

Sveučilište J.J. Strossmayera
Odjel za kemiju
Preddiplomski sveučilišni studij Kemija

Maja Dugandžić

**Urođeni imunosni sustav
i prirodne stanice ubojice**

Završni rad

Mentor: doc. dr. sc. Martina Šrajer Gajdošik

Osijek, 2019.

SAŽETAK

Imunosni sustav razlikuje vlastito od stranog i odstranjuje potencijalno štetne strane molekule i stanice iz organizma. Imunosni sustav također ima sposobnost prepoznavanja i uništavanja promijenjenih vlastitih stanica koje potječu iz tkiva domaćina. Antigen je svaka molekula koju imunološki sustav prepoznaje. Urođeni (prirodni ili nespecifični) imunitet ne zahtjeva prethodni kontakt s antigenom za aktivaciju. Ukoliko virus ili bakterija prođu kožu ili sluznicu na našem tijelu i napadnu našu stanicu, aktiviraju se signali koje odmah registiraju prirodne stanice ubojice (NK stanice). One imaju sposobnost uništiti inficiranu stanicu u nekoliko sati dok zdravu poštede. Prirodne stanice ubojice pomažu i u obrani od tumora na način da, identificiraju i razlikuju tumorske stanice od normalnih. Sve zdrave stanice u tijelu sadrže MHC I receptore, a ukoliko je stanica zaražena ona neće posjedovati ove receptore. Ako NK stanice nemogu pronaći MHC I receptore na nekoj stanici odmah ju uništavaju.

Ključne riječi: imunologija, imunosni sustav, prirodne stanice ubojice, tumorske stanice, MHC I receptori

ABSTRACT

The immune system differentiates its own from the foreign and removes potentially harmful alien molecules and cells from the organism. The immune system also has the ability to recognize and destroy its own cells, those from the host tissue, but have been some ways transformed. An antigen is any molecule that is recognized by the immune system. Innate (natural or non-specific) immunity does not require prior contact with activating antigen. If a virus or bacterium passes the skin or mucous membrane in our body, and attacks our cells, the signals immediately register the natural cells of the killer. If the virus or bacteria pass through the skin or mucous membrane in our body and attack our cells, the signals that are activated are immediately registered by the natural killer cells (NK cells). They have the ability to destroy the infected cell in a matter of hours while not affecting the healthy cells. Natural killer cells also help in protecting against tumors by identifying and distinguishing tumor cells from normal. All healthy cells in the body contain MHC I receptors, and if the cell is infected it will not possess these receptors. If the NK cells can not find the MHC I receptors on a cell, they will immediately destroy them.

Key words: immunology, immune system, natural killer cells, tumor cells, MHC I receptors

SADRŽAJ:

1. UVOD	5
2. IMUNOLOGIJA I OSNOVE IMUNOSTI	6
2.1. ANTIGEN I PROTUTIJELA	6
3. UROĐENI IMUNOSNI SUSTAV	9
3.1. LOKALNA OBRANA	9
3.2. SISTEMNA OBRANA.....	9
3.2.1. STANIČNA NESPECIFIČNA IMUNOST.....	10
3.2.2. HUMORALNA NESPECIFIČNA IMUNOST	10
4. STANICE IMUNOSNOG SUSTAVA.....	11
5. PRIRODNE STANICE UBOJICE	12
5.1. DJELOVANJE NK STANICA.....	13
5.1.1. MEHANIZAM CITOTOKSIČNOSTI.....	15
5.2. NK STANICE U LJUDSKOM ORGANIZMU	16
5.3. NK STANICE I RAK	17
6. ZAKLJUČAK	19
7. LITERATURA.....	20

1. UVOD

Hrabrost našeg organizma leži u imunologiji, odnosno imunosnom sustavu. Imunologija je grana biomedicinskih znanosti koja proučava cjelokupnu otpornost organizma na djelovanje stranih tvari, tj. antigena. Ova grana znanosti proučava sve oblike obrane domaćina od zaraze i štetne posljedice imunosnog odgovora za domaćina. Primjerice, rana na našem tijelu narušit će njegovu prirodnu ravnotežu, ona predstavlja ulazak za sve što se nalazi u zraku, a ne mora imati dobre namjere. Dakle, koža je naša prva linija obrane te se ona svrstava u urođenu obranu organizma s kojom se rađamo. Osim kože, među prvim obranama se nalaze i sluzave opne poput onih koje oblažu usta, nosnice, uši i oči [1]. Općenito urođeni obrambeni mehanizam djeluje i bez prethodnog dodira organizma s određenim antigenom i usmjeren je protiv praktično svih antigena koji ulaze u organizam. Postoje brojni mehanizmi urođene otpornosti, a najvažniji su anatomske i fiziološke zapreke koje stoje na putu prodora uljeza u organizam, stanice nespecifične imunološke obrane (fagociti i NK-stanice), humoralne sastavnice te upalna reakcija. Kada se govori o imunoreakciji, protutijela imaju središnju ulogu, također su poznati kao imunoglobulini. Oni su veliki proteini koje imunološki sustav koristi za neutralizaciju patogena kao što su patogene bakterije i virusi. Nakon prve linije obrane, prije interakcije antigena sa protutijelom, ulaskom štetne tvari u organizam pojavljuju se NK stanice prepoznate kao poseban tip velikih granularnih limfocita koji su rasprostranjeni u cijelom tijelu, prisutni su u limfoidnim organima i ne-limfoidnim periferna tkiva. Uz zaštitu, bitna sposobnost našeg imunosnog sustava je da može razlikovati štetne strane od vlastitih stanica, pri čemu odstanjivanjem štetnih stanica, vlastite zdrave stanice organizma su pošteđene [2].

