

IMUNOLOGIE V ZUBNÍM LÉKAŘSTVÍ

2. Strukturální charakteristika imunitního systému

(Prof. J. Lokaj, 2018)

IMUNOLOGIE V MEDICÍNĚ

Fyziologický a patogenetický princip:

imunologická diagnostika,

imunoterapie, imunomodulace

imunologická prevence chorobných stavů (vakcinace)

Lékařská specializace:

alergologie a klinická imunologie

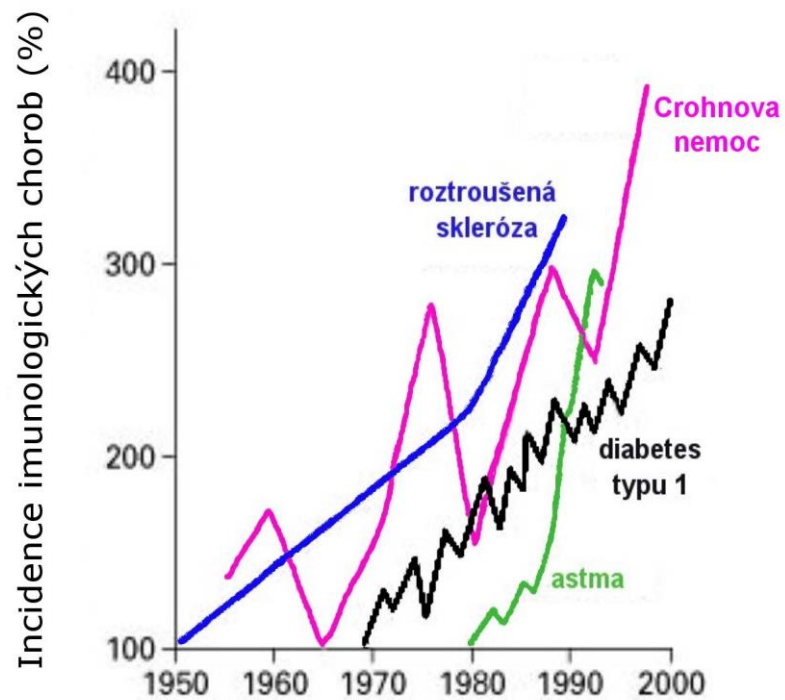
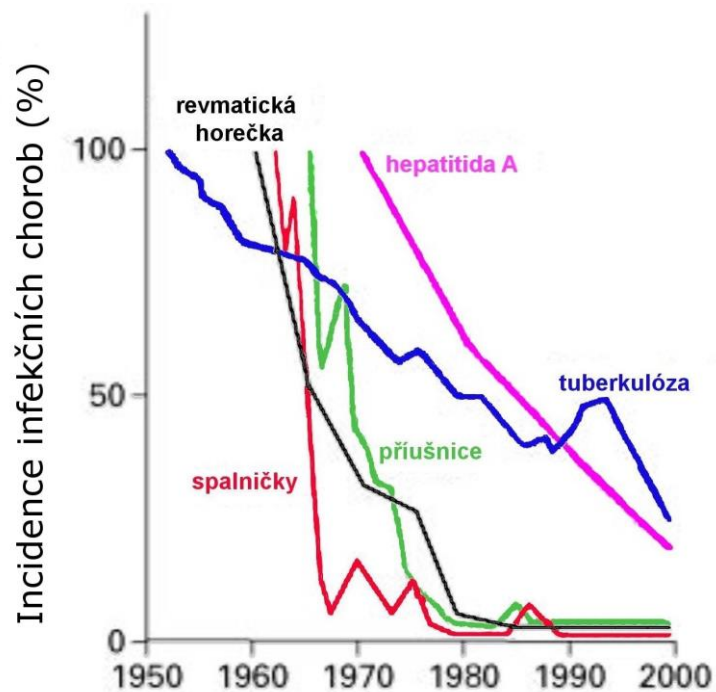
Specializace ostatních pracovníků v lékařství:

vyšetřovací metody v imunologii a alergologii

lékařská biopatologie – imunologie

Inverzní vztah mezi incidencí infekčních a imunologických chorob v letech 1950 - 2000

Bach J-F: N Engl J Med 2002; 347: 911- 920



Začátek imunologie jako samostatné disciplíny

Imunologie se zrodila jako nezávislá disciplína v r. 1880, kdy L. Pasteur, na základě jasného úspěchu Jennerovy vakcinace záměrně oslabil virulenci původce slepičí cholery a prokázal, že tato kultura nevyvolá onemocnění, ale imunitu proti němu. V r. 1881 úspěšně použil Bac. anthracis k imunizaci ovcí proti anthraxu a v r. 1886 úspěšně naočkoval devítiletého chlapce J. Meistera proti vzteklině; použil vysušenou míchu z králíků, infikovaných „fixním virem“.

Imunitní systém jako „šestý smysl“



IMUNOSENSORY-IMUNORECEPTORY

Zakodované v zárodečné linii
Pattern recognition receptors, PRR

MOLEKULÁRNÍ MOTIVY (VZORCE)
„ARCHETOPY“
exogenní (PAMP), endogenní (DAMP)

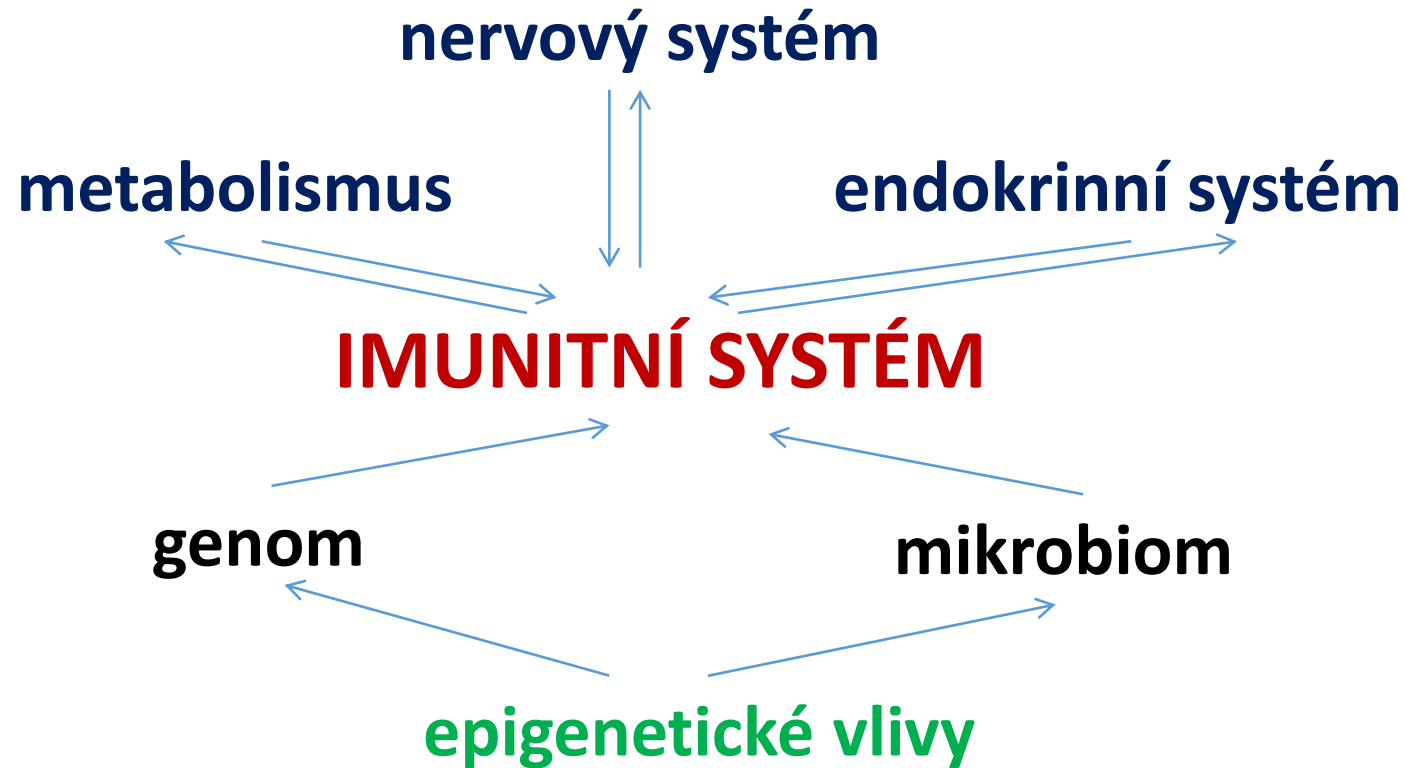
System vrozené imunity

Vzniklé somatickými mutacemi
TCR, BCR

ANTIGENY-EPITOPY „T“ „B“

System adaptivní imunity

*Imunitní systém je součástí
fyziologického řádu organismu*



Tři fáze imunitní reakce

- Neindukovaná, nespecifická reakce

Bezprostřední, během 0-4 hodin: preformované faktory (kožní a slizniční bariéry, pH, lysozym a jiné enzymy)

- Indukovaná, omezeně specifická reakce

Odvíjí se během 4- 96 hodin: aktivace komplementového systému, fagocytóza, cytotoxicita, zánětlivá reakce

- Indukovaná adaptivní reakce-specifická

po 96 hodinách: tvorba protilátek, efektorové lymfocyty T (T_c, T_h)

Major histocompatibility complex (MHC) Human leukocyte antigens complex (HLA)

- *chromosom 6,*
- *geny kodují molekuly, histokompatibilní antigeny, které jsou nutné především pro aktivaci a funkci T a B lymfocytů,*
- *hlavní biologická úloha je při presentaci antigenů*
- *diagnostické využití: transplantace, riziko chorob*

Charakteristika genů MHC

- Dvě třídy: **MHC I a MHC II**
Kodují membránové proteiny (antigeny)
MHC I: **HLA-A, HLA-B, HLA-C**
MHC II: **HLA-DR, HLA-DP, HLA-DQ**
- Polymorfismus:
Geny MHC jsou nejpolymorfnějšími geny v genomu
- Kodominantní exprese:
Každý jedinec má dvě alely (od obou rodičů); označují se číslicemi (např. HLA-A2, HLA-B5, HLA-DR3 ...)
- Soubor MHC alel na chromosomu se nazývá **haplotyp**

Charakteristika molekul (antigenů) MHC

- Molekuly MHC I třídy jsou přítomny na všech jaderných buňkách (tedy ne na erytrocytech!)
- Molekuly MHC II třídy jsou přítomny na buňkách imunitního systému (buňky předkládající antigen – dendritické buňky, makrofágy, B-lymfocyty), dále na buňkách endotelových a na epitelu thymu.
- Exprese molekul MHC I je na většině buněk zvýšena působením IFN, TNF, LT (tedy při vrozených imunitních reakcích)
- Expresi molekul MHC II na buňkách prezentujících antigen, vaskulárních endotelových buňkách, ale i na jiných buňkách (ne však na neuronech) zvyšuje IFN γ

Vztah antigenů HLA k chorobám

(pacienti v %, kontroly v %, relativní riziko)

M. Buc, 1997

- Narkolepsie: HLA-DQ6 (100 – 25 - 297,0)
- M. Bechterev: HLA-B27 (96 – 9 – 87,4)
- Celiakie: HLA-DR7/DR3 (34 – 1 - 60,0)
HLA-DQ2 (100 – 72 – 38,5)
- Juvenilní diabetes mellitus: HLA-DR3/4 (32 – 1 – 47,0)
- Revmatoidní arthritida: HLA-DR4 (50 – 19 – 4)

KOMPONENTY IMUNITNÍHO SYSTÉMU

cizí



odcizené

chybějící

nebezpečné



Komplementový systém
Histamin, eikosanoidy
Antimikrobiální peptidy
Cytokiny vč. interferonů
Proteiny akutní fáze
Přírozené protilátky
Imunoglobuliny

Lymfocyty B
Lymfocyty T
Buňky NK, NKT, ILC
Buňky předkládající Ag
Profesionální fagocyty
Mastocyty
Endotelové buňky
Epitelové buňky

ELIMINACE

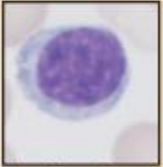

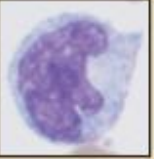
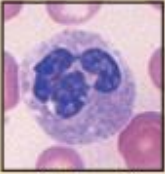
PROTEKCE

PAMĚŤ

TOLERANCE

PARALÝZA

PATOLOGIE

Cell type	Principal function(s)
<p>Lymphocytes: B lymphocytes; T lymphocytes; natural killer cells</p>  <p><i>Blood lymphocyte</i></p>	<p>Specific recognition of antigens</p> <p>B lymphocytes: mediators of humoral immunity</p> <p>T lymphocytes: mediators of cell-mediated immunity</p> <p>Natural killer cells: cells of innate immunity</p>
<p>Antigen-presenting cells: dendritic cells; macrophages; follicular dendritic cells</p>   <p><i>Dendritic cell</i> <i>Blood monocyte</i></p>	<p>Capture of antigens for display to lymphocytes:</p> <p>Dendritic cells: initiation of T cell responses</p> <p>Macrophages: initiation and effector phase of cell-mediated immunity</p> <p>Follicular dendritic cells: display of antigens to B lymphocytes in humoral immune responses</p>
<p>Effector cells: T lymphocytes; macrophages; granulocytes</p>  <p><i>Neutrophil</i></p>	<p>Elimination of antigens:</p> <p>T lymphocytes: helper T cells and cytolytic T lymphocytes</p> <p>Macrophages and monocytes: cells of the mononuclear phagocyte system</p> <p>Granulocytes: neutrophils, eosinophils</p>

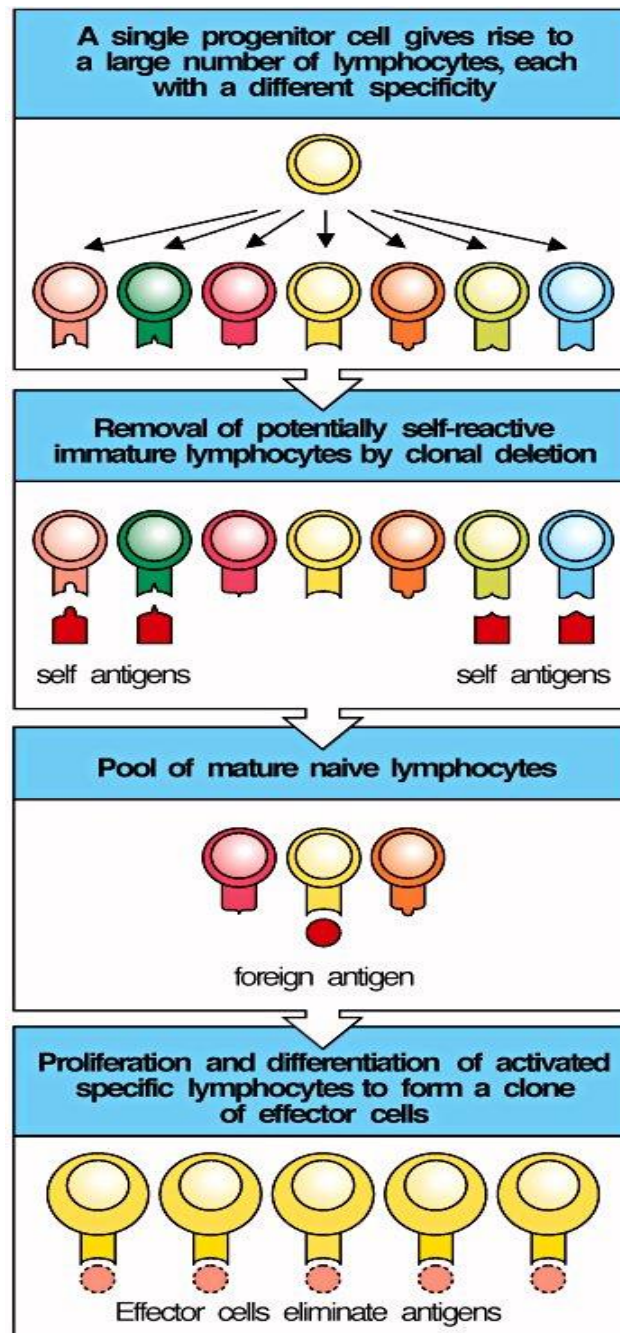
© Elsevier Ltd. Abbas & Lichtman: Basic Immunology 2E www.studentconsult.com

Základními operačními jednotkami adaptivní imunity jsou
lymfocyty T a B



Klonální selekční teorie

(F. M. Burnet)



Postuláty klonální selekční teorie

- Každý lymfocyt má jeden typ receptoru s jedinečnou specificitou
- Buňky, které vznikly z aktivovaných lymfocytů proliferací a diferenciací mají receptory stejné specificity.
- Lymfocyty, které mají receptory pro tělu vlastní antigeny jsou v časném stadiu vývoje lymfoidních buněk odstraněny a tudíž v repertoáru zralých lymfocytů chybí („forbidden clones“)
- Interakce mezi epitopem antigenu a receptorem schopným ji vázat vede k aktivaci lymfocytu (*nutný je však ještě „druhý“ signál*)

Hozumi N, Tonegawa S:

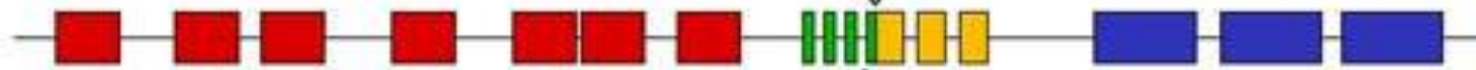
Evidence of somatic rearrangement of immunoglobulin genes coding for variable and constant regions

