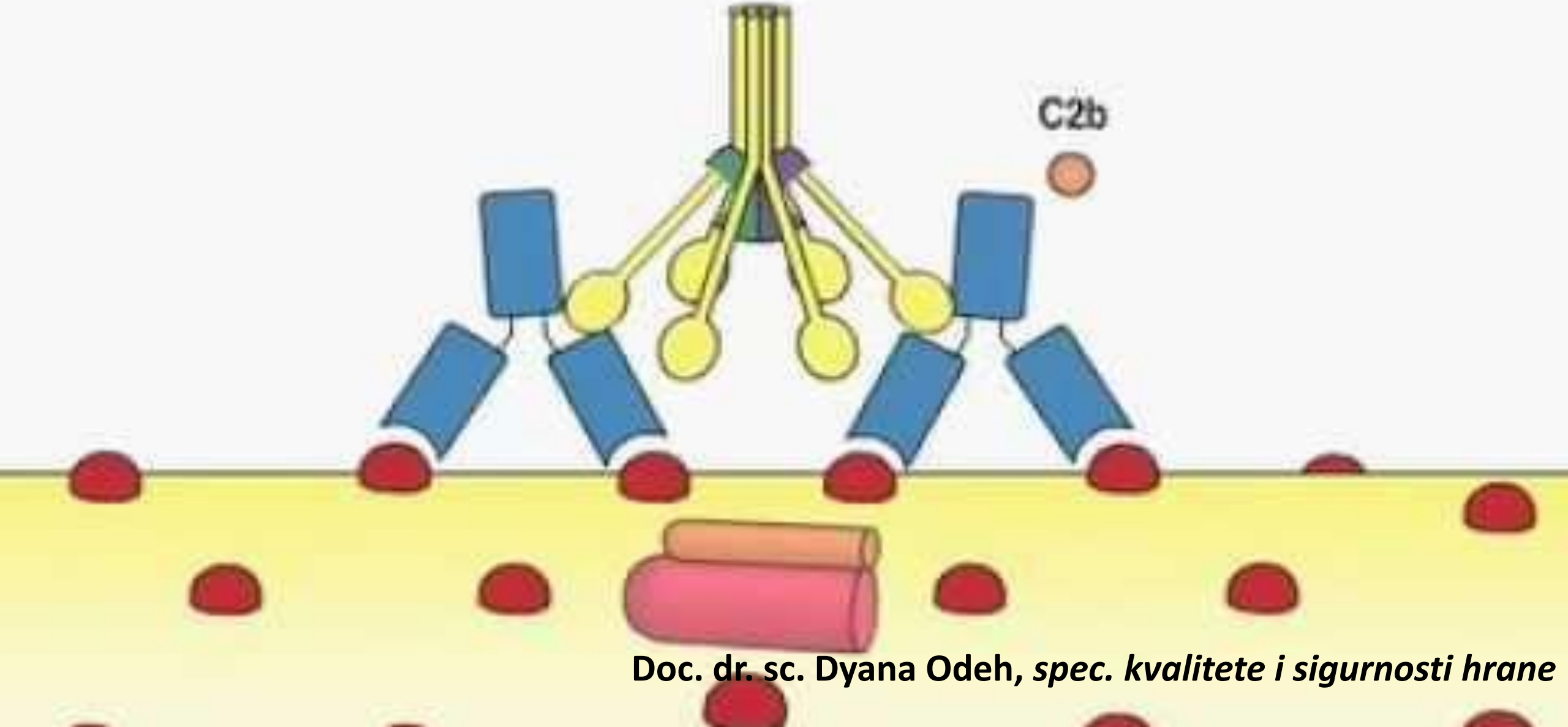
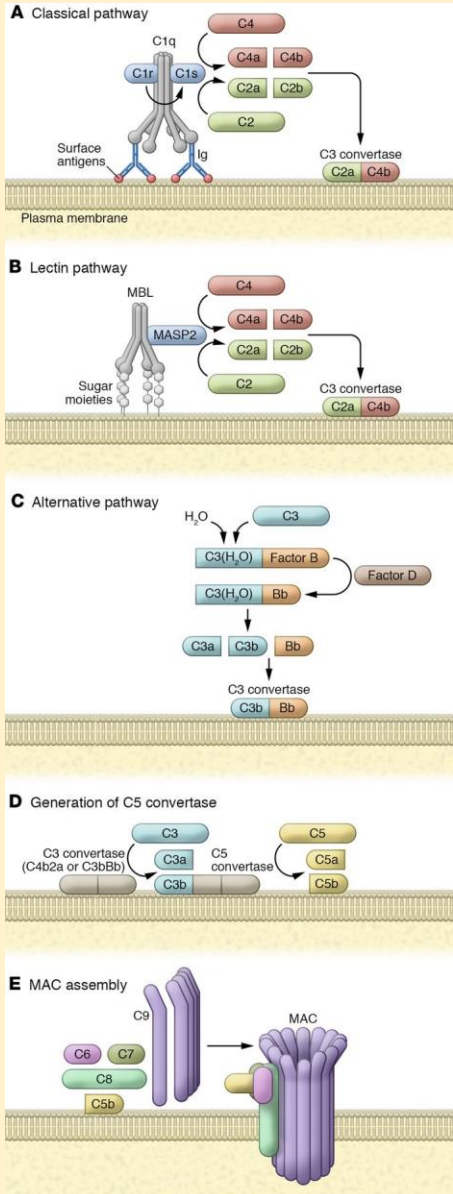
Sustav komplementa

