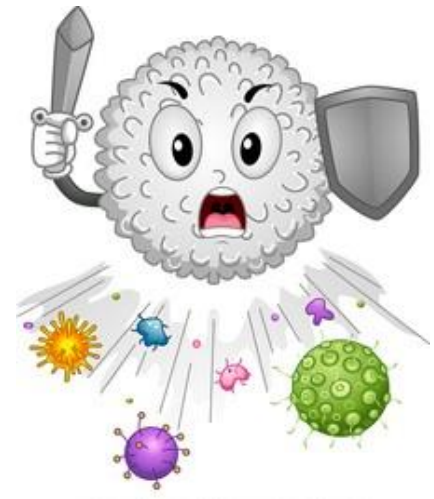




BIOLOŠKE MEMBRANE IN IMUNSKI ODZIV

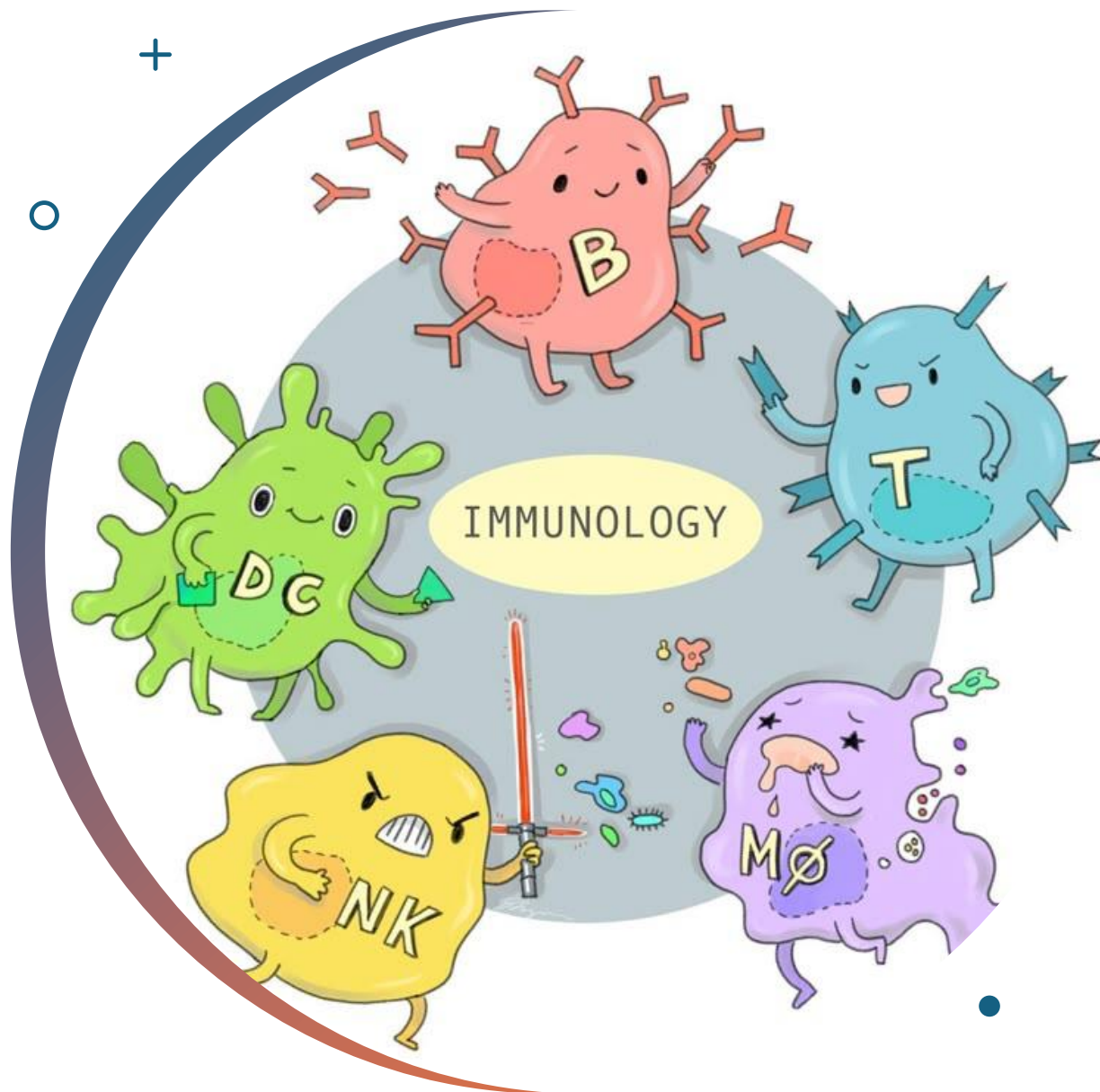
seminarska naloga pri predmetu Biološke membrane

Avtorji:

Ana Maučec, Anja Moškrič, Jan Trebušak, Lucija Pišek, Vanja Ivošević, Rebeka Jerina



maj 2025



UVOD

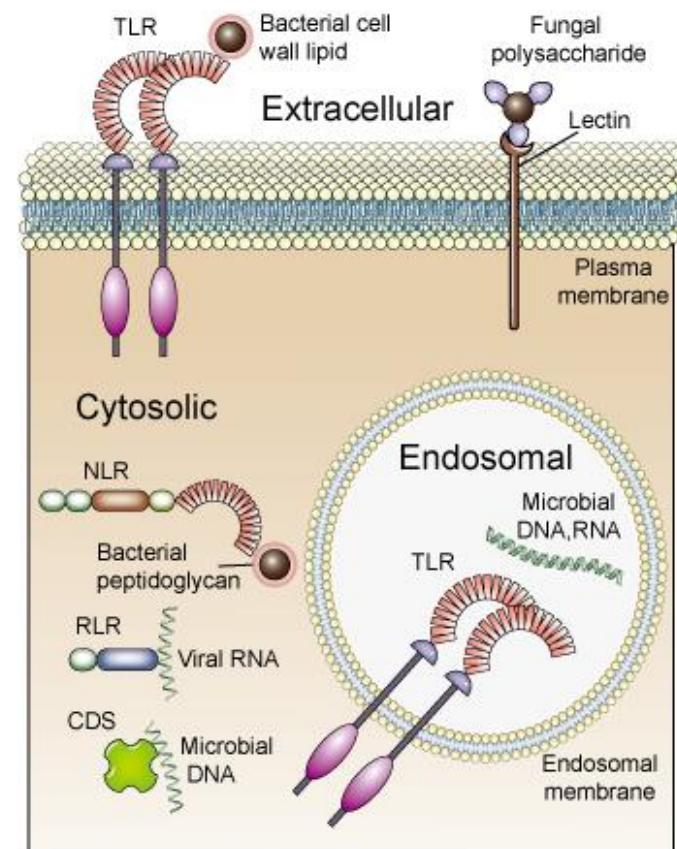
1. PRIROJEN IMUNSKI ODZIV
2. EVOLUCIJA
3. PRIDOBILJEN IMUNSKI ODZIV
4. FIZIOLOGIJA
5. PATOLOGIJA
6. ZDRAVLJENJE

PRIROJEN IMUNSKI ODZIV IN BIOLOŠKE MEMBRANE

- prva obrambna linija organizma pred patogeni
- **prepoznavanje patogenov**, aktivacija efektorskih mehanizmov (vnetje, protivirusni odziv)!, eliminacija patogenov
- **receptorji za prepoznavanje vzorcev** (angl. pattern recognition receptors, PRR)

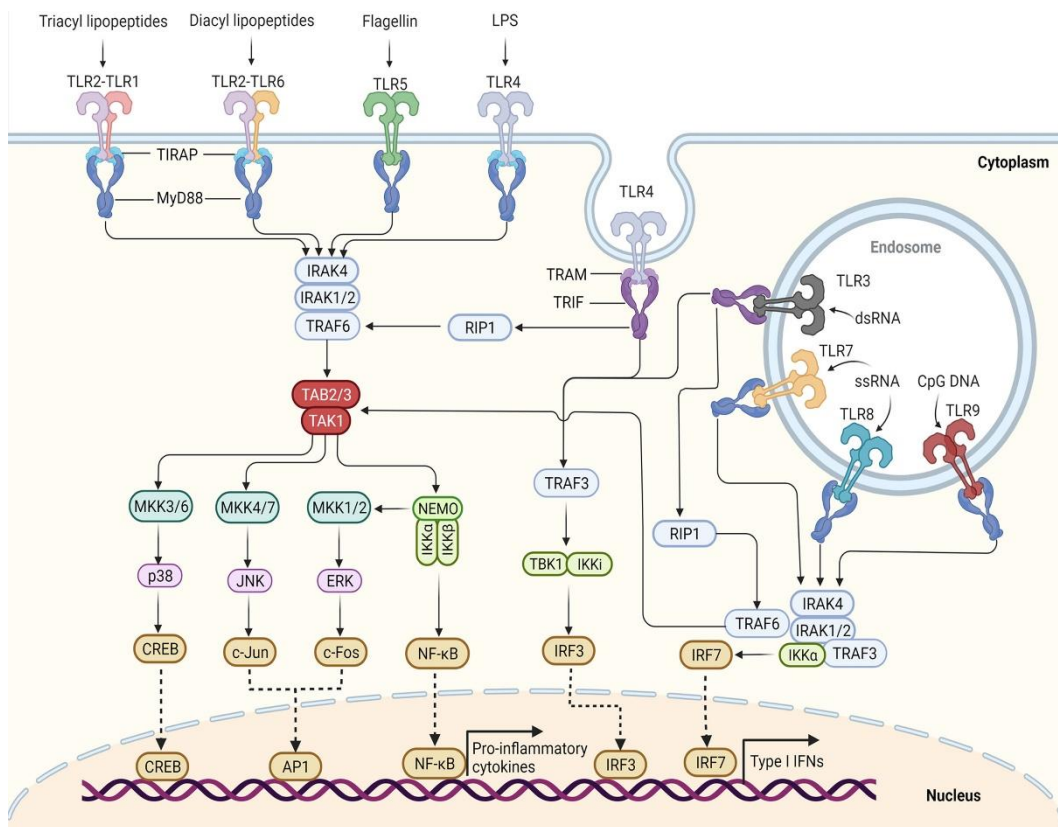
zaznavajo molekule, ki so skupne skupinam patogenov (**PAMP**) in signale lastnih poškodovanih celic (**DAMP**)

Receptor	PAMP	DAMP
TLR1/TLR2	Lipopeptide	Serum amyloid A protein
TLR4	LPS	Fatty acid Hyaluronic acid
NLRP3	Uric acid	Uric acid ATP
RIG-I, MDA5, TLR7/8	Virus RNA	Immunocomplex of snRNPs
TLR9	Bacterial DNA	Self-DNA-containing immune complexes, histone
RAGE	—/?	HMGB1
DAI, IFI16, AIM2, H2B, RNA pol III	Bacterial DNA, Virus DNA	Self-DNA?



Tollu podobni receptorji (TLR)

- integralni membranski glikoproteini v plazmalem in endosomih
- 10 različnih TLR pri človeku

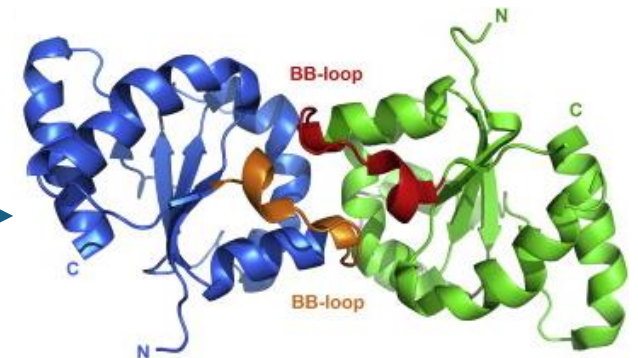
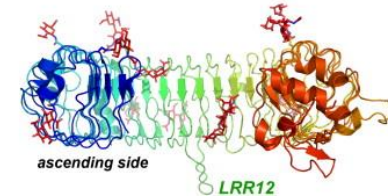
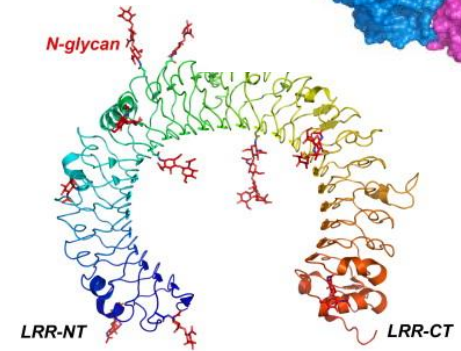
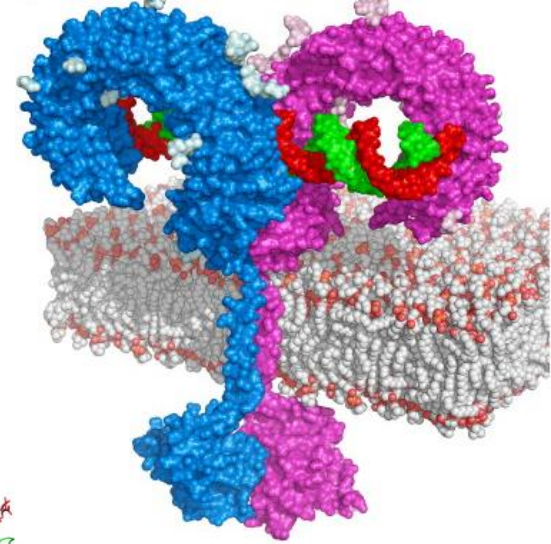


