

IMUNOLOGIE CLINICĂ

Sub redacția Șef de Lucrări Dr. Mihaela Gheorghiu

Conferențiar Dr. Ileana Constantinescu

Biolog Constantinescu Gheorghe

Asis. univ. Dr. Ana Moise

Dr. Ramona Nedelcu

Dr. Biolog Daniela Păsărică

Conferențiar Dr. Traian Trandafir

Editura

Academia Oamenilor de Știință din România

2013

Tehnoredactare computerizată:
Hanke Rolanda
Matei Iorgu Dragoș

Descrierea CIP a Bibliotecii Naționale a României

Imunologie clinică / sub redacția: șef lucrări dr. Mihaela Gheorghiu ;
conf. dr. Ileana Constantinescu, biol. Gheorghe Constantinescu,
asist. univ. dr. Ana Moise, ... - București : Editura Academiei
Oamenilor de Știință din România, 2013
ISBN 978-606-8371-78-8

I. Gheorghiu, Mihaela (coord.)
II. Constantinescu, Ileana
III. Constantinescu, Gheorghe
IV. Moise, Ana

612.017

Copyright © Editura Academia Oamenilor de Știință din România

PREFAȚĂ

Această inițiativă editorială are scopul de a furniza o bază de studiu actualizată pentru toți studenții, medicii sau biologii implicați în procesul de descifrare a mecanismelor de apărare împotriva oricărei molecule non-self prezente dincolo de barierele organismului. Pentru studenți, volumul oferă informații detaliate în limba română, minimalizând efortul de instruire într-o limbă străină și scurtând timpul de căutare și selectare prin diversele materiale existente în literatură. Pe de altă parte, experiența didactică acumulată în decursul anilor de predare ne-a permis o selectare și sistematizare a materialului prezentat, dublată de o iconografie bogată pentru paragrafele mai greu accesibile. Desenele originale lasă cititorului posibilitatea unei intervenții personale cu creioane colorate, direct pe figură, fapt esențial în menținerea atenției pentru o perioadă mai lungă de „studiu interactiv”.

Prezentarea materialului urmează logica proprie organismului de apărare în valurisuccesive, în raport cu natura antigenelor, concentrația lor, poarta de intrare, starea imunologică a organismului receptor. Se începe cu imunitatea înăscută și cea dobândită, urmând patologia imună care se instalează dacă organismul, în efortul lui, nu a reușit să păstreze intactă homeostazia. Datorită profilului Catedrei de Fiziopatologie și Imunologie în care activăm, unele capitole, cum ar fi Inflamația, au fost excluse din prezentare, fiind aprofundate, conform tradiției, încursurile de Fiziopatologie.

În prezentarea patologiei imune, am evitat, pe cât posibil, suprapunerile cu programa de Semiologie, Medicină Internă sau Boli Infecțioase, rezumându-ne la aspectele legate strict de mecanismele imunologice care stau la baza leziunilor celulare. Uneori am repetat, cu bună știință, evenimente imunologice pe care le-am considerat esențiale în etiopatogenie sau cu implicații semnificative în conduita terapeutică, în încercarea de a facilita efortul de învățare.

Ținem să atragem atenția că deducțiile logice ale autorilor care au devenit necesare pentru o prezentare coerentă a mecanismelor imune, în interrelația lor spațio-temporală, au fost incluse în „ipoteze de lucru”, pe care le-am atașat volumului, în postfață. Acestea pot fi privite ca o concluzie generală a autorilor, în care sunt sugerate atât complexitatea răspunsului imun, cât și perspective de viitor, generate de progresele științelor conexe, privind existența unor integrări funcționale complexe, care presupun și mecanisme de comunicare intercelulară prin oscilații și unde (fasciculele simfazice fotonice, unde radio, câmpuri electrostatice sau controversatele câmpuri informaționale de torsiune).

Autorii mulțumesc tuturor acelor care au ales pentru studiu volumul de față.

CUPRINS	Pag
Prefață	3
Introducere.Principii generale de reactivitate celulară	9
I. IMUNOLOGIE GENERALĂ	12
1. Organizarea structurală și funcțională a sistemului imun.Imunitatea înnăscută	12
1.1 Organizarea sistemului imun	12
1.2 Imunitatea înnăscută	13
1.3 Clasificarea PRR	13
1.4 TLR (Toll-like receptors)	14
1.4.1 Tipuri de TLR	15
1.4.2 Mecanisme de semnalizare prin TLR	15
1.4.3 Căile de semnalizare prin TLR	16
1.5 Concluzii	18
2. Cascada complementului (CC)	21
2.1 Genetica	21
2.2 Sinteza factorilor CC	21
2.3 Funcțiile cascadei complementului	21
2.4 Receptorii pentru complement	22
2.5 Calea clasică de activare a complementului	23
2.6 Calea alternă a complementului (CA)	27
2.7 Calea lectinică	29
2.8 Efectele fragmentelor rezultate din CC	30
2.9 Reglarea cascadei complementului	30
2.10 Efectele anafilatoxinelor	32
3 Organele limfoide	34
3.1 Organizarea zonelor T dependente	34
3.2 Traficul și homingul limfocitelor T imature	35
3.3 Organele limfoide secundare	36
3.4 Organizarea zonelor B dependente	37
4. Antigenul	40
4.1 Condiții de antigenitate	40
4.2 Epitopii	41
4.3 Tipuri de antigene	43
4.4 Soarta Ag în organism	44
5. Celula prezentatoare de antigen (APC)	48
5.1 APC profesionale	48
5.1.1 Macrofagele	48
5.1.2 Celulele dendritice	53
5.1.3 Limfocitele B	56
5.2 APC ocazionale	56
6. Molecule MHC	59
6.1 Moleculele MHC I	59
6.2 Moleculele MHC II	64
6.3 Concluzii	66
7. Limfocitele	70
7.1 Limfocitele T	70
7.1.1 Circulația limfocitelor T	71
7.1.2 Tipuri de limfocite T	72

7.2	Markerii de suprafață ai LT	75
7.2.1	Receptori de recunoaștere a antigenului	75
7.2.2	Receptori accesorii	78
7.2.3	Receptori de adeziune	78
7.2.4	Receptori citokinici; 7.2.5/ Receptori de control	79
7.3	Limfocitele NK	79
7.4	Concluzii	80
8.	Activarea limfocitelor T	82
8.1	Activarea primară a APC	82
8.2	Sinapsa imună	83
8.3	Activarea LT	84
8.4	Mecanisme de control ale activării LT	87
9.	Limfocitele B	91
9.1	Originea LB	91
9.2	Circulația LB	92
9.3	Tipuri de LB mature imunologic	93
9.3.1	LB naive	93
9.3.2	Limfocitele B1 seroase (mezoteliale)	93
9.3.3	Limfocitele B2	94
9.4	Receptorii membranari ai LB	95
9.5	Activarea LB și transducția semnalului de activare	98
9.5.1	Activarea LB prin Ag solubile, corpusculare și antigene self	98
9.5.2	Activarea LB prin LPZ și acizi nucleici (AgTi-1)	99
9.5.3	Activarea LB prin antigene Ti-2 (molecule glucidice sau aa repetitivi)	100
9.6	Funcțiile Limfocitelor B	101
10.	Răspunsul imun umoral (RIU)	104
10.1	Activarea LThnCD4 ⁺ (prin Ag Timo-dependente)	104
10.1.1	Principalele interleukine implicate în RIU	106
10.2	Activarea LB2 până la LB-blast parțial activat	108
10.3	Cooperarea LBpa/ LTh2pa în foliculii secundari	110
10.4	Evoluția LT și LB activate	111
10.5	Mecanisme de control ale RIU	111
10.5.1	Reglarea genică	111
10.5.2	Reglarea antigen-mediată	111
10.5.3	Reglarea prin produsul final al RIU (complexele Ag-Ac)	112
10.5.4	Reglarea prin ligarea receptorilor tanatogeni	112
10.5.5	Reglarea prin LTreg	113
10.5.6	Reglarea prin antagonismul funcțional dintre subtipurile de LTh	113
10.5.7	Reglarea prin idiotip	114
10.5.8	Reglarea prin mecanisme neuroendocrine	114
11.	Imunoglobulinele	116
11.1	Structura	116
11.2	Segmentele funcționale ale Ig	118
11.3	Izotipuri de imunoglobuline	119
11.4	Receptorii pentru imunoglobuline	121
11.5	Patologia imunoglobulinelor	123
12.	Răspunsul imun celular	125
12.1	Limfocitul citotoxic (LTc)	125
12.2	Limfocitul T helper (CD4 ⁺)	126

12.3 Celulele dendritice	128
12.4 Rolul celulele NK în RIC	129
12.5 Mecanismul general de acțiune al celulelor LTc și NK	130
12.6 Mecanismele răspunsului imun celular	131
12.6.1 Etapa locală primară (de inițiere) a RIC	132
12.6.2 Etapa ganglionară (de amplificare) a RIC	133
12.6.3 Etapa finală de atac membranar	134
13. Generarea diversității receptorilor. Variabilitatea imunoglobulinelor	138
13.1 Complexul genic de sinteză a TCR	138
13.2 Etapele recombinării	140
13.3 Sursele diversității anticorpilor	141
13.4 Complexul genic de sinteză a BCR	141
14. Toleranța imunologică	144
14.1 Toleranța limfocitelor T	145
14.1.1 Toleranța centrală	145
14.1.2 Toleranța periferică	148
14.2 Toleranța periferică mediată celular	149
14.2.1 Limfocitele T reglatoare (LT-reg)	149
14.2.2 Rolul celulelor dendritice în toleranța periferică	150
14.2.3 Rolul MDSC în toleranța periferică	151
14.2.4 Rolul macrofagelor asociate tumorilor și a NKT	151
14.3 Mecanisme de control ale toleranței imune	151
14.4 Toleranța LB	153
14.4.1 Toleranța centrală	153
14.4.2 Toleranța periferică a LB	153
14.5 Ruperea toleranței imune	153
14.5.1 Ruperea toleranței LT	155
14.5.2 Ruperea toleranței LB	156
II. IMUNOPATOLOGIE	
15. Imunodeficiențe	161
15.1 Clasificarea imunodeficiențelor	161
15.2 Imunodeficiențe dobândite	164
15.2.1 Structura virusului HIV	165
15.2.2 Ciclul de replicare al virusului HIV	166
15.2.3 Fazele infecției cu HIV	168
16. Hipersensibilitatea de tip I	171
16.1 Imunoglobulinele E	171
16.2 Etapele declanșării HS tip I	172
16.3 Astm Bronșic	175
16.3.1 Etapa pulmonară inițială	175
16.3.2 Etapa din OLS	176
16.3.3 Etapa pulmonară secundară	177
16.3.4 Etapa de remodelare	180
17. Hipersensibilitatea de tip II	182
17.1 Etapele HS tip II	183
17.2 HS tip II pe celulele anucleate	185
17.3 HS tip II pe celulele nucleate	188
18. Hipersensibilitatea de tip III	191
18.1 Etapa generării complexelor imune	191

18.2	Mecanisme de declanșare a inflamației locale	192
18.3	HS III cu CI insolubile la poarta de intrare	192
18.4	HS III cu complexe imune circulante (solubile)	193
19.	Hipersensibilitatile de tip IV și V	195
19.1	Celule participante	195
19.2	Dinamica RI	196
19.2.1	Etapă de inducție	196
19.2.2	Etapă de inițiere	196
19.2.3	Etapă de activare	198
19.3	Factori etiopatogenici	199
19.4	Entități clinice în HS IV	200
19.5	Hipersensibilitatea de tip V	203
20.	Bolile autoimune	205
20.1	Etiologia BAI	205
20.2	Tipuri de leziuni prezente în BAI	206
20.3	Clasificarea BAI	209
20.4	Entități clinice	209
21.	Imunologia degenerescenței tumorale	212
21.1	Formarea antigenelor tumorale	212
21.2	Supravegherea imunologică antitumorală	213
21.3	Modalități de anihilare a mecanismelor de apărare antitumorală	214
21.4	Mecanisme de transformare canceroasă a celulelor sistemului imun	214
22.	Imunologia transplantului	215
22.1	Complexul major de histocompatibilitate (CMH)	216
22.2	Genetica HLA	218
22.3	Structura moleculelor HLA	219
22.4	Rolul antigenelor HLA	221
23.	Imunologia neoplaziilor posttransplant	222
23.1	Imunologia cancerului	223
23.2	Oncogenele	224
23.3	Gene supresoare ale cancerului	225
23.4	Mecanisme efectoare anti-tumorale	226
III.	LUCRĂRI PRACTICE DE IMUNOLOGIE	230
A.	Elemente de analiză imunochimică	230
I.	Antigenul	230
II.	Anticorpii	231
III.	Reacții Ag-Ac	232
IV.	Tipuri de reacții folosite în imunodiagnostic	236
B.	Metode de separare și identificare a unor populații celulare	260
C.	Tehnici de laborator utilizate în neoplazii și transplant	264
I.	Metode de tipizare HLA	264
II.	Tipizarea HLA prin metode de biologie moleculară	266
III.	Tehnici de evaluare imunologică utilizate în transplant	271
IV.	Diagnosticul de laborator al cancerului	277
V.	Evaluarea imunologică a neoplaziilor posttransplant renal	281
VI.	Ghid practic în cancerul urologic posttransplant renal	283
VII.	Evaluare imunologică a diferitelor tipuri de cancer	286
Anexa		289
Postfață		290

INTRODUCERE. PRINCIPII GENERALE DE REACTIVITATE CELULARĂ

Definiție: Reactivitatea celulară este o modalitate de schimb informațional, în care celulele răspund la diferite tipuri de stimuli, externi sau interni, prin reacții de tip **supraviețuire** sau **moarte celulară**.

Calitatea schimburilor informaționale ale unei celule cu mediul depinde de precizia funcționării sistemelor de înregistrare a modificărilor survenite în mediu. Aproximativ jumătate din cele 25 de mari familii proteice codificate de genomul uman se ocupă cu procesarea informației.

Orice proces prin care celula transformă un tip de semnal sau stimul în altul reprezintă un **proces de transducție**. În organismele vii, transducția semnalului se realizează prin intermediul **cascadelor de transducție**. **Acestea sunt circuite moleculare care detectează, amplifică și integrează diferiți stimuli, cu scopul generării unui răspuns celular.**

Concomitent cu transducția, stimulul este codificat în **unități de semnal– cuante, grupate** apoi în secvențe **distanțate în timp, care se succed într-o anumită ordine**, fiind caracteristice fiecărui tip de energie codificat.

Codificarea poate fi complexă și urmează un drum caracteristic spre un "**centru de decodificare**", care, de cele mai multe ori, este și "**efectorul**" care generează răspunsul adecvat:

- activarea unor gene;
- amplificarea producției de energie;
- remodelarea citoscheletului;
- moartea celulară prin apoptoză (sau necroză).

Semnalele pot fi extracelulare, intracelulare sau intercelulare.

Semnale extracelulare

Sunt în majoritate **hormoni și factori de creștere**, dintre care unii nu pot pătrunde în celule, datorită dimensiunilor (cum este cazul moleculelor proteice) sau a polarității lor (de exemplu adrenalina). Pentru a determina un răspuns celular, acești stimuli externi trebuie să acționeze ca **niște liganzi (mesageri primi)**, fixându-se pe receptori, care sunt proteine integrale ale membranei celulare.

Alții, spre deosebire de factorii de creștere polipeptidici, cum sunt hormonii sterolici și tiroidieni, au dimensiuni relativ mici și structuri hidrofobe, ceea ce le permite traversarea membranei plasmatică. Ei formează complexe cu receptorii intracelulari, modalitate prin care declanșează cascadele de semnalizare care le permit exercitarea efectelor biologice.

Semnale intracelulare

Chiar dacă sunt declanșate de semnale extracelulare, semnalele intracelulare sunt considerate distincte. La celulele eukariote, moleculele de semnalizare intracelulară includ: proteinele G heterotrimerice, GTPazele mici, nucleotidele ciclice (AMPC, GMPc), Ca^{2+} , fosfoinozitolii (PIP3, DAG, IP3), diferite protein kinaze și fosfataze. Majoritatea sunt numite **mesageri secunzi**.

Semnale intercelulare

Semnalele intercelulare sunt multiple:

- **paracrine:** au drept țintă doar celulele din imediata vecinătate a celulelor producătoare. Exemplu: neurotransmițătorii;
- **autocrine:** se exercită numai asupra celulelor de același tip cu celula producătoare. Exemplu: semnalele transmise de celulele imune;
- **juxtacrine:** transmise de-a lungul membranei, prin intermediul proteinelor și lipidelor componente, fiind capabile să influențeze atât celula emițătoare, cât și celulele din imediata vecinătate;

Reactivitatea celulară constituie răspunsul la aceste semnale și nu poate fi definită în afara **structurilor diferențiate, capabile să înregistreze orice formă de energie care acționează asupra celulei**. Numim generic aceste structuri **receptori**, grupați în familii numeroase care sunt dispersate între membrana externă și nucleu.

Receptorii și etapele transducției

1. Transducția dintre mediul extern al celulei și cel intracelular prin intermediul receptorilor membranari

Aceștia sunt dispuși **transmembrantar** sau în **invaginări membranare**, de tipul veziculelor clatrinice sau caveolelor.

Orice receptor transmembrantar prezintă un segment extracelular (SEC), unul transmembrantar (STM) și unul intracelular (SIC).

SEC fixează ligandul. Dacă lanțul polipeptidic al receptorului traversează membrana de mai multe ori, SEC prezintă mai multe bucle care proemină prin membrană.

STM este constituit din α -helixuri transmembranare. În anumiți receptori, cum ar fi receptorul nicotinic pentru acetilcolină, STM este "un por" tapetat cu structuri proteice, adică un canal ionic. După activarea SEC prin fixarea ligandului, porul devine accesibil ionilor care îl străbat. În alți receptori, STM suportă modificări conformaționale care se reflectă intracelular.

SIC interacționează cu citosolul sau cu organelle celulare, transmițând semnalul pe două căi esențiale:

- prin **interacțiuni specifice cu proteinele efectorii**, care transmit apoi semnalul la destinație, printr-un anumit lanț de semnalizare.

- prin **activitatea enzimatică proprie a SIC** care este, cel mai frecvent, de tip tirozin kinazic. Când SIC nu are activitate enzimatică proprie, poate asocia enzime citosolice.

Reglarea activității receptoriale se poate face prin **internalizare** sau prin **fosforilarea unor situsuri ale SIC**.

Rezultatul fixării ligandului este diferit, în funcție de tipul receptorului pe care acționează. Se cunosc trei clase de receptori:

Clasa I: receptori canale ionice

Modalitatea de activare: extracelulară sau intracelulară;

Compoziția subunităților receptoriale: heteromeri sau homomeri, care se asamblează pentru a forma canale ionice;

Transducția semnalului: prin canale ionice;

Liganzi: neurotransmițători (GABA, glicina, acetilcolina, glutamat, serotonina), ATP, GMPc, AMPc, IP₃, Ca²⁺.