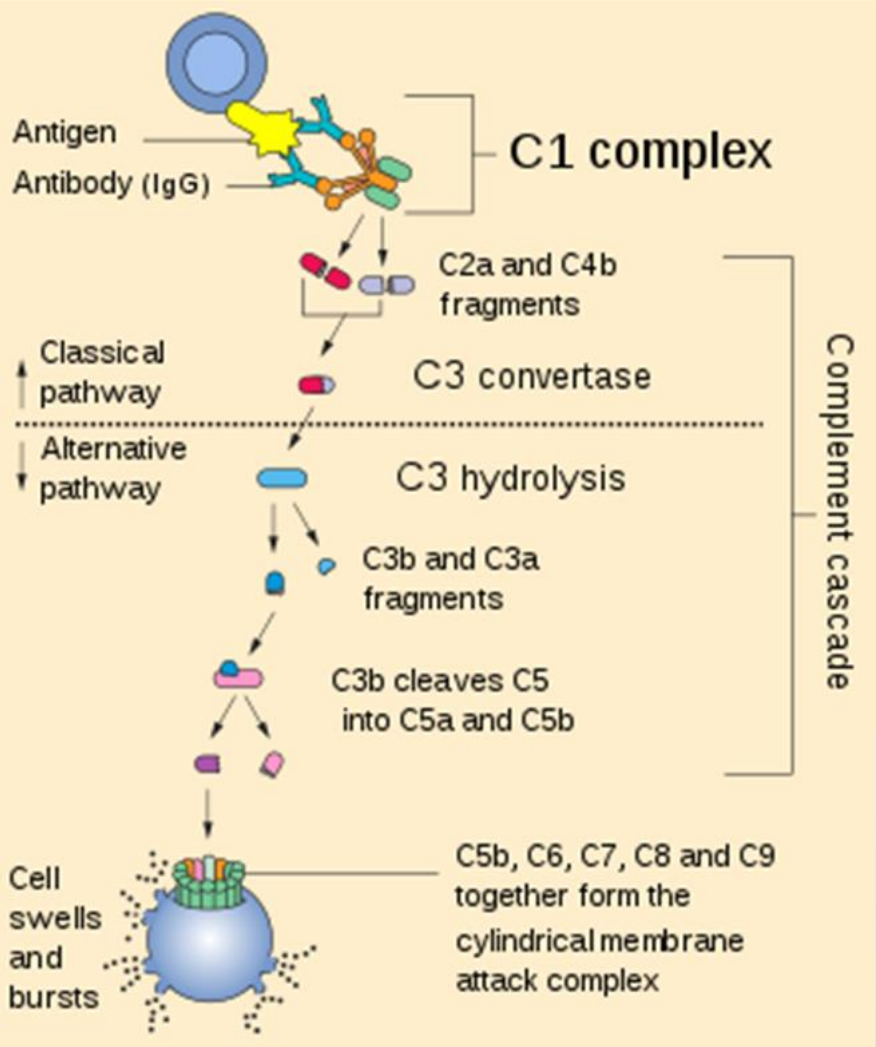


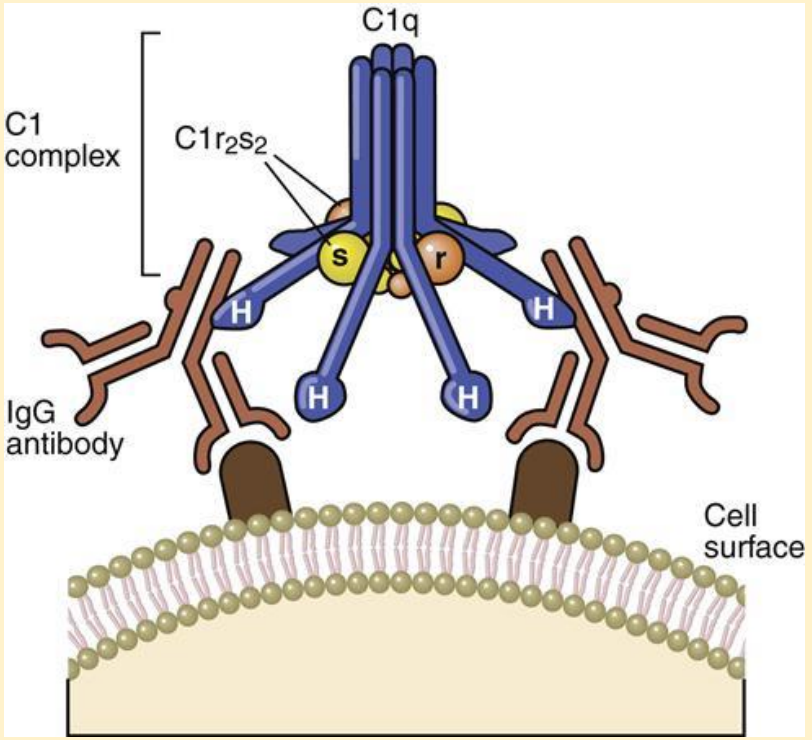
Doc. dr. sc. Dyana Odeh, *spec. kvalitete i sigurnosti hrane*

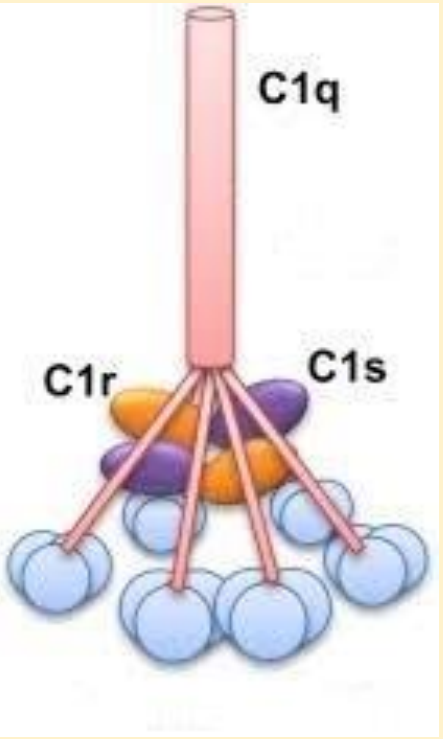
- sastoji se od **tridesetak** membranskih i serumskih **bjelančevina**
- nastaje u jetri, epitelnim stanicama tankog crijeva, žučnom mjehuru, monocitima/ makrofagima
- aktivacija uključuje niz uzastopnih ***proteolitičkih cijepanja*** proteina komplementa
- kaskada aktivacije uključuje **pozitivnu povratnu spregu** → mali broj aktiviranih molekula proizvodi velik broj efektorskih molekula
- **aktiviranje** komplementa zbiva se **na površini stanice** → komponente kovalentno povezane
- **3 načina aktivacije**:
  1) klasičnim putem
  2) alternativnim
  3) lektinskim
- sva 3 načina aktivacije konvergiraju i imaju iste završne korake

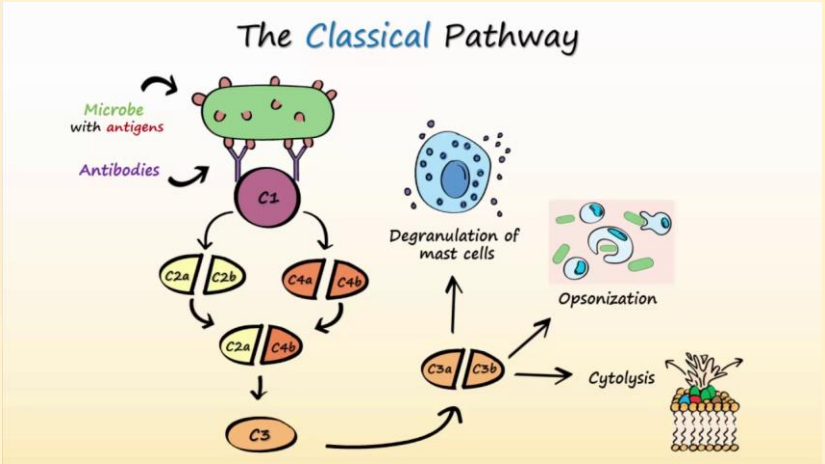


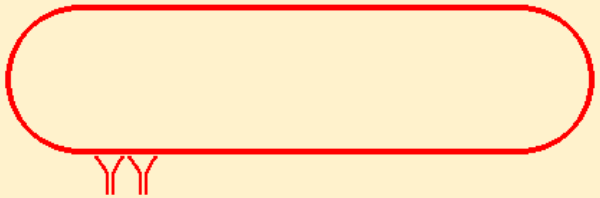
Klasični put aktivacije komplementa













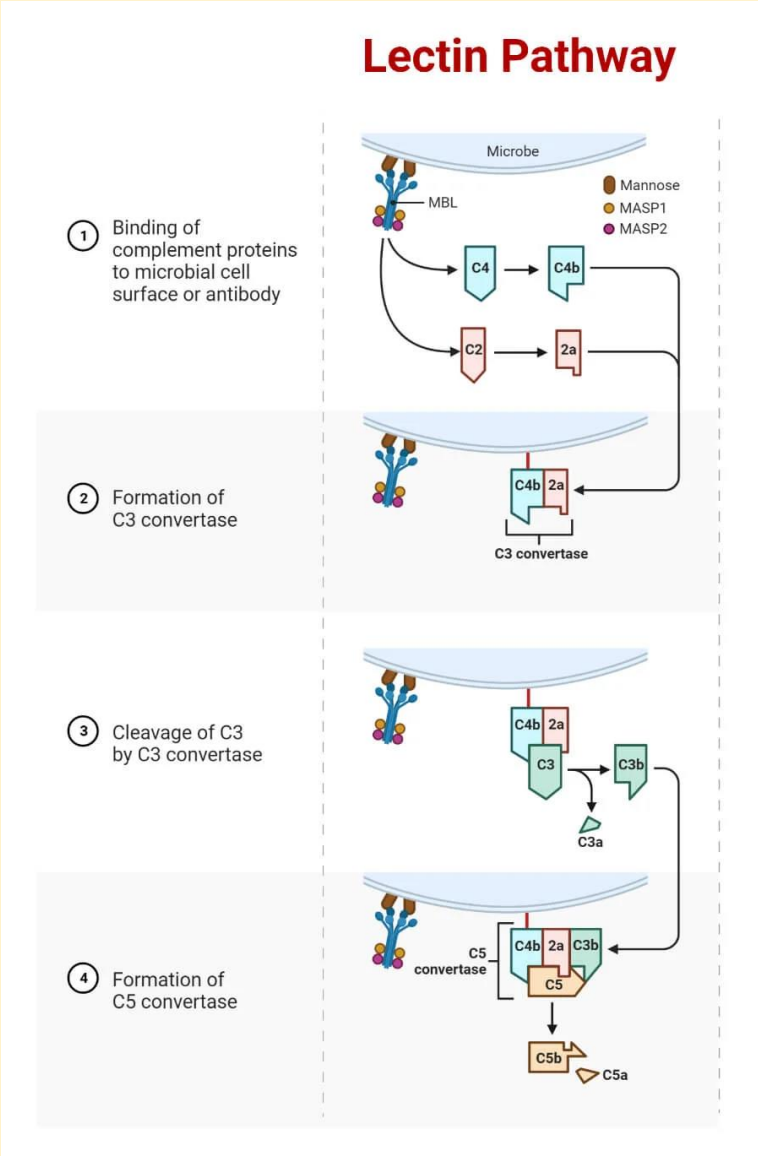
- započinje aktivacijom komponente C1 i molekule protutijela i to samo ako je protutijelo (IgM, IgG1, IgG3, IgG2) vezano na antigen

