

IMUNSKI ODGOVOR FETUSA I MLADUNČADI

Miodrag Lazarević, redovni profesor

**Katedra za fiziologiju i biohemiju,
Fakultet veterinarske medicine, Beograd
2009. god**

Imunologija reprodukcije je grana imunologije koja se bavi proučavanjem međusobnih odnosa imunološkog sistema i procesa vezanih za reprodukciju. Definisanjem uloge imunološkog sistema, početkom ovog veka, postao je evidentan paradoks koji čini okosnicu imunologije reprodukcije. On se, najkraće rečeno, zasniva na nužnosti da sistem čiji je osnovni zadatak prepoznavanje i eliminisanje antigena, kod ženki mora da "zatvori oči" pred ogromnim brojem epitopa poreklom od oca i to dovoljno dugo da se na svet donese zdrav plod. Ovi antigeni se nalaze i na spermatozoidima i na embrionalnim omotačima. Materica nije imunološki privilegovani organ i u njoj funkcionišu kako aferentna, tako i eferentna grana imunološkog odgovora. U suprotnom bi i banalne infekcije genitalnog trakta imale dalekosežne, negativne posledice. Alografti drugih tkiva (npr. kože) odbacuju se u materici vrlo efikasno. Tako je pred imunologe postavljena nova zagonetka čije rešenje još uvek u potpunosti nije poznato. Kod mužjaka postoji mogućnost autoimunizacije antigenima spermatozoida zbog činjenice da se ove ćelije pojavljuju kasno u ontogenezi - tek u pubertetu. Ovi problemi već dugo privlače pažnju naučnika zbog činjenice da specifična imunotolerancija, veoma značajna za reproduktivni uspeh, može da pomogne u rešavanju problema pri transplantaciji tkiva. Kada se svet suočio sa problemima koji nastaju kao posledica HIV- infekcije, velike nade (i sredstva) su polagane u rezultate ispitivanja odnosa imunološkog i reproduktivnog sistema. Konačno, još uvek postoji veliko interesovanje za kontraceptivne vakcine i njihovu upotrebu u kontroli brojnosti populacije ljudi i životinja.

U okviru imunologije reprodukcije, proučavanja se odvijaju u pet osnovnih oblasti koje obuhvataju: karakteristike antigena gameta, imunosupresivno delovanje genitalnih sekreta, odnos imunološkog sistema majke i ploda, kontraceptivne vakcine i AIDS. Svaka od navedenih oblasti predstavlja zasebno polje eksperimentalnog i kliničkog rada ali se one prožimaju i prepliću. Jedan deo navedenih rezultata dobijen je u ispitivanjima u humanoj medicini i na eksperimentalnim životinjama (sisarima) ali su, uvek kada je to bilo moguće, korišćeni podaci iz veterinarske medicine. U ovom tekstu biće izneta savremena saznanja o imunološkim aspektima odnosa majka-plod.

Fetus kao alograft

Fetoplacentalna jedinica se kod sisara može smatrati privremenim intrauterinim alograftom

koji se ne odbacuje, barem ne onoliko dugo koliko traje graviditet. Ima naučnika koji smatraju da je i sam porođaj sličan reakciji odbacivanja kalema. Ova enigma je dugo bila izazov za imunologe i nije bilo poznato kako plod, koji nosi MHC antigene, poreklom od oca, preživljava toliko dugo u uterusu ako se zna da su tkiva trofoblasta, na kojima se ti antigeni takođe nalaze, u tesnoj vezi (zavisno od tipa placente) sa tkivima ili krvotokom majke. Čak i ako majka stvara antitela protiv antigena krvnih grupa ploda, ne dolazi do odbacivanja fetusa kao alografta. Jasno je da uspešnost graviditeta zavisi od imunološkog balansa između majke i ploda. U toku intrauterinog razvoja, fetus zapravo stiže i imunokompetentnost uključujući tu na prvom mestu sposobnost za razlikovanje sopstvenog od stranog.

Postoji više mehanizama zbog kojih su fetus i tkiva trofoblasta zaštićeni od imunološkog razaranja: 1. Redukovana je ekspresija histokompatibilnih antigena i inicijacija imunološkog odgovora 2. imunološki odgovor se preusmerava ka relativno bezopasnim reakcijama i 3. blokiraju se efektorski imunološki mehanizmi.