Clasa II: receptori cuplați cu proteinele G (GPCR)

Prezintă 7 domenii polipeptidice hidrofobe (helixuri) transmembranare, de unde și denumirea de receptori heptahelicali. Necesită interacțiunea cu proteinele G (numite și proteine heterotrimerice de legare a GTP sau GTP-aze), ceea ce a făcut să fie denumiți receptori cuplați cu proteinele **G (GPCR)**.

Compoziția subunităților receptoriale: monomeri, homodimeri sau heterodimeri;

Transducția semnalului: prin intermediul proteinelor G;

A. Împreună cu un mesager difuzibil;

B. Acționând direct pe un canal;

C. După clivarea receptorului, realizată de un hormon polipeptidic care acționează ca o protează cu specificitate de situs. Rezultatul este apariția unui receptor autoactivat.

Liganzi:

A. toate neuropeptidele neurotransmițătoare de dimensiuni mici (cu excepția glicinei), substanțe odorante, anumite citokine (de exemplu IL8), lipide și agoniști înrudiți (PAF, eicosanoizi);

B. Liganzii pentru receptorii muscarinici atriali și pentru receptorii α 1-adrenergici neuronalii;

C. Trombina.

Clasa III: receptori cu activitate enzimatică intrinsecă sau asociată

IIIa: receptori tirozin kinazici (TKR);

IIIb: receptori serin/treonin kinazici (S/TKR);

IIIc: receptori pentru citokine (CKR);

Prezintă domenii unice, hidrofobe, fiind receptori pentru factorii de creștere. SIC al acestor receptori are activitate enzimatică de autokinază, fosforilându-și propriile resturi de tirozină, serină sau treonină.

Rolurile fosforilării:

- mărirea activității catalitice a receptorilor;

- situsurile de fosforilare servesc ca locuri "de ancorare" a proteinelor adaptor și a proteinelor semnal citosolice, unele dintre acestea fiind implicate în producția mesagerilor secundari. Același receptor poate fixa mai mulți liganzi, dar pe locusuri de legare diferite.

Compoziția subunităților receptoriale: monomeri/homodimeri; heterodimeri/heterotrimeri; heterotetrameri;

Transducția semnalului: SIC are activitate enzimatică.

A. tirozin kinazică, stimulată de ligand;

B. guanilat ciclazică, stimulată de ligand;

C. serin/ treonin kinazică;

D. activitate enzimatică necunoscută.

Liganzi:

A. factori de creștere mitogeni, insulină;

B. peptide natriuretice;

C. neurotrofine, hormoni de creștere, prolactină, citokine.

Mulți dintre receptorii proteici prezintă și **forme solubile**, pe lângă forma de receptor membranar integral. Rolul formei solubile a receptorului nu este foarte clar. **Ei ar putea acționa ca o modalitate de rezervă care, la nevoie, s-ar putea integra membranar.** Pe de altă parte, formele solubile **ar putea sechestra liganzii, prevenind legarea lor pe membrană, deci ar putea funcționa ca inhibitori.**

Interacțiunea ligand-receptor determină modificări în structura terțiară sau cuaternară a receptorilor (inclusiv a SIC), care sunt însă **insuficiente pentru a genera un răspuns specific, deoarece sunt restricționate la nivelul unui număr mic de molecule de receptor. De aceea, informația conținută de molecula de ligand (mesager prim) trebuie transformată în alte forme care să poată induce modificări biochimice semnificative în celulă.**

2. Preluarea informației de la complexele ligand-receptor (L-R) prin intermediul mesagerilor secundari, sintetizați imediat după activarea receptorilor.

Cei mai importanți mesageri secundari sunt: *AMPC*, *GMPc*, Ca^{2+} , *DAG*, *IP3*

Consecințele intervenției mesagerilor secundari:

-Au posibilitatea de a se deplasa liber în celulă, difuzând în diferite compartimente celulare, unde pot influența diferite procese, inclusiv transcripția genică.

-Procesele biochimice prin care sunt sintetizați mesagerii secundari determină și o amplificare semnificativă a semnalului care trebuie transdus. De asemenea, în timpul generării mesagerilor secundari, sunt activate diferite enzime și canale ionice membranare, care determină, la rândul lor, sinteza unui mare număr de mesageri secundari. Astfel, un semnal de mică intensitate din mediul înconjurător (uneori de tipul unei molecule unice) poate induce un răspuns intracelular de mare amplitudine.

-Utilizarea mesagerilor secundari în multiple căi de semnalizare creează atât avantaje, cât și potențiale complicații. Astfel, schimbul încrucișat de informații dintre multiplele căi de semnalizare ("cross talk") influențează concentrația mesagerilor secundari. Prin "cross talk" se poate realiza o reglare fină (un acordaj) a activității celulare, mult mai eficientă decât cea obținută printr-o singură cale de semnalizare. Pe de altă parte, un "cross talk" dereglat induce și o "interpretare" alterată a mesagerilor secundari.

3. Fosforilarea unor molecule proteice semnalează modalitatea cea mai frecventă de transfer a informației realizată de mesagerii secundari

Mulți dintre mesagerii secundari activează protein kinaze care transferă grupări fosfat de pe ATP pe resturi specifice din diferite enzime intracelulare. Acest lucru poate fi realizat direct și de receptorii cu activitate enzimatică intrinsecă.

Sunt declanșate acum cascade de fosforilare a unor kinaze, dintre care cele mai cunoscute sunt **PKA**, **PKC** și **MAPK**.

Aceasta este modalitatea prin care mesagerii secundari, liberi în celulă, induc modificări ale structurii covalente a proteinelor cu rol de kinaze, modificări care sunt mult mai stabile decât modificările foarte rapide ale concentrației mesagerilor secundari.

Aceste modificări ale structurii covalente determină, de fapt, răspunsul propriu-zis al celulei. La rândul lor, aceste cascade kinazice se pot autoamplifica, așa cum se întâmplă și cu secreția mesagerilor secundari, dar pot trimite și impulsuri spre receptorii membranari, care își pot mări sau micșora activitatea.

Deci, și la nivel kinazic, se aplică principiul funcționării în cascadă. Rezultatul poate fi:

- activarea unei gene;
- amplificarea producției de energie;
- remodelarea citoscheletului;
- moartea celulară prin apoptoză sau necroză.

4. Stingerea semnalului

Are loc la sfârșitul transducției și presupune intervenția protein fosfatazelor. Este un pas esențial, deoarece fără stingerea semnalului, celula nu mai poate răspunde la noi stimuli. Procesele de semnalizare care nu sunt blocate la momentul optim induc o creștere celulară necontrolată și chiar malignizare.

Concluzii:

1. Aceeași cale, inițiată de același ligand, poate iniția mitogeneză sau apoptoză
2. Răspunsul diferit este influențat de:
 - intensitatea acțiunii ligandului (numărul de molecule) care acționează;
 - faza ciclului celular în care este "surprinsă" celula în momentul acțiunii stimulului;
 - numărul de molecule receptor existente pe membrană, care depinde de nivelul de procesare a stimulului anterior;
 - gradul de diferențiere a celulei asupra căreia acționează stimulul. Acțiunea factorilor de creștere asupra unei celule înalt diferențiate, de tipul neuronilor, determină apoptoză și nu mitogeneză.

1. ORGANIZAREA STRUCTURALĂ ȘI FUNCȚIONALĂ A SISTEMULUI IMUN . IMUNITATEA ÎNNĂSCUTĂ

Conf. Dr. Traian Trandafir

Introducere

Imunitatea înnăscută este un ansamblu de reacții, determinate genetic, prin care o specie se protejează de agresiunea agenților infecțioși, a moleculelor non-self endogene, exogene sau tumorale și a factorilor fizici nocivi (radiații UV).

Sistemul imun (SI) conține proteine, celule, organe și țesuturi, organizate în nivele de apărare de specificitate crescută, prin care un organism se protejează împotriva bolii, prin identificarea și distrugerea patogenilor, a celulelor tumorale și moleculelor endogene devenite non-self.

1.1 Organizarea sistemului imun:

Nivelul 1: barierele fizice (piele, mucoase), mecanice, chimice (HCl gastric) care împiedică agenții patogeni să intre în organism.

Nivelul 2: sistemul imunității înnăscute, care asigură o protecție imediată.

Caracteristici:

Imunitatea înnăscută este:

- înscrisă în genom;
- Ag – independentă, adică nu necesită o recunoaștere specifică a unei structuri antigenice. Recunoaște numai că molecula este non-self, deci este o recunoaștere nespecifică, fără memorie imunologică;
- se instalează imediat și induce un răspuns de intensitate maximă;
- implică acțiunea unor componente celulare și umorale (cascada complementului, inflamația etc);
- este prezentă la aproape toate formele de viață.

Nivelul 3: sistemul imunității adaptative

Caracteristici:

- Înaltă specificitate – un singur tip de Ag este recunoscut de celulele SI, după care declanșează un răspuns imun (umoral sau celular);
- Recunoașterea antigenică presupune existența unor receptori specifici: BCR, TCR.
- Memorie imunologică prezentă;
- Răspuns mai lent: 2-3 săptămâni pentru RI primar, apoi timpul se reduce la jumătate pentru RI secundar.

În concluzie:

1. SI este organizat în trei nivele de apărare, care acționează permanent pentru discriminarea self-ului de non-self.

2. Chiar dacă imunitatea înnăscută și cea adaptativă evoluează separat, eficiența RI de ansamblu depinde de conexiunile complexe și de mecanismele de reglare pe care le implică cele două sisteme.

3. Împărțirea este mai mult didactică pentru că inflamația, imunitatea înnăscută și cea dobândită / adaptativă se intrică prin reacții biochimice comune și se suprapun în timp.

Organizarea sistemului imun adaptativ

I. Zona de producție: măduva hematogenă, unde se diferențiază toate populațiile leucocitare.

II. Zona de instrucție (timus, organele limfoide secundare-OLS).

III. Zona circulatorie: limfocite circulante, leucocite (APC) circulante (limfatice sau sanguine).

IV. Zona fixă: splină, ganglioni limfatici, țesut limfoid difuz (pulmonar, digestiv, cutanat, genital).

V. Zona de distrugere (sistemul reticulo endotelial-SRE).

1.2 Imunitatea înnăscută (IÎ)

Spre deosebire de imunitatea adaptativă, IÎ nu recunoaște specific fiecare antigen, ci molecule comune diferitelor specii de patogeni, care au structură puternic conservată filogenetic și care sunt esențiale pentru supraviețuirea patogenilor. Asemenea structuri sunt limitate ca număr, au fost numite **PAMPs** (*pathogen associated molecular patterns*) și includ:

- Endotoxine sau LPS din peretele bacteriilor Gram (–);
- Peptidoglicani, acizi lipoteicoici din peretele bacteriilor Gram (+);
- Manoză din structura glicolipidelor și glicoproteinelor microbiene;
- ADN bacterian, N-formil-metionina din proteinele bacteriene;
- ARN mono și dublu catenar din virusuri;
- Glicani din peretele fungilor.

Acestor PAMPs li se adaugă molecule exprimate pe membrană sau eliberate de celulele umane supuse diferitelor forme de stres fizic (caloric, mecanic, radiații, chimic), infecțios sau alterări moleculare, care au numele colectiv de **DAMPs** (*damage associated molecular patterns*)

Exemple:

- acizii nucleici;
- HSP (proteine de șoc caloric / chaperonine);
- IFN- α (mediator important în apărarea antivirală);
- CD 40L (moleculă de suprafață a trombocitelor și LT activate);
- Produși de degradare a acidului hialuronic.

Actorii principali implicați în imunitatea înnăscută sunt fagocitele: macrofage, neutrofile, celule dendritice. Ele trebuie să deosebească permanent self-ul de non-self. Acest proces este realizat prin PRR - receptori de recunoaștere a patogenilor, care recunosc PAMPs și DAMPs.

1.3 Clasificarea PRR

PRR sunt de trei tipuri: secretați (solubili), de endocitare, de semnalizare.

PRR secretați (solubili)

Au rol de opsonine, se fixează pe microbi, favorizează recunoașterea lor de către receptorii fagocitelor și declanșează activarea complementului.

Exemple:

- Frațiuni din cascada complementului C3b, C4b ;
- Colectine;
- Pentraxine (amiloid seric, CRP);
- MBL (mannan binding lectin);
- Lectina care fixează bacterii, virusuri fungi, protozoare și declanșează calea lectinică a complementului.

PRR de endocitare

- exprimați pe membranele fagocitelor (scavenger receptor, manose receptor etc)
- fixează PAMPs și DAMPs, cu care formează complexe care, ulterior, vor fi internalizate. În acest mod, sunt îndepărtați din circulație patogenii și sunt pregătiți pentru distrucție lizozomală (endocitoză).

Exemple:

- MR (*macrophage – manose receptor*). Recunosc carbohidrați cu un mare număr de resturi de manoză (molecule repetitive).
- Fc γ R, CR care recunosc opsoninele IgG și C3b.

PRR de semnalizare

- sunt transmembranari și citosolici; Toll-like receptor (TLR), NLR (*nucleotid - binding oligomerization NOD1, NOD2*), RLH (*retinoic acid-inductible gene like helicases*).

- se leagă de moleculele ligand – PAMPs. După ligare, semnalizează activarea genelor implicate în răspunsul imun.

- sunt prezenți în citoplasmă (PRR citosolici) și transmembranari.

a. PRR citoplasmatici

- NLR (*nucleotid oligomerization domain*);

- RIG1 (*retinoic acid-inducible gene1*);

-MDA5 (*melanoma differentiation associate gene*); recunosc Picorna virusuri. Ultimii doi recunosc diverse tipuri de virusuri.

În prezența fibroblaștilor activați sau a celulelor infectate viral, RIG și MDA5 semnalizează și activează „IFN β promotor stimulator (IPS1)”, care activează IRF3 (*interferon regulatory factor*). IRF3 activat stimulează NF-kB care intră în nucleu și activează gena pentru secreția de IFN γ .

b. PRR transmembranari

- NOD1,2;

- CD 14;

- NALP 1,3;

- Toll-like receptors.

NOD.

Mod de acțiune: Peptidoglicanii sunt recunoscuți de receptorii NOD și, în prezența RIP (*receptor interacting protein*), activează NF-kB, care activează complexe nucleoproteice citoplasmatic numite *inflamazomi*. Aceștia controlează caspazele 1 și 5, care devin active și induc maturarea PRO IL-1 β și PRO IL-18, care vor fi eliberate.

NALP 1,3.

În prezența ARN bacterian, toxinelor, TAP-ului sau acidului nucleic cristalizat, receptorii NALP se activează și declanșează activarea NF-kB.

CD14 este coreceptor pentru recunoașterea și fixarea LPS (Gram -) pe TLR.

1.4 TLR (Toll-like receptors)

Caracteristici generale:

- Se descriu 13 tipuri de receptori diferiți, dintre care primii 10 la om;

- Sunt conservați evolutiv de la plante la om;

-Sunt proteine transmembranare care traversează atât membrana externă, cât și membranele organitelor intracelulare vacuolare;

- Pot fi răspândiți pe membranele macrofagelor, celulelor epiteliale, endoteliale și ale organelor parenchimatoase, a celulelor dendritice LB, LT și mastocitelor. Alți receptori sunt localizați în citosol.

- Recunosc PAMPs care conțin domenii repetitive de leucină.

Structura de bază este dată de un lanț proteic cu 2 domenii:

- 1 domeniu (segment) extracelular, numit LRR (*leucine – reach repeat*).

- 1 domeniu (segment) citoplasmatic, asemănător cu receptorul pentru IL1 al mamiferelor, notat TIR (toll-IL1- like receptor).

1.4.1 Tipuri de TLR

TLR membranari recunosc diferite tipuri de PAMPs, iar cei citosolici recunosc în special acizi nucleici.

TLR1, 6, 10 sunt prezenți pe membranele fagocitelor și recunosc lipopeptide și acid lipotecoic. După ligare, activează mai multe căi intracitoplasmatic care se soldează cu activarea genelor pentru secreția citokinelor proinflamatorii

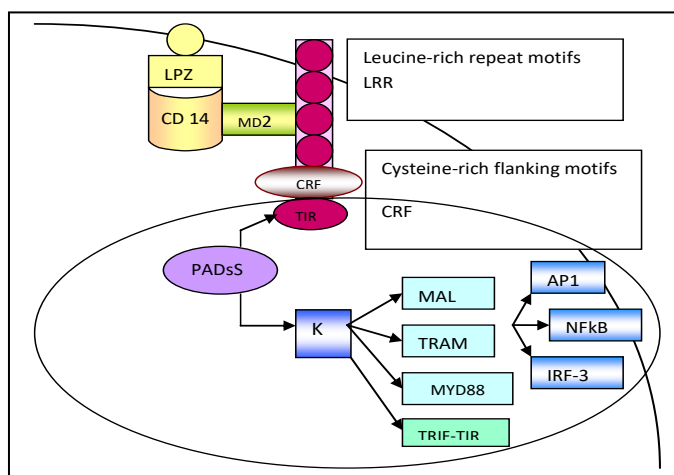
TLR2 modulează răspunsul supresor al LT-CD4⁺CD25⁺. Fixează peptidoglicanii germenilor Gram(+). Induc secreția IL10 prin care se modulează RIU (IL10 are efect de scădere a sintezei citokinelor proinflamatorii)

TLR3 sunt localizați în endozomi, recunosc și fixează ARN viral. Recunosc PAMPs și modulează transmisia prin TCR, fiind coreceptori ai acestuia. În celulele dendritice, stimulează sinteza IFN α , ceea ce determină stimularea LTh1 și a LTc, declanșând RIC.

TLR4 sunt coreceptori importanți pentru LTcCD4⁺ naive. Recunosc lipopolizaharidelor (LPS) din structura germenilor Gram(–) (ex. E. Coli, Salmonella). După ligare, LPS induce sinteza de IFN β , cu efect de stimulare autocrină și de sinteză a coreceptorilor CD40 și B7. În celulele dendritice, induce sinteza IL12 și IFN α , urmată de stimularea LTh1 și LTc, cu declanșarea RIC.

TLR5 sunt coreceptori ai TCR. Recunosc moleculele de flagelină. Modulează răspunsul supresor al LTCD4⁺CD25⁺

TLR7 sunt receptori caracteristici pentru limfocitele B, cu rol important în diferențierea lor. Ligarea receptorilor activează suplimentar limfocitul B, după ce BCR-ul acestuia a fost ligat cu un antigen solubil. Sunt localizați în endozom și fixează ARN-ul monocatenar viral. Unele celule dendritice pot avea TLR7 membranar. Ligarea acestora declanșează calea MYD 88 și induce secreția de IL12 și IFN, favorizând RIC.



