

ним извођењима може се наћи у поглављу 4 књиге *Fundamental aspects of Electrometallurgy* [16].

ЛИТЕРАТУРА

1. Ibl, N., Current distribution in *Comprehensive Treatise of Electrochemistry*, Vol. 6, E. E. Jaeger, J. O'M. Bockris, B. E. Conway and S. Sarangapani, eds., New York, NY, Plenum Press, 1983
2. Ibl, N., Current distribution in electrolysis (in French), *Oberfläche - Surface*, 16(1975)23
3. Wagner C., Theoretical analysis of the current density distribution in electrochemical cells, *J. Electrochem. Soc.* 98(1951)116
4. Popov K. I., Maksimović M. D., Totovski D. Ć, Nakić V. N. Some aspects of current density distribution in electrolytic cells I: Dendritic growth of cadmium at the cathode edge in galvanostatic electrodeposition. *Surf. Technol.* 19(1983)173
5. Popov K. I., Krstajić N. V., Popov S. R. Fundamental aspects of plating technology, III. The effect of electrodeposition from complex salt solutions on metal distribution over macroprofiles. *Surf. Technol.* 22(1984)245
6. Popov K. I., Rodaljević Z. P., Krstajić N. V., Novaković S. D. Fundamental aspects of plating technology, V. The effect of strongly adsorbed species on the morphology of metal deposits. *Surf. Technol.* 25(1985)217
7. Popov K. I., Zečević S. K., Pešić S. M. The current distribution in an electrochemical cell. Part I: The current voltage relationship for a cell with parallel plate electrodes. *J. Serb. Chem. Soc.* 60(1995)307
8. Popov K. I., Zečević S. K., Pešić S. M. The current distribution in an electrochemical cell. Part II: Qualitative considerations of the basis of polarization curve shape. *J. Serb. Chem. Soc.* 61(1996)583
9. Popov K. I., Zečević S. K., Pešić S. M. The current distribution in an electrochemical cell. Part II: A novel approach to the determination of the throwing power of an electroplating electrolyte and the effect of the cell geometry. *J. Serb. Chem. Soc.* 61(1996)1225
10. Popov K. I., Pavlović M. G., Stojilković E. R., Stevanović Z. Ž. The current density distribution on stationary wire electrodes during copper and lead electrodeposition. *Hydrometallurgy* 46(1997)321
11. Popov K. I., Pešić S. M., Kostić T. M., The current distribution in an electrochemical cell. Part IV. *J. Serb. Chem. Soc.* 64(1999)341
12. Popov K. I., Pešić S. M., Kostić T. M. The current distribution in an electrochemical cell. Part V: The determination of the depth of the current line penetration between the edges of the electrodes and the side walls at the cell. *J. Serb. Chem. Soc.* 64(1999)795
13. Popov K. I., Stevanović R. M. A new line division concept for the determination of the current distribution in electrochemical cell. Part I. Theoretical background of the "corner weakness" effect in electroforming. *J. Serb. Chem. Soc.* 65(2000)905
14. Popov K. I., Pešić S. M., Živković P. M. The current distribution in an electrochemical cell. Part VI: The quantitative treatment for cells with three plane parallel electrode arrangements. *J. Serb. Chem. Soc.* 66(2001)491
15. Popov K. I., Stevanović R. M., Živković P. M. The effects of electrodeposition process parameters on the current density distribution in an electrochemical cell. *J. Serb. Chem. Soc.* 66(2001)131
16. Popov K. I., Pešić S. M., Živković P. M. The current distribution in an electrochemical cell. Part VII: The concluding remarks. *J. Serb. Chem. Soc.* 67(2002)273
17. Popov K. I., Pešić S. M., Živković P. M. A new dimensionless group for the estimation of the current density distribution in an electrochemical cell. *J. Serb. Chem. Soc.* 70(2005)251
18. Konstantin I. Popov, Stojan S. Đokić, Branimir N. Ggur, *Fundamental Aspects of Electrometallurgy*, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 2002, Chapter 4, pp. 101 – 143

Abstract

THE CURRENT DISTRIBUTION IN ELECTROCHEMICAL CELLS

Konstantin I. Popov¹, Predrag M. Živković²

¹ Institute of Chemistry, Technology and Metallurgy, Department of Electrochemistry, University of Belgrade

² Faculty of Technology and Metallurgy, University of Belgrade

The essence of a new method, based on simple equation of electrochemical kinetics, by which a desired current density distribution in an electrochemical cell can be obtained, or an undesired one avoided is presented. The complete bibliography is also given.



Тања ЂИРКОВИЋ ВЕЛИЧКОВИЋ (tcirkov@chem.bg.ac.yu)
Катедра за Биохемију, Хемијски факултет, Универзитет у Београду

НОВЕ ФОРМЕ ИМУНОТЕРАПИЈЕ АЛЕРГИЈСКИХ ОБОЉЕЊА

Алергијске болести су данас један од најозбиљнијих здравствених проблема модерног човека које немају фаталан исход, али озбиљно ремете квалитет живота. Према најновијим статистичким подацима, 25% популације на планети има неки од симптома алергијске преосетљивости. Постоје различите теорије које објашњавају драматичан пораст алергијских обољења, посебно у индустријски развијеним

земљама. Једна од њих, тзв. "хигијенска теорија" објашњава да услед повећања хигијене услова у којима живимо и недостатка чешћег контакта са правим непријатељима имуног система (а то су патогене бактерије), имуни систем почиње неконтролисано да реагује на иначе безазлене стимулусе спољашње средине.

