IMUNOLOGIE CLINICĂ

Sub redacţia Şef de Lucrări Dr. Mihaela Gheorghiu

Conferenţiar Dr. Ileana Constantinescu
Biolog Constantinescu Gheorghe
Asis. univ. Dr.Ana Moise
Dr. Ramona Nedelcu
Dr. Biolog Daniela Păsărică
Conferenţiar Dr.Traian Trandafir

Editura
Academia Oamenilor de Ştiinţă din România
2013

Tehnoredactare computerizată:
Hanke Rolanda
Matei Iorgu Dragoş

Descrierea CIP a Bibliotecii Naţionale a României
Imunologie clinică / sub redacţia: şef lucrări dr. Mihaela Gheorghiu ; conf. dr. Ileana Constantinescu, biol. Gheorghe Constantinescu, asist. univ. dr. Ana Moise, ... - Bucureşti : Editura Academiei Oamenilor de Ştiinţă 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 Ştiinţă din România

PREFAŢĂ

Această iniţiativă editorială are scopul de a furniza o bază de studiu actualizată pentru toţi studenţii, medicii sau biologii implicaţi în procesul de descifrare a mecanismelor de apărare împotriva oricărei molecule non-self prezente dincolo de barierele organismului. Pentru studenţi, volumul oferă informaţii detaliate în limba română, minimalizând efortul de instruire într-o limbă străină şi scurtând timpul de căutare şi selectare prin diversele materiale existente în literatură. Pe de altă parte, experienţa didactică acumulată în decursul anilor de predare ne-a permis o selectare şi sistematizare a materialului prezentat, dublată de o iconografie bogată pentru paragrafele mai greu accesibile. Desenele originale lasă cititorului posibilitatea unei intervenţii personale cu creioane colorate, direct pe figură, fapt esenţial în menţinerea atenţiei pentru o perioadă mai lungă de „studiu interactiv".

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

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

Ţinem să atragem atenţia că deducţiile logice ale autorilor care au devenit necesare pentru o prezentare coerentă a mecanismelor imune, în interrelaţia lor spaţio-temporală, au fost incluse în „ipoteze de lucru", pe care le-am ataşat volumului, în postfaţă. Acestea pot fi privite ca o concluzie generală a autorilor, în care sunt sugerate atât complexitatea răspunsului imun, cât şi perspective de viitor, generate de progresele ştiinţelor conexe, privind existenţa unor integrări funcţionale complexe, care presupun şi mecanisme de comunicare intercelulară prin oscilaţii şi unde (fasciculele simfazice fotonice, unde radio, câmpuri electrostatice sau controversatele câmpuri informaţionale de torsiune).

Autorii mulţumesc tuturor acelora care au ales pentru studiu volumul de faţă.

CUPRINS **Pag**

Prefaţă **3**
Introducere.Principii generale de reactivitate celulară 9
I. IMUNOLOGIE GENERALĂ **12**
1. Organizarea structurală şi funcţională 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
2.3Funcţiile 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**
3.1Organizarea zonelor T dependente 34
3.2 Traficul şi homingul limfocitelor T imature 35
3.3 Organele limfoide secundare 36
3.4 Organizarea zonelor B dependente 37
4. Antigenul **40**
4.1Condiţii 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 Circulaţia limfocitelor T 71
7.1.2 Tipuri de limfocite T 72

7.2 Markerii de suprafaţă ai LT 75
7.2.1 Receptori de recunoaştere a antigenului 75
7.2.2 Receptori accesori 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 Circulaţia 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 şi transducţia semnalului de activare 98
9.5.1Activarea LB prin Ag solubile, corpusculate şi antigene self 98
9.5.2 Activarea LB prin LPZ și acizi nucleici (AgTi-1) 99
9.5.3Activarea LB prin antigene Ti-2 (molecule glucidice sau aa repetitivi) 100
9.6Funcţiile 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 pâna la LB-blast parţial activat 108
10.3 Cooperarea LBpa/ LTh2pa în foliculii secundari 110
10.4 Evoluţia LT şi LB activate 111
10.5 Mecanisme de control ale RIU 111
10.5.1 Reglarea genica 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 funcţional 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 funcţionale ale Ig 118
11.3 Izotipuri de imuoglobuline 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
12.4Rolul celulele NK în RIC 129
12.5 Mecanismul general de acţiune al celulelor LTc și NK 130
12.6 Mecanismele răspunsului imun celular 131
12.6.1 Etapa locală primară (de iniţiere) a RIC 132
12.6.2 Etapa ganglionară (de amplificare) a RIC 133
12.6.3 Etapa finală de atac membranar 134
13. Generarea diversităţii receptorilor.Variabilitatea imunoglobulinelor 138
13.1Complexul genic de sinteză a TCR 138
13.2 Etapele recombinării 140
13.3 Sursele diversităţii anticorpilor 141
13.4 Complexul genic de sinteză a BCR 141
14. Toleranţa imunologică 144
14.1 Toleranţa limfocitelor T 145
14.1.1Toleranţa centrală 145
14.1.2 Toleranţa periferică 148
14.2 Toleranţa periferică mediată celular 149
14.2.1 Limfocitele T reglatoare (LT-reg) 149
14.2.2 Rolul celulelor dendritice în toleranţa periferică 150
14.2.3 Rolul MDSC în toleranţa periferică 151
14.2.4 Rolul macrofagelor asociate tumorilor şi a NKT 151
14.3 Mecanisme de control ale toleranţei imune 151
14.4 Toleranţa LB 153
14.4.1 Toleranţa centrală 153
14.4.2 Toleranţa periferică a LB 153
14.5 Ruperea toleranţei imune 153
14.5.1 Ruperea toleranţei LT 155
14.5.2 Ruperea toleranţei LB 156
II. IMUNOPATOLOGIE
15. Imunodeficienţe **161**
15.1 1Clasificarea imunodeficienţelor 161
15.2 Imunodeficienţe dobândite 164
15.2.1 Structura virusului HIV 165
15.2.2 Ciclul de replicare al virusului HIV 166
15.2.3 Fazele infecţiei cu HIV 168
16. Hipersensibilitatea de tip I **171**
16.1 Imunoglobulinele E 171
16.2 Etapele declanşării HS tip I 172
16.3 Astm Bronşic 175
16.3.1 Etapa pulmonară iniţială 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

18.2Mecanisme de declanșare a inflamaţiei locale 192
18.3 HS III cu CI insolubile la poarta de intrare 192
18.4HS III cu complexe imune circulante (solubile) 193
19. Hipersensibilitatile de tip IV şi V 195
19.1 Celule participante 195
19.2 Dinamica RI 196
19.2.1 Etapa de inducţie 196
19.2.2 Etapa de iniţiere 196
19.2.3 Etapa de activare 198
19.3 Factori etiopatogenici 199
19.4 Entităţi 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 Entităţi clinice 209
21. Imunologia degenerescenţei tumorale 212
21.1 Formarea antigenelor tumorale 212
21.2 Supravegherea imunologică antitumorală 213
21.3 Modalităţi 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. Reacţii Ag-Ac 232
IV. Tipuri de reacţii folosite în imunodiagnostic 236
B. Metode de separare şi identificare a unor populaţii celulare 260
C. Tehnici de laborator utilizate în neoplazii şi 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
Postfaţă 290

INTRODUCERE. PRINCIPII GENERALE DE REACTIVITATE CELULARĂ

Definiţie: Reactivitatea celulară este o modalitate de schimb informaţional, în care celulele răspund la diferite tipuri de stimuli, externi sau interni, prin reacţii de tip **supravieţuire** sau **moarte celulară**.

Calitatea schimburilor informaţionale ale unei celule cu mediul depinde de precizia funcţionării 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 informaţiei.

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

Concomitent cu transducţia, stimulul este codificat în **unităţi de semnal– cuante**,**grupate** apoi în secvenţe **distanţate 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 producţiei de energie;
- remodelarea citoscheletului;
- moartea celulară prin apoptoză (sau necroză).

Semnalele pot fi extracelulare, intracelulare sau intercelulare.

Semnalele 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 polarităţii lor (de exemplu adrenalina). Pentru a determina un răspuns celular, acești stimuli externi trebuie să acţioneze ca **niște liganzi (mesageri primi)**, fixându-se pe receptori, care sunt proteine integrale ale membranei celulare.

Alţii, 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 plasmatice. Ei formeazăcomplexe 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 interceluare

Semnalele intercelulare sunt multiple:

- **paracrine**: au drept ţintă doar celulele din imediata vecinătate a celulelor producătoare. Exemplu: neurotransmiţătorii;
- **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 influenţeze atât celula emiţătoare, cât și celulele din imediata vecinătate;

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

Receptorii şi etapele transducţiei

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

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

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

SEC fixează ligandul. Dacă lanţul 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 anumiţi 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 alţi receptori, STM suportă modificări conformaţionale care se reflectă intracelular.

SIC interacţionează cu citosolul sau cu organitele celulare, transmiţând semnalul pe două căi esenţiale:

- prin **interacţiuni specifice cu proteinele efectorii**, care transmit apoi semnalul la destinaţie, printr-un anumit lanţ 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 activităţii receptoriale se poate face prin **internalizare** sau prin **fosforilarea unor situsuri ale SIC.**

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

Clasa I: receptori canale ionice

Modalitatea de activare: extracelulară sau intracelulară;

Compoziţia subunităţilor receptoriale: heteromeri sau homomeri, care se asamblează pentru a forma canale ionice;

Transducţia semnalului: prin canale ionice;

Liganzi: neurotransmiţători (GABA, glicina, acetilcolina, glutamat, serotonina), ATP, GMPc, AMPc, IP3, Ca^{2+}.