TLR8 sunt localizați endozomal și fixează ARN monocatenar viral. Ligarea lor modulează activitatea imunomodulatoare a LTc-CD4⁺CD25⁺.

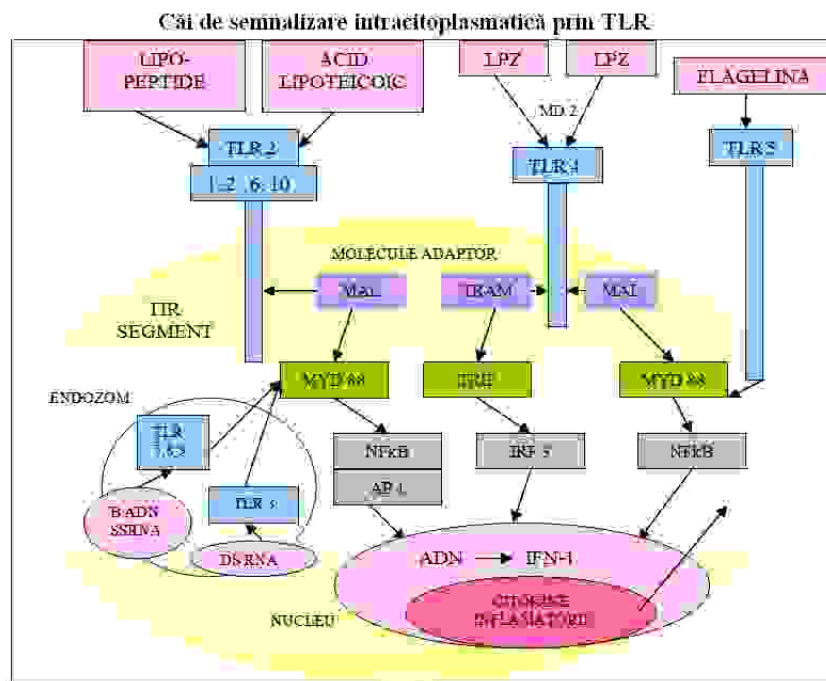
TLR9 sunt caracteristici pentru limfocitele B, având aceleași funcții ca TLR7. Modulează transmiterea prin TCR, fiind considerați coreceptori. Ligarea lor declanșează sinteza de IL12 și IFN γ care maturizează LTh1 și induce RIC.

1.4.2 Mecanisme de semnalizare prin TLR:

Ligandul (PAMP/DAMP) se fixează pe LRR, fenomen succedat de declanșarea unui semnal, care traversează TIR și, la extremitatea citosolică a TIR, este preluat de proteine adaptor. Acestea sunt rapid recrutate din citosolul submembranar la TIR și interacționează ulterior cu diferite căi de semnalizare intracelulară.

Sunt cunoscute patru proteine adaptor ale semnalizării prin TLR:

- MYD 88 (myeloid differentiation factor 88);
- MAL (myeloid adapter – like protein);
- TRIF-TIR (domain containing adaptor inducing protein IFN- β);
- TRAM (TRIF- related adapter molecule).



Înainte de fixarea ligandului, TLR sunt poziționați pe membrană sub formă de dimeri, în complexe de joasă afinitate. Fixarea ligandului induce o modificare conformațională, prin care 2 domenii TIR sunt “aduse” față în față, în imediată proximitate. În acest mod, se crează o ”platformă de semnalizare”, necesară pentru recrutarea moleculelor adaptor.

Pe extremitatea citosolică a TIR există un situs complementar structural cu situsul omolog de pe proteinele adaptor. Între cele două situsuri se formează legături strânse.

1.4.3 Căile de semnalizare prin TLR

Sunt împărțite în:

- a) Semnalizarea MYD 88 dependentă;
- b) Semnalizarea TRIF dependentă;
- c) MAL și TRAM;
- d) Prin TOLL/IL-1;

a. Semnalizarea MYD 88 dependentă.

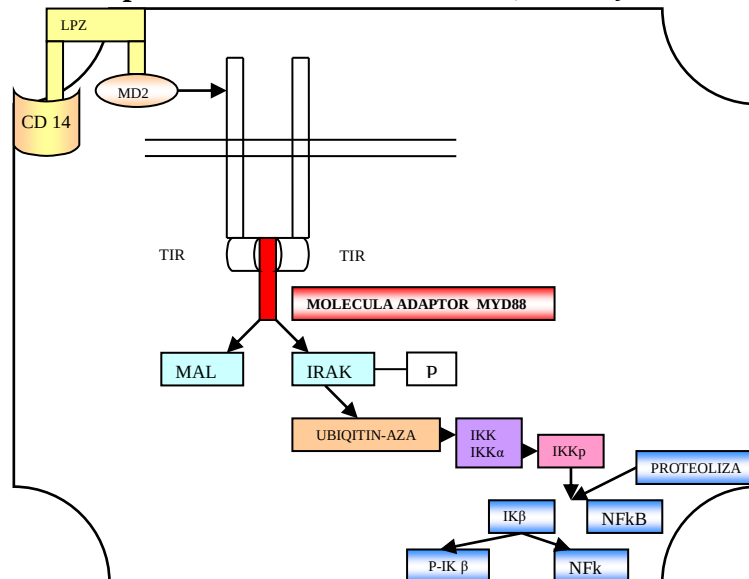
Este specifică pentru TLR 2,4 și TLR 7,8,9, PAMPs/DAMPs, LRR, TIR,MYD 88.

MYD 88 asociază proteina adaptor MAL. Apoi,MYD 88fixează o serin-treonin kinază, numită IRAK (*IL-1-r associated kinase*), care se autofosforilează și declanșează cascada de ubiquitinări ale unor enzime de conjugare. În această formă, enzimele de conjugare activează o kinază, IKK (*IκBa kinase complex*), care fosforilează inhibitorul IκB, aflat în complex cu factorul de transcripție NF-κB.

IκB fosforilat permite atacul proteolitic asupra sa și desfacerea de NF-κB, care devine liber și capabil să intre în nucleu, fixându-se pe elementele promotor ale genelor proinflamatorii, urmată de sinteza de citokine proinflamatorii.

Pentru sinteza TNF-α, este necesară și participarea factorului de transcripție AP-1, iar pentru sinteza interferonului, a familiei factorului de transcripție IRF (*Interferon regulatory factors*).

Semnalizarea prin TOLL-R calea MYD 88, MAL și TRAM



IRAK (*IL-1 receptor associated kinase*)

IKB(*inhibitor al NFκB*)

CD14 (*coreceptor pentru recunoaștere și fixare LPZ Gram- pe TLR*).

b.Semnalizarea TRIF dependentă. Este specifică pentru TLR 3,4.

Fenomenele decurg asemănător până la activarea factorilor de transcripție IRF și mult mai târziu a NFκB.

c. Semnalizarea prin MAL și TRAM (vezi schema).

Sintetizând, semnalele inițiate prin TLR produc:

1. Activarea macrofagelor, urmată de secreția citokinelor proinflamatorii (TNFα, IL1β, IL6, IL8, IL12). Acestea activează *autocrin și paracrin* diverse tipuri de celule, activare care se soldează cu secreția moleculelor de adeziune, a receptorilor induși, MHC II și chemokinelor (*MIP, macrophage inflammatory protein 1, CC-RANTES*)
2. Stimularea diferențierii și activării celulelor dendritice care fagocitează în țesuturi Ag exogene, se activează metabolic și încep să secrete interferon, chemokine, citokine și MHC II.
3. Modulează activitatea limfocitelor T, marea lor majoritate fiind coreceptori (2,3,5,9).
4. Tipul de RI activat depinde de tipul de TLR activat.

Celulele dendritice, activate prin TLR 3,7,8,9 semnalizează pe calea MYD 88 și induc producția de IL12, IFNα, determinând stimularea puternică a LTh1 și stimularea LTc, cu declanșarea răspunsului imun celular (RIC). IFNα este o citokină importantă în apărarea antivirală.

Celulele dendritice activate prin TLR4 produc IL12, IFNα, ceea ce determină stimularea LTh1 și a LTc cu declanșarea RIC.

CD activate prin TLR 2 produc IL10 care suprimă producția de citokine proinflamatorii și modulează răspunsul LTh2, realizând retrocontrolul RIU.

Celulele dendritice și macrofagele stimulate cu LPS produc IFNβ, care este secretat și refixat pe membrane prin IFNR I. Aceste celule exprimă receptorii indispensabili cooperărilor intercelulare: CD 40, CD 80, CD 86 (B1,B2), după ligarea cu PAMPs.

1.5 Concluzii:

1. Imunitatea este o funcție a oricărui organism viu, prin care se distinge permanent self-ul de non-self și realizează îndepărtarea non-self-ului.
2. Există trei nivele de apărare, în care specificitatea crește progresiv.

3. Imunitatea înăscută este declanșată la contactul celulelor imune cu PAMPs/DAMPs, care sunt recunoscute prin PRR.

4. S-au descris trei familii de PRR: secretați (solubili), de endocitare, de semnalizare (TLR), clasificați în două grupe funcționale: PRR1 și PRR2, după natura PAMPs1 și PAMPs2

5. Prin fixarea PAMPs/DAMPs pe TLR de pe membrana celulelor imune se declanșează:

- activarea imediată a mecanismelor imunității înăscute;
- activarea imunității adaptative;
- schimbul informațional cu rol reglator dintre cele două forme de imunitate;
- răspunsul imun adaptativ, care începe după 4-7 zile de la decelarea patogenilor, timp în care se produce rearanjarea TCR și BCR și expansiunea clonelor activate.

BIBLIOGRAFIE

- Abbott, D. W., A. Wilkins, J. M. Asara, and L. C. Cantley. 2004. The Crohn's disease protein, NOD2, requires RIP2 in order to induce ubiquitylation of a novel site on NEMO. *Curr. Biol.* 14:2217-2227
- Akira, S., and K. Takeda. 2004. Toll-like receptor signalling. *Nat. Rev. Immunol.* 4:499-511
- Akira, S., S. Uematsu, and O. Takeuchi. 2006. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 124:783-801.
- Almeida, I. C., and R. T. Gazzinelli. 2001. Proinflammatory activity of glycosylphosphatidylinositol anchors derived from *Trypanosoma cruzi*: structural and functional analyses. *J. Leukoc. Biol.* 70:467-477.
- Andersen-Nissen, E., T. R. Hawn, K. D. Smith, A. Nachman, A. E. Lampano, S. Uematsu, S. Akira, and A. Aderem. 2007. Cutting edge: Tlr^{5-/-} mice are more susceptible to *Escherichia coli* urinary tract infection. *J. Immunol.* 178:4717-4720.
- Andersen-Nissen, E., K. D. Smith, K. L. Strobe, S. L. Barrett, B. T. Cookson, S. M. Logan, and A. Aderem. 2005. Evasion of Toll-like receptor 5 by flagellated bacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102:9247-9252
- Balachandran, S., E. Thomas, and G. N. Barber. 2004. A FADD-dependent innate immune mechanism in mammalian cells. *Nature* 432:401-405.
- Banerjee, A., R. Gugasyan, M. McMahon, and S. Gerondakis. 2006. Diverse Toll-like receptors utilize Tpl2 to activate extracellular signal-regulated kinase (ERK) in hemopoietic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103:3274-3279.
- Barreau, C., L. Paillard, and H. B. Osborne. 2005. AU-rich elements and associated factors: are there unifying principles? *Nucleic Acids Res.* 33:7138-7150.
- Bhattacharyya, S., D. E. Brown, J. A. Brewer, S. K. Vogt, and L. J. Muglia. 2007. Macrophage glucocorticoid receptors regulate Toll-like receptor 4-mediated inflammatory responses by selective inhibition of p38 MAP kinase. *Blood* 109:4313-4319.
- Burns, K., F. Martinon, C. Esslinger, H. Pahl, P. Schneider, J. L. Bodmer, F. Di Marco, L. French, and J. Tschopp. 1998. MYD88, an adapter protein involved in interleukin-1 signaling. *J. Biol. Chem.* 273:12203-12209
- Butcher, B. A., L. Kim, P. F. Johnson, and E. Y. Denkers. 2001. *Toxoplasma gondii* tachyzoites inhibit proinflammatory cytokine induction in infected macrophages by preventing nuclear translocation of the transcription factor NF-kappa B. *J. Immunol.* 167:2193-2201.
- Cameron, P., A. McGachy, M. Anderson, A. Paul, G. H. Coombs, J. C. Mottram, J. Alexander, and R. Plevin. 2004. Inhibition of lipopolysaccharide-induced macrophage IL-12 production by *Leishmania mexicana* amastigotes: the role of cysteine peptidases and the NF-kappaB signaling pathway. *J. Immunol.* 173:3297-3304
- Dalpke, A. H., S. Oppner, S. Zimmermann, and K. Heeg. 2001. Suppressors of cytokine signaling (SOCS)-1 and SOCS-3 are induced by CpG-DNA and modulate cytokine responses in APCs. *J. Immunol.* 166:7082-7089.
- Deb, A., S. J. Haque, T. Mogensen, R. H. Silverman, and B. R. Williams. 2001. RNA-dependent protein kinase PKR is required for activation of NF-kappa B by IFN-gamma in a STAT1-independent pathway. *J. Immunol.* 166:6170-6180.
- Echchannaoui, H., K. Frei, C. Schnell, S. L. Leib, W. Zimmerli, and R. Landmann. 2002. Toll-like receptor 2-deficient mice are highly susceptible to *Streptococcus pneumoniae* meningitis because of reduced bacterial clearing and enhanced inflammation. *J. Infect. Dis.* 186:798-806.
- Edelmann, K. H., S. Richardson-Burns, L. Alexopoulou, K. L. Tyler, R. A. Flavell, and M. B. Oldstone. 2004. Does Toll-like receptor 3 play a biological role in virus infections? *Virology* 322:231-238
- Feldmann, J., A. M. Prieur, P. Quartier, P. Berquin, S. Certain, E. Cortis, D. Teillac-Hamel, A. Fischer, and B. G. de Saint. 2002. Chronic infantile neurological cutaneous and articular syndrome is caused by mutations in CIAS1, a gene highly expressed in polymorphonuclear cells and chondrocytes. *Am. J. Hum. Genet.* 71:198-203.
- Fenger-Gron, M., C. Fillman, B. Norrild, and J. Lykke-Andersen. 2005. Multiple processing body factors and the ARE binding protein TTP activate mRNA decapping. *Mol. Cell* 20:905-915
- Fisette, P. L., S. Ram, J. M. Andersen, W. Guo, and R. R. Ingalls. 2003. The Lip lipoprotein from *Neisseria gonorrhoeae* stimulates cytokine release and NF-kappaB activation in epithelial cells in a Toll-like receptor 2-dependent manner. *J. Biol. Chem.* 278:46252-46260
- Girardin, S. E., I. G. Boneca, L. A. Carneiro, A. Antignac, M. Jehanno, J. Viala, K. Tedin, M. K. Taha, A. Labigne, U. Zahringer, A. J. Coyle, P. S. DiStefano, J. Bertin, P. J. Sansonetti, and D. J. Philpott. 2003. Nod1 detects a unique muropeptide from gram-negative bacterial peptidoglycan. *Science* 300:1584-1587.
- Hacker, H., and M. Karin. 2006. Regulation and function of IKK and IKK-related kinases. *Sci. STKE* 2006:re13.
- Hitotsumatsu, O., R. C. Ahmad, R. Tavares, M. Wang, D. Philpott, E. E. Turer, B. L. Lee, N. Shiffin, R. Advincula, B. A. Malynn, C. Werts, and A. Ma. 2008. The ubiquitin-editing enzyme A20 restricts nucleotide-binding oligomerization domain containing 2-triggered signals. *Immunity* 28:381-390
- Imai, Y., K. Kuba, G. G. Neely, R. Yaghubian-Malhami, T. Perkmann, G. van Loo, M. Ermolaeva, R. Veldhuizen, Y. H. Leung, H. Wang, H. Liu, Y. Sun, M. Pasparakis, M. Kopf, C. Mech, S. Bavari, J. S. Peiris, A. S. Slutsky, S. Akira, M. Hultqvist, R. Holmdahl, J. Nicholls, C. Jiang, C. J. Binder, and J. M. Penninger. 2008. Identification of oxidative stress and Toll-like receptor 4 signaling as a key pathway of acute lung injury. *Cell* 133:235-249
- Inoue, Y., N. Shimojo, Y. Suzuki, E. J. Campos Alberto, A. Yamaide, S. Suzuki, T. Arima, T. Matsuura, M. Tomiita, M. Aoyagi, A. Hoshioka, A. Honda, A. Hata, and Y. Kohno. 2007. CD14-550 C/T, which is related to the serum level of soluble CD14, is associated with the development of respiratory syncytial virus bronchiolitis in the Japanese population. *J. Infect. Dis.* 195:1618-1624