2. IMUNOLOGIJA I OSNOVE IMUNOSTI

Imunologija je biomedicinska znanost koja se bavi otpornošću organizma na štetne utjecaje okoline (lat. *immunitas* = otpornost). Evolucija višestaničnih organizama nametnula je i vitalnu potrebu razvoja internog obrambenog sustava koji će ih štititi od različitih stranih organizama. Obrambeni sustav da bi odgovorio svojim zadaćama, postajao je sve složeniji osobito u kralježnjaka. Dakle, zdrava se osoba različitim obrambenim mehanizmima štiti od štetnih utjecaja mikroba i sličnih stranih tijela, što nazivamo imunošću [3,4,5].

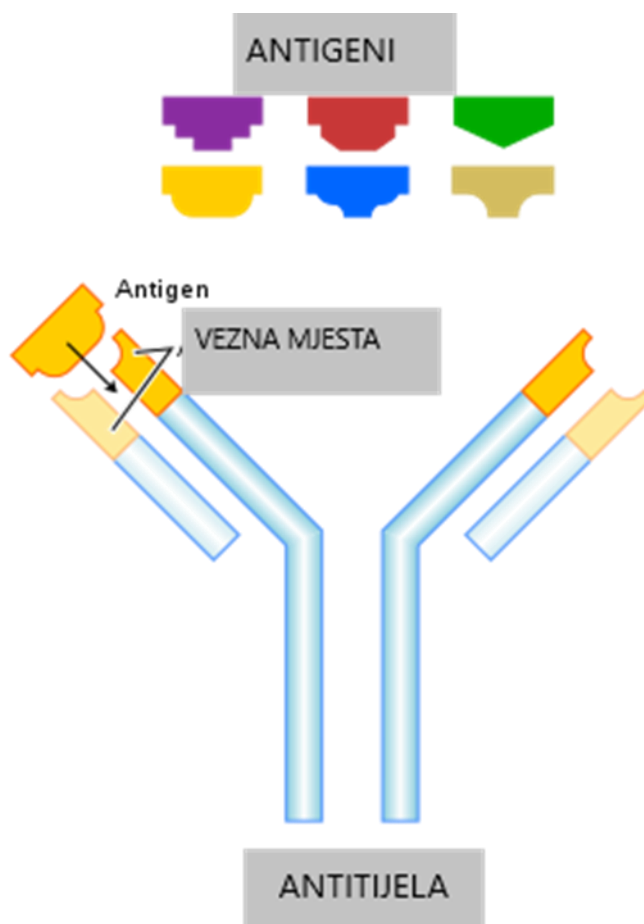
Temelj imunoreakcije je prepoznavanje stranog agensa i njegovo neutraliziranje/uklanjanje iz organizma. To je uloga nespecifičnog, tj. urođenog i specifičnog, tj. stečenog mehanizmima. Nespecifična ili urođena imunost djeluje bez prethodnog susreta organizma sa stranim patogenom i usmjerena je protiv gotovo svih antigena koji dolaze u organizam. Ona razlikuje strano od vlastitog, no ne razlikuje koje je vrste strani patogen i ne može se pojačati izlaganjem takvom patogenu. Nasuprot tomu, specifična imunost (stečena, adaptivna) razvila se kasnije i djeluje točno protiv određene vrste antigena, ali tek nakon prethodnog susreta s njim. Odgovor imunološkog sustava bazira se na tri glavna principa: prepoznavanje antigena, pokretanje imunološkog odgovora i uništavanje antigena [3,5].

Imunosni se sustav susreće s dva golemo izazova pri otkrivanju patogenih mikroorganizama: 1. mora izgraditi sustav različitih receptora koji su sposobni suočiti se sa svom raznolikošću potencijalnih patogena; 2. treba biti sposoban razlikovati invazivne organizme i njihove patogene produkte od proizvoda vlastita organizma (tj. moći razlikovati vlastito od stranog) [3,4,6].

2.1. ANTIGEN I PROTUTIJELA

Ranije se antigen definirao kao molekula koja može potaknuti limfocit B na stvaranje antitijela (engl. "*ANTIbody GENerator*"). Danas taj izraz ima šire značenje i označava svaku molekulu koju mogu prepoznati mehanizmi stečene imunosti, bez obzira jesu li posredovani limfocitima B ili T. Antigeni se mogu nalaziti u stanicama kao što su bakterije i tumorske stanice, ili biti slobodne makromolekule, kao što su bjelančevine, polisaharidi i nukleoproteini. Molekula antitijela obično se ne veže na cijelu molekulu antigena već, zbog

svoje specifičnosti, samo na dio antigenske molekule, koji se naziva epitop (Slika 1.). Jedna molekula antigena može imati, i obično ima, više različitih epitopa [4,7].

