

Danilo VOJVODIĆ\*

## IMUNOLOGIJA IZMEĐU DOSTIGNUĆA I PERSPEKTIVE

**Sažetak:** Prvo priznanje i prva procena značaja imunog sistema došli su veoma rano, u 4. veku pre nove ere, od *Thucydida*, poznatog istoričara, političara i ratnog generala. On je bio prvi koji je opisao imunu osobu kao osobu koja se oporavila od bolesti (infekcije), koja je mogla da neguje zaražene, a da ne dobije bolest drugi put. Prva terapijska imunološka procedura bila je variolizacija (XVI vek), koja je dala *Sir Edwardu Jenneru* osnovu za vakcinaciju protiv velikih boginja (XVIII vek), kao prvu ikada manipulaciju imunološkim odgovorom u cilju izazivanja zaštite. U suštini, XX vek je doneo procvat imunologije, sa značajnom transformacijom od fundamentalne nauke do aplikativne medicinske procedure. Identifikacija antiseruma, fagocita, anafilakse, antitela, komponenti komplementa, krvnih grupa, različite populacije limfocita i kasnije HLA sistema, tehnologije monoklonskih antitela, prirodnih ćelija ubica, pa čak i idiotipske — antiidiotipske mreže, napravile su nezamisliv napredak u savremenoj medicini. Sva ova dostignuća su prepoznata kao ključni kamen-temeljac. Stoga nije iznenađujuće što su brojne nobelove nagrade dodeljene za imunološki napredak u ljudskoj biologiji i medicini, od *Emila fon Beringa*, *Mečnikova*, *Erliha*, *Riše*, *Bordea*, *Landštajnera*, *Burneta*, *Medavara*, *Edelmana*, *Portera*, *Benacerrafa*, *Dauseta*, *Snela* i mnogo više. Naravno, najuzbudljiviji uvid u imunološki mehanizam došao je iz najnovijih istraživanja u imunologiji raka. *Allison* i *Honjo*, ponovo dobitnici Nobelove nagrade, pokazali su da je ključna razmena informacija između tumorske ćelije, ćelije koja predstavlja antigen i tumor specifičnih T limfocita. Otkrili su da tumorske ćelije koriste fiziološke molekule membrane kao specifične kočnice, sposobne da indukuju inhibiciju tumora specifičnih T limfocita, čineći se zaštićenim od tekućeg imunološkog odgovora. Oni su takođe pokazali da monoklonska antitela na ovaj molekul PD-1 mogu u potpunosti da uklone inhibiciju tumora specifičnog T limfocita, što je omogućilo ogroman napredak u imunoterapiji solidnih tumora. Još jedno značajno otkriće učinilo je budućnost imunološke onkologije veoma svetlom. Korišćenjem tehnike molekularne biologije danas je moguće preneti deo antitela u T limfocit na način da T limfocit koristi delove antitela za prepoznavanje antigena kao

---

\* Danilo Vojvodić, Medicinski fakultet, Univerzitet odbrane, Beograd; načelnik Instituta za medicinska istraživanja, Vojnomedicinska akademija (VMA), Beograd

sopstveni receptor za aktiviranje. Ovaj pristup stvara mogućnost da se bilo koje sintetičko napravljeno monoklonsko antitelo koristi kao specifični aktivirajući receptor i da se zaobiđe HLA ograničeno prepoznavanje T limfocita. Ovi T limfociti sa himernim antigenskim receptorom (CAR) su dostupna budućnost terapije raka, omogućavajući individualnu terapiju. Pored najatraktivnije tumorske imunologije, postoji impresivan napredak u oblasti imunološke dijagnostike i terapije autoinflamatornih i degenerativnih bolesti/poremećaja, sa fokusom na neuroinflamaciju i neurodegeneraciju.

Konačno, osnovna istraživanja procesa regeneracije kod beskičmenjaka ili nižih kičmenjaka pokazala su da su imunološke sile ključne u regulaciji mirovanja, aktivnosti, razmnožavanja matičnih ćelija, pa čak i u dediferencijaciji ćelija ka mlađim fazama i ponovo matičnim ćelijama. Demonstracija da je kontrolisana dediferencijacija fagocita u matične ćelije ključni korak u potpunoj regeneraciji udova guštera otvorila je novo područje. Dakle, aktuelna perspektiva imunologije je modulacija starenja i regeneracija oštećenih tkiva.