LxxLxLxxN

zunajcelična domena
(ponovitve, bogate z Leu) –
vezava liganda

transmembranska α-vijačnica

TIR (Toll-IL-1/R)-domena –
interakcija z adapterskimi
proteini

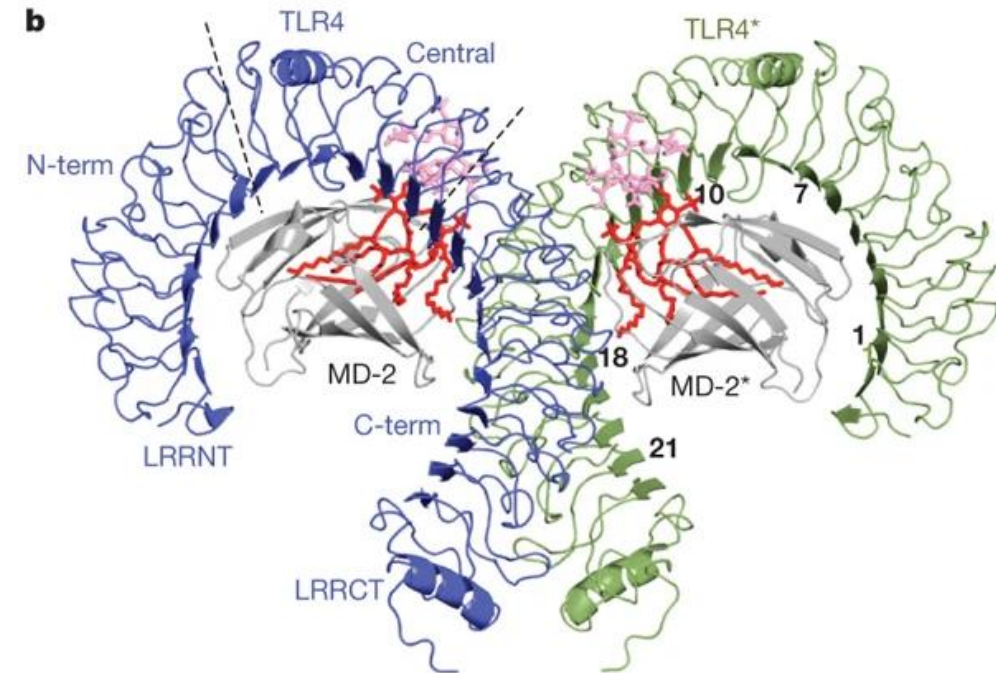
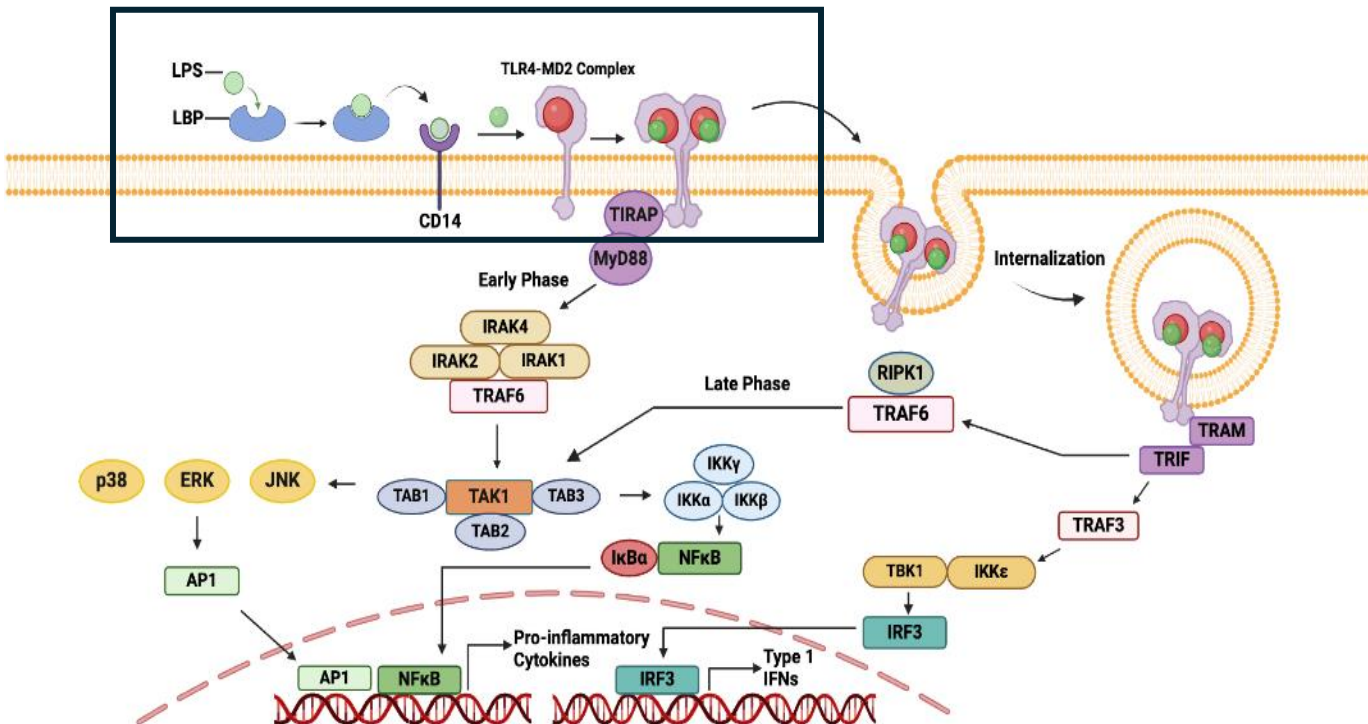
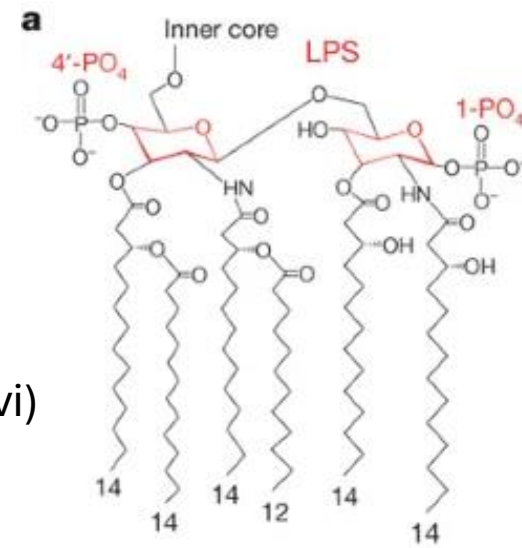


LPS je poglavitni PAMP, ki aktivira TLR4

1. Vezava LPS in dimerizacija receptorja

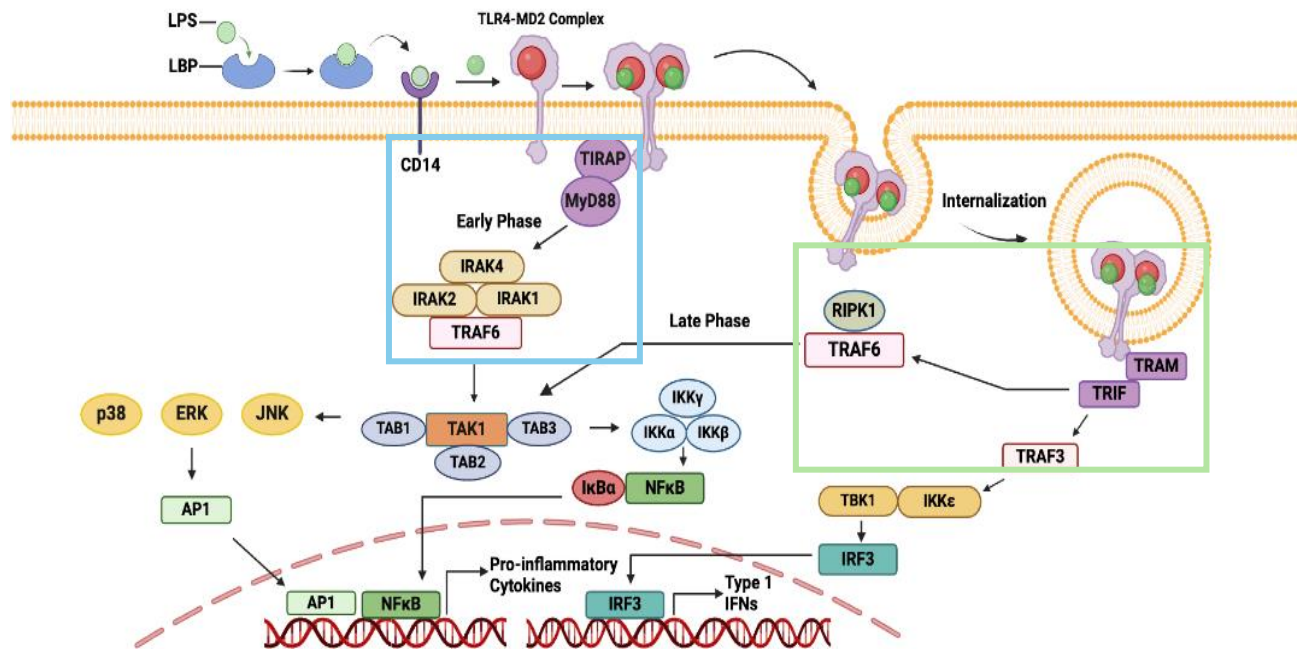
(pomožna proteina: LBP, CD14; MD-2 del receptorskega kompleksa)

- interakcije večine lipidnih repkov s hidrofobnim žepom MD-2 (dve antiparalelni β -ploskvi)
- fosfatne skupine interagirajo s pozitivno nabitimi ostanki receptorja, amidne in estrske skupine pa tvorijo hidrofilne interakcije z MD-2
- približanje TIR-domen receptorja ob dimerizaciji omogoči interakcijo z adapterskimi proteini

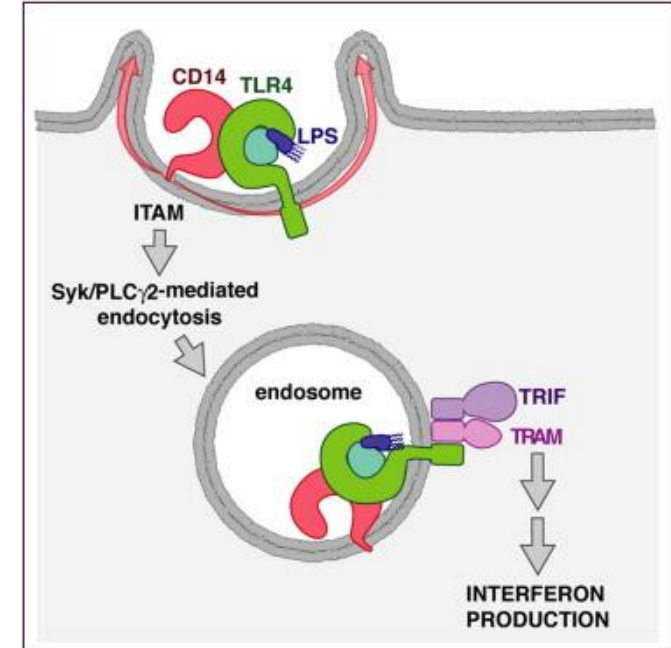


2. Tvorba signalosomov (**midosom**, **trifosom**)

- multiproteinski citosolni kompleksi
- TLR4 ob aktivaciji lahko zaporedno sproži dve veji signalizacije (**lokalizacija receptorja, vezava adapterskih proteinov**) – od MyD88 odvisna ali od MyD88 neodvisna
- aktivacija kinaz, fosforilacija različnih transkripcijskih faktorjev (npr. NF- κ B, IRF 3/7)
- transkripcija genov za citokine, kostimulatorne molekule, spremembe v metabolizmu celice
- količina in trajanje odziva je regulirano predvsem z razgradnjo TLR4 v lizosomih

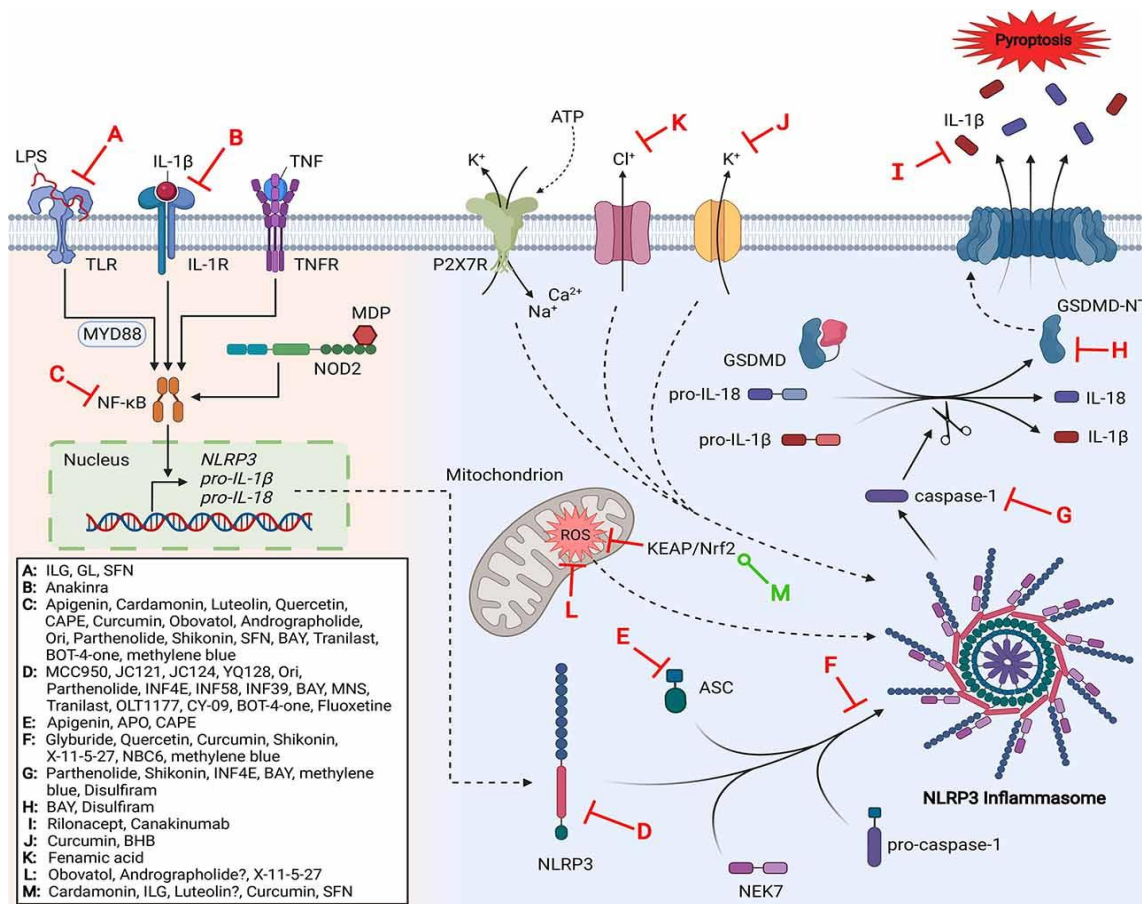


internalizacija receptorja



Aktivacija membranskih PRR lahko služi kot signal za aktivacijo citosolnih senzorjev PAMP-ov in DAMP-ov

- Primer: vezava LPS na TLR4 služi kot prvi signal za kanonično aktivacijo inflammasoma NLRP3



INFLAMASOMI – NLRP3:

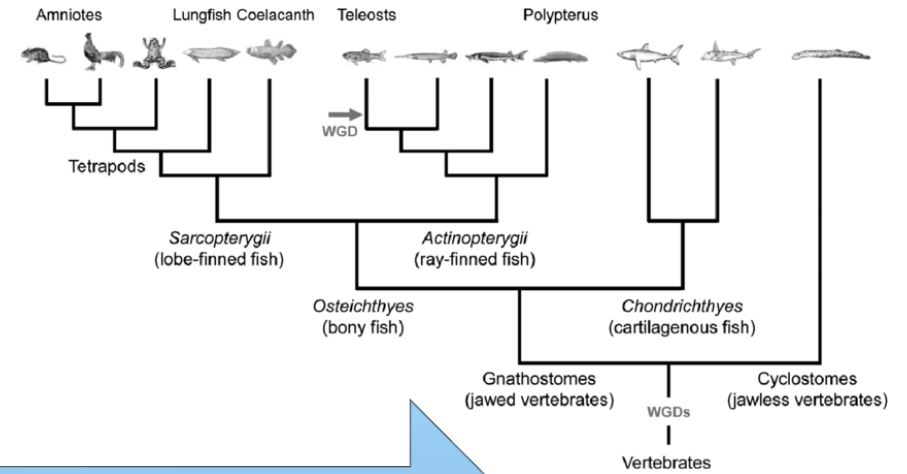
- multiproteinski citosolni kompleksi
 - okužba, stresno stanje v celici
- proteini, ki zaznavajo PAMP-e in DAMP-e, adaptorski proteini, prokaspaza-1 (kanonični inflammasomi)
 - dva signala aktivacije
- po aktivaciji pride do avtokatalitične aktivacije prokaspaze-1 in cepitve, pro-IL1β, pro-IL18, gasdermina D
- N-končni del gasdermina D tvori pore v membrani (iztok citokinov, celična smrt – piroptoza)

Aktivacija PRR in signalnih poti:

- izražanje genov za pro- in protivnetne citokine
- spremembe v celičnem metabolizmu
- aktivacija citosolnih PRR
- **indukcija in stimulacija prirojenega imunskega odziva** (npr. povišano izražanje kostimulatornih molekul in molekul poveljavnega histokompatibilnostnega kompleksa II, epitelijskih adhezijskih molekul ...) !