Proc Natl Acad Sci USA 1976; 73: 3628-32

Germline configuration



D to J recombination



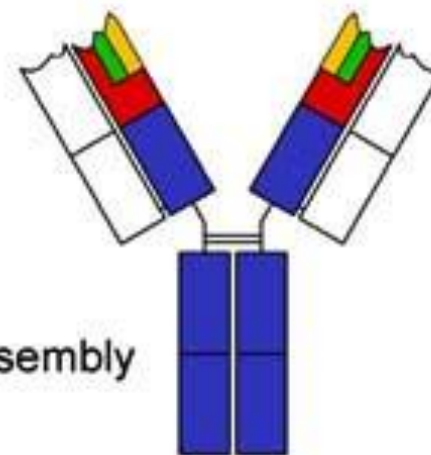
V to DJ recombination



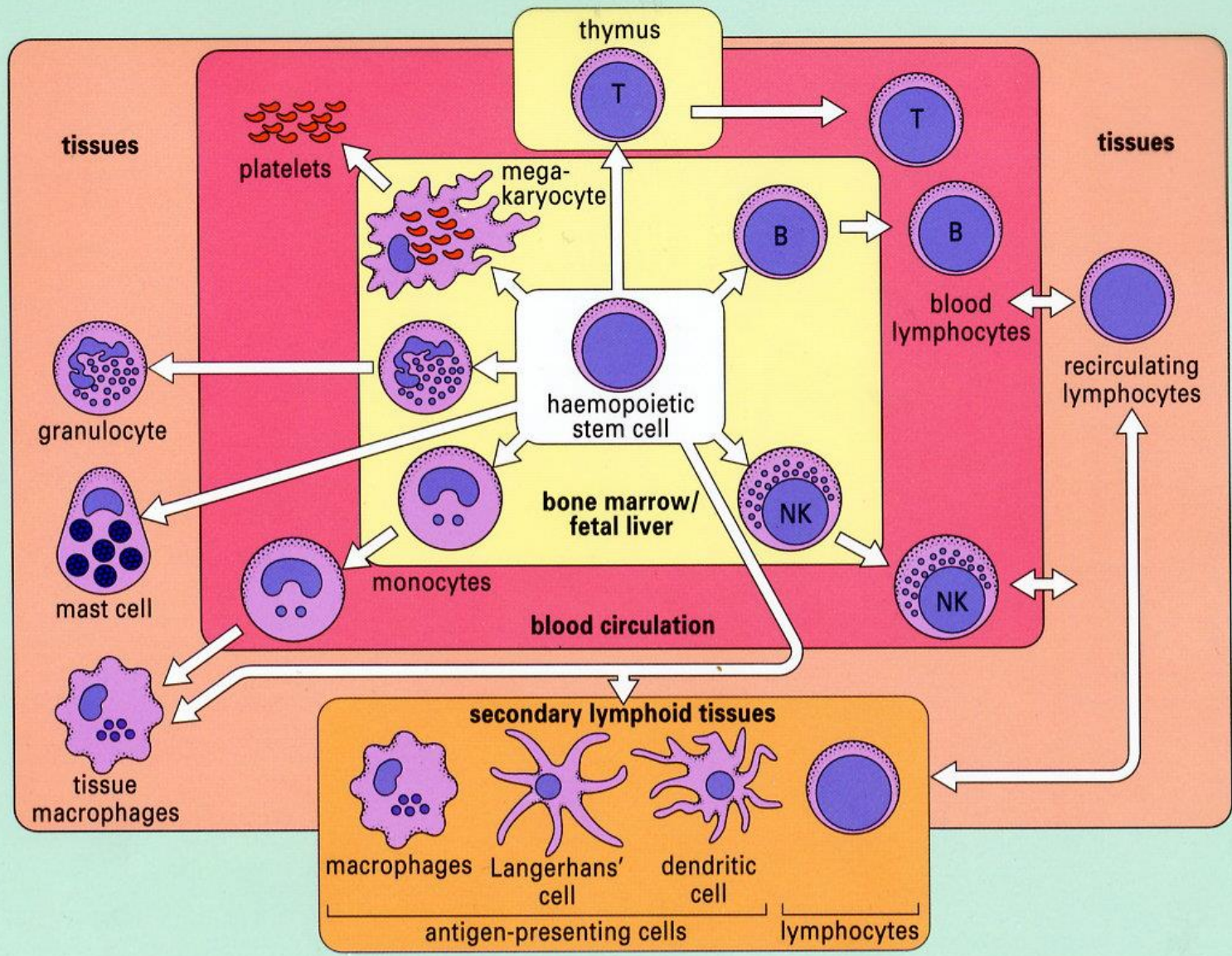
transcription, splicing



translation, assembly



(adapted from Janeway 2001)



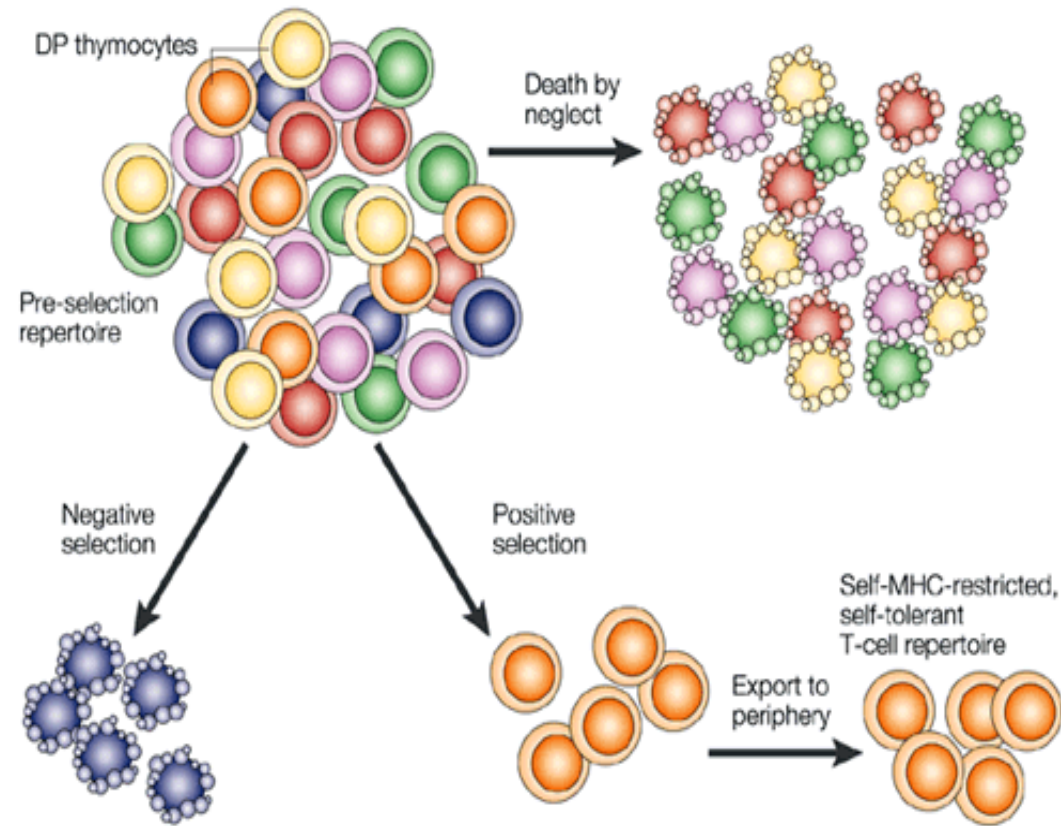
VÝVOJ A SELEKCE B- LYMFOCYTŮ

Kostní dřeň

Negativní selekce autoreaktivních buněk

VÝVOJ A SELEKCE T LYMFOCYTŮ

Thymus



Krevní obraz: leukocyty

Odběr krve do EDTA (nesrážlivá)

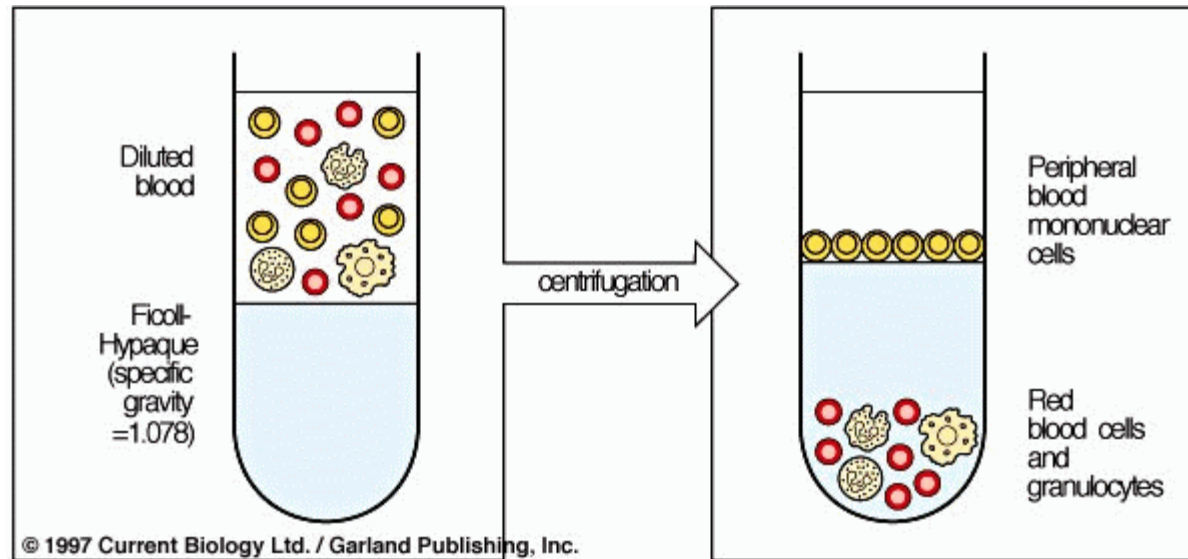
Leukocyty

dospělí:	4,0 – 9,0 x 10 ⁹ /L
4-7 let:	5,5 – 15,5 x 10 ⁹ /L
novorozenci:	9,0 – 30,0 x 10 ⁹ /L

Diferenciální krevní obraz

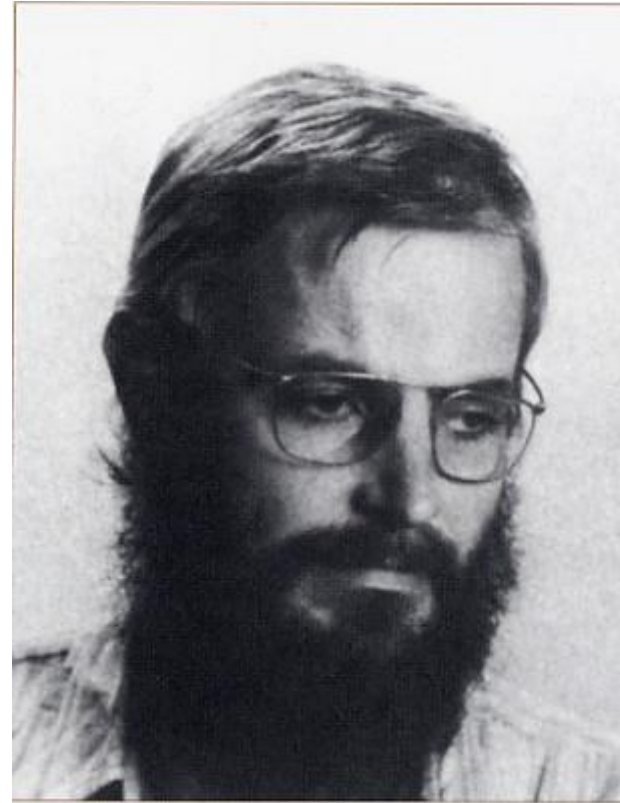
	<u>Dospělí</u>	<u>Děti</u>	<u>Kojenci</u>
Tyčky	do 5%	do 6%	do 8%
Granulocyty neutrofilní	40–70%	25-60%	17-60%
eosinofilní	do 4%	1-5%	1-5%
basofilní	do 1%	do 1%	do 1%
Monocyty	do 7%	1-6%	1-6%
Lymfocyty	25-45%	25-50%	20-70%

Izolace mononukleárních buněk z krve



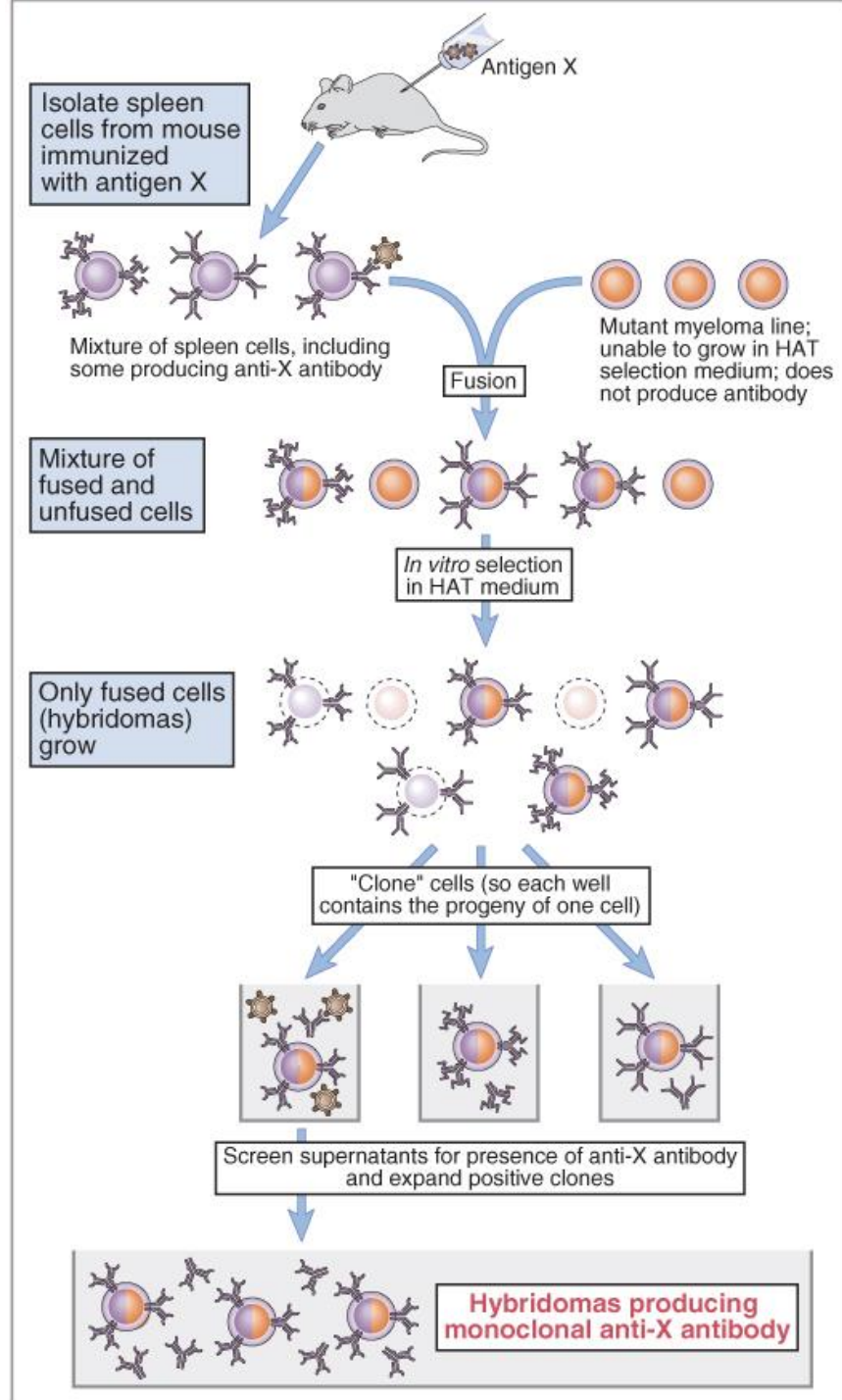
K identifikaci lymfocytů i ostatních buněk
imunitního systému se používají
monoklonální protilátky

Monoklonální protilátky: C. Milstein, G. Köhler (*Nobelova cena 1984*)



Monoklonální protilátky jsou tvořeny hybridomy *in vitro*

- Linie myelomových buněk, které jsou metabolicky defektní (HGPRT-hypoxanthin-guanin phosphoribosyltransferase) – nerostou v mediu HAT (hypoxanthin, aminopterin, thymidin) a nesekretují imunoglobuliny. Jsou „nesmrtelné“.
- Normální buňky B (imunizovaných myší) přinášejí těmto myelomovým buňkám enzymy, které jsou nezbytné pro syntézu DNA a umožňují růst v mediu HAT. Fúzí B- buněk a buněk myelomových vznikne „hybridom“. Hybridomy produkují monoklonální protilátky.



Monoklonální protilátky

nemodifikované: (muronomab-CD3;
Orthoclone, OKT3)

modifikované:

chimerické (V-domény myší)

humanizované (CDR oblasti myší)

lidské

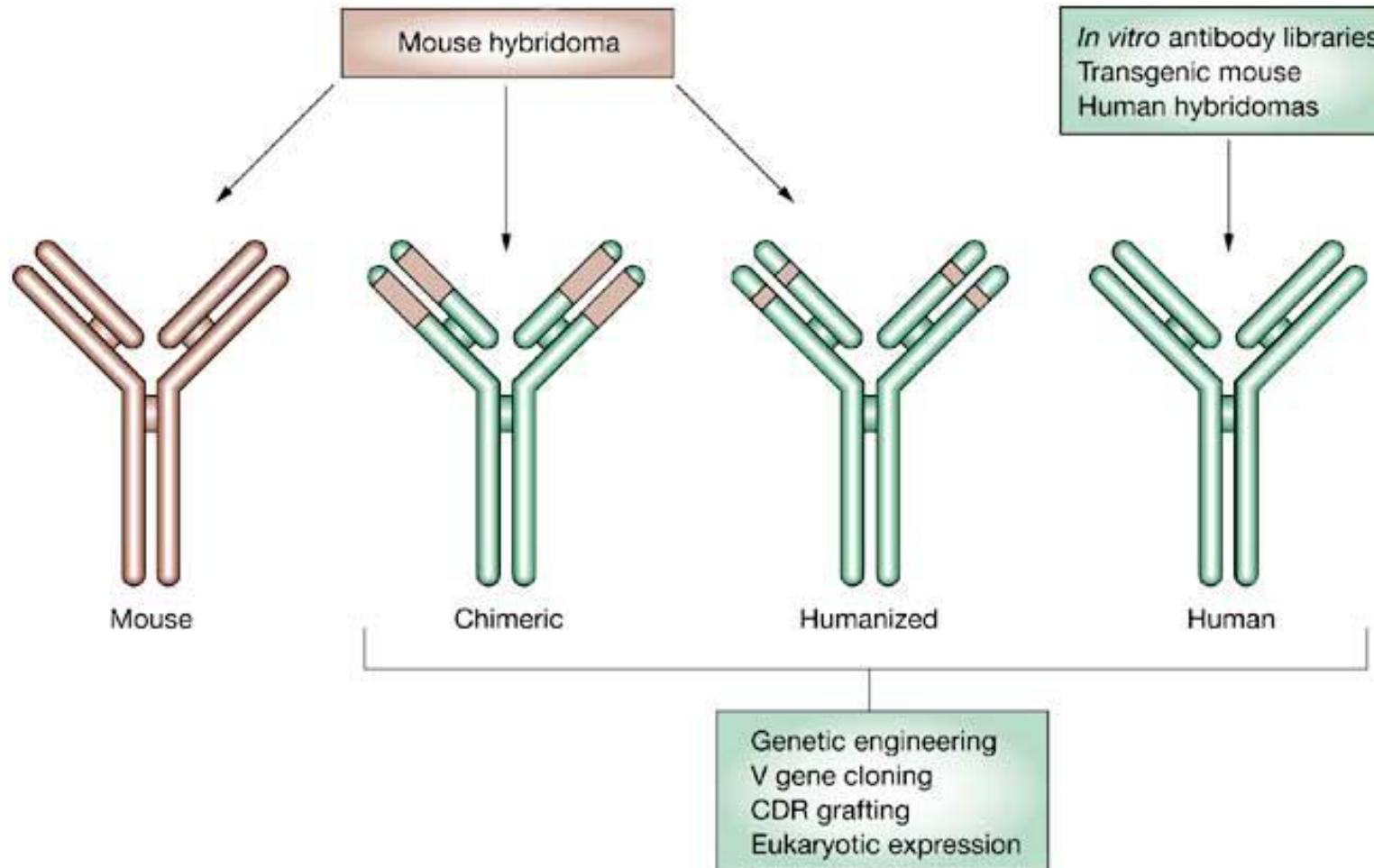
radioimunokonjugáty, onkotoxiny

Nomenklatura monoklonálních protilátek

- *-mab* (přípona pro monoklonální protilátky nebo jejich fragmenty)
- *-umab* (lidské) *-omab* (myší)
- *-ximab* (chimerické) *-zumab* (humanizované)

*(další složky názvu mají vyjadřovat „terče“ :
např. virové-**vir**, nádorové –**tum**, imunologické –**lim**,
kardiovaskulární – **cir**, neurologické –**ner** apod.)*

Typy monoklonálních protilátek používaných k terapii



Hohlfeld R *et al.* (2005) Drug Insight: using monoclonal antibodies to treat multiple sclerosis
Nat Clin Pract Neurol 1 34-44 [doi: 10.1038/ncpneuro0016]

nature
CLINICAL
PRACTICE

NEUROLOGY

CD klasifikační systém (Paříž 1982)

CD= cluster of differentiation:

Molekuly buněčných membrán prokazované monoklonálními protilátkami
metodikou průtokové cytometrie

(tč. asi 400 CD znaků, umožňujících posouzení vývojového stadia buněk a jejich aktivace).

