



FKKT

UNIVERZA V LJUBLJANI

Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo

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

KAZALO VSEBINE

1	UVOD -----	2
2	PRIROJEN IMUNSKI ODZIV IN BIOLOŠKE MEMBRANE -----	2
2.1	TOLLU-PODOBNI RECEPTORJI (TLR) -----	2
2.1.1	TLR4-----	2
2.2	POVEZAVA MED MEMBRANSKIMI IN CITOSOLNIMI PRR -----	4
3	EVOLUCIJA -----	5
4	PRIDOBLEN IMUNSKI ODZIV-----	7
4.1	ORGANIZACIJA MEMBRANE V IMUNSKIH CELICAH -----	7
4.2	MEMBRANA KOT MESTO AKTIVACIJE PRIDOBLENEGA IMUNSKEGA ODZIVA -----	8
4.2.1	CELICE T -----	8
4.2.2	CELICE B -----	11
4.2.3	IMUNSKA SINAPSA -----	11
5	FIZIOLOGIJA-----	12
5.1	CITOKINI: PROCESIRANJE IN TRANSPORT -----	12
5.1.1	KONSTITUTIVNA SEKRECIJA -----	13
5.1.2	REGULIRANA SEKRECIJA -----	13
5.2	FAGOCITOZA -----	13
5.3	PREDSTAVITEV ANTIGENA-----	14
6	PATOLOGIJA -----	15
6.1	AVTIMUNOST -----	15
6.2	PREOBČUTLJIVOSTNE REAKCIJE -----	17
6.3	IMUNSKA POMANJKLJIVOSTI-----	17

6.4	MANIPULACIJE PATOGENOV-----	18
7	ZDRAVLJENJE -----	18
7.1	LIPIDNI RAFTI IN BOLEZNI -----	18
7.2	REGULACIJA DELEŽA HOLESTEROLA V MEMBRANAH -----	18
7.3	REGULACIJA DELEŽA SFINGOLIPIDOV V MEMBRANAH-----	19
7.4	LIPIDNI RAFTI IN VIRUSNE OKUŽBE -----	19
8	VIRI IN LITERATURA-----	20

1 UVOD

Na biološke membrane lahko gledamo kot na platformo skozi in na kateri poteka vsa medcelična komunikacija, ki je ključna za delovanje imunskega sistema. Membrane s serijo različnih tipov perifernih, integralnih in zasidranih proteinov omogočajo prepoznavanje patogenov, prenos signalov, medcelično komunikacijo in množico ostalih celičnih funkcij, ki jih sprožajo različne signalne kaskade ob aktivaciji imunskega odziva.

2 PRIROJEN IMUNSKI ODZIV IN BIOLOŠKE MEMBRANE

Prirojen imunski odziv predstavlja prvo obrambno linijo organizma pred različnimi vrstami patogenov. Vključuje prepoznavo patogena in aktivacijo ustreznih efektorskih mehanizmov, ki vodijo v vnetje ali protivirusni odziv, ter eliminacijo patogena [1]. Pri zaznavanju patogenov ključno vlogo igrajo t. i. receptorji za prepoznavanje vzorcev (PRR, *angl.* pattern recognition receptors), ki spadajo v različne proteinske družine in se aktivirajo ob stiku s številnimi molekulami, ki so skupne določeni skupini patogenov (s patogeni povezani molekulski vzorci, PAMP). Nekateri PRR zaznavajo molekulske vzorce patogenov v citosolu, mnogi izmed njih pa so membranski proteini [1, 2].

2.1 TOLLU-PODOBNI RECEPTORJI (TLR)

Tollu-podobni receptorji so skupina integralnih membranskih glikoproteinov, ki jih izražajo številni celični tipi in se odzivajo na širok spekter PAMP-ov in signalov lastnih poškodovanih celic (DAMP, s poškodbami povezani molekulski vzorci), kot so npr. komponente bakterijske celične stene (peptidoglikan, LPS), virusne nukleinske kisline (dsRNA) in proteini toplotnega šoka. Pri človeku je znanih 10 različnih TLR, ki so v plazmalemi ali endosomih [1, 2].

Sestavljeni so iz zunajcelične domene za prepoznavo liganda s ponovitvami, bogatimi z levcini, transmembranskega dela in citosolne TIR-domene. Ektodomena neposredno ali posredno (preko adapterskih proteinov) veže ligand in omogoči homo- ali heterodimerizacijo receptorja ter približanje njunih TIR-domen. Takrat je omogočena vezava adapterskih proteinov in nastanek multiproteinskih kompleksov, t. i. signalosomov, ki služijo kot ogrodje za vezavo in aktivacijo različnih kinaz. Te so odgovorne za fosforilacijo in aktivacijo transkripcijskih faktorjev, predvsem NF- κ B ter IRF 3/7 [2, 3].

2.1.1 TLR4

Tollu-podoben receptor 4 se nahaja v plazmalemi in med drugim zaznava strukturno raznolike lipopolisaharide (LPS), komponente celičnih sten Gram negativnih bakterij [1].

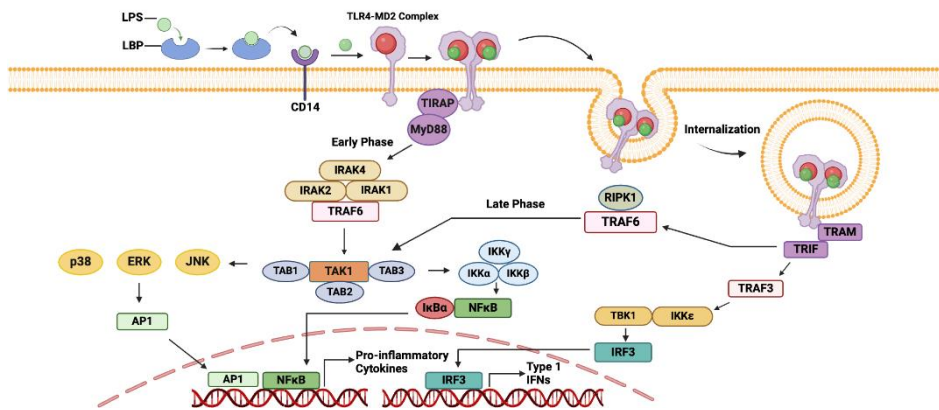
2.1.1.1 *Struktura receptorja in interakcija z LPS*

Vezava LPS na TLR4 poteka posredno oz. s pomočjo dodatnih proteinov, odvisna pa je tudi od strukture liganda (npr. št. fosfatnih skupin in acilnih repkov lipida A). Molekule LPS se najprej vežejo na LPS-vezavni protein, ki pomaga pri dostavi liganda do receptorja, pri tem pa sodeluje tudi CD14. Ektodomena TLR4 je sestavljena iz ponovitev, bogatih z levcinom, z značilnim ohranjenim zaporedjem LxxLxLxxN. Tudi v odsotnosti liganda TLR4 tvori kompleks s proteinom MD2, za interakcijo sta pomembna predvsem dva predela v N-končni in osrednji domeni TLR4. LPS se veže v hidrofobni žep MD-2, ki ga tvorita dve antiparalelni β -ploskvi, in tako omogoči dimerizacijo receptorja (TLR4/MD2/LPS)₂. MD-2 interagira s ponovitvami 15-17 v C-končnem delu TLR. Večina lipidnih repkov lipida A, ki je del LPS, interagira s hidrofobnim žepom MD-2, en, izpostavljen repek, pa tvori hidrofobne interakcije s Phe TLR4. Strukturne spremembe MD-2 ob vezavi liganda dodatno stabilizirajo hidrofobno jedro. Kot omenjeno, na jakost vezave vpliva tudi struktura liganda: določeni antagonisti TLR4, imajo namesto šestih samo štiri lipidne repke; dodatna repka sta pomembna za tvorbo ionskih interakcij z receptorskim kompleksom in prispevata k dimerizaciji [4,5].

2.1.1.2 *Signalizacija receptorja TLR4*

Po aktivaciji lahko TLR4 zaporedno sproži dve veji signalizacije, odvisno od njegove celične lokalizacije in vezave ustreznih adapterskih proteinov s TIR-domenami (slika 1). Ko je aktiviran receptor v plazmalemi, pride do interakcije med TIR-domenami TLR4 in adapterskega proteina TIRAP/Mal, kar omogoči vezavo še drugega adapterja, MyD88 in kinaze IRAK1. Za signaliziranje s TLR4 je pomembna tudi interakcija TIRAP s fosfatidilinozitol 4,5-bisfosfatom. Nastali multiproteinski kompleks, midosom, veže ubikvitin ligazo TRAF6, pride tudi do aktivacije kinaze TAK1 in aktivacije ter translokacije transkripcijskega faktorja NF- κ B v jedro, kjer sproži izražanje genov za različne provnetne citokine, epitelijske adhezijske molekule, kostimulatorne molekule itd. Hkrati pa lahko pride tudi do aktivacije MAPK kinazne-poti [2, 3, 4].

Signalizaciji s pomočjo adapterjev TIRAP in MyD88 sledi internalizacija receptorja TLR4 v endosome, pri čemer ključno vlogo igra že prej omenjeni protein CD14 in njegova interakcija z MD-2. Natančen mehanizem tega procesa še ni znan, pri njem pa naj bi sodelovali določeni encimi, lokalizirani v lipidnih raftih (npr. tirozin kinaza Syk). Adapter TRAM, ki je z miristoiliziranim ostankom zasidran v membrano na mestih, bogatih s CD14, se po aktivaciji TLR4 in oddisociaciji TIRAP in MyD88 lahko veže na TLR4. Vezava omogoči interakcijo še drugega adapterja, TRIF, z receptorjem, nakar pride do aktivacije ubikvitin ligaze TRAF3 in kinaz TBK1 ter IKK ϵ . TBK1 prepozna in fosforilira ohranjen motiv pLxIS v N-končni domeni TRIF, ki lahko posledično veže transkripcijski faktor IRF3. Po fosforilaciji s TBK1, IRF3 v jedru omogoči transkripcijo genov za IFN tipa I. Količina in trajanje odziva je regulirano predvsem z razgradnjo TLR4 v lizosomih, po doslej slabo opisanih mehanizmih pa bi se lahko receptor tudi recikliral in vrnil v celično membrano [4].