U reakcijama prepoznavanja i destrukcije alografta ključnu ulogu imaju citotoksični T limfociti tako da sasvim sigurno fetus kao alograft mora biti zaštićen od njihovog razornog delovanja. Možda je najznačajnija u ovom smislu činjenica da na oocitima i embrionu pre implantacije nisu eksprimirani antigeni MHC I a i II klase. Ni tkiva sinciciotrofoblasta, koja su u neposrednom kontaktu sa zidom materice, nemaju eksprimirane ove klase antigena tako da ne dolazi do citolize po kontaktu sa citotoksičnim limfocitima (CTL). Kod žena se na ćelijama citotrofoblasta nalaze ne-polimorfni antigeni MHC 1b klase i to HLA-G i HLA-C. Smatra se da je zadatak ovih molekula da smanje oštećenja trofoblasta od strane NK ćelija koje ovde imaju ulogu da ograniče prodor tkiva trofoblasta u zid materice a histokompatibilni antigeni ove klase ne učestvuju u prezentaciji antigena T ćelijama. Na suprot ovim činjenicama, kod glodara, ćelije placente eksprimiraju klasične polimorfne antigene MHC I klase ali to ne ometa ni razvoj placente ni razvoj plodova, tako da su kod ovih životinjskih vrsta svakako operativni neki drugi mehanizmi. U tkivu citotrofoblasta nisu dokazane ni ćelije koje eksprimiraju MHC antigene II klase u većoj meri kao što je to na primer slučaj sa dendritičnim ćelijama. Izgleda da kod žena, balans između antigena MHC klase 1b i NK ćelija na neki način kontroliše rast trofoblasta. Kod nekih životinjskih vrsta je ovo takođe slučaj (svinje) dok su kod drugih (glodari, slepi miš i konj) opisane ćelije koje liče na NK i nazvane su endometrijalne žlezdane ćelije. Sam plod nema NK ćelije. Izgleda da su NK ćelije u uterusu žena i glodara pod kontrolom polnih hormona jer je poznato da se njihov broj povećava u toku proestriusa, estrusa i u ranoj postovulatornoj fazi. Ove ćelije posebno naseljavaju oblasti u kojima dolazi do kontakta tkiva materice i trofoblasta (decidua), pokazuju slabu spontanu citolitičku aktivnost, a aktivira ih IL-2.

U tom slučaju, one oštećuju ćelije trofoblasta.

U serumu trudnica je dokazano prisustvo Ig G "blokirajućeg faktora" za koji je utvrđeno da inhibira produkciju limfokina od strane limfocita majki senzibilisanih antigenima trofoblasta ili očevim limfocitima. Kod žena sa rekurentnim pobačajima nepoznate etiologije ovaj faktor nedostaje. Prvi rezultati postignuti imunizacijom žena limfocitima muža u cilju terapije opisanog poremećaja su bili zadovoljavajući a posledica po novorođenčad nije bilo. Ova metoda, međutim još nije uvedena u širu praksu.

Bez obzira na činjenicu da trofoblast smanjuje senzibilizaciju majke alogenim ćelijama u toku graviditeta ipak nastaju citotoksične T ćelije i antitela na antigene MHC I klase. Imunizacija majke antigenima fetusa se najverovatnije odigrava pri prelasku manjih količina krvi fetusa u krvotok majke zbog manjih krvarenja i pokazuje progresiju sa odmicanjem trudnoće. Ovo je posebno slučaj kod kobilica, ovaca i krava. Međutim, po svoj prilici ni antitela, ni T ćelije ne ometaju rast embriona već deluju upravo suprotno. Poznato je da je pri hibridizaciji životinja placenta bolje razvijena nego pri sparivanju inbridnih životinja. Pretpostavlja se da je ovde reč o uticaju IL-3 i GM-CSF iz senzibilisanih T ćelija majke na ćelije trofoblasta. Kod goveda je dokazana povezanost između pojave retencije placentе posle porođaja i kompatibilnosti antigena MHC I klase. Što je veća podudarnost ovih antigena između roditelja veća je verovatnoća da se placenta ne odbaci, verovatno zbog toga što izostaje, bar delimično, reakcija odbacivanja alografta. Podudarnost antigena MHC II klase nema uticaja na ovaj poremećaj. Neka antitela, stvorena od strane majke, mogu blokirati (maskirati) antigene placentе i na taj način sprečiti oštećenja koja bi bila prouzrokovana T ćelijama. Odsustvo ovih antitela se dovodi u vezu sa rekurentnim spontanim pobačajima kod žena. Na suprot ovom nalazu i potpuno imunodeficientne ženke miševa mogu doneti na svet zdrave plodove. Većina antitela koja nastaju kao odgovor majke na histokompatibilne antigene oca (sa izuzetkom anti Rh antitela) nisu štetna za plod i nemaju sposobnost vezivanja komplementa tako da se pretpostavlja da zapravo sprečavaju odbacivanje fetusa ćelijski posredovanim imunološkim reakcijama.