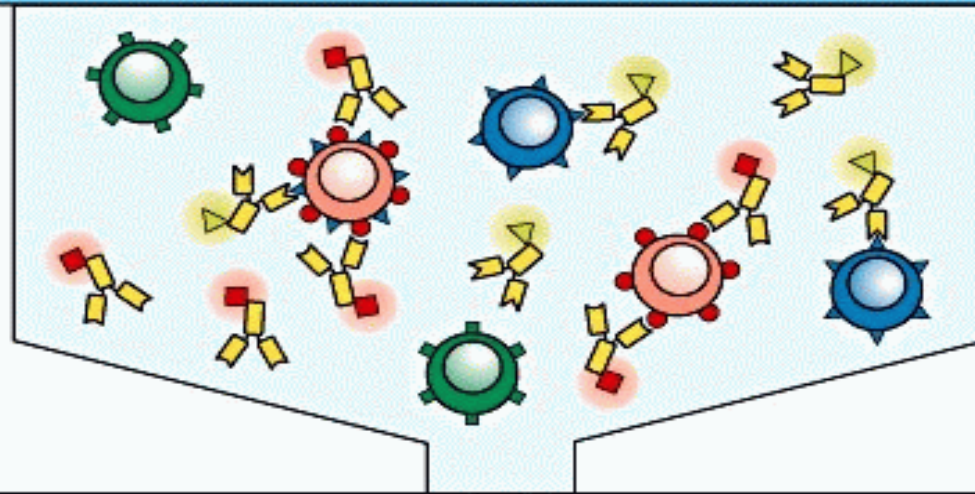
Odběr nesrážlivé krve (EDTA)

Lymfocyty T: CD3+	(58-85%)
Th: CD3+CD4+	(30-60% z CD3+)
Tc: CD3+CD8+	(15-35% z CD3+)

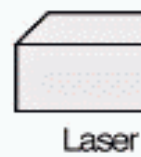
Lymfocyty B: CD19+ (7-23%)

Buňky NK: CD16+CD56+ (6-20%)

Mixture of cells is labeled with fluorescent antibody



Stream of fluid containing antibody-labeled cells



Laser

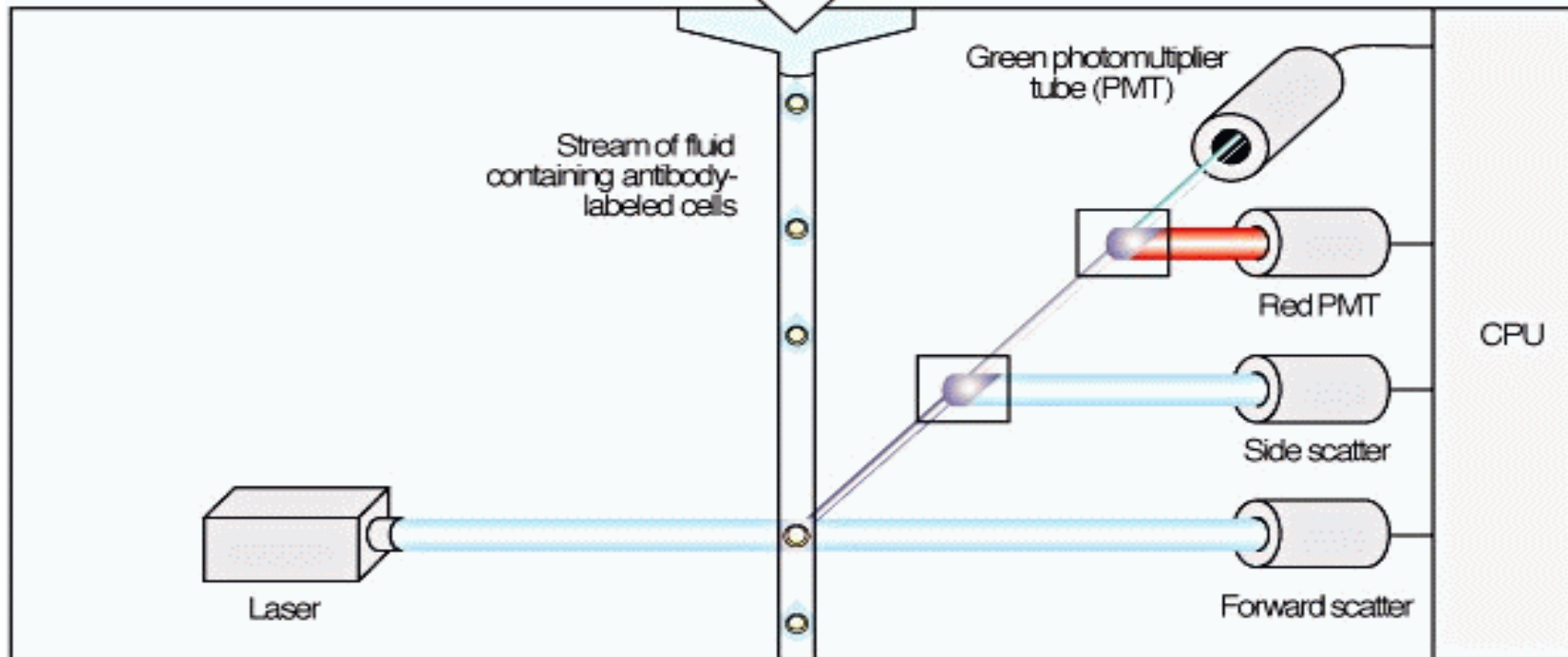
Green photomultiplier tube (PMT)

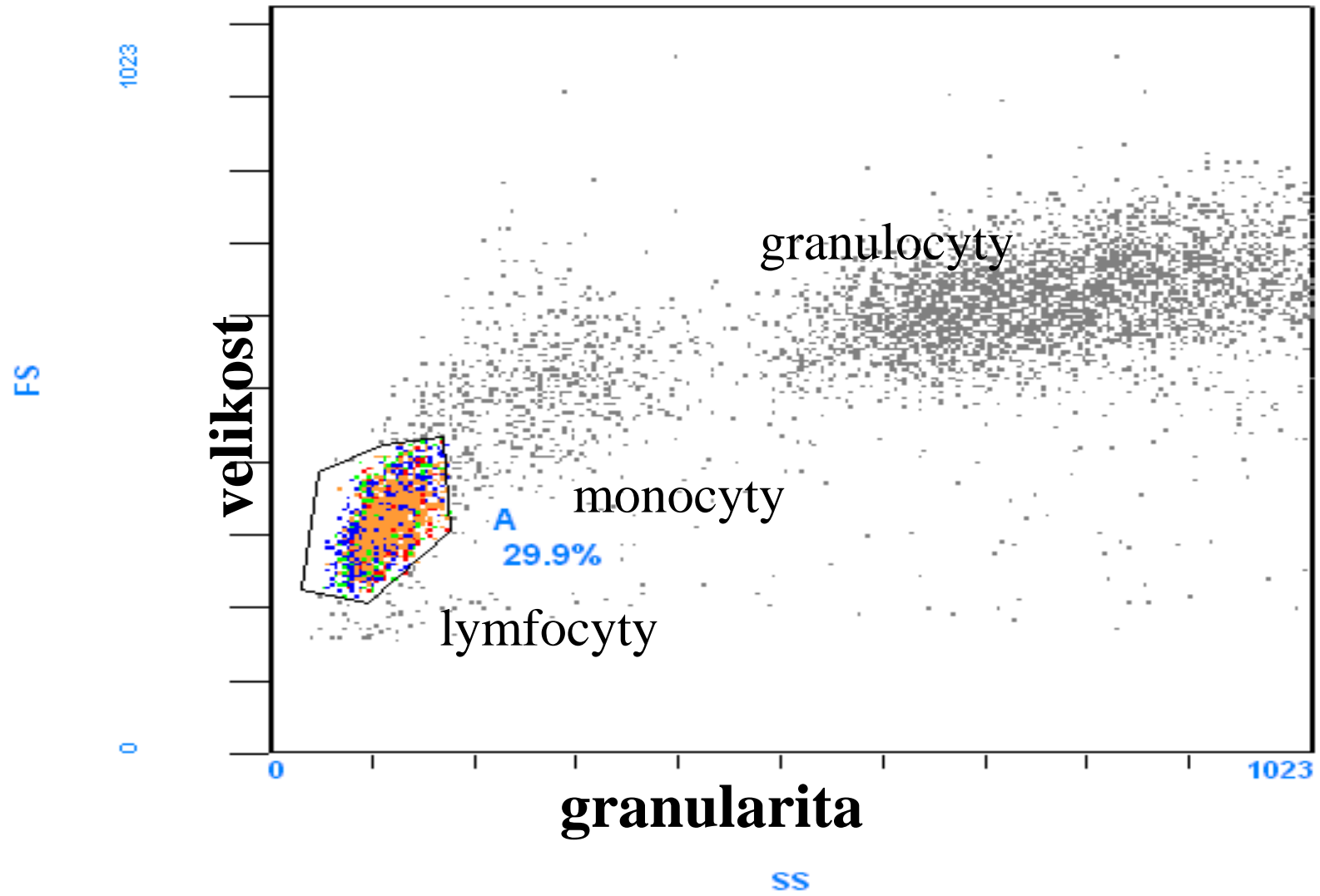
Red PMT

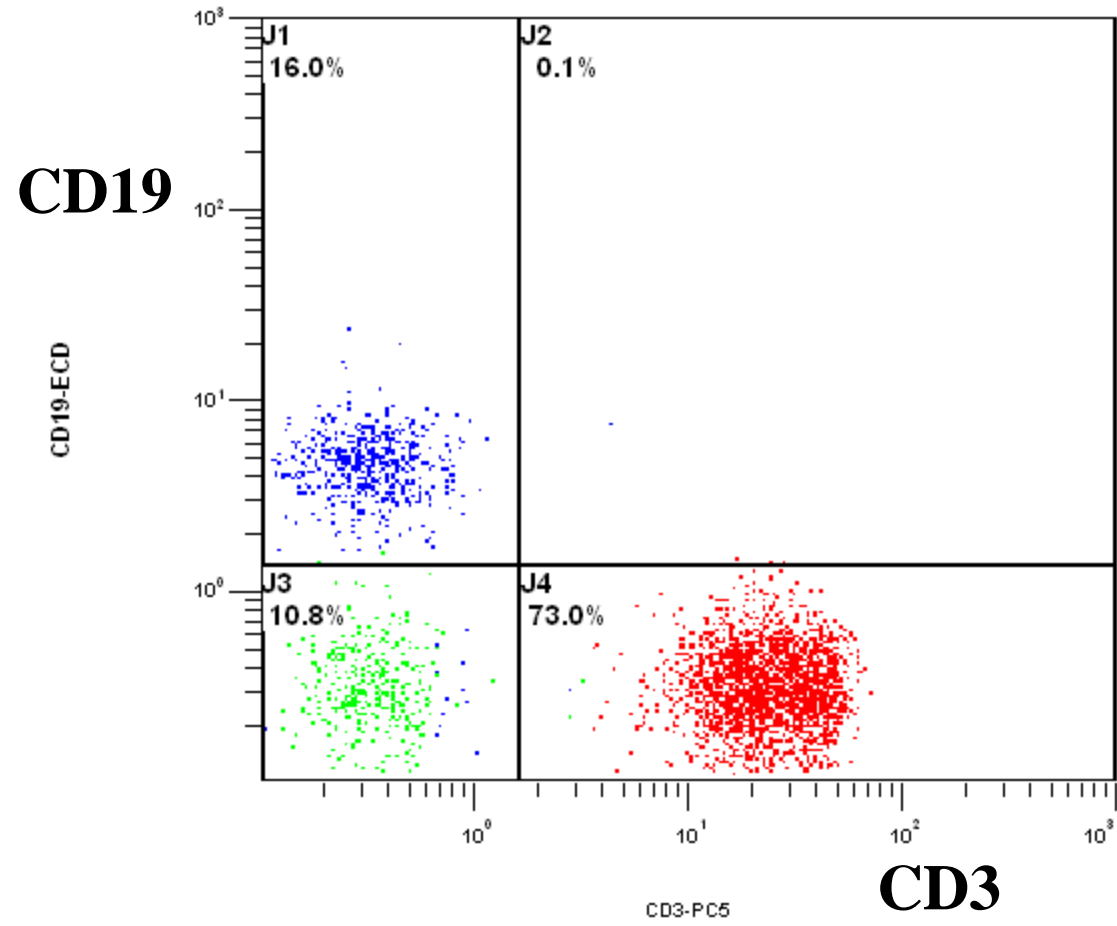
Side scatter

Forward scatter

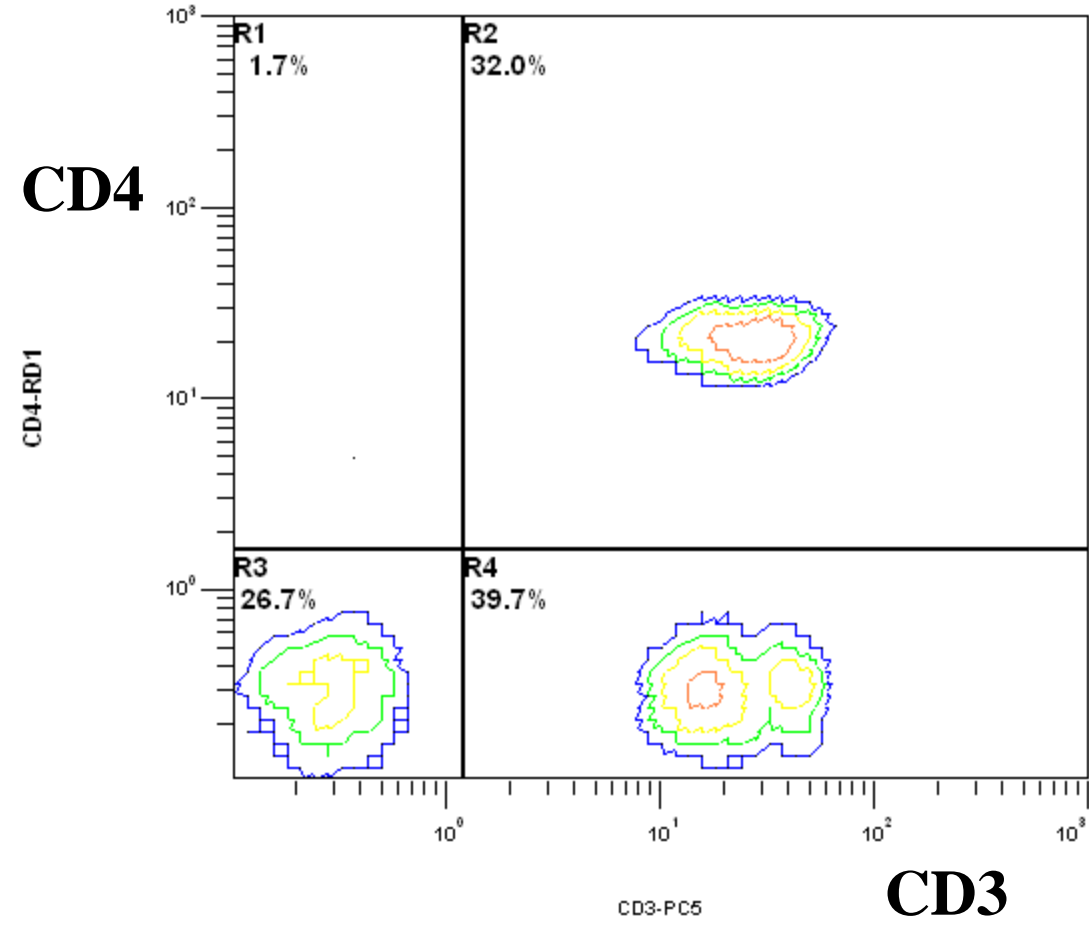
CPU



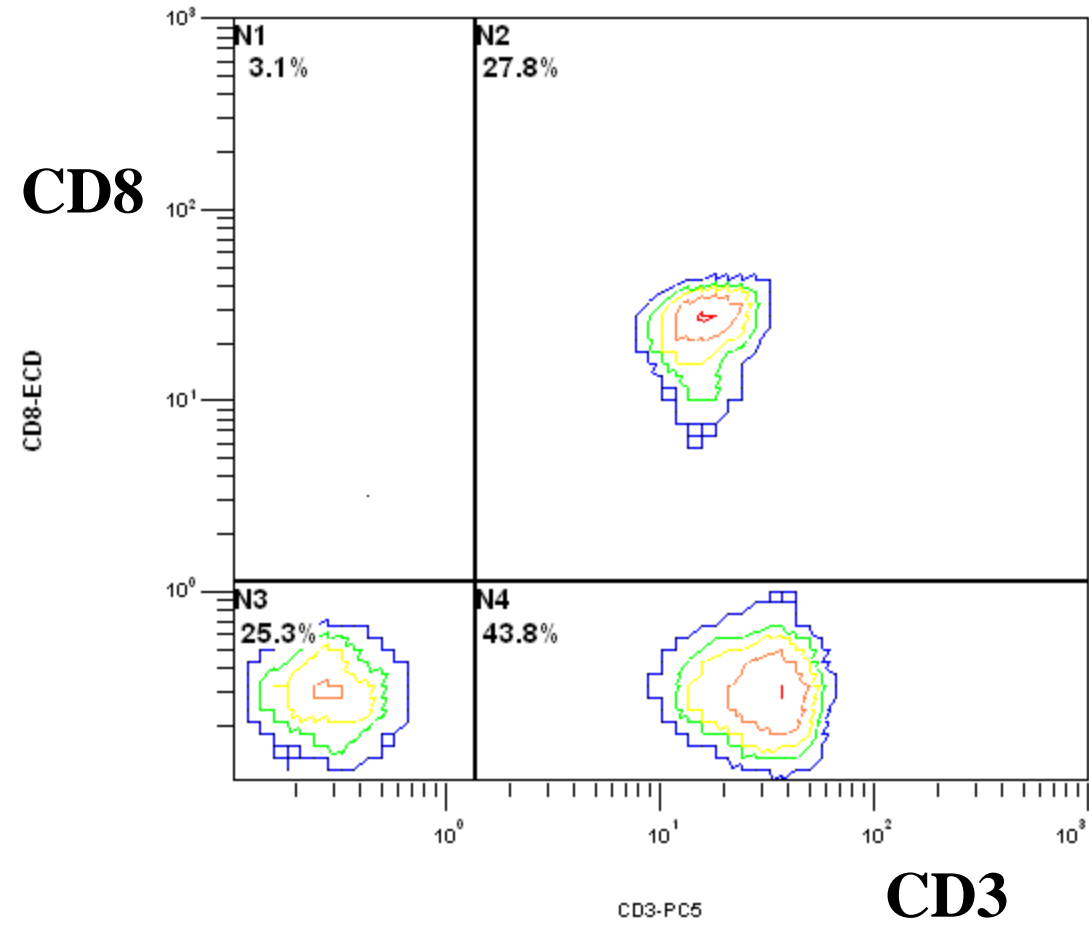




(F1)[A] Z0051674.LMD : FL4 LOG/FL2 LOG



(F1)[A] Z0051674.LMD : FL4 LOG/FL3 LOG



Základní subpopulace lymfocytů B

BCR: IgM – Ig α , Ig β – CD19

B-1B buňky

(minoritní subpopulace B-buněk v pleurální a peritoneální dutině, částečně ve střevě, tvoří „přirozené protilátky“)

B-2B buňky

(predominantní populace B-buněk přítomná ve slezině a v lymfatických uzlinách tvořená v kostní dřeni v průběhu života)

ZÁKLADNÍ SUBPOPULACE BUNĚK T (CD3+)

T $\alpha\beta$

Th (CD3/CD4+)

Th1 (IFN γ , TNF, LT, IL-2, IL-3, GM-CSF)

Th2 (IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-13)

Th17 (IL-17, IL-21, IL-22; IFN γ , IL-10...)