- Ishii, K. J., C. Coban, H. Kato, K. Takahashi, Y. Torii, F. Takeshita, H. Ludwig, G. Sutter, K. Suzuki, H. Hemmi, S. Sato, M. Yamamoto, S. Uematsu, T. Kawai, O. Takeuchi, and S. Akira. 2006. A Toll-like receptor-independent antiviral response induced by double-stranded B-form DNA. *Nat. Immunol.* 7:40-48.
- Ishikawa, H., and G. N. Barber. 2008. STING is an endoplasmic reticulum adaptor that facilitates innate immune signalling. *Nature* 455:674-678
- Jerala, R. 2007. Structural biology of the LPS recognition. *Int. J. Med. Microbiol.* 297:353-363
- Jouault, T., S. Ibata-Ombetta, O. Takeuchi, P. A. Trinel, P. Sacchetti, P. Lefebvre, S. Akira, and D. Poulain. 2003. Candida albicans phospholipomannan is sensed through Toll-like receptors. *J. Infect. Dis.* 188:165-172.
- Kagan, J. C., T. Su, T. Horng, A. Chow, S. Akira, and R. Medzhitov. 2008. TRAM couples endocytosis of Toll-like receptor 4 to the induction of interferon-beta. *Nat. Immunol.* 9:361-368
- Kawagoe, T., S. Sato, K. Matsushita, H. Kato, K. Matsui, Y. Kumagai, T. Saitoh, T. Kawai, O. Takeuchi, and S. Akira. 2008. Sequential control of Toll-like receptor-dependent responses by IRAK1 and IRAK2. *Nat. Immunol.* 9:684-691
- Kawamoto, T., M. Ii, T. Kitazaki, Y. Iizawa, and H. Kimura. 2008. TAK-242 selectively suppresses Toll-like receptor 4-signaling mediated by the intracellular domain. *Eur. J. Pharmacol.* 584:40-48
- Keating, S. E., G. M. Maloney, E. M. Moran, and A. G. Bowie. 2007. IRAK-2 participates in multiple Toll-like receptor signaling pathways to NF-kappaB via activation of TRAF6 ubiquitination. *J. Biol. Chem.* 282:33435-33443
- Kelly, J. A., J. M. Kelley, K. M. Kaufman, J. Kilpatrick, G. R. Bruner, J. T. Merrill, J. A. James, S. G. Frank, E. Reams, E. E. Brown, A. W. Gibson, M. C. Marion, C. D. Langefeld, Q. Z. Li, D. R. Karp, E. K. Wakeland, M. Petri, R. Ramsey-Goldman, J. D. Reveille, L. M. Vila, G. S. Alarcon, R. P. Kimberly, J. B. Harley, and J. C. Edberg. 2008. Interferon regulatory factor-5 is genetically associated with systemic lupus erythematosus in African Americans. *Genes Immun.* 9:187-194.
- Kumar, S., J. Boehm, and J. C. Lee. 2003. p38 MAP kinases: key signalling molecules as therapeutic targets for inflammatory diseases. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2:717-726
- Latz, E., J. Franko, D. T. Golenbock, and J. R. Schreiber. 2004. Haemophilus influenzae type b-outer membrane protein complex glycoconjugate vaccine induces cytokine production by engaging human toll-like receptor 2 (TLR2) and requires the presence of TLR2 for optimal immunogenicity. *J. Immunol.* 172:2431-2438
- Le Bon, A., N. Etchart, C. Rossmann, M. Ashton, S. Hou, D. Gewert, P. Borrow, and D. F. Tough. 2003. Cross-priming of CD8+ T cells stimulated by virus-induced type I interferon. *Nat. Immunol.* 4:1009-1015.
- Lin, R., R. S. Noyce, S. E. Collins, R. D. Everett, and K. L. Mossman. 2004. The herpes simplex virus ICPO RING finger domain inhibits IRF3- and IRF7-mediated activation of interferon-stimulated genes. *J. Virol.* 78:1675-1684.
- Lorenz, E., J. P. Mira, K. L. Cornish, N. C. Arbour, and D. A. Schwartz. 2000. A novel polymorphism in the Toll-like receptor 2 gene and its potential association with staphylococcal infection. *Infect. Immun.* 68:6398-6401.
- Malley, R., P. Henneke, S. C. Morse, M. J. Cieslewicz, M. Lipsitch, C. M. Thompson, E. Kurt-Jones, J. C. Paton, M. R. Wessels, and D. T. Golenbock. 2003. Recognition of pneumolysin by Toll-like receptor 4 confers resistance to pneumococcal infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100:1966-1971
- Malmgaard, L., J. Melchjorsen, A. G. Bowie, S. C. Mogensen, and S. R. Paludan. 2004. Viral activation of macrophages through TLR-dependent and -independent pathways. *J. Immunol.* 173:6890-6898.
- Medzhitov, R., and C. Janeway, Jr. 2000. Innate immunity. *N. Engl. J. Med.* 343:338-344
- Mercurio, F., H. Zhu, B. W. Murray, A. Shevchenko, B. L. Bennett, J. Li, D. B. Young, M. Barbosa, M. Mann, A. Manning, and A. Rao. 1997. IKK-1 and IKK-2: cytokine-activated IkappaB kinases essential for NF-kappaB activation. *Science* 278:860-866.
- Meylan, E., K. Burns, K. Hofmann, V. Blancheteau, F. Martinon, M. Kelliher, and J. Tschopp. 2004. RIP1 is an essential mediator of Toll-like receptor 3-induced NF-kappa B activation. *Nat. Immunol.* 5:503-507.
- Miao, E. A., R. K. Ernst, M. Dors, D. P. Mao, and A. Aderem. 2008. Pseudomonas aeruginosa activates caspase 1 through Ipaf. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105:2562-2567.
- Mibayashi, M., L. Martinez-Sobrido, Y. M. Loo, W. B. Cardenas, M. Gale, Jr., and A. Garcia-Sastre. 2007. Inhibition of retinoic acid-inducible gene I-mediated induction of beta interferon by the NS1 protein of influenza A virus. *J. Virol.* 81:514-524.
- Nallagatla, S. R., J. Hwang, R. Toroney, X. Zheng, C. E. Cameron, and P. C. Bevilacqua. 2007. 5'-triphosphate-dependent activation of PKR by RNAs with short stem-loops. *Science* 318:1455-1458
- Netea, M. G., C. A. Van der Graaf, A. G. Vonk, I. Verschueren, J. W. van der Meer, and B. J. Kullberg. 2002. The role of Toll-like receptor (TLR) 2 and TLR4 in the host defense against disseminated candidiasis. *J. Infect. Dis.* 185:1483-1489.
- Ogura, Y., D. K. Bonen, N. Inohara, D. L. Nicolae, F. F. Chen, R. Ramos, H. Britton, T. Moran, R. Karaliuskas, R. H. Duerr, J. P. Achkar, S. R. Brant, T. M. Bayless, B. S. Kirschner, S. B. Hanauer, G. Nunez, and J. H. Cho. 2001. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 411:603-606.
- Ogus, A. C., B. Yoldas, T. Ozdemir, A. Uguz, S. Olcen, I. Keser, M. Coskun, A. Cilli, and O. Yegin. 2004. The Arg753Gln polymorphism of the human Toll-like receptor 2 gene in tuberculosis disease. *Eur. Respir. J.* 23:219-223.
- O'Neill, L. A., and A. G. Bowie. 2007. The family of five: TIR-domain-containing adaptors in Toll-like receptor signalling. *Nat. Rev. Immunol.* 7:353-364
- Oshiumi, H., M. Matsumoto, K. Funami, T. Akazawa, and T. Seya. 2003. TICAM-1, an adaptor molecule that participates in Toll-like receptor 3-mediated interferon-beta induction. *Nat. Immunol.* 4:161-167.
- Paun, A., J. T. Reinert, Z. Jiang, C. Medin, M. Yaseen, K. A. Fitzgerald, and P. M. Pitha. 2008. Functional characterization of murine interferon regulatory factor (IRF-5) and its role in the innate antiviral response. *J. Biol. Chem.* 283:14295-14308.
- Perry, A. K., E. K. Chow, J. B. Goodnough, W. C. Yeh, and G. Cheng. 2004. Differential requirement for TANK-binding kinase-1 in type I interferon responses to Toll-like receptor activation and viral infection. *J. Exp. Med.* 199:1651-1658
- Pflugheber, J., B. Fredericksen, R. Sumpter, Jr., C. Wang, F. Ware, D. L. Sodora, and M. Gale, Jr. 2002. Regulation of PKR and IRF-1 during hepatitis C virus RNA replication. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:4650-4655
- Picard, C., A. Puel, M. Bonnet, C. L. Ku, J. Bustamante, K. Yang, C. Soudais, S. Dupuis, J. Feinberg, C. Fieschi, C. Elbim, R. Hitchcock, D. Lammas, G. Davies, A. Al Ghonaium, H. Al Rayes, S. Al Jumaah, S. Al Hajjar, I. Z. Al Mohsen, H. H. Frayha, R. Rucker, T. R. Hawn, A. Aderem, H. Tufenkeji, S. Haraguchi, N. K. Day, R. A. Good, M. A. Gougerot-Pocidalo, A. Ozinsky, and J. L. Casanova. 2003. Pyogenic bacterial infections in humans with IRAK-4 deficiency. *Science* 299:2076-2079
- Rothwarf, D. M., E. Zandi, G. Natoli, and M. Karin. 1998. IKK-gamma is an essential regulatory subunit of the IkappaB kinase complex. *Nature* 395:297-300.
- Sadler, A. J., and B. R. Williams. 2007. Structure and function of the protein kinase R. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 316:253-292
- Saha, S. K., E. M. Pietras, J. Q. He, J. R. Kang, S. Y. Liu, G. Oganessian, A. Shahangian, B. Zarnegar, T. L. Shiba, Y. Wang, and G. Cheng. 2006. Regulation of antiviral responses by a direct and specific interaction between TRAF3 and Cardif. *EMBO J.* 25:3257-3263.

- Saito, T., R. Hirai, Y. M. Loo, D. Owen, C. L. Johnson, S. C. Sinha, S. Akira, T. Fujita, and M. Gale, Jr. 2007. Regulation of innate antiviral defenses through a shared repressor domain in RIG-I and LGP2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104:582-587.
- Salio, M., A. O. Speak, D. Shepherd, P. Polzella, P. A. Illarionov, N. Veerapen, G. S. Besra, F. M. Platt, and V. Cerundolo. 2007. Modulation of human natural killer T cell ligands on TLR-mediated antigen-presenting cell activation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104:20490-20495
- Schaaf, M. J., and J. A. Cidlowski. 2002. Molecular mechanisms of glucocorticoid action and resistance. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 83:37-48.
- Soulat, D., A. Bauch, S. Stockinger, G. Superti-Furga, and T. Decker. 2006. Cytoplasmic *Listeria monocytogenes* stimulates IFN- β synthesis without requiring the adapter protein MAVS. *FEBS Lett.* 580:2341-2346
- Sweet, C. R., J. Conlon, D. T. Golenbock, J. Goguen, and N. Silverman. 2007. YopJ targets TRAF proteins to inhibit TLR-mediated NF- κ B, MAPK and IRF3 signal transduction. *Cell. Microbiol.* 9:2700-2715
- Tabeta, K., K. Hoebe, E. M. Janssen, X. Du, P. Georgel, K. Crozat, S. Mudd, N. Mann, S. Sovath, J. Goode, L. Shamel, A. A. Herskovits, D. A. Portnoy, M. Cooke, L. M. Tarantino, T. Wiltshire, B. E. Steinberg, S. Grinstein, and B. Beutler. 2006. The Unc93b1 mutation 3d disrupts exogenous antigen presentation and signaling via Toll-like receptors 3, 7 and 9. *Nat. Immunol.* 7:156-164
- Tao, K., M. Fujii, S. Tsukumo, Y. Maekawa, K. Kishihara, Y. Kimoto, T. Horiuchi, H. Hisaeda, S. Akira, S. Kagami, and K. Yasutomo. 2007. Genetic variations of Toll-like receptor 9 predispose to systemic lupus erythematosus in Japanese population. *Ann. Rheum. Dis.* 66:905-909.
- Taylor, K. R., J. M. Trowbridge, J. A. Rudisill, C. C. Termeer, J. C. Simon, and R. L. Gallo. 2004. Hyaluronan fragments stimulate endothelial recognition of injury through TLR4. *J. Biol. Chem.* 279:17079-17084.
- Venkataraman, T., M. Valdes, R. Elsby, S. Kakuta, G. Caceres, S. Saijo, Y. Iwakura, and G. N. Barber. 2007. Loss of DExD/H box RNA helicase LGP2 manifests disparate antiviral responses. *J. Immunol.* 178:6444-6455
- Wald, D., J. Qin, Z. Zhao, Y. Qian, M. Naramura, L. Tian, J. Towne, J. E. Sims, G. R. Stark, and X. Li. 2003. SIGIRR, a negative regulator of Toll-like receptor-interleukin 1 receptor signaling. *Nat. Immunol.* 4:920-927.
- Wang, C., L. Deng, M. Hong, G. R. Akkaraju, J. Inoue, and Z. J. Chen. 2001. TAK1 is a ubiquitin-dependent kinase of MKK and IKK. *Nature* 412:346-351
- Wang, Z., M. K. Choi, T. Ban, H. Yanai, H. Negishi, Y. Lu, T. Tamura, A. Takaoka, K. Nishikura, and T. Taniguchi. 2008. Regulation of innate immune responses by DAI (DLM-1/ZBP1) and other DNA-sensing molecules. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105:5477-5482
- Yamamoto, M., S. Sato, H. Hemmi, K. Hoshino, T. Kaisho, H. Sanjo, O. Takeuchi, M. Sugiyama, M. Okabe, K. Takeda, and S. Akira. 2003. Role of adaptor TRIF in the MYD88-independent toll-like receptor signaling pathway. *Science* 301:640-643
- Yamamoto, M., S. Sato, H. Hemmi, H. Sanjo, S. Uematsu, T. Kaisho, K. Hoshino, O. Takeuchi, M. Kobayashi, T. Fujita, K. Takeda, and S. Akira. 2002. Essential role for TIRAP in activation of the signalling cascade shared by TLR2 and TLR4. *Nature* 420:324-329.

2. CASCADA COMPLEMENTULUI

Dr. Mihaela Gheorghiu

Introducere

Cascada complementului (CC) este un mecanism înnăscut de apărare nespecifică a organismului împotriva structurilor non-self. Ea funcționează permanent, la un nivel redus (*calea alternă*) sau cu amplificări temporale, induse de prezența în organism a Ag corpusculare sau solubile (*calea clasică*), opsonizate cu Ig.

2.1 Genetică

Pe cromozomul uman 6 se află genele MHC (Clasa III) care codifică sinteza proteinelor CC, care sunt enzime. Secreția factorilor CC începe în luna a doua de dezvoltare intrauterină, dar la naștere, nou născutul are numai 50% din concentrația adultului. Ulterior, sub influența IL1 și IFN γ , crește secreția factorilor CC în ficat.

Fragmente ale acestor proteine pot fi liganzi pentru diverși receptori celulari. Genele pentru sinteza acestor receptori se află pe cromozomul I. Toți factorii complementului (cu excepția factorului B) pot fi cauza genetică a unor boli manifeste clinic.

2.2 Sinteza factorilor CC. Caracteristici generale funcționale.

Sinteza are loc în:

1. Hepatocite (cu excepția: factorilor D și P, receptorilor pentru complement (CR1-CR4);
2. Monocite/macrofage, fibroblaști;
3. Celule epiteliale și endoteliale ;
4. Adipocite (sintetizează factorii B și C3);
5. Celule gliale din SNC.

Factorii din CC sunt proteine cu funcție enzimatică:

a) Toate enzimele implicate în CC sunt prezente în mediile lichide ale organismului sub formă inactivă (**zimogeni**). Activarea primului factor al cascadei înseamnă trecerea zimogenului în faza de enzimă activă, care va transforma zimogenul următor din cascadă, în enzimă activă, proces care va continua până la activarea ultimei proteine a cascadei (factorul C9) ;

b) **Activarea zimogenilor** se face prin “proteoliză limitată”, în urma căreia se formează două fragmente proteice:

- Fragmentul “a”, de dimensiuni mici, care rămâne în mediul lichid și are acțiune proinflamatorie ;
- Fragmentul “b”, mai mare, care acționează ca enzimă (sau cofactor enzimatic) asupra zimogenului următor al cascadei. Receptorii membranari (CR1 – CR4) pot recunoaște aceste fragmente. Aceeași enzimă poate acționa pe zimogeni diferiți, prin modificarea specificității de substrat.

c) Membranele celulare purtătoare de determinanți antigenici (D-Ag) fixează nespecific componentele “b” și formează complexe macromoleculare care cresc succesiv, prin adăugare de noi molecule “b”, pe măsură ce cascada complementului progresează.

2.3 Funcțiile cascadei complementului

Cascada complementului este formată din 25-30 enzime care acționează ca mecanism auxiliar al RIU, având o funcție *continuuă*, de slabă intensitate și una *ocazională*, intensă, care se încheie odată cu înlăturarea antigenului. Recunoașterea structurilor antigenice se face specific, prin anticorpi și nespecific, prin componenta C3b.

A. Înlăturarea Ag corpusculate se produce în etape:

- a)** D-Ag sunt recunoscuți de IgM (IgG) preexistente, după conformația lor, la poarta de intrare

b) Imunoglobulinele, prin capătul Fab, reacționează cu structurile Ag de suprafață (Ag corpusculate membranare).

c) Ca urmare, se produce o modificare conformațională a Ig, transmisă spre capătul Fc, care pune în evidență **“situsul activator de complement”** al imunoglobulinei situat pe CH2 al IgG sau CH3 al IgM.

d) Acestea reacționează cu prima componentă din sistem, C1q, care se activează și declanșează cascada enzimatică a complementului.

e) La finele acestor reacții succesive, se formează complexe de atac al membranelor (MAC), care perforează membranele purtătoare de D-Ag recunoscuți de Ac, în cursul RIU.

B. Înlăturarea Ag solubilese produce, de asemenea, în etape:

a) Funcția continuă a CC (calea alternă) eliberează în permanență în circulație componenta C3b.

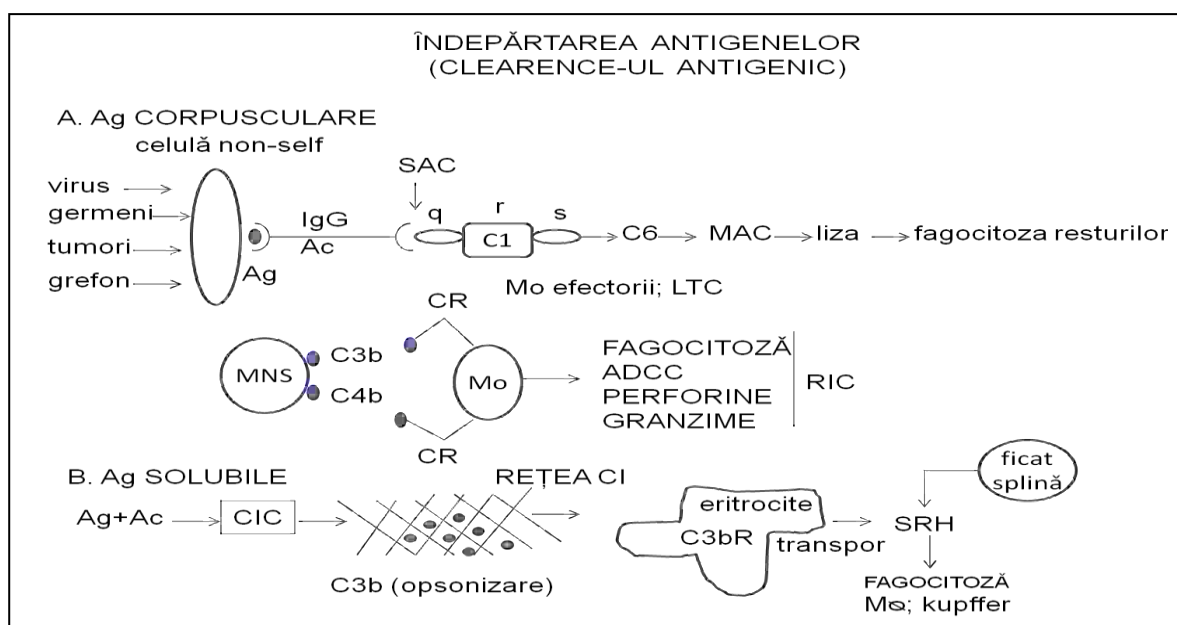
b) Ag solubile și Ac secretați la sfârșitul RIU, circulă în plasmă, unde se recunosc și reacționează specific, formează complexe imune (CI) cu talie mare, care se assemblează în rețele lax.

c) Pe aceste rețele se fixează componenta C3b. Asemenea complexe (CI-C3b) se formează și tisular, la locul de pătrundere a Ag.

d) Complexele formate reacționează specific cu receptorii pentru complement aflați pe suprafața eritrocitelor sau macrofagelor. Acestea din urmă distrug, prin fagocitoză, Ag prezente local. Complexele fixate pe eritrocite vor fi transportate spre splină sau ganglioni limfatici, unde vor fi distruse de macrofagele de la acest nivel.