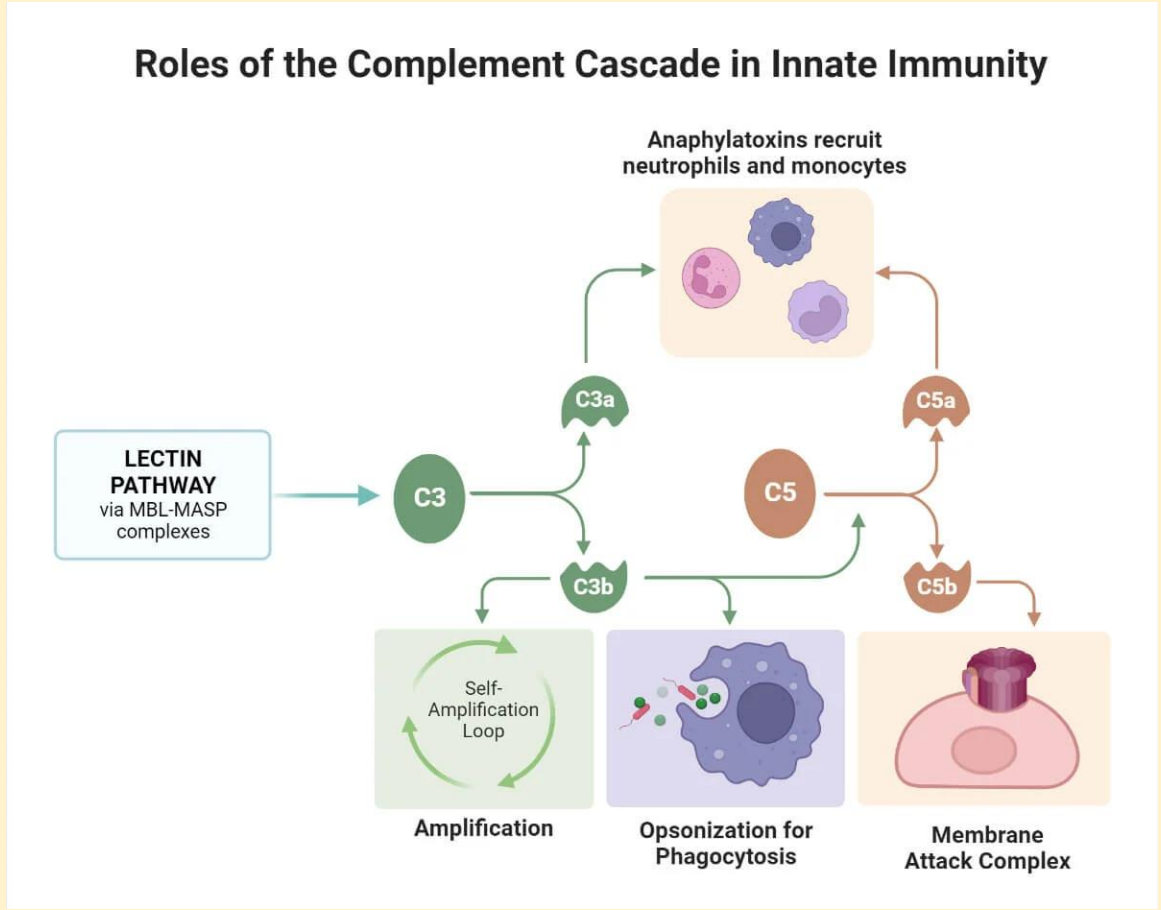
- vezanjem protutijela otvara se vezno mjesto na konstantnoj regiji (Fc) protutijela za C1 komponentu komplementa - za prepoznavanje veznog mjesta na molekuli protutijela odgovorna je podjedinica C1q

- C1 komponenta postaje enzimski aktivna što rezultira stvaranjem C3 konvertaze. **C3 konvertaza** cijepa C3 komponentu i nastaje u kasnijim koracima C5 konvertaza

- **C5 konvertaza** cijepa C5 komponentu, a dalje se u reakciju uključuju C6, C7, C8 i C9 koji zajedničkim snagama oblikuju tunel u membrani patogena → ***pore*** u membrani ***uzrokuju smrt patogena***