Pojam „imunosti“ kao otpornosti na infekciju, prvi put se spominje negde između 500 i 400 godina p. n. e. Prvi koji je upotrebio ovaj izraz, ili preciznije definiciju, bio je *Thucydide*, atinski istoričar i general (Slika 1) (1). U vreme epidemije kuge, masovnog obolevanja i umiranja, *Thucydide* je primetio da osobe koje su prebolele infekciju mogu pomagati i negovati obolele bez opasnosti da se opet inficiraju. *Thucydide* je te osobe nazvao imunim, čime je rođen pojam kojim se uopšte opisuje otpornost na infekciju.

Imunologija je morala da čeka skoro 2000 godina do prve praktične primene. Kinezi su bili prvi koji su upotreбили infekt ili njegove delove kako bi indukovali i postigli protektivnu imunost / otpornost kod zdravih osoba izloženih toj infekciji. Pisani dokumenti iz XV veka opisuju „variolizaciju“ kao

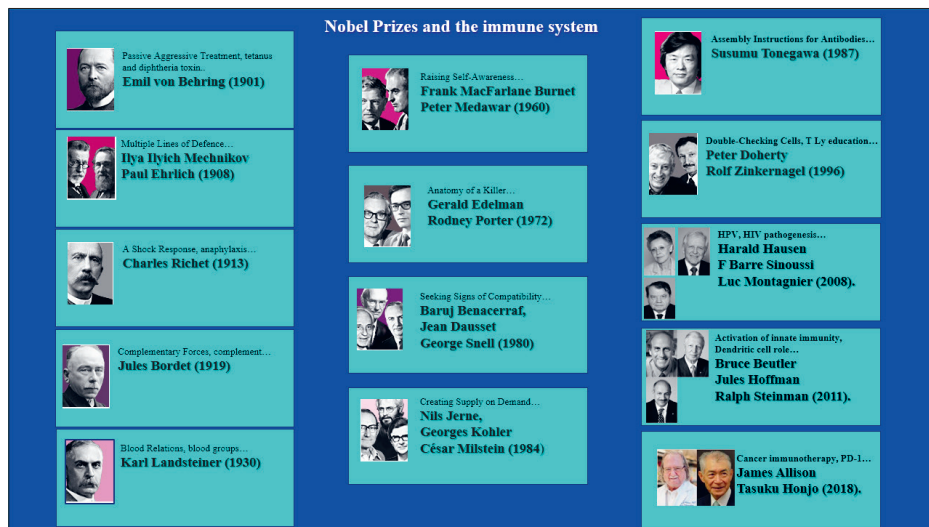


Slika 1. *Thucydide*, pojam imunosti



Slika 2. Variolacija i vakcinacija

metod zaštite od infekcije velikih boginja, putem „nazalnog udisanja“ suvo-ga praha, koji je sadržavao viruse velikih boginja (2). Materijal je dobijan iz krasta obolelih. U XVI i XVII veku ovakav način imunizacije protiv velikih boginja postao je prilično raširen u Kini. Svakako iznenađuje standardizacija metode, koja je podrazumevala izbor pacijenata, pripremu i primenu materijala. Naime, kraste su uzimane od pacijenata obolelih od velikih boginja sa blagom kliničkom slikom jer se time sprečavala infekcija teškog oblika kod tretiranih osoba. Materijal je uziman od tri ili četiri kraste, koje su nakon sušenja mešane sa žitom i/ili mošusom i čuvane u pamučnim kr-pama. Neposredno pre primene ovako pripremljeni materijal bi bio pakovan u srebrne lule, kojima su ga lekari izduvavali u nozdrvu tretirane osobe. Prva primena „variolizacije“ u zapadnom delu sveta zabeležena je u Londonu 1700. godine, kada su dva lekara demonstrirala ovaj metod, zahvaljujući iskustvima boravka u Kini, kao zaposlenih u *East India Company* (3). Drugačiji metod variolizacije primenjivan je na teritoriji Otomanske imperije i Africi. Metod nazvan *Dak el Jedri* koristio je tečnost iz pustuli obolelih, koja se nanosila na površinski rez (skarifikat) zdrave osobe. Engleski lekar John Fewster pokazao je 1768. godine da prethodna infekcija kravljim boginjama (*cowpox*) čini osobu otpornom na infekciju velikim boginjama, što je dalo osnova da se materijal sa životinja koristi za imunizaciju ljudi, kao mnogo bezbedniji izvor (4). Edward Jenner, engleski lekar, prvi put je primenio životinjski materijal krava obolelih od *smallpox* infekcije na skarifikatu napravljenom na nadlaktici zdravog osmogodišnjeg dečaka 1796. godine, nazvavši