Recunoașterea imunologică nespecifică a structurilor non-self.

Toate membranele non-self se comportă ca structuri Ag. Componenta C3b se fixează pe determinanții Ag membranari non-self, în mod nespecific. Membranele opsonizate cu C3b devin ținte pentru celulele sistemului imun, care recunosc aceste structuri prin receptorii CR.



2.4 Receptorii pentru complement

a.CR1 sunt prezenți pe macrofage, monocite, neutrofile, eritrocite, eozinofile și LB. Fixează complexe imune opsonizate cu C3b. Receptorii eritrocitari au rol esențial în eliminarea CI circulante. Complexele imune sunt transportate la ficat și splină, unde sunt captate prin receptorii CR și FcγR ai macrofagelor locale.

b.CR2 sunt prezenți pe membrana LB, LT, celulelor epiteliale și NK. Fixează mai ales componenta C3b atașată pe membrane non-self. CR acționează și ca un coreceptor pentru BCR. Recunosc și fixează virusul Epstein Barr.

c. **CR3/CR4** sunt prezenți pe membranele APC (monocitelor, macrofagelor și celulelor dendritice) și pe granulocite. Fixează iC3b (inactive C3b).

Receptorul pentru anafilatoxinele C3a, C4a, C5a:

d. **C3aR** – prezent pe macrofage, LB, mastocite, eritrocite și mușchi netezi;

e. **C4aR** – prezenți pe mastocite și bazofile;

f. **C5aR** – prezenți pe mastocite, LB și neutrofile.

Există 3 căi de activare a cascadei complementului : *Clasică, Alternă, Lectinică*.

2.5 Calea clasică de activare a complementului

Este o secvență în care sunt activați în cascadă nouă factori, notați de la C1 la C9, doar după recunoașterea complexelor imune.

Descrierea factorilor

Factorul C1

Este format din trei proteine diferite, fiecare având o structură complexă, notate: **C1q, C1r, C1s**.

Componenta C1q este o gamaglobulină complexă formată prin cuplarea succesivă a mai multor lanțuri proteice:

a) Unitatea de bază este un ansamblu din 3 lanțuri primare (A,B,C);

b) Două asemenea unități se cuplează pentru a forma un complex secundar cu 6 lanțuri (2A+2B+2C).

c) Trei complexe secundare se unesc într-o nouă moleculă formată din 18 lanțuri (6A+6B+6C). Aceste ultime 3 complexe secundare se dispun în spațiu după profilul literei Y. Capătul lor NH₂ este linear, iar cel carboxilic globular. Prin cele 2 capete (COOH, NH₂), C1q leagă componentele C1s și C1r. Capătul globular contactează legături cu domeniile activatoare de complement din structura Ig din complexe imune. După legare, fragmentele C1q suferă modificări conformaționale și evidențiază o secvență de aminoacizi echivalentă cu un receptor pentru fracțiunea C1r. C1q poate lega prin „cross-link” diverse Ig.

d) Proteina **C1r** este inactivă în stare de repaus. După legarea la situsul receptor al fracțiunii C1q, C1r devine serin-protează, capabilă să fixeze și să activeze fracțiunea C1s.

e) Proteina **C1s** devine și ea o serin-protează prin fixarea la fracțiunea C1r. Are acțiune proteolitică limitată scindând, în etape succesive, factorii C4 și C2 din cascada complementului, pe care îi activează. Ea poate amplifica reacția prin activarea succesivă a mai multor factori C4.

Factorul C2

- Este un lanț peptidic unic, care funcționează doar în calea clasică. Pentru activare are nevoie de factorul C4, care să fi fost fixat în prealabil pe membrana celulelor purtătoare de C1mb (complexul $\overline{C1qrs}$).

- După fixarea pe C4 (considerat, din acest motiv, cofactor al factorului C2), factorul C2 suferă acțiunea proteolitică a factorului C1s activat, echivalentă cu o activare inițială

- După activare, rezultă cele două componente ale zimogenului C2:

a. Fracțiunea scurtă C2a;

b. Fracțiunea lungă C2b, cu acțiune enzimatică. Fracțiunea C2b fixează C4b, rezultând complexul activ $\overline{C2bC4b}$, sau C3 convertaza cail clasice (C3-aza). Apoi, C3-aza atașează C3b, rezultând C5-aza ($\overline{C2bC4bC3b}$).

Factorul C3

- Este format din două lanțuri α și β legate prin punți disulfidice. Se comportă, în ansamblu, ca un zimogen.

- Lanțul α , spre capătul COOH, prezintă un buzunar hidrofob larg, format de o legătură tiolesterică între cisteina și glutamina din pozițiile 988 și respectiv 900.

- Lanțul β are o secvență aminoacidică care poate fixa zimogenul C5, motiv pentru care este considerat drept cofactor al zimogenului C5.

- Activarea factorului C3 se poate face enzimatic și non-enzimatic.

1. Activarea enzimatică.

- C3-convertaza scindează lanțul α mai aproape de capătul NH_2 ; după scindare rezultă două fragmente:
- fragmentul mic **C3a**(extremitatea NH_2), care rămâne în faza fluidă și are acțiune proinflamatorie (anafilatoxină).

- Fragmentul mare **C3b** – format din porțiunea restantă a lanțului α și întreg lanțul β . Odată format, fragmentul C3b suferă modificări conformaționale și exteriorizează buzunarul hidrofob, care se deschide și expune gruparea tiolesterică; aceasta stabilește legături cu grupările NH_2 și OH de pe membranele care au receptori pentru complement (CR). Fixarea pe CR are caracter nespecific, iar formarea complexelor membranare este echivalentul unei opsonizări.

2. Activarea non-enzimatică

- Activarea non-enzimatică a zimogenului C3 este lentă și se datorează pătrunderii moleculelor de apă în buzunarul hidrofob, cu ruperea grupării tiolesterice. Ruperea legăturii duce la modificări conformaționale ale lanțului α , cu exteriorizarea secvenței de aminoacizi capabilă să fixeze **factorul B**, proteină implicată în declanșarea căii alterne.

Factorul C4

- Funcționează doar în calea clasică. Este o proteină formată din trei lanțuri peptidice α , β și γ ;
- Lanțul α are spre capătul COOH un buzunar hidrofob cu o deschidere foarte mică, în care este conținută o legatura tiolesterică;
- Lanțul β are numai rol structural;
- Lanțul γ are o secvență de aminoacizi care funcționează ca receptor pentru fixarea fracțiunii C2. Prin aceasta, factorul C4 devine un cofactor al C2.

Toate cele trei lanțuri sunt interconectate prin punți disulfidice. Serin-esteraza C1q clivează lanțul α , detașând un fragment mic **-C4a-** din capătul NH_2 al lanțului, cu acțiune proinflamatorie. Fragmentul rămâne în fază fluidă. Fragmentul mare, **C4b**, format din restul fragmentului α , lanțurile β și γ în întregime, se va atașa membranelor acceptoare de complement. Clivarea factorului C4, modifică structura moleculei cu relaxarea buzunarului hidrofob, iar gruparea tiolesterică exteriorizată poate contacta legături cu grupările NH_2 și OH din structura membranelor „țintă”, contribuind la creșterea complexelor membranare și opsonizarea acestora.

Factorul C5

- Este o proteină complexă, formată din două lanțuri polipeptidice. Proteina se atașează la lanțul β al factorului C3b. C5-convertaza scindează factorul C5 atașat la lanțul β al C3, obținându-se anafilatoxina C5a și componenta mai voluminoasă C5b.

Factorul C6

- Este o proteină formată dintr-un singur lanț polipeptidic și este parte componentă a MAC.

Factorul C7

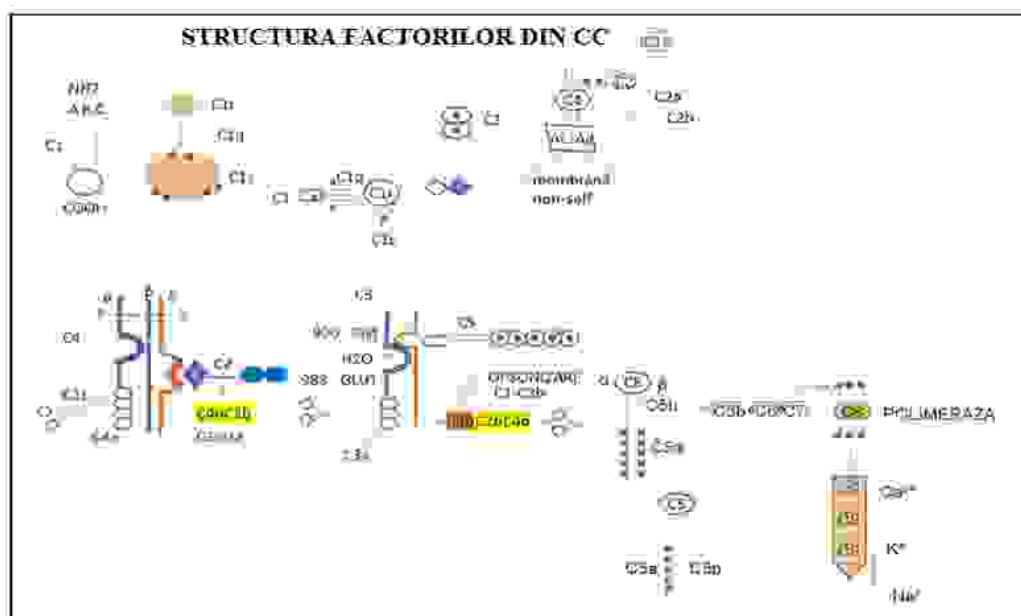
- Este o proteină lipofilă, care fixează MAC la membranele celulare „țintă”.

Factorul C8

- Este o proteină complexă, formată din trei lanțuri polipeptidice diferite, care au rol de polimerază pentru factorul C9.

Factorul C9

- Este o proteină formată dintr-un singur lanț, de forma unui disc, care plutește în faza fluidă. În prezența Ca^{+2} și a polimerazei C8, discurile se asamblează și formează microtubuli care se inseră în membrana celulelor „țintă”. Modificările secundare acestei inserții duc la intrarea Na^+ în celulele non-self, urmată de H_2O , ceea ce echivalează cu liza osmotică.



Etapele căii clasice a complementului

1. Membranele unor celule pot expune pe suprafața lor Ag care pot fi constituționale sau atașate;
2. Imunoglobulinele IgM sau IgG prezintă, spre capătul Fab, **situsuri combinate pentru antigeni**, care recunosc Ag expuse pe membrane și se fixează pe acestea. Fixarea produce modificări structurale în lanțurile H ale imunoglobulinelor care se transmit spre capătul lor Fc.
3. Aceste modificări exteriorizează un fragment de aproximativ 60 aminoacizi din structura Ig (domeniile CH₂ din IgG, respectiv CH₂ și CH₃ din IgM), capabil de activarea factorilor din cascada complementului. IgM activează intens CC, dar IgG mai puțin, în următoarea ordine IgG3, IgG1, IgG2.
4. O singură moleculă de IgM, având o structură pentamerică, are multe situsuri activatoare de complement; ca urmare, o singură moleculă IgM poate declanșa CC, activând componenta C1 a cascadei. Pentru același efect sunt necesare însă două molecule de IgG. Componenta C1q se fixează pe cei 60 de aminoacizi din domeniile amintite ale IgG și IgM.
5. Componenta C1q se fixează deci pe imunoglobulinele deja alipite de antigenele membranare (complexe imune, CI).
6. Odată fixat pe complexul Ag-Ac membranar, factorul C1q suferă modificări structurale, atașând și activând pe rând fracțiunile C1r și C1s (serine cu activitate enzimatică), cu formarea complexului enzimatic activ C1qrs.
7. Frațiunea C1s clivează, prin proteoliză limitată, lanțul α al factorului C4. Frațiunea mică C4a rămâne în mediul fluid, având acțiuni proflogistice (proinflamatorii). Frațiunea C4b, mai mare, se depune pe CI și în jurul acestora, pe membranele non-self.
8. În contact cu membrana celulară, fracțiunea C4b suferă modificări conformaționale care evidențiază o secvență de aminoacizi capabilă să recunoască și să fixeze factorul C2, care se adaugă CI inițial.
9. Odată fixat pe C4b, factorul C2 se modifică conformațional și extremitatea NH₂ devine receptivă la acțiunea serinei C1s, care poate cliva abia acum factorul C2.
10. După clivaj, rezultă o porțiune mai mică (C2a), care rămâne în fază fluidă și o fracțiune mai mare (C2b), care se atașează fracțiunii C4b. Ambele fracțiuni se fixează pe membrana celulară. Complexul C4bC2b are activitate enzimatică -**C3 convertaza**- în care C4b este cofactor, iar C2b este enzima propriu-zisă.
11. C3 convertaza acționează asupra factorului C3, pe care îl clivează în factorul C3a, care rămâne în faza lichidă, având efecte proinflamatorii (de anafilatoxină), ca și factorul C4a. Factorul C3b se comportă diferit:
 - Cea mai mare parte se va fixa pe membranele celulelor țintă prin legături între grupările glucidice (OH) și protidice (NH₂) din constituția membranelor și grupările tiolice ale C3b. Aceasta echivalează cu opsonizarea membranelor (recunoaștere imunologică nespecifică);

- O parte mai mică se adaugă C3-convertazei deja fixată pe membranele celulare țintă. Formarea acestui complex modifică și conformația spațială a fracțiunii C2b, se formează astfel **C5-convertaza** (C4bC2bC3b), schimbând substratul asupra căruia va acționa complexul enzimatic.

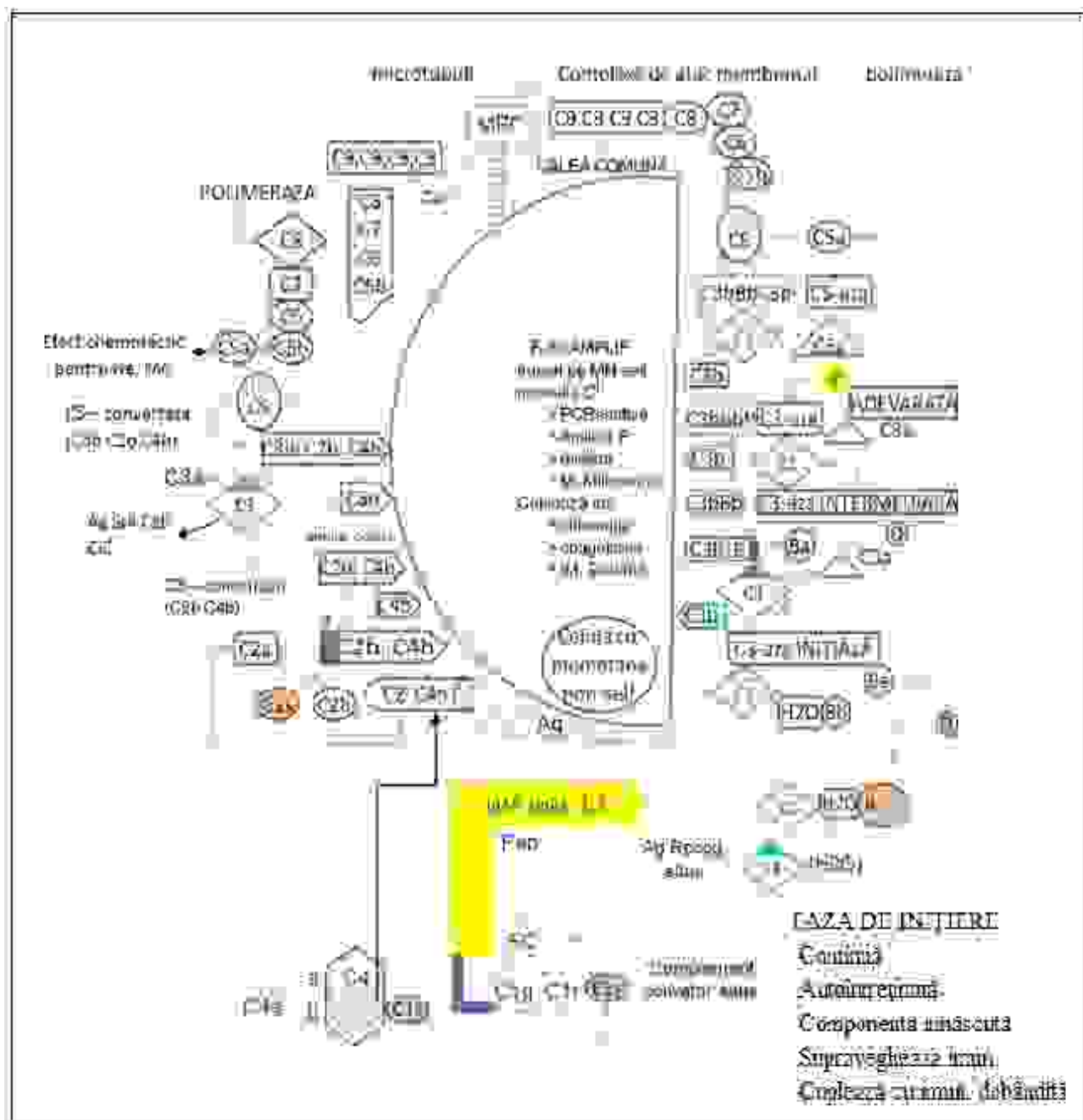
-O altă parte se fixează pe antigenele circulante, stimulând răspunsul imun umoral specific, prin activarea suplimentară a APC.

12. C5- convertaza fixată pe membrane, recrutează factorul C5. Factorul C5 fixat pe C5-convertază va fi scindat de C2b în cele două fragmente: C5a și C5b, ambii factori trecând în fază fluidă.

14. C5b contactează legături cu factorii C6 și C7, cu care formează un complex proteic liber în fază fluidă. C5a are proprietăți de anafilatoxină, dar este și un puternic chemoattractant pentru neutrofile.

Calea clasică

Calea alternă



15. Odată cu formarea complexului, factorul C7 își modifică conformația și fixează factorul C8 care se atașează și devine polimerază.