Placenta igra veoma važnu ulogu u pomenutim procesima, sintezom hormona koji deluju imunosupresivno: estradiola i pregneterona a verovatno i horionskog gonadotropina. Posebno je značajan uticaj progesterona koji postoji u sistemskoj cirkulaciji ali je verovatno značajniji njegov lokalni efekat na nivou placentе gde ga ima mnogo više. Ovaj hormon produžava vreme odbacivanja kalema i inhibira MLR. Osim navedenih supstanci, imunosupresivno delovanje ispoljavaju α_2 makroglobulin i placentalni interferon. Kod sisara je dokazano prisustvo interferona Ω i τ koji se sintetišu u trofoblastu a imaju inhibitorno delovanje na proliferativni odgovor limfocita. I amnionska tečnost sadrži velike količine imunosupresivnih fosfolipida kao i

α fetoprotein koji se sintetizira u žumanjčanoj kesi i fetalnoj jetri a inhibira brojne imunološke reakcije. U tkivima trofoblasta ljudskog fetusa dokazano je prisustvo tri regulatorna proteina koji imaju sposobnost da spreče aktivaciju sistema komplementa: CD 55, CD 46 i CD 59. Isti inhibitori aktivacije sistema komplementa se nalaze i u semenoj plazmi ljudi i domaćih životinja kao i na akrozomalnom delu ćelijske membrane spermatozoida. Osim navedenih jedinjenja, TGF β dovodi do inhibicije proliferativnog odgovora T ćelija i on je idealni fetalni imunosupresor. Ali, ako su razlike između MNS majke i fetusa velike, dolazi do oštećenja ploda i njegovog uginuća. Tako nije moguće ukrštanje miševa različitih vrsta niti kobile mogu izneti implantiran embrion magarca.

Jedna od karakteristika kasnih faza gestacije je blaga sistemska imunosupresija, posebno u ćelijski posredovanim reakcijama, u odnosu na antigene koji ne pripadaju fetusu. Dokazana je i prolazna involucija timusa gravidnih životinja verovatno posredovana povećanom koncentracijom steroidnih hormona u cirkulaciji. Kod krava je uočena i nešto slabija funkcija neutrofilnih granulocita a kod kobilica slabiji proliferativni odgovor perifernih limfocita na mitogene. Kod ovaca je opisan pad koncentracije Ig G zbog njihovog prelaska u kolostrum ili poremećaja funkcije T_h limfocita. Ovo može biti od značaja kod životinja obolelih od parazitskih bolesti a kod kuja su opisani slučajevi generalizacije demodikoze. Kod svinja je dokazan pad aktivnosti NK ćelija neposredno pred partus i posle njega.

Poslednjih godina je prikupljen veliki broj činjenica koje ukazuju na dvosmerni odnos imunološkog i reproduktivnog sistema majke u toku graviditeta. Imunski sistem majke može da pospeši ili onemogući razvitak feto-placentalne jedinice a ona sa svoje strane (ako se razvije) preusmerava imunološke reakcije od celularnog ka humoralnom tipu odgovora. Za trudnoću su posebno štetni citokini T_h1 ćelija (IL-2, IFN γ TNF) a ove ćelije imaju ključnu ulogu kao helperi u imunološkim reakcijama koje su posredovane ćelijama. IFN γ pored aktivacije citotoksičnih limfocita i NK ćelija, sprečava aktivaciju B limfocita indukovanu T_h2 ćelijama. Po svemu sudeći, plod štiti sebe sekrecijom T_h2 citokina (IL-4, 5, 6 i 10). IL-10 ima sposobnost i da smanji sintezu T_h1 citokina. Ovo preusmeravanje može biti i štetno u nekim slučajevima zato što povećava osetljivost majke na autoimune procese i intracelularne infektivne agense kao što su izazivači malarije, toksoplazmoze, TBC i nekih infekcija povezanih sa HIV sindromom. O ovom fenomenu postoje i klinički dokazi. Tako su kod oko 70% žena obolelih od reumatoidnog artritisa zabeleženi slučajevi remisija za vreme trudnoće a ovo oboljenje spada u grupu autoimunih bolesti posredovanih imunim reakcijama ćelijskog tipa. Na suprot ovome kod SLE (sistemski lupus) koji je prouzrokovao autoantitelima zabeleženi su slučajevi pogoršanja bolesti u trudnoći. U svakom slučaju i T_h1 i T_h2 odgovor mogu biti štetni za fetus ali je ovaj drugi mnogo manje opasan zato što placenta može da adsorbuje velike količine anti-fetalnih MHC