Tc (CD3/CD8+)

Treg (CD4/CD25+ ...)

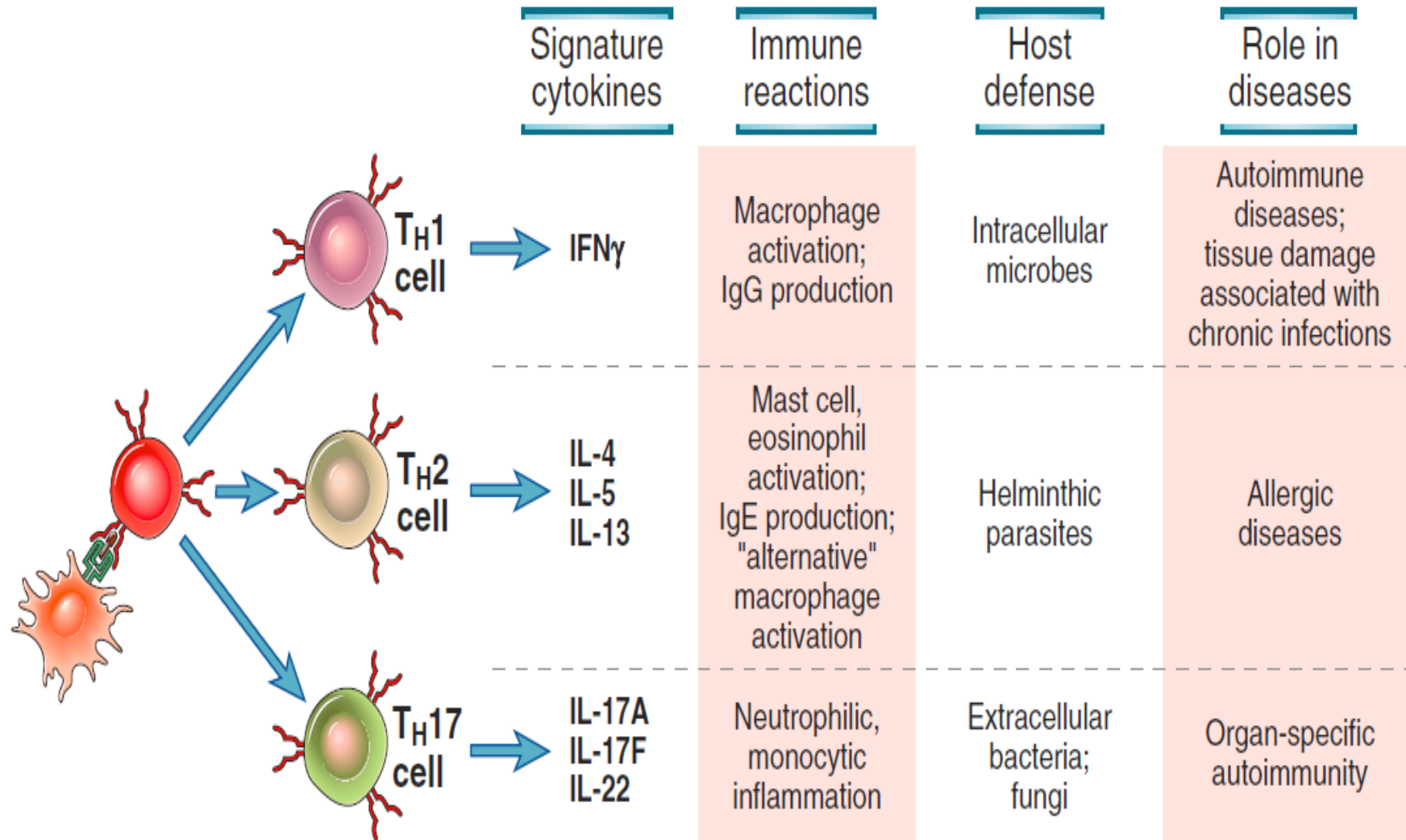
T $\gamma\delta$ (CD3+, CD4-, CD8+ $\alpha\alpha$)

NKT (CD3+, TCR $\alpha\beta$; V α 24-J α 18 a V β 11)

poznávají glykolipidové antigeny s CD1

aktivované produkují cytokiny (vč. IFN γ a IL-4)

Th1, Th2 a Th17 lymfocyty



Cytotoxické CD8+ T lymfocyty

- Zabíjejí buňky exprimující peptidy virových antigenů, které jsou asociovány s molekulami MHC I. třídy
- Granula obsahují granzym a perforin
- Perforin usnadňuje granzymu vstup do cytoplasmy cílové buňky a granzym iniciuje několik cest apoptózy
- CD8+ dále sekretuje IFN gama

REGULAČNÍ BUŇKY T (Treg)

Konstituční Treg **přirozené, nTreg**, (CD3+CD4+CD25+ FOXP3)

samostatná populace vznikající v tymu, neproliferují při polyklonální stimulaci, tlumí reakce T-, B- NK- a dendritických buněk přímým kontaktem

Indukované **iTreg** (CD3+CD4+, IL-10, TGF- β)

vznikají při imunitní reakci, v podstatě jsou subpopulací lymfocytů Th, tlumí buňky Th1, Th2, ale i jiné buňky prostřednictvím cytokinů

PAMĚŤOVÉ BUŇKY T

T central memory, Tcm; T effector memory, Tem; Tissue resident memory T cells, Trm

Centrální paměťové buňky (CCR7+, CD62L+)

jsou v sekundárních lymfatických orgánech, vykazují nízkou cytolytickou aktivitu a omezenou schopnost migrace; jsou neúčinnější při systémových infekcích

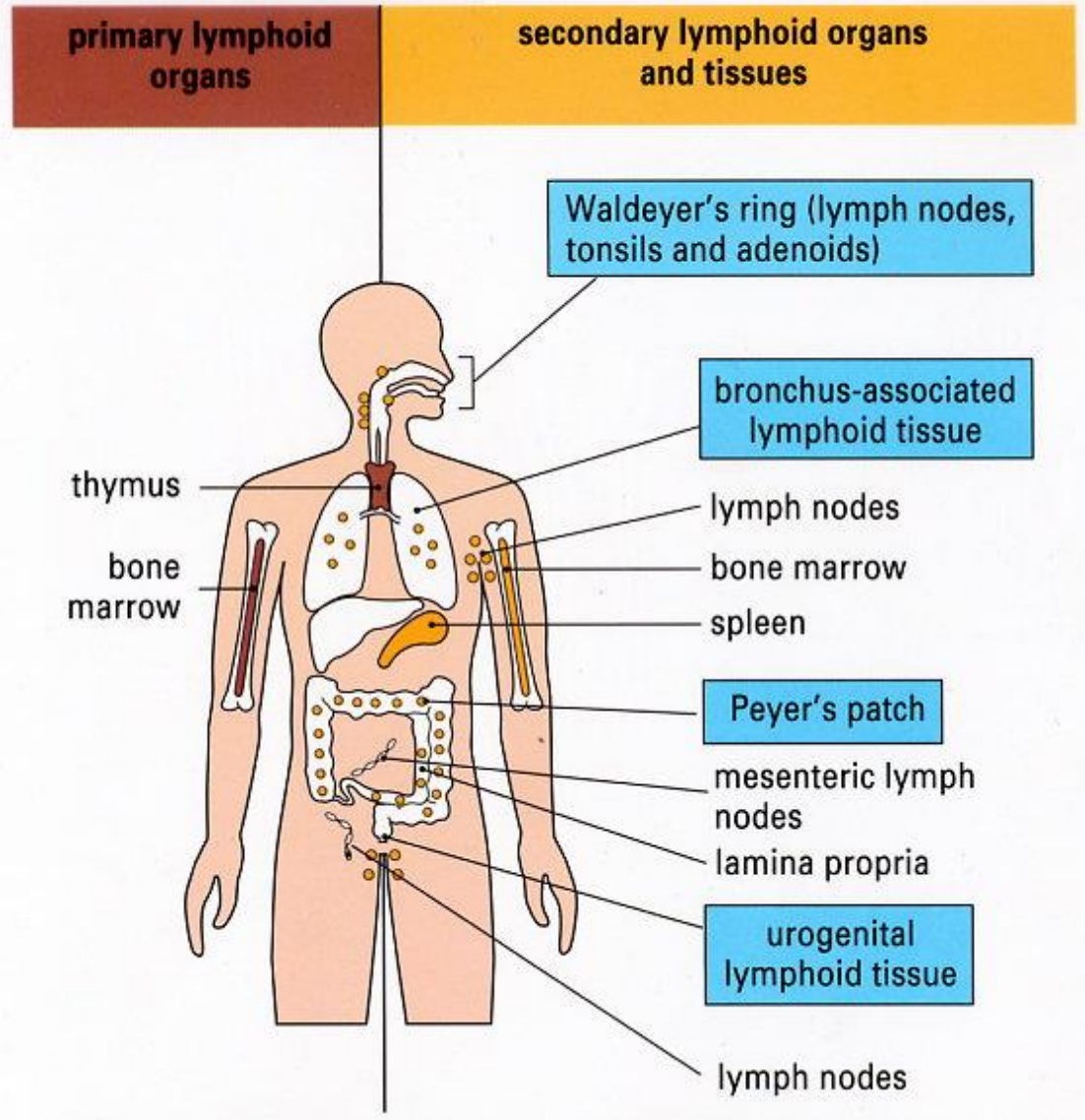
Periferní (efektorové) paměťové buňky (CCR7-, CD62-)

jsou v nelymfoidních tkáních (plíce, kůže, tuková tkáň), jsou cytolytické a mají výrazný cirkulační potenciál; jejich lokalizace umožňuje bezprostřední reakci na infekce v periferních tkáních

Tkáňové rezidentní paměťové buňky

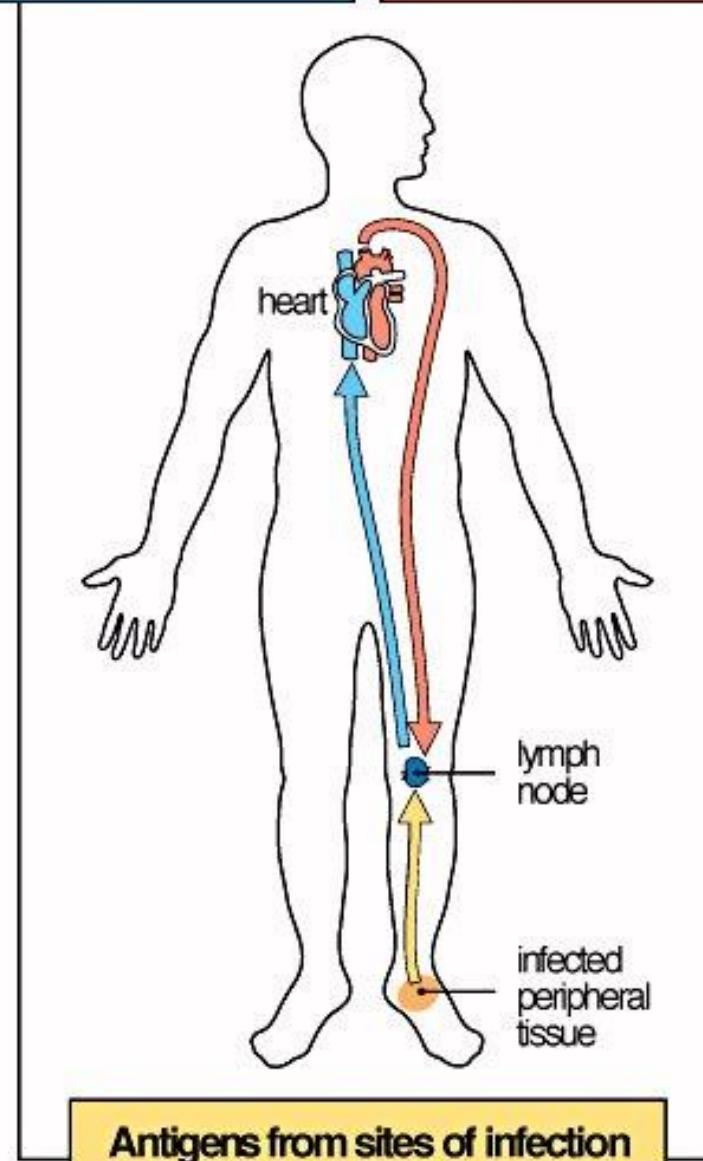
jsou v tkáních, nercirkulují, mají protekční i regulační vlastnosti