Постоје четири типа имунолошке преосетљивости. Тип I представљају алергије у ужем смислу и посредоване су имуноглобулином E (IgE), типови II и III обухватају аутоимуне болести посредоване антителима и имуним комплексима, а у типу IV учествују цитолитички T-лимфоцити као ефекторске ћелије.

Алергијска реакција је неадекватан, претерано јак одговор на антигене спољашње средине (алергене). Основа за тако драматичну реакцију је на молекуларном нивоу. Као одговор на присуство алергена у околној мукози се нагомилава већи број специфичних ћелија и реактивних молекула. У првој фази, алерген изазива сензибилизацију, односно стварање алерген-специфичног имуноглобулина E који се везује за рецептор високог афинитета (Fc ϵ RI) на мастоцитима и базофилима. При следећем сусрету са истим, или структурно сличним алергеном, развија се потпуна алергијска реакција која подразумева повезивање имуноглобулина E на површини мастоцита и базофила, и испуштање садржаја гранула (хистамин и ензими) у ткиво. Такође, одвија се и стварање и ослобађање сета цитокина и ткивних медијатора (простагландини, простаглицлини, леукотриени) [1].

Антиген може бити пореклом од бактерије, као у класичној закаснелој реакцији преосетљивости на туберкулопротеин, или алерген, као нпр. полен, који резултује у IgE-посредованој преосетљивости. Алергијске болести су у принципу изазване “спољним” (страним) не-инфективним агенсима који се могу инхалирати, ингестовати, ињектовати или који дођу у контакт са мукозним површинама изазивајући различите поремећаје: астма, ринитис, коњунктивитис, дерматитис, гастроентеритис (алергија на храну), уртикарија или чак системска реакција анафилаксе које могу да имају и фатални исход. На основу пута којим су изазвали сензитизацију, алергени се и деле на инхалационе, нутритивне, ињектоване и контактне. Алергени су најчешће (глико)протеини, молекуларних маса од 15-75 kD и неки поседују и ензимску активност [2, 3], која може, али не мора да утиче на алергеност датог молекула.

Полени се убрајају у групу инхалационих алергена и најчешћи су изазивачи алергија. Алергија на полен је позната још под називом поленска грозница, а симптоми који је прате су кијање, ринитис, коњунктивитис и свраб ушију, а у тежим случајевима може да проузрокује и астму, назалне полипе, синуситис и инфекцију уха. При третману алергијских поремећаја препоручује се избегавање алергена, фармаколошки третман и имунотерапија (специфична десензитизација).

ТРЕТМАН АЛЕРГИЈСКИХ ОБОЉЕЊА

Имунотерапија (специфична десензитизација) је у употреби око 80 година као форма третмана пацијената са IgE-посредованим алергијским обољењима [4]. Овај третман обезбеђује извесну заштиту против ефеката излагања природним алергенима, обезбе-

ђујући регуларну администрацију (најчешће ињектирањем) антигена одговорних за алергијске симптоме. Процес се често зове десензитизација или специфична хипосензибилизација. Поред позитивних ефеката које имунотерапија доноси могу да се јаве и нежељене последице (чак и анафилактички шок) у групи изразито осетљивих пацијената. Да би се умањио ризик од нежељених (понекад и фаталних) реакција на имунотерапију, прешло се на алтернативне начине администрације алергена [5]. Развијене су: орална (ОИТ), сублингвална (СЛИТ), локална назална (ЛНИТ) и локална бронхијална имунотерапија (ЛБИТ). До сада су за имунотерапију коришћене смеше алергена (нпр. пун поленски екстракт), што носи велики ризик од сензитизације пацијента неким другим алергеном, на који до тада није реаговао. Са развојем молекуларске алергологије, појављује се све више чистих или рекомбинантних алергена који налазе своју примену у “component based immunotherapy”. Ова терапија подразумева ињектовање чистих алергена, што значајно умањује ризик од појаве нових сензитизација током вакцинације.

МЕХАНИЗАМ ДЕЈСТВА ИМУНОТЕРАПИЈЕ

Иако је у употреби већ неколико деценија, механизам специфичне имунотерапије није у потпуности разјашњен. Познато је да овај третман изузетно ефикасан код пацијената који су сензитизовани само на један узрочник алергија (моносензитизација), нпр. отров пчеле, или код пацијената који имају ринитис, али без компликација на доњим дисајним путевима. Нормалан развој нетретираног алергијског стања је од моносензибилизације ка полисензибилизацији, од горњих ка доњим дисајним путевима, тј. од акутног стања (ринитис, ринокоњунктивитис) до хроничног стања (астма). Уколико се са имунотерапијом почне на време, нпр. у раном детињству, могуће је спречити развој ове болести; што је изузетно важно. Отуда и не изненађује да се велики тимови у свету баве истраживањима која би појаснила механизам дејства имунотерапије и развила средства која би ову терапију, до сада једини куративни приступ алергијским обољењима, учинила безбеднијом и ефикаснијом.

По тренутно важећој теорији успешну имунотерапију карактеришу промене на свим ћелијама укљученим у регулацију имуног одговора: ћелијама које „приказују“ антигене имуном систему («антиген-presenting cells», APC), T-ћелија које у синхронизацији са B-ћелијама преусмеравају лучење IgE на IgG и тако стварају масу алерген-специфичних антитела класе IgG, која се називају и блокирајућа антитела), али и T-регулаторних ћелија, за које се сматра да су у дисбалансу код особа које имају неко од стања преосетљивости [6]. Ове ћелије, регулишу активност других T-ћелија, и важне су у третману стања која карактерише небалансирана активност T ћелија типа Th2 (алергије) или типа Th1 (аутоимунa обољења).