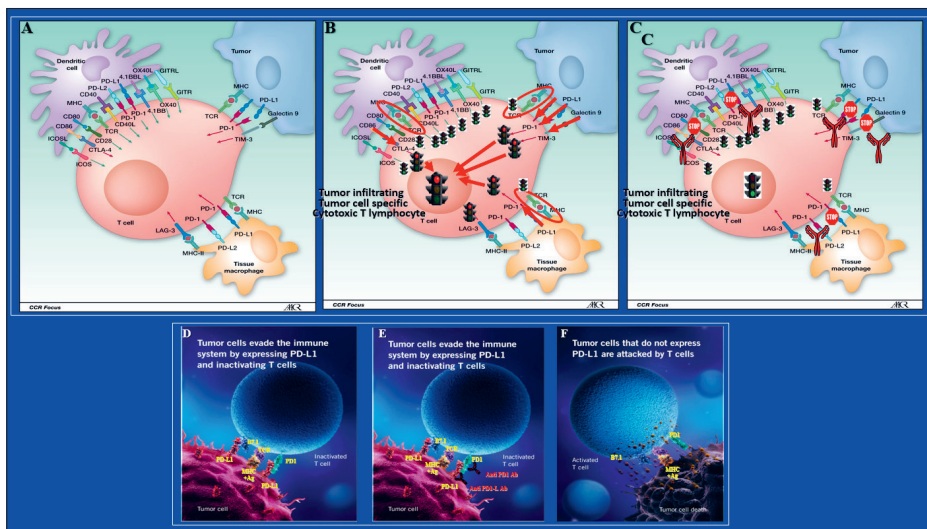
Slika 3. Nobelove nagrade u medicini dodeljene u oblasti imunologije

ovaj metod vakcinacijom (5). Nakon što je objavio opis sopstvenog metoda, vakcinacija je opšteprihvaćena (Slika 2). Uvažavajući značaj koji je vakcinacija donela u kontroli epidemije velikih boginja, pogotovo jednostavan princip same metode, praktično sve sledeće procedure imunizacije protiv difterije, malih boginja, rubele i drugih infekata nazvane su „vakcinacijom“.

Pravi procvat imunologija je doživela u XX veku. Svi pronalasci, od identifikacije antitoksina, fagocitnih ćelija imunskog sistema, sistema proteina komplementa, identifikacije T i B limfocita, antitela, pa sve do prepoznavanja kritičnih molekula u komunikaciji tumorskih ćelija i tumora specifičnih limfocita, sa terapijskim mogućnostima uklanjanja inhibitornih uticaja tumor / tumor infiltrišući limfociti, predstavljala su kritična mesta u razvoju savremene biologije i medicine. Često je značaj ovih dostignuća procenjen i prepoznat kao suštinski, što je rezultovalo velikim brojem nobelovih nagrada za medicinu, od *Emila von Behringa*, *Mechnikova*, *Paula Ehrlicha*, *Richeta* pa sve do *Allisona* i *Honjoa* (7) (Slika 3).

Skorašnja otkrića predstavljaju identifikaciju takozvane plastičnosti limfocita T, sopsobnosti ovih ćelija da, nakon prepoznavanja određenog patogena, ispolje veliki broj različitih funkcionalnih stanja, kao što je produkcija različitih profila citokina, medijatora koji kritično regulišu imunski odgovor (8, 9). Naime, u zavisnosti od potrebe, T limfociti specifični za isti patogen mogu biti Th1, Th2, Treg, Th17, što će uticati na kontrolisanu upalu, uklanjanje, inhibiciju aktivacije ili regeneraciju napadnutoga tkiva ili organa (Slika 4A). S druge strane, monoklonska antitela su ušla u široku dijagnostičku