EVOLUCIJA

- Dolgotrajen in postopen razvoj
- Vzporedno s pojavom raznolikosti patogenov



Osnovni obrambni mehanizmi

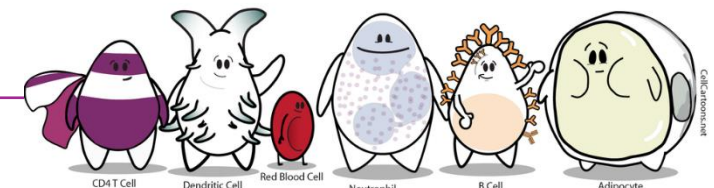
- Enoceličarji
- Primitivne strategije prepoznavanja in odstranjevanja smrtonosnih patogenov
- Razlikovanje med lastnim in tujim

Prirojen IM sistem

- PRR (TLR, CS)
- Prepoznavanje PAMP
- Zgodnja obramba – sprožitev takojšnjega vnetnega odziva
- Nespremenljiva receptorska raznolikost

Pridobljen IM sistem

- Dodatna raven zaščite
- Nadgradnja; večja specifičnost in plastičnost
- Imunski spomin
- Limfociti - TCR, BCR; Ig, APC, ...



Osnovni obrambni mehanizmi

- Enoceličarji
- Primitivne strategije prepoznavanja in odstranjevanja smrtonosnih patogenov
- Razlikovanje med lastnim in tujim

- Zgodnji evkarionti – ameba
- Razlikovanje med hrano in drugimi osebki iste vrste
- Specifičen površinski receptor ?

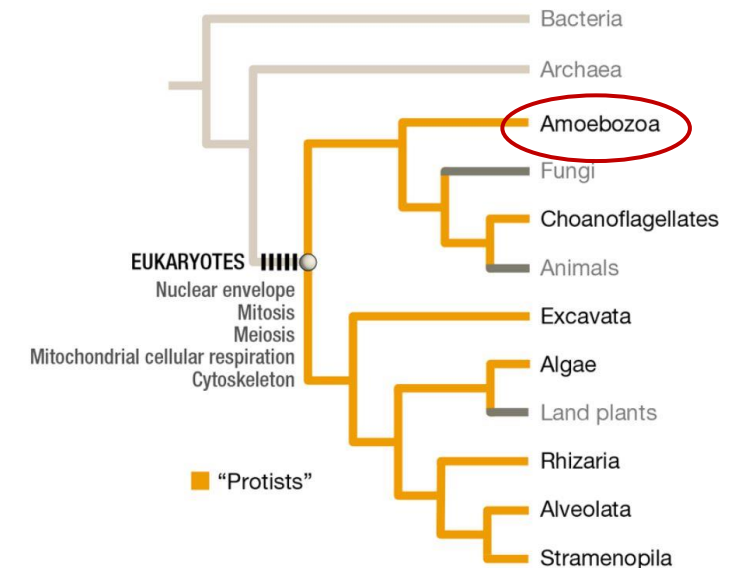
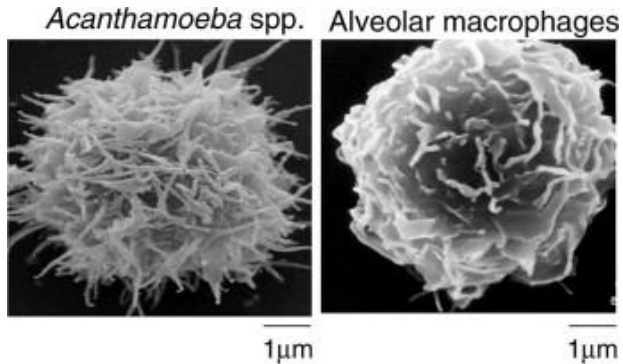
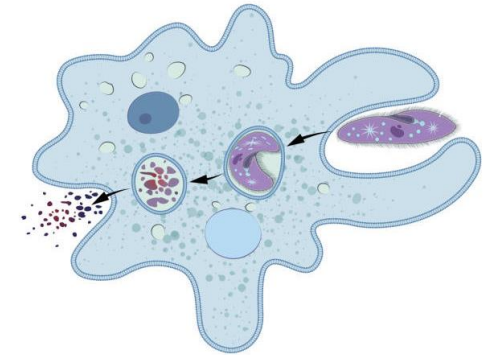
- Funkcija membran:
- fizična pregrada
- selektivno zaznavanje okoljskih signalov
- ločevanje med tujim in lastnim
- aktivna platforma - funkcionalno stičišče

MACROPHAGE



- Ameba - najzgodnejša oblika makrofogov ?

AMOEBIA FEEDING PROCESS

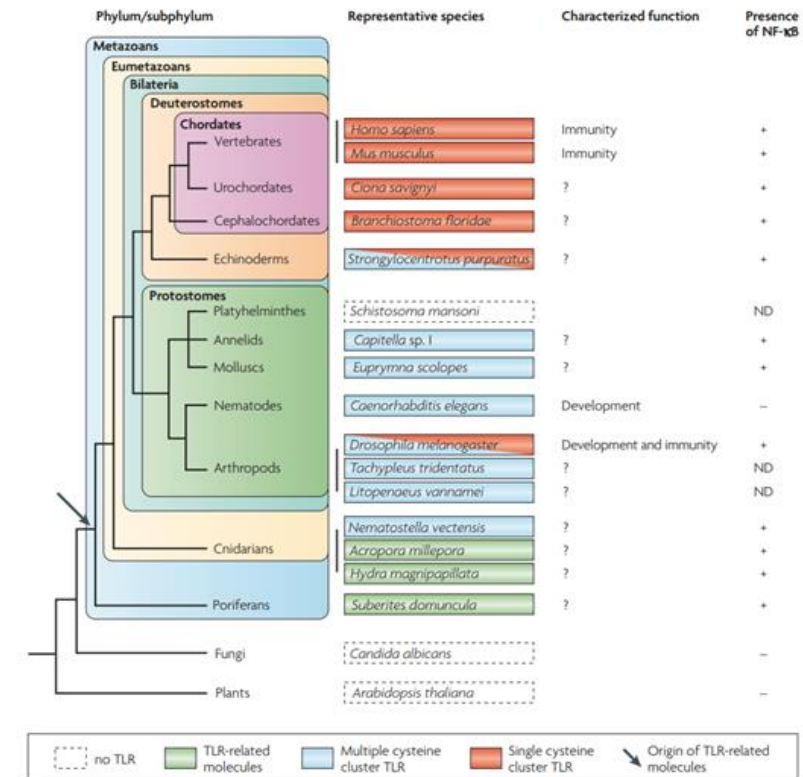
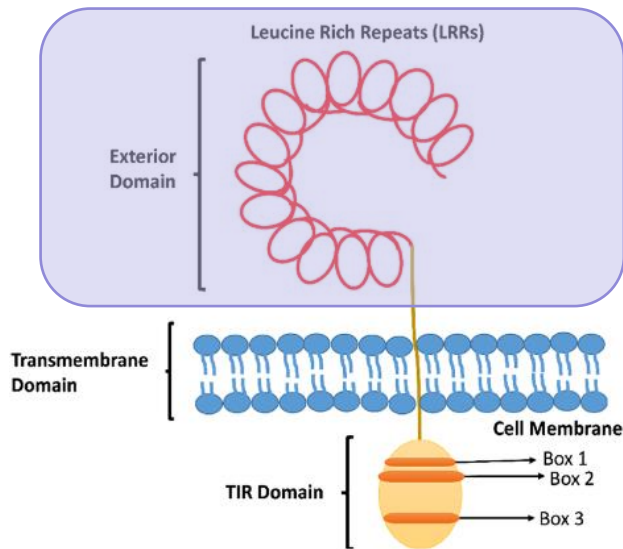


Prirojen IM sistem

- PRR (TLR, CS)
- Prepoznavanje PAMP
- Zgodnja obramba – sprožitev takojšnjega vnetnega odziva
- **Nespremenljiva receptorska raznolikost**

- Prednik rastlin in živali – prefinjen mehanizem obrambe;
- Signaliziranje s Tollu-podobnimi receptorji (TLR)
- TLR prvotno opisan pri *Drosophila melanogaster*, najdemo ga pri praktično vseh večceličnih organizmih
- Izvor genov TLR pred več kot 700 milijoni let

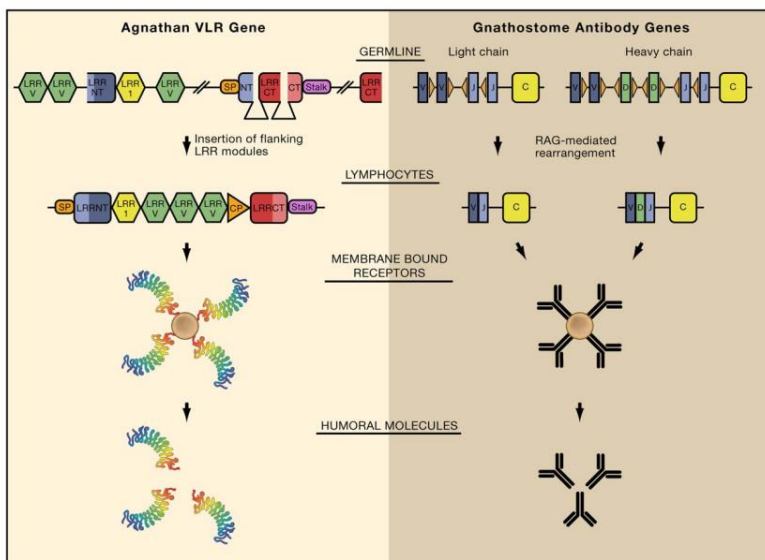
- Prvotne molekule TLR:
- Brez zunajceličnega motiva LRR – dodana šele kasneje
- Le transmembranska in citosolna domena TIR
- Prvotna funkcija povezovalne molekule?



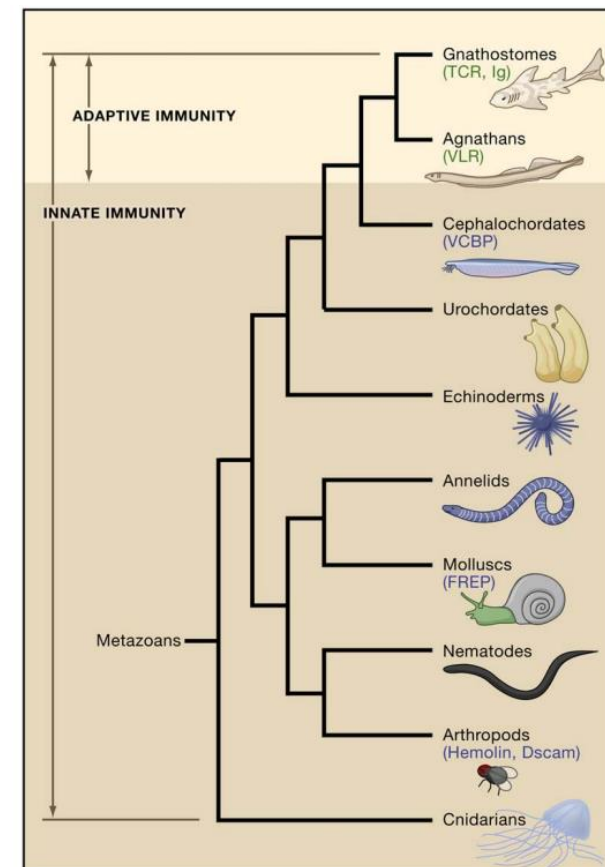
Pridobljen IM sistem

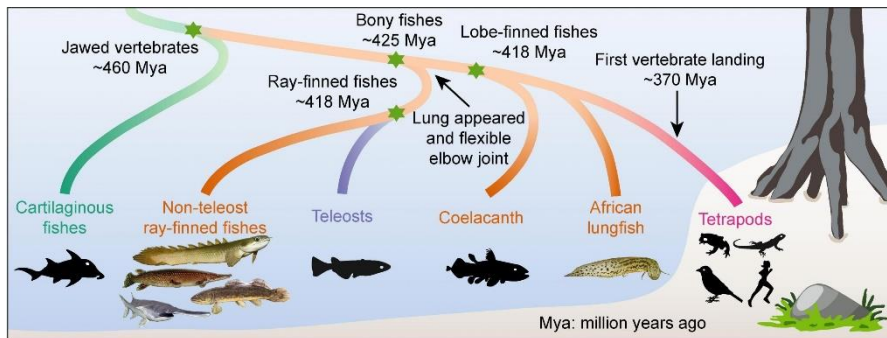
- Dodatna raven zaščite
- Nadgradnja; večja specifičnost in plastičnost
- Imunski spomin
- Limfociti - TCR, BCR; Ig, APC, ...

- Vretenčarji
- Razvoj ob že obstoječem prirojenem IM sistemu
- Prednosti: specializirane obrambne celice (limfociti), razvoj imunskega spomina
- Pojav: ribe čeljustnice (*Gnathostomata*)
- Inovacija: reorganizacija genov za receptorske verige (somatska rekombinacija) – odvisna od RAG1 in RAG2
- Razvoj: cca pred 500 milijoni let

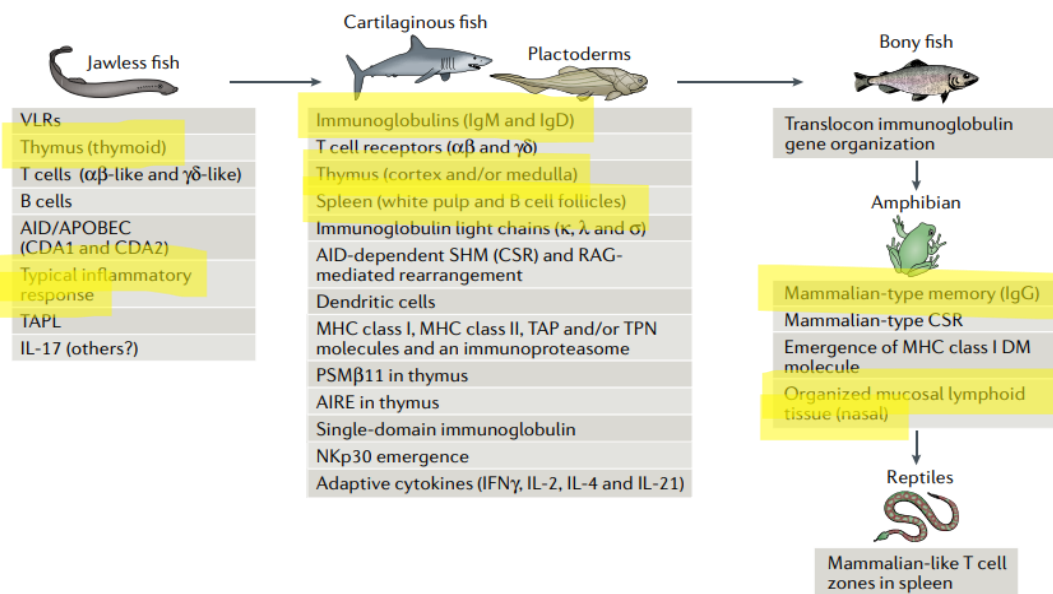


- **Alternativni pridobljeni IM sistem** – ribe brezčeljustnice (*Agnatha*)
- Nabor variabilnih limfocitnih receptorjev (VLR)
- Izvor pridobljenega IM sistema – sega v izvor vretenčarjev ?