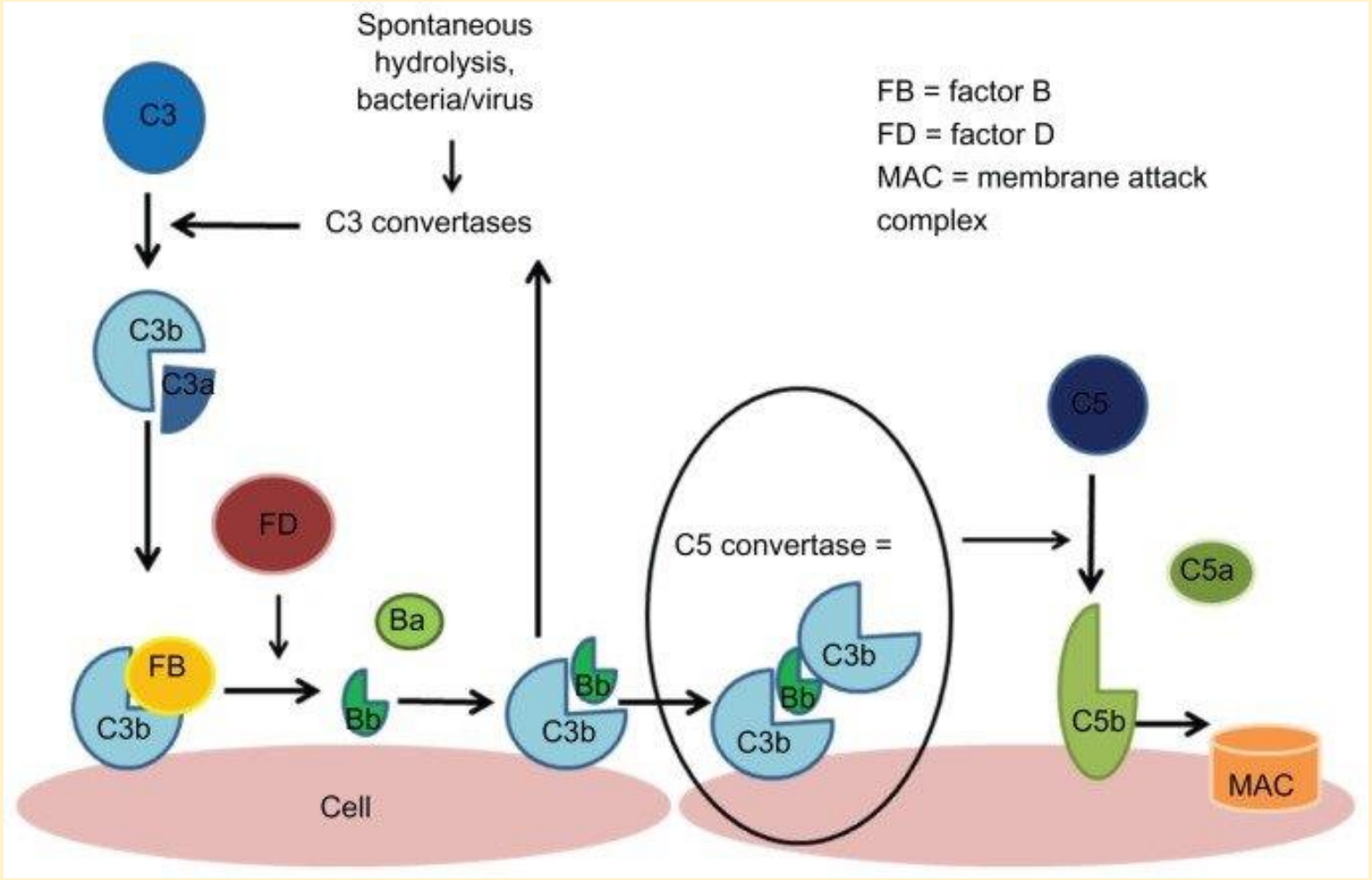
Lektinski put aktivacije komplementa

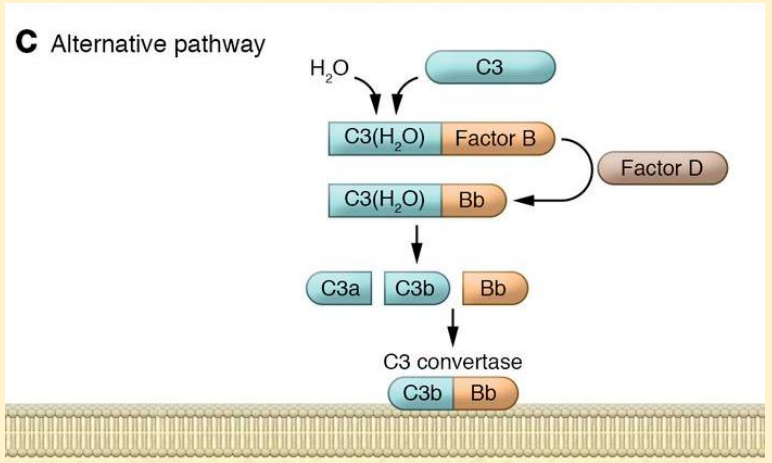




- sličan klasičnome putu – nisu potrebna protutijela
- mehanizam urođene imunosti
- **aktivira se vezanjem lektina** koji veže manozu (engl. *mannose-binding lectin*, MBL) **na manozne** i glukozne **ostatke mikroorganizama**
- MBL se veže za ugljikohidrate na površini mikroba → aktiviraju se *MASP-1* i *MASP-2 koje* su u kompleksu s MBL (engl. *MBL-associated serine proteases*)
- MASP-2 cijepa C4 i C2 → stvara se C4b2b → ista C3 konvertaza kao u klasičnom putu

Alternativni (*properdinski*) put aktivacije komplementa

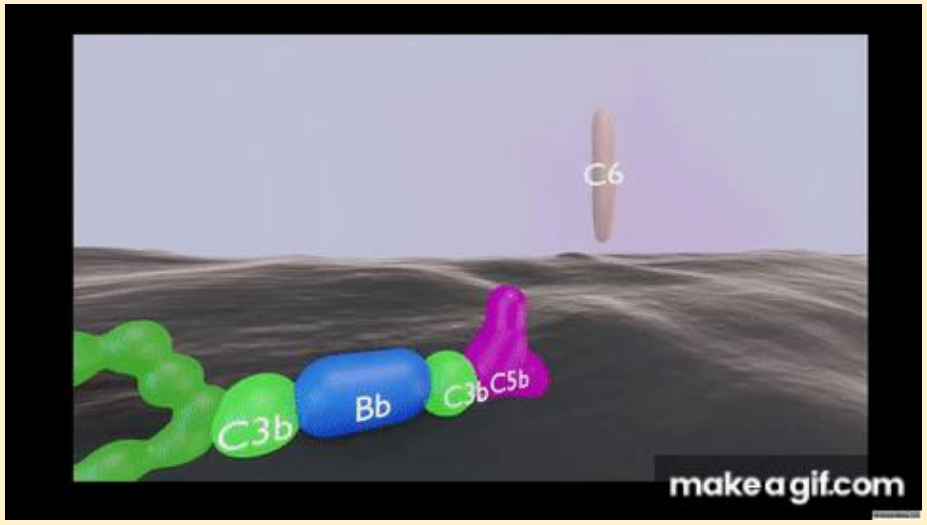


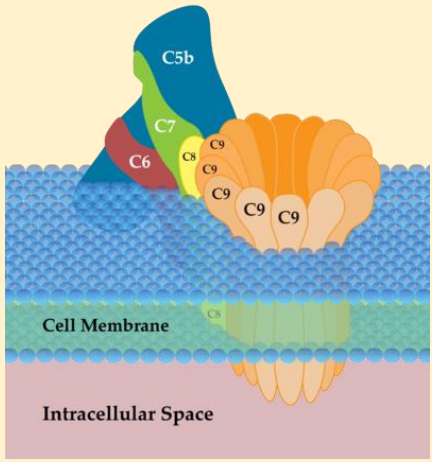


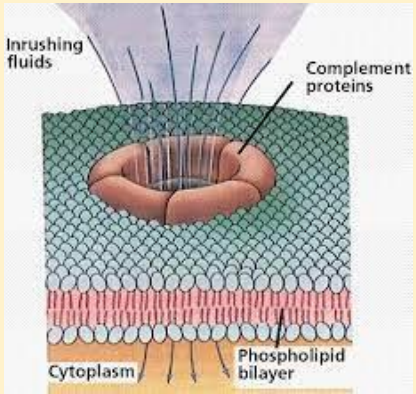
- evolucijski ranije razvijen
- pripada mehanizmu **urođene imunosti**
- aktivacija se osniva na **spontanoj hidrolizi C3** u plazmi
- C3 spontano prelazi u C3(H_2O)
- vezanjem **faktora B i D** nastaje C3bBb → C3 konvertaza alternativnog puta
- **properdin** stabilizira C3bBb
- C3 konvertaza cijepa dodatni C3, pojačavajući kaskadu
- dodavanjem C3b nastaje C5 konvertaza (C3bBbC3b) → zajednički završni koraci

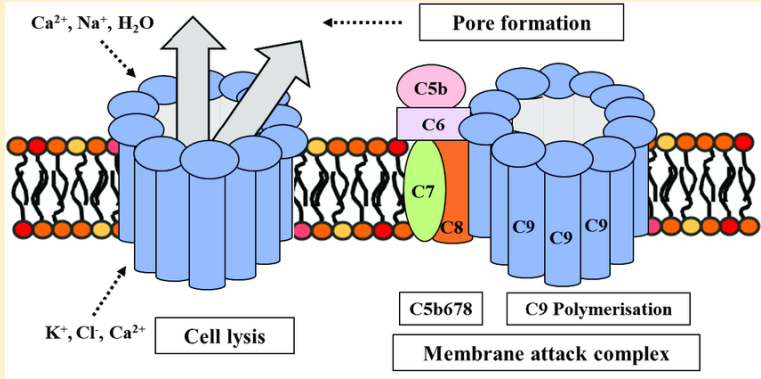
Zajednički završni koraci

- uključuje stvaranje kompleksa koji napada membranu – MAC (engl. *membrane attack complex*)
- počinje stvaranjem ulomka C5b → spajanje s C6 → C7→ C8 → C9 → liza stanice