Slika 1: Aktivacija TLR4 z LPS in sprožitev ustreznih signalnih poti, ki omogočajo proizvodnjo pro- in antivnetnih citokinov, spremembe v celičnem metabolizmu in indukcijo efektorskih mehanizmov prirojene imunosti. Prevezeto iz [6].

Poleg Tollu-podobnih receptorjev ohranjene mikrobne molekule na celični membrani prepoznavajo tudi drugi receptorji: raznovrstne sladkorje vežejo lektinski receptorji tipa C (angl. C-type lectin receptor), odstranjevalni receptorji (angl. scavenger receptors) vežejo širok nabor mikrobnih molekul, formil peptidni receptorji vežejo peptide z N-formilmetioninom (značilni za bakterijske in določene evkariontske, npr. mitohondrijske peptide) ... [1, 2, 3]

2.2 POVEZAVA MED MEMBRANSKIMI IN CITOSOLNIMI PRR

Vezava patogenov in aktivacija membranskih PRR v celici sprožita kompleksna signalna omrežja, ki lahko vplivajo tudi na aktivacijo citosolnih PRR. Kot primer, vezava LPS na TLR4 služi kot prvi signal za kanonično aktivacijo inflammasoma NLRP3 [3, 4].

Inflammasomi so multiproteinski citosolni kompleksi, ki nastanejo kot posledica okužbe ali drugega stresnega stanja v celici. Sestavljeni so iz proteinov, ki zaznavajo patogene ali endogene molekulske vzorce, adapterskih proteinov in kaspaze-1 (kanonični inflammasomi). Aktivacija TLR4 in signalne poti NF-κB med drugim sproži prepisovanje genov za molekularni senzor NLRP3 in proobliko provnetnega citokina IL-1β. Za oligomerizacijo NLRP3, vezavo adapterja ASC in prokaspaze-1 je potreben še drug signal v obliki različnih PAMP-ov in DAMP-ov. Avtokatalitično aktivirana kaspaza-1 cepi proobliko IL-1β in IL-18 ter protein gasdermin-D. Njegov N-končni del oligomerizira in v membrani tvori pore, ki omogočajo izločanje IL-1β iz celice, posledično pa lahko vodijo do celične lize in smrti [3, 4].

Aktivacija PRR in ustreznih signalnih poti poleg proizvodnje različnih citokinov, aktivacije citosolnih PRR in sprememb v metabolizmu celic inducira in stimulira prirojeni imunski odziv organizma. Vezava LPS na TLR4 vpliva na povečano izražanje genov za kostimulatorne molekule (npr. CD40, CD80) in molekule poglavitnega

histokompatibilnostnega kompleksa II (MHC II) ter na zmožnost predstavitve antigenov na površini dendritičnih celic [4].

3 EVOLUCIJA

Imunski sistem, kot ga poznamo danes, je rezultat dolgotrajnega in postopnega evolucijskega razvoja, ki je potekal vzporedno s pojavom raznolikosti patogenov v okolju. Evolucija imunskega sistema se je najverjetneje začela z oblikovanjem osnovnih obrambnih mehanizmov pri enoceličarjih, ki so razvili primitivne strategije za prepoznavanje in odstranjevanje virusov, bakterij in drugih smrtonosnih patogenov. Zgodnji evkarionti, kot je ameba, so morali za preživetje znati razlikovati med hrano in drugimi amebami oz. osebki svoje vrste. Če te sposobnosti ne bi imeli, bi to lahko vodilo do tega, da bi napadli ali celo požrli sami sebe ali druge osebkke znotraj vrste. Po tej teoriji so zgodnji evkarionti morali vsebovati specifičen površinski receptor (ni poznan), ki jim je omogočal razlikovanje med hrano in samim seboj (druga ameba ali drug del istega organizma [7].

To dokazuje, da so že pri prednikih večceličarjev biološke membrane omogočale selektivno zaznavanje okoljskih signalov in ločevanje med tujim in lastnim. V tej vlogi torej niso predstavljale le fizične pregrade, temveč so delovale kot aktivna platforma – funkcionalno stičišče za signalne molekule, receptorje in encime, ki sodelujejo v imunski signalizaciji ter prožijo odzivne poti.

ZANIMIVOST:

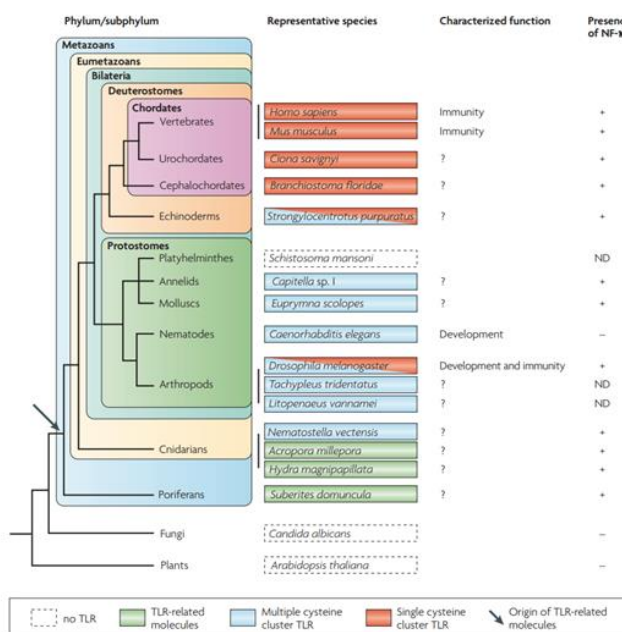
Glede na podobnost prehranjevanja ameb z mikroorganizmi, nekateri viri predvidevajo, da bi slednje lahko služile kot najzgodnejša oblika makrofagov, ki je po neznani evolucijski poti povzročila razvoj moderne oblike makrofagov [1, 2].

Genomske analize kažejo, da je že v času, ko so se predniki rastlin in živali ločili, obstajal prefinjen mehanizem obrambe gostitelja. Gre za signaliziranje s Tollu-podobnimi receptorji, ki si ga delijo tako rastline kot živali. Tollu-podoben receptor (TLR) je bil prvotno opisan pri vinskih mušicah (*Drosophila melanogaster*), najdemo pa ga pri praktično vseh večceličnih organizmih – pri vretenčarjih, žuželkah in celo pri nekaterih nižjih vretenčarjih (ožigalkarjih) in protistih [7]. Podatki kažejo na izvor/pojavitev genov, povezanih s TLR, pred več kot 700 milijoni let (slika 2). Prvotne molekule TLR naj bi bile molekule brez zunajceličnega motiva LRR. Vsebovale naj bi le transmembransko domeno in citosolno domeno TIR. Neodvisna zunajcelična struktura motivov LRR je bila originalnim molekulam dodana šele kasneje [9]. To bi lahko nakazovalo na prvoten razvoj TLR kot povezovalno molekulo med citoplazemsko domeno TIR in

transmembranskimi domenami, ki so kasneje pridobile domene z motivom LRR, ali katerimi drugimi transmembranskimi proteini, ki vsebujejo LRR motive [10].

ZANIMIVOST:

Čeprav so glikoproteini TLR znani kot starodavna družina PRR z ohranjenimi strukturami vse od spužev do sesalcev, velja sistem komplementa (CS), kot zgodnji del prirojenega imunskega sistema (z milijardo let dolgim evolucijskim ozadjem), celo za evolucijsko starejšega od TLR. Sistem komplementa najdemo že pri enoceličnih mikroorganizmih, kot so bičkarji ovrtničarji (protisti). Slednji so oboroženi s CS, ne pa tudi s TLR. CS tako lahko uvrščamo med stare PRR z omejeno zaščito pred patogeni. Sčasoma so se zato razvili še TLR, kot učinkoviti večnamenski PRR proti širokemu spektru patogenih mikroorganizmov [3].



Slika 2: Izvor, porazdelitev in funkcije Tollu-podobnih receptorjev v živalskem kraljestvu. Poenostavljeno filogenetsko drevo prikazuje glavne živalske vrste in podvrste. S črno puščico je označen verjetni izvor genov, povezanih s Tollu-podobnimi receptorji (TLR), kvadrati s polno-črtno obrobo pa prikazujejo razširjenost TLR med živalskimi vrstami. Različne barve (zelena, modra in oranžna) ponazarjajo molekularni tip receptorjev, v dveh stolpcih desno pa sta predstavljeni še značilna funkcija in prisotnost jedrega faktorja κB (NF-κB) v posamezni živalski vrsti [10].

Najstarejša oblika obrambe, prirojeni imunski sistem, se je torej oblikoval že pri najzgodnejših oblikah življenja, s svojo osnovno značilnostjo hitrega in nespecifičnega prepoznavanja patogenov prek ohranjenih molekularnih vzorcev (PAMP). Prirojeni imunski sistem zagotovi zgodnjo obrambo pred napadom patogenov tako, da sproži takojšnje vnetne odzive. Kljub učinkovitosti pa je prirojeni imunski sistem omejen s sposobnostjo prilagajanja novim, specifičnim patogenom, zaradi svoje nespremenljive receptorske raznolikosti. Zato se je v nekaterih skupinah živali, zlasti pri vretenčarjih, ob že obstoječem prirojenem imunskem sistemu razvila še dodatna raven zaščite – pridobljen (adaptivni) imunski sistem. Slednji vključuje postopno nadgradnjo prirojenih

obrambnih mehanizmov v smeri vse večje specifičnosti in plastičnosti. Omogoča namreč generiranje specializiranih obrambnih celic (limfocitov), od katerih vsaka izraža drugačen antigenski receptor. Ti imajo skoraj neomejeno variabilnost zaradi somatske rekombinacije V(D)J genov. Pridobljeni imunski odziv tako organizmom omogoča bolj ciljan in pa tudi dolgotrajen odziv na patogene (razvoj imunskega spomina) [11-13].