Clasa II: receptori cuplaţi cu proteinele G (GPCR)

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

Compoziţia subunităţilor receptoriale: monomeri, homodimeri sau heterodimeri;

Transducţia semnalului: prin intermediul proteinelor G;

A. Împreună cu un mesager difuzibil;

B. Acţionând direct pe un canal;

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

Liganzi:

A. toate neuropeptidele neurotransmiţătoare de dimensiuni mici (cu excepţia glicinei), substanţe odorante, anumite citokine (de exemplu IL8), lipide și agoniști înrudiţi (PAF, eicosanoizi);

B. Liganzii pentru receptorii muscarinici atriali și pentru receptorii α1-adrenergici neuronali;

C. Trombina.

Clasa III: receptori cu activitate enzimaticăintrinsecă 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 activităţii 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 producţia mesagerilor secunzi. Același receptor poate fixa mai mulţi liganzi, dar pe locusuri de legare diferite.

Compoziţia subunităţilor receptoriale: monomeri/homodimeri; heterodimeri/heterotrimeri; heterotetrameri;

Transducţia 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.

Mulţi 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 acţiona 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 funcţiona ca inhibitori**.

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

2. Preluarea informaţiei de la complexele ligand-receptor (L-R) prin intermediul mesagerilor secunzi, sintetizaţi imediat după activarea receptorilor.

Cei mai importanţi mesageri secunzi sunt: *AMPc, GMPc,* Ca^{2+}*, DAG, IP3*

Consecinţele intervenţiei mesagerilor secunzi:

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

-Procesele biochimice prin care sunt sintetizaţi mesagerii secunzi determină și o amplificare semnificativă a semnalului care trebuie transdus. De asemenea, în timpul generării mesagerilor secunzi, sunt activate diferite enzime și canale ionice membranare, care determină, la rândul lor, sinteza unui mare număr de mesageri secunzi. 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 secunzi în multiple căi de semnalizare creează atât avantaje, cât și potenţiale complicaţii. Astfel, schimbul încrucișat de informaţii dintre multiplele căi de semnalizare ("cross talk") influenţează concentraţia mesagerilor secunzi. Prin "cross talk" se poate realiza o reglare fină (un acordaj) a activităţii celulare, mult mai eficientă decât cea obţinută printr-o singură cale de semnalizare. Pe de altă parte, un "cross talk" dereglat induce și o "interpretare" alterată a mesagerilor secunzi.

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

Mulţi dintre mesagerii secunzi 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 secunzi, 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 concentraţiei mesagerilor secunzi.

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 secreţia mesagerilor secunzi, dar pot trimite și impulsuri spre receptorii membranari, care își pot mări sau micșora activitatea.

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

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

4. Stingerea semnalului

Are loc la sfârșitul transducţiei și presupune intervenţia protein fosfatazelor. Este un pas esenţial, 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, iniţiată de același ligand, poate iniţia mitogeneză sau apoptoză
2. Răspunsul diferit este influenţat de:

-intensitatea acţiunii ligandului (numărul de molecule) care acţionează;

-faza ciclului celular în care este "surprinsă" celula în momentul acţiunii stimulului;

-numărul de molecule receptor existente pe membrană, care depinde de nivelul de procesare a stimulului anterior;

-gradul de diferenţiere a celulei asupra căreia acţionează stimulul. Acţiunea factorilor de creștere asupra unei celule înalt diferenţiate, de tipul neuronilor, determină apoptoză și nu mitogeneză.

1. ORGANIZAREA STRUCTURALĂ ŞI FUNCŢIONALĂ A SISTEMULUI IMUN . IMUNITATEA ÎNNĂSCUTĂ

Conf. Dr. Traian Trandafir

Introducere

Imunitatea înnăscută este un ansamblu de reacţii, determinate genetic, prin care o specie se protejează de agresiunea agenţilor infecţioşi, a moleculelor non-self endogene, exogene sau tumorale şi a factorilor fizici nociceptivi (radiaţii UV).

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

1.1Organizarea sistemului imun:

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

Nivelul 2: sistemul imunităţii înnăscute, care asigură o protecţie imediată.

Caracteristici:

Imunitatea înnăscută este:

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

Nivelul 3: sistemul imunităţii adaptative

Caracteristici:

- Înaltă specificitate – un singur tip de Ag este recunoscut de celulele SI, după care declanşează un răspuns imun (umoral sau celular);
- Recunoaşterea antigenică presupune existenţa 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 acţionează permanent pentru discriminarea self-ului de non-self.

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

3. Împărţirea este mai mult didactică pentru că inflamaţia, imunitatea înnăscută şi cea dobândită / adaptativă se intrică prin reacţii biochimice comune şi se suprapun în timp.

Organizarea sistemului imun adaptativ

I. Zona de producţie: măduva hematogenă, unde se diferenţiază toate populaţiile leucocitare.

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

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

IV. Zona fixă: splină, ganglioni limfatici, ţesut 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 recunoaşte specific fiecare antigen, ci molecule comune diferitelor specii de patogeni, care au structură puternic conservată filogenetic şi care sunt esenţiale pentru supravieţuirea patogenilor. Asemenea structuri sunt limitate ca număr, au fost numite**PAMPs** (*pathogen associated molecular patterns*) şi includ:

- Endotoxine sau LPS din peretele bacteriilor Gram (–);
- Peptidoglicani, acizi lipotecoici din peretele bacteriilor Gram (+);
- Manoza din structura glicolipidelor şi glicoproteinelor microbiene;
- ADN bacterian, N-formil-metionina din proteinele bacteriene;
- ARN mono şi 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, radiaţii, chimic), infecţios sau alterări moleculare, care au numele colectiv de **DAMPs** (*damage associated molecular patterns*)

Exemple:

- acizii nucleici;
- HSP (proteine de şoc caloric / chaperonine);
- IFN-α (mediator important în apărarea antivirală);
- CD 40L (moleculă de suprafaţă a trombocitelor şi LT activate);
- Produşi de degradare a acidului hialuronic.

Actorii principali implicaţi 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 recunoaştere a patogenilor, care recunosc PAMPs şi DAMPs.

1.3 Clasificarea PRR

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

PRR secretaţi (solubili)

Au rol de opsonine, se fixează pe microbi, favorizează recunoaşterea lor de către receptorii fagocitelor şi declanşează activarea complementului.

Exemple:

- Fracţiuni din cascada complementului C3b, C4b ;
- Colectine;
- Pentraxine (amiloid seric, CRP);
- MBL (mannan binding lectin);

-Lectina care fixează bacterii, virusuri fungi, protozoare şi declanşează calea lectinică a complementului.

PRR de endocitare

- exprimaţi pe membranele fagocitelor (scavenger receptor, manose receptor etc)
- fixează PAMPs şi DAMPs, cu care formează complexe care, ulterior, vor fi internalizate. În acest mod, sunt îndepărtaţi din circulaţie patogenii şi sunt pregătiţi pentru distrucţie lizozomală (endocitoză).

Exemple:

- MR (*macrophage – manose receptor*). Recunosc carbohidraţi cu un mare număr de resturi de manoză (molecule repetitive).
- FcγR, CR care recunosc opsonineleIgGşi C3b.

PRR de semnalizare

- sunt transmembranari şi 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 prezenţi în citoplasmă (PRR citosolici) şi 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 prezenţa fibroblaştilor activaţi sau a celulelor infectate viral, RIG şi MDA5 semnalizează şi activează „IFN β promotor stimulator (IPS1)", care activează IRF3 (*interferon regulatory factor*). IRF3 activat stimulează NF-kB care intră în nucleu şi activează gena pentru secreţia de IFNγ.

b. PRR transmembranari

- NOD1,2;
- NALP 1,3;
- CD 14;
- Toll-like receptors.

NOD.

Mod de acţiune: Peptidoglicanii sunt recunoscuţi de receptorii NOD şi, în prezenţa RIP (*receptor interacting protein*), activează NF-kB, care activează complexe nucleoproteice citoplasmatice numite *inflamazomi*. Aceştia controlează caspazele 1 şi 5, care devin active şi induc maturarea PRO IL-1β şi PRO IL-18, care vor fi eliberate.

NALP 1,3.

În prezenţa ARN bacterian, toxinelor, TAP-ului sau acidului nucleic cristalizat, receptorii NALP se activează şi declanşează activarea NF-kB.

CD14 este coreceptor pentru recunoaşterea şi fixarea LPS (Gram -) pe TLR.

1.4 TLR (Toll-like receptors)

Caracteristici generale:

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

- Sunt conservaţi evolutiv de la plante la om;

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

- Pot fi răspândiţi pe membranele macrofagelor, celulelor epiteliale, endoteliale şi ale organelor parenchimatoase, a celulelor dendritice LB, LT şi mastocitelor. Alţi receptori sunt localizaţi în citosol.

- Recunosc PAMPs care conţin domenii repetitive de leucină.

Structura de bază este dată de un lanţ 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 prezenţi pe membranele fagocitelor şi recunosc lipopeptide şi acid lipotecoic. După ligare, activează mai multe căi intracitoplasmatice care se soldează cu activarea genelor pentru secreţia citokinelor proinflamatorii

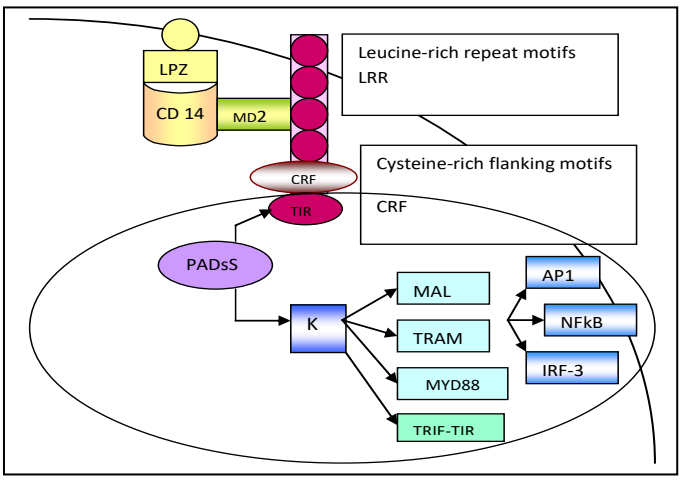
TLR2 modulează răspunsul supresor al LT-$CD4^+CD25^+$. Fixează peptidoglicanii germenilor Gram(+). Induc secreţia IL10 prin care se modulează RIU (IL10 are efect de scădere a sintezei citokinelor proinflamatorii)

TLR3 sunt localizaţi în endozomi, recunosc şi fixează ARN viral. Recunosc PAMPs şi modulează transmisia prin TCR, fiind coreceptori ai acestuia. În celulele dendritice, stimulează sinteza IFNα, ceea ce determină stimularea LTh1 şi a LTc, declanşând RIC.