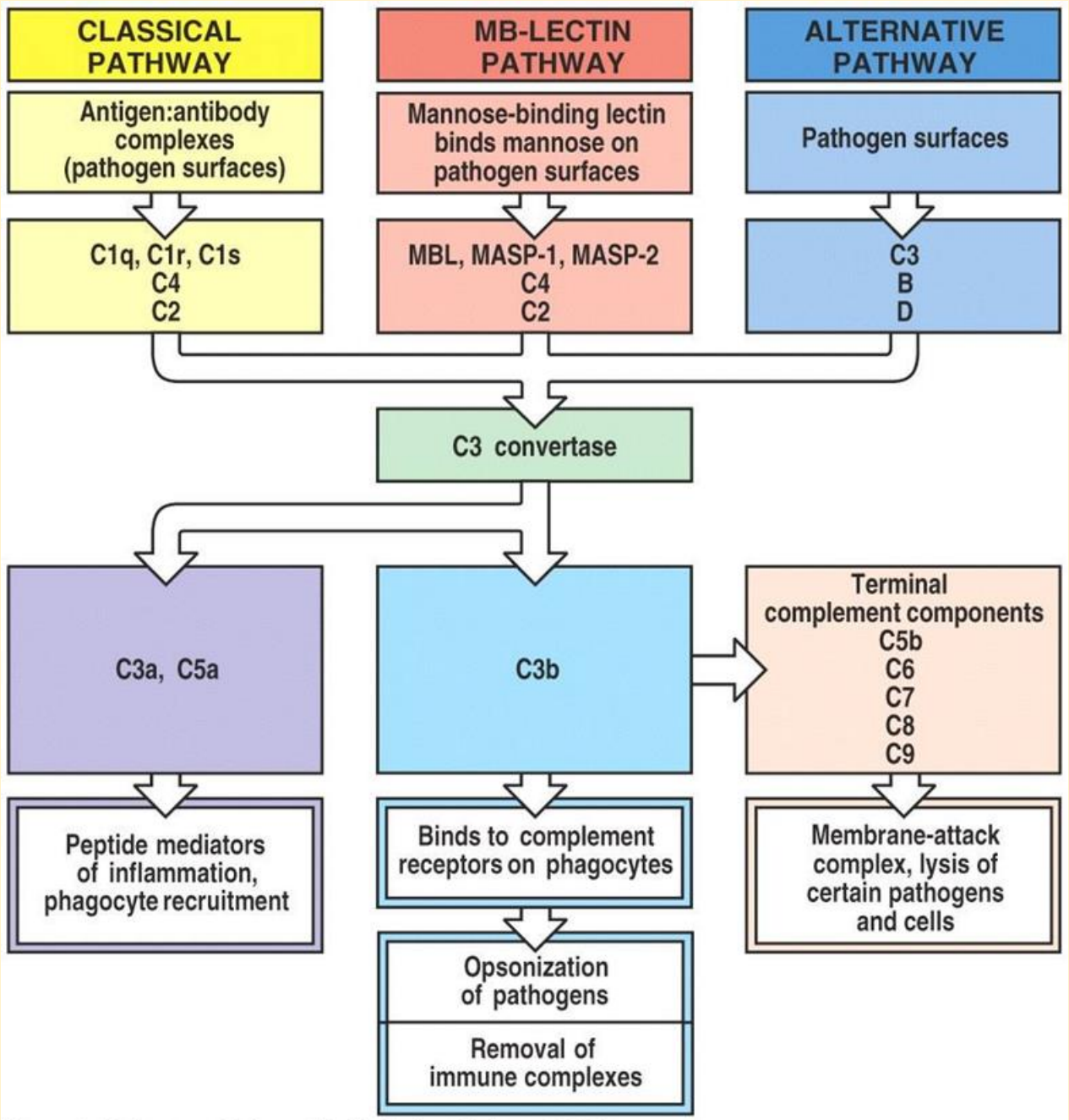


Figure 2-19 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Biološki učinci komplementa

- stanična liza (C5bC6789)
- opsonizacija (C3b, C4b)
- degranulacija mastocita (C3a, C5a)
- anafilatoksično djelovanje (C3a, C4a, C5a)
- kemotaksija (C5a)
- neutralizacija virusa
- uklanjanje imunokompleksa

Biološki učinak komponenti komplementa- upalni učinak

- C3a, C4a C5a → **anafilatoksini**

- povećanje propusnosti kapilara
- vazodilatacija
- kontrakcija glatkih mišića
- degranulacija mastocita i bazofila (C3a i C5a)
- C5a - kemotaksija

Receptori za bjelančevine komplementa

Oznaka receptora	Glavni ligand	Glavne stanice	Ključna funkcija
CR1 (CD35)	C3b, C4b	Eritrociti, neutrofili, eozinofili, mastociti, monociti, makrofagi, B stanice, T stanice	Opsonizacija, uklanjanje imunokompleksa
CR2 (CD21)	C3b, iC3b, C3d	B limfociti, folikularne dendritičke stanice	Aktivacija B limfocita, vezanje antigena
CR3 (CD11b/CD18)	iC3b	Neutrofili, makrofagi, NK stanice, mastociti	Fagocitoza, adhezija
CR4 (CD11c/CD18)	iC3b	Dendritičke stanice	Fagocitoza, adhezija
CRIg	C3b, iC3b	Makrofagi u jetri	Uklanjanje opsoniziranih bakterija i drugih patogena iz krvi

Regulacija aktivacije komplementa

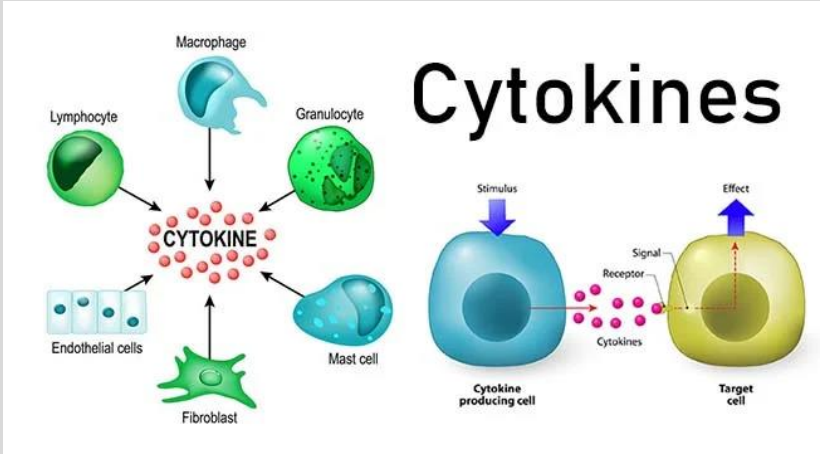
Regulator	Funkcija
C1-inhibitor (C1-INH)	Inhibira C1r i C1s (klasični put)
Faktor H i 1	Inaktiviraju C3b
DAF (engl. *decay-accelerating factor*, CD55)	Razgrađuje C3 konvertaze
CD59	Sprječava formiranje MAC-a
C4BP (C4-*binding protein*)	Inaktivira C4b