Primární a sekundární lymfatické orgány

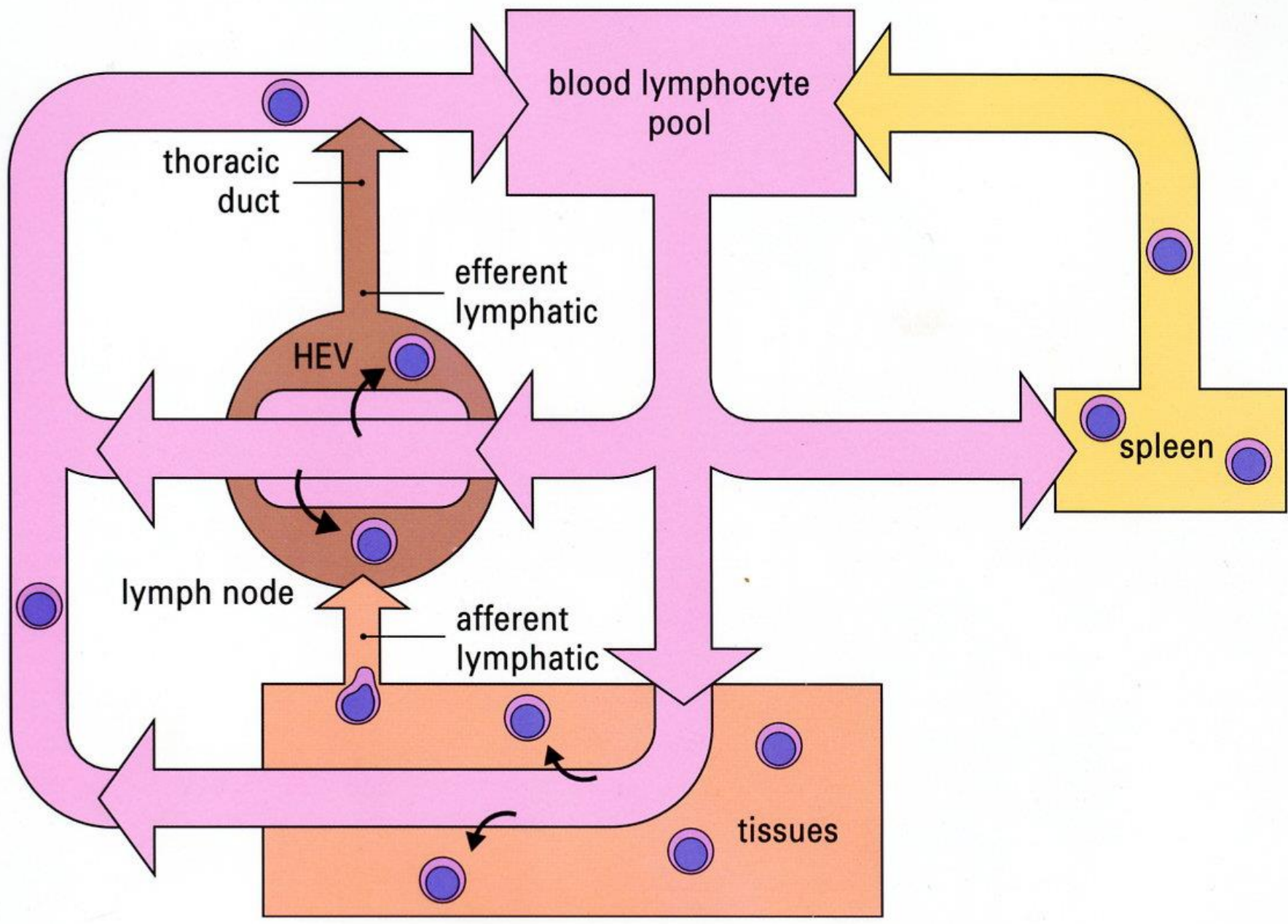


Lymphocytes and lymph return to blood via the thoracic duct

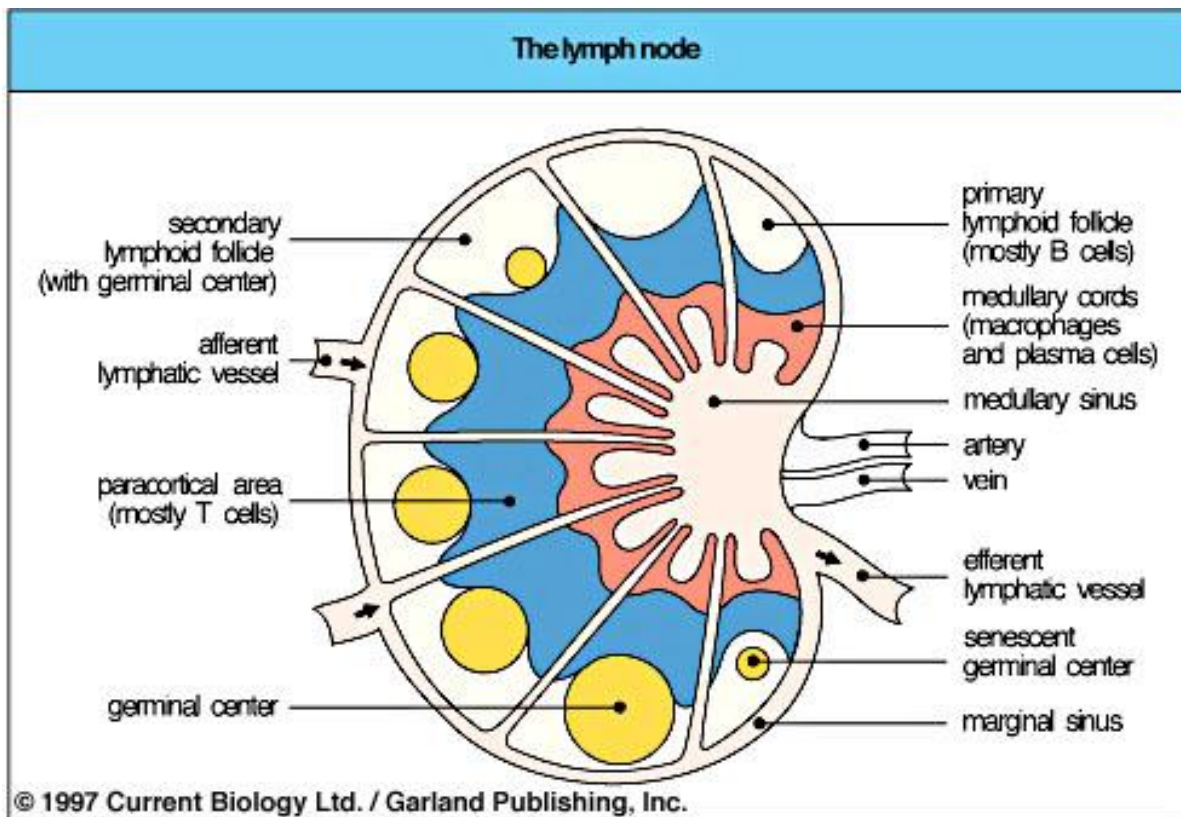
Naive lymphocytes enter lymph nodes from blood



Antigens from sites of infection reach lymph nodes via lymphatics



LYMFATICKÁ UZLINA



Vyšetření lymfatických uzlin

Zvětšení lymfatických uzlin

v důsledku imunitní reakce na antigen

infiltrace zánětlivými buňkami (lymphadenitis)

infiltrace a proliferace maligních buněk

při imunologických (SLE, RA) a metabolických chorobách

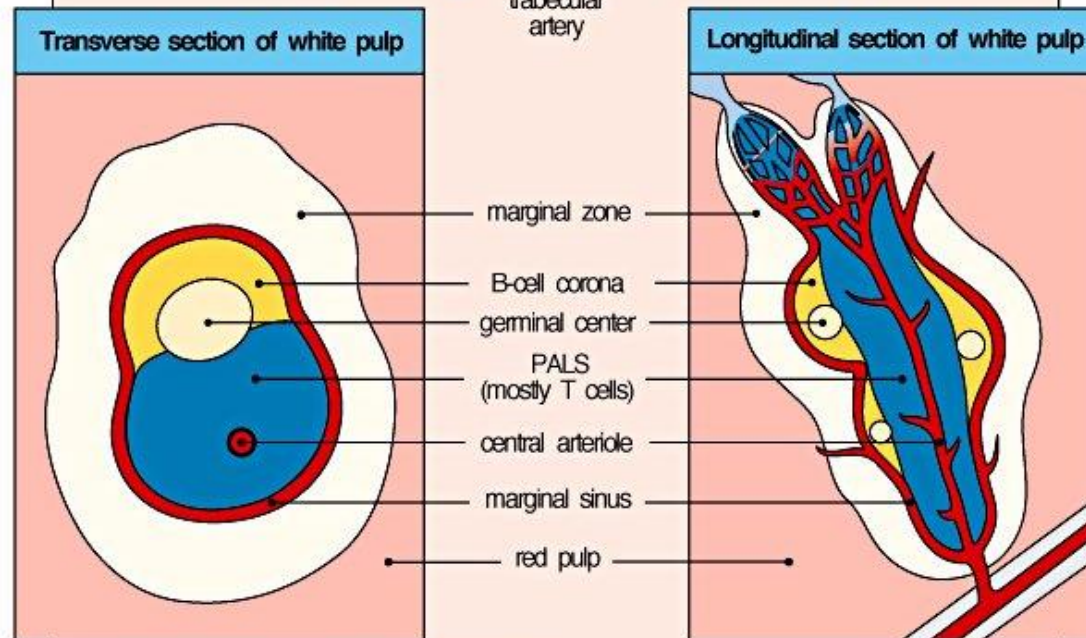
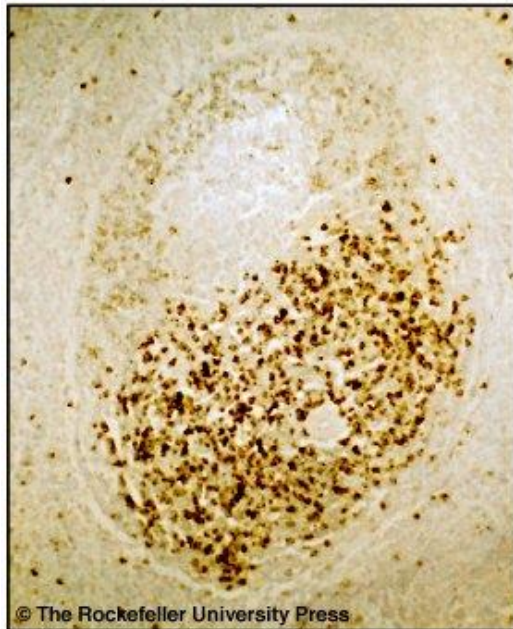
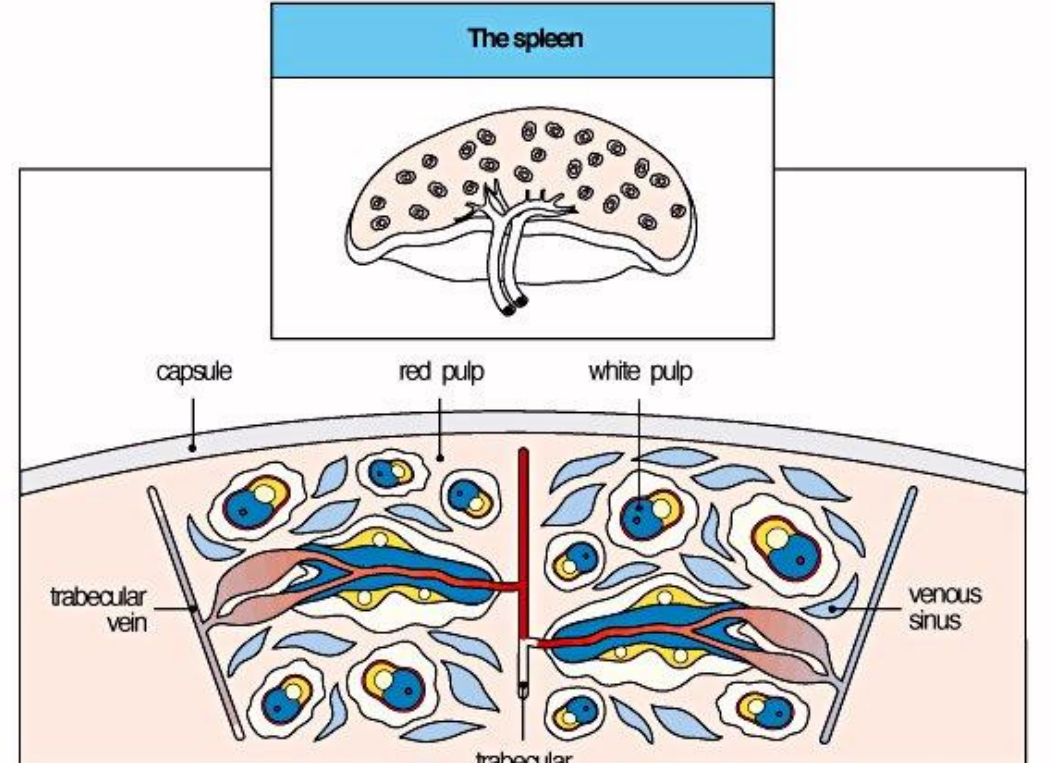
U zdravých dospělých osob bývají axilární a inguinální uzliny hmatné (v průměru 1 cm).

V dětství je reakce lymfatických uzlin běžná.

U dospělých do 30 let je asi 80% lymfadenopatií benigních, u osob nad 50 let jen asi 40%.

Diagnostický význam při infekci HIV

Slezina



Vyšetření sleziny

U zdravých osob slezinu nenahmatáme

**Hyposplenismus: vrozená asplenie
stavy po splenektomii**

Význam vakcinace proti pneumokokům!

Splenomegalie:

hyperplasie buněk imunitního systému (infekce)

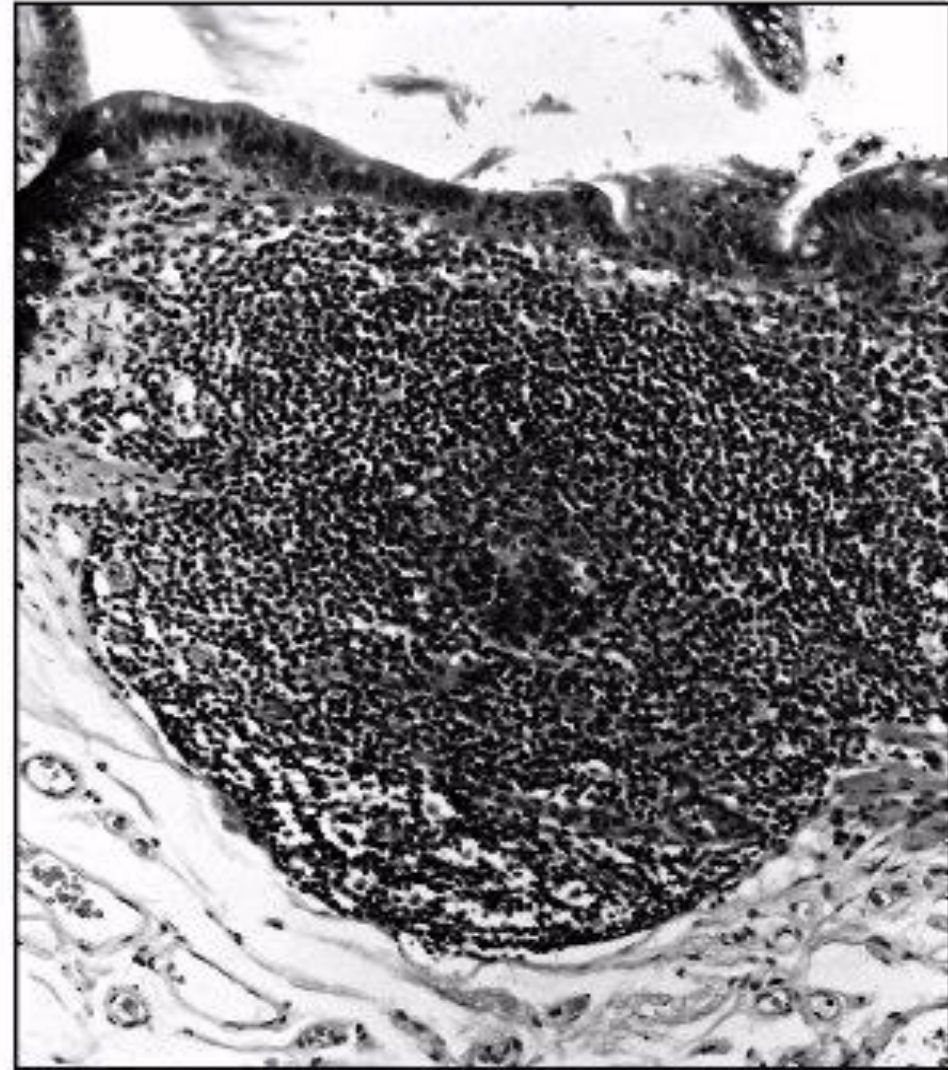
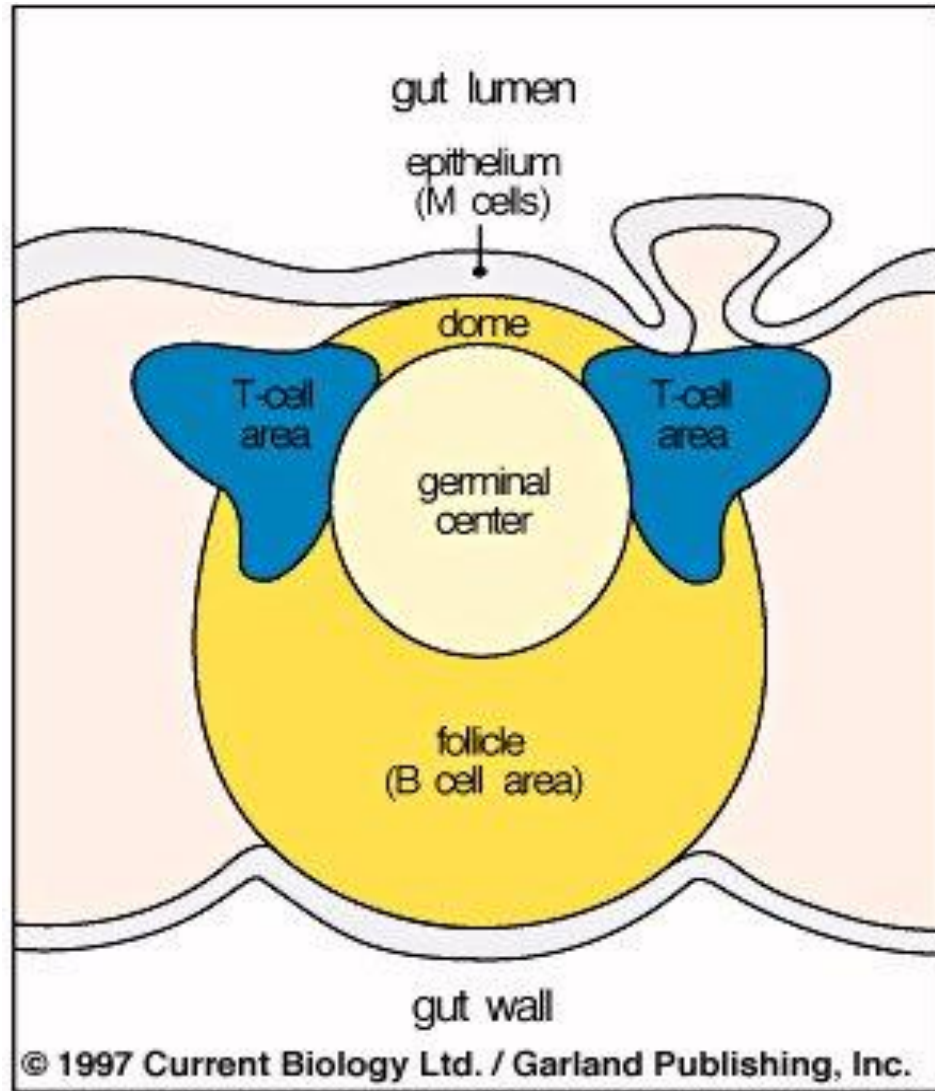
porušení průtoku krve (cirhóza jater, trombózy)

maligní procesy (primární i sekundární)

autoimunitní procesy (RA-Felty, SLE, hematol.)

extramedulární hematopoéza

Mucosa-associated lymphoid tissues (MALT)



*Základní spojení mezi systémem přirozené
a adaptivní imunity představují*

DENDRITICKÉ BUŇKY

Populace lidských dendritických buněk

- Myeloidní (dermis, dýchací cesty, střevo, thymus, slezina, játra, lymfoidní tkáně)
- Plasmacytoidní (lymfoidní orgány, játra, plíce, kůže)
- Langerhansovy (epidermis, slizniční epitel)

*presentace antigenů – adaptivní imunitní reakce,
podpora vrozené imunity (interakce s NK, NKT, $T_{\gamma\delta}$)*

NK (Natural Killer) buňky

jsou morfologicky podobné lymfocytům („velké granulární lymfocyty“, LGL), nefagocytují, nemají adhezenční schopnosti

specialisují se na zabíjení abnormálních vlastních buněk organismu nápadných nízkou expresí MHC molekul (např. infikovaných viry, intracelulárními bakteriemi, nádorové buňky)

cytotoxické nástroje NK buněk – perforin a granzym – podobně jako u CD8+ cytotoxických buněk

jejich cytotoxická aktivita je jednak přirozená, jednak může být zprostředkována protilátkami vázanými na FcR III (CD16), ADCC