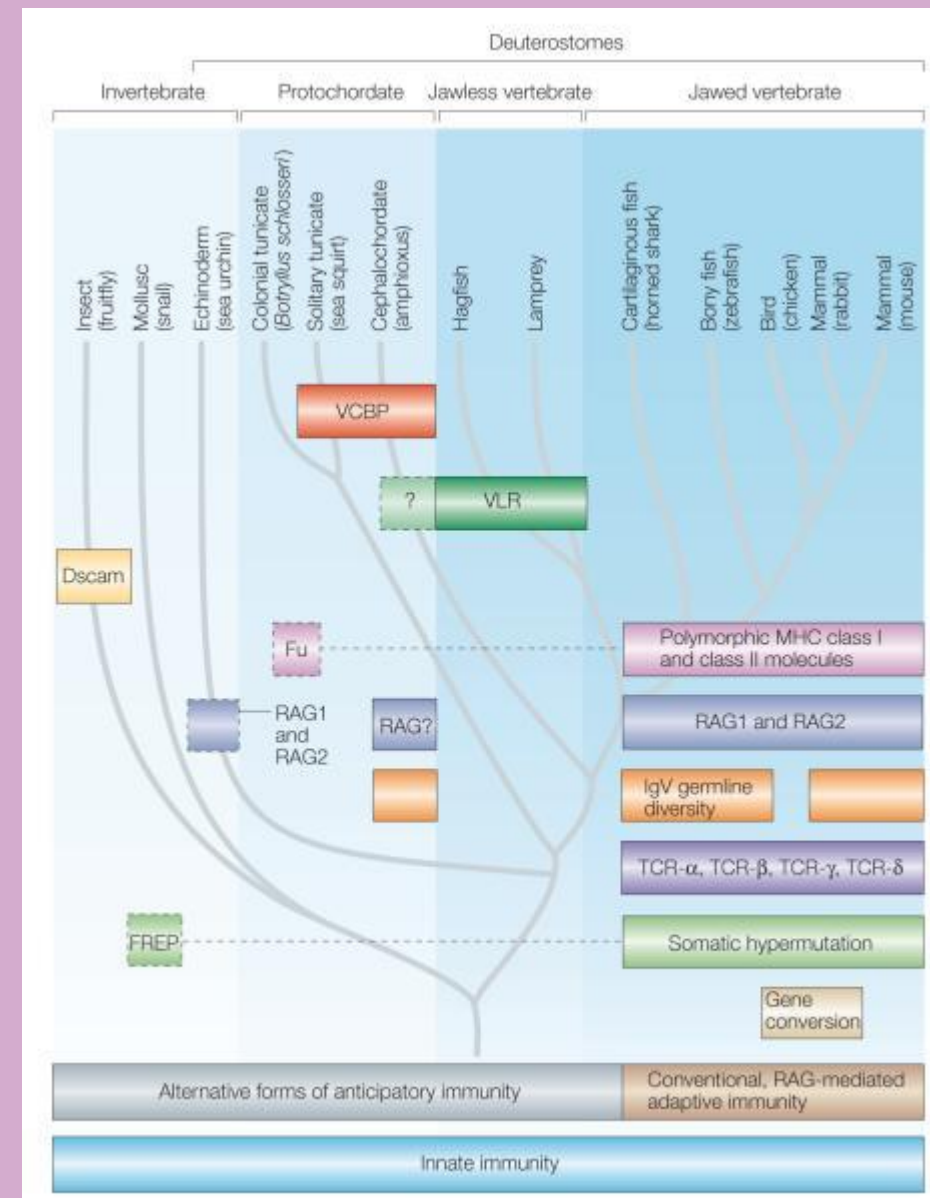




- Natančen razvoj pridobljenega IM sistema še ni popolnoma jasn
- Iz enostavnih mehanizmov -> sofisticirane oblike:



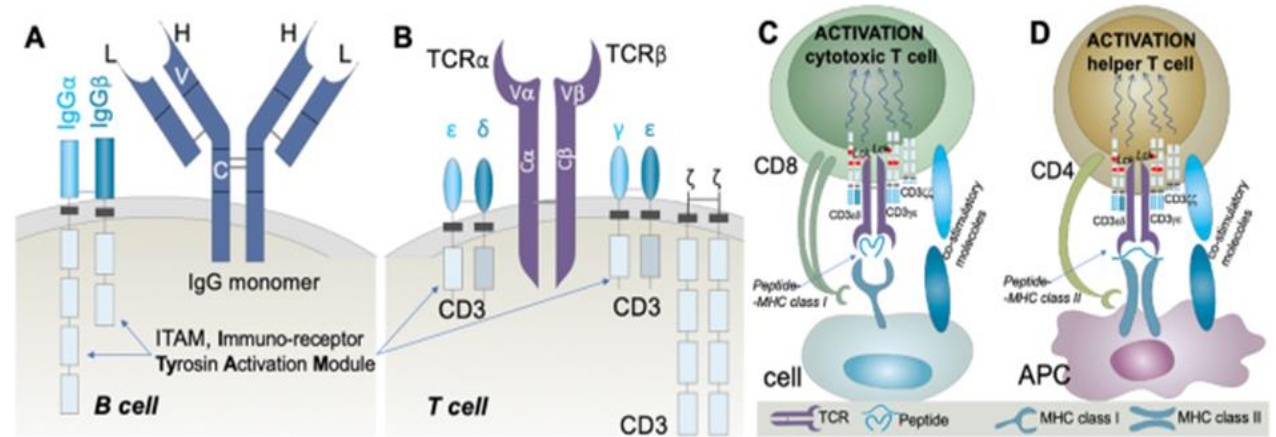
- Osnovni mehanizmi se razširijo za lažje soočanje z novimi okoljskimi nevarnostmi



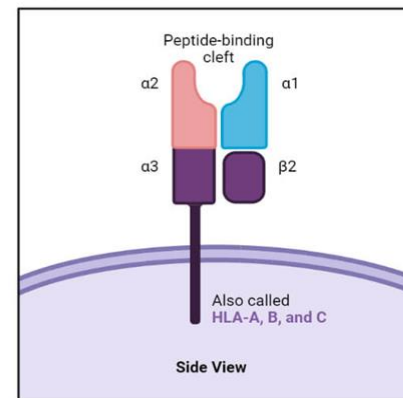
PRIDOBLEN IMUNSKI ODZIV IN BIOLOŠKE MEMBRANE

ORGANIZACIJA MEMBRANE V IMUNSKIH CELICAH

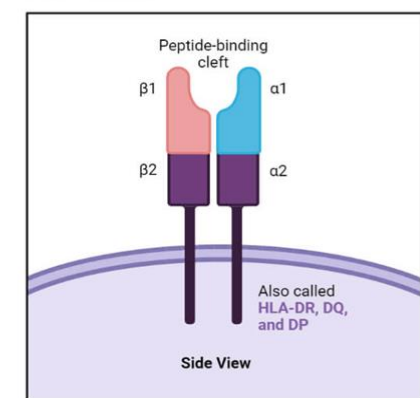
- T- celični receptorji (TCR): prepoznajo peptide predstavljene na molekulah MHC
- B- celični receptorji (BCR): prepoznajo proste antigene
- Molekule poglavitnega histokompatibilnostnega kompleksa (MHC)
- Kostimulatorne molekule
- Združevanje receptorjev z lipidnimi rafti
- Specifični fosfolipidi (fosfatidilinozitol)



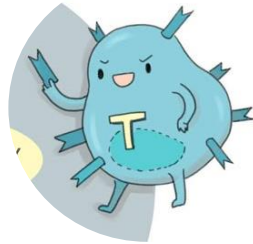
MHC Class I



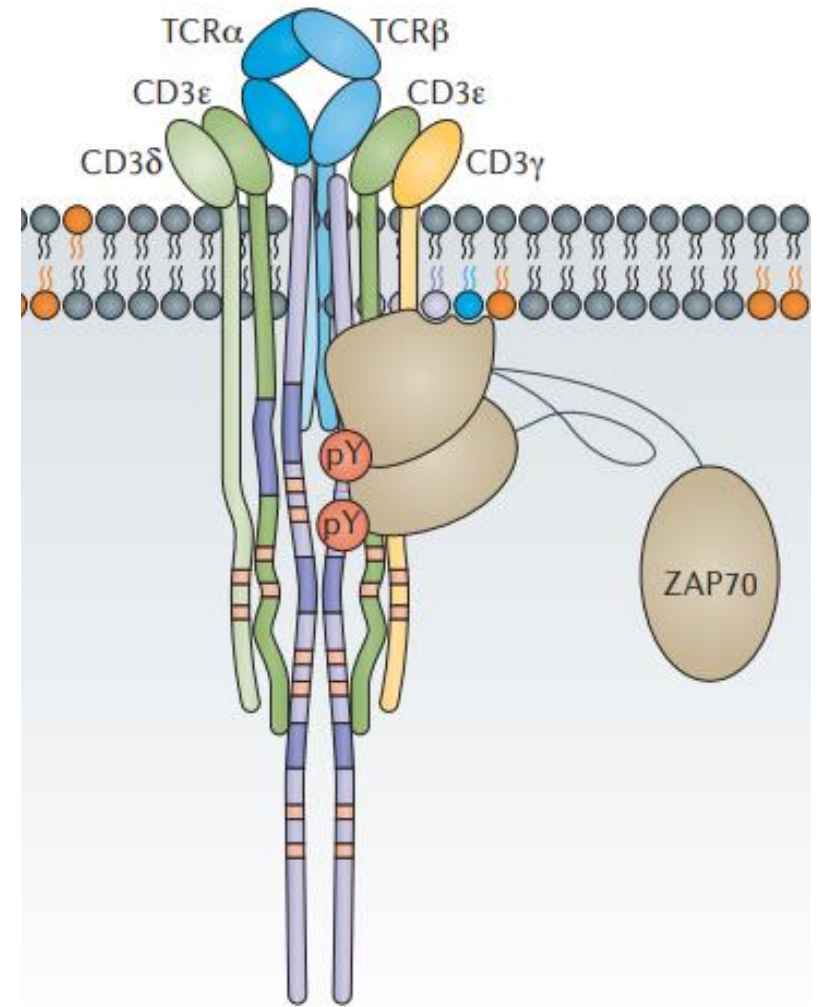
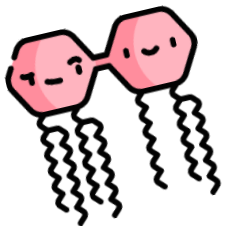
MHC Class II



Membranski lipidi uravnavajo signalizacijo celic T

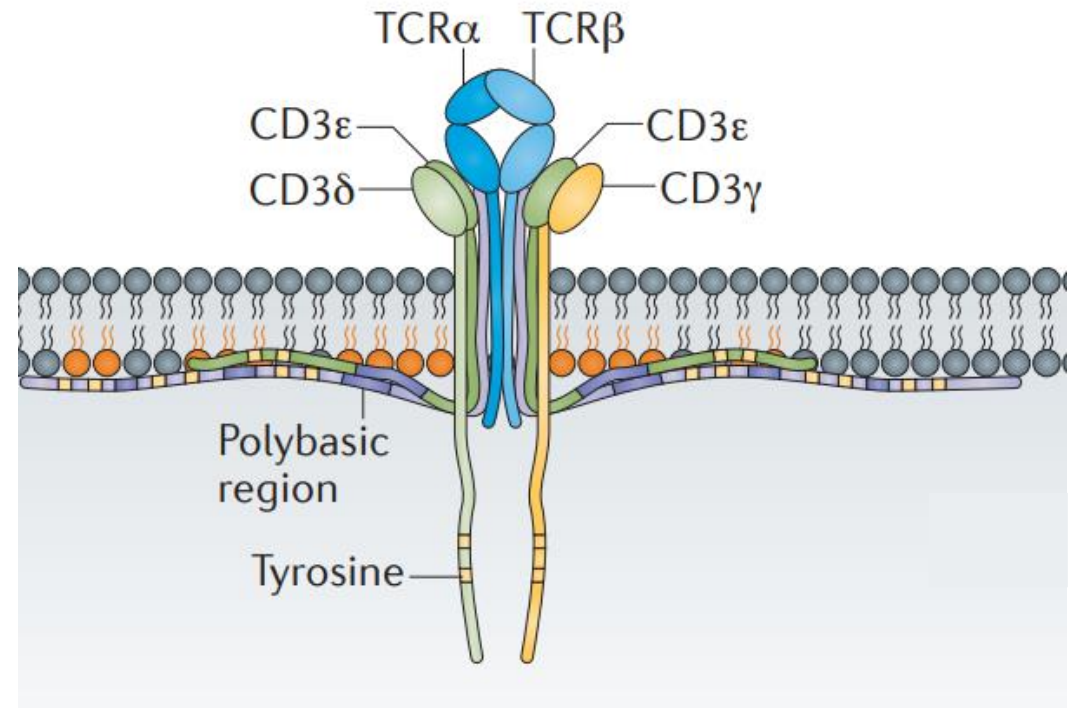
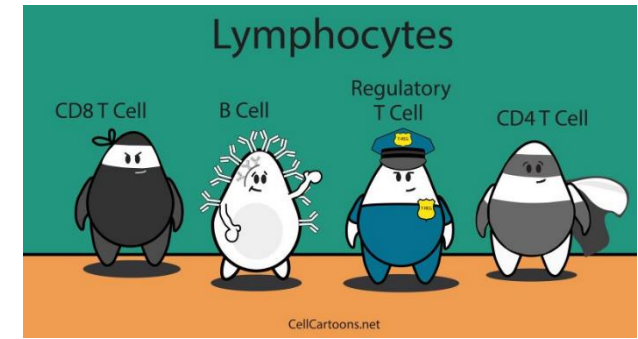


- Signalni proteini (AKT, PKC) vsebujejo domene za vezavo lipidov
- Vezava zagotavlja sidrišča za znotrajcelične signalne proteine
- Primer: ZAP70
- -SH2 domeni vežeta fosforitozin v ITAM motivu in membranske lipide