Pojav pridobljenega imunskega sistema zaznamo pri ribah čeljustnicah. Ključna evolucijska inovacija, ki je to omogočila, je reorganizacija genov za limfocitne receptorske verige (somatska rekombinacija genov za T-celični receptor (TCR) in B-celični receptor (BCR)). Slednjo namreč katalizirata encima RAG1 in RAG2, ki pa sta omejena le na skupino čeljustnih vretenčarjev (*Gnathostomata*). To postavlja razvoj pridobljenega imunskega sistema v čas približno 500 milijonov let nazaj [14]. Vendar pa so zadnje raziskave odkrile pojav prirojenega imunskega sistema tudi pri ribah brezčeljustnicah (*Agnatha*), kamor uvrščamo piškurje (*Petromyzontidae*) in glenavice (*Eptatretus spp.*). Skupina slednjih namreč uporablja t. i. alternativni adaptivni imunski sistem, ki temelji na naboru variabilnih antigenskih limfocitnih receptorjev (VLR), osnovanih na družini receptorjev, bogatih z levcinskimi ponovitvami (LRR) [15]. To nakazuje, da divergenca T- in B- celic ter morda prirojenih limfocitov, sega celo dlje v zgodovino – nazaj v izvor vseh vretenčarjev [16].

Natančen razvoj pridobljenega imunskega sistema še ni popolnoma jasen. Zagotovo pa je razvoj potekal iz enostavnejših obrambnih mehanizmov, kot postopna integracija, k bolj sofisticirani obliki. Imunski sistem najprimitivnejših vretenčarjev (ribe brezčeljustnice) ne vsebuje limfnega tkiva (vranica ali priželjc), prav tako so njihovi imunski odzivi zelo šibki in počasni. Višje po evolucijskem drevesu, na ravni hrustančnic in kostnic (ribe čeljustnice) pa sta slednja (timus in vranica) že prisotna. Prav tako že opazimo prisotnost imunoglobulinov, in sicer razreda IgM. Ribe nimajo specializiranih bezgavk, imajo pa skupke limfocitov v črevesju, ki služijo podobnemu namenu. Šele na ravni kopenskih vretenčarjev – dvoživk, plazilcev, ptic in sesalcev je prisoten popoln imunski sistem s timusom, vranico, kostnim mozgom in bezgavkami. Na tej stopnji zasledimo protitelesa IgM in tudi IgG. Protitelesa razreda IgA najdemo samo pri pticah in sesalcih, protitelesa IgE pa so omejena le na sesalce. Tako se zdi, da so se najprimitivnejši mehanizmi za ustvarjanje specifičnosti razširili, da bi se lahko soočili z novimi okoljskimi nevarnostmi, ko so se živali preselile iz morja na kopno [16, 17].

4 PRIDOBLJEN IMUNSKI ODZIV

4.1 ORGANIZACIJA MEMBRANE V IMUNSKIH CELICAH

Imunske celice imajo na membrani več lipidnih raftov, ki sodelujejo pri zbiranju signalnih molekul, kar omogoča hitro in učinkovito sprožitev signalnih poti [20]. Na membrani imunskih celic je veliko število receptorjev, kot so T-celični receptorji (TCR), B-celični receptorji (BCR), molekul poglobitnega histokompatibilnostnega kompleksa (MHC) in kostimulatorne molekule. Receptorji se pogosto združujejo ali povežejo z lipidnimi rafti, kar še poveča njihovo učinkovitost. V membrani imunskih celic so pogosti specifični

fosfolipidi, kot na primer fosfatidilinozitol, ki prav tako sodelujejo v signalnih poteh [21, 22, 26].

4.2 MEMBRANA KOT MESTO AKTIVACIJE PRIDOBLENEGA IMUNKEGA ODZIVA

Biološke membrane imajo ključno vlogo pri prepoznavanju antigenov, prenosu signalov in koordinaciji celičnih odzivov. Na membrani potekajo pomembni procesi za aktivacijo celic T in B, saj so na površini obeh celic specifični receptorji za prepoznavanje antigenov. Na celicah T so T-celični receptorji (TCR), ki prepoznajo peptide, predstavljene na molekulah MHC. Celice B imajo na površini B-celične receptorje (BCR), ki neposredno prepoznajo proste antigene [25]. Membrana omogoča tvorbo imunološke sinapse med T celico in APC, ki jo sestavljajo kostimulatorji in elementi citoskeleta specifično organizirani za optimalno signalizacijo [27]. Prav tako ima membrana pomembno vlogo pri internalizaciji antigena preko BCR. Membranske adhezijske molekule usmerjajo limfocite na mesta okužbe ali vnetja [28].

4.2.1 CELICE T

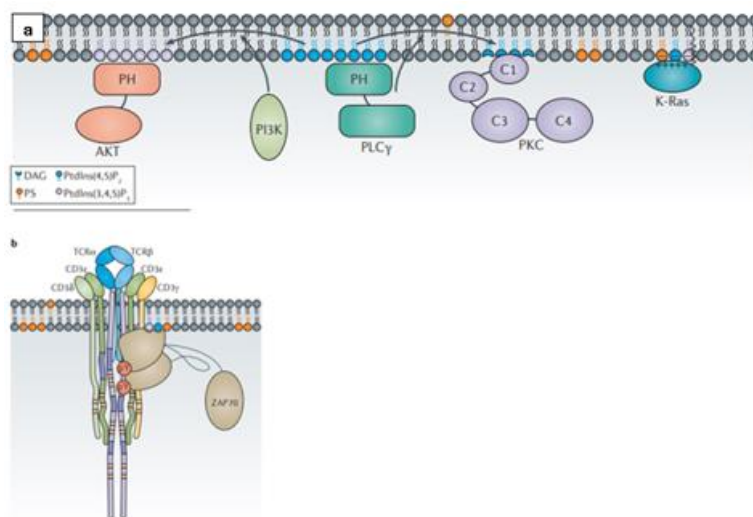
Celice T so ključni posredniki pri vzpostavitvi pridobljenega imunskega odziva. Dozorijo v priželjcu iz katerega vstopijo v periferni limfoidni organ, na primer vranico ali bezgavke, kjer se srečajo s tujimi peptidi, ki jih na MHC molekulah predstavljajo APC, kot so makrofagi in dendritične celice. Po zgradbi so molekule MHC I in II membranski glikoproteini, ki so zgrajeni iz dveh različnih verig, ki sta povezani nekovalentno [29].

4.2.1.1 Uravnavanje signalizacije T celic prek membranskih lipidov

Kompleksnost lipidnega okolja v membrani omogoča uravnavanje signalizacije celic T, z različnimi vrstami lipidov. Opisali bomo več ključnih načinov vpliva lipidov na regulacijo celic T [30].

- Lipidi rekrutirajo citosolne signalne proteine na plazemsko membrano

Membranski lipidi zagotavljajo sidrišča za znotrajcelične signalne proteine preko interakcij med proteinskimi domenami in lipidi (slika 3a). Mnogo signalnih proteinov v celicah T (kot sta AKT in PKC) vsebuje domene za vezavo lipidov.

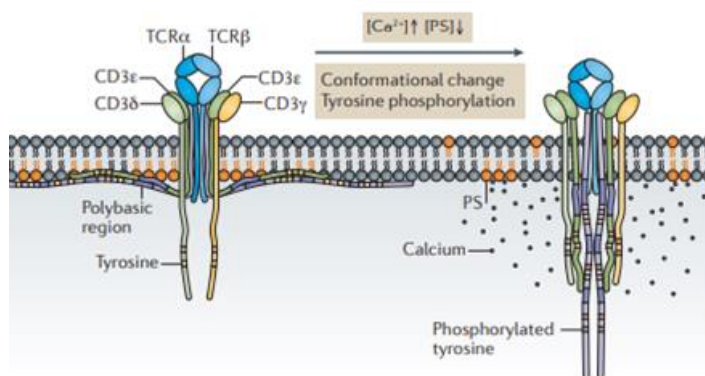


Slika 3: a) Interakcije med membranskimi lipidi in proteini; b) Vezava ZAP70 na T-celični receptor za učinkovit prenos signala [30].

Signalni proteini, ki vsebujejo polibazične regije, se prav tako vežejo na kisle glicerofosfolipide v plazemski membrani. Npr. Ras GTPaze interagirajo s PtdIns(4,5)P₂, PtdIns(3,4,5)P₃ in fosfatidilserinom in se tako lokalizirajo v membrano. Pri delovanju kanalov, aktiviranih z izpustom znotrajceličnih zalog kalcija (*angl.* calcium release activated channels) so pomembne ionske interakcije med membranskimi lipidi in signalnimi proteini. Ko se izpraznijo znotrajcelične zaloge kalcija (npr. v endoplazemskem retikulumu), pride do aktivacije regulatorne podenote transmembranskega proteina STIM1 (*angl.* Stromal Interaction Molecule 1). Fosfoinozitidi v plazemski membrani interagirajo s polibazično regijo STIM1, kar omogoča njegovo rekrutacijo na mesto membrane. Tam STIM1 aktivira membransko podenoto kalcijevega kanalčka ORAI1, ki tvori poro za vstop kalcija v celico. Povečanje znotrajcelične koncentracije kalcija sproži številne nadaljnje signalne poti, vključno z aktivacijo transkripcijskih dejavnikov, kot je NFAT. Nedavne raziskave razkrivajo dodatno vlogo membranskih lipidov pri uravnavanju signalnih domen, kot so SH2 (*Src homology* 2). Te domene so znane po tem, da prepoznavajo fosforilirane tirozine, zdaj pa je znano, da lahko vežejo tudi kisle lipide v membrani, kar prispeva k prostorski stabilnosti signalnih kompleksov. Pomemben primer takšne interakcije je ZAP70, ključna tirozin-kinaza v T celicah, ki sodeluje v zgodnji fazi T celične signalizacije. ZAP70 vsebuje dve ločeni bazični regiji: ena se specifično veže na PtdIns(3,4,5)P₃, druga pa nespecifično prepozna kisle fosfolipide. Obe regiji skupaj omogočata učinkovito in stabilno interakcijo ZAP70 s fosforiliranim CD3ζ kompleksom, kar je ključnega pomena za prenos signala znotraj celice (slika 3b) [30].