imunoglobulina bez posledica. Tako je u trudnoći plod zaštićen od citotoksičnog delovanja limfocita a istovremeno se kod vrsta kod kojih je moguć transfer imunoglobulina kroz placentu oni stvaraju u većoj meri. Na osnovu iznetih činjenica postoji teoretska mogućnost da sistemski T_H1/T_H2 disbalans kod žena, prouzrokovao nekim infektivnim agensima, utiče na plodnost. Čelije placente izgleda nemaju eksprimirane odgovarajuće adhezivne molekule (selektine i integrine) koji bi dozvolili da aktivisani limfociti majke lako pređu u cirkulaciju ploda.

Imunološki sistem fetusa

Od velikog je značaja činjenica da majka u imunološkom smislu štiti plod i posle porođaja. Mladunci većine domaćih životinja dolaze na svet bez imunoglobulina (fiziološka agamglobulinemija) i jedina zaštita koju dobijaju je preko kolostruma majke. Međutim, razlog ovoj pojavi nije nezrelost imunološkog sistema mladunčeta, kako se to ranije smatralo, već činjenica da u materici plod ne dolazi u kontakt sa antigenima a preko placente ne dobija antitela. Bilo bi veoma nepovoljno i čak opasno za plod da se njegov imunski sistem razvije tek po rođenju. Neki mladunci (miševi) se rađaju sa nepotpuno razvijenim odbrambenim mehanizmima i ovo se može kao pravilo uzeti samo kod onih vrsta kod kojih graviditet traje veoma kratko. Kod ostalih, za svega par nedelja imunološki sistem dostiže stepen aktivnosti kao i kod odraslih jedinki. Baš u ovom periodu presudnu ulogu u zaštiti ploda od infektivnih agenasa imaju kolostralna antitela a verovatno i kolostralni T limfociti.

Prvi limfoidni organ koji se razvija kod fetusa je timus a neposredno zatim se pojavljuju i sekundarni imunološki organi. Čelije koje sadrže imunoglobuline nastaju po razviću slezine i limfnih čvorova a slobodnih imunoglobulina nema ili se dokazuju tek u kasnim fazama graviditeta. Ranije se smatralo da imunološki sistem stiče zrelost u sukcesivnim etapama pri čemu se povećava broj antigena na koje on može da reaguje. Izgleda da ovo nije tačno i da se sposobnost reagovanja za većinu antigena uspostavlja u kratkom intervalu. Postoje, ipak, razlike u sposobnosti pojedinih antigena da aktiviraju limfoidna tkiva fetusa.

Kod telećeg fetusa timus nastaje već 40. dana, slezina i kostna srž oko 55., a limfni čvorovi oko 60. dana. Relativno kasno nastaju Pajerove ploče (175. dan) a najraniji odgovor na virusne antigene (Rota virus) je moguć 73. dana gestacije. U tom periodu se javlja i sposobnost limfocita da proliferišu pod uticajem mitogena. Naveli smo ovaj primer zbog toga što kod krava gestacija traje relativno dugo dok fetus veoma rano stiče sposobnost reagovanja na antigene. Kod drugih životinjskih vrsta, u zavisnosti od trajanja gestacije, generalno posmatrano, imunski sistem fetusa može da reaguje na antigene mnogo pre rođenja. Međutim fetus sa njima ne dolazi u kontakt. Osim navedenih činjenica o aktivnosti limfocita i neutrofilni granulociti fetusa, kao

nespecifični mehanizam odbrane, stiču sposobnost fagocitoze nekoliko nedelja pre rođenja.

Neposredni dokazi imunološke reaktivnosti fetusa mogu se dobiti ako se on eksperimentalno ili prirodnim putem inficira. Prisustvo Ig u serumu mladunčadi domaćih životinja (sa izuzetkom mesojeda) pre uzimanja kolostruma je siguran znak intrauterine infekcije. Postoji više metoda kojima se mogu dokazati imunoglobulini ili imuni kompleksi u krvi mladunčadi a neke od njih su jednostavne i relativno jeftine. Danas postoje i komercijalni testovi za brzo utvrđivanje koncentracije Ig kod mladunčadi pojedinih vrsta. U svakom slučaju, imunski odgovor fetusa zavisi od stepena zrelosti imunskog sistema i prirode antigena. Tkiva fetusa veoma rano stiču sposobnost sinteze interferona α i β ali stvaraju manje interferona γ . Zato su neke bolesti relativno bezopasne za majku ali opasne za plod. To su na primer infekcije izazvane sa BHV 1 i BVD kod goveda a rubeole i toksoplazmoza kod ljudi. Ako do infekcije virusima dođe rano u toku gestacije najčešće se razvijaju anomalije ploda i može doći do abortusa. To nije uvek slučaj i ako se radi o soju virusa koji nema izraženu patogenost, postoji mogućnost da na svet dođe mladunče koje je razvilo toleranciju na antigene virusa. U njegovom serumu nema antitela specifičnih za dati virus ali po rođenju ono može da reaguje na druge antigene. Takva jedinka može da zarazi veliki broj drugih u stadu.