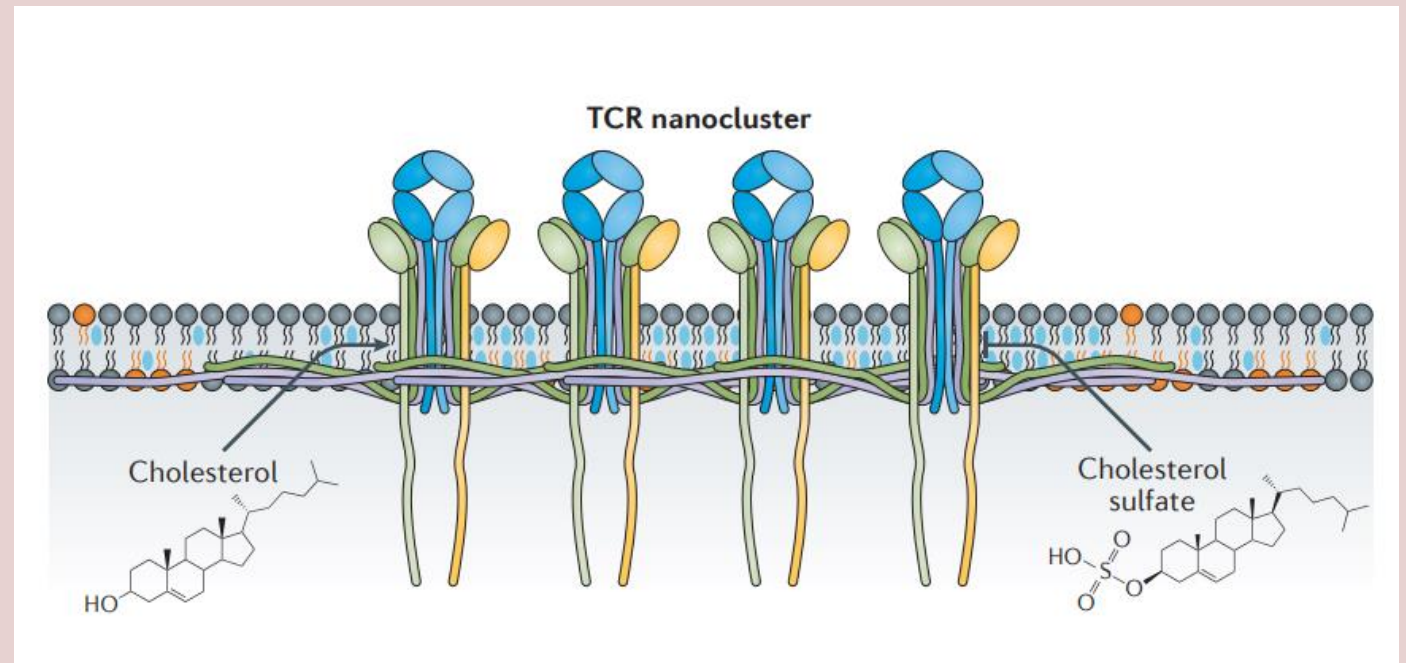
Vloga lipidov pri inaktivaciji membranskih receptorjev

- Lipidi varujejo receptorje pred spontanimi aktivacijami
- Vezava verig CD3 ϵ in CD3 ζ T-celičnega receptorja na fosfolipide
- Preprečitev fosforilacije



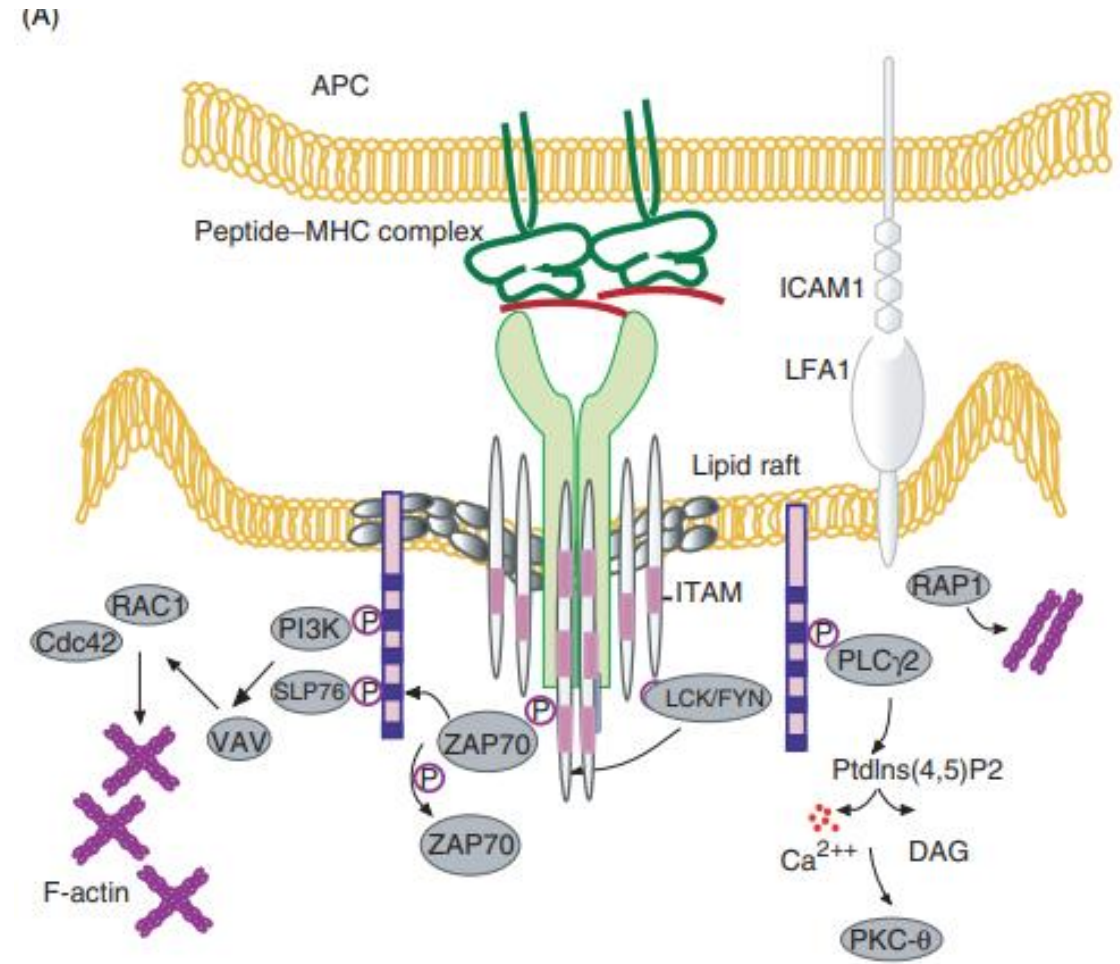
Vloga lipidov pri konformaciji membranskih proteinov

- Lipidi (glicerofosfolipidi, holesterol in sfingolipidi) vplivajo na zgradbo membranskih receptorjev
- Holesterol:
 - -ohranja receptor v neaktivni obliki
 - -poveča afiniteto do antigena



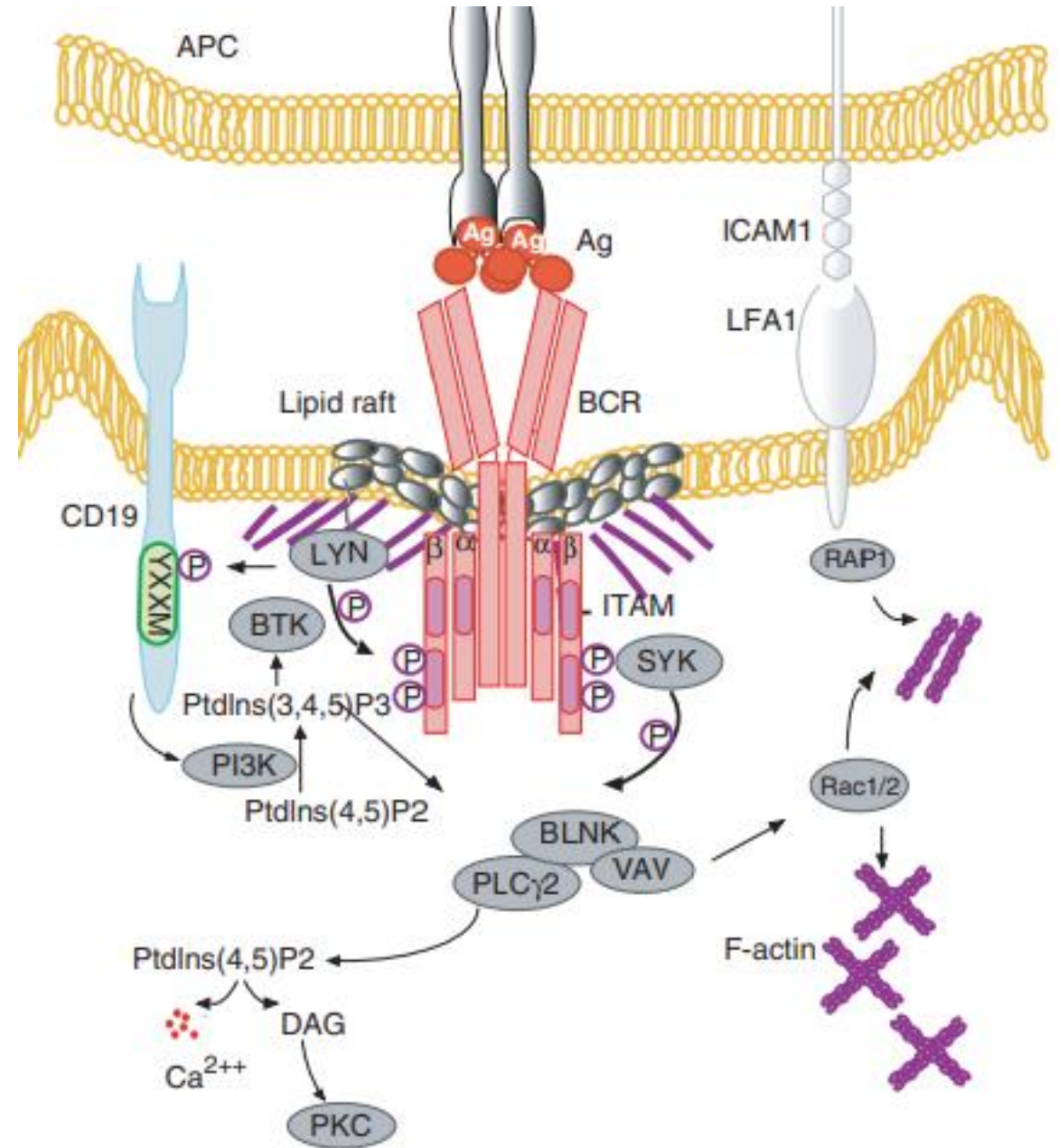
Imunska sinapsa

- Na stičnem območju med T- celicami in APC
- Vezava TCR s kompleksom peptid-MHC
- Aktivacija Lck in Fyn
- Fosforilacija ITAM motivov
- Kaskada reakcij in aktivacija signalnih proteinov



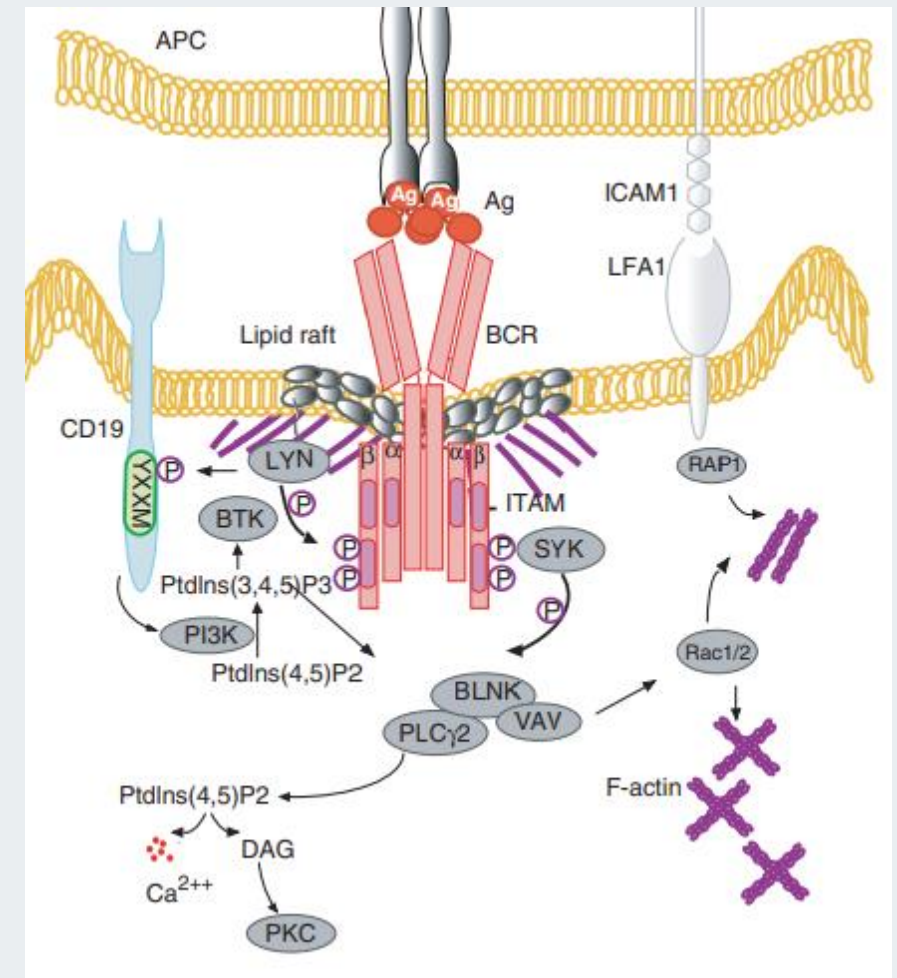
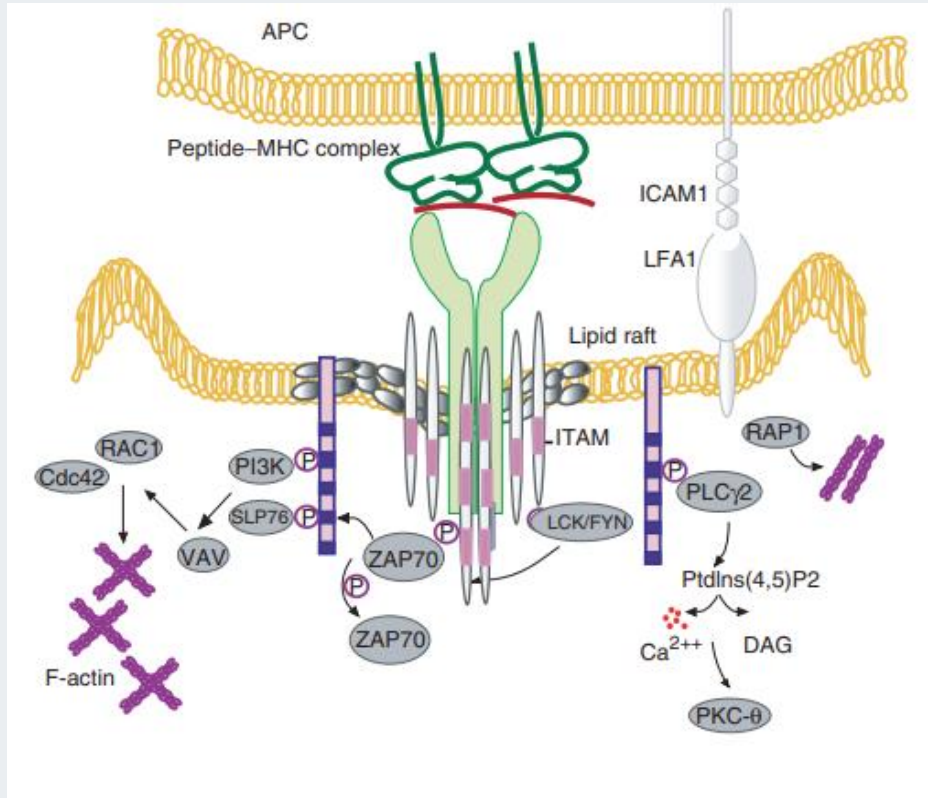
Imunska sinapsa

- Na stičnem območju med B celicami in APC
- Vezava antigena na BCR
- Aktivacija Lyn
- Fosforilacija ITAM motivov
- Fosforilacija Syk, Btk, BLNK, CD19