- Vloga lipidov pri inaktivaciji membranskih receptorjev

T celice izražajo različne receptorje, katerih signalizacija temelji na tirozinskih motivih (npr. ITAM). Čeprav so aktivne kinaze, kot je LCK (limfocitna tirozin kinaza), stalno prisotne, so receptorji v mirovanju neaktivni. Ključno vlogo pri tem imajo interakcije med membranskimi lipidi in citoplazemskimi deli receptorjev. Na primer, verigi CD3 ϵ in CD3 ζ T-celičnega receptorja vsebujeta polibazične regije, ki se vežejo na kisle fosfolipide. Ta vezava povzroči, da se ITAM motivi delno vgradijo v membrano, kar fizično zakrije tirozin in prepreči fosforilacijo (slika 4). Tako lipidi ne zagotavljajo le strukturne podpore, temveč tudi funkcionalno varujejo receptorje pred spontanimi aktivacijami [30].



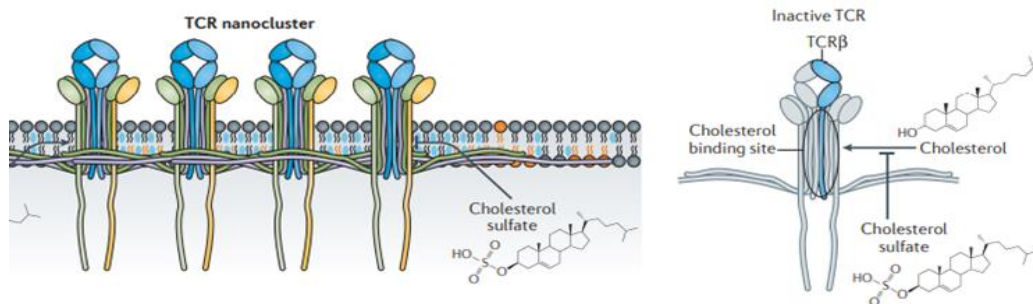
Slika 4: Delna vgraditev motivov ITAM v membrano in preprečitev fosforilacije [13].

- Vloga lipidov pri konformaciji membranskih proteinov

Lipidi pomagajo pri regulaciji strukture membranskih proteinov. Tako kot voda omogoča pravilno zvijanje topnih proteinov, lipidi v membranskem dvosloju delujejo kot topilo za membranske proteine in hkrati uravnavajo njihovo konformacijo. Glicerofosfolipidi, holesterol in sfingolipidi vplivajo na zgradbo membranskih receptorjev.

Na primer:

Holesterol ima posebno vlogo pri zaviranju spontanega aktiviranja TCR – veže se na transmembranski del β -verige TCR in ohranja receptor v neaktivni obliki. Po drugi strani pa ta vezava lahko poveča zgoščevanje TCR, kar izboljša njegovo afiniteto do antigena. Tako holesterol hkrati zavira neželeno aktivacijo in omogoča občutljiv odziv T celic ob prisotnosti tujega antigena (slika 5). Natančni strukturni mehanizmi tega uravnavanja pa ostajajo predmet nadaljnjih raziskav [30].



Slika 5: Holesterol zavira spontano aktiviranje T celičnega receptorja [30].

- Regulacija razporeditve in mobilnosti membranskih proteinov

Plazemska membrana T celic je sestavljena iz različnih funkcionalnih domen. Večina membrane naj bi bila sestavljena iz območij s tekoče urejeno lipidno sestavo, v katere se vključujejo pomembni signalni proteini, kot so LAT, CD4, CD8 in LCK. Ti proteini se vežejo na lipidne splave (rafti). Vključitev v raft strukture zmanjša mobilnost membranskih proteinov. Prav tako kisli glicerofosfolipidi tvorijo lastne nanodome ne in vplivajo na lokalizacijo in gibanje proteinov, ki vsebujejo lipid-vezavne domene ali polibazične regije. Na primer, mutacije v polibazičnih regijah proteina CD3 ζ zmanjšajo sposobnost TCR, da se pravilno zbere v imunološki sinapsi, kar vodi do povečane mobilnosti TCR in slabše signalizacije [30].

4.2.2 CELICE B

Na površini B celic se nahaja B celični receptor (BCR), ki določa specifičnost celice do določenega antigena. Poleg tega, celice B izražajo MHC I in II. Zaradi tega sodijo med APC, skupaj z dendritičnimi celicami, monociti in makrofagi [31]. Celice B nastanejo iz matičnih celic v kostnem mozgu, kjer pridobijo variabilni del imunoglobulina, Fv. Nato prehajajo skozi več stopenj zorenja in aktivacije med migracijo preko krvi v bezgavke in vranico. Na koncu v obliki plazmatk ponovno naselijo kostni mozeg. Dozorevanje celic je odvisno od prejemanja signalov preko ligandov v celični membrani, kot je VCAM1 ter topnih dejavnikov, kot je BAFF. Vezava antigena na BCR ali na protitelo (vezano na Fc receptorje na drugih celicah) omogoči endocitozo antigena in predstavitev peptidnih fragmentov celicam T. To omogoča pridobitev pomoči s strani celic T, kar je ključno za nadaljnjo aktivacijo in diferenciacijo celic B [33].

4.2.3 IMUNSKA SINAPSA

Nastane na stičnem območju med B- ali T-celicami in APC. Kljub razlikam v vrstah antigenov, ki jih prepoznavajo TCR in BCR tvorita oba tipa limfocitov strukturno in funkcionalno podobne sinapse.

TCR kompleks sestavlja heterodimer α/β , ki prepozna antigen, in signalni modul, oblikovan iz treh parov CD3 invariantnih verig: heterodimerov $\gamma\delta$ in $\eta\epsilon$ ter homodimera $\zeta\zeta$. Zgodnji dogodki aktivacije T-celic vključujejo fosforilacijo tirozinskih ostankov v ITAM-motivu znotraj citoplazemskih repkov CD3 s kinazo Lck iz družine Src. To sproži signalizacijo s kalcijem in pritegne tirozinske kinaze, kot je ZAP-70, ki se vežejo na fosforilirane ITAM-e in aktivirajo ključne signalne molekule. Aktivacija signalnih molekul, kot je na primer protein kinaza C- θ (PKC θ), vodi do sinteze citokinov in aktivacije genov, ki so povezani s preživetjem T celic in njihovimi efektorskimi funkcijami.

Pri BCR je podenota za prepoznavo antigena membranski imunoglobulin (Ig), povezan s signalnim modulom, ki ga tvori dimer $Ig\alpha/Ig\beta$. Za razliko od TCR antigeni, ki jih prepozna BCR, ne potrebujejo povezave z MHC molekulami in so lahko tako topne kot membransko vezane molekule. Pri aktivaciji BCR s fosforilacijo tirozinskih ostankov v ITAM-motivih $Ig\alpha/Ig\beta$ s kinazami iz družine Src, kot je Lyn, aktivira kinazo Syk in kalcijevo signalizacijo. To vodi do aktivacije signalnih molekul, ki uravnavajo transkripcijo genov in preureditev citoskeleta, kar omogoči tvorbo specializiranega vezikla za obdelavo antigena [32].

5 FIZIOLOGIJA

5.1 CITOKINI: PROCESIRANJE IN TRANSPORT

Ko pride do interakcije transkripcijskih faktorjev NFAT, AP-1 in NF- κ B in njihovih tarčnih genov, vpletenih v imunskem odzivu, poveča se raven sinteze številnih citokinov. Transkripti proteinov, ki se bodo izločili ali zasidrili v membrano, se translatirajo v proteine na površini granularnega enoplazemskega retikuluma (GER) in se kotranslacijski translocirajo v lumen GER. Potem vstopijo v sekretorne poti endomembranskega sistema. Najprej se novonastali proteini prenesejo v Golgijev aparat (GA), po posttranslacijskih modifikacijah vstopijo v sekretorno pot v trans-golgi omrežju (TGN) in se izločijo preko konstitutivne ali regulirane eksocitoze. Proteini ki se izločajo preko regulirane eksocitoze se pakirajo v sekretorne granule in se shranijo pred sekrecijo. Granule anstanejo z odcepljanjem membran TGN in se razvijejo v zrele granule in je samo sproščanje vsebine teh granul v zunajcelični matriks ponavadi povzročano zaradi povišanja citosolne koncentracije kalcijev ionov zaradi zunanega dražljaja. Preko mehanizma regulirane eksocitoze se izločajo nevrotransmiterji iz nevronov, inzulin iz β celic Langerhansovih otočkov ter citokini iz granulocitov, mastocitov in T celic, ne pa iz makrofagov. Makrofagi pa uporabljajo konstitutivno sekretorno pot, ki vključuje vezikularni transport od TGN do plazemske membrane prek endosomskega omrežja. Izločene proteine pa ne shranjujejo pred sproščanjem v zunajcelični matriks. Vezikularni transport je organizira in uravnava več proteinov, kot so plaščni proteini, adapterski proteini, majhne GTPaze in proteini SNARE. Glavna vloga plaščnih in adapterskih proteinov je skoncentrirati proteinski tovor v nastajajoči vezikel in stabilizacija odcepljajoče se membrane od TGN. Glavni plaščni proteini so COPI, COPII, klatrin in retromer. Vezikli z COPI prenašajo tovor znotraj GA, od GA do ER in med ER in endosomi.

