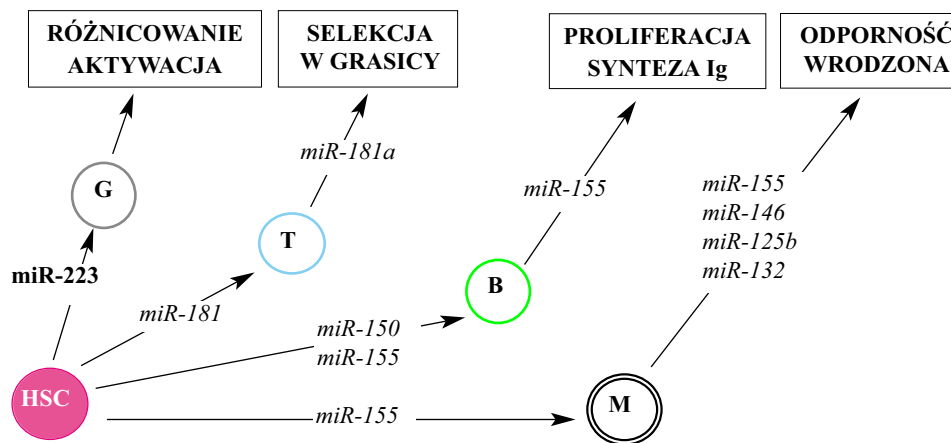




Rys. 30. Udział różnych miRNA w różnicowaniu komórek hematopoetycznych. (HSC) – hematopoetyczne komórki stem, (G) – komórki linii mieloidalnych, (T) – komórki limfopoezy T, (B) – komórki limfopoezy B, (M) – komórki linii monocytarno-makrocytarnych.

transkrypcji). Brak *miR223* powoduje przyspieszenie różnicowania promielocytów.

W białaczkach poziom *miR-223* jest znacznie obniżony. Udział różnych miRNA w różnicowaniu komórek hematopoetycznych przedstawia **rys. 30**.

L. ODPORNOŚĆ WRODZONA

Odporność nabyta (adaptacyjna) jest *de novo* tworzona w czasie życia i jest specyficzna dla każdego organizmu. Pojawia się dopiero u wyższych kręgowców. U niższych kręgowców istnieje „alternatywny” **system odporności adaptacyjnej** z dużym zestawem cząsteczek nazywanych **zmiennymi receptorami limfocytów** (*variable lymphocyte receptors* – VLR). Są one kodowane przez jeden lub dwa geny.

System odporności wrodzonej jest stale obecny u wszystkich zwierząt. Jest to pierwotny system obronny, konstytutywny i identyczny u wszystkich osobników gatunku, ale mało specyficzny w stosunku do patogenu.

Odporność wrodzona dzieli się na system komórkowy i system niekomórkowy.

1. SYSTEM KOMÓRKOWY ODPORNOŚCI WRODZONEJ

Powstanie odporności wrodzonej zależy od obecności mało specyficznych receptorów, które rozpoznają „molekularne formy związane z patogenami” – (*pathogen associated molecular patterns* – PAMP).

Receptory, które rozpoznają te formy molekularne (PRR), pozostają w konfiguracji zarodkowej i nie są

później modyfikowane. Odpowiedź na patogen jest natychmiastowa, ale pamięć na uprzednie zetknięcie się z antygenem nie jest obserwowana.

a. Rodzaje PAMP i PRR

Do szczególnie ważnych molekularnych form związanych z patogenami (PAMP) mogą być zaliczane między innymi:

- białko flagellina z witek bakterii,
- lipopolisacharyd (LPS) bakterii Gram-ujemnych,
- reszty cukrowe (mannozy lub fukozy),
- kwas teichoidowy z proteoglikanów bakterii Gram-dodatnich,
- peptydy zawierające N-formylo-metioninę,
- dwułańcuchowy RNA, składnik pewnych wirusów,
- sekwencje DNA wykazujące brak metylacji w wyspach CpG.

Do receptorów rozpoznających molekularne formy związane z patogenami (*pattern recognition receptors* – PRR) należą:

- Receptor rozpoznający sekwencję formylometionina – leucyna – fenyloalanina.
- Receptory komplementu (CR) wiążące mikroorganizmy opsonizowane C3b i C4b.

- Receptory mannozy. Rozpuszczalna forma tych receptorów aktywuje komplement.
- Receptory „wymiataczy” (*scavenger receptors*). Jest to 6 receptorów rozpoznających polimery anionowe i acetylowane LDL).
- Receptory LPS (lipopolisacharydu), Jest to kompleks CD14 i Lbp.p.
- Receptory podobne do Toll.p *Drosophila* (**TLR**).

Należy podkreślić, że ten system odporności wrodzonej rozpoznaje i oszczędza saprofityczne bakterie (na przykład w okrężnicy znajduje się stale 10^{14} mikroorganizmów). Likwidacja tych bakterii u myszy czyni przewód pokarmowy zwierzęcia nadmiernie wrażliwym na uszkodzenie.

Odporność wrodzona współdziała z odpornością adaptacyjną i powoduje jej aktywację:

- Komórki zwykle zawierają receptory antygenów obu typów odporności.
- PRR (jak na przykład TLR) są obecne na limfocytach T i B, na makrofagach, komórkach dendrytycznych i nabłonkowych. Ich ligacja aktywuje ekspresję cząsteczek CD28 i CD80.
- Komórki dendrytyczne stymulowane przez PAMP wydzielają cytokiny, jak IL2, IL6, IL23.
- PRR limfocytów B stymulowane przez PAMP zwiększają odpowiedź na antygen.
- Oponizowane patogeny silniej wiążą receptory.

b. Komórki limfoidalne wrodzonej odporności (ILC)

Komórki ILC są nieco podobne do komórek odporności adaptacyjnej Th, produkują podobne cytokiny i są regulowane podobnymi czynnikami transkrypcji.

Jednak czynniki transkrypcji, jak: Notch.p, Gata3.p, Nfil3.p, a zwłaszcza białka ID, hamują specyficznie różnicowanie komórek B i T, a stymulują powstawanie komórek ILC.

Cechami wspólnymi komórek ILC są:

- różnicowanie zależne od czynnika Id2.p,
- ekspresja łańcuchów γ receptorów cytokin,
- brak rearanżacji receptorów antygenów,
- są stabilizatorami homeostazy tkankowej i ochrony immunologicznej.

Komórki limfoidalne wrodzonej odporności dzielą się na trzy typy: ILC1, ILC2 i ILC3. Schemat różnicowania komórek ILC przedstawia **rys. 31**.

Komórki ILC1 produkują IFN γ i ich ostateczne różnicowanie zależy od czynników **Tbx2.p/T-bet.p**.

Komórki ILC1 nie posiadają na powierzchni kompleksu białek MHCII. W grupie ILC1 znajdują się komórki:

- **NK** (konwencjonalne komórki NK), których markerami u myszy są KlrB1C.p/NK1.1.p (lektyna komórek „zabójców” typu B1C) i ItgA2.p/DX5/CD49 (integryna $\alpha 2$). U ludzi markerami komórek NK są: KlrD1.p/CD94, Kit.p/CD117 i Ncam1.p/CD56 (białko adhezji komórek) oraz: CD56 (*neural cell adhesion molecule* – NCAM), CD16 (Fc γ RIII.p) i CD11b/Mac1.p (receptor komplementu C3R). Komórki NK są cytotoksycznymi komórkami ILC1 i pochodzą od progenitorów limfocytów (komórki CLP lub ALP).