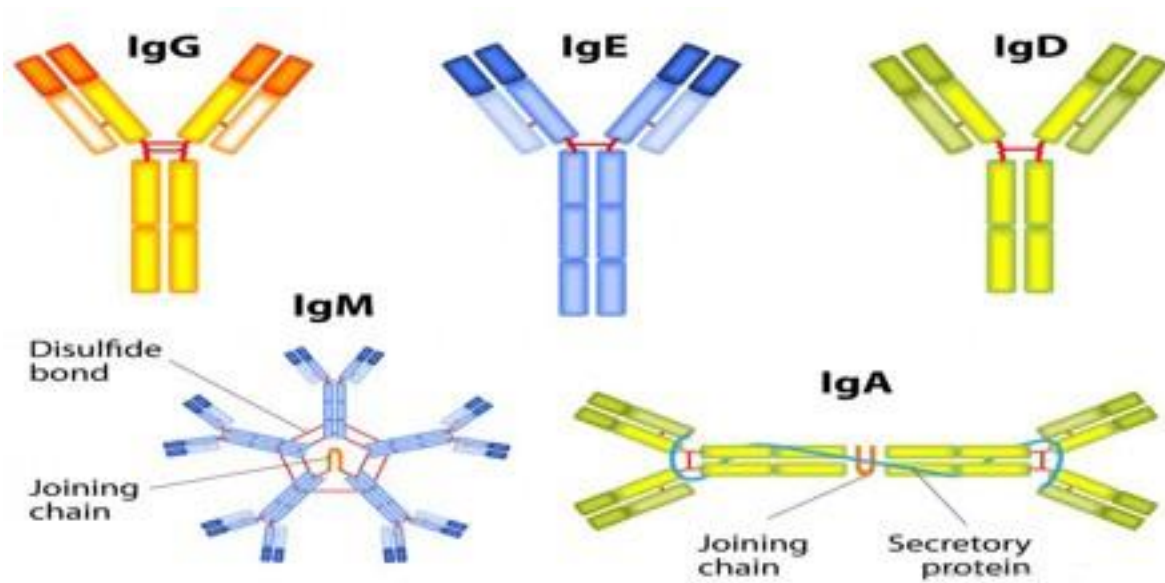


SLIKA 1. Prikaz antigena i njihovih veznih mjesta na antitijelima (adaptirano iz [8])

Protutijela (antitijela) imaju središnju ulogu u molekulskim mehanizmima imunskog odgovora. To su su glikoproteini (imunoglobulini) sintetizirani kao odgovor organizma na prisustvo stranih tvari, antigena. Luče ih plazma stanice koje potiču od B limfocita. Protutijelo prepoznaje specifičnu skupinu ili nakupinu aminokiselina na ciljnoj molekuli, zvanu antigenska determinanta ili epitop [4]. Protutijela se specifično vežu na antigenske determinante odnosno epitope, a dio protutijela odgovoran za vezanje na epitop se naziva paratop [9]. Protutijela su proteini povezani s imunološkim sustavom koji se nazivaju imunoglobulini. Svako antitijelo se sastoji od četiri polipeptida - dva teška lanca i dva lagana lanca spojena u molekulu u obliku "Y", povezani disulfidnim vezama. Teški i laki lanci zajedno stvaraju domene F_{ab} , koji na svojim krajevima imaju vezna mjesta za antigen.

Aminokiseline koje tvore aktivno mjesto nalaze se na varijabilnim dijelovima lakih i teških lanaca [10]. Lake i teške lance kodiraju geni triju lokusa. Na kromosomu 14 se nalazi lokus koji sadrži gene za imunoglobulinski teški lanac, a na kromosomima 2 i 22 imunoglobulinski kappa odnosno lambda lokusi koji sadrže gene za lake lance. Postoji pet glavnih razreda tj. izotipova protutijela, IgG, IgM, IgA, 6 IgE i IgD, a međusobno se razlikuju u teškom lancu (Slika 2.)[9].

Razlikujemo monoklonska i poliklonska protutijela. Monoklonska protutijela su protutijela nastala iz pojedinačnog klona B-limfocita, tj. plazma stanice. Imaju identične paratope te se vežu na pojedinačni epitop pojedinačnog antigena. Poliklonska protutijela su protutijela koja se vežu na različite epitope antigena ili čak na različite antigene koji su bili prisutni u imunizirajućem agensu, a izlučuju ih B-limfociti različitih staničnih linija. Imunosni odgovor na antigene u tijelu je poliklonski [11].



SLIKA 2. Pet glavnih izotipova protutijela [12]

3. UROĐENI IMUNOSNI SUSTAV

Nespecifična imunost je otpornost organizma na štetne utjecaje nekih tvari ili mikroorganizma, koja postoji i bez prethodnog susreta s tim patogenom. To, dakle, nije imunost koja je specifično usmjerena protiv određenog antigena već je konstitucijsko svojstvo organizma. Filogenijski je ovaj oblik imunosti star koliko i život, a tek se u kralježnjaka na njega dogradila i specifična imunost. Nespecifični imunosni sustav je prva i najvažnija crta obrane od bakterija, gljivica, virusa, parazita i drugih štetnih ili nepoželjnih patogena i zapravo je zapanjujuće djelotvorna ako se ima na umu da živimo okruženi mnoštvom mikroorganizama, te da od njih nekoliko desetaka tisuća svega stotinjak štetno djeluje na čovjeka. Upravo djelotvorni nespecifični imunosni mehanizmi služe kao zaštita od mikroorganizama pa taj vid imunosti treba prije svega proučavati u kontekstu imunosti na infekcije. Na onih preostalih stotinjak patogenih mikroorganizama djelovat će mehanizmi specifične imunosti, ali tek nakon što se probiju kroz nespecifičnu obranu [5,13].

Djelotvornost i funkciju urođene imunosti održava više stanica: makrofagi, neutrofil, NK stanice (eng. *natural killer*), citokini i komplementa koje prema istom principu prepoznaju antigene te im je proces odgovora na strane tvari vrlo sličan [13].

Obrana od štetnih tvari zbiva se na (1) lokalnoj i (2) sistemnoj razini [13].