Pasivni prirodni imunitet

Plod se razvija u sterilnoj sredini materice i po pravilu ne dolazi u kontakt sa mikrobijalnim antigenima. Zato je po dolasku na svet imunološki odgovor fetusa uvek primarni odgovor, pa se prema tome karakteriše dugačkim latentnim periodom i niskom koncentracijom antitela. Upravo u ovom periodu, pasivni prirodni imunitet je od presudnog značaja za njegovu odbranu od infekcije. Ova zaštita se ostvaruje kolostralnim imunoglobulinima i limfocitima majke koji preko kolostruma ili placente (kod mesojeda) prelaze u krvotok ploda. Uloga limfocita majke u zaštiti ploda nije još sasvim razjašnjena.

Kod sisara postoji više tipova placente od čije građe zavisi transfer imunoglobulina u cirkulaciju fetusa. Krmače i kobile imaju epiteliohorijalnu placentu kod koje je horionski epitel u kontaktu sa potpuno očuvanim epitelom uterusa. Preživari imaju placentu sindezموhorijalnog tipa gde horionski epitel naleže prisno uz endometrijum kome nedostaje epitel. Međutim, ni kod jedne od pomenutih vrsta ne postoji transfer imunoglobulina kroz placentu i jedini izvor maternalnih imunoglobulina za njihovu mladunčad je kolostrum.

Placenta mesojeda je endoteliohorijalna i kod nje je horionski epitel u kontaktu sa endotelom kapilara uterusa. Ovaj tip placente dozvoljava transfer Ig G iz krvi majke u krv

ploda ali samo u ograničenom obimu (5-10%) tako da i zaštita njihovih mladunaca zavisi od kolostralnih imunoglobulina. Kod žena postoji hemohorijalna placenta gde su ćelije trofoblasta u direktnom kontaktu sa krvlju majke. Uprkos ovako tesnom kontaktu, jedina klasa koja dolazi do ploda su Ig G1 čija je koncentracija u krvi novorođenčeta približno ista kao kod majke.

Kolostrum se najčešće definiše kao akumulirani proizvod sekrecije mlečne žlezde stvoren poslednjih nedelja graviditeta. Pored sastojaka sintetisanih u mlečnoj žlezdi, on sadrži i proteine koji aktivnim transportom prelaze iz krvne plazme, pod uticajem estrogena i progesterona. U kolostrumu se nalaze sve klase imunoglobulina izuzev Ig D, ali je najbogatiji u sadržaju Ig G i Ig A. Odnos klasa imunoglobulina u serumu i kolostrumu je veoma sličan i dominantna klasa je Ig G (kod goveda Ig G1). Kako kolostrum postepeno prelazi u mleko, menja se odnos klasa tako da je kod preživara i primata dominantna klasa u mleku Ig A a kod nepreživara Ig G. Imunoglobulini G iz kolostruma su serumskog poreklom, dok 50% Ig A nastaje u mlečnoj žlezdi. Pretežni deo antitela (ali ne i sva) iz mleka nastaje lokalnom sintezom u vimenu.

Resorpcija kolostralnih imunoglobulina se odigrava u prvim časovima života i ona mora biti veoma efikasna kako bi mladunčad odmah po dolasku na svet dobila odgovarajuću zaštitu. Danas su poznati neki ključni faktori koji učestvuju u ovom procesu. Crevni epitel je kod mladunčadi u prvom danu života propustljiv za molekule imunoglobulina a aktivnost proteolitičkih enzima u DT je mala (kolostrum sadrži i tripsin-inhibitor). Epitelne ćelije creva u tom periodu imaju receptore za Fc fragment imunoglobulina koji pripada familiji MHC I b molekula i sastoji se od α lanca i β_2 mikroglobulina. Po vezivanju antitela za receptor dolazi do pinocitoze i prelaska molekula u cirkulaciju. Izgleda da se i transfer imunoglobulina iz krvi majke u kolostrum odvija po sličnom principu.