Faktorami różnicowania są: Id2.p, Nfil3.p, T-bet.p/Tbx21.p i Eomes.p (eomesodermina). Rolą komórek NK jest usuwanie uszkodzonych komórek gospodarza, ale nie patogenów zewnątrzkomórkowych. Komórki NK rozpoznają komórki obce lub posiadające małą liczbę „własnych” MHC I. Nie posiadają markerów limfocytów B lub T, nie syntetyzują też białek TCR i CD3. Posiadają specyficzny kompleks receptora NK, w skład którego wchodzi:

- **NKR-P1A/CD161**, NKR-P1B i NKR-P1C/NK1.1 (lektyny c, typ P1B i P1C u myszy),
- **KIR** (*killer Ig like receptor*),
- **TLR** (*Toll like receptors*).

Te receptory rozpoznają MHC I komórek docelowych związane z antygenami EBV, CMV, HPV i z antygenami nowotworowymi.

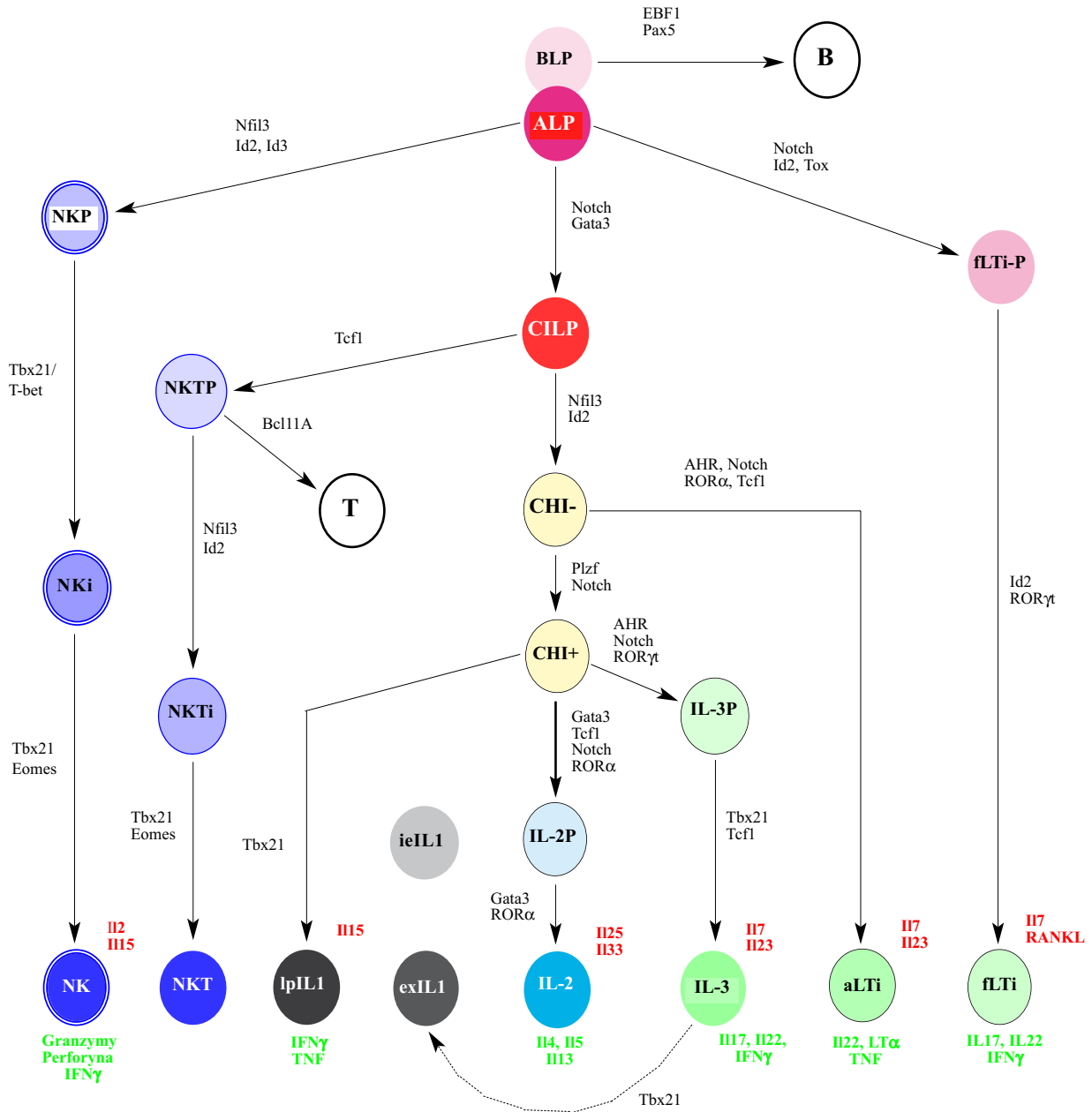
Komórki NK są aktywowane przez IFN γ oraz IL2 i same efektywnie produkują IFN γ .

- **Komórki NKT** wykazują mieszany fenotyp komórek NK (CD94⁺, CD161⁺, CD16⁺, granzymy) i limfocytów T (wariant TCR, białka odporności wrodzonej, FasLG⁺, CD3⁺, Kit⁺/CD127 i rearanżację genu TCR γ).

Komórki NKT różnicują z prekursorów **CILP/NK** w grasicy. Obecność czynnika Bcl11b.p stymuluje różnicowanie limfocytów T.

Obecność Id2.p, Nfil3.p, Tbx21.p/T-bet.p i Eomes.p stymuluje tworzenie limfocytów NKT. NKT mogą rozpoznawać LPS, antygeny glikofosfolipidowe i glikolipidowe prezentowane przez MHC I lub CD1d. Komórki NKT stanowią do 40% limfocytów wątroby, do 25% limfocytów szpiku i około 15% grasicy. NKT wydzielają cytokiny IFN γ , TGF β , IL4, IL10 i mają aktywność cytotoxiczną. Hamują silnie różnicowanie komórek Th1, ale aktywują Th2. W pewnym stopniu przeciwdziałają autoimmunologicznej destrukcji tkanek.

- **IE-ILC1** (w nabłonkach jelitowych i migdałkach) są stymulowane przez IL12 i wówczas produkują IFN γ , perforynę i granzymy (są komórkami cytotoksycznymi głównie dla bakterii *Salmonella*



Rys. 31. Różnicowanie komórek limfoidalnych odporności wrodzonej (ILC).