Slika 6. (A) Interakcija limfocita T, antigen prezentujuće ćelije i tumorske ćelije; (B) Inhibitorni signali (crveno), koji sprečavaju eliminaciju tumorskih ćelija od citotoksičnih limfocita T; (C) Uklanjanje inhibitornih signala monoklonskim antitelima protiv PD-L1/PD-1 molekula; (D) Molekularni parovi uključeni u komunikaciju limfocita T i tumorskih ćelija; (E) Vezivanje monoklonskih antitela za PD-L1/PD-1 molekule; (F) Eliminacija tumorskih ćelija posredovana limfocitima T nakon uklonjenih inhibitornih signala

maligne ćelije ispoljavaju niz inhibitornih uticaja na zdrave limfocite T, koji infiltrišu tumorsko tkivo, mada bez preciznog razumevanja mehanizama te inhibicije (Slika 5A, tumor, infiltrišući leukociti obojeni zlatno žuto).

Uprkos ranijim shvatanjima da odgovor na tumor izostaje zbog nedovoljnog prisustva imunskih ćelija, tumor infiltrišu praktično svi tipovi leukocita (Slika 5B) (12). Međutim, ključna razmena informacija odigrava se na nivou komunikacije svega tri tipa ćelija: tumorske ćelije, antigen prezentujuće ćelije i citotoksičnih limfocita T (Slika 5C). Citotoksični limfocit T prepoznaje antigene determinante tumorske ćelije, tako što su mu one prikazane u MHC molekulima na površini antigen prezentujućih ćelija (Slika 6A). Po dobijanju drugih aktivacionih signala i sledstvene aktivacije, citotoksični limfocit T bi, nakon prepoznavanja antigenih determinanti u MHC molekulama na tumorskim ćelijama, trebao da eliminiše tu tumorsku ćeliju. Međutim, eliminacija izostaje zbog inhibitornih signala isporučenih membranskim molekulima PD-L1 na tumorskim ćelijama (PD-1 na limfocitima T, Slika 6B) (12, 13, 14). Allison i Honjo su pokazali važnost ove inhibicije, kao i mogućnost da se ona prevaziđe terapijskom upotrebom monoklonskih antitela na PD-L1/PD1, čime se omogućuje fiziološka uloga



**Early CPT induce significantly faster clinical remission in female SARS CoV2 patients**

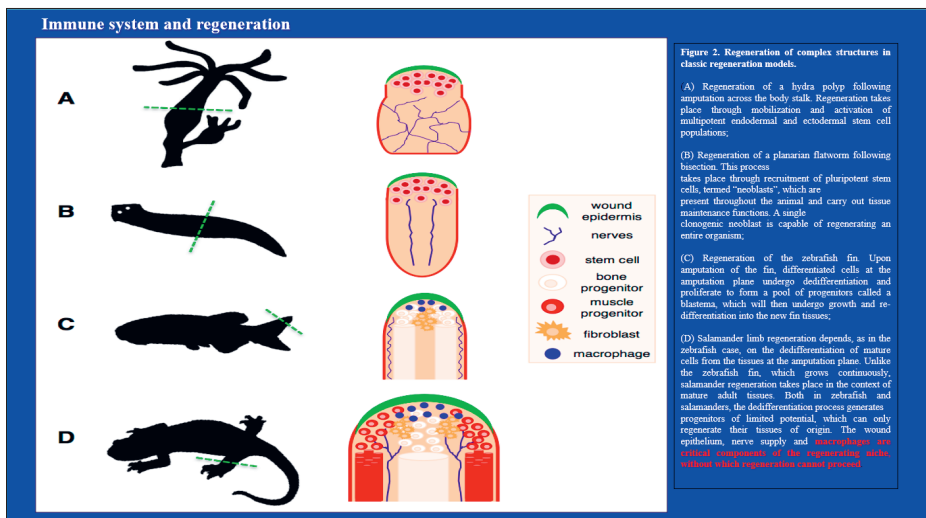
<p><b>SARS CoV2 recovered patients</b></p>	<p><b>Home based ELISA TEST</b></p> <p>anti Spike Ab</p> <p>IgG IgA IgM</p> <p>anti Nucleocapsid Ab</p> <p>IgG IgA IgM</p>	<p><b>CP collection from naturally recovered</b></p>	<p><b>CP selection</b></p> <p>CPT started 3 to 6<sup>th</sup> day after symptom onset.</p> <p>Every CP &gt; 200 EqU anti Spike IgG/ml.</p> <p>4 doses for each patient.</p> <p>Every dose from different donor.</p> <p>2 doses daily.</p> <p>Each dose 200 – 300 ml CP.</p>
<p><b>Result: CP therapy – SAFE and EFFECTIVE!!!!</b></p> <p>all patients survived – survival 100%!</p> <p>Mild AE – 3.7%</p> <p>93.5% CPT patients did not need hospital treatment, vs 14.3% non CPT patients</p> <p>CPT patients experienced remission average 3.6 ± 1.8 days, comparing to 20.2 ± 6.8 days in non CPT group</p> <p>NO post Covid complications, NO Long Covid</p>	<p><b>Key Features</b></p> <p>CPT significantly reduce mortality and time needed for clinical remission in SARS CoV2 comparing to non CPT patients.</p> <p>3<sup>rd</sup> day CPT is associated with faster clinical remission than 6<sup>th</sup> day CPT.</p> <p>CPT induced significantly faster clinical remission in younger patients.</p> <p>Average RhaCPT was longest in patients with largest lung involvement.</p> <p>Correlation analysis indicate that older males and male patients with larger lung involvement have longer RhaCPT.</p> <p>Concentration of received anti Nucleo IgA is significantly associated with time needed for clinical remission.</p>		