TLR4 sunt coreceptori importanţipentru LTcCD4$^+$ naive.Recunosc lipopolizaharidelor (LPS) din structura germenilor Gram(–) (ex. E. Coli, Salmonella). După ligare, LPS induc sinteza de IFNβ, cu efect de stimulare autocrină şi de sinteză a coreceptorilor CD40 şi B7. În celulele dendritice, induc sinteza IL12 şi IFNα, urmată de stimularea LTh1 şi LTc, cu declanşarea RIC.

TLR5sunt coreceptori ai TCR. Recunosc moleculele de flagelină. Modulează răspunsul supresor al LTCD4$^+$CD25$^+$

TLR7sunt receptori caracteristici pentru limfocitele B, cu rol important în diferenţierea lor. Ligarea receptorilor activează suplimentar limfocitul B, după ce BCR-ul acestuia a fost ligat cu un antigen solubil. Sunt localizaţi în endozom şi fixează ARN-ul monocatenar viral. Unele celule dendritice pot avea TLR7 membranar. Ligarea acestora declanşează calea MYD 88 şi induc secreţia de IL12 şi IFN, favorizând RIC.



TLR8 sunt localizaţi endozomal şi fixează ARN monocatenar viral. Ligarea lor modulează activitatea imunomodulatoare a LTc-CD4$^+$CD25$^+$.

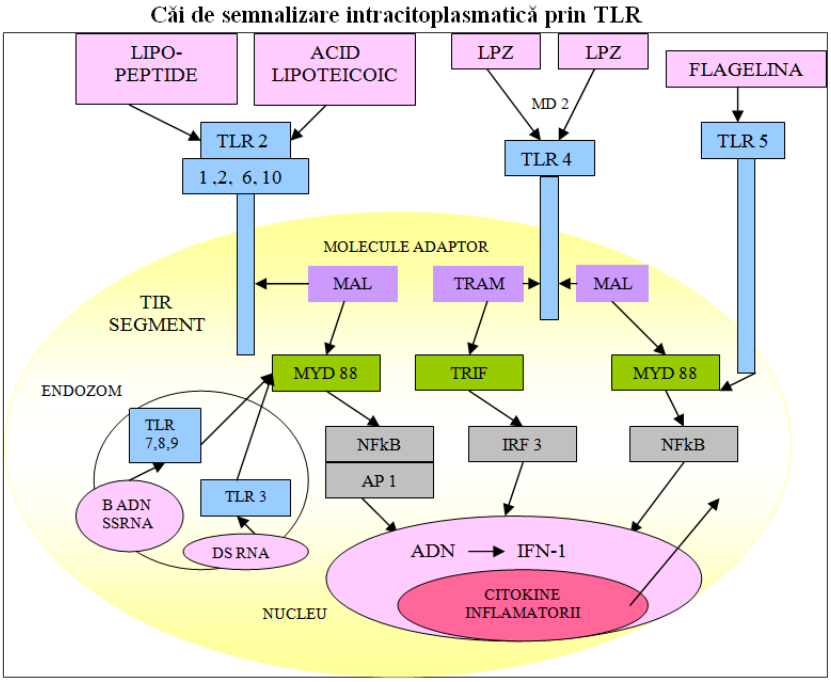
TLR9sunt caracteristici pentru limfocitele B, având aceleaşi funcţii ca TLR7. Modulează transmiterea prin TCR, fiind consideraţi coreceptori. Ligarea lor declanşează sinteza de IL12 şi IFNγ care maturizează LTh1 şi induc RIC.

1.4.2 Mecanisme de semnalizareprin TLR:

Ligandul (PAMP/DAMP) se fixează pe LRR, fenomen succedat de declanşarea unui semnal, care traversează TIR şi, la extremitatea citosolică a TIR, este preluat de proteine adaptor. Acestea sunt rapid recrutate din citosolul submembranar la TIR şi interacţionează 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 poziţionaţi pe membrană sub formă de dimeri, în complexe de joasă afinitate. Fixarea ligandului induce o modificare conformaţională, prin care 2 domenii TIR sunt "aduse" faţă în faţă, 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 împărţite în:

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

a. Semnalizarea MYD 88 dependentă.

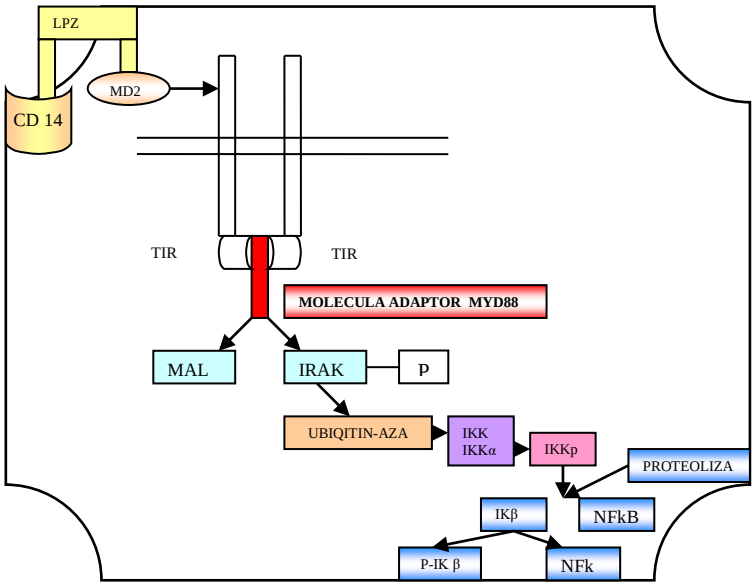
Este specifică pentru TLR 2,4 şi TLR 7,8,9, PAMPs/DAMPs, LRR, TIR,MYD 88.

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

IkB fosforilat permite atacul proteolitic asupra sa şi desfacerea de NF-kB, care devine liber şi 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 şi participarea factorului de transcripţie AP-1, iar pentru sinteza interferonului, a familiei factorului de transcripţie IRF (*Interferon regulatory factors*).

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



IRAK (*IL-1 receptor associated kinase*)
IKB(*inhibitor al NFkB*)
CD14 (*coreceptor pentru recunoaştere şi fixare LPZ Gram- pe TLR*).

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

Fenomenele decurg asemănător până la activarea factorilor de transcripţie IRF şi mult mai târziu a NFkB.

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

Sintetizând, semnalele iniţiate prin TLR produc:

1. Activarea macrofagelor, urmată de secreţia citokinelor proinflamatorii (TNFα, IL1β, IL6, IL8, IL12). Acestea activează *autocrin şi paracrin* diverse tipuri de celule, activare care se soldează cu secreţia moleculelor de adeziune, a receptorilor induşi, MHC II şi chemokinelor (*MIP, macrophage inflamatory protein 1,* CC-RANTES)

2. Stimularea diferenţierii şi activării celulelor dendritice care fagocitează în ţesuturi Ag exogene, se activează metabolic şi încep să secrete interferon, chemokine, citokine şi 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 şi induc producţia de IL12, IFNα, determinând stimularea puternică a LTh1 şi stimularea LTc, cu declanşarea 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 şi a LTc cu declanşarea RIC.

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

Celulele dendritice şi macrofagele stimulate cu LPS produc IFNβ, care este secretat şi 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 funcţie a oricărui organism viu, prin care se distinge permanent self-ul de non-self şi realizează îndepărtarea non-self-ului.

2. Există trei nivele de apărare, în care specificitatea creşte progresiv.

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

4. S-au descris trei familii de PRR: secretaţi (solubili), de endocitare, de semnalizare (TLR), clasificaţi în două grupe funcţionale: PRR1 şi PRR2, după natura PAMPs1 şi PAMPs2

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

- activarea imediată a mecanismelor imunităţii înnăscute;
- activarea imunităţii adaptative;
- schimbul informaţional 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 şi BCR şi 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 ubiquitinylation 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. Cell124**:**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. 7**0:**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: $Tlr5^{-/-}$ mice are more susceptible to Escherichia coli urinary tract infection. J. Immunol. 17**8:**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. USA10**2:**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 10**3:**3274-3279.

Barreau, C., L. Paillard, and H. B. Osborne. 2005. AU-rich elements and associated factors: are there unifying principles? Nucleic Acids Res. 3**3:**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 10**9:**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.27**3:**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. 17**3:**3297-3304

Dalpke, A. H., S. Opper, 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. 16**6:**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. 18**6:**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 32**2:**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 2**0:**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. Science30**0:**1584-1587.

Hacker, H., and M. Karin. 2006. Regulation and function of IKK and IKK-related kinases. Sci. STKE 200**6:**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 2**8:**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 NFkappaB 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 ICP0 RING finger domain inhibits IRF3- and IRF7-mediated activation of interferon-stimulated genes. J. Virol. 7**8:**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. 6**8:**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 10**0:**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 10**5:**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. 8**1:**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 31**8:**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 41**1:**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. 2**3:**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. 28**3:**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. 19**9:**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. USA99:4650-4655

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. 31**6:**253-292

Saha, S. K., E. M. Pietras, J. Q. He, J. R. Kang, S. Y. Liu, G. Oganesyan, 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-beta 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-kappaB, 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 funcţionează permanent, la un nivel redus (*calea alternă*) sau cu amplificări temporale, induse de prezenţa în organism a Ag corpusculare sau solubile (*calea clasică*), opsonizate cu Ig.