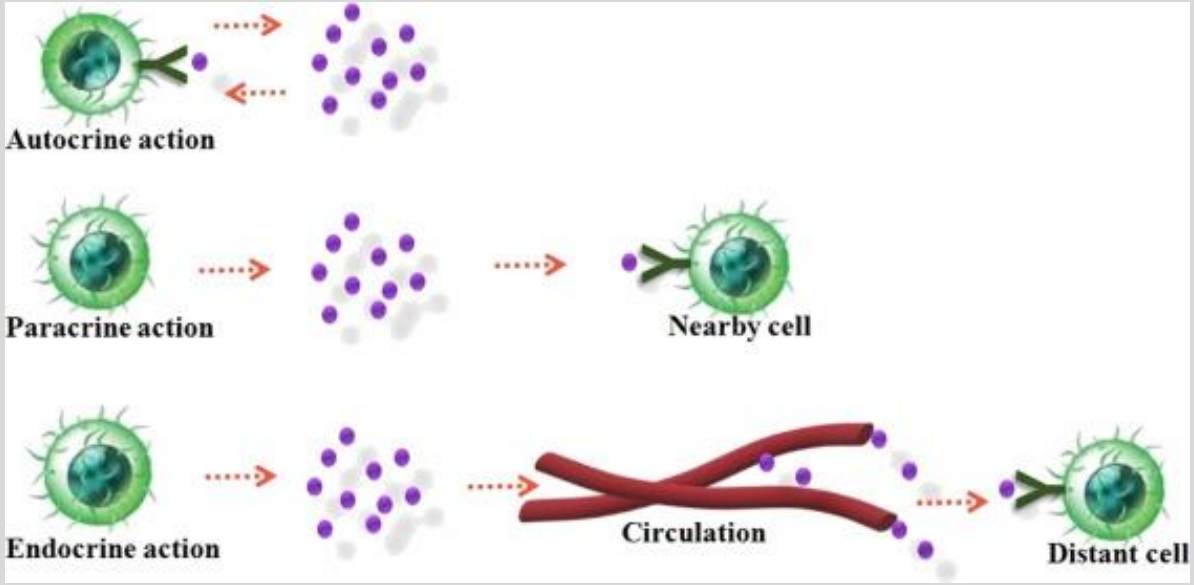
Citokini – ključni medijatori imunosne komunikacije

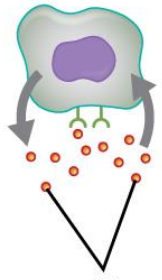
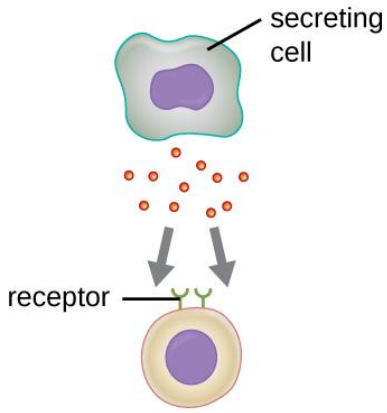
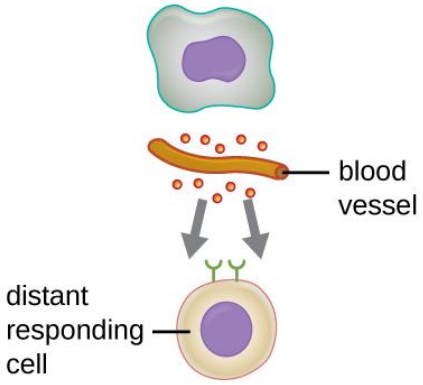
Citokini – opće karakteristike

- mali glikoproteini koji posreduju međustaničnu komunikaciju
- molekularna masa 8 – 25 kDa
- uloga:
  a) aktivacija, proliferacija i diferencijacija stanica
  b) posreduju ili reguliraju imunoreakcije i upalne procese
  c) djeluju citotoksično
- djeluju nakon vezanja za specifični receptor



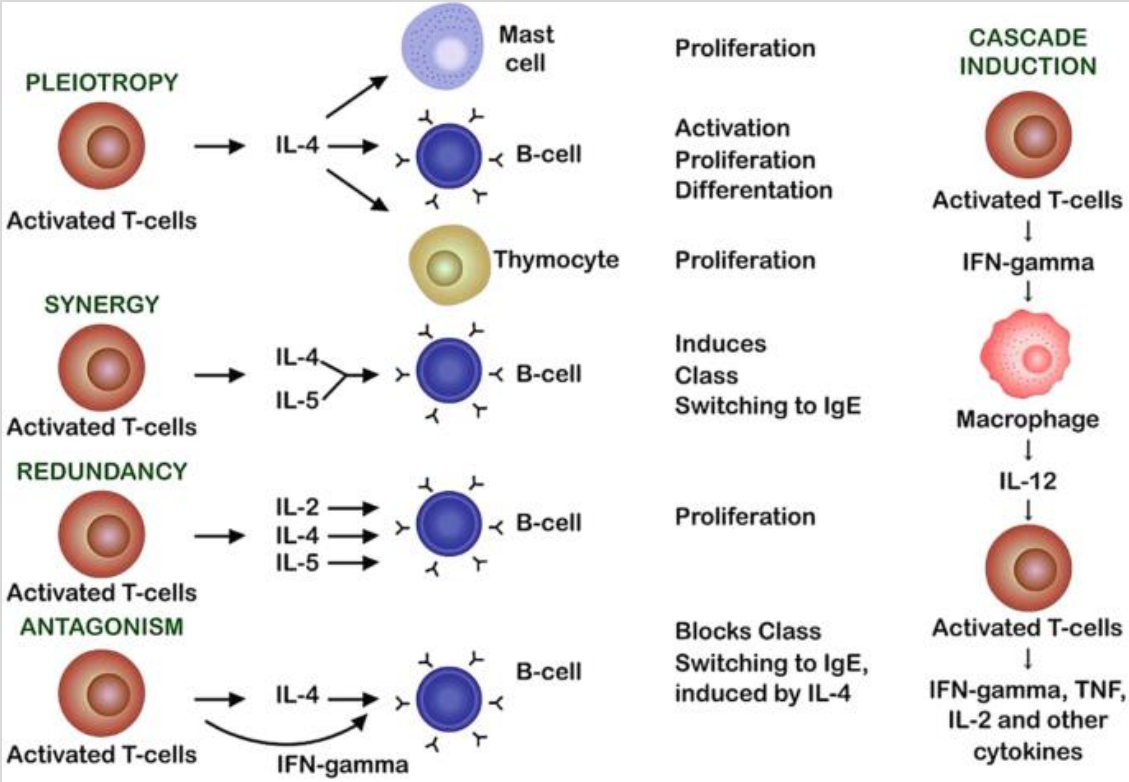
- **djelovanje:** autokrino, parakrino i endokrino



CYTOKINES: Molecular Messengers		
Autocrine	**Paracrine**	**Endocrine**
Same cell secretes and receives cytokine signal.	Cytokine signal secreted to a nearby cell.	Cytokine signal secreted to circulatory system; travels to distant cells.
		

- **mehanizmi djelovanja citokina:**
  1. pleotropija
  2. redundancija
  3. sinergizam
  4. antagonizam

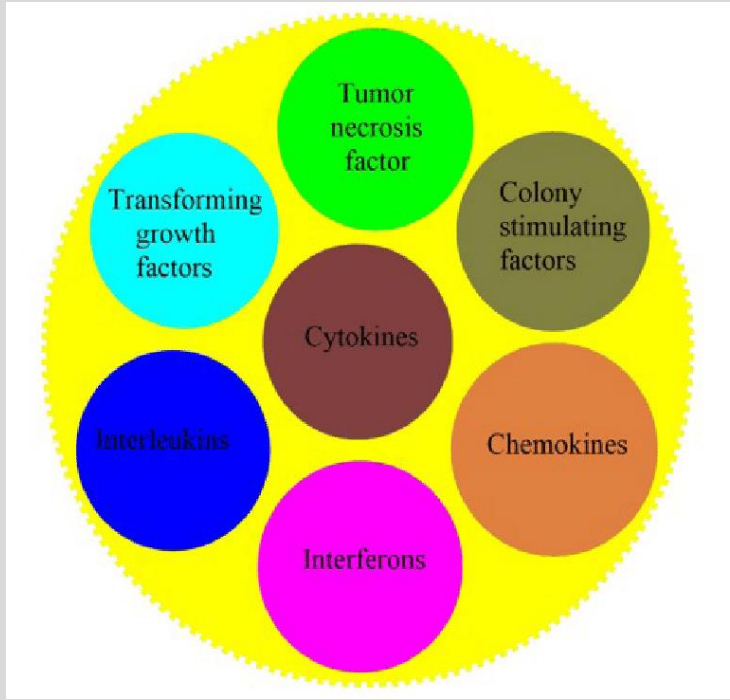
- citokini se luče u *kaskadi* i stvaraju *citokinsku mrežu*