3.1. LOKALNA OBRANA

Lokalna se obično ostvaruje na mjestu ulaska agensa u tijelo kao što su koža i sluznica te u usnoj šupljini slina, te one čine prvu anatomsku zapreku. Lokalna zaštita može biti mehanička, fizička i kemijska. Otpornost se temelji na fizičkom uklanjanju tvari s površine (ljuštenje sluzi, ispiranje, struja zraka), postojanju kemijskih protuinfekcijskih tvari (kiselost želučanog soka) i normlanoj bakterijskoj flori koja sprječava razvoj drugih mikroba [13].

3.2. SISTEMNA OBRANA

Kod sistemske nespecifične obrane razlikujemo staničnu i humoralnu nespecifičnu imunost [13].

3.2.1. STANIČNA NESPECIFIČNA IMUNOST

Glavni nositelji nespecifične stanične imunosti su fagociti: granulociti i mononuklearni fagociti, oni djeluju nakon što se probije lokalna obrana. Prepoznaju i razgrađuju strane tvari. Granulociti su djelotvorni protiv patogena koji nakon fagocitoze sami propadaju u fagocitu jer im ne odgovara takva okolina, dok su monociti/makrofagi djelotvorniji protiv pravih nametnika unutar stanice koji se množe, a protiv kojih su granulociti slabije djelotvorni [5,13].

Granulociti stižu brzo na mjesto upale i odmah djeluju, dok makrofagi djeluju sporije i u kasnijim fazama upale. Djeluju najprije fagocitozom, zbog čega ih se, uz monocite/makrofage, svrstava u red „profesionalnih fagocita“. Unatoč sve većoj složenosti humoralnih i celularnih imunskih mehanizama u viših organizama, koja je u sisavaca vremenom doživjela svoj vrhunac, fagocitoza i dalje ostaje najvažniji i glavni izvršni mehanizam za uklanjanje napadačkih, stranih, mrtvih, promijenjenih ili na bilo koji drugi način nepoželjnih stanica i čestica [5,13,14].

Makrofagi se nalaze u svim fazama imunskog odgovora. Sudjeluju u prvoj liniji obrane od nepoželjnih čestica, prije nego li se aktiviraju mehanizmi posredovani T limfocitima. Zatim preradom i predočavanjem antigena pokreću specifični imunski odgovor koji je posredovan T limfocitima i napokon sudjeluju i u završnim fazama imunskog odgovora kao upalne, tumoricidne i mikrobicidne stanice. Ovaj široki raspon funkcija mogu obavljati tek nakon izlaganja djelovanju određenih citokina, ponekad i točno određenim slijedom, što se naziva aktiviranjem makrofaga [5, 13,14].

3.2.2. HUMORALNA NESPECIFIČNA IMUNOST

U izvanstaničnoj tekućini, posebice u plazmi, postoje brojne tvari što sudjeluju u nespecifičnoj obrani. Uglavnom oblaganjem i kemotaksijom potiču funkcije fagocita, no neki mehanizmi djeluju samostalno [5,13].

Sustav komplementa je zapravo skup proteina (komponente komplementa C1-C9) koji se međusobno određenim slijedom aktiviraju proteolitičkom razgradnjom [14]. Rezultat aktivacije komplementa može biti: (i) opsonizacija - pri kojoj komponente komplementa

oblažu ciljnu česticu i te ju čine dostupnom djelovanju fagocita s receptorom za komponente komplemента; (ii) aktivacija leukocita - koji posjeduju receptore za komponente komplemента; (iii) liza ciljne stanice – koja se odvija kao oštećenje membrane ciljne stanice, npr. bakterije [13,14].

Beta-lizin je protein koji uglavnom uništava gram-pozitivne bakterije, djelujući na staničnu membranu kao kationski deterdžent [13].

Lizozim je enzim što ga luče fagociti, također i monociti i makrofagi. Oštećuje stijenku bakterije [13].

Interferoni su citokini koji uz prvenstveno protuvirusno djelovanje, djeluju i antiproliferativno i imunoregulacijski. Antivirusno i antiproliferativno djeluju poticanjem sinteze enzima koji sudjeluju u razgradnji RNA, na taj način priječe ili usporavaju razmnožavanje ciljnih stanica. U protuvirusnom djelovanju nisu specifični za određeni virus već pokazuju svojstvo interferencije, što znači da tijekom infekcije jednim virusom organizam istodobno može postati otporan na infekciju drugim virusom. Interferoni su specifični za određenu vrstu, tj. ljudski interferon zaštićuje ljudsku ali ne i npr. štakorsku stanicu [14].

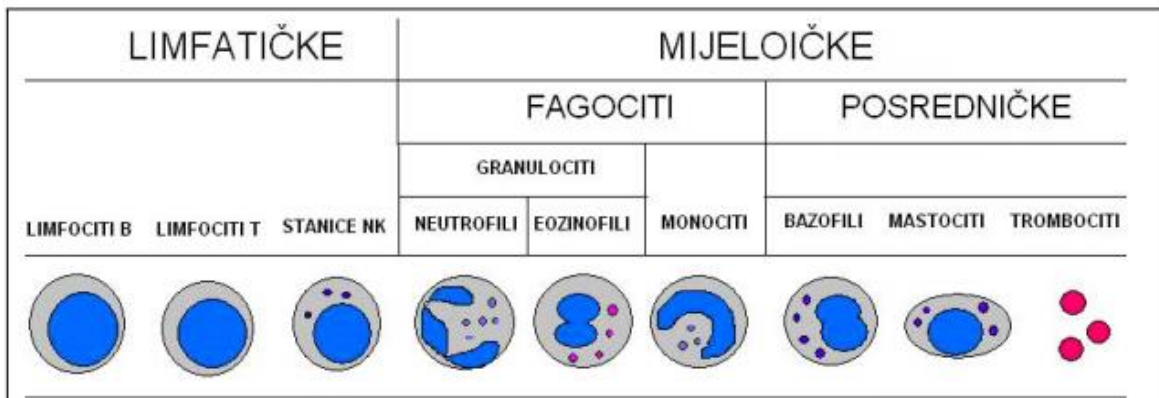
Proteini akutne faze pojavljuju se u serumu pri upali u višestruko većoj koncentraciji od normalne [14].