2.1 Genetică

Pe cromozomul uman 6 se află genele MHC (ClasaIII) care codifică sinteza proteinelor CC, care sunt enzime. Secreţia factorilor CC începe în luna a doua de dezvoltare intrauterină, dar la naştere, nou născutul are numai 50% din concentraţia adultului. Ulterior, sub influenţa IL1 şi IFNγ, creşte secreţia factorilor CC în ficat.

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

2.2 Sinteza factorilor CC. Caracteristici generale funcţionale.

Sinteza are loc în:

1. Hepatocite (cu excepţia: factorilor D și P, receptorilor pentru complement (CR1-CR4);

2. Monocite/macrofage, fibroblaşti;

3. Celule epiteliale şi endoteliale ;

4. Adipocite (sintetizează factorii B şi C3);

5. Celule gliale din SNC.

Factorii din CC sunt proteine cu funcţie 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 şi are acţiune proinflamatorie ;
- Fragmentul "**b**", mai mare, care acţionează ca enzimă (sau cofactor enzimatic) asupra zimogenului următor al cascadei. Receptorii membranari (CR1 – CR4) pot recunoaşte aceste fragmente. Aceeaşi enzimă poate acţiona pe zimogeni diferiţi, prin modificarea specificităţii de substrat.

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

2.3 Funcţiile cascadei complementului

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

A. Înlăturarea Ag corpusculate se produce în etape:

a) D-Ag sunt recunoscuţi de IgM (IgG) preexistente, după conformaţia lor, la poarta de intrare

b) Imunoglobulinele, prin capătul Fab, reacţionează cu structurile Ag de suprafaţă (Ag corpusculate membranare).

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

d) Acestea reacţionează cu prima componentă din sistem, C1q, care se activează şi declanşează cascada enzimatică a complementului.

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

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

a) Funcţia continuă a CC (calea alternă) eliberează în permanenţă în circulaţie componenta C3b.

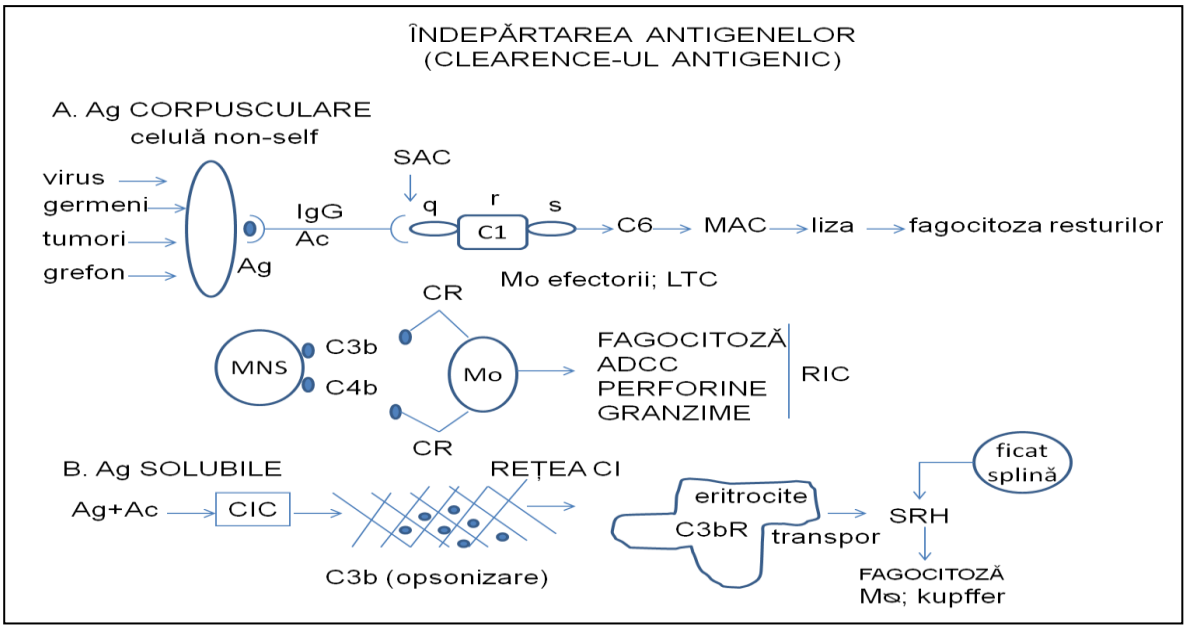
b) Ag solubile şi Ac secretaţi la sfârşitul RIU, circulă în plasmă, unde se recunosc şi reacţionează specific, formează complexe imune (CI) cu talie mare, care se asamblează în reţele laxe.

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

d) Complexele formate reacţionează specific cu receptorii pentru complement aflaţi pe suprafaţa 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.

Recunoaşterea imunologică nespecifică a structurilor non-self.

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



2.4 Receptorii pentru complement

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

b.CR2sunt prezenţi pe membrana LB, LT, celulelor epiteliale şi NK. Fixează mai ales componenta C3b ataşată pe membrane non-self. CR acţionează şi ca un coreceptor pentru BCR. Recunosc şi fixează virusul Epstein Barr.

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

Receptorul pentru anafilatoxinele C3a, C4a, C5a:

d. **C3aR** – prezent pe macrofage, LB, mastocite, eritrocite şi muşchi netezi;

e. **C4aR** – prezenţi pe mastocite şi bazofile;

f. **C5aR** – prezenţi pe mastocite, LB şi neutrofile.

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

2.5 Calea clasică de activare a complementului

Este o secvenţă în care sunt activaţi în cascadă nouă factori, notaţi de la C1 la C9, doar după recunoaşterea 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 lanţuri proteice:

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

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

c)Trei complexe secundare se unesc într-o nouă moleculă formată din 18 lanţuri (6A+6B+6C). Aceste ultime 3 complexe secundare se dispun în spaţiu după profilul literei Y. Capătul lor NH_2 este linear, iar cel carboxilic globular. Prin cele 2 capete (COOH, NH2), C1q leagă componentele C1s şi C1r. Capătul globular contactează legături cu domeniile activatoare de complement din structura Ig din complexele imune. După legare, fragmentele C1q suferă modificări conformaţionale şi evidenţiază o secvenţă de aminoacizi echivalentă cu un receptor pentru fracţiunea C1r. C1q poate lega prin „cross-link" diverse Ig.

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

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

Factorul C2

- Este un lanţ peptidic unic, care funcţionează 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 acţiunea proteolitică a factorului C1s activat, echivalentă cu o activare iniţială

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

a.Fracţiunea scurtă C2a;

b.Fracţiunea lungă C2b, cu acţiune enzimatică. Fracţiunea C2b fixează C4b, rezultând complexul activ $\overline{C2bC4b}$, sau C3 convertaza caii clasice (C3-aza). Apoi, C3-aza ataşează C3b, rezultând C5-aza ($\overline{C2bC4bC3b}$).

Factorul C3

- Este format din două lanţuri α şi β legate prin punţi disulfidice. Se comportă, în ansamblu, ca un zimogen.

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

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

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

1. Activarea enzimatică.

- C3-convertaza scindează lanţul α mai aproape de capătul NH_2; după scindare rezultă două fragmente:

- fragmentul mic **C3a**(extremitatea NH2), care rămâne în faza fluidă şi are acţiune proinflamatorie (anafilatoxină).

- Fragmentul mare **C3b** – format din porţiunea restantă a lanţului α şi întreg lanţul β. Odată format, fragmentul C3b suferă modificări conformaţionale şi exteriorizează buzunarul hidrofob, care se deschide şi expune gruparea tiolesterică; aceasta stabileşte legături cu grupările NH_2 şi 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 şi se datorează pătrunderii moleculelor de apă în buzunarul hidrofob, cu ruperea grupării tiolesterice. Ruperea legăturii duce la modificări conformaţionale ale lanţului α, cu exteriorizarea secvenţei de aminoacizi capabilă să fixeze **factorul B**, proteină implicată în declanşarea căii alterne.

Factorul C4

- Funcţionează doar în calea clasică. Este o proteină formată din trei lanţuri peptidice α, β şi γ;

- Lantul α are spre capătul COOH un buzunar hidrofob cu o deschidere foarte mică, în care este conţinută o legatura tiolesterică;

- Lanţul β are numai rol structural;

- Lanţul γ are o secvenţă de aminoacizi care funcţionează ca receptor pentru fixarea fracţiunii C2. Prin aceasta, factorul C4 devine un cofactor al C2.

Toate cele trei lanţuri sunt interconectate prin punţi disulfidice.Serin-esteraza C1q clivează lanţul α, detaşând un fragment mic **-C4a-** din capătul NH_2 al lanţului, cu acţiune proinflamatorie. Fragmentul rămâne în fază fluidă. Fragmentul mare,**C4b,** format din restul fragmentului α, lanţurile β şi γ în întregime, se va ataşa 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 şi OH din structura membranelor „ţintă”, contribuind la creşterea complexelor membranare şi opsonizarea acestora.

Factorul C 5

- Este o proteină complexă, formată din două lanţuri polipeptidice.Proteina se ataşează la lanţul β al factorului C3b.C5-convertaza scindează factorul C5 ataşat la lanţul β al C3, obţinându-se anafilatoxina C5a şi componenta mai voluminoasă C5b.

Factorul C 6

- Este o proteină formată dintr-un singur lanţ polipeptidic şi este parte componentă a MAC.