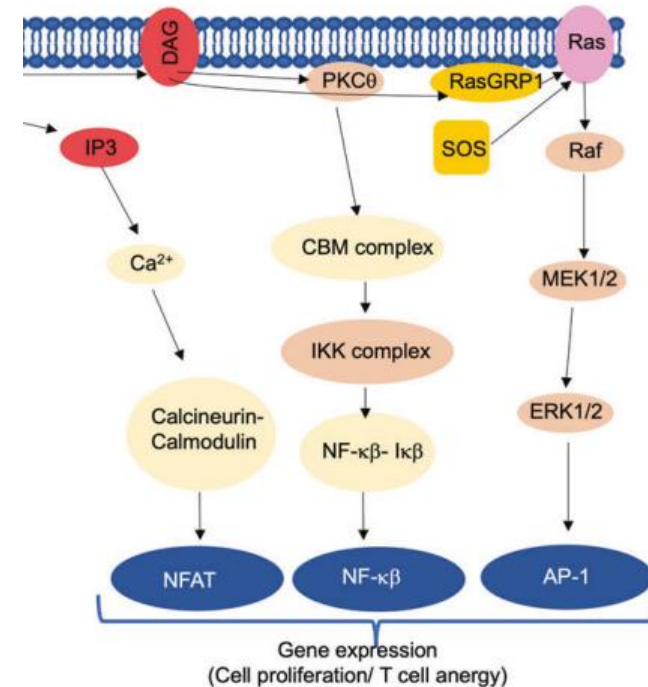
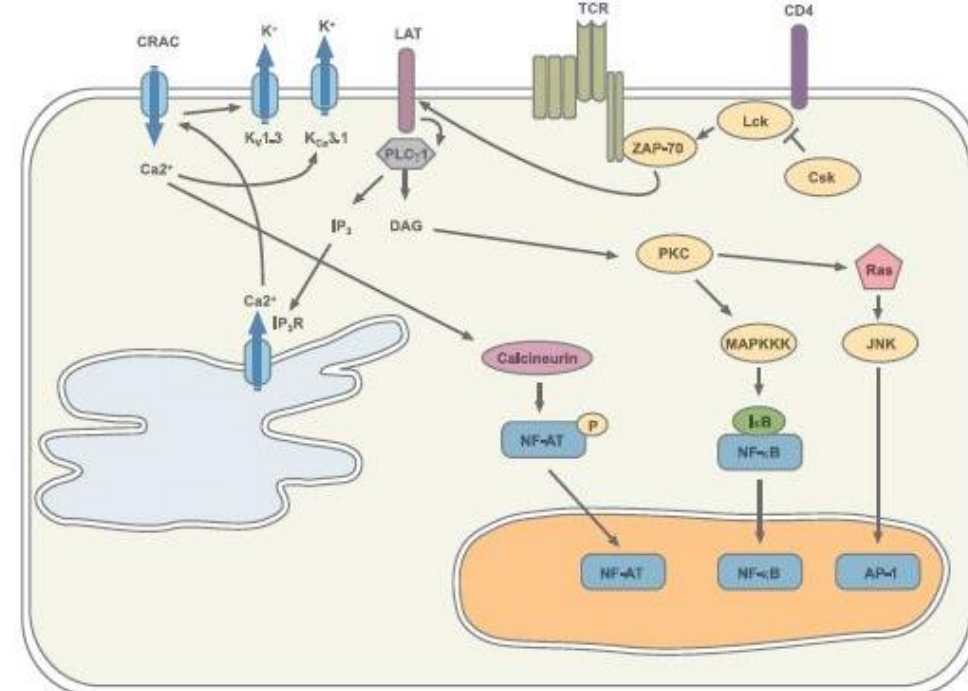
Imunska sinapsa

- Sproščanje intracelularnega kalcija
- Sinteza sekundarnih prenašalcev
- Aktivacija PKC- θ (celice T) in PKC (celice B)



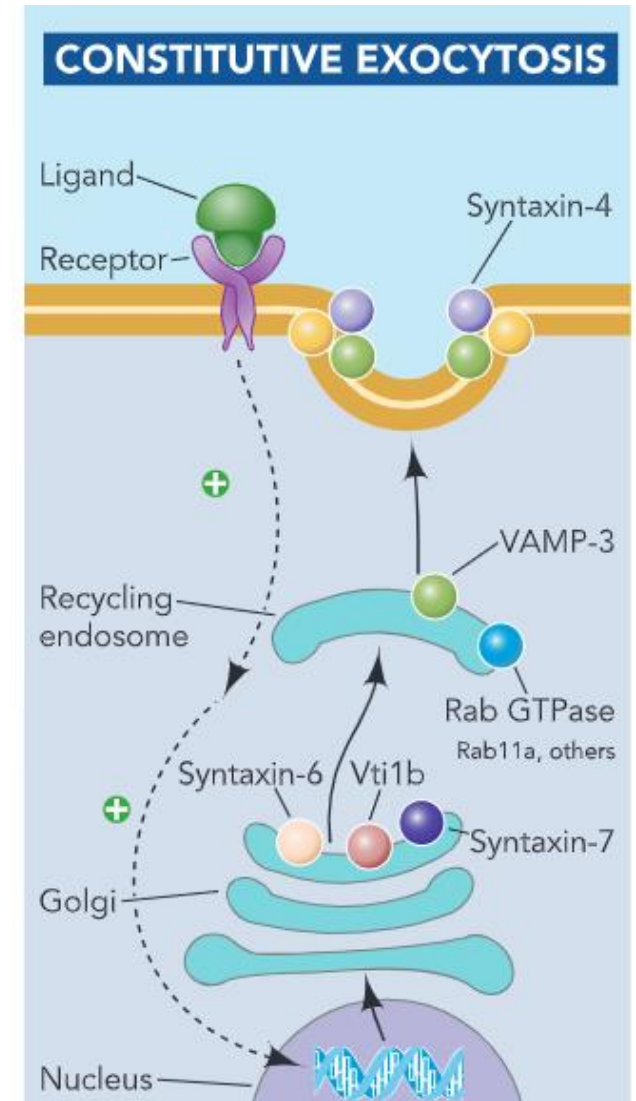
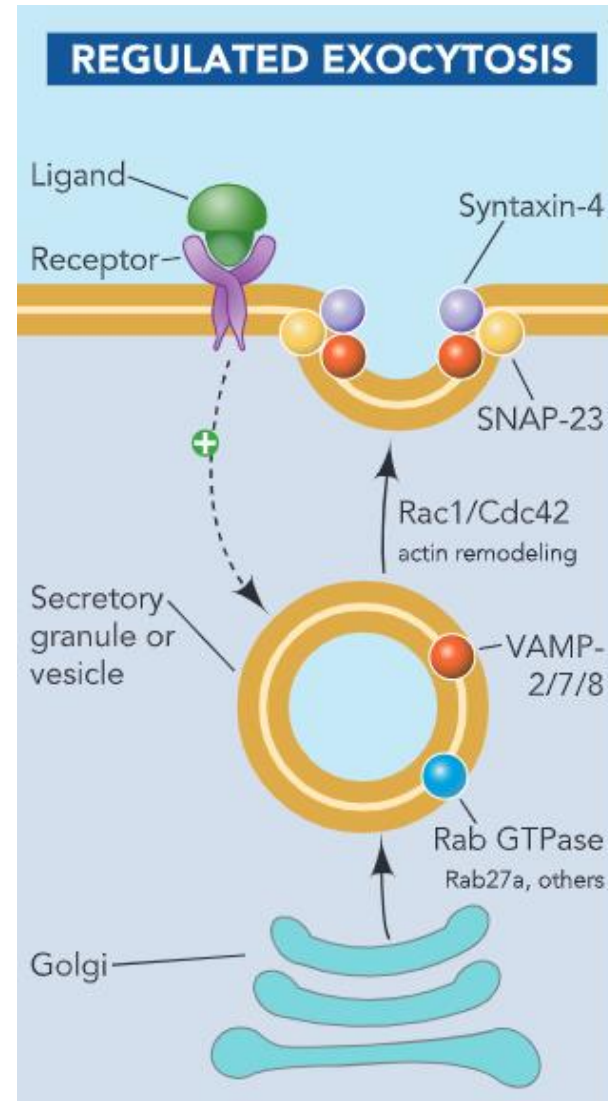
Aktivacija imunskih celic

- Predpogoj je vezava TCR na agonistični antigen, predstavljen na MHCII
- Aktivacija CD4-> Lck fosforilira ITAMs-> vezava ZAP-70-> fosforilira LAT- nastanek signalosoma:
 - Aktivacija Ras kinaz-> MAPK signalna pot
 - Rekrutacija Vav1 in Nck-> reorganizacija in razvejanje aktinskega citoskeleta
 - Rekrutacija Itk-> aktivacija PLC- γ 1-> hidroliza PIP2 v IP3 in DAG:
 - IP3: dvig konc. Ca^{2+} v citosol-> kalcineurin-> aktivacija NFAT
 - DAG: aktivacija PKC-> aktivacija NF- κ B
- NF- κ B, AP-1, NFAT- izražanje IL-2, IL-4, IL-6, TNF α , ITNy, CCL4, etc.



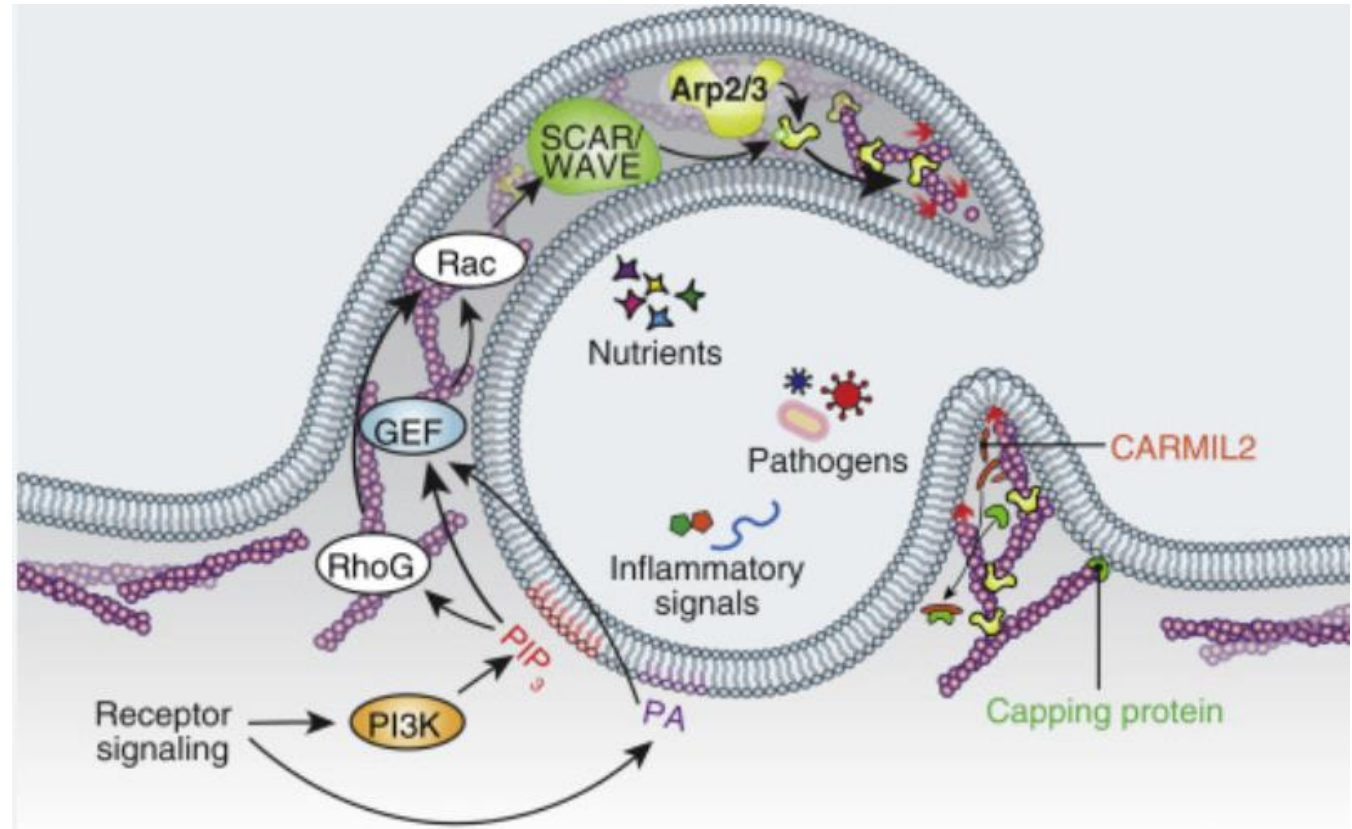
Transport citokinov

- Po transkripciji: ko-translacijska translokacija v lumen GER-> GA-> TGN-> konstitutivna/regulirana eksocitoza
- Konstitutivna eksocitoza: makrofagi-izločanje IL-6 in TNF α : aktivacija TLR4 oz. IFNGR-> lokalizacija IL-6 in TNF α ob GA-> odcepitev klatrinskih veziklov of TGN-> zlivanje v večje reciklirajoče endosome-> prostorska segregacija posameznega citokina-> ločitev endosoma na posamezne vezikle
- Regulirana eksocitoza: granulociti, NK, mastociti, T celice: zaloge citokinov-> sekretorne granule-> 3 poti:
 - 1) Popolna fuzija granul z PM- fuzijske pore
 - 2) PMD- postopna odcepitev majhnih veziklov od granul, zlivanje na različnih mestih v PM (citokini z nasprotnim učinkom)
 - 3) Sestavljena eksocitoza- zlitje več ggranul skupaj in fuzija z PM