(**BLP**) – progenitor limfocytów B, (**ALP**) – progenitor wielu komórek limfoidalnych, (**CILP**) – wspólny prekursor komórek ILC, (**CHI-**) – komórki CHILP Zbtb16.p/Plzf.p⁺, (**CHI+**) – komórki CHILP Zbtb16.p/Plzf.p⁺, (**NKP**) – prekursorzy komórek NK, (**NKi**) – niedojrzałe komórki NK, (**lpIL1**) – LP-ILC, (**ieIL1**) – komórki IE-ILC1, (**exIL1**) – komórki Ex-RORc⁺ ILC1, (**IL-2**) – komórki ILC2, (**IL-3**) – komórki NCR⁺ ILC3, (**NKT**) – komórki NKT, (**aLTi**) – komórki indukujące tworzenie tkanki limfatycznej dorosłych, (**fLTi**) – komórki indukujące tworzenie tkanki limfatycznej płodowej. (**T**) – limfocyty T, (**B**) – limfocyty B.

Napisy czarne – czynniki transkrypcji regulujące różnicowanie komórek, **napisy czerwone** – cytokiny stymulujące komórki, **napisy zielone** – cytokiny wydzielane przez komórki.

i *Toxoplasma*). Tworzenie IE-ILC1 zależy od T-bet.p/Tbx21.p i Eomes.p.

- **LP-ILC** – Komórki ILC w błonach właściwych (lamina propria) są stymulowane przez Il15 i Il18, produkują INF γ , nie tworzą granzymów i perforyny, są komórkami typu limfocytów pomocniczych. Powstają z komórek CHILPS (Plzf.p⁺) przez działanie Tbx21.p/T-bet.p.
- **Ex-RORc⁺ ILC1**. Są pochodnymi komórek ILC3 ROR γ t⁺, które pod wpływem faktora Tbx21.p/T-bet.p tracą ekspresję ROR γ t.p. ROR γ t.p jest sierocym receptorem jądrowym, pokrewnym receptorowi kwasu retinolowego ROR α . Gen RORC koduje receptor ROR γ t.p.

Komórki CHILP (*helper like ILP*) pochodzą od komórek ALP, które stymulowane faktorem Gata3.p i Notch1.p różnicują do **komórek CILP** (wspólny ILC prekursor). Komórki CILP są prekursorami wszystkich komórek ILC (wyjątkiem są omówione wyżej komórki NK i NKT).

Komórki CILP pod wpływem faktora Nfil3.p (faktor jądrowy regulowany interleukiną Il3) i Id2.p różnicują do komórek CHILP – Zbtb16.p/Plzf.p⁺.

Komórki CILP pod wpływem czynników, jak: AHR (*aryl hydrocarbon receptor*), Notch1.p, ROR γ t.p i Tox.p różnicują do komórek LTi należących do grupy komórek ILC3.

Gen **TOX** (*thymocyte selection HMG*) koduje białko aktywujące różnicowanie SP tymocytów do komórek SP CD8⁺, ale obniżające tworzenie SP CD4⁺ tymocytów.

Pod wpływem ekspresji białka Zbtb16.p/Plzf.p komórki CHILP-Zbtb16.p/Plzf.p⁺ różnicują do komórek CHILP-Zbtb16.p/Plzf.p⁺, które są bezpośrednimi prekursorami komórek ILC2.

Markerami komórek CHILP są: Il7R α ⁺, Lin[−], Id2⁺, integryny $\alpha 4\beta 7$ ⁺, Kit/CD117⁺, ROR γ t.p⁺ i Zbtb16.p/Plzf.p⁺ (lub Zbtb16.p/Plzf.p⁺).

Komórki ILC2 znajdują się w narządach limfatycznych tkanki tłuszczowej, w limfatycznych węzłach sieci, w jelitach, śledzionie, wątrobie, płucach i w skórze.

Prekursory komórek ILC2 powstają z komórek CHILP-Zbtb16.p/Plzf.p⁺ po stymulacji cytokinami wydzielanymi przez komórki nabłonkowe: Il25, Il33, Tslp.p (limfopoetyna komórek zrębu grasicy), interleukina 7 i TL1A.p/Tnfsf15.p.

Tnfsf15.p jest białkiem superrodziny ligandów TNF, obecny jest tylko w komórkach nabłonkowych.

Limfocyty T posiadają „receptor śmierci” – Tnfrsf25.p, białko, które ma znaczenie w apoptozie autoreaktywnych limfocytów T.

Faktorami transkrypcji koniecznymi dla tworzenia prekursorów ILC2P i dojrzających komórek ILC2 są Notch2.p, Gata3.p, ROR α .p i Tcf7.p/Tcf1.p.

Faktor Tcf7.p/Tcf1.p aktywuje geny komórek ILC2, a hamuje ekspresję genów kateniny $\beta 1$ (CTN-NB1) i TCF7L2.

Markerami powierzchni limfocytów ILC2 są Il7R/CD127, CD90/Thy1.p, Il2RA/CD25, Il33R pojednostka ST2.

Il33 jest prozapalną cytokiną, która stymuluje różnicowanie do regulatorowych, indukowanych komórek T (**iTreg**).

Limfocyty ILC2 nie produkują granzymów i perforyn (są komórkami typu ILC – helper). Mają na powierzchni kompleks MHCII i mogą prezentować antygeny naiwnym komórkom T CD4⁺. Markerem dojrzających komórek ILC2 jest lektyna, a komórek „killer” **Klrg1.p**.

Po stymulacji komórki ILC2 produkują cytokiny T_H2: Il3, Il4, Il5 Il6, Il13 i ampiregulinę (Areg.p).

Do **grupy ILC3** zaliczane są zarówno komórki LTi, jak i komórki NCR – ILC3.

Komórki LTi (*lymphoid tissue inducer cells*) dzielą się na płodowe komórki LTi (**fLTi**) i na komórki LTi organizmu dorosłego (**aLTi**) lub **LTi-L** (LTi-like).

Komórki fLTi powstają z prekursorów ALP, które różnicują do prekursorów fLTi (**fLTiP**) pod wpływem białek Id2.p, Tox.p i Notch.p. Te prekursory pod wpływem Id2.p i ROR γ t.p mogą różnicować do dojrzających komórek fLTi.

Markerami mysich komórek fLTi są Kit⁺, Il7R α ⁺, CD4⁺ i ROR γ t⁺. Pod wpływem RankL.p i Il7 komórki produkują Il12, Il22, RankL.p i LT α 1 β 2.

fLTi są niezbędne do tworzenia węzłów chłonnych, kępek Peyera i migdałków.

Komórki aLTi powstają z komórek CHILP Plzf.p⁺/Zbtb16.p pod wpływem czynników AHR, Notch.p, Tox.p, i ROR γ t. Stymulowane Il7 i Il25 produkują Il22, TNF i limfotoksyny.

Markerami aLTi są: CXCR5, CCR7, Il7R/CD127, limfotoksyny, OXOL, TRANCE. Wiążą komórki T pamięci CD4⁺.

Komórki NCR-ILC3 odgrywają dużą rolę w protekcji nabłonków przewodu pokarmowego przed bakteriami i drożdżakami (*Candida albicans*). Różnicują

z komórek CHILP $Zbtb16.p^+/Plzf.p^+$ pod wpływem Notch.p i ROR γ t. W pierwszym etapie różnicowania CHILP tworzą się komórki NCR $^-$ -ILC3, które pod wpływem stymulacji T-bet/Tbx21.p różnicują do komórek NCR $^+$ -ILC3.