Prirodna antitijela prisutna su u cirkulaciji većine pripadnika određene vrste i nisu posljedica vidljiva dodira organizma s antigenom. To su npr. antitijela na antigene krvnih grupa, ali i nekih bakterija i virusa [14].

4. STANICE IMUNOSNOG SUSTAVA

Stanice imunskog sustava nastaju iz pluripotentnih prastanica koje sazrijevaju dvama glavnim putovima: iz limfoidnih prekursora nastaju limfociti (limfociti T, limfociti B i prirodno ubilačke ili stanice NK), a iz mijeloidnih prekursora fagociti i posredničke stanice (Slika 3). Limfociti se sastoje od 2 glavne skupine, a to su limfociti T i B. Limfociti T nastaju iz svojih prekursora u timusu (limfoepitelni organ), a limfociti B u sisavaca sazrijevaju u fetalnoj jetri, a kod odraslih jedinki u koštanoj srži [5, 15]. Treću skupinu limfocita, koja se i funkcijski i morfološki razlikuje od prve dvije, čine prirodne stanice ubojice ili NK stanice (engl. *natural killer*). NK stanice u perifernom optoku čovjeka čine oko 15% limfocita. Od T i B limfocita se razlikuju po tome što ne posjeduju receptore za antigene tih stanica. Neki

misle da NK stanice čine posebnu populaciju stanica i da se ne bi trebale ubrajati pod limfocite, ali s obzirom na svoj razvoj one se nalaze negdje između limfocita i monocita, a glavna im je fiziološka funkcija djelovanje protiv virusom zaraženih i tumorskih stanica [15].



SLIKA 3. Stanice imunskog sustava [16]

5. PRIRODNE STANICE UBOJICE

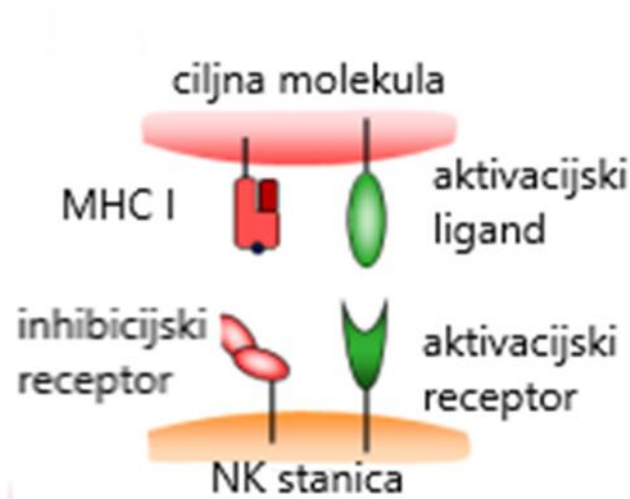
Prirodne stanice ubojice, tzv. stanice NK (engl. *natural killer cells*) su treća najzastupljenija podvrsta limfocita i za razliku od limfocita B i T, reagiraju prve kad neka infekcija ili tumor napadnu organizam. No za razliku od limfocita T i B, kod kojih postoji samo jedan receptor kojim specifično prepoznaju strane molekule, NK stanice imaju čitav niz inhibicijskih i aktivacijskih receptora na svojoj površini kojima prepoznaju promjene inficirane ili tumorski promijenjene stanice [17]. Od površinskih biljega obilježava ih prvenstveno prisutnost biljega CD16 (receptor za Fcfragment IgG, FcγRIII) i CD56 (adhezijska molekula). Veliki dio NK stanica se i morfološki dosta razlikuje od limfocita T i B po obilježima kao što su: veće su, imaju razmjerno više citoplazme, jezgra nije okrugla već je na jednoj strani sploštena, a u citoplazmi posjeduju azurofilnu granulu; zbog toga ove stanice znaju nazivati i veliki granularni limfociti [15].

Iako su imenovane po svojoj sposobnosti da posjeduju spontanu "prirodnu" citotoksičnost prema određenim tumorskim i virusima zaraženim stanicama, NK stanice su također glavni izvor citokina tipa 1 IFN- γ (engl. *interferon-gamma*), kao i TNF- α (engl. *tumor necrosis*

factor - alfa), GM-CSF (engl. *Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*) i drugih citokina i kemo-kina 1,2. Proizvodnja ovih topljivih faktora NK stanica u ranoj fazi urođenog imunskog odgovora značajno utječe na regrutiranje i funkcije drugih hematopoetskih stanica. Primjerice, prenošenje i citokina i citoliza tijekom virusne infekcije [18,19].