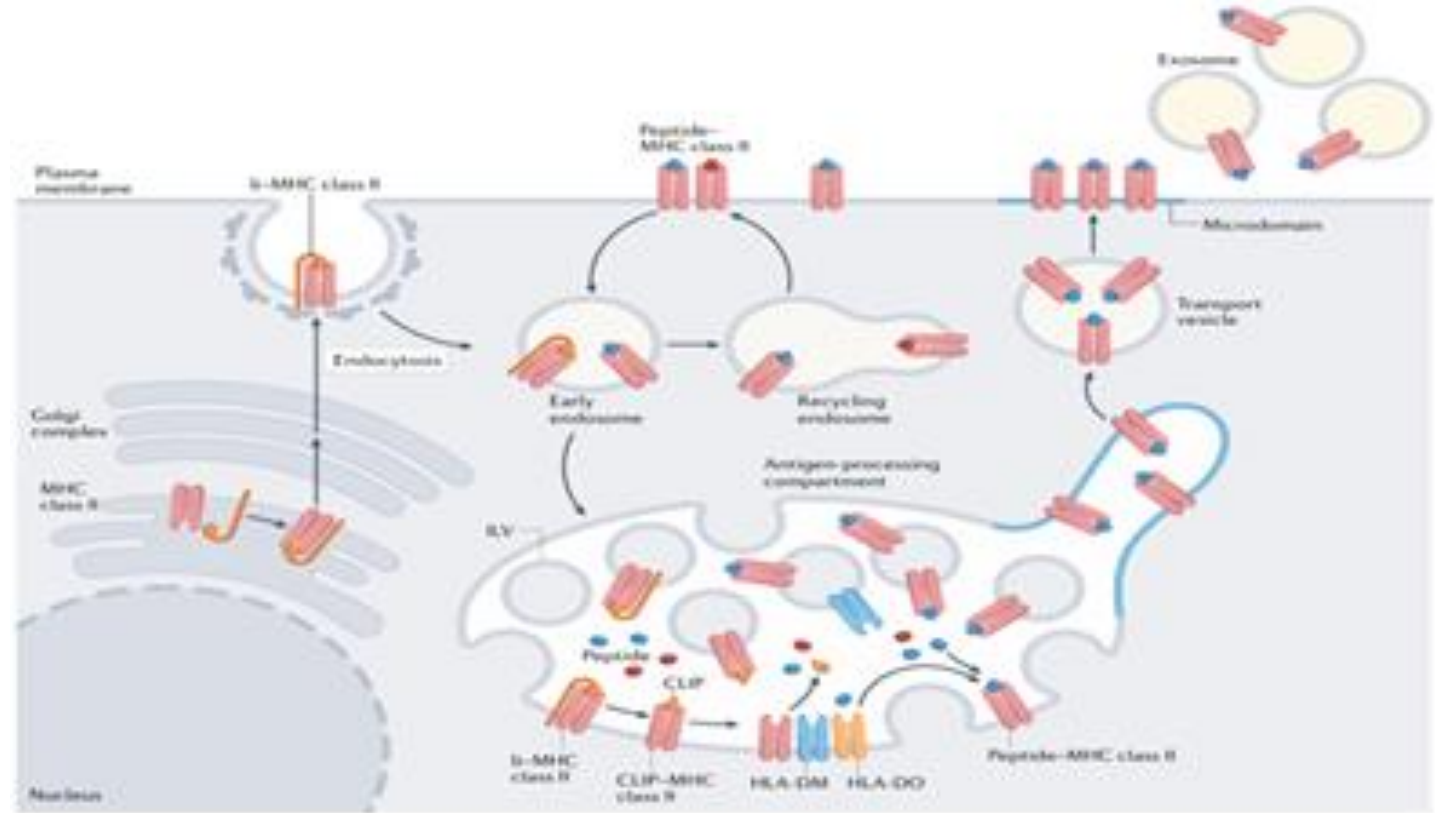
FAGOCITOZA

- Sproži jo vezava z Ig opsoniziranega delca/patogena na FcyR na makrofagih: ITAM-> Src/Syk kinaze-> Rac1 in Cdc42 GTPaza-> WASP, WAVE-> aktivacija Arp2/3-> razvejanje in polimerizacija aktinskih filamentov (potisna sila zvijanja PM v psevdopodije)
- Na območjih nastanka psevdopodijev potrebna večja površina PM-> fokalna eksocitoza:
 - Reciklirajoči endosomi, označeni z Rab11 in VAMP3, se zlijejo z PM na območjih lokalizacije PIP3 v PM
- Popolno obkrožanje delca-> dinamin sproži odcepitev PM-> združevanje fagosoma z endosomi in lizosomi-> razgradnja



PREDSTAVITEV ANTIGENA

- Po fagocitozi (makrofagi) -> združitev fagosoma najprej z endosomi in potem z lizosomi- V ATPaze v PM lizosomov znižajo pH lumna fagosoma-> aktivacija katepsinov B, L, S, D-> razgradnja patogena na krajše peptide
- GER: verigi α in β MHCII imajo vezano li-> GA: nastanek MIIC-> CLIP odstrani li
- Zlitje MIIC z poznim fagosomom-> uvrstitev antigenskega peptida v žleb MHCII (HLA-DM)-> prenos vezikla po mikrotubulih in eksocitoza (Rab11, SNARE)



PATOLOGIJE BIOLOŠKIH MEMBRAN V POVEZAVI Z IMUNSKIM ODZIVOM

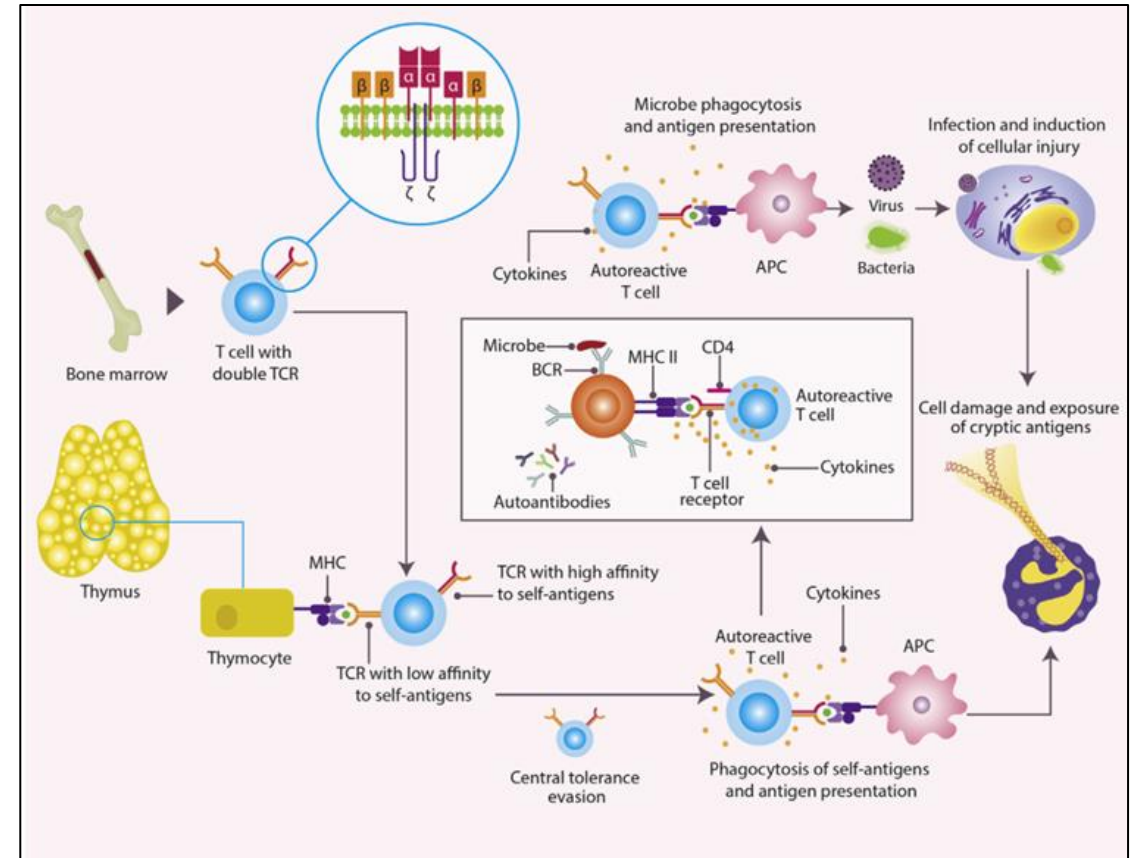
- 1) Avtoimunost
- 2) Preobčutljivostne reakcije
- 3) Imunske pomanjkljivosti
- 4) Mehanizmi patogenov za izmikavanje imunskemu sistemu

AVTOIMUNOST

*Imunski sistem prepozna telesu lastne antigene (**avtoantigene**)*

- avtoprotitelesa, avtoreaktivni limfociti
- sistemske, specifične za določen organ

⇒ citotoksično uničenje celic, moduliranje signalizacije z vezavo na Pt na receptorje, liza celic (perforin, grancim B), indukcija apoptoze (Fas-Fas ligandi)



Vzroki za avtoimunost?

Genetski dejavniki

Epigenetski dejavniki

Dejavniki okolja

CMV, virus gripe, Epstein-Barr,
hepatitis E, herpes simplex,
Campylobacter jejuni

- prehrana
- mikrobiota
- zdravila
- UV svetloba
- **infekcije (molekulska mimikrija)**



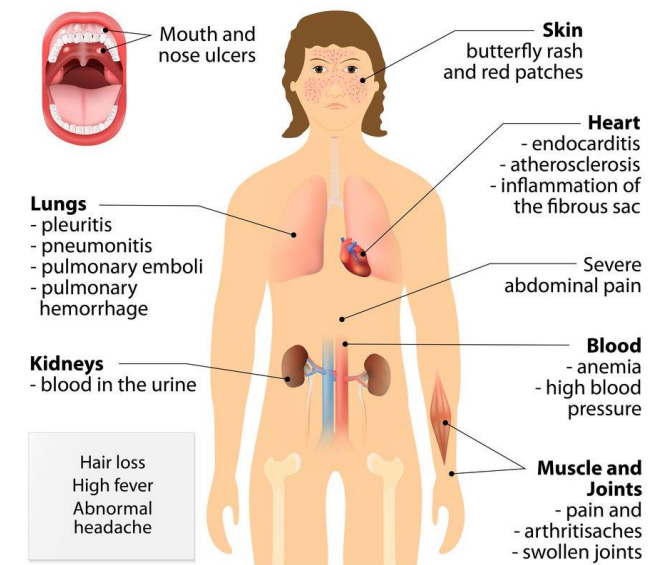
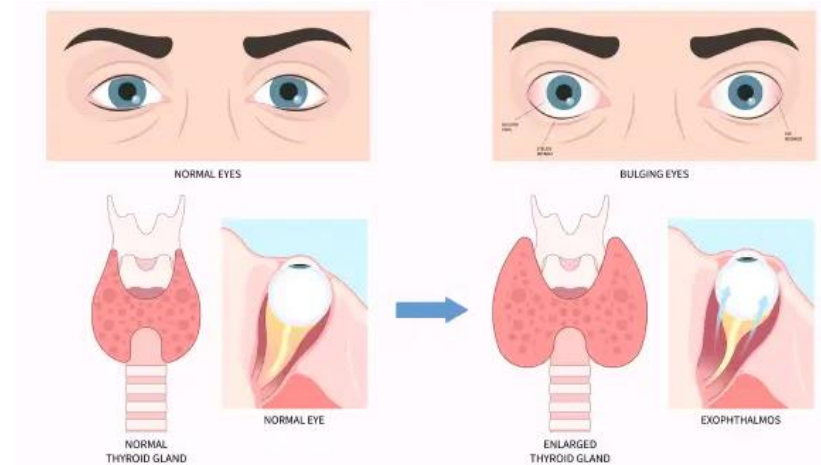
Primeri avtoimunskih bolezni

- **Gravesova bolezen**

avtoimunska bolezen ščitnice – hipertiriodizem, avtoprotitelesa se vežejo na TSH receptor (konstitutivna stimulacija signalizacije)

- **Sistemski lupus eritematozus**

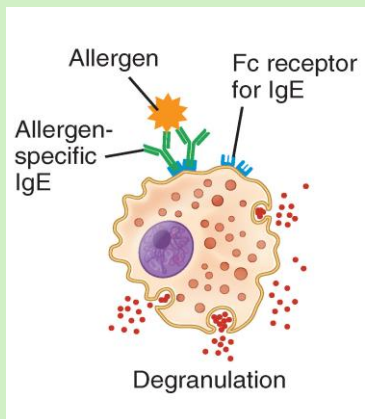
kronična sistemska vnetna bolezen, predvsem avtoprotitelesa proti nukleinskim kislinam, tudi protitelesa proti fosfolipidom (40 %)



PREOBČUTLJIVSTNE REAKCIJE

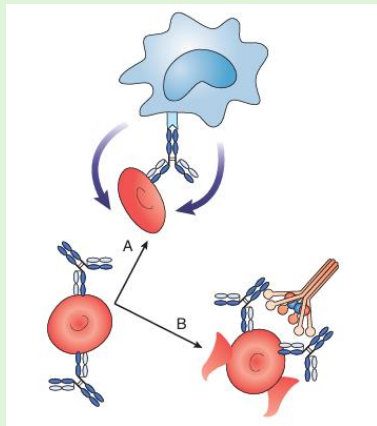
Tip I

- IgE se vežejo na FcεRI na površini mastocitov in bazofilcev
- posledica je degranulacija vnetnih mediatorjev



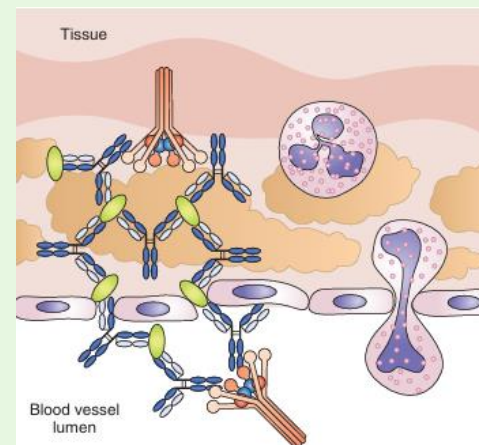
Tip II

- IgG in IgM se vežejo na površino lastnih celic → aktivacija komplemента
- NKC (izločanje perforina in grancima)
- fagocitoza



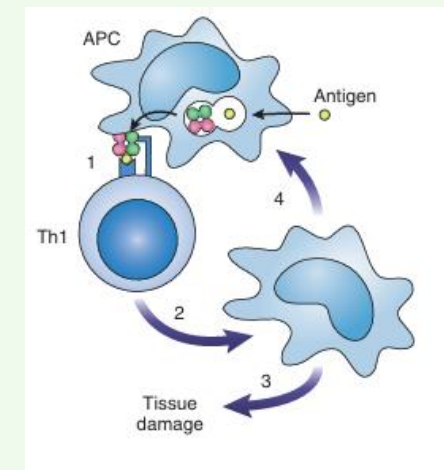
Tip III

- nastanek imunskih kompleksov z IgG in IgM v tkivih
- npr. SLE



Tip IV

- zakasnen odziv
- limfociti T
- izločanje grancim, perforina, ganulizina



IMUNSKJE POMANJKLJIVOSTI

Okvarjene ali odsotne komponente imunskega sistema

- primarne
(genetski izvor)
- sekundarne
(posledica okoljskih dejavnikov – infekcije, podhranjenost, zdravila)

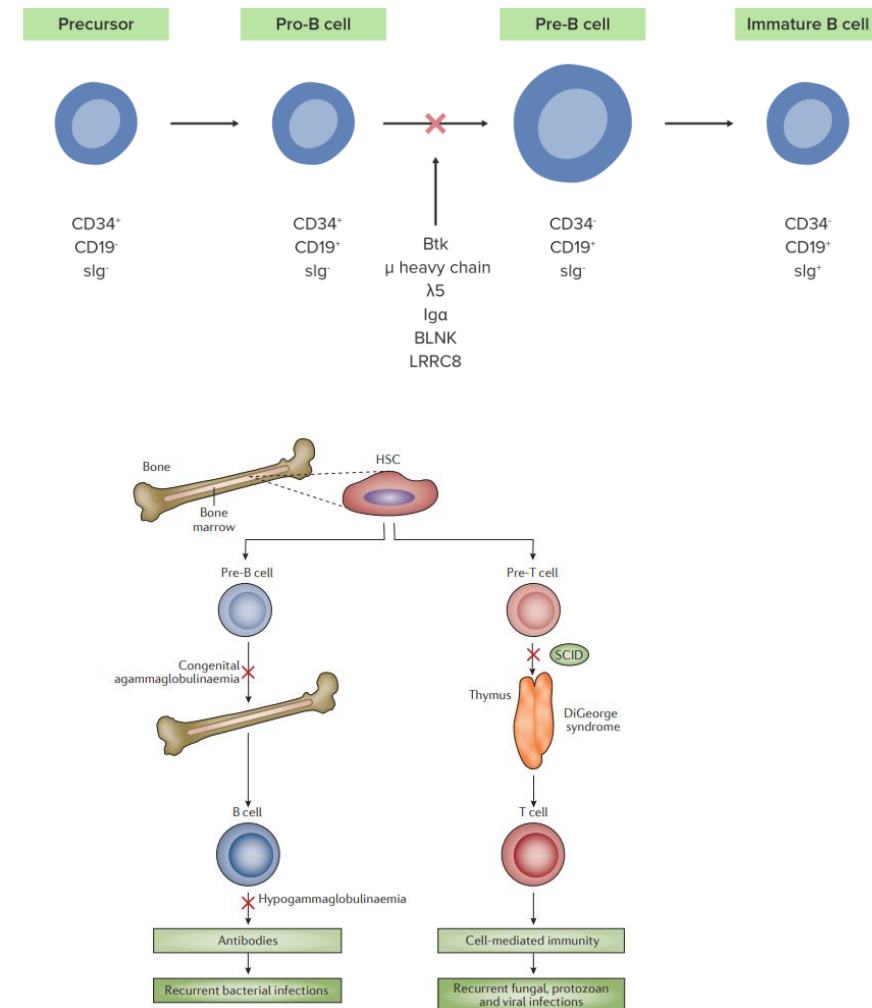
Primeri primarnih imunskih pomanjkljivosti