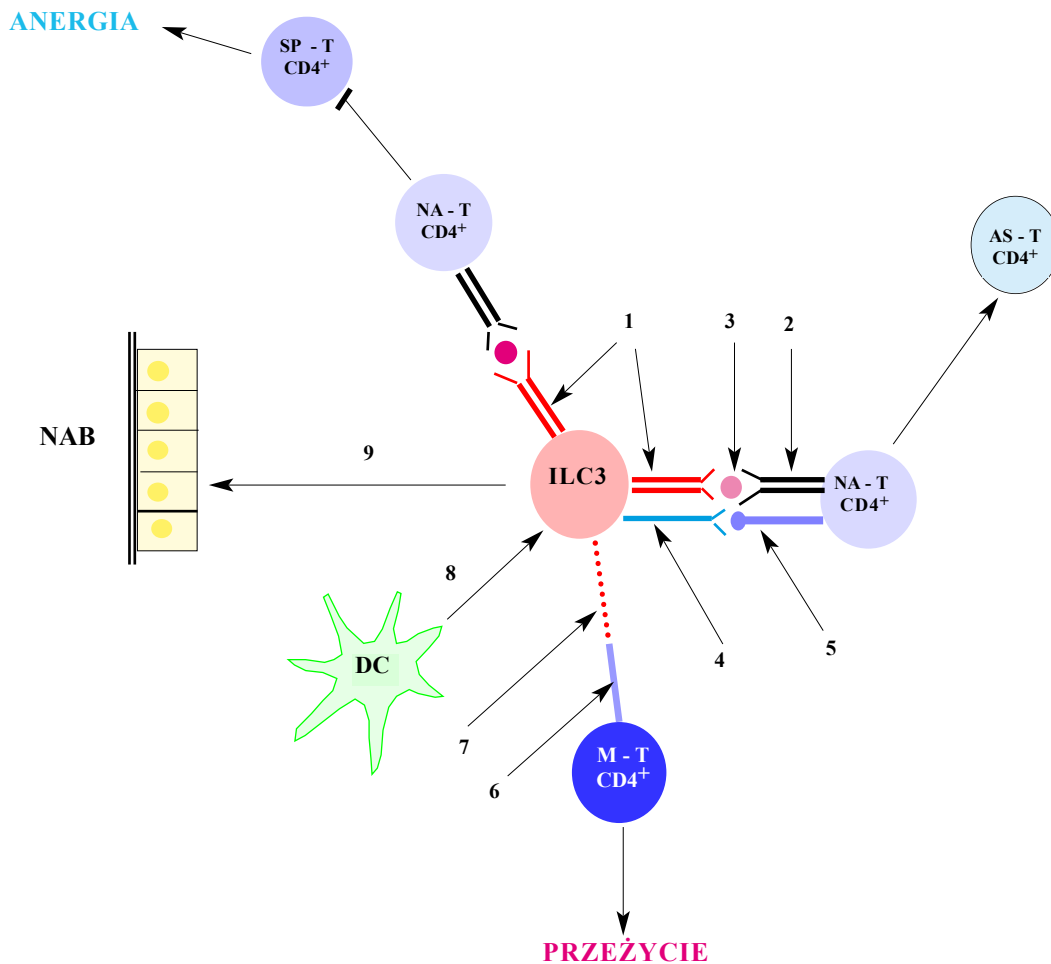
Komórki NCR $^+$ -ILC3 są w blaszce podstawowej w migdałkach, kępkach Peyera i macicy, nie wydzielają czynników cytotoksycznych, ale produkują białka antibakteryjne. **Markerami** tych komórek są: ROR γ t $^+$, NCR1.p/NKp46 $^+$, Klrb1C.p/NK1.1 $^{-/lo}$, CCR6 $^-$.

NCR $^+$ -ILC3 pod wpływem Il7 i Il23 produkują interleukiny Il17, Il22 i TNF γ . Pod wpływem T-bet.p/Tbx2.p komórki NCR $^+$ -ILC3 różnicują do komórek

exROR γ t-ILC1. Funkcje komórek NCR $^+$ -ILC3 przedstawia rys. 32.

c. Sygnalizacja przez receptory typu TOLL (TLR)

Białka Toll.p odgrywają rolę receptorów komórkowych we wczesnym etapie embriogenezy *D. melanogaster*. Są syntetyzowane już w zapłodnionym jaju jeszcze przed tworzeniem syncytium blastodermalnego. Ligandem jest **białko spatze** kodowane przez komórki linii zarodkowej matki. Receptory Toll.p obecne w embrionie *Drosophila* odgrywają rolę białek morfogenetycznych, które determinują oś grzbietowo-brzuszną owada.



Rys. 32. Funkcje komórek NCR $^+$ -ILC3. Komórki oddziałują na „naiwne” limfocyty T-CD4 (NA – T CD4 $^+$), stymulując powstawanie i proliferację komórek specyficznych dla antygenów (AS – T CD4 $^+$), hamując komórki rozpoznające bakterie saprofityczne (SP – T CD4 $^+$) i aktywując przeżycie komórek pamięci (M – T CD4 $^+$), (NAB) – nabłonki, (DC) – komórki dendrytyczne. (1) – MHC II komórek ILC3, (2) – receptory TCR limfocytów „naiwnych” Th CD4 $^+$, (3) – antygen, (4) – receptory CD80, CD86, CD40/Tnfrsf5.p komórek ILC3, (5) – ligandy CD28 i CD40L „naiwnych” komórek T CD4 $^+$, (6) – receptory Tnfrsf8.p/CD30 i Tnfrsf4.p/OX40 komórek M – T CD4 $^+$, (7) – Tnfrsf8.p/CD30L i Tnfrsf4.p/OX40L, (8) – Il23, (9) – Il22.

Receptory Toll.p wiążą w cytoplazmie białko adaptorowe **tube.p**, które z kolei wiąże kinazę białkową **pelle.p**. Przez następne białko adaptorowe **dTraf6.p** aktywowany jest czynnik transkrypcyjny **dorsal.p** nieco podobny do białek ludzkiego czynnika NFκB. Aktywacja polega na wyciszeniu inhibitora Cactus.p – białka typu NfκBIA.p/IκB.A.p – **rys. 33**.

U ludzi opisano około 12 białek podobnych do receptora Toll.p, które znajdują się w błonach różnych komórek (*Toll.p like receptors* – **TLR**).

Najogólniej są one zaangażowane w procesach embriogenezy, proliferacji i przeżycia komórek, w odpowiedzi na stres, ale także w zjawiskach odporności nabytej i wrodzonej.

W fagocytach TLR lokują się głównie na błonach fagosomów, gdzie rozpoznają struktury PAMP patogenów. TLR są receptorami typu PRR.

TLR2 i **TLR6** wiążą peptydoglikany bakterii Gram-dodatnich. **TLR3** rozpoznaje wirusowe dsRNA.

TLR4 wiąże Ly96.p/Md2.p (białko, które bierze udział w neutralizacji endotoksyn), Lbp.p (białko wiążące LPS) i CD14. Kompleks rozpoznaje lipopolisacharydy bakterii Gram-ujemnych, siarczan heparanu i kwas hialuronowy. **LPS** jest rozpoznawany przez kompleks CD180 i białko Ly84.p/Md1.p zawierające domenę powtórzeń leucynowych LRR.