16. Polimeraza C8 acționează asupra factorului C9 (în prezența Ca^{+2}) care polimerizând, formează structuri tubuliforme care penetrează membranele celulelor țintă. Prin acești pori, în celula non-self pătrund Na^+ și H_2O , producând liza ei osmotică.

17. Pe membrana non self se constituie astfel complexul de atac membranar (**MAC**) C5bC6C7C8C9 care induce liză osmotică.

18. În procesul de activare în cascadă, se amplifică în fiecare etapă numărul factorilor implicați: o moleculă IgM activează o moleculă C1s; aceasta scindează 100 molecule C4, iar 20 molecule C4b pot activa 100 molecule C2; complexul $\overline{C4bC2b}$ poate activa mii de factori C3, etc.

Notă: IgG 4, IgE, IgA nu activează CC pe calea clasică.

2.6 Calea alternă a complementului (CA)

1. Calea alternă constituie componenta centrală a imunității înnăscute. Constă în activarea în cascadă a unor proteine plasmatice, aflate în formă inactivă. Unele dintre acestea aparțin doar căii alterne, iar altele sunt comune cu calea clasică de activare a complementului. În plasmă se află factorii B, P și D specifici căii alterne și factorii căii clasice C1-C9.

2. CA funcționează permanent, cu intensitate redusă și se amplifică episodic, dacă există membrane celulare activatoare de complement (membrane non-self opsonizate).

3. Factorul C3 este esențial în declanșarea cascadei, datorită particularității buzunarului hidrofoab din lanțul α . În acest situs, pătrund lent molecule de apă care desfac gruparea tiolesterică, după care aceasta este capabilă să fixeze factorul B, declanșând cascada căii alterne.

4. Faza inițială se continuă și este autoîntreținută. Ea are rol de supraveghere imunologică nespecifică, furnizând componenta C3b pentru opsonizarea eventualelor membrane non-self sau complexelor imune circulante.

5. C3b în exces este inactivat de proteaze serice, prin proteoliză totală. Există un echilibru strict controlat între producția și degradarea C3b.

6. Calea alternă a fost împărțită, didactic, în două etape: de autoactivare și de amplificare.

I. Autoactivarea

Se desfășoară numai în faza fluidă, dacă sunt prezente: proteina C reactivă, mielina, amiloidul P și are un caracter continuu, în care:

- Zimogenul C3 se hidrolizează lent și formează complexul C3(H₂O);
- Complexul format are afinitate crescută pentru “factorul B”, cu care formează complexul C3(H₂O)B. **Factorul B** este un lanț polipeptidic scurt, cu activitate proteazică, care intră în structura tuturor convertazelor acestei căi. Factorul B din complexul C3(H₂O)B este scindat de “**factorul D**” în două fragmente, în prezența Mg⁺²:

- Ba cu lungime mică, anafilatoxină care rămâne în fază fluidă,
- Bb, mai mare, care rămâne legat în complexul C3(H₂O)Bb. Acest complex are o funcție enzimatică și a fost numit “**C3 –convertaza inițială**”. C3 convertaza inițială se formează în permanență în fază fluidă, dar are o activitate enzimatică slabă asupra factorului C3, pe care îl scindează permanent în cele două fragmente C3a și C3b. Dacă nu există membrane non-self, C3b poate fi inactivat de factorii H și I.

Factorul D este un lanț polipeptidic scurt, aflat în mediile lichide sub formă activă. Ca enzimă, are o activitate strict limitată la substratul reprezentat de complexul C3(H₂O)B și/sau C3b-B. Această specificitate absolută de substrat face ca factorul D să nu atace litic alte structuri proteice, deși este o protează foarte activă.

Cantități mici de C3b permit recunoașterea membranelor non self și opsonizarea Ag corpusculare, ca prim pas pentru declanșarea răspunsului imun specific.

Componentele C3b se fixează numai pe membranele non-self, pentru că toate celulele normale ale unui organism posedă receptori care împiedică fixarea fragmentului pe membranele proprii. Odată fixat pe membrana non-self, complexul format amplifică toată cascada căii alterne, declanșând etapa II, de amplificare.

II. Amplificarea

Se declanșează numai în prezența membranelor non-self și furnizează o cantitate mare de C3b, care asigură o protecție nespecifică împotriva oricărui tip de DAMPs sau PAMPs. Opsonizarea membranelor crește fagocitoza, iar APC activate declanșează procesul inflamator. Această etapă asigură protecția nespecifică pe durata în care imunitatea dobândită nu a început răspunsul imun umoral sau celular.

Funcționează sinergic cu calea clasică de activare a complementului, suprapunându-se în timp și funcțional. Complexul “membrană non self + C3b” fixează factorul B, formând un agregat molecular pe membrana non self- C3b-B (MNS+C3b+B).

Declanșarea fazei de amplificare poate fi indusă de:

- endotoxinele germenilor Gr(-), LPZ;
- acidul teicoic din membranele germenilor Gr(-);
- zymozan-ul sau ficolinele din structura fungilor;
- molecule de suprafață din structura paraziților.

Similar cu evenimentele căii clasice, în fiecare etapă se produce o recrutare a unui număr tot mai mare de molecule din cascadă. Factorul D scindează rapid componenta B a complexului C3bB, din care rezultă un fragment mic Ba, care rămâne în fază fluidă (ca și fragmentul C3a, ambele având acțiuni proflogistice) și un fragment mare MNS-C3b-Bb.

Complexul $\overline{\text{C3b-Bb}}$ este o enzimă activă și a fost numit “**Convertaza intermediară**” a căii alterne. Formarea ei este episodică, numai pe membranele non-self și este instabilă. Ulterior, complexul fixează un alt factor al căii alterne – **properdina**. Acest nou complex este o enzimă stabilă și puternică numită “**Convertaza adevărată**” a căii alterne. Complexul $\overline{\text{C3b-Bb-P}}$ intensifică procesul de clivare a factorului C3 în cele două componente, C3a și C3b.

Factorul P. Properdina este un polipeptid format din patru lanțuri legate prin punți disulfidice, cu efect major de stabilizare a C3 convertazei adevărate din CA. Reacțiile au un caracter repetitiv, auto-întreținute, cu două efecte diferite:

a. Se generează tot mai multe fragmente C3b care se vor fixa pe membranele non self. Pe aceleași membrane se găsesc și complexe C3bBb cu care fragmentele C3b reacționează, generând un nou complex $\overline{\text{C3b-Bb-C3b}}$, cu activitate enzimatică, numit **C5-convertaza căii alterne**.

b. Local se epuizează rezervele de properdină și diminuează formarea complexelor C3b-Bb-P. C5 convertaza căii alterne scindează enzimatic factorul C5 cu formarea fragmentelor C5a (proinflamator, care rămâne în fază fluidă) și C5b care inițiază formarea MAC, după o secvență identică cu cea din calea clasică a complementului (C5b rămâne în fază fluidă, activând factorii C6, C7, C8, C9 cu formarea MAC). Evenimentele următoare sunt identice cu cele descrise la calea clasică și constituie secvența comună a ambelor căi (C5b, C6, C7, C8, C9- MAC).

Rolurile căii alterne:

- Intervine în activarea nespecifică a LB și LT care au receptori pentru CR;
- Mediază reacția Ag-Ac;
- În final, celulele non-self vor fi distruse prin complexe MAC, deși recunoașterea membranelor non-self a fost făcută prin complexul C3b, adică non specific imunologic.

Concluzii:

1. Calea alternă se activează direct prin fixarea C3b pe membranele non-self (**tick over**) care sunt electropozitive. Neutralitatea membranelor celulelor self și prezența factorilor de protecție anti CC împiedică fixarea C3b pe membranele proprii.

2. Factorul de protecție membranară solubil H nu se poate fixa pe celulele non-self, așa încât acestea nu pot beneficia de efectul lui protector, ca inhibitor al CC. Spontan, se formează în permanență convertaza inițială care menține faza de inducție.

3.Orice alterare a membranelor self duce la formarea masivă de C3 convertază, care declanșează etape de amplificare a cascadei căii alterne, cu formare masivă de C3b. Acesta se va fixa pe membranele non-self și va stimula și cascada clasică.

2.7Calea lectinică (CCL)

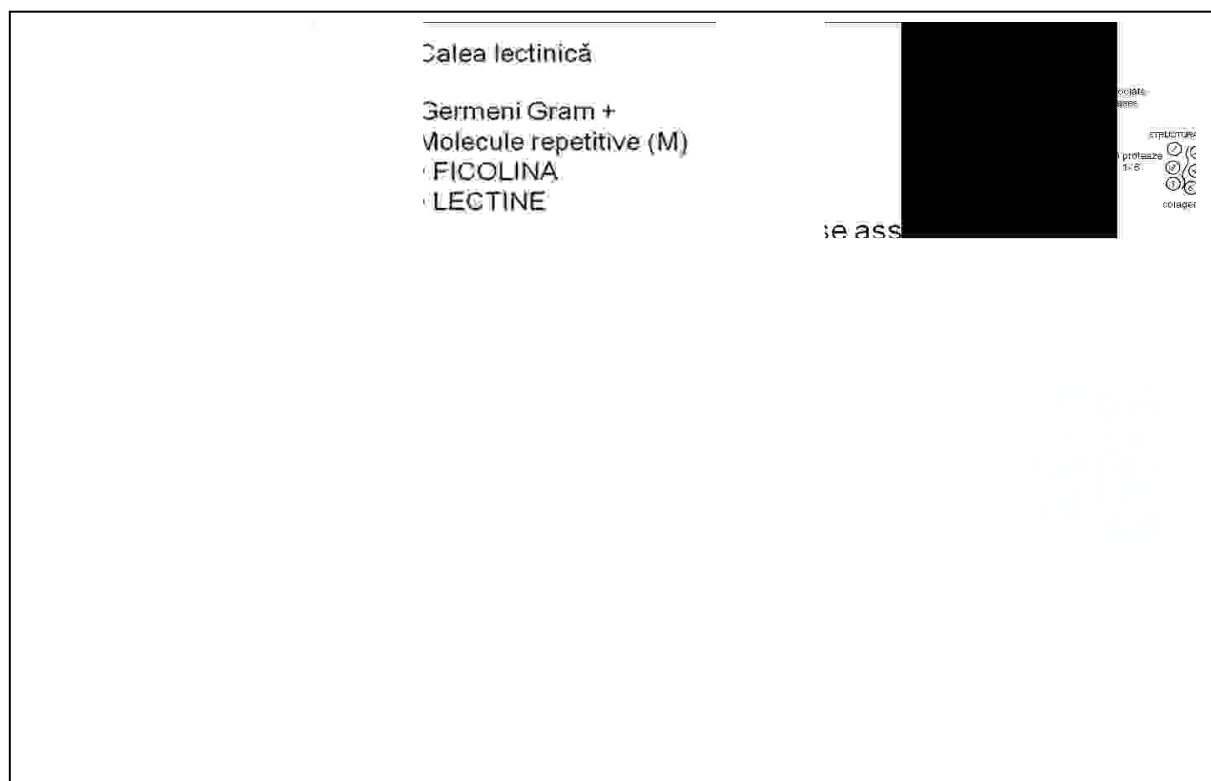
Este o cale de “siguranță” care asigură declanșarea CC în cazul în care germenii invadânți au în structura membranelor lor (non-self) molecule specifice (ficoline) sau slab activatoare pe calea alternă sau clasică (lectine).Este calea secundară de declanșare a cascadei complementului, care nu necesită prezența C3b sau a complexelor imune, ca și calea alternă.

Microbii, virusurile sau fungii care au în structura membranei lor glucide repetitive (manoză, ficolină) pot declanșa calea lectinică a complementului.

În fluidele organismului se află *manose-binding lectins (MBL)*, (proteine din familia proteinelor de fază acută) formate dintr-o tijă centrală colagenică în jurul căreia sunt dispuse șase seroproteine care pot recunoaște și fixa carbohidrații repetitivi. Functional, MBL este similar C1q din calea clasică.

Ligarea MBL de reziduurile glucidice ale patogenilor activează MBL-serin proteazele MASP-1 și MASP-2 (*manose - associated serine proteases*).

Cele două serinproteaze se comportă ca factori C1r și C1s, scindând componentele C2 și C4 în fragmentele C2a și C4a și C2b și C4b, prin care inițiază cascada complementului identic cu calea clasică.



2.8 Efectele fragmentelor rezultate din CC

1. C3a, C4a, C5a și Ba

- Au efecte proinflamatorii (anafilatoxine), prin fixarea pe receptori specifici celulari (C3aR, C5aR), aflați pe membranele celulelor implicate în inflamație (mastocite, eozinofile, bazofile, neutrofile, macrofage).

- Ligarea receptorilor duce la activarea celulară, cu eliminarea mediatorilor chimici preformați, declanșarea procesului inflamator și menținerea lui prin eliberarea mediatorilor chimici neoformați (vasodilatație, creșterea secreției de enzime proteolitice și radicali liberi, etc).

- Stimularea măduvei hematogene cu creșterea citodiabazei (leucocitoză) și eliberarea neutrofilelor (neutrofile periferică), NK și macrofagelor (prin C5a).

- Efecte chemotactice și chemokinetice pentru toate APC, stimulând diapedeza și fagocitoza.
- Stimulează mastocitele și inițiază secreția lor de leucotriene.
- Induc contracția mușchilor netezi.
- Induc agregarea plachetară, cu apariția trombozelor în focarul inflamator.

2. C3b, C4b

- Se fixează pe membranele non-self care devin astfel țintă pentru fagocite. Ligarea lor pe receptori CR1,2,3,4 duce la activarea celulei, contribuind la cuplarea cascadei complementului cu inflamația și declanșarea răspunsului imun umoral specific (receptorul CR3 al LB este co-receptor al BCR).
- Se fixează pe microbi, virusuri, paraziți sau alte celule non-self, producând agregarea lor în grămezi care devin ținte pentru fagocite.
- Contribuie la eliminarea complexelor imune prin fagocitoză și prin transportul lor pe eritrocite spre sistemul reticulo-endotelial.
- Prin agregarea trombocitelor, produc tromboze locale, cu rol de delimitare a focarelor inflamatorii
- Stimulează LB și LT având și un efect imunomodulator (prin C3a).
- Stabilizează complexe Ag-Ac prin formarea de complexe imune voluminoase, prin superpoziția fragmentelor C3b.

2.9 Reglarea cascadei complementului

Reacțiile din cascadă sunt supuse unui control riguros prin factori plasmatici care pot controla echilibrul dintre factori (cascada propriu-zisă) și fixarea componentelor active pe membranele non-self.

C1 Inh.

Este o alfa globulină serică care are acțiune litică asupra factorului C1, pe care îl descompune în cele trei componente. Esteraza C1s nu mai poate declanșa astfel prima treaptă a cascadei. Deficiențe ale acestei globuline generează edem angioneurotic.

Carboxipeptidaza serică

Este o enzimă care inactivează fragmentele C2a, C3a, C4a, C5a prin eliminarea unui rest de arginină din capătul COOH al fragmentului.

Factorul I

Este o serin protează care utilizează trei factori plasmatici diferiți: C4b *binding protein* (C4bBP), factorul H, *decay accelerating factor* (DAF). Enzima scindează C3b liber și lectinele. Efectul major este asupra C3b legat de eritrocite. Din scindarea C3b, pot lua naștere alți produși intermediari activi:

- C3bc sau (iC3b);
 - C3d care se leagă pe CR2 ai LB;
 - C3e produce citodiabaza neutrofilelor;
- Complexul FI-C4bBP poate scinda proteolitic fragmentul C4b fixat.

Factorul H

Acționează sinergic cu Factorul I pentru scindarea lanțului alfa al C3b, dând naștere componentei inactive iC3b. Scindează și componentele C4b aflate în faza fluidă. Împiedică fixarea C3b la factorul B, controlând formarea convertazei intermediare.

Decay accelerating factor (DAF) (factor de accelerare a disocierii)

Scindează fragmentele C3b și C4b fixate pe membrane. Împiedică formarea C3 convertazelor ambelor căi (prin blocarea formării complexelor C2bC4b și C3bBb). Deficitul acestei enzime produce hemoglobinurie paroxistică nocturnă.

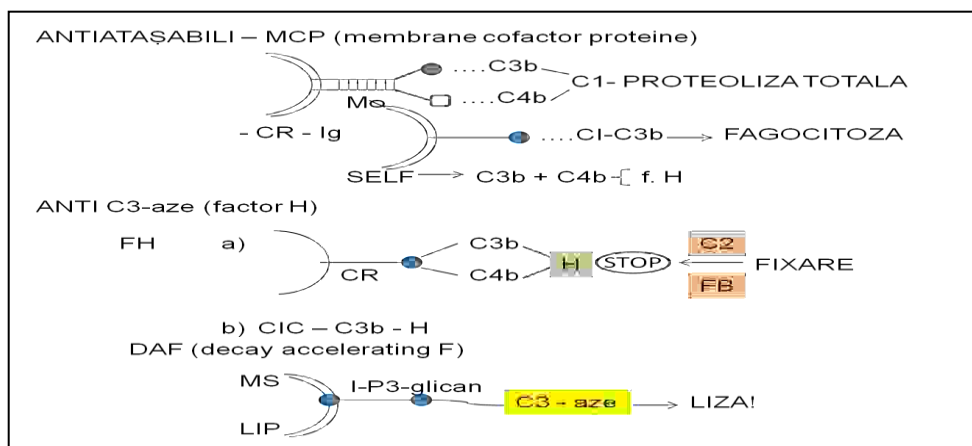
Proteina S (vitronectina)

Este o proteină cu afinitate pentru complexe C5bC6 C7. Prin ligarea lor, împiedică fixarea pe membrane (competiție pentru substrat).

HRF (*homolouous restriction factor*)

Este o proteină membranară care împiedică fixarea factorului C8 la complexul C5bC6C7 ceea ce duce la absența C8 polimerazei. (Nu mai polimerizează factorul 9 și nu mai apar MAC).

Protecția anticomplement a membranelor



Proteina S (vitronectina)

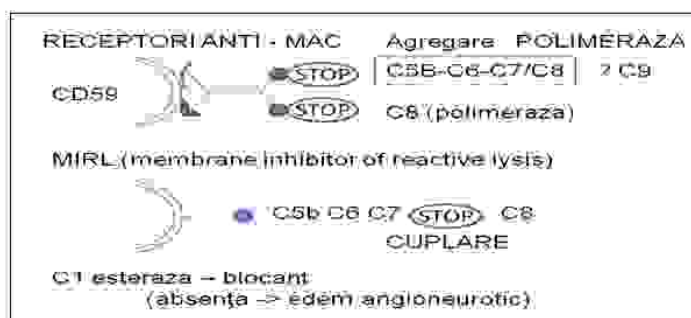
Este o proteină cu afinitate pentru complexe C5bC6C7. Prin ligarea lor, împiedică fixarea pe membrane (competiție pentru substrat).

