и активацијом литичких ензима (катепсин G, eластаза и мијелопреоксидаза), који учествују у елиминацији интрацелуларних бактерија и гљивица. Особе са хроничном грануломатозном болешћу су склоне рекурентним инфекцијама коже, јетре, плућа (Staphylococcus aureus, Candida, а врло често и инфекције микобактеријама). Продужен инфламаторни одговор узрокује грануломатозне манифестације чак и у одсуству инфекције.

Дефијенције адхезије леукоцита LAD (Leukocyte adhesion deficiency) је група синдрома коју карактеррише поремећено кретање леукоцита. LAD1 настаје услед мутације гена који кодира CD18, β интегрин који учествује у адхезији леукоцита за ендотелне ћелије и трансендотелном пролазу леукоцита који тако одлазе на место инфалмације. LAD2 настаје због мутација гена за GDP-фукоза транспортер, нема адекватне фукозилације протеина и нема експресије Sialyl-Lewis-X, који је лиганд за E-селектин. Поремећено је котрљање леукоцита по ендотелу. Наслеђују се аутозомно рецесивно јављају се врло брзо по рођењу у виду тешких инфекција без формирања гноја. Одложено зарастање рана и тешки периодонтитиси се типично јављају. Дефицијенцију LAD2 често прате фацијални дисморфизми ментална ретардација.

**Поремећаји TLR.** TLR су молекули експримирани на ћелијској и ендозомалној мембрани где имају улогу рецептора који препознају молекулске обрасце LPS, гликолипиде, једноланчану RNA. Активација TLR укључује адапторске молекуле MyD88 и IRAK-4 IRAK-1 и резултује продукцијом инфламаторних цитокина IL-1, IL-6, TNF-a и IL-12. Мутације гена који кодирају молекуле укључене у преношење сигнала са TLR резултују селективном осетљивошћу на патогене. Мутације гена за IRAK4 и MYD88 имају сличан фенотип и манифестују се тешким инвазивним пиогеним инфекцијама које се јављају рано у току живота. Инфекције у току живота постају ређе. Мутације гена за TLR3 је детектована код особа које су посебно осетљиве на развој *herpes simplex* енцефалитиса.

**Дефицијенције комплемента.** Дефицијенције компоненти комплемента које учествују у раној фази класичен активације (C1q, C1r, C1s, C4, C2, and C3) узрокују аутоимунске манифестације које личе на системски лупус. Дефицијенције C2 и C3 повећавају ризик од од инфекција инкапсулисаним бактеријама. Дефицијенције C5-C9 су удружене са рекурентним и инвазивним инфекцијама најсеријама. Дефицијенције регулаторних компоненти комплемента. Фактор H и фактор I узрокују мембранопролиферативни гломерулонефритис. Дефицјенција MBL је удружена са ризиком од рекурентних бактеријских инфекција. Дефицијценција С1 инхибитора изазива хередитарни ангиоедем који се јавља због неконтролисаног ослобађања брадикинина јер С1 инхибира каликреин-кинин систем.

**Дијагностиковање и лечење примарних имунодефицијенција**

Пацијенти са агамаглобулинемијама немају крајнике и друга лимфна ткива.

Клинички лабораторијски тестови: лимфопенија и значајно смањење броја Т лимфоцита указује на SCID, али увек мора да се искључи инфекција HIV-ом. ПОред лимфопеније in vitro одговор на митогене је одсутан код особа са SCID. Испитивање код сумње на дефицјенцију антитела укључује одређивање броја В лимфоцита, укупне количин имуноглобулина и специфичних антитела за протине и полисхарадие. B лимфоцити су одсутни код конгениталнее имуноглобулинемије, диференцијална дијагноза укључује неке облике SCID и мијелодисплазије. Увек је важно упоређивање броја ћлија и количине антитела са вредностима здравих контрола истог узраста. Налаз мале количине IgG и IgA, са нормалном или повишеном количином IgM у серуму указује на поремећену интеракцију Т и В лимфоцита CD40L или CD40 дефицијенције. Важно је одерђивање и нивоа IgG субкласа и одговора В лимфоцита на различите антигене полисахардне, протеинске. Важно је одређивање титра изохемаглутинина (анти-А и анти-В антитела) али тек после друге године живота. Проточном цитометријом се одређују нивои Т лимфоцита (CD4+ и CD8+), B лимфоцита и NK ћелија. Други тестови укључују: тестове пролиферације лимфоцита стимулисаних митогенима или специфичним стимулаторима ТCR-а; одређивање миграције, хемотаксе, адхеренције, и интрацелуларног убијања микроорганизама фагоцитозом; продукција супероксида (нитроблутетразолијум тестом, хемилуминисценцијом).

Главни циљ терапијске интервенције у имунодефицијенцијама је усмерен или на одбрану домаћина или на уништавање патогена. Примењују се антибиотици профилактички, надокнада имуноглобулина за лечење агамаглобулинемија и трансплантација матичне ћелије хематопоезе (једина права терапија за SCID).