Mehanizam djelovanja	Značenje	Primjer	Biološka važnost
Pleiotropija	jedan citokin → više učinaka	IL-4	široka funkcionalnost
Redundantnost	više citokina → isti učinak	IL-1 i TNF-α	rezervni mehanizmi
Sinergizam	djeluju zajedno, pojačano	IFN-γ + TNF-α	pojačana obrana
Antagonizam	jedan inhibira drugog	IL-10 vs. IL-1/TNF-α	ravnoteža i kontrola

Podjela citokina

- klasična podjela – povijesno otkriće
- podjela na temelju njihove građe ili građe njihovih receptora
- podjela prema funkciji



Klasična podjela citokina

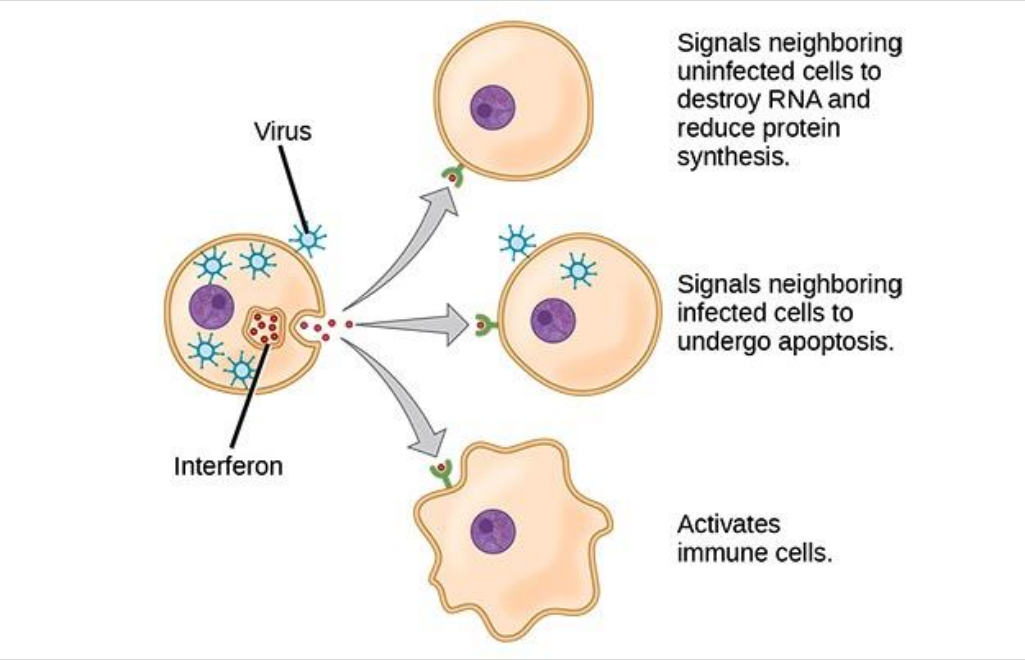
1. interleukini (IL)
2. interferoni (INF)
3. citoksini (engl. *tumor necrosis factor*, TNF)
4. čimbenici poticanja kolonija (engl. *colony stimulating factors*, CSF)

➢ interleukini:

- poznato oko 35 interleukina
- luče ih leukociti, fibroblasti, endotelne stanice, osteoblasti
- monociti/makrofagi – IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IL-18, IL-23, IL-27 → *proupalni citokini*

➢ interferoni:

- antivirusna obrana
- 3 skupine:
  a) neimuni interferoni – INF-α, INF-β
  b) imuni interferon – IFN-γ
  c) INF-λ
- IFN-γ → aktivacija makrofaga



➢ citoksini:

- TNF-α – proizvode monociti/makrofagi
- TNF-β – proizvode citotoksični limfociti T
- uloga u upali, ubijanje ciljnih stanica mehanizmom apoptoze

➢ čimbenici poticanja kolonija (CSF):

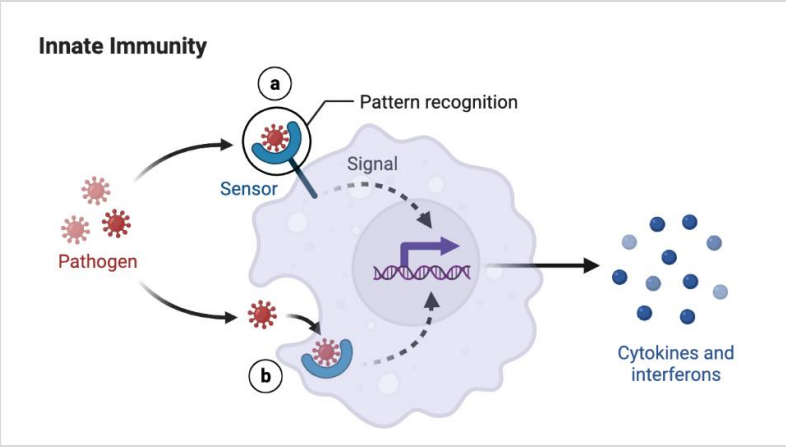
- potiču rast, diferencijaciju i preživljavanje kolonija hematopoeznih stanica
- multi-CSF (IL-3) → potiče rast hematopoeznih stanica, ali i proliferaciju zrelih mastocita
- čimbenik poticanja granulocitno-makrofagnih kolonija (GM-CSF) – pojačava fagocitozu i citotoksična svojstva granulocita i makrofaga
- čimbenik poticanja granulocitnih kolonija (G-CSF)
- čimbenik poticanja monocitnih kolonija (M-CSF)

CSF	Glavni izvor	Glavna funkcija	Ciljne stanice
G-CSF	makrofagi, fibroblasti, endotelne stanice	stimulira proizvodnju neutrofila	progenitori granulocita
GM-CSF	T-limfociti, makrofagi, endotelne stanice	poticanje granulocita i makrofaga	multipotentni progenitori (granulociti, monociti)
M-CSF	fibroblasti, osteoblasti, T-limfociti	diferencijacija u makrofage	monocitni progenitori
IL-3 (multi-CSF)	T-limfociti	stimulira različite linije krvnih stanica	multipotentni progenitori

Podjela citokina prema funkciji

1. citokini urođene imunosti
2. citokini specifične (adaptivne imunosti)
3. imunosupresijski (inhibicijski) citokini
4. čimbenici rasta hematopoeznih kolonija

Citokini urođene imunosti



- luče ih u prvom redu makrofagi i druge akcesorne imunosne stanice na nespecifične upalne podražaje
- IL-6, IL-8, IL- 12, IL-18, IL-23, IL-27, TNF-α, IFN-α, IFN-β

Skupina	Glavni citokini	Glavna uloga
Proupalni citokini	IL-1, IL-6, TNF-α	induciraju upalu, vrućicu (***endogeni pirogeni***), sintezu proteina akutne faze, aktivaciju endotelnih stanica
Antivirusni citokini	IFN-α, IFN-β	inhibiraju replikaciju virusa, aktiviraju NK stanice
Kemokini	IL-8 (CXCL8), MCP-1 (CCL2)	usmjeravaju migraciju leukocita u upalno tkivo
Citokini aktivacije makrofaga i NK stanica	IL-12, IL-23, IL-27, IL-18	povezuju urođenu i stečenu imunost (aktiviraju Th1 i NK stanice)