TLR5 rozpoznaje i wiąże białko flagelliny bakterii,

TLR6 rozpoznaje diacylowane lipopeptydy *Mycobacterium*, **TLR7** receptor jest stale obecny w aktywowanych limfocytach B, komórkach dendrytycznych i w monocytach. Rozpoznaje on (wspólnie z **TLR8**) RNA jednołańcuchowe, głównie wirusowe.

Domena zewnątrzkomórkowa białka **TLR7** jest bardzo podobna do takiej domeny Toll.p, ale domena cytoplazmatyczna jest typu receptora III i posiada sekwencję **TIR**. Ta sekwencja TIR wiąże białko adaptorowe **MyD88.p** (**rys. 34**).

Białko MyD88.p przyłącza kinazy białkowe typu **Irak1.p** i **Irak4.p** (*III receptor associated kinase*) i białko **Traf6.p** (*TNF associated factor 6*).

Wielki kompleks białkowy wiążący się z domeną cytoplazmatyczną TLR7 zawiera kinazy **Map3K.p** (pierwszy enzym z kaskady MAPK) i **Tak1.p** (*TGFβ activated kinase*) i dwa białka towarzyszące **Tab1.p** i **Tab2.p** (które są też aktywatorami kinazy Map3K7.p/Tak1.p) (**rys. 34**).

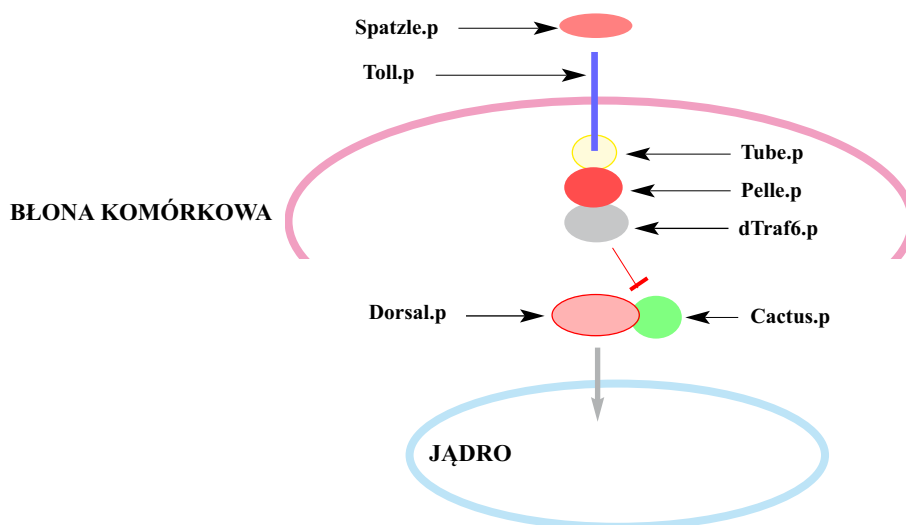
TLR9 rozpoznaje niemetylowane sekwencje wyspy CpG pochodzenia bakteryjnego, a **TLR11** wiąże infekcyjne pierwotniaki.

Szczególnie białka Traf.p są przypisane do specyficznych TLR i wszystkie (poza Traf3.p) aktywują faktory AP1 i NFκB.

Białka **Traf1.p** i **Traf2.p** kompleksują z receptorem Tnfrsf1B.p/Tnfr2.p, białko **Traf3.p** – wiąże CD40 (ligand CD154) i białko Lmp1.p wirusa Epsteina-Barr (EBV).

Białko **Traf4.p** jest produkowane w wielkich ilościach w komórkach raka piersi. Jego poziom jest także wysoki w komórkach somatycznych stem (Der-ASC i Neu-ASC).

Białko **Traf5.p** może aktywować kompleks NFκB po stymulacji przez CD40 i CD27.



Rys. 33. Sygnalizacja Toll.p receptora w zarodku *Drosophila*. (**Toll.p**) – receptor błonowy komórki jajowej, (**Tube.p**) – białko adaptorowe, (**Pelle.p**) – kinaza białkowa, (**dTraf6.p**) – adaptor (*TNF associated factor*), (**Cactus.p**) – homolog NfκB-IA.p/IκB.p, (**Dorsal.p**) – homolog kompleksu NFκB.

IRAK (kinazy serynowo-treoninowe) mogą fosforylować i aktywować białka Traf6.p i kinazy Syk.p i Tak1.p.

Syk.p kinaza (podobna do kinazy Src.p) aktywuje kinazy PI3K i Akt1.p i zwiększa czas przeżycia komórek.

Tak1.p kinaza fosforyluje i reguluje aktywność kinaz: Map3K1.p, IkbkA.p/IkbkB.p, Chuk.p/IkbkA.p/IkkA.p, Mapk8.p/Jnk.p i Mapk14.p.

Faktor transkrypcyjny **NFKB** powoduje silną odpowiedź antyapoptotyczną i prozapalną, aktywuje też geny ważne dla nowotworzenia jak: Il5, ICAM1, TNF, Il15RA (w szpiczakach), CD86, CD40/TNFRSF5, LSP1 (w chłoniakach), TIMP1, STAT5a i CCR7 (w białaczkach), białka kompleksu NFKB, FOXG1/BF1, BIRC2/cIAP, CD44 (koduje receptor kwasu hialuronowego), a także geny IER1/IEX1, TRAF1 i BCL2L1/BCLXL.