Kod ždrebadi i prasadi resorbuju se Ig M i Ig G dok Ig A ostaje u crevima. Kod teladi se i ova klasa antitela resorbuje a zatim brzo reekskretuje. Smatra se da vezivanje Ig A za sekretornu komponentu (SC) sprečava resorpciju Ig A. Proces resorpcije je najintenzivniji u prvih 6 časova života a zatim se postepeno usporava i smatra se da je već posle 24 sata na relativno niskom nivou. Razlog ovome je zamena epitelnih ćelija u tankim crevima mladunčadi pri čemu nove generacije ćelija imaju smanjenu propustljivost za imunoglobuline. Ako se uzimanje kolostruma odloži, period resorpcije traje nešto duže a zanimljivo je da i samo fizičko prisustvo majke povećava stepen prelaska imunoglobulina u krvotok mladunaca. Za 12-24 časa nivo imunoglobulina u krvi mladunčadi koja uzme dovoljnu količinu kolostruma dostiže koncentraciju koja postoji u krvi majke. Uporedo sa resorpcijom kolostralnih imunoglobulina, kod teladi se pojavljuje proteinurija zato što su neki proteini (β - laktoglobulin i neki polipeptidi) dovoljno

mali da prođu kroz glomerulsku membranu a ova barijera u kratkom periodu propušta i makromolekule. Kolostrum prelazi u mleko koje takođe sadrži imunoglobuline i to kod preživara pretežno Ig G i Ig A a kod nepreživara Ig A. Ig G u crevima kasnije podleže proteolitičkoj digestiji dok Ig A ostaje intaktan i predstavlja glavni zaštitni faktor od crevnih infekcija.

Ako mladunče ne unese dovoljnu količinu kolostruma (i antitela) biće izloženo povećanom riziku od infekcija. Ova pojava se naziva FPT (engl. failure of passive transfer) i može biti posledica smanjene produkcije kolostruma, smanjenog unošenja kolostruma i smanjene resorpcije. Smanjena produkcija se sreće kod prevremenih porođaja i prevremenog započinjanja laktacije kada kolostrum spontano iscuri pre porođaja. Smanjeno unošenje kolostruma postoji kod nekih vrsta ako je broj mladunaca preveliki, ako majka ne dozvoljava sisanje ili ako mladunci nisu dovoljno vitalni. Na kraju, i sama resorpcija imunoglobulina može biti smanjena a tačni uzroci ove pojave nisu još poznati. Ovaj poremećaj se najčešće sreće kod ždrebadi. Dijagnoza FPT se može postaviti tek posle 18 časova od rođenja i kao što je već napomenuto, postoji veliki broj relativno jednostavnih metoda za utvrđivanje koncentracije imunoglobulina u krvnom serumu mladunčadi. Tretman FPT se zasniva na aplikaciji većih količina kolostruma (u prvih 15 sati) ili na infuziji plazme (posle isteka ovog roka). U oba slučaja se mora isključiti prisustvo antitela protiv eritrocita mladunčeta (posebno ždrebadi). U razvijenim zemljama postoje i komercijalni preparati kolostruma i krvne plazme za zaštitu mladunčadi. Neki od ovih preparata sadrže antitela specifična za najčešće uzročnike infekcija podmlatka. Moguće je i izvršiti transfuziju krvi majke plodu a novija istraživanja kod nas ukazuju da aplikacija rastvora zeolita i manan-oligosaharida mladuncima (telad i prasad) značajno povećava resorpciju kolostralnih imunoglobulina. Kolostrum sadrži i relativno veliki broj limfocita koji takođe imaju ulogu u zaštiti mladunaca. Limfociti majke mogu da, u ograničenom obimu, pređu u krv mladunčadi i moguć je pasivni transfer celularnog imuniteta sa majke na plod. Aktivnost limfocita mladih koji su uzeli kolostrum sa ćelijama majke je veća nego kod onih koji su primili kolostrum iz koga su ćelije majke uklonjene.