Citokini specifične (adaptivne imunosti)

- luče limfociti i djeluju na različite aspekte specifične imunoreakcije
- IL-2, IL-4, IL-5, IL-11, IL-13, IL-15, IL-17, INF-γ

- IL-2
  - luče ga aktivirani pomagački limfociti
  - potiče razvoj i preživljenje regulacijskih T stanica
  - uzrokuje proliferaciju i povećava citotoksičnost NK stanica
  - djeluje kao sučimbenik u sazrijevanju aktiviranih B limfocita

- IL-4, IL-5
  - luče ih T_H2 limfociti
  - pomažu sazrijevanje B limfocita

IL-13

- luče ga T_H2 limfociti
- pomaže reakcije humoralne imunosti

IL-11

- hematopoetski čimbenik rasta
- djeluje sinergistički s IL-3, IL-6 i GM-CSF
- sudjeluje u regeneraciji epitela i zaštiti tkiva
- uloga u koštanom tkivu i reproduktivnom sustavu

IL-15

- luče makrofagi i druge akcesorne stanice
- uloga u proliferaciji NK stanica

IL-17

- luče ga T_H17 limfociti
- potiče proizvodnju proupalnih citokina i kemokina iz različitih stanica

IFN-γ

- luče ga aktivirani limfociti T i NK stanice
- aktivacija makrofaga
- povećava izračaj MCH-I i MHC-II molekula
- stimulacija T_H1 diferencijacije
- antivirusno i antitumorsko djelovanje

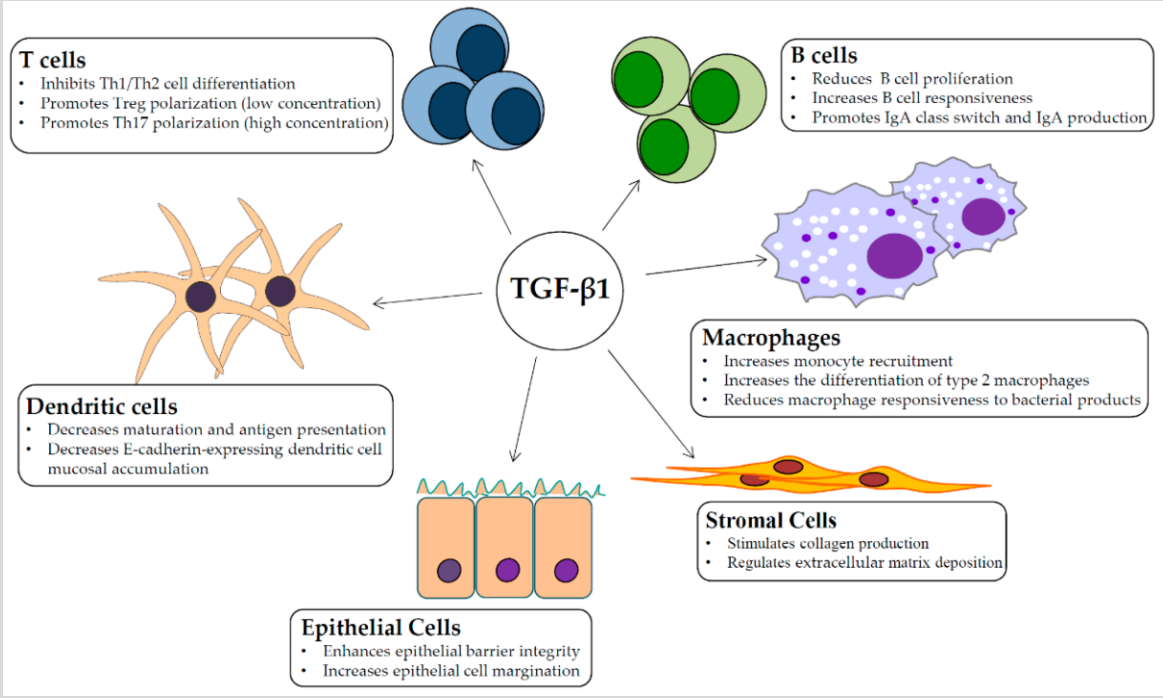
Imunosupresijski (inhibicijski) citokini

- potiskuju imunoreakcije
- najpoznatiji – TGF-β

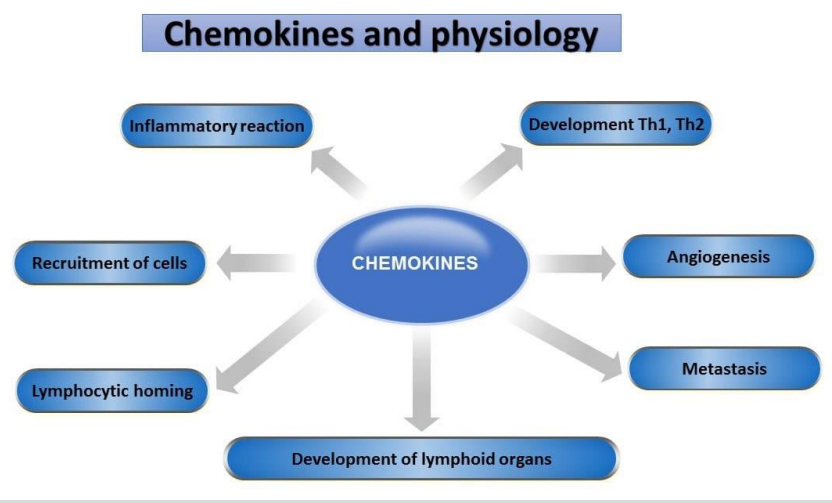
  - potiskuje upalne reakcije posredovane stanicama T_H1 i makrofagima
  - potiče sekreciju IgA u crijevnoj sluznici
  - pomaže cijeljenje rana i stvaranje fibroznog ožiljka

- IL-10

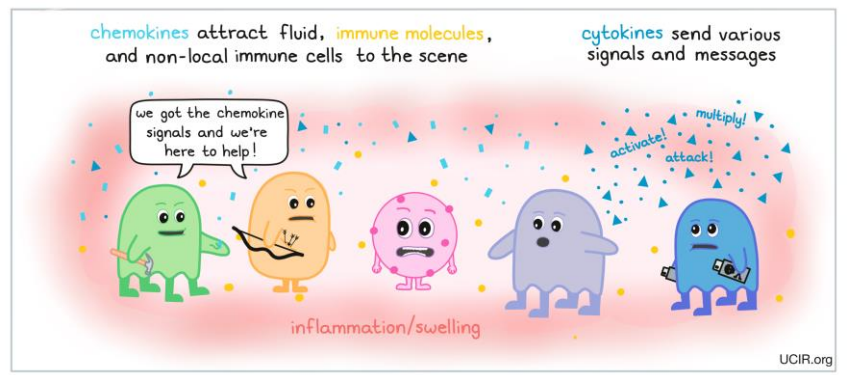
  - glavni antiupalni citokin
  - inhibira makrofage i dendritičke stanice
  - inhibira izraženost kostimulacijskih MHC-II molekula



Kemokini



- posebna skupina citokina → glavna uloga kemotaksija
- mali peptidi (8–10 kDa)
- mogu djelovati i u fiziološkim (hematopoeza, razvoj limfnog sustava) i patološkim uvjetima (upala, tumori)
- sudjeluju u:
  - regulaciji migracije imunosnih stanica → homeostatski kemokini
  - razvoju imunosnih stanica
  - angiogenezi
  - metastaziranju



- četiri skupine:
  1. **CXCL** – IL-8 – djeluje kemotaktički na neutrofile
  2. **CCL** – MIP i MCP – privlače monocite/makrofage i T limfocite
  3. **CL** – limfotaktin – privlače T limfocite i NK stanice
  4. **CXXXCL** – fraktalkin – djeluje kemotaktički i adhezijski na T limfocite, NK stanice i makrofage