НОВЕ ФОРМЕ ИМУНОТЕРАПИЈЕ

Нове форме имунотерапије у односу на класичну имунотерапију (хипосензибилизацију), алерген у растућим дозама администрирају у измењеном облику. У зависности од тога који део имуног система пацијента је циљ у модификованој форми имунотерапије, разликују се следећи основни модалитети: једни мењају тип ћелија које презентују алерген (АРС), други утичу на IgE-везујуће епитопе, трећи делују на нивоу Т-ћелија (тј. Т-ћелијских епитопа), или евентуално циљају регулаторне Т-ћелије. Одговор пацијента на измењен алерген, или на измењен начин, се увек манифестује кроз све нивое одбране организма, и успешност модификоване имунотерапије се огледа кроз генерисање: специфичног IgG (блокирајућа антитела), регулаторних Т-ћелија, смањивање нивоа цитокина који генеришу алергијску инфламацију [7].

ИМУНОСТИМУЛАТОРНИ КОЊУГОВАНИ ДЕРИВАТИ АЛЕРГЕНА

Од посебног су интереса нови препарати који би могли да у исто време утичу на IgE-епитопе и стимулишу имуни систем да генерише анти-алергијски одговор. Такви препарати могу бити алерген-хибридне вакцине [8] (генерисани техникама молекуларне биологије), препарати који делују на нивоу Toll-like рецептора (TLR) [9] (нпр. CpG мотиви који се хемијски купују на молекуле алергена) [10], или они који делују на нивоу других рецептора укључених у тзв. урођени имуни одговор, као што су PR рецептори (pattern recognition receptors), чији природни лиганди су полианјони [11, 12]. Лиганди TLR и PR рецептора, који повезују урођени и адаптивни имунитет, су изузетно потентни стимулатори имуног система [13, 14].

ХЕМИЈСКЕ МОДИФИКАЦИЈЕ АЛЕРГЕНА

Хемијским модификацијама алергена могуће је генерисати лиганде PR рецептора, што је и показано за пептиде алергена кућне прашице [15] (Der p) и тропомиозин алерген шкампа [16]. Ови молекули су након модификовања малеилацијом генерисали снажан имуни одговор, тј. стимулисали лучење анти-алергијских цитокина на експерименталним животињама током имунизације, што није био случај са немодификованим (контролним) алергенима. Лиганди PR рецептора нису детаљно проучени, али постоје студије које указују да су важна нагомилана негативна наелектрисања на потенцијалном лиганду која формирају везивно место за PR рецептор [17]. Природним процесом генерисан малондиалдехид такође даје лиганде за PR рецепторе [18]. Могуће је и да се ови протеини ефикасније процесују у макрофагама, ћелијама урођеног имуног одговора које најчешће експримирају PR рецепторе, што све доприноси снажнијем имуном одговору на иначе слабе стимулаторе имуног система (као што је често случај са алергенима) [19].

Неки ранији радови модификовања алергена екстраката полена трава малеил-анхидридом нису да-

ли добре резултате у смислу смањене алергености ових деривата *in vitro*, и овај поступак модификације је напуштен услед недовољно умањене алергености (у поређењу са неким другим хемијским агенсима) [20, 21] која би могла да овај дериват учини потенцијално интересантним препаратом (тзв. алергоидом), слично формалергоидима и алергоидима добијеним третманом глутаралдехидом који су нашли пуну клиничку примену [22]. Увођење локалне имунотерапије као новог вида специфичне имунотерапије, уз све бројније доказе повезаности урођеног и адаптивног имуног одговора (чиме се лиганди PR рецептора и TL рецептора директно повезују са генерисањем Т-ћелијског имуног одговора) је поново усмерило интерес ка ацил дериватима алергена, потенцијалним терапеутицима алергијских обољења.

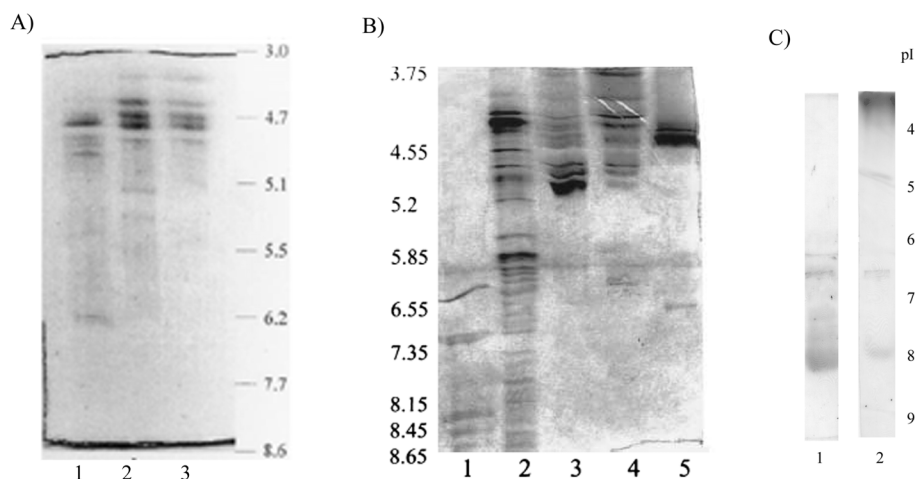
ДОБИВАЊЕ И КАРАКТЕРИЗАЦИЈА АЦИЛ ДЕРИВАТА АЛЕРГЕНА

Поступак хемијске модификације аминокиселина група у молекулу алергена (које су на физиолошком рН позитивно наелектрисане) анхидридима киселина, при благим условима, даје ацил дериватизоване алергене (негативно наелектрисане на физиолошком рН) који могу да буду потенцијални лиганди PR рецептора. У исто време, дериватизацијом позитивно наелектрисаних врста у молекулу алергена, мењају се и потенцијални IgE везујући епитопи, чиме може да се мења IgE везујући потенцијал хемијски модификованих деривата алергена, алергеност, а потенцијално и имуногеност ових деривата.