Imunološki sistem novorođenčadi

Posle porođaja, imunološki sistem mladunčadi veoma brzo postiže funkcionalnu sposobnost. Ovo se pre svega odnosi na peroralno uzete antigene kada se neutralizujuća antitela pojavljuju za nekoliko dana i s - Ig A antitela nastaju brže kod mladih jedinki. Rano sticanje otpornosti na neke viruse je posledica produkcije interferona ali i antitela. U pogledu sistemskog imunog odgovora situacija je nešto drukčija. Kolostralni imunoglobulini dovode do privremene supresije funkcija B limfocita zato što se Fc fragmentom vezuju za odgovarajuće receptore na

ćelijama (Fc R) i sprečavaju vezivanje antigena za BCR (B ćelijski receptor). Kod teladi koja nisu primila kolostrum, sinteza antitela počinje već sa nedelju dana života a kod onih koja jesu tek sa četiri nedelje. Slični podaci su dobijeni i kod drugih životinjskih vrsta (jagnjad, prasad). Ovo je dokazano peroralnom vakcinacijom teladi protiv korona virusa dok prasad vakcinisana 3. dana po rođenju protiv TGE (transmisibilni gastroenteritis) sintetizuje specifični Ig A već 5-10 dana kasnije. U momentu dolaska na svet, mladunci imaju formirane sekundarne imunološke organe čije su ćelije diferencirane bez antigenske stimulacije. Broj B limfocita je pri rođenju oko 30% od vrednosti za odrasle jedinke ali za 3-5 nedelja, kod većine mladunaca, dostiže ovaj nivo. Kod mladunčadi koja nije uzela kolostrum imunoglobulini se u krvi pojavljuju rano i to Ig M i A za četiri dana a Ig G za 8 dana. U uzrastu od 4 meseca, koncentracija imunoglobulina kod prasadi dostiže vrednosti koje postoje kod odraslih jedinki. Generalno se smatra da uspostavljanje funkcija imunskog sistema traje sve do puberteta.

Kod životinjskih vrsta kod kojih gestacija traje kratko, mladunci po rođenju ne mogu da odgovore na sve antigene i moguće je izazivanje imunološke tolerancije. Telad (koja nije uzela kolostrum) može da odgovori na humani albumin, albumin belanceta i pileće eritrocite u prvoj nedelji života ali na salmonele tek posle dve nedelje. Ako se inokulacija ponovi za nekoliko nedelja opet se javlja primarni (a ne sekundarni odgovor)

U tim, prvim danima života mladunčad mora da se osloni na nespecifičnu odbranu i poznato je da telad u krvi ima više neutrofilnih granulocita, sa očuvanom sposobnošću fagocitoze, nego odrasle jedinke. Međutim, izgleda da je hemotaksa ovih ćelija nešto redukovana a osim toga mladunci dolaze na svet bez NK ćelija. Aktivnost komplementa je smanjena i to kako u klasičnom tako i u alternativnom putu aktivacije. Ona se postepeno povećava zbog apsorpcije komponenti komplementa iz kolostruma i aktivne sinteze u organizmu mladih, tako da kod prasadi dostiže vrednosti kao kod odraslih za 3-4 nedelje a kod teladi tek sa 6 meseci.

Vakcinacija mladunčadi i gravidnih životinja

Navedene činjenice treba imati u vidu kada se razmatra problem vakcinacije gravidnih životinja i sasvim mladih jedinki i ovo su verovatno najvažniji praktični momenti u razmatranju prirodnog pasivnog imuniteta. Pasivno primljena antitela štite mladunčad od infektivnih bolesti ali istovremeno i sprečavaju njihovu uspešnu vakcinaciju. Od presudnog je značaja koliko traje ovaj period refraktarnosti a to zavisi od količine unetih imunoglobulina i njihovog poluživota. U organizmu mladunaca antitela podležu kataboličkoj razgradnji i njihova