- **Imunska pomanjkljivost z X-kromosomom povezane Burtonove tirozinske kinaze**

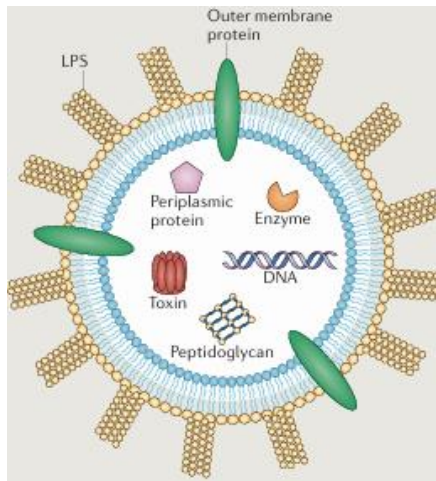
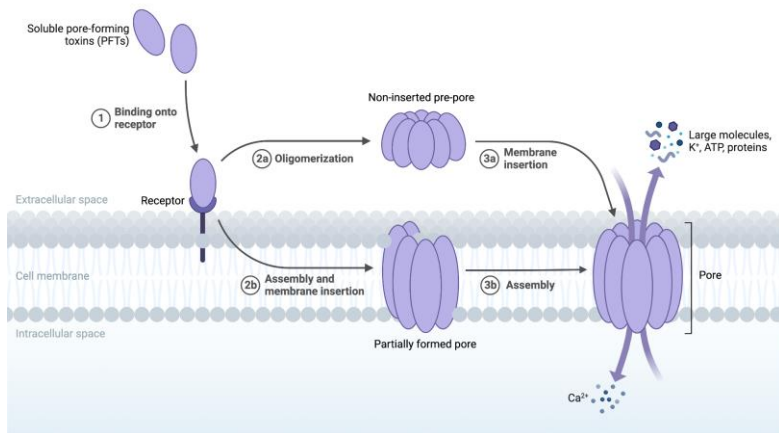
mutacija v genu za Burtonovo Tyr kinazo (signalizacija z BCR),
popolna odsotnost limfocitov B in plazmatk

- **Težka sestavljena imunska pomanjkljivost (SCID)**

skupina bolezni, okvare limfocitov B in T, pogosta mutacija v zapisu za receptor za IL-2, tudi okvare JAK3, CD45, RAG1/2



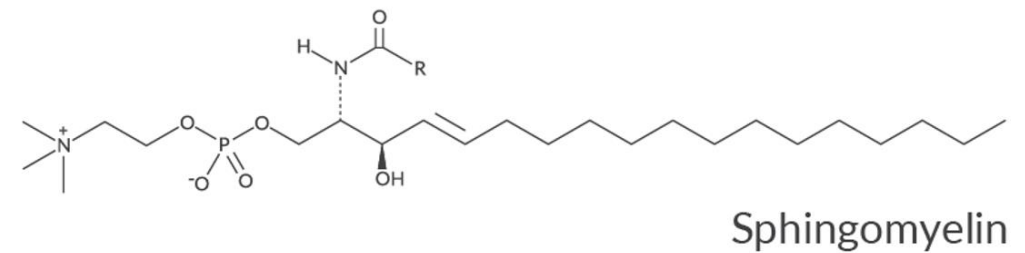
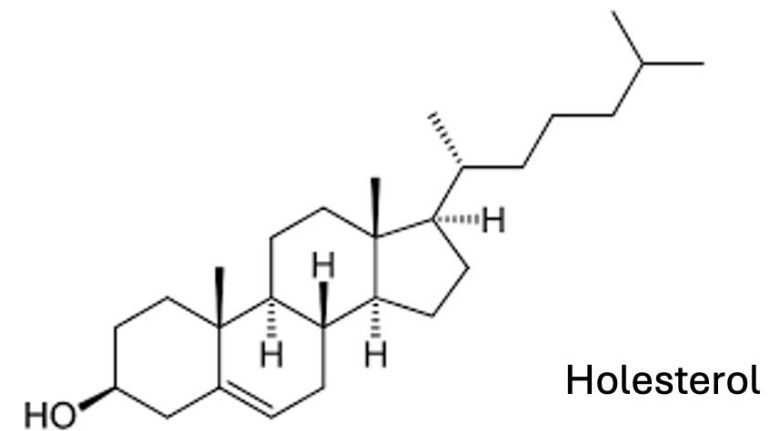
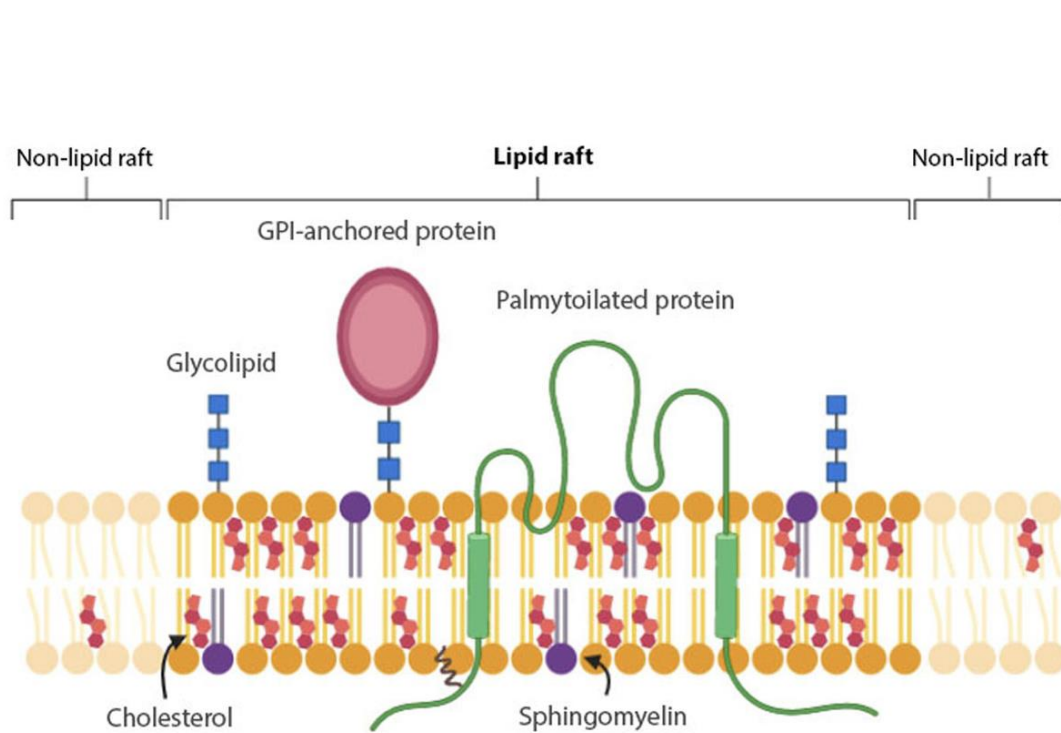
MEHANIZMI PATOGENOV ZA IZMIKANJE IMUNSKEMU SISTEMU



- toksini, ki tvorijo transmembranske pore
- tvorba zunajmembranskih veziklov
- moduliranje lipidnih raftov
- izločanje proteaz za cepitev markerjev avtofagije
- vgradnja gostiteljskih lipidov in proteinov v virusno ovojnico
- ...

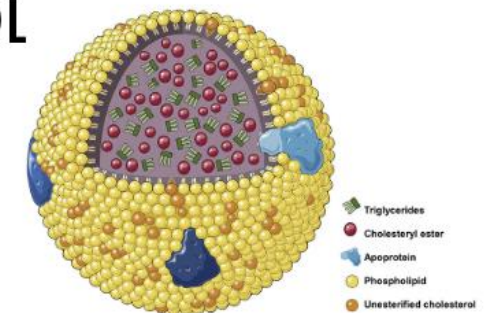
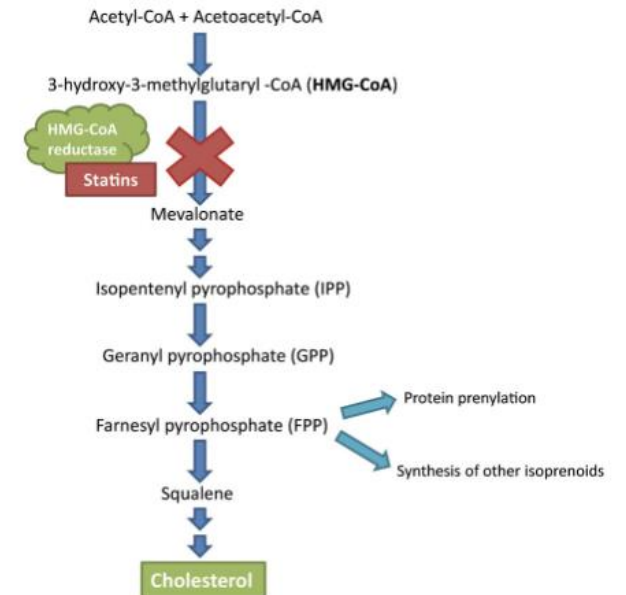
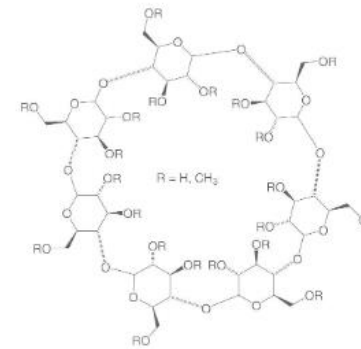
LIPIDNI RAFTI IN BOLEZNI

vsebujejo proteine ključne za signalizacijo → napaka v signalizaciji → patološko stanje



KAKO LAHKO VPLIVAMO NALIPIDNE RAFTE?

- sekvestranti (metil β -ciklodekstrin)
- inhibicija sinteze holesterola (statini)
- povečanje plazemeske koncentracije koncentracije HDL



VPLIV NA KONCENTRACIJO SFINGOMIELINA

- inhibitorji sinteze

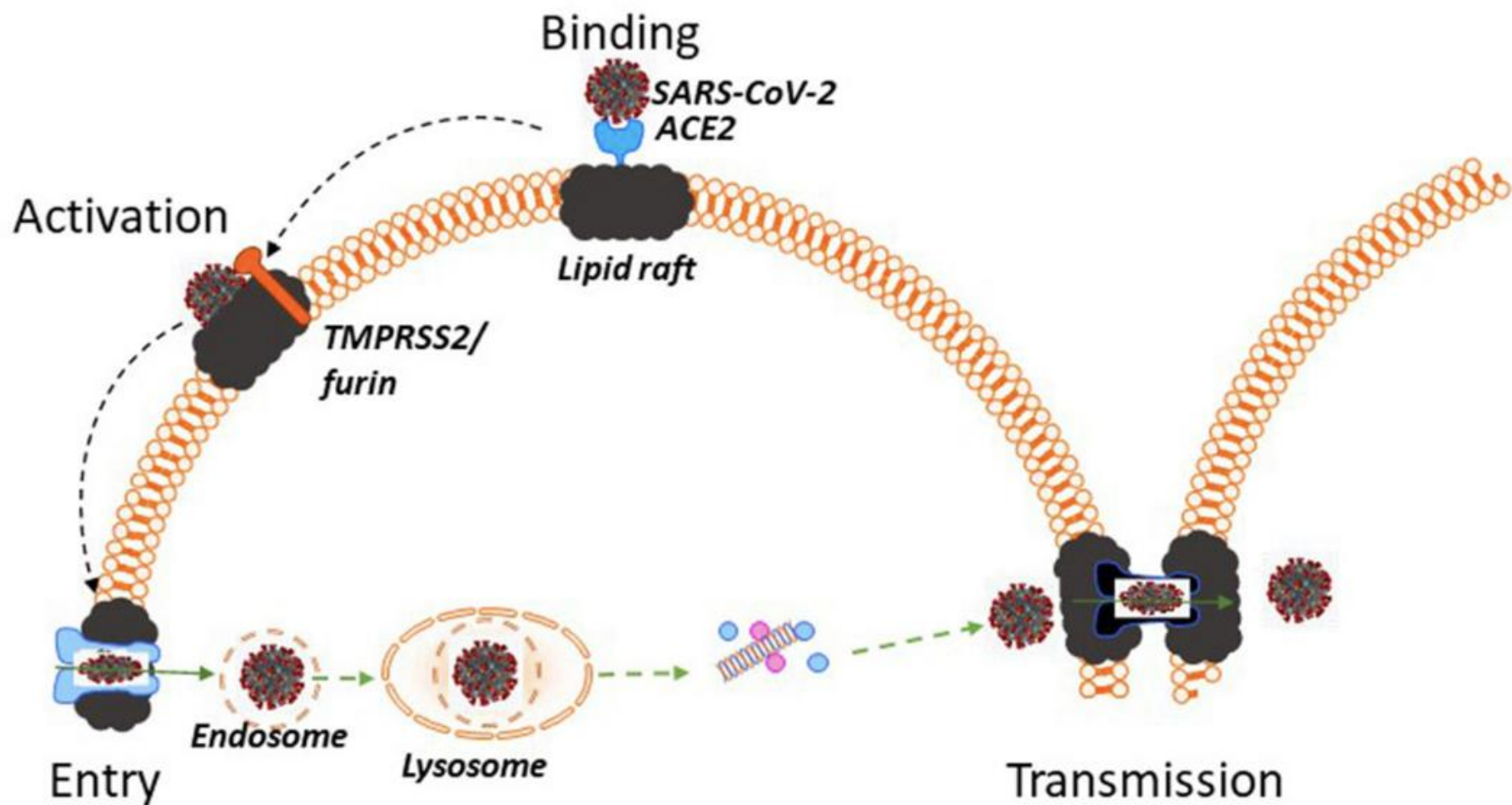
Systemic lupus erythematosus

Systemic lupus erythematosus (SLE) is an [autoimmune disease](#). In this disease, the immune system of the body mistakenly attacks healthy tissue. It can affect the skin, joints, kidneys, brain, and other organs.

- sistemski lupus eritematozus – značilni deformirani in delokalizirani lipidi rafti na CD4+ limfocitih T

in vitro: N-butildeoksinojirimicin popravi okvarjene lipidne rafte

LIPIDNI RAFTI IN VIRUSNE OKUŽBE



HVALA ZA VAŠO POZORNOST!