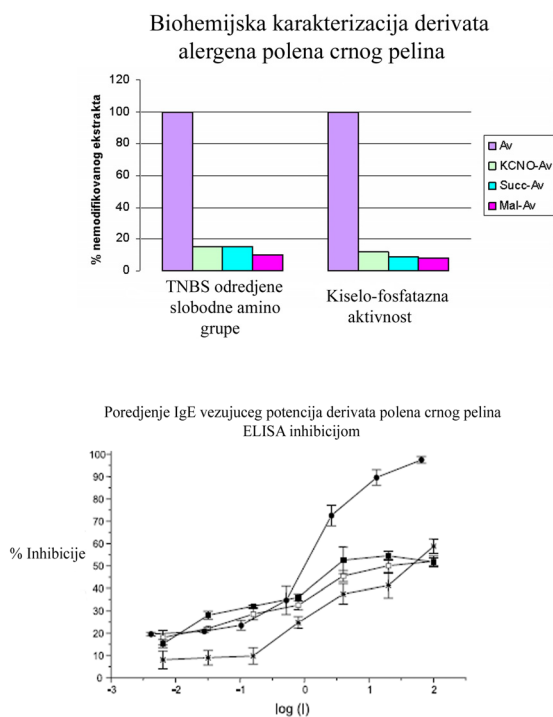
Хемијске модификације могу да се примене и на пуним екстрактима алергена, а и на пречишћеним протеинима, што је велика предност овог поступка дериватизације у односу на технике протеин инжењеринга.

Деривати протеина полена јежевице (*Dactylis glomerata*) [23] и црног пелина (*Artemisia vulgaris*) [23] су добијени модификацијом анхидридима малеинске и ћилибарне киселине и њихова биохемијска карактеризација је указала да су: задржали мономерну структуру, променили укупни (net) вредност површинског наелектрисања (из позитивног у негативно) док је ензимска активност ових препарата (кисело-фосфатазна) у потпуности пратила проценат резидуалних аминокиселина група (немодификованих деривата киселина). Сви ови биохемијски параметри који су праћени и који указују на успешност поступка модификације су приказани на Слици 1 и 2.

Карбамилација алергена полена црног пелина [23] (формирање уреидо групе након третмана аминокиселина група калијум-цијанатом) даје деривате који према *in vitro* испитивањима показују мање измењен капацитет да везују специфични IgE од деривата добијених ацилацијом (Слика 3). Ови деривати су већ у клиничкој примени [24, 25] и показали су добре резултате као препарати који могу да се примене у локалним формама имунотерапије, услед задржавања мономерне структуре дериватизованих алергена,



Слика 1. Испитивање површинског наелектрисања ацилдериватизованих алергена полена. А) Изоелектрофокусирање протеина екстракта полена јежевице (1), малеил деривата протеина полена јежевице (2) и сукцинил деривата протеина полена јежевице (3). Б) Изоелектрофокусирање протеина екстракта полена црног пелина (2), карбамил деривата протеина полена црног пелина (3), сукцинил деривата протеина полена црног пелина (4), малеил деривата протеина полена црног пелина (5) и pI маркер протеина (1). Изоелектрофокусирање Art v 1, главног алергена полена црног пелина (1) и ацетил деривата Art v 1 (2).



Слика 2. Биохемијска карактеризација деривата алергена полена црног пелина одређивањем слободних аминок група тринитробензенсулфонским реагенсом (TNBS) након дериватизације протеина и праћењем заостале ензимске активности уз употребу 4-нитрофенил фосфата (4-NPP) као супстрата за киселе фосфатазе. Екстракт протеина полена црног пелина (Av), карбамил дериват (KCNO-Av), малеил дериват (Mal-Av) и сукцинил дериват (Succ-Av).

Слика 3. IgE везујући потенцијал протеина екстракта полена црног пелина и ацилдеривата алергена полена црног пелина одређен ELISA инхибицијом. За микротитар плочицу је куплован недериватизован алерген, а растућим концентрацијама контролног (недериватизованог) и ацилдериватизованих деривата алергена полена је испитиван потенцијал блокирања везивања хуманог IgE из серума алергичних пацијената за микротитар плочицу. Инхибитори: екстракт протеина полена црног пелина (-?-), карбамил дериват протеина полена црног пелина (-?-), малеил дериват протеина полена црног пелина (-?-) и сукцинил дериват протеина полена црног пелина (-*-).

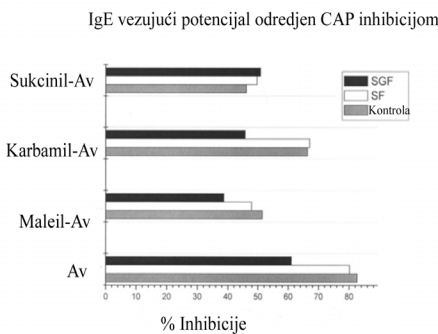
што у случају формалергоида и алергоида добијених третманом глутаралдехидом није могуће.

Због могуће примене ових деривата у локалним видовима имунотерапије, тестирана је и њихова стабилност у симулираним условима интестиналних флуида, пре свега желудачном флуиду (SGF) и у присуству протеаза [26, 27]. Слика 4 приказује понашање деривата алергена црног пелина у условима симулираних интестиналних флуида. Деривати су

стабилни колико и недериватизовани, контролни екстракт полена црног пелина.