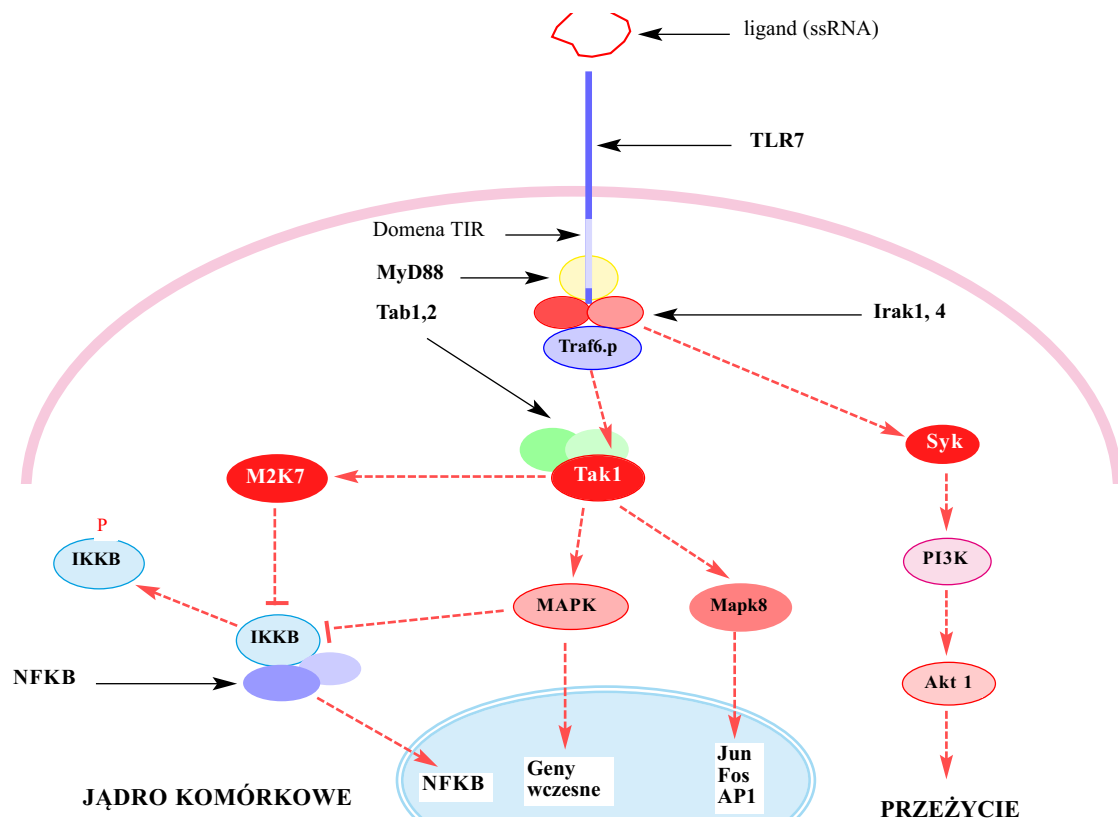
d. Inne rodzaje odporności komórkowej

STAN ZAPALNY

Stan zapalny obejmuje wszystkie czynniki antybakteryjne i wszystkie inne mechanizmy działające w zainfekowanej tkance. Zasadniczymi objawami stanu zapalnego tkanki są:

- zaczerwienienie,
- obrzęk,
- miejscowe podwyższenie temperatury,
- ból,
- upośledzenie funkcji.

Symptomy lokalne procesu zapalnego zależą głównie od aktywacji komórek tucznych, podczas gdy odpowiedź uogólniona organizmu zależy w znacznie większym stopniu od funkcji granulocytów zasadochłonnych.



Rys. 34. Sygnalizacja z TLR7 w limfocytach B. TLR7 rozpoznaje ssRNA. (**Irak.p**) – kinaza związana z receptorami, (**MyD88.p** i **Traf6.p**) – białka adaptorowe, (**TAB**) – białka wiążące Tak1.p, (**Tak1.p**) – kinaza zależna od TGFβ, (**M2K7**) – Map2k7.p, (**Syk.p**, **PI3K**, **Akt1.p**, **Mapk8.p**) – kinazy białkowe, (**NFKB**, **Fos.p**, **Jun.p** i **API**) – faktory transkrypcji, (**IKKB**) – Ikbkb.p inhibitor cytoplazmatyczny NFKB.

Kwaśny odczyn wysięku zapalnego aktywuje kalikreinę i bradykininę. **Bradykinina** stymuluje komórki tuczne do wydzielania histaminy i heparyny.

Aktywacja **fosfolipazy 2A** podwyższa syntezę kwasu arachidynowego, prostaglandyn, leukotrienów a także innych mediatorów stanu zapalnego.

Zwiększenie aktywności **komplementu** prowadzi do gromadzenia się faktorów anafilaksji, jak C5a, C3a i C4a i do chemotaksji komórek, takich jak leukocyty, monocyty, bazofile i eozynofile.

W miejscach infekcji tworzą się ogniska zapalne zawierające znaczną ilość limfocytów T i B, wielkie ilości przeciwciał, pirogenów (jak na przykład IL1), lizozymu i fibryny.

FAGOCYTOZA

Najważniejszymi komórkami fagocytyującymi są granulocyty obojętnochłonne (neutrofile lub mikrofagi) i fagocyty jednojądrzaste.

W dojrzałych **neutrofilach** eliminowane są mitochondria i większość retikulum endoplazmatycznego. Jądra stają się segmentowane. Z aparatu Golgiego powstają charakterystyczne ziarnistości, które zawierają enzymy trawienne, jak kwaśne hydrolazy, proteazy) i różne faktory antybakteryjne (**bakterycydy** – jak lizozym, laktoferyna, peroksydaza). Źródłem energii w tych procesach jest glikoliza.

Makrofagi powstają z monocytów obwodowej krwi i z histocytów tkankowych. Monocyty są komórkami aktywnie fagocytyującymi, podobnie jak histocyty.

Pod wpływem stymulacji procesem zapalnym **histocyty** aktywnie proliferują. Są komórkami żyjącymi przez długi okres i mogą odgrywać szczególną rolę w chronicznych zakażeniach.

Makrofagi należą dodatkowo do bardzo ważnych komórek prezentujących antygeny (APC).

Do mechanizmów pozwalających fagocytom na gromadzenie się w miejscach infekcji mogą być zaliczane:

- **diapedeza** przez ściany naczyń (proces inicjowany przez mediatory zapalenia),
- **chemotaksja** spowodowana chemoatraktantami (produktami komórek gospodarza jak peptydy komplementu) lub produktami metabolizmu bakterii.

Pochłanianie patogenów może zostać dokonane przy pomocy:

- **pinocytozy** (przez invaginację błony komórkowej),

- **endocytozy** zależnej od receptorów (specyficzne wielkocząsteczkowce są internalizowane po związaniu receptorów membranowych),
- **fagocytozy** przez wchłanianie całej patogennej bakterii. Tworzące się „**fagosomy**” są od 10 do 20 razy większe od endosomów. **Opsoniny** są najczęściej ligandami dla receptorów obecnych w błonie komórkowej fagocyту.

Patogeny zostają uwięzione w fagosomach. Następnie **lizosomy** komórki łączą się z fagosomami i wprowadzają do ich wnętrza swoją zawartość enzymatyczną (tworzą się wówczas „**fagolizosomy**”).

W tych fagolizosomach bakterie zostają zabite i strawione. Ich pozostałości są usuwane na zewnątrz komórki, a małe fragmenty białek bakterii łączą się z cząsteczkami kompleksu MHCII i są ekspozowane na powierzchni błon komórkowych (jest to prezentacja antygenów).

Wewnątrzkomórkowe zabijanie bakterii jest dokonywane w ciągu 10 do 30 minut od wnikięcia bakterii do komórki i może być procesem zależnym od obecności tlenu i niezależnym od niego:

- W procesie niezależnym od obecności tlenu białka kationowe permeabilizują błony bakterii, następnie laktoferyna wiąże ślady jonów żelazowych. Niskie pH aktywuje hydrolazy kwaśne, nukleazy, glikozydazy i fosfolipazy.
- Zabijanie „tlenowe” silnie podwyższa zużycie tlenu. Oksydaza NADPH redukuje cząsteczkę tlenu ($\text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2^-$) z tworzeniem rodników wodorotlenowych ($\text{OH}^\cdot$), a dysmutaza nadtlenkowa wytwarza H_2O_2 . Mieloperoksydaza (Mpo.p) katalizuje tworzenie toksycznych pochodnych halogenowych składników komórek bakteryjnych.