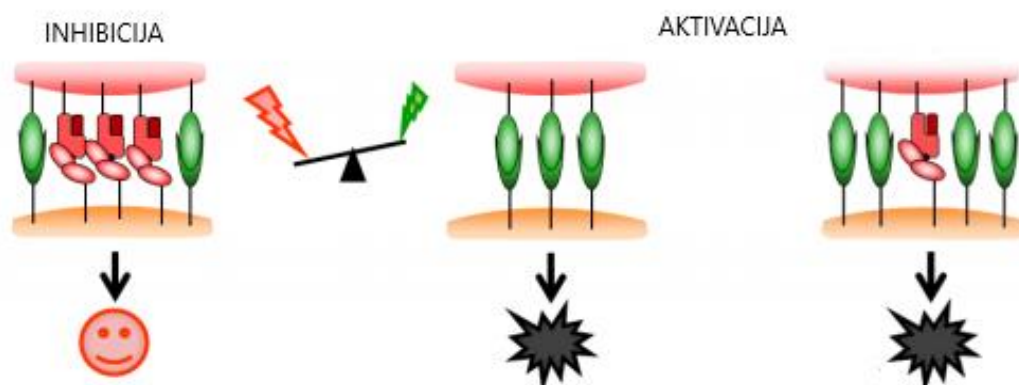
5.1. DJELOVANJE NK STANICA

Za vrijeme djelovanja NK stanice konstantno provjeravaju ostale stanice. Hoće li NK stanica uništiti određenu stanicu ovisi o signalu aktivacijskih ili inhibitorских receptora na njihovoj površini. Aktivacijski receptori, kao što su CD-94 + NKG2 tipa C koji prepoznaju proteine producirane stresom, zatim NKG2D – MHC1 i receptori koji prepoznaju IgG (CD16 – ADCC), sadrže ITAM (eng. *immunoreceptor tyrosin-based activation motifs*), oni prepoznaju molekulu koja se ističe na površini tumorske stanice i „uključuju“ NK stanice [16]. Inhibicijski receptori djeluju kao provjera aktivnosti NK stanica. Većina zdravih stanica posjeduju glavni kompleks tkivne podudarnosti tipa 1, MHC I receptore (engl. *the major histocompatibility complex*), koji obilježavaju te stanice kao „vlastite“. Inhibicijski receptori, KIR (engl. *killer cell immunoglobulin like receptors*) i CD-94 + NKG2A receptor koji sadrže ITIM (eng. *immunoreceptor tyrosinebased inhibitory motifs*) nalaze se na površini NK stanica, prepoznaju srodni MHC I receptor i tako „isključuju“ djelovanje NK stanica, spriječavajući ih da ju unište. Stanice raka i zaražene stanice često gube MHC I, ostavljajući ih ranjivima na NK stanice koje ih uništavaju (*Slika 3.*). Nakon što se donese odluka o uništavanju stanice, NK stanice oslobađaju citotoksične granule koja sadrže perforin i granzime, što dovodi do lize ciljane stanice [17,20].



SLIKA 3. Prikaz prepoznavanja receptora na NK stanicama i MHC I na ciljnoj molekuli receptora (adaptirano iz [20])

Funkcija NK stanica kontrolira se širokim rasponom receptora koji se ističu na staničnoj površini. Takvi receptori su inhibicijske ili aktivacijske prirode (Slika 4.). Inhibicijski receptori sastoje se od ubojitih imunoglobulin-sličnih receptora (KIR (engl. *killer cell immunoglobulin like receptors*)) ili (CD158), lecitinskih receptora tipa C i receptora inhibicije leucocita. Aktivacijski receptori su prirodni citotoksični receptori, lecitinski receptori tipa C i Ig-sličnih receptora. Određene NK stanice sadrže dva do četiri inhibitorna receptora uz niz aktivacijskih receptora [21].



SLIKA 4. Aktivacija i djelovanje NK stanica (adaptirano iz [20])

Različite NK stanice imaju različite kombinacije inhibitornih ili aktivirajućih receptora, zbog čega postoji značajna heterogenost unutar NK-stanične populacije. Zahvaljujući tome ove stanice reagiraju na različite podražaje i imaju sposobnost sudjelovanja u imunološkim odgovorima pod različitim patološkim stanjima [21].

Citotoksičnost NK stanica čvrsto je regulirana ravnotežom između aktivirajućih i inhibitornih signala. Inhibicijski receptori prepoznaju samo MHC I molekulu, a to sprječava aktivaciju NK stanice. Ova sposobnost objašnjava samo-kontrolu i prevenciju uništavanja stanica domaćina [22]. Ranije je otkriveno da se NK stanice aktiviraju kada pronađu stanice koje nemaju MHC I molekulu, također tumorske stanice mogu samo smanjiti signale MHC I receptora, što također dovodi do njihove ranjivosti prema NK staničnom napadu. U takvom stanju aktivacijski receptori induciraju snažne stimulacijske signale u korist aktivacije NK stanica kako bi uništile ciljanu zaraženu stanicu [21,22].

Citotoksična sposobnost NK stanica je uglavnom posredovana preko dva dominantna puta. Protein perforin i grupa strukturno srodnih proteaza, granzima, izučuju se egzocitozom koja potom inducira apoptozu ciljane stanice. Apoptoza je poseban oblik stanične smrti nužan za razvoj organizma i održavanje ravnoteže između gubitka i stvaranja stanica normalnog tkiva tijekom života [23]. Stanice pokreću apoptozu u sklopu različitih fizioloških procesa ili zbog patoloških oštećenja stanica zbog čega postaju opasne i/ili nekorisne za organizam. U drugom putu dolazi do apoptoze ovisne o kaspazi koja uključuje povezanost receptora smrti na ciljnim stanicama s njihovim ligandima koji induciraju apoptozu na NK stanicama. Stanična citotoksičnost ovisna o antitijelu također može biti mehanizam uništavanja tumorskih stanica s NK stanicama jer oni sadrže Fc receptore koji imaju niski afinitet za IgG, FcγRII (CD16). [21,22,23]

5.1.1. MEHANIZAM CITOTOKSIČNOSTI

Do lize stanice može doći unutar nekoliko minuta nakon što NK stanice pronađu ciljnu zaraženu stanicu. Mehanizam se odvija u četiri faze: 1. pronalaženje i vezanje za ciljnu stanicu, 2. aktiviranje efektorskih stanica za prepoznavanje odnosno prijenos signala, 3. isporuka smrtonosnog signala na ciljnu stanicu, 4. odcjepljenje efektorske stanice i recikliranje [24].