HRF (homologous restriction factor)

Este o proteină membranară care împiedică fixarea factorului C8 la complexul C5bC6C7 ceea ce duce la absența C8 polimerazei. (Nu mai polimerizează factorul 9 și nu mai apar MAC).

MIRL

Este o proteină membranară (*Membrane inhibitor of reactive lysis*) care împiedică transformarea factorului C8 în polimerază activă.



Notă În glomerulonefrita acută s-a identificat în ser un fragment al C3b numit C3NeF care acționează ca anticorp împotriva C3 convertazei intermediare a căii alterne (C3bBb).

2.10 Efectele anafilatoxinelor:

C3a

- Recunoașterea pe receptori specifici de pe bazofile și mastocite;
- Eliberarea de histamină și serotonină cu efect vasodilatator;
- Determină contracția musculaturii netede și cresc permeabilitatea capilară ;
- Efect imunoreglator, cu supresia LT și LB (moderând activarea lor și sinteza Ac).

C4a

- Anafilatoxină slabă (efect proinflamator).

C5a

- Chemotactic pentru neutrofile, macrofage;
- Chemokinetic – creșterea mobilității fagocitelor;

- Activează neutrofilele, crescând sinteza SRO (specii reactive de oxigen);
- Crește aderența neutrofilelor la endoteliul vascular, favorizând diapedeza;
- Stimulează sinteza și eliberarea leucotrienelor din mastocitele locale;

Ba este chemotactic pentru neutrofile.

C3b are efecte multiple.

- Opsonizarea membranelor non-self;
- Se fixează pe receptori celulari diverși (limfocite, eritrocite);
- Stimulează fagocitoza;
- Induce răspunsul imun prin fixarea pe CR al LB (co-receptor BCR);
- Determină agregarea celulelor opsonizate;
- Determină agregarea trombocitelor, cu declanșarea hemostazei (determină tromboze în focarul inflamator).

Inflamația și hemostaza sunt strâns legate de imunitatea înăscută, cu care interferează prin molecule comune care se intercondiționează și se determină reciproc, existând un grad mare de suprapunere funcțională și temporală a lor.

BIBLIOGRAFIE

- Arnold DF, Roberts AG, Thomas A, Ferry B, Morgan BP, Chapel H. A novel mutation in a patient with a deficiency of the eighth component of complement associated with recurrent meningococcal meningitis. *J Clin Immunol*. Sep 2009;29(5):691-5.
- Bara C., Esential de Imunologie, 2002, Editura All, ISBN 973-571-373-x
- Beynon HL, Davies KA, Haskard DO, Walport MJ. Erythrocyte complement receptor type 1 and interactions between immune complexes, neutrophils, and endothelium. *J Immunol*. Oct 1 1994;153(7):3160-7
- Botto M, Kirschfink M, Macor P, Pickering MC, Wurzner R, Tedesco F. Complement in human diseases: Lessons from complement deficiencies. *Mol Immunol*. Sep 2009;46(14):2774-83.
- Brandtzaeg P, Mollnes TE, Kierulf P. Complement activation and endotoxin levels in systemic meningococcal disease. *J Infect Dis*. Jul 1989;160(1):58-65.
- Carroll MC. The role of complement in B cell activation and tolerance. *Adv Immunol*. 2000;74:61-88.
- Davies KA, Erlendsson K, Beynon HL, et al. Splenic uptake of immune complexes in man is complement-dependent. *J Immunol*. Oct 1 1993;151(7):3866-73
- Davies KA, Peters AM, Beynon HL, Walport MJ. Immune complex processing in patients with systemic lupus erythematosus. In vivo imaging and clearance studies. *J Clin Invest*. Nov 1992;90(5):2075-83.
- Dempsey PW, Allison ME, Akkaraju S, et al. C3d of complement as a molecular adjuvant: bridging innate and acquired immunity. *Science*. Jan 19 1996;271(5247):348-50.
- Densen P, Weiler JM, Griffiss JM, Hoffmann LG. Familial properdin deficiency and fatal meningococemia. Correction of the bactericidal defect by vaccination. *N Engl J Med*. Apr 9 1987;316(15):922-6.
- Doody GM, Dempsey PW, Fearon DT. Activation of B lymphocytes: integrating signals from CD19, CD22 and Fc gamma RIIB1. *Curr Opin Immunol*. Jun 1996;8(3):378-82.
- Fauci A, Braunwald E, Isselbacher KJ. Meningococcal Infections. In: Fauci A, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Harrison TR. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 14th ed. New York, NY: McGraw-Hill; 1998:910-5.
- Figuerola JE, Densen P. Infectious diseases associated with complement deficiencies. *Clin Microbiol Rev*. Jul 1991;4(3):359-95
- Frank MM. Complement deficiencies. *Pediatr Clin North Am*. Dec 2000;47(6):1339-54.
- Girardin E, Grau GE, Dayer JM, et al. Tumor necrosis factor and interleukin-1 in the serum of children with severe infectious purpura. *N Engl J Med*. Aug 18 1988;319(7):397-400.
- Goodnow CC. Pathways for self-tolerance and the treatment of autoimmune diseases. *Lancet*. Jun 30 2001;357(9274):2115-21
- Goodyear HM, Harper JJ. Leiner's disease associated with metabolic acidosis. *Clin Exp Dermatol*. Sep 1989;14(5):364-6
- Janzi M, Sjöberg R, Wan J, et al. Screening for C3 deficiency in newborns using microarrays. *PLoS One*. 2009;4(4):e5321.
- Kang HJ, Kim HS, Lee YK, Cho HC. High incidence of complement C9 deficiency in Koreans. *Ann Clin Lab Sci*. 2005;35(2):144-8.
- Kuby J. The Complement System. In: *Immunology*. 3rd ed. New York, NY: WH Freeman; 1997:335-55.
- Lehner PJ, Davies KA, Walport MJ, et al. Meningococcal septicaemia in a C6-deficient patient and effects of plasma transfusion on lipopolysaccharide release. *Lancet*. Dec 5 1992;340(8832):1379-81.
- Leitao MF, Vilela MM, Rutz R, et al. Complement factor I deficiency in a family with recurrent infections. *Immunopharmacology*. Dec 1997;38(1-2):207-13
- Lutz HU. How pre-existing, germline-derived antibodies and complement may help induce a primary immune response to nonself. *Scand J Immunol*. Mar 1999;49(3):224-8.
- Manzi S, Ahearn JM, Salmon J. New insights into complement: a mediator of injury and marker of disease activity in systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2004;13(5):298-303.
- Medof ME, Iida K, Mold C, Nussenzweig V. Unique role of the complement receptor CR1 in the degradation of C3b associated with immune complexes. *J Exp Med*. Dec 1 1982;156(6):1739-54

Peerschke EI, Yin W, Alpert DR, Roubey RA, Salmon JE, Ghebrehiwet B. Serum complement activation on heterologous platelets is associated with arterial thrombosis in patients with systemic lupus erythematosus and antiphospholipid antibodies. *Lupus*. May 2009;18(6):530-8

Pickering MC, Botto M, Taylor PR, et al. Systemic lupus erythematosus, complement deficiency, and apoptosis. *Adv Immunol*. 2000;76:227-324

Prodinger WM. Complement receptor type two (CR2,CR21): a target for influencing the humoral immune response and antigen-trapping. *Immunol Res*. 1999;20(3):187-94

Roitt I, Burton D., Delves P., Martin S. Essential Immunology, 2006, Eleventh Edition, ISBN13 978-104051-3603-7

Ross GD, Yount WJ, Walport MJ, et al. Disease-associated loss of erythrocyte complement receptors (CR1, C3b receptors) in patients with systemic lupus erythematosus and other diseases involving autoantibodies and/or complement activation. *J Immunol*. Sep 1985;135(3):2005-14

Rother K, Till GO, Hansch GM, eds. **The Complement System**. New York, NY: Springer-Verlag; 1997.

Schlesinger M, Nave Z, Levy Y, et al. Prevalence of hereditary properdin, C7 and C8 deficiencies in patients with meningococcal infections. *Clin Exp Immunol*. Sep 1990;81(3):423-7

Soderstrom C, Braconier JH, Danielsson D, Sjöholm AG. Bactericidal activity for *Neisseria meningitidis* in properdin-deficient sera. *J Infect Dis*. Jul 1987;156(1):107-12

Sonea MJ, Moroz BE, Reece ER. Leiner's disease associated with diminished third component of complement. *Pediatr Dermatol*. Aug 1987;4(2):105-7.

Sullivan KE, Winkelstein JA. Genetically Determined Deficiencies of the Complement System. In: Ochs HD, Edvard Smith CI, Puck J. **Primary Immunodeficiency Diseases: A Molecular and Genetic Approach**. New York, NY: Oxford University Press; 1999:397-416.

Sumiya M, Super M, Tabona P, et al. Molecular basis of opsonic defect in immunodeficient children. *Lancet*. Jun 29 1991;337(8757):1569-70

Summerfield JA, Sumiya M, Levin M, Turner MW. Association of mutations in mannose binding protein gene with childhood infection in consecutive hospital series. *BMJ*. Apr 26 1997;314(7089):1229-32.

Super M, Thiel S, Lu J, et al. Association of low levels of mannan-binding protein with a common defect of opsonisation. *Lancet*. Nov 25 1989;2(8674):1236-9.

Tolnay M, Tsokos GC. Complement receptor 2 in the regulation of the immune response. *Clin Immunol Immunopathol*. Aug 1998;88(2):123-32

Turner MW. Mannose-binding lectin: the pluripotent molecule of the innate immune system. *Immunol Today*. Nov 1996;17(11):532-40

Volanakis JE, Frank MM, eds. **The Human Complement System in Health and Disease**. New York, NY: Marcel Dekker; 1998.

Walport MJ, Davies KA, Botto M. C1q and systemic lupus erythematosus. *Immunobiology*. Aug 1998;199(2):265-85.

Walport MJ, Lachmann PJ. Erythrocyte complement receptor type 1, immune complexes, and the rheumatic diseases. *Arthritis Rheum*. Feb 1988;31(2):153-8.

Walport MJ. Complement. First of two parts. *N Engl J Med*. Apr 5 2001;344(14):1058-66

Walport MJ. Complement. Second of two parts. *N Engl J Med*. Apr 12 2001;344(15):1140-4

Wisnieski JJ, Baer AN, Christensen J, et al. Hypocomplementemic urticarial vasculitis syndrome. Clinical and serologic findings in 18 patients. *Medicine (Baltimore)*. Jan 1995;74(1):24-41

Zipfel PF, Heinen S, Jozsi M, Skerka C. Complement and diseases: defective alternative pathway control results in kidney and eye diseases. *Mol Immunol*. Jan 2006;43(1-2):97-106.

3.ORGANELE LIMFOIDE

Conf. Dr. Traian Trandafir

Introducere

Sub numele de organe limfoide sunt incluse toate formațiunile anatomice implicate în procesul de apărare imună împotriva structurilor non-self prezente în organism. Organele limfoide au fost împărțite în:

A. Organele limfoide primare:

- măduva hematogenă, în care sunt generate toate celulele seriei limfocitare. Ele se eliberează în circulația generală (citodiabaza) ca LT și LB, incomplet maturate imunologic.

- timusul - organ specializat în "educația" LT pentru recunoașterea structurilor non-self. Din timus, limfocitele trec din nou în torentul circulator, pe care îl părăsesc intrând în OLS.

B. Organele limfoide secundare pot fi:

- încapsulate - ganglioni limfatici și splină;
- difuze (noncapsulate), formate din țesutul limfoid asociat mucoasei tubului digestiv (MALT); țesutul limfoid difuz din lamina submucoasă a aparatelor digestiv, respirator, urogenital.

În aceste organe, este inițiat și întreținut răspunsul imun (umoral sau celular).

C. Sistemul circulator limfatic este format din capilare, vene și vase limfatice mari (canal toracic și marea venă limfatică)

Limfocitele circulă în permanență între organele limfoide primare (OLP), organele limfoide secundare (OLS) și țesuturi, în căutarea antigenelor pe care le recunosc, le prelucrează și le transportă, declanșând în final, un răspuns imun, umoral sau celular, care tinde să îndepărteze structurile non-self din organism.

Limfocitele care nu au întâlnit niciodată un antigen au fost numite "naive". Unele limfocite sunt intens recirculante (LT), iar altele migrează mai puțin (LB). În momentul părăsirii măduvei hematogene, limfocitele sunt celule care nu prezintă toți receptorii membranari pentru exercitarea funcțiilor, motiv pentru care sunt denumite imature. Ele trec în timus (LT) și splină (LB) unde se maturează structural și funcțional.

3.1 Organizarea zonelor T dependente:

Timusul este un organ unic, situat retrosternal, care apare ca o evaginație a pungii branhiale 3 (arcul faringian). Histologic, este format dintr-o capsulă fibroasă care delimitează prin septuri lobulii timici. Lobulii timici au o zonă corticală și una medulară. Timusul este bine vascularizat și conține numeroase terminații nervoase vegetative. În parenchimul timic se descriu mai multe tipuri de celule: celule epiteliale, macrofage santinelă, celule dendritice, limfocite.

Celulele epiteliale se diferențiază morfologic și funcțional în 3 subtipuri:

a) Celule epiteliale cu rol de maturare a LT (*nursing cells*):

Sunt localizate subcapsular unde formează complexe limfoepiteliale, în care celulele prezintă „buzunare” membranare, în care sunt adăpostite LT imature. Celulele epiteliale secretă IL17 și alte chemokine cu rol determinant în migrarea și maturarea LT. LT parțial maturate migrează din zona corticală spre zonele profunde.

b) Celule corticale epiteliale timice propriu-zise:

Sunt dispuse în rețea, în toată zona corticală. Ele asigură selecția pozitivă (vezi toleranța imunologică). În urma acestei selecții, LT se maturează și devin timocite. Acestea au un TCR complet dezvoltat și pot să recunoască complexe MHC-epitop.

c) Celule epiteliale medulare:

Formează grămezi celulare în medulara timică, unde se comportă ca adevărate celule prezentatoare de antigen, prezentând limfocitelor T epitopi self din toate organele corpului (mai puțin organele

imunoprivilegiate). Sunt esențiale în selecția pozitivă și negativă. Același rol îl au și celulele dendritice imature migrate în timus din măduva hematogenă.

Macrofagele santinelă sunt celule cu rol fagocitar care îndepărtează resturile celulelor moarte în procesul de selecție pozitivă și negativă ale LT.

Celulele dendritice migrează din măduva hematogenă și se fixează în timus, unde prezintă antigene self, contribuind esențial la transformarea limfocitelor imature în timocite imunocompetente.

Funcțiile timusului:

Prin celulele epiteliale, timusul asigură maturarea și diferențierea limfocitelor T imature, aceste celule exercitând patru roluri majore:

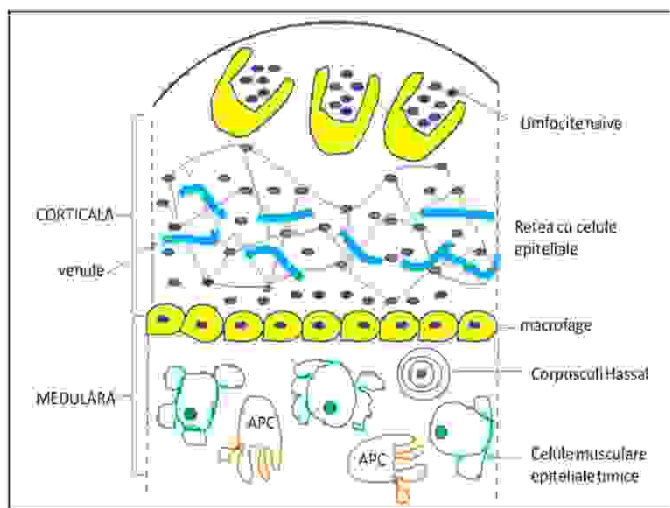
- Secreția de citokine, care asigură „homing”-ul limfocitar;
- Maturarea limfocitelor T, printr-un proces complex de selecție pozitivă și negativă;
- Secretă matricea extracelulară și contraliganzii necesari diapedezei LT imature;
- Secretă hormonii timici;

În activitatea timusului mai intervine și hormonul de creștere hipofizar care:

- stimulează secreția de fibronectină, laminină și adrezină;
- crește numărul celulelor timice;
- stimulează maturarea LT și trecerea lor în circulație.

3.2 Traficul și homingul limfocitelor T imature

LT imature (LTi) părăsesc măduva hematogenă, trec în circulație, de unde se localizează în timus, ghidate de chemokinele timice. Traversarea peretelui vascular timic se face prin venulele postcapilare de la jonctiunea cortico-medulară. Endoteliul timic este format din celule înalte (HEV=*high endothelium vascular*). Limfocitele imature stabilesc legături cu celulele endoteliale prin receptorii lor de adeziune, trec prin peretele vascular și se fixează pe proteinele matriceale.

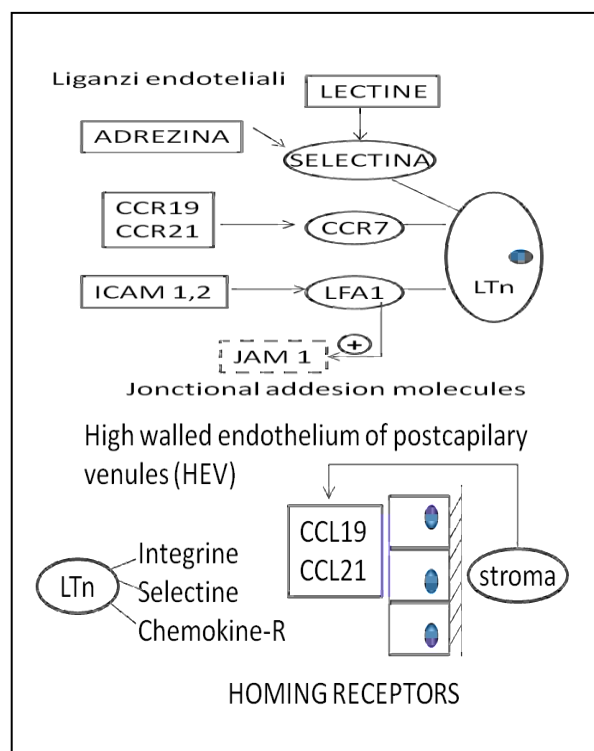


Moleculele de adeziune ale endoteliului:

- ICAM 1,2,3;
- Adrezina vasculară (sialomucina);
- Integrine;
- Receptorii CCR19, proteine migrate de pe celulele stromale pe HEV;
- Receptorii CCR21 secretați de celulele endoteliale; ultimii 2 receptori au rol de chemokine.