Slika 8. Primena rekonvalescentne plazme u terapiji obolelih od COVID-19

Moderna imunologija svoje uspehe ne zasniva samo na naprednoj tehnologiji i dostignućima drugih prirodnih grana nauke. U lečenju bolesnika obolelih od COVID-19, mi smo koristili princip koji je pre više od 100 godina primenio *Francesco Cenci* (17). Doktor Cenci, koji je radio u selu kraj tadašnje Peruje, u vreme epidemije tada smrtonosnih malih boginja 1901. godine, zapazio je da osobe koje su jednom preležale infekciju, ne mogu se opet zaraziti. U vreme pre otkrića antitela, pretpostavljajući da se u krvi oporavljenih osoba formira nekakav zaštitni faktor, dr *Cenci* je uzeo 600 ml krvi od 20-godišnjeg mladića, koji je preležao male boginje, i njegovim serumom, tzv. konvalescentnim serumom, tretirao 4 dečaka stara između 4 i 8 godina. Deca koja su dobila konvalescentni serum nisu se zarazila malim boginjama, za razliku od ostalih vršnjaka. Pet godina kasnije, 1906, u drugom naletu epidemije malih boginja, dr *Cenci* je po prvi put konvalescentni serum primenio ne samo na zdravoj deci kao profilaksu, već i na deci sa teškim oblikom upale pluća, kao posledice infekcije malim boginjama. Uspeh ovakve terapije dr *Cencija*, ponavljan je u terapiji difterije, kasnije i drugih infektivnih bolesti. Naš pristup lečenju obolelih od COVID-19 zasnovan je na istom principu, sa razlikom što je u svakoj dozi date plazme precizno određena koncentracija specifičnih antitela (Slika 8).

Naime, da bi napravili selekciju idealnih donora, prvo smo kreirali test kojim smo određivali koncentraciju antitela specifičnih na kritične antigene strukture SARS CoV2 virusa, na S1 protein i proteine jedra (6 različitih antitela). Od oporavljenih sa najvećom koncentracijom antitela, konvalescentna





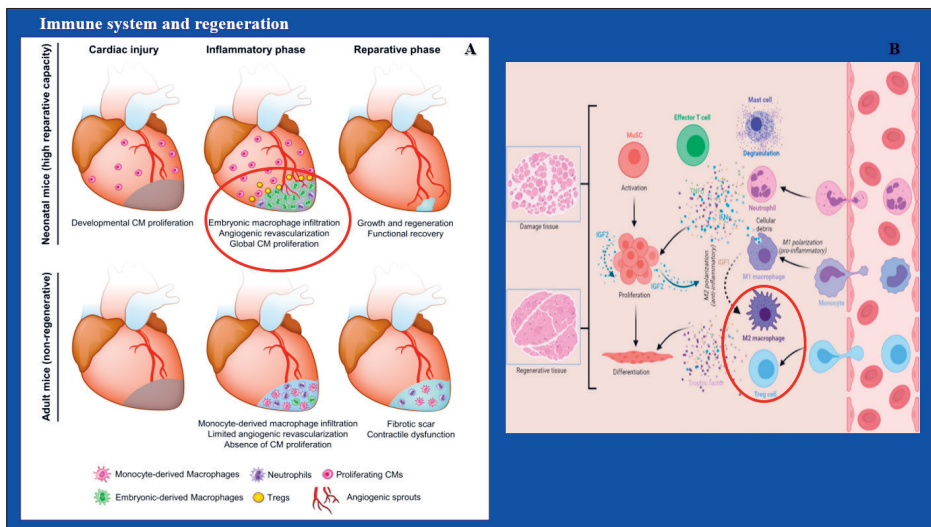
Slika 9. Mehanizam regeneracije kod pojedinih nižih i kompleksnih organizama