Receptori odgovorni za vezanje NK stanica za zaraženu stanicu nisu još točno definirani. Međutim može se pretpostaviti da su te stanice posjeduju receptore koji veže molekulu nalik lecitinu. Mehanizam kojim su zdrave stanice zaštićene od NK stanica je moguć uz pomoć ljudskog antigena leukocita (HLA), oni štite zdrave stanice uz pomoć MHC I specifičnog receptora koji mogu inhibirati ili maskirati receptore koji dovode do uništenja stanica [21]. NKR-P1 (eng. *natural killer cell receptor protein 1*) je identificirana kao molekula prepoznavanja i pokretanja. Vezanje NK stanica za osjetljivu ciljnu stanicu prati povećanje metabolizma fosfoinozitida s posljedicom povećanja kalcija, čija je količina proporcionalna osjetljivosti stanice na kasnije liziranje [24].

Sljedeća faza uključuje polarizaciju prethodno oblikovanih granula na dio NK stanice gdje se ona nalazi u kontaktu s ciljnom stanicom. Sadržaj granula uključuje, perforine, proteinaze i protoglikane koji se oslobađaju procesom egzocitoze. Perforini su enzimi koji stvaraju pore i uzrokuju pojavu kanala na membrani ciljne stanice, a kasnije i liziranje koloidnih stanica osmozom. NK stanice također mogu posredovati razaranje stanice oslobađanjem topljivih faktora, uglavnom citokina [24,26].

Istraživanja su pokazala da je vezanje ciljnih stanica bitno, ali nije dovoljno da samo inducira razgradnju stanice. Nakon vezanja identificirano je nekoliko inhibitora lize NK stanica. Prostaglandini inhibiraju aktivnost NK stanica povećavajući razine cikličkog adenozin monofosfata (cAMP) koji pak inhibiraju metabolizam fosfoinozitida [24]. Liziranje se može inhibirati sredstvima za degranulaciju koja iscrpljuju granule iz NK stanica. Povećanje aktivnosti NK stanica može biti uzrokovano različitim citokinima. IL-12 izvorno nazvan kao NK-stimulirajući faktor je vrlo moćan induktor za proizvodnju citokina. On je također i faktor rasta za prethodno aktivirane NK stanice, a isto tako povećava citotoksičnost i migraciju NK stanica. Uz njega IFN je također snažni pojačivač NK aktivnosti i korišteni su u imunoterapiji [24,26].

5.2. NK STANICE U LJUDSKOM ORGANIZMU

Prirodne stanice ubojice imaju različite funkcije koje uključuju prepoznavanje i ubijanje virusno zaraženih stanica. NK stanice su u organizmu uglavnom u mirovanju, ali aktivacija citokinima dovodi do infiltracije tih stanica u većinu tkiva koje sadrže patogene ili maligne

stanice. NK stanice također imaju imunoregulacijsku ulogu jer izlučuju nekoliko citokina, kao što je interferon (IFN- γ), nakon njihove interakcije s ligandom s receptorima na staničnoj površini.

Najneobičnija odlika MHC gena je njihova ogromna genetička varijabilnost. Verzije tih gena koje osoba nosi su povezane s njihovom sposobnošću u borbi protiv HIV infekcije i rizika od nekih autoimunih bolesti. NK stanice se također mijenjau s godinama i u konačnici mogu biti zaražene nekim kroničnim virusnim infekcijama[20]. Zbog njihove sposobnosti da ubijaju tumorske stanice, upravo su one atraktivna meta za imunoterapije kod tumorskih oboljenja. Neke vrste terapijskih monklonskih antitijela djeluju na sposobnost NK stanica za ubijanje . Upravo zbog toga znanstvenici pokušavaju pronaći načine na koji bi ponovno aktivirali tako onesposobljene NK stanice.[20,21]

5.3. NK STANICE I RAK

Ljudske NK stanice mogu se podijeliti u dva podskupa, ovisno o njihovom imunofenotipu i funkciji: CD56dim koji čini 90% ukupne količine NK stanica u perifernoj krvi i CD56bright koji čini približno 10% NK stanica i one su uglavnom uključeni u proizvodnju citokina. NK stanice u sekundarnom limfoidnom tkivu kao što su tonzile, limfni čvorovi i slezena su različite od onih koje se nalaze u periferoj krvi jer se one aktiviraju dendritičkim stanicama i izlučuju citokine kao što je interferon koji stimulira učinkovitiji odgovor za ubijanje iz T stanica.[22]

Aktivnost NK stanica u perifernoj krvi pacijenta s oboljelih od raka je veća od one pronađene u limfnim čvorovima i unutar tumora. To može uzrokovati prisutnost tumorskih supresora na tim mjestima ili može ukazivati na to da je glavna uloga NK stanica u prevenciji metastaza. Može li prirodna citotoksičnost spriječiti tijek i razvoj ljudskog raka trenutno je nejasno. Međutim pretpostavlja se da bi daljna preciznija istraživanja NK stanica i njihove aktivnosti mogla dovesti do toga da se može pretpostaviti i predvidjeti budući razvoj raka u bolesnika koji za to ima predispozicije.