АЛЕРГЕНОСТ АЦИЛ ДЕРИВАТА АЛЕРГЕНА ПОЛЕНА

Смањена реактивност у кожној проби (SPT) је важан параметар у проучавању дериватизованих алергена, јер може да укаже на побољшане особине алергених екстраката у смислу смањења нежељених



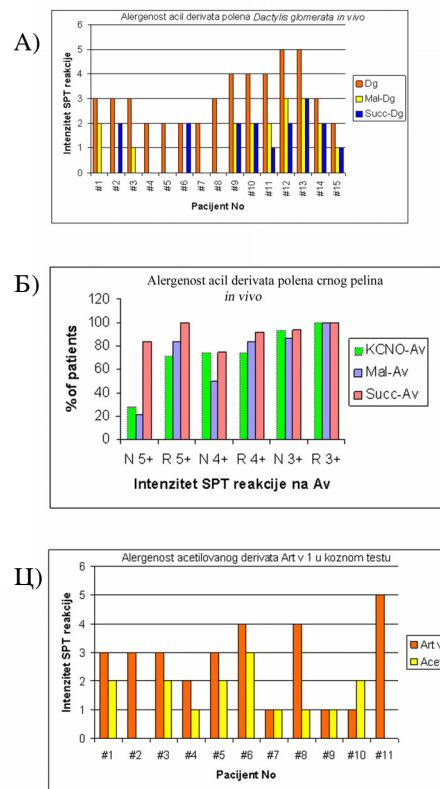
Слика 4. IgE везујући потенцијал екстракта полена црног пелина и ацилдеривата алергена полена црног пелина одређен CAP инхибицијом IgE везивања. Протеини су били изложени дејству симулираних услова гастроинтестиналног система: SF (саливарни флуид, имитира пљувачку) и SGF (желудачни флуид, имитира желудачни сок). Екстракт протеина полена црног пелина (Av), карбамил дериват (карбамил-Av), малеил дериват (малеил-Av) и сукцинил дериват (сукцинил-Av).

ефеката током потенцијалне имуноterapiје. Кожна проба је мерило тренутне кожне реактивности и односи се на реакције IgE и алергена (деривата алергена) при првом контакту у ткиву пацијента. Манифестација реакције препознавања алергена (деривата алергена) од стране IgE усклађеног на мастоцитима је ослобађање хистамина и бројних других медијатора инфламације. Огледа се у појави отока и црвенила на месту контакта алергена са кожом тестираног пацијента. Квантитативним кожным тестом (користећи хистамин као позитивну контролу) могуће је поредити алергени потенцијал дериватизованих алергена са контролним (немодификованим) алергеном, или алергеним екстрактом. Слика 5 приказује резултате добијене квантитативним кожным тестом у популацији пацијената алергичних на полне трава (јежевица) и корова (црног пелина). Ацил деривати и у овом тесту показују висок степен редуковане способности за везивање IgE, тј. премошћавање IgE на површини мастоцита и дегранулацију хистаминских гранула.

ИМУНОГЕНОСТ АЦИЛ ДЕРИВАТА АЛЕРГЕНА

Важност стимулације алерген-специфичних Т-ћелија и покретање имуног одговора у смислу стварања специфичних антитела IgG класе (блокирајућих антитела) [28] и преусмеравање имуног одговора од алергијског (Th2 типа) ка «нормалном» имуног одговору (Th1 типа) је важна особина сваког потенцијалног препарата за имуноterapiју алергијских обољења. Модификовање IgE везујућих епитопа, може, али и не мора да измени и IgG везујуће епитопе. Наравно, уколико је хемијском модификацијом драматично измењена структура алергена, велика је вероватноћа да ће се тим поступком модификовати и Т-ћелијски епитопи, који представљају важну карику у имуномодулацији имуног одговора на дати алерген, или дериват алергена. Неке најновије студије показују да управо овај параметар није задовољен у потпуности када су у питању формалергоиди и алергоиди добијени третманом глутаралдехидом [29]. Умањена имуногеност у односу на немодификовани алерген није пожељан параметар у смислу потенцијалне клиничке примене ових препарата.

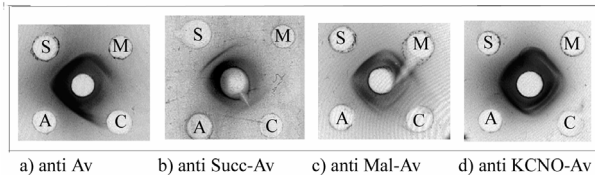
Имунизацијом експерименталних животиња и проучавањем укрштене реактивности серума генерисаних на дериватизоване алергене са немодифи-



Слика 5. Испитивање алергеног потенцијала алергена полена јежевице, црног пелина и њихових ацил деривата квантитативним кожным тестом (SPT). А) СРТ алергена екстракта полена јежевице (Dg) и малеил- (Mal-Dg) и сукцинил- деривата (Succ-Dg) на групи од 15 пацијената алергичних на полен јежевице. Б) СРТ алергена екстракта црног пелина, карбамил деривата (карбамил-Av), малеил деривата (Maleil-Av) и сукцинил деривата (Sukcinil-Av) на групи од 46 пацијената алергичних на полен црног пелина. Ц) SPT главног алергена екстракта црног пелина, Art v 1, и ацетил деривата Art v 1 на групи од 11 пацијената.