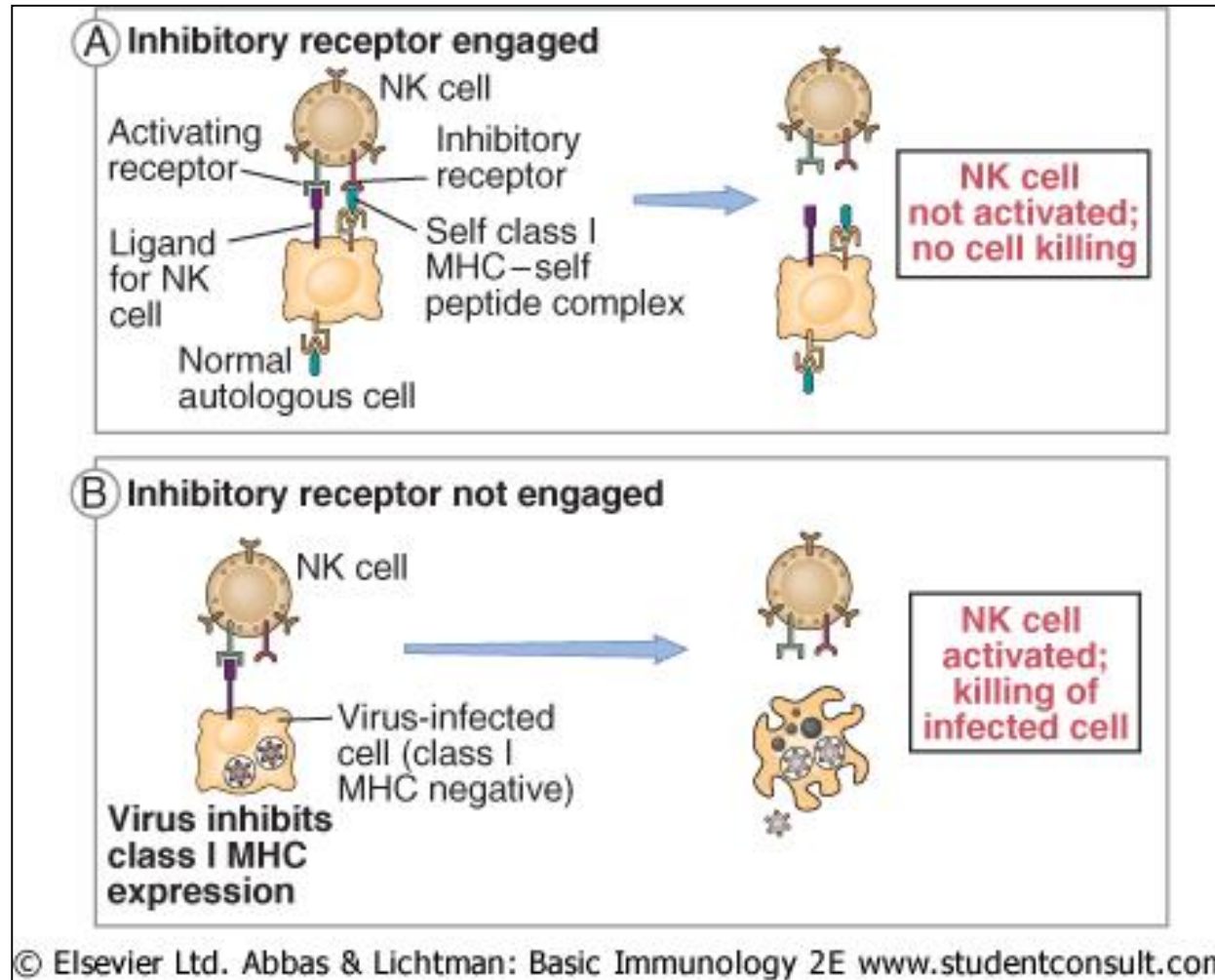
ovlivňují vrozenou i adaptivní imunitu svými cytokiny, především IFN γ a TNF α

Buňky NK

Aktivace NK-buněk je regulována souhrou signálů, které vycházejí z aktivačních a inhibičních receptorů.

- Inhibiční receptory (KIR) se váží na molekuly MHC I, které jsou přítomny na většině zdravých buněk.
- Aktivační receptory (KAR) poznávají heterogenní skupinu ligandů, které se objeví na buňkách v důsledku stresu, maligní konverse, virové infekce.

Řada genů, které ovlivňují funkci NK, jsou shluknuty na chromosomu 12 („natural killer gene complex – NKC“)



Buňky NKT

- Imunofenotypově i funkčně podobné NK a T
- Přítomny v periferní krvi, slezině, játrech, lymfatických uzlinách, kostní dřeni, thymu
- Aktivované migrují do míst infekce nebo zánětu
- Receptor má charakter „semi-invariantního“ $\alpha\beta$ TCR (Va24/Ja18 – Vb11)
- **Poznávají glykolipidové nebo lipidové struktury presentované na nepolymorfní CD1 molekule (lysofostatidylcholin je autoantigenem pro lidské NKT)**

PROFESIONÁLNÍ FAGOCYTY

Polymorfonukleární leukocyty
(neutrofilní granulocyty)
„mikrofágy“ (I. Mečnikov)

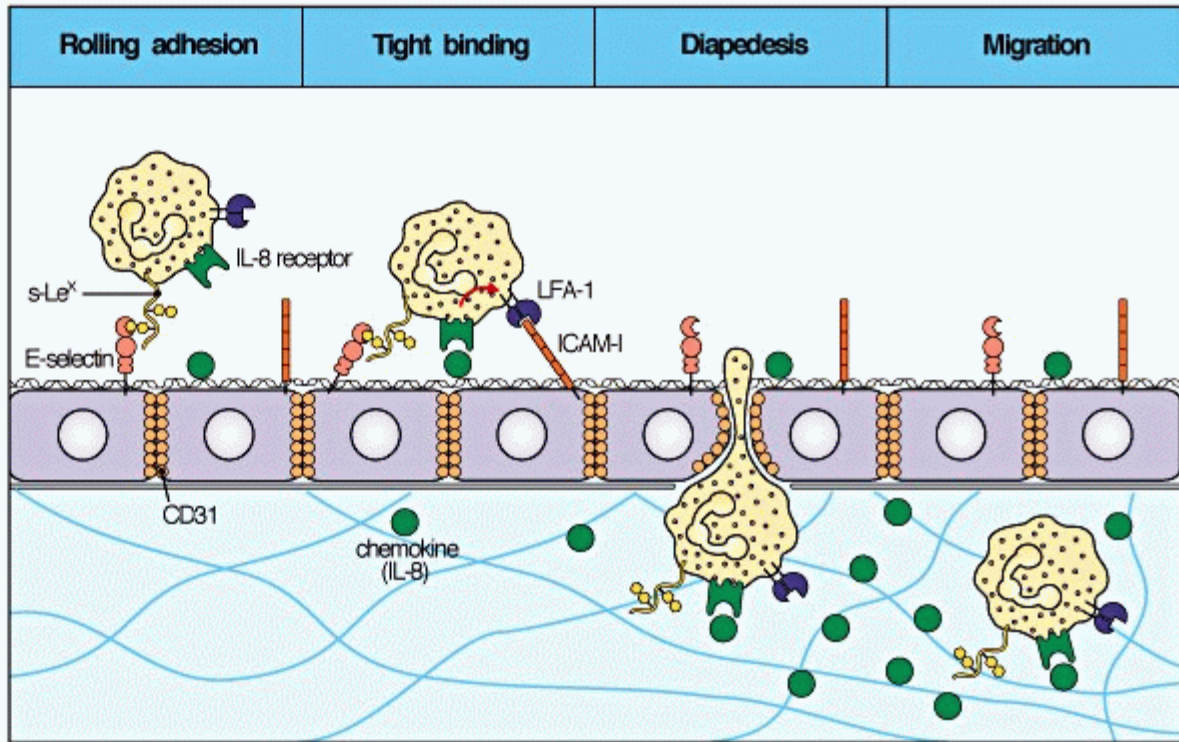
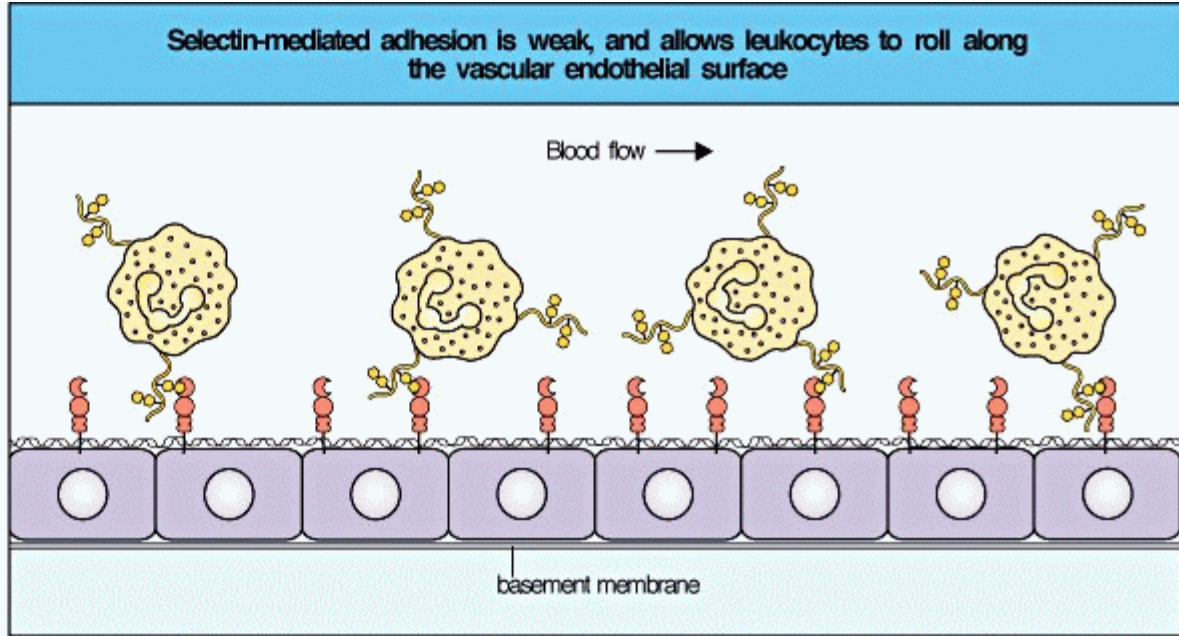
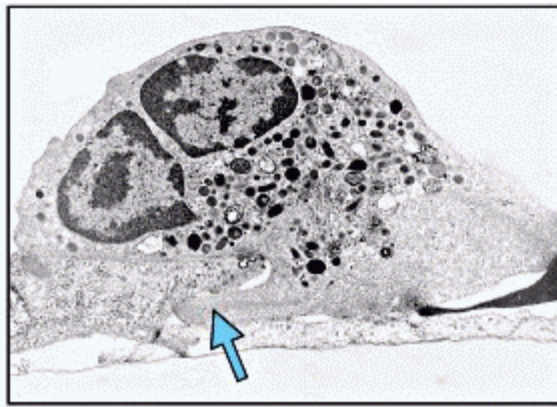
Mononukleární fagocyty
(v krvi i ve tkáních)
„makrofágy“ (I. Mečnikov)

Fagocytóza

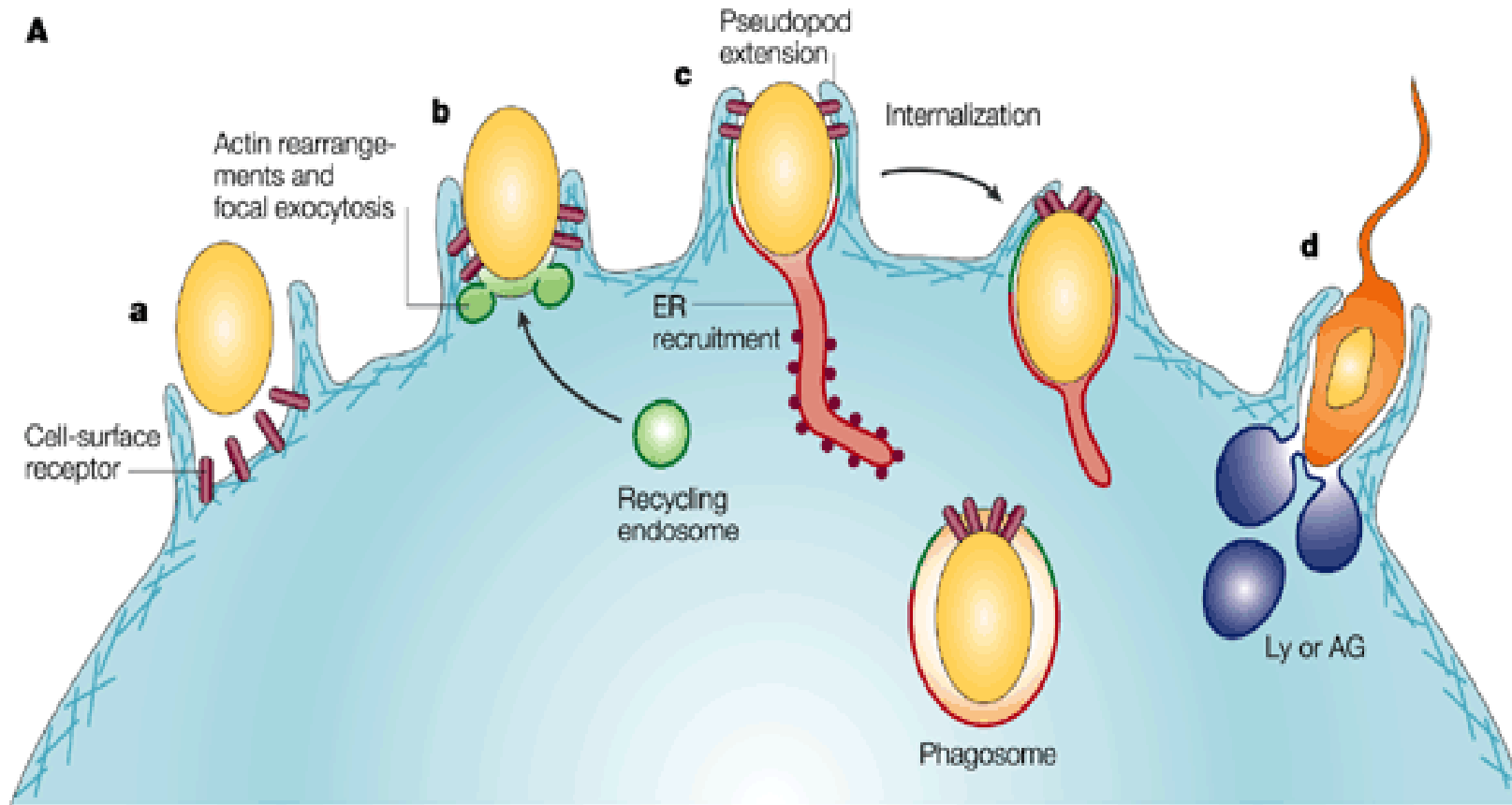
- Neutrofilní granulocyty a eosinofilní granulocyty
- Monocyty a makrofágy

- Fyziologická funkce:
 - » 1. pohlcení - ingesce
 - » 2. nitrobuněčné zabití - cidie
 - » 3. odstranění - eliminace

- Antimikrobiální systémy:
 - » 1. závislý na kyslíku
 - » 2. nezávislý na kyslíku



FAGOCYTOSA



Zabíjecí mechanismy fagocytujících buněk

Reaktivní metabolity kyslíku (H_2O_2 , HOCl^- , hydroxylový radikál, superoxidový aniont, singletový kyslík(O_2))

Reaktivní dusíkové metabolity (NO , NO_2)

Hydrolázy: proteázy, lipázy, DNAsy, RNAsy

Nízké pH

Lysozym

Lactoferin

Defenziny – antimikrobiální polypeptidy

Metody vyšetření fagocytárních funkcí

Chemotaxe: vyšetření chemotaxe pod agarózou

Ingesce: ingesce metakrylátových partikulí

Tvorba reaktivních metabolitů kyslíku: NBT (INT) test, chemiluminiscence, redukce tetraarhodamidu „burst test“

Vyšetření exprese β 2-integrinů (adhesivních molekul)

Mikrobicidní aktivita in vitro

Mastocyty

Lokalizovány perivaskulárně a v blízkosti neuronů

Jsou aktivovány IgE a antigeny, imunokomplexy, cytokiny, anafylatoxiny, hormony, neurotransmitery

Sekretují řadu vasodilatačních a prozánětlivých mediátorů – preformovaných (histamin, kininy, proteasy) i nově syntetizovaných (leukotrieny, prostaglandiny, NO, cytokiny –zejm. $\text{TNF}\alpha$)

Jsou jednou z nejvýznamnějších součástí vrozených obranných imunitních mechanismů.

Komplementový systém starobylý pilíř imunity

Václav Tomášek: Bakteriologie

(Vysokoškolské rukověti, řada spisů lékařských, Melantrich, 1938)

„**Komplement** jest součást normálních sér živočišných vyznačující se tím, že se váže na sensibilisované antigeny a rozpouští je, jsou-li k tomu způsobilé. Schopnost *fixace* jest obecnou vlastností komplementu, schopnost *lysy* jest účinek speciální. Podle povahy rozpuštěného antigenu rozeznává se účinek *hemolytický* a *bakteriolytický*. Jest pravděpodobno, že funkcí komplementu jsou ještě jiné účinky sera, např. účinek *opsonisační* záležející v tom, že serum připravuje bakterie k fagocytose. Komplement je činitel nespecifický, je obsažen v seru normálním a jeho účinnosti nepřibývá v průběhu imunisace.“

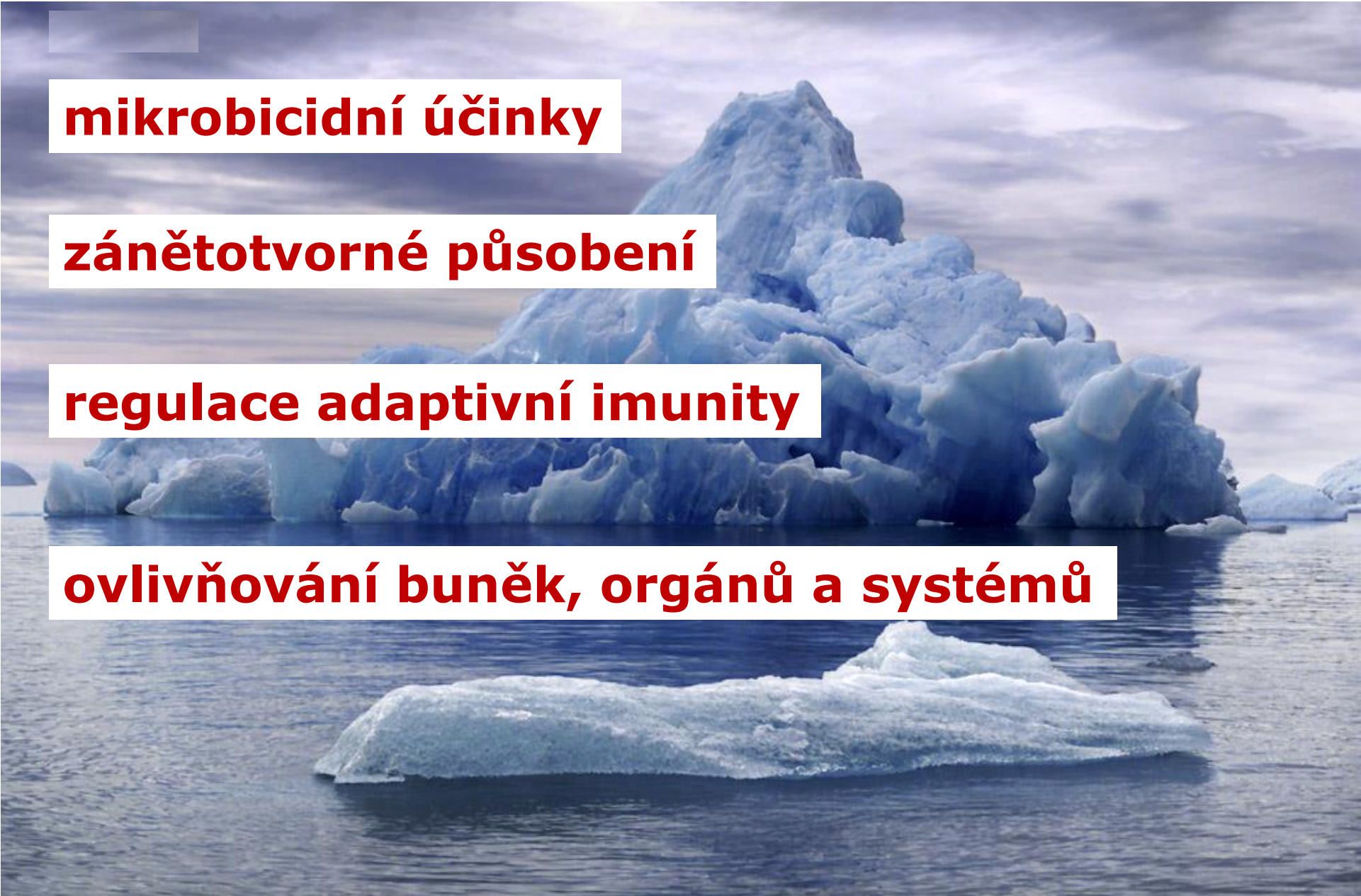
Fyziologie komplementového systému

mikrobicidní účinky

zánětotvorné působení

regulace adaptivní imunity

ovlivňování buněk, orgánů a systémů



Evoluční aspekty komplementového systému a hemostázy

Hlavní proteolytické kaskády krve – komplement a koagulace – začínají v evoluci společně.