plazma je uzimana procesom afereze. Tretirani pacijenti su bili sa inicijalnom ili odmaklom pneumonijom. Svi pacijenti su dobili najmanje 4 doze plazme (4x 200–250 ml) od različitih davaoca, u toku prvih 4–7 dana od potvrde infekcije. Svi pacijenti (127) su preživeli, skoro 94% nije zahtevalo kiseoničnu podršku niti bolničko lečenje, nijedan pacijent nije imao komplikacije niti postkovid, a prosečno vreme do remisije iznosilo je 4 dana, naspram prosečnih 20 dana u grupi pacijenata lečenih bez konvelescentne plazme.

Dostignuća imunologije ima u praktično svakoj oblasti medicine, bazičnoj, aplikativnoj, translacionoj, dijagnostičkoj i terapijskoj oblasti. Imajući sve ovo u vidu, postavlja se pitanje koje su perspektive imunologije.

Jedno od najintrigantnijih polja u biologiji i medicini je oblast regeneracije. Neki niži organizmi (hidra, pojedini crvi), ali i neki kompleksniji organizmi (zebra, ribe, gušteri) imaju moć kompletne regeneracije pojedinih organa i tkiva, zaključno sa kapacitetom obnavljanja povređenih pluća ili srca (Slika 9) (18). Upravo kod guštera pokazano je da su kritične ćelijske komponente za regeneraciju ćelije oštećenog epitela, nervne ćelije, ali i različiti tipovi makrofaga, čije uklanjanje rezultuje neuspelim procesom regeneracije.

Novija ispitivanja na sisarima, na neonatalnim miševima (koji imaju kompletnu moć regeneracije) i adultnim miševima (nema regeneracije) pokazala su da su, nakon oštećenja srčanog mišića, neonatalni miševi sposobni da ponovo izgrade oštećeni organ. Ključna razlika u neonatalnih miševa bila je u prisustvu takozvanih embrionalnih makrofaga, koji su gusto infiltrisali povređeni organ, regulišući ponovnu vaskularizaciju i matičnih ćelija (Slika 10A) (19).



Slika 10. (A) Regeneracija srčanog mišića kod neonatalnih i adultnih miševa; (B) Značaj regulatornih makrofaga i regulatornih T limfocita u procesima regeneracije

Druga studija pokazala je važnost takozvanih regulatornih makrofaga i regulatornih T limfocita u procesima regeneracije. Naime, pravovremena promena iz efektorskih T limfocita u regulatorne T, pravovremena promena iz upalnih procesa u procese ponovne izgradnje tkiva, predstavlja granicu između dva ishoda, procesa ožiljavanja ili procesa kompletne regeneracije, čak i kod odraslih jedinki.

## ZAKLJUČAK

U poslednjih stotinu godina imunologija je prešla ogroman put, od kliničke grane skromnih terapijskih mogućnosti, do multidisciplinarne nauke, esencijalne u dijagnostici i lečenju brojnih patologija i stanja humane medicine. Posebno su uzbudljivi rezultati istraživanja i značaja imunskih mehanizama u regeneraciji tkiva i organa, što daje svetlu budućnost u rešavanju do sada neizlečivih stanja i bolesti.

## BIBLIOGRAFIJA

- [1] Finley J, Jr. *The Complete Writings of Thucydides: The Peloponnesian War*. Modern Library, New York; 1951.
- [2] Williams, Gareth (2010). *Angel of Death*. Basingstoke: Palgrave Macmillan. ISBN 978-0230274716.
- [3] Silverstein, Arthur M. (2009). *A History of Immunology* (2nd ed.). Academic Press. p. 293. ISBN 9780080919461.