Vezikli z COPII prenašajo tovor od ER do GA. Vezikli s klatrini in kompleksi adapterskih proteinov (AP1-5) sodelujejo pri endocitozi ob plazemski membrani in prenosom med endosomi in GA. Majhne GTPaze (družini Arf in Rab) imajo ključno vlogo pri rekrutaciji plaščnih proteinov ob formiranju veziklov, dokler SNARE proteini (sintaksini, SNAP-23, VAMP in Vti1b) omogočajo zlivanje in fuzijo vezikla in tarčenga mesta na plazemski membrani [44, 45].

5.1.1 KONSTITUTIVNA SEKRECIJA

Primer konstitutivne sekrecije je izločanje IL-6 in TNF- α iz makrofagov. IL-6 se prenaša v topni obliki, medtem ko se TNF- α sintetizira in prenaša kot transmembranski protein. Njuna pot izločanja se začne z aktivacijo makrofaga preko vezave LPS na TLR4 ali vezave IFN- γ na IFNGR [9]. Najprej se oba citokina lokalizirata ob GA in se potem prenašajo v klatrinskih veziklih, ki vsebujejo γ -adaptin. Po odcepljanju veziklov z IL-6 in TNF- α od TGN, potujejo proti celični periferiji in so uravnavani s SNARE proteini Vti1b, sintaksinom 6 in 7, zlijejo se v večje reciklirajoče endosome, v katerih se posamezni citokini ločijo tako, da se vsak lokalizira v specifični regiji endosoma. Ta endosom se potem loči v več veziklov, ki se zlijejo s plazemsko membrano [44, 45].

5.1.2 REGULIRANA SEKRECIJA

Po drugi strani imajo, eozinofilci, bazofilci, nevtrofilci, naravne celice ubijalke, mastociti ter T-celice možnost izločanja citokinov z regulirano sekrecijo, ki omogoča kontrolirano, od dražljaja- odvisno izločanje citokinov in ostalih faktorjev shranjenih v posebnih kompartmentih. V kanonični regulirani sekretorni poti se določen tovor usmerja v pakiranje v sekretorne granule, ko se sprocesa v GA. Tudi tukaj je sekrecija inicirana preko aktivacije imunske celice in se lahko sproži na več načinov. Prvi je, da se zgodi popolna fuzija sekretornih granul s plazemsko membrano, ki se tudi sproži ob dvigu koncentracije citosolnega kalcija. Popolna fuzija s plazemsko membrano vodi v nastanek in razširitev fuzijske pore [45, 46]. Drugi način je delna degranulacija (PMD), pri katerem se tovor v granulah prenaša postopoma, na način da se majhni sekretorni vezikli s točno določenim tovorom odcepljajo od tistih granul in potujejo proti plazemski membrani. Ta mehanizem je posebej pomemben pri izločanju raznolikih citokinov in faktorjev, med katerimi določeni imajo medsebojno nasproten učinek [47]. Tretji način je sestavljena eksocitoza, pri kateri se različne sekretorne granule zlijejo skupaj ob plazemski membrani in se potem kot večja granula fuzirajo v plazemsko membrano [48].

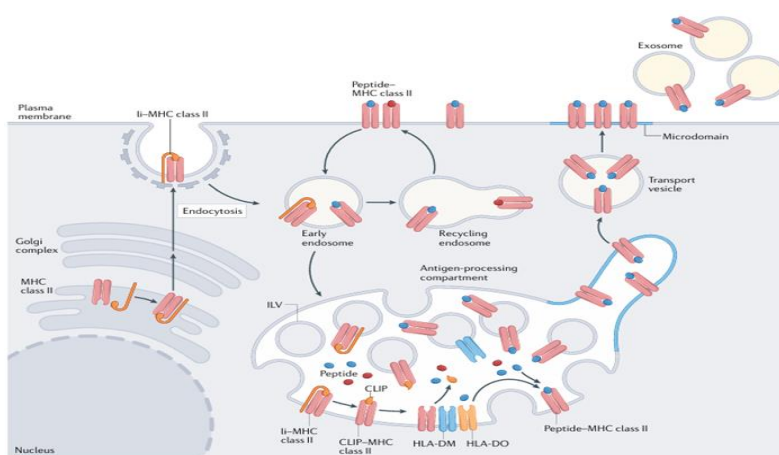
5.2 FAGOCITOZA

Poleg konstitutivne sekretorne poti, pri makrofagih še en pomemben proces vključuje dinamiko plazemske membrane, fagocitoza. Fagocitoza se začne, ko se z IgG opsonizirani delci vežejo na Fc- γ receptorje (Fc γ R) na površini makrofagov, kar povzroči gručenje receptorjev in sproži signalizacijo prek fosforilacije motivov ITAM na citosolni strani Fc γ R. Potem pride do aktivacije družine Src in Syk kinaz, kar aktivira PLC- γ , fosfoinozolid-3-kinazo (PI3K) in majhne GTPaze, kot so Rac1 in Cdc42. PLC γ hidrolizira PIP2 v IP3 in DAG, ki povzročijo efluks kalcijevih ionov iz ER in aktivacijo PKC, hkrati pa PI3K pretvori

PIP2 v PIP3, ki pritegne Akt. GTPaza Cdc42 aktivira protein WASP in Rac1 aktivira kompleks WAVE, aktivna WAVE in WASP se vežeta na kompleks Arp2/3 in ga aktivirata. Arp2/3 se veže ob strani starševskega aktinskega filameta in omogoči nastanek novega filameta, kar zagotavlja osnovo za hitro razvejanje aktina. Da bi se zagotovila dodatna površina membrane za razširitev psevdopodijev, fagocit sproži fokalno eksocitozo. V procesu fokalne eksocitoze se reciklirajoči endosomi, ki so označeni z Rab11 in VAMP3, zlijejo s plazmalemo ob ustreznem območju raztezanja psevdopodijev, lokalizirano zlitje se odvija preko lokalizacije PIP₃ na območjih razvejanja psevdopodijev. Ko fagosom popolnoma obkroži delec, dinamin sproži odcepitev membrane. Nastali fagosom se potem v fagocitu združi najprej z zgodnjimi in potem endosomi ter lizosomi, ki zagotovijo nizek pH in hidrolitične encime za razgradnjo fagocitiranega delca oz. patogena [49, 50].

5.3 PREDSTAVITEV ANTIGENA

Fagociti so prav tako APC., kar pomeni, da na svoji membrani izražajo komplekse MHCII, prek katerih prezentirajo tuje antigene T celicam pomagalkam kar sproži njihovo aktivacijo, diferenciacijo in proliferacijo. Ko se patogen fagocitira (makrofagi) ali endocitira (B celice, dendritične celice), se nastali fagosom združi najprej z endosomom in potem z lizosomom. Po združitvi, V tip ATP-azne protionske črpalke lizosoma zakisa lumen fagosoma, kar aktivira katepsine B, L, S in D, ki razgradijo patogen na manjše peptide. V GER je na verigi α in β kompleksa MHCII vezana invariantna veriga, da se prepreči prezgodnja vezava peptida na MHCII. Kompleks se potem prenese v GA preko vezikularnega transporta, uravnavanega predvsem z adapterskim proteinom 2 (AP-2). Iz GA se formira pozni endosomski MHCII kompartment (MIIC), v MIIC protein CLIP odstrani invariantno verigo ter ob zlitju MIIC s poznim fagosomom, HLA-DM uravnava uvrstitev antigenskega peptida v žleb MHCII. Na tej točki se vezikli s pripravljenimi MHCII prenesejo preko mikrotubulov do plazemske membrane z Rab11 in proteini SNARE ter z eksocitozo na površino APC [51, 52].



Slika 6: Procesiranje in sekretorne poti antigena na MHCII [17].