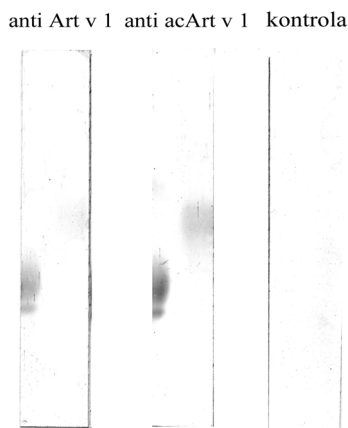
кованим протеинима, проучава се тзв. имуногеност дериватизованих алергена и квалитет имуног одговора који би евентуално могао да буде генерисан током потенцијалне имуноterapiје алергичних пацијената. Пожељно је да имуногеност буде у потпуности очувана и да антитела генерисана имунизацијом дериватима алергена препознају немодификоване

епитопе на природном алергену (тзв. укрштена реактивност). Ацил деривати су у нашим експериментима показали очувану имуногеност при имунизацији зечева. Укрштена реактивност је показана у тесту имунопреципитације антигена и антитела генерисаног имунизацијом (Слика 6).



Слика 6. Имуногеност алергена полена црног пелина (Ав), карбамил деривата (КСНО-Ав), малеил деривата (Мал-Ав) и сукцинил деривата (Сукс-Ав) на зечевима тестирана у двострукој имунодифузији. Антитела су генерисана на протеине екстракта полена црног пелина (а), сукцинил дериват (б), малеил дериват (ц) и карбамил дериват (д) и испитивана је њихова укрштена реактивност са контролним (немодификованим протеинима полена црног пелина) и свим осталим дериватима.

Ацетил дериват главног алергена полена црног пелина (Art v 1)[30] имунизацијом зечева даје антитела која су у потпуности укрштено-реактивна са немодификованим алергеном у имуноблоту (Слика 7), а показују и имају блокирајући потенцијал у ELISA тесту [31].



Слика 7. Имуногеност главног алергена полена црног пелина, Art v 1, и ацетил деривата Art v 1 на зечевима, тестирана у имуноблоту. Антитела су генерисана Art v 1 (antiArt v 1) и ацетил Art v 1 (anti acetilArt v 1) и испитивана је њихова укрштена реактивност.

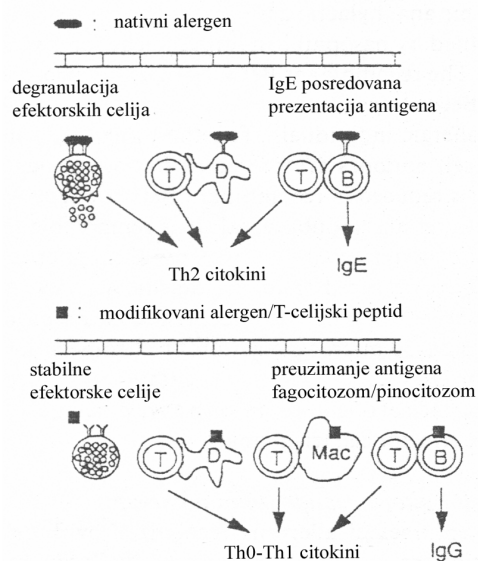
ПРЕТПОСТАВЉЕНИ МЕХАНИЗАМ ДЕЛОВАЊА АЦИЛ ДЕРИВАТА АЛЕРГЕНА У СПЕЦИФИЧНОЈ ИМУНОТЕРАПИЈИ

Ацил деривати би у потенцијалној специфичној имуноterapiји деловали на неколико начина:

- блокирањем IgE везујућих епитопа на алергену (ациловањем) ефекторске ћелије (ма-

стоцити) би биле стабилне током ињектовања алергена,

- IgE-посредована презентација алергена од стране Б-ћелија би била блокирана,
- на нивоу антиген-предентујућих ћелија користећи преференцијално макрофаге као APC уместо дендритских ћелија,
- стимулацијом Т-ћелија генерисала би се антитела IgG класе (блокирајућа антитела),
- имуни систем би се стимулисао и преусмеравао ка Th1 типу путем интеракције ацил деривата алергена и PR рецептора на APC, у првом реду макрофага (Слика 8).



Слика 8. Разлика у презентацији и имуном одговору на нативне и модификоване алергене.

Потенцијална имуноterapiја дериватизованим алергенима би у сваком случају требало да буде безбеднија за пацијента, услед смањеног лучења хистамина и других медијатора инфламације који поспешују алергијску инфламацију и дуготрајним излагањем алергену могу да доведу и до хроничног стања. Очување мономерне (нативне) структуре дериватизованих алергена би омогућило њихову примену и у локалним формама имуноterapiје.