Např. „živá fosilie“, charakteristický členovec, podkovovitý krab z doby před 500 miliony lety, využívá integrovaného systému koagulace a komplementu k zábraně vykrvácení i k obraně proti infekci.

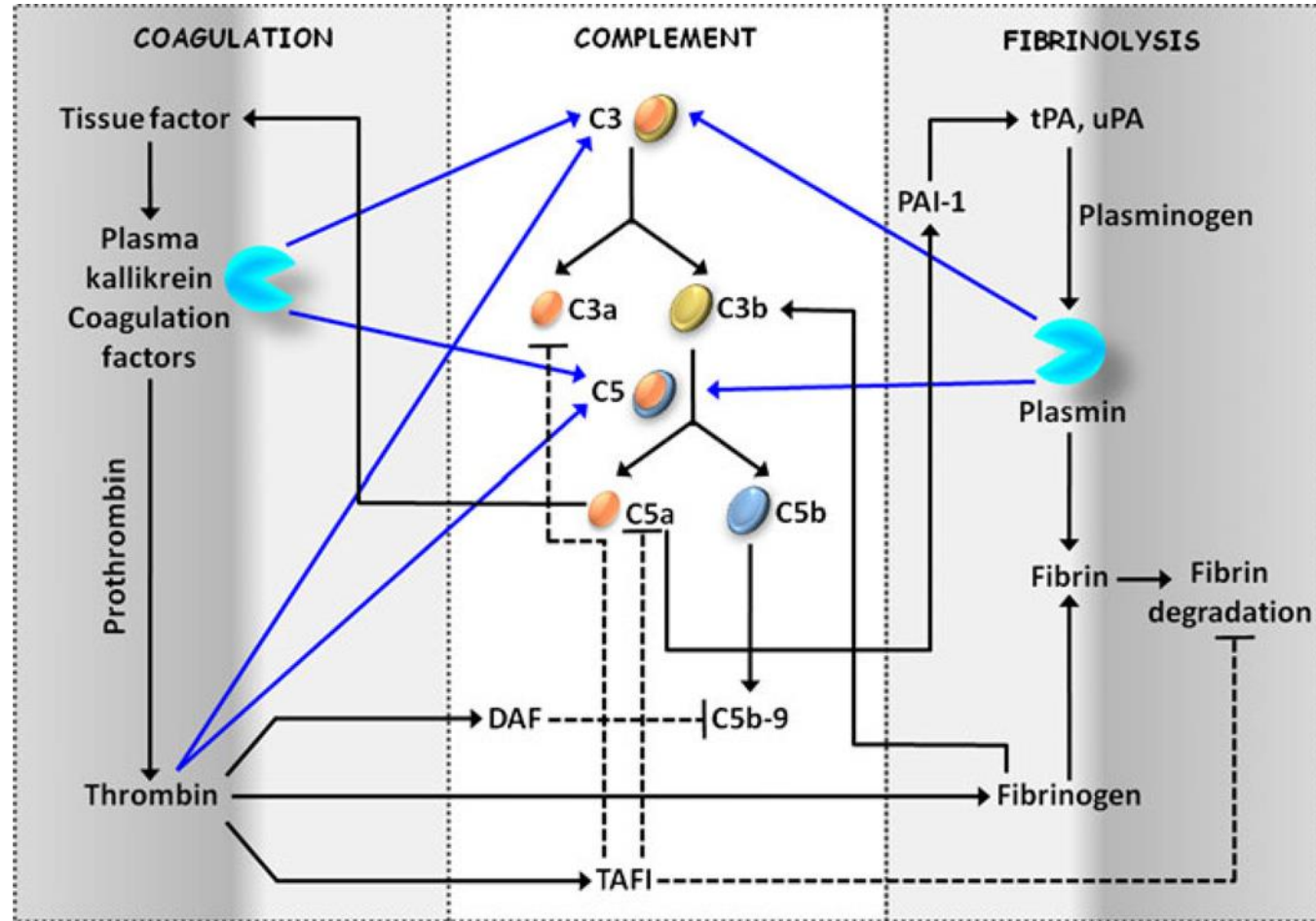
Evoluční aspekty

V průběhu vývoje došlo k rozdílnosti:
savci reagují na poranění a nebezpečí vykrvácení
aktivací hemostázy, zatímco antimikrobiální
obrana je zprostředkována imunitními
mechanismy vrozenými a později adaptivními.
Přesto řada pozorování svědčí, že hemokoagulace
a aktivace trombocytů má stále vztah k obraně
protiinfekční, že některé původní funkce zůstávají
zachovány.

Jednota komplementového, koagulačního, fibrinolytického a kininového systému

- Vycházejí z prapůvodní společné dráhy
- Jsou organizovány jako proteolytická kaskáda
každý enzym je přítomen v plasmě v inaktivní formě jako proenzym (zymogen), je aktivován limitovanou proteolýzou, uvolňující z prekurzorové molekuly aktivní faktor
- Aktivační procesy jsou regulovány pozitivní i negativní zpětnou vazbou
- Aktivace jednoho systému ovlivňuje systémy ostatní
- Jsou integrální součástí vrozené imunity

Komplement – koagulace – fibrinolýza



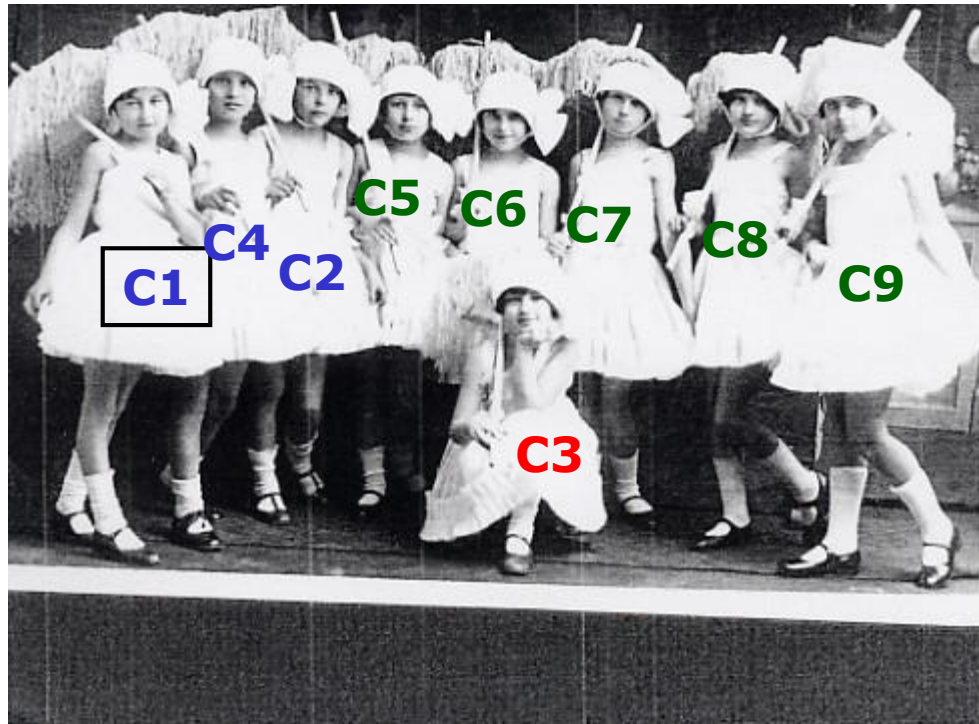
Komplementový systém

základní složky

Properdin

Faktor B

Faktor D



MBL

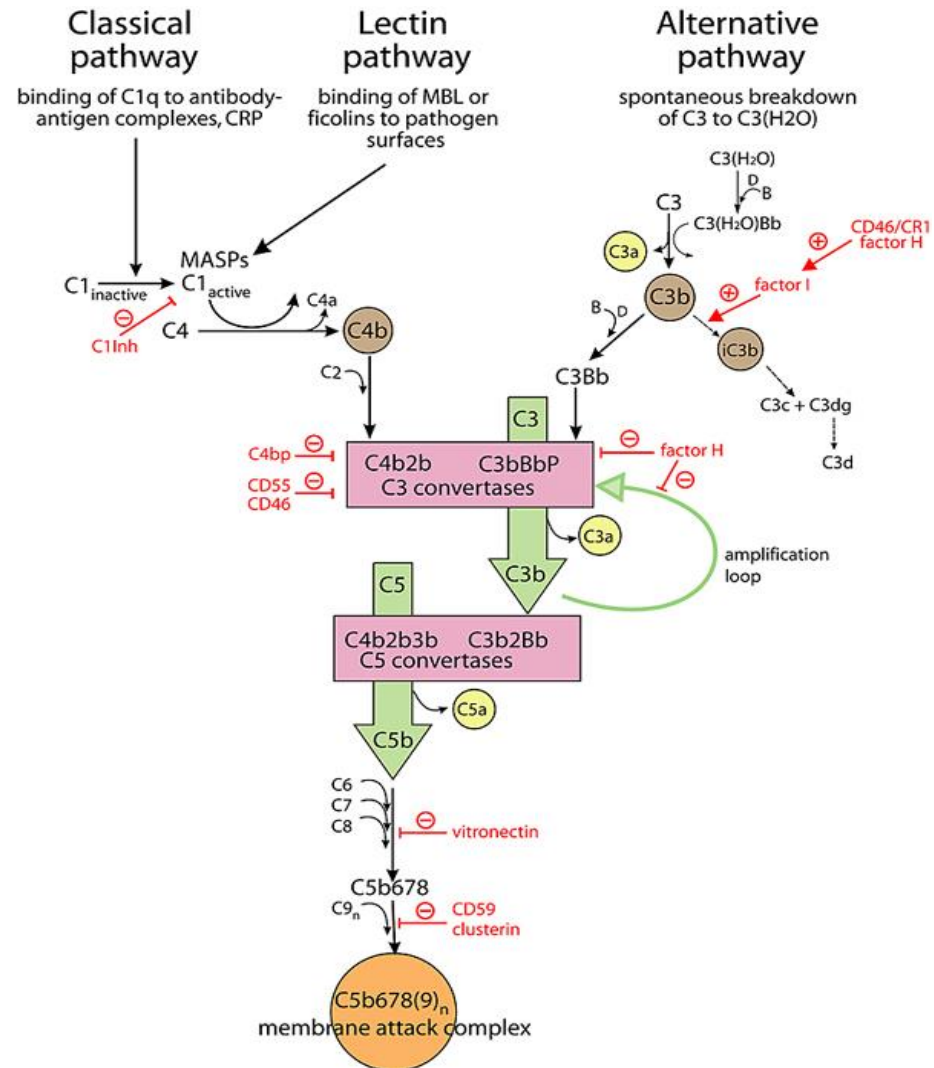
Ficolin L,H,M

MASP 1,2,3

Regulační proteiny komplementu

Receptory pro komplement

Aktivace komplementového systému



Komplement jako imunoreceptor

Klasická dráha aktivace

C1q –

imunokomplexy (Fc-Ig)

CRP vázaný na ligand

fosfatidylserin v membráně apoptotických buněk,
některé viry a G- bakterie

C1 r,s – C4-C2-C3 ...

Komplement jako imunoreceptor

Lektinová dráha aktivace

MBL – MASP – C4–C2–C3 ...

MBL (manose-binding lectin) reaguje především s terminálními zbytky manosy, ale i jiných cukrů, např. N-acetyl-D-glukosaminem.

Ficoliny – MASP1,2,3 – C4-C2-C3 ...

jsou receptory pro acetylové skupiny cukrů

Komplement jako imunoreceptor

Alternativní dráha aktivace

Standardní model:

Aktivace je zahájena kovalentní vazbou **C3b**, který je tvořen spontánní hydrolysou thioesterové vazby C3, na proteinové, sacharidové, lipidové struktury mikroorganismů i na jiné povrchy.

Properdin jako imunoreceptor:

Properdin zahajuje aktivaci tím, že se nekovalentně váže na terčové struktury (zymosan, *Neisseria gonorrhoeae*, králičí erytrocyty) pak angažuje solubilní **C3b**

(Spitzer D et al. J Immunol 2007; 179: 2600-2608)

Čtvrtá cesta aktivace komplementu?

Aktivace C5 trombinem

- Byla prokázána v experimentu na „C3-knock-out myších“, u nichž se netvoří C3-konvertáza.
- Inkubace trombinu s lidským C5 vede k tvorbě C5a.

Huber –Lang M et al.:

*Generation of C5a in the absence of C3:
new complement activation pathway
(Nat Med 2006; 12: 682-687)*

Komplementový systém (regulační proteiny komplementu)

Solubilní

- C1 INH** (váže se na C1r a C1s oddělující je od C1q)
- Faktor I** (štěpí C3b a C4b využívá faktoru H, C4BP, MCP a CR1 jako kofaktorů)
- Faktor H** (váže C3b a vyřazuje Bb)
- C4BP** (C4-binding protein, váže C4b C-3 konvertázu AP) a vyřazuje C2)
- Properdin** (stabilizuje
- Vitronectin** (brání vazbě C5b-9 na membrány a polymerizaci C9)
- Clusterin** (brání vazbě C5b-9 na membrány a polymerizaci C9)
- Karboxypeptidáza N** (inaktivuje C3a a C5a, štěpí C-term. arginin)

Komplementový systém (regulační proteiny komplementu)

Vázané na membrány buněk

- CR1-CD35** (urychluje rozklad CP i AP C3-konvertáz)
- MCP-CD46** (membrane cofactor protein – kofaktor pro I)
- DAF-CD55** (decay accelerating factor, urychluje rozklad CP i AP C3- a C5- konvertáz)
- Protectin-CD59** (blokuje vazbu C9 a brání tvorbě MAC)
- CR1g** (váže se na C3b a inhibuje AP C3 a C5 konvertázy)

Komplementový systém

(receptory pro komplement – CR)

- CR1** (CD35) – vazba C3b a C4b, transport a klírens imunokomplexů, fagocytóza
- CR2** (CD21) – vazba C3d, C3dg, iC3b, CD23, IFN γ , EBV, aktivace B- lymfocytů
- CR3** (CD11b/CD18) – vazba iC3b, ICAM-1, LPS, fibrinogenu, koagulačního faktoru X, mikrobiálních proteinů; fagocytóza
- CR4** (CD11c/CD18) – vazba iC3b, fibrinogenu; fagocytóza
- CR1g** – vazba C3b, iC3b, C3c; fagocytóza, inhibice aktivace T- lymfocytů

Komplementový systém

(receptory pro komplement – CR)

C1qRp (CD93) - fagocytóza

cC1qR (calreticulin) – fagocytóza, respirační vzplanutí,
odstraňování apoptotických buněk

gC1qR – chemotaxe

C3aR – prozánětlivá aktivace

C5aR (CD88) – prozánětlivá aktivace

C5a, C3a, C4a: „anafylatoxiny“

C5a je 20x účinnější než C3a a 2500x účinnější než C4a

degranulace mastocytů a basofilů

chemoatraktans (hlavně neutrofilů)

zvyšují expresi CR3 na neutrofilech a ICAM-1 na endotelu

stimulace degranulace a respirační vzplanutí neutrofilů

zvýšení exprese adhezivních molekul a makrofázích,

zvýšení sekrece IL-1 a IL-6

stimulace proliferace aktivovaných lymfocytů T

Komplement v patogenéze chorob

- Deficience funkčních proteinů C-systému
- Poruchy regulace aktivace C-systému
- Persistentní aktivace C-systému
- Únik mikroorganismů před účinky komplementu
- Nefunkčnost C-systému u maligních procesů
- CR jsou receptory i pro mikroorganismy a viry

Vrozené deficience C-systému

(Speth C et al, 2008)

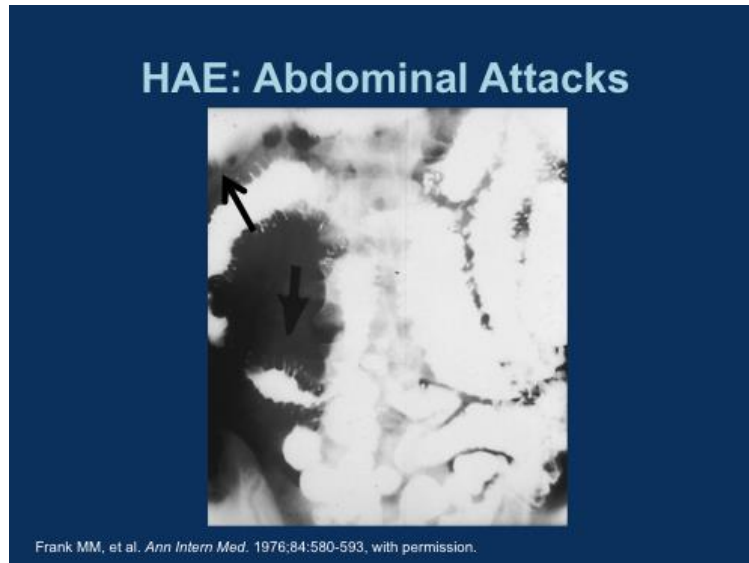
C1	(SLE, bakteriální infekce)	50-100
C4	(SLE, bakteriální infekce)	20-50
C2	(SLE, bakteriální infekce)	> 1000
C3	(bakteriální infekce)	20-50
<u>C1-INH</u>	<u>(hereditární angioedém)</u>	<u>> 10 000</u>
B		0
D	(bakteriální infekce)	< 5
P	(meningokokové infekce)	> 100