2. SYSTEM POZAKOMÓRKOWY ODPORNOŚCI WRODZONEJ

a. Odporność gatunkowa i indywidualna

Odporność gatunkowa

Istnieje wiele mechanizmów i struktur dziedzicznych w obrębie gatunków, które chronią osobniki tych gatunków przed zarażeniem przez patogen i przed zachorowaniem. Do tych dziedzicznych mechanizmów można zaliczyć:

- brak receptorów komórkowych patogenu (jak na przykład wirusów) może powodować zupełny brak wrażliwości pewnych komórek lub całego organizmu na zakażenie,

- brak receptorów komórkowych rozpoznających toksyny patogenu może pozwalać na infekcję, ale obniża jego wirulencję i zmienia przebieg choroby,
- temperatura ciała pewnych gatunków znosi lub ogranicza możliwość rozwoju patogenu.

Odporność indywidualna

W obrębie gatunku pewne osobniki są mało podatne na patogen. Bardzo różne czynniki mogą tu odgrywać rolę:

- czynniki zależne od wieku lub płci (poziom hormonów, wrażliwość na stres, liczba komórek w stanie senescencji),
- polimorfizmy genetyczne i ich selekcja przez patogeny środowiska (jak zależność chorób zakaźnych od grup krwi, selekcja heterozygot mukowiscydozy, talasemii lub anemii sierpowatej),
- ilość i jakość pożywienia,
- choroby współistniejące, jak AIDS lub cukrzyca,
- długotrwałe terapie (kortykosteroidy, cytostatyki lub antybiotyki).

b. Odporność „anatomiczna”

Dziedziczne własności komórek i substancji międzykomórkowej tkanek nabłonkowych, które oddzielają organizm od świata zewnętrznego, stanowią o jego odporności na możliwą inwazję patogenów:

Skóra: bakterie nie mogą penetrować skóry nieuszkodzonej. Bakteryjne komensale tworzą kwas mlekowy i propionowy, który zapobiega inwazji.

Dodatkowo w wydzielinie gruczołów łojowych jak i w pocie są obecne pewne czynniki antybakteryjne.

Błony śluzowe: w śluzie jest znaczna ilość czynników antybakteryjnych (jak na przykład wydzielane IgA lub lizozym), a także wiele komórek fagocytyzujących. Bakteryjne saprofity jelit hamują rozwój bakterii patogennych.

Układ oddechowy: błony śluzowe wychwytyują wdychane bakterie, a nabłonek rzęskowy, kaszel i kichanie usuwa je z dróg oddechowych.

W płucach są obecne pewne ilości przeciwciał IgA i lizozymu. Fagocyty znajdujące się na powierzchni nabłonków eliminują cząsteczki kurzu i bakterie przez fagocytozę.

Układ pokarmowy: ogromna ilość flory saprofitycznej jelit konkuruje z patogenami. Bardzo niskie pH soku żołądkowego lub bardzo wysokie pH dwunastnicy, jak i wysokie stężenie soli kwasów żółciowych i lizozymu w płynie jelitowym dodatkowo hamują wzrost bakterii.

Przewody moczowo-płciowe: moc jest kwaśny i sterylny i przemywa stale powierzchnię cewki moczowej i pęcherza moczowego.

W nabłonku pochwy bakterie *Lactobacillus* produkują stale znaczne ilości kwasu mlekowego.

Spojówki: łyzy zawierają lizozym.

c. Substancje antybakteryjne

Lizozym jest mukopolisacharydową hydrolazą. Jest on obecny w surowicy, ślinie, pocie i we łzach. Jest faktorem litycznym bakterii, zwłaszcza po aktywacji komplementu.

Białka zasadowe (jak na przykład histony lub pewne polipeptydy tkankowe) uszkodzają struktury błon komórkowych bakterii.

Transferyna lub **laktoferyna** są obecne w surowicy i w przestrzeniach międzykomórkowych. Hamują one wzrost bakterii poprzez sekwestrację jonów żelazowych.

Peroksydaza jest obecna w ślinie, neutrofilach i w tkankach. Powoduje letalną oksydację bakterii.

Fibronektyna w surowicy i na powierzchni błon śluzowych odgrywa rolę w opsonizacji bakterii.

Białko surfaktantu A i D odgrywa rolę w opsonizacji bakterii (głównie w płucach).

Interferony wiążą się z zainfekowanymi komórkami i hamują replikację wirusów.

Defensyny są obecne na powierzchni nabłonków. Pewne defensyny są wydzielane przez same nabłonki, inne przez neutrofile lub limfocyty Th17. Defensyny są to krótkie (29 do 42 aminokwasów) oligopeptydy, które atakują błony komórkowe patogenu (na przykład przez tworzenie wielkich porów).

Defensyny mogą wpływać na kolor sierści myszy lub psów, naśladując w aktywności **MSH** (*melanocyte stimulatory hormone*).

Wiązanie receptorów typu Toll.p (TLR) bardzo silnie stymuluje syntezę defensyn.

Kryptydyny są peptydami antybakteryjnymi gromadzącymi się w obrębie krypt jelitowych, nie niszcząc flory saprofitycznej

Katelicydyny są peptydami produkowanymi przez makrofagi, neutrofile i komórki nabłonków (w skórze i układzie moczowym). Witamina D stymuluje syntezę katelicydyn przez makrofagi. Katelicydyny są szczególnie skuteczne w zabijaniu prątków *Mycobacterium tuberculosis*, a także innych bakterii.

d. System komplementu

System komplementu jest enzymatycznym systemem surowicy krwi zawierającym dziewięć głównych składników białkowych i odgrywającym ważną rolę

w procesach fagocytozy, chemotaksji, opsonizacji, zapalenia i w procesie lizy komórek patogenów.

Aktywacja systemu komplementu odbywa się drogą „klasyczną” lub drogą „alternatywną”.

Droga klasyczna

Droga klasyczna stanowi kaskadę proteaz surowicy aktywujących konwertazę C3. Jest ona inicjowana przez obecność kompleksów antygen – przeciwciało, przez RNA wirusowy, przez bakterie lub przez mykoplazmy.

Do tych inicjatorów przyłączają się białka tworzące **kompleks składnika C1** (kolejno C1q, C1r i C1s). Tworzenie aktywnego kompleksu C1 może być hamowane przez **inhibitor C1**.

Aktywny składnik C1 aktywuje **kompleks składnika C4** (przez proteolizę C4β do C4b). Ten stopień może być zahamowany przez **proteazę serynową F-J** przecinającą C4b.

Składnik C1s aktywuje **składnik C2** przez cięcie do aktywnego peptydu C2a. Białko membranowe Daf.p (*decay accelerating factor*) jest inhibitorem, który usuwa C2a.

C4b i C2a aktywują proteolitycznie **składnik C3** i włączają do kompleksu. Komponenty C4b, C2a i C3b przyłączają i aktywują **składnik C5**. C5α jest cięty do

peptydów **C5a** (**anafilaksyny** i faktora chemotaktycznego) i **C5b** (który z C6, C7, C8 i C9 tworzy **kompleks atakujący błonę komórkową** patogenu).

Liza komórek może być zahamowana przez inhibitor CD59/Hrf20.p.