Напомена: Резултати који су приказани у овом раду су део докторске дисертације др Тање Ђирковић Величковић која је урађена под руководством проф. Ратка М. Јанкова. Део приказаних резултата су и резултати дипломских и магистарских радова дипломираних биохемичара мр Наталије Половић, Иве Перовић и Милана Блануше, који су рађени под руководством др Тање Ђирковић Величковић. Драгоцену помоћ у раду на овој проблематици и кроз вишегодишњу сарадњу су пружиле колеге: др Марија Гавровић-Јанкуловић са Хемијског факултета, др Споменка Петровић, мр Лидија Буразер, др Љиљана Димитријевић и др Оља Вучковић са Института за Имунологију и Вирусологију Торлак, као и колеге клинички имунолози и алерголози, др Мина Миловановић, др Марина Атанасковић-Марковић, др Светлана Паранос, др Мирјана Букилица, др Зорица Шпорчић и др Олика Дробњак.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Gieras A, Focke-Tejkl M, Ball T, Verdino P, Hartl A, Thalhamer J, Valenta R. Molecular determinants of allergen-induced effector cell degranulation. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119(2):384-90.
2. Breiteneder H, Clare Mills EN. Plant food allergens—structural and functional aspects of allergenicity. *Bio-technol Adv* 2005;23(6):395-9.
3. Cirkovic Velickovic T, Gavrovic-Jankulovic M, Jankov RM. Overview of the most commonly used methods in allergen characterization. *Journal of the Serbian Chemical Society* 2005;70(3):347-60.
4. McEldowney SJ, Bush RK. Pollen immunotherapy: selection, prevention, and future directions. *Curr Allergy Asthma Rep* 2006;6(5):420-6.
5. Dabbagh K, Dahl ME, Stepick-Biek P, Lewis DB. Toll-Like Receptor 4 Is Required for Optimal Development of Th2 Immune Responses: Role of Dendritic Cells. *J Immunol* 2002;168(9):4524-30.
6. Larche M, Akdis CA, Valenta R. Immunological mechanisms of allergen-specific immunotherapy. *Nat Rev Immunol* 2006;6(10):761-71.
7. Senti G, Gomez JM, Rettig L, Wuthrich B, Kundig TM, Johansen P. Immunotherapeutic targeting of allergic disease. *Inflamm Allergy Drug Targets* 2006;5(4):243-52.
8. Kussebi F, Karamloo F, Rhyner C, *et al.* A major allergen gene-fusion protein for potential usage in allergen-specific immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115(2):323-9.
9. Johansen P, Senti G, Martinez Gomez JM, Storni T, von Beust BR, Wuthrich B, Bot A, Kundig TM. Toll-like receptor ligands as adjuvants in allergen-specific immunotherapy. *Clin Exp Allergy* 2005;35(12):1591-8.
10. Agrawal S, Kandimalla ER. Modulation of Toll-like Receptor 9 Responses through Synthetic Immunostimulatory Motifs of DNA. *Ann N Y Acad Sci* 2003;1002:30-42.
11. Murphy JE, Tedbury PR, Homer-Vanniasinkam S, Walker JH, Ponnambalam S. Biochemistry and cell biology of mammalian scavenger receptors. *Atherosclerosis* 2005;182(1):1-15.
12. Limmon GV, Arredouani M, McCann KL, Corn Minor RA, Kobzik L, Imani F. Scavenger receptor class-A is a novel cell surface receptor for double-stranded RNA. *Faseb J* 2007.
13. Cirkovic Velickovic T, Thunberg S, Polovic N, Neimert-Andersson T, Gronlund H, van Hage M, Gafvelin G. Low Levels of Endotoxin Enhance Allergen-Stimulated Proliferation and Reduce the Threshold for Activation in Human Peripheral Blood Cells. *Int Arch Allergy Immunol* 2007;146(1):1-10.
14. Gao B, Wang Y, Tsan MF. The heat sensitivity of cytokine-inducing effect of lipopolysaccharide. *J Leukoc Biol* 2006;80(2):359-66.
15. Bhatia S, Mukhopadhyay S, Jarman E, *et al.* Scavenger receptor-specific allergen delivery elicits IFN-gamma-dominated immunity and directs established TH2-dominated responses to a nonallergic phenotype. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109(2):321-8.
16. Rajagopal D, Ganesh KA, Subba Rao PV. Modulation of allergen-specific immune responses to the major shrimp allergen, tropomyosin, by specific targeting to scavenger receptors on macrophages. *Int Arch Allergy Immunol* 2000;121(4):308-16.
17. Shakushiro K, Yamasaki Y, Nishikawa M, Takakura Y. Efficient scavenger receptor-mediated uptake and cross-presentation of negatively charged soluble antigens by dendritic cells. *Immunology* 2004;112(2):211-8.
18. Willis MS, Thiele GM, Tuma DJ, Klassen LW. T cell proliferative responses to malondialdehyde-acetaldehyde haptenated protein are scavenger receptor mediated. *Int Immunopharmacol* 2003;3(10-11):1381-99.
19. Nicoletti A, Caligiuri G, Tornberg I, Kodama T, Stemme S, Hansson GK. The macrophage scavenger receptor type A directs modified proteins to antigen presentation. *Eur J Immunol* 1999;29(2):512-21.
20. Moran DM, Wheeler AW. Chemical modification of crude timothy grass pollen extract. I. Antigenicity and immunogenicity changes following amino group modification. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1976;50(6):693-708.
21. Wheeler AW, Jenkins PM, Moran DM. Chemical modification of crude timothy grass pollen extract. II. Class and specificity of antibodies induced by chemically modified timothy grass pollen extract. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1976;50(6):709-28.
22. Corrigan CJ, Kettner J, Doemer C, Cromwell O, Narkus A. Efficacy and safety of preseasonal-specific immunotherapy with an aluminium-adsorbed six-grass pollen allergoid. *Allergy* 2005;60(6):801-7.
23. Cirkovic T, Gavrovic-Jankulovic M, Prusic S, Jankov RM, Burazer L, Vuckovic O, Sporicic Z, Paranos S. The influence of a residual group in low-molecular-weight allergoids of *Artemisia vulgaris* pollen on their allergenicity, IgE- and IgG-binding properties. *Allergy* 2002;57(11):1013-20.
24. Passalacqua G, Albano M, Fregonese L, Riccio A, Pronzato C, Mela GS, Canonica GW. Randomised controlled trial of local allergoid immunotherapy on allergic inflammation in mite-induced rhinoconjunctivitis. *Lancet* 1998;351(9103):629-32.
25. Passalacqua G, Pasquali M, Ariano R, *et al.* Randomized double-blind controlled study with sublingual carbamylated allergoid immunotherapy in mild rhinitis due to mites. *Allergy* 2006;61(7):849-54.
26. Cirkovic Velickovic TD, Polovic ND, Gavrovic-Jankulovic MD, *et al.* *Artemisia vulgaris* pollen allergoids digestibility in the simulated conditions of the gastrointestinal tract. *Journal of the Serbian Chemical Society* 2006;71(8-9):879-88.
27. Polovic N, Cirkovic Velickovic T, Gavrovic-Jankulovic M, Burazer L, Dergovic-Petrovic D, Vuckovic O, Jankov RM. IgG binding of mugwort pollen allergens and allergoids exposed to simulated gastrointestinal conditions measured by a self-developed ELISA test. *Journal of the Serbian Chemical Society* 2004;69(7):533-40.
28. van Neerven RJ, Knol EF, Eijraes A, Wurtzen PA. IgE-mediated allergen presentation and blocking antibodies: regulation of T-cell activation in allergy. *Int Arch Allergy Immunol* 2006;141(2):119-29.
29. Wurtzen PA, Lund L, Lund G, Holm J, Millner A, Henmar H. Chemical modification of birch allergen extract leads to a reduction in allergenicity as well as immunogenicity. *Int Arch Allergy Immunol* 2007;144(4):287-95.
30. Blanus M, Perovic I, Popovic M, *et al.* Quantification of Art v 1 and Act c 1 being major allergens of mugwort pollen and kiwi fruit extracts in mass-units by