Factorul C 7

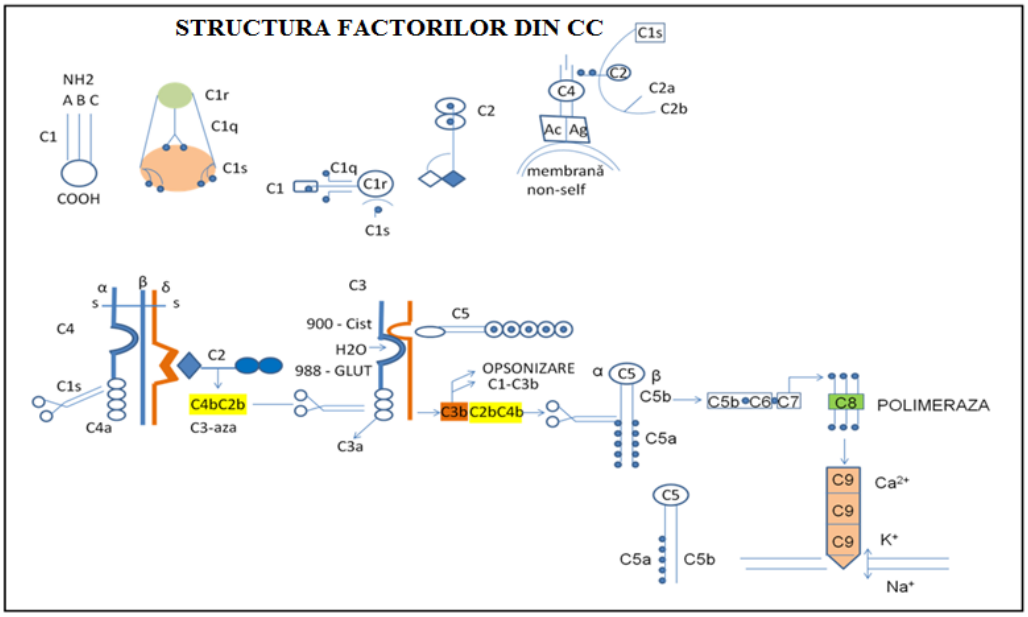
- Este o proteină lipofilă, care fixează MAC la membranele celulare „ţintă”.

Factorul C8

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

Factorul C 9

- Este o proteină formată dintr-un singur lanţ, de forma unui disc, care pluteşte în faza fluidă. În prezenţa Ca^{+2} şi a polimerazei C8, discurile se asamblează şi formează microtubuli care se inseră în membrana celulelor „ţintă”. Modificările secundare acestei inserţii 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 suprafaţa lor Ag care pot ficonstituţionale sau ataşate;

2. Imunoglobulinele IgM sau IgG prezintă, spre capătul Fab, **situsuri combinative pentru antigeni,** care recunosc Ag expuse pe membrane şi se fixează pe acestea. Fixarea produce modificări structurale în lanţurile 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 CH_2 şi CH_3 din IgM), capabil de activarea factorilor din cascada complementului. IgM activează intens CC, dar IgG mai puţin, 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 declanşa CC, activând componenta C1 a cascadei. Pentru acelaşi efect sunt necesare însă două molecule de IgG. Componenta C1q se fixează pe cei 60 de aminoacizi din domeniile amintiteale IgG şi 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, ataşând şi activând pe rând fracţiunile C1r şi C1s (serine cu activitate enzimatică), cu formarea complexului enzimatic activ $\overline{C1qrs}$.

7. Fracţiunea C1s clivează, prin proteoliză limitată, lanţul α al factorului C4. Fracţiunea mică C4a rămâne în mediul fluid, având acţiuni proflogistice (proinflamatorii). Fracţiunea C4b, mai mare, se depune pe CI şi în jurul acestora, pe membranele non-self.

8. În contact cu membrana celulară, fracţiunea C4b suferă modificări conformaţionale care evidenţiază o secvenţă de aminoacizi capabilă să recunoască şi să fixeze factorul C2, care se adaugă CI iniţial.

9. Odată fixat pe C4b, factorul C2 se modifică conformaţional şi extremitatea NH_2 devine receptivă la acţiunea serinei C1s, care poate cliva abia acum factorul C2.

10. După clivaj, rezultă o porţiune mai mică (C2a), care rămâne în fază fluidă şi o fracţiune mai mare (C2b), care se ataşează fracţiunii C4b. Ambele fracţiuni se fixează pe mebrana celulară. Complexul **$\overline{C4bC2b}$** are activitate enzimatică **-C3 convertaza-** în care C4b este cofactor, iar C2b este enzima propriu-zisă.

11. C3 convertaza acţionează asupra factorului C3, pe care îl clivează în factorul C3a, care rămâne în faza lichidă, având efecte proinflamatorii (de anafilatoxină), ca şi factorul C4a. Factorul C3b se comportă diferit:

- Cea mai mare parte se va fixa pe mebranele celulelor ţintă prin legături între grupările glucidice (OH) şi protidice (NH_2) din constituţia membranelor şi grupările tiolice ale C3b. Aceasta echivalează cu opsonizarea membranelor (recunoaştere imunologică nespecifică);

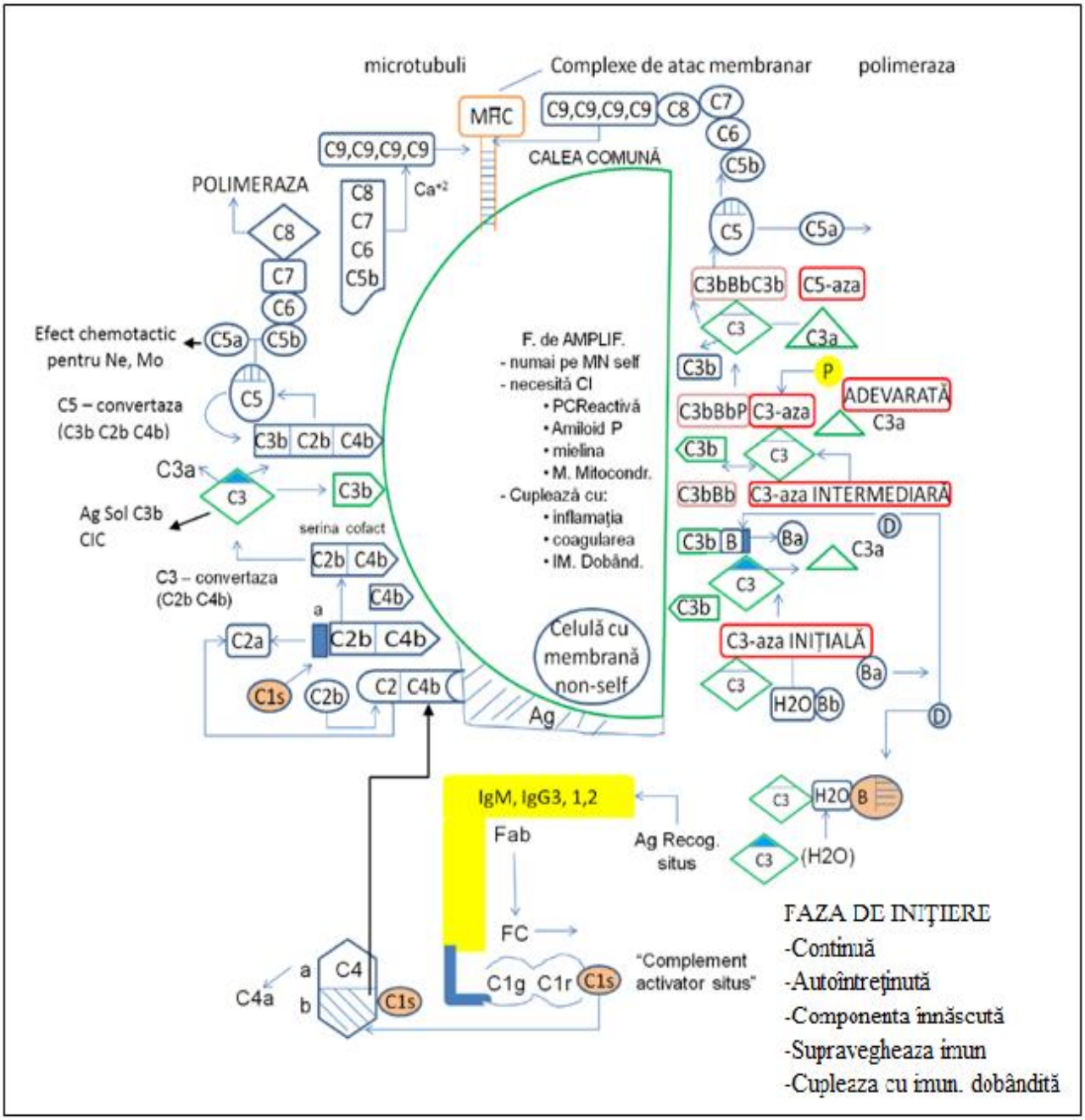
- O parte mai mică se adaugă C3-convertazei deja fixată pe membranele celulare ţintă. Formarea acestui complex modifică şi conformaţia spaţială a fracţiunii C2b, se formează astfel **C5-convertaza** ($\overline{C4bC2bC3b}$), schimbând substratul asupra căruia va acţiona complexul enzimatic.

-O altă parte se fixează pe antigenele circulante, stimulând răspunsul imun umoralspecific, 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 şi C5b, ambii factori trecând în fază fluidă.

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

Calea clasică **Calea alternă**



15. Odată cu formarea complexului, factorul C7 îşi modifică conformaţia şi fixează factorul C8 care se ataşează şi devine polimerază.

16. Polimeraza C8 acţionează asupra factorului C9 (în prezenţa Ca^{+2})care polimerizând, formează structuri tubuliforme care penetrează membranele celulelor ţintă. Prin aceşti pori, în celula non-self pătrund Na^{+} şi H_2O, producând liza ei osmotică.