- [4] Pead, Patrick (2003). „Benjamin Jesty; new light in the dawn of vaccination“. *Lancet*. **362** (9401): 2104–09. doi: 10.1016/s0140–6736(03) 15111–2.
- [5] L. Thurston and G. Williams (2015) „ An examination of John Fewster’s role in the discovery of smallpox vaccination,“ *Journal of the Royal College of Physicians of Edinburgh*, 45: 173–179.
- [6] Baxby, Derrick (1999). „Edward Jenner’s Inquiry; a bicentenary analysis“. *Vaccine*. **17** (4): 301–07. doi: 10.1016/s0264–410x(98) 00207–2.
- [7] Nobel Prizes and the immune system. NobelPrize. org. Nobel Prize Outreach AB 2022. Fri. 2 Dec 2022. <https://www.nobelprize.org/prizes/themes/nobel-prizes-and-the-immune-system>
- [8] Varadé, J, Magadán, S. & González-Fernández, Á. Human immunology and immunotherapy: main achievements and challenges. *Cell Mol Immunol* 18, 805–828 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41423–020–00530–6>
- [9] DuPage, M, Bluestone, J. Harnessing the plasticity of CD4<sup>+</sup> T cells to treat immune-mediated disease. *Nat Rev Immunol* 16, 149–163 (2016). <https://doi.org/10.1038/nri.2015.18>
- [10] Quinteros DA, Bermúdez JM, Ravetti S, Cid A, Allemandi DA, Palma SD. Therapeutic use of monoclonal antibodies: general aspects and challenges for drug delivery. *Nanostructures for Drug Delivery*. 2017: 807–33. doi: 10.1016/B978–0–323–46143–6.00025–7. Epub 2017 Mar 31. PMID: 28151974. PMCID: PMC7151974.
- [11] Tigabu Demlie, Endale Balcha, Haben Fesseha. Monoclonal Antibody and its Diagnostic Application-Review. *Biomed J Sci & Tech Res* 30(4) -2020. BJSTR. MS. ID. 004997. DOI: 10.26717/BJSTR. 2020.30.004997.
- [12] Sid P. Kerkar & Nicholas P. Restifo. Cellular Constituents of Immune Escape within the Tumor Microenvironment. *Cancer Res* (2012) 72 (13): 3125–3130. <https://doi.org/10.1158/0008–5472.CAN-11–4094>
- [13] Postow MA, Callahan MK, Wolchok JD. Immune Checkpoint Blockade in Cancer Therapy. *J Clin Oncol*. 2015 Jun 10; 33(17): 1974–82. doi: 10.1200/JCO. 2014.59.4358. Epub 2015 Jan 20. PMID: 25605845; PMCID: PMC4980573.
- [14] La-Beck NM, Jean GW, Huynh C, Alzghari SK, Lowe DB. Immune Checkpoint Inhibitors: New Insights and Current Place in Cancer Therapy. *Pharmacotherapy*. 2015 Oct; 35(10): 963–76. doi: 10.1002/phar. 1643.
- [15] Heczey A, Louis CU. Advances in chimeric antigen receptor immunotherapy for neuroblastoma. *Discov Med*. 2013 Dec; 16(90): 287–94.
- [16] Richards RM, Sotillo E, Majzner RG. CAR T Cell Therapy for Neuroblastoma. *Front Immunol*. 2018 Oct 16; 9: 2380. doi: 10.3389/fimmu. 2018.02380.
- [17] Cenci F. Alcune esperienze di sieroimmunizzazione e sieroterapia nel morbillo. *Riv Clin Ped*. 1907; 5: 1017–1025.
- [18] Yun MH. Changes in Regenerative Capacity through Lifespan. *Int J Mol Sci*. 2015 Oct 23; 16(10): 25392–432. doi: 10.3390/ijms161025392.
- [19] Lai, SL, Marín-Juez, R. & Stainier, D. Y. R. Immune responses in cardiac repair and regeneration: a comparative point of view. *Cell. Mol. Life Sci*. **76**, 1365–1380 (2019). <https://doi.org/10.1007/s00018–018–2995–5>
- [20] Fang, J, Feng, C, Chen, W. et al. Redressing the interactions between stem cells and immune system in tissue regeneration. *Biol Direct* 16, 18 (2021). <https://doi.org/10.1186/s13062–021–00306–6>