Kod bolesnika s ustanovljenim karcinomom prirodna citotoksičnost mijenja se s raznim terapijama [20]. Liječenje protiv raka može također utjecati na prirodnu citotoksičnost, npr.inhibicija prirodne citotoksičnosti nakon operacije ili radioterapije. Pokazalo se da NK stanice imaju potencijal u liječenju raka kod ljudi, ali ukoliko želimo povećati njihovu

prirodnu aktivnost bit će nužno uvesti modifikacija sadašnjih režima liječenja kako bi izbjegli imunosupresiju prirodne citotoksičnosti.[23,24]

6. ZAKLJUČAK

Imunologija je znanost koja se bavi otpornošću organizma na štetne utjecaje okoline, jednako tako imunost je stanje otpornosti na mikroorganizme, tj. zarazu. Imunost kao takva posjeduje urođeni i stečeni mehanizam. Urođena imunost predstavlja prvu i glavnu otpornost organizma protiv štetnog utjecaja neke tvari ili mikroorganizma. Receptori urođene imunosti prepoznaju „molekularne uzorke“ koji su karakteristični za određene mikroorganizme. Interakcija receptora i takvih uzoraka aktivira neutrofile, NK stanice, citokine koji efikasno uklanjaju patogene mikroorganizme. NK stanice su veliki granulirani limfociti koji po svojoj funkciji pripadaju sustavu urođene imunosti i obuhvaćaju oko 15% cirkulirajućih limfocita. Njihova je glavna uloga odbacivanje tumora i kontrola virusnih infekcija na način da uništavaju ciljne stanice u direktnom kontaktu (citotoksičnost), a također i sekrecija imunoregulacijskih citokina. Aktivnost NK stanica je regulirana kombiniranim djelovanjem aktivacijskih i inhibicijskih receptora koji prepoznaju molekule kojima je predodređeno uništenje. NK stanice razlikuju zdravo od zaraženog i tumorskog tkiva zbog toga što većina zdravih stanica posjeduju glavni kompleks gena tkivne podudarnosti tipa 1, MHC I receptore koji obilježavaju te stanice kao „vlastite“. Inhibicijskih receptori na NK stanici prepoznaju MHC I receptore te ju poštede. Virusno zaražene i tumorske stanice ne posjeduju MHC I receptore što daje signal aktivacijskim receptorima NK stanice za uništenje ciljne stanice. S obzirom da NK stanice imaju važnu ulogu u našem imunološkom odgovoru na tumorski i virusno zaražene stanice, relativno je malo poznato o tome kako točno i precizno NK stanice djeluju na sve stanice u našem tijelu. Sva dosadašnja istraživanja temeljena na imunosti našeg organizma upravo fiziološku ulogu imunosti vide u (a) obrani od infekcije, (b) obrani od tumora i (c) održavanju antigenske i genske homeostaze organizma.

7. LITERATURA

1. https://www.pmf.unizg.hr/_download/repository/vojska_u_nama_finalno.pdf
(6.4.2019.)
2. Abbas, Abul K., Andrew HH Lichtman, and Shiv Pillai. *Cellular and molecular immunology E-book*. Elsevier Health Sciences, 2014.
3. V. Alexandra-Chloé, S. Sarkizova, and N. Hacohen, *Annual review of immunology*, 36, 2018, 813-842.
4. J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, *Biochemistry*, 5. izd., W. H. Freeman and Company, New York 2002.
5. https://www.sfzg.unizg.hr/_download/repository/Imunologija_skripta%5B2%5D.pdf
(16.4.2019.)
6. <https://aacijournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/1710-1492-7-S1-S1>
(16.4.2019.)
7. J. D. Altman, *Science*, 274.5284, 1996, 94-96.
8. <https://microbenotes.com/introduction-to-antigen/> (22.4.2019.)
9. H. Schroeder, L. Cavacini, *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125, 2010, 348-S348.
10. <http://www.biology.arizona.edu/> (6.4.2019.)
11. E.Lobo, R.Hansen, J.Balthasar, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 93, 2004, 2645–2668.
12. <https://www.assignmentpoint.com/science/chemistry/about-antigen.html>
(22.4.2019.)
13. <http://hpps.kbsplit.hr/hpps-2005/pdf/D6Malenica.pdf> (3.5.2019.)
14. B. Malenica, *Pedijatrijska reumatologija*. Medicinska naklada, 2014.
15. I. Andreis, D. Batinić, F. Čulo, D. Grčević, M. Marušić, M. Taradi, D. Višnjčić, *Imunologija* (šesto izdanje), Zagreb, Medicinska naklada, 2004.

16. https://www.sfzg.unizg.hr/download/repository/Imunologija_skripta%5B2%5D.pdf (5.6.2019.)
17. E. Vivier, et al., *Science*, 331.6013, 2011, 44-49.
18. S. K. Campbell, and J. Hasegawa, *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 132.3, 2013, 536-544.
19. Trinchieri, Giorgio, *Biology of natural killer cells*, *Advances in immunology*, Vol. 47, Academic Press, 1989. 187-376.
20. <https://www.immunology.org/public-information/bitesized-immunology/cells/natural-killer-cells> (18.4.2019.)
21. A. M. Caligiuri, *Blood*, 112.3, 2008, 461-469.
22. M. Arundhati, C. Viswanathan, *Hematology/oncology and stem cell therapy*, 8.2, 2015, 47-55.
23. V. Žlender, *Arh Hig Rada Toksikol*, 54, 2003, 267-74.
24. J. Brittenenden, et al. *Natural killer cells and cancer*, *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*, 77.7, 1996, 1226-1243.
25. D. Kägi, et al., *Nature*, 369.6475, 1994, 31.
26. C. Adelheid, L. L. Lanier, *Nature reviews immunology*, 1.1, 2001, 41.