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

18. În procesul de activare în cascadă, se amplifică în fiecare etapă numărul factorilor implicaţi: 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 imunităţii înnăscute.Constă în activarea în cascadă a unor proteine plasmatice, aflate în formă inactivă. Unele dintre acestea aparţin doar căii alterne, iar altele sunt comune cu calea clasică de activare a complementului. În plasmă se află factorii B, P şi D specifici căii alterne şi factorii căii clasice C1-C9.

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

3. Factorul C3 este esenţial în declanşarea cascadei, datorită particularităţii buzunarului hidrofob din lanţul α. În acest situs, pătrund lent molecule de apă care desfac gruparea tiolesterică, după care aceasta este capabilă să fixeze factorul B, declanşând cascada căii alterne.

4. Faza iniţială se continuă şi este autoîntreţinută. 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 producţia şi degradarea C3b.

6. Calea alternă a fost împărţită, didactic, în două etape: de autoactivare şi de amplificare.

I. Autoactivarea

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

- Zimogenul C3 se hidrolizează lent şi formează complexul C3(H2O);
- Complexul format are afinitate crescută pentru "factorul B", cu care formează complexul C3(H2O)B.**Factorul B** este un lanţ polipeptidic scurt, cu activitate proteazică, care intră în structura tuturor convertazelor acestei căi. Factorul B din complexul C3(H_2O)B este scindat de **"factorul D"** în două fragmente, în prezenţa 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 funcţie enzimatică şi a fost numit "**C3 –convertaza iniţială**".C3 convertaza iniţială se formează în permamenţă în fază fluidă, dar are o activitate enzimatică slabă asupra factorului C3, pe care îl scindează permanent în cele două fragmente C3a şi C3b. Dacă nu există membrane non-self, C3b poate fi inactivat de factorii H şi I.

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

Cantităţi mici de C3b permit recunoaşterea membranelor non self şi opsonizarea Ag corpusculate, ca prim pas pentru declanşarea 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, declanşând etapa II, de amplificare.

II. Amplificarea

Se declanşează numai în prezenţa membranelor non-self şi furnizează o cantitate mare de C3b, care asigură o protecţie nespecifică împotriva oricărui tip de DAMPs sau PAMPs. Opsonizarea membranelor creşte fagocitoza, iar APC activate declanşează procesul inflamator.Această etapă asigură protecţia nespecifică pe durata în care imunitatea dobândită nu a început răspunsul imun umoral sau celular.

Funcţionează sinergic cu calea clasică de activare a complementului, suprapunându-se în timp şi funcţional.Complexul "membrană non self + C3b" fixează factorul B, formând un agregat molecular pe membrana non self- C3b-B (MNS+C3b+B).

Declanşarea 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 suprafaţă din structura paraziţilor.

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 şi fragmentul C3a, ambele având acţiuni proflogistice) şi un fragment mare MNS-C3b-Bb.

Complexul $\overline{\text{C3b-Bb}}$ este o enzimă activă şi a fost numit "**Convertaza intermediară**" a căii alterne. Formarea ei este episodică, numai pe membranele non-self şi este instabilă. Ulterior, complexul fixează un alt factor al căii alterne – **properdina**. Acest nou complex este o enzimă stabilă şi 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 şi C3b.

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

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

b. Local se epuizează rezervele de properdină şi diminuă formarea complexelor C3b-Bb-P. C5 convertaza căii alterne scindează enzimatic factorul C5 cu formarea fragmentelor C5a (proinflamator, care rămâne în faza fluidă) şi C5b care iniţiază formarea MAC, după o secvenţă 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 şi constituie secvenţa comună a ambelor căi (C5b, C6, C7, C8, C9- MAC).

Rolurile căii alterne:

- Intervine în activarea nespecifică a LB şi LT care au receptori pentru CR;
- Mediază reacţia Ag-Ac;
- În final, celulele non-self vor fi distruse prin complexele MAC, deşi recunoaşterea 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 şi prezenţa factorilor de protecţie anti CC împiedică fixarea C3b pe membranele proprii.

2.Factorul de protecţie membranară solubil H nu se poate fixa pe celulele non-self, aşa încât acestea nu pot beneficia de efectul lui protector, ca inhibitor al CC. Spontan, se formează în permanenţă convertaza iniţială care menţine faza de inducţie.

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

2.7Calea lectinică (CCL)

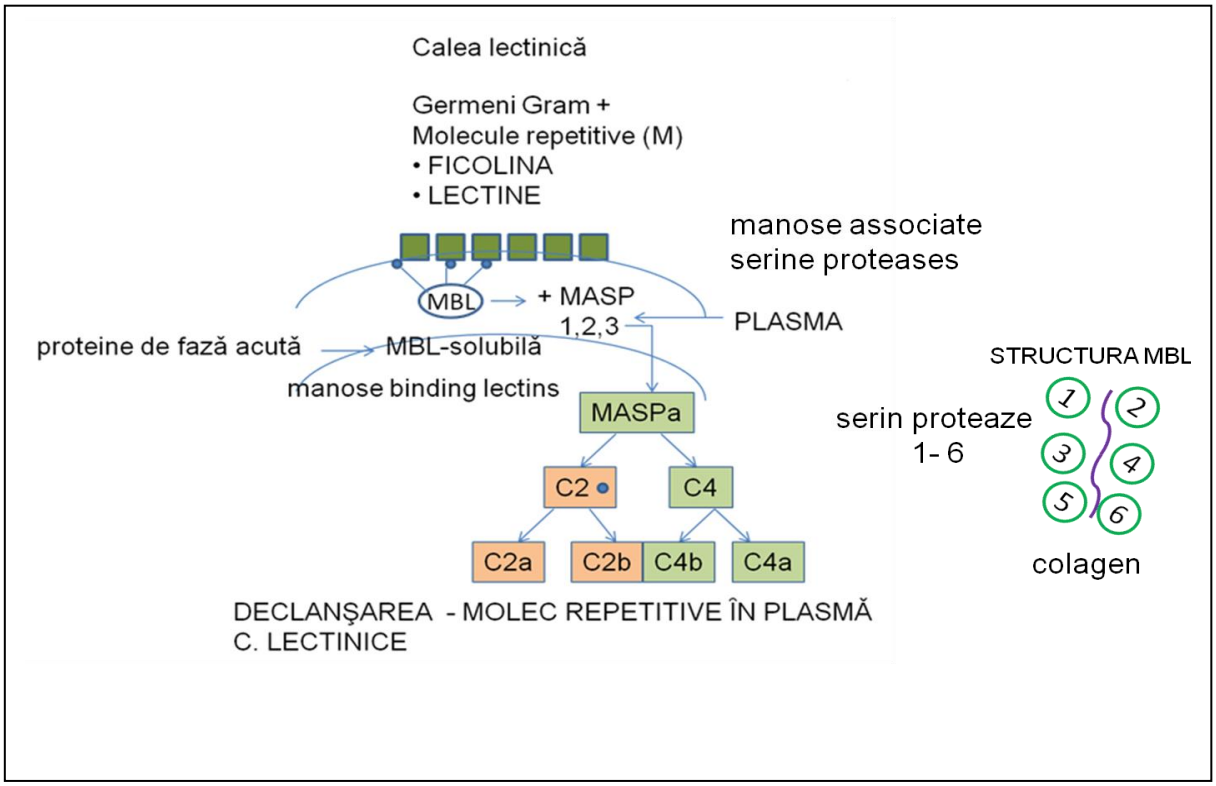
Este o cale de "siguranţă" care asigură declanşarea CC în cazul în care germenii invadanţi au în structura membranelor lor (non-self) molecule specifice (ficoline) sau slab activatoare pe calea alternă sau clasică (lectine).Este calea secundară de declanşare a cascadei complementului, care nu necesită prezenţa C3b sau a complexelor imune, ca şi calea alternă.

Microbii, virusurile sau fungii care au în structura membranei lor glucide repetitive (manoză, ficolină) pot declanşa 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 şase seroproteine care pot recunoaşte şi fixa carbohidraţii repetitivi. Functional, MBL este similar C1q din calea clasică.

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

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



2.8 Efectele fragmentelor rezultate din CC

1. C3a, C4a, C5a şi Ba

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

- Ligarea receptorilor duce la activarea celulară, cu eliminarea mediatorilor chimici preformaţi, declanşarea procesului inflamator şi menţinerea lui prin eliberarea mediatorilor chimici neoformaţi (vasodilataţie, creşterea secreţiei de enzime proteolitice şi radicali liberi, etc).

- Stimularea măduvei hematogene cu creşterea citodiabazei (leucocitoză) şi eliberarea neutrofilelor (neutrofilie periferică), NK şi macrofagelor (prin C5a).

- Efecte chemotactice şi chemokinetice pentru toate APC, stimulând diapedeza şi fagocitoza.
- Stimulează mastocitele şi iniţiază secreţia lor de leucotriene.
- Induc contracţia muşchilor netezi.
- Induc agregarea plachetară, cu apariţia trombozelor în focarul inflamator.

2. C3b, C4b

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

2.9 Reglarea cascadei complementului

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

C1 Inh.

Este o alfa globulină serică care are acţiune litică asupra factorului C1, pe care îl descompune în cele trei componente. Esteraza C1s nu mai poate declanşa astfel prima treaptă a cascadei. Deficienţe 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 diferiţi: C4b *binding protein (C4bBP)*, factorul H, *decay accelerating factor (DAF)*. Enzima scindează C3b liber şi lectinele. Efectul major este asupra C3b legat de eritrocite. Din scindarea C3b, pot lua naştere alţi produşi intermediari activi:

a. C3bc sau (iC3b);

b. C3d care se leagă pe CR2 ai LB;

c. C3e produce citodiabaza neutrofilelor;

Complexul FI-C4bBP poate scinda proteolitic fragmentul C4b fixat.