Vrozené deficience C-systému

(Speth C et al, 2008)

H (meningokokové infekce glomerulonefritis MPGN II atypický hemolytický uremický syndrom, věkem podmíněná makulární degenerace)	>100
I (bakteriální infekce)	20-50
Karboxypeptidáza (angioedém, urtika)	<5
C5 (meningokokové infekce)	20-50
C6,C7,C8 (meningokokové infekce)	cca po 100
C9 (meningokokové infekce)	>1000

Hereditární angioedém



HAE 2012-2015

142 pacientů s diagnózou HAE v ČR

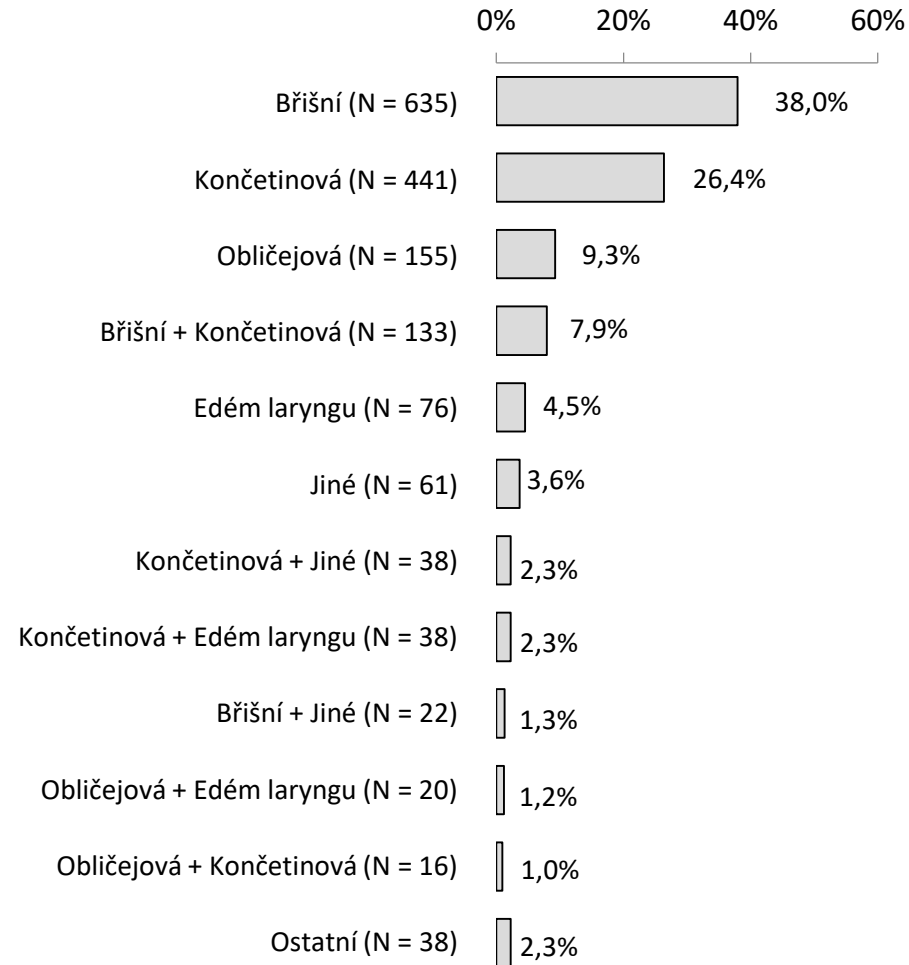
(HAE 1 typu 123 pacientů; HAE 2 typu 19 pacientů)

Centrum	Počet pacientů
FNUSA Brno - Ústav klin. imunolog. a alergolog.	67
FN Motol - Ústav imunologie	36
FN Plzeň - Ústav imunologie a alergologie	18
FNHK - ÚKIA	16
FNKV Praha - Odd.alergologie a klin. imunologie	4
VFN Praha - Ústav imunologie a mikrobiologie	1
Celkem	142

R. Hakl: Centrum pro diagnostiku a léčbu HAE, ÚKIA FN u sv. Anny Brno

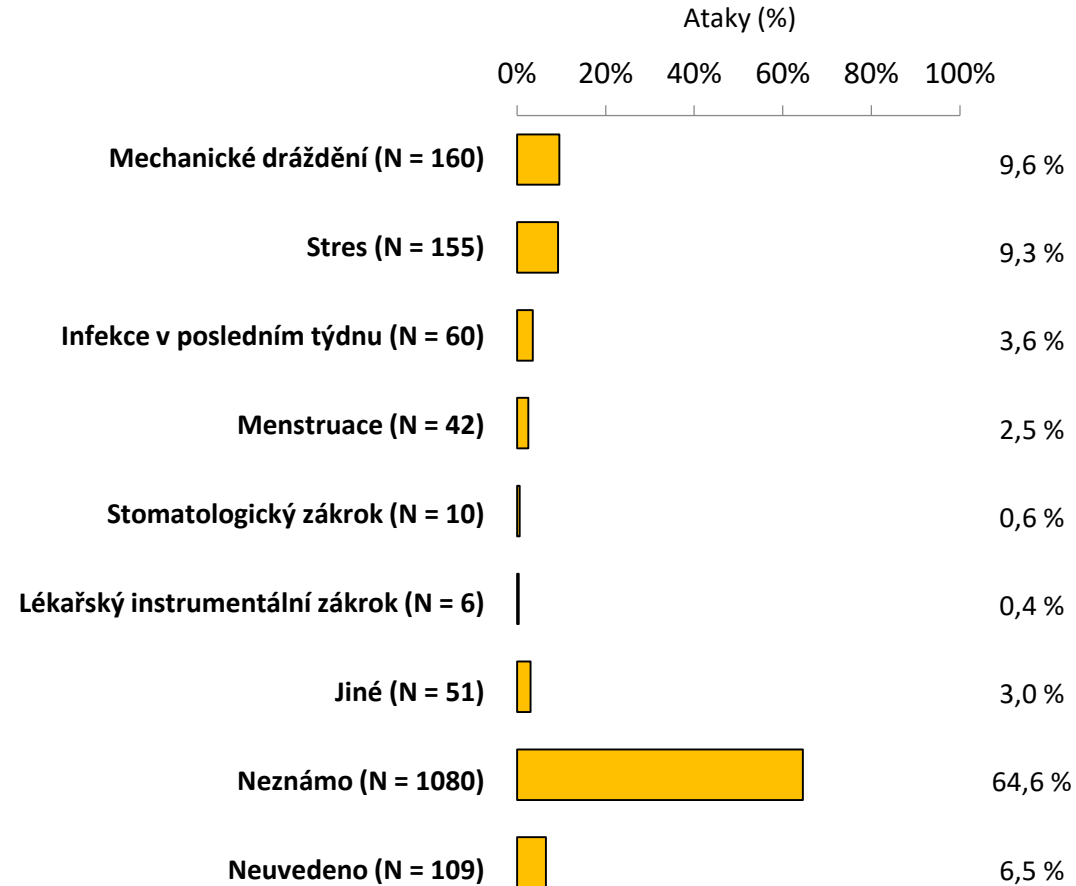
Lokalizace ataky

n = 1673 atak



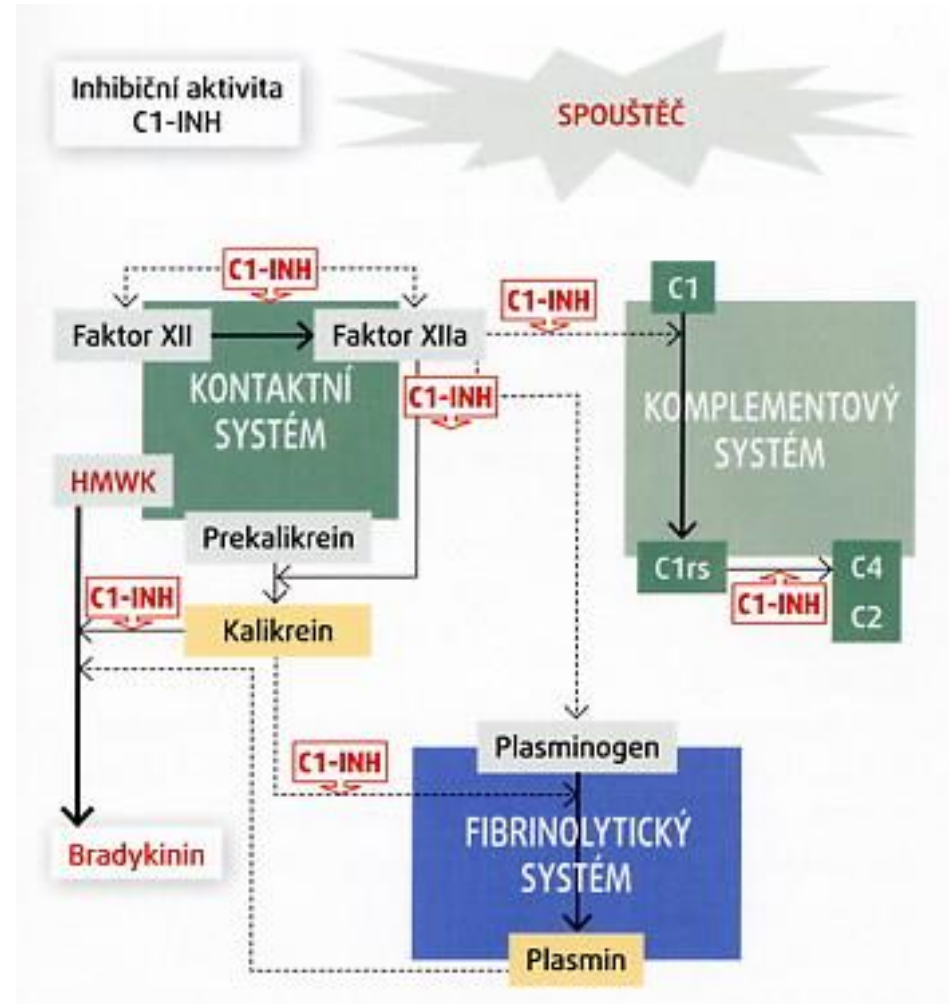
Spouštěcí faktor

n = 1673 atak



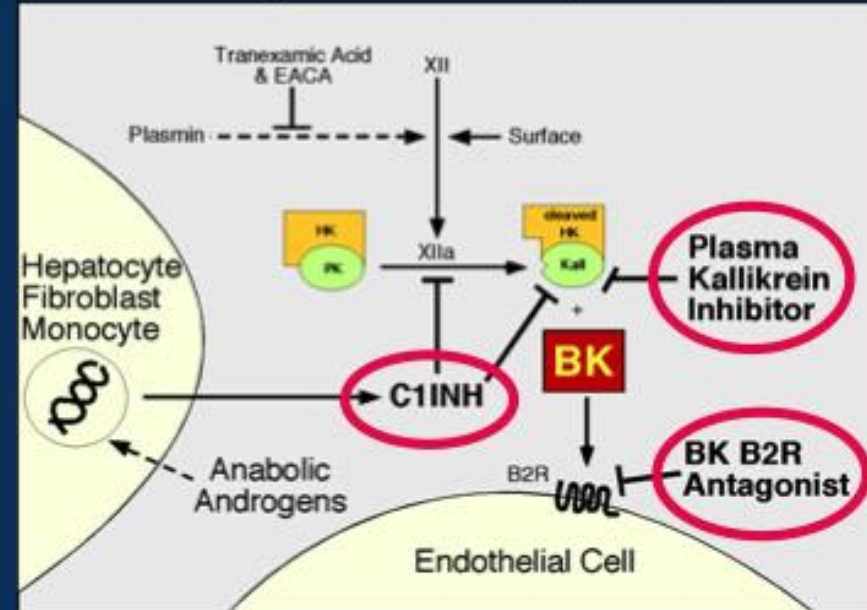
Účinky C1-INH

(Kuklínek P, Hanzlíková J: Hereditární angioedém, Medical Tribune, 2013)



Strategie léčby HAE

New Therapies for Hereditary Angioedema (HAE)



B2R=B₂-receptor; BK=bradykinin; EACA=epsilon-aminocaproic acid; HK=high-molecular-weight kininogen; PK=prekallikrein.

Zuraw BL. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2006;26:691-708.

Paroxysmální noční hemoglobinurie

Porucha regulace tvorby komplexu atakujícího membránu (MAC) – **deficience CD59** (membránový inhibitor reaktivní lýzy) – podmiňuje zvýšenou citlivost erytrocytů ke komplementu a vede k intravaskulární hemolýze.

Příčina: mutace genu PIG-A, kodujícího fosfatidylinositolglykan A, který zprostředkovává vazbu asi 40 proteinů v buněčné membráně vč. DAF(CD55) a CD59.

Další hemolytické stavy zprostředkované komplementem

- **Hemolyticko-uremický syndrom (HUS)**

trombotická mikroangiopatie, která vede k mechanické intravaskulární hemolytické anemii, konzumpci trombocytů, terminálnímu orgánovému selhání ledvin (sporadický-typický-, E. coli produkující Shiga-toxin, atypický -vrozený, mutace genů pro komplement, H, I, B, C3)

- **Choroba z chladových aglutininů (CAD)**

- **Paroxysmální chladová hemoglobinurie**

Ovlivnění aktivity C-systému jako možnost imunoterapie

- **C1-inhibitor**
- **Ovlivnění C3 a C5 konvertáz**
 - CR1 (CD35)-complement receptor type 1
 - DAF (CD55)-decay-accelerating factor
 - MCP (CD46)-membrane cofactor protein
- **Ovlivnění komplexu atakujícího membránu (MAC)**
 - CD59
- **Inhibice C5**
 - Humanizované monoklonální protilátky
(Pexelizumab, Eculizumab)

C1-INH: terapeutické využití

- Substituce
hereditární angioedém (HAE)
- Modulace aktivity C-systému
sepsy, septický šok
syndrom cévní propustnosti (vascular leak syndrom)
akutní infarkt myokardu
syndrom mozkové ischemie

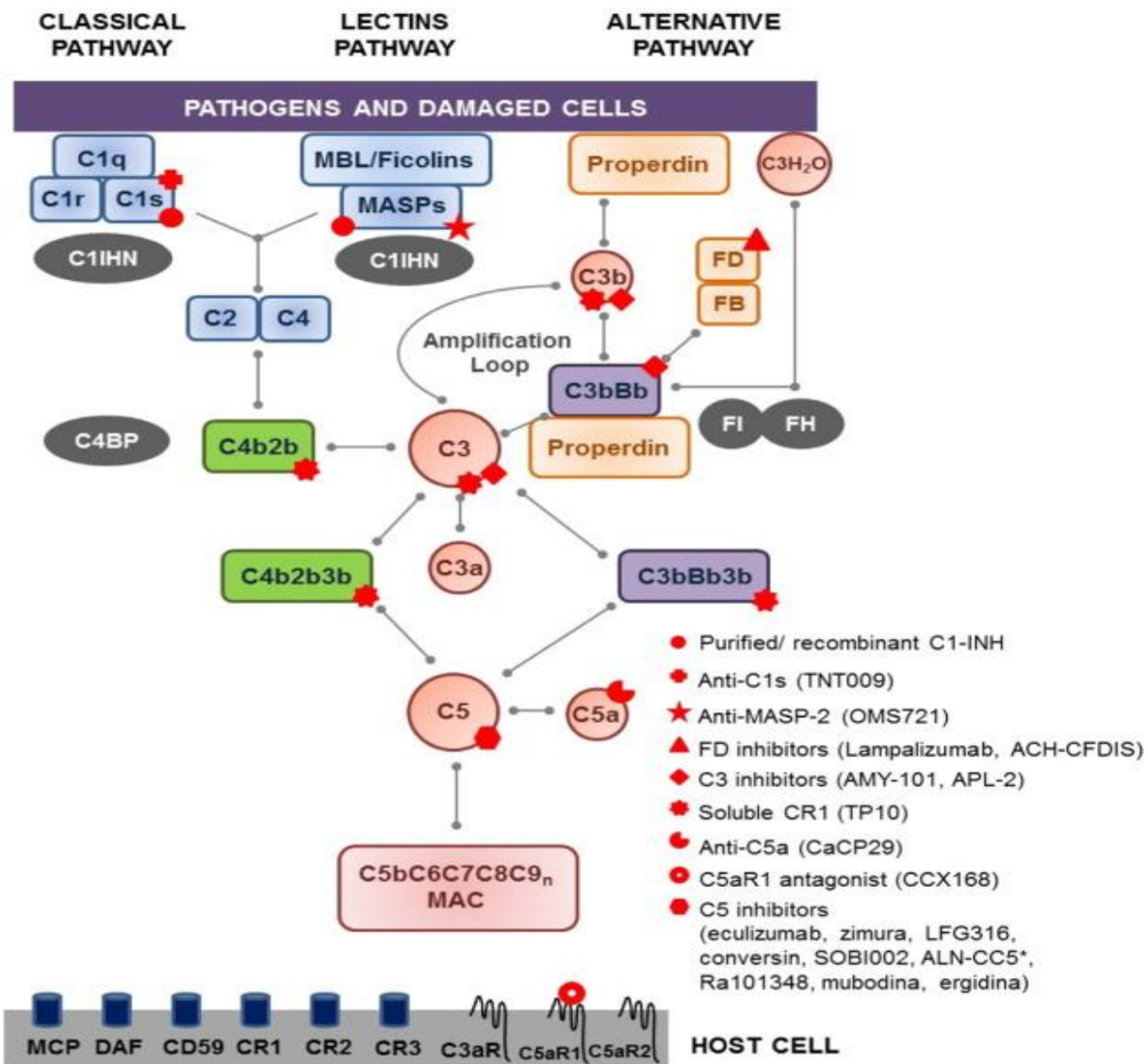
Komplement a léčba chorobných stavů

Monoklonální protilátky proti C5 (pevezilumab, eculizumab)

*paroxysmální noční hemoglobinurie,
syndrom mozkové ischemie, infarkt myokardu, koronární
bypass, náhrada chlopně,
revmatoidní artritida, dermatomyositis,
membranosní nefritida*

Možnosti modulace komplementového systému

(Reis ES et al: Clin Immunol 2015)



Studium komplementového systému je stále aktuální a přitažlivé

Úloha v protimikrobní imunitě.

Účast při fyziologickém i patologickém zánětu.

Zapojení do intracelulární signalizace, která ovlivňuje aktivaci, diferenciaci i proliferaci buněk.

Ovlivnění adaptivní reaktivity lymfocytů T a B

Modulace komplementového systému slibuje praktické využití v medicíně.