koncentracija se smanjuje na polovinu za desetak dana. U slučaju antitela protiv virusa štenecaka smatra se da je za 10-12 nedelja koncentracija specifičnih antitela primljenih od majke veoma niska i ovo generalno važi i za antitela protiv drugih antigena. Moraju se uzeti u obzir i individualne varijacije kod štenadi ali se na osnovu rezultata brojnih istraživanja može zaključiti da se u uzrastu od 12 nedelja sva štenad može uspešno vakcinisati protiv štenecaka. Problem je u tome što će se kod jednog broja mladunčadi, koncentracija pasivno stečenih antitela i pre ovog perioda smanjiti na nivo koji ne obezbeđuje dovoljnu protekciju pa se prva vakcinacija mora izvršiti ranije kako bi se i ove jedinke zaštitile. Postoji više mogućih protokola za prevazilaženje ovih teškoća i danas je uobičajeno da se štenci vakcinišu u uzrastu od 8 nedelja a zatim revakcinišu u uzrastu od 12 nedelja kako bi sve jedinke bile zaštićene. Štenad koja nisu dobila kolostrum treba da se vakcinišu u uzrastu od 2 nedelje. Kod parvovirusnog gastroenterita situacija je nešto drugačija. Postoje dokazi da se neka štenad ne može uspešno vakcinisati sve do uzrasta od 18 do 20 nedelja pa se preporučuje višekratna vakcinacija, svakog meseca sve do ovog uzrasta. Kod velikih životinja situacija je možda još složenija ali i ovde količina specifičnih maternalnih antitela u kolostrumu zavisi od njihove koncentracije u serumu majke u periodu stvaranja kolostruma. Od toga će i zavisiti koliko će antitela opstati u krvotoku ploda posle uzimanja kolostruma. Za influencu konja ovaj period je kod neke ždrebadi samo 2 nedelje (kod većine 5-6 nedelja) a za tetanusni toksoid 6 meseci. Maternalna antitela protiv BVD mogu kod teladi biti prisutna i do 9 meseci. Praktično se u toku prvih 6 meseci uspešnost vakcinacije mladunčadi progresivno povećava. Zbog toga važi pravilo da ako telad i ždrebadi nije bila vakcinisana do tada, vakcinaciju treba obavezno izvršiti u uzrastu od 6 meseci. Ovo je ujedno i optimalno vreme i za revakcinaciju. U praksi se koriste vakcine protiv Marekove bolesti, New Castle bolesti, Gumboro bolesti i Aujeszke bolesti i kod sasvim mladih životinja koje daju solidnu zaštitu ali je mladunčad, potrebno revakcinisati.

Otvoreno je pitanje da li u kasnim fazama graviditeta treba vršiti vakcinaciju životinja. Povećan titar specifičnih antitela zaštitice majke od infekcije a preko kolostruma i plod. Međutim, pasivno stečena antitela odložiće i momenat prve vakcinacije mladih a zbog velikog broja faktora koji učestvuju u stvaranju, sekreciji i resorpciji imunoglobulina iz kolostruma i opasnosti od FPT ova zaštita je donekle nesigurna. Bilo bi najbolje da se nekoliko nedelja (3-4) po rođenju odredi titar specifičnih antitela u serumu mladih i na osnovu tog rezultata donese odluka o momentu prve vakcinacije. Na žalost ovaj postupak je komplikovan i skup pa se u praksi primenjuju protokoli koji daju najveću verovatnoću postizanja kvalitetne zaštite. Protokol vakcinacije diktira epizootološka situacija i u zapažanjima gde često oboljevaju mladunci obično se vakcinišu i majke. Pri vakcinaciji gravidnih jedinki osim opasnosti da kod živih vakcina bude

ugrožen plod (zato se ona i ne vrši živim vakcinama) postoji bar teoretska mogućnost da antigeni iz vakcine dođu u kontakt sa imunološkim sistemom ploda. Kao što je poznato ovo može da dovede do specifične imunološke tolerancije sa ozbiljnim posledicama. Naime zbog ranog kontakta sa antigenima i delecije reaktivnih klonova mladunče može da izgubi sposobnost reagovanja na te antigene a time i šansu da stvori adekvatnu zaštitu. Savremene vakcine se proizvode u takvom obliku da se ova mogućnost eliminiše. Potrebno je napomenuti da je imunološka tolerancija visoko specifična i da na sve druge antigene mladunče može da reaguje. Tolerancija u nekim slučajevima traje i čitav život a do nje može doći i posle prirodne infekcije *in utero*. Još jedan fenomen u vezi sa imunološkom reaktivnošću je antigenska kompeticija. Postoje eksperimentalni dokazi da ukoliko se mladunci, u kratkom vremenskom periodu, inokulišu sa dva različita antigena, reakcija na jedan antigen koči reakciju na drugi. Ova pojava se ne sme generalizovati i odnosi se samo na pojedine kombinacije antigena. Komercijalne polivalentne vakcine renomiranih proizvođača su svakako veoma pouzdane i ispitane u pogledu fenomena antigenske kompeticije.

Zanimljiv je i način na koji pilići stiču pasivni imunitet. Za vreme formiranja žumanceta u njega iz seruma kokoške prelaze Ig G molekuli koji kasnije dospevaju u cirkulaciju pileta. Prolaskom kroz jajovod, pre formiranje ljuske u belance difuzijom ulaze i molekuli Ig M i Ig A koje pile proguta pred izleganje i koji ostaju u crevima. Ova, maternalna antitela nestaju posle 10-20 dana.

Imunološki aspekti odnosa majka-plod su veoma kompleksni i imaju veliki praktični a i širi medicinski značaj. Iz tih razloga, oni i dalje ostaju atraktivno polje rada u veterinarskoj i humanoj medicini.