Moleculele de adeziune ale limfocitelor imature:

- Receptorul CCR7 se fixează pe moleculele CCR19 și CCR21;



- Receptorii LFA1 se fixează pe moleculele de adeziune ICAM1, ICAM2 ale endoteliului;
- Integrine, care sunt prezente pe membranele tuturor leucocitelor.

Migrarea limfocitelor din circulație în timus se produce în etape:

1. Marginația și rostogolirea limfocitelor pe endoteliul venular;
2. Cuplarea receptorilor LFA1 cu ICAM1,2;
3. În urma ligării, ambele celule se activează și generează un semnal de transducție care modifică moleculele de joncțiune endoteliale JAM1;
4. Integrinele limfocitare se fixează pe moleculele JAM1 și trec prin peretele vascular (diapedeză).

3.3 Organele limfoide secundare

A. Ganglionii limfatici

Sunt formațiuni rotund - ovalare situate pe traiectul vaselor limfatice, cu diametrul de 1-25 mm, având structură limforeticulară, cu rol de filtrare a limfei și de apărare imună specifică.

Structura:

- La exterior, ganglionii limfatici sunt acoperiți de capsula limfatică, perforată de vase aferente și eferente.
- În secțiune, oricărui ganglion i se disting 2 zone: corticala și medulara. Corticala este zona situată imediat sub capsulă, fiind formată din foliculi limfatici (condensări sferice de țesut limforeticular). Foliculii sunt înconjurați de spații perifoliculare, în care circulă limfa adusă de vasele aferente. Conțin LT și LB naive, constituite în foliculi primari. Medulara este zona centrală, formată din cordoane limfoide anastomozate, care formează o rețea prin care circulă limfa spre hilul ganglionului, din care pornesc vasele eferente.

B. Splina

Este un organ limfoid complex, situat în cavitatea abdominală, cu funcții multiple: filtrarea sanguină, distrugerea hematiilor îmbătrânite, limfopoieză și apărare imună specifică.

Structura:

- Seroasa peritoneală;
- Capsula splenică: țesut fibroconjunctiv elastic, din care pornesc numeroase septuri fibroase prin care alunecă vasele splenice pătrunse prin hil;
- Pulpa splenică, formată din două zone diferite, descrise clasic ca pulpa albă și pulpa roșie.
- Pulpa roșie este constituită din ultimele ramificații ale arterelor splenice (ramificații „în perie”), în care sunt stocate hematiile. Din capătul lor opus iau naștere venulele splenice.
- Pulpa albă este formată din condensări de țesut limfoid, care formează teci perivascularare și condensări ovalare la locul de ramificație al vaselor. Au rol de microlimfonoduli, în care se observă LB naive înconjurate de LT naive. Aceste structuri constituie foliculii primari.

3.4 Organizarea zonelor B dependente

Limfocitele B: origine, trafic, homing

Limfocitele B apar timpuriu în viața intrauterină, în mai multe organe embrionare. În săptămânile 8-9 de gestație, în ficatul embrionar, apar precursori ai LB (proLB) printre insulele de hepatocite. Aceste limfocite timpurii au expus pe membrană receptorul pentru IL7 (IL7-R), prin intermediul căruia realizează o cooperare cu celulele stromale secretoare de IL7, cooperare favorizată de un contact strâns între prelungirile dendritice stromale și moleculele de adeziune.

Ulterior, producția de LB a ficatului dispare și măduva hematogenă preia funcția hematopoietică. Maturarea ulterioară a LB necesită prezența unor factori multipli (stem cell factor, IL3, factori de transcripție, early B factor, IL7, etc). LB timpurii hepatice exprimă pe suprafață IgM și CD5. Se mută în cavitatea peritoneală și vor secreta anticorpi multispecifici, fiind celule principale ale apărării intestinale, ca LB1.

LB din măduva hematogenă au receptorul CxCR5, care fixează ligantul CxCL13 de pe celulele endoteliale din zonele B dependente. În acest mod, este favorizat homingul LB în OLS.

LB părăsesc circulația după ligarea receptorului lor membranar CxCR5 de ligantul CxCL13 de pe membranele celulelor endoteliale din zonele "B" dependente, unde formează grămezi. Inițial, LB se aglomerează în foliculi primari, structuri rotunde ovale diseminate în OLS, în cortexul extern. Receptorul BCR este de tip IgM sau IgD transmembranar. Stimularea limfocitelor B cu un antigen induce modificări structurale și funcționale în foliculul primar, la sfârșitul cărora foliculul devine secundar (FS).

Un folicul secundar este format din:

A. Zona centrală cu LB, limfocite care fixează mai puțin colorant și delimitează o zonă sferoidală – *centrul germinativ*. Centrul germinativ este format din:

- Celulele foliculare dendritice (CFD), dispuse în rețea; sunt celule mezenchimale cu ramificații dendritice care și-au pierdut capacitățile fagocitare. Aceste celule realizează, prin prelungiri, contacte intime cu LB. CFD secretă o varietate de TNF (BAFF), cu efect antiapoptotic asupra LB.

- LB-blaști în curs de mitoză, numeroși și cu volum mare;

- LT puține;

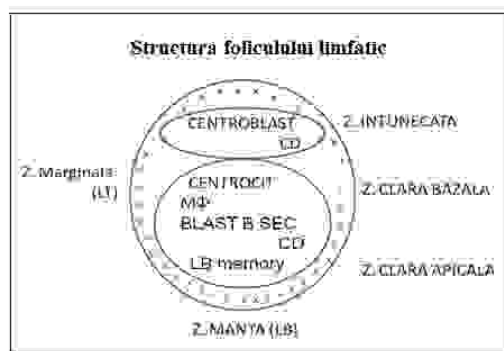
- Macrofage;

În centrul germinativ, LB se maturează funcțional și migrează succesiv în zona clară bazală, unde devin *centrocite*, înconjurate de macrofage și CFD. Nu exprimă nici IgM, nici IgD.

În zona clară apicală, unii limfoblaști se transformă în limfoblaști secundari, plasmocite sau LB cu memorie.

B. În jurul centrului germinativ, se situează *zona de manta*, formată din LB mici aflate în repaus, împinse la periferie de proliferarea intensă a LB în/din centrul germinativ.

C. Zona marginală, așezată la periferie, conține LT și apare numai în foliculii secundari (vezi RIU).



Sistemul imun tegumentar

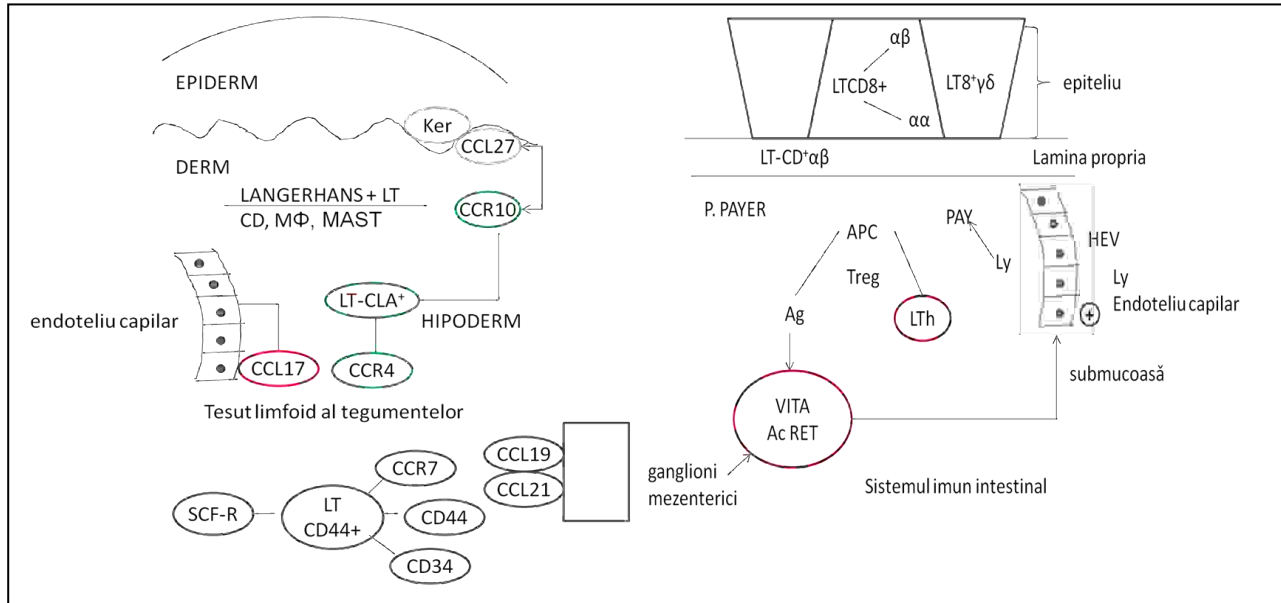
Poarta de intrare tegumentară, în condiții normale, este impenetrabilă pentru antigene. Bariera aceasta este supravegheată atât de straturile profunde ale epidermului, care conțin celulele Langerhans și LT, cât și de celulele din derm (celulele dendritice, LT, macrofage și mastocite). Toate aceste celule sunt intens recirculante.

Dacă apare un focar inflamator tegumentar, pe aceeași cale, apar prin diapedeză și alte leucocite implicate în procesul imun: eozinofile, neutrofile, monocite. Diapedeza limfocitară este favorizată de vasele din derm, care conțin ligantul CCL17 (al cărui receptor este CCR4 limfocitar). Keratinocitele exprimă un alt ligand, CCL27 (al cărui receptor este CCR10, de pe membranele LT-CTLA4⁺).

În derm se mai află și limfocite T cu funcție reglatorie.

Sistemul imun tegumentar

Sistemul imun al mucoaselor



Sistemul imun al mucoaselor

Stratul submucos din mucoasele digestivă, respiratorie și urogenitală conține celule și grămezi de celule limfoide necapsulate (foliculii limfoizi). În lamina propria a intestinului subțire, foliculii limfoizi sunt mai bine organizați și formează MALT (*mucosal associated lymphoid tissue*). Capătul proximal al tubului digestiv este supravegheat imunologic de amigdale: palatine (pereche), tubară (pereche), linguală și faringiană (neperechi). Intestinul subțire și apendicele sunt protejate prin plăcile Payer, aglomerări de țesut limfoid.

Antigenele care străbat epiteliul intestinal sunt captate de APC și prezentate LTh, pe care le activează. LTh activate migrează în ganglionii limfatici mezenterici, unde se activează suplimentar și încep să se dividă (selecție și multiplicare clonală).

Ganglionii mezenterici posedă echipamente enzimatice care convertesc vitamina D în acid retinoic, care mărește numărul de receptori vasculari HEV și favorizează trecerea limfocitelor din sânge în foliculii limfoizi.

LTh activate asistă LB1 în sinteza de IgA, IgE și de anticorpi cu spectru larg și specificitate joasă (cooperare LB1-LTh).

Limfocitele rezidente în intestin sunt prezente în lamina propria, care este populată cu LT activate ($\alpha\beta$ TCR CD4⁺), LBblaști și plasmocite. De asemenea, intraepitelial se află mai multe tipuri de limfocite: $\gamma\delta$ LT CD8⁺ și $\alpha\beta$ LT CD8⁺, cu două varietăți: CD8- $\alpha\beta$ heterodimer și CD8- $\alpha\alpha$ homodimer.

Există LT rezidente și în alte organe (ficatul conține 10^{10} limfocite, majoritatea LT cu memorie, dar și celule NK și NKT).

BILIOGRAFIE

1. Allman D, Dalod M, Asselin-Paturel C, Delale T, Robbins SH, et al. (2006) Ikaros is required for plasmacytoid dendritic cell differentiation. *Blood* 108: 4025–4034.
2. Dudziak D, Kamphorst AO, Heidkamp GF, Buchholz VR, Trumpfheller C, et al. (2007) Differential antigen processing by dendritic cell subsets in vivo. *Science* 315: 107–111.
3. Edelson BT, Kc W, Juang R, Kohyama M, Benoit LA, et al. (2010) Peripheral CD103⁺ dendritic cells form a unified subset developmentally related to CD8 α ⁺ conventional dendritic cells. *J Exp Med* 207: 823–836.
4. Geissmann F, Manz MG, Jung S, Sieweke MH, Merad M, et al. (2010) Development of monocytes, macrophages, and dendritic cells. *Science* 327: 656–661.
5. Hacker C, Kirsch RD, Ju XS, Hieronymus T, Gust TC, et al. (2003) Transcriptional profiling identifies Id2 function in dendritic cell development. *Nat Immunol* 4: 380–386.

6. Hildner K, Edelson BT, Purtha WE, Diamond M, Matsushita H, et al. (2008) Batf3 deficiency reveals a critical role for CD8 α ⁺ dendritic cells in cytotoxic T cell immunity. *Science* 322: 1097–1100.
7. Kagi, D. et al. Fas and perforin pathway as major mechanisms of T cell-mediated cytotoxicity. *Science* 265, 528–530 (1994).
8. Kurts C, Kosaka H, Carbone FR, Miller JF, Heath WR (1997) Class I-restricted cross-presentation of exogenous self-antigens leads to deletion of autoreactive CD8(+) T cells. *J Exp Med* 186: 239–245.
9. Kurts C, Robinson BW, Knolle PA (2010) Cross-priming in health and disease. *Nat Rev Immunol* 10: 403–414.
10. Lowin, B., Hahne, M., Mattmann, C. & Tschoopp, J. T-cell cytotoxicity is mediated through perforin and Fas lytic pathways. *Nature* 370, 650–652 (1994)
11. Luber CA, Cox J, Lauterbach H, Fancke B, Selbach M, et al. (2010) Quantitative proteomics reveals subset-specific viral recognition in dendritic cells. *Immunity* 32: 279–289.
12. McWhir, J., Selfridge, J., Harrison, D.J., Squires, S. & Melton, D.W. Mice with DNA repair gene (ERCC-1) deficiency have elevated levels of p53, liver nuclear abnormalities and die before weaning. *Alaflre Genet.* 5, 217–224 (1993).
13. Robbins SH, Walzer T, Dembele D, Thibault C, Defays A, et al. (2008) Novel insights into the relationships between dendritic cell subsets in human and mouse revealed by genome-wide expression profiling. *Genome Biol* 9: R17.
14. Rouvier, E., Luciani, M.-F. & Golstein, R. Fas involvement in Ca²⁺-independent T cell-mediated cytotoxicity. *J. exp. Med.* 177, 195–200 (1993).
15. Schiavoni G, Mattei F, Sestili P, Borghi P, Venditti M, et al. (2002) ICSBP is essential for the development of mouse type I interferon-producing cells and for the generation and activation of CD8 α ⁺ dendritic cells. *J Exp Med* 196: 1415–1425.
16. Shortman K, Liu YJ (2002) Mouse and human dendritic cell subtypes. *Nat Rev Immunol* 2: 151–161.
17. Singer, G.G. & Abbas, A.K., Fas antigen is involved in peripheral but not thymic deletion of T lymphocytes in T cell receptor transgenic mice. *Immunity* 1, 365–371 (1994).
18. Suzuki S, Honma K, Matsuyama T, Suzuki K, Toriyama K, et al. (2004) Critical roles of interferon regulatory factor 4 in CD11b^{high}CD8 α ⁺ dendritic cell development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101: 8981–8986.
19. Tamura T, Tailor P, Yamaoka K, Kong HJ, Tsujimura H, et al. (2005) IFN regulatory factor-4 and -8 govern dendritic cell subset development and their functional diversity. *J Immunol* 174: 2573–2581.
20. Turley SJ, Fletcher AL, Elpek KG (2010) The stromal and haematopoietic antigen-presenting cells that reside in secondary lymphoid organs. *Nat Rev Immunol* 10: 813–825.

4. ANTIGENUL

Dr. Mihaela Gheorghiu

Introducere

Orice substanță recunoscută ca non-self de un organism, după trecerea ei prin barierele anatomo-fiziologice, capabilă să inducă un RI, poate fi un antigen.

După **origine**, antigenele pot fi:

- Substanțe anorganice, de la elemente simple la complexe;
- Substanțe organice de origine vegetală, animală sau sintetică;
- Organisme vii, virusuri, microbi, paraziți sau toxine ale acestora;
- Celule proprii cu modificări structurale sau fragmente celulare provenite din sinteze greșite sau din moartea celulară (Ag endogene);
- Celule tumorale;
- Celule proprii invadate de virusuri, germenii sau paraziți cu dezvoltare intracelulară.

4.1 Condiții de antigenitate

Antigenul trebuie recunoscut ca structură non-self, fie de molecule speciale libere în fluidele organismului (*opsonine/receptori solubili*), fie de receptori celulari. Antigene, dovedite ca atare la o specie, pot fi ignorate la altă specie, care nu are receptori de recunoaștere pentru antigenele respective.

Există și molecule care sunt recunoscute ca structuri non-self, dar nu pot declanșa singure un RI. Asemenea molecule au fost numite **haptene** sau Ag incomplete. O haptena prezentă în organism poate fi:

- Opsonizată și apoi fagocitată, iar detritusurile vor fi eliminate ulterior.
- Legată de o moleculă mai mare proteică, lipoproteică sau lipopolizaharidică, după care haptena devine Ag complet și declanșează un RI.
- Se poate depozita în celule ale sistemului reticuloendotelial, ca un corp străin izolat (cerneala din tatuaje)

Orice moleculă non-self care nu poate fi recunoscută de receptori este ignorată imunologic.

Antigenul complet are două părți distincte:

1. Partea carrier, care este, de obicei, o moleculă proteică mare, dar cu putere mică de inițiere a unui RI. S-au descris totuși Ac anti-carrier la sfârșitul unui RI, dar concentrația lor a fost foarte mică.

2. Partea haptenică este legată covalent de carrier. Ea este recunoscută de receptori ca structură non-self și induce sinteza de Ac care au o mare specificitate de ligare a haptenelor inductoare.

Specificitatea astfel înțeleasă are o valență dublă: recunoașterea antigenică de către limfocite și reacția cu anticorpii specifici. Recunoașterea antigenică reprezintă abilitatea unor celule de a lăga un singur tip de antigen, față de care induc un răspuns imun.

Răspunsul imun indus este dirijat strict împotriva antigenului care l-a declanșat. Există o singură abatere de la acest principiu, în care un anticorp rezultat în urma RIU, poate să recunoască un grup restrâns de antigene, ale căror molecule sunt apropiate structural. Acest tip de reacție constituie un mijloc de apărare imediată împotriva unor familii de germenii care au determinanți antigenici comuni.

Haptenele și/sau Ag complete sunt recunoscute numai de o populație celulară care formează o clonă. O clonă cuprinde aproximativ 100 de celule limfocitare. Teoretic, există atâtea clone câte Ag pot exista.