Factorul H

Acţionează sinergic cu Factorul I pentru scindarea lanţului alfa al C3b, dând naştere componentei inactive iC3b. Scindează şi 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 şi C4b fixate pe membrane. Împiedică formarea C3 convertazelor ambelor căi (prin blocarea formării complexelor C2bC4b şi C3bBb). Deficitul acestei enzime produce hemoglobinurie paroxistică nocturnă.

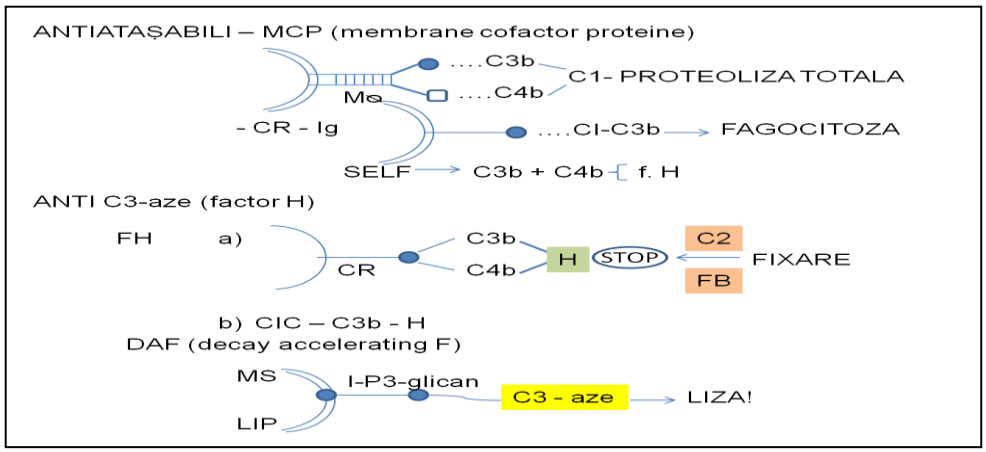
Proteina S (vitronectina)

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

HRF (*homolougous restriction factor*)

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

Protecţia anticomplement a membranelor



Proteina S (vitronectina)

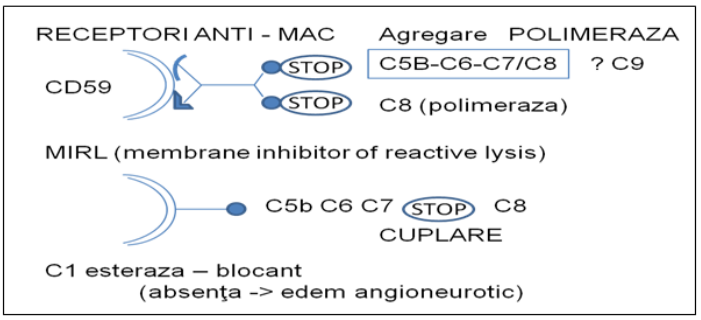
Este o proteină cu afinitate pentru complexele C5bC6 C7. Prin ligarea lor, împiedică fixarea pe membrane (competiţie pentru substrat).

HRF (*homolougous restriction factor*)

Este o proteină membranară care împiedică fixarea factorului C8 la complexul C5bC6C7 ceea ce duce la absenţa C8 polimerazei. (Nu mai polimerizează factorul 9 şi 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 acţionează ca anticorp împotriva C3 convertazei intermediare a căii alterne (C3bBb).

2.10 Efectele anafilatoxinelor:

C3a

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

C4a

- Anafilatoxină slabă (efect proinflamator).

C5a

- Chemotactic pentru neutrofile, macrofage;
- Chemokinetic – creşterea mobilităţii fagocitelor;

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

Ba este chemotactic pentru neutrofile.

C3b are efecte multiple.

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

Inflamaţia şi hemostaza sunt strâns legate de imunitatea înnăscută, cu care interferă prin molecule comune care se intercondiţionează şi se determină reciproc, existând un grad mare de suprapunerefuncţională şi 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 meningococcemia. 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***. 1^{4th} ed. New York, NY: McGraw-Hill; 1998:910-5.

Figueroa 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 JI. Leiner's disease associated with metabolic acidosis. ***Clin Exp Dermatol***. Sep 1989;14(5):364-6

Janzi M, Sjoberg 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, Sjoholm 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 formaţiunile anatomice implicate în procesul de apărare imună împotriva structurilor non-self prezente în organism. Organele limfoide au fost împărtiţe în:

A. Organele limfoide primare:

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

- timusul - organ specializat în "educaţia" 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 ţesutul limfoid asociat mucoasei tubului digestiv (MALT);ţesutul limfoid difuz din lamina submucoasă a aparatelor digestiv,respirator, urogenital.

În aceste organe, este iniţiat și întreţinut 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 permanenţă între organele limfoide primare (OLP), organele limfoide secundare (OLS) şi ţesuturi, în căutarea antigenelor pe care le recunosc, le prelucrează și le transportă, declanşând 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 puţin (LB). În momentul părăsirii măduvei hematogene, limfocitele sunt celule care nu prezintă toţi receptorii membranari pentru exercitarea funcţiilor, motiv pentru care sunt denumite imature. Ele trec în timus (LT) şi splină (LB) unde se maturează structural şi funcţional.

3.1 Organizarea zonelor T dependente:

Timusul este un organ unic, situat retrosternal, care apare ca o evaginaţie 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 şi una medulară. Timusul este bine vascularizat şi conţine numeroase terminaţii nervoase vegetative. În parenchimul timic se descriu mai multe tipuri de celule: celule epiteliale, macrofage santinelă, celule dendritice, limfocite.

Celulele epiteliale se diferenţiază morfologic şi funcţional 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 şi alte chemokine cu rol determinant în migrarea şi maturarea LT. LT parţial maturate migrează din zona corticală spre zonele profunde.

b) *Celule corticale epiteliale timice propriu-zise*:

Sunt dispuse în reţea, în toată zona corticală. Ele asigură selecţia pozitivă (vezi toleranţa imunologică). În urma acestei selecţii, LT se maturează şi devin timocite. Acestea au un TCR complet dezvoltat şi 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 puţin organele

imunoprivilegiate). Sunt esenţiale în selecţia pozitivă şi negativă.Acelaşi rol îl au şi celulele dendritice imature migrate în timus din măduva hematogenă.

Macrofagele santinelăsunt celule cu rol fagocitar care îndepărtează resturile celulelor moarte în procesul de selecţie pozitivă şi negativă ale LT.

Celulele dendritice migrează din maduva hematogenă şi se fixează în timus, unde prezintă antigene self, contribuind esenţial la transformarea limfocitelor imature în timocite imunocompetente.

Funcţiile timusului:

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

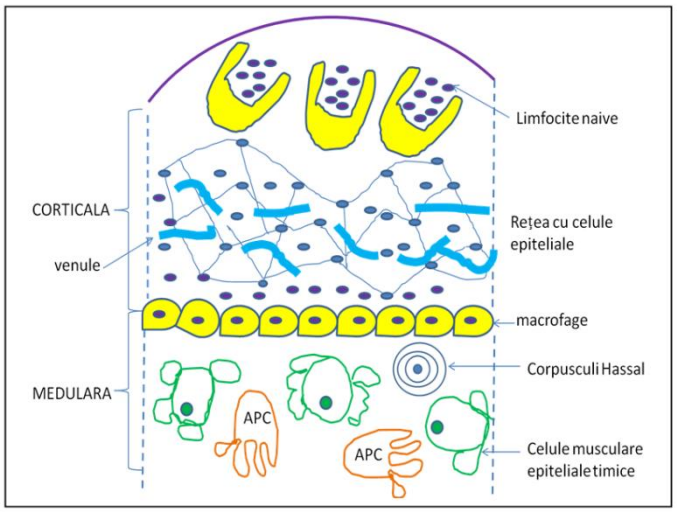
- Secreţia de citokine, care asigură „homing”-ul limfocitar;
- Maturarea limfocitelor T, printr-un proces complex de selecţie pozitivă şi negativă;
- Secretă matricea extracelulară şi contraliganzii necesari diapedezei LT imature;
- Secretă hormonii timici;

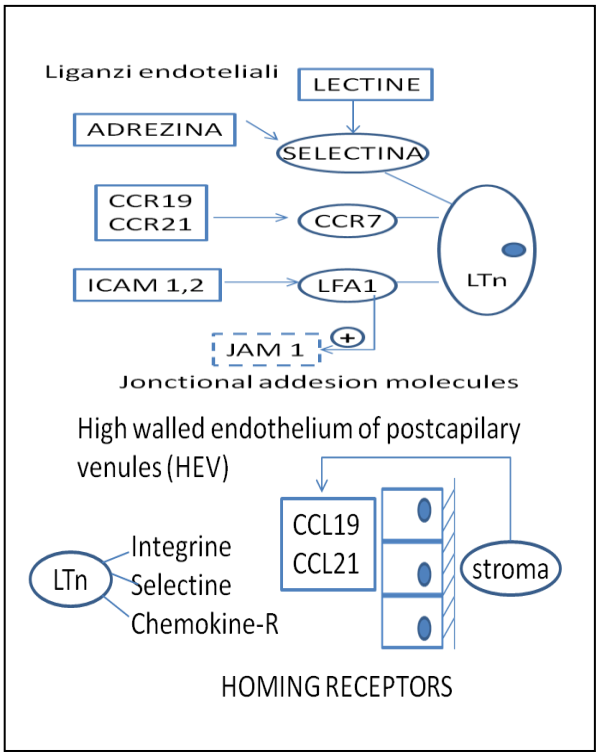
În activitatea timusului mai intervine şi hormonul de creştere hipofizar care:

- stimulează secreţia de fibronectină, laminină şi adrezină;
- creşte numărul celulelor timice;
- stimulează maturarea LT şi trecerea lor în circulaţie.