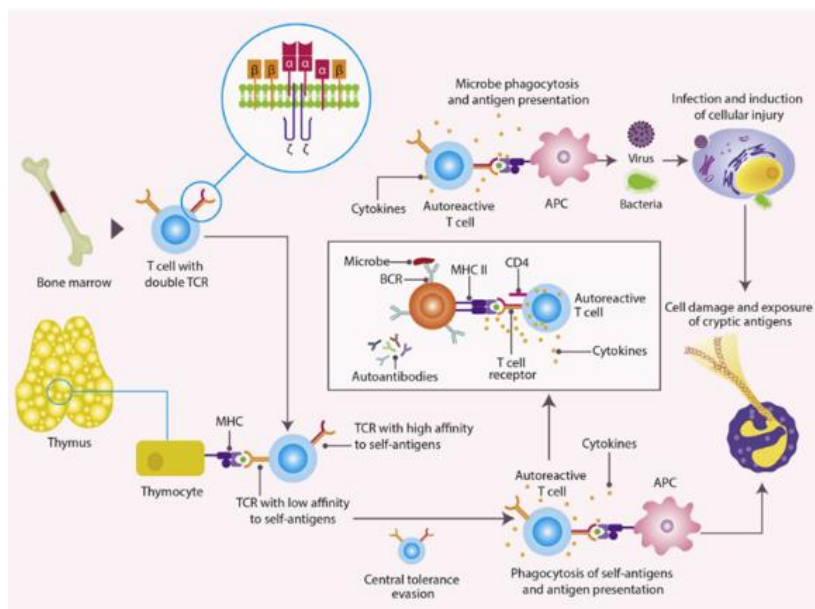
6 PATOLOGIJA

6.1 AVTIMUNOST

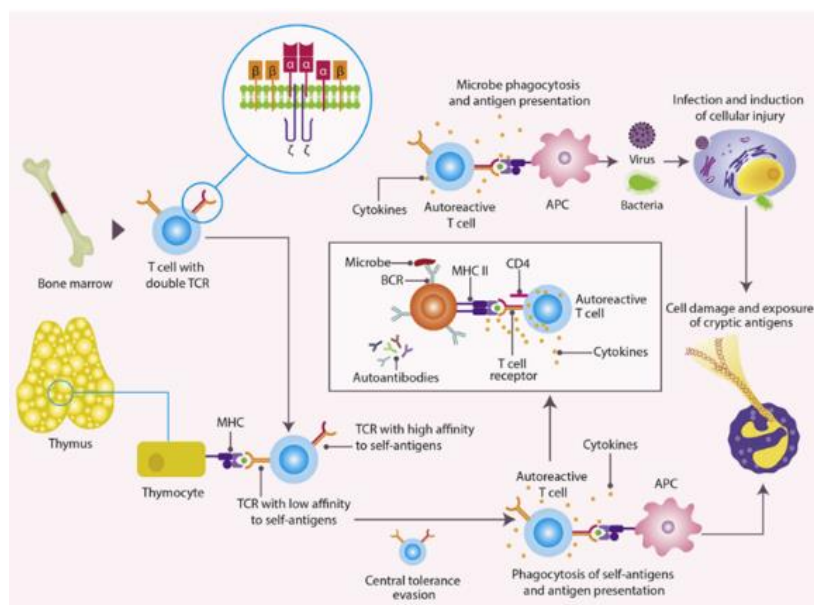
V sklopu avtoimunosti poznamo veliko klinično heterogenih bolezni, ki si delijo podobne imunopatogene mehanizme in dejavnike tveganja. Zanje je značilno, da imunski sistem ni sposoben razlikovati med tujimi in telesu lastnimi antigeni (avtoantigeni). Pri procesu avtoimunosti sodelujejo avtoprotitelesa in avtoreaktivni limfociti, ki med zorenjem uidejo kontrolnim točkam imunskega sistema, namenjenih eliminaciji avtoreaktivnih limfocitov (slika 7) [53, 54]. Približno 3-10 % splošne populacije ima vsaj eno avtoimunsko bolezen, med njimi jih ima kar 5-10 % še drugo avtoimunsko bolezen. Večina obolelih je ženskega spola. Nekatere avtoimunske bolezni so specifične za določen organ, druge so sistemske [53, 56].

Glavni efekt avtoprotiteles je citotoksično uničenje celic z vezavo na njihovo površino, kar sproži lizo celice. Najbolj pogost mehanizem citotoksičnosti je aktivacija komplemента in/ali od protiteles odvisna celično-posredovana citotoksičnost (ADCC), pri kateri posredujejo naravne celice ubijalke. Avtoprotitelesa lahko z vezavo na membranske receptorje aktivirajo ali blokirajo določene signalne poti [53].

Avtoreaktivni citotoksični limfociti T z napačno prepoznavo telesu lastnih celic sprožajo njihovo lizo tako, da izločajo citotoksične granule (s perforinom in grancimom B) in aktivacijo Fas-Fas ligandov (inducirana apoptoza in sproščanje citokinov), kar povzroči poškodbo tkiv [53].



Slika 7: Mehanizmi izmikanja avtoreaktivnih limfocitov T centralni toleranci in razvoj avtoimunosti kot posledica molekulske mimikrije. Limfociti T iz kostnega mozga lahko na površini izražajo enega ali dva tipa TCR, kar pripomore pri izogibanju centralni toleranci. Aktivacijo avtoreaktivnih limfocitov T stimulirajo tuji ali telesu lastni antigeni, ki jih prezentirajo antigen prezentirajoče celice (APC). To pospeši nastajanje avtoprotiteles. Tudi limfociti B lahko prezentirajo antigene avtoreaktivnim limfocitom T, kar stimulira nastajanje citokinov in povzroča poškodbo tkiv. TCR: T-celični receptor, BCR: B-celični receptor, APC: antigen-prezentirajoče celice, MHC: poglobitveni histokompatibilnostni kompleks [2].



Slika 7 8: Mehanizmi izmikanja avtoreaktivnih limfocitov T centralni toleranci in razvoj avtoimunosti kot posledica molekulske mimikrije. Limfociti T iz kostnega mozga lahko na površini izražajo enega ali dva tipa TCR, kar pripomore pri izogibanju centralni toleranci. Aktivacijo avtoreaktivnih limfocitov T stimulirajo tuji ali telesu lastni antigeni, ki jih prezentirajo antigen prezentirajoče celice (APC). To pospeši nastajanje avtoprotiteles. Tudi limfociti B lahko prezentirajo antigene avtoreaktivnim limfocitom T, kar stimulira nastajanje citokinov in povzroča poškodbo tkiv. TCR: T-celični receptor, BCR: B-celični receptor, APC: antigen-prezentirajoče celice, MHC: poglobitni histokompatibilnostni kompleks [2].

Na razvoj avtoimunosti imajo vpliv genetski, epigenetski in okolijski dejavniki (prehrana, mikrobiota, infekcije, ksenobiotiki, zdravila, hormoni, UV svetloba itd.) [53, 54]. Pri infekcijah gre za mehanizem molekulske mimikrije (slika 1). Ta se pojavi, ko podobnost med tujimi in telesu lastnimi peptidi sproži aktivacijo avtoreaktivnih limfocitov B in T [53, 54]. S tem procesom se želijo mikroorganizmi izogniti gostiteljevemu imunskemu odzivu med infekcijo. Z razvojem avtoimunosti so asociirane infekcije z virusom gripe, citomegalovirusom (CMV), virusom herpes simplex, virusom Epstein-Barr, virusom hepatitisa E, bakterijo *Campylobacter jejuni* in drugimi. Molekulska mimikrija je lahko povezana tudi z drugimi faktorji – določene kemikalije, prehranski aditivi in zdravila [54].

V nadaljevanju sledi kratek opis dveh bolj razširjenih avtoimunskih bolezni, kjer so tarče imunskega sistema membranski proteini ali lipidi.

- **Gravesova bolezen:** Gre za avtoimunsko bolezen ščitnice, ki se kaže kot hipertiroidizem. Karakteristična tarča avtoprotiteles je tirotropinski receptor (TSH receptor), z G-proteinom sklopljen receptor glikoproteinskih hormonov. Vezava avtoprotitelesa povzroči konstitutivno stimulacijo TSHR in z njem povezanih signalnih poti [55].
- **Sistemska lupus eritematozus (SLE):** SLE je kronična sistemska vnetna bolezen, za katero je bolj dovzetna ženska populacija. Zanj so značilna avtoprotitelesa proti nukleinskim kislinam in z njimi povezanim proteinom [56-58]. Približno 40 % bolnikov razvije tudi protitelesa proti fosfolipidom, ki so sicer značilna za antifosfolipidni sindrom [57]. Zaradi sistemske narave bolezni je prizadetih več

organov – koža, sklepi, ledvice, srce in možgani. Pomembno vlogo ima tudi signalizacija s TCR, ki poteka na lipidnih raftih. Akumulacija slednjih inducira povečano fosforilacijo in širjenje signala [58, 59].

6.2 PREOBČUTLJIVOSTNE REAKCIJE

Preobčutljivostne reakcije razdelimo na štiri tipe:

- Tip I – takojšnja preobčutljivost, ki jo posredujejo protitelesa tipa IgE proti specifičnim alergenom vezanim na visokoafinitetni receptor FcεRI na površini mastocitov in bazofilcev, kar sproži degranulacijo vnetnih mediatorjev (na začetku predvsem tistih, ki so lipidnega izvora, ki nastanejo – levkotrienov in prostagladinov, ki nastanejo iz arahidonske kisline [60, 61]).
- Tip II – posredujejo jo protitelesa tipa IgG in IgM, ki se vežejo na površine telesu lastnih celic in sprožajo ciotoksičnost z aktivacijo komplemента; IgG se lahko vežejo na receptorje na naravnih celicah ubijalkah, ki sproščajo granule s perforinom in grancimom, in na fagocitih za aktivacijo fagocitoze; primer so tudi nekatere avtoimunske bolezni.
- Tip III – vključuje nastanek imunskih kompleksov ob vezavi protiteles tipa IgG in IgM na antigen, ki se akumulirajo v tkivih, aktivirajo komplement in povzročajo poškodbe tkiv; primer je tudi sistemski lupus erimatozus.
- Tip IV – zakasnen odziv, ki ga posredujejo limfociti T; pri enem od podtipov se sproščajo tudi grancim, perforin in granulizin za tvorbo por v membranah tarčnih celic; primeri bolezni so kontaktni dermatitis, astma in alergijski rinitis [62].

6.3 IMUNSKA POMANJKLJIVOSTI

Imunske pomanjkljivosti (IP) se razvijejo zaradi motenih ali odsotnih komponent imunskega sistema. Razdelimo jih na primarne in sekundarne. Primarne so genetskega izvora in so lahko asociirane z limfociti T, limfociti B, komplementnim sistemom, fagociti ali imunoglobulini. Razvoj sekundarnih IP pa je posledica okolijskih dejavnikov – infekcije (virus HIV), debelost, podhranjenost ter uživanje nekaterih zdravil [56],[63].

V nadaljevanju sta navedena dva primera primarnih IP, pri katerih so prizadeti membranski proteini ali receptorji.

- Imunska pomanjkljivost z X-kromosomom povezane Burtonove tirozinske kinaze: Bolniki imajo mutacijo v genu, ki zapisuje za Burtonovo tirozinsko kinazo (nereceptorsko tirozinsko kinazo). Ta je del signalne poti povezane z BCR. Mutacija vodi v popolno odsotnost limfocitov B in plazmatk [56],[63].
- Težka sestavljena imunska pomanjkljivost (SCID): Skupina bolezni, kjer je okvarjena funkcija limfocitov B in T. Najbolj pogosta oblika je mutacija zapisa za gama podenoto receptorja za interleukin-2. Poleg tega v med SCID uvrščamo tudi okvare Janus kinaze 3 (JAK3), mutacije v genu za aktivacijo rekombinaze (RAG-1/2), ki je ključna za nastanek funkcionalnih imunoglobulinov in TCR, okvare v zapisu za transmembransko fosfatazo CD45 ter druge [56].

6.4 MANIPULACIJE PATOGENOV

Patogeni so razvili različne mehanizme, s katerimi so sposobni modulirati delovanje imunskega sistema. Prvi primer je sproščanje toksinov, ki tvorijo transmembranske pore (npr. pnevmolizin, streptolizin O, α -hemolizin, enterolizin, itd.). Posledično lahko membrano nenadzorovano prehajajo intracelularni proteini, ioni in metaboliti [64, 65].