ion-exchange HPLC-UV method. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 2007.

31. Cirkovic Velickovic T, Perovic I, Petrovic D, Gavrovic-Jankulovic M, Burazer L, Milovanovic M, Atanasovic-Markovic M, Jankov R. Allergenicity and immunogenicity of the major mugwort pollen allergen Art v 1 chemically modified by acetylation. Allergy 2007;62:260-.

Abstract

NEW FORMS OF IMMUNOTHERAPIES OF ALLERGIC DISEASES

Tanja Ćirković Veličković, Department of Biochemistry, Faculty of Chemistry, Belgrade University

The prevalence of allergic disorders, such as hayfever and asthma has increased worldwide, mostly in westernised

countries where up to 20 % of the population are affected. In recent years, a better understanding of the immunopathogenesis of allergic diseases has evolved, which has contributed to the development of novel more targeted forms of therapy. Allergen injection immunotherapy is the only treatment in current use with the curative potential. The use of modified allergens, allergen peptides and the use of novel adjuvants represent alternatives to conventional immunotherapy with potential for improved efficacy with less side effects. Although, immunomodulatory strategies provide a promising outlook for the treatment of allergic patients, more studies are needed in the future to address issues of efficacy, safety and long-term effects of altered immune responses.



Бранко Ј. Дракулић, Центар за хемију – ИХТМ, Универзитет у Београду, bdrakuli@chem.bg.ac.yu

ОД 1Д ДО 3Д СТРУКТУРЕ МОЛЕКУЛА - ВИЗУАЛИЗАЦИЈА И ПРИМЕНА

Хемијски преглед за циљну групу има средњошколце и њихове професоре - овај шекс је првенствено њима намењен. У оквиру наставних планова из хемије у вишим разредима основне и у средњој школи молекули се исправно представљају бруто и дводимензионалним формулама. Тродимензионалну представу молекула користимо тек онда када је потребно укључити неке стереохемијске концепције. На тај начин никако не правимо суштинску грешку. Дидактика налаже да се крене од основног, онога што се мора научити, (молим Вас читати схватити) да би се учило даље. Чињеница да су молекули тродимензионални објекти, на одређени начин иако осећају негде у позадини и до ње ће директно доћи они који се за предмет више интересују. Оно што ће прочитати је прича о молекулима, како они заиста изгледају, како их представљамо и због чега то радимо.

1Д, 2Д

Бруто формула садржи једнозначну информацију о томе које атоме садржи молекул и колико атома одређене врсте тачно у молекулу има (Слика 1а). Поред тога из бруто формуле као молекулску особину можемо једино израчунати релативну молекулску масу.



Слика 1. Кондензоване бруто формуле

Прво што ћете уочити да је прво једињење највероватније бензен, друго може бити диметил етар или етанол, треће је највероватније етанска киселина (сирћетна киселина), али може исто тако да буде метил естар метанске (мравље киселине), 1,2-етандиол, хидроксиетанол; понешто екзотичнији 1,2- или 1,3-диоксетан, или метилдиоксиран и тиме су могућности углавном исцрпљене. Последња бруто формула која садржи двадесет атома може да опише састав 1066 органских једињења која релано постоје.¹

Када бруто формулу разложимо, и даље је можемо представити у једној линији текста и на тај начин много једнозначније одредити како су групе атома повезане, односно смањити број могућих комбинација атома. На тај начин ономе који чита нашу записану информацију о молекулу показујемо скоро једнозначно који молекул смо хтели да прикажемо.



Слика 2. Бруто формуле

На слици 2 први молекул у горњем реду је бензен², друго је етанол, треће етанска киселина, а четврто од могућих 1066 ће за нашу причу бити парацетамол [*N*-(4-Хидроксифенил)ацетамид], лек који пијемо уместо аспирина када добијемо температуру или имамо главобољу.

¹ Податак о броју молекула преузет из електронске верзије Chemical Abstracta (SciFinder Scholar database) половином фебруара 2008.

² Овакав приказ цикличних структура је чест у старијим текстовима из времена када је слагање текста било засновано на Гутенберговом методу.