3.2Traficul şi homingul limfocitelor T imature

LT imature (LTi) părăsesc măduva hematogenă, trec în circulaţie, de unde se localizează în timus, ghidate de chemokinele timice. Traversarea peretelui vascular timic se face prin venulele postcapilare de la joncţiunea cortico-medulară. Endoteliul timic este format din celule înalte (HEV=*highendothelium vascular*). Limfocitele imature stabilesc legături cu celulele endoteliale prin receptorii lor de adeziune, trec prin peretele vascular şi 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 secretaţi de celulele endoteliale; ultimii 2 receptori au rol de chemokine.

Moleculele de adeziune ale limfocitelor imature:

- Receptorul CCR7 se fixează pe moleculele CCR19 şi CCR21;

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

Migrarea limfocitelor din circulaţie în timus se produce în etape:

1. Marginaţia şi rostogolirea limfocitelor pe endoteliul venular;

2. Cuplarea receptorilor LFA1 cu ICAM1,2;

3. În urma ligării, ambele celule se activează şi generează un semnal de transducţie care modifică moleculele de joncţiune endoteliale JAM1;

4. Integrinele limfocitare se fixează pe moleculele JAM1 şi trec prin peretele vascular (diapedeză).

3.3 Organele limfoide secundare

A. Ganglionii limfatici

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

Structura:

- La exterior, ganglionii limfatici sunt acoperiţi de capsula limfatică, perforată de vase aferente şi eferente.
- În secţiune, oricărui ganglion i se disting 2 zone: corticala şi medulara. Corticala este zona situată imediat sub capsulă, fiind formată din foliculi limfatici (condensări sferice de ţesut limforeticular). Foliculii sunt înconjuraţi de spaţii perifoliculare,încare circulă limfa adusă de vasele aferente. Conţin LT şi LB naive, constituite în foliculi primari. Medulara este zona centrală, formată din cordoane limfoide anastomozate, care formează o reţea prin care circulă limfa spre hilul ganglionului, din care pornesc vasele eferente.

B. Splina

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

Structura:

- Seroasa peritoneală;
- Capsula splenică: ţesut 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 şi pulpa roşie.
- Pulpa roşie este constituită din ultimele ramificaţii ale arterelor splenice (ramificaţii „în perie”), în care sunt stocate hematii. Din capătul lor opus iau naştere venulele splenice.
- Pulpa albă este formată din condensări de ţesut limfoid, care formează teci perivasculare şi condensări ovalare la locul de ramificaţie 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 viaţa intrauterină, în mai multe organe embrionare.În săptămânile 8-9 de gestaţie, 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, producţia de LB a ficatului dispare și măduva hematogenă preia funcţia hematopoietică. Maturarea ulterioară a LB necesită prezenţa unor factori multipli (stem cell factor, IL3, factori de transcripţie, early B factor, IL7, etc). LB timpurii hepatice exprimă pe suprafaţă 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 circulaţia după ligarea receptorului lor membranar CxCR5 de ligandul CxCL13 de pe membranele celulelor endoteliale din zonele "B" dependente, unde formează grămezi. Iniţial, LB se aglomerează în foliculi primari, structuri rotund ovalare diseminate în OLS, în cortexul extern. Receptorul BCR este de tip IgM sau IgD transmembranare. Stimularea limfocitelor B cu un antigen induce modificări structurale şi funcţionale în foliculul primar, la sfârşitul cărora foliculul devine secundar (FS).

Un folicul secundar este format din:

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

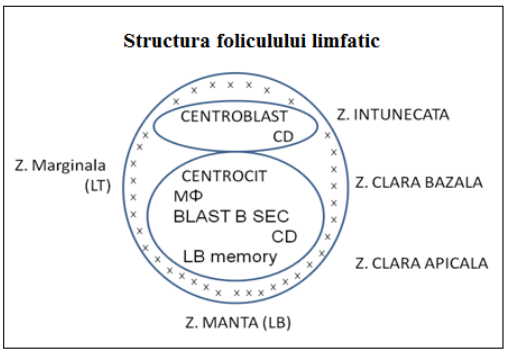
- Celulele foliculare dendritice (CFD), dispuse în reţea; sunt celule mezenchimale cu ramificaţii dendritice care şi-au pierdut capacităţile fagocitare. Aceste celule realizează, prin prelungiri, contacte intime cu LB. CFD secretă o varietate de TNF (BAFF), cu efect antiapoptotic asupra LB.
- LB-blaşti în curs de mitoză, numeroşi şi cu volum mare;
- LT puţine;
- Macrofage;

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

În zona clară apicală, unii limfoblaşti se transformă în limfoblaşti 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, aşezată la periferie, conţine LT şi apare numai în foliculii secundari (vezi RIU).



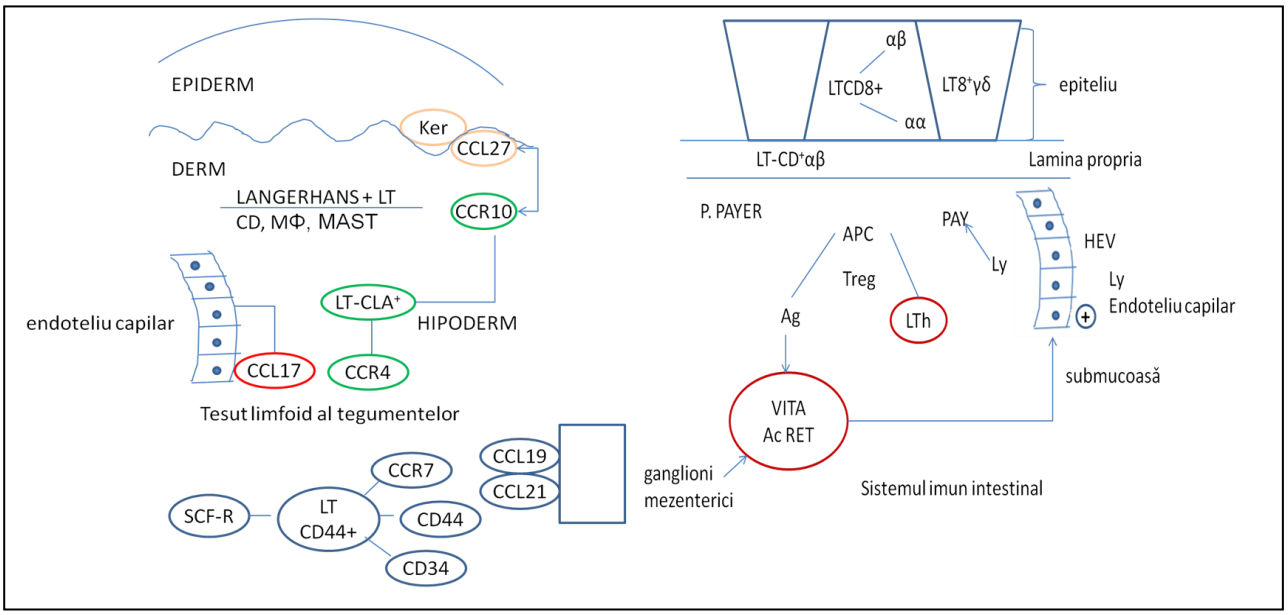
Sistemul imun tegumentar

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

Dacă apare un focar inflamator tegumentar, pe aceeaşi cale, apar prin diapedeză şi alte leucocite implicate în procesul imun: eozinofile, neutrofile, monocite. Diapedeza limfocitară este favorizată de vasele din derm, care conţin ligandul 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 şi limfocite T cu funcţie reglatorie.

Sistemul imun tegumentar **Sistemul imun al mucoaselor**



Sistemul imun al mucoaselor

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

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

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

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

Limfocitele rezidente în intestin sunt prezente în lamina propria, care este populată cu LT activate (α βTCR $CD4^+$), LBblaşti şi plasmocite. De asemenea, intraepitelial se află mai multe tipuri de limfocite: γδ LT $CD8^+$ şi αβ LT $CD8^+$, cu două varietăţi: CD8- αβ heterodimer şi CD8- αα homodimer.

Există LT rezidente şi în alte organe (ficatul conţine 10^{10} limfocite, majoritatea LT cu memorie, dar şi celule NK şi 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 CD8alpha+ 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 CD8alpha+ dendritic cells in cytotoxic T cell immunity. Science 322: 1097–1100.

7.Kägi, 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. & Tschopp, 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. Alaftlre 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 Ca^{2+}-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 CD8alpha(+) 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 CD11bhighCD8alpha- 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 substanţă 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:

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

4.1 Condiţii 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 recunoaştere pentruantigenele respective.

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

- Opsonizată şi apoi fagocitată, iar detritusurile vor fi eliminate ulterior.
- Legată de o moleculă mai mare proteică, lipoproteică sau lipopolizaharidică, după care haptena devine Ag complet şi declanşează 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 părţi distincte:

1.*Partea carrier*, care este, de obicei, o moleculă proteică mare, dar cu putere mică de iniţiere a unui RI. S-au descris totuşi Ac anti-carrier la sfârşitul unui RI, dar concentraţia lor a fost foarte mică.

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

Specificitatea astfel înţeleasă are o valenţă dublă: recunoaşterea antigenică de către limfocite şi reacţia cu anticorpii specifici. Recunoaşterea antigenică reprezintă abilitatea unor celule de a liga un singur tip de antigen, faţă de care induc un răspuns imun.

Răspunsul imun indus este dirijat strict împotriva antigenului care l-a declanşat. 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 moleculesunt apropiate structural. Acest tip de reacţie constituie un mijloc de apărare imediată împotriva unor familii de germeni care au determinanţi antigenici comuni.

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