Nekatere bakterije, predvsem po Gramu negativne, so sposobne tvorbe zunaj-membranskih veziklov, ki vključujejo nereplikativno vsebino bakterij, in sodelujejo pri patogenezi. Sposobni so vstopanja v celice gostitelja preko lipidnih raftov in s klatrinom, kalveolinom ali dinaminom posredovano endocitozo [66]. Druge bakterije z vplivanjem na sestavo lipidnih raftov na membranah fagosomov preprečujejo fuzijo fagosoma z lizosomom (*Brucella*). Določene bakterijske vrste med drugim izločajo proteaze, ki cepijo markerje avtofagije za fuzijo lizosoma z avtofagosomom [65].

Tudi virusi imajo mnogo mehanizmov za manipulacijo z gostiteljevimi membranami in signalizacijo. Nekateri so sposobni zmanjšati izražanje molekul MHC I na površini okuženih celic in tako onemogočajo prepoznavo citotoksičnim limfocitom T (citomegalovirus, HIV). Virus hepatitisa C pa je na primer zmožen vgradnje gostiteljskih membranskih lipidov in proteinov v lastno ovojnico za posnemanje gostiteljskih celic [56].

7 ZDRAVLJENJE

7.1 LIPIDNI RAFTI IN BOLEZNI

Lipidni rafti so specializirane mikrodomene v celičnih membranah, za katere je značilna visoka koncentracija holesterola in sfingolipidov [67, 68]. V lipidnih raftih lahko najdemo številne proteine, ki regulirajo predstavitev antigenov, izločanje citokinov in aktivacijo limfocitov B in T. Napake v omenjenih signalinih procesih pa lahko vodijo v razvoj avtoimunih obolenj, kot je npr. diabetes tipa 1 [53]. Zaradi svoje vloge pri patologiji avtoimunih bolezni se lipidni rafti raziskujejo kot potencialne tarče za zdravljenje. V osnovi obstajata dva načina zdravljenja, s katerima lahko vplivamo na dinamiko in remoduliranje lipidnih raftov. Prvi je regulacija količine lipidov, ki raftom zagotavljajo stabilnost – holesterola in sfingomielina. Drugi način pa je z regulacijo reorganizacije citoskeleta, saj so strukturne in funkcijske lastnosti lipidnih raftov odvisne od njihove interakcije s komponentami citoskeleta [67 – 69].

7.2 REGULACIJA DELEŽA HOLESTEROLA V MEMBRANAH

Koncentracijo holesterola v lipidnih raftih lahko reguliramo na več različnih načinov. Holesterol lahko iz raftov odstranimo fizično, s pomočjo sequestrantov, kot so npr. ciklodekstrini (najpogosteje uporabljen je metil β -ciklodekstrin). Ciklodekstrini spodbudijo internalizacijo holesterola v celice in omogočajo njegov prenos iz poznih endosomov v lizosome, kjer je mogoče njegovo nadaljnje procesiranje. [vir 1, sprintan članek]. Tovrstno zdravljenje s pridom uporablja tudi pri boleznih skladiščnja

holesterola, kot je bolezen Niemann-Pick tipa C. Statini so kompetitivni inhibitorji HMG-CoA reduktaze, ključnega encima pri biosintezi holesterola [67].

7.3 REGULACIJA DELEŽA SFINGOLIPIDOV V MEMBRANAH

Poleg holesterola so sfingolipidi esencialne komponente lipidnih raftov. Za bolezen sistemski lupus eritematozus so značilni deformirani in delokalizirani lipidni rafti na CD4⁺ limfocitih T. To vodi v nepravilno delovanje T-celičnega receptorja. Razlog za to najverjetneje tiči v povečani količini glikosfingolipidov, kot so globotriaolceramid, gangliozida GM1 in laktozilceramid, v membrane limfocitov. V in vitro študijah so pokazali, da inhibitor sinteze glikosfingolipidov N-butildeoksinojirimicin lahko popravi okvarjene in napačno locirane lipidne rafte na CD4⁺ limfocitih T. Omenjen inhibitor je odobren za zdravljenje bolezni Niemann-Pick tipa C in Gaucherjeve bolezni tipa 1 [53, 67, 69].

7.4 LIPIDNI RAFTI IN VIRUSNE OKUŽBE

Lipidni rafti predstavljajo mesto vstopa številnih virusov (HIV, Ebola, virus gripe...), tam se namreč na istem mestu nahaja mnogo receptorskih proteinov, ki predstavljajo vezavna mesta za virusne delce. Prav tako pa lipidni rafti predstavljajo "platformo" za zorjenje in sestavljanje virusnih delcev in na koncu točko izhoda. Dokazano je, da je mogoče s porušenjem lipidnih raftov inhibirati proliferacijo virusov, kot so virus Ebole, Marburg, HIV, virus hepatitis C... vendar pa trenutno še ne obstaja protivirusno zdravilo, ki bi temeljilo na opisanem mehanizmu delovanja. Eden izmed mehanizmov po katerem lahko to dosežemo je že omenjena sekvestracija oz. inhibicija sinteze holesterola in sfingolipidov [67, 68].

8 VIRI IN LITERATURA

- [1] A. K. Abbas, A. H. Lichtman, S. Pillai: Cellular and molecular immunology. 10. izd., Philadelphia, Pennsylvania: Elsevier 2022, str. 63–79.
- [2] D. Li, M. Wu: Pattern Recognition Receptors in Health and Diseases. Signal Transduction Targeted Ther. 2021, 6, 1–24.
- [3] K. A. Fitzgerald, J. C. Kagan: Toll-like Receptors and the Control of Immunity. Cell. 2020,180,1044–1066.
- [4] A. Ciesielska, M. Matyjek, K. Kwiatkowska: TLR4 and CD14 trafficking and its influence on LPS-induced pro-inflammatory signaling. Cell. Mol. Life Sci. 2021,78, 1233–1261.
- [5] B. S. Park, D. H. Song, H. M. Kim, B.-S. Choi, H. Lee, J.-O. Lee: The structural basis of lipopolysaccharide recognition by the TLR4–MD-2 complex. Nature. 2009, 458(7242), 1191–1195.
- [6] Toll-like Receptor-4 (TLR4) Signalling Pathways. BioRender Science Templates. <https://www.biorender.com/template/toll-like-receptor-4-tlr4-signalling-pathways> (pridobljeno 21. maj 2025)
- [7] Janeway CA Jr, Travers P, Walport M, et al. Immunobiology: The Immune System in Health and Disease. 5th edition. New York: Garland Science; 2001. Evolution of the innate immune system. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK27138/>
- [8] Bajgar A, Krejčová G. On the origin of the functional versatility of macrophages. Front Physiol. 2023;14: 1128984. doi:10.3389/fphys.2023.1128984
- [9] Behzadi P, García-Perdomo HA, Karpiński TM. Toll-Like Receptors: General Molecular and Structural Biology. Niedźwiedzka-Rystwej P, editor. Journal of Immunology Research. 2021;2021: 1–21. doi:10.1155/2021/9914854
- [10] Leulier F, Lemaitre B. Toll-like receptors — taking an evolutionary approach. Nat Rev Genet. 2008;9: 165–178. doi:10.1038/nrg2303
- [11] Boehm T, Swann JB. Origin and Evolution of Adaptive Immunity. Annu Rev Anim Biosci. 2014;2: 259–283. doi:10.1146/annurev-animal-022513-114201
- [12] Flajnik MF, Kasahara M. Origin and evolution of the adaptive immune system: genetic events and selective pressures. Nat Rev Genet. 2010;11: 47–59. doi:10.1038/nrg2703

- [13] Deng L, Luo M, Velikovsky A, Mariuzza RA. Structural Insights into the Evolution of the Adaptive Immune System. *Annu Rev Biophys.* 2013;42: 191–215. doi:10.1146/annurev-biophys-083012-130422
- [14] Litman GW, Cannon JP, Dishaw LJ. Reconstructing immune phylogeny: new perspectives. *Nat Rev Immunol.* 2005;5: 866–879. doi:10.1038/nri1712
- [15] Pancer Z, Cooper MD. THE EVOLUTION OF ADAPTIVE IMMUNITY. *Annu Rev Immunol.* 2006;24: 497–518. doi:10.1146/annurev.immunol.24.021605.090542
- [16] Flajnik MF. A cold-blooded view of adaptive immunity. *Nat Rev Immunol.* 2018;18: 438–453. doi:10.1038/s41577-018-0003-9
- [17] Perdue, Samuel Scott, Humphrey, John H.. "immune system". *Encyclopedia Britannica*, 22 May. 2025, <https://www.britannica.com/science/immune-system>. Accessed 24 May 2025.
- [18] Zhang T, Hu W, Chen W. Plasma membrane integrates biophysical and biochemical regulation to trigger immune receptor functions. *Front Immunol.* 2021;12:613185. doi:10.3389/fimmu.2021.613185.
- [19] Sezgin E, Levental I, Mayor S, Eggeling C. The mystery of membrane organization: composition, regulation and roles of lipid rafts. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2017;18(6):361–374. doi:10.1038/nrm.2017.16.
- [20] Varshney P, Yadav V, Saini N. Lipid rafts in immune signalling: current progress and future perspective. *Immunology.* 2016;149(1):13–24. doi:10.1111/imm.12617.
- [21] Rumiano L, Manzo T. Lipids guide T cell antitumor immunity by shaping their metabolic and functional fitness. *Trends Endocrinol Metab.* 2024;35(12):100–112. doi:10.1016/j.tem.2024.11.014
- [22] Zhang T, Hu W, Chen W. Plasma membrane integrates biophysical and biochemical regulation to trigger immune receptor functions. *Front Immunol.* 2021;12:613185. doi:10.3389/fimmu.2021.613185.
- [23] Pinho SS, Alves I, Gaifem J, Rabinovich GA. Immune regulatory networks coordinated by glycans and glycan-binding proteins in autoimmunity and infection. *Cell Mol Immunol.* 2023;20(10):1101–1113. doi:10.1038/s41423-023-01074-1.
- [24] Pinho SS, Alves I, Gaifem J, Rabinovich GA. Immune regulatory networks coordinated by glycans and glycan-binding proteins in autoimmunity and infection. *Cell Mol Immunol.* 2023;20(10):1101–1113. doi:10.1038/s41423-023-01074-1.