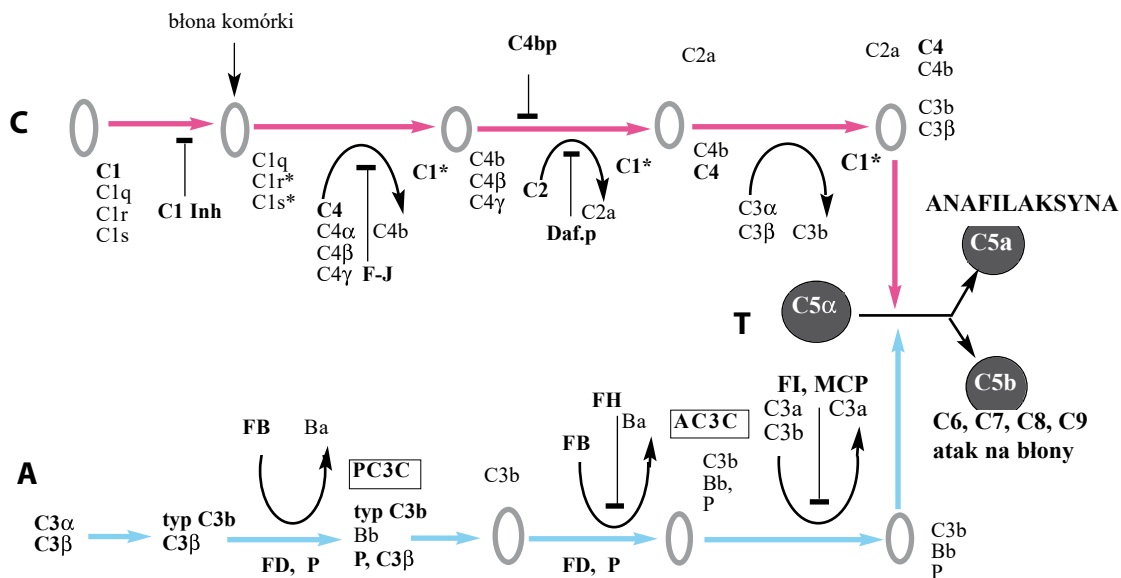
Droga alternatywna

Droga alternatywna jest inicjowana przez niezależne od błon komórkowych przecięcie składnika C3 do peptydu podobnego do C3b. Ten peptyd wiąże **faktor B (FB)** i w obecności proteazy serynowej (**faktor D – FD**) przecina FB na fragmenty Ba i Bb.

Bb wraz ze składnikiem C3 tworzą „**starterową konwertazę C3**”. W tym kompleksie C3α jest cięty do C3a i C3b. Kompleks C3b i Bb stanowi „**amplifikującą konwertazę C3**”, którą stabilizuje **properdyna**.

Powierzchnia komórki patogenu wiąże nadmiar peptydu C3b, który przyłącza **faktor B (FB)** i **proteazę D (FD)** i w obecności properdyny tworzy związany z błonami kompleks Bb – C3b.

Tworzenie i amplifikacja kompleksu konwertazy są hamowane przez **faktor H** (który usuwa Bb z kompleksu). **Faktor I** i membranowy **kofaktor MCP** degradują peptyd C3b.



Rys. 35. Aktywacja komplementu. (C) – droga klasyczna. (C1 Inh) – C1 inhibitor, (F-J) – inhibitor C4b, (C4bp) – inhibitor C4b, (Daf.p) – inhibitor C2a (*decay accelerating factor*), (C1*) – aktywowany składnik C1. (A) – droga alternatywna, (FD) – proteaza tnąca faktor B (FB), (FH) – inhibitor Bb, (FI i MCP) – kofaktory membranowe, inhibitory C3b, (PC3C) – starterowa konwertaza C3, (AC3C) – amplifikująca konwertaza C3, (P) – properdyna, stabilizuje kompleks Bb/C3b, (T) – droga egzekucyjna działania komplementu.

Kompleks Bb – C3b wiąże składnik C5 α (poprzez C3b) i przecina go (enzym Bb) do **C5a (anafilaksyny)** i **C5b** – faktora inicjującego kompleks atakujący błony komórkowe.

Anafilaksyna powoduje uwolnienie histaminy z granulocytów zasadochłonnych, co powoduje skurcz mięśni gładkich i zwiększa przepuszczalność ścian naczyń. C5a jest ponadto silnym czynnikiem chemotaktycznym dla wędrujących komórek, jak leukocyty, monocyty i granulocyty zasadochłonne.

Różne drogi aktywacji komplementu, klasyczna, alternatywna oraz egzekucyjna zostały przedstawione na **rys. 35**.

Krótką charakterystykę czynników białkowych systemu komplementu została przedstawiona w **tabeli I**.

DROGA PsmB5.p/Mbl.p

PsmB5.p/Mbl.p jest białkiem ostrej fazy syntetyzowanym w wątrobie, które może aktywować system komplementu bezpośrednio. PsmB5.p/Mbl.p wiąże reszty mannozowe, które są obecne w błonach komórkowych bakterii i jest złączony z proteazami serynowymi Masp1.p i Masp2.p.

Proteazy Masp.p przecinają niskocząsteczkowe oligopeptydy tworzące aktywny kompleks konwertazy C4b – C2b – C3. Najogólniej białka PsmB5.p/Mbl.p, Masp1.p i Masp2.p są odpowiednio podobne do białek C1q, C1r i C1s

RECEPTORY SYSTEMU KOMPLEMENTU

Receptory komórkowe małych oligopeptydów komplementu, takich jak C3a, C4a lub C5a, mogą natychmiast po związaniu liganda inicjować reakcję anafilotoksyczną i stymulować odpowiedź chemotaktyczną komórek:

CR1/CD35 receptor ulega ekspresji w granulocytach obojętnochłonnych, kwasochłonnych, monocytach, makrofagach, w komórkach tucznych, w limfocytach T i B oraz w erytrocytach (u naczelnych).

Receptory wiążą C3b – Bb lub C4b kompleksy komplementu. Ponadto receptory CR1 mogą aktywować fagocytozę.

Tabela I. Składniki i faktory ludzkiego systemu komplementu

Białko	Mcz	Lokus genu
C1q	460 k	1p34.1-36.3
C1r	83 k	12p13
C1s	83 k	12p13
C1-Inh	105 k	11q
C4 (α , β , γ)	200 k	6p
C4bp	550 k	1q4
Daf.p/CD55	70 k	1q
F-J	100 k	4q2
C3	185 k	19p
FH		1q
FB		6p
P		Xp11.23-21
MCP/CD46		1q
C5 (α , β)	190 k	9q32-34
C6	128 k	5q13
C7	120 k	5q13
C8 (α , β , γ)	163 k	1p3.2
C9	79 k	5p13
Hrf20.p/CD59	19 k	1p13-14

CR2/CD21 receptor jest syntetyzowany w limfocytach B i w dendrytycznych komórkach w grudek chłonnych. Wiąże on różne fragmenty depolimeryzacji składnika komplementu C3b, a także wirus Epsteina-Barr. Aktywacja receptora CR2 wzmacnia odpowiedź limfocytu B na stymulację antygenem.

ItgaM.p/CD11b i **ItgaX.p/CD11c** integryny tworzą z integrynami Itgb2.p receptory „inaktywowanego” składnika komplementu (iC3b) i są znane jako receptory CR3 i CR4.