- [25] Janeway CA Jr, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ. The generation of lymphocyte antigen receptors. In: *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease*. 5th ed. New York: Garland Science; 2001. Chapter 4. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK27130/>
- [26] Varshney P, Yadav V, Saini N. Lipid rafts in immune signalling: current progress and future perspective. *Immunology*. 2016;149(1):13–24. doi:10.1111/imm.12617.
- [27] Yuseff MI, Lankar D, Lennon-Duménil AM. Dynamics of membrane trafficking downstream of B and T cell receptor engagement: impact on immune synapses. *Traffic*. 2009 Jun;10(6):629–636. doi:10.1111/j.1600-0854.2009.00913.x.
- [28] Wu W, Shi X, Xu C. Regulation of T cell signalling by membrane lipids. *Nat Rev Immunol*. 2016 Nov;16(11):690–701. doi:10.1038/nri.2016.103.
- [29] Sigismund S, Lanzetti L, Scita G, Di Fiore PP. Endocytosis in the context-dependent regulation of individual and collective cell properties. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2021 Sep;22(9):625–643. doi:10.1038/s41580-021-00375-5.
- [30] Shah K, Al-Haidari A, Sun J, Kazi JU. T cell receptor (TCR) signaling in health and disease. *Signal Transduct Target Ther*. 2021 Dec 13;6(1):412. doi:10.1038/s41392-021-00823-w.
- [31] Qin Z, Richter G, Schüler T, Ibe S, Cao X, Blankenstein T. B cells inhibit induction of T cell-dependent tumor immunity. *Nat Med*. 1998 May;4(5):627–630. doi:10.1038/nm0598-627.
- [32] Yuseff MI, Lankar D, Lennon-Duménil AM. Dynamics of membrane trafficking downstream of B and T cell receptor engagement: impact on immune synapses. *Traffic*. 2009 Jun;10(6):629–636. doi:10.1111/j.1600-0854.2009.00913.x.
- [33] Varshney P, Yadav V, Saini N. Lipid rafts in immune signalling: current progress and future perspective. *Immunology*. 2016 Sep;149(1):13–24. doi:10.1111/imm.12617.
- [34] Varshney P, Yadav V, Saini N. Lipid rafts in immune signalling: current progress and future perspective. *Immunology*. 2016 Sep;149(1):13–24. doi:10.1111/imm.12617.
- [35] Y. Shi, E. Sezgin, W. Chen: Editorial: The Role of Biomembranes and Biophysics in Immune Cell Signaling. *Front Immunol* 2021, 12.
- [36] T. Zhang, W. Hu, W. Chen: Plasma Membrane Integrates Biophysical and Biochemical Regulation to Trigger Immune Receptor Functions. *Front Immunol* 2021, 12.
- [37] W. Wu, X. Shi, C. Xu: Regulation of T cell signalling by membrane lipids. *Nat Rev Immunol* 2016, 16, 690–701.

- [38] T. Harder, D. Sangani: Plasma membrane rafts engaged in T cell signalling: new developments in an old concept. *Cell Communication and Signaling* 2009, 7, 21.
- [39] T. Taguchi, K. Mukai: Innate immunity signalling and membrane trafficking. *Curr Opin Cell Biol* 2019, 59, 1–7.
- [40] A. H. Courtney, W.-L. Lo, A. Weiss: TCR Signaling: Mechanisms of Initiation and Propagation. *Trends Biochem Sci* 2018, 43, 108–123.
- [41] J. M. Whitacre, J. Lin, A. Harding: T Cell Adaptive Immunity Proceeds through Environment-Induced Adaptation from the Exposure of Cryptic Genetic Variation. *Front Genet* 2012, 3.
- [42] J.-R. Hwang, Y. Byeon, D. Kim, S.-G. Park: Recent insights of T cell receptor-mediated signaling pathways for T cell activation and development. *Exp Mol Med* 2020, 52, 750–761.
- [43] E. M. Reuven, A. Fink, Y. Shai: Regulation of innate immune responses by transmembrane interactions: Lessons from the TLR family. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* 2014, 1838, 1586–1593.
- [44] A. P. Manderson, J. G. Kay, L. A. Hammond, D. L. Brown, J. L. Stow: Subcompartments of the macrophage recycling endosome direct the differential secretion of IL-6 and TNF α . *J Cell Biol* 2007, 178, 57–69.
- [45] E. H. Duitman, Z. Orinska, S. Bulfone-Paus: Mechanisms of cytokine secretion: A portfolio of distinct pathways allows flexibility in cytokine activity. *Eur J Cell Biol* 2011, 90, 476–483.
- [46] P. Kaminska, A. Tempes, E. Scholz, A. R. Malik: Cytokines on the way to secretion. *Cytokine Growth Factor Rev* 2024, 79, 52–65.
- [47] N. Abdellah, S. van Remoortel, O. Mohey-Elsaeed, M. Mustafa, Y. A. Ahmed, J. Timmermans, R. Buckinx: Neuropeptide AF Induces Piecemeal Degranulation in Murine Mucosal Mast Cells: A New Mediator in Neuro-Immune Communication in the Intestinal Lamina Propria? *Anat Rec* 2018, 301, 1103–1114.
- [48] L. A. Spencer, K. Bonjour, R. C. N. Melo, P. F. Weller: Eosinophil Secretion of Granule-Derived Cytokines. *Front Immunol* 2014, 5.
- [49] S. Gordon: Phagocytosis: An Immunobiologic Process. *Immunity* 2016, 44, 463–475.
- [50] J. W. Booth, W. S. Trimble, S. Grinstein: Membrane dynamics in phagocytosis. *Semin Immunol* 2001, 13, 357–364.

- [51] N. Pishesha, T. J. Harmand, H. L. Ploegh: A guide to antigen processing and presentation. *Nat Rev Immunol* 2022, 22, 751–764.
- [52] J. S. Blum, P. A. Wearsch, P. Cresswell: Pathways of Antigen Processing. *Annu Rev Immunol* 2013, 31, 443–473.
- [53] L. Wang, F. S. Wang, M. E. Gershwin: Human autoimmune diseases: A comprehensive update. *Journal of Internal Medicine*. Blackwell Publishing Ltd October 1, 2015, pp 369–395.
- [54] M. Rojas, P. Restrepo-Jiménez, D. M. Monsalve, Y. Pacheco, Y. Acosta-Ampudia, C. Ramírez-Santana, P. S. C. Leung, A. A. Ansari, M. E. Gershwin, J. M. Anaya: Molecular mimicry and autoimmunity. *Journal of Autoimmunity*. Academic Press December 1, 2018, pp 100–123.
- [55] H. Vargas-Uricoechea: Molecular Mechanisms in Autoimmune Thyroid Disease. *Cells*. MDPI March 1, 2023.
- [56] C. Dorresteyn Stevens, L. E. Miller: *Clinical Immunology and Serology : A Laboratory Perspective , Fourth Edition.*; E.A. Davis Company: Philadelphia, 2016.
- [57] P. L. Meroni, G. C. Tsokos: Editorial: Systemic lupus erythematosus and antiphospholipid syndrome. *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media S.A. 2019.
- [58] T. Katsuyama, G. C. Tsokos, V. R. Moulton: Aberrant T cell signaling and subsets in systemic lupus erythematosus. *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media S.A. May 17, 2018.
- [59] P. Varshney, V. Yadav, N. Saini: Lipid rafts in immune signalling: current progress and future perspective. *Immunology*. Blackwell Publishing Ltd September 1, 2016, pp 13–24.
- [60] E. Schauburger, M. Peinhaupt, T. Cazares, A. W. Lindsley: Lipid Mediators of Allergic Disease: Pathways, Treatments, and Emerging Therapeutic Targets. *Current Allergy and Asthma Reports*. Current Medicine Group LLC 1 July 1, 2016.
- [61] L. B. Fanning, J. A. Boyce: Lipid mediators and allergic diseases. *Annals of Allergy, Asthma and Immunology* 2013, 111, 155–162.
- [62] M. C. Dispenza: Classification of hypersensitivity reactions. *Allergy Asthma Proc* 2019, 40, 470–473.
- [63] A. Angel, J. Vaillant, A. Qurie: Immunodeficiency.

- [64] C. Dias, J. Nylandsted: Plasma membrane integrity in health and disease: significance and therapeutic potential. *Cell Discovery*. Springer Nature December 1, 2021.
- [65] S. Asrat, D. A. de Jesús, A. D. Hempstead, V. Ramabhadran, R. R. Isberg: Bacterial pathogen manipulation of host membrane trafficking. *Annual review of cell and developmental biology*. 2014, pp 79–109.
- [66] M. Kaparakis-Liaskos, R. L. Ferrero: Immune modulation by bacterial outer membrane vesicles. *Nature Reviews Immunology*. Nature Publishing Group June 27, 2015, pp 375–387.
- [67] Warda, Mohamad, et al. "Lipid Rafts: Novel Therapeutic Targets for Metabolic, Neurodegenerative, Oncological, and Cardiovascular Diseases." *Lipids in Health and Disease*, vol. 24, no. 1, 17 Apr. 2025.
- [68] Dmitri Sviridov, et al. "Targeting Lipid Rafts—a Potential Therapy for COVID-19." *Frontiers in Immunology*, vol. 11, 29 Sept. 2020.
- [69] Sviridov, Dmitri, et al. "Lipid Rafts as a Therapeutic Target." *Journal of Lipid Research*, vol. 61, no. 5, May 2020, pp. 687–695.